

基于网络药理学的吴茱萸汤作用机制分析

刘鑫馗, 吴嘉瑞*, 蔺梦娟, 张晓朦
(北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] **目的:**探讨吴茱萸汤的功物质基础和配伍机制。**方法:**依托中药系统药理学分析平台(TCMSP)检索吴茱萸汤全方4味中药的化学成分和作用靶点。进而构建化合物-靶点网络、蛋白互作(PPI)网络、靶点-通路网络,研究吴茱萸汤作用机制。**结果:**化合物-靶点网络包含29个化合物和相应靶点77个,关键靶点涉及PTGS2,PTGS1等。PPI网络包含70个蛋白,关键蛋白涉及AP-1,BCL2,HSP90 α 等。基因本体(GO)条目145个,其中生物过程相关的条目100个,分子功能相关的条目23个,细胞组成相关的条目22个。京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路3条,涉及钙离子信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路、癌症信号通路。**结论:**本研究结果初步验证了吴茱萸汤的基本药理作用及其机制,并为进一步深入揭示其作用机制奠定了良好基础。

[关键词] 吴茱萸汤; 网络药理学; 蛋白质-蛋白质相互作用; 基因本体; 通路

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)16-0203-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160203

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.0936.020.html>

[网络出版时间] 2017-04-20 9:36

Study on Mechanism of Wuzhuyu Tang Based on Network Pharmacology

LIU Xin-kui, WU Jia-rui*, LIN Meng-juan, ZHANG Xiao-meng
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the efficacy and compatibility mechanism of Wuzhuyu Tang. **Method:** The chemical components and targets related to the four Chinese herbal medicines were searched from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). The compound-target network, protein-protein interaction (PPI) network, and target-pathway network were constructed to explore the mechanism of Wuzhuyu Tang. **Result:** The compound-target network contain 29 chemical components and 77 targets. The hub targets involve PTGS2, PTGS1 and so on. The PPI network contain 70 proteins, in which the hub proteins involve AP-1, BCL2, HSP90 α and so on. In the gene ontology (GO) functional enrichment analysis, there are 145 GO terms (100 Biological Process, 23 Molecular Function, 22 Cellular Component). The pathway enrichment analysis contains 3 pathways: calcium signaling pathway, neuroactive ligand-receptor interaction, and pathways in cancer. **Conclusion:** The result of the study preliminarily verifies the basic pharmacological effects and related mechanisms of Wuzhuyu Tang, thus laying a solid foundation for deeply study on the mechanism of action.

[Key words] Wuzhuyu Tang; network pharmacology; protein-protein interaction (PPI); gene ontology (GO); pathway

[收稿日期] 20170125(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473547,81673829)

[第一作者] 刘鑫馗,在读硕士,从事临床中药学研究,Tel:15811155905,E-mail:lxkchuige@163.com

[通讯作者] *吴嘉瑞,博士,教授,硕士生导师,从事临床中药学研究,Tel:010-84738662,E-mail:exogamy@163.com

吴茱萸汤出自汉代张仲景《伤寒论》，由吴茱萸、生姜、人参、大枣 4 味药物组成。方中吴茱萸辛苦性温，入肝、肾、脾、胃经，上可温胃散寒，下可温暖肝肾，又能降逆止呕，为君药；生姜为臣，温胃散寒，降逆止呕；佐以甘温之人参，补益中焦脾胃之虚；使以甘平之大枣，益气补脾，调和诸药^[1]。吴茱萸汤具有温中补虚、降逆止呕之功效，主治虚寒呕吐、食谷欲呕、厥阴头痛和胃脘痛等^[2-3]，临床中广泛应用于慢性胃炎、急慢性胃肠炎、慢性胆囊炎、头痛、神经官能症、神经性呕吐、原发性青光眼、美尼尔氏综合征、高血压、消化性溃疡等^[3-5]。现代药理研究及临床应用表明，吴茱萸汤对消化系统、神经和精神系统、循环系统以及妇、儿、泌尿、眼、耳鼻喉、传染、肿瘤等各科疾病有着广泛的作用与疗效^[6]。中药是多组分、多靶点及其组分间协同作用的复杂体系，因其成分复杂、系统庞大，使得中药的深入研究呈现巨大困难，而中药网络药理学则为复杂中药系统的研究提供了新的思路和视角^[7]。网络药理学融合了系统生物学和多向药理学的思想，它从整体的角度探索药物与疾病的关联性，强调从药物、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发，反映及阐释中药的多成分-多靶点作用关系，其研究策略的整体性、系统性特点与中医学从整体观念、辨证论治的角度去诊治疾病的理论不谋而合，已被广泛用于中药潜在活性成分和作用靶点的预测及中药作用机制的阐述^[8-10]。本研究采用网络药理学方法分析和预测吴茱萸汤作用机制，希冀为揭示吴茱萸汤作用机制的科学内涵提供参考。

1 材料与方法

1.1 吴茱萸汤的化学成分 本研究依托中药系统药理学分析平台 (TCMSP) (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>) 检索吴茱萸汤全方吴茱萸、人参、大枣、生姜的所有化学成分，共搜集了 764 个化合物，其中吴茱萸 176 个、人参 190 个、大枣 133 个、生姜 265 个。

1.2 阈值筛选 本研究中，吴茱萸、人参、大枣中的化合物口服生物利用度 (OB) 筛选阈值均为 $OB \geq 50\%$ ，生姜中的化合物 OB 筛选阈值为 $OB \geq 30\%$ ，4 味药中的化合物类药性 (DL) 筛选阈值均为 $DL \geq 0.18$ 。通过筛选，764 个化合物分子中有 29 个符合条件，并将其作为候选化合物。

1.3 化合物-靶点网络的构建 将吴茱萸汤的化合物和相关靶点通过 Cytoscape 3.4.0 软件 (<http://www.cytoscape.org/>) 构建化合物-靶点网络，以探究

吴茱萸汤的药理学作用机制。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建

为了说明靶点蛋白在系统水平上的作用，将统计所得的吴茱萸汤 79 个基因上传至在线 STRING 10.0 软件 (<http://string-db.org>)，设定打分为高置信度 0.7，获取蛋白相互作用信息。将得到的蛋白相互作用数据导入 Cytoscape 3.4.0 软件构建 PPI 网络，并且利用 R version 3.3.2 软件 (<https://www.r-project.org/>) 对 PPI 网络中 Degree 前 30 的蛋白绘制条形图。

1.5 基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 为了说明中药化合物的靶点蛋白在基因功能和信号通路中的作用，本研究采用 David v 6.7 数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>) 对 PPI 网络中的蛋白进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。通过 Cytoscape 3.4.0 软件对 KEGG 通路富集分析中筛选出的信号通路构建靶点-通路网络。

2 结果

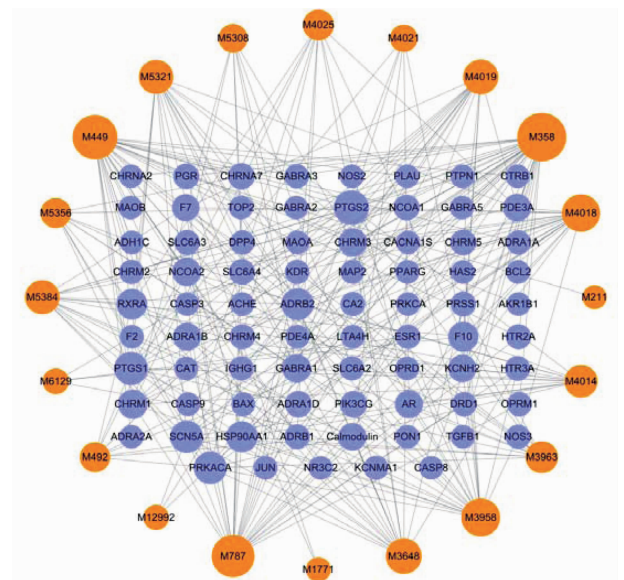
2.1 活性化合物的筛选 OB 是药物吸收、分布、代谢、排泄特性 (ADME) 中最重要的药代动力学参数之一，它表示口服的药物到达血液循环系统所占口服剂量的比率，高的口服生物利用度通常是决定生物活性分子 (即有药效作用的分子) 类药性的关键指标^[11-12]。为了使筛选的化学成分更具有代表性，同时所筛选出的化合物能够全面反映吴茱萸汤的药理学数据性质，因此本研究中吴茱萸、人参、大枣中的化合物筛选阈值均为 $OB \geq 50\%$ ， $DL \geq 0.18$ ，生姜中的化合物筛选阈值为 $OB \geq 30\%$ ， $DL \geq 0.18$ 。通过筛选，从吴茱萸汤的 4 味中药中的 764 个化合物中得到了 29 个活性成分。其中，有 9 个活性成分来自吴茱萸，8 个来自于人参，9 个来自于大枣，5 个来自于生姜 (人参和大枣含有 2 个相同的活性成分)。表 1 为吴茱萸汤中含有的 29 个活性成分基本信息。

2.2 吴茱萸汤化合物-靶点相互作用网络 化合物-靶点网络总共包括 97 个节点 (20 个化合物节点，77 个靶点节点) 和 288 条边，其中橙色节点表示化合物分子，蓝色节点表示药物靶点，每条边则表示化合物分子与靶点之间的相互作用关系 (图 1)，29 个化合物中有 9 个未参与网络构建。在网络中，1 个节点的度 (Degree) 表示网络中和节点相连的路线的条数。根据网络的拓扑学性质筛选 Degree 较大的节点进行分析，这些连接化合物或靶点较多的

表 1 吴茱萸汤中含有的 29 个活性成分基本信息

Table 1 Information for 29 active compounds of Wuzhuyu Tang

编号	名称	OB/%	DL	来源
M12940	spiradine A	113.52	0.61	大枣
M5314	celabenzine	101.88	0.49	人参
M12992	mauritime D	89.13	0.45	大枣
M8647	moupinamide	86.71	0.26	大枣
M3958	evodiamine	86.02	0.64	吴茱萸
M4018	goshuyuamide I	83.19	0.39	吴茱萸
M4014	evodiamide	73.77	0.28	吴茱萸
M8034	21302-79-4	73.52	0.77	大枣
M3963	hydroxyevodiamine	72.11	0.71	吴茱萸
M4019	goshuyuamideII	69.11	0.43	吴茱萸
M3410	ziziphin_qt	66.95	0.62	大枣
M5308	aposiopolamine	66.65	0.22	人参
M3942	rutaevine	66.05	0.58	吴茱萸
M5321	frutinone A	65.9	0.34	人参
M3648	inermine	65.83	0.54	人参
M4021	gravacridoneshlerine	63.73	0.54	吴茱萸
M5356	girinimbin	61.22	0.31	人参
M787	fumarine	59.26	0.83	人参,大枣
M5360	malkangunin	57.71	0.63	人参,大枣
M5384	suchilactone	57.52	0.56	人参
M4025	N-(2-methylaminobenzoyl) tryptamine	56.96	0.26	吴茱萸
M211	mairin	55.38	0.78	大枣
M4017	fordimine	55.11	0.26	吴茱萸
M492	(+)-catechin	54.83	0.24	大枣
M6129	6-methylgingediacetate2	48.73	0.32	生姜
M8698	dihydrocapsaicin	47.07	0.19	生姜
M449	stigmasterol	43.83	0.76	生姜
M358	beta-sitosterol	36.91	0.75	生姜
M1771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75	生姜



橙色表示化合物,蓝色表示靶点,节点的大小与节点的度呈正比例关系(图4同)

图 1 吴茱萸汤化合物-靶点网络

Fig.1 Compound-target network of Wuzhuyu Tang

节点在整个网络中起到枢纽的作用,可能是关键的化合物或者靶点。表 2 列出了化合物-靶点网络中的关键节点及其拓扑学性质。该网络中,每个化合物的平均靶点数目为 10 个,每个靶点平均与 4 个化合物相互作用,因此吴茱萸汤中存在一个化合物与多个靶点之间的相互作用,同时也存在不同化合物共同作用于同一个靶点的现象,这体现了吴茱萸汤多成分与多靶点之间共同作用的机制,同时也符合中药复方的特点。从化合物的角度,有 70% 的化合物的作用靶点 ≥ 10 个,其中靶点 ≥ 21 个的化合物有 5 个。Degree 排名前 2 位的是生姜中的植物甾醇类成分 β -谷甾醇(M358)和豆甾醇(M449),分别能与 37 个和 31 个靶点蛋白发生相互作用,远高于其他化合物。人参和大枣中的原阿片碱(M787)作用靶点 28 个,吴茱萸中的吴茱萸碱(M3958)作用靶点 22 个、吴茱萸果酰胺I(M4018)作用靶点 21 个。从靶点的角度,Degree 排名前 2 位的是前列腺素内过氧化物合酶

2(PTGS2)和前列腺素内过氧化物合酶 1(PTGS1), 分别能与 17 个和 15 个化合物发生相互作用。靶点

PRKACA 和 SCN5A 均对应了 14 个化合物, ADRB2, HSP90AA1 分别对应了 13 个和 12 个化合物。

表 2 化合物-靶点网络的关键节点及其拓扑学性质

Table 2 Topology characteristics of hub nodes from compound-target network

名称	类别	介数	度
beta-sitosterol (M358)	compound	0.339 953 65	37
stigmasterol (M449)	compound	0.265 677 81	31
fumarine (M787)	compound	0.159 238 63	28
evodiamine (M3958)	compound	0.071 560 55	22
goshuyamide I (M4018)	compound	0.047 632 25	21
inermine (M3648)	compound	0.042 344 46	18
goshuyamide II (M4019)	compound	0.023 122 05	17
PTGS2	target	0.094 201 15	17
suchilactone (M5384)	compound	0.044 353 42	16
frutinone A (M5321)	compound	0.085 367 80	16
PTGS1	target	0.069 343 27	15
evodiamide (M4014)	compound	0.012 874 25	14
SCN5A	target	0.048 373 45	14
PRKACA	target	0.054 674 95	14
hydroxyevodiamine (M3963)	compound	0.026 500 82	13
ADRB2	target	0.044 161 72	13
HSP90AA1	target	0.036 424 22	12
N-(2-methylaminobenzoyl) tryptamine (M4025)	compound	0.009 479 85	11
RXRA	target	0.023 486 86	11
girinibin (M5356)	compound	0.006 216 84	10
F10	target	0.013 601 08	10
(+)-catechin (M492)	compound	0.060 461 23	10

2.3 吴茱萸汤靶点 PPI 网络的构建与分析 PPI 网络(图 2)包含 70 个节点, 188 条边, 其中节点表示蛋白, 每条边则表示蛋白与蛋白之间的相互作用关系。根据节点的 Degree 绘制出了前 30 个关键蛋白质节点的条形图(图 3)。Degree ≥ 10 的节点包括 JUN, BCL2, HSP90AA1, HTR2A, NOS3, PGR, ESR1,

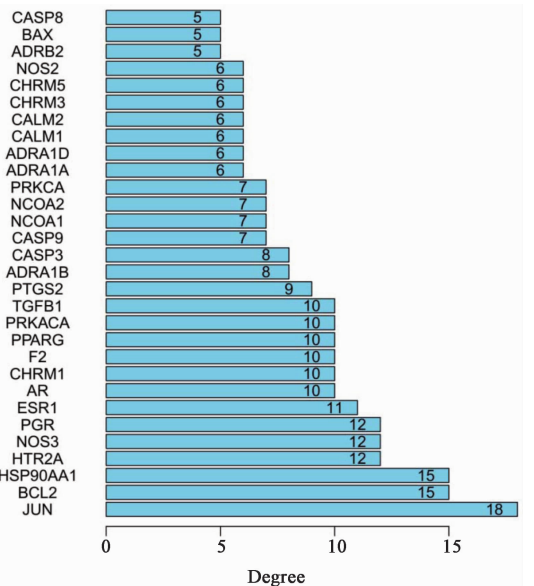
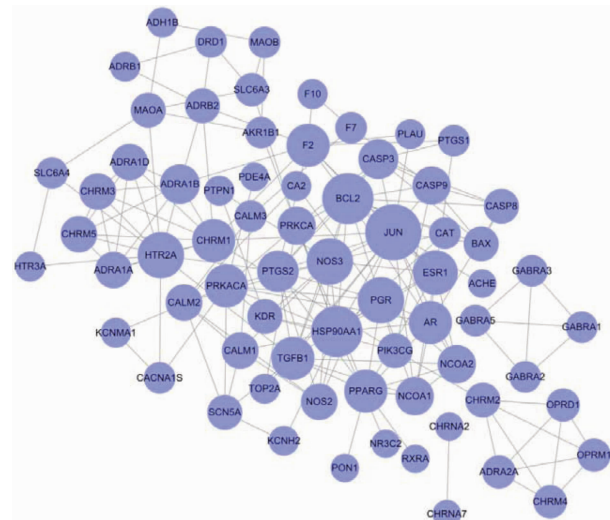


图 3 PPI 网络中的关键节点

Fig. 3 Hub nodes from PPI network

AR, CHRM1, F2, PPARG, PRKACA, TGFB1。Degree 最高的是 JUN 编码的转录因子活化蛋白-1 (activator protein-1, AP-1)。BCL2 和 HSP90AA1 的 Degree 均为 15。

2.4 GO 富集与通路富集分析 利用 DAVID 平台



节点表示蛋白, 节点的大小与节点的度呈正比例关系

图 2 吴茱萸汤相关靶点的 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of Wuzhuyu Tang related targets

的 GO 和 PATHWAY 富集分析功能,对吴茱萸汤 PPI 网络中涉及的 70 个蛋白的功能进行了研究。在 GO 富集分析中,根据错误发现率(false discovery rate, FDR)确定了 145 个 GO 条目(FDR < 0.05,表 3 根据 FDR 列出前 20 个),其中生物过程相关的条目 100

个,涉及系统过程的调控、多细胞生物过程的调控、信号转导、细胞增殖的调控、刺激反应的调控等方面;分子功能相关的条目 23 个,涉及受体活性、胺结合、神经递质结合、药物结合、乙酰胆碱结合等方面;细胞组成相关的条目 22 个,涉及质膜、突触、轴突等方面。

表 3 吴茱萸汤 PPI 网络中的 GO 条目(FDR < 0.05)

Table 3 List of GO enrichment results to genes in PPI network(FDR < 0.05)

类别	编号	名称	基因数/个	FDR
分子功能	0008227	amine receptor activity	14	$1.115\ 26 \times 10^{-17}$
分子功能	0043176	amine binding	16	$9.703\ 32 \times 10^{-15}$
细胞组成	0044459	plasma membrane part	40	$6.838\ 97 \times 10^{-12}$
细胞组成	0005886	plasma membrane	49	$8.627\ 54 \times 10^{-11}$
生物过程	0044057	regulation of system process	18	$1.639\ 8 \times 10^{-10}$
分子功能	0042165	neurotransmitter binding	13	$1.793\ 45 \times 10^{-10}$
分子功能	0008144	drug binding	11	$3.163\ 80 \times 10^{-10}$
生物过程	0051241	negative regulation of multicellular organismal process	14	$1.836\ 56 \times 10^{-9}$
分子功能	0030594	neurotransmitter receptor activity	12	$2.173\ 82 \times 10^{-9}$
细胞组成	0045211	postsynaptic membrane	13	$3.038\ 10 \times 10^{-9}$
细胞组成	0031226	intrinsic to plasma membrane	28	$6.422\ 44 \times 10^{-9}$
分子功能	0042166	acetylcholine binding	8	$1.033\ 94 \times 10^{-8}$
生物过程	0019932	second-messenger-mediated signaling	15	$1.128\ 76 \times 10^{-8}$
生物过程	0051240	positive regulation of multicellular organismal process	15	$1.875\ 22 \times 10^{-8}$
生物过程	0042127	regulation of cell proliferation	23	$1.887\ 36 \times 10^{-8}$
生物过程	0014070	response to organic cyclic substance	12	$2.624\ 74 \times 10^{-8}$
生物过程	0032101	regulation of response to external stimulus	13	$2.648\ 81 \times 10^{-8}$
细胞组成	0005887	integral to plasma membrane	27	$2.695\ 74 \times 10^{-8}$
生物过程	0010033	response to organic substance	22	$2.932\ 06 \times 10^{-8}$
生物过程	0007242	intracellular signaling cascade	27	$1.217\ 41 \times 10^{-7}$

在通路富集分析中,得到 23 条信号通路,根据 FDR < 0.05 筛选出 3 条信号通路(表 4,图 4),包括钙离子信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路、癌症信号通路,表明吴茱萸汤的有效成分可能通过作用于这些信号通路来达到治疗疾病的目的。本研究中,有 20 个基因富集在钙离子信号通路上,分别为 PRKCA, DRD1, CACNA1S, CHRM5, ADRB2, ADRB, CHRM3, CHRM2, CHRM1, ADRA1B, CALM3, ADRA1A, NOS3, CHRNA7, PRKACA, NOS2, CALM2, ADRA1D, CALM1, HTR2A;有 20 个基因富集在神经活性配体-受体相互作用信号通路上,分别为 OPRM1, DRD1, GABRA2, GABRA1, GABRA3, GABRA5, CHRM5, ADRB2, ADRB1, CHRM4, CHRM3, CHRM2, CHRM1, F2, ADRA1B, ADRA2A,

ADRA1A, ADRA1D, HTR2A, OPRD1;有 15 个基因富集在癌症信号通路上,分别为 PRKCA, PIK3CG, AR, HSP90AA1, PTGS2, RXRA, PPARG, TGFB1, Caspase-3, Caspase-9, JUN, Bax, Bcl-2, Caspase-8, NOS2。

表 4 吴茱萸汤 PPI 网络中的通路(FDR < 0.05)

Table 4 List of pathway enrichment results to genes in PPI network(FDR < 0.05)

编号	名称	基因数/个	FDR
hsa04020	calcium signaling pathway	18	3.13×10^{-9}
hsa04080	neuroactive ligand-receptor interaction	20	1.41×10^{-8}
hsa05200	pathways in cancer	15	1.10×10^{-2}

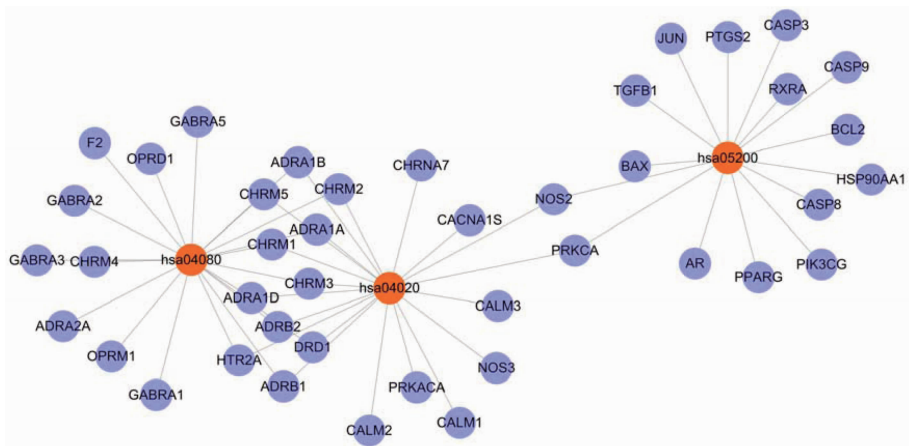


图 4 靶点-通路网络 (FDR < 0.05)

Fig. 4 Target-pathway network (FDR < 0.05)

3 讨论

吴茱萸汤具有温中补虚、散寒降逆的作用,是临床常用方剂之一^[2],用药历史悠久。为了研究吴茱萸汤的作用机制,本研究依托 TCMSIP 中药系统药理学分析平台,研究了吴茱萸汤 4 味中药(吴茱萸、生姜、人参、大枣)的有效成分,同时构建了化合物-靶点网络,分析了化合物与靶点直接的相互作用关系,为吴茱萸汤多成分、多靶点、多途径的治疗机制提供了参考。吴茱萸汤化合物-靶点网络中的关键化合物包含生姜中的 β -谷甾醇和豆甾醇,其 Degree 远高于其他化合物。由此推测生姜可能在吴茱萸汤中发挥关键作用,这与原方重用生姜使其发挥温胃散寒、降逆止呕等重要作用的初衷相一致。研究表明 β -谷甾醇具有抗炎、抑制肿瘤、免疫调节、防治前列腺肥大、抗氧化、抗高血脂、镇痛、促进伤口愈合等广泛的药理活性^[13];豆甾醇具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎症、降低血液中胆固醇、改善学习记忆等药理活性^[14]。吴茱萸汤化合物-靶点网络中的关键靶点包括 PTGS1, PTGS2 等,而这些关键靶点参与调控的疾病如痛经病、消化性溃疡等,与已有的吴茱萸汤治疗上述疾病的研究达成一致。PTGS 是花生四烯酸合成前列腺素类物质的关键性限速酶,有 2 种异构酶: PTGS1 和 PTGS2。PTGS 及其产物参与机体的肿瘤新生、血压调节、炎症反应、凝血平衡等多种生理和病理过程^[15]。现代医学对于痛经病最常用的一线治疗药物是前列腺素合成酶抑制剂,而吴茱萸汤能降低经血和子宫内膜前列腺素合成,使经期腹痛及其伴随症状得到明显改善^[16]。王皓宇^[17]研究表明,吴茱萸汤可以通过促进前列腺素合成抗消化性溃疡。由此可见,吴茱萸汤对 PTGS 的调控在治疗痛经病、消化性溃疡的过程中发挥重要作用。将吴

茱萸汤的靶点进行 PPI 映射并构建网络,对网络分析后发现了多个与多种复杂疾病紧密相关的关键靶点,如 AP-1, Bcl-2, HSP90 α 等。由此推测,吴茱萸汤正是通过多种组分与这些关键靶点直接或间接相互作用达到治疗疾病的目的。AP-1 是 Toll 样受体,肿瘤坏死因子受体, T 细胞受体, B 细胞受体等多种信号通路的关键下游,参与调控多种炎症介质及细胞因子的表达^[18]。吴歌^[19]通过对人参皂苷 Rh₂ 诱导小鼠前胃癌 MFC 细胞凋亡的信号转导机制进行研究,发现人参皂苷 Rh₂ 可通过上调核转录因子 c-Jun, ATF2 的表达,促进 AP-1 的活性,在转录水平调控凋亡相关蛋白,进而诱导凋亡发生而完成抑制肿瘤细胞分裂增殖进而杀死肿瘤细胞的全过程。冯子强^[20]研究表明,人参皂苷 Rh₂ 抑制肝癌 HepG2 细胞的迁移可能是通过 MAPK 通路抑制 AP-1 转录因子从而降低基质金属蛋白酶-3(MMP-3)的表达来实现的。李群益等^[21]研究表明,人参皂苷代谢产物能够抑制炎症因子 TNF- α 诱导的支气管上皮细胞分泌 RANTES,其机制可能与激活 GR,抑制 AP-1 对下游靶基因的调控有关。由此推测,人参在吴茱萸汤中虽然作为佐药,但是其对 AP-1 的调控可能在吴茱萸汤治疗多种复杂疾病中发挥着重要作用。B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)是一种肿瘤凋亡抑制基因,其基因产物是一种重要的调节正常 B 细胞发育和分化的抗凋亡蛋白,在恶性肿瘤细胞中对免疫化疗反应发挥着重要的调节作用,很多肿瘤细胞都测到 Bcl-2 水平升高的现象,例如黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌、慢性淋巴细胞白血病和结肠癌等^[22-23]。研究表明,吴茱萸碱可能通过下调 Bcl-2,促进人胶质瘤细胞、人结肠癌细胞、人肝癌细胞的凋亡^[24-26]。人参中的化学成分可以通过调控 Bcl-2 的表达对多种细胞

诸如胃癌侧群细胞、肝癌细胞、心肌缺血再灌注损伤细胞、间歇性高糖诱导的雪旺细胞、精索静脉曲张睾丸生精细胞等的凋亡过程发挥至关重要的作用^[27-32]。HSP90AA1 编码的热休克蛋白 90 α (HSP90 α) 作为热休克蛋白家族中的重要一员, 与肿瘤的发生、发展关系密切, 在一些癌基因及其产物诱导的转化细胞核以及许多肿瘤细胞中, HSP90 α 的表达均有所升高^[33-34]。刘泽洪等^[35] 通过研究人参皂苷 Rh₂ 对人白血病细胞体内抑制作用, 发现人参皂苷 Rh₂ 具有较好的体内抗肿瘤作用, 可能通过 HSP90 通路调节自噬凋亡, 抑制肿瘤细胞在体内增殖。为了说明吴茱萸汤作用靶点在基因功能和信号通路中的作用, 本研究对 PPI 网络中出现的基因进行了 GO 功能富集和通路富集分析。GO 功能富集分析发现, 吴茱萸汤治疗多种疾病的基因功能主要体现在受体活性、质膜、系统过程的调控等方面。KEGG 通路主要涉及钙离子信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路、癌症信号通路, 由此推测吴茱萸汤的有效成分可能通过作用于这些信号通路来达到治疗疾病的目的。钙离子信号通路中的关键分子具有多种生物学功能, 并且与调节细胞各种酶的活性、调节肌肉收缩和舒张、调节神经系统功能、参与刺激分泌偶联、调节糖代谢、调节前列腺素和胰岛素合成与释放、增强大脑记忆等生理作用密切相关^[36]。由此推测, 吴茱萸汤治疗各种消化系统疾病诸如肝寒犯胃型慢性浅表性胃炎, 虚寒型十二指肠球部溃疡, 慢性非特异性溃疡性结肠炎, 2 型糖尿病性胃轻瘫, 慢性胆囊炎^[6] 等可能是通过作用于该信号通路实现的。神经活性配体-受体相互作用信号通路是质膜上所有与细胞内外信号通路相关的受体配体的集合, 在生理学上与神经功能关系最密切^[37]。由此推测, 吴茱萸汤治疗各种神经精神系统疾病诸如偏头痛、眩晕、呕吐、呃逆、神经官能症、癔病、戒毒综合征^[6] 等可能是通过作用于该信号通路实现的。对于癌症的治疗, 牛占海等^[38] 以吴茱萸汤治疗上消化道癌并发泛吐清涎证 168 例, 治愈率 69%, 总有效率 92%。王莉^[39] 研究表明, 吴茱萸汤对小鼠肉瘤生长有一定的抑制作用, 对肿瘤血管形成有明显抑制作用, 降低血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达可能是其抑制肿瘤血管形成的主要机制之一。由此推测, 吴茱萸汤可能通过作用于癌症信号通路对癌症的治疗起到一定的作用, 然而相关临床报道较少, 还有待进一步深入研究。

综上所述, 本研究应用网络药理学方法, 对吴茱

萸汤复方多成分、多靶点、多途径的复杂网状关系进行研究。研究结果初步验证了吴茱萸汤的基本药理学作用和相关机制, 并为进一步深入探讨其作用机制奠定了良好的基础。

[参考文献]

- [1] 李冀. 方剂学 [M]. 3 版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 104.
- [2] 万清, 马宗华. 吴茱萸汤临床及实验研究进展 [J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31(3): 78-80.
- [3] 赵娟娟. 吴茱萸汤化学物质基础和对偏头痛大鼠的代谢组学研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2011.
- [4] 王皓宇. 吴茱萸汤抗消化性溃疡药效学及作用机理实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2006.
- [5] 李冀, 蒋蕾, 毕君辉. 吴茱萸汤的临床应用及实验研究进展 [J]. 中医药信息, 2008, 25(5): 62-64.
- [6] 王晓燕. 吴茱萸汤的药理作用与临床应用 [J]. 河南中医, 2009, 29(1): 100-102.
- [7] 吴嘉瑞, 金燕萍, 王凯欢, 等. 基于网络药理学的“金银花-连翘”药对作用机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 179-183.
- [8] 邱宏涛, 赵筱萍, 李正, 等. 基于网络药理学的五味子木脂素类主要药效作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 522-527.
- [9] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
- [10] 张建永, 王岚, 梁日欣, 等. 基于网络药理学分析丹参山楂组分配伍抗动脉粥样硬化的作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 4408-4415.
- [11] 刘惠. 基于系统药理学的甘草作用机制和新药发现研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [12] 李伯会. 大小柴胡汤“加減味”和郁金方“君臣佐使”的系统药理学研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [13] 肖志彬, 刘小雷, 成青, 等. β -谷甾醇对阿司匹林致胃黏膜损伤副作用及其药理作用的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 148-152.
- [14] 周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展 [J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.
- [15] 田亚汀, 张玉平, 田小菲, 等. 环氧化酶在肠道运动功能障碍中的作用 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(4): 1124-1127.
- [16] 张智慧. 吴茱萸汤加減治疗寒凝血瘀型原发性痛经的临床观察 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2012.
- [17] 王皓宇. 吴茱萸汤抗消化性溃疡药效学及作用机理实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2006.
- [18] 潘海燕, 薛陆静, 王逸平, 等. NF- κ B 和 AP-1 对 A 型流感病毒性心肌炎组织中异位胰蛋白酶及促炎细胞

- 因子表达的调控[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(5):791-796.
- [19] 吴歌. 人参皂苷单体 Rh₂ 诱导小鼠前胃癌 MFC 细胞凋亡的信号转导机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2008.
- [20] 冯子强. 中药有效成分抑制肿瘤细胞迁移和逆转多药耐药的实验研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2015.
- [21] 李群益, 陈莉, 张留弟, 等. 人参皂苷代谢产物 Compound K 抑制 TNF- α 诱导的人支气管上皮细胞分泌 RANTES[J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(7): 722-726.
- [22] 张克娟. CMYC、BCL2、BCL6 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及临床意义[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2016.
- [23] 高家明. PPAR α /Bcl2 信号诱导细胞凋亡[D]. 镇江: 江苏大学, 2016.
- [24] 曹志. 吴茱萸碱对人胶质瘤 U251 细胞增殖及凋亡影响的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [25] 赵绿翠, 张景勃, 游智梅, 等. 吴茱萸碱对人结肠癌细胞周期阻滞及凋亡的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(6): 863-869.
- [26] 杨杰. 吴茱萸碱抑制 HepG2 细胞 STAT3 信号通路研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2012.
- [27] 钱军, 刘元, 郭成旭, 等. 人参对胃癌 SGC-7901 侧群细胞裸鼠移植瘤生长及 Bcl-2、Bax 表达的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(6): 773-777.
- [28] 范洁, 张磊, 王啸. 人参皂苷 Rk3 对肝癌 HepG2 细胞凋亡的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(11): 1604-1608.
- [29] 王智昊. 25-羟基-原人参三醇对大鼠实验性心肌缺血/再灌注损伤的保护作用及机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [30] 刘晓敏. 人参皂苷 Rb₃ 及 Rb₂ 组合物对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [31] 薛冰, 梁琳琅, 宋威, 等. 人参皂苷 Rb1 抑制间歇性高糖诱导的雪旺细胞凋亡[J]. 实用药物与临床, 2016, 19(6): 666-670.
- [32] 李洋洲, 张大田. 人参皂苷 Rg₁ 对实验性精索静脉曲张大鼠睪丸生精细胞凋亡及 Bcl-2、Caspase-3 表达的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(6): 45-48.
- [33] 李卫华, 陈广原, 余湘文, 等. 乙型肝炎病毒 X 蛋白对人肝癌细胞 hsp90 α 基因表达调控机制研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(20): 1574-1579.
- [34] 刘凯胜, 邱贤秀, 王一飞. 人 Hsp90 α 基因克隆、中试发酵及生物信息学分析[J]. 生物技术, 2011, 21(3): 1-5.
- [35] 刘泽洪, 陈地龙, 姜蓉, 等. 人参皂苷 Rh₂ 促进 K562 细胞自噬凋亡的体内实验研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 700-704.
- [36] 段永强. Ca²⁺/CaM 信号通路在大鼠脾虚证躯体泛化效应中的响应及益气健脾中药干预研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2014.
- [37] 潘玲珍. 蜘蛛香药物依赖性评价的毒理基因组学研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2011.
- [38] 牛占海, 王艳馨. 吴茱萸汤治疗上消化道癌并发泛吐清涎证 168 例[J]. 陕西中医, 1997, 18(1): 9-10.
- [39] 王莉. 吴茱萸汤对鼠 S180 生长的抑制作用及其机制的实验研究[D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2006.

[责任编辑 邹晓翠]