

· 网络药理学 ·

痛泻要方主要有效成分的多靶点网络构建与机制分析

李帮洁, 缪乐涛, 芮俊乾, 丁雪健, 杨星昊*
(南京师范大学 生命科学学院, 南京 210023)

[摘要] 目的:对痛泻要方主要有效成分构建多靶点网络和机制分析,以阐明痛泻要方多成分、多靶点、多通路治疗肠易激综合征的药理机制。方法:利用数据库筛选出肠易激综合征相关基因,结合文献与数据库获取痛泻要方的目标成分和靶点,通过注释、可视化和集成发现数据库(DAVID)和京都基因组百科全书(KEGG)对靶点基因进行功能注释和通路富集分析,利用网络数据集成、分析和可视化(Cytoscape)软件构建痛泻要方的成分、靶点、疾病通路的相关网络并进行分析。结果:筛选得到痛泻要方中 25 种主要有效成分,相关靶点 37 个。以此为基础构建了目标成分-有效靶点(C-T)网络和成分-靶点-通路(C-T-P)网络,获得重要成分 12 个,核心靶点 11 个,关键通路 26 条,功能涉及胃肠道血管平滑肌、内分泌调节和神经免疫。结论:痛泻要方不同有效成分作用于多靶点网络,通过炎症反应调节、肠道感觉功能调节、免疫反应调节、精神心理调节和肠道感染与菌群紊乱调节等多途径发挥协同作用。

[关键词] 痛泻要方; 肠易激综合征; 多靶点网络; 机制分析; 通路分类; 网络药理学

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)08-0206-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180824

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180123.1531.015.html>

[网络出版时间] 2018-01-24 17:06

Multi-target Network Construction and Mechanism Analysis of Main Effective Components of Tongxie Yaofang

LI Bang-jie, MIAO Le-tao, RUI Jun-qian, DING Xue-jian, YANG Xing-hao*
(College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** A multi-target network and mechanism analysis of the main effective components of Tongxie Yaofang was carried out to illustrate the multi-component, multi-target and multi-pathway pharmacological mechanism of Tongxie Yaofang in treating irritable bowel syndrome. **Method:** Genes associated with irritable bowel syndrome were screened out through databases. Literatures and databases were retrieved to obtain the components and targets of Tongxie Yaofang. Functional annotation and pathway enrichment analysis of target genes were carried out by the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) databases. The components, targets and disease pathways-related networks of Tongxie Yaofang were constructed and analyzed by Cytoscape software. **Result:** A total of 25 main active components of Tongxie Yaofang were screened out, involving 37 related targets. Based on this, the target component-effective target (C-T) network and the component-target-pathway (C-T-P) network were constructed, including 12 important components and 11 core targets and 26 crucial pathways. The functions of target genes involved gastrointestinal vascular smooth muscle, endocrine regulation and nerve immunity. **Conclusion:** Various effective components of Tongxie Yaofang act on multiple targets network, and then have a

[收稿日期] 20171108(013)

[基金项目] 江苏省高校自然科学研究重大项目(15KJA360001)

[第一作者] 李帮洁,在读硕士,从事中药复方物质基础研究工作,E-mail:lbj321618@126.com

[通信作者] *杨星昊,博士,教授,从事中药复方物质基础研究工作,E-mail:yangxinh@126.com

synergistic effect by multiple channels, including regulating inflammation, intestinal sensory function regulation, immune response, psychological adjustment and intestinal infection and flora disorder.

[**Key words**] Tongxie Yaofang; irritable bowel syndrome; multi-target network; mechanism analysis; pathway classification; network pharmacology

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是常见肠功能紊乱性疾病。临床表现为腹部不适(腹痛、腹胀)和排便异常,以腹泻或便秘或混合出现为主要表现,且持续存在或间歇发作,被公认为临床常见病和疑难病。欧美国家患病率约为 10% ~ 15%,大部分亚洲国家的 IBS 流行率在 5% ~ 10% 之间。我国该类疾病发病率呈上升趋势^[1]。由于该病发病机制尚不完全清楚,临床主要化学药物(5-HT 受体拮抗剂和 5-HT 受体激动剂等)不同程度地存在“应用局限性、疗效不理想、毒副作用大”等缺点^[2],替加色罗、阿洛司琼等主流化学药物由于严重毒副作用已退出市场^[3]。因此,亟需新颖机制的药物问世。

中国传统医学将 IBS 相关症状归为“腹痛”、“泄泻”、“便秘”范畴,中医药治疗 IBS 在总痊愈率、总有效率、复发率、毒副作用等方面具有明显特色和优势^[1]。国际医学界也已肯定了中药在 IBS 临床治疗领域具有良好的前景^[4-5]。痛泻要方为《丹溪心法》所载的名方,由白术、白芍、陈皮和防风 4 味药物组成,具有调和肝脾,补脾柔肝,祛湿止泻之功效,现代用于治疗 IBS 疗效显著,是中医临床最常用基础方^[6]。动物实验研究表明,痛泻要方具有提高内脏痛阈、抗肠道过敏、调节肠道分泌、舒张肠道平滑肌等作用^[7-10],提示痛泻要方中可能蕴含了治疗 IBS 的多靶点有效成分群和独特作用机制,值得认真研究和借鉴。

现有文献表明,白术、白芍、陈皮和防风 4 味药物中化学成分种类繁多,结构复杂。笔者前期应用液质联用技术对痛泻要方中化学成分进行了药物代谢研究,筛选得到一批体内含量高、滞留时间长、结构类型特征性强的化学成分及其代谢物,包括单萜类、三萜类、二氢黄酮、多甲氧基黄酮、色原酮等。在此基础上重点研究了痛泻要方中 11 种不同类型药代标记物的大鼠体内代谢趋势,揭示了 5-O-甲基维斯阿米醇(GMV),甘草苷(liquiritin)等成分的体内代谢转化规律^[11-12]。但痛泻要方治疗肠易激综合症的作用机制和有效物质基础还缺乏系统研究。

系统药理学由英国著名药理学家 Hopkins 2007

年提出,它融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络分析等多学科的技术和内容,总结药物分子-药物靶点-疾病三者之间的关系,是通过生物系统网络分析进行多靶点药物分子设计及药理及毒理研究的新兴学科^[13]。系统药理学从整体的角度去探索药物与疾病间的关联性,有利于全面地揭示中药作用于机体后多成分、多途径和多靶点的特征。为了揭示痛泻要方有关化学成分与生物分子的相互作用规律,在生物分子层面阐明有关化学成分的作用靶点和作用机制,笔者选取了痛泻要方中 25 种代表性有效成分,应用系统药理学方法构建了目标成分-有效靶点(C-T)网络、通过网络中心度与节点度分析,筛选重要成分和核心靶点,并由此构建重要成分-核心靶点网络以及成分-靶点-通路(C-T-P)网络。本研究试图通过相关网络的构建分析进而发现痛泻要方作用的关键靶点和信号通路,为深入研究痛泻要方的作用机制和物质基础提供理论依据,为揭示 IBS 的发病机制提供参考线索。

1 材料和方法

1.1 目标化合物的选取 一方面通过中国知网(CNKI),万方数据库,Web of Science,SciFinder 等进行文献检索和中药潜在靶点数据库(TCM-PTD)^[14]及本课题组前期研究结果,选择痛泻要方中具有代表性的结构类别成分,如烯萜类、香豆素类、挥发油类、黄酮类、脂肪酸类、内脂类、甾醇类、色原酮类。另一方面选择已被验证具有显著活性的有效成分或吸收入血成分。综合以上 2 个方面,选取芍药苷,欧前胡素,苍术酮,川陈皮素,棕榈酸,白术内脂 I,β-谷甾醇,5-O-甲基维斯阿米醇苷为代表的 25 种目标化合物作为研究对象。

1.2 基因信息来源 通过在美国国立生物技术信息中心(NCBI)与以色列魏兹曼科学研究所(GeneCards)数据库(<http://www.genecards.org>)中输入 IBS(irritable bowel syndrome)并且将筛选条件选择为 Homo sapiens 得 IBS 相关基因。

1.3 靶点基因的获得 ①采用中药系统药理学分析平台(TCMSP)与药物银行(DrugBank)数据库获得与验证成分对应靶点的基因名和蛋白全称。②使用 UniProt 数据库^[15]对靶点的基因和蛋白名进行校

对。③通过 STRING 数据库^[16]进行蛋白质相互作用网络(PPI)的构建,设置筛选条件,物种为 Homo sapiens,蛋白的最大关联数不超过 10 个,最低相关得分为 0.700 即高度置信。获得与 IBS 相关基因具有直接和间接关联的靶点基因。

1.4 靶点基因的功能注释和通路富集分析 通过可视化和集成发现数据库(DAVID)数据库(version6.8)在线获得目标成分作用靶点的生物功能注释分析,通过京都基因组百科全书(KEGG)数据库进行靶点基因的通路富集分析。

1.5 网络构建与分析 应用 CytoScape v3.5.1 构

建并分析相关网络,①成分-靶点网络,形成成分与靶蛋白的联系。②重要成分-核心靶点网络,采用大于网络平均节点度的成分和靶点构建网络,筛选重要成分和核心靶点。③构建成分-靶点-通路网络,分析痛泻要方的关键信号通路。

2 结果与分析

2.1 痛泻要方治疗 IBS 的目标成分 通过检索有关白术、白芍、防风、陈皮 4 味药材化学成分及药理作用的文献 38 篇,采用 TCM-PTD 查阅相关中药成分/化合物信息。在整合检索结果的基础上,筛选确定 25 个目标成分,见表 1。

表 1 痛泻要方中 25 个目标成分信息

Table 1 Information for 25 target components of Tongxie Yaofang

中文名	英文名	CAS 号	分子式	相对分子质量	中药材
苍术酮	atractylon	6989-21-5	C ₁₅ H ₂₀ O	216.324	白术
白术内酯 I	atractylenolide I	73069-13-3	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	230.307	白术
白术内酯 III	atractylenolide III	73030-71-4	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	248.322	白术
β-谷甾醇	β-sitosterol	83-46-5	C ₂₉ H ₅₀ O	414.718	白术
芍药苷	paeoniflorin	23180-57-6	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.466	白术
丹皮酚	paeonol	552-41-0	C ₉ H ₁₀ O ₃	166.176	白术
齐墩果酸	oleanic acid	508-02-1	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456.711	白芍
棕榈酸	palmitic acid	57-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.430	白芍
苯甲酸	benzoic acid	65-85-0	C ₇ H ₆ O ₂	122.123	白芍
5-O-甲基维斯阿米醇苷	5-O-methylvisamminol	80681-42-1	C ₁₆ H ₁₈ O ₅	290.315	防风
胡萝卜苷	sitoglucoside	474-58-8	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	576.859	防风
欧前胡素	imperatorin	482-44-0	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.284	防风
石防风素	deltoin	19662-71-6	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	328.364	防风
川白芷内酯	anomalin	73069-28-0	C ₂₄ H ₂₆ O ₇	426.465	防风
紫花前胡苷元	nodakenetin	13849-08-6	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246.262	防风
嗉皮啶	fraxidin	525-21-3	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	222.196	防风
珊瑚菜内脂	phellopterin	2543-94-4	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.31	防风
麝香草酚	thymol	89-83-8	C ₁₀ H ₁₄ O	150.221	陈皮
α-松油醇	α-terpineol	10482-56-1	C ₁₀ H ₁₈ O	154.253	陈皮
川陈皮素	nobiletin	478-01-3	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	402.399	陈皮
橘皮素	tangeretin	481-53-8	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	372.373	陈皮
柚皮素	naringenin	480-41-1	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.256	陈皮
γ-松油烯	γ-terpinene	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	136.238	陈皮
汉黄芩素	wogonin	632-85-9	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.267	陈皮
柠檬醛	citral	5392-40-5	C ₁₀ H ₁₆ O	152.237	陈皮

2.2 IBS 相关基因信息的获得与筛选 通过 NCBI 数据库得到 74 个 IBS 相关基因。通过 GeneCards 数据库中检索得到 IBS 相关基因数共 768 个。通过

二者的比较分析,将 62 个公共基因作为 IBS 相关基因,表 2 列出了前 10 个与 IBS 相关度较高的基因名称。

表 2 IBS 相关基因信息(前 10)

Table 2 Related gene information of irritable bowel syndrome

No.	基因名称	Gene ID	相关度评分
1	TNF	7124	63.18
2	IL-10	3586	52.38
3	IL-6	3569	49.93
4	IL-1 β	3553	47.97
5	TLR4	7099	32.97
6	TGF- β_1	7040	28.16
7	IL-1RN	3557	27.59
8	CXCL8	3576	26.02
9	MMP-9	4318	23.54
10	COMT	1312	23.44

表 3 通过 PPI 得到的有效靶点

Table 3 Effective targets obtained by PPI

关联基因	No.	UniProt entry	蛋白名称	基因名称	IBS 相关基因
直接	1	Q14524	sodium channel protein type 5 subunit alpha	SCN5 α	SCN5 α
	2	P28223	5-hydroxytryptamine receptor 2A	HTR2A	HTR2A
	3	P01375	tumor necrosis factor	TNF	TNF
	4	P08913	Alpha-2A adrenergic receptor	ADRA2A	ADRA2A
	5	Q15848	adiponectin	ADIPOQ	ADIPOQ
	6	P10145	interleukin-8	CXCL8	CXCL8
	7	P01137	transforming growth factor beta-1	TGF- β_1	TGF- β_1
	8	P01584	interleukin-1 beta	IL-1 β	IL-1 β
间接	1	P08588	Beta-1 adrenergic receptor	ADRB1	GNB3
	2	P35348	alpha-1A adrenergic receptor	ADR α 1A	GNB3
	3	P35368	alpha-1B adrenergic receptor	ADR α 1B	GNB3
	4	P35372	mu-type opioid receptor	OPRM1	CNR1
	5	P15692	vascular endothelial growth factor A	VEGFA	TGF- β_1
	6	P05231	interleukin-6	IL-6	FOS, IL-1 β
	7	P04150	glucocorticoid receptor	NR3C1	FOS
	8	Q12809	potassium voltage-gated channel subfamily H member 2	KCNH2	SCN5A

通路富集分析通过 KEGG 数据库获得,将 $P < 0.05$ 设置为 pathway 结果富集的筛选标准^[17],共有 59 条通路满足条件。经与 IBS 相关通路的二次筛选,得到 26 条关键通路,见表 7。

2.5 网络构建与分析 将目标成分与对应的靶点导入 Cytoscape 软件构建出 C-T 网络(图 1)。运用该软件中的 Network Analyzer 工具分析成分-靶点网络图的中介中心度(betweennesscentrality)与节点度(Degree),网络中节点数共有 67 个。25 个目标成分的平均节点度为 4,共有 12 个成分节点度 > 4 确定为重要成分;有效靶点的平均节点度为 2.24,大

2.3 有效靶点获取 通过 UniProt,STRING 数据库分别对靶蛋白进行校对和 PPI 构建,获得与肠易激综合征相关基因具有直接和间接关联的靶点基因,共 37 个。其中 8 个靶基因是直接关联,另外 29 个为间接关联。表 3 列出了其中直接关联基因和部分间接关联基因。

2.4 靶点基因的功能注释与通路富集分析 应用 DAVID 数据库进行靶点基因的功能注释。将 $P < 0.01$ 设定为基因本体(GO)结果的筛选条件^[17],得到符合条件的 GO terms 共 117 个。其中细胞组分有 9 个,生物过程有 94 个,分子功能有 14 个。表 4~6 分别列出了 P 最小的前 5 个 GO terms 结果。

于平均节点度的靶点共有 11 个确定为重要成分,以此构建重要成分-核心靶点网络^[18](图 2),其中重要成分平均节点度为 3.75,核心靶点平均节点度为 4。为了更加直观了解痛泻要方成分的网络调控作用,构建 C-T-P^[19](图 3),由 22 个成分,29 个靶点,26 条通路组成,其中成分平均节点度为 3.41,靶点平均节点度为 7.69,通路平均节点度为 5.69。

3 讨论

本文应用文献挖掘结合数据库检索的方式筛选得到目标成分 25 个,其中 6 个来自白术,3 个来自白芍,8 个来自防风,8 个来自陈皮(表 2)。这些目

表 4 靶点基因的生物过程注释

Table 4 Biological process annotation of target genes

生物过程	基因数/个	P
GO:0071880 (adenylate cyclase-activating adrenergic receptor signaling pathway)	7	1.15×10^{-12}
GO:0031663 (lipopolysaccharide-mediated signaling pathway)	7	3.77×10^{-11}
GO:0070374 (positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade)	10	4.95×10^{-11}
GO:0042493 (response to drug)	11	2.91×10^{-10}
GO:0032811 (negative regulation of epinephrine secretion)	4	3.03×10^{-8}

表 5 靶点基因的细胞组分注释

Table 5 Cellular component annotation of target genes

生物过程	基因数/个	P
GO:0045121 (membrane raft)	7	2.00×10^{-6}
GO:0005887 (integral component of plasma membrane)	13	5.01×10^{-6}
GO:0005901 (caveola)	5	6.31×10^{-6}
GO:0005576 (extracellular region)	13	1.88×10^{-5}
GO:0005615 (extracellular space)	12	2.02×10^{-5}

表 6 靶点基因的分子功能注释

Table 6 Molecular function annotation of target genes

生物过程	基因数/个	P
GO:0051379 (epinephrine binding)	4	1.49×10^{-7}
GO:0005515 (protein binding)	31	8.61×10^{-6}
GO:0004937 (alpha1-adrenergic receptor activity)	3	1.18×10^{-5}
GO:0004938 (alpha2-adrenergic receptor activity)	3	1.18×10^{-5}
GO:0005125 (cytokine activity)	6	2.53×10^{-5}

标成分包括了烯萜类、香豆素类、黄酮类、脂肪酸类、内酯类、色原酮类、甾醇类等 7 种化学类型。

这些目标成分具有以下特征,药材中含量较高;具有显著的药理活性;体内吸收代谢特征显著。例如,苍术酮在白术挥发油中含量最高(31.93% ~ 61.00%),白术内脂 I,β-谷甾醇等经动物实验表明能显著降低白细胞介素-6(IL-6),肿瘤坏死因子-α(TNF-α),Toll 样受体 4(TLR4),组胺等炎症因子水平^[20]或降低小鼠毛细血管通透性发挥抗炎作用^[21]。α-松油醇、麝香草酚等改变细菌细胞壁和膜的通透性变化表现出较好的抑菌活性^[22-23]。芍药苷,白术内脂 III,5-O-甲基维斯阿米醇苷等抑制 TNF-α 诱导的平滑肌细胞增殖,缓解肠道功能紊

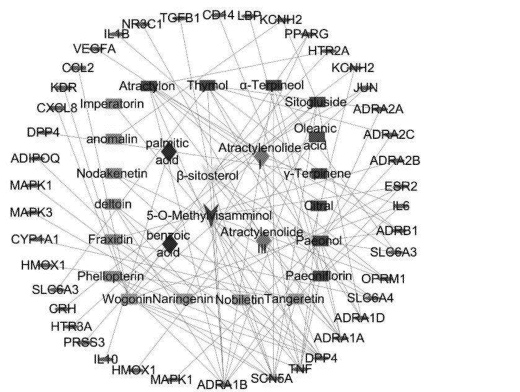
表 7 靶点基因的通路富集分析

Table 7 Pathway enrichment analysis of target genes

No.	生物过程	基因数/个	P
1	hsa04620;Toll-like receptor signaling pathway	9	2.37×10^{-8}
2	hsa04621;NOD-like receptor signaling pathway	6	5.32×10^{-6}
3	hsa05321;inflammatory bowel disease (IBD)	6	1.13×10^{-5}
4	hsa04060;cytokine-cytokine receptor interaction	8	8.42×10^{-5}
5	hsa04668;TNF signaling pathway	6	1.30×10^{-4}
6	hsa04064;NF-kappa B signaling pathway	5	7.26×10^{-4}
7	hsa04010;MAPK signaling pathway	7	1.14×10^{-3}
8	hsa04350;TGF-beta signaling pathway	4	7.27×10^{-3}
9	hsa04066;HIF-1 signaling pathway	4	1.11×10^{-2}
10	hsa04510;focal adhesion	5	1.60×10^{-2}
11	hsa04664;fc epsilon RI signaling pathway	3	4.14×10^{-2}
12	hsa05210;colorectal cancer	4	3.10×10^{-3}
13	hsa04261;adrenergic signaling in cardiomyocytes	7	5.55×10^{-5}
14	hsa04915;estrogen signaling pathway	5	1.14×10^{-3}
15	hsa04020;calcium signaling pathway	5	9.91×10^{-3}
16	hsa04270;vascular smooth muscle contraction	5	2.33×10^{-3}
17	hsa04022;cGMP-PKG signaling pathway	9	7.80×10^{-7}
18	hsa04068;FoxO signaling pathway	5	3.58×10^{-3}
19	hsa04660;T cell receptor signaling pathway	5	1.37×10^{-3}
20	hsa04672;intestinal immune network for IgA production	3	2.09×10^{-3}
21	hsa04080;neuroactive ligand-receptor interaction	11	3.72×10^{-7}
22	hsa04730;long-term depression	3	3.30×10^{-2}
23	hsa04726;serotonergic synapse	5	1.80×10^{-3}
24	hsa05132;salmonella infection	8	9.27×10^{-8}
25	hsa05131;shigellosis	3	3.71×10^{-2}
26	hsa05146;amoebiasis	7	8.94×10^{-6}

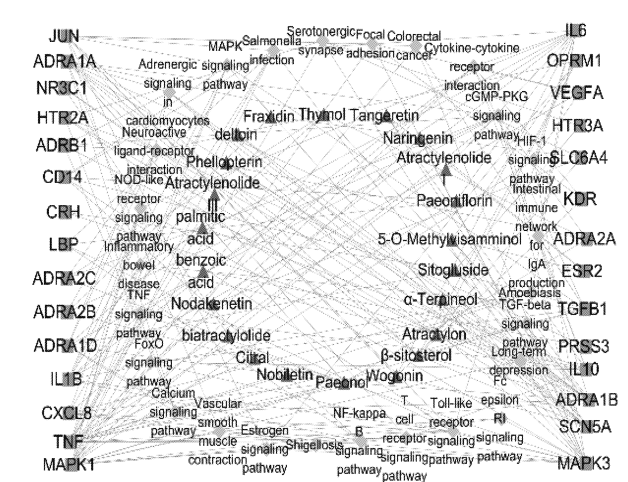
乱^[24],调节机体中枢神经的功能^[25]。因此,以上目标成分能够代表痛泻要方中化学成分多样性和有效性。

从痛泻要方涉及的靶点和 IBS 的相关基因的功能分析表明,相关的生物分子调节发生在细胞膜内外(GO:0005576,GO:0005615),细胞质(GO:0032839),细胞间隙及神经元(GO:0043204,GO:0043025)。生物学机制涉及血管收缩(GO:0045907),肾素分泌(GO:0032811,GO:0010700),

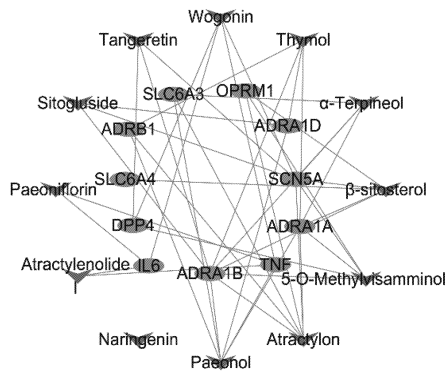


橙色圆形. 靶点; 绿色矩形. 香豆素类; 蓝色矩形. 萜萜类; 浅蓝色矩形. 黄酮类; 灰色菱形. 脂肪酸类; 紫色菱形. 内脂类; 黄色 V 形. 甾醇类; 红 V 形. 色原酮类

图 1 痛泻要方“目标成分—有效靶点”网络
Fig. 1 ‘Target component-effective target’ network of Tongxie Yaofang



红色三角形. 成分; 蓝色矩形. 靶点; 黄色菱形. 通路
图 3 痛泻要方相同靶点“成分—靶点—通路”网络
Fig. 3 ‘Component-target-pathway’ network of Tongxie Yaofang with same target



红 V 形. 重要成分; 蓝色圆形. 核心靶点
图 2 痛泻要方“重要成分—核心靶点”网络
Fig. 2 ‘Important component-core target’ network of Tongxie Yaofang

信号通路与传导 (GO:0071880, GO:0032811)。分子功能包括 α 肾上腺素能受体活性 (GO:0004937, GO:0004938, GO:0031694), 蛋白质结合 (GO:0005515, GO:0042802, GO:0097110), 细胞与生长因子活性 (GO:0008083, GO:0005125) 等。

痛泻要方涉及的生物学通路可划分为 5 类, 分别是炎症反应调节 No. 1 ~ No. 12; 肠道感觉和肠道功能调节 No. 13 ~ No. 18 和 No. 23; 免疫反应调节 No. 19 ~ No. 21; 精神心理调节 No. 22 ~ No. 23; 肠道感染及菌群紊乱 No. 24 ~ No. 26。其中炎症反应调节和肠道感觉功能调节通路在痛泻要方治疗 IBS 发挥了主导地位。例如, 炎症反应调节共涉及 12 条通路, 包括介导炎症反应信号、产生炎症因子核因子, 调控参与炎症反应的早期和炎症反应各阶段、增强局部血管通透性调节炎症反应和促进嗜碱性细胞释

放炎症介质与表达黏附分子产生肠道炎症等; 肠道感觉功能调节, 共有 6 条相关通路, 如调节血管平滑肌收缩和舒张、肠分泌雌性激素与肾上腺素能信号、促进血管平滑肌细胞增殖等。此外, 痛泻要方作用的生物学通路还涉及免疫反应调节 (hsa04660, hsa04672, hsa04080), 精神心理调节 (hsa04730, hsa04726), 肠道感染及菌群紊乱 (hsa05131, hsa05146)。目前普遍认为 IBS 的病理生理学基础主要是肠道动力异常、内脏高敏感性、脑-肠轴功能紊乱、遗传、抑郁因素等多因素共同作用^[2]。已有临床和实验研究显示, 痛泻要方通过降低血清 5-HT, 血浆 SP 含量, 减弱背角神经元兴奋性, 从而提高内脏痛阈, 消除肠道过敏^[7]; 通过改善肥大细胞 (MC) 形态, 显著降低肠黏膜 P 物质 (SP) 等调控肠道神经介质同免疫细胞之间的关系, 降低内脏高敏感性^[8, 26]。痛泻要方抑制 GLP-1, SP 等胃肠道激素水平, 降低胃肠激素血管活性肽 (VIP) 含量, 通过脑-胰岛-肠轴调节肠道分泌、消除肠道功能紊乱等^[9-10], 验证了本文的理论预测。因此, 痛泻要方中主要有效成分可能通过炎症反应调节、胃肠道血管平滑肌调节、内分泌调节等多靶点、多途径的方式实现降低内脏高敏感、改善肠道功能、抗抑郁等作用。

本研究筛选获得 25 种主要有效成分, 37 个作用靶点和 26 条疾病通路。在此基础上构建了痛泻要方多靶点网络 (图 1)。通过网络分析进一步筛选得到 12 个重要成分 (平均节点度 >4), 11 个核心靶点 (大于平均节点度 2.24) (图 2)。本研究发现, 白术内脂 I, 芍药苷, 丹皮酚, 苍术酮, β -谷甾醇等主要

作用于核心靶点 SCN5A, TNF, IL-6, ADRB1, ADRA1A, ADRA1B, ADRA1D, 调节炎症反应。5-O-甲基维斯阿米醇苷、芍药苷等成分通过作用核心靶点 ADRB1, ADRA1A, SLC6A3, IL-6, TNF, 调节肠道感觉功能。齐墩果酸、汉黄芩素、麝香草酚、柠檬醛等主要有效成分等通过作用 SCN5A, SLC6A3, ADRA1A, SLC6A4 等核心靶点调节免疫反应、精神心理和肠道感染与菌群紊乱(图 3)。相关实验研究表明,白术内酯 I 作用于白细胞膜和 TLR4 受体,高剂量组显著降低小鼠腹膜炎引起的毛细血管通透性增加,涉及核转录因子 κ B (NF- κ B), Toll 样受体信号通路^[27];芍药苷下调 NF- κ B 和 Bcl-2 表达水平,阻断 Toll 样受体信号通路减轻免疫介导的炎症反应^[25];丹皮酚降低 IL-6, IL-10 等炎症相关的 42 个基因的表达,抑制 NF- κ B 途径^[28]; β -谷甾醇降低炎症因子 TNF, IL-6 等表达水平,下调 NF- κ B p65 信号转导通路的活化^[21];苍术酮能显著降低 IL-6, TNF, TLR7 (Toll 受体家族的成员之一)等炎症因子水平和抑制 NF- κ B p65 表达等^[20],显示了这些重要成分对炎症反应的调节作用。5-O-甲基维斯阿米醇苷拮抗 TNF- α 诱导平滑肌细胞增殖的作用^[24];芍药苷通过调节细胞膜 Ca^{2+}/Na^{+} 交换来舒张平滑肌细胞^[25];白术内酯 III 影响 MAPK, PI3K-Akt 信号通路,抑制胃肠运动,降低大鼠回肠自发运动的收缩力^[29],表明相关重要成分有效调节肠道感觉功能,这些发现为本研究理论预测提供了实验佐证。本研究结果进一步提示,芍药苷,丹皮酚,齐墩果酸,白术内酯 III, β -谷甾醇,5-O-甲基维斯阿米醇苷,棕榈酸主要是通过调控炎症反应调节、肠道感觉功能调节、免疫反应调节、精神心理调节 4 类通路而发挥治疗 IBS 的作用;石防风素、麝香草酚、汉黄芩素主要是通过调控肠道感染与菌群紊乱通路而发挥治疗作用。本文研究结果说明痛泻要方中不同有效成分主要通过作用于 11 个核心靶点,调节 26 条关键通路实现治疗作用。

4 结论

本研究构建痛泻要方中主要有效成分治疗 IBS 的多靶点网络,揭示了痛泻要方有效成分通过多靶点,多通路的协同方式在 IBS 发生、发展过程中发挥作用,阐明了 12 个重要成分通过作用于 11 个核心靶点,在炎症反应调节、肠道感觉功能调节、免疫反应调节、精神心理调节和肠道感染与菌群紊乱等方面的 26 条关键疾病通路中发挥着改善肠道动力异常、降低内脏高敏感性以实现整体、协同治疗 IBS 的

目的。为进一步研究痛泻要方治疗 IBS 提供了理论预测和参考依据。

[参考文献]

- [1] 苏冬梅,张声生,刘建平,等. 中医药治疗腹泻型肠易激综合征的系统评价研究[J]. 中华中医药杂志, 2009,24(4):532-535.
- [2] 李晓青,常敏,许东,等. 中国肠易激综合征流行病学调查现状分析[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2013,22(8):734-739.
- [3] 刘雁冰,袁耀宗. 肠道炎症引起功能性胃肠动力异常的机制[J]. 诊断学理论与实践,2006,5(1):16-19.
- [4] Bensoussan A, Talley N J, Hing M, et al. Treatment of irritable bowel syndrome with Chinese herbal medicine [J]. JAMA,1998,280(18):1585-1589.
- [5] Thompson D L. Complementary healthcare practices; east meets west; The use of traditional Chinese medicine for gastrointestinal disorders [J]. Gastroenterol Nurs, 2003, 26(6):266-268.
- [6] 梁瑞峰,葛文静,王慧森,等. 痛泻要方加减引经药防风对肠易激综合征大鼠内脏敏感性及脑肠轴不同靶点脑肠肽的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(2):152-157.
- [7] 赵玉斌,李佃贵. 痛泻要方对肠道高敏感性肠易激综合征大鼠模型疗效和作用机理的研究[J]. 中成药, 2006,28(6):852-855.
- [8] 余萍,张成,陈敏,等. 痛泻要方缓解肠易激综合征患者内脏高敏机制研究进展[J]. 辽宁中医杂志,2016, 43(1):216-217.
- [9] 肖亚,熊艾君,何文智,等. 痛泻要方对腹泻型肠易激综合征大鼠胃肠激素的影响[J]. 中国当代医药, 2010,17(3):20-22.
- [10] 李冬华,李春森,李伍善,等. 痛泻要方对肠易激综合征模型大鼠血管活性肠肽的影响[J]. 时珍国医国药,2007,18(9):2098-2099.
- [11] YAN Z X, YANG X H. Qualitative and quantitative analysis of chemical constituents in traditional Chinese medicinal formula Tong-Xie-Yao-Fang by high-performance liquid chromatography/diode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta,2011,691(1/2): 110-118.
- [12] LI T X, HU L, YANG X H. A sensitive UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of eleven bioactive components of Tong-Xie-Yao-Fang decoction in ratbiological matrices [J]. J Chromatogr B,2014,944: 90-100.
- [13] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. Nat

- Biotechnol, 2007, 25(10): 1110-1111.
- [14] 范晓辉, 程翼宇, 张伯礼. 网络方剂学: 方剂现代研究的新策略[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(1): 1-6.
- [15] 高宁, 李天聪, 程玉鹏, 等. 龙胆裂环烯醚萜类有效成分作用机理的网络药理学研究[J]. 化学工程师, 2017, 31(1): 14-16.
- [16] 刘鑫馗, 吴嘉瑞, 张晓朦, 等. 基于网络药理学的参附汤作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 211-218.
- [17] 刘洪, 范欣生. 三拗汤主要功效成分多靶点网络构建[J]. 中草药, 2015, 46(22): 3370-3376.
- [18] 蔡菲菲, 李晓燕, 董姝, 等. 基于网络药理学的茵陈蒿汤“异病同治”研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(9): 1507-1514.
- [19] ZHAO F, LI G C, YANG Y H, et al. A network pharmacology approach to determine active ingredients and rationality of herb combinations of Modified-Simiaowan for treatment of gout[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 168: 1-16.
- [20] 陈天阳, 薛建华, 侯天禄, 等. 苍术酮对急性肺损伤小鼠血清细胞因子和 TLR7 信号通路的影响[J]. 中国中医急症, 2017, 26(6): 952-955.
- [21] 姚凤, 周清燕, 熊瑛, 等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 55-61.
- [22] 石超峰, 殷中琼, 魏琴, 等. α -松油醇对大肠埃希菌的抑菌作用及其机理研究[J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44(5): 796-801.
- [23] 廖芳, 杨振德, 黄庆华, 等. 麝香草酚和香荆芥酚对痢疾杆菌和肠炎常见菌的体外抗菌效应[J]. 医药导报, 2005, 24(10): 868-870.
- [24] 王岚, 梁日欣, 曹莹, 等. 升麻苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷对 TNF- α 所致大鼠胸主动脉平滑肌细胞增殖的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(17): 2157-2160.
- [25] 郑世存, 李晓宇, 欧阳兵, 等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(2): 100-103.
- [26] 旺建伟, 叶虹玉, 殷越, 等. 痛泻要方对肠易激综合征内脏高敏性大鼠结肠组织肥大细胞活化、P 物质表达及相关性的影响[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(6): 1982-1986.
- [27] 李翠芹, 贺浪冲. 白细胞膜色谱模型建立与白术中 TL4 受体拮抗活性成分筛选研究[J]. 中国科学, 2005, 35(6): 545-550.
- [28] 胡云飞, 徐国兵. 牡丹皮及其主要成分丹皮酚的药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2014, 18(4): 589-592.
- [29] 陈一竹, 杨文龙, 郭玲玉, 等. 白术内酯 3 抗血小板作用及其机制[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(3): 514-517.

[责任编辑 周冰冰]