

· 数据挖掘 ·

基于网络药理学的小陷胸汤治疗冠心病作用机制

关庆亚^{1,2}, 王阶^{1,2*}, 张云², 刘咏梅², 张振鹏², 熊兴江², 何俊明^{2,3}
(1. 湖北中医药大学, 武汉 430065; 2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;
3. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712083)

[摘要] **目的:** 通过网络药理学方法预测小陷胸汤治疗冠心病靶标并分析其作用特征, 构建“成分-靶标-通路”网络药理模型, 揭示小陷胸汤治疗冠心病的潜在通路机制。**方法:** 中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 获得药物有效成分, Swiss 靶标预测数据库 (Swiss Target Prediction) 反向药效团匹配法预测“小陷胸汤-冠心病”靶标; 治疗靶标数据库 (TTD), Drugbank, 疾病-基因网数据库 (DisGeNET) 取美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的冠心病并集靶标。韦恩图获得相关交集, GEO2R 在线分析靶标特征, Funrich version 3 软件分析生物过程, 运用插件 Reactome FI 对靶标通路富集分析, 采用 Cytoscape 软件构建“成分-靶标-通路”网络。**结果:** 网络分析表明, 小陷胸汤治疗冠心病是通过 25 个治疗成分调控 24 个靶标, 通过 GEO2R 在线多个基因芯片分析, 靶标存在上下调差异, 上调靶标 11 个, 下调靶标 13 个, 作用于 4 大生物过程, 21 条具体通路。**结论:** 小陷胸汤治疗冠心病的机制可能是通过黄连生物碱类和黄酮类、半夏的核苷类和有机酸类、瓜蒌的甾醇类和黄酮类参与基因表达、新陈代谢、蛋白质代谢等生物过程, 调节相关靶蛋白的基因表达, 调控基因转录通路、生物氧化反应和脂类和脂蛋白代谢、胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBPs) 对胰岛素样生长因子 (IGF) 转运和摄取、细胞外基质的降解等信号通路。

[关键词] 小陷胸汤; 冠心病; 网络药理学; 成分-靶标-通路

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R287; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)05-0152-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20200322

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191017.1329.007.html>

[网络出版时间] 2019-10-17 15:00

Network Pharmacology-based Mechanism of Xiao Xianxiongtang in Treatment of Coronary Heart Disease

GUAN Qing-ya^{1,2}, WANG Jie^{1,2*}, ZHANG Yun², LIU Yong-mei², ZHANG Zhen-peng²,
XIONG Xing-jiang², HE Jun-ming^{2,3}

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;

3. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China)

[Abstract] **Objective:** To predict Xiao Xianxiongtang's treatment of coronary heart disease (CHD) targets and analyze their function by the network pharmacology method, and build ingredients-targets-channel network pharmacological model, in order to reveal potential pathways and mechanisms of Xiao Xianxiongtang for CHD treatment. **Method:** Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) was used to obtain components, and CHD targets over Xiao Xianxiongtang were predicted by using Swiss Target Prediction reverse pharmacophore matching method. CHD targets which Food and Drug Administration (FDA) approved were collected from Therapeutic Target Database (TTD), Drugbank and Disease-gene Net databases (DisGeNET). Wenn diagram was used to obtain the correlation intersection. Target characteristics were

[收稿日期] 20190612(001)

[基金项目] 中央级公益性科研院所基本科研业务专项 (Z210-013); 国家自然科学基金面上项目 (81473561, 81673847)

[第一作者] 关庆亚, 在读博士, 从事伤寒论辨证论治及方药研究, E-mail: 728887482@qq.com

[通信作者] * 王阶, 博士, 主任医师, 从事心心血管疾病的中西医结合研究, E-mail: wangjie0103@126.com

analyzed with GEO2R online, Reactome FI was used to analyze the enrichment of target pathways, and Cytoscape software was used to construct the "component-target-pathway" network. **Result:** Network analysis showed that Xiao Xianxiongtang treated CHD by regulating 24 target proteins through 25 therapeutic components, and acting on 21 specific pathways and 4 biological processes. According to the multiple gene chip analysis of GEO2R online, there were up-down-regulated differences in the targets, including 11 up targets and 13 down targets. **Conclusion:** Xiao Xianxiongtang treats CHD by involving the biological processes through berberine and flavonoid groups of *Coptidis Rhizoma*, nucleosides and organic acids of *Arum ternatum* Thunb, stigmaterols and flavonoids of *Trichosanthes kirilowii* Maxim, such as gene expression, metabolism and protein metabolism, adjusting the gene expressions of relevant target proteins, regulating gene transcription pathways, such as biological oxidation reaction and lipid and lipoprotein metabolism, insulin-like growth factor binding protein (IGFBPs) of insulin-like growth factor (IGF) transshipment and intake, and the degradation of extracellular matrix signaling pathways.

[**Key words**] Xiao Xianxiongtang; coronary heart disease; network pharmacology-based study; ingredient-target-pathway

小陷胸汤是汉·张仲景《伤寒论》中治疗小结胸病的经方,由黄连片、法半夏、瓜蒌 3 味药组成,具有清热燥湿、涤痰解郁,散结止痛的作用^[1],临床常单独或配伍使用,治疗以痰热为主的结胸证,病位在胸中心下^[2]。冠心病病位在心,症状以心前区疼痛,可向左肩臂及后背放射,其病理机制是多种因素条件下的复杂疾病过程,研究表明小结胸病是以血瘀证为基础,多种其他复杂证型相结合的疾病^[3]。鉴于中药成分的复杂性,冠心病产生、发展的综合性,网络药理学能以高通量组学数据分析、计算机虚拟计算及网络数据库检索为基础,从系统生物学和生物网络平衡的角度分析中药复方多途径调节信号通路,阐明组方-疾病的“成分-靶标-通路”关系网^[4-5],揭示中药复方治疗临床疾病的作用机制,提高药物的治疗效果,降低毒副作用,节约药物研发费用。当前小陷胸汤干预冠心病的临床报道和实验研究甚少,相关研究仅在炎症反应^[6-7],脂类和脂蛋白的代谢^[8]及胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBPs)对胰岛素样生长因子(IGF)转运和摄取的调控^[9]三大方面。期望通过运用网络药理学分析小陷胸汤治疗冠心病的所有潜在靶标及相关机制,构建“成分-靶标-通路”网络,为进一步深入研究小陷胸汤治疗冠心病机制提供研究思路和理论依据。

1 网络药理学研究方法

以小陷胸汤治疗冠心病潜在的靶标为桥梁,以网络药理学相关内容为方法,发掘小陷胸汤治疗冠心病的有效成分、信号通路、作用机制,实现“成分-靶标-通路”网络的构建,从理论高度有效预测小陷胸汤治疗冠心病的所有潜在机制。

1.1 小陷胸汤治疗冠心病的网络药理学研究思路

示意,见图 1。

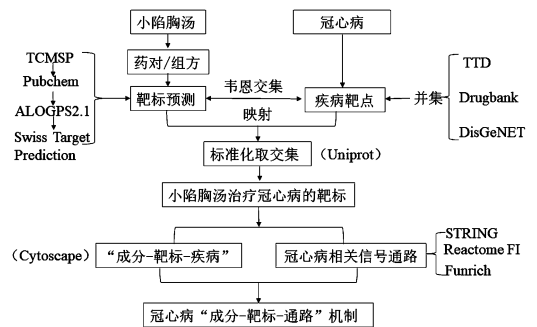


图 1 研究思路示意

Fig. 1 Research schematic diagram

1.2 药物有效成分筛选 中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP 数据库)^[10](<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)分别检索关键词“黄连”“瓜蒌”“半夏”已报道成分,依据成分毒物动力学参数^[11](ADME),设置筛选条件药物口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$, 药物相似度(DL) ≥ 0.18 ^[12]。Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)对分子结构确证。SwissTargetPrediction 服务器^[13](<http://www.swisstargetprediction.ch/>)反向药效团匹配方法,以活性小分子探针,获得药物数据库靶标,预测成分生物活性。UniProt 数据库(<http://www.uniprot.org/>)输入蛋白名称并限定“Reviewed (Swiss-Prot)”“Human”检索,对结果进行标准化处理,获得并使用官方标签(Official Symbol)。

1.3 冠心病、小陷胸汤交集靶标的筛选 治疗靶标数据库(TTD)^[14](<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>), DrugBank 数据库^[15](<https://www.drugbank.ca/>)和疾病-基因网数据库

(DisGeNET)^[16] (<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home>), 取三者冠心病靶标并集。TTD 数据库筛选靶标注意 indication 确定为冠心病; DrugBank 数据库筛选靶标注意补充靶标的 Official Symbol; DisGeNET 数据库筛选靶标注意选择 score \geq 平均值的靶标。根据 Official Symbol 分别建立黄连靶标、瓜蒌靶标、半夏靶标、冠心病靶标, 通过韦恩作图工具 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 制作韦恩图, 获得小陷胸汤组分与冠心病交集靶标, 即为小陷胸汤治疗冠心病的靶标。

1.4 构建小陷胸汤-冠心病“成分-靶标-通路”网络

运用 Cytoscape3. 2. 1 的 ReactomeFI 进行分析, 得到核心靶标参与的具有统计学意义 ($P < 0.01$) 的通路信息。交集靶标映射到的具体通路, 即可认为是小陷胸汤药物调控冠心病的相关通路。以有效成分、交集靶标、作用通路及通路注解为节点 (node), 运用 Excel 表格建立对应关系, 导入 Network Analyzer, 根据关键拓扑参数自由度 (degree) 和介数 (betweenness), 构建小陷胸汤-冠心病的“成分-靶标-通路”网络图^[17]。图示用边 (edge) 连接成分与靶标、靶标与疾病, 表明其相互之间存在潜在作用。通过全面形成“成分-靶标-通路”网络, 发掘小陷胸汤治疗冠心病多靶标、多途径、多层次的作用。

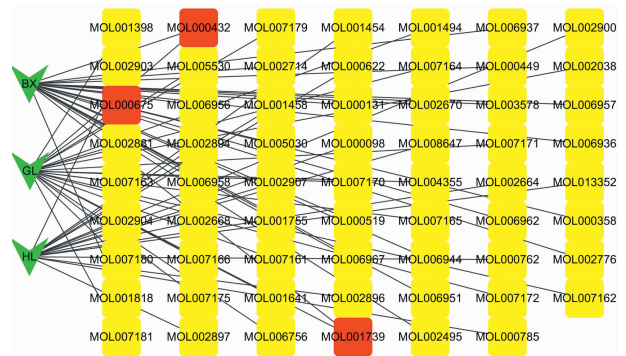
2 结果

2.1 小陷胸汤有效成分筛选

TCMSP 共查到小陷胸汤 3 味药已报道的成分有 244 个, 按“OB $\geq 30\%$, DL ≥ 0.18 ”ADME 参数筛选, 得到黄连成分 17 个, 瓜蒌成分 24 个, 半夏成分 24 个, 半夏与瓜蒌共同含有亚麻酸 (linolenic acid), 油酸 (oleic acid), 棕榈油酸 (zoomaric acid), 获得小陷胸汤 62 个入血有效成分, 见图 2。

2.2 小陷胸汤-冠心病潜在靶标信息

Swiss Target Prediction 服务器反向分子对接, 获得黄连靶标 114 个, 瓜蒌靶标 43 个, 半夏靶标 66 个。TTD 数据库得到疾病靶标数目为 29 个, DrugBank 数据库得到疾病靶标数目为 38 个, DisGeNET 数据库得到疾病靶标数目为 264 个。将此三者并集, 获得冠心病疾病靶标为 318 个。将黄连、半夏、瓜蒌及冠心病的靶标按要求导入韦恩图软件, 发现小陷胸汤 3 味药与冠心病交集靶标 ALOX5, ABCB1; 半夏、黄连与冠心病交集靶标 ABCG2, ESR2; 半夏、瓜蒌与冠心病交集靶标 HMGCR, CYP17A1, PPARA, NR1H3, NPC1L1, PPARG, AR; 黄连、瓜蒌与冠心病交集靶标 ABCC1; 黄连与冠心病交集靶标 MMP3, MPO, HTR2B,

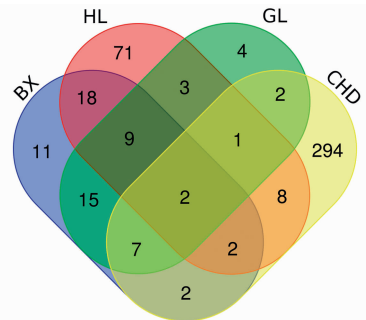


绿色. 中药; 正方形. 治疗成分; 红色正方形. 交集成分; 由边连接表示之间存在关系; 黄色-红色渐变表示节点的自由度增高; 节点越重要

图 2 小陷胸汤中药-成分关系

Fig. 2 Herb-ingredient diagram of Xiao Xianxiongtang

CYP2D6, F2, PLA2G1B, AHR, MMP9; 半夏与冠心病交集靶标 ESR1, NR3C1; 瓜蒌与冠心病交集靶标 PLG, CYP2C19。见图 3。



椭圆. 药物成分靶标与疾病基因靶标; BX. 半夏; HL. 黄连; GL. 瓜蒌; CHD. 冠心病; 相交. 药物与药物、药物与疾病共同靶标

图 3 小陷胸汤靶标与冠心病交集靶标

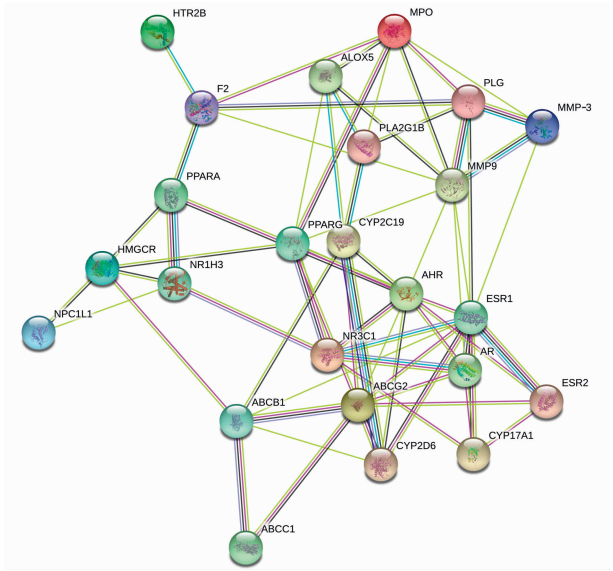
Fig. 3 Intersection targets between Xiao Xianxiongtang and CHD

运用 string 数据库 (<https://string-db.org/>), 构建小陷胸汤治疗冠心病靶蛋白内部相互作用网络, 见图 4。

导出靶蛋白相互作用的 String 结果, 确定小陷胸汤治疗冠心病的关键靶点信息, 见表 1。

小陷胸汤有效成分治疗冠心病的关键靶点, 通过 Cytoscape3. 2. 1 形成网路, 见图 5。

运用 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>), 通过主题词 (MeSH) “Coronary Disease” 检索, 查找具有芯片编号数据库 Expression data from coronary heart disease in Chinese Han people 及 Gene expression profiling of patients affected by first acute myocardial infarction (FAMI), GEO2R 在线分析^[18], 获得冠心病患者与对照组关键靶基因的差异表达, logFC > 0 为上调, logFC < 0 为下调, 并通过



节点: 靶蛋白; 边: 功能相关性; 红色: 融合证据; 绿色: 临近证据; 蓝色: 共存证据; 紫色: 实验证据; 黄色: 文本挖掘; 浅蓝色: 数据库证据; 黑色: 共表达证据. 边连接节点构建靶蛋白网络

图 4 小陷胸汤治疗冠心病靶蛋白功能相关网络

Fig. 4 Protein functional network of Xiao Xianxiong tang for treating CHD

表 1 小陷胸汤-冠心病交集靶标信息

Table 1 Information between Xiao Xianxiong tang and coronary heart disease

基因名称	Uniprot 编号	分子编号	分子名称	成分来源
ALOX5	P09917	MOL002495	6-shogaol	半夏
		MOL000098	quercetin	黄连
		MOL005530	hydroxygenkwanin	瓜蒌
ABCB1	P08183	MOL002714	baicalein	半夏
		MOL000098	quercetin	黄连
		MOL002881	diosmetin	瓜蒌
ABCG2	Q9UNQ0	MOL002714	baicalein	半夏
		MOL000098	quercetin	黄连
ESR2	Q92731	MOL002714	baicalein	半夏
		MOL000098	quercetin	黄连
CYP17A1	P05093	MOL000358	beta-sitosterol	半夏
		MOL007165	10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol	瓜蒌
HMGCR	P04035	MOL000358	beta-sitosterol	半夏
		MOL000449	stigmasterol	半夏
		MOL007165	10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol	瓜蒌
		MOL000131	EIC	半夏
PPARA	Q07869	MOL000432	linolenic acid	半夏
		MOL000675	oleic acid	半夏
		MOL001739	zoomaric acid	半夏
		MOL005030	gondoic acid	半夏
		MOL006936	10,13-eicosadienoic	半夏

affymetrix 数据库 (https://www.affymetrix.com/analysis/netaffx/batch_query.affx?netaffx=netaffx4_annot), 完善基因标签 (gene signature ID), 见表 2。

2.3 小陷胸汤治疗生物过程及通路注释 运用 Funrich version 3 软件, 导入 24 个关键靶蛋白 gene symbol, 基因富集功能分析关键靶蛋白的生物过程 (biological process), 见图 6。

关键靶标通过 Cytoscape3.2.1 的插件 Reactome FI 进行通路注解和分析, 得到 84 个信号通路, 根据 $P < 0.01$ 筛得 21 条具体信号通路, 见表 3。

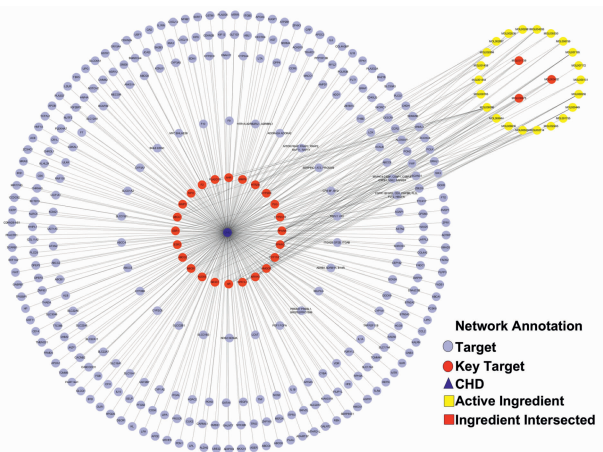
2.4 “成分-靶点-通路-疾病”网络图构建 将药物、成分、靶标、信号通路导入 Cytoscape3.2.1, 根据自由度设置节点颜色, 并设置节点形状, 关系以边表示, 构建小陷胸汤治疗冠心病“成分-靶标-通路”网络图。网络图表明成分与靶标之间关系复杂, “一对多”即一个成分作用于多个靶标、“多对一”即多个成分作用于一个靶标, 参与通路调节, 体现小陷胸汤治疗冠心病“多成分, 多靶点, 多通”特点。见图 7。

续表 1

基因名称	Uniprot 编号	分子编号	分子名称	成分来源
NR1H3	Q13133	MOL006944	8-octadecenoic acid	半夏
		MOL000432	linolenic acid	瓜蒌
		MOL000675	oleic acid	瓜蒌
		MOL001739	zoomaric acid	瓜蒌
		MOL002038	9E,12Z-octadecadienoic acid	瓜蒌
		MOL000358	beta-sitosterol	半夏
		MOL000449	stigmasterol	半夏
		MOL004355	spinasterol	瓜蒌
NPC1L1	Q9UHC9	MOL006756	schottenol	瓜蒌
		MOL007165	10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol	瓜蒌
		MOL000358	beta-sitosterol	半夏
		MOL000449	stigmasterol	半夏
		MOL004355	spinasterol	瓜蒌
AR	P10275	MOL006756	schottenol	瓜蒌
		MOL007165	10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol	瓜蒌
		MOL007172	7-oxo-dihydrokaro-unidiol	瓜蒌
		MOL000358	beta-sitosterol	半夏
PPARG	P37231	MOL000449	stigmasterol	半夏
		MOL004355	spinasterol	瓜蒌
		MOL007165	10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol	瓜蒌
		MOL000131	EIC	半夏
		MOL000432	linolenic acid	半夏
		MOL000675	oleic acid	半夏
		MOL001739	zoomaric acid	半夏
		MOL005030	gondoic acid	半夏
ABCC1	P33527	MOL006936	10,13-eicosadienoic	半夏
		MOL006944	8-octadecenoic acid	半夏
		MOL000432	linolenic acid	瓜蒌
		MOL000675	oleic acid	瓜蒌
		MOL001739	zoomaric acid	瓜蒌
		MOL002038	9E,12Z-octadecadienoic acid	瓜蒌
		MOL000098	quercetin	黄连
		MOL002881	diosmetin	瓜蒌
ESR1	P03372	MOL002714	baicalein	半夏
NR3C1	P04150	MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one	半夏
MMP3	P08254	MOL000098	quercetin	黄连
MPO	P05164	MOL000098	quercetin	黄连
HTR2B	P41595	MOL000785	palmatine	黄连
		MOL001454	berberine	黄连
		MOL001458	coptisine	黄连
		MOL002894	berberrubine	黄连

续表 1

基因名称	Uniprot 编号	分子编号	分子名称	成分来源
CYP2D6	P10635	MOL002897	epiberberine	黄连
		MOL000785	palmatine	黄连
		MOL001454	berberine	黄连
		MOL001458	coptisine	黄连
		MOL002894	berberrubine	黄连
F2	P00734	MOL002897	epiberberine	黄连
		MOL000098	quercetin	黄连
PLA2G1B	P04054	MOL000098	quercetin	黄连
AHR	P35869	MOL000098	quercetin	黄连
MMP9	P14780	MOL000098	quercetin	黄连
PLG	P00747	MOL002881	diosmetin	瓜蒌
		MOL005530	hydroxygenkwanin	瓜蒌
CYP2C19	P33261	MOL004355	spinasterol	瓜蒌
		MOL006756	schottenol	瓜蒌



紫色圆. 靶标; 红色圆. 关键靶标; 蓝色三角. 冠心病; 黄色方形. 活性成分; 红色方形. 相交成分

图 5 小陷胸汤治疗冠心病靶标相关性

Fig. 5 Relation diagram of Xiao Xianxiongtang for treating CHD

3 结论

3.1 基础理论探讨 小陷胸汤治疗冠心病具有中医理论基础。冠心病是现代医学病名, 中医认为“胸痹心痛”与冠心病相关, 学术界认为“阳微阴弦”是核心病机^[19], “以阴弦故也”指明矛盾在于阴盛。小陷胸汤治疗结胸证, 清·曹颖甫《曹氏伤寒金匱发微》指出“结胸之证, 阴盛格阳者难治”, 此方面描述与胸痹心痛病机相似。“正在心下, 按之则痛”可以表示瘀血阻滞于心, 痰湿郁结于胸, 邪滞从阳化火; 痰阻气机, 热伤阴血; 痰热互结, 瘀血痹阻, 遂发生以痰热证为主体, 以血瘀证为核心的胸痹心痛, 与冠心

病临床症状特点相吻合。同时, 有临床试验表明小陷胸汤治疗痰热瘀型冠心病心绞痛具有统计学意义^[20]。这为探究小陷胸汤治疗冠心病分子机制奠定理论基础。

3.2 基因表达浅析 通过图 4 的 String 数据库分析小陷胸汤与冠心病相交的靶点内部相互作用, 运用 GEO 数据库 GEO2R 在线分析, affymetrix 数据库的基因标签处理, 得到相应的冠心病差异表达基因, 通过 Funrich version 3 基因富集功能分析关键靶蛋白的生物过程, 发现与冠心病相关的生物过程, 碱基核苷酸代谢的调节、新陈代谢、蛋白质代谢、外源物代谢。基因表达, 糖皮质激素受体/核受体亚家族 3C1 (NR3C1), 雄性激素受体 (AR), 过氧化物酶体增殖激活受体 g (PPARG), 过氧化物酶体增殖激活受体 α (PPARA) 基因上调, 胆固醇受体 LXR- α (NR1H3), 雌激素受体 α (ESR1), 雌激素受体 β (ESR2) 基因下调相关; 新陈代谢: 磷脂酶 A2 (PLA2G1B), 芳烃受体 (AHR), 细胞色素 P450C19/类固醇羟化酶-裂解酶 (CYP2C19), NPC1 样细胞内胆固醇转运体 1 (NPC1L1), 花生四烯酸 5 酯氧合酶 (ALOX5), PPARG, PPARA, 细胞色素 P450D6/类固醇羟化酶-裂解酶 (CYP2D6) 基因上调^[21], NR1H3, 甲基戊二醇辅酶 A 还原酶 (HMGCR), 细胞色素 P45017A1/类固醇羟化酶-裂解酶 (CYP17A1) 基因下调相关^[22]; 蛋白质代谢, 血纤维蛋白溶酶原 (PLG), 凝血酶原 (F2) 基因下调相关; 外源物代谢, 基质金属蛋白酶-3 (MMP-3), 基质

表 2 小陷胸汤治疗冠心病关键靶点差异

Table 2 Interaction targets between Xiao Xianxiongtang and CHD

基因标签	编号	adj. P. Val	P	t	B	log FC
ALOX5	204445_s_at	0.908	0.691	0.403 738	-6.398 01	0.141 293
ABCB1	209993_at	0.866	0.591	-0.547 39	-6.328 52	-0.370 8
ABCG2	209735_at	0.350	0.067 8	-1.940 89	-4.720 61	-0.603 3
ESR2	210780_at	0.918	0.719	-0.365 32	-6.413 1	-0.082 81
CYP17A1	205502_at	0.461	0.122	-1.623 47	-5.215	-0.455 73
HMGCR	202539_s_at	0.679	0.300	-1.067 09	-5.912 92	-1.522 96
PPARA	223437_at	0.612	0.047 176	2.421 14	-4.37	1.276 575
NR1H3	203920_at	0.953	0.823	-0.227 41	-6.455	-0.101 98
NPC1L1	220106_at	0.951	0.815	0.237 922	-6.452 48	0.112 992
AR	211110_s_at	1	0.294 467	1.051 174	-6.285 8	0.017 1
PPARG	208510_s_at	0.953	0.819	0.232 348	-6.453 83	0.170 938
ABCC1	202805_s_at	0.991	0.962	0.048 743	-6.480 37	0.016 841
ESR1	211235_s_at	0.900	0.669	-0.434 26	-6.384 96	-0.475 57
NR3C1	201866_s_at	0.251	0.000 000 512	7.524 682	6.474 557	2.333 54
MMP3	205828_at	0.576	0.203	-1.319 51	-5.625 66	-0.551 85
MPO	203948_s_at	1	0.241 334	-1.175 2	-6.149 5	-0.123
HTR2B	206638_at	0.710	0.334	-0.992 61	-5.987 52	-1.096 02
CYP2D6	217468_at	0.654	0.274	1.128 306	-5.848 05	0.399 009
F2	205754_at	0.629	0.074 897	-2.102 86	-4.42	-0.883 23
PLA2G1B	206311_s_at	0.999	0.997	0.003 596	-6.481 59	0.003 941
AHR	202820_at	0.941	0.781	0.282 149	-6.440 68	0.154 206
MMP9	203936_s_at	0.609	0.0187 17	-3.074 46	-4.28	-2.267 17
PLG	209977_at	1	0.466 035	-0.730 37	-6.568 6	-0.009 42
CYP2C19	216058_s_at	1	0.516 984	0.649 171	-6.624 1	0.003 62

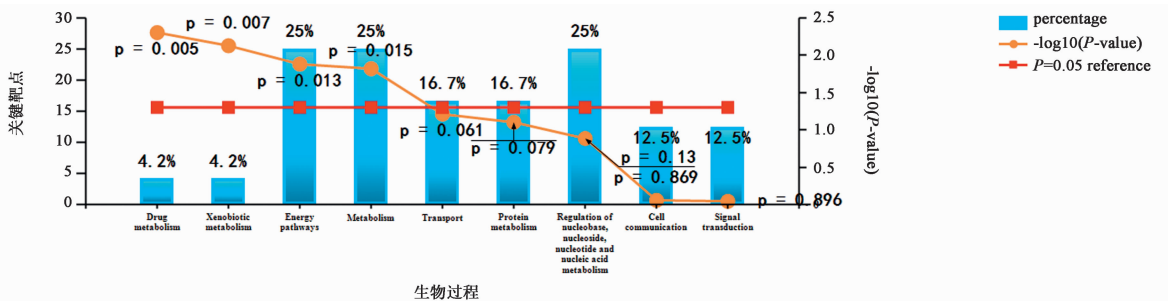


图 6 小陷胸汤治疗冠心病关键靶点的生物过程

Fig. 6 Key targets of Xiao Xianxiongtang for treating CHD in biological process

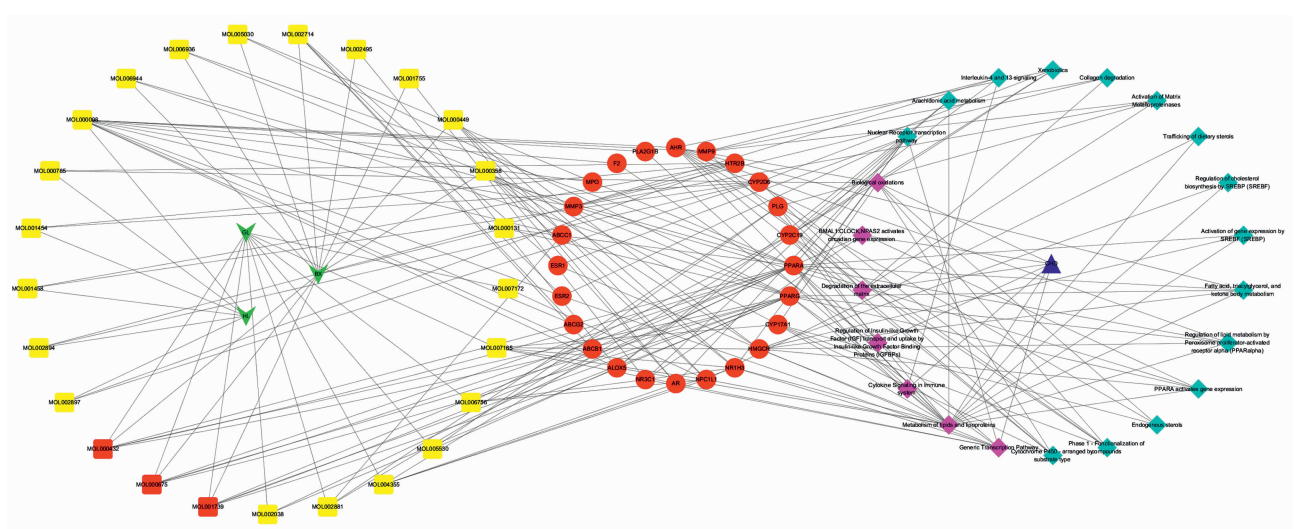
金属蛋白酶-9(MMP-9), PLG 基因下调相关^[23]。同时发现与 4 个生物过程相关的冠心病信号通路分别为基因转录通路 (generic transcription pathway), 脂类和脂蛋白的代谢 (metabolism of lipids and lipoproteins), 生物氧化反应 (biological oxidations),

胰岛素样生长因子结合蛋白 (IGFBPs) 对胰岛素样生长因子 (IGF) 转运和摄取的调控 [(regulation of insulin-like growth factor (IGF) transport and uptake by insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs)], 细胞外基质的降解 (degradation of the

表 3 小陷胸汤-冠心病 21 条具体通路信息

Table 3 Information of 21 pathways between Xiao Xianxiongtang and CHD

编号	Reactome 通路	蛋白通路占比	通路蛋白总数 /个	基因组蛋白数 /个	P
1	nuclear receptor transcription pathway	0.006 3	51	7	0
2	metabolism of lipids and lipoproteins	0.072 7	587	10	0.000 001
3	cytochrome P450-arranged by substrate type	0.006 2	50	4	0.000 010
4	xenobiotics	0.002 2	18	3	0.000 017
5	phase 1-functionalization of compounds	0.009 4	76	4	0.000 050
6	activation of matrix metalloproteinases	0.003 6	29	3	0.000 068
7	generic transcription pathway	0.061 2	494	7	0.000 240
8	PPARA activates gene expression	0.014 4	116	4	0.000 253
9	regulation of lipid metabolism by peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha)	0.014 7	119	4	0.000 279
10	biological oxidations	0.016 5	133	4	0.000 424
11	regulation of insulin-like growth factor (IGF) transport and uptake by insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs)	0.002 1	17	2	0.000 995
12	degradation of the extracellular matrix	0.010 9	88	3	0.001 700
13	fatty acid, triacylglycerol, and ketone body metabolism	0.024 1	195	4	0.001 750
14	endogenous sterols	0.002 8	23	2	0.001 800
15	interleukin-4 and 13 signaling	0.013 5	109	3	0.003 120
16	arachidonic acid metabolism	0.004 5	36	2	0.004 320
17	collagen degradation	0.004 8	39	2	0.005 050
18	activation of gene expression by SREBF (SREBP)	0.005 0	40	2	0.005 300
19	BMAL1;CLOCK, NPAS2 activates circadian gene expression	0.005 7	46	2	0.006 940
20	trafficking of dietary sterols	0.000 4	3	1	0.008 140
21	regulation of cholesterol biosynthesis by SREBP (SREBF)	0.006 6	53	2	0.009 110



绿色. 中药; 黄色. 治疗成分; 红色正方形. 交集成分; 红色圆形. 作用靶标; 青色菱形. 具体信号; 紫色菱形. 重要通路; 蓝色三角形. 冠心病; 由边连接表示之间存在关系

图 7 小陷胸汤-冠心病“成分-靶标-通路”网络

Fig.7 "Ingredient-target-pathway" network between Xiao Xianxiongtang and CHD

extracellular matrix)。

3.3 信号通路探析 图 2,表 1 与表 3 联合分析,以靶蛋白为媒介,中药成分与相关通路存在密切联系。在基因转录机制和生物氧化反应、脂类和脂蛋白代谢的通路中,黄连、半夏和瓜蒌都发挥重要功效,分析与冠心病相关的下调基因,半夏和瓜蒌有效成分作用于 NR1H3, ESR1, ESR2 调控人体基因表达,作用于 NR1H3, HMGCR, CYP17A1 调节人体新陈代谢。在胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBPs)对胰岛素样生长因子(IGF)转运和摄取的调控、细胞外基质降解的通路中,黄连和瓜蒌有效成分发挥主要治疗作用,黄连作用于与冠心病相关的下调靶基因 PLG, F2 调节蛋白质代谢, PLG, MMP-3, MMP-9 调节细胞外基质的降解。

3.4 有效成分研究 通过整合网络药理学分析和实验室报道,本研究发现半夏主要化学成分包含生物碱、有机酸、核苷、刺激性成分等^[24],而核苷类成分与半夏调节基因转录通路有密切关系^[25];生物氧化反应相关的靶基因 CYP2D6 受黄连小檗碱(berberine),小檗红碱(berberrubine),黄连素(coptisine),盐酸表小檗碱(epiberberine),巴马汀(palmatine)等黄连生物碱类调控,脂类和脂蛋白代谢相关的靶基因受半夏有机酸类、瓜蒌甾醇类调控^[26-28];IGFBPs 对 IGF 转运和摄取相关靶基因 PLG, F2 主要受黄连和瓜蒌中的黄酮类调控^[29],同时该类成分也发挥细胞外基质降解的调控作用。

4 展望

小陷胸汤主要可能通过参与基因表达、新陈代谢、蛋白质代谢等生物过程发挥作用,参与基因转录通路、生物氧化反应和脂类和脂蛋白代谢,IGFBPs 对 IGF 转运和摄取、细胞外基质的降解等信号通路的调控,通过调节关键靶蛋白的表达而实现对冠心病的治疗作用。本研究通过构建小陷胸汤治疗冠心病“成分-靶标-通路”网络,发现纵向研究不够深入,分子层面相关深层研究尚少,未能从多组学系统阐明机制;并且其他通路例如免疫系统的细胞因子信号, BMAL1 :CLOCK, NPAS2 激活昼夜节律基因表达等,有待进一步大量实验验证。

[参考文献]

[1] 王阶,陈光. 冠心病稳定型心绞痛中医诊疗专家共识[J]. 中医杂志, 2018, 59(5): 447-450.
[2] 王慧禹,焦晓民. 小陷胸汤合温胆汤治疗冠心病心绞痛 60 例观察[J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(2):

219-221.

[3] 王阶,何庆勇. 冠心病心绞痛血瘀证疗效评价标准[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(15): 1-3.
[4] 廖江铨,王阶,刘咏梅,等. 高通量测序筛选冠心病血瘀证相关 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(19): 28-33.
[5] 李圣耀,杨琳,高铸焯,等. 清心解瘀方组方中药入血成分的网络药理学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(5): 198-202.
[6] 喻秀兰. 加味小陷胸汤对血管内皮细胞保护作用的研究[D]. 武汉:湖北中医学院, 2005.
[7] 刘佳. 冠心病血栓前状态相关危险因素分析和 Zedoaronidol 调控目标 miRNA 对炎症反应的作用[D]. 北京:中国中医科学院, 2018.
[8] 潘勇. 丹参饮合小陷胸汤加味治疗痰瘀痹阻型冠心病稳定型心绞痛的疗效[J]. 中外医疗, 2014, 33(18): 125-126.
[9] 曹现霞. 小陷胸汤加减治疗不稳定心绞痛前后脂肪因子 visfatin 和 resistin 表达的临床研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2010.
[10] LI Y, ZHANG J, ZHANG L, et al. Systems pharmacology to decipher the combinational anti-migraine effects of Tianshu formula [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 174(15): 45-56.
[11] LIU H, WANG J, ZHOU W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: an example using licorice [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 146(3): 773-793.
[12] LI J, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufeiyishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. Sci Rep, 2015, 15(5): 1-15.
[13] LIU X, OUYANG S, YU B, et al. PharmMapper server: a web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach [J]. Nucleic Acids Res, 2010, 141(15): 609-614.
[14] LI Y H, YU C Y, LI X X, et al. Therapeutic target database update 2018: enriched resource for facilitating benchto clinic research of targeted therapeutics [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D1121-D1127.
[15] WISHART DAVID S, FEUNANG YANNICK D, GUO A C, et al. Drugbank 5.0: a major update to the Drugbank database for 2018 [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D1074-D1082.
[16] PIÑERO J, QUERALT-ROSINACH N, BRAVO À, et al. Disgenet: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes [J].

- Database(Oxford),2015,10(28):1-17.
- [17] SAITO R, SMOOT M E, ONO K, et al. A travel guide to Cytoscape plugins [J]. Nat Methods, 2012, 9 (11): 1069-1076.
- [18] GAO L, ZHAO G, FANG J S, et al. Discovery of the neuroprotective effects of alvespimycin by computational prioritization of potential anti-parkinson agents [J]. FEBS J, 2014, 281(4):1110-1122.
- [19] 姜坤,张明雪.《金匱要略》“阳微阴弦”思想治疗胸痹心痛探析[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(4):691-693.
- [20] 侯宝松,李星红,刘霞,等.小陷胸汤治疗痰热瘀阻型冠心病心绞痛临床研究[J]. 河南中医, 2018, 38(2): 201-205.
- [21] YILMAZ-AYDOGAN H, KURNAZ O, KUCUKHUSEYIN O, et al. Different effects of PPARA, PPARC and ApoE SNPs on serum lipids in patients with coronary heart disease based on the presence of diabetes [J]. Gene, 2013, 523(1):20-26.
- [22] HONG E P, KIM D H, SUH J G, et al. Genetic risk assessment for cardiovascular disease with seven genes associated with plasma C-reactive protein concentrations in Asian populations [J]. Hyper Res, 2014, 37(7): 692-698.
- [23] MIRHAFEZ S R, AVAN A, TAJFARD M, et al. Relationship between serum cytokines receptors and matrix metalloproteinase 9 levels and coronary artery disease [J]. J Clin Lab Anal, 2016, 31(5):1-4.
- [24] JI X, HUANG B K, WANG G W, et al. The ethnobotanical, phytochemical and pharmacological profile of the genus *Pinellia* [J]. Fitoterapia, 2014, 93(4):1-17.
- [25] YU H L, ZHAO T F, WU H, et al. *Pinellia ternata* lectin exerts a proinflammatory effect on macrophages by inducing the release of pro-inflammatory cytokines, the activation of the nuclear factor- κ B signalin pathway and the overproduction of reactive oxygen species [J]. Int J Mol Med, 2015, 36(4):1127-1135.
- [26] COFÁN M, ROS E. Clinical application of plant sterol and stanol products [J]. J Aoac Int, 2015, 98(3): 701-706.
- [27] TATA D A, WASAN E K, WASAN K M, et al. Lipid-lowering activity of natural and semi-synthetic sterols and stanols [J]. J Pharm Pharm Sci, 2015, 18(4):344-367.
- [28] RIDEOUT T C, MARINANGELI C P F, HARDING S V. Triglyceride-lowering response to plant sterol and stanol consumption [J]. J Aoac Int, 2015, 98(3): 707-715.
- [29] CHEON S Y, CHUNG K S, LEE K J, et al. HVC1 ameliorates hyperlipidemia and infammation in LDLR -/- mice [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1):1-10.

[责任编辑 张丰丰]