

● 论 著 ●

半夏 - 陈皮“异病同治”咳嗽和冠心病的网络药理学作用机制研究 *

万阳¹ 杨奕¹ 刘慧莹² 蔡恒斌³ 李金根³ 毛祥坤^{3#}

(1 江西中医药大学 南昌 330004; 2 江中药业股份有限公司 江西南昌 330077;

3 江西省南昌市强制隔离戒毒所 南昌 330029)

摘要:目的:通过网络药理学探讨中药药对半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病的分子机制,以探究该药对“异病同治”的共同作用机制。方法:从 TCMS、BATMAN-TCM 数据库得出半夏 - 陈皮的活性成分及潜在靶标,从 DisGeNET、OMIM、Drug Bank 数据库得出与咳嗽、冠心病相关的疾病基因,并与半夏 - 陈皮潜在靶标进行映射,得出药对治疗两种疾病的共同靶标,将其输入 String 数据库及 DAVID 数据库,分别构建 PPI 网络、GO 分析及 KEGG PATHWAY 分析。将半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病的活性成分及疾病基因输入 Cytoscape 软件,分别构建半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病的“重要活性成分 - 靶标”网络图。结果:半夏 - 陈皮治疗咳嗽的基因有 49 个、有效成分 69 个,治疗冠心病的基因有 342 个,有效成分 87 个,其中治疗两种疾病的交集靶标共有 24 个。构建 PPI 网络发现,交集靶标中排名前 3 的靶标蛋白为人白介素 1B、肿瘤坏死因子、白细胞介素 8。DAVID 分析发现,治疗咳嗽的作用机制与 TNF 通路、T 细胞受体信号通路、Toll 样受体通路等 25 个通路相关。药对治疗冠心病的主要通路涉及 HIF-1 通路、TNF 通路、AMPK 通路等 127 个通路。“异病同治”的主要信号通路涉及 NOD 样受体信号通路、TNF 通路、NF- κ B 通路、TGF- β 通路等 30 个信号通路。结论:通过此次分析发现,半夏 - 陈皮药对“异病同治”的作用机制可能与 NOD 样受体信号通路、TNF 通路、NF- κ B 通路、TGF- β 通路等炎症通路相关。

关键词:咳嗽;冠心病;半夏 - 陈皮;网络药理学;异病同治

Study on the Mechanism of Banxia-Chenpi in Treating Cough and Coronary Heart Disease with Concept of "Treating Different Diseases with the Same Treatment" Based on Network Pharmacology*

WAN Yang¹, YANG Yi¹, LIU Hui-ying², CAI Heng-bin³, LI Jin-gen³, MAO Xiang-kun^{3#}

(1Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang330004; 2Jiangzhong Pharmaceutical Co. Ltd, Jiangxi, Nanchang330077;

3Nanchang Compulsory Isolation Drug Treatment Center, Jiangxi, Nanchang330029)

Abstract: Objective: To explore the molecular mechanism of Banxia-Chenpi in the treatment of cough and coronary heart disease through network pharmacology, in order to explore the joint action mechanism of Banxia-Chenpi with concept of "treating different diseases with the same treatment". Methods: The active components and potential targets of Banxia-Chenpi were obtained from TCMS and BATMAN-TCM databases, and the disease genes related to cough and coronary heart disease were obtained from DisGeNET, OMIM and Drug Bank databases. After mapping with potential targets of Banxia-Chenpi, the common targets for the treatment of the two diseases were obtained, which were input into String database and DAVID database to construct PPI network, GO analysis and KEGG PATHWAY analysis respectively. Finally, the active ingredients and disease genes of Banxia-Chenpi in treating cough and coronary heart disease were input into Cytoscape software, and the "important active ingredients target" network maps of Banxia-Chenpi in treating cough and coronary heart disease were constructed respectively. Results: There were 49 genes and 69 effective components in treating cough, 342 genes and 87 effective components in treating coronary heart disease. Among them, there were 24 overlapping targets in treating two diseases. The PPI network showed that the top three target proteins were human Interleukin-1B, tumor necrosis factor and interleukin-8. David analysis showed that the mechanism of cough treatment was related to TNF pathway, T cell receptor signaling pathway, Toll like receptor pathway and other 25 pathways. There are 127 pathways involved in the treatment of coronary heart disease, including HIF-1 pathway, TNF pathway and AMPK pathway, The main signaling pathways of "treating different diseases with the same treatment" involve NOD-like receptor signaling pathway, TNF pathway and NF- κ B pathway, TGF- β signaling pathway these 30 signaling pathways. Conclusion: Through this analysis, we find that the mechanism of Banxia-Chenpi on "treating different diseases with the same treatment" may be related to NOD-like receptor signaling pathway, TNF pathway and NF- κ B pathway, TGF- β pathway and other inflammatory pathways.

Key words: Cough; Coronary heart disease; Banxia-Chenpi; Network pharmacology; Treating different diseases with the same treatment

中图分类号:R285

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2021.14.001

咳嗽是一种呼吸道常见疾病,占呼吸科门诊的 30%左右,病因复杂,部分患者经抗感染治疗后仍无法缓解,长此以往,若得不到有效治疗,将对呼吸系

统造成损伤^[1]。冠状动脉粥样硬化性心脏病简称冠心病,是冠状动脉血管发生动脉粥样硬化病变而引起血管腔狭窄或阻塞,造成心肌缺血、缺氧或坏死而

* 基金项目:江西省卫健委中医药科研课题(编号:2018B012);

江西省卫健委科技计划(编号:202140156)

通信作者:毛祥坤, E-mail: 4350142@qq.com

致,临床常见冠心病患者易患咳嗽,西医认为与患者心肺功能不全有关^[2]。从中医角度而言,咳嗽病位在肺,因肺失宣肃、肺气上逆、冲击气道而致,临床可表现为咳嗽、咳痰,分外感与内伤两种,其中外感咳嗽若不能及时使邪外出,易演变为内伤咳嗽,内伤咳嗽其病理因素多与“痰”相关。冠心病属中医的“胸痹、胸痛”等范畴,病位在心,病理因素与“痰、瘀血”相关。“心为君主之官、肺为相傅之官”,肺能协助“君主之官”调节气血,两者发病亦与“痰”相关,故咳嗽、冠心病在病因病机上常互为关联。半夏、陈皮为临床常用祛痰药,两者常相须为用,作为治疗呼吸、心血管疾病的中药复方核心药在临床上应用广泛^[3]。中医治病的法则,不着眼于疾病的异同,关键在于其病机的异同,“异病同治”则是该法则的主要体现。在不同疾病的发生发展过程中,只要出现相同的病机,就可以采用同一方法治疗该病。咳嗽、冠心病在发病过程中,常出现“痰浊阻滞”,用半夏 - 陈皮药对治疗符合“异病同治”之说。网络药理学是很多学者近年提出的一种采用系统生物学方法来进行药理学研究的新型技术方法,是基于“疾病 - 基因 - 靶点 - 药物”相互作用的网络,能系统综合地观察药物对疾病网络的干预与影响,这与中药的多成分、多途径、多靶点协同作用的原理相似^[4]。基于此,本研究运用网络药理学方法,从中医“异病同治”的角度,探究半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病的具体分子机制。现报道如下:

1 研究方法

1.1 药物成分及靶点的查询及筛选 在 TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 以口服生物利用度 (Oral Bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 或类药性指数 (Drug Like Index, DL) ≥ 0.18 为标准对中药药对半夏 - 陈皮的化合物进行筛选^[5]。将符合条件的化合物输入 Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查找其国际化学标识符 (International Chemical Identifier, InChI) 及 CID, 并将其输入 BATMAN-TCM 数据库 (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 中,以得分 (Score) ≥ 20 与调整 P 值 (Adjusted P-value) < 0.05 为临界值进行药物靶标的筛选^[6]。

1.2 疾病基因的检索 分别在基因疾病关联数据库 DisGeNET (<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu>)、人类孟德尔遗传综合数据库 OMIM (<https://www.omim.org/>)、药物靶标数据库 Drug Bank (<https://www.drugbank.ca/>) 以咳嗽 (Cough)、冠心病

(Coronary Heart Disease) 为词条进行相关疾病基因检索。将所得的咳嗽、冠心病疾病基因进行整合,并应用 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 对基因进行标准化。

1.3 构建半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病交集靶标数据库 PPI 网络图 将半夏和陈皮中筛选所得的药物靶标分别与咳嗽、冠心病的疾病基因进行映射,分别得出该药对治疗咳嗽、冠心病的靶标。将两个数据集进行整合得到该药对治疗咳嗽和冠心病的共同作用靶基因,合并抽取交集靶基因,得出该药对疾病共同作用的靶标蛋白数据库。将靶标蛋白输入 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>), 构建 PPI 网络,用 Cytoscape 软件 (3.8.2) 进行可视化分析。根据 Cytoscape 软件中的 Network Analysis plugin 插件对图中节点自由度 (Degree) 进行分析。自由度越大,该节点在网络中的生物功能则越多。根据节点自由度大小进行颜色渲染,颜色由黄色渐变成红色。其中黄色节点表明其 Degree 较小 (生物功能较少),红色节点代表其自由度较大 (生物功能较多)。

1.4 基因本体 (Gene Ontology, GO)、KEGG PATHWAY 通路富集 分别将半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病及其交集靶基因输入 DAVID 数据库分别进行 GO、KEGG 分析,以 P 值 < 0.05 为标准进行筛选。

1.5 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病“活性成分 - 靶标”网络可视化构建 分别将半夏 - 陈皮作用咳嗽、冠心病的有效作用成分、潜在靶标输入 Cytoscape 3.8.2 软件,构建“活性成分 - 靶标”网络图。

2 结果

2.1 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病靶标 基于 DisGeNET、OMIM 及 Drug Bank 数据库查询所得,有 230 个基因与咳嗽相关,1 658 个基因与冠心病相关。经过分析后发现药对半夏 - 陈皮治疗咳嗽的基因有 49 个、有效成分 69 个,治疗冠心病的基因有 342 个,有效成分 87 个。

2.2 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病交集靶标数据库 PPI 网络图 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病交集靶标共有 24 个,将其输入 STRING 数据库构建 PPI 网络图,发现除 TBPL1 之外,其余 23 个靶标蛋白之间均可相互作用。将 23 个靶蛋白输入 Cytoscape 软件进行可视化,PPI 网络图显示共有 23 个节点,聚类系数为 0.597,网络密度为 0.372,其中生物功能最多的前 3 个靶标蛋白白介素 1B (IL1B)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 8 (CXCL8)。见图 1、图 2。

续表

Category	Term	Count	%	P
GOTERM_CC_FAT	GO:0005576~extracellular region	12	50.0	<0.001
GOTERM_CC_FAT	GO:0005886~plasma membrane	12	50.0	0.007
GOTERM_CC_FAT	GO:0070062~extracellular exosome	9	37.5	0.018
GOTERM_CC_FAT	GO:0009897~external side of plasma membrane	3	12.5	0.029
GOTERM_MF_FAT	GO:0005125~cytokine activity	6	25.0	<0.001
GOTERM_MF_FAT	GO:0042803~protein homodimerization activity	6	25.0	0.003
GOTERM_MF_FAT	GO:0019899~enzyme binding	4	16.7	0.010
GOTERM_MF_FAT	GO:0050662~coenzyme binding	2	8.3	0.016
GOTERM_MF_FAT	GO:0005149~interleukin-1 receptor binding	2	8.3	0.018

注:Count 为每行基因富集的数目;若一个类别中有超过 5 项的富集项,则根据 P 值选择前 5 项。

2.4 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病交集靶基因 KEGG PATHWAY 通路富集分析 发现,中药对治疗咳嗽的主要通路涉及 TNF 通路、T 细胞受体信号通路、Toll 样受体通路等 25 个通路。药对治疗冠心病的主要通路涉及 HIF-1 通路、TNF 通路、AMPK 通路等 127 个通路。半夏 - 陈皮“异病同治”的主要信号通路涉及 NOD 样受体信号通路、TNF 通路、NF-κB 通路、TGF-β 通路等炎症相关信号通路。见图 3、图 4、图 5。

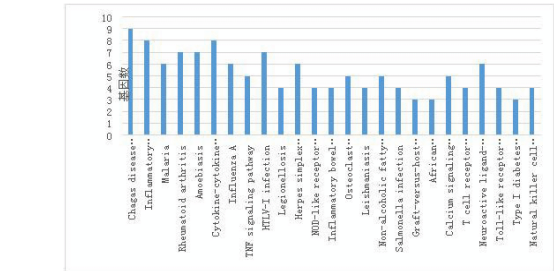


图 3 半夏 - 陈皮治疗咳嗽靶基因 KEGG PATHWAY 富集图

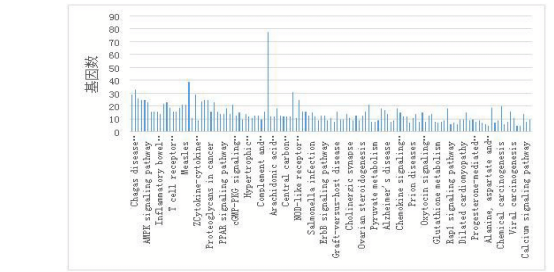


图 4 半夏 - 陈皮治疗冠心病靶基因 KEGG PATHWAY 富集图

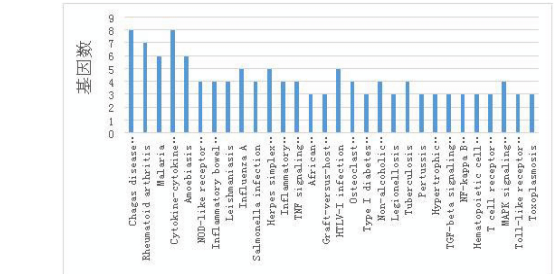


图 5 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病交集靶基因 KEGG PATHWAY 富集图

2.5 半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病“活性成分 - 靶标”图 分别将半夏 - 陈皮药对治疗咳嗽、冠心病的有效活性成分、潜在作用靶标及其通路输入 Cytoscape 3.8.2 软件,设置节点 Degree≥10 为标准进行筛选,构建“重要活性成分 - 靶标”网络图,图中棱形节点代表小分子化合物,圆形节点代表潜在靶点。见图 6、图 7。

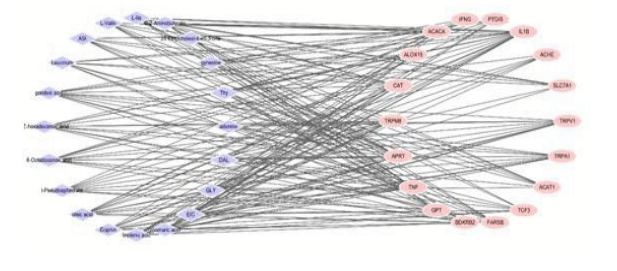


图 6 半夏 - 陈皮治疗咳嗽“重要活性成分 - 靶标”图

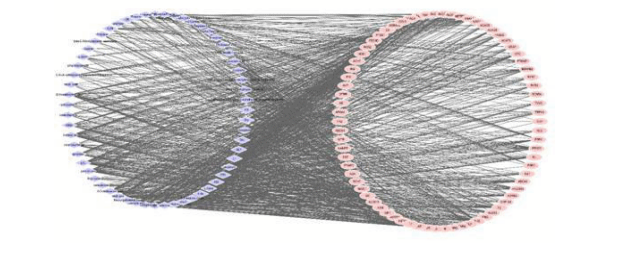


图 7 半夏 - 陈皮治疗冠心病“重要活性成分 - 靶标”图

3 讨论

半夏为天南星科植物半夏的干燥块茎,味辛、性温,归脾、胃、肺经,具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的功效,现代药理学研究发现其具有止咳平喘、抗消化性溃疡、降压、抗动脉粥样硬化等功效,临床常用于治疗呼吸系统、心血管系统、消化系统、肿瘤等疾病^[7]。陈皮为芸香科植物橘及其栽培变种的干燥成熟果皮,味苦、辛,性温,归肺、脾经,具有燥湿化痰、理气健脾之功效,现代药理学研究发现其主要有效成分为黄酮类化合物,具有抗炎、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、抗过敏等作用,广泛运用于呼吸、心血管、

消化等系统疾病^[9]。咳嗽为呼吸系统常见疾病,冠心病为心血管常见疾病,中医理论认为两者发病均与“痰”相关,半夏、陈皮两味中药均为燥湿化痰常用药,均归属于脾、肺两经,“脾为生痰之源、肺为储痰之器”,两者常相须为用,是中医临床燥湿化痰之经典药对,其中化痰名方“二陈汤”是其充分体现,临床运用该药对治疗两种疾病均取得较好疗效,亦是“异病同治”之法的体现。

本研究通过网络药理学这种新型的技术手段,对半夏 - 陈皮治疗咳嗽、冠心病交集靶基因进行 GO 分析发现,其 BP 主要集中在炎症反应、对基因表达的调控、对钙二醇 1- 单加氧酶活性的正向调控等方面,CC 主要集中在细胞外部分、细胞表面、细胞膜等,MF 主要表现在细胞因子活性、蛋白质同源二聚体活性、酶结合等方面。KEGG PATHWAY 通路富集分析发现,半夏 - 陈皮药对治疗冠心病的分子机制主要涉及 HIF-1、TNF、AMPK 通路等 127 个通路,治疗咳嗽的分子机制则主要涉及 NOD 样受体、T 细胞受体、Toll 样受体通路等 25 个通路。药对“异病同治”的主要信号通路涉及 NF- κ B 通路、NOD 样受体信号通路、TNF 通路、TGF- β 等 30 个信号通路。核转录因子 - κ B (Nuclear Factor-kappa B, NF- κ B) 通路是参与炎症反应的“明星通路”,其存在于多种组织中,具有广泛的生物活性。一般情况下,其以同源或异源二聚体的形式存在于细胞质中,此时其表现为无活性,当其受到一些炎症介质、病毒、自由基等因素刺激时,无活性的 NF- κ B 进入细胞核中并与其相关的靶基因结合,诱导一些炎症介质的表达以发挥其生物学效应,研究发现其与动脉粥样硬化、冠心病、慢性阻塞性肺疾病、哮喘等呼吸、心血管系统疾病相关^[9-10]。NOD 样受体 (NOD-like Receptors, NLRs) 属天然免疫系统,是哺乳动物先天免疫系统的重要组成部分,其参与细胞内细菌病原体相关分子模式的识别并可引起下游 NF- κ B 信号通路的激活,从而诱发炎症反应,研究发现其与机体内炎症反应及代谢障碍相关^[11]。肿瘤坏死因子 - α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α) 是一种涉及系统性炎症的细胞因子,可诱导多种炎症介质的释放,是气道炎症的重要介质,其常在咳嗽患者体内表达升高^[12]。此外,研究发现冠心病患者体内 TNF- α 亦过度表达,其作用于冠心病的机制与其促使血管内皮增厚、增加血管内皮平滑肌细胞数量、促使动脉粥样硬化相关^[13]。转化生长因子 - β (Transforming

Growth Factor- β , TGF- β) 广泛存在于人体各系统中,TGF- β 通路参与细胞生长、分化、凋亡、动态平衡等多种细胞生命活动^[14]。其通过促进胶原纤维分泌及沉积、抑制炎症反应、双向调节血管平滑肌等多途径参与冠心病的发生发展,是冠心病发生发展的关键信号通路之一^[15]。以上这些信号通路均与炎症反应关系密切,符合半夏 - 陈皮的药理学,亦与目前咳嗽、冠心病的机制相符。同时,进一步表明半夏 - 陈皮“异病同治”咳嗽、冠心病是通过多途径、多靶点进行治疗。

参考文献

[1]隋博文,魏常娟,闫琨,等.基于“方证相应理论”浅析经方治疗慢性咳嗽[J].辽宁中医杂志,2021,48(1):54-56.

[2]李承羽,陈耀龙,胡嘉元,等.冠心病中西医结合临床实践指南研制现状及思考[J].世界科学技术 - 中医药现代化,2018,20(12):2101-2108.

[3]金颂峰,宫丽鸿,邸静鑫.基于网络药理学的“陈皮 - 半夏”药对治疗冠脉微循环障碍的作用机制研究 [J/OL]. 海南医学院学报.https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20200902.002.

[4]中国科协学会学术部.网络药理学 - 中药现代化的新思路与新方法 - 观点新学说学术沙龙文集[M].北京:中国科技出版社,2014.

[5]Ru J,Li P,Wang J,et al.TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J].J Cheminform,2014(6): 13.

[6]Liu Z,Guo F,Wang Y,et al.BATMAN-TCM: a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine[J].Sci Rep,2016(6):21146.

[7]黄凤英,高健美,龚其海.半夏药理作用及其毒性研究进展[J].天然产物研究与开发,2020,32(10):1773-1781.

[8]李卫霞.陈皮的药理分析及临床应用研究[J].医学理论与实践,2018,31(10):1521-1522,1555.

[9]肖安华,李虹维,颜春鲁,等.中药复方与有效成分调控 NF- κ B/MAPKs/JNK 信号通路介导炎症反应抗 AS 的研究进展[J].中医药学报,2019,47(6):109-114.

[10]罗清,刘萌,廖俊城.NF- κ B 信号通路影响慢性阻塞性肺疾病进展的研究[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(6):124-126.

[11]林巧卫,张思,陆维祺.NOD 样受体介导的信号转导通路及其与肿瘤关系的研究进展[J].中国癌症杂志,2019,29(3):223-228.

[12]殷二航,宋桂华,张岩,等.活血通络方对慢性夜间咳嗽患儿肺通气功能及血清 CGRP、TNF- α 、IL-6 水平的影响[J].中华中医药学刊,2020,38(12):69-71.

[13]李秋忆.冠心病气虚证细胞免疫表型分析及补气方干预靶点的网络药理学研究[D].北京:中国中医科学院,2020.

[14]刘子超,孔庆霞.TGF- β 信号转导通路在脑小血管病中的研究进展[J].医学综述,2019,25(22):4385-4389.

[15]毛琳慎,杨思进.TGF- β 与冠心病及相应药物的研究进展[J].西南医科大学学报,2020,43(4):411-415.

(收稿日期: 2021-05-25)