

基于网络药理学探讨痰咳净方防治新型冠状病毒肺炎的可行性

谢 静^{1,2}, 田 野^{1,2}, 刘 杨^{1,2}, 罗学军^{1,2}, 缪兴龙^{1,2}, 李瑞明^{1,2}, 陈雅红³, 周水平², 何 毅^{1,2*}, 王 成^{4*}

1. 天士力控股集团有限公司研究院 现代中药开发中心, 天津 300410

2. 天士力医药集团股份有限公司 创新中药关键技术国家重点实验室, 天津 300410

3. 天津天士力医药商业有限公司, 天津 300410

4. 山东省胸科医院, 山东 济南 250013

摘 要: 目的 采用网络药理学方法探讨痰咳净方治疗呼吸系统的潜在作用机制, 并对其防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的可能性进行评估。方法 通过TCMSP、Swiss Target Prediction、OMIM等在线数据库收集痰咳净方有效化学成分、成分作用靶点及相关疾病信息。采用Cytoscape 3.7.1构建化合物-靶点网络和靶点-疾病网络。将上述靶点用String 10.0数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建并筛选出核心靶点, 最后利用DAVID 6.8数据库进行基因本体 (GO) 功能富集分析和KEGG通路富集分析, 预测其作用机制。结果 共筛选出49个主要活性成分, 与呼吸系统相关靶点85个, 针对疾病19种。PPI网络发现关联度较高的靶点有AKT1、IL-6、MAPK1、PTGS2、VEGFA、TNF、EGFR、STAT3、CCND1、MMP9、JUN、IL-10、ESR1等。基因本体 (GO) 条目1 793个, 其中生物过程相关的条目1 555个, 分子功能相关的条目134个, 细胞组成相关的条目104个。靶点对应的信号通路为137条, 涉及炎症性通路、病毒相关通路、免疫调节性通路、信号转导性通路、肿瘤相关通路及内分泌代谢通路等。结论 研究初步证明痰咳净方通过作用于ADCY2、AKT1、CASP8、CCND1、TNF、CASP8、IFNG、IL-4、IL-6等靶点调节人巨细胞病毒感染通路、IL-17信号通路、FoxO信号通路、HIF-1信号通路、人T细胞白血病病毒感染、TNF信号通路等多条信号通路, 来发挥对COVID-19的防治作用。

关键词: 痰咳净; 网络药理学; 呼吸系统疾病; 分子机制; 新型冠状病毒肺炎; 咖啡因; 木犀草素; 豆甾醇; 龙脑香醇酮; 槲皮素; 甘草酸

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2020) 04-0591-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.04.002

Potential mechanism analysis of respiratory system treated by Tankejing based on network pharmacology

XIE Jing^{1,2}, TIAN Ye^{1,2}, LIU Yang^{1,2}, LUO Xuejun^{1,2}, MIAO Xinglong^{1,2}, LI Ruiming^{1,2}, CHEN Yahong³, ZHOU Shuiping², HE Yi^{1,2}, WANG Cheng⁴

1. Development Center of Modern Chinese Medicine, Research Institute of Tasly Holding Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China

2. State Key Laboratory of Critical Technology in Innovative Chinese Medicine, Tasly Pharmaceutical Group Co. Ltd., Tianjin 300410, China

3. Tianjin Tasly Pharmaceutical Commercial Co., Ltd., Tianjin 300410, China

4. Shandong Provincial Chest Hospital, Jinan 250013, China

Abstract: Objective To study the potential mechanism of Tankejing in the treatment of respiratory system based on network pharmacology, and to evaluate the possibility of Tankejing in the prevention and treatment of COVID-19 pneumonia. **Methods** The effective chemical components, targets and related diseases of Tankejing were collected through online databases such as TCMSP, Swiss Target Prediction and OMIM. The relationship of Compound-Target network and Target-Disease network was established base

收稿日期: 2020-02-27

基金项目: 国家科技重大专项: 中医药优势领域的创新中药关键技术开发研究 (2017ZX09301005); 山东省重点研发计划: 新型冠状病毒潜在药物临床评价研究 (2020SFJGFY07)

第一作者: 谢 静, 女, 博士, 从事中药新药开发与研究工作。E-mail: tsl-xiejing21@tasly.com

*通信作者: 何 毅, 女, 博士, 主要从事中药新药研发、中药现代化及国际法规与注册。E-mail: heyi@tasly.com

王 成, 男, 主任医师, 主要从事胸部疾病的诊断及外科治疗、结核外科疾病的诊断治疗。E-mail: wangcheng98@126.com

on the Cytoscape 3.7.1. The above targets were constructed using String10.0 database for the PPI network and screen out the key targets. Finally, using the DAVID 6.8 database to perform GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis and to predict the action mechanism of Tankejing. **Results** There were 49 active components of Tankejing with 85 targets sites related to respiratory system, 94 of directly acting on disease. The PPI network found high correlation targets including AKT1, IL6, MAPK1, PTGS2, VEGFA, TNF, EGFR, STAT3, CCND1, MMP9, JUN, IL10, ESR1, etc. There were 1,793 entries in the gene ontology (GO), including 1,555 entries related to biological processes, 134 entries related to molecular functions, and 104 entries related to cell composition. There were 137 signaling pathways corresponding to the target, involving inflammatory pathways, virus-related pathways, immunoregulatory pathways, signal transduction pathways, tumor-related pathways, endocrine and metabolic pathways, etc. **Conclusion** This study preliminarily proves that Tankejing can play a role in the prevention and treatment of COVID-19 by acting on adcy2, AKT1, CASP8, CCND1, TNF, CASP8, IFNG, IL4, IL6 and other targets to regulate human cytomegalovirus infection pathway, IL-17 signaling pathway, FOXO signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, human T cell leukemia virus 1 infection, TNF signaling pathway and other signaling pathways.

Key words: Tankejing; network pharmacology; respiratory diseases; molecular mechanism; COVID-19; caffeine; luteolin; stigmasterol; borneol ketone; quercetin; glycyrrhizic acid

“痰咳净”方收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第二十册,由桔梗、苦杏仁、远志、五倍子、冰片、甘草6味中药和咖啡因组成,具有通窍顺气、消炎镇咳、促进排痰的功效^[1]。方中桔梗辛散苦泄、宣开肺气、化痰利气,为君药。苦杏仁味苦能降,且兼疏利开通之性,降肺气之中兼有宣肺之功;远志宁心安神,祛痰开窍,消散痈肿;咖啡因可使呼吸加深、加快,改善循环,促进排痰,且具解热镇痛作用;三者相伍为臣,以助君药宣肺、化痰、降气、排痰之用。五倍子敛肺降火,涩肠止泻,固精止遗,敛汗止血;冰片开窍醒神,清热止痛,二药相合,有通窍、清热、消炎、镇咳之功,乃本方之佐药。甘草为使,益气和中,调和诸药。七药相辅,共奏通窍顺气,消炎镇咳,促进排痰之功效。临床上以片、散、滴丸剂型存在,常用于治疗急慢性支气管炎和咽喉炎等引起的咳嗽多痰、气喘、气促等症^[2-3]。

目前对痰咳净方的临床研究报道较多,但是对分子机制的研究报道较少。面对中药复方多成分、多靶点、多机制的特点,传统科学研究方法由于缺少化学和生物学表征,很难与现代科学相融合。随着基因组学、蛋白组学、代谢组学等组学技术的发展,网络药理学(Network Pharmacology)作为系统生物学和生物信息学的有机结合体之一,通过对基因、蛋白、疾病、药物等数据库与实验室获得的真实数据分析,融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络分析等多学科技术内容,从系统、整体的角度构建多层次网络,揭示多分子药物协同作用于机体的奥秘^[4-6]。

2019年12月底,我国爆发新型冠状病毒肺炎

(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)。目前,西药治疗以常用抗病毒药物 α -干扰素、洛匹那韦、利巴韦林等为主,中药以宣肺化浊、清热解毒复方为主^[7-8]。但至今尚无针对性的特效药物,开发快速有效的治疗药物,是当前迫在眉睫的任务^[9]。本研究利用网络药理学研究方法,对痰咳净方多成分、多靶点与多种疾病间的复杂关系进行探讨,旨在为探索痰咳净方对呼吸系统疾病作用机制,为临床用药和药物开发研究奠定基础,并对痰咳净方防治COVID-19的可行性进行评估。

1 方法

1.1 活性成分检索与筛选

通过中药系统药理数据库(TCMSP)(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>)检索痰咳净方的化学成分。对于未检索到的单味药,采用BATMAN-TCM数据库(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)进行搜索。以TCMSP数据库中口服利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.15 ,BATMAN-TCM数据库Target score > 20 为优化条件,并结合已报道的现代药理学研究文献,进行痰咳净方主要药效成分的筛选。

1.2 活性成分作用靶点获取

收集TCMSP数据库和BATMAN数据库中痰咳净方桔梗、苦杏仁、远志、五倍子、冰片、甘草活性成分的作用靶点。对于单体化合物咖啡因,采用在线数据库PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)和Swiss Target Prediction(<http://swisstargetprediction.ch/faq.php>)收集其作用靶点。利用UniProt(<http://www.uniprot.org>)数据库得到所有对应靶点信息的official gene symbol。

1.3 成分靶点相关疾病检索

将活性成分对应的靶点信息输入到 The Comparative Toxicogenomics Database (CTD, <https://ctdbase.org>), 检索成分靶点对应疾病的种类。

1.4 化合物-靶点、靶点-疾病的网络构建

将痰咳净方的化合物、靶点和相关疾病通过 Cytoscape 3.7.1 软件 (<http://www.Cytoscape.org/>), 构建化合物-靶点网络和靶点-疾病网络, 以探究痰咳净方的药效学作用机制。

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

为了说明痰咳净方中活性化合物对应的靶点在系统水平上的作用, 将痰咳净方相关靶点基因上传至 String 10.0 软件 (<http://string-db.org>), 以 Combined score ≥ 0.9 为筛选标准, 选取置信度较高的数据, 构建由导入基因所表达产物组成的 PPI 网络图。同时, 运用 Rversion 3.3.2 软件 (<https://www.r-project.org/>) 对 PPI 网络中的蛋白绘制相应的条形图。

1.6 基因本体(GO)功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

为了说明咳痰净方中活性成分在基因功能和

信号通路上如何发挥作用, 采用 David v6.7 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对痰咳净方相关靶点基因进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。通过 Cytoscape 3.7.1 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 活性化合物筛选

以 TCMS 数据库 OB $\geq 30\%$ 和 DL ≥ 0.15 , BATMAN-TCM 数据库 Target score > 20 作为痰咳净方活性成分的筛选条件, 去除未搜索靶点的化合物, 并结合已有化学成分、药理作用和临床应用文献报道进行进一步分析。全方除单体化合物咖啡因外, 共搜集 48 个有效化合物, 其中桔梗 4 个、苦杏仁 15 个、远志 6 个、五倍子 3 个、冰片 2 个、甘草 18 个。各单味药活性化合物及靶点相关信息见表 1。

2.2 痰咳净方活性成分-靶点网络分析

将 49 个候选化合物 (48 个单味药中有效化合物和咖啡因) 与其对应靶点导入 Cytoscape 3.7.1 进行成分靶点网络图的构建, 如图 1 所示。该图共 421 个

表 1 痰咳净方活性化合物与相应靶点信息

Table 1 Active compound and corresponding target information

来源	名称	MOL ID	靶点数目	来源	名称	MOL ID	靶点数目
桔梗	Acacetin	MOL001689	75	咖啡因	Caffeine	MOL003973	116
桔梗	Spinasterol	MOL004355		五倍子	Digallate	MOL000569	13
桔梗	cis-Dihydroquercetin	MOL004580		五倍子	Ampelopsin	MOL013374	
桔梗	Luteolin	MOL000006		五倍子	Myricetin	MOL002008	
苦杏仁	Estrone	MOL010921	159	冰片	Dipterocarpol	MOL006865	45
苦杏仁	11,14-eicosadienoic acid	MOL002211		冰片	Asiatic Acid	MOL007253	
苦杏仁	Sitosterol	MOL000359		甘草	Glabrene	MOL004911	232
苦杏仁	Stigmasterol	MOL000449		甘草	Licochalcone a	MOL000497	
苦杏仁	CLR	MOL000953		甘草	Licoisoflavone	MOL004883	
苦杏仁	Mairin	MOL000211		甘草	Licoisoflavone B	MOL004884	
苦杏仁	(+)-catechin	MOL000492		甘草	Glypallichalcone	MOL004835	
苦杏仁	Glycyrol	MOL002311		甘草	Licopyranocoumarin	MOL004904	
苦杏仁	Spinasterol	MOL004355		甘草	Liquiritin	MOL004903	
苦杏仁	Licochalcone B	MOL004841		甘草	Quercetin	MOL004961	
苦杏仁	Liquiritin	MOL004903		甘草	Gancaonin A	MOL004856	
苦杏仁	Glabridin	MOL004908		甘草	Gancaonin B	MOL004857	
苦杏仁	Phaseol	MOL005017		甘草	Gancaonin G	MOL005000	
苦杏仁	Machiline	MOL007207		甘草	Gancaonin H	MOL005001	
苦杏仁	l-SPD	MOL012922		甘草	Glycyrrhizic acid	MOL004876	
远志	S-(2-Carboxyethyl)-L-Cysteine	MOL007177	114	甘草	Glycyrrhetic acid	MOL004804	
远志	Tenulin	MOL002318		甘草	Isoliquiritigenin	MOL001789	
远志	Norharman	MOL006844		甘草	Neolicuroside	MOL003244	
远志	Perlolyrine	MOL002140		甘草	Ononin	MOL000391	
远志	Harmine	MOL008570		甘草	Liquiritigenin	MOL001792	
远志	Harman	MOL006841					

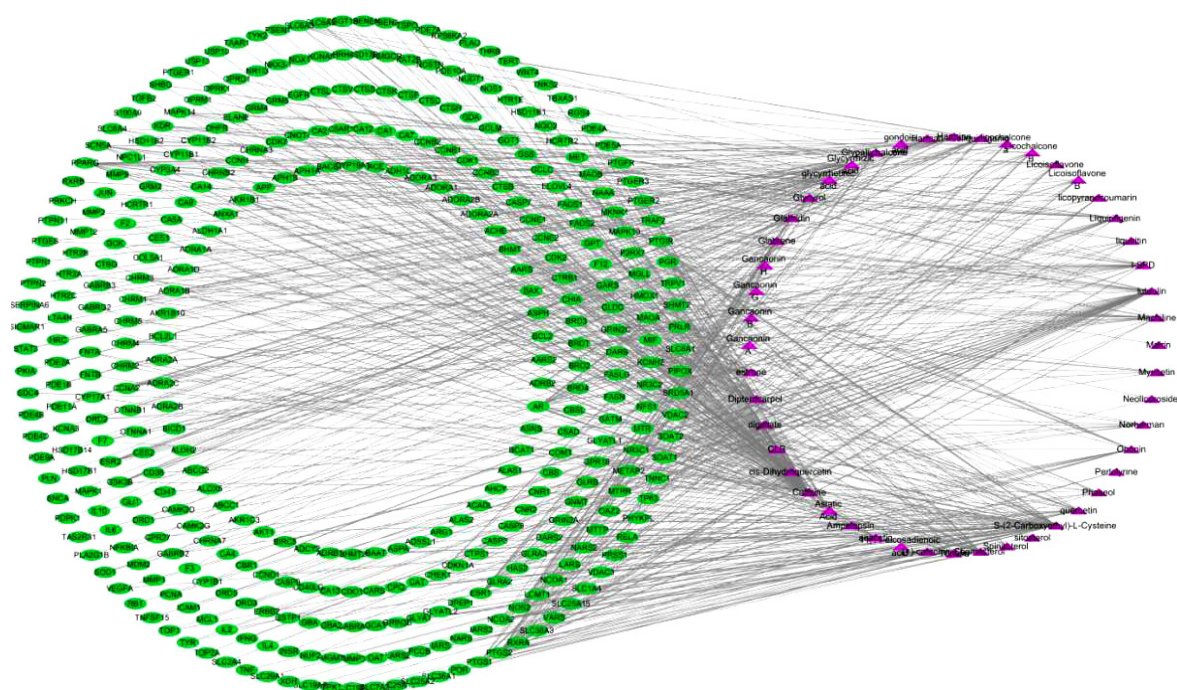


图1 活性成分-靶点网络图

Fig. 1 Active ingredient-target network diagram

节点,包括49个化合物节点、372个靶点节点和754条边。其中,紫色节点代表化合物分子,绿色节点代表药物靶点,每条边代表化合物分子与靶点之间的相互作用关系。节点度代表网络中和节点相连路线的条数,其数值越高,说明该化合物或靶点在该网络中越重要。表2列出了化合物-靶点网络中化合物和靶点的度。

该网络中,每一个化合物的平均靶点数目为15个,每个靶点平均与2个化合物相互作用,说明痰咳净方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,体现了痰咳净方多成分与多靶点之间共同作用的机制,同时也符合中药方剂的特点。从化合物角度,有26个化合物的作用靶点 ≥ 10 个,其中靶点 ≥ 20 的14个。咖啡因的连接度最高,能与115个靶点蛋白形成相互作用,其次是远志中的*S*-(2-羧乙基)-*L*-半胱氨酸[*S*-(2-Carboxyethyl)-*L*-Cysteine],作用靶点79个;桔梗中的木犀草素(luteolin),作用靶点50个;苦杏仁中的豆甾烯醇(Stigmasterol),作用靶点26个。从靶点角度,有9个基因的作用化合物大于10,度值最高的是前列腺素内过氧化酶(PTGS2),对应29个化合物,其次是雄激素受体(AR)和雌激素受体(ESR1),分别对应化合物21和19个;过氧化物酶体增生激活受体 γ (PPARG)和一氧化氮合酶(NOS1)对应化合物均为16个。

表2 化合物-靶点网络的关键节点及其拓扑学性质

Table 2 Key nodes of the compound-target network and their topological properties

名称	类别	介数	度
Caffeine	compound	0.557 556 8	115
<i>S</i> -(2-Carboxyethyl)- <i>L</i> -Cysteine	compound	0.340 952 69	79
luteolin	compound	0.264 102 84	50
Stigmasterol	compound	0.047 092 98	26
Dipterocarpol	compound	0.077 104 47	26
quercetin	compound	0.029 980 5	22
l-SPD	compound	0.029 598 49	22
Liquiritigenin	compound	0.053 809 7	21
Isoliquiritigenin	compound	0.050 628 74	21
Glypallichalcone	compound	0.020 624 33	21
Glycyrrhizic acid	compound	0.044 577 17	21
glycyrrhetinic acid	compound	0.063 741 08	21
Glabridin	compound	0.016 323 3	20
PTGS2	target	0.078 016 62	29
AR	target	0.053 403 14	21
ESR1	target	0.016 378 48	19
PPARG	target	0.015 754 2	16
NOS2	target	0.055 895 09	16
NCOA2	target	0.027 480 22	15
PTGS1	target	0.045 838 44	15
PGR	target	0.016 206 48	11
ADRB2	target	0.002 760 7	10

2.3 痰咳净方靶点-疾病网络分析

将 372 个靶点导入 CTD 数据库中,共富集于 539 类疾病,主要涉及人体的神经、消化、呼吸、心血管、泌尿等多个系统,如肿瘤、肝硬化、肺炎、哮喘、糖尿病、支气管炎。可推测痰咳净方目前还存在暂时未被发现的多种作用途径,可能在这些疾病的治疗过程中发挥一定的作用,值得进一步深入研究。靶点涉及疾病种类及个数(疾病数>20)信息见表 3。

根据痰咳净方的功能主治,为了更好地研究痰咳净方治疗呼吸系统疾病的作用机制,构建靶点-疾病网络图如图2所示。该图共包括104个节点,包括85个靶点节点、19个疾病节点和313条边。其中,蓝色节点代表靶点,红色节点代表疾病,每条边代表靶点与疾病之间的相互作用关系。涉及到的疾病包括哮喘、肺炎、肺气肿、呼吸道超敏反应、肺损伤、非小细胞肺癌、支气管肿瘤、肺部慢性阻塞性疾病、肺纤维化、高血压肺、呼吸道感染、尘肺、胸膜炎、肺部疾病阻塞性、支气管疾病、特发性肺纤维化、胸膜疾病、间质性肺疾病、肺肿瘤。本研究通过对19种疾病的度进行计算发现,疾病对应的平均靶点基因为10个,表明呼吸系统疾病不是通过单一分子病变引起,是由机体多分子或基因发生紊乱,导

表3 靶点涉及疾病种类及个数(疾病数>20)

Table 3 Types and number of diseases involved in the target (number of diseases > 20)

排序	疾病种类	疾病数	基因数
1	Cancer	109	190
2	Nervous system disease	76	162
3	Digestive system disease	51	168
4	Cardiovascular disease	50	127
5	Urogenital disease (female)	44	105
6	Mental disorder	39	114
7	Urogenital disease (male)	37	107
8	Metabolic disease	33	120
9	Endocrine system disease	31	97
10	Immune system disease	31	90
11	Respiratory tract disease	25	92
12	Genetic disease (inborn)	23	122
13	Skin disease	23	103

致通路活性异常而引起的一系列生理反应。中药复方满足现代疾病多靶点、多机制的治疗需求。

2.4 靶点 PPI 网络分析

将“2.3”项靶点输入到 String 数据库中进行检索,选取 minimum required interaction score>0.4 的靶点,进行 PPI 网络分析如图 3 所示。含有 81 个节

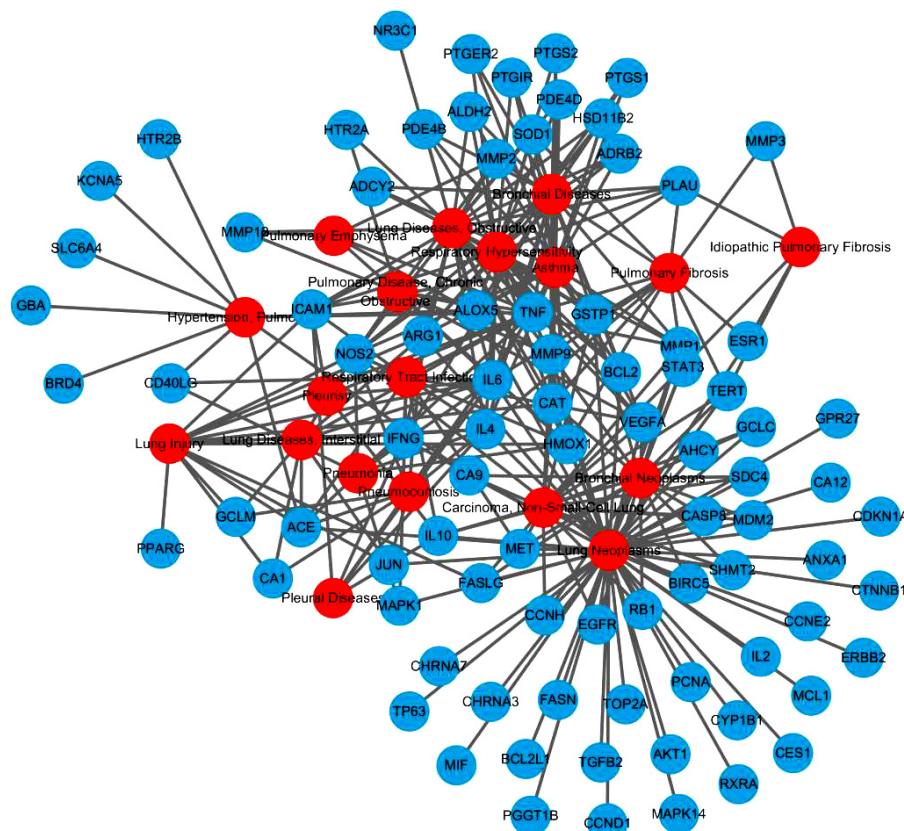


图2 靶点-呼吸系统疾病网络图

Fig. 2 Target-respiratory disease network diagram

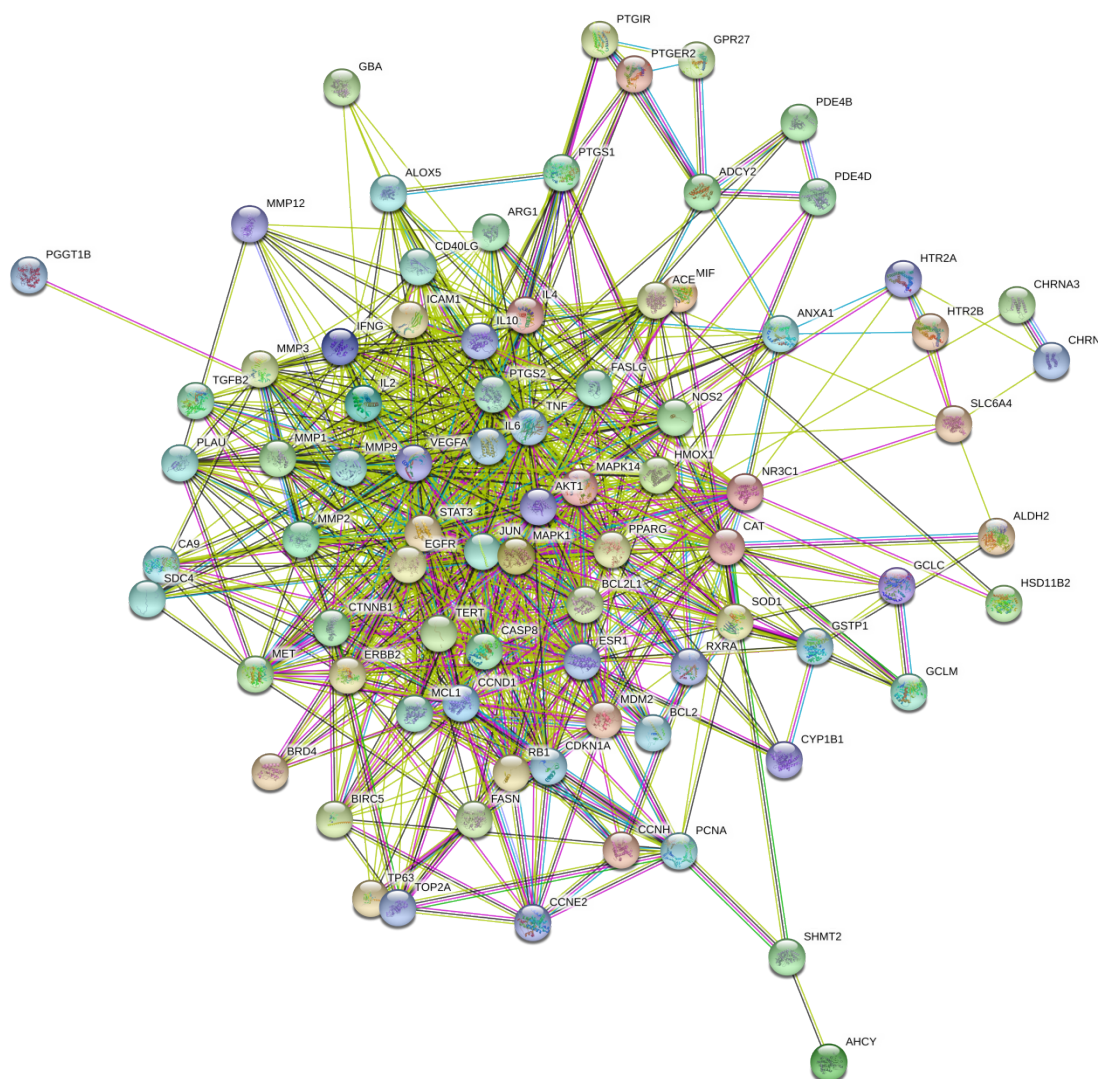


图3 痰咳净方与呼吸系统相关靶点的PPI网络
Fig. 3 PPI network of related targets of Tankejing

点,1 734条边,其中节点代表靶点,每条边代表靶点与靶点之间的相互作用关系。根据节点的度值 ≥ 27 绘制出了条形图,如图4所示。筛选出核心基因,包括: AKT1、IL-6、MAPK1、PTGS2、VEGFA、TNF、EGFR、STAT3、CCND1、MMP9、JUN、IL-10、ESR1、ERBB2、IL-4、MAPK14、MMP2、CAT、BCL2L1、IL-2、PPARG、CASP8、HMOX1、ICAM1、IFNG、CDKN1A、CTNNB1、MDM、FASLG、MCL1。

2.5 靶点GO富集和KEGG富集通路分析

利用 DAVID 平台的 GO 富集和 KEGG PATHWAY 分析功能,对痰咳净PPI网络中涉及的81个蛋白质的功能进行了研究。

在GO富集分析中,确定了1 793个GO条目。如图5所示,其中,生物过程相关的条目1 555个,涉及生物调节、对刺激的反应、细胞过程的调节、细胞

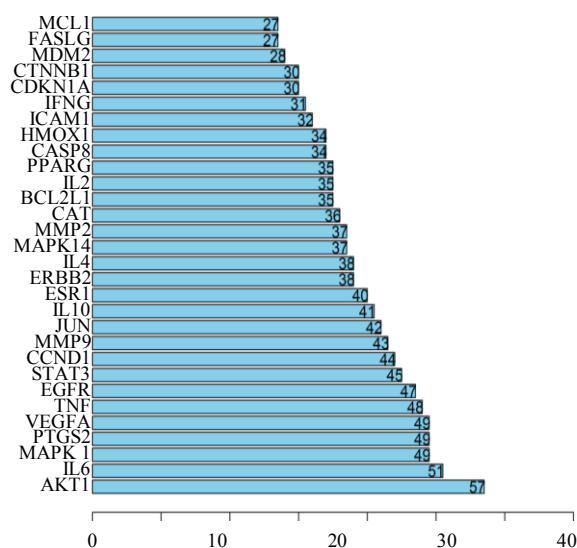


图4 PPI网络中的关键节点
Fig. 4 Key nodes in the PPI network

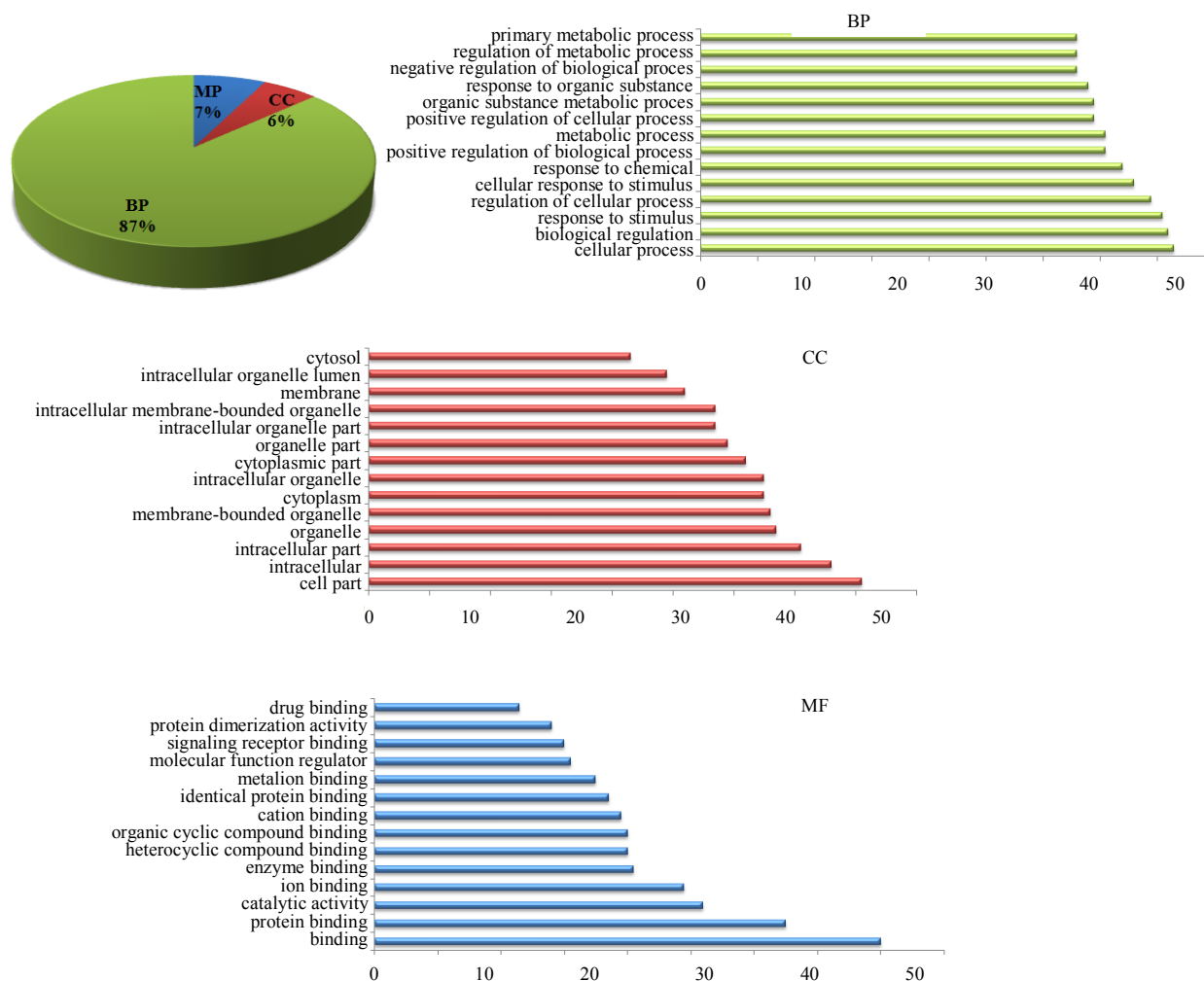


图5 痰咳净方治疗呼吸系统疾病相关靶点在生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组成(CC)上富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis of biological process (BP), molecular function (MF) and cell composition (CC) related targets of Tankejing

对刺激的反应、对化学物质的反应、积极调控生物过程、代谢过程、有机物代谢过程、生物过程的负调控、代谢过程的调节、初级代谢过程等方面;分子功能相关的条目134个,涉及蛋白质结合、催化活性、离子结合、酶结合、阳离子结合、相同的蛋白质结合、金属离子结合、分子功能调节、信号受体结合、蛋白质二聚活性等方面;细胞组成相关的条目104个,涉及细胞内细胞器、膜结合细胞器、细胞质、胞质溶胶等方面。GO富集分析绘制如图6所示,从显著性 P 值可以看出,痰咳净方对于呼吸系统的慢性阻塞性肺疾病、肺腺癌和肺癌等疾病作用显著。

在通路富集分析中,得到 $P < 0.05$ 的信号通路137条。其中,涉及到炎症性通路,如TNF-IL-17信号通路、TRP通道的炎性介质调节、NF- κ B信号通路、Toll样受体信号通路、PI3K-Akt信号通路;病毒相关通路,如人巨细胞病毒感染、人T细胞白血病病

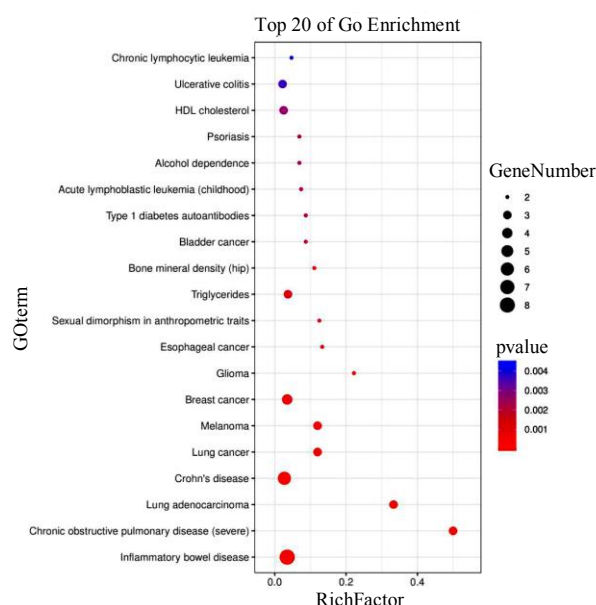


图6 痰咳净方治疗呼吸系统疾病相关靶点GO富集分析

Fig.6 GOenrichmentanalysisofrelatedtargetsofTankejing

毒感染、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒感染、病毒致癌、甲型流感、NOD样受体信号通路、非小细胞肺癌、小细胞肺癌;肿瘤相关通路,如p53信号通路;免疫调节性通路,如Th17细胞分化通路、Th1和Th2细胞分化通路、T细胞受体信号通路;信号转导性通路,如cAMP信号通路、鞘脂信号通路、VEGF信号通路、cGMP-PKG信号通路。内分泌代谢通路,如II型糖尿病通路、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路、雌激素信号通路、甲状旁腺激素的合成、分泌和作用、甲状腺激素信号通路、类固醇激素的合成、孕激素介导的卵母细胞成熟;根据显著性 P 值大小绘制钱20条信号通路条形图,如图7所示。

3 讨论

本研究运用网络药理学方法系统地探讨了痰咳净方治疗呼吸系统疾病的潜在作用机制。根据预测结果发现,痰咳净方的物质基础为咖啡因、木犀草素、豆甾醇、龙脑香醇酮、槲皮素、甘草酸、甘草次酸、千金藤啶碱、甘草素等49个化合物,与呼吸系统疾病相关靶点85个,主要作用于调节人巨细胞病毒感染通路、IL-17信号通路、FoxO信号通路、HIF-1信号通路、人T细胞白血病病毒感染、TNF信号通路等与炎症性、病毒感染性、免疫调节性相关的通路,发挥消炎镇咳、祛痰平喘的功效。可以看出,痰咳净方对由炎症和病毒引起的呼吸道系统疾病存在较大的开发应用潜力。

急慢性支气管炎患者常出现的咳痰、气喘是由于气管、支气管和肺受到有害因素的刺激或致病细菌感染而发生炎症,呼吸道黏膜充血、水肿,大量炎性细胞浸润,血管扩张,渗出增加,黏液分泌大量增多,滞留在支气管内,影响气管平滑肌正常功能而

产生的^[10]。IL-17信号通路与痰咳净方对应的RELA、CASP3、CASP8、MAPK10、S100A9等19个靶标基因有关。IL-17由CD⁴⁺T细胞分泌,能够诱导上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞合成分泌IL-6、IL-8、G-CSF、PGE₂,促进ICAM-1的表达。IL-17是T细胞来源细胞因子,该家族包括6个成员的配体(IL-17A~IL-17F)和5个受体(IL-17RA~IL-17RD和SEF)。作为一种主要由活化的T细胞产生的致炎细胞因子,可以促进T细胞的激活和刺激上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞产生多种细胞因子,如IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)和化学增活素及细胞黏附分子1(cellular adhesion molecule 1, CAM-1),从而导致炎症的产生。IL-17B在重症肺炎患儿中显著升高,它可以通过激活p38 MAPK、ERK、JAK和NF- κ B信号通路诱导人支气管上皮细胞产生IL-6^[11-12]。TNF信号通路与痰咳净方对应的AKT1、CASP8、ICAM1、IL6、JUN、MAPK1、MAPK14等11个靶标基因有关。TNF是1种炎性细胞因子,当与其受体TNFR1结合时,可以驱动细胞因子的产生,细胞的存活或死亡, TNFR1的刺激引起NF- κ B、p38 α 及其下游效应激酶MK2的激活,从而促进靶基因的转录, mRNA的稳定和翻译^[13-14]。可以看出,痰咳净方对炎症通路具有一定的抑制作用,能够缓解支气管炎患者的多痰、气喘等症状。

人巨细胞病毒感染通路与痰咳净方对应的ADCY2、AKT1、CASP8、CCND1、CDKN1A、CTNBN1、EGFR等18个靶点基因有关,是与病毒相关的重要通路之一。作为一种疱疹病毒组DNA病毒,其分布广泛,可从轻微无症状感染引起严重缺

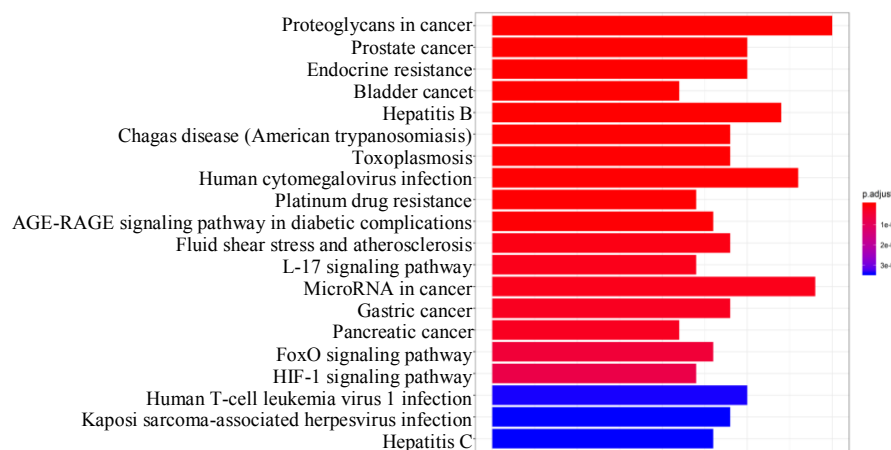


图7 痰咳净方治疗呼吸系统疾病相关靶点的KEGG通路分析

Fig. 7 KEGG pathway analysis of related targets of Tankejing

陷或死亡,巨细胞病毒感染是可通过母婴传播途径引发婴儿肺炎、支气管肺发育不良疾病^[15-16]。人T细胞白血病1型病毒(HTLV-1)是第1个被发现的人类反转录病毒,是引起成人T细胞白血病/淋巴瘤(ATLL)的病原体,人体一旦感染,可出现免疫力低下、流感等症状,严重时出现器官衰竭^[17]。其在通路中痰咳净方 MAPK1、RB1、TERT、TGFB2、BCL2L1、CCND1、CCNE2、CDKN1A 等 15 个靶点基因相互对应。EB 病毒为疱疹病毒科嗜淋巴细胞病毒属的成员,与鼻咽癌、儿童淋巴瘤的发生有密切相关,研究发现,EB 病毒通过升高慢阻肺急性加重患者肺部感染血清中的 PCT、CRP、IL-6、IL-17、IL-10 水平,引起咳嗽、气喘、发热症状^[18-19]。甲型流感对人类致病性高,感染后的症状主要表现为高热、咳嗽、流涕、肌痛等,多数伴有严重的肺炎,严重者心、肾等多种脏器衰竭导致死亡,病死率很高。痰咳净方通过调节 ICAM1、IFNG、IL-6、MAPK1、TNF 等相关基因作用于甲型流感通路^[20-21]。可以看出,痰咳净方对 DNA 和 RNA 病毒具有一定的抑制作用,能够缓解流感病毒出现的发热、咳嗽、气喘等症状。

Toll 样受体信号通路为人体天然的免疫调节性通路,与痰咳净方对应 AKT1、CASP8、IL-6、JUN、MAPK1、MAPK14/TNF 等 7 个靶点基因有关。TLR3、TLR4、TLR7、TLR8 和 TLR9 主要参与对病毒组分的识别,在 Toll 样蛋白受体所介导的抗病毒天然免疫反应中发挥着重要作用。除 TLR3 外,其余 4 个 Toll 样蛋白受体在受到相应的病毒组分刺激后都会招募并激活一个很重要的接头蛋白 MyD88(myeloid differentiation primary response gene 88),经过激酶 IRAK-4 (IL-1 receptor-associated kinase 4)、TRAF6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6) 激活过程后,IKK(I κ B kinase)激酶复合体活化后进而激活转录因子 NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells),从而诱导各种抗病毒细胞因子的产生。TLR3 则被病毒双链 RNA 激活以后,介导一条 MyD88 非依赖性的信号通路发挥抗病毒作用^[22-25]。NOD 样受体信号通路与痰咳净方对应的 RELA、BCL2、CASP8、CTSB、P2RX7 等 17 个靶点基因有关。FoxO 信号通路与痰咳净方对应 FASLG、IL10、IL6、MAPK1、MAPK14、MDM2、STAT3、TGFB2 等 13 个靶点基因有关。FOXO3 是由 FOXO3 基因编码的人类蛋白质,其异常表达可能与肿瘤的发生密切相关。研究发现,抑制 FoxO 信号通路可缓解脂多糖(LPS)诱导

的大鼠急性肺损伤^[26]。除此之外,痰咳净还可作用于 HIF-1 信号通路、JAK-STAT 信号通路、T 细胞受体信号通路等免疫调节性通路。

此外,根据 GO 富集分析结果可知,痰咳净方对慢性阻塞性肺疾病、肺腺癌和肺癌等疾病可能具有较好治疗效果,但仍需进一步的药理及临床研究验证。通过本研究可以推测,痰咳净方对防治 COVID-19 具有较高的临床研究价值。从方中药味配伍规律来看,桔梗、苦杏仁、远志、五倍子、冰片、甘草 6 味中药相辅相成,作用于肺经,共奏清热解毒、宣肺泄热、通窍顺气之效,对止咳、平喘、化痰有一定的作用。方中单体化合物咖啡因,是一种中枢兴奋剂,常用于感冒药,可使呼吸加深、加快,改善循环,促进排痰,研究发现,急性摄入咖啡因可升高血压^[27]。目前,多种体外实验和动物模型证实,严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)能够通过下调 ACE2 水平激活肾素-血管紧张素系统(RAS 轴),引起血压升高^[28-29]。新型冠状病毒(SARS-CoV-2)具有与 SARS-CoV 相似的侵入人体途径^[30],感染初期有升高患者血压的风险,因此有高血压病史的感染者应谨慎使用痰咳净方。

从分子机制方面来看,痰咳净方可直接作用于一些天然的抗病毒、抗炎、免疫调节信号通路。能够缓解早、中期 COVID-19 患者由病毒和炎症引起的发热、咳嗽、咽喉肿痛、气喘、咯痰、乏力等肺炎症状,减缓肺损伤程度,增强患者免疫力。针对其临床疗效是否能够直接作用于病毒本体等问题,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 张颖梅,朱焕容,汪霞.痰咳净散的薄层色谱鉴别[J].中国现代药物应用,2008,2(5): 27.
- [2] 辛铭金.痰咳净散为介质推拿治疗小儿急性支气管炎 94 例[J].湖南中医杂志,2012,28(5): 100-101.
- [3] 王琴.益肺胶囊联合痰咳净散对 COPD 稳定期的临床疗效[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(8): 281-283.
- [4] 解静,高杉,李琳,等.网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J].中草药,2019,50(10): 2257-2265.
- [5] 陈海彬,周红光,李文婷,等.网络药理学—中药复方作用机制研究新视角[J].中华中医药杂志,2019,34(7): 2873-2876.
- [6] 姚新生.中药复方药物现代化、规范化、国际化战略的思考[J].南京中医药大学学报,2019,35(5): 481-483.
- [7] 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版).[EB/OL]. (2020-02-04) [2020-02-26]. <http://www.gov.cn/>

- zhengce/zhengceku/2020-02/05/content_5474791.htm.
- [8] 赵新, 张林旭, 路雪婧. 基于数据挖掘初探预防新型冠状病毒肺炎中医方药 [J/OL]. 中草药: 1-6. [2020-03-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200228.1909.004.html>.
- [9] 刘昌孝, 王玉丽, 闫凤英. 认识新型冠状病毒肺炎, 关注疫情防控药物研发 [J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(2): 1-10.
- [10] Mejza F, Gnatiuc L, Buist A S, et al. Prevalence and burden of chronic bronchitis symptoms: results from the BOLD study [J]. Eur Respir J, 2017, 50(5): 1700621.
- [11] 周洁, 曾秋丽, 陈大鹏. 重症肺炎儿童血清 IL-17B 升高及其介导人支气管上皮细胞表达 IL-6 的免疫机制研究 [J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(12): 1-9.
- [12] 何焱, 伍晓玲, 陈晓婷. 白细胞介素-17 在慢性阻塞性肺疾病患者中的表达及作用机制 [J]. 免疫学杂志, 2019, 35(4): 341-347, 355.
- [13] 牛泽群, 王立明, 冯辉, 等. TLR4/NF- κ B 信号通路在急性重症胰腺炎相关肺损伤大鼠中的作用研究 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2019, 24(12): 1404-1407.
- [14] 田莉, 王献华, 马小兵, 等. TNF- α 介导的 NF- κ B 信号通路在肺纤维化中的作用 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(2): 361-363, 365.
- [15] Li W, Liu L F, Tao R, et al. Epidemiological characteristics of human cytomegalovirus infection and glycoprotein H genotype in Chinese children [J]. Pediatr Neonatol, 2020, 61(1): 63-67.
- [16] 柯创宏, 韩焕钦, 杨天骄. 免疫功能正常婴儿巨细胞病毒肺炎临床分析 [J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(11): 1991-1995.
- [17] 刘威, 丁华夏, 董莉君, 等. 人 T 细胞白血病 1 型病毒和成人 T 细胞白血病 [J]. 新乡医学院学报, 2015, 32(6): 484-486, 490.
- [18] 张正玲, 张翊玲, 路苹, 等. EB 病毒感染对慢性阻塞性肺疾病急性加重期炎症反应影响 41 例临床研究 [J]. 中国实用内科杂志, 2019, 39(2): 153-157.
- [19] Zhang Z, Wang H, Ding Q, et al. The tumor suppressor p53 regulates autophagosomal and lysosomal biogenesis in lung cancer cells by targeting transcription factor EB [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 1055-1060.
- [20] Opanda S, Bulimo W, Gachara G, et al. Assessing antigenic drift and phylogeny of influenza A (H1N1 pdm09) virus in Kenya using HA1 sub-unit of the hemagglutinin gene [J]. PloS one, 2020, 15(2): e0228029.
- [21] 张立, 王春燕, 孙昕, 等. 甲型 H1N1 流感病毒性重症肺炎患者临床实验室检验及肺功能的随访研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(24): 34-37.
- [22] Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA [J]. Nature, 2000, 408: 740-745.
- [23] Li S, Strelow A, Fontana E J, et al. IRAK-4: a novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 5567-5572.
- [24] Suzuki N, Suzuki S, Duncan G S, et al. Severe impairment of interleukin-1 and Toll-like receptor signalling in mice lacking IRAK-4 [J]. Nature, 2002, 416: 750-756.
- [25] Muroi M, Tanamoto K. TRAF6 distinctively mediates MyD88- and IRAK-1-induced activation of NF-kappaB [J]. J Leukoc Biol, 2008, 83: 702-707.
- [26] 潘旭东, 陈思文, 沈旦, 等. 戈米辛 A 通过调控 TLR-4、Akt/FoxO1 信号通路降低 LPS 诱导的大鼠急性肺损伤 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(12): 1248-1252.
- [27] 杨涛. 膳食因子咖啡因和薄荷醇调控血压的机制研究 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2015.
- [28] Kuba K, Imai Y, Ohto-Nakanishi T, et al. Trilysin of ACE2: A peptidase in the renin - angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters [J]. Pharmacol Ther, 2010, 128(1): 119-128.
- [29] Oudit G Y, Kassiri Z, Jiang C, et al. SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS [J]. Eur J Clin Invest, 2009, 39(7): 618-625.
- [30] 李红芳, 邓勇志. 高血压患者感染新型冠状病毒: 原用 ACEI 或 ARB 是否应继续使用? [J]. 临床心血管病杂志, 2020, 36(3): 204-208.