

逍遥散和开心散“同病异治”抑郁症的网络药理学作用机制研究

高 耀^{1,2}, 吴 丹^{1,2}, 田俊生^{1,2}, 周玉枝^{1,2}, 高晓霞^{1,2}, 秦雪梅^{1,2*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 采用网络药理学的方法, 研究逍遥散与开心散的活性成分、作用靶点及生物学意义, 探讨其“同病异治”抑郁症的作用机制。 **方法** 采用 TCMID、Batman-TCM、TCM database@Taiwan 分别获取逍遥散和开心散的成分和靶点, 通过 TTD、PharmGkb、CTD、Genecard、OMIM、DrugBank 筛选抑郁症相关的蛋白, 构建蛋白相互作用网络 (PPI), 通过 Cytoscape 的 Network Analyzer 工具进行靶点的拓扑属性分析, 运用其插件 ClusterViz 的 MCODE 算法进行聚类分析, DAVID 通路进行生物过程和通路富集分析。 **结果** 网络分析结果表明两方可能通过 INS、AKT1、TP53、IL6、CREB1 等关键蛋白, 神经活性配体-受体相互作用、cAMP 信号通路、5-羟色胺能神经突触、Calcium 信号通路和胆碱能突触发挥抗抑郁的作用。PIK3CA、BDNF、PIK3R1、NGF 蛋白所在的 PI3K-Akt、钙离子等信号通路为逍遥散特有的抗抑郁机制; CCND1、PRKACA、GCLM、GCLC 蛋白所在的 Oxytocin 信号通路、胆碱能突触等通路为开心散特有的抗抑郁机制。 **结论** 逍遥散和开心散由于组方差异, 在抗抑郁靶点方面既有相同也有不同; 通过对靶点和通路的分析初步阐明抑郁症“同病异治”的科学内涵。

关键词: 逍遥散; 开心散; 抑郁症; 同病异治; 网络药理学

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)15-3483-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.004

Mechanism of network pharmacology of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder in treating depression with “Same disease with different treatments”

GAO Yao^{1,2}, WU Dan^{1,2}, TIAN Jun-sheng^{1,2}, ZHOU Yu-zhi^{1,2}, GAO Xiao-xia^{1,2}, QIN Xue-mei^{1,2}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Shanxi Key Laboratory of Active Constituents Research and Utilization of TCM, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective The network pharmacology method was used to predict the active components, targets, and mechanism of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder, and to explore the molecular mechanism of depression “same disease with different treatments”. **Methods** TCMID, Batman-TCM, and TCM database@Taiwan were used to predict the targets and ingredients of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder. The prediction was made via screening out the antidepressive drug targets approved by TTD, PharmGkb, CTD, Genecard, OMIM, DrugBank database, and constructing protein interaction network (PPI). Through the Network Analyzer tool of Cytoscape, the topology of the target was analyzed, the MCODE algorithm of the plug-in ClusterViz was used for cluster analysis, and the DAVID biological molecular function software was used to perform enrichment analysis. **Results** The network analysis indicated that two prescriptions may play antidepressant roles through INS, AKT1, TP53, IL6, and CREB1 targets, involving neuroactive ligand-receptor interaction, cAMP signaling pathway, serotonergic synapse, calcium signaling pathway, and cholinergic synapse pathways. The unique antidepressant mechanism for Xiaoyao Powder is that PIK3CA, BDNF, PIK3R1, and NGF target the PI3K-Akt, calcium, and other signal pathways, and CCND1, PRKACA, GCLM, GCLC targeting oxytocin signaling pathway, cholinergic synapses, and other pathways is considered as Kaixin Powder unique antidepressive mechanism. **Conclusion** Xiaoyao Powder and Kaixin Powder have similarities and differences in antidepressant targets due to their differences in

收稿日期: 2018-01-24

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2017ZX09301047); 中国博士后科学基金面上资助项目 (2016M602414); 山西省科技重点研发计划项目 (201603D3113013, 201603D321077); 山西省自然科学基金项目 (201701D22111344); 山西省重点实验室资助项目 (201605D111004); 山西省科技创新重点团队资助项目 (201605D131045-18); 山西省研究生教育创新项目 (2016SY007, 2017JD02)

作者简介: 高 耀 (1990—), 男, 博士研究生, 研究方向为中药网络药理学。Tel: 18734823114 E-mail: 18734823114@163.com

***通信作者** 秦雪梅, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药精神药理研究、中医药代谢组学研究。

Tel: (0351)7018379 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

composition, and the scientific connotation of “same disease with different treatments” is preliminarily clarified by the analysis of the target and the pathway.

Key words: Xiaoyao Powder; Kaixin Powder; depression; same disease with different treatments; network pharmacology

“同病异治”概念出自《内经》：“岐伯曰：西北之气散而寒之，东南之气收而温之，所谓同病异治也”^[1]。中医学早在几千年前就提出了“同病异治”思想，即同一病症，可因人、因时、因地的不同，或由于病情的发展、病型的各异、病机的变化差异，治疗时应根据不同的情况，采取不同的治法^[2]。“同病异治”的治疗方法包括同病不同病机而异治、同病不同病位而异治、同病不同证候虚实而异治、同病不同病性寒热而异治、同病因病程阶段不同而异治。“同病异治”的运用特色反映了中医诊治疾病强调审证求因和病症结合的辨证论治的特点。正是“同病异治”被临床中普遍应用，成为中医治疗的精髓和特色^[3]。所积累的“同病异治”经验为疾病的治疗提供了新途径。

抑郁症是一种现代医学精神科常见的疾病，是由各种原因引起的以抑郁为主要症状的一组心境障碍或情感性障碍，是一组以抑郁心境自我体验为中心的临床症状群或状态。抑郁症相当于中医所谓“情志之郁”，属狭义“郁证”的范畴。中医学之郁证是对情志不舒、气机郁滞所致疾病的总称。西医认为的抑郁症包含在了中医的郁证中。目前中医学对于抑郁症主要根据“四诊”获得的症状进行辨证分型，常见抑郁症分型为肝气郁结型、肝肾阴虚型、肝胃不和型、肝郁化火型、肝郁脾虚型、心脾两虚型、心肝火旺型等^[4]。在治疗上采用疏肝解郁、理气导滞、镇静安神、健脾益气、芳香开窍、涤痰醒神等治疗方法综合运用，获得较满意的结果。国内学者从中医角度认识抑郁症，通过辨证论治挖掘了一批有效的抗抑郁中药复方，如功效为疏肝解郁健脾的逍遥散^[5]、益气养心安神的开心散^[6]、柴胡舒肝散^[7]等。从临床应用和现代药理研究都已证实了这些复方具有确切的抗抑郁作用，但其“同病异治”的科学内涵尚不完全清晰^[5-7]。

值得注意的是现代研究认为抑郁症的发病学说有炎症反应学说，单胺类神经递质及其受体学说，下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴功能失调学说，脑源性神经营养因子学说，细胞分子机制学说，细胞因子、兴奋性氨基酸及内分泌激素学说等，各个学说相互交叉，从不同角度论证抑郁症发病机制复杂

的特点。但单一的机制尚不能揭示多疾病的发病机制，目前抑郁症“同病异治”的科学内涵亟需一种整体贯穿研究疾病的方法。

网络药理学是基于系统生物学和多向药理学快速发展的基础上提出的，为解释中药复方多成分、多靶点、多途径的整体调节机制提供了新的研究思路。网络药理学系统综合地观察药物对疾病网络的干预与影响，从整体水平上探讨中药与疾病之间的关系，具有整体、协同和动态的特点，这一特点与中医学“整体观”和“辨证施治”的观点不谋而合^[8-10]。诸多学者都采用此先进技术展开了一系列研究。李梢等^[11-13]构建的网络靶点能有效区分寒性、热性方剂“同病异治”的不同生物效应。由此可见，网络药理学是阐释中药复方“同病异治”作用机制的有力工具。文献调研发现逍遥散和开心散是疗效确切的抗抑郁经典古方，逍遥散（柴胡、当归、白芍、炒白术、茯苓、薄荷、生姜、炙甘草）疏肝健脾解郁，开心散（人参、远志、茯苓、石菖蒲）益气养心安神，它们组成了药物差异较大的复方，但共同点都对抑郁症有确切疗效。网络药理学等方法为“同病异治”研究提供技术支撑，为探讨逍遥散和开心散“同病异治”抑郁症的作用机制的科学内涵提供借鉴。

本研究采用网络药理学的方法，构建逍遥散和开心散网络靶点和通路组合，发现其调节抑郁症的关键蛋白，揭示“同病异治”抑郁症的作用机制，为阐释中医的科学内涵，中药复方的药理作用机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 化学成分的收集

逍遥散方由柴胡、当归、白芍、炒白术、茯苓、薄荷、生姜、炙甘草 8 味药组成，开心散方由人参、远志、茯苓、石菖蒲 4 味药组成。利用中药化学数据库 TCM database@Taiwan (<http://tcm.cmu.edu.tw/>)^[14]、TCMID (<http://www.megabione.org/tcmid/>)^[15]、Batman-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)^[16]结合文献挖掘的方法收集逍遥散与开心散各单味药的主要化学成分。

1.2 潜在作用靶点的预测

应用 Batman-TCM 分析平台，在线提交逍遥散

和开心散各单味药的化学成分信息, 获得与逍遥散或开心散可能作用的靶点, 并选择其中高可信度的蛋白作为靶点 (Prediction Score cutoff>20)。由于检索到的靶点存在命名不规范等问题, 因此, 本实验使用 UniProt 数据库中 UniProtKB 搜索功能 (<http://www.uniprot.org/>, Update in 2014-04-10), 通过输入蛋白名称并限定物种为人, 将检索得到的所有蛋白校正为其官方名称 (official symbol), 经上述数据库检索和转化操作, 获取与活性成分相关的靶点信息。

1.3 抑郁症靶点的筛选

预测获得的靶点信息参考 6 个 (CTD-TTD-PharmGKB-OMIM-Gencards-Drugbank) 疾病数据库比对分析: CTD (<http://ctdbase.org/>)^[17]、TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>, TTD Version 4.3.02)^[18]、PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org/>)^[19]、OMIM (<http://omim.org/>, Updated in 2017-07-03)^[20]、Gencards (<http://www.genecards.org/>)^[21]、Drugbank (<https://www.drugbank.ca/>)^[22], 归纳总结预测靶点中有明确抗抑郁作用的蛋白。

1.4 网络的构建

根据上述的预测和筛选结果, 去除无对应靶点的化学成分, 并删除重复的靶点。将数据导入 Cytoscape 3.6.0 (<http://www.cytoscape.org/>)^[23]构建如下网络: (1) 逍遥散-开心散成分-靶点网络, 如果某一蛋白是化合物的作用靶点, 则两者在网络中彼此连接。(2) 使用 String 10.0 (<http://string-db.org/>)^[24]工具构建共有靶点蛋白质-蛋白质相互作用网络 (PPI)、逍遥散特有抗抑郁靶点 PPI、开心散特有抗抑郁靶点 PPI。最后对共有靶点 PPI 网络进行拓扑分析和模块分析。同时根据成分-靶点、PPI 网络对靶点进行排序打分, 中药成分或靶点被表示为网络中的节点, 它们之间的相互联系以边表示, 共有靶点与特有靶点从靶点属性角度解释“同病异治”的科学内涵。

1.5 网络的分析

将上述的网络分别进行拓扑分析与模块分析。拓扑分析运用 Cytoscape 软件中的工具 Network Analyzer 来分析中介中心度 (betweenness centrality) 和节点度 (degree) 这 2 个重要的网络拓扑参数。用以评价逍遥散和开心散的靶点。模块分析采用 ClusterViz 插件^[25]进行 MCODE 聚类分析。MCODE

算法是一种基于密度的聚类算法。该算法以种子节点为中心进行扩展在其邻居节点中寻找满足要求的节点, 从而形成一个功能模块。MCODE 算法对构建的 PPI 网络进行模块分析, 其中决定识别模块大小的参数 K-Core 设置为 4, 即识别出的模块至少包含 5 条边。

1.6 生物过程和通路分析

生物学信息注释数据库 (DAVID 6.8: <https://david.ncifcrf.gov/>)^[26]为大规模的基因或蛋白列表提供系统综合的生物功能注释信息, 根据上述共有靶点 PPI 网络的模块分析结果与特有靶点 PPI 网络分析结果, 能够找出最显著富集的生物学注释。将筛选得到的共有抗抑郁作用靶点导入 DAVID 数据库, 通过输入靶基因名称列表并限定物种为人, 并将所有靶基因名称校正为其官方名称 (official gene symbol), 经上述数据库检索和转化操作, 设定阈值 $P<0.05$ 并用 GraphPad Prism 5 绘图。共有靶点与特有靶点生物过程和通路分析从生物学角度解释“同病异治”的科学内涵。

2 结果与分析

2.1 以逍遥散和开心散中成分筛选的靶点

通过 TCM database@Taiwan、TCMID 和 Batman-TCM 等数据库及文献挖掘, 筛选高可信度的蛋白作为候选靶点, 去除没有对应靶点的成分。筛选结果如下, 逍遥散的化学成分和靶点分别为 349 个和 1 861 个, 开心散化学成分和靶点分别为 119 个和 1 529 个。通过对成分和靶点对比分析, 两复方共有的成分和靶点是 44 个和 1 308 个, 其中, 茯苓为 2 药共有的单味药, 对应的成分和靶点分别为 18 个和 515 个。逍遥散特有的成分和靶点分别是 305 个和 553 个; 开心散特有的成分和靶点分别是 75 个和 221 个。逍遥散和开心散中成分和靶点基本信息见表 1。逍遥散-开心散成分-靶点网络 (图 1) 总共包括 2 506 个节点 (424 个化合物节点, 2 082 个靶点节点) 和 21 964 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 网络中, 逍遥散化合物的平均靶点数目为 70 个, 每个靶点平均与 15 个化合物相互作用。开心散化合物的平均靶点数目为 89 个, 每个靶点平均与 17 个化合物相互作用。从靶点的角度, 两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, 这

表 1 逍遥散和开心散成分和靶点基本信息

Table 1 Information of ingredients number and targets number from Xiaoyao Powder and Kaixin Powder

复方	单味药	成分数目	靶点数目	成分-靶点对应关系
逍遥散	柴胡	67	1 099	4 878
	当归	97	1 272	6 951
	白芍	18	144	300
	白术	5	56	82
	茯苓	18	515	654
	生姜	95	1 299	5 823
	薄荷	23	464	1 212
	甘草	78	692	1 595
	合计	349	1 861	21 495
开心散	人参	88	1 325	4 701
	茯苓	18	515	654
	石菖蒲	12	528	990
	远志	6	173	181
	合计	119	1 529	6 526

体现了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。

2.2 抑郁症靶点的筛选

通过全面查找 6 个疾病相关的数据库，绘制抑郁症的疾病分子网络，与抑郁症有关的靶点有 1 108 个，进一步归纳总结预测药物作用靶点中明确与抑郁相关的靶点。逍遥散和开心散共有的靶点 1 308 个中有 316 个与抑郁症有关，占抑郁症靶点数目的 28.5%，逍遥散特有的靶点中 64 个与抑郁症有关，占抑郁症靶点数目的 5.76%；开心散特有的靶点中 27 个与抑郁症有关，占抑郁症靶点数目的 2.44%。使用 String 工具构建逍遥散和开心散共有抗抑郁靶点相互作用网路（图 2），总共包括 308 个节点和 3 887 条边。逍遥散特有抗抑郁靶点的相互作用网路总共包括 49 个节点和 106 条边（图 3）。开心散特有抗抑郁靶点相互作用网络（图 4）总共包括 15 个节点和 12 条边。

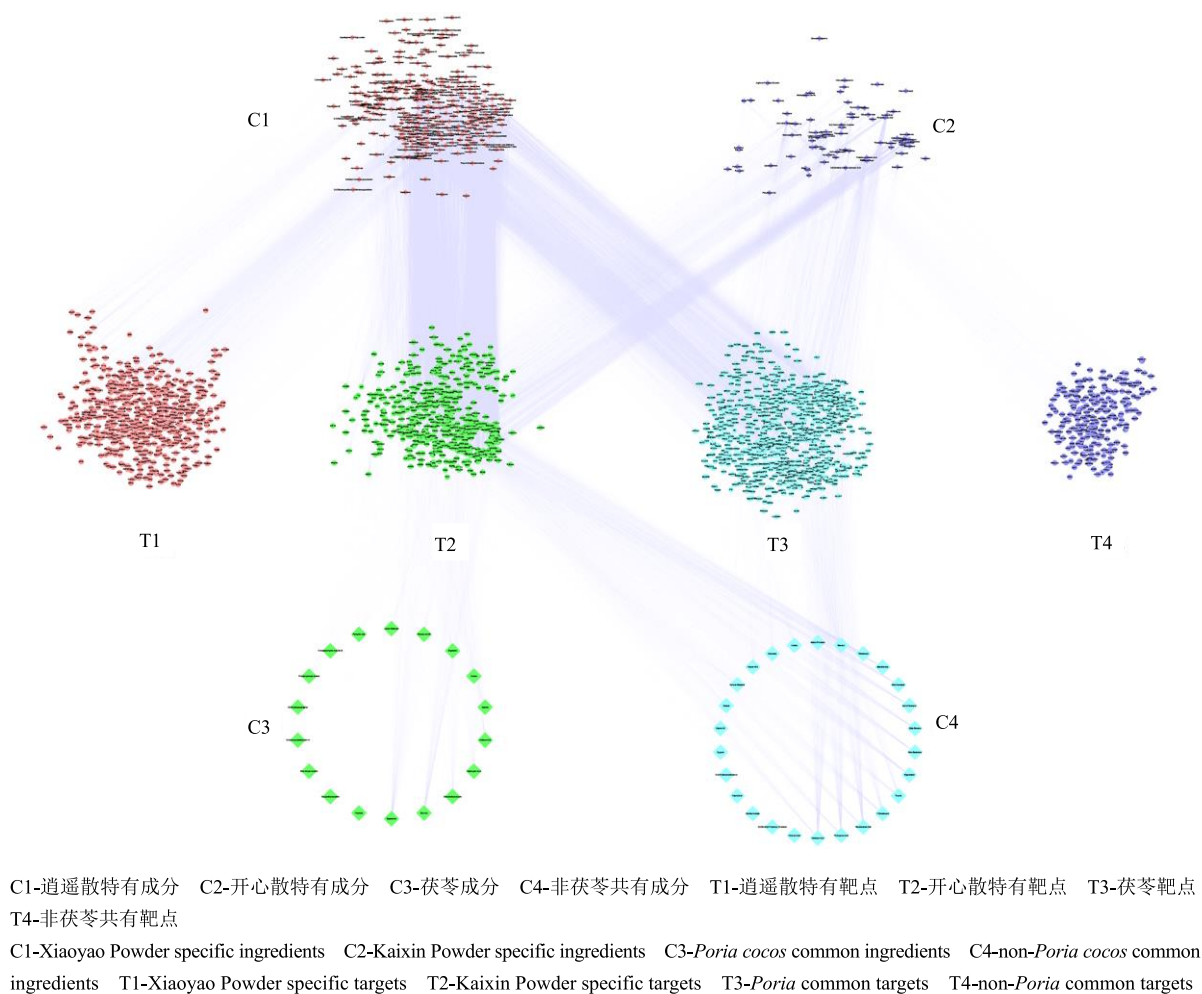


图 1 逍遥散-开心散成分-靶点网络

Fig. 1 Ingredient target network diagram of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder

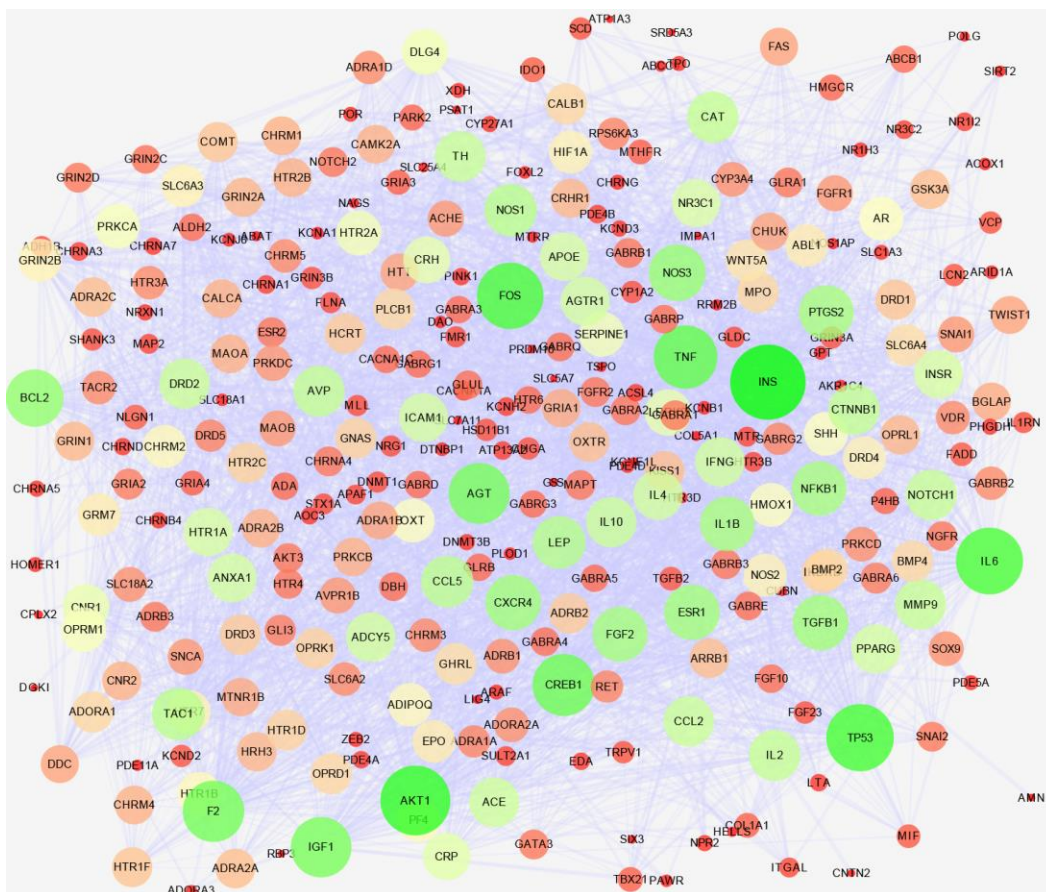


图 2 逍遥散-开心散共有靶点相互作用网络

Fig. 2 Interaction network of common targets of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder

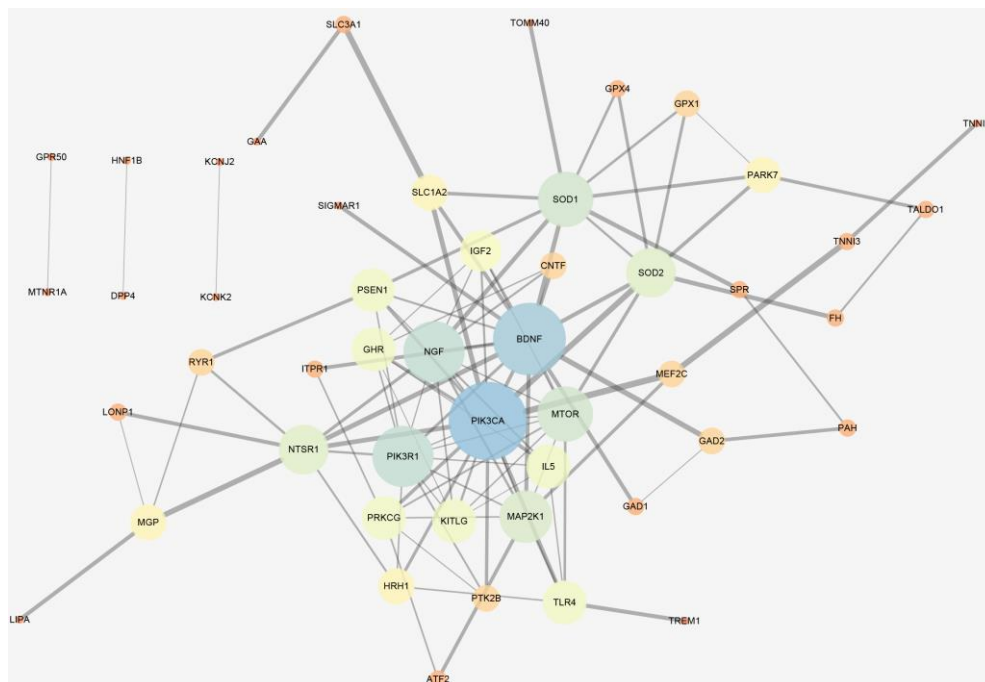


图 3 逍遥散特有抗抑郁靶点相互作用网络

Fig. 3 Interaction network of specific antidepressant targets of Xiaoyao Powder

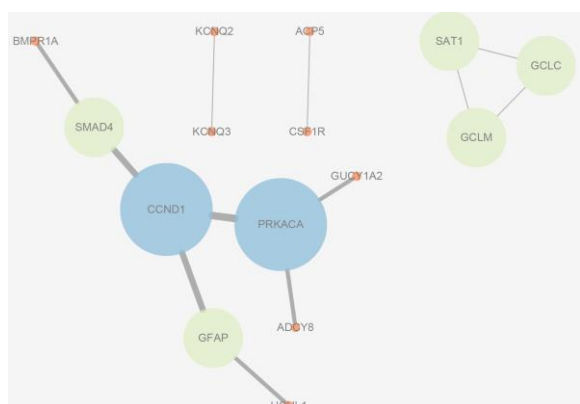


图 4 开心散特有抗抑郁靶点相互作用网络

Fig. 4 Interaction network of specific antidepressant targets of Kaixin Powder

2.3 网络的拓扑和模块分析

利用 Cytoscape 软件中的 Network analysis 工具分析不同网络的拓扑参数, 根据中介中心度和节点度来度量节点在网络中的重要性, 在网络中, 1 个节点度表示网络中和节点相连的路线的条数。据网络的拓扑学性质筛选度较大的节点进行分析, 这些连接化合物或靶点较多的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。在逍遥散和开心散共有抗抑郁靶点相互作用网络 (图 2) 中, 从靶点的角度, 度排名靠前的是 INS、AKT1、TP53、IL6 与 CREB1, 分别能与 34、15、17、31 与 7 个化合物发生相互作用。逍遥散和开心散共有抗抑郁靶点相互作用网络中拓扑属性分析前 15 的靶点见表 2。此外, 逍遥散和开心散共有抗抑郁靶点相对较多, 因此, 采用 ClusterViz 中的 MCODE 算法进行模块化分析, 结果显示 score>4 的模块根据打分排序聚成 7 类, 不同模块对应的参数如表 3 所示。

在逍遥散特有抗抑郁靶点相互作用网络 (图 3) 中, 度排名靠前的是 PIK3CA、BDNF、PIK3R1、NGF 与 MTOR, 分别能与 7、3、7、3 与 9 个化合物发生相互作用。在开心散特有抗抑郁靶点相互作用网络 (图 4) 中, 度排名靠前的是 CCND1、PRKACA、GCLM、GCLC 与 SMAD4, 分别能与 1、1、1 与 1 个化合物发生相互作用。

2.4 共有靶点通路分析

通过 DAVID 对共有靶点进行通路的展示和富集分析, 每一个模块对应的基因数目为 65、18、23、29、9、9 和 9 个。不同的模块可能富集到相同的通路, 多个模块聚类富集到相同通路有神经活性配体-

表 2 逍遥散与开心散共有靶点的拓扑属性分析 (前 15)

Table 2 Analysis of topological properties of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder (top 15)

编号	基因	连接度	介度
1	INS	114	0.068 0
2	AKT1	101	0.048 0
3	TP53	95	0.043 8
4	IL6	94	0.026 0
5	FOS	93	0.033 0
6	TNF	86	0.016 0
7	CREB1	83	0.044 0
8	F2	81	0.021 0
9	AGT	80	0.025 0
10	IGF1	79	0.013 0
11	BCL2	72	0.008 1
12	NOS3	70	0.015 0
13	CXCR4	67	0.027 0
14	ESR1	67	0.009 5
15	TGFB1	67	0.013 0

表 3 逍遥散与开心散共有靶点的模块分析

Table 3 Modular analysis of common targets of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder

编号	模块	打分	点	边
1		34.438	65	1 102
2		18.000	18	153
3		14.818	23	163
4		11.143	29	156
5		8.250	9	33
6		6.750	9	27
7		5.500	9	22

受体相互作用、cAMP 信号通路、5-羟色胺能神经突触、Calcium 信号通路和胆碱能突触等。实际上，这些通路已经被检测并广泛应用于抑郁治疗中。例如，具有较高量度值的神经活性配体受体通路将神经传递素谷氨酸盐、多巴胺、血清素或肾上腺素作

为其前体物质来调节某一重要的代谢通路，如利用物质间结合位点存在差距来稳定情绪和减缓压力。具体富集信息如表 4 所示。表明逍遥散和开心散的有效成分可能通过作用于相同的靶点所在的信号通路来达到治疗不同类型抑郁症的目的。

表 4 逍遥散与开心散共有靶点的通路分析

Table 4 Pathway analysis of common targets of Xiaoyao Powder and Kaixin Powder

编号	模块	通路
1	PTGS2、ADRA2B、CHRM4、MMP9、F2、TP53、CAT、BCL2、EPO、ICAM1、OPRK1、ADRA2C、OPRL1、HTR1D、FGF2、TGFB1、INS、CNR2、SERPINE1、OPRM1、PF4、DRD2、NFKB1、HTR1F、HMOX1、ESR1、NR3C1、HTR1A、HTR1B、IL4、MPO、CCL2、DRD3、CCL5、CXCR4、MTNR1B、ADCY5、LEP、DRD4、CHRM2、OPRD1、NOS2、PPARG、IL6、GRM7、NOS1、IL1B、ADRA2A、TNF、CNR1、CRP、ACE、AGT、ADORA1、IL2、HRH3、IFNG、IGF1、FOS、CREB、AKT1、NOS3、APOE、IL10、ANXA1	neuroactive ligand-receptor interaction、TNF signaling pathway、HIF-1 signaling pathway、Cytokine-cytokine receptor interaction、cAMP signaling pathway
2	GABRE、GABRA6、GABRD、GABRG3、GABRQ、GABRA3、GABRP、GABRB1、GLRB、GLRA1、GABRA2、GABRB3、GABRA5、GABRB2、GABRA1、GABRG2、GABRG1、GABRA4	nicotine addiction、GABAergic synapse、morphine addiction、neuroactive ligand-receptor interaction、serotonergic synapse
3	OXTR、HTR2C、NOTCH1、CHRM3、KISS1、HTR2B、ADIPOQ、PLCB1、AVP、ADRA1D、CHRM1、HIF1A、AVPR1B、HCRT、TAC1、TACR2、CHRM5、HTR2A、ADRA1A、INSR、ADRA1B、CTNNB1、OXT	calcium signaling pathway、neuroactive ligand-receptor interaction、salivary secretion、cGMP-PKG signaling pathway、gap junction
4	DRD5、GRIN1、GRIN3B、CRHR1、GRIN2C、GHRL、DRD1、HTR6、NLGN1、ADRB2、GRIA1、GRIA3、GRIA2、HTR4、GRIA4、GNAS、HTR7、GRIN3A、ADRB3、ADORA2A、AGTR1、GRIN2D、VDR、BGLAP、ADRB1、GRIN2A、CALCA、GRIN2B、DLG4	neuroactive ligand-receptor interaction、cAMP signaling pathway、calcium signaling pathway、glutamatergic synapse、dopaminergic synapse
5	CHRND、ACHE、CHRNA5、CHRNA3、CHRNA4、CHRNA1、CHRNA7	neuroactive ligand-receptor interaction、cholinergic synapse
6	SLC6A2、MAOA、COMT、MAOB、DDC、SLC18A2、CYP3A4、DBH、IDO1	tyrosine metabolism、dopaminergic synapse、tryptophan metabolism、phenylalanine metabolism、serotonergic synapse
7	FGFR2、SOX9、BMP4、TWIST1、FGFR1、WNT5A、SNAI2、NOTCH2、FGF10	hippo signaling pathway、Rap1 signaling pathway、regulation of actin cytoskeleton、ras signaling pathway、MAPK signaling pathway

2.5 特有靶点通路分析

通过 DAVID 对特有靶点进行通路的展示和富集分析，逍遥散潜在抗抑郁靶点的代谢通路排在前面的有：PI3K-AKT 信号通路（14.06%）、calcium 信号通路（12.5%）、oxytocin 信号通路（12.5%）、MAPK 信号通路（9.38%）、Ras 信号通路（9.38%）和 Rap1 信号通路（9.38%）等（图 5）。开心散潜在抗抑郁靶点的代谢通路排在前面的有：oxytocin 信号通路（14.81%）、胆碱能突触（14.81%）、血管平滑肌收缩（11.11%）、炎症调节

的 TRP 通道（11.11%）等（图 6）。表明逍遥散和开心散的有效成分也可能通过作用于这些不同的靶点影响相同或不同的通路来达到治疗抑郁症的目的。

3 讨论

传统分子生物学侧重于从“点”的角度阐明抗抑郁作用机制，生物过程与通路侧重于从“线”的角度阐明抗抑郁作用机制，多组学技术和高通量检测侧重于从“体”的角度阐明抗抑郁作用机制，网路药理学方法可以整合“点-线-面”到“体”的研

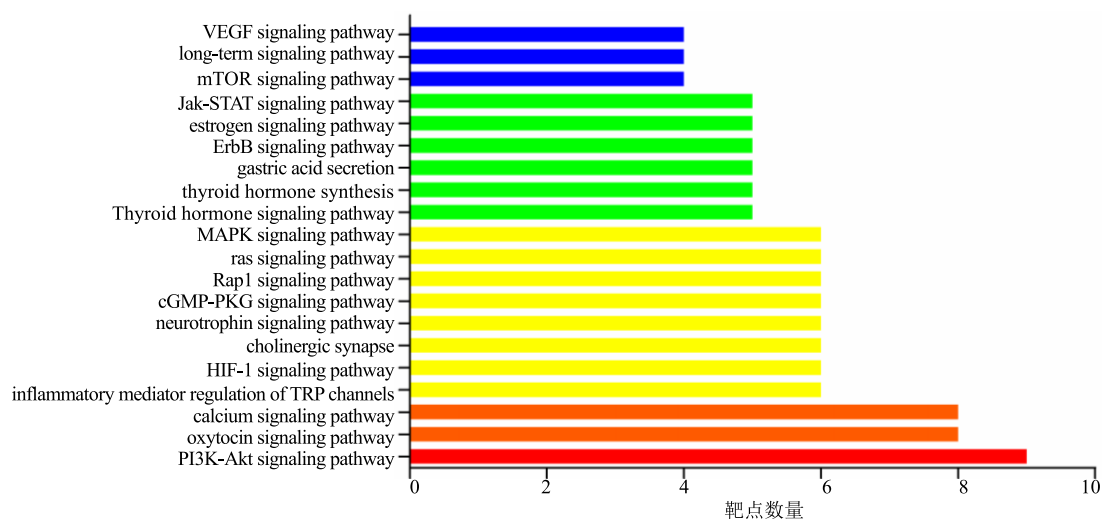
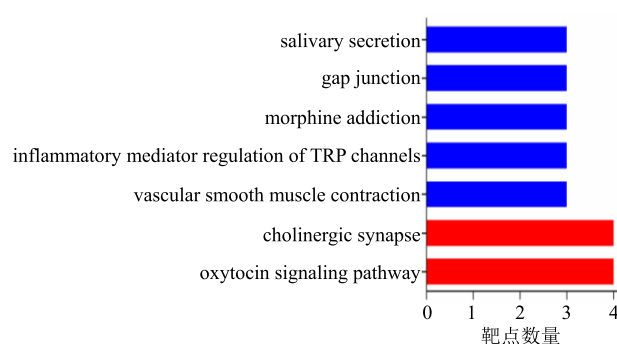


图 5 逍遥散潜在抗抑郁靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

Fig. 5 Enriched KEGG pathways of potential targets from main active ingredients of Xianyao Powder

图 6 开心散潜在抗抑郁靶点的 KEGG 代谢通路富集分析
Fig. 6 Enriched KEGG pathways of potential targets from main active ingredients of Kaixin Powder

究整体辨证地阐明抗抑郁作用机制。因此，组学作为系统药理学的重要组成部分，为网络药理学提供数据支持，分子药理学提供验证方法。因此需要采用多技术、多手段相结合方法研究中医药的科学内涵。

传统中医认为情致不畅是抑郁发病的外在原因，肝、心、脾等功能失调是内在的发病因素。本研究依托多个网络药理学相关分析平台，研究了逍遥散和开心散的有效成分，同时构建了化合物-靶点网络，分析了化合物与靶点之间的相互作用关系，为研究抑郁症“同病异治”作用机制及多靶点、多途径治疗机制提供了参考。

研究者对中药复方治疗抑郁症的病理机制进行了研究，多数复方都能对神经递质进行调节。提示各复方的君臣佐使不同，辨证论治不同，但对神经

递质均可以进行调节，即同病异治。逍遥散和开心散可能通过调节相同的靶点、调节相同的通路发挥抗抑郁的作用。多个去甲肾上腺素（NE）受体蛋白和 NE 再吸收蛋白均定位于下游的选择性去甲肾上腺素再摄取抑制剂通路。NE 信号通过蛋白受体损伤来激活蛋白激酶，磷酸蛋白激酶可以使氨基端发生磷酸化反应，从而使活性受到抑制。柴胡可能对 SLC6A4 蛋白受体有抑制作用，从而导致突触间隙间 5-羟色胺的浓度增加，进而负调节通路中突触后受体 HTR2A、HTR2B 等的脱敏反应。经过与 5-羟色胺的相互作用，HTR2A、HTR2C 受体的主要信号链接将通过与 GNAQ 的结合激活 β -磷脂酶 C。HTR1A、HTR1B 受体的主要信号通路通过结合 GANI 抑郁腺苷酸环化酶导致 cAMP 生成的减少。由此激活定位在下游通路上与抑郁相关的抗抑郁靶点 CREB 的活性。

逍遥散和开心散可能通过调节共有的靶点发挥抗抑郁的作用。目前，关于逍遥散和开心散抗抑郁机制研究有大量文献报道。例如，CNP 主要存在于中枢神经系统，Li 等^[27]发现逍遥散可以通过上调抑郁大鼠的 CNP 信号通路发挥抗抑郁的作用。Li 等^[28]发现逍遥散通过下调大鼠海马 TNF- α /JAK2-STAT3 通路发挥抗焦虑作用。岳广欣等^[29]发现 AMPA 受体在短期重复应激和慢性应激状态下反应不同，海马和杏仁核反应相反，逍遥散对慢性应激状态下 AMPA 受体亚基 GluR2/3 表达的调节作用较短期重复应激强。Wang 等^[30]逍遥散可通过调节弓状核神

经肽 Y 及其受体的变化缓解慢性束缚应激后大鼠食欲下降、体质量减轻等症状。Cao 等^[31]发现逍遥散通过上调糖皮质激素受体反应元件转录活性保护皮质酮诱导应力损伤。单胺氧化酶抑制剂主要用于治疗抑郁症方面的研究,王石等^[32]现开心散在体外对 MAO-A 和 MAO-B 的活性均有一定的影响,在体内对正常大鼠脑内 MAO-A 和 MAO-B 的活性没有影响,对孤养结合慢性不可预见性中等强度应激(CMS)大鼠脑内 MAO-A 有一定抑制作用。同样开心散可能通过调节脑内单胺系统神经递质的含量,可提高脑内脑源性及胶质脑源性神经营养因子的表达水平^[33]这些结果与网络药理学预测发现靶点相同,提示逍遥散和开心散可能通过调节相同的靶点通路发挥抗抑郁的作用。

逍遥散可能通过调节特有的靶点发挥抗抑郁的作用。逍遥散具有疏肝解郁健脾的功效,网络药理学研究发现逍遥散可能通过特有的靶点发挥抗抑郁的作用。Ding 等^[34]发现逍遥散通过调节谷氨酸/谷氨酰胺循环和谷氨酸转运体 GLT-1 对慢性应激小鼠发挥抗抑郁的作用。本课题组一直从代谢角度出发,从神经递质、神经营养素、下丘脑-垂体-肾上腺轴、氨基酸、脂质和能量代谢以及炎症因子等多个角度,对逍遥散抗抑郁机制进行分析,归纳总结了逍遥散抗抑郁的代谢网络调控机制。结果显示逍遥散作用于多个靶点,通过调节体内代谢平衡发挥抗抑郁作用^[35-37]。提示逍遥散靶点、多通路的作用机制。与逍遥散相比,开心散组方单味药较少,对于调节特有的靶点相对较少。开心散具有益气、养心、安神的功效,开心散的代表性成分在 cAMP 通路、MAPK 通路、CaMK 通路和 GSK-3 β 与 CREB 通路中的多靶点发挥作用^[38],提示开心散多靶点、多通路的作用机制。

综上所述,在抑郁症治疗方面,逍遥散和开心散由于组方差异,在抗抑郁靶点方面既有相同也有不同。通过对 INS、AKT1、TP53、IL6、CREB1 等共有靶点及共有靶点所在的生物过程和通路分析阐释抑郁症“同病异治”中的“同病”,PIK3CA、BDNF、PIK3R1、NGF、CCND1、PRKACA、GCLM、GCLC 等特有靶点及特有靶点所在的生物过程和通路分析阐释抑郁症“同病异治”中的“异治”,通过对靶点和通路的分析初步阐明抑郁症“同病异治”科学内涵。上述预测靶点与已知文献报道的药理作用相吻合,说明预测靶点的准确性。此外,对于上

述讨论中剩余靶点的相关研究报道较少,可为今后深入研究抗抑郁作用潜在靶点的分子机制研究提供线索。

本研究通过经典方对抑郁症“同病异治”网络药理分析发现,作为中药复方在治疗抑郁症方面既有相同的靶点,也有不同的靶点,呈现出方剂多成分、多靶点、整合调节作用的特点。中药复方对于临床抑郁症的治疗,针对不同的抑郁症类型,复方有别;还需要结合复方中的药效物质,阐释方剂与证候的关联机制,经典古方抗抑郁“同病异治”的作用机制还有待深入研究。

参考文献

- [1] 蔡明财,严雪梅,吕伟凤,等.对中医学“因地制宜”治疗原则的探讨和分析[J].世界中医药,2017,12(2): 272-276.
- [2] 杨涛,刘成海.基于代谢组学的扶正化癥方抗肝纤维化差异疗效机制研究探讨[J].世界中医药,2014,9(5): 549-552.
- [3] 李秀月,代民涛,柴可夫.《金匱要略》同病异治和异病同治运用析述[J].中华中医药杂志,2017,32(10): 4351-4354.
- [4] 张潇,田俊生,刘欢,等.抗抑郁中药新药研发进展[J].中国中药杂志,2017,42(1): 29-33.
- [5] Liu C C, Wu Y F, Feng G M, et al. Plasma-metabolite-biomarkers for the therapeutic response in depressed patients by the traditional Chinese medicine formula Xiaoyaosan: A ¹H NMR-based metabolomics approach [J]. *J Affect Disord*, 2015, 185: 156-163.
- [6] Zhu Y, Chao C, Duan X, et al. Kai-Xin-San series formulae alleviate depressive-like behaviors on chronic mild stressed mice via regulating neurotrophic factor system on hippocampus [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1-15.
- [7] Zhang Y J, Huang X, Wang Y, et al. Ferulic acid-induced anti-depression and prokinetics similar to Chaihu-Shugan-San via polypharmacology [J]. *Brain Res Bull*, 2011, 86(3/4): 222-228.
- [8] 刘志华,孙晓波.网络药理学:中医药现代化的新机遇[J].药学学报,2012,47(6): 696-703.
- [9] 刘艾林,杜冠华.网络药理学:药物发现的新思想[J].药学学报,2010,45(12): 1472-1477.
- [10] Bai G, Hou Y Y, Jiang M, et al. Integrated systems biology and chemical biology approach to exploring mechanisms of traditional Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 99-106.
- [11] Li S. Mapping ancient remedies: Applying a network

- approach to traditional Chinese medicine [J]. *Science*, 2015, 350(6262 Suppl): S72-S74.
- [12] Liang X, Li H, Li S. A novel network pharmacology approach to analyse traditional herbal formulae: The Liu-wei-di-huang Pill as a case study [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(5): 1014-1022.
- [13] Yao X, Hao H, Li Y, *et al.* Modularity-based credible prediction of disease genes and detection of disease subtypes on the phenotype-gene heterogeneous network [J]. *BMC Syst Biol*, 2011, 5(1): 1-11.
- [14] Chen C Y. TCM Database@Taiwan: The world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e15939.
- [15] Xue R, Fang Z, Zhang M, *et al.* TCMID: Traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: D1089-D1095.
- [16] 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.
- [17] Davis A P, Grondin C J, Johnson R J, *et al.* The comparative toxicogenomics database: Update 2017 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, doi: 10.1093/nar/gkw838.
- [18] Zhu F, Shi Z, Qin C, *et al.* Therapeutic target database update 2012: A resource for facilitating target-oriented drug discovery [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, doi: 10.1093/nar/gkr797.
- [19] Whirl-Carrillo M, McDonagh E M, Hebert J M, *et al.* Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2012, 92(4): 414-417.
- [20] Hamosh A, Scott A F, Amberger J S, *et al.* Online mendelian inheritance in man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(1): 52-55.
- [21] Rebhan M, Chalifa-Caspi V, Prilusky J, *et al.* GeneCards: Integrating information about genes, proteins and diseases [J]. *Trends Genet*, 1997, 13(4): 163.
- [22] Law V, Knox C, Djoumbou Y, *et al.* DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 1091-1097.
- [23] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [24] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, *et al.* STRING v10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: 447-452.
- [25] Wang J, Zhong J, Chen G, *et al.* ClusterViz: A cytoscape APP for cluster analysis of biological network [J]. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform*, 2015, 12(4): 815-822.
- [26] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44-57.
- [27] Li P, Tang X D, Cai Z X, *et al.* CNP signal pathway up-regulated in rectum of depressed rats and the interventional effect of Xiaoyaosan [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(5): 1518-1530.
- [28] Li X J, Ma Q Y, Jiang Y M, *et al.* Xiaoyaosan exerts anxiolytic like effects by down-regulating the TNF- α /JAK2-STAT3 pathway in the rat hippocampus [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 353.
- [29] 岳广欣, 王竹风, 张巧丽, 等. AMPA 受体和相关蛋白在束缚应激大鼠相关脑区的表达变化及逍遥散对其影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2008, 24(2): 129-132.
- [30] Wang S X, Chen J X, Yue G X, *et al.* Xiaoyaosan decoction regulates changes in neuropeptide y and leptin receptor in the rat arcuate nucleus after chronic immobilization stress [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 381278.
- [31] Cao G, Gong S, Zhang F, *et al.* Xiao Yao San against corticosterone-induced stress injury via upregulating glucocorticoid receptor reaction element transcriptional activity [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 5850739.
- [32] 王 石, 董宪喆, 谭 潇, 等. 开心散对单胺氧化酶活性的影响 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(10): 1898-1902.
- [33] 温智林, 王真真, 贺文彬, 等. 开心散及其有效成分抗抑郁作用的研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(3): 420-423.
- [34] Ding X F, Li Y H, Chen J X, *et al.* Involvement of the glutamate/glutamine cycle and glutamate transporter GLT-1 in antidepressant-like effects of Xiao Yao san on chronically stressed mice [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(316): 1-15.
- [35] 陈建丽, 田俊生, 周玉枝, 等. 基于代谢网络调控的逍遥散抗抑郁作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(14): 2100-2105.
- [36] 李 肖, 宫文霞, 周玉枝, 等. 逍遥散中抗抑郁有效成分及其作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3109-3116.
- [37] 田俊生, 左亚妹, 孙海峰, 等. GC-MS 代谢组学分析逍遥散干预抑郁模型大鼠盲肠代谢物组的变化规律 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1931-1936.
- [38] 汪婷婷, 董宪喆, 刘婉婉, 等. 人参皂苷 Raf-CREB, Akt-CREB 和 CaMKII-CREB 信号转导通路的体外研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(11): 2065-2070.