

基于网络药理学的一面针干预炎症靶点预测及作用机制研究

邬国松¹, 郑丽婷¹, 马庆³, 韩正洲³, 詹若挺^{1*}, 陈蔚文¹, 牛明^{2*}

1. 广州中医药大学 中药资源科学与工程研究中心 岭南中药资源教育部重点实验室, 广东 广州 510006

2. 中国人民解放军第三〇二医院 全军中医药研究所, 北京 100039

3. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110

摘要: **目的** 构建两面针干预炎症的“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”网络关系, 预测其干预炎症的靶点及机制。**方法** 通过国内外文献调研和中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库及PharmMapper服务器, 以口服利用度(OB)和类药性(DL)作为限定条件对两面针成分进行筛选并预测和收集相关靶点。利用OMIM等数据库筛选炎症相关的基因和蛋白靶点; STRING数据库构建炎症靶点之间的交互网络; 蛋白互作(PPI)网络分析获得“活性成分-预测靶点-炎症靶点”网络文件, 并将其导入Cytoscape 3.5.1软件构建“活性成分-炎症靶点”网络, 从而获得与两面针抗炎直接相关的靶点; 利用DAVID数据库对筛选后的靶点进行KEGG通路富集, 使用Cytoscape 3.5.1的插件ClueGO对其涉及的靶点进行生物学功能分析, 最终合并以上关系构建“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”网络。**结果** 经筛选和分析获得两面针活性成分23个, 抗炎靶点9个, 包括COX-2、iNOS、PPARG、COX1、MAPK-14、JUN等, 两面针抗炎的可能通路包括TNF信号通路、TRLs信号通路。**结论** 初步揭示了两面针的抗炎作用是通过多成分和多靶点的相互作用, 调控多条通路共同干预实现的, 但关键的靶标和具体的调控机制尚待进一步的实验研究加以探索及验证。

关键词: 两面针; 网络药理学; 活性成分; 作用靶点; 抗炎机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)03-0659-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.03.019

Targets prediction and mechanism of *Zanthoxylum nitidum* in intervention of inflammation based on network pharmacology

WU Guo-song¹, ZHENG Li-ting¹, MA Qing³, HAN Zheng-zhou³, ZHAN Ruo-ting¹, CHEN Wei-wen¹, NIU Ming²

1. Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources from Lingnan, Ministry of Education, Research Center of Chinese Medicinal Resource Science and Engineering, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. China Military Institute of Chinese Medicine, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China

3. China Resources Sanjiu Medicinal & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China

Abstract: Objective To construct the “active components-inflammatory target-anti-inflammatory pathway” network of *Zanthoxylum nitidum* intervened in inflammation, and predict the target of *Z. nitidum* intervened in inflammation and its anti-inflammatory mechanism. **Methods** Using domestic and foreign literatures, TCMSP database, PharmMapper server, oral availability (OB), and pharmacodynamics (DL) as the limiting conditions, the components of *Z. nitidum* were screened and the relative targets were predicted and collected. OMIM database was used to screen inflammation-related genes and protein targets; The STRING database was used to construct the interactive network between inflammatory targets; The network file of “active ingredient-predictive target-inflammatory target” was obtained by PPI analysis and imported into Cytoscape 3.5.1 software to construct the network of “active ingredient-inflammatory target”, so as to obtain the targets directly related to the anti-inflammatory effects of *Z. nitidum*. DAVID database was used to enrich the KEGG pathway of the selected targets, and then ClueGO plug-in was used to analyze the biological function of

收稿日期: 2018-11-02

基金项目: 国家科技重大专项(2014ZX09301306); 国家公益性行业专项(201507002); 广东省教育厅重点提升平台建设项目-岭南中药资源教育部重点实验室(2014KTSPT016)

作者简介: 邬国松, 男, 在读研究生。Tel: 13570254292 E-mail: 425008225@qq.com

***通信作者** 詹若挺, 男, 博士, 研究员, 主要从事中药资源可持续利用与开发研究。Tel: (020)39358066 E-mail: ruotingzhan@vip.163.com
牛明, 男, 博士, 助理研究员, 主要从事网络药理学和代谢组学研究。Tel: (010)66933252 E-mail: nmbright@163.com

the target involved. Finally, the “active component-inflammatory target-anti-inflammatory pathway” network was constructed by combining the above relationships. **Results** Twenty-three active ingredients were screened, and nine core anti-inflammatory targets were identified as COX-2, iNOS, PPAR γ , COX1, MAPK-14, JUN, NR3C1 and so on; The most critical pathways included TNF TRLs signaling pathways. **Conclusion** It is preliminarily revealed that the anti-inflammatory effect of *Z. nitidum* is achieved through the interaction of multiple components and multiple targets, regulating the joint intervention of multiple pathways. However, the key targets and specific regulatory mechanisms need to be explored and verified by further experimental studies.

Key words: *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.; network pharmacology; active ingredient; action target; anti-inflammatory mechanism

两面针为芸香科植物两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 的干燥根, 具有活血化瘀、行气止痛、祛风通络、解毒消肿等功效^[1]。现代研究发现, 两面针具有抗菌、抗炎、抗氧化等广泛的药理作用^[2], 尤其是在抗炎方面具有很好的活性^[3-6], 虽然国内外已有很多关于两面针抗炎活性的报道, 但大部分还停留在整体的药效上, 对其分子作用机制仍未有系统的研究。与化学药作用机制不同, 中药具有多成分、多靶点、多通路的特点, 强调的是整体性和系统性^[7], 药物分子作用于单一靶点或信号通路的研究难以揭示中药治疗疾病的科学内涵。随着多组学理论和实践的发展, 网络药理学的概念应运而生^[8], 其融合了系统生物学、多向药理学及计算机分析技术, 从系统、整体的角度将药物和疾病关联起来^[9], 建立复杂成分与多重靶点、靶蛋白与基因的相互作用关系, 进而为中药作用机制的探索和新药的研发提供新策略^[10-11]。本研究应用网络药理学的思路构建两面针“活性成分-抗炎靶点-炎症通路”的相互作用网络关系, 预测两面针抗炎的潜在作用靶点及其分子机制。

1 方法

1.1 成分收集、筛选及靶点预测

通过国内外文献调研和中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 收集两面针药材的化学成分。结合口服生物利用度 (OB $\geq$ 30%) 和类药性 (DL $\geq$ 0.18)^[12]对所收集到的化学成分进行筛选, 建立两面针化学成分数据库。采用 PharmMapper (http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/submit_file.php) 数据库预测化学成分作用靶点, 条件限定为人源靶点, 筛选打分排名前10的结果, 将以上靶点统一在 UniProt 上校正和转化, 并以 UniProt ID 表示, 结合 TCMSP 收集的靶点, 去除重复项, 建立两面针的靶点数据库。

1.2 活性成分-预测靶点网络的构建与分析

利用 Cytoscape 3.5.1 软件构建两面针的“活性

成分-预测靶点”可视化网络, 并使用其自带的 NetworkAnalyzer 插件分析网络节点的拓扑性质参数, 包括度 (degree)、介数中心度 (betweenness) 及接近中心性 (closeness)^[13-18], 以 ≥ 1 倍介数中心度和接近中心性的中位数及 ≥ 2 倍度的中位数为筛选条件, 靶点的此类数值越大, 说明其成为活性成分关键靶点的可能性就越大。

1.3 炎症相关靶点蛋白的获取

通过 OMIM 数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.omim.org>) 和 GAD 数据库 (Genetic Association Database, <http://genetic-association-db.nih.gov>) 及 TTD 数据库 (<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/TTD-HOME.asp>), 以 inflammation 为关键词进行搜索, 获得与炎症相关的蛋白靶点, 建立炎症靶点数据库, 并将靶点导入 STRING (<https://string-db.org/>) 中构建蛋白互作关系。

1.4 抗炎靶点的确认和活性成分-抗炎靶点网络的构建及分析

通过蛋白互作网络 (PPI, <http://www.genome.jp/kegg>) 分析, 将两面针的活性成分、成分对应的靶点、炎症对应的靶点及炎症靶点交互网络连接成“活性成分-预测靶点-炎症靶点”网络文件。利用 Cytoscape 3.5.1 软件构建两面针“活性成分-抗炎靶点”的可视化网络, 提取网络中的蛋白交集部分, 即为两面针抗炎的潜在作用靶点。

1.5 KEGG 通路富集及 GO (Gene ontology) 生物学功能分析

利用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 在线分析工具对“1.4”项网络数据分析后获得的潜在靶点进行 KEGG 通路富集, 并利用 Cytoscape 3.5.1 软件的插件 ClueGO 对通路涉及的靶蛋白进行生物学功能分析。

1.6 活性成分-炎症靶点-抗炎通路网络构建

通过 STRING 对两面针抗炎相关的靶点进行 PPI 分析。使用 Cytoscape 3.5.1 中 Merge 和 Union

功能将以上网络进行合并,构建“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”交互网络。

2 结果

2.1 成分及其对应靶蛋白的收集与筛选

通过 TCMSP 数据库和文献调研共获得两面针化学成分 59 个,以 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 为筛选条件,筛选出符合要求的活性化合物共 23 个,化合物基本信息见表 1。将化学成分结构以 MOL2 格式上传至 PharmMapper 服务器平台进行靶点预测,经筛选并结合 TCMSP 收集靶点后,去除重复项得 65 个靶点。符合条件的化合物主要包括甾醇类、生物碱类和黄酮类等,如 β -谷甾醇、二氢白屈菜红碱、香叶木苷等,还有部分木脂素类化合物如芝麻素等。从文献分析发现, β -谷甾醇能明显降低增加的毛细血管通透性、抑制大鼠角叉菜胶性足肿胀及降低胸腺基质淋巴细胞生成素

(TSLP) 的水平,其抗炎作用机制可能是抑制前列腺素 E_2 (PGE_2)、缓激肽、组胺、5-羟色胺 (5-HT) 等促炎介质的合成和释放^[19-21]。Imam 等^[22]证实了两面针的 dihydrochelerythrine、oxyavicine 具有止痛、抗炎作用。香叶木苷通过降低血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-8、一氧化氮 (NO)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平,提高 IL-10 的水平,抑制不同促炎介质的表达、合成及生物活性(主要是花生四烯酸衍生物、前列腺素 E_2 、 F_2 和血栓素 A) 及防止氧化损伤而减轻炎症反应^[23-25]。芝麻素能显著降低诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和细胞间黏附-1 (ICAM-1) 蛋白表达,其中 ICAM-1 能使细胞及分子间发生黏附,参与各种生命活动如信号传导和细胞活化等,是免疫应答、炎症发生等过程中的重要分子基础,ICAM-1 的表达被抑制将会使炎症反应减弱^[26-34]。

表 1 两面针活性化合物基本信息

Table 1 Basic information on active compounds of *Z. nitidum*

化合物代码	化合物名称	OB/%	DL
MOL001458	黄连碱 (coptisine)	30.67	0.86
MOL001461	二氢白屈菜红碱 (dihydrochelerythrine)	32.73	0.81
MOL001474	血根碱 (sanguinarine)	37.81	0.86
MOL001558	芝麻素 (sesamin)	56.55	0.83
MOL002644	珊瑚菜素 (phellopterin)	40.19	0.28
MOL002663	茵芋碱 (skimmianin)	40.14	0.20
MOL002881	香叶木苷 (diosmetin)	31.14	0.27
MOL000358	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91	0.75
MOL000359	谷甾醇 (sitosterol)	36.91	0.75
MOL005081	5,7-dimethoxy-8-[(3-methylbut-2-en-1-yl)oxy]-2H-chromen-2-one	45.77	0.19
MOL005084	7-demethyl-6-methoxy-5,6-dihydrochelerythrine	30.74	0.83
MOL005088	nivalenol	35.68	0.28
MOL005097	5-[(1S,3aS,4R,6aS)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[4,3-c]furan-4-yl]-2-methoxyphenol	36.73	0.67
MOL005100	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one	47.74	0.27
MOL005102	氧化两面针碱 (oxynitidine)	62.09	0.84
MOL005103	6-[(2R)-2,3-dihydroxy-3-methyl-butyl]-5,7-dimethoxy-coumarin	33.55	0.22
MOL005105	氧化白屈菜红碱 (oxychelerythrine)	44.22	0.84
MOL005106	氧化特日哈宁碱 (oxyterihanine)	33.93	0.81
MOL005107	乙氧基白屈菜红碱 (ethoxychelerythrine)	62.21	0.88
MOL005108	岩椒定碱 (isofagaridine)	38.34	0.77
MOL002666	白屈菜红碱 (chelerythrine)	34.18	0.78
MOL010425	羟基磷灰石 (oxyavicine)	53.09	0.87
MOL001525	胡萝卜苷 (daucosterol)	36.91	0.75

2.2 “活性成分-预测靶点”网络构建与分析

以两面针中筛选出来的化合物和预测靶点为基础建立“活性成分-预测靶点”相互作用网络(图 1), 该网络包含 88 个节点(23 个化合物与 65 个预测靶点)和 437 条边。网络节点度和介数中心度值越高, 说明所对应化合物或靶点在网络中越关

键。在两面针“活性成分-预测靶点”网络中, 靶点的平均度值为 6.51, 其中有 18 个靶点能与 15 个以上的化合物发生相互作用(表 2), 存在单分子作用在多个靶蛋白及多个分子作用在同一靶蛋白上的现象, 符合中药多成分、多靶点相互作用的特征。

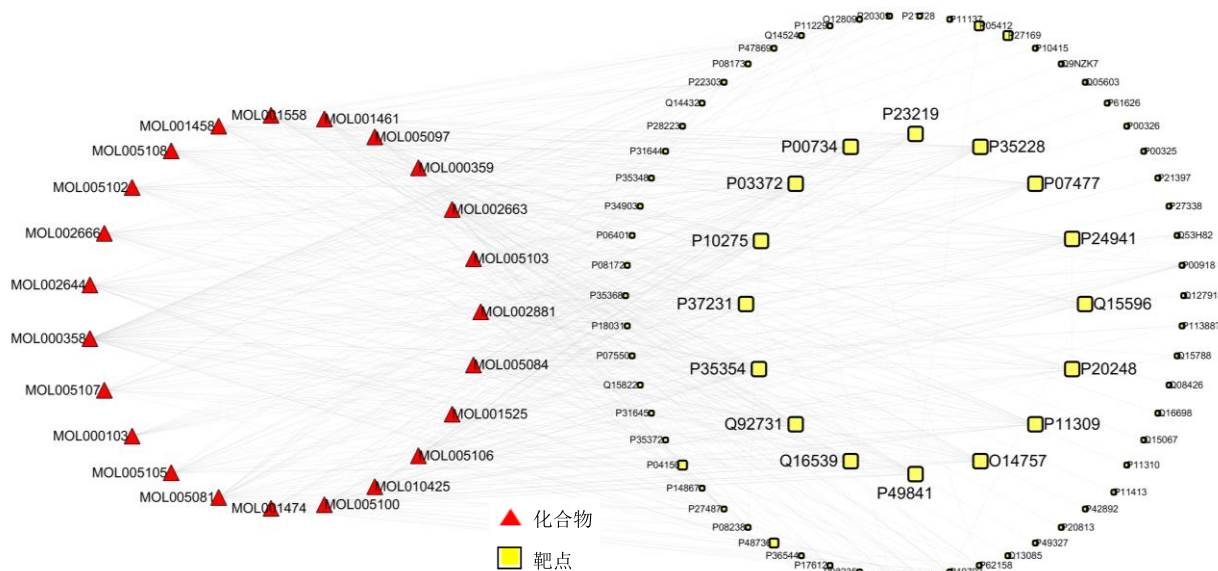


图 1 两面针“活性成分-预测靶点”的相互作用网络

Fig. 1 Interaction network of *Z. nitidum* “active ingredient-prediction target”

表 2 “活性成分-预测靶点”网络的关键靶点及拓扑参数

Table 2 Key targets and topological parameters of “active ingredient-prediction target” network

蛋白 ID	靶蛋白	靶基因	介数	中心性	度
P10275	androgen receptor	AR	0.060	0.527	25
P03372	estrogen receptor	ESR1	0.059	0.525	24
P35228	nitric oxide synthase	iNOS	0.025	0.503	20
P37231	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	0.013	0.451	20
P49841	glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B	0.026	0.495	19
P35354	prostaglandin G/H synthase 2	COX2	0.023	0.497	19
P11309	threonine-protein kinase pim-1	PIM1	0.023	0.497	19
Q92731	estrogen receptor beta	ESR2	0.021	0.492	18
P24941	cyclin-dependent kinase 2	CDK2	0.054	0.473	17
O14757	threonine-protein kinase Chk1	CHEK1	0.010	0.447	17
P23219	prostaglandin G/H synthase 1	COX1	0.010	0.442	16
P05412	transcription factor AP-1	JUN	0.043	0.133	16
P00734	prothrombin	F2	0.009	0.438	16
P07477	trypsin-1	PRSS1	0.072	0.513	15
P04150	glucocorticoid receptor	NR3C1	0.022	0.535	15
Q15596	nuclear receptor coactivator 2	NCOA2	0.017	0.475	15
Q16539	mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	0.015	0.473	15
P20248	cyclin-A2	CCNA2	0.007	0.453	15

2.3 炎症相关靶点蛋白的获取

在 OMIM 数据库和 GAD 数据库及 TTD 数据库分别以 *inflammation* 为关键词进行搜索,删除重复项后共获得 1 126 个炎症相关靶点,建立炎症靶点数据库,并利用 STRING 获得其互作关系。

2.4 抗炎靶点的确认和“活性成分-抗炎靶点”网络的构建

中药治疗疾病的网络关系和作用靶点的预测可以利用在线数据库和相关软件实现,本研究将“活性成分-预测靶点-炎症靶点”网络文件导入 Cytoscape 3.5.1 软件中确认了 9 个两面针抗炎相关的靶点(表 3),其交互作用网络(图 2)中,共组成 17 项相互作用关系。利用 Cytoscape 3.5.1 软件中

的 Merge 和 Union 功能将活性化合物-预测靶点网络与抗炎靶点互作网络融合, 得到两面针中发挥抗炎作用的化合物 21 个, 构建了两面针“活性成分-炎症靶点”的可视化交互网络(图 3)。21 个活性成分抗炎的作用靶点有环氧合酶 2 (COX2)、诱导性一氧化氮合酶 (iNOS)、转录因子活性蛋白 (JUN)、对氧磷酶 (PON1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸-3-激酶催化亚基 (PIK3CG)、有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK14) 等, 其拓扑性质参数见表 4。在 21 个抗炎活性成分中有 20 个作用在 iNOS, 18 个作用在 COX2, 17 个作用在 PPARG, 15 个作用在 MAPK14。

表 3 两面针抗炎潜在作用靶点基本信息

Table 3 Basic information on anti-inflammatory potential targets of *Z. nitidum*

Uniprot ID	靶点名称	基因名称
P04150	glucocorticoid receptor	NR3C1
P05412	transcription factor AP-1	JUN
P23219	prostaglandin G/H synthase 1	COX1
P27169	serum paraoxonase/arylesterase 1	PON1
P35228	nitric oxide synthase, inducible	iNOS
P35354	prostaglandin G/H synthase 2	COX2
P37231	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG
P48736	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform	PIK3CG
Q16539	mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14

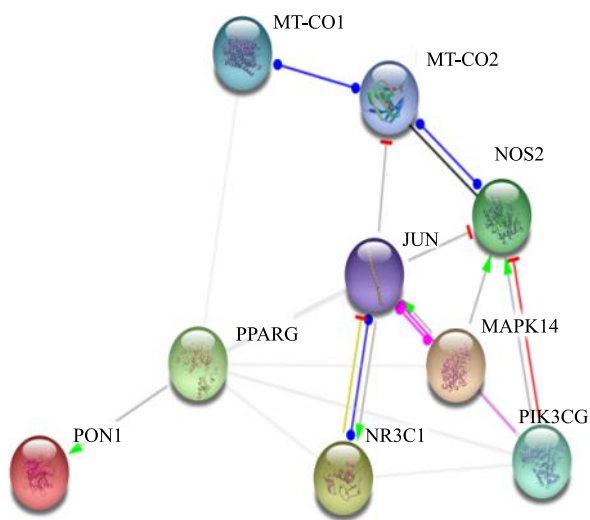


图 2 抗炎靶点相互作用

Fig. 2 Interaction of anti-inflammatory targets

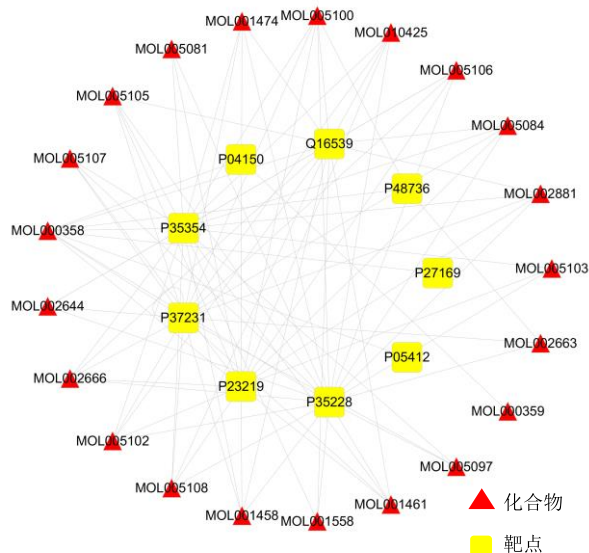


图3 “活性成分-炎症靶点”网络

Fig. 3 Network of “active ingredient-inflammatory target”

表 4 两面针抗炎关键靶点及其拓扑参数

Table 4 Anti-inflammatory key points and topological parameters of *Z. nitidum*

Uniprot ID	靶点	度	介数	中心性
P37231	PPARG	23	0.250	0.829
P27169	PON1	2	0.000	0.483
P04150	NR3C1	5	0.069	0.518
P48736	PIK3CG	8	0.015	0.580
P05412	JUN	7	0.011	0.569
P35354	COX2	21	0.132	0.763
P23219	COX1	17	0.080	0.674
Q16539	MAPK14	19	0.084	0.725
P35228	iNOS	24	0.191	0.829

2.5 KEGG 通路富集及 GO 生物功能注释

生物通路通过其构成的不同靶蛋白间的相互作用来执行特定的生物学功能，是理解疾病临床表现的生理学基础^[35]。药物对疾病的干预不仅与靶蛋白有关，而且也受靶蛋白所在的生物通路的影响，通过相互作用使发生紊乱的机体重新恢复平衡，具有多成分、多靶点、多通路特点，中药更是如此。将上述 9 个靶蛋白投射到 DAVID 数据库进行 KEGG 通路注释分析，共富集出 28 条生物通路，均与癌症、炎症等相关，相关疾病通路包括 Chagas disease、Influenza A、Pertussis 等感染性疾病，还包括

Inflammatory bowel disease (IBD)、2 型糖尿病、类风湿关节炎、肿瘤等慢性疾病的炎症过程，其中符合 $P < 0.05$ 的通路有 16 条，结果见表 5。其中包括炎症信号通路 (TNF signaling pathway、Toll-like receptor signaling pathway)、免疫信号通路 (T cell receptor signaling pathway、influenza A、salmonella infection)、癌症信号通路 (small cell lung cancer)、细胞增殖信号通路 (platelet activation)。以上通路下游调控的靶蛋白主要参与细胞、组织、器官、代谢、免疫和对应激的应答等过程，通过调节激素、COX2 和 iNOS 的级联反应、血小板活化 (platelet activation)、血管内皮生长因子 (VEGF) 等信号通路来发挥抗炎作用。

为了进一步阐明两面针与炎症相关的潜在生物学功能，利用 Cytoscape 3.5.1 的插件 ClueGO 对通路所涉及的靶蛋白进行生物学功能注释，分析结果表明两面针与炎症相关的潜在生物学功能主要富集在 11 个方面如急性炎症反应的调节 (regulation of acute inflammatory response)、活性氧的代谢调节 (positive regulation of reactive oxygen species metabol)、一氧化氮生物合成过程 (nitric oxide biosynthetic process)、糖皮质激素刺激的细胞反应 (cellular response to glucocorticoid stimulus) 等，见图 4。

表 5 两面针抗炎潜在靶点的通路富集

Table 5 Pathway enrichment of anti-inflammatory potential targets of *Z. nitidum*

通路名称	注释基因数	基因数占比/%	P 值
TNF signaling pathway	4	44.4	1.90×10^{-4}
osteoclast differentiation	4	44.4	3.50×10^{-4}
pathways in cancer	5	55.6	6.00×10^{-4}
regulation of lipolysis in adipocytes	3	33.3	1.80×10^{-3}
VEGF signaling pathway	3	33.3	2.10×10^{-3}
pertussis	3	33.3	3.10×10^{-3}
salmonella infection	3	33.3	3.80×10^{-3}
small cell lung cancer	3	33.3	4.00×10^{-3}
T cell receptor signaling pathway	3	33.3	5.80×10^{-3}
Toll-like receptor signaling pathway	3	33.3	6.10×10^{-3}
toxoplasmosis	3	33.3	7.60×10^{-3}
neurotrophin signaling pathway	3	33.3	7.80×10^{-3}
platelet activation	3	33.3	9.10×10^{-3}
oxytocin signaling pathway	3	33.3	1.30×10^{-3}
influenza A	3	33.3	1.60×10^{-3}
epstein-barr virus infection	3	33.3	1.90×10^{-3}

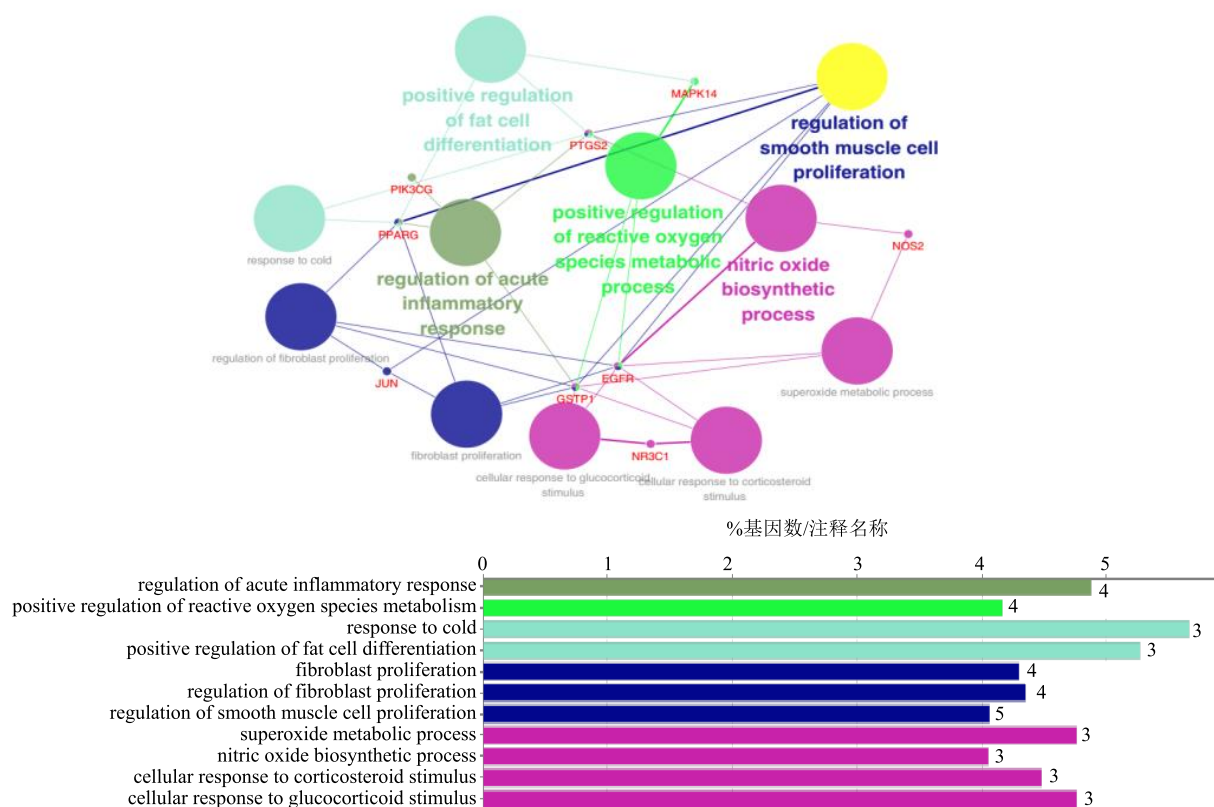


图 4 两面针抗炎关键靶蛋白的生物学功能注释

Fig. 4 Annotation of biological function of *Z. nitidum* anti-inflammatory key target protein

2.6 两面针“活性成分-抗炎靶点-炎症通路”网络构建

为了更直接地理解两面针发挥抗炎的作用机制，使用 Cytoscape 3.5.1 的 Merge 功能将“活性成分-炎症靶点”网络和抗炎靶点互作网络及其涉及到的 KEGG 通路合并，结果显示两面针抗炎活性成分和靶点及其相关通路之间的相互作用关系（图 5）。并从以上合并后的关系网络中筛选出与炎症密切相关的代谢通路，从而构建两面针“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”关系网络，如图 6 所示，大多数的两面针活性成分主要是通过直接作用在 COX-2 和 MAPK14 而发挥抗炎作用。

3 讨论

本研究通过“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”关系网络的搭建、拓扑参数的分析及生物通路的信息挖掘对两面针抗炎的活性成分、潜在作用靶点及其分子机制进行了分析，结果显示两面针中甾醇类（ β -谷甾醇）、生物碱类（二氢白屈菜红碱）和黄酮类（香叶木苷）及木脂素类（芝麻素）等化合物显示了抗炎的潜在活性。COX-2、MAPK14（P38）、

iNOS、PPARG 等是两面针抗炎的关键靶点，炎症靶点蛋白与化合物有着直接或间接作用的关系，其中大部分成分都能直接作用在 COX-2、MAPK14（P38）2 个靶点上而发挥抗炎作用，同时也与其他关键靶点相互作用共同干预炎症对机体的损伤。COX-2 是催化花生四烯酸（AA）裂解为前列腺素等致炎介质的关键酶，其介导的级联反应可调节炎症介质 NO 和前列腺素类（PGs）的合成和释放，该酶活性的降低或抑制能够有效控制炎症的发生^[36-37]。MAPK14 是 p38 MAPKs 之一，在胞外刺激物的诱导下，能调控相关促炎基因如 IL-1 β 和 TNF- α 的转录和表达，导致其大量产生，引发一序列的炎症损伤^[38]。iNOS 是产生 NO 过程中最主要的限速酶，其表达的增强使 NO 的产量随之增加，进而诱导细胞产生各种炎症因子如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等，同时这些因子又能刺激机体持续地产生更多 NO，形成恶性循环^[39]。

为了进一步探讨两面针抗炎的潜在通路，本研究进行了 KEGG 通路分析，结果显示 TNF 信号通路显著性最大，其很有可能就是两面针实现抗炎作

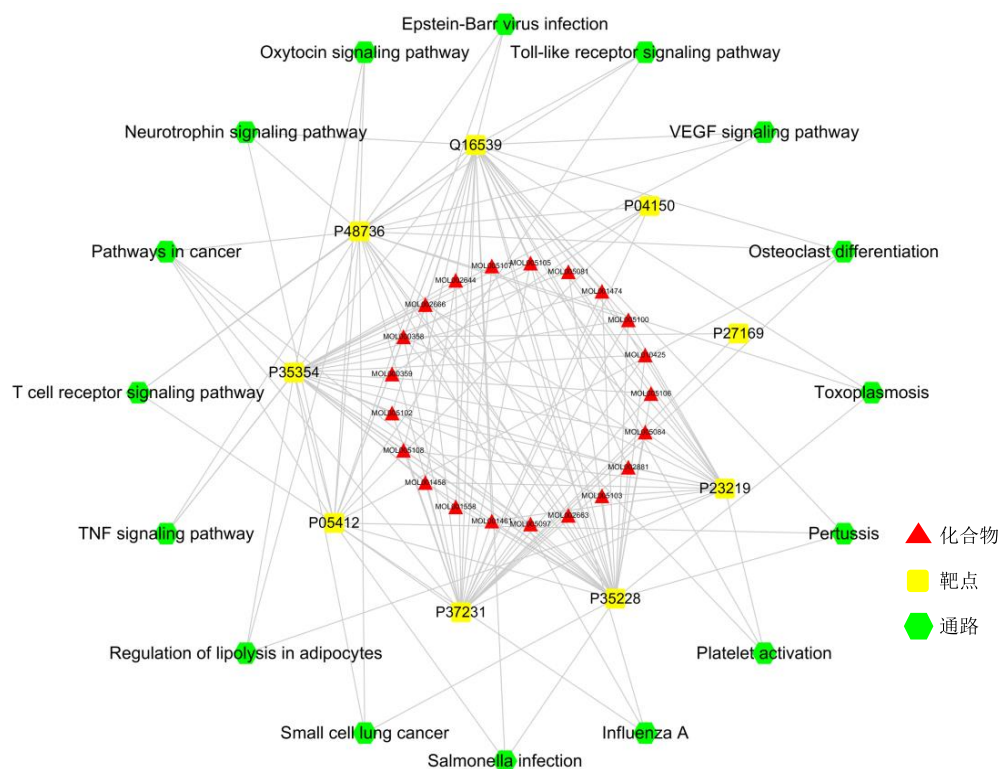


图 5 两面针“活性成分-炎症靶点-KEGG 通路”网络

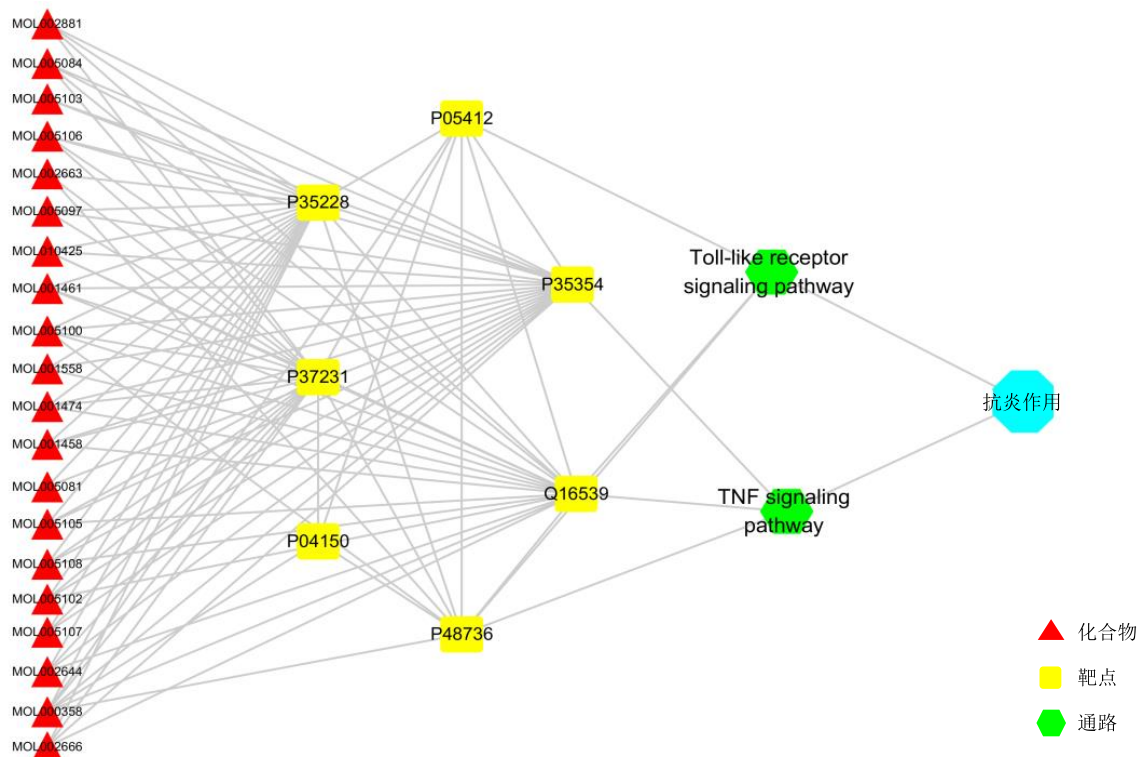
Fig. 5 “Active ingredient-inflammatory target-KEGG pathway” network of *Z. nitidum*

图 6 两面针“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”网络

Fig. 6 “Active components-inflammatory target-anti-inflammatory pathway” network of *Z. nitidum*

用的机制,因为该通路可广泛参与各种信号的传导,主要调节细胞凋亡^[40-43]及调控炎症^[44],释放 IL-1 β 、TNF- α 等促炎因子和 PGE₂ 及 NO 等炎症介质,从而形成炎症反应,同时,这些因子也会进一步激活更多的炎症基因,从而放大炎症反应。

结合以上的靶点和通路分析,发现两面针可以调节多条生物通路共同作用抑制缓激肽的形成,高氧自由基的释放,NO、PGE₂ 等炎症介质和 TNF- α 、IL-1 β 等致炎因子的合成或释放,减弱细胞黏附因子的表达间接或直接抑制炎症发生的过程。因此可以推测,两面针可能通过抑制诱导炎症发生的关键蛋白的转录与表达、阻断促炎信号的传导、减少致炎因子和介质的产生 3 种途径实现抗炎作用。

本研究通过网络分析和信息挖掘的组合应用,建立了“活性成分-炎症靶点-抗炎通路”关系网络,初步揭示了两面针抗炎的关键靶点及其作用机制的多维调控网络,这将为后续两面针药效成分分析、谱效相关研究、分子模拟对接和作用机制探索及生物评价指标的筛选等研究提供一定的参考依据,但关键的靶标和具体的调控机制尚待进一步的实验研究加以探索及验证。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 韩建军, 宁 娜. 两面针的药理作用研究进展 [J]. 药学研究, 2013, 32(8): 473-474.
- [3] 韦锦斌, 周劲帆, 冯 洁, 等. 两面针叶不同提取部位的抗炎镇痛作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(2): 122-125.
- [4] 韩正洲, 李茹柳, 仰铁锤, 等. 两面针对盐酸乙醇致大鼠胃黏膜损伤的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(3): 292-294.
- [5] 韩正洲, 仰铁锤, 陈炜璇, 等. 两面针不同药用部位镇痛和保护胃黏膜作用的研究 [J]. 中国现代中药, 2013, 15(3): 178-182.
- [6] 曾 天, 张笑寒, 刘 庆, 等. 三种中药漱口液控制慢性牙龈炎的对比较研究 [J]. 现代口腔医学杂志, 2018, 32(3): 166-168.
- [7] 韩彦琪, 孟凡翠, 许 浚, 等. 基于网络药理学方法的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的配伍合理性研究 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 526-532.
- [8] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. 药理学学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [9] Xie W, Ji L, Zhao T, *et al.* Identification of transcriptional factors and key genes in primary osteoporosis by DNA microarray [J]. *Med Sci Monit*, 2015, doi: 10.12659/MSM.89411.
- [10] 张彦琼, 李 梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
- [11] Liu A L, Du G H. Network pharmacology: New guidelines for drug discovery [J]. *Acta Pharm Sin*, 2010, 45(12): 1472-147.
- [12] Li J, Zhao P, Li Y, *et al.* Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufe Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep15290.
- [13] 周文霞, 王同兴, 程肖蕊, 等. 网络药理学研究中的网络分析技术 [J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(3): 399-409.
- [14] 庄 静, 刘丽娟, 周 超, 等. 网络药理学与分子对接技术指导下土大黄苷对慢性粒细胞白血病作用机制研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2016, 23(22): 1477-1482.
- [15] 陶晓倩, 张新庄, 李 娜, 等. 网络药理学方法研究赤芍和黄柏干预阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1634-1639.
- [16] Knox C, Law V, Jewison T, *et al.* DrugBank3.0: A comprehensive resource for 'Omics' research on drugs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, doi: 10.1093/nar/gkq1126.
- [17] 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.
- [18] Subudhi A K, Boopathi P A, Pandey I, *et al.* Disease specific modules and hub genes for intervention strategies: A co-expression network based approach for *Plasmodium falciparum* clinical isolates [J]. *Infect Genet Evol*, 2015, doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.007.
- [19] Valerio M, Awad A B. β -Itosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase shp-1 in J774 A. 1 murine macrophages [J]. *Inter Immunopharmacol*, 2011, 11(8): 1012-1017.
- [20] Choi J N, Choi Y H, Lee J M, *et al.* Anti-inflammatory effects of β -sitosterol- β -D-glucoside from *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide-stimulated raw 264.7 murine macrophages [J]. *Nat Prod res*, 2012, 26(24): 2340-2343.
- [21] Liz R, Zanatta L, Dos reis G O, *et al.* Acute effect of β -sitosterol on calcium uptake mediates anti-inflammatory effect in murine activated neutrophils [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(1): 115-122.
- [22] Imam F, Al-Harbi N O, Al-Harbi M M, *et al.* Diosmin downregulates the expression of T cell receptors,

- pro-inflammatory cytokines and NF- κ B activation against LPS-induced acute lung injury in mice [J]. *Pharmacol Res*, 2015, doi: 10.1016/j.phrs.2015.09.001.
- [23] 崔功廷, 袁 铭. 地奥司明对盆腔淤血所致大鼠慢性非细菌性前列腺炎的影响 [J]. 解放军医学杂志, 2014, 39(6): 444-447.
- [24] 王 畅. 地奥司明治疗淤积性皮炎 40 例临床观察 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2013, 27(5): 480-481.
- [25] 杨德林. 地奥司明结合非甾体抗炎药治疗膝关节滑膜炎疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(4): 419-420.
- [26] 李良昌, 朴红梅, 延光海, 等. 芝麻素抗哮喘炎症作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(3): 411-415.
- [27] Guo L Q, Yang J R, Kong X. Protective effect of sesamin on endothelial function of type-2 diabetic rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2012, 28(3): 392-396.
- [28] Yan G H, Cui Y H, Li G Z, *et al.* Anti-allergic effects of curcumin [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2010, 26(3): 416-417.
- [29] Harikumar K B, Sung B, Tharakan S T, *et al.* Sesamin manifests chemopreventive effects through the suppression of NF kappa B-regulated cell survival, proliferation, invasion, and angiogenic gene product [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(5): 751-761.
- [30] Cui Y, Hou X, Chen J, *et al.* Sesamin inhibits bacterial formylpeptide-induced inflammatory responses in a murine airpouch model and in THP-1 human monocytes [J]. *J Nutr*, 2010, 140(2): 377-381.
- [31] Hsieh C C, Kuo C H, Kuo H F, *et al.* Sesamin suppresses macrophage-derived chemokine expression in human monocytes via epigenetic regulation [J]. *Food Funct*, 2014, 5(10): 2494-2500.
- [32] Li L, Piao H, Zheng M, *et al.* Sesamin attenuates allergic airway inflammation through the suppression of nuclear factor-kappa B activation [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 4175-4181.
- [33] Qiang L, Yuan J, Shouyin J, *et al.* Sesamin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibition of TLR4 signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2016, 39(1): 467-472.
- [34] 赵洪伟, 崔银锋, 姜京植, 等. 芝麻素通过 PKC α /NF- κ B 信号途径抑制肥大细胞活化 [J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(2): 167-171.
- [35] Liu J L, Pei M J, Zheng C L, *et al.* A systems pharmacology analysis of herbal medicines used in health improvement treatment: Predicting potential new drugs and targets [J]. *Evid-Based Compl Alt Med*, 2013, doi: 10.1155/2013/938764.
- [36] Castoreno A B, Eggert U S. Small molecule probes of cellular pathways and networks [J]. *ACS Chem Biol*, 2011, 6(1): 86-94.
- [37] Zhang J, He J, Zhang L. The down-regulation of micro RNA-137 contributes to the up-regulation of retinoblastoma cell proliferation and invasion by regulating COX-2/PGE2 signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.099.
- [38] Al-Kofahi M, Omura S, Tsunoda I, *et al.* IL-1 β reduces cardiac lymphatic muscle contraction via COX-2 and PGE 2 induction: Potential role in myocarditis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.08.004.
- [39] Liu Q, Sun N N, Wu Z Z, *et al.* Chaihu-Shugan-San exerts an antidepressive effect by downregulating miR-124 and releasing inhibition of the MAPK14 and Gria3 signaling pathways [J]. *Neural Regener Res*, 2018, 13(5): 837-845.
- [40] Lee C H, Kim H J, Lee Y S, *et al.* Hypothalamic macrophage inducible nitric oxide synthase mediates obesity-associated hypothalamic inflammation [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(4): 934-946.
- [41] Chu W M. Tumor necrosis factor [J]. *Cancer Lett*, 2013, 328(2): 222-225.
- [42] Shuh M, Bohorquez H, Loss G, *et al.* Tumor necrosis factor- α : Life and death of hepatocytes during liver ischemia/reperfusion injury [J]. *Ochsner J*, 2013, 13(1): 119-130.
- [43] Gupta M, Wani A, Ahsan A U, *et al.* Soluble A β 1-42 suppresses TNF- α and activates NLRP3 inflammasome in THP-1 macrophages [J]. *Cytokine*, 2018, doi: 10.1016/j.cyto.2018.07.026.
- [44] Chen J, Liu G Z, Sun Q, *et al.* Protective effects of ginsenoside Rg₃ on TNF- α -induced human nucleus pulposus cells through inhibiting NF- κ B signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2018, doi: 10.1016/j.lfs.2018.11.022.