

• 网络药理学专栏 •

逍遥散“异病同治”抑郁症和糖尿病的网络药理学作用机制研究

吴 丹^{1,2}, 高 耀^{1,2}, 向 欢³, 邢 婕^{1,2}, 韩雨梅³, 秦雪梅^{1,2*}, 田俊生^{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

3. 山西大学体育学院, 山西 太原 030006

摘 要: **目的** 构建逍遥散单味药-成分-共有靶点网络、蛋白相互作用网络, 探究逍遥散“异病同治”抑郁症和糖尿病的共同作用机制。**方法** 通过 TCM database@Taiwan、TCMID、Batman-TCM 数据库结合文献挖掘获取逍遥散的化学成分和作用靶点, 结合 CTD、TTD、PharmGKB、OMIM、Gencards、Drugbank 数据库获取逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的作用靶点。采用 Cytoscape 软件绘制单味药-成分-共有靶点网络。采用 Metascape 工具对逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的共有靶点进行 GO 生物过程分析、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析、蛋白相互作用网络构建和模块分析。分别采用 BioGPS、Genecards 分析通路关键靶点的组织分布和亚细胞分布, 并采用 Cytoscape 软件绘制组织-靶点、亚细胞-靶点网络。采用 DisGeNET 数据库对通路关键靶点进行蛋白归属。**结果** 逍遥散治疗糖尿病和抑郁症共病涉及免疫炎症反应, 与 G 蛋白偶联受体、胰岛素及其受体、单胺类神经递质相关, 通过调节环磷酸腺苷(cAMP)信号通路、钙信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路等实现。**结论** 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的作用机制涉及脑源性神经营养因子(BDNF)相关信号通路、G 蛋白偶联受体、单胺类神经递质、胰岛素及其受体等调节过程, 可为深入阐释逍遥散抗抑郁作用特点及其药理机制提供依据。

关键词: 逍遥散; 抑郁症; 糖尿病; 网络药理学; 作用靶点; 蛋白相互作用; 模块分析

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)08-1818-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.009

An exploration on mechanisms of “treating different diseases with same method” of Xiaoyao Powder in treating depression and diabetes based on network pharmacology

WU Dan^{1,2}, GAO Yao^{1,2}, XIANG Huan³, XING Jie^{1,2}, HAN Yu-mei³, QIN Xue-mei^{1,2}, TIAN Jun-sheng^{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

3. School of Physical Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective In this paper, herb-component-common target network and protein interaction network were constructed to study the mechanism of Xiaoyao Powder in the treatment of depression and diabetes for exploring the common mechanism of Xiaoyao Powder in treating these two diseases. **Methods** TCM database@Taiwan, TCMID, Batman-TCM database and literature mining were used to obtain the components and targets of Xiaoyao Powder, combined with CTD, TTD, PharmGKB, OMIM, Gencards, and Drugbank databases to obtain the targets of Xiaoyao Powder in the treatment of depression and diabetes. The herb-component-common target network was constructed by Cytoscape software. The tool of Metascape was used to perform GO biological processes analysis, Reactome pathway analysis, KEGG pathway analysis, protein interaction networks construction and module analysis on the common targets of Xiaoyao Powder in the treatment of depression and diabetes. BioGPS database and Genecards database were used to analyze the tissue distribution and subcellular distribution of the hub targets, and the tissue-target network and subcellular-target network were constructed by Cytoscape. Protein class was performed on hub pathway targets by DisGeNET database. **Results** The results showed

收稿日期: 2018-10-24

基金项目: 国家“重大新药创新创制”科技重大专项课题(2017ZX09301047); 山西省科技重点研发计划(201603D3113013); 山西省科技重点研发计划(201603D321077); 山西省科技重点研发计划(201701D121137); 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室项目(201605D111004); 山西省科技创新重点团队项目(201605D131045-18)

作者简介: 吴 丹(1992—), 女, 硕士生, 研究方向为中药药理。Tel: (0351)7019297 E-mail: 18406593071@163.com

***通信作者** 田俊生, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药理与新药研发。Tel: (0351)7019297 E-mail: jstian@sxu.edu.cn
秦雪梅, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中医药代谢组学研究。Tel: (0351)7018379 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

that the immune and inflammatory responses, G protein-coupled receptors, insulin and insulin receptors, and monoamine neurotransmitter were involved in the treatment of these two diseases by regulating cAMP signaling pathway, Calcium signaling pathway and PI3K-Akt signaling pathway by Xiaoyao Powder. **Conclusion** It provides a direction for further research on Xiaoyao Powder's common mechanism in treating depression and diabetes. It suggests that the efficacy of Xiaoyao Powder in the treatment of depression and diabetes are mainly involved with the regulation of BDNF-related signaling pathways, the process of G protein-coupled receptors, monoamine neurotransmitter and the insulin and insulin receptors, which will benefit to the further investigation on the declaration of the characteristics of the pharmacological mechanism of Xiaoyao Powder.

Key words: Xiaoyao Powder; depression; diabetes; network pharmacology; target; protein interaction; module analysis

抑郁症是一种高患病率、高复发率的精神类疾病,严重危害人类身心健康,给社会和家庭带来沉重负担。预计到 2030 年,抑郁症将成为居于首位的疾病负担^[1-2]。糖尿病是由胰岛功能减退、胰岛素抵抗等引发的一系列代谢紊乱综合征,常伴随多种并发症。由于城市化、人口老龄化、肥胖等原因,预计到 2030 年糖尿病患者的人数会成倍增长。

抑郁症是糖尿病患者临床常见的并发症之一。有调查研究显示,糖尿病患者患抑郁症的可能性是非糖尿病患者的 2~3 倍^[3]。目前,西医治疗糖尿病合并抑郁症通常都是以注射胰岛素或口服二甲双胍、阿卡波糖等降糖药物控制血糖为基础,合并使用抗抑郁药物,而抗抑郁药物由于起效慢、价格昂贵、不良反应及副反应较多等问题,在大规模推广应用方面存在一定的问题^[4-5]。中医药对糖尿病合并抑郁症有独特认识,中药及其复方因其较为温和、靶点多、不良反应较少等特点,逐渐受到关注。

逍遥散出自宋代《太平惠民和剂局方》,由柴胡、当归、炒白术、茯苓、炙甘草、生姜、白芍、薄荷 8 味药组成,为抗抑郁经典方剂,其治疗抑郁症状确切^[6-7]。已有研究表明,逍遥散加减方可明显改善糖尿病合并抑郁症患者的汉密尔顿量表值、空腹血糖、糖化血红蛋白水平^[8]。然而,逍遥散治疗糖尿病和抑郁症共病的作用机制研究相对较少。

Hopkins^[9]于 2007 年提出了“网络药理学”的概念,是在网络生物学与多向药理学的基础上提出的新思想、新策略。中药因成分复杂、系统庞大使得深入研究有难度,网络药理学能够从中药成分、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发进行研究,特别适宜研究中药多成分-多靶点的作用关系,有利于揭示中药复杂的作用机制^[10-14]。

近年来,借助网络药理学探讨中药“异病同治”的研究也逐渐出现。朱虹宇等^[15]用网络药理学方法探究了交泰丸治疗糖尿病、抑郁症、失眠的“异病同治”作用机制。张雯等^[16]运用整合药理学平台对

越鞠丸治疗抑郁症和胃肠疾病“异病同治”机制进行了研究。蔡菲菲等^[17]采用网络药理学方法探究了茵陈蒿汤治疗不同疾病湿热证的“异病同治”分子机制。这些研究为探究逍遥散“异病同治”的机制提供了参考。因此,本研究借助网络药理学的方法,从中医药“异病同治”角度探究逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的作用机制。

1 方法

1.1 逍遥散化学成分与靶点的获取

采用 TCM database@Taiwan (<http://tcm.cmu.edu.tw/>)、TCMID (<http://www.megabionet.org/tcmid/>)、Batman-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 数据库结合文献挖掘的方法收集逍遥散各单味药的化学成分。

根据 Batman-TCM 数据库默认的阈值 (prediction score cutoff>20) 筛选逍遥散各单味药可信度高的蛋白作为候选靶点。使用 UniProt 数据库中 UniProtKB 搜索功能 (<http://www.uniprot.org/>, update in 2018-04-10), 输入蛋白名称并限定物种为人,经上述数据库检索和转化操作,将检索得到的蛋白校正为其官方名称 (official symbol)。

1.2 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病作用靶点的获取

分别向 CTD (<http://ctdbase.org/>, update in 2018-06-26)、TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>, version 4.3.02)、PharmGKB (<https://www.harmgkb.org/>)、OMIM (<http://omim.org/>, update in 2018-07-03)、Gencards (<http://www.genecards.org/>, version 4.8.0)、Drugbank (<https://www.Drugbank.ca/>, version 5.1.1) 数据库输入 depression、depressive、diabetes、diabetes mellitus 等关键词获得抑郁症和糖尿病相关的靶点。将上述成分靶点与疾病相关靶点取交集,分别获得逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的作用靶点,进行后续分析。

1.3 单味药-成分-共有靶点网络构建

将逍遥散单味药、成分、作用靶点信息导入 Cytoscape 3.4.0 绘制单味药-成分、成分-靶点网络图

并采用 Cytoscape 软件的 Merge 功能绘制最终的单味药-成分-共有靶点网络。

1.4 共有靶点网络分析

Metascape (<http://metascape.org/>, version 3.0) 为一个整合了 GO、KEGG、Drugbank 等多个数据库的工具，可用于生物过程注释和通路分析，并且能很大程度地保证数据的时效性。采用 Metascape 对逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的共有作用靶点进行分析。将上述共有靶点导入 Metascape，设置物种为人，进行分析。保留蛋白相互作用（BioGrid 数据库）和模块分析的结果，并对结果进行分析。保留 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析的结果，根据靶点数目的多少对结果进行排序，保留排名靠前的结果。

将通路的靶点导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>, version 10.5) 中获取蛋白相互作用关系, 并用 Cytoscape 软件绘制蛋白相互作用网络。将通路的靶点分别导入 BioGPS (<http://biogps.org>)、Genecards、DisGeNET (<http://www.disgenet.org>, version 5.0) 数据库中获取组织分布、亚细胞分布和蛋白分类信息。

2 结果

2.1 逍遥散作用靶点的获取

采用中药化学数据库 TCM database@Taiwan、TCMID、Batman-TCM 结合文献挖掘的方法收集到逍遥散 347 个化学成分、1861 个靶点。

通过向 CTD、TTD、PharmGKB、OMIM、Gencards、Drugbank 数据库输入 depression、depressive 等关键词获得抑郁症相关的靶点。通过与上述逍遥散化学成分的 1 861 个靶点取交集, 获得逍遥散治疗抑郁症的 380 个作用靶点。类似地通过向上述数据库输入 diabetes、diabetes mellitus 等关键词获得糖尿病相关的靶点, 最终获得逍遥散治疗糖尿病的 446 个作用靶点。将上述 380 个抑郁症靶点和 446 个糖尿病靶点取交集获得 247 个逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的共有靶点。

2.2 单味药-成分-共有靶点网络构建

将逍遥散 8 个单味药、347 个成分和 1 861 个靶点的信息导入 Cytoscape 软件中构建单味药-成分、成分-靶点网络, 然后采用 Cytoscape 的 Merge 功能合并网络, 去除不相关靶点 (包括抑郁症特有靶点、糖尿病特有靶点和其他无关靶点) 并对其中单味药、成分、共有靶点进行标识, 得到单味药-成分-共有靶点网络。如图 1 所示, 共涉及 600 个节点, 4 191 条边。节点表示单味药、成分、共有靶点, 边表示单味药、成分、共有靶点彼此之间的关联。其中, 绿色矩形节点表示单味药; 蓝色圆形节点表示化学成分; 红色 V 型节点表示逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的共有靶点 (247 个)。复方中的白芍在做了 2 个网络的 Merge 分析后没有体现, 由于只保留了与共有靶点关联的化学成分, 而白芍的化学成分没有与共有靶点相关联。

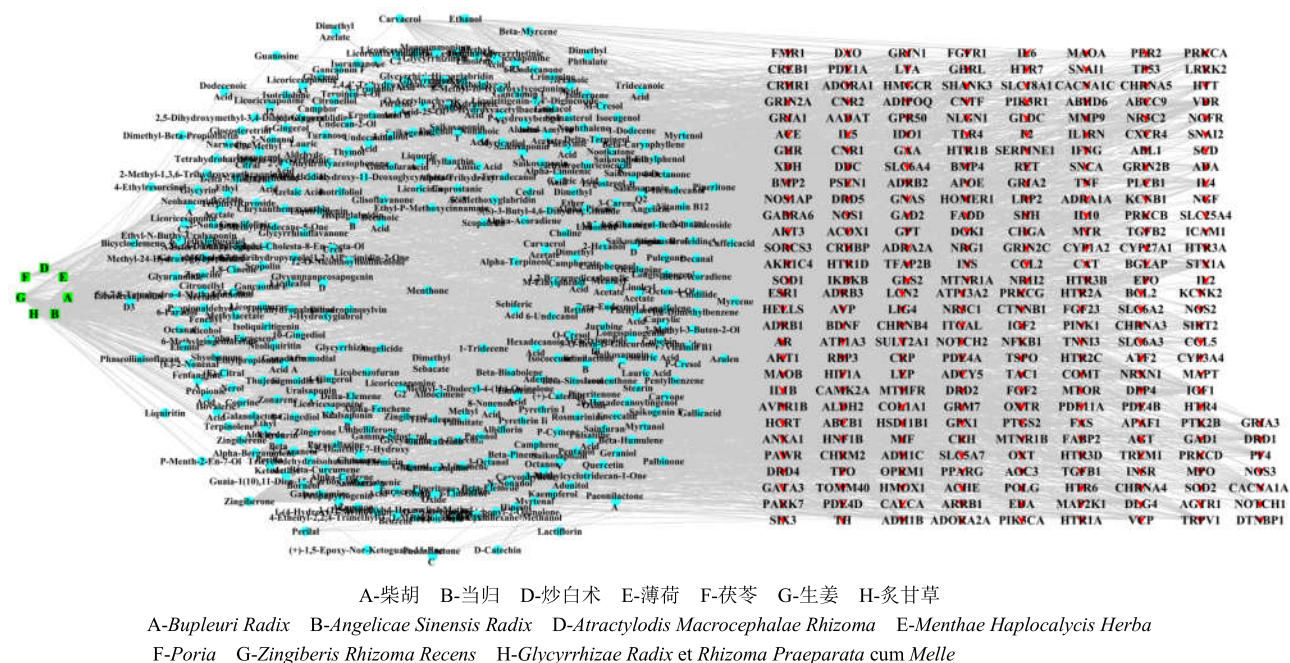


Fig. 1 Herb-component-common target network for anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

2.3 共有靶点蛋白相互作用网络构建与模块分析

保存 Metascape 中蛋白相互作用网络和模块分析的结果(图 2)。蛋白相互作用网络中,共涉及 223 个节点,1 068 条边,节点的大小表示度值(degree)的大小,不同模块用不同的颜色来表示。模块分析结果中,涉及 13 个模块,97 个靶点,这些模块的

靶点可能发挥更为重要的作用。

保留上述各模块的 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析结果,根据靶点数目进行排序,保留靶点数目靠前的 3 个生物过程、Reactome 通路、KEGG 通路。模块 1~6 的结果见表 1(其余模块没有满足条件的信息或信息不完整,不在表中

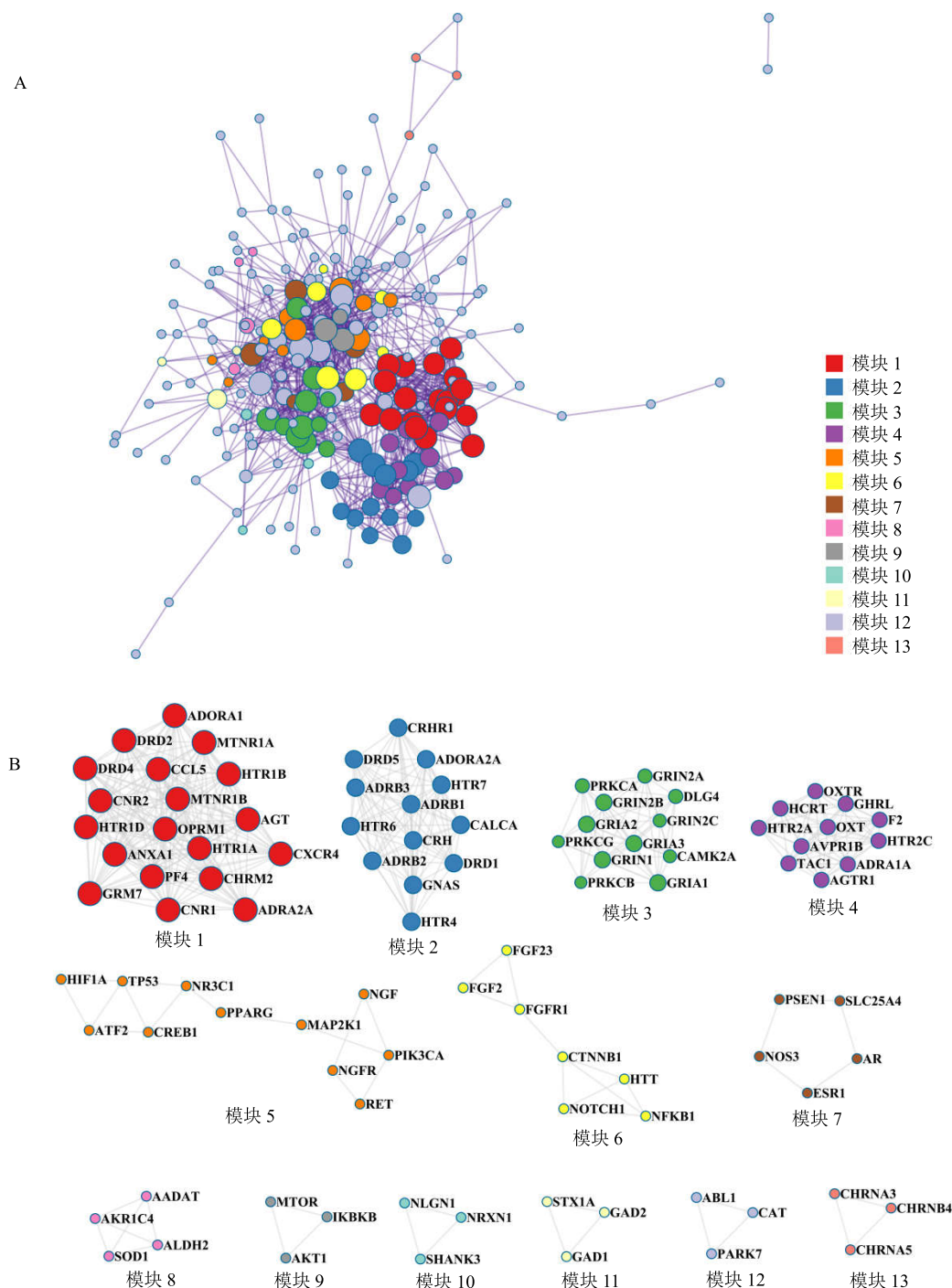


图 2 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有靶点蛋白相互作用网络 (A) 和模块分析 (B)

Fig. 2 Protein interaction network (A) and MCODE analysis (B) for potential common targets of anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

表 1 模块 1~6 的 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析结果 (靶点数目前 3 位)

Table 1 Results of enriched GO biological processes, Reactome pathways, and KEGG pathways analysis for MCODE 1—6 of Xiaoyao Powder (top 3 of target number)

模块	GO 生物过程 (靶点数目)	Reactome 通路 (靶点数目)	KEGG 通路 (靶点数目)
1	G-protein coupled receptor signaling pathway, coupled to cyclic nucleotide second messenger (16)	GPCR ligand binding (19)	neuroactive ligand-receptor interaction (14)
	regulation of secretion by cell (13)	G alpha (i) signalling events (19)	cAMP signaling pathway (6)
	trans-synaptic signaling (13)	class A/1 (rhodopsin-like receptors) (18)	taste transduction (3)
2	G-protein coupled receptor signaling pathway, coupled to cyclic nucleotide second messenger (12)	GPCR ligand binding (13)	neuroactive ligand-receptor interaction (10)
	cyclic-nucleotide-mediated signaling (10)	G alpha (s) signalling events (13)	calcium signaling pathway (10)
	cAMP-mediated signaling (10)	class A/1 (rhodopsin-like receptors) (9)	cAMP signaling pathway (8)
3	trans-synaptic signaling (10)	neuronal system (12)	amphetamine addiction (11)
	synaptic signaling (10)	transmission across chemical synapses (12)	glutamatergic synapse (11)
	anterograde trans-synaptic signaling (10)	neurotransmitter receptors and postsynaptic signal transmission (12)	circadian entrainment (11)
4	inorganic ion homeostasis (11)	GPCR ligand binding (11)	neuroactive ligand-receptor interaction (7)
	divalent inorganic cation homeostasis (11)	G alpha (q) signalling events (11)	calcium signaling pathway (6)
	cellular divalent inorganic cation homeostasis (11)	class A/1 (rhodopsin-like receptors) (11)	vascular smooth muscle contraction (3)
5	regulation of neurogenesis (7)	signaling by interleukins (6)	PI3K-Akt signaling pathway (7)
	positive regulation of programmed cell death (7)	cytokine signaling in immune system (6)	pathways in cancer (6)
	positive regulation of apoptotic process (7)	intracellular signaling by second messengers (5)	central carbon metabolism in cancer (5)
6	cellular response to growth factor stimulus (5)	diseases of signal transduction (5)	breast cancer (5)
	response to growth factor (5)	signaling by receptor tyrosine kinases (4)	pathways in cancer (5)
	positive regulation of MAPK cascade (5)	intracellular signaling by second messengers (3)	PI3K-Akt signaling pathway (4)

体现)。结果显示,模块 1 主要与 G 蛋白偶联(GPCR ligand binding)有关,涉及环磷酸腺苷(cAMP)信号通路、G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor)信号通路,环核苷酸第二信使偶联(coupled to cyclic nucleotide second messenger)信号通路;模块 2 主要与 G 蛋白偶联有关,涉及钙离子(calcium)信号通路、cAMP 信号通路、G 蛋白偶联受体信号通路、环核苷酸第二信使偶联信号通路;模块 3 主要与化学突触传递(transmission across chemical synapses)有关,涉及突触信号(synaptic signaling)、谷氨酸突触(glutamatergic synapse);模块 4 主要与 G 蛋白偶联有关,涉及钙离子信号通路、离子稳态(ion homeostasis);模块 5 主要与白细胞介素(interleukins)有关,涉及磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt signaling pathway) 信号通路、细胞程序死亡正向调节(positive regulation of programmed cell death)、凋亡正向调节(positive regulation of apoptotic process)、神经发生调节(regulation of neurogenesis);模块 6 主要与疾病信号转导(diseases of signal transduction)有关,涉及

PI3K-Akt 信号通路、生长因子反应(response to growth factor)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联反应正向调控(positive regulation of MAPK cascade)。

2.4 共有靶点 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析

共有靶点 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析结果见图 3。GO 生物过程分析结果显示,突触信号、细胞程序死亡正向调节、激素水平调控(regulation of hormone levels)等生物过程在逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的过程中均发挥重要的作用。Reactome 通路分析结果显示,G 蛋白偶联、白细胞介素信号、受体酪氨酸激酶信号(signaling by receptor tyrosine kinases)等通路在逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的过程中均发挥重要的作用。KEGG 通路分析结果显示,cAMP 信号通路、钙离子信号通路、PI3K-Akt 信号通路、Rap1 信号通路、MAPK 信号通路、缺氧诱导因子 1(HIF-1)信号通路等在逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的过程中均发挥重要的作用。

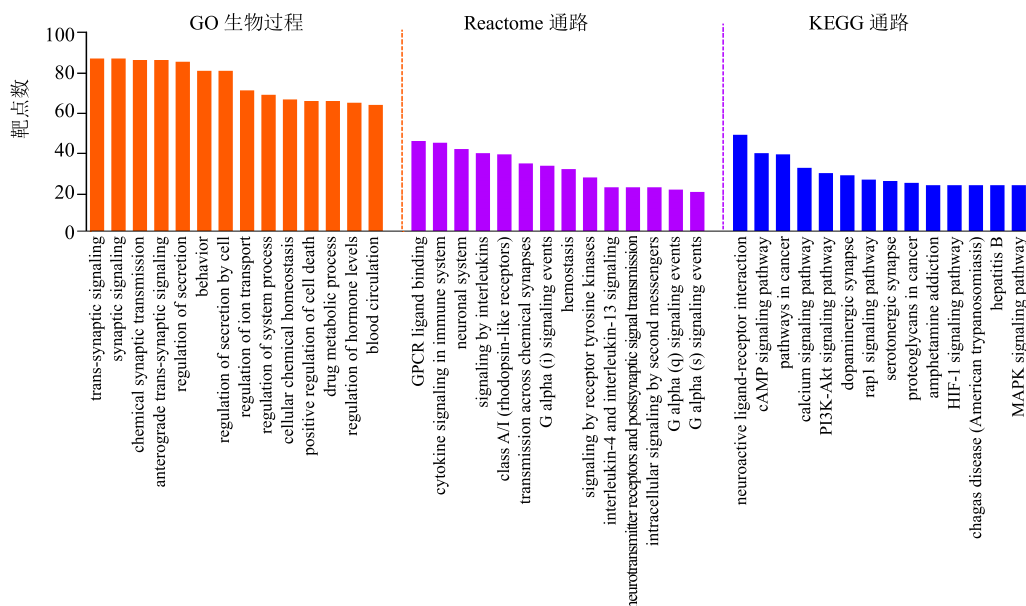


图 3 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有靶点的 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析结果

Fig. 3 Results of enriched GO biological processes, Reactome pathways, and KEGG pathways analysis for potential common targets of anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

2.5 通路蛋白相互作用网络构建以及关键通路靶点的筛选

为了进一步了解重要通路中各作用靶点的作用以及相互关系。将上述通路分析结果中的 cAMP、钙离子、PI3K-Akt、Rap1、HIF-1、MAPK 信号通

路的靶点分别导入 String 数据库中获取相互作用关系,并用 Cytoscape 软件绘制相互作用网络,见图 4。图中,节点表示蛋白,边表示蛋白相互作用关系。节点的大小和颜色表示度值的大小,边的粗细表示 combine score 的大小。

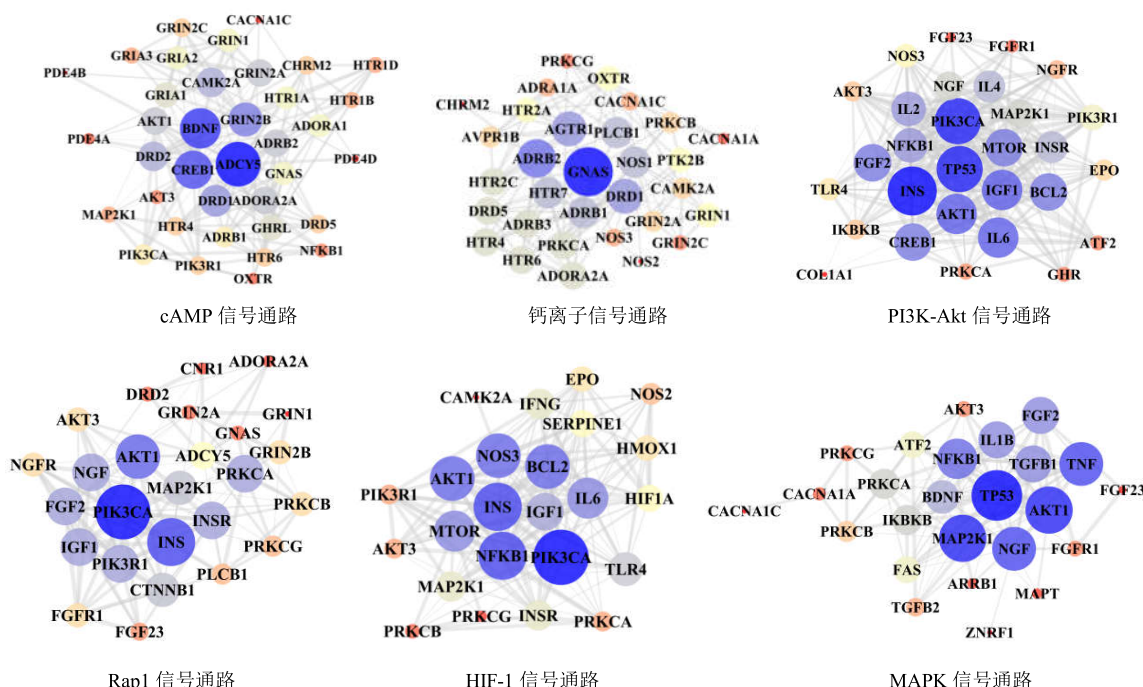


图 4 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有靶点 KEGG 通路相互作用网络

Fig. 4 Protein interaction network for common KEGG pathways of anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

保留上述 6 条通路的网络分析结果, 根据度值对靶点进行排序, 保留每条通路中度值 $\geq$ 中值的靶点, 统计各通路靶点在 6 个通路中出现的次数, 进而获取度值 $\geq$ 中值且在通路中出现的次数 ≥ 3 的关键靶点。结果显示, 度值 $\geq$ 中值的靶点共 61 个, 在通路中出现次数 ≥ 3 的靶点有 24 个, 满足条件的关键靶点有 20 个 (表 2), 结果表明, 同一靶点可以通过不同的通路发挥重要作用, 这些靶点可能在逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的过程中发挥重要作用。

表 2 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有通路的 20 个关键靶点
Table 2 Twenty key targets for common pathways of anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

编号	靶点	编号	靶点
1	PRKCA	11	INSR
2	MAP2K1	12	INS
3	AKT3	13	IGF1
4	AKT1	14	GRIN2A
5	PRKCB	15	GRIN1
6	PIK3R1	16	GNAS
7	PIK3CA	17	FGFR1
8	NFKB1	18	FGF2
9	NOS3	19	CAMK2A
10	NGF	20	ADORA2A

2.6 关键通路靶点组织分布、亚细胞分布、蛋白归属

将上述 6 条通路的 20 个关键靶点导入 BioGPS 数据库, 获取组织分布信息, 保留每个基因表达量最高的排在前 5 位的组织。将组织分布信息导入 Cytoscape 软件绘制组织-靶点网络图, 结果见图 5-A, 图中节点用来表示度值的大小, 其中, 橙黄色 V 型节点表示靶点, 浅蓝色菱形节点表示组织。结果显示, 前额叶皮层 (prefrontal cortex, 度值=6)、肝脏 (liver, 度值=5)、扣带皮层 (cingulate cortex, 度值=4)、下丘脑核 (subthalamic nucleus, 度值=4)、杏仁体 (amygdala, 度值=3) 在逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的过程中发挥重要的作用, 为后续进一步的分子验证提供了方向。结果还显示, 伯基特淋巴瘤 [lymphoma_burkitts (Raji), 度值=5]、CD19⁺ B 细胞 (neg_sel., 度值=4)、CD56⁺ NK 细胞 (度值=3)、CD4⁺ T 细胞 (度值=3)、CD8⁺ T 细胞 (度值=3) 等细胞发挥着重要的作用。

将 20 个关键靶点分别导入 Genecards 数据库获取各靶点亚细胞分布的信息, 保留 confidence 大于 5 的分布信息, 用 Cytoscape 软件绘制亚细胞-靶点网络, 见图 5-B。图中深蓝色圆形节点表示靶点, 红色三角形节点表示亚细胞结构。结果显示, 靶点更多的分布于细胞膜 (plasma membrane, 度值=14)、细胞质 (cytosol, 度值=12)、细胞核 (nucleus,

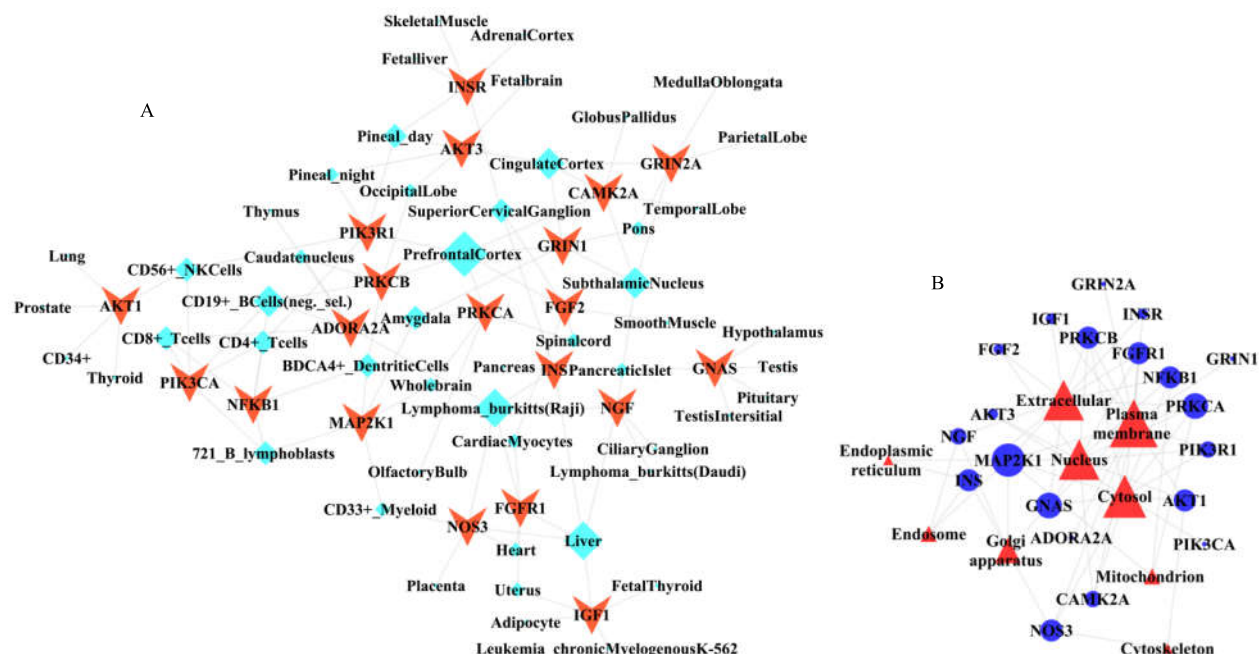


图 5 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有通路 20 个关键靶点的组织-靶点网络 (A) 和亚细胞-靶点网络 (B)

Fig. 5 Tissue-target network (A) and subcellular-target network (B) of 20 key targets for common pathways of anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

度值=11), 此外, 结果还显示高尔基体 (golgi apparatus, 度值=5)、线粒体 (mitochondrion, 度值=3) 可能为比较重要的细胞器。

将 20 个关键靶点导入 DisGeNET 数据库

中, 获取蛋白归属信息, 见表 3。结果显示, 关键靶点主要涉及转移酶 (transferase)、激酶 (kinase)、钙结合蛋白 (calcium-binding protein)。

表 3 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有通路 20 个关键靶点的蛋白归属信息

Table 3 Protein class of 20 key targets for common pathways of anti-depressant and anti-diabetes mellitus of Xiaoyao Powder

编号	靶点名称	蛋白归属	编号	靶点名称	蛋白归属
1	PRKCA	transfer/carrier protein、transferase、calcium-binding protein、kinase	9	NOS3	null
2	MAP2K1	null	10	NGF	signaling molecule
3	AKT3	transfer/carrier protein、transferase、calcium-binding protein、kinase	11	INSR	null
4	AKT1	transfer/carrier protein、transferase、calcium-binding protein、kinase	12	INS	null
5	PRKCB	transfer/carrier protein、transferase、calcium-binding protein、kinase	13	IGF1	null
6	PIK3R1	enzyme modulator	14	GRIN2A	transporter、receptor
7	PIK3CA	transferase、kinase	15	GRIN1	null
8	NFKB1	transcription factor、nucleic acid binding	16	GNAS	enzyme modulator
			17	FGFR1	null
			18	FGF2	signaling molecule
			19	CAMK2A	null
			20	ADORA2A	receptor

3 讨论

逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共有通路的关键靶点有 20 个。其中, 神经生长因子 (NGF) 是一种最早被发现、研究最为透彻的神经营养因子, 具有神经元营养和促进神经元突起生长双重生物学功能, 它对中枢及周围神经元的发育、分化、生长、再生和功能特性的表达均具有重要的调控作用。PIK3CA 和 PIK3R1 分别为 PI3K 的催化亚基和调节亚基, AKT1、AKT3 为 Akt 的亚型, PI3K 和 Akt 作为 PI3K-Akt 信号通路的关键靶点, 通过激活下游分子, 在细胞增殖、分化和凋亡等过程中发挥作用。此外, MAP2K1、核因子 Kappa B 亚基 1 (NFKB1)、成纤维细胞生长因子受体 1 (FGFR1)、成纤维细胞生长因子 2 (FGF2)、蛋白激酶 C- α (PRKCA) 也与细胞的生长、增殖、分化、迁移、凋亡有关。胰岛素受体 (INSR)、胰岛素样生长因子 1 (IGF1) 能通过激活下游 PI3K-Akt 信号通路 (其负责胰岛素的大部分代谢作用) 和 Ras-MAPK 途径在胰岛素代谢、细胞生长、增殖、分化等过程中发挥作用。蛋白激酶 C- β (PRKCB) 参与 B 细胞受体信号的调节、氧化应激诱导的细胞凋亡、胰岛素信号传导和内皮细胞增殖等过程。GRIN2A 和 GRIN1

均为谷氨酸受体 (NMDA) 复合物的组分, 与突触的可塑性和学习记忆密切相关。

G 蛋白亚基 α S (GNAS) 作为 G 蛋白的 α 亚基, 为细胞内重要的信号转导因子, 在由 GPCR 控制的许多信号传导途径中起作用。腺苷 A2a 受体 (ADORA2A) 为一种腺苷受体, 该酶的活性由 G 蛋白介导, 与免疫炎症、神经营养、神经凋亡有关。钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II α (CAMK2A) 是中枢神经系统的一种重要激酶, 在长时程增强 (LTP)、神经递质的合成与释放过程中发挥重要作用。提示, 逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的机制涉及免疫炎症、神经营养及细胞生长、增殖、分化、凋亡等过程, 与胰岛素及其受体、谷氨酸受体、G 蛋白及 GPCR、神经递质相关。

共有靶点 GO 生物过程、Reactome 通路分析、KEGG 通路分析结果与模块分析的结果基本一致, 表明了 cAMP、钙离子、PI3K-Akt、Rap1、HIF-1、MAPK 信号通路, 尤其是 cAMP、钙离子、PI3K-Akt 信号通路 (在模块分析和共有靶点分析中都有体现) 的重要性, 还表明了 G 蛋白偶联、白细胞介素、突触信号、细胞程序死亡正向调节等过程/通路的重要性。其中, cAMP、PI3K-Akt、MAPK 信号通路为

神经营养因子(BDNF)下游重要的通路,最终在cAMP反应元件结合蛋白(CREB)的Ser133位点激活CREB,通过增加BDNF和BCL-2基因的表达来促进神经细胞生存。提示,逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的通路/过程与神经营养、神经凋亡、免疫炎症、G蛋白偶联相关。

目前,抑郁症和糖尿病共病的机制主要与免疫炎症、下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴、氧化应激、BDNF、血清素(5-HT)、瘦素(leptin)、糖原合酶激酶-3(GSK-3)等有关^[18-19]。这与本研究共病机制研究结果中的免疫炎症、神经营养、单胺类神经递质、PI3K-Akt信号通路具有一致性。

研究表明逍遥散(加减方)可以通过调节免疫炎症因子^[20]、单胺类神经递质^[21]、cAMP信号通路^[22]、PI3K-Akt信号通路^[7]发挥抗抑郁作用。逍遥散能在某种程度上调节慢性束缚应激大鼠外周胰岛素水平^[23],而糖尿病与胰岛素及其受体密切相关,提示胰岛素及其受体可能是逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的机制。此外,糖尿病和抑郁症都与PI3K-Akt^[24]、cAMP-CREB^[25]信号通路密切相关,这些研究与本研究的共病机制研究结果基本一致。从某种程度上表明了网络预测结果的可靠性及准确性。但是,逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病的机制是否涉及免疫炎症因子、单胺类神经递质、GPCR、胰岛素及其受体,涉及cAMP信号通路、钙离子信号通路、PI3K-Akt信号通路等仍需要进一步的实验验证。

综上所述,本研究使用Metascape、BioGPS、Genecards、DisGeNET等数据库/工具从多方面(生物过程、通路、组织分布、亚细胞分布、蛋白归属等方面)研究了逍遥散治疗抑郁症和糖尿病的共同机制。结果表明,cAMP、钙离子、PI3K-Akt等信号通路在逍遥散治疗抑郁症和糖尿病共病过程中发挥重要的作用,此外,研究还发现免疫炎症因子、单胺类神经递质、GPCR、胰岛素及其受体在这一过程中也发挥着重要的作用。

参考文献

- [1] World Health Organization. Depression: A global crisis [R]. Geneva: World Health Organization, 2012.
- [2] Ng M, Fleming T, Robinson M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980—2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 [J]. *Lancet*, 2014, 384(9945): 766-781.
- [3] Hashim N A, Ariaratnam S, Salleh M R, et al. Depression and associated factors in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *East Asian Arch Psych*, 2016, 26(2): 77-82.
- [4] 何嘉莉,仇志坤. 糖尿病合并抑郁症的研究及治疗进展 [J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(3): 7-9.
- [5] 刘媛,魏军平. 中医药治疗糖尿病合并抑郁症临床研究概况 [J]. *中医杂志*, 2014, 55(10): 889-892.
- [6] Tian J, Peng G, Gao X, et al. Dynamic analysis of the endogenous metabolites in depressed patients treated with TCM formula Xiaoyaosan using urinary ¹H NMR-based metabolomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 158: 1-10.
- [7] Zhu X, Xia O, Han W, et al. Xiao Yao San improves depressive-like behavior in rats through modulation of β -arrestin 2-mediated pathways in hippocampus [J]. *Evidence-Based Compl Altern Med*, 2014, doi: 10.1155/2014/902516.
- [8] 周珺,张黎,席红领,等. 逍遥散加减对糖尿病合并抑郁症治疗作用的Meta分析 [J]. *中医学报*, 2017, 32(10): 1878-1882.
- [9] Hopkins A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [10] Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6964-6982.
- [11] Yamanishi Y, Kotera M, Kanehisa M, et al. Drug-target interaction prediction from chemical, genomic and pharmacological data in an integrated framework [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(12): i246-i254.
- [12] 吴丹,高耀,向欢,等. 基于网络药理学的栀子豉汤抗抑郁作用机制研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(7): 1594-1602.
- [13] 李静,高丽,高耀,等. 基于网络药理学的款冬花止咳化痰活性成分靶点探究 [J]. *中草药*, 2018, 49(1): 179-187.
- [14] Zhang Y Q, Mao X, Guo Q Y, et al. Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [15] 朱虹宇,李红品,高兴,等. 交泰丸对糖尿病、抑郁和失眠症“异病同治”的网络药理学机制分析 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2018, 20(3): 460-467.
- [16] 张雯,唐仕欢,张毅,等. 基于整合药理学的越鞠丸“异病同治”研究 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(7): 1352-1359.
- [17] 蔡菲菲,李晓燕,董姝,等. 基于网络药理学的茵陈蒿汤“异病同治”研究 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(9): 1507-1514.

- [18] 刘 洋, 李 艳, 张海燕, 等. 抑郁症与糖尿病相关性研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(8): 1396-1400.
- [19] 李冬霞, 陈文进, 朱晓燕, 等. 糖尿病并发抑郁症的研究进展 [J]. 医学信息, 2018, 31(14): 20-23.
- [20] 李玉娟, 罗和春, 钱瑞琴, 等. 丹栀逍遥散对抑郁症患者神经免疫内分泌系统的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(3): 197-200.
- [21] 崔 杰, 郭秉荣, 任艳玲, 等. 逍遥散不同提取部位对慢性轻度不可预知应激模型大鼠行为学及海马中单胺类神经递质的影响 [J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(7): 584-587.
- [22] 史碧云. 复方柴归方超临界 CO₂ 萃取组分抗抑郁作用机制研究 [D]. 太原: 山西大学, 2014.
- [23] 潘秋霞. 肝郁脾虚证大鼠肝脏能量代谢紊乱的机制及逍遥散的调节作用 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [24] Dai B, Wu Q, Zeng C, *et al.* The effect of Liuwei Dihuang decoction on PI3K/Akt signaling pathway in liver of type 2 diabetes mellitus (T2DM) rats with insulin resistance [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 192(11): 382-389.
- [25] Park B Y, Jeon J H, Go Y, *et al.* PDK4 deficiency suppresses hepatic glucagon signaling by decreasing cyclic AMP levels [J]. *Diabetes*, 2018, 67(10): 2054-2068.