

基于网络药理学从“湿邪”探讨中医药治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的作用机制

李彦志¹, 王琰静^{1#}, 龙飞^{1*}, 蒋运斌², 闫婕¹, 何郡¹, 赵姝婷³, 吕光华⁴, 凌智群⁵

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137
2. 西南大学药学院·中医药学院, 重庆 400715
3. 成都中医药大学医学信息工程学院 四川省中医药数字化工程技术研究中心, 四川 成都 611137
4. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137
5. 江汉大学医学院 药理学系, 湖北 武汉 430000

摘要: **目的** 采用网络药理学方法从“湿邪”角度探讨中医药治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的作用机制。**方法** 用 Cytoscape 软件构建《新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第七版）》中治疗 COVID-19 轻型和普通型阶段 4 个方剂寒湿郁肺方、湿热蕴肺方、寒湿阻肺方、湿毒郁肺方的“方剂-中药”网络；利用 TCMSP 数据库预测筛选相关中药的有效活性成分并分别整理出每个方剂的成分；借助 OmicShare 平台绘制 4 个方剂成分的韦恩图；在 Swiss Target Prediction 平台预测各方剂共有成分的靶点，并在 GeneCards 数据库获取 COVID-19 相关靶点，将二者绘制为韦恩图，筛选出共有靶点；用 STRING 平台分析共有靶点和血管紧张素转化酶 II（ACE2）的蛋白-蛋白相互作用（PPI）网络；用 DAVID 数据库对共有靶点进行 KEGG 通路和 GO 富集分析，以及所有预测靶点与 HIV 病毒蛋白的相互作用分析；通过 OmicShare 平台和 Cytoscape 软件对结果进行可视化处理。**结果** 筛选出 4 个方剂的 22 个共有成分，预测到的 268 个靶点中有 31 个与 COVID-19 相关，其中 3 个靶点与 ACE2 有直接的相互作用，有 129 个靶点与 4 个 HIV 蛋白存在相互作用，通过 KEGG 通路和 GO 富集分析，分别筛选出 87 条通路和 141 条条目。**结论** 确定了治疗 COVID-19 4 个方剂的共有成分与湿邪的联系；推断中医药从“湿邪”治疗 COVID-19 的作用机制可能包括抗病毒、抗炎症、调控免疫系统、负向调节宿主细胞凋亡、消血栓、修复肺部损伤等；2-羟基异氧丙基-3-羟基-7-异戊烯-2,3-二氢苯并咪喃-5-羧酸具有较大的潜在抗疫活性。

关键词: 新型冠状病毒肺炎；网络药理学；湿邪；作用机制；血管紧张素转化酶 II（ACE2）；抗炎；抗病毒；2-羟基异氧丙基-3-羟基-7-异戊烯-2,3-二氢苯并咪喃-5-羧酸

中图分类号：R285.5 文献标志码：A 文章编号：0253-2670(2020)08-2004-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.004

Pathogeny and pathogenesis research of coronavirus disease 2019 from perspective of “pathogenic dampness” based on network pharmacology

LI Yan-zhi¹, WANG Long-jing¹, LONG Fei¹, JIANG Yun-bin², YAN Jie¹, HE Jun¹, ZHAO Shu-ting³, LV Guang-hua⁴, LING Zhi-qun⁵

1. State Key Laboratory of Characteristic Chinese Drug Resources in Southwest China, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. School of Pharmaceutical and Chinese Medicine, Southwest University, Chongqing 400715, China
3. Sichuan Provincial Engineering Research Center for Digitalization of Traditional Chinese Medicine, School of Medical Information Engineering, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
4. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
5. Department of Pharmacy, School of Medicine, Jiangnan University, Chengdu 430000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of traditional Chinese medicine for the treatment of coronavirus disease 2019

收稿日期：2020-03-06

基金项目：四川省高校科研创新团队建设计划（18TD0017）；成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划（XGZX2009, CXTD2018018, ZYTS2019004, 02004909）

作者简介：李彦志，男，本科生，中药学专业。E-mail: liyanzhi@stu.cdutcm.edu.cn

*通信作者 龙飞，男，博士，副教授，主要从事中药品种、质量与资源保护的研究工作。Tel: (028)61800101 E-mail: longfei@cdutcm.edu.cn
#并列第一作者 王琰静，女，硕士研究生，主要从事中药鉴定的研究工作。E-mail: wanglongjing@stu.cdutcm.edu.cn

(COVID-19) from the perspective of “pathogenic dampness”. **Methods** Firstly, the prescription-herb network of the four prescriptions for the treatment of light and normal periods in *Treatment Options of Novel Coronavirus Pneumonia (trial version 7)* was constructed by Cytoscape software. Next, the TCMSP database was used to predict and screen the effective active ingredients of related traditional Chinese medicine and sort out the ingredients of each prescription separately. Venn diagram of the ingredients of the four prescriptions was drawn with the help of OmicShare platform. Integrating the targets of the common ingredients of the four formulations predicted on the Swiss Target Prediction platform and the targets related to COVID-19 obtained in GeneCards database into Venn diagram to screen the common targets. The STRING platform was used to analyze the protein-protein interactions (PPI) between the common targets and ACE2. Furthermore, KEGG pathway analysis and GO enrichment analysis were carried out by the DAVID platform, the analysis of interaction between targets and HIV proteins was investigated as well. Based on these above studies, the results were visualized using the OmicShare platform and Cytoscape software. **Results** Among the 268 targets predicted through the 22 screened common ingredients of the four formulations, 31 were related to COVID-19, among which three had direct interaction with ACE2. In addition, 129 targets had interaction with four HIV proteins. A total of 87 signal pathways and 141 GO items were screened by KEGG pathway analysis and GO enrichment analysis. **Conclusion** After determining the association between common ingredients and pathogenic dampness, it can be inferred that the mechanism of TCM for the treatment of COVID-19 based on the method of “pathogenic dampness” might include anti-virus, anti-inflammation, regulation of immune system, negative regulation of host cell apoptosis, antithrombotic, pulmonary injury repair and so on. 2-Hydroxyisooxypropyl-3-hydroxy-7-isopentene-2,3-dihydrobenzofuran-5-carboxylic acid had a large potential anti-epidemic activity.

Key words: coronavirus disease 2019; network pharmacology; pathogenic dampness; mechanism; ACE2; anti-inflammation; antiviral; 2-hydroxyisooxypropyl-3-hydroxy-7-isopentene-2,3-dihydrobenzofuran-5-carboxylic acid

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 由新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 引起^[1]。患者初期以发热、干咳、乏力为主要症状, 部分患者可伴有纳差、腹泻等消化道症状及恶寒、肌痛的表现, 少数可能无发热症状, 随病情进展, 中期及重症期可出现口咽舌干、胸闷、呼吸困难、多脏器功能衰竭等表现^[2-3]。呼吸道飞沫和密切接触为 SARS-CoV-2 主要传播途径, 在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶胶情况下存在经气溶胶传播的可能, 其潜伏期多见 3~7 d, 一般不超 14 d^[4]。自 2019 年 12 月以来, SARS-CoV-2 在我国、日本、韩国、美国等国家广泛传播, 对世界公共卫生事业造成了严重威胁^[5]。国家卫生健康委员会将 COVID-19 纳入乙类传染病, 并采取甲类传染病的预防、控制措施。WHO 已经将此次疫情列为“国际关注的突发公共卫生事件”。

中医药有着几千年与瘟疫作斗争的历史, 拥有丰富的经验^[6], 在本次疫情的防控中发挥了重要作用, 患者的治愈率和症状改善率均得到显著提高^[7]。从国家及各省、自治区、直辖市诊疗方案和中医临床专家的见解中发现, 尽管方药多有差异, 但大多认为 COVID-19 属于中医“疫”的范畴, 病位主要在肺和 (或) 脾, 病机以“湿邪”为主, 治疗当以分期进行。观点大致可以总结为临床观察期以解表为主, 临床治疗初期当以宣肺化浊作为主要方向, 临床治疗中期当以宣肺解毒为主, 还要随时根据患者情

况掌握病情的寒热转化, 辨证调整用药^[4,8-16]。

中医理论认为“湿”在正常的情况下属于六气之一, 称其为“湿气”。而在气候变化异常或人体正气不足的情况下, “湿”就成了致病因素, 此时“湿气”便成为了“湿邪”^[17]。“湿邪”具有 4 种特征: 湿性重浊、湿为阴邪、湿性黏滞、湿性趋下^[18]。本次疫情在地、时、人 3 方面均显示出与“湿邪”关联密切: 因地而言, 疫情发生地属长江流域, 域内数条河湖, 水湿弥漫; 因时而言, 当时正值暖冬气候, 气候反常, 阴雨绵绵, 湿热蒸腾, 当寒不寒, 湿气很重; 因人而言, 当地人民嗜食虾蟹等寒性之品, 寒易伤及脾胃阳气, 脾失运化, 湿从中生, 体内之湿与天地之湿相召而应, 使得人们易感“湿邪”^[14,16]。

在轻型寒湿郁肺、湿热蕴肺和普通型寒湿阻肺、湿毒闭肺证候的患者中, 共有的临床表征是常见滑脉或濡脉, 舌体偏胖大具齿痕, 有厚腻苔甚至腐苔者居多, 均表现出“湿”的特点^[4,15]。4 种证候中均常见有恶寒发热或不发热、倦怠乏力、胸闷、脘痞、或呕恶、便溏等症状, 与湿邪易伤阳气、阻遏气机、黏滞、趋下等特性相契合^[4,16]。

《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版)》(以下简称《第七版》) 中针对轻型寒湿郁肺、湿热蕴肺和普通型寒湿阻肺、湿毒闭肺证候的推荐处方 (以下分别简称为寒湿郁肺方、湿热蕴肺方、寒湿阻

肺方、湿毒郁肺方), 虽然针对的证候各异, 但主要在于寒热与疾病发展程度的区别, 没有离开“湿邪”这一核心。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》中已将其列为推荐方剂, 《第七版》仍沿用, 说明其临床疗效得到进一步认可^[4]。

网络药理学可揭示多分子药物协同作用于人体的机制^[19], 研究策略符合中医药学对疾病整体性的认识, 中医疾病证候也与生物网络的调节机制有很大的相关性。因此, 基于网络药理学的中医药研究取得了快速的发展^[20]。以网络药理学的方法在“方药-成分-靶点-通路-疾病”多层次上探索本次疫情的湿邪特性将具有较高的价值。

本研究选取寒湿郁肺方、湿热蕴肺方、寒湿阻肺方、湿毒郁肺方 4 个方剂的交集成分作为祛湿邪的主要成分展开研究, 通过构建成分-靶点网络, 运用蛋白-蛋白相互作用(PPI)分析、GO 和 KEGG 通路富集分析等, 探讨祛湿邪成分对湿邪的针对性, 并尝试对祛湿邪成分治疗 COVID-19 的作用机制进行阐释。本研究结果为中医药抗击 COVID-19 疫情提供进一步的科学依据。

1 材料与方法

1.1 构建“方剂-中药”网络

将寒湿郁肺方、湿热蕴肺方、寒湿阻肺方、湿毒郁肺方中使用的中药以《中国药典》2015 年版进行名称规范^[21]。整理出 4 个方剂与相关中药的关系后, 将其导入 Cytoscape 3.7.2 软件中构建“方剂-中药”网络。

1.2 方剂成分收集

在 TCMSP(traditional Chinese medicine systems pharmacology) 数据库(<http://tcmssp.com/tcmssp.php>) 搜索每味中药所含化学成分, 以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性(DL) ≥ 0.18 为参考筛选候选化合物。再依据方剂的药物组成, 将相应成分进行整合, 得到每个方剂的成分。

1.3 祛湿邪成分筛选

运用 OmicShare 在线数据分析平台(<https://www.omicsshare.com/>) 分别录入寒湿郁肺方、湿热蕴肺方、寒湿阻肺方、湿毒郁肺方 4 个方剂化学成分, 绘制韦恩图, 4 者的交集假定为“祛湿邪成分”。

1.4 祛湿邪成分靶点预测

通过 Pubchem 数据库获取祛湿邪成分的分子结构, 保存为 Canonical SMILES 格式, 并导入 Swiss Target Prediction 在线平台([http://www.](http://www.swisstopol.ch/)

[swisstopol.ch/](http://www.swisstopol.ch/)), 以“Homo sapiens”为研究物种, 得到化合物的作用靶点, 整合、去重后得到祛湿邪成分的预测靶点。

1.5 共有靶点筛选

在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>) 以“novel coronavirus”为关键词进行检索, 得到 COVID-19 的治疗靶点, 再与祛湿邪成分预测靶点在 OmicShare 平台的韦恩图工具中映射筛选出共有靶点。

1.6 “成分-靶点”网络构建

整理祛湿邪成分与共有靶点的关系, 导入 Cytoscape 3.7.2 软件中进行可视化分析, 构建“成分-靶点”网络, 并利用 CytoHubba 插件进行网络拓扑分析。

1.7 PPI 网络构建

在 UniProt 数据库, 查找到血管紧张素转化酶 II (ACE2) 的 UniProt ID, 将其与靶点预测过程中获取到的共有靶点的 UniProt ID 一起导入到 STRING 数据平台(<https://string-db.org/>), 选择物种为“Homo sapiens”, 获得 PPI 关系, 进一步利用 Cytoscape 3.7.2 软件构建 PPI 网络进行可视化分析, 并利用 CytoHubba 插件进行网络拓扑分析。

1.8 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将共有靶点的 UniProt ID 导入到 DAVID 6.8 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>), 对其进行通路富集分析, 识别类型选择(Select Identifier) 设置为“UNIPROT_ACCESSION”, 列表类型(List Type) 设置为“Gene List”, 选择物种为“Homo sapiens”, 设定阈值为 $P \leq 0.05$, 进行 GO (gene ontology) 功能和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路富集分析。根据 P 值从小到大排序, 选取前 20 个条目在 OmicShare 网站绘制气泡图进行可视化处理。

1.9 “靶点-HIV 蛋白”网络构建

将所有祛湿邪成分预测靶点导入 DAVID 6.8 数据库中作 PPI 富集分析, 在 protein interactions 选项中选择“HIV_INTERACTION”为背景数据, 设定统计指标为 $P \leq 0.05$, 获取靶点与 HIV 病毒蛋白的相互作用关系, 整理并导入 Cytoscape 3.7.2 软件中进行可视化分析, 构建“靶点-HIV 蛋白”网络。

艾滋病与疫气、湿邪也有较大关系^[22], 和 COVID-19 有一定相似性, 而且导致其发病的 HIV 与 SARS-CoV-2 一样属于 RNA 病毒。探讨祛湿邪

成分可能对 HIV 产生的作用有利于进一步确定祛湿邪成分与湿邪的关联性。

2 结果

2.1 “方剂-中药”网络

根据 4 个方剂的药物组成构建出“方剂-中药”网络，见图 1。4 个方剂共涉及 34 味中药，其中苍

术为 4 个方剂所共有，槟榔、厚朴、草果为寒湿郁肺方、寒湿阻肺方、湿热蕴肺方 3 个方剂所共有，麻黄、广藿香为寒湿郁肺方、寒湿阻肺方、湿毒郁肺方 3 个方剂所共有。以上 6 味中药相关联的方剂较多，说明其可能在 COVID-19 治疗中有较为重要的作用。

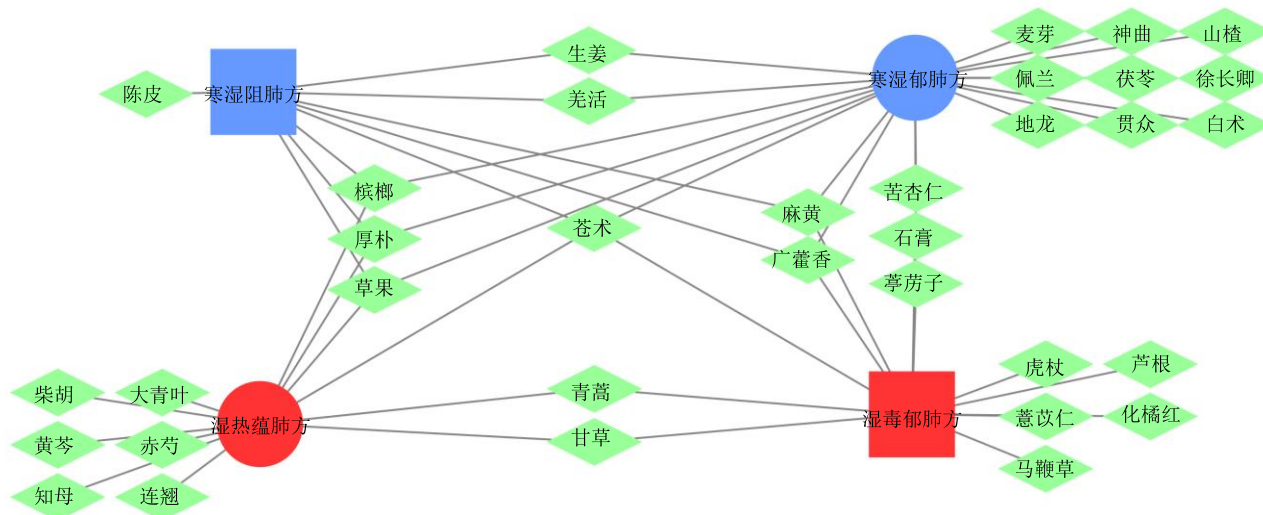


图 1 “方剂-中药”网络

Fig. 1 “Prescription-Chinese materia medica” network

2.2 祛湿邪成分筛选结果

在 TCMSP 数据库中检索到 30 味中药的成分，4 味药（石膏、地龙、山楂、神曲）无搜索结果。其中，石膏成分单一，本研究以 calcium sulfate (CaSO₄ · 2H₂O) 为石膏的成分。地龙、山楂、神曲仅出现于寒湿郁肺方中，且地龙在该方中的功效是解毒活血通络^[12]，山楂、神曲与麦芽一起共称为“焦三仙”，主要功效是消食导滞^[23]。可见这 3 味药主要针对的是 COVID-19 的兼证而非湿邪，而且考虑到不同数据库中化合物同物异名现象严重，本研究舍弃了这 3 味药的成分。

依据筛选条件共得到 360 个潜在活性成分，其中寒湿郁肺方含有 141 个，湿热蕴肺方含有 236 个，湿毒郁肺方含有 186 个，寒湿阻肺方含有 69 个，在 OmicShare 平台绘制 4 个方剂成分的韦恩图(图 2)，取 4 者交集获得了 22 个祛湿邪成分，基本信息见表 1。

2.3 “成分-靶点”网络

将 22 个“祛湿邪成分”导入 Swiss Target Prediction 在线平台中进行靶点预测，去重后得到 268 个祛湿邪靶点，其中 (+)-儿茶素、resivite 未预测到靶点；通过 GeneCards 数据库得到 346 个

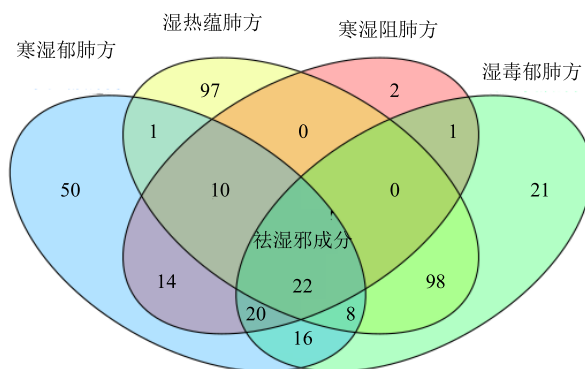


图 2 4 个方剂成分的韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of four prescriptions

COVID-19 的作用靶点。在 OmicShare 平台绘制二者的韦恩图(图 3)，取交集得到 31 个共同靶点，构建出“成分-靶点”网络(图 4)。

网络中共有 49 个节点、76 条线。线代表靶点与成分的对应关系，节点中有 31 个节点表示共有靶点(菱形节点)，18 个节点表示祛湿邪成分(椭圆形节点)，节点的颜色代表度(degree)值的大小，越接近红色代表度值越大。在网络中，1 个节点的度值表示网络中和节点相连的路线的条数。连接成

表 1 祛湿邪成分基本信息

Table 1 Basic information of pathogenic dampness-removing ingredients

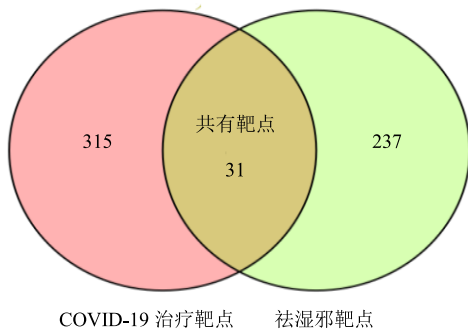
分子名称	Mol ID	分子式	相对分子质量	来源
(+)-儿茶素 [(+)-catechin]	MOL000492	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.29	麻黄、苦杏仁、麦芽、虎杖、赤芍
(6Z,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	MOL002372	C ₃₀ H ₅₀	410.80	苦杏仁、槟榔、薏苡仁
2-hydroxyisoxopropyl-3-hydroxy-7-isopentene-2,3-dihydrobenzofuran-5-carboxylic	MOL000179	C ₁₇ H ₂₂ O ₅	306.39	苍术
3β-乙酰氧基苍术酮 (3β-acetoxyatractylone)	MOL000188	C ₁₇ H ₂₂ O ₃	274.39	苍术、白术
β-daucosterol_qt	MOL000085	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	苍术、草果
β-谷甾醇 (β-sitosterol)	MOL000358	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	麻黄、羌活、葶苈子、麦芽、生姜、黄芩、赤芍、连翘、大青叶、虎杖、马鞭草、化橘红
β-谷甾醇-3-O-葡萄糖苷 (β-sitosterol-3-O-glucoside_qt)	MOL000088	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	苍术、草果
菜油甾醇 (campest-5-en-3β-ol)	MOL005043	C ₂₈ H ₄₈ O	400.76	麻黄、赤芍
daucosterin_qt	MOL000092	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	苍术、草果
daucosterol_qt	MOL000094	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	苍术、草果
邻苯二甲酸二异辛酯 (Diop)	MOL002879	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.62	广藿香、黄芩
山柰酚 (kaempferol)	MOL000422	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	麻黄、葶苈子、贯众、知母、柴胡、连翘、青蒿、甘草、马鞭草
木犀草素 (luteolin)	MOL000006	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.25	麻黄、佩兰、麦芽、连翘、青蒿、虎杖、马鞭草
柚皮素 (naringenin)	MOL004328	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.27	麻黄、甘草、化橘红、陈皮
poriferast-5-en-3β-ol	MOL001771	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	麻黄、生姜、大青叶
槲皮素 (quercetin)	MOL000098	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.25	麻黄、葶苈子、广藿香、草果、柴胡、连翘、甘草、虎杖、马鞭草
resivit	MOL010489	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306.29	麻黄、槟榔
谷甾醇 (sitosterol)	MOL000359	C ₂₉ H ₅₀ O	414.79	苦杏仁、羌活、徐长卿、佩兰、麦芽、黄芩、赤芍、青蒿、甘草、薏苡仁、陈皮
豆甾醇 (stigmasterol)	MOL000449	C ₂₉ H ₄₈ O	412.77	麻黄、苦杏仁、佩兰、生姜、知母、黄芩、柴胡、赤芍、青蒿、薏苡仁、马鞭草、芦根
豆甾醇-3-O-β-D-葡萄糖苷 (stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside_qt)	MOL000186	C ₂₉ H ₄₈ O	412.77	苍术
角鲨烯 (supraene)	MOL001506	C ₃₀ H ₅₀	410.80	麻黄、黄芩
汉黄芩素 (wogonin)	MOL000173	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.28	苍术、黄芩、连翘

分或靶点较多的节点在整个网络中起到枢纽的作用，可能是关键的成分或靶点，结合相关文献报道^[24-26]，本研究拟选取度值排名前 5 的成分为关键成分。

成分的度值代表与之相关联的靶点个数，最大值是 13，最小值是 1，平均值是 4.22，度值排名前 5 的关键成分有 2-羟基异氧丙基-3-羟基-7-异戊烯-2,3-二氢苯并呋喃-5-羧酸、柚皮素、汉黄芩素、槲皮素、木犀草素、山柰酚（考虑到度值并列的情况拓展筛选为 6 个），分别与 13、10、9、5、5、5 个靶点相关联。“成分-靶点”网络充分体现了中药多成分与多靶点之间的共同作用机制。

2.4 PPI 网络

在 STRING 数据平台录入 31 个共同靶点与 ACE2 的 Uniprot ID，构建出 PPI 网络，见图 5。PPI 网络中共有 32 个节点和 148 条线，紫色的圆形节点代表 ACE2 蛋白，矩形节点代表 3 个与 ACE2 有相互作用关系的靶点，菱形节点代表其他的共有靶点，线代表蛋白质之间的相互作用关系。节点的颜色与靶点的度值相关，越接近红色代表度值越大，越接近黄色代表度值越小。度值表示有相互作用的靶点蛋白个数，最大值为 23，最小值为 1，平均值为 9.25。度值排名前 5 的靶点在所有靶点中起着关键的枢纽作用，



COVID-19 治疗靶点 祛湿邪靶点

图 3 靶点的韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of target

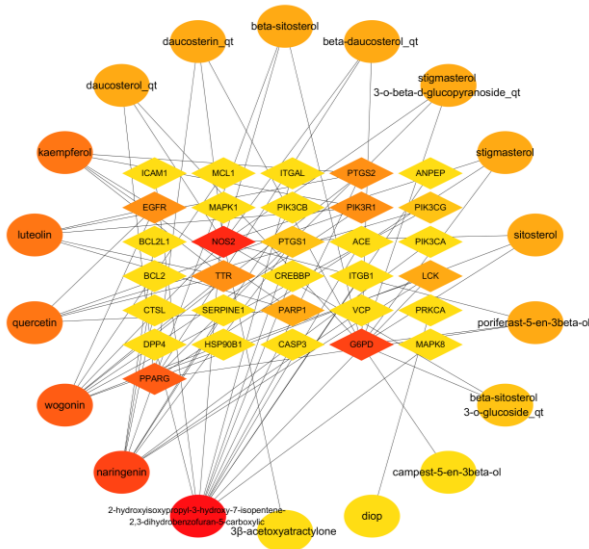


图 4 成分-靶点网络

Fig. 4 Component-target network

分别是丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 (MAPK1)、表皮生长因子受体(EGFR)、凋亡信号分子 3(CASP3)、MAPK8、细胞间黏附分子-1 (ICAM1)，分别与 23、20、19、17、15 个靶点存在相互作用关系。

2.5 KEGG 通路富集分析

KEGG 通路富集分析筛选得到 87 条信号通路 ($P \leq 0.05$)，将 P 值从小到大排前 20 的通路用高级气泡图进行可视化分析，见图 6。

在 20 条通路中，有 10 条与癌症存在直接联系，包括癌症途经、小细胞肺癌、前列腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、癌症中的蛋白多糖、非小细胞肺癌、癌症中的胆碱代谢、癌症中的中心碳代谢、胶质瘤；信号通路有 5 条，包括缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、表皮生长因子受体 (ErbB) 信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶/

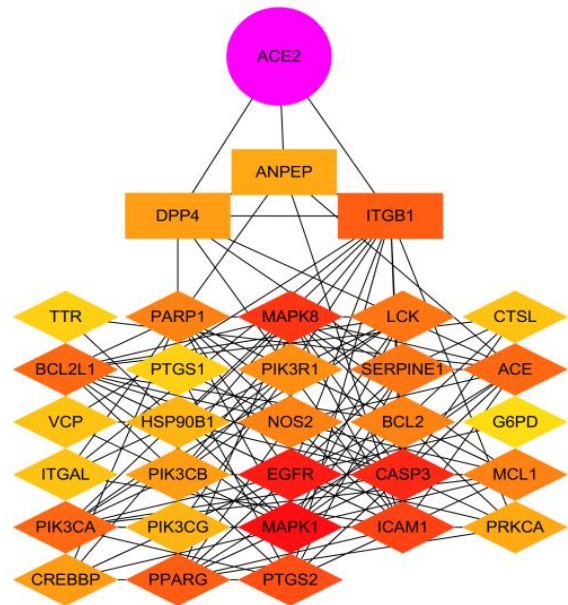


图 5 PPI 网络

Fig. 5 PPI network

蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路、血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路；其余 5 条通路为查加斯病 (美国锥虫病)、乙型肝炎、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、细胞凋亡、黏着斑。

2.6 GO 功能富集分析

GO 功能富集分析共得到了 141 条 $P \leq 0.05$ 的条目，将 P 值从小到大排前 20 的条目用高级气泡图进行可视化分析，见图 6。

在 20 条条目中有生物过程 (BP) 条目 7 条，包括失巢凋亡的负调控、血小板活化、白细胞迁移、调节 PI3K 信号传导、磷脂酰肌醇磷酸化、磷脂酰肌醇介导的信号传导、细胞凋亡过程的负调控；细胞组成 (CC) 条目 5 条，包括 PI3K 复合物、胞质溶胶、细胞外分泌体、膜、膜筏；分子功能 (MF) 条目 8 条，包括磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶活性、蛋白磷酸酶结合、激酶活性、相同的蛋白质结合、蛋白质结合、蛋白质异二聚化活性、BH3 结构域结合、蛋白酶结合。以上 3 类分别占 35%、25%、40%。

2.7 “靶点-HIV 蛋白”网络

在 DAVID 6.8 数据库富集得到了 4 个 HIV 蛋白与 129 个祛湿邪成分预测靶点的相互作用，构建出“靶点-HIV 蛋白”网络，见图 7。网络中共有 133 个节点、242 条线。4 个圆形的节点代表 HIV 蛋白，129 个菱形的节点代表“祛湿邪成分”的预测靶点，242 条线代表靶点与 HIV 蛋白之间的相互作用关系。

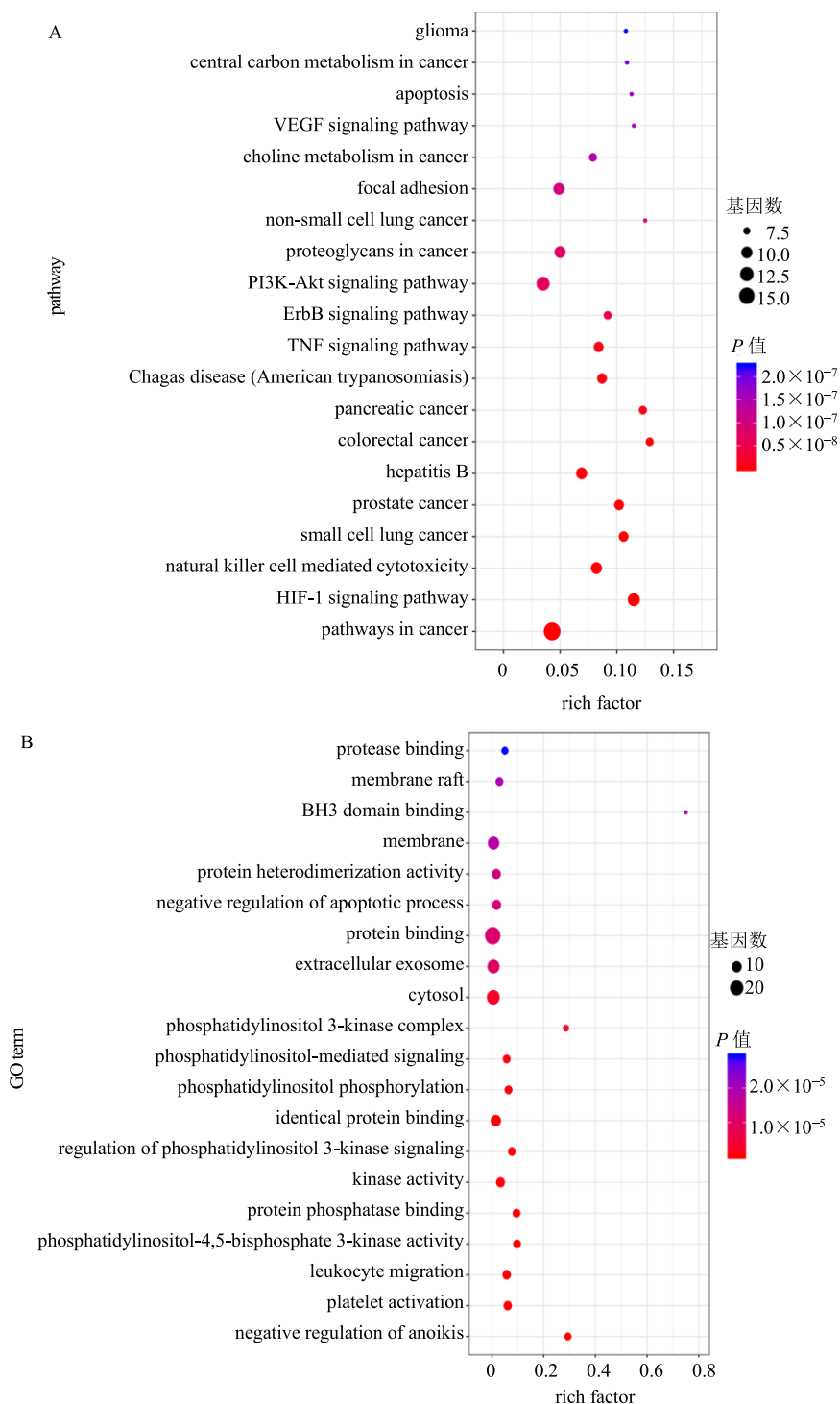


图 6 KEGG 通路 (A) 和 GO (B) 富集分析 (前 20 位)
 Fig. 6 Enrichment analysis of KEGG pathway (A) and GO (B) (top 20)

3 讨论

3.1 祛湿邪成分与湿邪的关联性

在方剂-中药网络中, 4 个方剂共有的苍术辛散苦燥, 长于祛湿, 为祛湿要药^[27], 《珍珠囊》谓: “诸湿肿, 非此不能除”; 《本草正义》曰: “时疫之病多

用之……凡湿困脾阳……非茅术芳香猛烈, 不能开泄, 而痰饮弥漫, 亦非此不化”; 《本草纲目》谓: “张仲景辟一切恶气……陶隐居亦言术能除恶气……病疫及岁旦, 人家往往烧苍术以辟邪气”; 另据统计, 在清代《松峰说疫》65 首避瘟方中涉及的

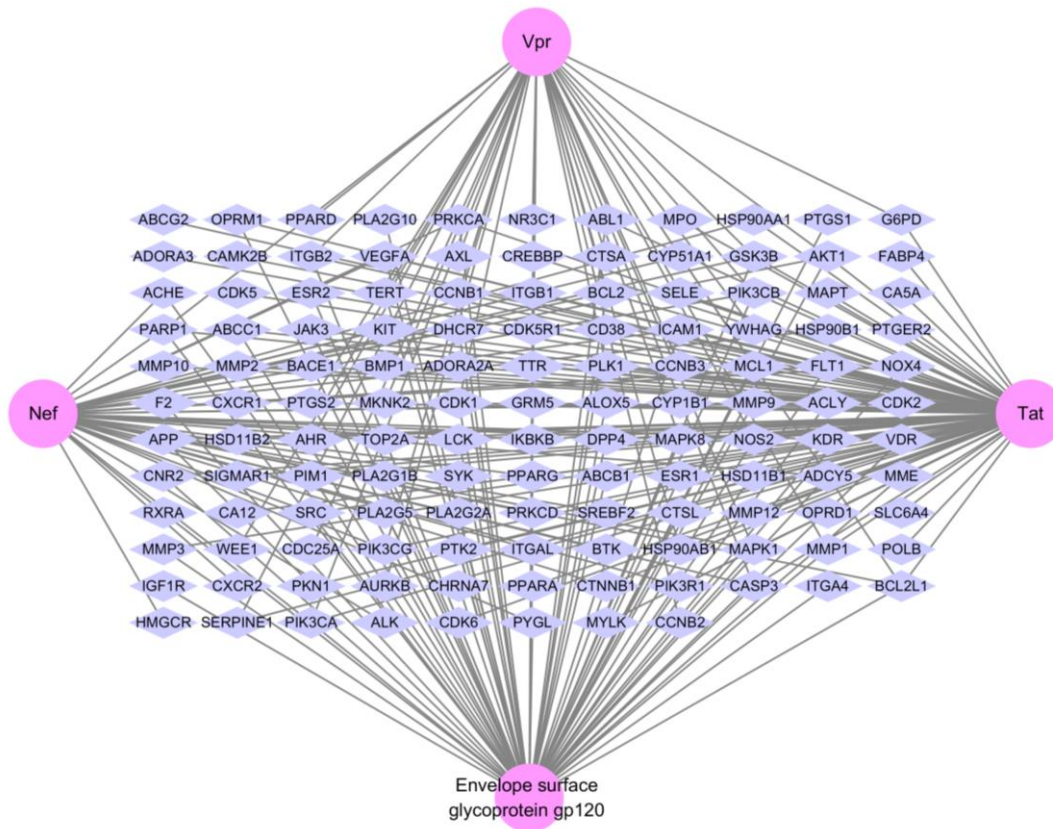


图 7 靶点-HIV 蛋白网络

Fig. 7 Target-HIV virus protein network

116 味中药中，苍术使用频率也排第一。可见，我国历代对“湿邪”和“疫气”的治疗中，苍术都发挥着重要作用。3 个方剂共有的槟榔、厚朴、草果是来源于达原饮的常用药组，能够“开通膜原，祛除秽浊湿”^[12]；广藿香为芳香化湿要药；麻黄虽以发汗解表为主，但又入膀胱经，能宣散水湿，通调水道^[27]。方剂到中药层次的深入，可见 4 个方剂的共有物质对湿邪的针对性越发显著。基于类推的思想，由中药到成分的层次深入，其共有成分也很可能对湿邪有较强的针对性。

从成分-靶点网络的拓扑分析上来看，关键成分中包含的山柰酚、木犀草素、槲皮素、汉黄芩素、柚皮素，广泛出现在抗病毒颗粒、藿香正气口服液、黄连解毒汤、莲花清瘟、黄芩-金银花、达原饮等能有效针对于湿邪的方剂（药对）中^[28-33]，可以与祛湿邪成分针对于湿邪的特性互为印证。

由 KEGG 通路富集分析结果与靶点-HIV 蛋白网络来看，祛湿邪成分与癌症、乙型肝炎、艾滋病等疾病关联密切。中医药理论认为，体内津液输布失常、水湿凝聚而成的“痰”，是癌症形成和发生的

重要病理产物，“痰”本质上也是湿邪，也有“癌多挟湿”的说法，从痰论治癌症是中医药在癌症治疗中的重要治则^[34]。中医药理论对乙型肝炎病机的认知则多是肝胆湿热、肝郁脾虚^[35]。艾滋病患者最常见的肢体倦怠、头身困重、神疲、咳痰、口味异常、消瘦等症状均与湿邪联系密切；湿困于肢体则见倦怠、困重；湿扰清阳可发神疲；湿热煎熬成痰，驻于肺脏引发咳嗽、咯痰；湿遏脾阳，脾胃功能失健，则见食少纳呆、泄泻消瘦等^[36-39]。可见癌症、乙型肝炎、艾滋病与湿邪均有较大关联，从祛湿邪成分与相关疾病的关系上，也可以看出其与湿邪的关联性。

此外，综合 KEGG 通路与 GO 功能富集分析的结果，可以推测磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶(PI3K-Akt)信号通路在祛湿邪成分对 COVID-19 的治疗过程中发挥了较为重要的作用。这与其他研究基于网络证候学的方法，以冠心病痰瘀互结证为代表性证候，预测出痰瘀互结证的生物学基础以 PI3K-Akt 信号通路为核心^[40]的结果相契合，可以互为印证。

综上所述，本研究认为祛湿邪成分对湿邪有较强的针对性。

3.2 中医药以湿邪为切入点治疗 COVID-19 的作用机制与思考

通过成分-靶点网络的拓扑学分析筛选出的关键成分中,槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、木犀草素、柚皮素也频繁出现在其他能有效治疗 COVID-19 的方剂(药对)关键成分当中。结合相关研究,可以发现它们与 SARS-CoV-2 的 3CL 水解酶的自由结合能都小于 -20 kJ/mol ,结合性较好。其中,山柰酚、木犀草素、槲皮素与 ACE2 受体的自由结合能均小于 -35 kJ/mol ,结合性优越。这些化合物在治疗 COVID-19 的过程中主要起到抗炎症、抗病毒、调节免疫系统等作用^[28-33]。

相比于这 5 个成分,成分-靶点网络中度值最高的为 2-羟基异氧丙基-3-羟基-7-异戊烯-2,3-二氢苯并呋喃-5-羧酸,目前其有关活性研究的报道较少。本研究结果显示,其作用的治疗靶点更多,其中 MAPK1、CASP3、MAPK8、ICAM1 都属于 PPI 网络中的关键靶点,同时其可作用于与 ACE2 受体有动态平衡关系的 ACE 受体,这表明其在 COVID-19 的治疗过程中可能发挥着较为重要的作用。该成分在本研究中仅存在于苍术中,而苍术不仅在治疗 COVID-19 的 4 个推荐处方中居于核心位置,在治疗 SARS 的过程中也发挥着重要的作用^[41]。推测该成分可能是苍术治疗由 ACE2 入侵的病毒所引发疾病的有效成分之一,具有较高的药用潜力。

由 PPI 网络拓扑分析可知,有 3 个祛湿邪靶点与 ACE2 受体有直接的相互作用,其他靶点也可以通过与这 3 个靶点的相互作用,间接作用于 ACE2 受体。3 个靶点中的整合素 $\beta 1$ (ITGB1) 与 13 个靶点存在相互作用,居于其他靶点间接作用于 ACE2 受体的枢纽地位。ITGB1 是一种特殊的整合素亚型,可以与细胞外基质的整合素受体结合,通过多种途径调节细胞的分化、增殖、侵袭和生存等功能^[42],与其存在关联的成分也是 2-羟基异氧丙基-3-羟基-7-异戊烯-2,3-二氢苯并呋喃-5-羧酸。

KEGG 通路富集分析的结果显示,祛湿邪成分与小细胞肺癌通路和非小细胞肺癌通路关联密切,提示其作用器官可能主要集中于肺部。TNF 信号通路和 VEGF 信号通路主要作用于 COVID-19 在免疫反应和炎症风暴中被激活的细胞因子,抑制活化的细胞因子,缓和免疫反应,消除炎症^[43]。HIF-1 信号通路在抗病毒、介导能量代谢、炎症反应、血管生成以及维持干细胞特性等方面发挥重要作用^[29]。

ErbB 信号通路主要由生长因子跨膜受体组成,参与细胞内外信息的传递,调控细胞增殖、迁移、分化、凋亡等^[44]。PI3K-Akt 信号通路参与细胞炎症反应的调控,可以增加血管通透性,促进炎症细胞浸润、刺激炎症细胞活化,分泌大量炎症因子^[45]。

根据 GO 功能富集分析结果,白细胞迁移、调节 PI3K 信号传导、磷脂酰肌醇磷酸化、磷脂酰肌醇介导的信号传导等条目提示 KEGG 通路富集结果中的 PI3K-Akt 信号通路可能发挥着更为重要的作用;失巢凋亡的负调控、细胞凋亡过程的负调控条目提示对细胞的生物学行为方面以细胞凋亡的负调节为主;血小板活性条目提示了祛湿邪成分可能对 COVID-19 患者肺部的损伤或血栓等^[46]有一定改善;细胞外分泌体、膜、膜筏条目提示了祛湿邪成分对免疫系统的调节可能主要由调控信息转导来实现^[47-49]。

综上所述,中医药基于“湿邪”论治 COVID-19 的作用机制可能包括抗病毒、抗炎症、调控免疫系统、负向调节宿主细胞凋亡、消血栓、修复肺部损伤等。

结合对湿邪的现代化研究来看,湿邪在细胞分子层次上的本质与病毒侵入、免疫异常、炎症等均关联密切^[50-54]。祛湿邪成分通过抗病毒作用治疗 COVID-19 与《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第四版)》中提到的“可试用抗病毒药物洛匹那韦-利托那韦作为新冠病毒病的一般治疗药物”相呼应。从中医角度看,祛湿邪成分和洛匹那韦-利托那韦对艾滋病、COVID-19 等病毒入侵所导致疾病的治疗作用,是因其证候都与湿邪相关。有研究指出湿邪导致的免疫功能障碍可能主要与识别途径相关^[50],所以祛湿邪成分主要通过调控信息转导来调节免疫系统,具有较好的针对性。湿邪常会表现出炎症反应和炎症细胞的组织浸润,痰湿体质人群往往存在炎症细胞因子的高表达^[51-54],祛湿邪成分抗炎症的作用机制契合于湿邪的本质。可见,结合本研究的结果与中医药理论的现代研究可以较好地解释中医药基于湿邪治疗 COVID-19 临床疗效显著的原因。

4 结语

本研究以《第七版》中治疗轻型和普通型阶段的 4 个方剂为切入点,应用网络药理学的方法对各方中成分的交集为祛湿邪成分的假设进行论证,并从分子水平阐述了“祛湿邪”多成分、多靶点对机体的整体调控,为中医药基于湿邪治疗 COVID-19 提供了进一步的科学依据。

参考文献

- [1] Zhu N, Zhang D, Wang W, *et al.* A Novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. *N Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- [2] 伏籽桥, 刘焱斌, 尹万红, 等. 关于呼吸道新型冠状病毒感染疾病名称及临床诊断的思考 [J/OL]. 中国呼吸与危重监护杂志, [2020-02-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1631.R.20200210.2248.004.html>.
- [3] 李晓宇, 谢立科, 郝晓凤, 等. 中医药诊治新型冠状病毒肺炎研究进展 [J/OL]. 世界中医药, [2020-02-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20200311.0858.003.html>.
- [4] 国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知 [EB/OL]. [2020-03-04]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [5] 韩明慧, 方虹霁, 杨东见, 等. 国外新型冠状病毒肺炎发病的现状和趋势分析 [J/OL]. 上海预防医学, [2020-02-25]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1635.R.20200225.0951.002.html>.
- [6] 江泳. 中医疫病概念考 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(10): 1060-1062.
- [7] 魏士雄, 王平. 从新型冠状病毒肺炎疫情中探讨中医药的一定优势和价值 [J]. 陕西中医, 2020, 41(3): 287-289.
- [8] 于明坤, 柴倩云, 梁昌昊, 等. 新型冠状病毒肺炎中医预防及诊疗方案汇总分析 [J]. 中医杂志, 2020, 61(5): 383-387.
- [9] 王登, 闫抗抗, 曹青, 等. 基于数据挖掘各地区中医药预防新型冠状病毒肺炎方案用药规律研究 [J/OL]. 中草药, [2020-02-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.r.20200228.1759.004.html>.
- [10] 顾植山. 五运六气看当前新型冠状病毒肺炎疫情 [J/OL]. 世界中医药, [2020-02-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20200222.2028.004.html>.
- [11] 薛博瑜. 新型冠状病毒肺炎的中医药辨治思路 [J/OL]. 南京中医药大学学报, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1247.R.20200218.0823.002.html>.
- [12] 仝小林, 李修洋, 赵林华, 等. 从“寒湿疫”角度探讨新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中医药防治策略 [J/OL]. 中医杂志, [2020-02-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2166.R.20200217.2034.006.html>.
- [13] 孙增涛, 安兴, 肖玮, 等. 基于分期辨证论治探讨新型冠状病毒感染肺炎 [J/OL]. 陕西中医药大学学报, [2020-02-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1501.R.20200211.1318.002.html>.
- [14] 郑文科, 张俊华, 杨丰文, 等. 中医药防治新型冠状病毒肺炎各地诊疗方案综合分析 [J]. 中医杂志, 2020, 61(4): 277-280.
- [15] 苗青, 丛晓东, 王冰, 等. 新型冠状病毒肺炎的中医认识与思考 [J]. 中医杂志, 2020, 61(4): 286-288.
- [16] 彭延辉, 王雪峰, 韦丹. 初步探讨《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》的中医病机之变化 [J/OL]. 湖北中医药大学学报, [2020-03-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1844.R.20200317.1710.002.html>.
- [17] 娜布其玛, 阿拉坦敖日格乐. 浅谈中医理论之“湿邪” [J]. 北方药学, 2015, 12(4): 134-136.
- [18] 谢菁, 谷浩荣, 贾春华. 从认知语言学角度探讨中医六淫概念隐喻——以湿邪概念为例 [J]. 中医药学报, 2012, 40(3): 3-6.
- [19] 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.
- [20] 邢心睿, 吕狄亚, 柴逸峰, 等. 网络药理学在中药作用机制中的研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2018, 36(2): 5-10.
- [21] 杨亮, 徐娟, 李佳, 等. 新型冠状病毒肺炎中药合理使用专家共识(第一版) [J/OL]. 北京中医药, [2020-04-03]. <http://ffiy208e51c2dd88406685526280e50de659hfcfnfpnb656n95.fffb.suse.cwkeji.cn:999/kcms/detail/11.5635.r.20200302.1603.002.html>.
- [22] 李青雅, 许前磊, 许向前, 等. 再谈中医药防治HIV/AIDS的特色与优势 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(11): 2748-2751.
- [23] 翟理祥. “焦三仙”炮制与功效关系浅析 [J]. 时珍国药研究, 1997(5): 65-66.
- [24] 陈铭泰, 肖娇, 林海丹, 等. 基于网络药理学探讨逍遥散对动脉粥样硬化和抑郁症“异病同治”的作用机制 [J/OL]. 中国中药杂志, [2020-02-29]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20200227.401>.
- [25] 许冬玉, 许玉龙, 王至婉, 等. 基于网络药理学研究清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制 [J/OL]. 中药药理与临床, [2020-03-05]. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyy1.20200305.001>.
- [26] 廖源, 吴建华, 马丽娟, 等. 基于网络药理学的前期诊疗方干预新型冠状病毒肺炎作用机制研究 [J/OL]. 中草药, [2020-03-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20200317.1520.005.html>.
- [27] 钟麟生. 中药学 [M]. 第4版. 北京: 中国中医药出版社, 2016.
- [28] 姚运秀, 贺桢翔, 刘晓凤, 等. 基于网络药理学和分子对接技术的抗病毒颗粒治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的潜在物质基础研究 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1386-1396.
- [29] 王林, 杨志华, 张浩然, 等. 莲花清瘟治疗新型冠状病毒(2019-nCoV)肺炎网络药理学研究与初证 [J/OL]. 中草药, [2020-02-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.r.20200228.1759.004.html>.

- 1286.R.20200228.1820.006.html.
- [30] 黄浪浪, 王建安, 徐 骐, 等. 基于网络药理学的黄连解毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制研究 [J/OL]. 中药材, [2020-02-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.R.20200228.1830.008.html>.
- [31] 刘 嘉, 严宝飞, 曾明月, 等. 黄芩-金银花药对治疗新型冠状病毒肺炎潜在作用机制的网络药理学研究 [J/OL]. 世界中医药, [2020-02-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.r.20200228.1212.004.html>.
- [32] 宗 阳, 丁美林, 贾可可, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻达原饮治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物的研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 836-844.
- [33] 邓燕君, 刘博文, 贺楨翔, 等. 基于网络药理学和分子对接法探索藿香正气口服液预防新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 活性化合物研究 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1113-1122.
- [34] 熊襄波, 郭红梅. 癌症的中医辨证论治与拟方施药 [J]. 吉林中医药, 2013, 33(5): 469-470.
- [35] 叶永安, 田德禄, 蒋 健, 等. 1003 例慢性乙型肝炎 (ALT \geq 2 \times ULN) 患者中医常见症状及证候分布特点研究 [J]. 世界中医药, 2015, 10(9): 1293-1298.
- [36] 高海滨, 阮庆婷, 唐蓓蓓, 等. “脾恶湿”理论治疗艾滋病临床探讨 [J]. 中医学报, 2019, 34(8): 1602-1605.
- [37] 李青雅, 许前磊, 许向前, 等. 再谈中医药防治 HIV/AIDS 的特色与优势 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(11): 2748-2751.
- [38] 李 正, 徐立然, 郑志攀, 等. 艾滋病中医病因、病机、病性、病位相关文献分析 [J]. 中医学报, 2014, 29(1): 1-3.
- [39] 张海燕, 彭 勃, 谢世平, 等. 艾滋病“艾毒伤元”发病机制中湿邪作用的探讨 [J]. 世界中医药, 2014, 9(5): 568-570.
- [40] 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.
- [41] 李衍达, 张文晋, 赵振宇, 等. 中医诊治 SARS 的经验对新型冠状病毒肺炎的启示 [J/OL]. 天津中医药, [2020-02-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1349.R.20200227.0909.006.html>.
- [42] 刘启志. SPARC 和 ITGB1 基因在结直肠癌的表达及与临床预后的关系 [D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
- [43] 赵 静, 田赛赛, 杨 健, 等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 829-835.
- [44] 贾海涛. Sox2、Pax6 对 ErbB 家族基因调控机制的研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2011.
- [45] 杨延龙, 涂明利, 谢明水. PI3K 抑制剂对甲型流感病毒 FM1 感染诱导病毒性肺炎小鼠肺组织中 NO 生成及炎症反应的影响 [J]. 病毒学报, 2019, 35(5): 713-720.
- [46] 周 娟, 李 丹, 龙云铸. 新型冠状病毒 (2019-nCoV) 相关研究进展 [J/OL]. 中国感染控制杂志, [2020-03-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1390.R.20200303.1045.010.html>.
- [47] 孙 鹏. 炎症反应与白细胞迁移 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(346): 243-245.
- [48] 卢义钦. 介绍一个生物化学新词: 膜筏 [J]. 科技术语研究, 2003, 5(4): 37-39.
- [49] 管明秀, 张文成, 李 铮, 等. 外泌体在肿瘤诊疗中的研究进展 [J]. 中国现代医学杂志, [2020-02-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1225.R.20200227.1149.014.html>.
- [50] 项 婷, 张诗军. 湿邪致病免疫机理研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(21): 25-26.
- [51] 郑璐玉. 痰湿体质人群炎症相关机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [52] 李 艳, 严 灿. 湿的实质探讨 [J]. 云南中医学院学报, 2000, 23(3): 32-35.
- [53] 张丽君, 彭广华, 贺新怀. 湿邪病理实质探微 [J]. 实用医技杂志, 2008, 15(23): 3153-3155.
- [54] 汪海东, 吴 晴, 王秀薇, 等. 中医湿病的现代认识 [J]. 中医杂志, 2015, 56(13): 1089-1092.