

基于网络药理学的丹参治疗肝硬化的机制研究

陈红旋¹, 胡敬宝², 张琳琳³, 陈柏书², 鲁艳平², 杨从意², 陈慧基², 刘茜茜², 李 舒², 尹建平^{2*}

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学附属深圳市宝安中医院(集团), 广东 深圳 518101

3. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510405

摘要: **目的** 利用网络药理学的方法, 探索丹参治疗肝硬化的可能作用机制。**方法** 通过 TCMSP 数据库得出丹参的活性成分, 再利用 GeneCards、OMIM 数据库以及 DRAR-CPI 服务器筛选丹参的活性成分治疗肝硬化的潜在作用靶点, 进而用 Cytoscape 3.6.0 软件构建丹参的化合物-靶点网络图。通过 STRING 数据库和 Cytoscape 3.6.0 软件的 Generate style from statistics 工具, 筛选并构建疾病靶点相互作用网络。采用 Systems Dock Web Site 网络服务器与丹参的活性成分进行分子对接。利用 DAVID 数据库对丹参的作用靶点进行 GO 分类富集分析和 KEGG 通路富集分析。**结果** 选择口服生物利用度(OB)≥30% 和类药性(DL)≥0.18 作为化合物分子的筛选条件, 从丹参中筛选出活性成分 65 个, 作用靶标 75 个。丹参治疗肝硬化主要涉及 MAPK、Toll-like receptor, Gap junction、PI3K/Akt、Natural killer cell mediated cytotoxicity 等信号通路。**结论** 应用网络药理学的方法预测出丹参治疗肝硬化的可能作用机制, 为其进一步研究提供新的思路与线索。

关键词: 丹参; 肝硬化; 网络药理学; 活性成分; 分子对接

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)15-3968-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.016

Exploration on mechanisms of *Salvia miltiorrhiza* in treating cirrhosis based on network pharmacology

CHEN Hong-xuan¹, HU Jing-bao², ZHANG Lin-lin³, CHEN Bai-shu², LU Yan-ping², YANG Cong-yi²,
CHEN Hui-ji², LIU Qian-qian², LI Shu², YIN Jian-ping²

1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

2. Shenzhen Baoan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518101, China

3. The Second Clinical College of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China

Abstract: **Objective** Network pharmacology method was adopted in this study to explore the active compounds and mechanism of *Salvia miltiorrhiza* for cirrhosis. **Methods** TCMSP database was utilized to obtain the active components of *S. miltiorrhiza*. Through GeneCards, OMIM and DRAR-CPI, the potential targets of *S. miltiorrhiza* for the treatment of cirrhosis were screened. Cytoscape 3.6.0 software was established to construct the active components-targets network of *S. miltiorrhiza*. STRING database and Generate style from statistics of Cytoscape 3.6.0 software were conducted to draw a graph of protein interaction network. Molecular docking was carried out through Systems Dock Web Site with the active components of *S. miltiorrhiza*. The GO classified enrichment analysis and the KEGG pathway enrichment analysis were performed by using DAVID database. **Results** Selecting the OB ≥ 30% and DL ≥ 0.18 as filter condition, 65 active components and 75 targets of *S. miltiorrhiza* were involved. *S. miltiorrhiza* exerted its effects on treating cirrhosis mainly by regulating signaling pathways including MAPK, Toll-like receptor, Gap junction, PI3K/AKT, Natural killer cell mediated cytotoxicity signaling pathway and so on. **Conclusion** This study preliminarily predicted the major targets and pathways of *S. miltiorrhiza* acting on cirrhosis, which provided new ideas and clues for its further research.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; cirrhosis; network pharmacology; active components; molecular docking

肝硬化(cirrhosis)是指肝脏组织病理学改变所 清白蛋白降低、胆碱酯酶活力降低、胆红素升高、
导致的慢性进行性肝病,临床表现为肝功能衰竭(血 凝血酶原时间延长等)和门脉高压症(食管胃底静

收稿日期: 2019-12-29

作者简介: 陈红旋, 同等学力申请硕士学位, 研究方向为中医药治疗内科疾病。E-mail: 467398705@qq.com

*通信作者 尹建平, 主任医师, 研究方向为中医药及外治法在治未病领域的应用。E-mail: Taige57@163.com

脉曲张及其破裂出血、腹水、自发性细菌性腹膜炎及肝肾综合征、肝性脑病等)^[1]。肝硬化的并发症包括原发性肝癌、自发性腹膜炎、肝性脑病等,对患者的家庭与生活造成了严重的影响^[2]。目前肝硬化的主流治疗方法为病因治疗、抗纤维治疗、营养支持治疗和对症治疗,但西医对该病仍未取得理想的治疗效果且复发率高,而中医从整体观念辨证论治和特色治疗出发,取得了一定的疗效^[3-4]。

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎,具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈之功效。《本草纲目》记载丹参可“活血,通心包络,治疝痛”。现代药理学研究表明,丹参主要有脂溶性和水溶性 2 类成分,脂溶性成分有丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹参酮 II_B、隐丹参酮等;水溶性成分有原儿茶醛、丹参素(丹参酸甲)、丹参酸乙、镁-丹参酚性酸 B(LSA-B)等^[5-6]。最新研究^[7]表明丹参多酚酸盐降低肝硬化大鼠死亡率,改善肝硬化大鼠肝组织炎症程度,抑制肝组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)mRNA 表达。但相关理论仍未形成共识,需要对其相关的机制进行进一步的理论探讨。

网络药理学融合多学科的技术和内容,通过“疾病-表型-基因-药物”多层次网络的构建,从整体的角度探索中药与疾病之间的关联性,具有整体性、系统性的特点,与中医药整体观与辨证论治的原则不谋而合^[8-10],为进一步研究丹参治疗肝硬化的作用机制提供新的思路与方法。

1 材料与方法

1.1 丹参活性成分的获取

在 TCMSP 平台(<http://lsp.nwu.edu.cn/>)以“丹参”为关键词搜索其活性成分,并设置口服生物利用度(OB)和类药性(DL)进行活性成分的筛选。OB 是指药物进入循环系统的程度和速度,是客观评价药物内在质量的重要指标。DL 指化合物与已知药物的相似性,有助于优化药物代谢动力学和药物特性^[11]。本研究在参考文献报道^[12]的基础上,设置 OB $\geq 30\%$ 且 DL ≥ 0.18 ,筛选丹参活性成分。

1.2 丹参治疗肝硬化潜在靶标基因的获取

通过 Pubchem 数据库获取丹参活性分子的 3D 结构,以 sdf 格式保存。再将其上传至 DRAR-CPI 服务器(<http://cpi.bio-x.cn/drar/>),利用分子反向对接方法,对活性成分和蛋白相互作用的亲和力进行打分^[13],设定 Z-score < -0.5 的蛋白作为丹参活性分

子的潜在靶标。然后通过 UniPort 数据库(<https://www.uniprot.org/>),以相关靶标名为关键词,限定物种为“human(人)”,获取相关靶标的基因名。在 Genecards(<https://www.genecards.org/>)平台上以“cirrhosis”或“LC”为关键词检索肝硬化的相关基因。再通过与丹参活性成分相关靶标的基因名对比,筛选出丹参治疗肝硬化的潜在靶标基因。

1.3 成分-靶标作用网络的构建与分析

将丹参的活性成分和治疗肝硬化的潜在靶标基因输入 Cytoscape 3.6.0 软件,构建出成分-靶标作用网络。

1.4 潜在靶标相互作用网络的构建与分析

将丹参治疗肝硬化的潜在靶标基因输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)^[14],检索获得靶标之间的相互作用关系。再将其导入 Cytoscape 3.6.0 软件,绘制出靶标相互作用网络,使用 Cytoscape 3.6.0 软件的 NetworkAnalyzer 功能对网络进行分析,根据所得的 degree 值大小调节节点的大小和颜色深浅,获得蛋白相互作用(PPI)网络图。

1.5 分子对接评估结合潜力

分子对接是通过电脑模拟将配体放置于受体的结合区域,通过计算其理化参数从而预测两者的结合亲和性和构象的一种手段。System Dock Web Site 服务器(<http://systemsdock.unit.oist.jp/iddp/home/index>)通过 Docking 评分的分子对接功能评估配体-受体的结合潜力^[15]。基于上述靶标相互作用网络,挑选出 degree 值最大的 5 个靶标,并将其导入 System Dock Web Site 服务器,与丹参的活性成分进行分子对接,得出结果,通过分析 Docking Score 值的大小,评价丹参活性成分与靶标之间的结合潜力。

1.6 GO 分析和 KEGG 通路富集分析

DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库为大量的基因或蛋白提供系统全面的生物功能注释信息,并能找出最显著富集的生物学注释^[16]。选择 DAVID 数据库的 Gene Functional Classification 功能,导入丹参治疗肝硬化的潜在靶标,设置 Select Identifier 为“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”,设置 List Type 为“Gene List”,提交数据,进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析,得到并保存结果。以 $P < 0.001$ 为筛选条件,并根据富集基因数的大小,由大到小进行排序,筛选出排名前 20 的通路。使用 OmicShare 网站(<http://www.omicshare.com/>)绘制通路信息的气泡图。

1.7 成分-靶标-通路网络的构建

筛选出 KEGG 通路富集分析中基因富集数量前 20 的通路,通过查阅文献,再筛选出可能与治疗肝硬化有关的通路,找出富集在这些通路上的丹参治疗肝硬化的潜在靶标,并找出对应的活性成分。将成分、靶标、通路输入 Cytoscape 3.6.0 软件,绘制出成分-靶标-通路网络图。

2 结果

2.1 丹参活性成分分析

以 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件,在 TCMSP 平台中共筛选得到丹参的活性成分 65 个(表 1),包括 α -香树精(α -amyrin)、丹参酮 II_A(tanshinone II_A)、丹参酮 VI(tanshinone VI)、丹参二醇 B(tanshindiol B)、丹参醛(tanshinaldehyde)等。

表 1 丹参活性成分

Table 1 Active components in *S. miltiorrhiza*

编号	化合物	OB/%	DL
1	α -香树精(α -amyrin)	39.51	0.76
2	丹参酮 II _A (tanshinone II _A)	49.89	0.40
3	丹参酮 VI(tanshinone VI)	45.64	0.30
4	丹参二醇 B(tanshindiol B)	42.67	0.45
5	丹参醛(tanshinaldehyde)	52.47	0.45
6	柳杉酚(sugiol)	36.11	0.28
7	香紫苏醇(sclareol)	43.67	0.21
8	鼠尾草酚酮(salviolone)	31.72	0.24
9	鼠尾酮 I(salvilenone I)	32.43	0.23
10	鼠尾酮(salvilenone)	30.38	0.38
11	丹酚酸 j(salvianolic acid j)	43.38	0.72
12	丹酚酸 g(salvianolic acid g)	45.56	0.61
13	紫丹参素 f(przewaquinone f)	40.31	0.46
14	紫丹参素 E(przewaquinone E)	42.85	0.45
15	紫丹参素 c(przewaquinone c)	55.74	0.40
16	紫丹参素 B(przewaquinone B)	62.24	0.41
17	紫丹参萜醚 b(przewalskin b)	110.32	0.44
18	紫丹参萜醚 a(przewalskin a)	37.11	0.65
19	原紫草酸(prolithospermic acid)	64.37	0.31
20	多孔甾醇(poriferasterol)	43.83	0.76
21	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75
22	NSC 122421	34.49	0.28
23	新隐丹参酮 II(neocryptotanshinone II)	39.46	0.23
24	新隐丹参酮(neocryptotanshinone)	52.49	0.32
25	丹参新酮 II(miltirone II)	44.95	0.24
26	丹参新酮(miltirone)	38.76	0.25
27	丹参环庚三烯酚酮(miltipolone)	36.56	0.37
28	丹参醌新酮 II(miltionone II)	71.03	0.44
29	丹参醌新酮 I(miltionone I)	49.68	0.32
30	microstegiol	39.61	0.28
31	亚甲基丹参醌(methylenetanshinquinone)	37.07	0.36
32	泪杉醇(manool)	45.04	0.20
33	木犀草素(luteolin)	36.16	0.25
34	异丹参酮 II(isotanshinone II)	49.92	0.40
35	异欧前胡素(isoimperatorin)	45.46	0.23
36	异隐丹参酮(isocryptotanshinone)	54.98	0.39

续表 1

编号	化合物	OB/%	DL
37	醛基丹参酮 (formyltanshinone)	73.44	0.42
38	表丹参螺缩酮内酯 (epidanshenspiroketallactone)	68.27	0.31
39	二氢丹参酮 I (dihydrotanshinone I)	45.04	0.36
40	二氢丹参内酯 (dihydrotanshinlactone)	38.68	0.32
41	digallate	61.85	0.26
42	脱氧基新隐丹参酮 (deoxyneocryptotanshinone)	49.40	0.29
43	去氢丹参酮 II _A (dehydrotanshinone II _A)	43.76	0.40
44	丹参新醌 (dan-shexinkum d)	38.88	0.55
45	丹参螺缩酮内酯 (danshenspiroketallactone)	50.43	0.31
46	丹参醇 B (danshenol B)	57.95	0.56
47	丹参醇 A (danshenol A)	56.97	0.52
48	隐丹参酮 (cryptotanshinone)	52.34	0.40
49	C09092	36.07	0.25
50	黄芩苷 (baicalin)	40.12	0.75
51	山梔苷甲酯 (6- <i>O</i> -syringyl-8- <i>O</i> -acetyl shanzhiside methyl ester (D1))	46.69	0.71
52	5-6-二羟基-7-异丙基-1,1-二甲基-2-3-二氢菲-4-酮 (5,6-dihydroxy-7-isopropyl-1,1-dimethyl-2,3-dihydrophenanthren-4-one (D2))	33.77	0.29
53	4-亚甲丹参新酮 (4-methylenemiltirone (D3))	34.35	0.23
54	3 α -羟基丹参酮 II _A (3 α -hydroxytanshinone II _A (D4))	44.93	0.44
55	3- β -羟基亚甲基丹参酮 (3-beta-hydroxymethylenetanshinone (D5))	32.16	0.41
56	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮 (2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione (D6))	40.86	0.23
57	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde (D7)	62.78	0.40
58	1-methyl-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho [5,6- <i>g</i>] benzofuran-6,10,11-trione (D8)	34.72	0.37
59	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone (D9)	38.75	0.36
60	(<i>Z</i>)-3-[2-[(<i>E</i>)-2-(3,4-dihydroxyphenyl) vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl] acrylic acid (D10)	88.54	0.26
61	(<i>E</i>)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl] acrylic acid (D11)	48.24	0.31
62	(6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-6,7-dihydroxy-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho [8,7- <i>g</i>] benzofuran-10,11- dione (D12)	41.31	0.45
63	(6 <i>S</i>)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho [8,7- <i>g</i>] benzofuran-10,11-quinone (D13)	75.39	0.46
64	(6 <i>S</i>)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7 <i>H</i> -naphtho [8,7- <i>g</i>] benzofuran-10,11-dione (D14)	65.26	0.45
65	(2 <i>R</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(<i>Z</i>)-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acryloyl] oxy-propionic acid (D15)	109.38	0.35

2.2 潜在靶标预测

通过 DRAR-CPI 服务器获得丹参活性分子对应的潜在靶标并通过 UniPort 数据库查询潜在靶标的对应基因。通过 Gene cards 数据库检索到与肝硬化相关的基因。将丹参潜在靶标的基因与肝硬化相关基因取交集,筛选出丹参可能作用于肝硬化的潜在靶标 75 个(表 2),主要有 CXCL10、FGA、PDGFB、AFP、AHSG、SERPINA1 等。

2.3 成分-靶标网络构建

将丹参活性成分和治疗肝硬化的相关靶标录入 Cytoscape 3.6.0 软件中,构建丹参治疗肝硬化的成分-靶标网络(图 1)。网络图包含节点 140 个,边线 511 条。由成分-靶标网络可知,丹参治疗肝硬化并非单一成分或单一靶标的作用,而是多成分、

多靶标的联合作用。

2.4 潜在靶标 PPI 网络的构建

从 STRING 数据库中获得丹参治疗肝硬化的潜在靶标的相互关系,将所得结果导入 Cytoscape 3.6.0 软件,绘制潜在 PPI 网络(图 2)。网络图包含节点 75 个。节点大小和颜色深浅反映度(degree)值的大小。通过比较度值的大小,推测 SERPINA1、CXCL10、SERPINC1、FGA、PDGFB 这 5 个靶标与丹参治疗肝硬化关系最密切。

2.5 分子对接结果

将预测与丹参治疗肝硬化关系最密切的 5 个靶标录入 System Dock Web Site 服务器,与丹参的 65 个活性分子进行分子对接。由结果可知(图 3), Docking Score 值>7 的活性成分共有 27 个,5<

表 2 丹参潜在靶标信息

Table 2 Information of candidate targets of *S. miltiorrhiza*

编号	靶点	编号	靶点	编号	靶点
1	GH1	26	PDGFRA	51	CDK4
2	GHR	27	SREBF1	52	SST
3	CDK1	28	FASN	53	AGTR1
4	FOXO1	29	GSTP1	54	ENG
5	HFE	30	CYP2E1	55	AFP
6	TFRC	31	ADAM17	56	THBD
7	NRAS	32	JAG1	57	VDR
8	RAF1	33	CD36	58	BGLAP
9	AHSG	34	SELP	59	IFNA1
10	APOH	35	IRF7	60	IFNA2
11	WNT1	36	IRF3	61	PLAT
12	AXIN1	37	SERPINA1	62	HP
13	GRB2	38	RPS6KB1	63	CP
14	MET	39	FGFR1	64	TLR9
15	TGFBR1	40	IRF5	65	FAS
16	TGFBR2	41	CYP3A4	66	CASP9
17	CXCL10	42	HAMP	67	ELN
18	CCR5	43	ELANE	68	IGFBP1
19	CXCL1	44	MMP7	69	G6PC
20	CDKN3	45	SCARB2	70	SPIB
21	SERPINC1	46	IGFBP3	71	RETN
22	FGA	47	CTSG	72	IL1A
23	CTGF	48	B2M	73	CTLA4
24	YAP1	49	PRKCB	74	FCGR2A
25	PDGFB	50	IL12RB1	75	VMP1

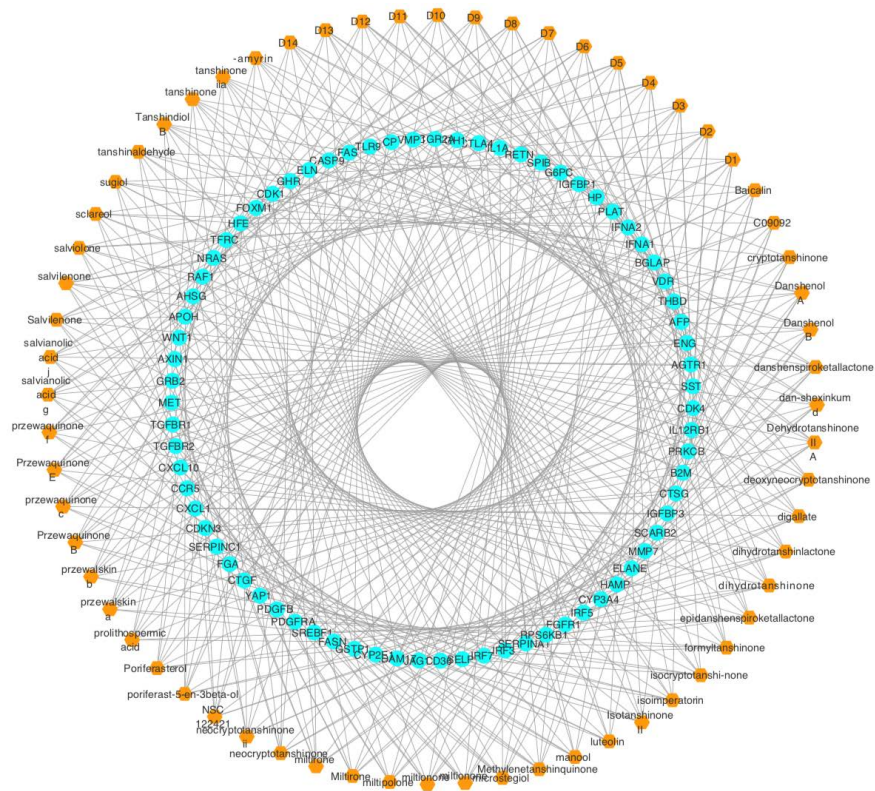


图 1 丹参成分-靶标网络

Fig. 1 Component-target network of *S. miltiorrhiza*

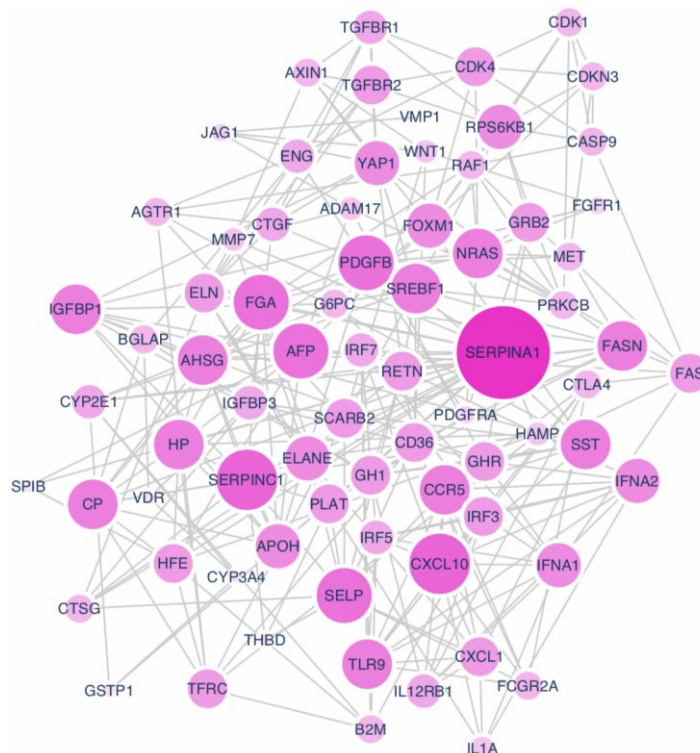


图 2 丹参潜在靶标相互作用网络

Fig. 2 Candidate targets interaction network of *S. miltiorrhiza*

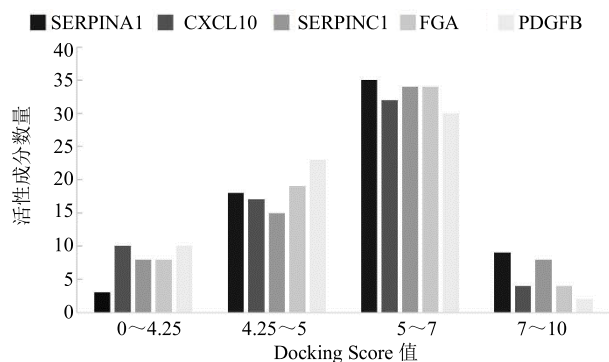


图 3 分子对接 Docking Score 值

Fig. 3 Docking Score of molecular docking

Docking Score 值 < 7 的活性成分有 167 个, 4.25 < Docking Score 值 < 5 的活性成分有 92 个, Docking Score 值 < 4.25 的活性成分有 39 个。Docking Score 值的大小表示活性分子与靶标之间结合力的强弱, 普遍认为 Docking Score 值大于 4.25 表示分子和靶标具有一定的结合能力, 大于 5.0 表示结合能力较强, 大于 7.0 表示结合能力很强。由结果可知, 丹参的活性成分与潜在靶标可紧密结合。

2.6 GO 分析和 KEGG 通路富集分析

对丹参治疗肝硬化的潜在靶标进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析。以 $P < 0.001$ 为筛选条件, 并

根据富集基因数的大小, 由大到小进行排序, 筛选出排名靠前的通路和生物过程。其中 GO 分析可分为细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 和生物过程 (biological process, BP) 3 部分。由 CC 分析 (图 4) 可知富集基因数较大的有 Golgi membrane、extracellular space、plasma membrane、extracellular region 等; 由 MF 分析 (图 5) 可知富集基因数较大的有 protein binding、identical protein binding、heparin binding、protein homodimerization activity 等; 由 BP 分析 (图 6) 可知富集基因数较大的有 cell adhesion、signal transduction、cell chemotaxis、blood coagulation 等。由 KEGG 通路富集分析 (图 7) 可知富集基因数较大的有 PI3K-Akt signaling pathway、Cytokine-cytokine receptor interaction、Hepatitis B、MAPK signaling pathway 等。

2.7 成分-靶标-通路网络的构建

综合 GO 分析和 KEGG 通路富集分析的结果, 分析筛选出可能具有治疗肝硬化作用的通路, 并与丹参活性分子和潜在靶标一一对应, 即通路 with 潜在靶标对应, 潜在靶标与活性成分对应。将相关数据录入 Cytoscape 3.6.0 软件, 构建丹参治疗肝硬化的

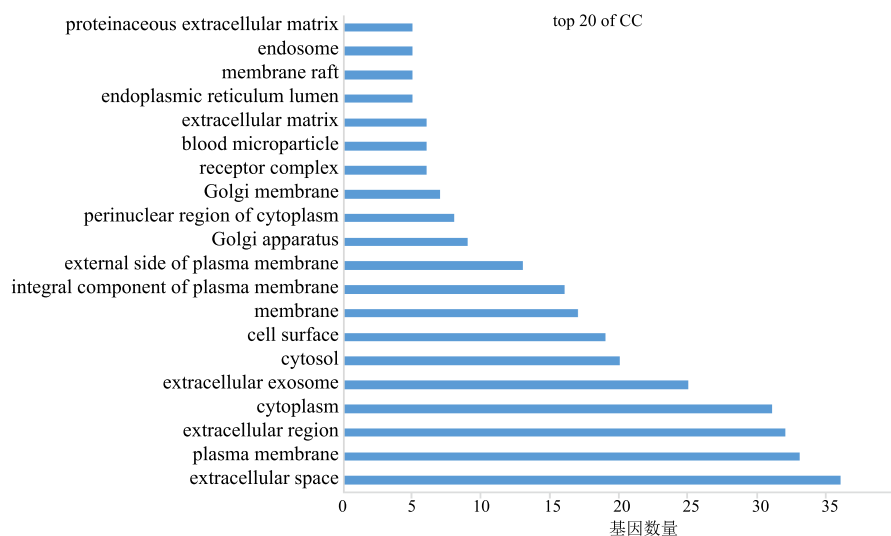


图 4 丹参活性成分潜在靶标 GO 通路富集分析的 CC 分析

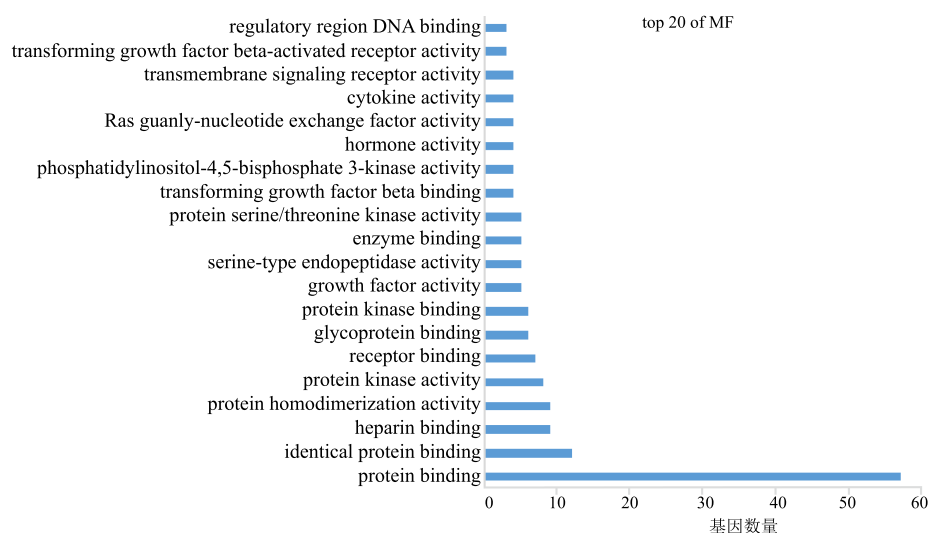
Fig. 4 GO pathway enrichment analysis for cellular components of candidate targets from active components of *S. miltiorrhiza*

图 5 丹参活性成分潜在靶标 GO 通路富集分析的 MF 分析

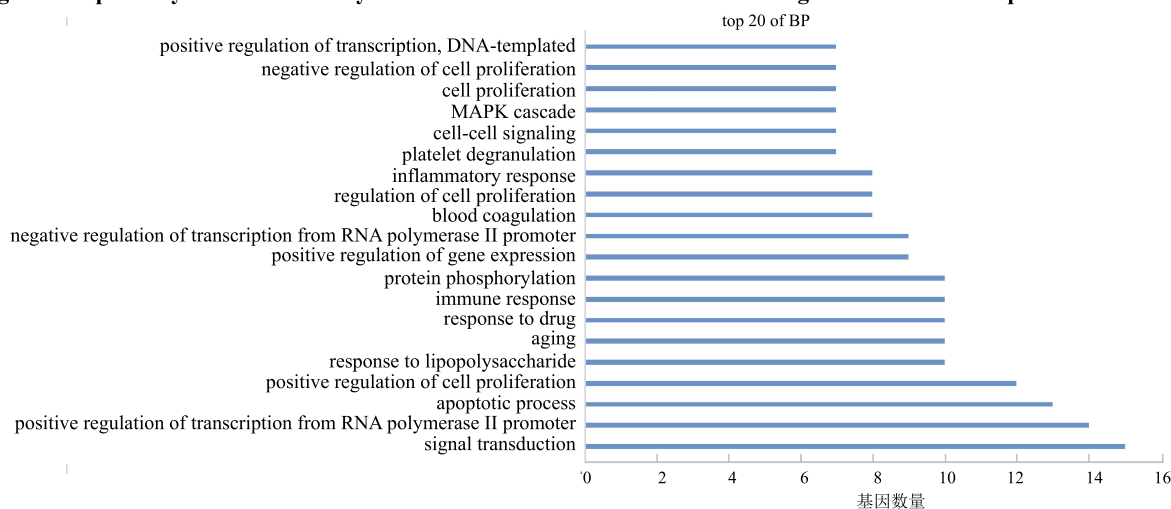
Fig. 5 GO pathway enrichment analysis for molecular function of candidate targets from active components of *S. miltiorrhiza*

图 6 丹参活性成分潜在靶标 GO 通路富集分析的 BP 分析

Fig. 6 GO pathway enrichment analysis for biological processes of candidate targets from active components of *S. miltiorrhiza*

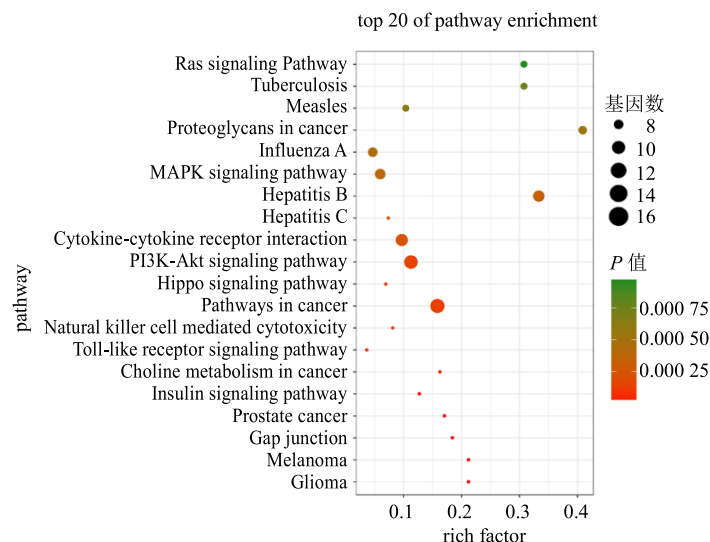


图 7 丹参活性成分潜在靶标的 KEGG 通路富集分析

Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis of candidate targets from active components of *S. miltiorrhiza*

成分-靶标-通路网络(图 8)。网络图包含 81 个节点, 227 条边线, 丹参治疗肝硬化与紫丹参萜醚 b (przewalskin b)、二氢丹参内酯(dihydrotanshinlactone)、丹参醌新酮(miltionone)、丹参螺缩酮内酯(danshenspiroketallactone)、二氢丹参酮(dihydrotanshinone)等 20 个活性成分有关, 与 SERPINA1、CXCL10、FGA、PDGFB 等 56 个靶标有关, 与 MAPK signaling pathway、Toll-like receptor signaling pathway、Gap junction、PI3K-Akt signaling pathway、Natural killer cell mediated cytotoxicity 等 5 条通路有关。

3 讨论

丹参属于活血药, 性苦微寒, 具有活血祛瘀、通经止痛的功效。近些年来以其为主要药物的中药复方在治疗肝硬化方面疗效显著^[17-18]。因此, 研究丹参治疗肝硬化的作用机制尤为重要。

本研究发现, 丹参治疗肝硬化可能涉及 SERPINA1、CXCL10、FGA、PDGFB 等靶标。其中 SERPINA1 参与编码丝氨酸蛋白酶抑制剂 α -1 抗胰蛋白酶 A1AT, 该酶具有降解肝脏内错误折叠的蛋白的功能, 因此该基因水平降低会影响肝脏蛋白质的合成, 进而导致肝硬化等疾病^[19]; CXCL10 与肝

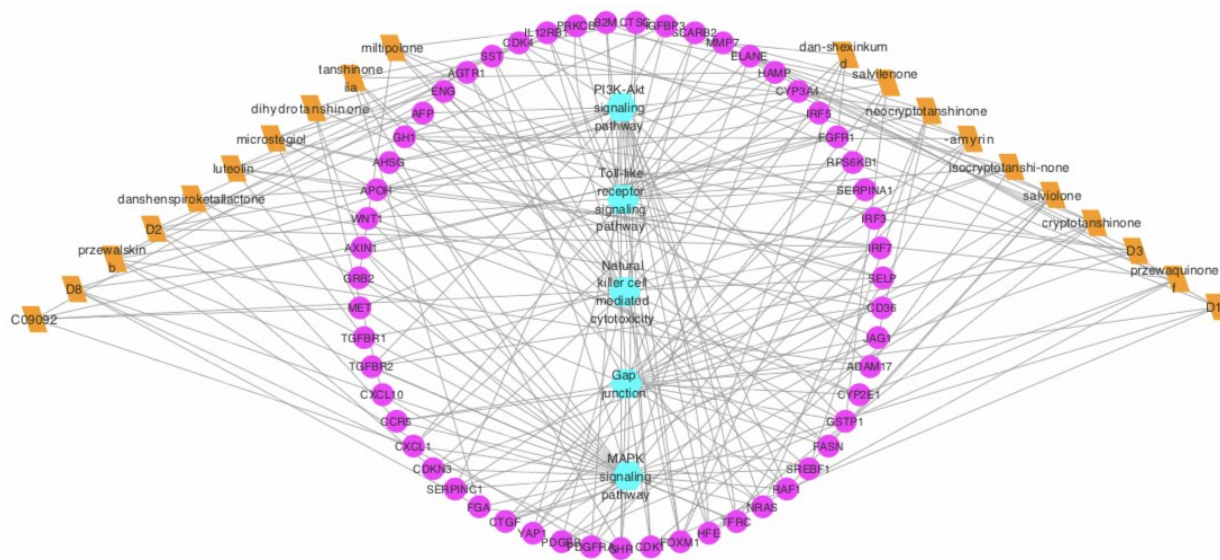


图 8 成分-靶标-通路网络

Fig. 8 “Components-targets-pathways” network

脏的炎症反应密切相关,可能在介导肝炎后肝硬化的过程中起重要作用^[20];FGA 参与肝脏纤维蛋白的合成,可能对肝脏病变后期出现的凝血障碍起到调节作用^[21];PDGFB 是一种血小板衍生生长因子,其基因表达增加可能参与抑制肝纤维化早期发作^[22]。肝纤维化是肝硬化的病理基础,早期通过防治肝纤维化,可以有效防止肝硬化的发生^[23]。上述 4 种靶标可能通过影响肝脏纤维蛋白的生成或者介导炎症反应等,起到防治肝硬化的作用,是丹参治疗肝硬化的重要靶标。

本研究将丹参治疗肝硬化的潜在靶标进行 KEGG 通路富集分析,筛选得到与肝硬化密切相关的信号通路,如 MAPK、Toll-like receptor、Gap junction、PI3K/Akt、Natural killer cell mediated cytotoxicity 等信号通路。这些信号通路与细胞凋亡、炎症免疫应答和抑制肝纤维化发展密切相关。MAPK 信号通路可以调控细胞的凋亡,保护肝脏细胞^[24]。Toll 样受体 (TLR) 能够识别内源性与外源性“危险分子”,启动炎症免疫应答,是慢性肝病发生与发展的关键。Roh 等^[25]通过研究发现,从肝脏受损细胞释放的肠道菌群衍生的细菌产物和内源性物质可以激活肝脏 TLR,从而启动炎症免疫应答,诱导肝纤维化。Gap junction 来源于相邻细胞之间两个半通道的相互作用,肝脏中主要的连接蛋白种类是 Cx32,其由肝细胞大量表达,而肝硬化和肝纤维化也在临床上表现为 Cx32 蛋白的量下降^[26]。通过 PI3K/Akt 途径可减弱肝星状细胞活化并诱导细胞凋亡,从而预防肝纤维化^[27]。而由 NK 细胞介导的针对胆管上皮细胞 (BEC) 的自身反应性 T 细胞和 B 细胞反应,是原发性胆汁性肝硬化 (PBC) 的标志^[28]。

综上,本研究结果表明丹参对肝硬化的治疗涉及 SERPINA1、CXCL10、FGA、PDGFB 等靶标以及 MAPK、Toll-like receptor、Gap junction、PI3K/Akt、Natural killer cell mediated cytotoxicity 等信号通路。本研究基于网络药理学探讨丹参治疗肝硬化作用机制,阐述了多成分、多靶点、多通路间的复杂网络相互作用关系,为进一步开展细胞生物学实验和动物模型实验提供了理论依据。

参考文献

- [1] 徐小元,丁惠国,李文刚,等.肝硬化诊治指南[J].临床肝胆病杂志,2019,35(11):2408-2425.
- [2] 王秀珍,刘雪峰.2041 例肝硬化病因及并发症分析[J].

浙江医学,2017,39(1):37-39.

- [3] 焦志刚.基于对肝硬化治疗方法的思考[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(18):183.
- [4] 夏莉,祝峻峰.肝硬化腹水的中医药诊治进展[J].重庆医学,2013,42(32):3961-3963.
- [5] 陈向荣,陆京伯,石汉平.丹参的药理作用研究新进展[J].中国医院药学杂志,2001,21(1):44-45.
- [6] 梁文仪,袁永兵,陈文静,等.一测多评法测定不同丹参制剂中 4 个酚酸成分[J].药物评价研究,2018,41(5):828-835.
- [7] 杨丹红,叶再元,金波,等.丹参多酚酸盐对实验性肝硬化大鼠肝组织 TNF- α 和 IL-6 mRNA 的表达影响[J].中华中医药学刊,2013,31(6):1297-1300.
- [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] 徐文华,郑景辉,赵阳,等.基于网络药理学和生物信息学的丹参酮 II_A 治疗冠心病的分子生物学机制分析[J].中草药,2019,50(5):1131-1140.
- [10] 丁腾,孙宇宏,杜霞,等.经典名方百合地黄汤的化学成分与网络药理学研究[J].中草药,2019,50(8):1848-1856.
- [11] Chen G, Huang C, Liu Y, et al. A Network pharmacology approach to uncover the potential mechanism of Yinchensini Decoction [J]. *Evid-Based Compl Altern Med*, 2018, 2018(12): 1-14.
- [12] 陈国铭,汤顺莉,邝梓君,等.基于系统药理学的茵陈作用机制研究[J].中国药房,2018,29(10):1312-1319.
- [13] Luo H, Chen J, Shi L, et al. DRAR-CPI: A server for identifying drug repositioning potential and adverse drug reactions via the chemical-protein interactome [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(5): W492-W498.
- [14] Von Mering C, Jensen L J, Snel B, et al. STRING: Known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(1): D433-D437.
- [15] Hsin K Y, Matsuoka Y, Asai Y, et al. systemsDock: A web server for network pharmacology-based prediction and analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(4): W507-W513.
- [16] Dennis G J R, Sherman B T, Hosack D A, et al. DAVID: Database for annotation, visualization, and integrated discovery [J]. *Genome Biol*, 2003, 4(5): P3.
- [17] 李乐,陈伟玲,汪明星,等.恩替卡韦联合复方丹参片治疗乙型肝炎肝硬化腹水患者的疗效观察[J].今日药学,2019,29(8):539-541.
- [18] 陶智,王梦旻,胡启江.复方丹参注射液联合还原型谷胱甘肽对酒精性肝硬化患者氧化应激水平的影响

- [J]. 医药导报, 2018, 37(S1): 26-28.
- [19] Di Francesco A, Di Germanio C, Panda A C, *et al.* Novel RNA-binding activity of NQO1 promotes SERPINA1 mRNA translation [J]. *Free Rad Biol Med*, 2016, 99(10): 225-233.
- [20] 段钟平, 白 丽, 翟 原, 等. 趋化因子 CXCL10 与肝病关系的研究进展 [J]. 北京医学, 2010, 32(3): 227-230.
- [21] Pluta A, Gutkowski K, Hartleb M. Coagulopathy in liver diseases [J]. *Adv Med Sci*, 2010, 55(1): 16-21.
- [22] Westra I M, Oosterhuis D, Groothuis G M, *et al.* Precision-cut liver slices as a model for the early onset of liver fibrosis to test antifibrotic drugs [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 274(2): 328-338.
- [23] 魏士长. 三草颗粒治疗肝硬化的作用及机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.
- [24] Li X, Lin J, Lin Y, *et al.* Hydrogen sulfide protects against acetaminophen-induced acute liver injury by inhibiting apoptosis via the JNK/MAPK signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 120(3): 4385-4397.
- [25] Roh Y S, Seki E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(Suppl 1): 38-42.
- [26] Vinken M. Gap junctions and non-neoplastic liver disease [J]. *J Hepatol*, 2012, 57(3): 655-662.
- [27] Wang J, Chu E S, Chen H Y, *et al.* microRNA-29b prevents liver fibrosis by attenuating hepatic stellate cell activation and inducing apoptosis through targeting PI3K/AKT pathway [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(9): 7325-7338.
- [28] himoda S, Hisamoto S, Harada K, *et al.* Natural killer cells regulate T cell immune responses in primary biliary cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2015, 62(6): 1817-1827.