

引用:靳涵植,郝瑞芳. 基于网络药理学探讨浙贝母治疗小儿腺样体肥大的作用机制[J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(1): 157-162.

基于网络药理学探讨浙贝母治疗小儿腺样体肥大的作用机制

靳涵植, 郝瑞芳

(天津中医药大学第一附属医院/国家中医针灸临床医学研究中心, 天津, 300193)

[摘要] 目的:运用网络药理学方法探讨浙贝母治疗小儿腺样体肥大的作用机制。方法:应用 TCMSP 平台及 UniPort 数据库检索并筛选浙贝母的活性成分及其对应的靶基因,通过 GeneCards 数据库获取腺样体肥大的靶点基因,并筛选浙贝母有效活性成分与腺样体肥大的交集靶点,使用 Cytoscape 3.9.0 软件绘制蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络图,预测其关键靶点;对交集靶点进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果:浙贝母治疗腺样体肥大的有效化合物包含天竺葵素、 β -谷甾醇、贝母辛碱、浙贝树脂醇、6-甲氧基-2-乙酰基-3-甲基-1,4-萘醌-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷,相关潜在靶点涉及腺苷受体(AR)、过氧化物酶体增生激活受体 γ (PPARG)、糖皮质激素受体(NR3C1)等。GO 功能富集分析显示预测靶点主要与雌二醇的反应、药物反应、对脂多糖的反应、相同蛋白结合、凋亡过程的正调控等分子功能相关。KEGG 通路富集分析显示潜在基因主要集中在凋亡-多物种、肿瘤蛋白 p53、白细胞介素-17、肿瘤坏死因子(TNF)、血管内皮生长因子等信号通路。结论:浙贝母可能通过诱导凋亡、减轻炎症反应、调节免疫系统等多靶点、多通路发挥治疗腺样体肥大的作用。

[关键词] 腺样体肥大;浙贝母;网络药理学;作用机制

[中图分类号] R276.1 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2023.01.038

Mechanism of action of *Fritillaria thunbergii* in treatment of pediatric adenoid hypertrophy:

A study based on network pharmacology

JIN Hanzhi, HAO Ruifang

(The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine & National Clinical

Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300193, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of action of *Fritillaria thunbergii* in the treatment of pediatric adenoid hypertrophy based on network pharmacology. Methods: TCMSP platform and UniPort database were used to screen out the active components of *Fritillaria thunbergii* and their corresponding target genes, and GeneCards database was used to obtain the target genes of adenoid hypertrophy. Intersecting targets were obtained for the active components of *Fritillaria thunbergii* and adenoid hypertrophy, and Cytoscape 3.9.0 was used to plot a protein-protein interaction network and predict key targets. Gene ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed for the intersecting targets. Results: The active compounds of *Fritillaria thunbergii* in the treatment of adenoid hypertrophy included pelargonidin, beta-sitosterol, peimisine, zhebeiresinol, and 6-methoxyl-2-acetyl-3-methyl-1,4-naphthoquinone-8-O- β -D-glucopyranoside, and related potential targets involved adenosine receptor, peroxisome proliferator activated receptor γ , and glucocorticoid receptor NR3C1. GO functional enrichment analysis showed that the targets

第一作者:靳涵植,女,2021 级硕士研究生,研究方向:中医儿科学

通信作者:郝瑞芳,女,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:中西医结合防治儿科疾病, E-mail: hrf1965@163.com

were mainly associated with the molecular functions such as estradiol response, drug response, response to lipopolysaccharide, binding of the same proteins, and positive regulation of apoptosis. KEGG pathway enrichment analysis showed that the potential genes were mainly involved in the signaling pathways such as apoptosis-multispecies, tumor protein p53, interleukin-17, tumor necrosis factor, and vascular endothelial growth factor. Conclusion: *Fritillaria thunbergii* may exert a therapeutic effect on adenoid hypertrophy by inducing apoptosis, alleviating inflammatory response, and regulating the immune system via multiple targets and pathways.

[**Keywords**] adenoid hypertrophy; *Fritillaria thunbergii*; network pharmacology; mechanism of action

腺样体又称增殖体或咽扁桃体,是位于鼻咽顶壁与后壁交界处的一团淋巴组织,为咽淋巴环内环的组成部分^[1],是人体的免疫器官,承担着体液免疫和细胞免疫双重功能。腺样体肥大即腺样体因反复的炎症刺激而发生的病理性增生肥大^[2]。小儿腺样体肥大可引起多种临床症状及并发症,最常见的症状有鼻塞、夜间打鼾、张口呼吸,甚或憋气、呼吸暂停等。儿童腺样体生理性及病理性肥大的好发年龄在3~8岁,且以男童较多,约为女童的2倍^[3]。本病发病率达9.9%~29.9%^[4],严重影响小儿的健康与成长。西医对于腺样体肥大的主要治疗手段为糖皮质激素喷鼻联合白三烯受体拮抗剂口服以及手术治疗^[5]。

中医学对于腺样体肥大的治疗多从“痰”论治。《丹溪心法附余》记载:“凡人头面、颈颊、身中有结核,不痛不红,不作脓者,皆痰注也。”浙贝母为百合科植物浙贝母的干燥鳞茎,味苦,性寒,归肺、心经,可清热化痰、散结消痈。其主要活性成分为生物碱、多糖和总皂苷等,具有镇咳祛痰、镇痛抗炎、抗溃疡、止泻、抗菌、抗肿瘤等作用^[6-7]。本研究应用网络药理学探析浙贝母治疗小儿腺样体肥大的作用机制,以期为临床治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 药物有效成分的收集与筛选 在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)中药数据库检索浙贝母所有的化学成分,以口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18作为活性成分的筛选条件进行筛选。

1.2 药物靶点基因的筛选 根据筛选出的药物活性分子选择对应的蛋白靶点,删除无靶点基因的活性成分,使用UniProt蛋白质数据库将收集的药物作用靶点转化为基因名称,物种来源为“Homo sapiens”,同时删除无效靶点,将药物基因名称标准化

处理后录入Excel表格。

1.3 疾病相关靶点基因的获取 利用GeneCards疾病数据库检索关键词“adenoid hypertrophy”,获取腺样体肥大相关的基因靶点。

1.4 药物靶点和疾病靶点交集 将浙贝母有效成分的相关靶点与腺样体肥大的靶点导入Venn平台,得到浙贝母活性成分与腺样体肥大的交集靶点,并绘制Venn图。

1.5 中药调控网络的构建 根据上述的靶点预测结果,采用Cytoscape 3.9.0构建药物-成分-基因-疾病的思维网络模型图。在网络中,用不同的形状表示药物、化学成分、交集基因、疾病等信息,连接线表示两节点间存在关联或映射关系。并利用STRING在线数据库(<https://string-db.org/>)进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建,获得清晰的可视化框架,以便于筛选关键基因。

1.6 基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 对浙贝母-腺样体肥大交集靶点进行GO功能富集分析,包括生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞组分(CC),以P值反映蛋白质生物功能的显著性($P < 0.05$ 表示有显著性)。对浙贝母-腺样体肥大交集靶点进行KEGG通路富集分析,筛选出显著富集的通路。当 $P < 0.05$ 时,则认为其是具有显著性的关键性通路, P 值越小,显著程度越高。

2 结果

2.1 浙贝母-腺样体肥大交集靶点的预测 检索得到浙贝母中有效成分7种,预测靶点数目46个。通过GeneCards数据库获得疾病靶点511个,取药物与疾病靶点的交集,共获得18个。具体有效成分见表1,交集靶点见图1,网络可视化图谱见图2。图2中,橙色代表药物,粉色代表疾病,蓝色代表中药有效成分,紫色代表筛选获得的交集基因。

表 1 浙贝母有效化合物成分

分子 ID	活性成分	OB/%	DL
MOL001004	天竺葵素 (pelargonidin)	37.99	0.21
MOL000358	β-谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91	0.75
MOL004440	贝母辛碱 (Peimisine)	57.40	0.81
MOL004443	浙贝树脂醇 (Zhebeiresinol)	58.72	0.19
MOL004444	紫鄂贝碱 (Ziebeimine)	64.25	0.7
MOL004446	6-甲氧基-2-乙酰基-3-甲基-1,4-萘醌-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (6-Methoxyl-2-acetyl-3-methyl-1,4-naphthoquinone-8-O-beta-D-glucopyranoside)	33.31	0.57
MOL004450	察克素 (Chaksine)	65.63	0.66

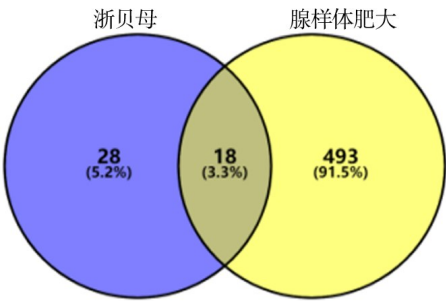


图 1 浙贝母靶点与腺样体肥大相关靶点韦恩图

2.2 PPI 网络图的构建 利用 STRING 数据平台将药效团匹配得到的 18 个共同靶标进行 PPI 网络分析,结果发现雄激素体 (AR)、过氧化物酶体增生激活受体 γ (PPARG)、5-羟色胺受体 2A (HTR2A)、

B 细胞淋巴瘤 2 (BCL2)、BCL2-Associated X 的蛋白质 (BAX)、胱天蛋白酶 9 (CASP9)、V-JUN 肉瘤病毒癌基因同源物 (JUN)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、胱天蛋白酶 8 (CASP8)、转化生长因子 B1 (TGFB1)、雌激素受体 1 (ESR1) 12 个靶标可发生相互作用 (6 个靶标未参与蛋白互作),包含 47 条边。由结果可知 JUN 和其他蛋白的互相联程度最高,说明其可能参与的药理作用最明显。(见图 3)

2.3 浙贝母-腺样体肥大疾病交集靶点的 GO 功能分析 利用 DAVID 数据库进行 GO 功能分析,共获得 253 条 GO 条目,根据 $P<0.05$ 进行筛选后取富集性最为显著的前 20 条,包括对雌二醇的反应、药物反应、对脂多糖的反应、相同蛋白结合、凋亡过程的正调控等,将其做气泡图进行可视化展示。(见图 4)

2.4 KEGG 通路富集分析 18 个浙贝母-腺样体肥大疾病交集靶点的 KEGG 通路富集分析结果显示,浙贝母治疗腺样体肥大所涉及的信号通路有 70 条,根据 $P<0.05$ 共筛选得出 64 条信号通路,主要包括凋亡-多物种、5-羟色胺能突触、p53 信号通路、血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路、白细胞介素 17 (IL-17) 信号通路等。按基因富集数进行排序,绘制出其中 20 条信号通路的柱状图。(见图 5)

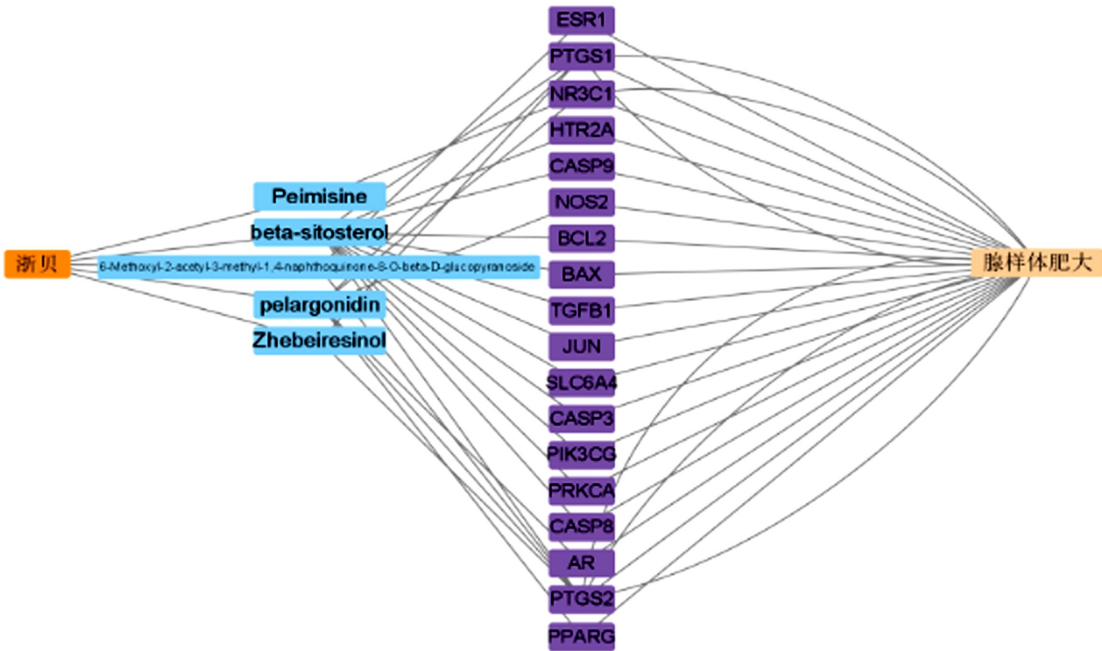


图 2 化合物-靶点-疾病网络图

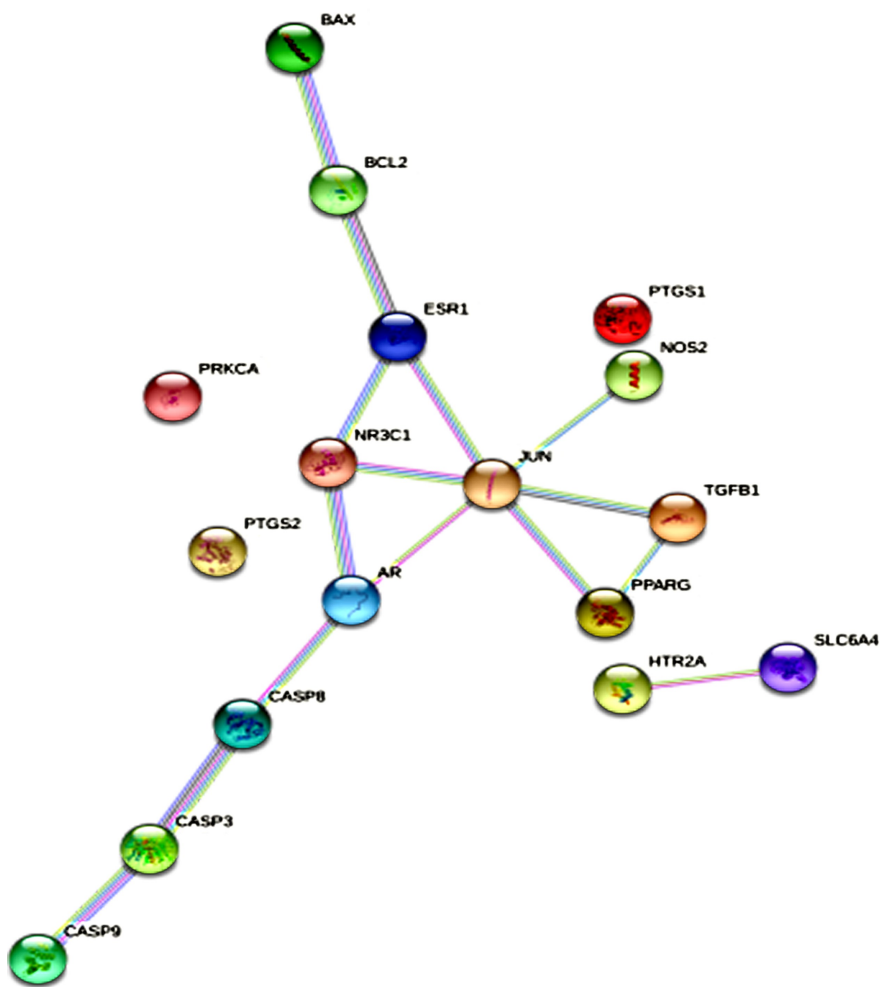


图 3 PPI 网络图

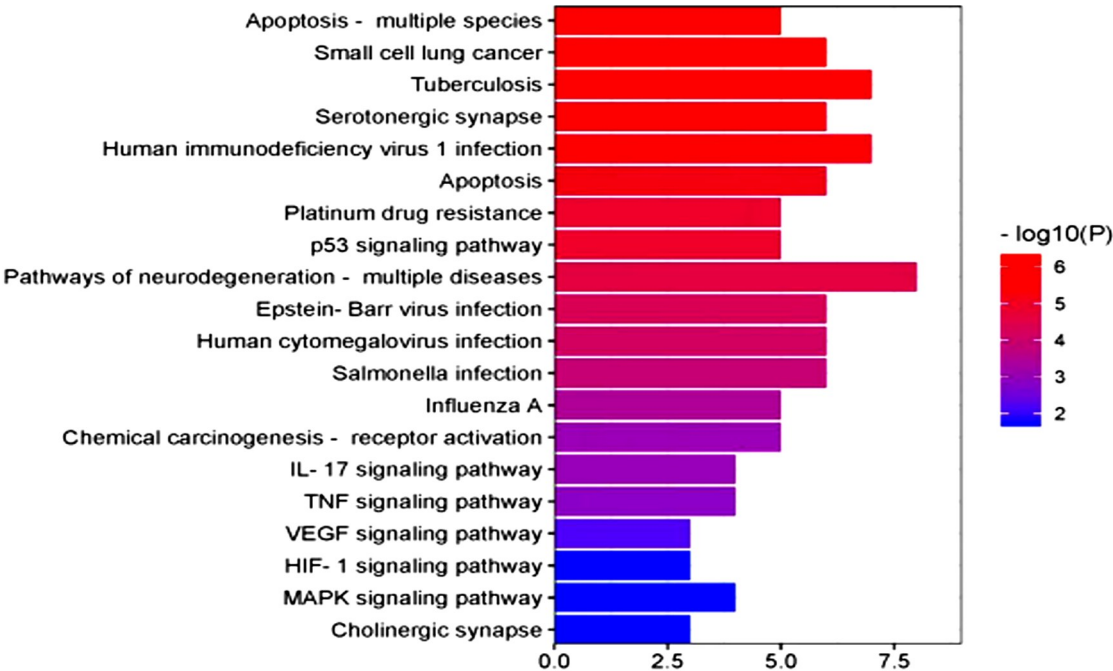


图 4 GO 功能分析气泡图

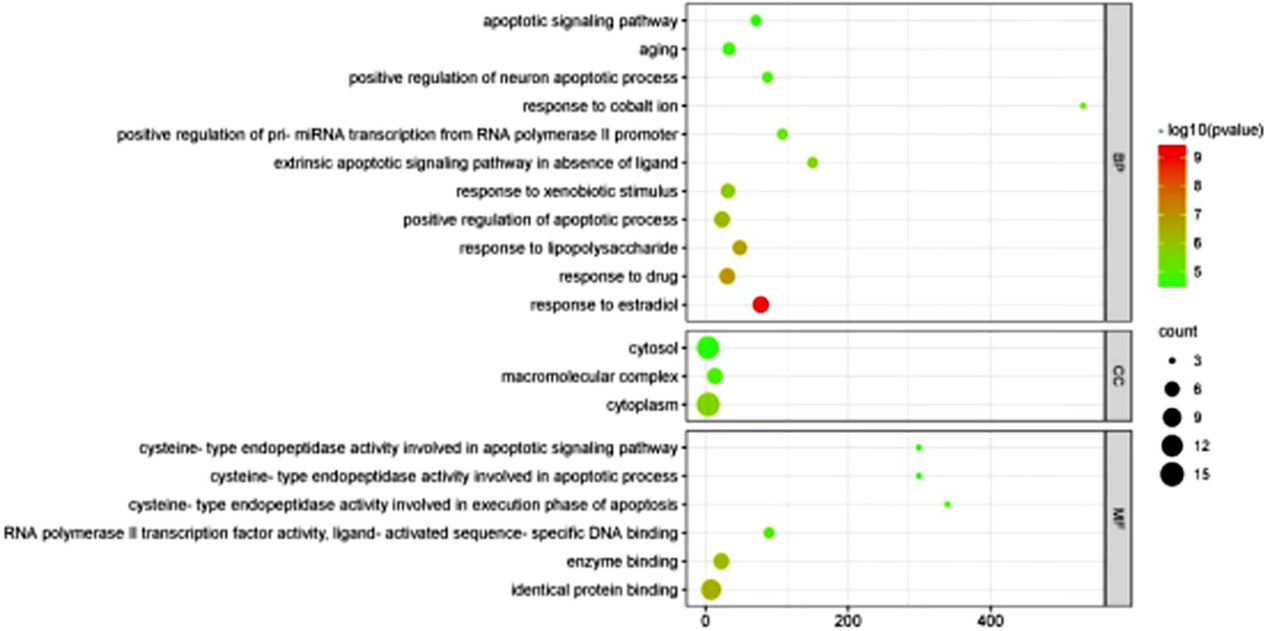


图 5 KEGG 通路富集分析柱状图

3 讨 论

本病本研究在构建的成分-靶点核心网络中,预测了浙贝母 7 种潜在药效成分和 511 个腺样体肥大相关靶点。筛选出的 5 种潜在药效成分作用于诱导型一氧化氮合酶(NOS2)、人前列腺素内过氧化物合酶 1(PTGS1)、AR、PPARG、前列腺素内过氧化物合酶(PTGS2)、核受体亚家族 3C 组成员 1(NR3C1)、磷酸肌醇 3 激酶(PIK3CG)、HTR2A、5-羟色胺转运体(SLC6A4)、BCL2、BAX、CASP9、JUN、CASP3、蛋白激酶 C(PRKCA)、TGFB1、ESR1 共 18 个腺样体肥大疾病靶点,体现了中药多成分、多靶点协同作用的特点。在疾病-成分-靶点网络中,5 种药效成分作用于 18 个腺样体肥大靶点,其中 AR、PPARG 等 12 个靶点相关度较高。其中 β -谷甾醇作用于腺样体肥大的靶点共 11 个。现代研究显示, β -谷甾醇具有抗炎、抗菌、调节免疫系统的作用^[8-9]。天竺葵素作用于腺样体肥大的靶点共 6 个。其是天然的花青素单体,具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎等作用^[10]。由 PPI 网络图得知,JUN 和其他蛋白的相联程度最高。JUN 是一类表达广泛、多功能的转录调节因子,不仅和癌症、血管生成息息相关,也参与了机体的免疫调节和病毒的感染过程^[11]。有学者认为本病的发生与免疫功能异常有关,如白细胞介素-23(IL-23)与细胞膜表面 IL-23 受体相结合形成复合物,从而诱导细胞激活,且

IL-23 可促进 IL-17 的产生和分泌,导致细胞内转导系统紊乱,进而导致炎症产生及相关症状出现^[12]。由此得知,此 2 种潜在药效成分及蛋白 JUN 与腺样体肥大的治疗有关联。

浙贝母治疗腺样体肥大的潜在靶基因进行 GO 功能分析,结果显示,其生物过程与对雌二醇的反应、对脂多糖的反应、凋亡过程的正调控等有关。KEGG 通路富集分析结果显示,预测基因集中在凋亡-多物种、肿瘤抑制蛋白 p53、IL-17、肿瘤坏死因子(TNF)、VEGF 等信号通路中。其中,VEGF 是重要的血管内皮特异性分裂源,被认为是慢性炎症最有效的血管生成因子之一,VEGF 可促进内皮细胞有丝分裂和迁移,增加血管通透性,促进新形成的血管,这使得 VEGF 成为血管生成的关键调节因子^[13]。VEGF 增强了血管生成,并促成了腺样体肥大患儿的组织增生和临床症状。儿童上呼吸道慢性炎症通常会导致腺样体增生和肥大。腺样体肥大患者的 VEGF、白细胞介素-8(IL-8)和 IL-17 均有不同程度的升高^[14-16]。IL-17 是一个重要的促炎症细胞因子,由辅助性 T 细胞(Th17)及先天性免疫细胞等分泌,在多种炎症反应及自身免疫性疾病病理过程中发挥着关键作用,IL-17 水平在各种炎症性疾病中升高,作用于局部组织细胞,诱导促炎症蛋白基因的产生,包括细胞因子、趋化因子、基质金属蛋白酶,以放大炎症^[17]。研究表明,TNF- α 诱导

上皮屏障功能的丧失并增强单核细胞的通透性,并且作为促炎性细胞因子促进白介素-6(IL-6)和IL-8的分泌^[18],而IL-6可以协调趋化因子导向的白细胞运输,并通过调节白细胞激活、分化和增殖来指导从先天免疫到适应性免疫的过渡。此外,IL-6也可以诱导VEGF的产生,从而调节血管内皮细胞迁移和体外血管形成^[19]。而p53可通过调控多种细胞免疫相关信号通路来参与机体的免疫应答,如上调Toll样受体信号通路中多个因子,同时增加其依赖的促炎因子的产生,此外,p53可作为“基因守护者”,诱导转录多种特异性细胞因子和炎症因子,导致多种凋亡基因的表达^[18]。尽管凋亡-多物种信号通路等在腺样体肥大的发生、发展中发挥了重要作用,但目前研究较少,有关作用机制尚不清楚,今后可从相关通路着手进行深入研究。

本文采用网络药理学方法,通过分析浙贝母治疗腺样体肥大的有效成分、作用潜在靶点、基因功能及相关信号通路,提示浙贝母可能通过诱导凋亡、减轻炎症反应、调节免疫系统等多靶点、多通路发挥治疗腺样体肥大的作用,也为临床用药及作用机制的研究提供了一定思路。

参考文献

- [1] 孙书臣,马彦,乔静,等.《儿童腺样体肥大引发睡眠呼吸障碍的中医诊疗专家共识》解读[J].世界睡眠医学杂志,2014,1(6):321-328.
- [2] 于阳,徐荣谦.徐荣谦教授治疗小儿腺样体肥大经验[J].光明中医,2013,28(10):2006-2007.
- [3] 邵剑波,胡道予,夏黎明,等.儿童腺样体肥大的MR定量形态学研究[J].放射学实践,2006,21(10):999-1002.
- [4] 赵丹丹.儿童腺样体肥大辨证论治研究[D].昆明:云南中医学院,2014.
- [5] 严佳,吴杰.中西医对小儿腺样体肥大的诊治进展[J].中国中西医结合儿科学,2020,12(5):380-383.
- [6] 赵金凯,杜伟锋,应泽茜,等.浙贝母的现代研究进展[J].时珍国医国药,2019,30(1):177-180.
- [7] 张明发,沈雅琴.浙贝母药理研究进展[J].上海医药,2007,28(10):459-461.
- [8] 赵小然. β -谷甾醇和毛蕊花糖苷对肺炎链球菌溶血素的抑制作用及机制[D].长春:吉林大学,2017.
- [9] 陈元堃,曾奥,罗振辉,等. β -谷甾醇药理作用研究进展[J].广东药科大学学报,2021,37(1):148-153.
- [10] 靳彩玲,姬颖华,王萃楠,等.天竺葵素抑制肺癌进展的作用和机制研究[J].广东药科大学学报,2021,37(6):63-70.
- [11] 王志,潘启华,陆可,等.青鳉抗病毒感染过程的负调控因子jun的鉴定[J].华中农业大学学报,2021,40(6):152-160.
- [12] 吴淑献,张松,许芹芹,等.腺样体肥大患者腺样体组织中IL-17和IL-23的表达及临床意义[J].中国实用医药,2017,12(31):24-26.
- [13] WANG H,BAI J,ZHANG J,et al.IL-6 promotes the expression of vascular endothelial growth factor through the p38 signalling pathway in hypertrophied adenoids in children[J].Int J Pediatr Otorhinolaryngol,2013,77(2):205-209.
- [14] 陈忠余,赵世巧,李蔚,等.睡眠呼吸暂停低通气综合征患者血清HIF-1 α 、VEGF、sVCAM-1水平的变化及意义[J].重庆医学,2013,42(5):484-486.
- [15] 孙沛,陈昕.老年睡眠呼吸暂停低通气综合征患者血清IL-10、IL-8、MCP-1水平变化[J].山东医药,2015,55(11):59-60.
- [16] 倪坤,赵利敏,吴佳樾,等.Th17/Treg在儿童腺样体肥大发病机制中的作用[J].中国眼耳鼻喉科杂志,2016,16(2):103-106,110.
- [17] QU F,GAO H,ZHU S,et al.TRAF6-dependent act1 phosphorylation by the I κ B kinase-related kinases suppresses interleukin-17-induced NF- κ B activation[J].Mol Cell Biol,2012,32(19):3925-3937.
- [18] 蔡玉荣,王媛,孔云逸,等.p53和NF- κ B信号通路在MTB感染AEC II细胞中的免疫调控作用研究[J].中国免疫学杂志,2022,38(7):769-776.
- [19] FEURINO LW,ZHANG Y,BHARADWAJ U,et al.IL-6 stimulates Th2 type cytokine secretion and upregulates VEGF and NRP-1 expression in pancreatic cancer cells[J].Cancer Biol Ther,2007,6(7):1096-1100.

(收稿日期:2022-06-02)