· 临床论著 ·

基于网络药理学探讨徐景藩抑肝扶脾方治疗肠易激综合征的“多因微效”作用机制

徐心田[1] 徐丹华[2] 陆为民[1]

摘要 **目的** 基于网络药理学探讨国医大师徐景藩抑肝扶脾方治疗肠易激综合征(IBS)的“多因微效”作用机制。**方法** 利用网络药理学将抑肝扶脾方有效化合物成分及其所作用的基因、蛋白质,与 IBS 的生物分子学信息进行网络映射,以获取两者关联的靶基因、靶蛋白;在网络上对 IBS 与抑肝扶脾方的关系进行机制性计算以获取关键靶标;对关键靶标的功能及互作关系进行分析与预测,并以网络可视化图的形式呈现。**结果** IBS 与抑肝扶脾方关联靶基因 21 个,靶蛋白 202 个,关键靶标 11 个。通路富集主要作用于海马信号、神经活性配体受体交互作用、含血清素的神经突触等神经信号相关通路;皮质醇合成与分泌,胰腺分泌、蛋白消化与吸收等内分泌信号相关通路;ABC 转运蛋白、丝裂原活化蛋白激酶、核因子-κB、NOD 样受体、过氧化物酶体增殖剂激活受体、Wnt 信号、Th17 细胞分化等免疫炎症相关信号通路。**结论** 国医大师徐景藩抑肝扶脾方对 IBS 生物分子网络具有多水平、多层次的调控作用,该方可能通过影响 IBS 的功能基因网络,在干预本病有关生物分子及相关基因表达上,发挥“多因微效”的整体调节作用。

关键词 肠易激综合征; 徐景藩; 抑肝扶脾方; 网络药理学; 多因微效

"Mild Effects of Multi-factors" Mechanism of Yigan Fupi Recipe by Prof. XU Jing-fan in Treating IBS Based on Network Pharmacology

XU Xin-tian[1], XU Dan-hua[2], and LU Wei-min[1] *1 Department of General Internal Medicine, Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210029); 2 Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210029)*

ABSTRACT **Objective** To study underlying mechanisms of Yigan Fupi Recipe (YGFPR) by Prof. XU Jing-fan, the National Master of traditional Chinese Medicine (TCM), in treating irritable bowel syndrome (IBS) based on network pharmacology. **Methods** Network pharmacology was used to map the active compounds in YGFPR and the genes and proteins it acts on to the biological molecular network of IBS. With the target genes and proteins obtained, the relationship between IBS and YGFPR was calculated by certain parameters on the network in order to acquire the key targets. The functions and interactions of these key targets were analyzed and predicted through pathway enrichment, and results were shown in the form of network visualization. **Results** The numbers of associated target genes, target proteins, and key targets with IBS from YGFPR were 21, 202, and 11, respectively. Three main pathways associated with neural signals were enriched: hippo signal, neuroactive ligand-receptor interaction, and serotonergic synapse. Two main pathways associated with endocrine signals were enriched: cortisol synthesis and secretion, and protein digestion and absorption. Seven main pathways associated with immune signals were enriched: ATP-binding cassette (ATP)-binding cassette (ABC) transporters, mitogen activated protein kinase (MAPK) signal, nuclear factor-kappa B (NK-κB) signal, NOD-like receptor signal, peroxisomal pro-

基金项目:国家中医药管理局“国医大师徐景藩学术经验传承研究室”建设项目(No. 国中医药人教发[2010]59 号);江苏省“六大人才高峰”资助项目(No. WS2010-009);江苏省省级中医康复示范中心建设项目(No. K2017ykf16)

作者单位:1. 南京中医药大学附属医院普内科(南京 210029);2. 南京中医药大学附属医院消化科(南京 210029)

通讯作者:陆为民,Tel:025-86617141 转 30900,E-mail:wmlu@163.com

DOI:10.7661/j.cjim.20190916.320

中国中西医结合杂志

liferators activate receptors (PPAR) signal, Wnt signal and Th17 cell differentiation. **Conclusions** YGFPR by Prof. XU Jing-fan showed a regulatory function on biological molecular network of IBS at multilevel ways. It played a holistic role of mild effects of multi-factors in intervening biological molecules and gene expressions associated with IBS by affecting its functional genetic network.

KEYWORDS irritable bowel syndrome; XU Jing-fan; Yigan Fupi Recipe; network pharmacology; mild effects of multi-factors

肠易激综合征(irritable bowel syndrome,IBS)是临床常见的功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders,FGIDs)之一。其病理生理学改变尚未完全阐明,脑-肠、肠-脑交互作用异常可能是 IBS 的根本发病机制,基于脑-肠轴的神经-内分泌-免疫(neuro-endocrine-immune,NEI)因素相互交错使症状存在不均一性是本病的特征性表现[1]。不论是已证实的临床特征——IBS 患者较健康人及其他胃肠道器质性疾病患者存在更多的焦虑、抑郁、躯体化障碍,还是脑-肠互动功能异常所表现出的精神、神经因素与 IBS 发病之关联性,均提示兼顾改善肠道症状与情志异常是治疗或长期缓解本病的重点及难点,而在整体观念、辨证论治思想指导下的中医药在个体化的整体性治疗上具有潜在优势。

国医大师徐景藩从医 70 余载,对 IBS 的诊治积累了丰富经验,其自拟的抑肝扶脾方以痛泻要方为基础,融戊已丸、芍药甘草汤等名方为一体,方用陈皮、炒白术、炒白芍、防风、黄连、吴茱萸、乌梅、炙甘草。全方既能行肝脾之滞,又助运中焦,共奏肝脾同调、虚实并治之效。该方治疗本病的临床总有效率达 98.33%,且可有效缓解烦躁、紧张、焦虑等负性情绪而显著提高患者生活质量[2]。以往的研究证实,抑肝扶脾方中单味药的有效成分可通过多种作用机理同时发挥缓解 IBS 症状的作用[3]。但这一结果仅建立在文献审查基础上,试图将正在试验中的、具有预测价值的信息囊括其中,并对复方的综合效应不是其中每一有效成分的线性叠加而是各自在特定病理环节同时发挥整体性治效等进行确定,是亟需的一条更科学、合理的研究途径。

在大数据、云平台时代背景下应运而生的网络药理学为此研究提供了契机。网络药理学基于"疾病-基因-靶点-药物"相互作用网络,运用专业的可视化网络分析软件及算法,对现有的数据库信息(如基因网络库、蛋白网络库、疾病网络库和药物网络库等)进行虚拟筛选和网络预测[4],系统综合地观察药物对疾病网络的干预与影响,从而揭示药物协同作用于人体的奥秘。这一研究策略的整体性、系统性特点与中医学从整体角度诊治疾病的理论,中药及其方剂的多成分、多途径、多靶点协同作用的原理殊途同归[5]。

资料与方法

1　IBS 相关基因靶点的搜集及其信息标准化

在 Drugbank5.1.2[6](https://www.drugbank.ca/)、DisGeNET5.0[7](http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home)、OMIM(2018)[8](http://www.omim.org/)疾病相关数据库中分别以"irritable bowel syndrome"为检索词检索疾病相关基因靶点(检索时间:2018 年 10 月 21 日)。

因数据库冗杂且基因代号不统一,需将检索获得的疾病相关基因靶点批量导入 Uniprot(2018)数据库[9](http://www.uniprot.org/)中,将所有基因-蛋白名称和 Entrez Gene ID 统一转化成 Swiss-Prot ID,并最终分"Swiss-Prot ID-Gene name-Target name"三列将数据整理在 Excel 表中。

2　抑肝扶脾方中药有效成分及其靶点的搜集

2.1　有效成分搜集　在 TCMSP2.3 数据库[10](Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database, http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php)中以"陈皮、白术、白芍、防风、黄连、吴茱萸、乌梅、甘草"为检索词,并根据 ADME 参数设定筛选规则:OB≥30%; DL≥0.18; HL≥4 h(TCMSP 数据库推荐值),搜集抑肝扶脾方有效成分化合物。(检索时间:2018 年 12 月 14 日)

2.2　有效成分化合物靶点搜集　首先,在 PubChem1.6.2 数据库[11](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)中查询化合物的 SMILE 号;亦可从 TCMSP 中直接链接进入 Pubchem Cid 获取 SMILE 号。其次,基于配体结构特征的锁钥模型匹配,将检索得到的化合物的 SMILE 号输入 STITCH5.0(Search Tool for Interacting Chemicals)数据库[12](http://stitch.embl.de/)(含实验验证靶点和预测靶点)和 BATMAN-TCM(a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine)数据库[13](http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/,以预测靶点为主)中,将物种选择设置为

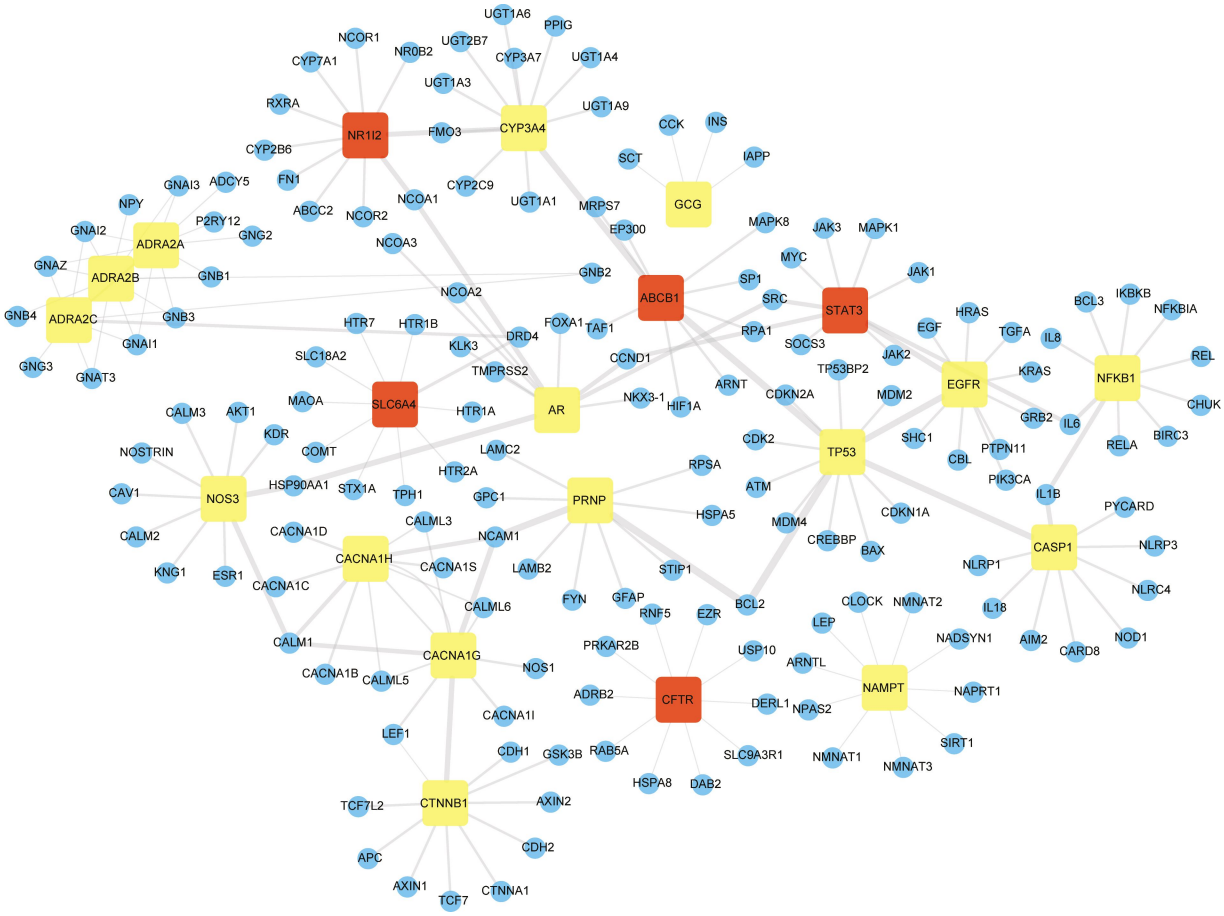
“Homo sapiens”,获得抑肝扶脾方作用于人体的有效成分的验证靶点和预测靶点(检索时间:2018 年 12 月 24 日)。最后,对两个数据库搜集得到的所有靶点进行置信度得分(confidence coefficient)筛选,此评分系统用于评估配体间匹配程度的可靠性[14],设定阈值为 confidence coefficient ≥0.7(标准区间为[0,1],≥0.9 为可靠性最高,0.7~0.9 为可靠性高,≥0.4 为可靠性中等,≤0.15 为可靠性低)。

3 “疾病-基因-靶点-有效成分”网络构建与拓扑结构分析

3.1 有效成分靶标的获取 将 1.0 中搜集得到的疾病相关基因靶点与 2.2 中经筛选得到的有效成分靶点进行映射,得到有效成分靶标;再对映射结果进行二次筛选,即筛选出同一中药不同成分的相同靶点、不同中药同一成分的相同靶点以及及不同中药不同成分的相同靶点,与其他单个靶点整理到同一表格中(见表 1)。

3.2 “疾病-基因-靶点-有效成分”网络构建 首先,将映射得到的有效成分靶标的 SMILE 号输入 STRING10.5 数据库[15](https://string-db.org/),得到蛋白-蛋白相互作用的靶蛋白;然后,将成分靶标和靶蛋白数据整理在 Excel 表中并导入 Cytoscape3.2.1[16]软件,生成由靶标和靶蛋白组成的抑肝扶脾方治疗 IBS 的蛋白相互作用网络(见图 1)。

3.3 抑肝扶脾方靶标蛋白相互作用网络的拓扑结构分析 利用 Cytoscape3.2.1 软件中的网络分析工具 NetworkAnalyzer[17]对(表 1)中得到的有效成分靶标进行网络拓扑结构分析,可获得相关参数,如平均最短路径长度(average shortest path length)和接近中心性(betweenness centrality),结果见表 2。节点的平均最短路径长度越小、接近中心性越大,表明该节点在网络中越重要[18]。*R* 值用于评估各靶标的重要性,计算公式如下。根据节点的 *R* 值列出抑肝扶脾方有效成分的前 11 位关键靶标。



注:红色节点代表验证靶点,黄色节点代表预测靶点,蓝色节点代表相关靶蛋白

图 1 抑肝扶脾方靶标蛋白相互作用网络

中国中西医结合杂志

$$R = \frac{Xi - Xi(min)}{Xi(max) - Xi(min)} \times 50\% + \frac{\frac{1}{Xj} - \frac{1}{Xj}(min)}{\frac{1}{Xj}(max) - \frac{1}{Xj}(min)} \times 50\%$$

Xi 系平均最短路径长度,Xj 系接近中心性,*R* 值用于评估靶标的重要性。

表 1　抑肝扶脾方有效成分靶标

中文名	拉丁名	有效成分数	主要有效成分	靶标 W
陈皮	*Citrus Reticulata*	23	naringenin CiR-01	
			nobiletin CiR-02	ABCB1
			flavanone CiR-07	CFTR
			flavonol CiR-08	CYP3A4
			linalool CiR-12	
			limonene CiR-11	TP53
			linalool CiR-12	
			zinc CiR-23	NOS3
白术	*Atractylodes Macrocephala Koidz.*	1	0	0
			kaempferol PRA-01	NR1I2
			penta-O-ga. a-D. PRA-03	EGFR
白芍	*Paeoniae Radix Alba*	10	(+)-catechin PRA-04	NOS3
			sitosterol PRA-06	ABCB1
			gallic acid PRA-08	
			sucrose SR-17	NOS3
			valerate SR-13	GCG
			dauricine SR-03	CYP3A4
防风	*Saposhnikoviae Radix*	18	imperatorin SR-06	CASP1
			octanol SR-10	CFTR
			naphthalene SR-08	ADRA2A ADRA2B ADRA2C
黄连	*Coptidis Rhizoma*	8	berberine CoR-01	TP53
			palmatine CoR-08	CYP3A4
吴茱萸	*Evodiae Fructus*	12	evodiamine EF-07	STAT3 SLC6A4
			rutin EF-11	EGFR PRNP
乌梅	*Mume Fructus*	34	sitosterol MF-01	ABCB1
			naringenin MF-30	
			kaempferol MF-02	NR1I2
			butyrate MF-15	GCG
			hexanoic acid MF-23	
			palmitate MF-29	
			oleic acid MF-32	
			EtOAc MF-19	NFKB1
			eugenol MF-20	CACNA1G CACNA1H
			genistein MF-22	CFTR AR
			oleanolic acid MF-31	NAMPT
			genistein MF-22	NOS3
			palmitate MF-29	
甘草	*licorice*	19	kaempferol L-04	NR1I2
			rutin L-16	EGFR
			lotion L-19	CTNNB1
			rutin L-16	PRNP
			naringenin L-05	ABCB1
			glycyrrhetinic. L-07	

中国中西医结合杂志

4 通路富集分析

4.1 有效成分靶标的通路富集分析 利用 Cytoscape3.2.1 中的插件 Reactome[19] 对抑肝扶脾方有效成分的靶标进行潜在通路分析。将分析获得的通路按 *P* 值[20] 进行排序,以 $P=0.001$ 为界,获得靶标的通路富集(见表 3)。

4.2 关键靶标的 KEGG 分析 对(表 2)中筛选出的前 11 位关键靶标和(表 3)通路富集中 Hit 基因进行 KEGG 分析[21](http://www.kegg.jp/),获得其具体功能(见图 2)。

结 果

1 IBS 相关基因靶点

对 Drugbank、DisGeNET、OMIM 数据库中搜集到的靶点进行汇总,删去重复项,共获得 277 个 IBS 相关基因靶点。

2 抑肝扶脾方有效成分及其靶点

从 TCMSP 中搜集获得抑肝扶脾方有效成分化合物共 107 个,将其 SMILE 号输入 STITCH 和 BATMAN-TCM 数据库中并筛选得到有效成分的验证靶点和预测靶点共 422 个。

3 抑肝扶脾方治疗 IBS 的有效成分靶标(表 1)

IBS 相关基因靶点与有效成分靶点经映射和数据整理,得到抑肝扶脾方治疗 IBS 有效靶标 21 个,其中 5 个为验证靶点,16 个为预测靶点。

4 "IBS-基因-靶点-抑肝扶脾方有效成分"网络构建与拓扑结构分析(图 1,表 2)

21 个有效成分靶标经 STRING 数据库检索得到 202 个蛋白-蛋白相互作用靶蛋白;将有效成分靶标和靶蛋白数据导入 Cytoscape3.2.1 软件中生成由 223 个蛋白组成的抑肝扶脾方治疗 IBS 的蛋白相互作用网络(见图 1)。

利用 Cytoscape3.2.1 软件中的网络分析工具 NetworkAnalyzer 对 21 个靶标进行网络拓扑结构分析,结果见表 2。经 *R* 值计算可见,在主要有效成分的所有靶点中,ABCB1、CFTR、SLC6A4 是抑肝扶脾方验证靶点中的的关键靶标,TP53、EGFR、GCG、PRNP、ADRA2A、ADRA2B、ADRA2C、NAMPT 是预测靶点中的关键靶标。

5 通路富集分析(表 3,图 2)

经 Reactome 分析获得抑肝扶脾方有效成分靶标的通路富集共 10 条($P\leq0.001$)(见表 3)。

KEGG 分析结果示:抑肝扶脾方有效成分可作用于海马信号(hippo signaling pathway),神经活性配体受体交互作用(neuroactive ligand-receptor interaction),含血清素的神经突触(serotonergic synapse)等神经信号相关通路;皮质醇合成与分泌(cortisol synthesis and secretion),胰腺分泌(pancreatic secretion)、蛋白消化与吸收(protein digestion and absorption)等内分泌信号相关通路;

表 2 21 个靶标的平均最短路径长度和接近中心性

Swiss prot ID	基因/蛋白	名称	验证/预测	平均最短路径长度	接近中心性	*R* 值
P08183	ABCB1	ATP binding cassette subfamily B member 1	验证	3.91	0.278 75	0.450 4
P13569	CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	验证	1.00	1.000 00	0.000 0
P08684	CYP3A4	cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4	预测	4.31	0.230 54	0.533 2
P04637	TP53	tumor protein p53	预测	3.50	0.530 60	0.314 2
P29474	NOS3	nitric oxide synthase 3	预测	4.98	0.200 78	0.639 1
O75469	NR1Ⅰ2	nuclear receptor subfamily 1 group Ⅰ member 2	验证	4.62	0.171 79	0.646 9
P00533	EGFR	epidermal growth factor receptor	预测	3.86	0.232 42	0.483 6
P01275	GCG	glucagon	预测	1.00	1.000 00	0.000 0
P04156	PRNP	prion protein	预测	4.19	0.312 78	0.458 0
P29466	CASP1	caspase 1	预测	4.21	0.202 68	0.555 0
P08913	ADRA2A	adrenoceptor alpha 2A	预测	2.41	0.344 73	0.252 9
P18089	ADRA2B	adrenoceptor alpha 2B	预测	2.89	0.192 31	0.429 1
P18825	ADRA2C	adrenoceptor alpha 2C	预测	2.11	0.579 77	0.157 5
P40763	STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	验证	4.20	0.214 07	0.539 9
P31645	SLC6A4	solute carrier family 6 member 4	验证	2.63	0.564 10	0.215 2
P19838	NFKB1	nuclear factor kappa B subunit 1	预测	5.19	0.125 08	0.826 1
O43497	CACNA1G	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 G	预测	4.86	0.222 25	0.600 5
O95180	CACNA1H	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 H	预测	4.93	0.098 10	0.917 6
P10275	AR	androgen receptor	预测	4.29	0.252 28	0.511 3
P43490	NAMPT	nicotinamide phosphoribosyltransferase	预测	1.00	1.000 00	0.000 0
P35222	CTNNB1	catenin beta 1	预测	5.71	0.135 17	0.847 9

中国中西医结合杂志

表 3　抑肝扶脾方有效成分靶标通路富集

Reactome 通路	*P* 值	错误发现率(FDR)	通路中 Hit 基因
肾上腺素 α2 受体信号通路	0.000 0	0.000 018 098	ADRA2C,ADRA2B,ADRA2A
肾上腺素受体	0.000 0	0.000 240 980	ADRA2C,ADRA2B,ADRA2A
G alpha (z) 信号事件	0.000 0	0.002 629 200	ADRA2C,ADRA2B,ADRA2A
NCAM1 相互作用	0.000 1	0.004 565 400	PRNP,CACNA1H,CACNA1G
白介素 1 处理	0.000 1	0.004 565 400	NFKB1,CASP1
血小板聚集	0.000 1	0.004 565 400	ADRA2C,ADRA2B,ADRA2A
胺配体结合受体	0.000 1	0.004 565 400	ADRA2C,ADRA2B,ADRA2A
胰岛素分泌调节	0.000 3	0.009 025 900	GCG,ADRA2C,ADRA2A
TP53 调节半胱天冬酶活化剂及凋亡蛋白酶的转录	0.000 5	0.013 200 000	CASP1,TP53
TriC/CCT 与靶蛋白在生物合成过程中的关联	0.000 7	0.018 400 000	STAT3,TP53

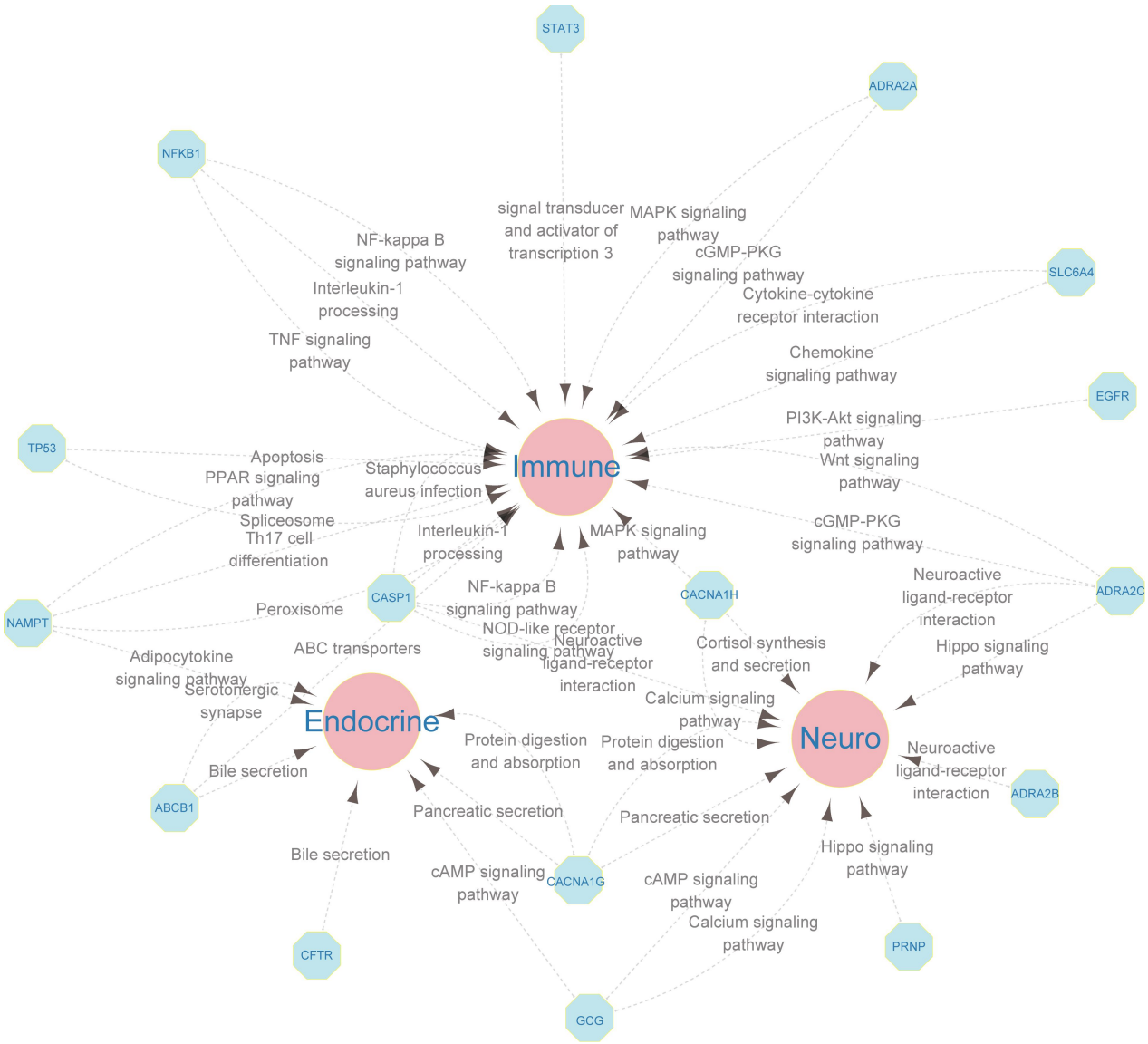


图 2　抑肝扶脾方有效成分靶标 KEGG 通路分析

ABC 转运蛋白(ABC transporters),丝裂原活化蛋白激酶(MAPK signaling pathway),核因子-κB(NF-kappa B signaling pathway),NOD 样受体(NOD-like receptor signaling pathway),过氧化物酶体增殖剂激活受体(PPAR signaling pathway),Wnt 信号(Wnt signaling pathway),Th17 细胞分化

(Th17 cell differentiation)等免疫炎症相关信号通路;以及转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3),趋化因子(chemokine signaling pathway),肿瘤蛋白 p53(tumor protein 53,p53),PI3K-PKB/Akt(PI3K-Akt signaling pathway),胆汁分泌(bile secretion),cAMP 蛋白激酶(cAMP signaling pathway)等多条信号通路。具体见(图 2)。

讨　论

1977 年 Besedovsky H 等[22]依据多种神经递质、神经肽、激素和细胞因子等生物活性分子的相互作用与调节提出了"神经内分泌免疫网络(network of immune-neuroendocrine interactions)"学说,这成为后来许多"多因微效"作用与系统"涌现"机理研究的方法论典范。同样,证候发生、方剂作用的原理也可追溯到机体内复杂的分子调控网络[23]。

利用网络药理学将抑肝扶脾方有效化合物成分及其所作用的基因、蛋白质,与 IBS 的生物分子学信息进行网络映射,获取两者关联的靶基因(21 个)、靶蛋白(202 个);继而,在网络上对 IBS 与抑肝扶脾方的关系进行机制性计算,从中得到 11 个关键靶标(ABCB1、CFTR、SLC6A4、TP53、EGFR、GCG、PRNP、ADRA2A、ADRA2B、ADRA2C、NAMPT),并通过 Reactome 通路富集分析及 KEGG 功能预测,将它们的功能及互作关系以网络可视化图的形式呈现(见图 2)。

IBS 脑-肠、肠-脑互动所涉及的两条主要途径[24]——下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis,HPA)和下丘脑-自主神经系统轴(hypothalamic-autonomic nervous system axis,HANS),两者的双向调节作用实则是基于脑-肠轴的 NEI 系统在不同层次的功能调控的体现。故本研究选择 NEI 系统为着眼点对上文靶标蛋白网络作一分析归纳。

靶标 ABCB1、PRNP、ADRA2B、ADRA2C 主要作用于血清素神经突触、海马信号、神经活性配体受体交互作用等神经信号相关通路。靶标 GCG 和 CACNA1H 主要分别作用于胰腺分泌、蛋白消化与吸收相关通路及皮质醇合成与分泌等内分泌信号相关通路。靶标 ADRA2A、CACNA1H、ADRA2C、NAMPT、NFKB1、CASP1、SLC6A4 主要通过 MAPK、Wnt、PPAR、Th17 细胞分化、NF-κB、NOD 样受体、趋化因子等信号通路而对免疫炎症反应、黏膜防御等产生调节作用,靶标 TP53、STAT3、EGFR 则与上述通路中的某些环节存在交叉互动,共同参与对本病发生发展的调控。

此外,徐景藩教授的抑肝扶脾方对本病的调控作用又是多角度、多层次的,体现在一方面,靶标本身具有多维调控的特点;另一方面,靶标间交互错杂,相互影响、相互作用。上述这些特定病理环节仅反映出该靶标蛋白网络的一部分,这些富集于 NEI 相关通路的靶标在该网络其它通路中的效应作用与这些关键环节共同构成了对 IBS 个体神经递质、激素和功能变化的调节作用,以及对胃肠动力、吸收、激素分泌异常和免疫失调的调节作用。因此,根据研究所得相关靶标及其作用信号通路,可以提出符合临床医学意义的假设,譬如靶标 ABCB1 的胆汁分泌相关通路或能协同其血清素相关通路,通过减少腺苷环化酶(adenosine cyclase,AC)的激活,从而减少 cAMP 的生成,降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide,CGRP)、P 物质(substance P, SP)、乙酰胆碱(Ach)等的释放,而发挥对肠道动力及内脏感觉的调节作用[25];靶标 GCG 或通过胰高血糖素样肽 1(glucagon-like peptide 1,GLP-1)发挥其通路效应,通过调节相关胃肠道细胞因子,如生长抑素的分泌,而发挥与靶标 ABCB1 在调节胆汁分泌方面的协同作用。同时,GLP-1 可影响血清素的合成与代谢而发挥调控内脏痛阈的作用[26],而 cAMP-PKA 途径能够调控 GLP-1 受体的转录,cAMP-PKA 的激活又受到血清素的影响[27],推测这两个靶标或通过对 GLP-1 和血清素的调控而具有相互平衡、制约的关系;又如,靶标 CASP1 是半胱天冬酶-1(cysteinyl aspartate specific proteinase 1,caspase-1)的相关靶点,在天然免疫激活过程中,后者的活化受到肠道内菌群稳态的影响,而该靶标可作用于 NOD 样受体(NOD-like receptors,NLRs)信号通路,因而可能具有与 NLRs 炎症体亚家族成员中的域蛋白 6(NOD-like receptor family pyrin domain containing 6,NLRP6)类似的特异性调控肠道炎症的作用,从而参与肠道及内环境菌群稳态的调节[28]。值得注意的是,本研究预测得到的这些调控作用并没有把产生这些异常的因素排除在外,相反,我们能在相关调控通路中找出潜在的致病因素,如应激刺激、肠道菌群失调、胆汁酸分泌异常、固有免疫异常、致病菌感染等,这与复杂性研究的方法论原则是相吻合的[23]。

由此可知,上述靶标蛋白网络实则反映出徐景藩教授抑肝扶脾方对本病功能网络的影响,且以 NEI 为

切入点预测本方的疗效可能是多种因素在微小变动的基础上,系统“涌现”的结果,则体现了本方“多因微效”的作用特征。也正是基于这一靶标蛋白网络,可以看到,与化合物相比,抑肝扶脾方中各味草药的的生物活性相对缓和(“微效”),成分复杂,且具有不同的组合形式(“多因”),譬如白术先安未受邪之地,白芍敛肝之气,肝气既收,则木不克土,土安脾健,二药配合,一阳一阴,刚柔相济,柔肝安脾。陈皮辛苦而温,舒畅气机,理气燥湿,醒脾和胃,助白术恢复脾运;防风具升散之性,辛能散肝郁,香能舒脾气,祛风胜湿以止泻,合白芍使其敛而勿过,疏泄复常。四药相合,可以健脾胜湿而止泻,柔肝理气而止痛,使脾健肝柔,痛泻自止。另投小剂量黄连,取其清热燥湿、厚肠止泻之功;吴茱萸温肾助阳,益火补土,与黄连相配,辛热而反佐开郁。巧添乌梅与黄连相配,取其酸苦可泄肝热而不伤阴;又助白芍酸甘化阴,敛肝收肝,再佐甘草,益气缓急,共奏柔肝止痛之效。如此,白芍、防风、陈皮、乌梅合用,既可条畅疏泄不及之肝郁,又可平敛疏泄太过之亢逆,敛肝祛风并行不悖。故利用网络药理学构建的抑肝扶脾方生物分子网络实则在很大程度上呈现出本方对 IBS “肝郁”、“脾虚”的功能基因网络的影响,揭示其可能通过干预本病有关生物分子及相关基因表达上,发挥“多因微效”的整体调节作用。

如对基于本方相关靶标及其作用信号通路提出的假设进行科学合理的实验验证,则可用于揭示本方的生物学基础,进而剖析徐景藩教授临床辨治本病的科学内涵,使其学术经验具有更大的临床转化价值;或结合本方相关证候的生物分子网络,进行方证对应的深入探究,从而预测本病组方用药的临床生物标志,并利用所发现的规律来进行组方用药的理性设计;经确定的有效成分或能成为开发疾病新药的候选对象;探索得到的创新机制或能进一步指导本病的临床管理等,则将为徐景藩教授辨治本病隐性知识的挖掘奠定基础。

诚然,基于网络药理学对徐景藩教授治疗本病的抑肝扶脾方药效物质和效应机制进行的预测与分析尚存有不足之处,譬如疾病相关的关键基因数据库、中药药效成分群数据信息库等还有待进一步完善,本研究结果尚不能全面、真实地揭示抑肝扶脾方复杂的效应机制。随着中医药基础与临床研究数据的积累、计算与实验方法的深入交叉、各种组学技术以及高内涵/高通量技术的发展,对抑肝扶脾方治疗 IBS、调节脑-肠互动功能的深入揭示将有望弥补西药仅在单一机制中起效之不足,进而为缺乏治疗金标准的临床管理现状提供契机。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] Buckley MM, O' Mahony SM, O' Malley D. Convergence of neuro-endocrine-immune pathways in the pathophysiology of irritable bowel syndrome[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(27): 8846-8858.

[2] 李丽. 徐景藩教授抑肝扶脾法治疗腹泻型肠易激综合征经验应用的研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.

[3] Wang YY, Fan H, Qi X, et al. Are personalized Tongxie Formula based on diagnostic analyses more effective in reducing IBS symptoms? A randomized controlled trial[J]. Complementary Therapies Med, 2018, 40(2): 95-105.

[4] 董红彦, 杜武勋, 张富庚, 等. 网络药理学及其在中医药领域的研究进展[J]. 中医药导报, 2016, 22(18): 67-70.

[5] 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.

[6] Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 46(D1): D1074-D1082.

[7] Piñero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D833-D839.

[8] McKusick VA. Mendelian inheritance in man and its online version, OMIM[J]. Am J Hum Genetics, 2007, 80(4): 588-604.

[9] UniProt Consortium. Reorganizing the protein space at the Universal Protein Resource (UniProt)[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 40(D1): D71-D75.

[10] Ru JL, Li P, Wang JN, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminf, 2014, 6(1): 13-18.

[11] Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, et al. PubChem substance and compound databases[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 44(D1): D1202-D1213.

[12] Szklarczyk D, Santos A, von Mering C, et al. STITCH 5: augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 44(D1): D380-D384.

[13] Liu ZY, Guo FF, Wang Y, et al. BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21146.

[14] Kuhn M, von Mering C, Campillos M, et al. STITCH: interaction networks of chemicals and proteins[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 36(Suppl): D684-D688.

[15] Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D362-D368.

[16] Lopes CT, Franz M, Kazi F, et al. Cytoscape Web: an interactive web-based network browser[J]. Bioinformatics, 2010, 26(18): 2347-2348.

[17] de Jong H, Geiselmann J, Hernandez C, et al. Genetic Network Analyzer: qualitative simulation of genetic regulatory networks[J]. Bioinformatics, 2003, 19(3): 336-344.

[18] Anitha P, Anbarasu A, Ramaiah S. Gene network analysis reveals the association of important functional partners involved in antibiotic resistance: A report on an important pathogenic bacterium *Staphylococcus aureus*[J]. Gene, 2016, 575(2): 253-263.

[19] Croft D, O' Kelly G, Wu G, et al. Reactome: a database of reactions, pathways and biological processes[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 39(Suppl): D691-D697.

[20] Gao L, Wang KX, Zhou YZ, et al. Uncovering the anticancer mechanism of Compound Kushen Injection against HCC by integrating quantitative analysis, network analysis and experimental validation[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 624-638.

[21] Kanehisa M, Goto S, Furumichi M, et al. KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 38(Suppl): D355-D360.

[22] Besedovsky H, Sorkin E. Network of immune-neuroendocrine interactions[J]. Clin Exp Immunol, 1977, 27(1): 1-12.

[23] 李梢, 王永炎, 季梁, 等. 复杂系统意义下的中医药学及其案例研究[J]. 系统仿真学报, 2002, 14(11): 1429-1431.

[24] Stasi C, Rosselli M, Bellini M, et al. Altered neuroendocrine-immune pathways in the irritable bowel syndrome: the top-down and the bottom-up model[J]. J Gastroenterol, 2012, 47(11): 1177-1185.

[25] 窦爱霞, 童建华. cAMP 信号途径和基因表达调控[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2004, 24(12): 1070-1073.

[26] 陈燕. GLP-1 受体激动剂 exendin-4 对内脏高敏感模型大鼠内脏敏感性作用的研究 2. 5-HT_(2B)受体在不同亚型肠易激综合征模型大鼠发病中的作用[D]. 广州: 南方医科大学, 2012.

[27] 姜吉文, 秦臻, 吕学诜, 等. GLP-1 受体基因表达 cAMP-PKA 途径调控的研究[J]. 佳木斯医学院学报, 1996, 19(3): 1-4.

[28] Menno VLC, Dixit VM. Immunology: In command of commensals[J]. Nature, 2011, 474(7349): 42-43.

(收稿: 2019-02-21 在线: 2019-11-04)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶

中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志