

基于网络药理学探讨丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的作用机制^Δ

陈艳^{1*}, 孙连庆², 胡粒山^{1#} (1. 新疆生产建设兵团第九师医院中医肿瘤科, 新疆 伊犁 834700; 2. 西安交通大学第一附属医院中医科, 西安 710000)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)02-0204-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.02.020

摘要 目的: 基于网络药理学平台, 预测丹栀逍遥散各药物活性成分对围绝经期综合征的作用靶点, 探讨丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的具体作用机制。方法: 通过中药系统药理学数据库和分析平台查找丹栀逍遥散的相关靶点, 通过 GeneCards 数据库查找围绝经期综合征的相关靶点, 然后通过 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建丹栀逍遥散成分-靶点网络, 并分析丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的作用靶点、生物学过程以及相关通路。结果: 筛选得到丹栀逍遥散的 130 种化合物和对应靶点 272 个, 其中丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的作用靶点有 47 个, 以白细胞介素 1 β (IL-1 β)、C-C 基序趋化因子 2 (CCL2)、C 反应蛋白 (CRP)、白细胞介素 10 (IL-10)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、丝裂原激活蛋白激酶 1 (MAPK1) 和白细胞介素 4 (IL-4) 等靶点作用最为突出。从网络药理学分析结果推测, 丹栀逍遥散可能通过免疫功能、神经内分泌调节、炎症反应和氧化应激等相关生物学功能或途径作用于围绝经期综合征, 从而发挥治疗作用。结论: 丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的作用机制主要体现在免疫功能、神经内分泌调节、炎症反应和氧化应激等方面。

关键词 丹栀逍遥散; 围绝经期综合征; 网络药理学

Mechanism of Danzhi Xiaoyao Powder in the Treatment of Perimenopausal Syndrome Based on Network Pharmacology^Δ

CHEN Yan¹, SUN Lianqing², HU Lishan¹ (1. Dept. of Traditional Chinese Medicine Oncology, the Ninth Division Hospital of Xinjiang Production and Construction Corps, Xinjiang Yili 834700, China; 2. Dept. of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To predict the target of action of the active ingredients of Danzhi Xiaoyao powder on perimenopausal syndrome based on the network pharmacology platform, and to explore the specific mechanism of action of Danzhi Xiaoyao powder in the treatment of perimenopausal syndrome. **METHODS:** Relevant targets of Danzhi Xiaoyao powder were searched through Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, related targets of perimenopausal syndrome were identified by GeneCards database, composition-target network of Danzhi Xiaoyao powder was constructed by STRING database and Cytoscape software, and the targets, biological processes and related pathways of Danzhi Xiaoyao powder in the treatment of perimenopausal syndrome were analyzed. **RESULTS:** A total of 130 compounds and 272 corresponding targets of Danzhi Xiaoyao powder were screened. There were 47 targets of Danzhi Xiaoyao powder in the treatment of perimenopausal syndrome, and interleukin 1 β (IL-1 β), C-C-motif chemokine 2 (CCL2), C-reactive protein (CRP), interleukin 10 (IL-10), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) and interleukin 4 (IL-4) were the most prominent targets. According to the results of network pharmacology analysis, Danzhi Xiaoyao powder might act on perimenopausal syndrome through related biological functions or pathways such as immune function, neuroendocrine regulation, inflammatory response and oxidative stress. **CONCLUSIONS:** The mechanism of action of Danzhi Xiaoyao powder in the treatment of perimenopausal syndrome is mainly reflected in immune function, neuroendocrine regulation, inflammatory response and oxidative stress.

KEYWORDS Danzhi Xiaoyao powder; Perimenopausal syndrome; Network pharmacology

^Δ 基金项目: 新疆生产建设兵团九师科技专项项目

* 副主任医师。研究方向: 中医治疗。E-mail: 2986525808@qq.com

通信作者: 主治医师。研究方向: 中医脾胃病的治疗。E-mail: 523864812@qq.com

围绝经期综合征指女性在绝经前后出现的汗出、潮热、心慌和心悸等典型的自主神经系统功能紊乱症状, 同时伴随焦虑、抑郁等神经心理症状的一系列症候群, 属于中医“断经前后诸证”“郁证”和“脏躁”等范畴^[1-2]。相关研究结果表明, 围绝经期综合征在围绝经期女性中的发病率约为 60%, 其发生

发展与社会、心理因素密切相关,是生物-心理-社会医学模式倡导下亟需关注的典型疾病之一^[3]。丹栀逍遥散出自明代薛己的《内科摘要》,薛氏在逍遥散基础上加入丹皮、栀子,以增强疏肝清热之功^[4]。丹栀逍遥散针对女性“有余于气,不足于血”的体质特点,在疏肝解郁的同时兼顾养营血而健脾土,从而达到调理肝脾的目的^[5-6]。网络药理学是一门新学科,其扩大了现有药物的靶点空间,可以针对中药复方多成分、多靶点的特点,找寻疾病靶点与化学组分的关系,同时为中药的机制研究提供了新方法^[7-9]。本研究从网络药理学角度出发探析丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的相关机制,同时为临床应用药提供参考。

1 资料与方法

1.1 丹栀逍遥散成分-靶点网络的构建

通过中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)(<http://old.tcmssp-e.com/tcmssp.php>)进行丹栀逍遥散成分及相应靶点的查询及筛选,在该数据库中依次输入丹栀逍遥散方中的“柴胡”“白芍”“当归”“茯苓”“白术”“薄荷”“生姜”“丹皮”“栀子”和“甘草”,将类药性(DL)设置为 ≥ 0.18 ,将口服生物利用度(OB)设置为 $\geq 30\%$,以搜集丹栀逍遥散所有符合标准的化学成分及靶点,输入 Cytoscape 3.7.0 软件建立丹栀逍遥散的成分-靶点网络^[10]。

1.2 药物-靶点相互作用网络的构建

获得丹栀逍遥散可能作用的靶标蛋白后,通过 GeneCards 数据库(<http://www.genecards.org/>)获取围绝经期综合征相关的疾病靶点,然后在 Excel 软件中筛选出丹栀逍遥散与围绝经期综合征的交集靶点。将获得的交集靶点数据结果输入 STRING 在线数据库(<https://string-db.org/>),把物种仅限于“智人(Homo sapiens)”,置信度得分 >0.4 ,构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,并寻找 PPI 网络的核心基因。

1.3 靶点的生物学功能及通路分析

利用 Cytoscape 中的 ClueGo 插件将“1.2”项下得到的丹栀逍遥散-围绝经期综合征交集蛋白靶标基因进行基因本体(GO)分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,仅考虑 $P<0.05$ 的生物学功能和富集通路。通过富集分析,考察丹栀逍遥散作用于围绝经期综合征的潜在靶标、可能具有的生物学功能及参与的生物学通路,进而预测丹栀逍遥散治疗围绝经期综合征的主要作用机制。

2 结果

2.1 丹栀逍遥散成分-靶点网络

根据 TCMSP 数据库的结果,共得到 187 种化合物,包括柴胡 17 种、白芍 13 种、当归 2 种、茯苓 15 种、白术 7 种、生姜 5 种、薄荷 10 种、丹皮 11 种、栀子 15 种和甘草 92 种,删去重复及未找到对应靶点的化合物,最终筛选出丹栀逍遥散的 130 种化合物和与化学成分相关的所有靶点 272 个,见图 1。由图 1 可见,目标网络包含 402 个节点和 3 088 个边缘;图中内圈的三角形节点为丹栀逍遥散的成分,外圈的圆形节点为

其相对应的靶点;与节点相连的边越多,表示节点的度值越大,节点越重要。

2.2 丹栀逍遥散-围绝经期综合征靶点-靶点互作网络

使用 GeneCards 数据库得到围绝经期综合征的 159 个疾病靶点,利用 Excel 函数筛选出丹栀逍遥散-围绝经期综合征的交集靶点 47 个。将 47 个靶点输入 STRING 在线数据库,得到丹栀逍遥散-围绝经期综合征共同靶点-靶点互作网络,见图 2。由图 2 可见,靶点-靶点互作网络包含 47 个节点和 474 个边缘;图中每个圆形节点代表 1 个靶点;与节点相连的边越多,表示节点的度值越大,其中内圈的 10 个节点为前 10 个靶点。丹栀逍遥散在围绝经期综合征中发挥重要作用的前 10 个靶点为白细胞介素 1 β (IL-1 β)、C-C 基序趋化因子 2(CCL2)、C 反应蛋白(CRP)、白细胞介素 10(IL-10)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、丝裂原激活蛋白激酶 1(MAPK1)、骨桥蛋白(SPP1)、白细胞介素 4(IL-4)、血管细胞黏附蛋白 1(VCAM1)以及脂联素(ADIPOQ)。

2.3 丹栀逍遥散-围绝经期综合征的 GO 富集分析

将 47 个丹栀逍遥散与围绝经期综合征的交集靶点基因上传至 Cluego,筛选出 $P<0.05$ 的 GO 生物学过程和通路,共得到 326 个生物学过程,其中前 10 个生物学过程见表 1。

表 1 丹栀逍遥散-围绝经期综合征 GO 分析中前 10 个生物学过程

Tab 1 The top 10 biological processes in GO analysis of Danzhi Xiaoyao powder-perimenopausal syndrome	
中文名称	英文名称
血管生成的正调控	smooth muscle cell proliferation
单加氧酶活性	monooxygenase activity
T 细胞增殖的调节	regulation of T cell proliferation
细胞因子的产生与免疫反应有关	cytokine production involved in immune response
调节免疫应答分子介体的产生	regulation of production of molecular mediator of immune response
上皮细胞凋亡过程	negative regulation of epithelial cell proliferation
活性氧代谢过程的正调控	positive regulation of reactive oxygen species metabolic process
调节免疫应答中涉及的细胞因子产生	regulation of cytokine production involved in immune response
外在凋亡信号通路的负调控	negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway
白细胞介素 8 的产生	interleukin-8 production

2.4 丹栀逍遥散-围绝经期综合征的 KEGG 富集分析

将 47 个丹栀逍遥散与围绝经期综合征的交集靶点基因上传至 Cluego,筛选出 $P<0.05$ 的 KEGG 通路,共得到 66 条相关通路,其中前 10 个通路见表 2。

3 讨论

网络药理学分析结果显示,丹栀逍遥散中的有效活性成分与多个靶基因有关,同时发现该方在治疗围绝经期综合征过程中与少数重要靶点有较强的联系。围绝经期综合征患者处于免疫激活状态,雌激素缺乏易导致免疫细胞释放生物活性炎症信号因子,从而诱发骨质疏松症、抑郁和焦虑等围绝经期典型症状^[11-12]。有研究结果表明,四磨饮子能使围绝经期

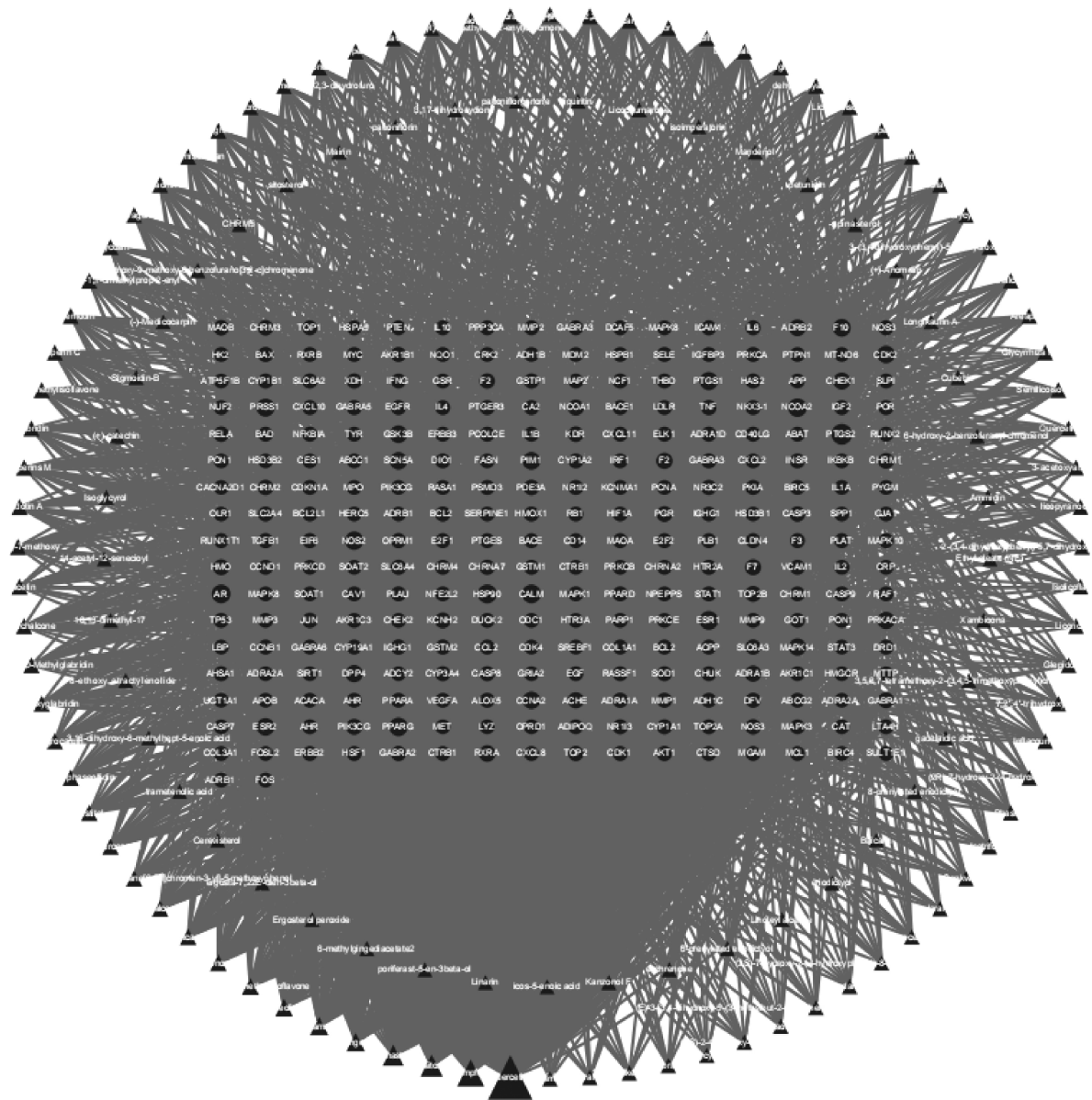


图1 丹栀逍遥散成分-靶点网络

Fig 1 Composition-target network of Danzhi Xiaoyao powder

表2 丹栀逍遥散-围绝经期综合征 KEGG 分析中前 10 个通路

Tab 2 The top 10 biological processes in KEGG analysis of Danzhi Xiaoyao powder-perimenopausal syndrome

中文名称	英文名称
糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications
细胞衰老	cellular senescence
IL-17 信号通路	IL-17 signaling pathway
FoxO 信号通路	FoxO signaling pathway
TNF 信号通路	TNF signaling pathway
类固醇激素的合成	steroid hormone biosynthesis
Th17 细胞分化	Th17 cell differentiation
p53 信号通路	p53 signaling pathway
Toll 样受体信号通路	Toll-like receptor signaling pathway
T 细胞受体信号通路	T cell receptor signaling pathway

伴初发重度抑郁患者 5-羟色胺含量升高及 IL-1 β 、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 及 CRP 等炎症因子水平降低^[13]。根据本研究的 PPI 分析结果推断,丹栀逍遥散可能通过调控 IL-1 β 、CRP、IL-10 和 IL-4 等炎症因子的水平,从而对围绝经期综合征起到治疗作用。

从本研究的 GO 与 KEGG 富集分析结果推测,丹栀逍遥散可能通过对免疫功能、神经内分泌调节、炎症反应和氧化应激等相关生物学功能或途径对围绝经期综合征起到调控作用。现代医学认为,围绝经期综合征发病的重要病理环节是神经-内分泌-免疫系统的调节失衡,围绝经期卵巢功能衰退、体内雌激素水平骤降会导致这一系统不适应上述变化而发生紊乱,从而引发一系列自主神经失调症状^[14-16]。针对中药改善内分泌及免疫系统功能方面,有不少学者展开了相关研究,有研究结

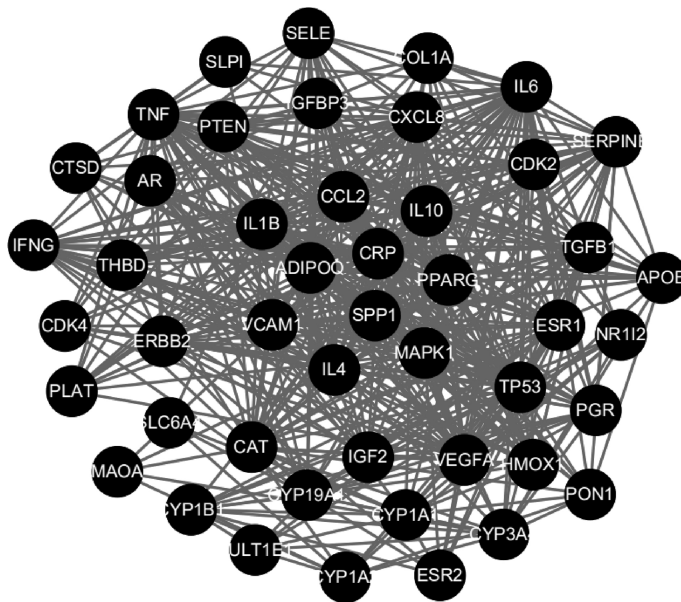


图2 丹栀逍遥散-围绝经期综合征共同靶点-靶点互作网络

Fig 2 Common target-target interaction network of Danzhi Xiaoyao powder-perimenopausal syndrome

果证实,针对围绝经期综合征(肝肾阴虚证)患者神经-内分泌-免疫系统功能的调节,更年灵汤临床疗效良好^[17]。另有研究结果表明,补肾疏肝安神方能够对围绝经期模型大鼠起到治疗作用,并且其治疗围绝经期综合征的作用机制可能与调节机体内分泌、免疫系统功能有关^[14]。此外,围绝经期综合征患者体内处于氧化应激状态,而氧化应激可能与围绝经期综合征的发生发展关系密切。有研究结果证实,柚皮素能够通过促进子宫组织中 ER α 36 蛋白表达,抑制大鼠氧化应激,从而对围绝经期的发展起到一定程度的抑制作用^[18]。

综上所述,丹栀逍遥散可能通过调控 IL-1 β 、CCL2、CRP、IL-10、PPARG、MAPK1 和 IL-4 等多个靶点,通过调节免疫功能、神经内分泌调节、炎症反应和氧化应激等多个途径作用于围绝经期综合征。本研究结果证明,丹栀逍遥散具有多靶点、多途径治疗围绝经期综合征的潜力,也符合围绝经期综合征复杂的病理机制,可为日后进一步研究提供一定的参考。

参考文献

- [1] 雷磊. 围绝经期综合征[M]. 长沙:湖南科学技术出版社, 2011: 17.
- [2] 程巍,李长慧,王艳萍.“围绝经期综合征”中医健康状态辨识体系专家共识[J]. 西部中医药,2021,34(9):89-91.
- [3] 全国围绝经期妇女健康调查协作组. 妇女更年期症状及有关因素的调查分析[J]. 中华医学杂志, 1991, 71(10): 585-587.
- [4] 刘一凡,贺文彦. 丹栀逍遥散[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2009:3-4.
- [5] 李雪峰. 丹栀逍遥散通过凋亡途径抗乳腺癌及其分子机制的研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- [6] 王庆其,周国琪. 黄帝内经百年研究大成[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2018:903-905.
- [7] HOPKINS A L. Network pharmacology[J]. Nat Biotechnol, 2007, 25(10): 1110-1111.

- [8] HOPKINS A L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11): 682-690.
- [9] 张佳琪,唐仕欢,李德凤,等. 基于整合药理学平台的六味地黄丸治疗糖尿病的分子机制研究[J]. 复杂系统与复杂性科学, 2018, 15(1): 24-30.
- [10] LIU J F, HU A N, ZAN J F. Network pharmacology deciphering mechanisms of volatiles of Wendan granule for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 7826769.
- [11] 陈素平. 加味甘麦大枣汤治疗围绝经期伴初发重度抑郁患者疗效及对神经递质和炎症因子水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(20): 2196-2198, 2202.
- [12] 王贵贤,常麦会,李庆丽,等. 舒肝颗粒治疗围绝经期肝郁气滞型抑郁症的疗效观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(6): 114-119.
- [13] 陈欢欢,叶德力. 四磨饮子对围绝经期伴初发重度抑郁患者 5-HT 及炎症因子水平的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(9): 108-111.
- [14] 李柳叶,王国华. 补肾疏肝安神方对围绝经期模型大鼠内分泌-免疫功能的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(6): 23-25.
- [15] 夏雪怡,张川利. 中西医结合治疗对围绝经期综合征患者血清炎症因子水平和免疫功能影响[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(11): 2513-2516.
- [16] 庞大勇,姜信诚,程卫东,等. 玫参颗粒对围绝经期大鼠内分泌-免疫功能的影响[J]. 中药药理与临床,2015,31(2):69-72.
- [17] 尹金磊,关素珍,赵长普. 更年灵汤治疗女性围绝经期综合征的疗效及对内分泌免疫系统的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 227-230.
- [18] 李俊英,武静,王睿. 柚皮素对围绝经期大鼠免疫及内分泌功能的影响及分子机制[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(6): 2884-2888.

(收稿日期:2021-01-03 修回日期:2021-05-17)