

基于网络药理学探讨胆宁片治疗慢性胆囊炎的活性成分及其分子作用机制[△]

杨 提^{1,2*}, 王 雪^{2,3}, 杨云云², 丁 楠², 王学彬^{2,4#1}, 陈井霞^{2#2} (1. 上海市浦东新区公利医院药剂科, 上海 200135; 2. 海军军医大学第一附属医院药剂科, 上海 200433; 3. 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院, 沈阳 110016; 4. 复旦大学药学院生物药物系, 上海 201203)

中图分类号 R96;R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)05-0532-07

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.05.004

摘 要 目的: 基于网络药理学探讨胆宁片治疗慢性胆囊炎的活性成分及其分子作用机制。方法: 通过中药系统药理学数据库与分析平台数据库和草本组鉴数据库获得中药胆宁片的化学组分, 并根据药动学参数筛选有效活性成分和潜在作用靶点; 通过 GeneCards、DisGeNET 及 Drugbank 数据库获取慢性胆囊炎的相关靶点, 通过 Venny 2.1.1 绘制韦恩图得到两者共有靶点; 应用 STRING 数据库构建化合物和疾病共有靶点蛋白质-蛋白质相互作用网络图后, 运用 Cytoscape 3.7.2 软件实现可视化并进行网络拓扑学分析筛选核心靶点, 最后利用 R 语言软件 Cluster Profiler GO、R 插件对核心靶点进行富集分析。结果: 中药胆宁片与慢性胆囊炎共有靶点 60 个, 其中关键靶点有肿瘤蛋白 p53、Cyclin 依赖性激酶抑制剂 1、G1/S-特异性 Cyclin-D1、原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 1、表皮生长因子受体、血管内皮生长因子 A、肿瘤坏死因子、基质金属蛋白酶 9、受体酪氨酸蛋白激酶 2 和视网膜母细胞瘤相关蛋白 1 等, 主要涉及膀胱癌、人巨细胞病毒感染以及磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 等信号通路。结论: 胆宁片治疗慢性胆囊炎可能与抗炎、调节胆固醇代谢相关。

关键词 网络药理学; 胆宁片; 慢性胆囊炎; 靶点预测; 分子机制

Exploration on Active Ingredients and Molecular Mechanism of Danning Tablets in the Treatment of Chronic Cholecystitis Based on Network Pharmacology[△]

YANG Ti^{1,2}, WANG Xue^{2,3}, YANG Yunyun², DING Nan², WANG Xuebin^{2,4}, CHEN Jingxia² (1. Dept. of Pharmacy, Gongli Hospital of Shanghai Pudong New District, Shanghai 200135, China; 2. Dept. of Pharmacy, The First Affiliated Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Academic of Life Science and Biopharmaceutical, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 4. Dept. of Biological Medicines, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the active components and molecular mechanism of Danning tablets in the treatment of chronic cholecystitis based on network pharmacology. **METHODS:** The chemical components of Danning tablets were obtained from the TCMSD database and herbal group identification database, and the active ingredients and potential targets were screened according to pharmacokinetic parameters; the targets related to chronic cholecystitis were obtained from the GeneCards, DisGeNET and Drugbank databases, and Venn diagram was drawn with Venny 2.1.1 to obtain the shared targets; the STRING database was used to construct protein-protein interaction network of compounds and shared disease targets, then Cytoscape 3.7.2 software was used to implement visualization and perform network topology analysis to screen the core targets, finally the Cluster Profiler GO. R plug-in was used to conduct enrichment analysis on the core targets. **RESULTS:** There were 60 shared targets in Danning tablets and chronic cholecystitis, among which the key targets were tumor protein p53, CDKN1A, CCND1, RAF1, epidermal growth factor receptor, vascular endothelial growth factor A, tumor necrosis factor, matrix metalloproteinase 9, ERBB2 and RB1, etc., mainly involving bladder cancer, human cytomegalovirus infection and signaling pathways such as phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B. **CONCLUSIONS:** The treatment of chronic cholecystitis with Danning

△ 基金项目: 上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划项目(沪卫计人事[2019]72号)

* 药师。研究方向: 临床药理学和网络药理学。E-mail: yangti009@sina.com

通信作者 1: 副主任药师, 博士研究生。研究方向: 临床药理学和网络药理学。E-mail: binxuewang@126.com

通信作者 2: 主管药师。研究方向: 临床药理学和网络药理学。E-mail: chenjingxia_2012@163.com

tablets may be related to anti-inflammatory and regulation of cholesterol metabolism.

KEYWORDS Network pharmacology; Danning tablets; Chronic cholecystitis; Target prediction; Molecular mechanism

慢性胆囊炎一般是由长期存在的胆囊结石或急性胆囊炎反复发作迁延不愈导致的胆囊慢性炎症。根据胆囊内是否存在结石,分为结石性胆囊炎和非结石性胆囊炎。目前,慢性胆囊炎以西药及手术治疗等为主,但结石残余率、复发率高,手术并发症及再手术的发生风险较高。有研究表明,中药治疗慢性胆囊炎的临床效果显著且远期疗效可观^[1]。中药胆宁片的主要成分为大黄、虎杖、青皮和山楂等 7 味中药,具有消炎利胆、防石护肝、清热通下之功效,对于慢性胆囊炎具有较好的治疗效果,是为数不多的具有防石溶石作用的纯中药制剂。虽然胆宁片在治疗慢性胆囊炎和预防胆固醇结石形成中有一定的疗效,但其作用靶点仍不明确^[2]。网络药理学分析是在系统生物学与多向药理学的基础上提出的新思想、新策略,能够系统综合地观察药物对疾病网络的干预和影响,尤其适用于“多成分-多靶点-多通路”的中药药理学研究^[3]。本研究通过网络药理学方法,探讨胆宁片治疗慢性胆囊炎的药物作用靶点,为胆宁片后续药理作用研究提供基础理论。

1 资料与方法

1.1 胆宁片活性成分及潜在靶点获取

胆宁片由大黄、虎杖、青皮、陈皮、郁金、山楂和白茅根等 7 味中药组成,通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>)和草本组鉴数据库(HERB)(<http://herb.ac.cn/>)检索中药胆宁片的化学组分。口服生物利用度(OB)指化合物在给药后,吸收进入血液循环系统的相对量,是决定化合物是否具有分子类药性的关键指标;类药性(DL)反映化合物的结构特征及理化性质,可用于评估生物分子作为药物的可能性。因此,根据网络药理学系统特点,以 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 为条件,筛选具有生物活性的化合物及其作用的蛋白质靶点,并导入 Uniprot 蛋白质数据库(<http://www.uniprot.org>)得到标准化的蛋白质靶点信息。

1.2 慢性胆囊炎相关靶点的获取

以“gallbladder”和“chronic cholecystitis”为关键词,分别在 GeneCards 数据库(<http://www.GeneCards.org>)、DisGeNET 数据库(<http://www.disgenet.org/>)及 Drugbank 数据库(<https://go.drugbank.com/>)中检索,得到慢性胆囊炎相关靶点。在 GeneCards 数据库中,Score 值越高,靶点与疾病之间的关联越密切,以相关性分值 ≥ 5 分作为筛选条件,对检索到的慢性胆囊炎靶点进行重整,再合并检索结果去重后,最终获得慢性胆囊炎相关靶点。

1.3 胆宁片作用于慢性胆囊炎相关靶点的预测

利用 Venny 2.1 绘制胆宁片-慢性胆囊炎靶点韦恩图,得到药物-疾病共有靶点,即胆宁片治疗慢性胆囊炎的作用靶点。

1.4 胆宁片所含化合物与慢性胆囊炎相关靶点相互作用的网络构建

将每个化学成分与其作用的慢性胆囊炎靶点相联系,通过 Cytoscape 3.7.2 软件构建胆宁片成分-慢性胆囊炎相关靶

点相互作用网络并绘制网络图,利用软件中的内置工具包 NetworkAnalyzer 分析网络节点度和介数中心度。

1.5 胆宁片治疗慢性胆囊炎靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将“1.3”项下所得共有靶点输入 STRING 平台(<http://www.string-db.org/>),设定物种为“Homo sapiens”,最小相互作用阈值设定为“medium confidence”(0.4),其余设置均为默认设置,构建胆宁片-慢性胆囊炎靶点 PPI 网络图。再将 PPI 网路数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件,通过 Cytoscape 3.7.2 内置工具包 NetworkAnalyzer 分析 PPI 网络拓扑学参数,并根据网络拓扑学参数筛选核心靶点,再利用 R 语言软件中 count.R 插件统计筛选出的核心靶点在 PPI 网络中的出现频次分布情况。

1.6 基因本体(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析

GO 对基因和蛋白质功能进行限定和描述,将基因功能分为 3 个部分,即细胞组分(CC)、分子功能(MF)和生物过程(BP)^[4]。KEGG 是一个整合基因组、化学和系统功能信息的数据库^[5]。应用 R 语言软件中 Cluster Profiler GO.R 插件及 Perl 语言对胆宁片活性成分及药物-疾病共有靶点进行 GO 分析和 KEGG 通路富集,对结果进行可视化分析,得到胆宁片治疗慢性胆囊炎的生物功能和信号通路。

1.7 胆宁片成分-慢性胆囊炎靶点-通路网络图的构建

运用 Cytoscape 3.7.2 构建胆宁片成分-慢性胆囊炎靶点-通路网络图,利用 Cytoscape 3.7.2 内置工具分析有效成分及靶点的网络拓扑参数,包括连接度、介度及紧密度等,并根据网络拓扑学参数判断核心靶点及发挥药效的主要活性成分。

2 结果

2.1 胆宁片的主要活性成分和潜在靶点

通过 TCMSP 数据库和 HERB 数据库对中药胆宁片大黄、虎杖、青皮、陈皮、郁金、山楂和白茅根分别进行检索,筛选 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 的活性成分及相应的作用靶点,得到活性成分 32 种,潜在作用靶点 251 个。

2.2 慢性胆囊炎相关疾病靶点获取

通过 GeneCards 数据库、DisGeNET 数据库及 Drugbank 数据库分别检索关键词“gallbladder”和“chronic cholecystitis”以获取疾病靶点,合并搜索结果后删除重复靶点,得到 361 个慢性胆囊炎相关靶点。

2.3 胆宁片活性成分与慢性胆囊炎的共有靶点

将上述筛选所得的胆宁片活性成分靶点与慢性胆囊炎相关靶点取交集,并通过 Venny 2.1 绘制韦恩图,得到胆宁片治疗慢性胆囊炎的作用靶点 60 个(见图 1)及其对应的潜在活性化合物 24 种,根据共有靶点与活性化合物化合物可知所屬中药名称,见表 1。

2.4 胆宁片靶点-慢性胆囊炎相互作用网络

将候选化学成分与慢性胆囊炎靶点通过 Cytoscape 3.7.2

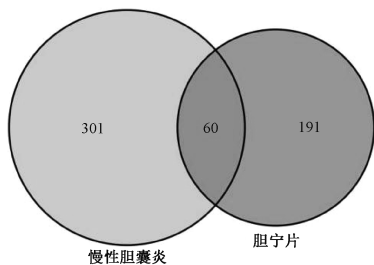


图1 胆宁片活性成分-慢性胆囊炎靶点韦恩图
Fig 1 Wayne diagram of active ingredients of Danning tablets-chronic cholecystitis targets

表1 胆宁片治疗慢性胆囊炎活性成分基本药物参数

Tab 1 Basic drug parameters of active ingredients in Danning tablets in the treatment of chronic cholecystitis

MOLID	活性化合物	OB/%	DL	所属中药
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	虎杖
MOL004328	naringenin	59.29	0.21	青皮、陈皮和郁金
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	大黄、虎杖、郁金和白茅根
MOL005828	nobiletin	61.67	0.52	青皮、陈皮
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	虎杖
MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24	大黄
MOL013287	physovenine	106.21	0.19	虎杖
MOL005814	tangeretin	21.38	0.43	陈皮
MOL002268	rhein	47.07	0.28	大黄、虎杖
MOL005100	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one	47.74	0.27	青皮、陈皮
MOL002281	toralactone	46.46	0.24	大黄
MOL000096	(-)-catechin	49.68	0.24	大黄
MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24	虎杖
MOL001803	sinensetin	50.56	0.45	青皮
MOL005811	hepta-3	23.91	0.58	陈皮
MOL002235	eupatin	50.80	0.41	大黄
MOL013281	6,8-Dihydroxy-7-methoxyxanthone	35.83	0.21	虎杖
MOL001798	neohesperidin_qt	71.17	0.27	青皮
MOL007930	hesperidin	13.33	0.67	陈皮
MOL005812	naringin	6.92	0.78	陈皮
MOL000449	stigmastrol	43.83	0.76	白茅根
MOL005815	citromitin	86.90	0.51	陈皮
MOL001870	luteolinidin	53.66	0.22	白茅根
MOL000387	bifendate	31.10	0.67	白茅根

(physovenine)、橘皮素(tangeretin)和大黄酸(rhein)等,所属活性成分可能胆宁片是治疗慢性胆囊炎的物质基础。

2.5 PPI 网络构建

将药物-疾病共有靶点 60 个输入 STRING 平台得到胆宁片-慢性胆囊炎共有靶点 PPI 网络图(40 个节点,455 条边),见图 3。应用 R 语言 count.R 统计出现频率前 15 位的蛋白靶点,其中出现频率较高的有肿瘤蛋白 p53(TP53)、白细胞介素 6(IL-6)和血管内皮生长因子 A(VEGFA)等,见图 4。

2.6 GO 功能分析与 KEGG 富集分析结果

通过 GO 分析得到 BP、CC 和 MF 3 类,并根据信号通路中基因所占总体输入基因的比率进行排列,筛选出前 15 位,见图 5(A—C)。如图 5(A)所示,胆宁片治疗慢性胆囊炎主要涉及的 BP 为上皮细胞增殖(epithelial cell proliferation)、细胞的氧化应激反应(cellular response to oxidative stress)和细胞的化学应激反应(cellular response to chemical stress)等;如图 5(B)所示,治疗的关键靶点主要作用于核膜(nuclear membrane)、囊腔(vesicle lumen)和顶端质膜(apical plasma membrane)等;如图 5(C)所示,主要涉及的 MF 为受体配体活动(receptor ligand activity)、信号受体活动(signaling receptor activity)和生长因子

图2 胆宁片活性成分-慢性胆囊炎靶点网络图

Fig 2 Network diagram of active ingredients of Danning tablets-chronic cholecystitis targets

木犀草素(luteolin)、芦荟大黄素(aloe-emodin)、毒扁豆次碱

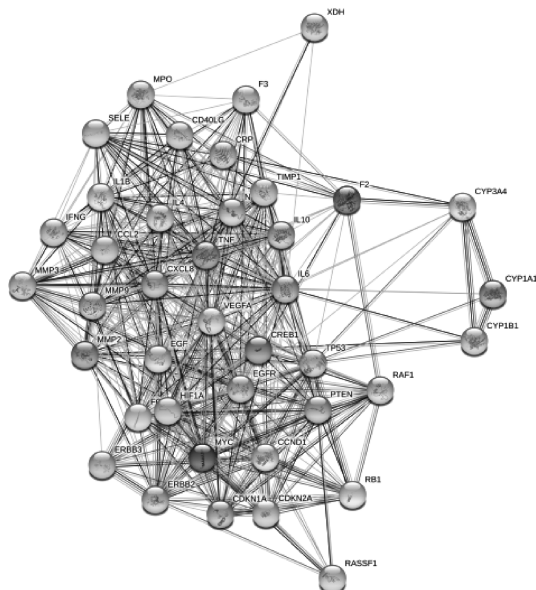


图3 胆宁片与慢性胆囊炎共有靶点 PPI 网络图

Fig 3 Network diagram of protein-protein interaction (PPI) of shared targets of Danning tablets and chronic cholecystitis

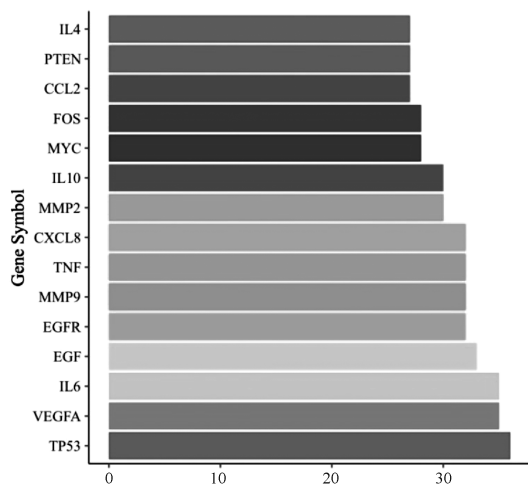


图4 胆宁片与慢性胆囊炎共有靶点出现频次分布图

Fig 4 Frequency distribution of shared targets of Danning tablets and chronic cholecystitis

受体结合 (growth factor receptor binding) 等。

根据通路基因所占总体输入基因的比率排序,展示排序居前 20 的信号通路,见图 5(D)。胆宁片治疗慢性胆囊炎的作用靶点主涉及的信号通路主要包括膀胱癌 (bladder cancer)、人巨细胞病毒感染 (human cytomegalovirus infection) 和磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway) 等,体现了胆宁片多成分、多靶点、多通路的作用特点,见表 2。

2.7 胆宁片成分-慢性胆囊炎靶点-通路网络图的构建

运用 Cytoscape 3.7.2 构建胆宁片成分-慢性胆囊炎靶点-通路网络,见图 6。运用 Cytoscape 3.7.2 内置的 Network Analyzer 分析胆宁片治疗慢性胆囊炎网络拓扑学参数,得到核

心成分及核心作用靶点。结果表明,槲皮素 (quercetin) 连接度为 32,介度为 0.242 652,紧密度为 0.652 174,预测槲皮素为胆宁片治疗慢性胆囊炎的主要成分;其次为木犀草素 (luteolin)、川陈皮素 (nobiletin) 和芦荟大黄素 (aloe-emodin),见表 3。TP53 在网络中的连接度为 22,介度为 0.076 612,紧密度为 0.571 429,预测 TP53 为胆宁片治疗慢性胆囊炎的最主要靶点;Cyclin 依赖性激酶抑制剂 1 (CDKN1A)、G1/S-特异性 Cyclin-D1 (CCND1)、原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 1 (RAF1)、表皮生长因子受体 (EGFR)、VEGFA、肿瘤坏死因子 (TNF)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、受体酪氨酸蛋白激酶 2 (ERBB2) 和视网膜母细胞瘤相关蛋白 1 (RB1) 亦为相对重要的靶点,见表 4。

3 讨论

慢性胆囊炎最典型的症状为间歇性胆绞痛,是由胆囊结石阻塞胆管的反复发作所致,最终由于胆囊壁的增厚和硬化导致胆囊萎缩并丧失生理功能。我国缺乏全国性的慢性胆囊炎、胆石症流行病学资料。一项覆盖 24 个省市的针对体检人群的调查结果显示,我国不同年龄段人群胆囊结石的患病率为 1.1%~11.2%,50 岁以上中老年人作为胆囊炎患病的主要人群^[6]。慢性胆囊炎容易复发,为消化系统疾病中治疗费用较高的疾病。

胆宁片为临床治疗胆石症和胆囊炎的有效中药制剂,具有调节胆汁成分、抑制胆结石的作用。研究表明,胆宁片可能通过促进胆汁酸、卵磷脂的分泌,降低胆汁黏稠度,减少胆汁中胆固醇的含量^[7];同时,可降低胆汁中游离胆红素的含量,从而防止胆色素结石的形成及增大^[8]。

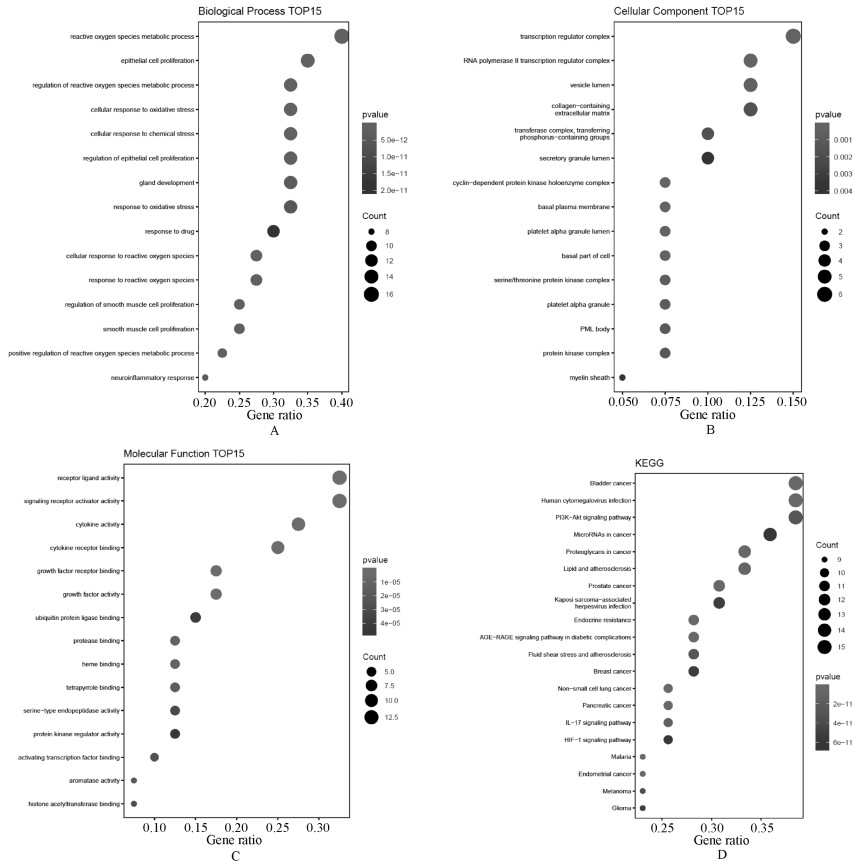
根据 Cytoscape 网络分析胆宁片成分与疾病靶点-通路网络图,结果表明,槲皮素、木犀草素、川陈皮素和芦荟大黄素为胆宁片治疗慢性胆囊炎的主要成分,其中槲皮素可能是最主要的有效成分。槲皮素是自然界中广泛存在的多酚羟基黄酮类化合物,具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗血栓、抗病毒、心血管保护和免疫调节等多种药理学活性^[9]。慢性胆囊炎多为慢性结石性胆囊炎,而胆固醇代谢异常引起的胆囊胆固醇结石是引起慢性胆囊炎的主要病因,槲皮素可以通过促进胆固醇向胆汁酸的转化,促进体内胆固醇外排,抑制胆固醇合成的限速酶 HMG-CoA 还原酶的表达,进而降低总胆固醇及胆固醇酯含量^[10-11]。

通过构建胆宁片与慢性胆囊炎的共有靶点 PPI 网络,以及胆宁片成分-慢性胆囊炎靶点-通路网络,对结果进行分析,得到胆宁片治疗慢性胆囊炎的最主要靶点为 TP53,其次为 CDKN1A、CCND1、RAF1、EGFR、VEGFA、TNF、MMP9、ERBB2 和 RB1 等。TP53 基因表达异常与恶性肿瘤的发生密切相关,TP53 能结合并激活细胞分裂制动基因,从而抑制细胞的增殖和分化。研究表明,少数慢性胆囊炎壁肥厚伴重度异型上皮增生病例表现出 TP53 基因阳性^[12]。在慢性胆囊炎中,TP53 基因的转化突变可能与胆囊癌的发生密切相关^[13]。细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (CDKN1A) 能够在 G₁ 期调节细胞周期的功能,该基因的表达受到 TP53 的严格控制^[14];并且,TP53 参与包括鳞状细胞癌、乳腺癌和膀胱癌等多种肿

表 2 胆宁片治疗慢性胆囊炎的靶点通路富集结果

Tab 2 Result of target pathway enrichment analysis of Danning tablets in the treatment of chronic cholecystitis

GO	Description	Count	lg(P)	Hits
hsa05219	bladder cancer	15	-25.34	MMP2, EGFR, CCND1, MYC, EGF, TP53, MMP9, VEGFA, CXCL8, RAF1, ERBB2, RASSF1, CDKN2A, RB1, CDKN1A
hsa05163	human cytomegalovirus infection	15	-13.41	CCL2, CREB1, EGFR, CCND1, MYC, TP53, VEGFA, IL1B, TNF, CXCL8, IL6, RAF1, CDKN2A, RB1, CDKN1A
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	15	-10.54	PTEN, CREB1, EGFR, CCND1, MYC, EGF, NOS3, TP53, VEGFA, IL6, IL4, RAF1, ERBB3, ERBB2, CDKN1A
hsa05206	microRNAs in cancer	14	-10.17	PTEN, EGFR, CCND1, MYC, TP53, MMP9, VEGFA, RAF1, ERBB3, ERBB2, RASSF1, CDKN2A, CDKN1A, CYP11B1
hsa05205	proteoglycans in cancer	13	-11.27	MMP2, EGFR, CCND1, HIF1A, MYC, TP53, MMP9, VEGFA, TNF, RAF1, ERBB3, ERBB2, CDKN1A
hsa05417	lipid and atherosclerosis	13	-11.00	CCL2, NOS3, TP53, SELE, CD40LG, MMP9, MMP3, IL1B, FOS, TNF, CXCL8, IL6, CYP11A1
hsa05215	prostate cancer	12	-13.89	PTEN, CREB1, EGFR, CCND1, EGF, TP53, MMP9, MMP3, RAF1, ERBB2, RB1, CDKN1A
hsa05167	kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	12	-10.28	CREB1, CCND1, HIF1A, MYC, TP53, VEGFA, FOS, CXCL8, IL6, RAF1, RB1, CDKN1A
hsa01522	endocrine resistance	11	-12.24	MMP2, EGFR, CCND1, TP53, MMP9, FOS, RAF1, ERBB2, CDKN2A, RB1, CDKN1A
hsa04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	11	-12.14	CCL2, MMP2, CCND1, NOS3, SELE, F3, VEGFA, IL1B, TNF, CXCL8, IL6
hsa05418	fluid shear stress and atherosclerosis	11	-10.55	CCL2, MMP2, NOS3, TP53, SELE, IFNG, MMP9, VEGFA, IL1B, FOS, TNF
hsa05224	breast cancer	11	-10.28	PTEN, EGFR, CCND1, MYC, EGF, TP53, FOS, RAF1, ERBB2, RB1, CDKN1A
hsa05161	hepatitis B	11	-9.82	CREB1, MYC, TP53, MMP9, FOS, TNF, CXCL8, IL6, RAF1, RB1, CDKN1A
hsa05166	human T-cell leukemia virus 1 infection	11	-8.42	PTEN, CREB1, CCND1, MYC, TP53, FOS, TNF, IL6, CDKN2A, RB1, CDKN1A
hsa04010	MAPK signaling pathway	11	-7.09	EGFR, MYC, EGF, TP53, VEGFA, IL1B, FOS, TNF, RAF1, ERBB3, ERBB2
hsa05165	human papillomavirus infection	11	-6.57	PTEN, CREB1, EGFR, CCND1, EGF, TP53, VEGFA, TNF, RAF1, RB1, CDKN1A
hsa05223	non-small cell lung cancer	10	-12.08	EGFR, CCND1, EGF, TP53, RAF1, ERBB2, RASSF1, CDKN2A, RB1, CDKN1A
hsa05212	pancreatic cancer	10	-11.84	EGFR, CCND1, EGF, TP53, VEGFA, RAF1, ERBB2, CDKN2A, RB1, CDKN1A
hsa04657	IL-17 signaling pathway	10	-10.89	CCL2, IFNG, MMP9, MMP3, IL1B, FOS, TNF, CXCL8, IL6, IL4
hsa04066	HIF-1 signaling pathway	10	-10.23	TIMP1, EGFR, HIF1A, EGF, NOS3, IFNG, VEGFA, IL6, ERBB2, CDKN1A



A. GO-BP 功能富集; B. GO-CC 功能富集; C. GO-MF 功能富集; D. KEGG 通路富集

A. GO-BP function enrichment; B. GO-CC function enrichment; C. GO-MF function enrichment; D. KEGG pathway enrichment

图 5 胆宁片治疗慢性胆囊炎潜在靶点的 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析气泡图

Fig 5 Bubble diagram of GO function enrichment and KEGG pathway enrichment analysis of potential targets of Danning tablets in the treatment of chronic cholecystitis

瘤的病理生理过程^[15]。然而,CDKN1A 在慢性胆囊炎病理生理过程中的作用还未见报道。

本研究根据 GO 和 KEGG 富集分析结果,可以得出胆宁片

在慢性胆囊炎治疗中参与的生物过程和信号通路。其中主要涉及的生物过程包括上皮细胞增殖、细胞的氧化应激反应和细胞的化学应激反应等;主要参与的信号通路包括膀胱癌信号通

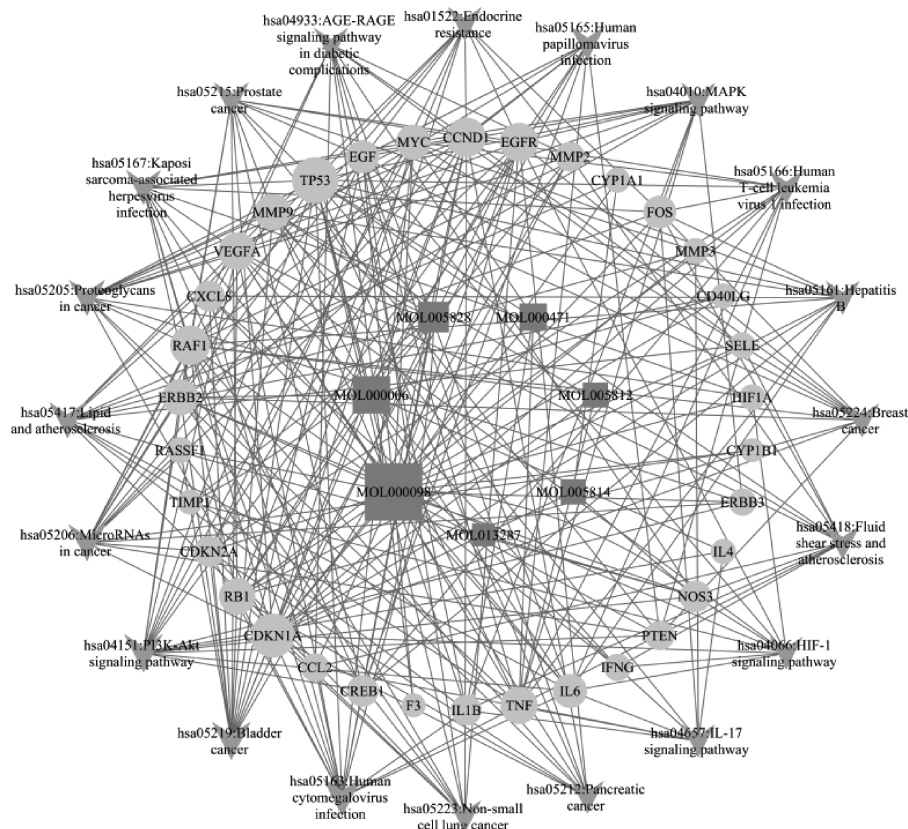


图6 胆宁片治疗慢性胆囊炎成分-靶点-通路网络图

表3 胆宁片主要活性成分网络节点特征参数

MOLID	化合物名称	连接度	介度	紧密度
MOL000098	quercetin	32	0.242 652	0.652 174
MOL000006	luteolin	14	0.035 393	0.468 750
MOL005828	nobiletin	8	0.009 814	0.389 610
MOL000471	aloe-emodin	5	0.002 548	0.410 959
MOL005814	tangeretin	3	0.002 656	0.389 610
MOL005812	naringin	3	0.000 578	0.394 737

靶点	连接度	介度	紧密度
TP53	22	0.076 612	0.571 429
CDKN1A	20	0.078 082	0.560 748
CCND1	16	0.031 870	0.512 821
RAF1	16	0.032 437	0.512 821
EGFR	15	0.027 381	0.512 821
VEGFA	14	0.029 838	0.504 202
TNF	14	0.038 907	0.495 868
MMP9	13	0.032 162	0.487 805
ERBB2	13	0.021 244	0.495 868
RB1	13	0.017 503	0.487 805

CCND1、CDKN1A、EGFR、MYC、TP53 和 IL-6 等靶基因,以上通路细胞的生长、增殖和分化等密切相关^[16]。IL-6 是由 184 个氨基酸组成的多功能糖蛋白,在慢性胆囊炎患者的胆汁和血清中呈高表达状态,其作为一种炎症细胞因子,反映了机体对炎症及感染的反应状态^[17-18]。胆囊局部的炎症反应是胆囊炎发病的重要基础,有效控制炎症对治疗胆囊炎具有明显的促进作用。EGFR 在胆囊癌组织中的阳性表达率为 70.7%,在胆囊不典型增生组织中的阳性表达率为 85.7%,而在正常胆囊组织中没有阳性表达,推测 EGFR 与慢性胆囊炎和胆囊癌的发生可能有密切关系^[19]。

[1] 鲁意, 高允海. 慢性胆囊炎的中西医结合治疗进展[J]. 实用中医内科杂志, 2020, 34(2): 4-6.

[2] 曹胜, 罗晓卫, 王清清. 胆宁片治疗慢性胆囊炎和胆石症疗效观察[J]. 环球中医药, 2015, 8(S1): 243-244.

[3] BOEZIO B, AUDOUZE K, DUCROT P, et al. Network-based approaches in pharmacology[J]. Mol Inform, 2017, 36(10): 1700048.

[4] ASHBURNER M, BALL C A, BLAKE J A, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium [J]. Nat Genet, 2000, 25(1): 25-29.

[5] KANEHISA M, FURUMICHI M, TANABE M, et al. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D353-D361.

[6] ZENG Q, HE Y, QIANG D C, et al. Prevalence and epidemiological pattern of gallstones in urban residents in China[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2012, 24(12): 1459-1460.

[7] 赵滨, 杨培民, 项建斌, 等. 胆宁片对胆汁 33.5kDa 泡蛋白含量和结构的影响[J]. 中国临床医学, 2011, 18(1): 74-75.

[8] 李坤, 邓兆斌, 侯宪琴, 等. 胆宁片治疗慢性胆囊炎及胆结石的体会[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(10): 1228.

[9] 李聪, 胡强, 张燕翔, 等. 槲皮素的药理学活性研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2018, 40(6): 63-66.

[10] 张敏. 槲皮素调节胆固醇代谢作用的途径分析[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2016.

[11] 张洁. 槲皮素对体外培养肝细胞胆固醇合成及外流的影响[D]. 衡阳: 南华大学, 2007.

[12] 王仰坤, 马乃绪, 王丽, 等. 慢性胆囊炎和肿瘤的关系[J]. 中华肝胆外科杂志, 1999, 5(4): 226.

[13] YANAGISAWA N, YAMASHITA K, KUBA T, et al. Sporadic TP53 transition mutations in chronic cholecystitis are possibly linked to gallbladder carcinogenesis [J]. Anticancer Res, 2010, 30(11): 4443-4449.

[14] 鹿慧, 王斌全, 李建民, 等. PDCD4 及 CDKN1A/p21 在喉鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014, 8(9): 1606-1609.

[15] 朱萧, 杨伟萍, 覃庆洪, 等. CDKN1A 基因在乳腺癌组织中的表达及其与乳腺癌生物学特性的关系[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(11): 1546-1549.

[16] CHIEN H T, CHENG S D, LIAO C T, et al. Amplification of the EGFR and CCND1 are coordinated and play important roles in the progression of oral squamous cell carcinomas[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(6): 760.

[17] 王岩, 周雷, 项灿宏, 等. 胆囊疾病患者血清和胆汁中 IL-6 测定的临床意义[J]. 中日友好医院学报, 2003, 17(2): 87-89.

[18] 孔丽, 左华江, 吴春凤. 基于网络药理学研究薄荷活性成分治疗慢性胆囊炎的作用机制[J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(8): 27-33.

[19] 周彦明, 李玉民, 曹农, 等. 慢性胆囊炎和胆囊癌组织中 EGF、EGFR 的表达及其意义[J]. 癌症, 2003, 22(3): 262-265.

(收稿日期:2021-08-13 修回日期:2021-12-30)

(上接第 531 页)

[5] RAMAKRISHNAN P, LOH W M, GOPINATH S C B, et al. Selective phytochemicals targeting pancreatic stellate cells as new antifibrotic agents for chronic pancreatitis and pancreatic cancer[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(3): 399-413.

[6] WANG Z H, CHEN H, CHEN J J, et al. Emodin sensitizes human pancreatic cancer cells to EGFR inhibitor through suppressing Stat3 signaling pathway[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 8463-8473.

[7] DU Y Q, ZHANG J, TAO Z H, et al. Aloe emodin exerts potent anticancer effects in MIAPaCa-2 and PANC-1 human pancreatic adenocarcinoma cell lines through activation of both apoptotic and autophagic pathways, sub-G1 cell cycle arrest and disruption of mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) [J]. J BUON, 2019, 24(2): 746-753.

[8] LI N, WANG C L, ZHANG P, et al. Emodin inhibits pancreatic cancer EMT and invasion by up-regulating microRNA-1271 [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(3): 3366-3374.

[9] HU L J, CUI R, LIU H Y, et al. Emodin and rhein decrease levels of hypoxia-inducible factor-1 α in human pancreatic cancer cells and attenuate cancer cachexia in athymic mice carrying these cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(50): 88008-88020.

[10] PAN F P, ZHOU H K, BU H Q, et al. Emodin enhances the demethylation by 5-Aza-CdR of pancreatic cancer cell tumor-suppressor genes P16, RASSF1A and ppENK[J]. Oncol Rep, 2016, 35(4): 1941-1949.

[11] YANG Y C, YANG L F, LI Y X. Neuropilin-1 (NRP-1) upregulated by IL-6/STAT3 signaling contributes to invasion in pan-creatic neuroendocrine neoplasms[J]. Hum Pathol, 2018, 81: 192-200.

[12] THOMAS H. IL-6 drives niche formation in pancreatic cancer liver metastasis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(5): 263.

[13] VAINER N, DEHLENDORFF C, JOHANSEN J S. Systematic literature review of IL-6 as a biomarker or treatment target in patients with gastric, bile duct, pancreatic and colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2018, 9(51): 29820-29841.

[14] CARNEIRO B A, EL-DEIRY W S. Targeting apoptosis in cancer therapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2020, 17(7): 395-417.

[15] YE G X, QIN Y, LU X H, et al. The association of renin-angiotensin system genes with the progression of hepatocellular carcinoma [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 459(1): 18-23.

[16] DE MELO L A, ALMEIDA-SANTOS A F. Neuropsychiatric properties of the ACE2/Ang-(1-7)/Mas pathway: a brief review [J]. Protein Pept Lett, 2020, 27(6): 476-483.

[17] LAU S T, LEUNG P S. Role of the RAS in pancreatic cancer[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2011, 11(4): 412-420.

[18] CHENG Q J, ZHOU L, ZHOU J P, et al. ACE2 overexpression inhibits acquired platinum resistance-induced tumor angiogenesis in NSCLC[J]. Oncol Rep, 2016, 36(3): 1403-1410.

[19] YU C H, TANG W, WANG Y H, et al. Downregulation of ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis promotes breast cancer metastasis by enhancing store-operated calcium entry[J]. Cancer Lett, 2016, 376(2): 268-277.

(收稿日期:2021-08-13 修回日期:2022-01-14)