

基于网络药理学探讨柴芍六君子汤防治化疗所致恶心呕吐的作用机制^Δ

黄菁^{1,2*}, 郑进^{3#}, 汪宗清⁴, 陈晨⁴, 沈红梅¹, 赵瑞莲¹, 王仕奇⁴ (1. 昆明医科大学第三附属医院/云南省肿瘤医院中西医结合科, 昆明 650118; 2. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210000; 3. 云南省中医药学会, 昆明 650021; 4. 云南中医药大学第一临床医学院, 昆明 650500)

中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)01-0001-09

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.01.001

摘要 目的:采用网络药理学方法,探讨柴芍六君子汤防治化疗所致恶心呕吐可能的作用机制。方法:基于中药系统药理学数据库与分析平台,检索柴芍六君子汤组成药物柴胡、白芍、党参、茯苓、白术、陈皮、半夏和甘草的化学成分和潜在靶点,选择口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和类药性 ≥ 0.18 作为化学成分筛选条件;在 GeneCards 数据库检索化疗所致恶心呕吐的疾病靶点;利用 Cytoscape 3.6.0 软件绘制“柴芍六君子汤-化学成分-靶点-化疗所致恶心呕吐”网络;使用 STRING 11.0 在线软件构建蛋白质-蛋白质相互作用网络并挖掘核心靶点;采用 David Bioinformatics Resources 数据库对该方活性成分潜在靶点网络中的蛋白进行基因本体(GO)功能富集分析和基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果:GO 功能富集分析提示,柴芍六君子汤广泛参与了机体代谢、炎症等生物过程。KEGG 生物通路富集分析显示,柴芍六君子汤参与的信号通路均与炎症相关,疾病通路主要与病毒感染、多种恶性肿瘤密切相关。结论:本研究从网络药理学角度预测了疏肝健脾法的代表方剂柴芍六君子汤疏肝行气、健脾和胃防治化疗所致恶心呕吐可能的信号通路,为后续机制研究奠定了一定的基础。

关键词 疏肝健脾;柴芍六君子汤;化疗所致恶心呕吐;网络药理学

Mechanism of Chaishao Liujunzi Decoction in Prevention and Treatment of Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting Based on Network Pharmacology^Δ

HUANG Jing^{1,2}, ZHENG Jin³, WANG Zongqing⁴, CHEN Chen⁴, SHEN Hongmei¹, ZHAO Ruilian¹, WANG Shiqi⁴ (1. Dept. of Integrated Chinese and Western Medicine, the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University/Yunnan Cancer Hospital, Kunming 650118, China; 2. the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China; 3. Yunnan Provincial Association of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China; 4. the First Clinical Medicine College, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the potential mechanism of Chaishao Liujunzi decoction in prevention and treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting (CINV) based on liver-soothing and spleen-strengthening method. **METHODS:** The pharmacological database and analysis platform of traditional Chinese medicine system was used to search the chemical components and potential targets of drug composition of Chaishao Liujunzi decoction, including Bupleuri Radix, Paeoniae Radix Alba, Codonopsis Radix, Poria, Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, Citri Reticulatae Pericarpium, Pinelliae Rhizoma, and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, oral bioavailability $\geq 30\%$ and drug-likeness ≥ 0.18 were set as the screening conditions of chemical composition; the GeneCards database was used to retrieve disease targets of CINV; Cytoscape 3.6.0 software was used to draw the network of “Chaishao Liujunzi decoction-chemical components-target-CINV”; STRING 11.0 online software was used to construct a protein-protein interaction network and to mine the core targets; David Bioinformatics Resources database was used to conduct gene ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Gene and Genome (KEGG) pathway

^Δ 基金项目:全国中医药创新骨干人才培养项目资助项目(国中医药人教函[2019]128号);2019年度云南省高层次卫生健康技术人才培养项目(No. H-2019077);云南省教育厅科学研究基金资助项目(No. 2019JJ1290);云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项面上项目资助项目(No. 202001AY070001-245)

* 主治医师,博士研究生。研究方向:中西医结合防治肿瘤及并发症。E-mail:53105294@qq.com

通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中医学与民族医药。E-mail:zhengjinyin@126.com

enrichment analysis on protein in the network of potential targets of active ingredients in the formula. RESULTS: The GO functional enrichment analysis indicated that Chaishao Liujunzi decoction had extensively participated in biological processes including body metabolism and inflammation. The KEGG pathway enrichment analysis indicated that all the signaling pathways of Chaishao Liujunzi decoction were related to inflammation, the disease pathways were mainly closely related to virus infection and various malignant tumor. CONCLUSIONS: This study predicts the possible signaling pathways of prevention and treatment of CINV of Chaishao Liujunzi decoction from the perspective of network pharmacology, a representative formula of liver-soothing and spleen-strengthening method, which laid a certain foundation for the subsequent mechanism research.

KEYWORDS Liver-soothing and spleen-strengthening; Chaishao Liujunzi decoction; Chemotherapy-induced nausea and vomiting; Network pharmacology

化疗所致恶心呕吐 (chemotherapy-induced nausea and vomiting, CINV) 是最常见的化疗不良反应, 发生率约为 65% ~ 85%^[1]; 短期内可导致水、电解质代谢紊乱, 胃肠道黏膜撕裂出血、食欲缺乏, 久则发生厌食、营养不良等后果, 严重影响肿瘤患者的生活质量及化疗依从性, 部分患者因胃肠道反应剧烈而延迟、拒绝化疗, 影响预后。临床上尽管预防性使用了止吐药物, 但仍约有 60% 的接受中、高度致吐化学疗法的患者发生急性或延迟的 CINV^[2]。因此, 预防 CINV 对改善肿瘤患者生活质量、提高治疗依从性乃至预后有至关重要的意义。CINV 的发生机制主要有 2 种学说: (1) 中枢机制, 化疗药及代谢物通过血-脑脊液屏障刺激颅内化学受体触发区, 并把冲动传递到呕吐中枢, 导致多种神经递质的释放, 引起呕吐; (2) 外周机制, 化疗药直接损伤消化道黏膜, 促进神经递质释放, 神经递质与相应受体结合后, 由交感神经和迷走神经传入呕吐中枢, 引发呕吐^[3]。CINV 包括预期性、急性、延迟性、爆发性和难治性 5 种类型, 轻者丧失食欲, 重者严重影响热量或液体摄入, 可能引发 24 h 呕吐超过 6 次、需管饲、肠外营养支持, 甚至发生严重水、电解质代谢紊乱, 危及生命, 导致患者死亡。在 CINV 的发生中, 化疗药的催吐作用和患者相关的风险因素共同影响了恶心、呕吐的发生率及严重程度。根据《中国肿瘤治疗相关呕吐防治指南》, 顺铂、环磷酰胺、蒽环类和异环磷酰胺均属于高度催吐化疗药, 其导致呕吐的发生率 >90%。以多西他赛、足叶乙苷、5-氟尿嘧啶、吉西他滨、紫杉醇和培美曲塞为代表的低度催吐风险化疗药, 引起恶心、呕吐的发生率也为 10% ~ 30%。CINV 最佳治疗方案是预防, 预防途径是尽可能在每周化疗中有效控制 CINV。

中华中医药学会副会长、云南省中医药学会会长、全国第六批老中医药学术经验继承工作指导老师郑进教授为云南省肿瘤医院暨昆明医科大学第三附属医院中西医结合科 (以下简称“我科”) 首席特聘专家。郑进教授认为, 根据 CINV 的主要临床表现, 如恶心、呕吐, 常伴烧心、反酸、嗝气、上腹胀痛、纳差、口干口苦、两胁疼痛、疲倦乏力、腹泻或便秘等, 其属于中医学“呕吐”范畴。CINV 多因化疗药损伤脾胃、情志抑郁焦虑和久病正虚等综合因素引发, 病位在胃, 涉及肝脾。基本病机可概括为肝郁气滞、脾失健运和胃失和降。恶性肿瘤患者常因久病正虚、药毒盘踞, 致脾胃受损; 复加疾病负担, 导致或加重情志不遂, 肝气不疏, 肝失条达, 气机阻滞、横逆犯胃, 胃失和降, 发为恶心、呕吐。临床以肝郁脾虚证多见, 且肝郁脾虚贯穿疾病始

终。故以疏肝行气、健脾和胃为治疗大法, 方选柴芍六君子汤, 肝气得疏, 肝血得养, 脾气健旺, 则胃之通降正常。在郑进教授的指导下, 自 2018 年 9 月起, 我科以柴芍六君子汤为基础方, 临证灵活加减化裁该方用于防治 CINV。患者来源包括我科化疗患者和全院各科室邀请中医会诊的化疗患者, 病例数超过 1 万例, 病种涉及肺癌、结直肠癌、乳腺癌、卵巢癌、食管癌和胃癌等常见恶性肿瘤, 上述患者均接受不同致吐风险的化疗、同步放疗或者化疗联合靶向治疗、免疫治疗。通过 3 年来的临床疗效观察和统计, 柴芍六君子汤防治 CINV 的有效率 >90%, 可以有效减轻化疗患者的胃肠道症状, 缩短胃肠道不良反应时间, 减少 5-羟色胺 (5-HT) 受体拮抗剂及质子泵抑制剂、地塞米松和神经激肽-1 受体拮抗剂等止吐、抑制胃酸药物的使用频率和剂量, 同时可减少该类药物潜在的不良反应, 减轻患者的经济负担, 改善患者治疗期间的生活质量, 使患者重拾治疗信心。本研究旨在利用网络药理学方法, 预测柴芍六君子汤防治 CINV 的潜在靶点和通路, 从分子网络药理水平探索该方防治 CINV 的可能机制, 为后续实验研究奠定初步基础。

1 资料与方法

1.1 化学成分的构建

基于中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP) (<https://tcmssp.com/tcmssp.php>), 检索柴芍六君子汤柴胡、白芍、党参、茯苓、白术、陈皮、半夏和甘草所有化学成分。从样品量、数据的复杂性以及综合文献考虑, 选择口服生物利用度 (OB) ≥30%、类药性 (DL) ≥0.18 作为候选化合物分子的筛选条件。

1.2 中药成分靶点的获取

基于 TCMSP, 检索柴芍六君子汤柴胡、白芍、党参、茯苓、白术、陈皮、半夏和甘草各味中药对应的候选化合物靶点。

1.3 CINV 靶点的获取

在 GeneCards 数据库以“chemotherapy-induced nausea and vomiting”为检索词进行检索, 检索 CINV 的全部靶点。

1.4 构建柴芍六君子汤的药物化合物靶点和 CINV 靶点的交集靶点

在生物信息学和进化基因组学网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 构建柴芍六君子汤的药物化合物靶点和 CINV 靶点的交集靶点。

1.5 构建“柴芍六君子汤-化合物-靶点-CINV”网络

分析柴芍六君子汤对应的化合物靶点以及 CINV 对应的靶点, 通过 Cytoscape 3.6.0 软件绘制“柴芍六君子汤-化合物-

靶点-CINV”网络。

1.6 构建“柴芍六君子汤化合物-CINV”蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络

使用 String 11.0 在线软件(https://string-db.org/)构建“柴芍六君子汤的化合物-CINV”PPI 网络。

1.7 基因本体(GO)功能富集分析

使用“The R Project for Statistical Computing”对调控网络中的靶点进行 GO 功能富集分析,获取这些靶点的主要功能。

1.8 京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

基于 KEGG,使用“The R Project for Statistical Computing”对“柴芍六君子汤的化合物-CINV”网络中的节点进行富集分析,预测柴芍六君子汤防治 CINV 的可能通路。

2 结果

2.1 柴芍六君子汤化学成分筛选和过滤

在 TCMSp 中筛选得到柴胡 17 个相关化学成分,白芍 13 个相关化学成分,党参 21 个相关化学成分,茯苓 15 个相关化学成分,白术 6 个相关化学成分,陈皮 5 个相关化学成分,半夏 13 个相关化学成分,甘草 92 个相关化学成分,合计 182 个化学成分,去重后共 169 个相关化学成分。

2.2 柴芍六君子汤中药成分靶点获取

基于 TCMSp,分别检索柴芍六君子汤中柴胡、白芍、党参、茯苓、白术、陈皮、半夏和甘草各味中药对应候选化合物靶点,得到柴胡对应 351 个靶点,白芍对应 123 个靶点,党参对应 214 个靶点,茯苓对应 29 个靶点,白术对应 23 个靶点,陈皮对应 95 个靶点,半夏对应 172 个靶点,甘草对应 1 758 个靶点,共 2 765 个靶点。

2.3 CINV 靶点获取

在 GeneCards 中检索到 CINV 相关靶点 728 个,其中相关度>12 的前 22 个靶点信息见表 1。

表 1 CINV 靶点(相关度>12 的前 22 个靶点)
Tab 1 CINV targets (the first 22 targets with relevance score >12)

靶点名	靶点全称	GeneCards 数据库 ID 号	相关度
HTR3A	5-hydroxytryptamine receptor 3A	GC11P113974	28.46
TNF	tumor necrosis factor	GC06P047305	26.22
IL-6	interleukin 6	GC07P022765	25.33
TP53	tumor protein P53	GC17M007661	23.41
IL-10	interleukin 10	GC01M206767	20.27
IL-1β	interleukin 1 beta	GC02M112829	19.40
TACR1	tachykinin receptor 1	GC02M075010	16.49
EGFR	epidermal growth factor receptor	GC07P055019	16.46
TLR4	toll like receptor 4	GC09P117704	16.43
TLR2	toll like receptor 2	GC04P153684	13.21
KRAS	KRAS proto-oncogene, GTPase	GC12M052504	12.77
CSF3	colony stimulating factor 3	GC17P040015	12.75
RET	ret proto-oncogene	GC10P043081	12.68
TAC1	tachykinin precursor 1	GC07P097731	12.63
PIK3CA	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha	GC03P179148	12.45
AKT1	AKT serine/threonine kinase 1	GC14M104769	12.40
KIT	KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase	GC04P054657	12.22
ESR1	estrogen receptor 1	GC06P151656	12.19
TYMP	thymidine phosphorylase	GC22M050525	12.17
PTEN	phosphatase and tensin homolog	GC10P087863	12.09
MYC	MYC proto-oncogene, BHLH transcription factor	GC08P127735	12.09
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	GC17M042313	12.04

2.4 构建柴芍六君子汤成分靶点和 CINV 靶点的交集

在生物信息学和进化基因组学网站(http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/)中以柴芍六君子汤中药候选成分对应的 2 124 个靶点(去重后)和 CINV 相关的 728 个靶点取交集,结果以韦恩图呈现,见图 1。由图可见,柴芍六君子汤成分靶点和 CINV 靶点的交集靶点共 181 个。

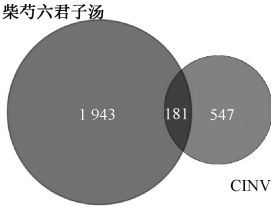


图 1 柴芍六君子汤中药成分靶点-CINV 靶点韦恩图
Fig 1 Venn diagram of ingredients targets and CINV targets in Chaishao LiuJunzi decoction

2.5 构建“柴芍六君子汤-化合物-靶点-CINV”网络

利用柴芍六君子汤的中药成分靶点以及 CINV 的靶点,通过 Cytoscape 3.6.0 软件绘制“柴芍六君子汤-化合物-靶点-CINV”网络,见图 2。图 2 中,中央矩形块表示柴芍六君子汤中药成分与 CINV 共享的 181 个靶点;三角形表示柴芍六君子汤中的 121 种化学成分;线条表示有效成分与共享靶点间的关联度,背景线条越密集表示二者的关联度越高。该网络展示了柴芍六君子汤的 121 种化学成分作用于 CINV 的 181 个靶点及其关联程度。其中关联度较高的化合物主要有:来源于柴胡和甘草的槲皮素(queracetin, MOL000098),来源于柴胡、白芍和甘草的山柰酚(kaempferol, MOL000422),来源于陈皮的川陈皮素(nobiletin, MOL005828),来源于陈皮和甘草的柚皮素(naringenin, MOL004328),来源于柴胡、党参和半夏的豆甾醇(stigmasterol, MOL000449),来源于甘草的紫檀素(shinpterocarpin, MOL004891),来源于党参、半夏的异黄酮(7-Methoxy-2-methyl isoflavone, MOL003896),来源于半夏的黄芩素(baicalein, MOL002714)等。槲皮素、山柰酚、柚皮素和异黄酮均属于黄酮类化合物,普遍具有抗氧化、抗病毒和抗炎等作用^[4-5];柚皮素还能解痉和利胆^[6];川陈皮素能修复神经元损伤,抑制恶性肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭,抑制肝细胞脂质沉积,保护非酒精所致的脂肪肝细胞^[7-9];黄芩素可能通过抑制 JAK-STAT 信号通路对大鼠心肌缺血-再灌注损伤具有保护作用^[10],通过介导 P2X7/TLR4 通路减轻 LPS/ATP 诱导的 RA 患者外周血单核细胞炎症反应^[11]。柴芍六君子汤中所含化合物的上述功效均有利于减轻胃肠道痉挛、消化道黏膜充血水肿和黏膜屏障破坏引起的潜在感染和炎症反应,从而减轻恶心、呕吐等不适。

2.6 构建“柴芍六君子汤化学成分-CINV”PPI 网络

使用 String 11.0 在线软件(https://string-db.org/)构建“柴芍六君子汤化学成分-CINV”PPI 网络,得到 92 个节点,1 536 条边,平均节点度值为 33.4,平均局部聚类系数为 0.675。设置置信度=0.99,并去除离散节点,调整后输出 PPI

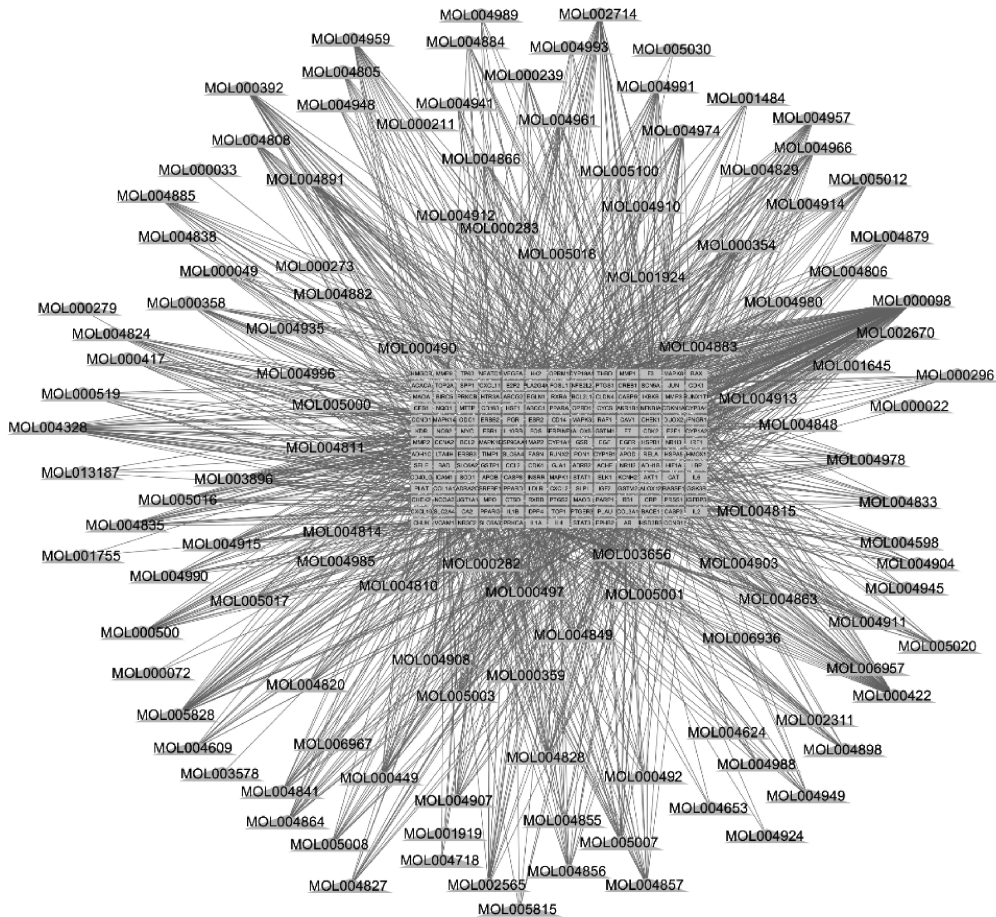


图2 “柴芍六君子汤-化合物-靶点-CINV”网络

Fig 2 Network of “Chaishao Liujunzi decoction-compounds-targets-CINV”

关系图,见图3。对PPI节点和联边信息使用“The R Project for Statistical Computing”运算、分析,挖掘到该调控网络的前30个核心基因,见图4。其中,STAT3通过响应各种细胞因子和生长因子[干扰素(IFN)、表皮生长因子(EGF)、白细胞介素6(IL-6)和肝细胞生长因子(HGF)等]的磷酸化而被激活,该蛋白可以响应细胞刺激而介导多基因的表达,在许多细胞过程中起关键作用。AKT/蛋白激酶B信号作用于调控细胞增殖和生长,参与包括细胞凋亡和葡萄糖代谢在内的细胞过程。JUN涉及人类恶性肿瘤易位和缺失的染色体区域。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路由MAPK激酶激酶、MAPK激酶和MAPK的顺序激活完成,调节细胞的生长、分化、应激和炎症反应等细胞生理病理过程。IL-6产生于各种炎症部位和炎症环境,诱导转录炎症反应。CDKN1A编码细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂,在G₁期调节细胞周期进展。血管内皮生长因子(VEGFA)在血管发生、生成和内皮细胞生长中具有活性,可以诱导内皮细胞增殖,促进细胞迁移,可抑制细胞凋亡并诱导血管通透。

2.7 GO功能富集分析

使用“The R Project for Statistical Computing”对调控网络中的靶点进行GO功能富集分析,获取这些靶点主要的功能。结果显示,网络中的核心靶点主要参与了一系列生物学过程,主要包括对脂多糖的反应,对细菌起源分子及抗菌药物的反应,对

金属离子的反应,对活性氧、氧化应激、氧水平和缺氧的反应,对营养水平的反应,对类固醇激素的反应,对酒精、酸性化学物质、酮和辐射的反应,老化及多细胞生物过程等,见图5—6。提示柴芍六君子汤广泛参与了机体代谢、炎症等生物过程,这与CINV导致消化道黏膜屏障损伤可能诱发细菌入侵和感染、导致电解质代谢紊乱的病理生理过程相契合。

2.8 KEGG通路富集分析

基于KEGG,使用“The R Project for Statistical Computing”对“柴芍六君子汤中药成分-CINV”网络中的节点进行富集分析。结果显示,富集到164条通路,富集度最高的20条通路依次为:糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路、乙型肝炎、前列腺癌、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒感染、胰腺癌、丙型肝炎、白细胞介素17(IL-17)信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、人巨细胞病毒感染、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、非小细胞肺癌、膀胱癌、内分泌抵抗、弓形虫病、麻疹、小细胞肺癌、人T细胞白血病病毒1感染、Th17细胞分化、结直肠癌和EB病毒感染,见图7—8。该富集结果显示,柴芍六君子汤主要参与了4条信号通路和16条疾病通路,这些信号通路均与炎症相关,IL-17可以通过促进释放前炎症细胞因子而放大炎症反应,其与受体结合后激活MAPK和核因子κB发挥作用。Th17细胞通过分泌IL-17A、IL-17F、IL-6及TNF-α募集并活化中性

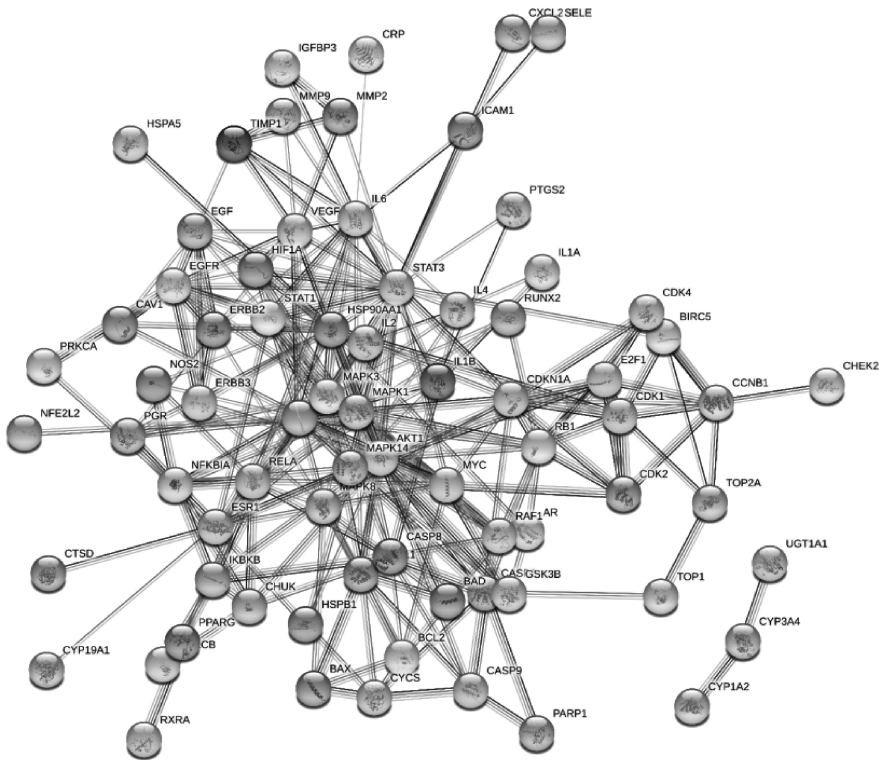


图3 “柴芍六君子汤化学成分-CINV”PPI网络

Fig 3 PPI network of “chemical components of Chaishao Liuqunzi decoction-CINV”

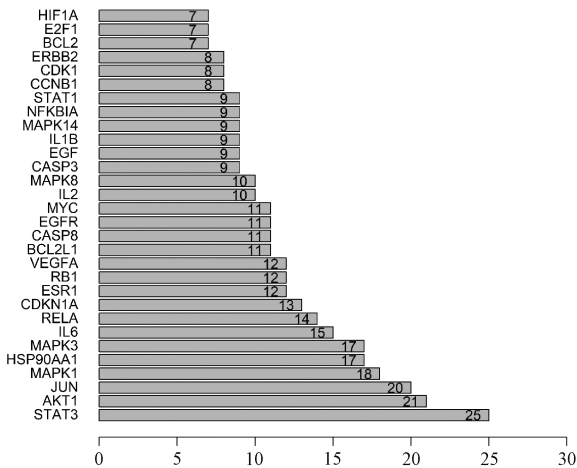


图4 “柴芍六君子汤化学成分-CINV”PPI网络核心基因

Fig 4 Core gene of PPI network of “chemical components of Chaishao Liuqunzi decoction-CINV”

粒细胞,介导组织的炎症反应。涉及的16条疾病通路主要与病毒感染、多种恶性肿瘤密切相关。化疗所致消化道反应常因为合并骨髓抑制和肿瘤侵犯消化道而更易诱发消化道感染,研究结果证实慢性炎症环境可促进肿瘤的发生、进展^[12-13]。柴芍六君子汤的通路富集结果与CINV的重要病理过程和多种恶性肿瘤均高度吻合。

3 讨论

化疗药对生长活跃的细胞如胃肠道黏膜上皮细胞的损伤

表现为形态学上胃肠壁变薄、肠黏膜充血、水肿、淋巴细胞浸润和胃体膨胀;化疗药也可造成血清胃泌素、胃动素水平降低和生长抑素、血管活性肠肽水平升高^[14];化疗药导致自由基生成、释放增加,损伤胃肠道黏膜引起5-HT释放增加,并降低肠组织中超氧化物歧化酶、单胺氧化酶活性,使自由基清除及5-HT降解减少,胃肠组织中5-HT含量的累积,作用于更多位于腹部迷走传入神经末梢上的5-HT₃受体,增加了传入呕吐中枢的冲动,导致恶心、呕吐发生^[15]。

3.1 CINV的中医病因病机

《景岳全书·呕吐》中记载,“或暴伤寒凉,或暴伤饮食,或因胃火上冲,或因肝气内逆,或以痰饮水气聚于胸中,或以表邪传里,聚于少阳阳明之间,皆有呕证,比皆呕之实邪也”,指出了呕吐的病因病机。《经脉篇》记载,“足太阴之脉,挟咽,连舌本,散舌下;其支者,复从胃,别上膈,注心中。是动则病舌本强,食则呕,胃脘痛,腹胀善噫。足厥阴肝所生病者,胸满呕逆”,言明了呕吐的病位所在。接受化疗的肿瘤患者普遍存在正虚邪盛的特点,化疗药毒性峻猛,可直接损伤中焦脾胃,致脾胃失和而恶心呕吐;药毒蓄积进一步损伤正气,加重脾胃失和,五脏受累而诸证丛生;恶性肿瘤引起的身心负担使患者长期处于紧张、恐惧等不良情绪中,肝气郁结,肝失调达,横逆脾胃也致恶心呕吐;患者对疾病的过度忧虑,忧思伤脾,脾失健运,食停难化上逆而呕;久病气血生化不足,脾胃虚弱,水谷不能化生精微,食停于胃,饮聚成痰,饮邪上逆,水谷随气上逆也致呕恶。可见,CINV病在中焦,主要涉及肝、脾和胃。药毒侵袭、七情内

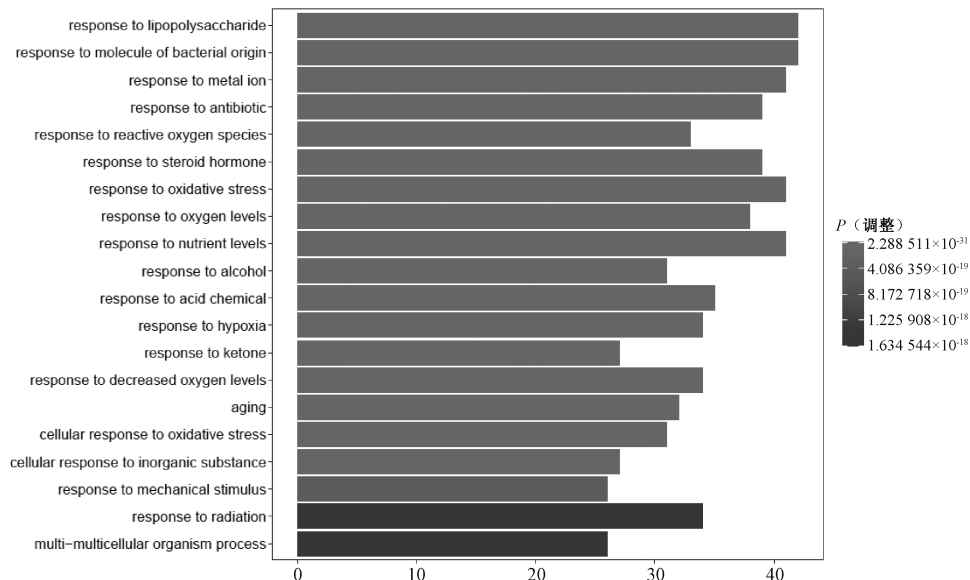


图5 GO功能富集分析柱状图(生物学过程)

Fig 5 Histogram of GO functional enrichment analysis(biological process)

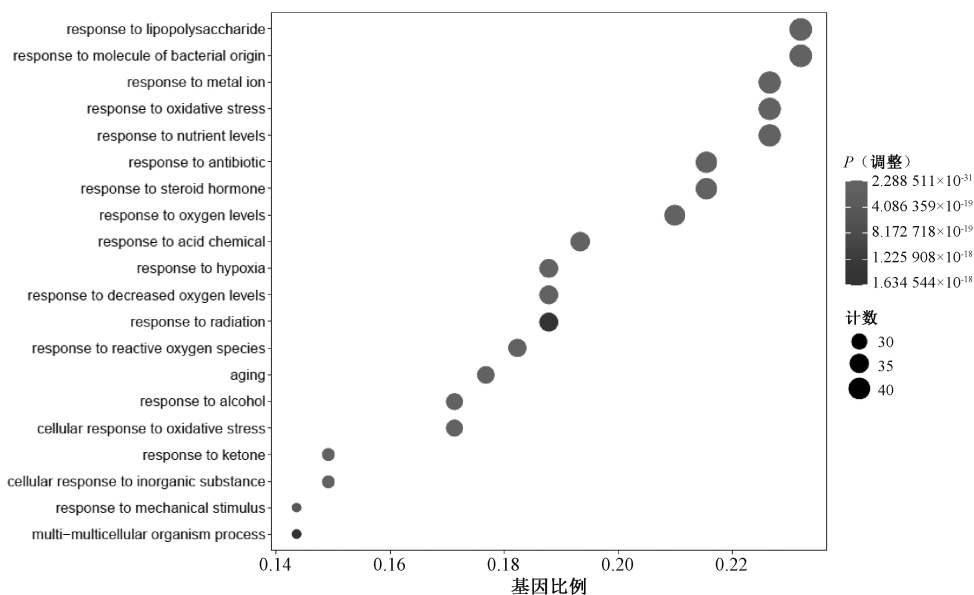


图6 GO功能富集分析气泡图(生物学过程)

Fig 6 Bubble chart of GO functional enrichment analysis(biological process)

伤和久病体虚等多种因素致肝郁气滞、脾失健运和胃失和降诱发本病。

3.2 疏肝健脾法治疗 CINV 的理论基础

针对化疗患者出现恶心、呕吐等胃肠道反应的基本病机,治当重在调整气机,即调整肝疏泄条达之气和脾胃升降之气。肝体阴而用阳,肝的生理功能有赖肝血滋养方能畅达而不横逆。脾主升清,胃主降浊,清升浊降,方能纳运正常。故临床以疏肝理气、健脾和胃为治疗大法,使肝气得疏,肝血得养,脾气健旺,则胃纳正常,恶心、呕吐主症得以缓解。于兼症而言,肝经循于两胁,情志内伤可循经为病,致经气不利而两胁胀满;气滞日久,累及血分,壅塞肝络而胁肋疼痛;肝木克土,

横逆中焦,脾失健运而口淡、纳差、腹泻;胃气不降,腑气不通而便秘;脾胃纳运失常,日久气血生化乏源而疲倦乏力。可见,肝郁气滞、木郁乘土为本病发病之关键。疏肝健脾乃针对主症、兼证的基本治法,首重疏肝,核心是健脾,意在匡扶正气。所谓“内伤脾胃,百病由生”“四季脾旺不受邪”。疏肝健脾法短期内可减轻患者的化疗反应,提高化疗依从性;长远而言,可使肝气畅达,脾胃健运,恢复气血化生,改善体质,提高生活质量,有望改善长期预后。

3.3 柴芍六君子汤的运用和方义分析

3.3.1 柴芍六君子汤的运用:柴芍六君子汤出自清代吴谦编撰的《医宗金鉴》卷五十一,具有健脾平肝之功效,主治脾虚肝

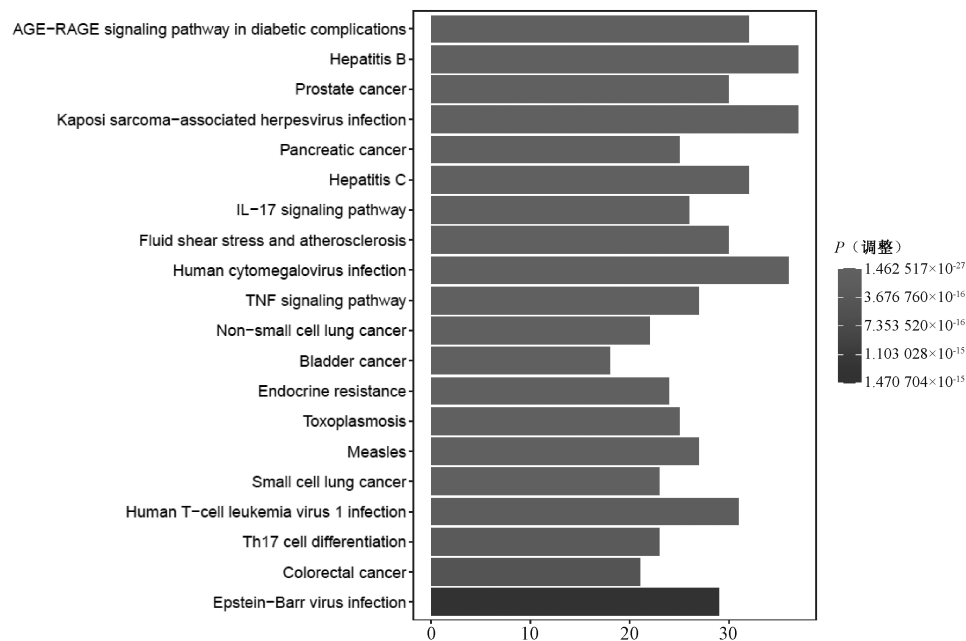


图 7 KEGG 富集通路柱状图

Fig 7 Histogram of KEGG enrichment pathway

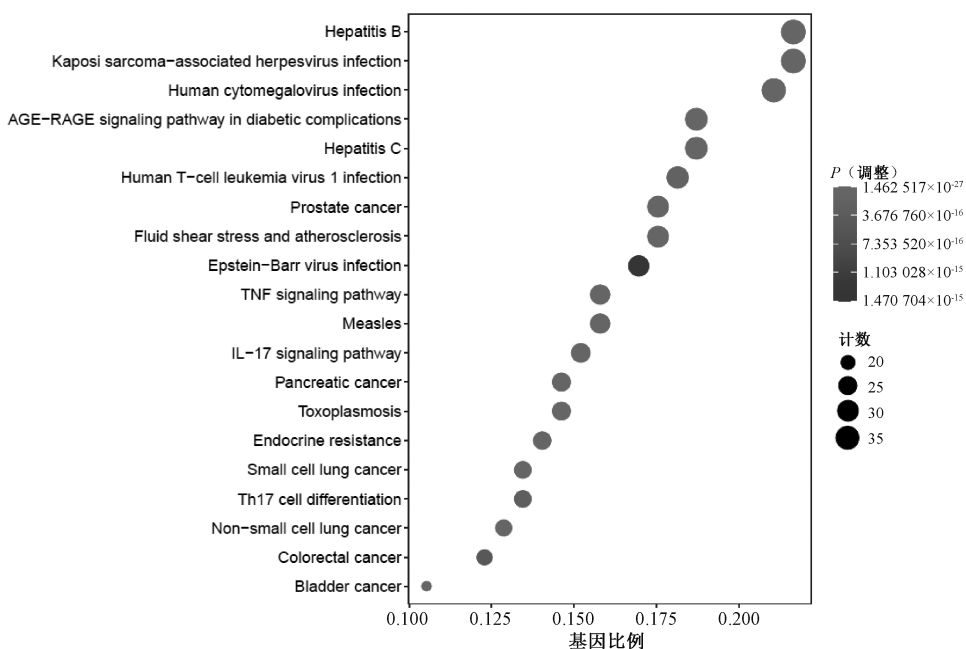


图 8 KEGG 富集通路气泡图

Fig 8 Bubble chart of KEGG enrichment pathway

旺诸证。该方在临床上被广泛用于治疗证属肝郁脾虚型的功能性、器质性消化系统疾病,2 型糖尿病和抑郁症等。多项实验研究也探讨了该方治疗疾病的潜在机制。有研究者运用柴芍六君子汤加減(柴胡 12 g,白芍 20 g,党参 25 g,白术 20 g,清半夏 12 g,陈皮 12 g,炙甘草 10 g)治疗脾虚型慢性萎缩性胃炎,研究结果显示,研究组(在对照组的基础上联合柴芍六君子汤加減)患者的有效率高于对照组(阿莫西林胶囊联合胶体果胶铋干混悬剂),中医症候积分低于对照组,生活质量评分

高于对照组,上述差异均有统计学意义($P < 0.05$)^[16]。李嫦玲^[17]运用柴芍六君子汤加化湿药(柴胡 10 g,白芍 15 g,茯苓 10 g,陈皮 10 g,制半夏 10 g,白术 15 g,党参 15 g,厚朴 10 g,甘草 5 g)辅助治疗肝郁脾虚型功能性消化不良患者,结果显示,联合组(多潘立酮和莫沙必利联柴芍六君子汤加化湿药合)患者的总有效率(97.50%)优于西医组(多潘立酮和莫沙必利)(75.00%)($P = 0.003$),诺丁汉健康量表评分和中医症状积分低于西医组($P < 0.01$),早饱、烧灼感和上腹痛消失时间均短于

西医组($P<0.01$),上述差异均有统计学意义。张或等^[18]运用柴芍六君子汤干预功能性消化不良模型大鼠,以多潘立酮为阳性对照,灌胃 14 d 后,腹主动脉取血检测 5-HT 含量,采用免疫组织化学法检测海马、下丘脑及胃组织中 5-HT 的表达水平,结果显示,柴芍六君子汤能显著提高功能性消化不良模型大鼠的胃排空率,降低下丘脑、海马、胃组织及血清中的 5-HT 含量,恢复胃肠动力。刘先姜等^[19]运用柴芍六君子汤加減治疗肝郁脾虚型非酒精性脂肪性肝炎的临床研究结果显示,治疗 12 周后观察组(柴芍六君子汤加減)患者的中医疗效(总有效率为 93.33%)较对照组(生活干预基础上联合维生素 E 软胶囊)更优(71.11%),且氨基转移酶、血脂及脂肪衰减参数的降低幅度、中医症状评分的改善幅度均优于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。段文飞^[20]运用柴芍六君子汤合膈下逐瘀汤加減方联合现代医学常规疗法治疗慢性胰腺炎术后疼痛及症状,结果表明,观察组患者在现代医学常规疗法的基础上加柴芍六君子汤合膈下逐瘀汤加減方治疗 8 周后的中医证候疗效改善情况优于对照组(现代医学常规疗法)($P<0.05$),视觉模拟评分低于对照组($P<0.01$),差异均有统计学意义,提示在术后常规疗法基础上加用柴芍六君子汤合膈下逐瘀汤加減方在短期内可有效减轻患者腹痛,减少氨酚曲马多片的用量,远期可有效缓解临床症状,改善脂肪吸收和胰腺分泌功能,提高患者的生活质量。柴芍六君子汤具有的健脾渗湿功效也能针对消渴病五脏虚弱、肥甘厚味的病因和消渴日久、阴损及阳致阴阳两虚、气阴两伤的病机发挥治疗作用。有研究者运用柴芍六君子汤加減治疗 2 型糖尿病,观察组(在对照组的基础上予以柴芍六君子汤加減)患者治疗 8 周后的总有效率(98.8%)显著高于对照组(阿卡波糖联合二甲双胍)(85.4%),差异有统计学意义($P<0.05$);随访 2 年的数据显示,观察组患者的身体健康、生活满意度评分等显著高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),表明柴芍六君子汤加減能提高糖尿病患者的近期、远期疗效,改善胰岛 β 细胞功能和患者的长期生活质量^[21]。中医认为,抑郁症的发生与情志失调密切相关,肝失疏泄是抑郁症的核心病机。肝郁则气滞,木郁则横逆犯脾,故治当疏肝理气、肝脾同调。倪慧等^[22]运用不同调肝方药(柴芍六君子汤、四逆散和四君子汤)干预抑郁模型大鼠,结果显示,与四逆散、四君子汤比较,柴芍六君子汤能显著改善抑郁模型大鼠体重增长缓慢、糖水偏好率降低、旷场水平运动总路程减少等行为学变化($P<0.01$),降低脑脊液中脑源性神经影响因子($P<0.01$)和 5-HT($P<0.05$)水平,差异均有统计学意义,且作用更全面。柴芍六君子汤可能通过下调脑脊液中的脑源性神经影响因子和 5-HT 水平,对抑郁模型大鼠具有良好的抗抑郁作用。

3.3.2 柴芍六君子汤的方义分析:方中柴胡味辛、苦,性微寒,归肝、胆、肺经,能升能散,疏肝解郁,为君药。《神农本草经百种录》中记载,“柴胡胃肠之药也。观经中所言治效,皆主肠胃,以其气味轻清,能于顽土中梳理滞气,故其功如此”^[23]。白芍味苦、酸,性微寒,归肝、脾经,养血敛阴、柔肝止痛且平抑肝阳,为臣药。《本草经疏》中记载,白芍“泻肝安脾肺,收胃气,

止泻利……敛逆气,理中气,治脾虚中满,心下痞,胁下痛,善噫”^[23]。柴胡、白芍相配,以柴胡之辛散伍白芍之酸收,使柴胡无耗血劫阴之弊,柴胡疏肝气,白芍养肝血,肝用得助,肝体得养,二者相伍重在疏肝柔肝。党参味甘,性平,归脾、肺经,功效健脾益肺、养血生津。《本草正义》中记载,党参“补脾养胃,润肺生津,健运中气”。茯苓味甘、淡,性平,归心、肺、脾、肾经,利水渗湿、健脾、宁心。《本草纲目》中记载,“茯苓气味淡而渗,其性上行,生津液,开腠理,滋水源而下降,利小便,故张洁古谓其属阳,浮而升,言其性也;东垣谓其为阳中之阴,降而下,言其功也”。白术味甘、苦,性温,归脾、胃经,补脾益气,燥湿利水,固表止汗,益气安胎,为“补气健脾第一要药”。《本草纲目》中记载,白术“除湿益气,和中补阳,消痰逐水,生津止渴……理胃益脾”。《本草通玄》中记载,白术“补脾胃之药,更无出其右者。土旺则能健运,故不能食者,食停滞者,有痞积者,皆用之也”^[23]。《本草纲目》中记载,“白芍同白术补脾”,于土中泻木,调肝而和脾,契合病机。陈皮味苦、辛,性温,归肺、脾经,理气健脾,燥湿化痰,善于梳理气机、调畅中焦。《名医别录》中记载,陈皮“下气,止呕”。《本草纲目》中记载,陈皮“疗呕啰反胃嘈杂,时吐清水”。陈皮配伍白术,健脾燥湿、理气化痰,长于治疗脾虚、气滞、湿阻之恶心、呕吐和腹胀。半夏味辛、温,性有毒,归脾、胃、肺经,降逆止呕,燥湿化痰,消痞散结,为“呕家之圣药”。《主治秘要》中记载,半夏“燥胃湿,化痰,益脾胃气”。陈皮、半夏配伍,可燥湿理气化痰、和胃止呕。党参补益中气,配伍半夏,益中有散,降中有补,和调气机。以上皆为臣药。甘草味甘,性平,归心、肺、脾、胃经,功效为补脾胃气、缓急止痛、调和诸药,为佐使药。诸药合用,共奏疏肝理气、健脾和胃、调畅气机之功,使脾胃和调,纳运正常,标本兼治。

现代药理研究及数据挖掘结果显示,白芍可以抑制副交感神经的兴奋性以解痉^[24]。李鹏帆等^[25]基于中医传承辅助平台,分析《中华医典》中治疗溃疡性结肠炎的处方用药规律,对 341 份处方研究后发现,当归、黄连、甘草、木香、白芍和茯苓为主药。高玲肖等^[26]也通过该平台对李佃贵教授治疗消化性溃疡药-证及四气五味归经方面进行整理,纳入 150 首处方,分析用药规律后得出核心用药为炒白术。张世洋等^[27]的研究结果发现,白术可以提高人参皂苷治疗慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜损伤的作用。何占坤等^[28]经研究发现,陈皮水提液可显著提高胃肠动力障碍大鼠胃体、小肠平滑肌条收缩振幅及血清胃泌素水平,降低胃窦组织生长抑素、胆囊收缩素水平。曾万玲等^[29]通过建立小半夏加茯苓汤的特征图谱,探讨其止吐作用的有效物质基础,发现小半夏加茯苓汤及拆方水提物有一定止吐的作用,并提示姜酚可能是该方止吐药效的物质基础之一。有研究结果发现,甘草的主要活性成分及其成方能通过抑制胃酸和胃蛋白酶分泌,清除幽门螺杆菌,促进胃黏膜黏液分泌,保护和修复胃黏膜,促进溃疡病灶肉芽组织生长,加快溃疡愈合,改善胃黏膜血流量和微循环等途径,不同程度地防治胃溃疡,具有良好的抗溃疡疗效^[30]。四君子汤可通过增加 c-kit、claudin-2 和 occludin 的表达,明显改善小鼠肠黏膜损伤,改善

肠道黏膜通透性和肠动力,治疗气虚型急性胃肠功能损伤^[31]。以上实验及数据挖掘结果证实,柴芍六君子汤中的药物可以松弛胃肠平滑肌,解除胃肠痉挛,促进胃肠蠕动,加速胃排空,调节胃液分泌,保护胃黏膜。

本研究根据 CINV 肝郁气滞、脾失健运和胃失和降的基本病机,拟定疏肝行气、健脾和胃为基本治法,方选柴芍六君子汤,使肝气得疏、肝血得养、脾气健旺、胃纳正常而防治 CINV。网络药理学分析显示出柴芍六君子汤具有多靶点、多通路、多途径的作用,其防治 CINV 的潜在靶点主要包括 STAT3、AKT1、JUN、MAPK1、HSP90AA1、MAPK3、IL-6、RELA 和 CDKN1A 等;广泛参与了机体代谢、炎症等重要生物学过程;与炎症信号通路和多种肿瘤疾病通路密切相关。

综上所述,柴芍六君子汤可能通过干预机体的代谢、炎症反应而调节胃液分泌,减轻胃肠道黏膜充血、水肿状态,修复消化道黏膜屏障,解除胃肠痉挛,促进胃肠蠕动,加速胃排空,并可能影响肿瘤进程。本研究结果可为后续的实验研究奠定初步方向。

参考文献

[1] PATEL P, PAW CHO SING E, DUPUIS L L. Safety of clinical practice guideline-recommended antiemetic agents for the prevention of acute chemotherapy-induced nausea and vomiting in pediatric patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Expert Opin Drug Saf, 2019, 18(2): 97-110.

[2] NATALE J J. Reviewing current and emerging antiemetics for chemotherapy-induced nausea and vomiting prophylaxis[J]. Hosp Pract (1995), 2015, 43(4): 226-234.

[3] 于功昌.小半夏汤多靶点防治化疗性恶心呕吐作用机制研究[D].济南:山东中医药大学,2015.

[4] 周国威,王雨轩,夏天卫,等.基于网络药理学和分子对接法探究麻杏苁甘汤治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制[J].实用中医内科杂志,2021,35(2): 100-107,150,153.

[5] 任守忠,梁娴,苏文琴,等.枫蓼提取物抗炎、止泻作用的物质基础研究[J].时珍国医国药,2016,27(1): 32-34.

[6] 刘丹.橙皮素及柚皮素对 UGTs 活性影响及其临床药物相互作用风险预测[D].南昌:南昌大学,2017.

[7] 赵宇红,陈世坚,文媛雯,等.神经血管单元体外模型在川陈皮素抗阿尔茨海默病作用中的应用[J].广东药科大学学报,2020,36(3): 352-356.

[8] 侯春宁,张雪松,李国林.川陈皮素对口腔鳞状细胞癌细胞 Cal-27 增殖、迁移和侵袭的影响[J].口腔医学,2018,38(6): 481-484.

[9] 汪娇,蒋鹏,周建伟.川陈皮素对非酒精性脂肪肝细胞的保护作用 and IncLSTR 的调控机制[J].中国病理生理杂志,2018,34(6): 1129-1133,1137.

[10] 王家伟,易登良,王涛,等.黄芩素对大鼠心肌缺血-再灌注损伤的保护作用及对 Janus 激酶-信号转导与转录激活分子信号通路的影响[J].中国老年学杂志,2020,40(11): 2410-2414.

[11] 谢玉霜.黄芩素对 LPS/ATP 诱导 PBMCs 分泌炎症因子的影响及其机制研究[D].咸宁:湖北科技学院,2020.

[12] 音金萍,岳紫晨,卓少元. STAT3:慢性炎症介导肝癌进程的关

键分子[J].临床肝胆病杂志,2020,36(4): 948-952.

[13] 于多.基于 NF-κB 通路探讨异甘草素抗炎与抗肿瘤双重作用及其机制的研究[D].长春:吉林大学,2020.

[14] 刘笑彤,胡晓天,周诤栋,等.补中益气汤对化疗性大鼠消化道不良反应的防治效果及机制探讨[J].中国中医基础医学杂志,2019,25(11): 1537-1540.

[15] 于化新,王德山.半夏泻心汤防治化疗药致胃肠反应机制的实验研究[J].中华中医药学刊,2009,27(7): 1537-1540.

[16] 杨白苗,龚家容.柴芍六君子汤加减治疗脾虚型慢性萎缩性胃炎的临床疗效[J].内蒙古中医药,2021,40(7): 26-27.

[17] 李嫦玲.柴芍六君子汤加化湿药辅助治疗肝郁脾虚型功能性消化不良的临床疗效[J].临床合理用药杂志,2021,14(4): 87-88.

[18] 张彧,徐寅,易展,等.柴芍六君子汤对功能性消化不良大鼠海马、下丘脑、胃组织及血清中五羟色胺表达的影响[J].中医药导报,2020,26(6): 1-5.

[19] 刘先姜,王雅,王娜,等.柴芍六君子汤加减治疗非酒精性脂肪性肝炎肝郁脾虚证临床研究[J].中国中医药信息杂志,2021,28(1): 113-117.

[20] 段文飞.柴芍六君子汤合膈下逐瘀汤联合常规疗法治疗慢性胰腺炎术后临床研究[J].新中医,2020,52(12): 25-28.

[21] 李恒,许海莺.柴芍六君子汤加减治疗 2 型糖尿病的近远期疗效观察[J].长春中医药大学学报,2020,36(2): 297-300.

[22] 倪慧,张铭铂,敖海清,等.调肝方药对抑郁模型大鼠行为学及脑脊液中 BDNF、5-HT 的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(10): 4523-4527.

[23] 王越.加味柴芍六君子汤治疗肝郁脾虚型功能性消化不良的临床研究[D].济南:山东中医药大学,2013.

[24] 张舒涵,李晋奇.白芍配伍川乌的增效与解毒作用研究[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(5): 116-118.

[25] 李鹏帆,罗月,张玉丽,等.基于数据挖掘的《中华医典》治疗溃疡性结肠炎组方规律研究[J].中国医药导报,2020,17(18): 143-146.

[26] 高玲肖,刘建平,刘小发,等.基于数据挖掘对李佃贵教授治疗消化性溃疡的用药特点分析[J].世界中西医结合杂志,2020,15(3): 419-424.

[27] 张世洋,刘美辰,唐飞,等.人参配伍白术前后皂苷成分及治疗慢性萎缩性胃炎的活性比较[J].中药药理与临床,2019,35(1): 117-121.

[28] 何占坤,张国梁,唐方,等.陈皮、藿香不同提取物对胃肠动力障碍大鼠胃肠平滑肌收缩活动及胃肠激素的影响[J].天津医药,2017,45(11): 1175-1179.

[29] 曾万玲,杜薇,何前松,等.小半夏加茯苓汤水提物特征图谱及其止吐药效物质基础的研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(1): 184-187.

[30] 翟凡叶,陆婷婷.甘草活性成分及其成方防治胃溃疡药效学机制[J].河南中医,2019,39(6): 951-954.

[31] 黄立权,张志荣,江荣林,等.四君子汤对气虚型急性胃肠功能损伤小鼠小肠 Cajal 间质细胞及黏膜上皮跨膜蛋白 claudin-2、occludin 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2020,40(6): 685-688.

(收稿日期:2021-06-26 修回日期:2021-09-29)