

基于网络药理学与分子对接技术探讨绞股蓝-虎杖治疗亚临床动脉粥样硬化的潜在分子机制



扫码二维码
查看原文

李佳^{1,2}, 何俊¹, 刘福明²

【摘要】 **目的** 基于网络药理学与分子对接技术探讨绞股蓝-虎杖治疗亚临床动脉粥样硬化 (Sub-AS) 的潜在分子机制。**方法** 通过中药系统药理学数据库和分析平台筛选绞股蓝、虎杖的活性成分及靶点, 通过Genecards、OMIM数据库筛选Sub-AS相关靶点, 通过Venny在线平台获取绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点, 通过STRING 11.5构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络并进行拓扑分析以筛选绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点; 之后针对绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析, 构建药物活性成分-疾病靶点-通路网络; 最后通过AutoDock vina V1.2.0和PyMol对筛选出的绞股蓝-虎杖核心活性成分与核心疾病靶点进行分子对接。**结果** 本研究共得到绞股蓝、虎杖活性成分24种, 靶点208个; Sub-AS相关靶点1 321个。最终得到97个绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点。构建PPI网络并进行拓扑分析, 结果显示, 肿瘤坏死因子 (TNF)、白介素 (IL) 6、IL4、IL10、IL1B、血管内皮生长因子 (VEGF) A、基质金属蛋白酶 (MMP) 9、CXCL8、CCL2、细胞间黏附分子 (ICAM) 1、RELA是绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点。GO功能富集分析结果显示, 细胞组成条目91个, 主要包括膜筏、受体复合体、外侧细胞膜、细胞外基质等; 分子功能条目128个, 主要包括信号受体调节活动、氧化还原反应等; 生物过程条目253个, 主要包括正调控细胞运动、调控细胞附着、负调控细胞分化等。KEGG通路富集分析结果显示, 绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点主要参与的通路是TNF信号通路、IL-17信号通路等。药物活性成分-疾病靶点-通路网络显示, 度值最高的药物活性成分是槲皮素, 其次为木犀草素、 β -谷甾醇; 度值最高的疾病靶点是HSP90AB1, 其次是PTGS2、RELA、TNF、IL6、IL1B、ICAM1; 富集的通路主要包括IL-17信号通路和癌症通路, 其次是脂质和动脉硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化。分子对接结果显示, 槲皮素-TNF、槲皮素-PTGS2、木犀草素-PTGS2、木犀草素-ICAM1、木犀草素-HSP90AB1的对接模式较好。**结论** 绞股蓝-虎杖抗Sub-AS的主要活性成分有槲皮素、木犀草素、 β -谷甾醇等, 其可作用于TNF、IL6等多个靶点, 通过调控IL-17信号通路、TNF信号通路等发挥作用。

【关键词】 动脉粥样硬化; 亚临床动脉粥样硬化; 绞股蓝; 虎杖; 网络药理学; 分子对接技术

【中图分类号】 R 543.5 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.327

Potential Molecular Mechanism of Gynostemma Pentaphyllum and Fallopia Japonica in the Treatment of Subclinical Atherosclerosis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

LI Jia^{1,2}, HE Jun¹, LIU Fuming²

1. Department of Rehabilitation, Dean Hospital of Changzhou, Changzhou 213000, China

2. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine/Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Corresponding author: HE Jun, E-mail: hj197874@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the potential molecular mechanism of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica in the treatment of subclinical atherosclerosis (Sub-AS) based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** The active components and targets of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica were screened through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, the Sub-AS related targets were screened through the Genecards and OMIM databases, and the potential targets of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica in the treatment of Sub-AS were obtained through the Venny online platform. Protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING 11.5 and topological analysis was constructed to screen key targets of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica in the treatment of Sub-AS. After that, GO functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed on the key targets of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica in the treatment of Sub-AS, and the drug active component-disease target-pathway network was constructed. Finally, molecular docking between the screened core

基金项目: 江苏省重点研发计划项目 (BE2020683)

1.213000江苏省常州市德安医院康复中心 2.210029江苏省南京市, 南京中医药大学附属医院 江苏省中医院心血管内科

通信作者: 何俊, E-mail: hj197874@126.com

active components of *Gynostemma pentaphyllum* and *Fallopia japonica* and core disease targets was performed by AutoDock vina V1.2.0 and PyMol. **Results** A total of 24 active components and 208 related targets of *Gynostemma pentaphyllum* and *Fallopia japonica*, and 1 321 Sub-AS-related targets were obtained. Finally, there were 97 potential targets of *Gynostemma pentaphyllum* and *Fallopia japonica* in the treatment of Sub-AS. PPI network was constructed and topological analysis was performed, and the results showed that tumor necrosis factor (TNF), interleukin (IL) 6, IL4, IL10, IL1B, vascular endothelial growth factor (VEGF) A, matrix metalloproteinase (MMP) 9, CXCL8, CCL2, intercellular adhesion molecule (ICAM) 1, and RELA were the key targets of *Gynostemma pentaphyllum* and *Fallopia japonica* in the treatment of Sub-AS. GO function enrichment analysis results showed that there were 91 cell composition items, mainly including membrane rafts, receptor complexes, lateral cell membranes, extracellular matrix, etc; there were 128 molecular function items, mainly involving signal receptor regulatory activities, redox reactions, etc; there were 253 biological process items, mainly including positive regulation of cell movement, regulation of cell attachment, negative regulation of cell differentiation, etc. KEGG pathway enrichment analysis results showed that the main pathways involved in key targets of *Gynostemma pentaphyllum* and *Fallopia japonica* in the treatment of Sub-AS were TNF signaling pathway and the IL-17 signaling pathway. The drug active component-disease target-pathway network showed that the drug active component with the highest degree value was quercetin, followed by luteolin and β -sitosterol; the disease target with the highest degree value was HSP90AB1, followed by PTGS2, RELA, TNF, IL6, IL1B, ICAM1; the enriched pathways mainly included the IL-17 signaling pathway and the cancer pathway, followed by lipid and arteriosclerosis, fluid shear stress and atherosclerosis. The molecular docking results showed that the docking modes of quercetin-TNF, quercetin-PTGS2, luteolin-PTGS2, luteolin-ICAM1 and luteolin-HSP90AB1 were better. **Conclusion** The main active components of *Gynostemma pentaphyllum* and *Fallopia japonica* against in the treatment of Sub-AS are quercetin, luteolin, β -sitosterol, etc, which can act on multiple targets such as TNF and IL6, and play a role by regulating IL-17 signal pathway and TNF signal pathway.

【Key words】 Atherosclerosis; Subclinical atherosclerosis; *Gynostemma pentaphyllum*; *Fallopia japonica*; Network pharmacology; Molecular docking

据统计, 全球范围内心脑血管疾病发病率、死亡率均较高^[1], 预后不良^[2]。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的高危因素及病理基础, 在青年期其常表现为亚临床动脉粥样硬化(subclinical atherosclerosis, Sub-AS)^[3]。Sub-AS是一种长期动态累积、缓慢进展的疾病, 其起病隐匿, 故早期发现并有效干预Sub-AS对降低心脑血管疾病发生率大有裨益^[4]。虽然降脂西药治疗Sub-AS的效果明显, 但其作用靶点单一^[5], 且长期使用还存在不良反应^[6]。中医药在降脂方面经验丰富, 安全性较高^[5], 但其治疗机制及有效成分尚不明确。中医无Sub-AS病名, 根据其病理过程, 有学者提出“脉中积”的观点^[7], 认为Sub-AS患者以气血亏虚、脉道不利为“本”, 病位在血脉, 痰、瘀、毒是其主要病理因素^[8], 其早期治疗应以抗炎和抗氧化为主^[9]。绞股蓝具有清热解毒、益气养阴、健脾化痰等功效。现代药理学研究表明, 绞股蓝具有降糖、降脂、调节免疫、抗氧化等作用^[10], 是医食同源类新植物资源。虎杖可化痰解毒、退黄祛瘀, 具有抗炎、调控代谢、抗AS等作用^[11]。二者配伍, 标本兼治, 血清脉坚, 气血调畅^[12-13]。

近年来从分子、信号通路层面挖掘疾病的发生机制是常用的药物研究方法^[14], 与中医“多靶点、整体观”的理念相似^[15]。本研究基于网络药理学与分子对接技术探讨绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在分子机制, 以

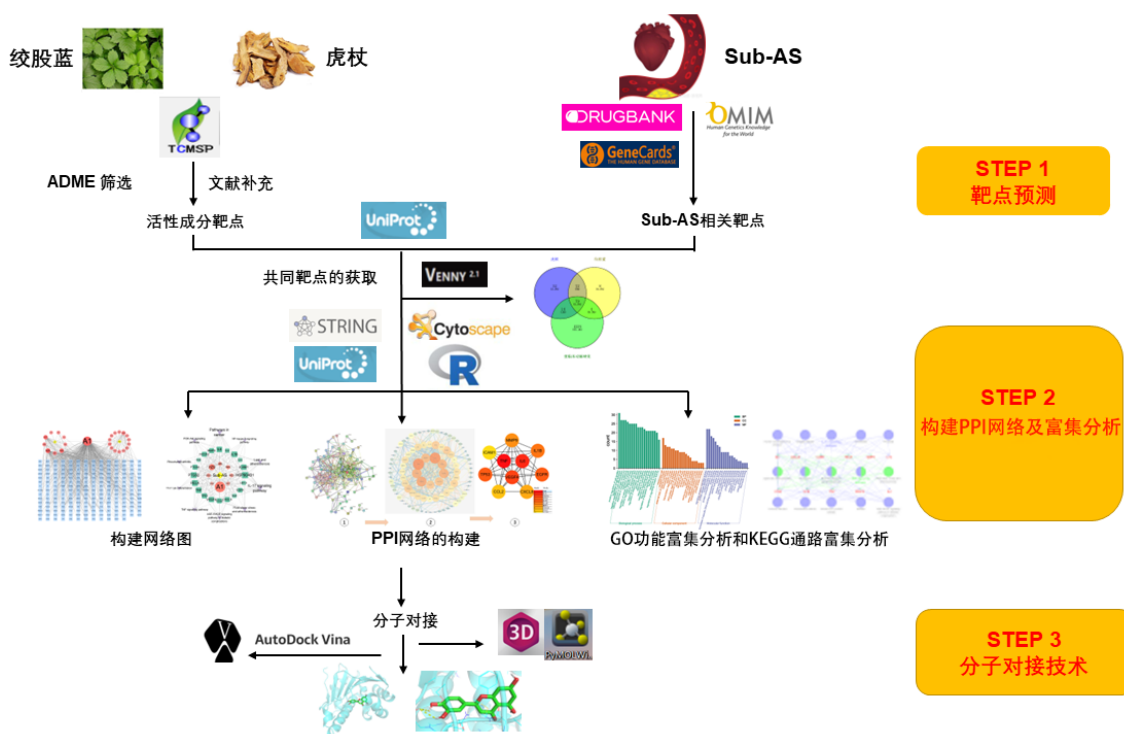
期为后续研究提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究流程 本研究流程见图1。

1.2 绞股蓝、虎杖活性成分靶点及筛选 在中药系统药理学数据库和分析平台^[16] (<http://tcmispw.com/>) 检索“绞股蓝”“虎杖”, 获得相应的化学组成成分, 设置药动学参数, 检索过滤器进行吸收、分布、代谢和排泄(ADME)的初步筛选, 设置口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和药物相似度指数 ≥ 0.18 , 获得活性成分及靶蛋白。排除无潜在目标信息的活性成分, 补充文献报道的活性成分。然后通过Uniprot蛋白质数据库^[17] (<https://www.uniprot.org>) 对靶蛋白进行标准化, 状态设置为“reviewed”, 物种设置为“homo sapiens”。去除重复和无对应基因名称的靶蛋白后, 获得绞股蓝、虎杖的活性成分靶点。

1.3 Sub-AS相关靶点筛选及绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS潜在靶点的获取 以“Subclinical atherosclerosis”为检索词, 从GeneCards^[18] (<https://www.genecards.org/>)、OMIM^[19] (<https://omim.org/>)、DrugBank^[20] (<https://www.drugbank.ca>) 数据库收集Sub-AS相关靶点, 删重后合并靶点, 补充文献报道的已知靶点。使用UniProt数据库将药物活性成分靶点和疾病相关靶点统一规范为GeneSymbol, 之后将其导入Venny在线平台 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 映射并



注：Sub-AS=亚临床动脉粥样硬化，PPI=蛋白质-蛋白质相互作用

图1 研究流程

Figure 1 Research process

取交集，绘制韦恩图，最终获得纹股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建及拓扑分析 使用在线数据库STRING 11.5^[21] (<https://string-db.org>) 分析纹股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点在网络中的相互关系，物种限定为“homo sapiens”，最小相互作用阈值定为“高置信度(0.7)”，同时隐藏PPI网络中的不相连节点。将PPI网络分析结果从STRING 11.5中导出并导入Cytoscape^[22]，构建PPI网络并进行优化分析，通过内置的“Network Analyzer”分析节点的拓扑参数，运行CytoHubba插件并通过多种拓扑计算方法预测PPI网络中的关键节点和子网络，筛选最大基团中心性(maximal clique centrality, MCC)、最大邻域分量(maximum neighborhood component, MNC)、边过滤成分(edge percolated component, EPC)、度值、紧密性算法中排名前20的关键节点，并取其交集作为纹股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点。

1.5 GO功能富集分析 将纹股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点导入Metascape数据库^[23] (<https://metascape.org/>)，设置 $P < 0.01$ ，物种限定为“homo sapiens”，选择GO条目下的细胞组成(cellular component,

CC)、分子功能(molecular function, MF)、生物过程(biological process, BP)3部分分别进行GO功能富集分析，进一步寻找靶点显著富集的主要功能注释。

1.6 KEGG通路富集分析 运行Cytoscape 3.9.1软件中的ClueGO插件，导入纹股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点，设置 $P < 0.01$ ，Kappa系数为0.5，进行KEGG通路富集分析。

1.7 构建药物活性成分-疾病靶点-通路网络 通过Cytoscape 3.9.1软件，筛选纹股蓝、虎杖中度值较高的活性成分、疾病靶点、相关KEGG信号通路，构建药物活性成分-疾病靶点-通路网络。之后，应用Network Analyzer分析各节点的网络拓扑参数，包括度值、中心性和紧密性，并根据上述参数判断抗Sub-AS的重要靶点、发挥治疗作用的主要活性成分及信号通路。

1.8 分子对接技术 从TCMSP、RCSB (<http://www.rcsb.org/pdb>)、PubChem^[24] (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库获取小分子配体和受体，以分辨率 < 2.5 Å和参考文献支持为筛选条件。通过ChemOffice对小分子配体进行能量最小化处理，并以“mol”格式存储。运行PyMol 2.5.2对受体进行去水、去残基，以“pdb”格式保存^[25]。在Auto Dock Tools 1.5.7中打开配体和受体，确定配体和受体结合位点grid box的位置和大小，

并以“pdbqt”格式导出^[26]。使用AutoDock vina V1.2.0软件进行分子对接操作,通过化合物与靶蛋白的亲合力得分判断分子间结合的稳定性。运行PyMol软件,调整透明度显示结合位点,进行可视化分析。其中分子对接得分Affinity ≥ -5.00 kcal/mol且 < -4.25 kcal/mol表示配体和受体之间具有结合活性, Affinity ≥ -7.00 kcal/mol且 < -5.00 kcal/mol表示配体和受体之间具有良好的结合活性, Affinity < -7.00 kcal/mol表示配体和受体之间具有强烈的对接活性^[27]。

2 结果

2.1 绞股蓝、虎杖活性成分及靶点 本研究共得到绞股蓝、虎杖活性成分24种,靶点208个;其中绞股蓝活性成分14种、虎杖活性成分9种、二者共同活性成分1种,见表1。

表1 绞股蓝、虎杖活性成分

Table 1 Active ingredient of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica

| 分子ID | 活性成分 | 口服生物利用度 (%) | 药物相似度 |
|-----------|---|-------------|-------|
| 绞股蓝 | | | |
| MOL000338 | 3-甲基二碘苯二酚 | 51.61 | 0.27 |
| MOL000351 | 鼠李素 | 47.14 | 0.34 |
| MOL000359 | 谷甾醇 | 36.91 | 0.75 |
| MOL004350 | 黄夹次甙丙 | 36.12 | 0.76 |
| MOL004355 | 菠菜甾醇 | 42.98 | 0.76 |
| MOL005438 | 菜油甾(固)醇 | 37.58 | 0.71 |
| MOL005440 | 豆甾醇 | 43.78 | 0.76 |
| MOL000953 | CLR | 37.87 | 0.68 |
| MOL009855 | 豆甾-5, 22, 25-三烯-3-醇 | 46.91 | 0.76 |
| MOL009867 | 4 α , 14 α -二甲基-5 α -麦角-7, 9(11), 24(28)-三烯-3 β -醇 | 46.29 | 0.76 |
| MOL009877 | 葫芦巴-5, 24-二烯酚 | 44.02 | 0.74 |
| MOL009878 | 环布辛 | 84.48 | 0.7 |
| MOL009971 | 绞股蓝皂甙XXVII | 30.21 | 0.74 |
| MOL009973 | 绞股蓝皂甙XXVIII | 32.08 | 0.74 |
| 虎杖 | | | |
| MOL013281 | 6, 8-二-三氟甲基-7-乙酰基白杨素 | 35.83 | 0.21 |
| MOL013287 | 毒扁豆次碱 | 106.21 | 0.19 |
| MOL013288 | 鸭脚树叶醌碱 | 58.01 | 0.75 |
| MOL002259 | 二葡萄糖苷 | 41.65 | 0.63 |
| MOL002268 | 大黄酸 | 47.07 | 0.28 |
| MOL002280 | 托拉菌松-8-O- β -D-(6'-草酰基)-葡萄糖苷 | 43.02 | 0.74 |
| MOL000358 | β -谷甾醇 | 36.91 | 0.75 |
| MOL000492 | 儿茶素 | 54.83 | 0.24 |
| MOL000006 | 木犀草素 | 36.16 | 0.25 |
| 绞股蓝-虎杖 | | | |
| MOL000098 | 槲皮素 | 46.43 | 0.28 |

2.2 Sub-AS相关靶点 本研究筛选出Sub-AS相关靶点1 398个,其中GeneCards数据库1 273个、OMIM数据库125个。删重、合并后得到1 321个Sub-AS相关靶点。

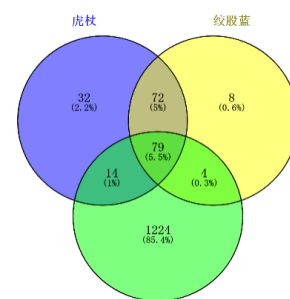
2.3 绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点 分析绞股蓝、虎杖与Sub-AS相关靶点,共得到97个绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点,见图2。

2.4 绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点 将97个绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的潜在靶点上传至STRING平台,初步构建一个包含97个节点、511条边、平均节点度值为10.5、平均局部聚类系数为0.466的PPI网络。使用“Network Analyzer”进行网络拓扑分析,结果显示,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素(interleukin, IL)6、IL4、IL10、IL1B、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)A、基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein, MMP)9、CXCL8、CCL2、细胞间黏附分子(intercellular cell adhesion molecule, ICAM)1、RELA是绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点,见表2。

2.5 GO功能富集分析 应用Metascape平台对绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的核心靶点进行GO主要功能注释,结果显示,CC条目91个,主要包括膜筏、受体复合体、外侧细胞膜、细胞外基质等;MF条目128个,主要涉及信号受体调节活动、氧化还原反应等;BP条目253个,主要包括正调控细胞运动、调控细胞附着、负调控细胞分化等。

2.6 KEGG通路富集分析 通过Cytoscape 3.9.1软件对绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的核心靶点进行KEGG通路富集分析和可视化分析,结果显示,核心靶点主要参与的通路有TNF信号通路、IL-17信号通路、脂质及动脉粥样硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化、糖尿病并发症AGE-RAGE信号通路等。

2.7 药物活性成分-疾病靶点-通路网络构建 结合药物活性成分、疾病靶点、PPI网络及可能参与Sub-AS的



亚临床动脉粥样硬化

图2 绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS潜在靶点的韦恩图

Figure 2 Venn diagram of potential targets of gynostemma pentaphyllum and fallopia japonica in the treatment of Sub-AS

表2 多种拓扑计算方法中排名前20的关键节点

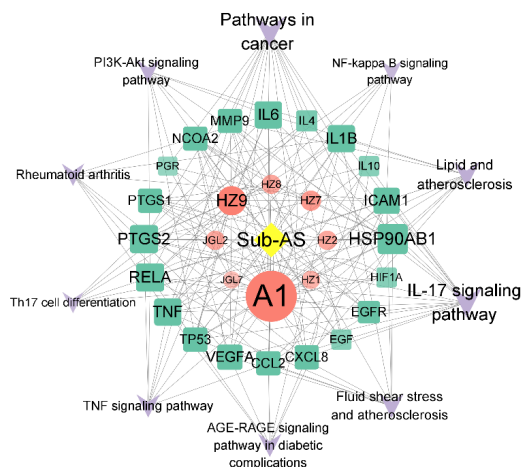
Table 2 Top 20 key nodes in various topology calculation methods

| 序号 | MCC | MNC | EPC | 度值 | 紧密性 |
|----|--------|----------|-------|-------|-------|
| 1 | IL6 | TNF | IL6 | TNF | TNF |
| 2 | TNF | IL6 | TNF | IL6 | IL6 |
| 3 | CXCL8 | VEGFA | VEGFA | VEGFA | VEGFA |
| 4 | CCL2 | EGFR | IL1B | TP53 | EGFR |
| 5 | IL1B | TP53 | MMP9 | EGFR | TP53 |
| 6 | ICAM1 | IL1B | CXCL8 | IL1B | IL1B |
| 7 | IL10 | MMP9 | IL10 | MMP9 | MMP9 |
| 8 | IL4 | CXCL8 | CCL2 | CXCL8 | RELA |
| 9 | IL2 | CCL2 | EGFR | CCL2 | CXCL8 |
| 10 | IL1A | ICAM1 | ICAM1 | ICAM1 | EGF |
| 11 | CXCL10 | IL10 | TP53 | IL10 | CCL2 |
| 12 | VEGFA | RELA | IL4 | RELA | IL10 |
| 13 | IFNG | EGF | RELA | EGF | ICAM1 |
| 14 | VCAM1 | HIF1A | TGFB1 | HIF1A | HIF1A |
| 15 | MMP9 | IL4 | EGF | IL4 | PTGS2 |
| 16 | CRP | TGFB1 | IL2 | PTGS2 | TGFB1 |
| 17 | RELA | CCND1 | PTGS2 | ESR1 | ERBB2 |
| 18 | PTGS2 | MMP2 | IFNG | TGFB1 | MMP2 |
| 19 | MMP1 | SERPINE1 | MMP2 | CCND1 | CCND1 |
| 20 | MMP3 | ESR1 | VCAM1 | MMP2 | IL4 |

注: MCC=最大基团中心, MNC=最大领域分量, EPC=边过滤成分, IL=白介素, TNF=肿瘤坏死因子, VEGF=血管内皮生长因子, EGFR=表皮生长因子受体, MMP=基质金属蛋白酶, ICAM=细胞间黏附分子, IFN=干扰素, EGF=表皮生长因子, VCAM=血管间黏附分子, HIF=缺血诱导因子, PTGS=环加氧酶, CRP=C反应蛋白, CCND1=细胞周期素D1

前10条KEGG通路, 构建了一个包含39个节点和184条边的绞股蓝-虎杖活性成分-疾病靶点-通路网络, 见图3。其中度值最高的药物活性成分是槲皮素, 其次为木犀草素、β-谷甾醇, 见表3; 度值最高的疾病靶点是HSP90AB1, 其次是PTGS2、RELA、TNF、IL6、IL1B、ICAM1, 见表4; 富集的通路主要包括IL-17信号通路和癌症通路, 其次是脂质和动脉硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化, 见表5。

2.8 分子对接结果 将筛选出的主要疾病靶点 (HSP90AB1、PTGS2、RELA、TNF、IL6、IL1B、ICAM1、VEGFA、CCL2、MMP9、CXCL8) 分别与虎杖、绞股蓝核心活性成分 (槲皮素、木犀草素、β-谷甾醇) 进行分子对接, 结果显示, 平均Affinity为-7.2 kcal/mol, 其中Affinity ≥ -7.00 kcal/mol且 < -5.00 kcal/mol占97.0%, Affinity < -7.00 kcal/mol占48.5%, 见图4。其中槲皮素-TNF、槲皮素-PTGS2、木犀草素-PTGS2、木犀草素-ICAM1、木犀草素-HSP90AB1的对接模式较好, 见图5。



注: 菱形表示Sub-AS, 圆形表示虎杖、绞股蓝作用于Sub-AS的主要活性成分, 方形表示核心靶点基因, 倒三角表示主要相关通路; IL=白介素, TNF=肿瘤坏死因子, VEGF=血管内皮生长因子, EGFR=表皮生长因子受体, MMP=基质金属蛋白酶, ICAM=细胞间黏附分子, EGF=表皮生长因子, HIF=缺血诱导因子, PTGS=环加氧酶

图3 绞股蓝-虎杖活性成分-疾病靶点-通路网络

Figure 3 Network of active component-disease target-pathway of gynostemma pentaphyllum-fallopia japonica

表3 绞股蓝-虎杖主要活性成分网络节点特征参数

Table 3 Characteristic parameters of main active components network node of gynostemma pentaphyllum-fallopia japonica

| 分子ID | 缩写 | 活性成分 | 度值 | 中心性 | 紧密性 |
|-----------|------|-------|----|----------|----------|
| MOL000098 | A1 | 槲皮素 | 36 | 0.119356 | 0.633333 |
| MOL000006 | HZ9 | 木犀草素 | 14 | 0.067324 | 0.558824 |
| MOL000358 | HZ7 | β-谷甾醇 | 5 | 0.009384 | 0.422222 |
| MOL000492 | HZ8 | 儿茶素 | 4 | 0.003246 | 0.413043 |
| MOL000351 | JGL2 | 鼠李素 | 4 | 0.003246 | 0.413043 |

表4 绞股蓝-虎杖主要靶点网络节点特征参数

Table 4 Characteristic parameters of main target network node of gynostemma pentaphyllum-fallopia japonica

| 靶点 | 度值 | 中心性 | 紧密性 |
|----------|----|----------|----------|
| HSP90AB1 | 15 | 0.117037 | 0.567164 |
| PTGS2 | 13 | 0.084765 | 0.535211 |
| RELA | 13 | 0.041101 | 0.535211 |
| TNF | 12 | 0.030874 | 0.520548 |
| IL6 | 12 | 0.035190 | 0.520548 |
| IL1B | 12 | 0.033898 | 0.520548 |
| ICAM1 | 12 | 0.025111 | 0.506667 |
| VEGFA | 10 | 0.021509 | 0.493506 |
| CCL2 | 9 | 0.014501 | 0.481013 |
| MMP9 | 9 | 0.011805 | 0.481013 |
| CXCL8 | 9 | 0.016615 | 0.481013 |

表5 绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点KEGG通路富集分析结果

Table 5 Enrichment results of the Sub-AS key target KEGG pathway treated with gynostemma pentaphyllum-fallopia japonica

| KEGG | 富集通路 | 个数 | 基因 |
|----------|--------------------|----|---|
| hsa04657 | IL-17信号通路 | 15 | HSP90AB1, IL1B, IL4, IL6, CXCL8, MMP9, PTGS2, RELA, CCL2, TNF, ICAM1, TP53, EGFR, VEGFA, IL10 |
| hsa05200 | 癌症通路 | 15 | EGF, EGFR, HIF1A, HSP90AB1, IL4, IL6, CXCL8, MMP9, PTGS2, RELA, TP53, VEGFA, IL1B, TNF, PGR |
| hsa05417 | 脂质和动脉硬化 | 10 | HSP90AB1, ICAM1, IL1B, IL6, CXCL8, MMP9, RELA, CCL2, TNF, TP53 |
| hsa05418 | 流体剪切应力与动脉粥样硬化 | 9 | HSP90AB1, ICAM1, IL1B, MMP9, RELA, CCL2, TNF, TP53, VEGFA |
| hsa04933 | 糖尿病并发症AGE-RAGE信号通路 | 8 | ICAM1, IL1B, IL6, CXCL8, RELA, CCL2, TNF, VEGFA |
| hsa04668 | TNF信号通路 | 8 | ICAM1, IL1B, IL6, MMP9, PTGS2, RELA, CCL2, TNF |
| hsa04151 | PI3K-Akt信号通路 | 8 | EGF, EGFR, HSP90AB1, IL4, IL6, RELA, TP53, VEGFA |
| hsa05323 | 类风湿关节炎 | 7 | ICAM1, IL1B, IL6, CXCL8, CCL2, TNF, VEGFA |
| hsa04659 | Th17细胞分化 | 6 | HIF1A, HSP90AB1, IL1B, IL4, IL6, RELA |
| hsa04064 | NF-κB信号通路 | 6 | ICAM1, IL1B, CXCL8, PTGS2, RELA, TNF |

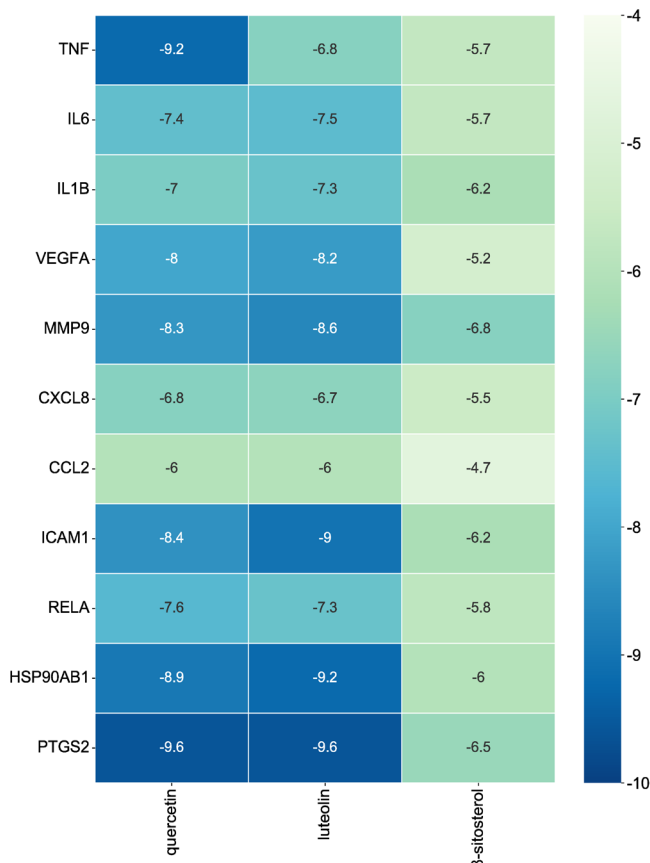
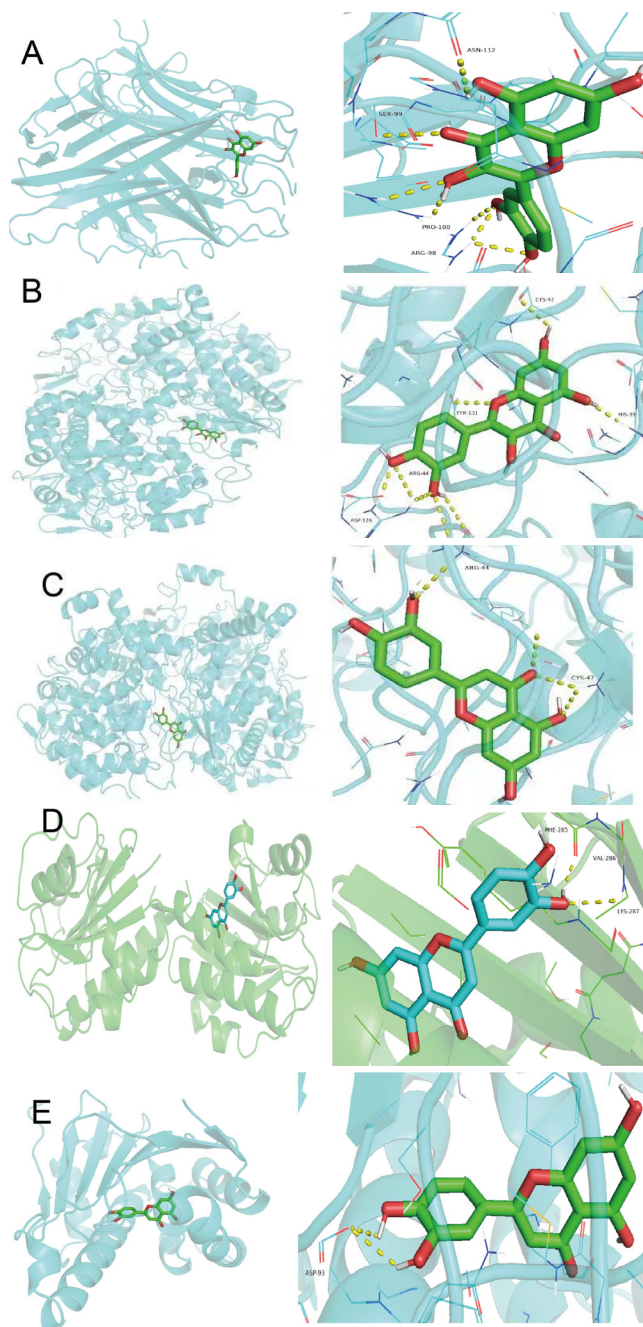


图4 分子对接热图

Figure 4 Molecular docking thermogram



注: A为槲皮素-TNF对接, B为槲皮素-PTGS2对接, C为木犀草素-PTGS2对接, D为木犀草素-ICAM1对接, E为木犀草素-HSP90AB1对接; 左图为药物活性成分与靶点对接的全貌, 右图为分子对接特写, 棍棒模型为药物活性成分的三维结构, 螺旋体为靶蛋白质结构, 虚线为氢键

图5 结合活性较高的药物活性成分与靶点分子对接模式

Figure 5 Docking mode between active components of drugs with high binding activity and target molecules

3 讨论

Sub-AS一般指存在AS斑块证据但无重要动脉明显狭窄, 且无明显临床表现的一种亚临床状态, 其病理表现为动脉弹性减弱、血管僵硬增加, 但其是心脑血管疾病的重要危险因素和预测因子^[28]。目前, Sub-

AS的发病率尚无具体数据。早期识别并积极干预Sub-AS能有效延缓AS进展、预防心脑血管疾病的发生,这也正好契合了中医“未病先防、欲病早治”的理念。中医学认为,Sub-AS的病机为本虚标实,是诸多复杂病因作用于本虚之体,瘀、痰、毒内蕴,三者相互胶着,进而促使疾病的发生和进展。Sub-AS的治疗应以“让浊归清”为原则,同时兼顾治病求本、滋养脏腑^[29]。绞股蓝可入肺、脾、肾经,其在清热化痰的同时可健脾以壮中州,增强脾脏化浊生血之功效;此外,其还可以滋阴补肾、固护元气。虎杖长于清热解暑、活血化痰,可入肝经,条达气机、通畅气血运行。本研究利用网络药理学和分子对接技术,从微观角度分析绞股蓝-虎杖抗Sub-AS的具体分子机制。

本研究结果显示,TNF、IL6、IL4、IL10、IL1B、VEGFA、MMP9、CXCL8、CCL2、ICAM1、RELA是绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的关键靶点。既往研究表明,在炎症因素刺激下,细胞黏附因子增加,单核细胞黏附于内皮细胞,血管平滑肌细胞迁移、增殖,巨噬细胞聚集在血管内膜^[30]。AS早期主要表现为内皮下泡沫细胞积聚,在动脉管壁上形成脂肪条纹,且随着时间推移泡沫细胞死亡并累及血管平滑肌细胞,使其分泌纤维成分,形成闭塞性纤维斑块^[31-32]。IL-10可能通过抑制活性氧中间产物生成而阻止或逆转Sub-AS中的炎症反应。RELA是NF- κ B家族相关转录因子,其可以结合miRNA,并在抑制炎症反应及调节内皮细胞增殖、凋亡、黏附等过程中发挥重要作用^[33]。本研究分子对接结果显示,槲皮素-TNF、槲皮素-PTGS2、木犀草素-PTGS2的对接模式较好。TNF包括TNF- α 和TNF- β ,其中TNF- α 是一种促炎细胞因子,具有广泛的生物学活性^[34]。在TNF- α 的诱导下,内皮细胞可通过NF- κ B通路而促进各种趋化性细胞因子(CCL2、CXCL8等)、ICAM、VEGF的表达;此外,TNF- α 还能诱发IL-6、IL-1 β 等的分泌,刺激MMP尤其是MMP-9的产生,而MMP-9又可以促进细胞外基质的过度降解,导致纤维帽变薄,从而影响斑块的稳定性^[35]。既往研究发现,PTGS2受多种炎症细胞因子调控,而中药可通过下调AS小鼠PTGS2表达而发挥抗AS效果^[36]。

本研究KEGG通路富集分析结果显示,绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的核心靶点主要通过调控TNF信号通路、IL-17信号通路而发挥抗Sub-AS作用,其中IL-17信号通路的富集结果更明显,HSP90A1、PTGS2、RELA、TNF、IL6、IL1B、ICAM1、VEGFA、CCL2、MMP9、CXCL8既属于IL-17信号通路的靶点,同时也是绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS的核心靶点,故推测IL-17信号通路可能在绞股蓝-虎杖治疗Sub-AS中发挥重要作用。

IL-17家族成员与其受体结合后可诱导下游相关信号通路如NF- κ B、MAPK等介导炎症反应,其中IL-17A、IL-17F可通过激活NF- κ B信号通路而上调炎症因子、细胞因子等的表达;TNF- α 与其受体结合后,可通过激活下游的NF- κ B、MAPK信号通路而进一步促进炎症因子释放^[37],与吴迪等^[38]研究结果一致,推测绞股蓝-虎杖可能通过激活NF- κ B通路、抑制炎症因子表达而发挥抗Sub-AS作用。

槲皮素是一种天然黄酮类化合物,具有多种生物学活性,如心脏保护作用、抗动脉硬化、抗氧化、抗炎、抗心肌细胞凋亡等^[39]。木犀草素亦属于黄酮类化合物^[40],其常用于治疗心血管疾病。研究发现,木犀草素主要通过抑制NF- κ B活性而抑制MMP分泌,进而发挥抑制炎症反应的作用^[41]。 β -谷甾醇是一种常见的植物甾醇,其在抗炎、抗氧化、免疫调节和抗肿瘤等方面具有较强的活性;此外,其还能抑制TNF- α 引起的细胞黏附因子表达及RELA-NF- κ B亚基磷酸化,进而影响炎症因子的释放。既往研究证实,炎症反应是引起斑块不稳定的重要原因,而抑制炎症应答能阻止血管炎症的发生和发展,进而有效抑制AS进展^[42]。而在治疗AS的中草药中,虎杖和绞股蓝具有抗炎作用^[12-13]。

综上所述,绞股蓝-虎杖抗Sub-AS的主要活性成分有槲皮素、木犀草素、 β -谷甾醇等,其可作用于TNF、IL6等多个靶点,通过调控IL-17信号通路、TNF信号通路等发挥作用,这为后期的动物实验或细胞实验奠定基础。

作者贡献:刘福明进行文章的构思与设计,结果分析与解释;何俊进行研究的实施与可行性分析,负责文章的质量控制及审校,并对文章整体负责、监督管理;李佳进行数据收集、整理、分析,负责撰写、修订论文。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] LIBBY P. The changing landscape of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2021, 592 (7855): 524-533. DOI: 10.1038/s41586-021-03392-8.
- [2] HUMPHRIES S E, COOPER J A, SEED M, et al. Coronary heart disease mortality in treated familial hypercholesterolaemia: update of the UK Simon Broome FH register [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 274: 41-46.
- [3] 韩莹莹, 李延忠. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征与亚临床动脉粥样硬化 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2022, 36 (2): 126-132. DOI: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2022.011.
- [4] 睢世聪, 邹旭峰, 王元红, 等. 基于TLR-2/4-IRF3信号通路研究四逆汤抗动脉粥样硬化的机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34 (11): 5470-5474.
- [5] 李丹, 董开心, 刘燕华, 等. 降脂类中药降脂成分及降脂机制的研究进展 [J]. *江西医药*, 2020, 55 (11): 1736-1740.

- [6] BACKES J M, RUISINGER J F, GIBSON C A, et al. Statin-associated muscle symptoms—managing the highly intolerant [J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 11 (1): 24–33. DOI: 10.1016/j.jacl.2017.01.006.
- [7] 蔡东成, 刘红霞, 刘丹媚, 等. 脂质代谢与降脂药物研究进展 [J]. *药学进展*, 2020, 44 (5): 379–386.
- [8] 陈馨浓, 葛其卉, 赵一璇, 等. 从“脉中积”认识动脉粥样硬化 [J]. *中医杂志*, 2022, 63 (16): 1532–1537. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2022.16.007.
- [9] 杨颖溪, 刘琪, 周欢, 等. 斑块微环境与中医阴阳学说的关系 [J]. *中医杂志*, 2020, 61 (10): 862–865. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.10.010.
- [10] 薛晶晶, 高建德, 陈正君, 等. 绞股蓝化学成分及药理作用研究进展 [J]. *甘肃中医药大学学报*, 2018, 35 (6): 86–89. DOI: 10.16841/j.issn1003-8450.2018.06.19.
- [11] 梁春晓, 王珊珊, 陈淑静, 等. 虎杖化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53 (4): 1264–1276. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.04.034.
- [12] 宋囡, 杨芳, 曹慧敏, 等. 绞股蓝总甙调控mTOR/ULK1通路对ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26 (2): 127–132. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2018.02.004.
- [13] 时圣明, 潘明佳, 王文倩, 等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39 (2): 317–321. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.02.033.
- [14] CHEN Y, KERN T S, KISER P D, et al. Eyes on systems pharmacology [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 114: 39–41. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.09.026.
- [15] YANG M, CHEN J L, XU L W, et al. Navigating traditional Chinese medicine network pharmacology and computational tools [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 731969. DOI: 10.1155/2013/731969.
- [16] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSPP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13. DOI: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [17] CHEN C, HUANG H, WU C H. Protein bioinformatics databases and resources [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1558: 3–39. DOI: 10.1007/978-1-4939-6783-4_1.
- [18] SAFRAN M, DALAH I, ALEXANDER J, et al. GeneCards version 3: the human gene integrator [J]. *Database*, 2010, 2010: baq020. DOI: 10.1093/database/baq020.
- [19] AMBERGER J S, BOCCHINI C A, SCHIETTECATTE F, et al. OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D789–798. DOI: 10.1093/nar/gku1205.
- [20] WISHART D S, FEUNANG Y D, GUO A C, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 46 (D1): D1074–1082. DOI: 10.1093/nar/gkx1037.
- [21] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1): D607–613. DOI: 10.1093/nar/gky1131.
- [22] SMOOT M E, ONO K, RUSCHEINSKI J, et al. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (3): 431–432. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq675.
- [23] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 1523. DOI: 10.1038/s41467-019-09234-6.
- [24] DASHTI H, WEDELL J R, WESTLER W M, et al. Automated evaluation of consistency within the PubChem Compound database [J]. *Sci Data*, 2019, 6: 190023. DOI: 10.1038/sdata.2019.23.
- [25] GOODSELL D S, ZARDECKI C, DI COSTANZO L, et al. RCSB Protein Data Bank: enabling biomedical research and drug discovery [J]. *Protein Sci*, 2020, 29 (1): 52–65. DOI: 10.1002/pro.3730.
- [26] ZHANG Y Q, SANNER M F. AutoDock CrankPep: combining folding and docking to predict protein-peptide complexes [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35 (24): 5121–5127. DOI: 10.1093/bioinformatics/btz459.
- [27] HSIN K Y, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e83922. DOI: 10.1371/journal.pone.0083922.
- [28] 陈韵岱, 王晶. 亚临床动脉粥样硬化的诊治初探 [J]. *中国循环杂志*, 2012, 27 (5): 321–323.
- [29] 周欢, 张军平, 王晓景, 等. 基于血管稳态的动脉粥样硬化病-证-时分期防治思路 [J]. *中医杂志*, 2018, 59 (15): 1284–1287. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.15.007.
- [30] 杨燕燕, 谢金东, 俞春英, 等. 灵芝多糖对动脉粥样硬化ApoE^{-/-}小鼠血脂及LOX-1、TNF- α 、ICAM-1的影响 [J]. *山东医药*, 2018, 58 (1): 33–36. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.01.010.
- [31] ASGHARZADEH F, BARNEH F, FAKHRAIE M, et al. Metformin inhibits polyphosphate-induced hyper-permeability and inflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 99: 107937. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107937.
- [32] 王新, 李春阳, 苏立平, 等. 动脉粥样硬化发病机制及治疗的研究进展 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2017, 25 (2): 1–4. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2017.02.001.
- [33] 耿云峰, 杜鸿斌, 刘琳琳, 等. NF- κ B家族成员RelA的翻译后修饰及其生理病理作用的研究进展 [J]. *生命科学*, 2020, 32 (5): 431–438. DOI: 10.13376/j.cbhs/2020054.
- [34] GAO W, LIU H B, YUAN J, et al. Exosomes derived from mature dendritic cells increase endothelial inflammation and atherosclerosis via membrane TNF- α mediated NF- κ B pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20 (12): 2318–2327. DOI: 10.1111/jcmm.12923.
- [35] 王婷婷, 李妍, 张明明, 等. 异鼠李素通过抑制泡沫细胞形成增加动脉粥样硬化斑块稳定性的机制研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2022, 30 (2): 69–74. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.034.

- [36] 李杨, 周岚, 汪典, 等. 不同剂量活血、破血中药对动脉粥样硬化小鼠主动脉PTGS2、PADI4、ITGAM基因表达的影响[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(11): 1182-1186. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2016.11.022.
- [37] 张巧慧. 基于网络药理学的复方当归注射液干预缺血性中风的作用机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [38] 吴迪, 焦雪, 袁泽利, 等. 绞股蓝总皂苷抑制脂多糖诱导的血管内皮损伤[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(3): 323-328. DOI: 10.3969/j.issn.1003-3734.2020.03.015.
- [39] LARA-GUZMAN O J, TABARES-GUEVARA J H, LEON-VARELA Y M, et al. Proatherogenic macrophage activities are targeted by the flavonoid quercetin [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012, 343(2): 296-306. DOI: 10.1124/jpet.112.196147.
- [40] IRONDI E A, AGBOOLA S O, OBOH G, et al. Guava leaves polyphenolics-rich extract inhibits vital enzymes implicated in gout and hypertension in vitro [J]. J Intercult Ethnopharmacol, 2016, 5(2): 122-130. DOI: 10.5455/jice.20160321115402.
- [41] ATTIQ A, JALIL J, HUSAIN K, et al. Luteolin and apigenin derived glycosides from *Alphonsea elliptica* abrogate LPS-induced inflammatory responses in human plasma [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 275: 114120. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114120.
- [42] 安冬青, 吴宗贵. 动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国全科医学, 2017, 20(5): 507-511. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.01.y03.

(收稿日期: 2022-08-20; 修回日期: 2022-11-01)

(本文编辑: 谢武英)

· 文献速览 ·

无袖带式血压测量的新发展

史宇兵

712046陕西省咸阳市, 陕西中医药大学整合医学研究院

【关键词】 血压测量; 无袖带式; 间接测量 DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2023.00.043

2022年4月, *Annual Review of Biomedical Engineering*杂志发表了一篇关于无袖带式血压测量的最新发展的文章, 由相关的国际权威专家介绍了该领域近年来兴起的各种新技术。

采用动脉导管测量血压直接而准确, 是侵入式测量血压的“金标准”, 但因其有创特性, 仅用于一些临床研究和危重病监护等特殊场合。使用水银血压计配合听诊器的听诊测量法是标准的非侵入式血压测量方法。近年来采用示波振荡测量法的电子血压计也开始在临床上获得大量应用。在示波振荡测量法中, 常以测得的血压波动最大时的袖带内压为平均血压, 以血压波动幅值比某些特定值时的袖带内压作为收缩压和舒张压(具体的算法采用人群平均处理的经验公式, 随生产厂家和品牌不同)。袖带式血压测量存在使用不便、不能用于连续血压监测的缺点, 所以无袖带式血压测量成为近年来的研究热点。

当前的无袖带式血压测量基本上是先采用间接方法测量一些血压有关的生理变量, 再依据其与血压变化的相关性导出血压值。研究涉及一系列的生理变量。其中, 心电图反映了引起心肌收缩的电刺激信号的变化, 其具有不易受环境噪声干扰的优点, 所以在很多情况下将心电信号用作参考信号。光电容积测量法基于肢体远端部位如手指末端动脉血流脉动引起的血红蛋白对光的吸收率变化来测量血压。张力测量法将力传感器紧压在浅表动脉上, 其读数的变化与血压变化密切相关。多普勒超声可以测量动脉血流的体积、速度和血管截面积。电生理阻抗测量法可以揭示动脉血流脉动引起的血管内血液容积变化和导电性变化情况。心冲击描记术通过使用加速度传感器测量主动脉射血引起的细微身体运动。心脏振动描记法使用贴在胸部的运动传感器测量心脏跳动产生的振动。面部视频信号处理法一方面类似于光电容积测量法, 可用于分析面部图像光电信号中的红、绿、蓝三原色的变化以揭示血压波动引起的血红蛋白的光吸收特性变化, 另一方面类似于心冲击描记术, 可以捕捉特定区域如肩部、嘴部轮廓的运动情况以反映心跳和血压变化引起的身体运动。当前开发新型无袖带式血压测量的研究大多考虑将对上述生理变量的测量融入智能手机、智能手表、健康手环、一些可穿戴设备及日常用品之中。如智能手机的相机可以作为对手指血流进行光电容积测量的光接收器, 还可用于记录面部运动以分析动脉射血引起的身体运动。这些测得的生理变量信号与血压之间存在较明显的相关性, 但并非血压信号本身, 所以通常需要采用人群平均处理的经验公式将其转换为血压。

2014年国际电气电子工程师协会颁布了第一个关于可穿戴的无袖带式血压测量设备的全球标准, 2019年又颁布了修订版可穿戴的无袖带式血压测量设备的全球标准。根据该标准, 新开发的设备必须在至少85例低血压、正常血压、高血压者中通过与常规袖带式听诊测量方法的结果进行比较来检验其测量精度, 所允许的绝对测量误差需要低于7 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa)。目前的各种无袖带式血压测量设备还不能满足该标准的要求, 所以未能得到广泛认可。尽管如此, 无袖带式血压测量代表了便捷性血压测量领域的长足进步。

专家点评: 目前的无袖带式血压测量方法基本上是间接测量方法, 需要依据人群平均处理的经验公式从所测量的生理信号导出血压值。测量变量与血压之间的相关性以及人群中个体间的差异均影响血压数据的准确性, 而这两个因素均不易被进一步优化。以后可以考虑引入易测量的个体数据(如身高、体质量等)并对人群平均处理的经验公式进行个体化修正, 以提高测量的精度。