

· 药理 ·

复方胃萎清治疗慢性萎缩性胃炎的网络药理学研究

刘 洪^{1,2}, 文 艺¹, 侯政昆³, 蒋凯林¹, 黄远程¹, 刘凤斌^{3*}

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广东药科大学附属第一医院, 广东 广州 510080; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要 目的: 本研究运用网络药理学方法研究自拟复方胃萎清治疗慢性萎缩性胃炎(CAG)作用机制, 旨在为其基础研究及临床应用提供依据。方法: 通过 TCMID 和 Uniprot 数据库筛选出胃萎清复方中有效成分及其靶点, 与 GEO、OMIM 数据库筛选建立的 CAG 疾病靶点集进行 Venn 分析, 明确中药有效成分与疾病靶点的靶向关系。通过 String 数据库了解蛋白互作关系, 并通过 GO、KEGG 进行基因富集分析, 构建复方有效成分核心调控网络。结果: 共筛选出胃萎清的 231 个活性成分和 590 个共同作用的基因, 113 条通路与 CAG 显著相关。结论: 胃萎清有效成分调控 CAG 疾病重要通路中多靶点; 最核心的成分是黄芪中 quercetin 和 acetic acid, 其靶蛋白主要与细胞增殖、凋亡过程调节、氧化还原反应、信号转导、炎症反应等重要的生物通路相关。

关键词 网络药理学; 胃萎清; 慢性萎缩性胃炎; 靶点预测; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2018)11-2398-05

DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2018.11.035

Network Pharmacological Study on the Mechanism of Chinese Herbal Medicine Compound preparation Weiweiqing in Treating Chronic Atrophic Gastritis

LIU Hong^{1,2}, WEN Yi¹, HOU Zheng-kun³, JIANG Kai-lin¹, HUANG Yuan-cheng¹, LIU Feng-bin³

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, China; 3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract Objective: To study the mechanism of Chinese herbal medicine compound preparation Weiweiqing for treating Chronic atrophic gastritis(CAG) by network pharmacology in order to provide the basis for its basic research and clinical application. Methods: The TCMID and Uniprot databases were used to analyze the effective components of Weiweiqing and to predicted its targets. GEO and OMIM databases were used to analyze the genes and proteins according to CAG mechanism. Venn analysis was performed above to clarify the relationship between the effective components and the targets of disease. The potential targets were introduced into the String database for protein interactions, and gene enrichment analysis was carried out by GO and KEGG to establish the core regulatory network of compound effective components. Results: A total of 231 effective components and 590 genes were screened in Weiweiqing. 113 pathways were associated with CAG. Conclusion: The effective components of Weiweiqing can regulate multiple target and multi-channel in CAG. The key components of Weiweiqing are quercetin and acetic acid in Astragali Radix, the target proteins are related to important signaling pathways such as the regulation of cell proliferation and apoptosis, oxidation-reduction, signal transduction and inflammation reaction.

Key words Network pharmacology; Weiweiqing; Chronic atrophic gastritis(CAG); Target prediction; Mechanism of action

慢性萎缩性胃炎(CAG)是慢性胃炎的一种类型,是指胃黏膜固有腺体出现萎缩,可伴有肠上皮化生及上皮内瘤变,严重影响患者社会工作能力及生存质量。中医认为 CAG 属于胃脘痛、痞满等疾病范畴,病机主要为脾虚、气滞、血瘀,临床证候以脾胃虚弱、气滞血瘀证多见^[1],治疗多以健脾理气化瘀为

治则。因西医治疗 CAG 以改善胃黏膜状态、缓解症状为目标,目前尚无特效药,常使用叶酸、维酶素。而中医药治疗 CAG 的临床疗效较明显,研究较多的是摩罗丹用于本虚标实证可和胃降逆、健脾消胀、通络定痛^[2];胃复春用于 CAG 脾胃虚弱证可健脾益气、活血解毒。

收稿日期: 2018-03-28

基金项目: 广东省中医药局建设中医药强省专项资金中医优势病种突破项目(粤中医函[2015]19号); 中央财政支持地方高校发展专项资金中医内科学特色重点学科建设项目(粤财教[2014]276号); 广州中医药大学岭南医学研究中心高水平大学建设项目(面上项目,广中医研[2017]10号); 广州中医药大学高水平大学建设项目团队项目 广中医研[2017]10号。

作者简介: 刘洪(1990-),女,在读博士研究生,专业方向: 中医药治疗脾胃病基础与临床研究; Tel: 13580494068, E-mail: 303280010@qq.com。

* 通讯作者: 刘凤斌, Tel: 13694239909, E-mail: liufb163@163.com。

胃萎清具有健脾理气、化瘀解毒的功效,是广东省名中医、中医药领军人物刘凤斌教授的自拟方,是广东省中医药管理局中医优势病种——慢性萎缩性胃炎(2014 年)的中药制剂。本课题组前期将对胃萎清进行临床疗效评价和动物疗效机制研究,证实胃萎清对慢性炎症积分改善的效果、改善上腹(胃脘)疼痛方面优于叶酸组;可一定程度抑制 CAG 阶段 JAK2/STAT3 信号通路的活化,从而抑制 MNNG 所致的 CAG 大鼠黏膜细胞过度增殖和恶性转变^[3]。在此基础上,借助网络药理学方法进一步分析胃萎清治疗 CAG 的作用机制,为机制研究提供新的思路,为临床应用提供依据。

1 资料与方法

1.1 药物靶点筛选 通过传统中药整合数据库(TCMID, <http://www.megabionet.org/tcmid/>)^[4]获得胃萎清复方中所含 6 味中药(包括黄芪、白术、半枝莲、莪术、南黄芪、枳壳六味药)的活性成分,以及每个化学成分作用的靶蛋白。通过 UniprotID 检索 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)查询蛋白的结构等详细信息。化学成分可通过 PubchemID 检索 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)查询化合物的结构、生物活性等详细信息。

1.2 CAG 疾病靶点筛选 通过检索 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)和人类孟德尔遗传综合数据库(OMIM, <http://www.omim.org/>)筛选 CAG 疾病相关基因靶点,建立 CAG 靶点数据集。

1.3 靶蛋白与生物标记物 Venn 分析 将药物靶蛋白与 CAG 靶点数据集进行 Venn 分析,得到共同的基因,进而构建“中药-化学成分-靶蛋白-疾病”网络图,显示中药复方化学成分与萎缩性胃炎生物标记物的靶向关系。

1.4 生物分子网络调控模型 将“1.3”项下得到的共同基因检索 String 数据库(<https://string-db.org/>),得到蛋白与蛋白之间相互作用信息,构建蛋白互作网络图;同时使用 DAVID 在线工具(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行 GO、KEGG 功能注释和富集分析。再根据蛋白互作信息、基因富集分析结果,选择萎缩性胃炎疾病重要通路进行网络调控模型构建,得到核心调控网络。

2 结果

2.1 药物成分与靶蛋白 基于数据库构建方法,共筛选出胃萎清颗粒(6 味中药)中 231 种化学成分和 6015 个靶蛋白。胃萎清颗粒组方各药物中,黄芪化学成分 70 个,靶点 7 929 个;白术化学成分 38

个,靶点 5 个;半枝莲化学成分 93 个,靶点 438 个;莪术化学成分 14 个,靶点 4 个;枳壳化学成分 18 个,靶点 362 个;未检测出五指毛桃的化学成分。

2.2 疾病生物标记物 检索 GEO 数据库,得到 GSE27411 芯片表达谱数据。从文章 Transcriptome signatures in Helicobacter pylori-infected mucosa identifies acidic mammalian chitinase loss as a corpus atrophy marker 中找到萎缩性胃炎生物标记物 1 659 个基因。通过 OMIM 数据库未检索到 CAG 相关基因。

2.3 靶蛋白与生物标记物 Venn 分析 将胃萎清 6 015 个靶蛋白与 CAG 1659 个生物标记物进行 Venn 分析,得到 590 个共同的基因(如图 1)。将这 590 个生物标记物与其对应的化学成分、中药构建“中药-化学成分-靶蛋白-疾病”网络图(如图 2)。

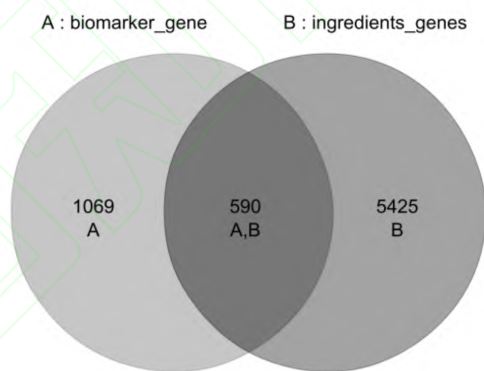


图 1 靶蛋白与生物标记物 Venn 图

2.4 生物分子网络调控模型

2.4.1 蛋白互作网络:将“2.3”项下得到的 590 个基因检索 String 数据库,得到蛋白与蛋白之间相互作用信息,蛋白互作网络图如图 3 所示。

2.4.2 基因功能富集分析:将“2.3”中得到 590 个基因使用 DAVID 在线工具进行 GO、KEGG 功能注释和富集分析,表 1 中显示 43 个富集显著的生物通路($P < 0.01$,若 $P < 0.05$,113 个通路)。

2.4.3 生物分子网络调控模型:根据蛋白互作信息、基因富集分析结果,选择 CAG 疾病最重要的信号通路:炎症反应、凋亡的负性调节、氧化还原过程、胃酸分泌、细胞增殖的正性调节和信号转导进行网络调控模型构建。结果显示胃萎清有效成分调控萎缩性胃炎疾病重要通路中多靶点;最核心的成分是黄芪中 quercetin 和 acetic acid,其靶蛋白主要与细胞增殖凋亡过程调节、氧化还原反应、信号转导、炎症反应等重要的生物通路相关(图 4)。

3 讨论

慢性萎缩性胃炎是慢性浅表性胃炎和胃癌之间

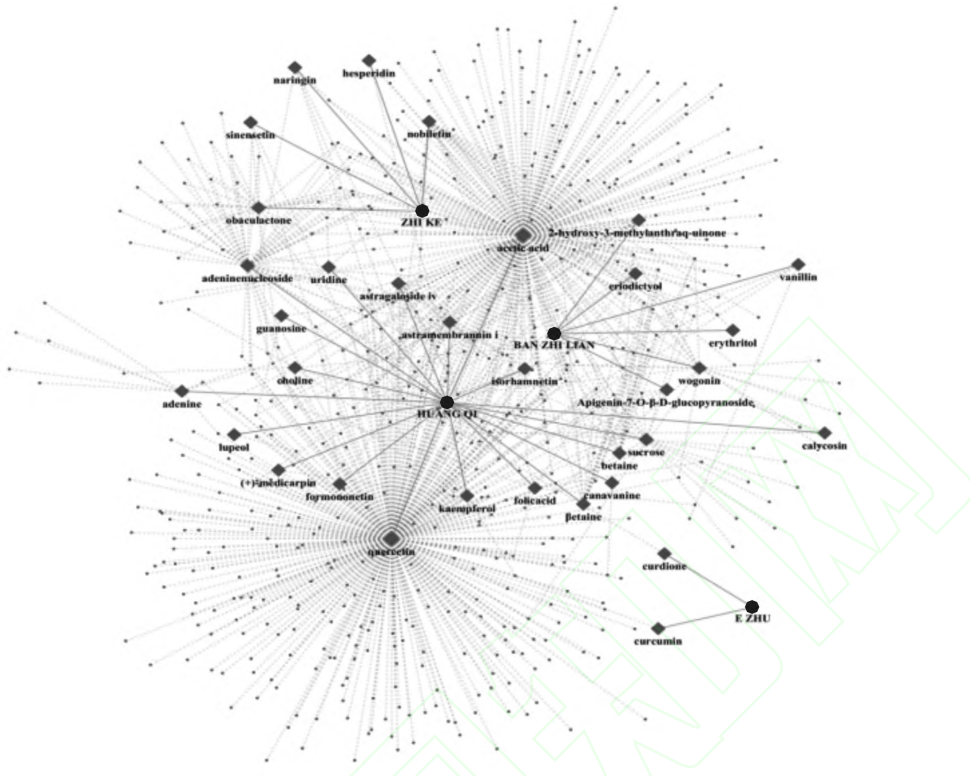


图 2 胃萎清治疗 CAG 的“中药-化学成分-靶蛋白-疾病”网络图

注:图中圆形代表基因,八边形代表中药,四边形代表化学成分,实线代表中药与成分之间的连接,虚线代表成分和基因之间的作用。

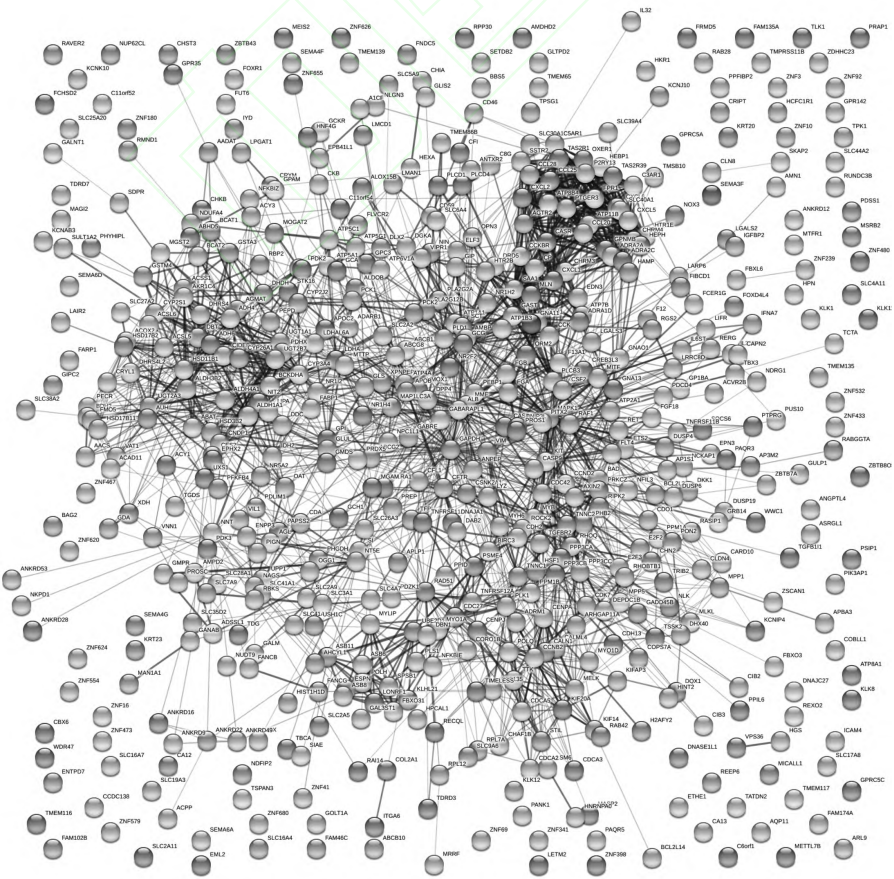


图 3 蛋白互作网络图

表 1			胃萎清与疾病共同基因的基因功能富集通路		
序号	Term	通路	序号	Term	通路
1	hsa01100	Metabolic pathways	23	hsa05204	Chemical carcinogenesis
2	hsa00980	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	24	GO:0008152	metabolic process
3	GO:0060326	cell chemotaxis	25	GO:0030168	platelet activation
4	GO:0005975	carbohydrate metabolic process	26	hsa04022	cGMP-PKG signaling pathway
5	hsa04610	Complement and coagulation cascades	27	hsa04971	Gastric acid secretion
6	GO:0007584	response to nutrient	28	GO:0006935	chemotaxis
7	hsa00830	Retinol metabolism	29	GO:0008202	steroid metabolic process
8	hsa00010	Glycolysis/Gluconeogenesis	30	GO:0009083	branched-chain amino acid catabolic process
9	GO:0060081	membrane hyperpolarization	31	GO:0008284	positive regulation of cell proliferation
10	GO:0032496	response to lipopolysaccharide	32	GO:0042730	fibrinolysis
11	GO:0006954	inflammatory response	33	GO:0070374	positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade
12	GO:0030449	regulation of complement activation	34	GO:0042594	response to starvation
13	hsa04975	Fat digestion and absorption	35	hsa00983	Drug metabolism-other enzymes
14	GO:0043066	negative regulation of apoptotic process	36	GO:0007200	phospholipase C-activating G-protein coupled receptor signaling pathway
15	GO:0001755	neural crest cell migration	37	GO:0006069	ethanol oxidation
16	hsa01210	Oxocarboxylic acid metabolism	38	GO:0016311	dephosphorylation
17	GO:0006805	xenobiotic metabolic process	39	hsa01230	Biosynthesis of amino acids
18	hsa01130	Biosynthesis of antibiotics	40	GO:0030335	positive regulation of cell migration
19	GO:0042632	cholesterol homeostasis	41	hsa00770	Pantothenate and CoA biosynthesis
20	GO:0042493	response to drug	42	GO:0048843	negative regulation of axon extension involved in axon guidance
21	hsa00982	Drug metabolism-cytochrome P450	43	GO:0008652	cellular amino acid biosynthetic process
22	GO:0055114	oxidation-reduction process			

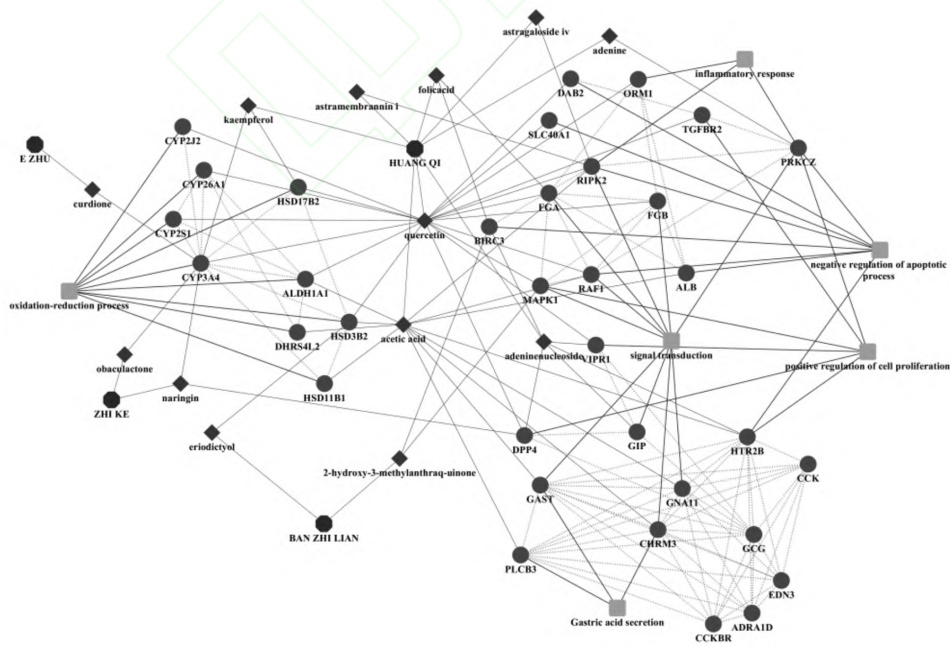


图 4 胃萎清与 CAG 的生物分子网络调控模型

注:图中八边形代表中药,四边形代表化学成分,实线代表中药与化学成分的对应关系、基因参与通路,虚线代表蛋白与蛋白互作,方块代表生物通路,圆形代表基因。基因互作的基因个数越多,圆形越大。由于点太多,对点进行了筛选,保留了连接数相同的基因,也就是点大小一致的基因。

的“桥梁”,是胃黏膜恶性转变的关键阶段。大量经方、自拟方、中药制剂单用或与西药合用对 CAG 临

床症状改善率、内镜改善率均比单纯西药组高,中医治法终离不开健脾、理气、解毒、化痰。但受限於临床标本的收集、评价指标的单一性,使 CAG 的中药治疗研究止步不前。因此,为推动中医药对 CAG 治疗的研究,结合网络药理学分析胃萎清治疗 CAG 作用机制。

刘凤斌教授在国医大师邓铁涛、劳绍贤教授、许鑫梅教授等名老中医的学术思想指导下,结合临床治疗慢性萎缩性胃炎的经验,将北芪、白术、半枝莲、莪术、五指毛桃、枳壳组合为胃萎清,共奏健脾理气、化痰解毒的功效,以促进脏腑功能恢复,改善患者的临床症状为首务。目前已明确胃萎清的临床疗效及其可能抑制 JAK2/STAT3 信号通路的活化,从而抑制细胞增殖、减少癌变的机制。然而中药复方成分复杂,具有多靶点、多作用途径、多功能的特点。

本研究通过网络药理学分析构建了“成分-靶点-疾病”交互网络图,筛选出胃萎清的 231 个活性成分和 590 个共同作用的基因,113 条通路与 CAG 显著相关,这些结果反映了胃萎清在治疗 CAG 方面可能的作用机制。胃萎清各组成成为脾胃疾病常用中药,在慢性萎缩性胃炎的临床应用中普遍存在。目前中药复方治疗 CAG 相关度较高的预测通路均得到实验证实,如细胞凋亡、炎症反应、氧化还原反应、细胞增殖、Wnt 信号通路等^[5-9]。

然而,单味中药的有效成分和机制研究较少,中医药治疗 CAG 尚没有突破性进展。本研究通过网络药理学分析,得到胃萎清核心成分 quercetin 和 acetic acid。其中黄芪主要成分 quercetin 可以保护胃上皮细胞免受氧化损伤^[10],且具有抗肿瘤、抗炎的作用^[11]。quercetin 易获得、作用广泛,尤其在胃癌的治疗中被广泛研究,具有很好的研究潜能,进一步深入研究有望成为 CAG 治疗特效药。另外,黄芪甲苷可通过抑制血清 NO 和 iNOS、增加 SOD 活性,从而促进机体清除氧自由基,减轻或阻断组织的脂质过氧化反应,从而改善 CAG 模型 SD 大鼠胃黏膜病理病变^[12];黄芪皂苷可以阻止 MyD88、TLR4 受体的激活,提高 SOD 活性,对于 CAG 具有治疗作用^[13];白术内酯 I 对 CAG 具有保护胃黏膜、抗炎等作用^[14,15]。枳壳、五指毛桃、莪术、半枝莲治疗 CAG 的机制研究暂无报道。

综上所述,本文初步揭示了胃萎清复方中黄芪作为君药、quercetin 作为关键成分的主要调控作用,及与白术、莪术、半枝莲配伍在 CAG 的多维调控作用,为寻找其有效成分和作用机制及临床应用奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 张声生,李乾构,唐旭东,等. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见[J]. 中医杂志, 2010, 51(8): 749-753.
- [2] Tang XD, Zhou LY, Zhang ST, et al. Randomized Double-Blind Clinical Trial of Moluodan (摩罗丹) for the Treatment of Chronic Atrophic Gastritis with Dysplasia[J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2016, 22(1): 9-18.
- [3] 李海文. 胃萎清治疗慢性萎缩性胃炎的临床疗效及作用机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [4] Xue R, Fang Z, Zhang M, et al. TCMID: traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (D1): D1089-1095.
- [5] Maehara Y, Tomoda M, Hasuda S, et al. Prognostic value of p53 protein expression for patients with gastric cancer-a multivariate analysis [J]. *British Journal of Cancer*, 1999, 79(7-8): 1255-1261.
- [6] 贺梅娟, 杨晋翔, 安静, 等. 益气化痰解毒法对慢性萎缩性胃炎伴异型增生大鼠 P21~(WAF1) 及 CyclinD1 的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(11): 773-776.
- [7] 王延丽, 朱西杰, 蔡根深, 等. 复方蜥蜴散不同微粒组合剂对胃癌前病变模型大鼠 Wnt 信号通路中 Wnt2、 β -catenin、Cyclin-D1 蛋白表达的影响[J]. 天然产物研究与开发. 2014, (7): 1093-1098.
- [8] 朱西杰, 张静霜, 李卫强, 等. 复方蜥蜴散不同微粒组合剂对 CAG 模型大鼠细胞凋亡基因 Bcl-2 与 Bax 表达影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(1): 5-8.
- [9] 何娟娟. 荣胃理气方联合守宫对慢性萎缩性胃炎模型大鼠胃黏膜修复作用及 Wnt 信号通路的影响[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [10] Hu X T, Ding C, Zhou N, et al. Quercetin protects gastric epithelial cell from oxidative damage *in vitro* and *in vivo* [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2015, 754: 115-124.
- [11] Haghi A, Azimi H, Rahimi R. A comprehensive review on pharmacotherapeutics of three phytochemicals, curcumin, quercetin, and allicin, in the treatment of gastric cancer [J]. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 2017, 48(4): 314-320.
- [12] 李祎群, 谢建群, 龚雨萍, 等. 黄芪甲苷对慢性萎缩性胃炎大鼠的影响[J]. 复旦学报: 医学版, 2015, 42(5): 601-606.
- [13] 张莲, 周语平, 刘光炜. 黄芪皂苷对大鼠萎缩性胃炎的治疗作用及对 MyD88、TLR4 受体的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 226-229.
- [14] 李多, 杜三军, 于永强. 白术内酯 I 对慢性萎缩性胃炎大鼠相关炎症因子的影响[J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(8): 10-14.
- [15] 李多, 于永强, 高会斌, 等. 白术内酯 I 对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜保护作用[J]. 河北中医药学报. 2016, 31(3): 5-8.