

基于网络药理学的“百合-熟地黄”药对治疗抑郁症机制研究

王倩, 范文涛(陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046)

摘要: **目的** 采用网络药理学方法筛选百合-熟地黄药对治疗抑郁症的作用靶点, 明确抗抑郁作用机制。**方法** 通过中药系统药理数据库(TCMSP)检索百合、熟地黄的所有化学成分并筛选作用靶点, 构建成分靶点 PPI 网络。通过 PharmGkb 数据库检索与抑郁症相关基因, 采用 Cytoscape 软件绘制疾病靶点 PPI 网络。利用 Cytoscape 软件进行网络合并, 筛选核心网络, 进一步进行基因 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。**结果** 检索百合-熟地黄药对的所有化学成分, 共检索出 162 个化学成分, 根据 OB、DL 值筛选出 9 个化合物作为有效成分候选化合物。通过检索中药系统药理数据库(TCMSP)共检索出 109 个靶点蛋白, 构建成分靶点 PPI 网络和疾病靶点 PPI 网络。利用 Cytoscape 软件及插件进行核心网络筛选。基因 GO 功能分析提示涉及生物过程、分子功能、细胞组成三方面。基因 KEGG 通路富集分析发现与细胞衰老负调控、组蛋白 H2A 单泛素化、分子伴侣介导的自噬相关。**结论** 百合-熟地黄药对治疗抑郁症的可能机制是调节细胞衰老负调控、组蛋白 H2A 单泛素化、分子伴侣介导的自噬等机制。

关键词: 百合; 熟地黄; 网络药理学; 抑郁症; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2018)06-0754-05

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2018.06.014

Network Pharmacology of *Baihe*-Processed *Dihuang* Herb Pair in Treatment of Depression

WANG Qian, FAN Wentao (Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046 Shaanxi, China)

Abstract: **Objective** Using the network pharmacological method to screen targets of *Baihe*-processed *Dihuang* herb pair for depression treatment and the underlying mechanisms. **Methods** Through the retrieval of pharmacological data (TCMSP) of traditional Chinese medicine system (TCMSP) to obtain all chemical constituents of the *Lilii bulbus* and *Rehmanniae radix praeparata*, screen the target sites, construct the component target PPI network. Genes associated with depression were retrieved from the PharmGkb database; and the PPI network was used to map the disease target using the Cytoscape software. The Cytoscape software was then employed to merge the network and filter the core network, and further enrich and analyze the gene GO function and the KEGG pathways. **Results** A total of 162 chemical constituents were retrieved, and 9 compounds were selected as the candidate compounds for effective composition according to OB and DL values. A total of 109 target proteins were retrieved from the pharmacological data of the Chinese medicine system (TCMSP), and the component target PPI network and the disease target point PPI were constructed. The core network filtering, GO enrichment analysis and the KEGG pathway enrichment analysis found that, Gene GO function of biological processes, molecular functions and cell components are involved; pathways are associated with the negative regulation of cell aging, H2A monoubiquitin, and molecular partner mediated autophagy. **Conclusion** The mechanism of *Baihe*-processed *Dihuang* herb pair for treating depression may be negative regulating cell aging, histone H2A monoubiquitination, and molecular partner mediated autophagy.

Keywords: *Baihe*; processed *Dihuang*; network pharmacology; depression; mechanism of action

收稿日期: 2018-06-22

作者简介: 王倩, 女, 副教授, 博士, 研究方向: 中医内科学。Email: 674165202@qq.com。通信作者: 范文涛, 男, 副教授, 博士, 研究方向: 神经系统疾病网络药理学。Email: 1404113637@qq.com

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81470188、81673832、81873177); 陕西省中医药管理局项目(No.13-LC073); 咸阳市科技局科研课题(No. 2014K-04-18)。

随着现代人们生活节奏加快,身心疾病越来越成为影响现代人生活质量的重要因素,抑郁症发病率越来越高,百合-熟地黄药对治疗抑郁症疗效显著^[1]。百合-熟地黄药对来自于百合地黄汤,中医经典名方,出自《金匱要略》,为养阴清热剂。具有养阴清热,补益心肺之功效。症见神志恍惚,意欲饮食复不能食,时而欲食,时而恶食;沉默寡言,欲卧不能卧,欲行不能行,如有神灵。现代药理研究表明百合-熟地黄药对有显著的抗抑郁作用。本文通过网络药理学方法筛选百合-熟地黄药对有效成分及作用靶点,进一步分析治疗抑郁症的作用机制。

1 材料与方法

1.1 成分虚拟筛选 本研究通过中药系统药理数据库(TCMSP)(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)检索百合、熟地的所有化学成分。

1.2 阈值筛选 本研究对所检索化学成分进行筛选,化合物口服生物利用度(OB)筛选阈值均为 $OB \geq 30\%$,化合物类药性(DL)筛选阈值均为 $DL \geq 0.18$ 。

1.3 候选化合物靶点预测 通过中药系统药理数据库(TCMSP)(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)检索候选化合物靶点。并通过 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)将预测出的靶点蛋白名转换为基因名。

1.4 成分靶点 PPI 网络构建 将虚拟筛选出的候选化合物和靶点预测得到的靶点基因输入 Cytoscape 3.2.1 软件构建成分靶点 PPI 网络。

1.5 疾病靶点 PPI 网络构建 通过 PharmGkb 数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)检索与抑郁症相关基因。输入 Cytoscape 3.2.1 软件,利用 Bisogenet 插件在线检索蛋白质相互作用数据库,绘制疾病靶点 PPI 网络。

1.6 网络合并 利用 Cytoscape3.2.1 软件中 Merge 功能将百合-熟地黄药对成分靶点 PPI 网络和疾病靶点 PPI 网络合并,看这两种网络是否存在交集。存在交集的蛋白质很有可能是百合-熟地黄药对活性成分治疗抑郁症的靶点。核心网络筛选时 Degree 设置为 34-176(Degree 值为 17,我们定义大于 2 倍 Degree 值为大节点)。

1.7 基因富集分析 利用 Cytoscape3.2.1 软件中 ClueGO 功能对筛选出的基因进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,进一步说明中药化合物的靶点蛋白在基因功能和信号通路中的作用。

2 结果

2.1 百合-熟地黄药对化学成分虚拟筛选 通过检索中药系统药理数据库(TCMSP)(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)检索百合-熟地黄药对的所有化学成分。共检索出 162 个化学成分,其中百合 85 个化学成分、熟地 77 个化学成分。阈值设定 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$,结果共筛选出化合物 9 个,其中百合 7 个化学成分,熟地 2 个化学成分,将最终筛选出的 9 个化合物作为候选化合物。

2.2 候选化合物靶点预测 通过检索中药系统药理数据库(TCMSP)共检索出 109 个靶点蛋白,并通过 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)将预测出的靶点蛋白名转换为基因名。

2.3 成分靶点 PPI 网络构建 见图 1。成分靶点 PPI 网络由 4 个成分节点,69 个靶点节点,图中红色箭头指向靶点节点,每条边表示成分与靶点之间的相互作用关系。

2.4 疾病靶点 PPI 网络构建 见图 2。通过 PharmGkb 数据库检索与抑郁症相关基因 24 个基因。输入 Cytoscape 3.2.1 软件,利用 Bisogenet 插件在线检索蛋白质相互作用数据库,绘制疾病靶点 PPI 网络。

2.5 网络合并 见图 3。利用 Cytoscape3.2.1 软件中 Merge 功能将百合-熟地黄药对成分靶点 PPI 网络和疾病靶点 PPI 网络合并,形成成分-靶点-疾病网络。按照 Degree 为 34-176 筛选核心网络。形成成分-靶点-疾病核心网络。

2.6 GO 富集分析 见表 1。利用 Cytoscape3.2.1 软件中 ClueGO 功能对百合-熟地黄药对构建的成分-靶点-疾病网络所涉及的 53 个蛋白质的功能进行富集分析。在 GO 富集分析中,确定了 48 个 GO 条目,生物过程相关的条目 27 个,涉及细胞增殖的调控、细胞内信号级联、系统过程的调控、多细胞生物过程的调控、生物合成过程的调控、代谢过程的调控、细胞坏死及凋亡调控等方面。分子功能相关的条目 10 个,涉及受体活性、胺结合、药物结合、神经递质结合、类固醇结合等方面。细胞组成相关的条目 11 个,涉及质膜、突触、神经元投影等方面。

2.7 KEGG 通路富集分析 见表 2。利用 Cytoscape3.2.1 软件中 ClueGO 功能对筛选出的基因进行 KEGG 通路富集分析。在通路富集分析中,得到 54 条信号通路,根据 FDR 筛选出 3 条通路,分别为细胞衰老负调控、组蛋白 H2A 单泛素化、分子伴侣介导的自噬相关。表明百合-熟地黄药对的有效成分可以作用于



Figure 1 PPI network of component targets



Figure 2 PPI network for disease targeting

表 1 GO 富集分析

Table 1 GO enrichment analysis

序号	名称	名称
1	生物过程 (biological process)	cell-cell signaling
		synaptic transmission
		transmission of nerve impulse
		cell communication
		response to drug
		drug metabolic process
		response to chemical stimulus
		neurological system process
		multicellular organismal response to stress
		regulation of secretion
2	细胞组成 (cellular component)	regulation of cell communication
		cell fraction
		membrane fraction
		insoluble fraction
		plasma membrane part
		integral to plasma membrane
		intrinsic to plasma membrane
		plasma membrane
		cell projection part
		microsome
		vesicular fraction
		synapse part
		neuron projection
		cell surface
3	分子功能 (Molecular Function)	postsynaptic membrane
		amine receptor activity
		serotonin receptor activity
		serotonin binding
		amine binding
		ligand-gated ion channel activity
		tetrapyrrole binding
		ion channel activity
		substrate specific channel activity
		electron carrier activity
		oxygen binding
		cation channel activity
		metal ion transmembrane transporter activity

表 2 KEGG 通路富集分析

Table 2 KEGG pathway enrichment analysis

序号	通路名称
1	Cellular senescence negative regulation pathway (细胞衰老负调控)
2	Histone H2A single ubiquitin signaling pathway (组蛋白 H2A 单泛素化)
3	Molecular partner-mediated autophagy signaling pathway (分子伴侣介导的自噬)

翻译后修饰^[6]。组蛋白 H2A 是最早鉴定的泛素化修饰底物，组蛋白 H2A 的泛素 E3 连接酶 PRC1 复合体的自身泛素化对于其 E3 连接酶活性至关重要，组

蛋白 H2A 泛素化修饰参与了基因转录调控和 DNA 损伤修复等多个生理反应过程，它受到非常严格而精细的调控^[7]。百合-熟地黄药对可以调控组蛋白 H2A 单泛素化水平，进一步促进基因转录调控和 DNA 损伤修复。

第三条分子伴侣介导的细胞自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)通路，分子伴侣介导的细胞自噬通过溶酶体途径选择性降解胞质中带 KFERQ- 序列的蛋白质^[8]。CMA 不仅为细胞在持久饥饿状态下提供能量，还在氧化性损伤保护、维持细胞内环境稳态等方面发挥作用^[9]。百合-熟地黄药对治疗抑郁症通过调控分子伴侣介导的细胞自噬，进一步应对氧化性损伤、清除变性的蛋白质，在维持细胞内环境稳态等方面发挥重要的生理作用。

本研究应用网络药理学方法，对百合-熟地黄药对主要成分与抑郁症靶点之间复杂网状关系进行研究。初步验证了百合地黄汤对治疗抑郁症的基本药理学作用和相关机制，为进一步深入探讨其作用机制奠定了基础。本研究只通过网络药理学筛选百合-熟地黄药对治疗抑郁症的靶点和分子机制，下一步可通过动物实验进一步验证其作用机理，为临床治疗抑郁症提供依据。

参考文献:

- [1] 刘畅宇, 周日宝, 陈勋, 等. 百合药材质量标准研究进展[J]. 中药药导报, 2010, 24(16): 117-120.
- [2] 郭秋平, 高英, 李卫民. 百合皂苷对抑郁模型大鼠 HPA 轴的影响[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(5): 699-700.
- [3] 欧海亚, 吕东勇, 吴树铎, 等. 基于网络药理学探讨犀角地黄汤作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(3): 372-380.
- [4] 罗林明, 裴刚, 覃丽. 中药百合化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(6): 824-837.
- [5] Kourtis N, Tavernarakis N. Autophagy and cell death in model organisms[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1): 21-30.
- [6] Majeski A, Dice JF. Mechanisms of chaperone-mediated autophagy[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2435-2444.
- [7] Bandyopadhyay U, Kaushik S, Varticovski L, et al. The chaperone-mediated autophagy receptor organizes in dynamic protein complexes at the lysosomal membrane[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(18): 5747-5763.
- [8] Bejarano E, Cuervo A M. Chaperone-mediated autophagy[J]. Proc Am Thorac Soc, 2010, 7(1): 29-39.
- [9] 席兴宇. 分子伴侣介导的细胞自噬作用机制及其功能. 生命科学[J]. 2010, 22(10): 921-923.

(编辑: 修春)