

【中医多学科研究】

基于病证结合的中药网络药理学研究 与新药研发策略*

何小娟¹, 李 健², 陈 杲¹, 郑 光¹, 吕 诚¹, 吕爱平^{1△}

(1. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700;
2. 北京中医药大学基础医学院人体形态系, 北京 100029)

摘要: 近年来, 新药研发难度逐渐加大, 医药产业面临的挑战更加严重。“一个基因——一个药物——一种疾病”的新药发现模式已不适合药物研发。中药复方的作用特点以及网络药理学的思想有望成为现代中药创制的新策略。本文以类风湿性关节炎(RA)为例, 概要介绍了基于病证结合的中药网络药理学研究思路与方法, 并对研究中存在的问题和相应策略进行了分析。

关键词: 病证结合; 中药网络药理学

中图分类号: R222.19 文献标识码: A 文章编号: 1006-3250(2011)11-1271-03

The Paradigm in New Herbal Medicine Discovery: Integrative Medicine Based Network Pharmacology

HE Xiao-juan¹, LI Jian², CHEN Gao¹, ZHENG Guang¹, LU Cheng¹, LV Ai-ping^{1△}

(1. Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract: Recently, new drug researching and development is facing great difficulties. And traditional Chinese medicine meets the more serious under these circumstances. The strategy of ‘the single gene-single drug-single disease’ wouldn’t work for R&D of traditional Chinese medicine. In this regards, network pharmacology has been one of the new paradigm for Chinese medicine discovery. So, for example, for the rheumatoid arthritis (RA) case, this paper focused on the idea and strategy of integrative medicine based network pharmacology in new Chinese medicine discovery, furthermore, some problems and challenges were analyzed, the future works were assumed yet.

Key words: integrative medicine, Chinese medicine network pharmacology

近年来, 人们对药物研发的要求不断提高, 新药研发的难度也随之加大。2010 年, 仅有 21 种新药通过美国 FDA 的评审^[1], 欧洲药品管理局(EMA)也仅批准了 14 个新药^[2]: 一批新上市的药物因安全性或不良反应遭到撤市, 一些被认为很具潜力的新药在 II、III 期临床研究时因安全性或有效性等问题惨遭淘汰, 给新药研发企业带来巨大经济损失, 也让整个制药业在持续繁荣后面临“低谷”和衰退^[3]。

传统新药发现及研发所遵循的“单基因-单靶点-单疾病”的“线性”模式遇到巨大“瓶颈”及严峻“挑战”。随着“组学”(omics)技术的发展完善, 系统生物学(system biology)及多向药理学(polypharmacology)广泛应用于重大疾病及药理、毒理等研究。系统生物学的研究发现, 生命体系具有高度的自稳定功能, 其结构基础是生物信号通路及其相互作用的复杂网络拓扑结构^[4]。许多复杂性疾病, 如心血管疾病、肿瘤、类风湿性关节炎、糖尿病等是由多基因、多功能蛋白相互作用紊乱而形成的疾病网络。干预疾病网络中的一个或几个节点(除非是高度链接的关键节点)对整个疾病网络几乎没有影响^[5]。而药物(即使是单一化合物)的生物学作用也对应着相应的复杂分子网络, 并非作用单一靶点^[6,7]。为此, “网络药理学”(network

pharmacology)融合了系统生物学及多向药理学的思想并迅速发展, 成为当前新药发现和新药创制的新研究策略, 不仅显著提高新药发现的效率和成功率, 而且给药物研发带来哲学方法及研究模式的革命性转变, 给当前新药发现面临的困境带来了新的希望。

网络药理学的概念由英国邓迪大学药理学专家 Andrew L. Hopkins 于 2007 年首次系统阐述, 是建立在高通量组学数据分析、计算机虚拟计算及网络数据库检索基础上的生物信息网络构建及网络拓扑结构分析策略和技术^[8,9]。近几年, 欧美国家的研究人员依托较为公认的网络信息资源, 如 drugbank 数据库收录的小分子药物及药物靶点蛋白信息^[10]、KEGG 中代谢及基因表达信息^[11]、Pubchem 中化合物结构信息及 Pubmed 中文献知识信息等^[12], 构建了多种药物靶点网络(drug-target network)^[13]、人类疾病基因网络(the human disease network)^[14]及“蛋白质-蛋白质”相互作用网络(protein-protein interaction network, PPI)^[15]; 同时开发了一系列用于网络拓扑结构分析的算法及软件工具, 为开展网络药理学研究奠定了基础, 使网络药理学有望成为新药研发中的常规研究策略。

中医治病注重辨证论治, 强调从整体把握病因、病机的传变规律; 而方剂配伍则注重“君臣佐使”, 通过多味中药的互相配合来实现对机体失衡状态的修正。中医药学的这些理念体现了多成分、多靶点

*基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09502-019); 国家科技部创新方法学专项项目(2008IM020900); 国家自然科学基金杰出青年项目(30825047)

及系统调控的思想,与网络药理学研究思路有许多相似之处^[16]。借鉴经典网络药理学的方法,研究者可以从临床典型证候患者的组学信息中可构建证候对应的生物网络,即“病-证相关网络”;进而从单味药及传统方剂中可发现有效成分组,进而针对多靶标设计、发现中药新药。上述基于病证结合的中草药网络药理学研究有望形成具有中医药特色的创新药物设计理论,促进中药现代化及国际化进程。本文以类风湿性关节炎(RA)为例,概述基于病证结合的中草药网络药理学研究策略及方法。

1 基于寒热证候分类的 RA 疾病网络构建

我们以往收集年龄 24 岁~64 岁之间,女性,RA 患者及健康人的外周血 CD4⁺T 淋巴细胞,利用基于基因芯片的基因组学技术,对相关数据进行了分析及网络构建。全部基因组学数据经标准化处理、统计分析获取特异表达基因(>1.2 fold),并综合 BIND (biomolecular interaction network database)、BioGRID (the general repository for interaction datasets)、DIP (database of interacting proteins)、HPRD (human protein reference database)、MINT (molecular interactions database) 等数据库信息及来自文本挖掘数据,初步构建了 RA 寒热证候的蛋白质与蛋白质相互作用(PPI)网络^[17](图 1)。

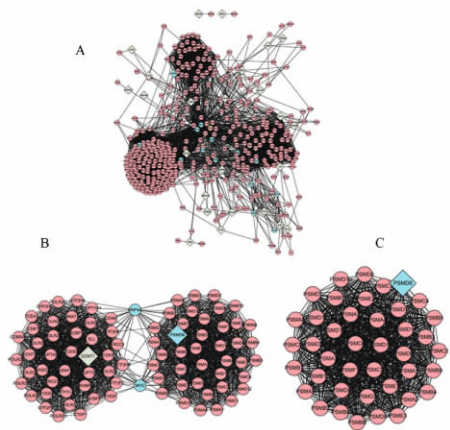


图 1 RA 寒热证候网络图
A 示 RA 生物学网络, B 示热证 RA 生物学网络, C 示寒证 RA 生物学网络

2 基于数据挖掘技术的 RA 药物靶标网络构建

以“类风湿性关节炎”为关键词在中国生物医学文献数据库(SinoMed)中检索全部文献数据^[18]。同时,以“rheumatoid arthritis”为关键词在美国国立图书馆医学文献数据库(PubMed)中检索全部文献数据。经 XML 数据集分析转换工具软件将上述数据转换成格式化数据存储在大型关系型数据库 MS SQL 中,用于敏感关键词频数统计的离散导数计算^[19]。从构建好的 MS SQL 数据库中抽出与 RA 发病相关的敏感基因及蛋白数据,输入 IPA (<http://analysis.ingenuity.com>) 网络软件,构建 PPI 网络。进而从 MS SQL 数据库中抽出与 RA 治疗相关的药物信息(包括中药方剂、中成药、单味药、单体化合物及西药),构建病证相关 RA 治疗有效的中药网络、症状网络及西药网络。通过网络比对、分析获取候选药物或药物组合。最后将药物网与靶标网做叠

加比对(overlap),预测候选药物或组合所对应的靶标(drug-target sub-network),如图 2。

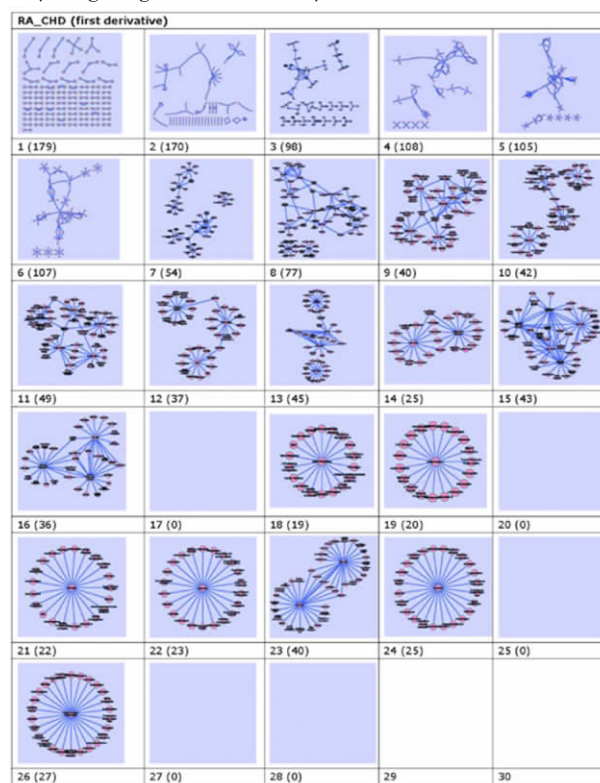


图 2 基于敏感关键词频数统计分析构建的 RA 生物学网络及相关药物网络(参考文献 19)

3 基于 PubChem 数据库反向推测及正向预测 RA 治疗药物

应用数据挖掘技术(同 2)构建不同证候 RA 相关的蛋白数据库和化合物(小分子治疗药物)数据库,随后在 PubChem 数据库中搜索与之结构近似的化合物及其生物活性信息,构建药物-靶点网络(drug-target network),反向推测最佳治疗药物或药物组合。检索文献数据及实验验证数据,获取治疗不同证候 RA 的经验方或中成药中已知活性化合物,与构建的药物-靶点网络比对(docking),正向预测中药复方、中成药的药理机制或毒理机制(图 3)。

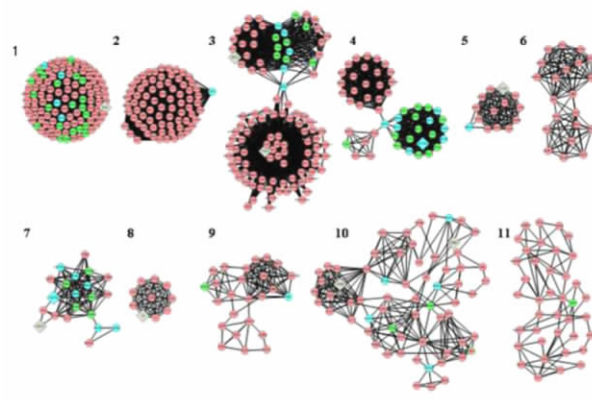


图 3 组合药物的药物靶标网络
(图中 1~11 表示共有 11 种可以分析的生物学网络通路)

4 网络拓扑结构分析及网络平衡分析

网络拓扑结构及网络平衡分析是网络药理学最关键技术,通过网络分析可以客观、准确的找出具有特定生物功能的关键节点、子结构,明确药物干预的主要靶点、次要靶点和协同靶点,理解网络达到平衡状态涉及的亚网络间关系,为预测干预药物提供理论计算的参考。需要指出的是,功能相对完善的网络药理学专业工具软件还没有出现,网络分析算法也处于探索过程中。现有较成熟的网络分析软件很多:如(1) Random walk 工具,其原理是以明确的任意一个节点出发,随机计算该节点与其邻近节点的相似性,用来构建简单的疾病-靶点-药物网络,揭示网络各个节点间的相关性;(2) Prince 工具,其工作原理是以确定的疾病为计算基线,收集与该病具有不同相似度的其他疾病,构建参考关联网络。利用已有数据库信息构建与目标疾病相关的 PPI 网络,并将该 PPI 网络代入疾病关联网络,利用迭代算法,计算蛋白点之间信息流量并打分;(3) Cipher 软件,是针对人类疾病基因组学分析研发的专业软件,可以利用基因组学信息整合人类表型-蛋白网络、基因-表型网络,并计算表型与基因之间的线性相关性、一致性;(4) Pajek 软件,其工作原理是把与疾病相关的靶点作为信息流的种子,在各种数据库中进行高通量检索分析,构建与之相关的候选子网络,并分别为之赋值,对得分高的子网络进行试验验证。

与上述分析工具相关的算法主要有:网络节点间最短路径计算;节点中心性分析,如分析节点度、紧密度、发散度、偏心度、图心数、张力、介数等;最大节点流量路径搜索;节点重要性排序,如中信节点;中间态集中度及联接集中度分析;网络比较分析;PPI 网络中功能模块识别等。然而,网络药理学毕竟是新兴学科,现有的分析工具及计算方法都有待于进一步完善,其所依赖的共享数据资源有待于系统、全面的积累,数据格式及标准也需要进一步统一。尽管存在诸多不足,网络药理学方法将成为联系传统中药药理、现代中药药理及新药创制的桥梁。

5 实验验证

用网络药理学方法可以高效的预测针对靶点网络的新药物组合、发现潜在新药。然而,这些潜在新药中哪些能最终进入研发程序还取决于实验验证的结果。在实验验证环节,研究者常利用基因双敲除或多敲除动物来模拟关键靶点网络缺失,继而评价药物组合对网络平衡的调节作用。由于中药具有多组分、多靶点的特点,研究者通常采用细胞模型对各组分间相互作用进行高通量观察,明确中药中主效应成分及次效应成分、量-效关系、时-效关系等。需要指出的是,目前对网络药理学预测结果进行实验验证还有很多难点等待被突破:如跨实验平台的实验验证结果很难做到一致性、在实验动物上还无法实现对一个靶点网络的敲除等。

综上,中药中蕴藏着巨大的新药创制资源,是未来多靶点药物发现的源泉。网络药理学研究策略符合中医药学对疾病本质的认识,有望在传统方剂及中成药的基础上,发现新的药物组合和新药物靶标,实现“老药新用”。此外,利用网络药理学反向推测及正向预测技术可发现一系列中药有效成分组

或有效成分群,为中药复方优化、精制提供理论依据和方法学上的指导。除了新药研发领域的应用,中药网络药理学在中药复方作用机制、方剂配伍规律、中药毒理、中医基础理论内涵等研究中也发挥重要作用。

中药网络药理学刚刚起步,不仅在研究策略及研究方法上需要本质性的突破,而且在关键技术方面也期待创新和发展。值得高兴的是,我国的网络药理学研究进展很快,一些相对稳定的研究团队正在形成。科技部“十二五”新药创制科技重大专项将“网络药理学及相关软件技术研究关键技术”列入招标计划,相信在不久的将来网络药理学将成为未来新药创制的常规方法,而基于中医理论的中药网络药理学将推动中医药传承与创新,促进中药现代化和国际化的进程。

参考文献:

- [1] <http://www.fda.gov>.
- [2] <http://www.ema.europa.eu>.
- [3] 国际新药研发前景展望(上). 中国医药报. 2011 3, 16.
- [4] Csermely P, Aggoston V, Pongor S. the efficiency of multi-target drugs: the network approach might help drug design. Trends Pharmacol Sci. 2005; 26(4): 178-182.
- [5] Sams-Dodd F. Target-based drug discovery: is something wrong? Drug Discov Today. 2005; 10(2): 139-147.
- [6] Wermuth CG. Multitargeted drugs: the end of the 'one-target-one-disease' philosophy? Drug Discov Today. 2004; 9(19): 826-827.
- [7] Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Nat Rev Microbiol. 2010; 8: 423-435.
- [8] Hopkins AL. Network pharmacology. Nat Biotechnol. 2007; 25(10): 1110-1111.
- [9] Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. Nat Chem Biol. 2008; 4(11): 682-690.
- [10] <http://www.drugbank.ca>.
- [11] <http://www.genome.jp/keg>.
- [12] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- [13] Muhammed A Yildirim, Kwang-Hi Goh, Michael E Cusick, Albert-Laszlo Barabasi, Marc Vidal. Drug-target network. Nature Biotechnology. 2007; 25(10): 1119-1126.
- [14] Kwang-Hi Goh, Michael E. Cusick, David Valle, Barton Childs, Marc Vidal, Albert-Laszlo Barabasi. The human disease network. PNAS. 2007; 104(21): 8685-8690.
- [15] Morrow JK, Tian LZ, Zhang SX. Molecular networks in drug discovery. Critical reviews in biomedical engineering. 2010; 38(2): 143-156.
- [16] Zhao SW, Li S. Network-based relating pharmacological and genomic spaces for drug target identification. Plos One. 2010; 5(7): e11764.
- [17] Lu C, Xiao C, Chen G, Jiang M, Zha QL, Yan XP, Kong WP, Lu AP. Cold and heat pattern of rheumatoid arthritis in traditional Chinese medicine: distinct molecular signatures indentified by microarray expression profiles in CD4-positive T cell. Rheumatol Int. 2010; doi 10.1007 [Epub ahead of print].
- [18] <http://sinomed.imicams.ac.cn/index.jsp>.
- [19] Zheng G, Jiang M, He XJ, Zhao J, Guo HT, Chen G, Zha QL, Lu AP. Discrete derivative: a data slicing algorithm for exploration of sharing biological networks between rheumatoid arthritis and coronary heart disease. BioData Min. 2011; 4: 18.

收稿日期: 2011-06-21

△ 通讯作者: 吕爱平, 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 100700, Tel: 010-64014411, E-mail: lap64067611@126.com.