

真人养脏汤核心成分治疗溃疡性结肠炎的网络药理学研究

叶梦琪

南昌医学院, 江西 南昌 344000

摘要: 目的: 采用网络药理学方法研究真人养脏汤治疗溃疡性结肠炎(UC)的作用机制。方法: 在相关数据库中筛选真人养脏汤的有效成分和潜在靶点, 构建化合物-靶点网络。然后筛选UC的靶点, 得出共同的靶点, 形成PPI网络用于预测核心的靶点。并对所得到的结果进行GO和KEGG富集分析。结果: 共预测了6种有效成分和77个共同靶点。山萘酚, B-谷甾醇, 玫瑰树碱, 鞣花酸, 豆固醇, 异癸酸为药物关键有效活性成分, 作用机制可能与癌症信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路、化学致癌-受体激活通路、乙肝通路、人类疱疹病毒第四型感染通路、人类免疫缺陷病毒感染通路等信号通路有关。HSP90AA1、MAPK8、TNF、CASP3是UC治疗的关键靶点。结论: 本研究体现了ZRYZ多成分、多靶点、多通路治疗溃疡性结肠炎的复杂网络关系, 为治疗UC提供了思路。

关键词: 溃疡性结肠炎; 真人养脏汤; 网络药理学

Network Pharmacological Study on the Core Components of Zhenrenyangzang Decoction in Treating Ulcerative Colitis

Ye Mengqi

Nanchang Medical College, Nanchang, Jiangxi 344000

Abstract: Objective: To study the mechanism of Zhenrenyangzang decoction in the treatment of ulcerative colitis (UC) by network pharmacology. Methods: The active components and potential targets of Zhenrenyangzang decoction were screened in the relevant database, and the compound target network was constructed. Then the target of UC is screened, common target is obtained, and PPI network is formed to predict the target of the core. The results were enriched by GO and KEGG. Results: A total of 6 active components and 77 common targets were predicted. Sinaphthol, B-sitosterol, rosinine, ellagic acid, stigmasterol and isodecanoic acid are the key active components of the drug. The mechanism of action may be related to cancer signaling pathway, lipid and atherosclerosis pathway, chemical carcinogenic-receptor activation pathway, hepatitis B pathway, human herpesvirus type IV infection pathway, human immunodeficiency virus infection pathway and other signaling pathways. HSP90AA1, MAPK8, TNF, CASP3 are the key targets of UC therapy. Conclusion. This study reflects the complex network relationship of ZRYZ in the treatment of ulcerative colitis with multi-component, multi-target and multi-pathway, and provides ideas for the treatment of UC.

Keywords: ulcerative colitis; Zhenrenyangzang decoction; network pharmacology

引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是以反复发作的腹泻、黏液脓血便伴腹痛、里急后重和不同程度的全身症状为主要表现的慢性非特异性炎症性复发性疾病^[1]。UC的发病机制尚不明确,可能与肠道菌群失调、遗传、环境、免疫等因素有关^[2-3]。据统计,欧洲每年UC最高年发病率为24.3/100000人,大洋洲每年最高发病率为17.4/100000人,北美每年最高发病率为23.1/100000人,在世界范围内,UC的发病率呈上升趋势,它已然成为一种全球性疾病^[4-5]。UC的特征是复发性和缓解性黏膜炎症,因此,如果治疗不当,会导致溃疡性结肠炎症状复发、持续的肠道损伤和患癌症的风险增加^[6]。5-ASA、硫嘌呤、皮质类固醇、英夫利昔单抗(IFX)、维得利珠单抗(VDZ)等药物对UC的治疗能发挥一定的作用^[7]。然而,这些药物的不良反应事件时有报道^[8-9]。中医(TCM)利用草本植物治疗疾病在中国及周边国家已有数千年历史,作为补充及替代疗法用于治疗UC被越来越多人接受^[10]。

中药在UC治疗中表现出明显的积极效果以及低复发率、少副作用等明显优势。中药配方真人养脏汤(Zhenrenyangzang decoction, ZRYZ)出自宋代《太平惠民和剂局方》,由人参、当归、白术、肉豆蔻、肉桂、甘草、白芍、木香、诃子等组成,有温阳脾肾、涩肠固

脱作用^[11]。临床研究显示：ZRYZ对于UC的治疗上有较为突出的优势，主要表现在显著降低复发率、改善生活质量及提高安全性等方面^[12-14]。但现阶段的研究多侧重于临床疗效方面，其在体内“多成分-多靶点-多途径”的整体药理作用特征未进行深入挖掘，极大地阻碍了其在临床上的广泛的推广和应用。

本研究采用网络药理学技术预测ZRYZ治疗UC的主要生物活性化合物、潜在靶点和信号通路；研究结果为研究ZRYZ在UC治疗中的作用机制提供依据。

一、研究方法及方案

(一) 真人养脏汤相关活性成分及靶点的筛选

以“罂粟壳”“诃子”“肉豆蔻”“肉桂”“人参”“当归”“白术”“白芍”“木香”等真人养脏汤方中所含中药为关键词，依次在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)数据库(<https://old.tcmssp-e.com/tcmssp.php>)进行搜索，筛选标准为口服生物利用度(OB) ≥ 30%，类药物生物利用度(DL) ≥ 0.18%。获取有效入血成分及其对应的靶蛋白，利用Uniprot数据库对靶点基因进行标准化。

(二) 溃疡性结肠炎相关靶点获取

以“Ulcerative colitis”为关键词，检索GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)，omim数据库(<https://www.omim.org/>)，ttd数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)，pharmgkb数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)将所获取的靶基因合并去除重复值后得到溃疡性结肠炎的相关疾病靶点。

(三) 获取药物-疾病交集靶点

通过Venny网站将真人养脏汤活性成分作用靶点与溃疡性结肠炎相关靶点进行交集映射，得到真人养脏汤治疗溃疡性结肠炎的潜在靶点。

(四) 关键化学成分靶点的网络可视化

将ZRYZ关键活性成分与疾病的共同靶点基因整理后利用网络映射软件Cytoscape 3.10.0(<http://www.cytoscape.org>)构建药物-成分-靶点-疾病的网络。

(五) PPI网络构建

PPI网络(protein-protein interaction networks)是指蛋白与蛋白作用关系网络。利用String数据库，输入药物和疾病的共同靶点基因，设置蛋白关系评分为0.9，得到蛋白互作关系网络。

(六) 交集基因富集分析

Metascape数据库(<https://metascape.org/>)是大数据时代对组学进行综合分析解读的高效工具，具有功能富集、交互分析、基因注释等多种功能。将STRING处理后的常见靶点导入Metascape数据库进行GO和KEGG分析，得到Biological process(BP)、Cellular component(CC)、Molecular function(MF)及KEGG通路的相关数据。我们选择了GO中P值最小的前10个BP、CC、MF及P值最小的前20个KEGG通路，并将它们导入到微生信网站(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制条形图和气泡图。

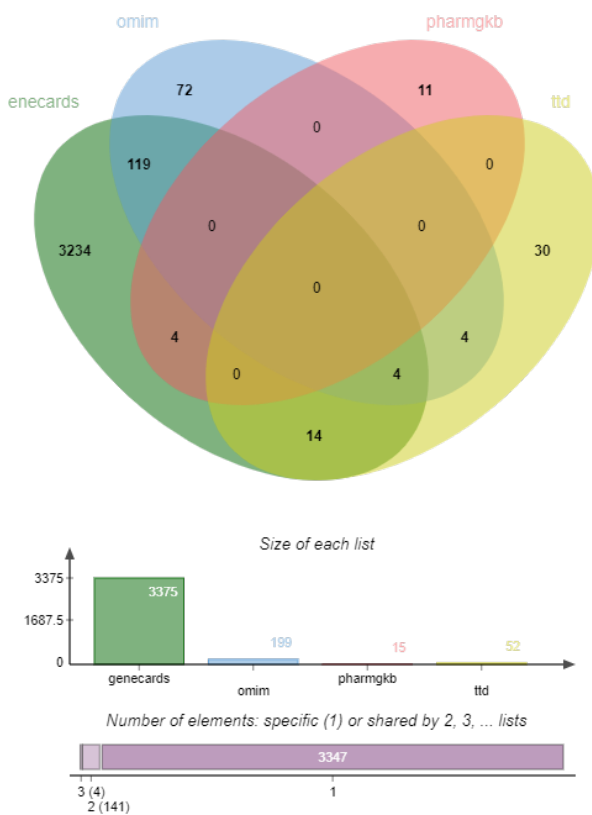
二、结果

(一) 活性化学成分的收集和筛选

根据筛选标准从TCMSP数据库中检索得出ZRYZ的活性成分共78个，其中罂粟壳有11个活性成分，诃子8个活性成分，肉豆蔻9个活性成分，肉桂0个活性成分，人参22个活性成分，当归2个活性成分，白术7个活性成分，白芍13个活性成分，木香6个活性成分。利用TCMSP数据库筛选出成分对应靶点974个。最后利用Uniprot数据库对靶点基因进行标准化，获得靶点基因811个。

(二) 疾病靶点检索结果

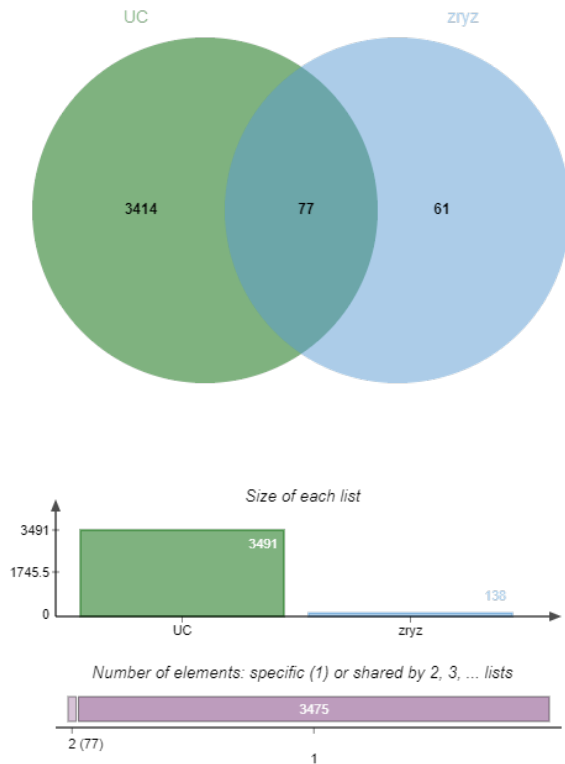
通过检索，合并去重后共得到疾病对应基因3491个。具体如下(图1)



> 图1: 各数据库疾病对应基因

(三) 药物-疾病交集靶点

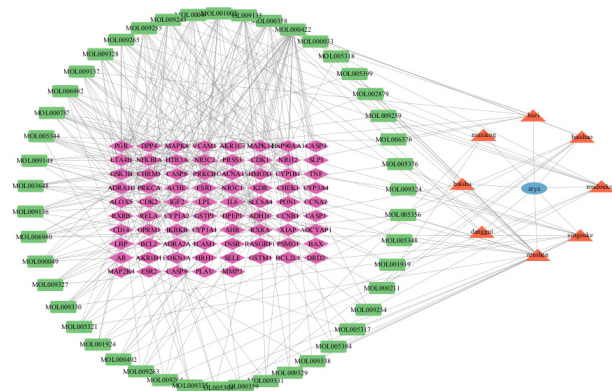
Zryz的潜在靶点与疾病靶点的交集显示为韦恩图(图2)。结果显示共有77个ZRYZ治疗UC的潜在治疗靶点。



>图2: 药物-疾病交集靶点

(四) 药物-成分-靶点-疾病构建

通过 Cytoscape 药物-成分-靶点网络, 具体如下(图3), 将分析后的值导出为 Excel 文件, Degree 值排名前几位的活性成分为 MOL000422 (山萘酚), MOL000358 (B-谷甾醇), MOL009135 (玫瑰树碱), MOL001002 (鞣花酸), MOL000449 (豆固醇), MOL009243 (异癸酸) 等, 即为药物关键有效活性成分。



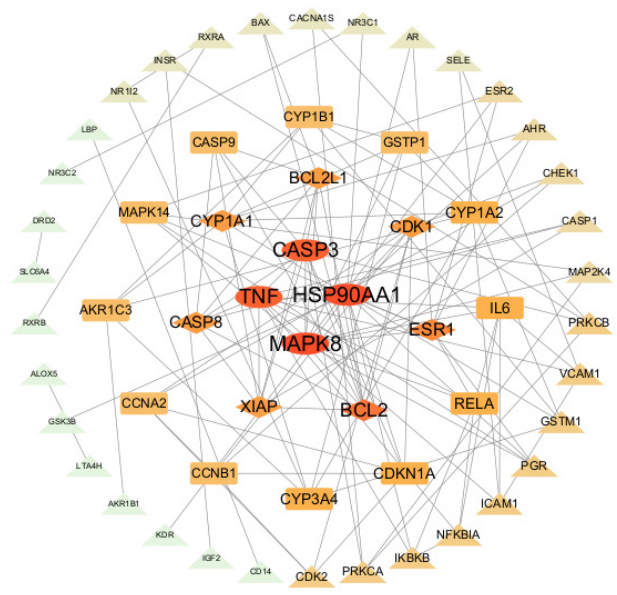
>图3. 药物-成分-靶点网络

(五) ZRYZ 和 UC 共同靶点的 PPI 网络

将 77 个交叉点目标输入到 STING 中, 设定的最低要求交互性得分 > 0.9。并将其导入 Cytoscape 3.10.0, 将它们制作成 PPI 网络图。网络中有 57 个节点和 119 条边。经过对网络的分析, 得出节点度均值为 4, 超过均值的目标数为 11 个。其中, 度前 4 的基因为: HSP90AA1、MAPK8、TNF、CASP3。

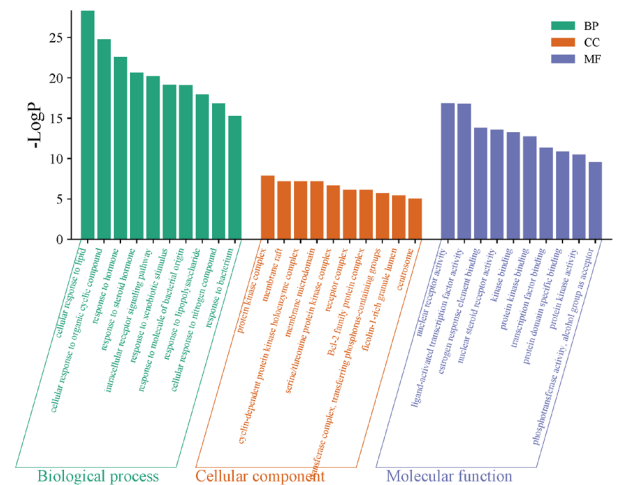
(六) GO 和 KEGG 富集分析

为了进一步探索 ZRYZ 参与 UC 治疗的各种机制, 我们使



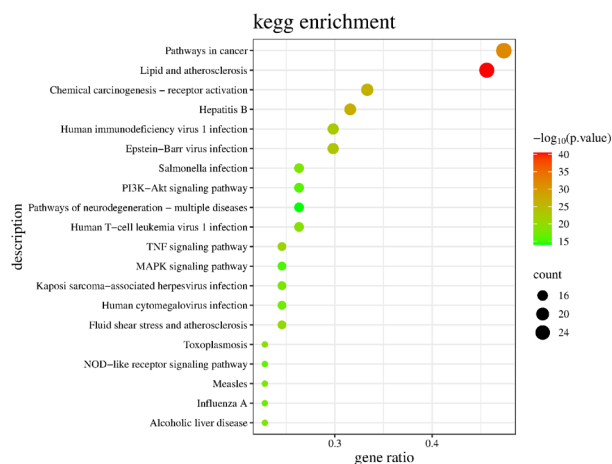
>图4.PPI网络图

用 Metascape 对 string 处理后的 57 个靶点进行 GO 功能注释和 KEGG 通路分析。GO 结果表明, BP, CC, MF 的数量分别为 3246, 306 和 505 (P < 0.01)。在 BP (生物过程) 方面 ZRYZ 对 UC 的治疗主要是由于细胞对脂质的反应、细胞对有机环化化合物的反应等。CC (细胞组分) 方面主要是蛋白激酶复合物、薄膜网在发挥作用, MF (分子功能) 层面主要涉及核受体活性及配体激活的转录因子活性等 (BP、CC、MF 前 10 名的条形图显示在图 5)。



>图5.GO条形图

KEGG 通路分析共获得 156 条信号通路 (P < 0.01)。通路所涉及基因数目越多, 气泡越大; 统计显著性越大, 填充颜色从绿到红颜色渐深。主要包括 Pathways in cancer (癌症信号通路)、Lipid and atherosclerosis (脂质与动脉粥样硬化通路)、Chemical carcinogenesis - receptor activation (化学致癌-受体激活通路)、Hepatitis B (乙肝通路)、Epstein-Barr virus infection (人类疱疹病毒第四型感染通路)、Human immunodeficiency virus 1 infection (人类免疫缺陷病毒感染通路) 等。(前 20 位信号通路气泡图显示在图 6)



> 图6. 气泡图

三、结论

溃疡性结肠炎在中医中属于：“泄泻”“肠澼”“滞下”等范畴^[12-13]。真人养脏汤用于治疗该病效果显著，但他的作用机制尚不明确。

本研究运用网络药理学的方法对 ZRYZ 治疗溃疡性结肠炎（UC）的作用机制进行了研究。结果显示山萘酚，B-谷甾醇，

玫瑰树碱，鞣花酸，豆固醇，异癸酸为药物关键有效活性成分，这6个成分在药物-成分-靶点-疾病网络中占据重要地位，表明它们是 ZRYZ 发挥作用的主要成分。本研究将 HSP90AA1、MAPK8、TNF、CASP3 确定为与 UC 相关的 4 个关键靶点。为了解蛋白靶点及相关通路的功能，我们进行了 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析。这些分析揭示了核心靶点对 bp、cc 和 mf 的重要贡献。KEGG 数据显示，经过 PPI 分析的 57 个靶蛋白共有 156 条信号通路，凸显了 ZRYZ 通过多种通路对 UC 的治疗作用。其中癌症信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路、化学致癌-受体激活通路、乙肝通路、人类疱疹病毒第四型感染通路、人类免疫缺陷病毒感染通路显著富集，提示了 ZRYZ 主要成分在调节这些关键靶蛋白中的主要路径。GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析进一步揭示了这些靶点在生物过程、细胞组分和分子功能中的重要性，以及它们在信号通路中的作用。提示了 ZRYZ 成分在调节这些关键生物过程中的潜在作用。

本研究通过网络药理学揭示了 ZRYZ 中主要活性成分与 UC 关键靶点之间的相互作用关系。为 UC 的临床治疗提供理论依据。然而，这项研究的结果是基于数据分析的，仅具有一定的预测效果，仍需通过体外和体内实验进一步验证这些发现，并评估其安全性和有效性。

参考文献

[1] Burri E, Maillard MH, Schoepfer AM, et al. Treatment Algorithm for Mild and Moderate-to-Severe Ulcerative Colitis: An Update. *Digestion*. 2020;101 Suppl 1:2-15. doi:10.1159/000504092

[2] Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. *World J Gastroenterol*. 2018;24(1):5-14. doi:10.3748/wjg.v24.i1.5

[3] Yashiro M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(44):16389-16397. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16389

[4] Du L, Ha C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2020;49(4):643-654. doi:10.1016/j.gtc.2020.07.005

[5] Yashiro M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(44):16389-16397. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16389

[6] Guo M, Wang X. Pathological mechanism and targeted drugs of ulcerative colitis: A review. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(37):e35020. doi:10.1097/MD.00000000000035020

[7] Gros B, Kaplan GG. Ulcerative Colitis in Adults: A Review. *JAMA*. 2023;330(10):951-965. doi:10.1001/jama.2023.15389

[8] Loftus EV Jr, Feagan BG, Panaccione R, et al. Long-term safety of vedolizumab for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;52(8):1353-1365. doi:10.1111/apt.16060

[9] Al-Abcha A, Raziq F, Kherallah S, Alratroot A. Mesalamine-induced eosinophilic pleural effusion. *BMJ Case Rep*. 2020;13(4):e233886. Published 2020 Apr 16. doi:10.1136/bcr-2019-233886

[10] Wang M, Fu R, Xu D, et al. Traditional Chinese Medicine: A promising strategy to regulate the imbalance of bacterial flora, impaired intestinal barrier and immune function attributed to ulcerative colitis through intestinal microecology. *J Ethnopharmacol*. 2024;318(Pt A):116879. doi:10.1016/j.jep.2023.116879

[11] 王慧, 毛晶磊, 吴艳敏, 王琪, 罗晓庆, 官杰. 真人养脏汤对溃疡性结肠炎大鼠肠道黏膜屏障功能的保护作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2017,33(11):2053-2059.

[12] 何青华. 真人养脏汤合暖肝煎加减治疗溃疡性结肠炎（脾肾阳虚证）的临床研究 [D]. 长春中医药大学, 2020.

[13] 秦婧芬. 二真汤治疗溃疡性结肠炎（脾肾阳虚证）的临床研究 [D]. 长春中医药大学, 2018.

[14] 王璐, 刘冬梅. 真人养脏汤合四逆汤治疗脾肾阳虚型溃疡性结肠炎 40 例总结 [J]. 湖南中医杂志, 2015,31(10):43-44.