

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.19.014

基于网络药理学探讨三七治疗动脉粥样硬化的作用机制

陈奕玮, 王君, 赵坤, 赵光耀, 蒋文雯*

(贵州大学药学院, 贵州省贵阳市花溪区甲秀南路, 550025)

摘要 目的 探讨三七治疗动脉粥样硬化的作用机制。方法 基于中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP) 数据库, 以口服吸收利用度 (OB) $\geq 30\%$, 药物相似性 (DL) ≥ 0.18 , 细胞渗透性 (Caco-2) ≥ -0.4 作为筛选条件, 结合文献筛选得到三七有效活性成分群, 通过 PharmMapper 数据库提取活性成分作用靶点及相关疾病, 用 OMIM、TTD、Drugbank 等数据库收集动脉粥样硬化全部靶点, 构建“成分-疾病-靶点”网络图, 并与筛选到的靶点进行验证。采用 DAVID 数据库进行关键靶点的 GO 分析和 KEGG 通路富集分析。结果 从三七中共筛选得到人参皂苷 rh2、槲皮素、 β -谷甾醇等 11 个有效成分, 作用于 92 个靶点, 269 种相关疾病。直接治疗动脉粥样硬化的靶点 9 个, 分别是白三烯 A4 水解酶 (LTA4H)、花生四烯酸 5 脂氧合酶 (ALOX5)、基质金属蛋白酶 3 (MMP3)、尿激酶型纤溶酶原激活因子 (PLAU)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 1 β (IL1 β)、人 E 选择素 (SELE)、髓过氧化物酶 (MPO)、视黄醇 X 受体 α (RXRA)。GO 分析结果显示, 生物过程与炎症密切相关, 包括白三烯代谢和合成过程、调节 I- κ B 激酶/NF- κ B 信号传导等。KEGG 分析结果显示, 多种功能和信号通路与动脉粥样硬化相关。结论 三七有效成分群通过直接调控动脉粥样硬化相关的靶点, 间接调控关键炎症因子, 进而调节炎症因子相关的 NF- κ B 信号通路、TNF 信号通路等来发挥治疗动脉粥样硬化的作用。

关键词 三七; 动脉粥样硬化; 网络药理学; 有效成分; 作用靶点; 信号通路

三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen], 别名田七、血参、田三七、滇三七等, 是五加科人参属多年生草本植物的根和根茎。《本草纲目》记载三七为“止血之神药、理血之妙品”。研究发现, 三七中的化学成分有皂苷类、黄酮类、多糖、挥发油等^[1], 三七的药理作用主要体现在对心脑血管系统、神经系统、代谢和免疫调节系统等的影 响^[2]。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是心血管疾病最重要的病理基础, 血瘀证是心血管病常见的中医证型之一。三七是常用的活血化瘀中药, 常用于 AS 的治疗, 如研究^[3]发现, 三七总皂苷对 AS 小鼠血管内皮具有保护作用; 三七粉可以预防 AS 斑块的形成^[4]。另外, 含有三七的复方中药也被证实具有治疗 AS 的作用, 研究发现, 复方三七颗粒通过降低血清白细胞介素 6 (IL-6), 肿

瘤坏死因子 α (TNF- α) 水平, 达到抑制 AS 斑块的作用^[5], 复方三七制剂也可改善血脂代谢, 预防或延缓 AS 的进程^[6]。

本研究通过网络药理学的方法筛选三七的活性成分群, 运用 OMIM、TTD、Drugbank 等数据库收集三七治疗 AS 的靶点, 构建三七的“成分-靶点-疾病”以及三七治疗 AS 的“关键成分-靶点”网络等多层次生物信息网络, 筛选关键靶点进行 GO 分析, 结合 KEGG 通路富集分析, 对三七治疗 AS 的药理作用机制探讨。

1 资料与方法

1.1 三七化学成分的获取和活性成分的筛选

中药系统药理学数据库和分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)^[7] 是由西北农林科技大学王永华教授课题组研发, 是目前国内比较完善的中药成分靶点数据库, 收录了 499 味中药以及每味中药的化学成分共计 29 000 余个, 且包含每一个

基金项目: 贵州大学培育项目 (黔科合平台人才 [2017] 5788 号); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础 [2019] 1120 号)

* 通讯作者: jww1001@sina.com, (0851) 88297893

化合物的吸收、分布、代谢和排泄数据。通过检索 TCMSMP 数据库获得三七的化学成分信息,在 TCMSMP 数据库中,设置参数口服吸收利用率(OB) $\geq 30\%$, 药物相似性 (DL) ≥ 0.18 , 细胞渗透性 (Caco-2) ≥ -0.4 作为筛选条件,同时结合相关文献,获取三七的主要有效成分。

1.2 主要有效成分作用靶点和相关疾病的收集

通过 TCMSMP 数据库进一步预测有效成分的相关靶点。其中,一些成分的相关靶点在 TCMSMP 数据库中未收录,则将该化合物的 sdf 格式导入 PharmMapper 数据库得到相应的预测靶点。用 Uniport 数据库将得到的靶点的蛋白和基因信息标准化,将所有检索到的基因和蛋白校正为其官方名称,得到三七主要有效成分对应的关键靶点的基因名。再将每个靶点的蛋白名输入 TCMSMP 中,点击“related diseases”收集每个靶点的相关疾病信息,因为疾病较多,将收集到的疾病名称根据医学主题词表对疾病进行分类统计。

1.3 成分-靶点-疾病网络的构建与分析

将三七的主要有效成分群和预测的靶点及相关疾病,在 Excel 表中分别构建“药效成分-靶点”“靶点-疾病”之间的关系列表,然后导入 Cytoscape 3.6.0 软件中建立“成分-靶点-疾病种类”网络关系图。运用 Cytoscape 3.6.0 中的 Network Analyzer 工具计算未将疾病分类之前的网络关系图的拓扑参数,度值 (Degree 值) 反映节点在生物网络中所处位置的枢纽程度,值越大,其在该拓扑结构中也就越重要。目前对网络节点的主要分析就集中在利用节点的 Degree 值来确定网络关键的节点。将 Degree 值中位数的两倍作为临界值,选取三七的成分、靶点、疾病的核心节点,用 DisGeNET (http: / www. disgenet. org) 数据库对靶点所属的类型进行归属并分析。

1.4 三七治疗 AS 相关的靶点筛选

在 OMIM (http: / www. omim. org /)、Drugbank (https: / www. drugbank. ca /)、TTD (http: / / bidd. nus. edu. sg / group / cjttd / TTD _ HOME. asp) 及 pharmGKB (https: / www. pharmgkb. org /) 数据库中输关键字“atherosclerosis”,检索已经报道过的治疗 AS 的基因。去除重复的基因,与三七有效成分预测的靶点进行匹配,得到三七直接参与治疗 AS 的靶点。

1.5 生物过程与通路富集分析

为了说明三七治疗 AS 的靶点在基因功能中的

作用,以及关键靶点调控的信号通路,利用 DAVID 6.8 在线分析工具 (https: / / david. ncifcrf. gov / tools. jsp) 对网络合并后获得的靶点蛋白进行基因本体 (GO) 富集分析。选择生物过程、分子功能和细胞组分 3 个模块和通路富集的分析。在 DAVID 数据库 Functional Annotation Tool 的 Upload 中粘贴筛选出的关键基因,以人类全基因组为背景和参照,分析结果设置阈值 EASE < 0.05 , Count ≥ 4 , FDR < 0.01 , $P < 0.05$ 获得显著性较高的生物过程和通路富集的结果,点击通路名称可以链接到 KEGG 数据库查看通路图及详情。

2 结果

2.1 三七活性成分的筛选结果

TCMSMP 平台共收录三七化学成分 119 个,符合筛选条件 (OB $\geq 30\%$, DL ≥ 0.18 , Caco-2 ≥ -0.4) 的共有 8 个,同时查阅文献,发现三七中的成分如人参皂苷 rb1^[8]、人参皂苷 rd^[9] 和三七皂苷 r1^[10-11] 都是三七的重要活性成分,因此,将符合筛选条件的化学成分结合文献调研的结果,共筛选出 11 个有效成分。另外,根据糖苷酶水解规则,这些化合物中含糖基的化合物在体内可能被去糖基,为了增加活性分子的准确度避免因糖水解代谢而造成活性物质的流失,将有糖苷配基的化合物命名为“化合物_qt”^[12],具体活性成分群见表 1。

表 1 三七的活性成分群

成分名称	OB (%)	DL	Caco-2
邻苯二甲酸二异辛酯 (isoocetyl phthalate)	43.59	0.39	0.79
人参皂苷 rh2 (ginsenoside rh2)	36.32	0.56	-0.51
人参皂苷 f2 (ginsenoside f2)	36.43	0.25	-1.80
十八碳二烯 (mandenol)	42.00	0.19	1.46
食脂素 (liquiritigenin)	32.76	0.18	0.51
β -谷甾醇 (β -sitosterol)	36.91	0.75	1.32
豆甾醇 (stigmasterol)	43.83	0.76	1.44
槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28	0.05
人参皂苷 rb1 (ginsenoside rb1)	6.29	0.04	-3.72
人参皂苷 rd_qt (ginsenoside rd_qt)	12.23	0.77	0.65
三七皂苷 r1 (notoginsenoside 1)	5.43	0.13	-3.01

注: OB, 口服吸收利用率; DL, 药物相似性; Caco-2, 细胞渗透性

2.2 三七有效成分的靶点预测和靶点相关疾病

将筛选出的化合物在 TCMSMP 上找到相关靶点和疾病,结合 Swiss 及 ZINC 数据库等找到相关靶点,并查阅文献,共找到 92 个靶点,269 种相关疾病,包括 12 种疾病大类,靶点的类型涵盖受体、酶和转运体等,在活性成分群中,槲皮素的 Degree

值最高,相关靶点有 55 个,涉及疼痛、心血管系统、呼吸系统、代谢性疾病等多种类型疾病。

2.3 成分-靶点-疾病网络的构建及分析

采用 Cytoscape 3.6.0 软件构建三七的“成分-靶点-疾病种类”网络关系图,见图 1。用 Network Analyzer 插件分析未将疾病分类之前的“成分-靶点-疾病种类”网络图中的靶点、介数和度等,其中 Degree 值较大的靶点是:前列腺素-内过氧化物合成酶 2 (PTGS2)、 β -2 肾上腺素能受体 (ADRB2)、毒蕈碱乙酰胆碱受体 M2 (CHRM2)、肿瘤坏死因子 (TNF) 等,结果提示 PTGS2、ADRB2 节点等与较多疾病相关联,相关的疾病重复数最多的是疼痛、阿尔兹海默病、癌症、炎症、心血管疾病等,三七在这些疾病中发挥药理作用,显示出多靶点调控多种疾病的特点。在未将疾病分类之前的“成分-靶点-疾病种类”网络图中选取靶

点 Degree 值的中位数的两倍作为临界值,相关度较高的疾病见表 2,将关键靶点列在表 3。发现关键靶点中有许多和炎症相关的靶点,包括 PTGS2、TNF、ADRB2 等。

表 2 三七有效成分相关度较高的疾病 (Degree 值 ≥ 6)

疾病	Degree 值	疾病	Degree 值
镇痛	23	心血管疾病	9
阿尔兹海默病	21	抑郁	9
癌症	20	肺癌	9
疼痛	15	骨性关节炎	9
乳腺癌	14	心律失常	8
炎症	13	结直肠肿瘤	8
精神分裂症	13	高血压病	8
焦虑症	11	多发性硬化症	8
哮喘	11	认知缺陷	7
慢性阻塞性肺疾病	11	结直肠癌	7
前列腺癌	11	关节炎	6
心肌梗死	10		

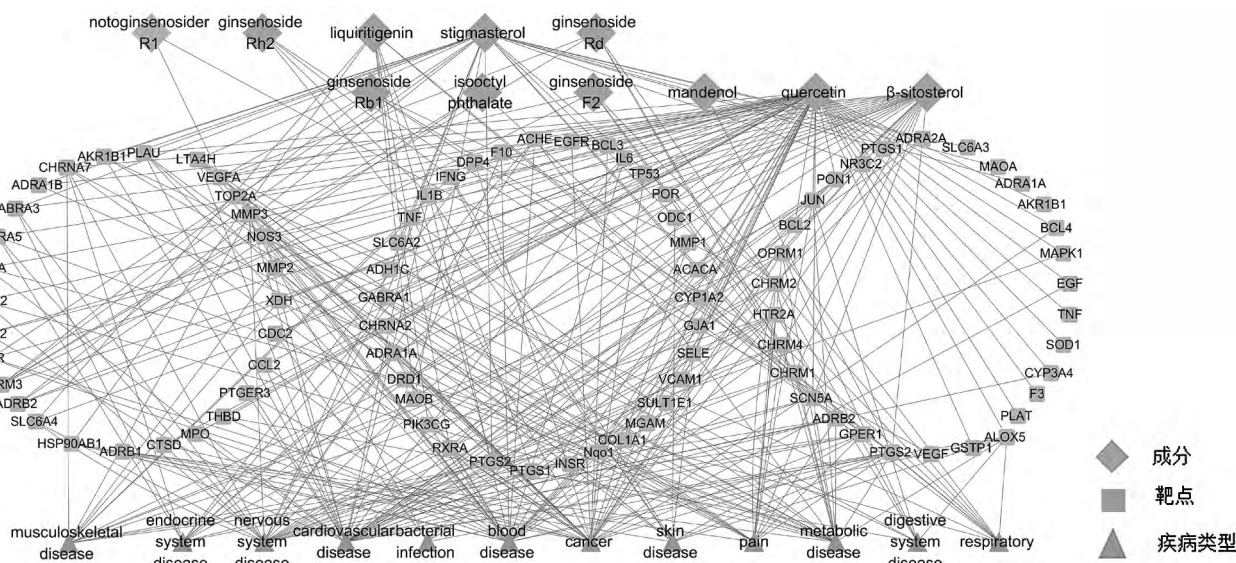


图 1 三七“成分-靶点-疾病种类”网络图

表 3 三七有效成分的关键靶点 (Degree 值 ≥ 16)

靶点名	中文名	Degree 值	靶点类型	靶点名	中文名	Degree 值	靶点类型
PTGS2	前列腺素-内过氧化物合成酶 2	192	氧化还原酶	TNF	肿瘤坏死因子	24	信号分子
ADRB2	β -2 肾上腺素能受体	104	受体	CHRNA7	神经元乙酰胆碱受体亚基 α -7	24	受体
CHRM2	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M2	90	受体	CHRM3	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3	24	受体
ALOX5	花生四烯酸 5 脂氧合酶	52	氧化还原酶	HSP90AB1	热休克蛋白 HSP 90- β	24	分子伴侣
SCN5A	钠通道蛋白 5 型亚基 α	48	转运体	MMP1	基质金属蛋白酶 1	20	蛋白酶
HTR2A	5-羟色胺受体 2A	40	受体	VEGFA	血管内皮生长因子 A	20	信号分子
CHRM4	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M4	40	受体	IL1B	白细胞介素 β	20	信号分子
CHRM1	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1	40	受体	PIK3CG	PI3-激酶亚基 γ	20	激酶
CYP1A2	细胞色素 P450 1A2	32	氧化还原酶	NOS3	一氧化氮合酶	18	同工酶
JUN	转录因子 AP-1	28	细胞连接蛋白	MAOB	单胺氧化酶 B	18	氧化还原酶
GSTP1	谷胱甘肽 S-转移酶 P	26	代谢酶	MMP3	基质金属蛋白酶 3	16	蛋白酶
MMP2	基质金属蛋白酶 2	26	蛋白酶	TOP2A	DNA 拓扑异构酶 2- α	16	异构酶
EGFR	表皮生长因子受体	26	信号分子				

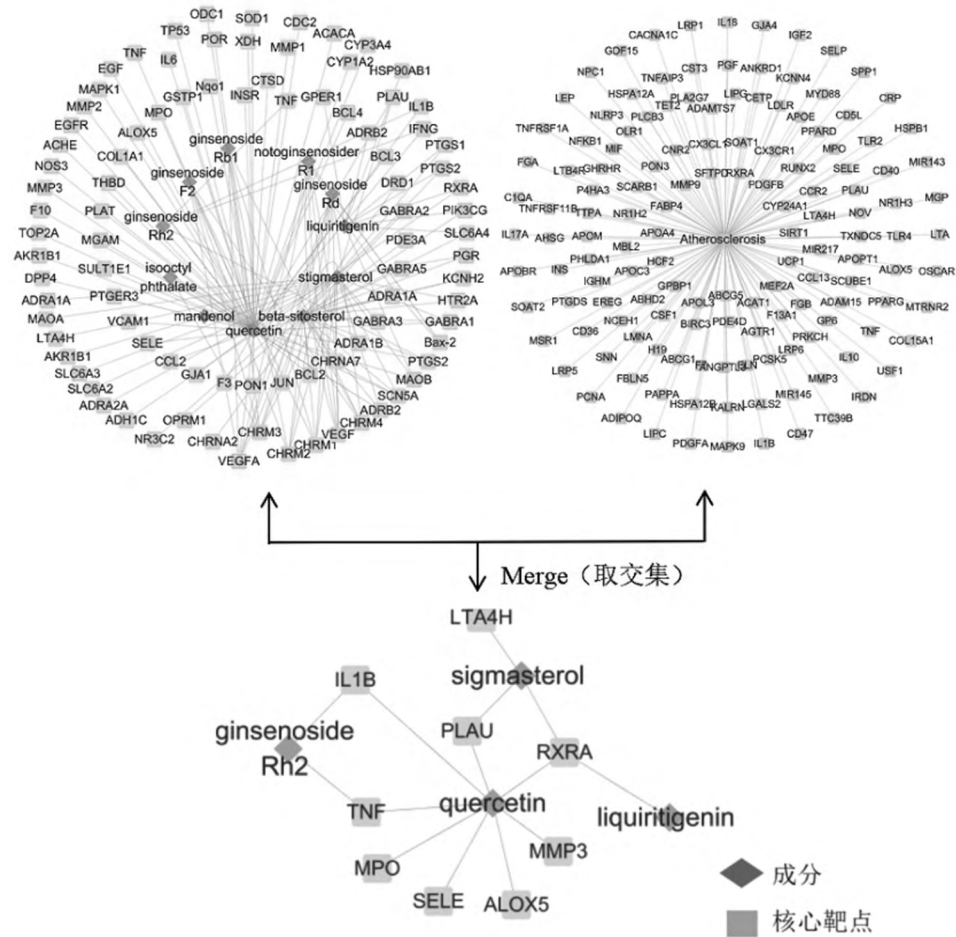


图 2 三七治疗 AS 的“成分-靶点”网络图

2.4 三七治疗 AS 的关键靶点的 PPI 网络构建

在 OMIM、TTD 等数据库中输入关键词检索“atherosclerosis”，共检索到 121 个 AS 的相关靶点，其与三七有效成分的预测靶点进行 PPI 构建及分析，共得到 9 个相互作用靶点，使用 Cytoscape 3.6.0 中的 merge 功能将活性成分-预测靶点网络与疾病数据库中的 AS 靶点进行 PPI 网络融合，取其交集部分，得到三七直接发挥治疗 AS 作用靶点有 9 个，分别是：白三烯 A4 水解酶（LTA4H）、花生四烯酸 5 脂氧合酶（ALOX5）、基质金属蛋白酶 3（MMP3）、尿激酶型纤溶酶原激活因子（PLAU）、肿瘤坏死因子（TNF）、白细胞介素 1 β （IL1B）、人 E 选择素（SELE）、髓过氧化物酶（MPO）、视黄醇 X 受体 α （RXRA）。靶点相关联的化合物有 4 个，分别是人参皂苷 rh2（ginsenoside-rh2）、槲皮素（quercetin）、甾甾醇（stigmastrol）和食脂素（liquiritigenin），将靶点与成分结合，得到三七直接作用于 AS 的“成分-靶点”网络图（图 2）。槲皮素与其中 8 个靶点关联，说明槲皮素是三七治疗 AS 的关键成分之一。

2.5 生物过程和通路富集分析结果

将收集到的关键靶点输入 DAVID 数据库以人类全基因组为背景和参照，筛选条件设置为 EASE < 0.05，Count $\geq$ 4，FDR < 0.01 得到的生物过程富集和通路富集，其中，通路涉及的种类有癌症、免疫系统疾病、循环系统疾病、代谢障碍等，根据 $P < 0.05$ 筛选显著性通路，在通路相关基因中，多个通路的相关基因中有 TNF、IL1B 等炎症因子，提示三七有效成分可能是通过抑制炎症因子的形成和发展达到治疗 AS 的作用。通路富集结果见表 4，主要包括肿瘤坏死因子信号通路、疟疾通路、NF- κ B 信号通路等，说明三七除了能治疗 AS 外，还通过这些信号通路发挥治疗其他相应疾病的作用。生物过程富集结果见表 5，主要包括白三烯代谢过程、调节 I- κ B 激酶/NF- κ B 信号传导、调节内皮屏障的建立等，大多生物过程与炎症密切相关，如白三烯的代谢和合成过程，NF- κ B 导入细胞核的正调节等，在炎症性疾病中有着重要作用，三七有效成分群治疗 AS 的机制与其可以通过抑制炎症因子的释放有关 [13]。

表 4 三七治疗 AS 关键靶点的 KEGG 通路富集分析结果

通路 ID	名称	P 值	相关基因
hsa04668	肿瘤坏死因子信号通路	<0.001	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β , 基质金属蛋白酶 3, 人 E 选择素
hsa05143	非洲锥虫病	<0.001	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β , 人 E 选择素
hsa05202	癌症中的转录失调	<0.001	视黄醇 X 受体 α , 髓过氧化物酶, 基质金属蛋白酶 3, 尿激酶型纤溶酶原激活因子
hsa05144	疟疾	0.001	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β , 人 E 选择素
hsa04064	NF- κ B 信号通路	0.004	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β , 尿激酶型纤溶酶原激活因子
hsa05323	类风湿性关节炎	0.004	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β , 基质金属蛋白酶 3
hsa04932	非酒精性脂肪肝	0.012	肿瘤坏死因子, 视黄醇 X 受体 α , 白细胞介素 β
hsa05332	移植抗宿主病	0.038	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β
hsa04940	1 型糖尿病	0.048	肿瘤坏死因子, 白细胞介素 β

表 5 三七治疗 AS 关键靶点的生物过程 GO 富集结果

名称	基因比 (%)	P 值
铁对翻译起始的正调节作用	0.2	<0.001
钙调蛋白 1-单加氧酶活性的正调节	0.2	0.001
甘油三酯的整合	0.2	0.002
发热的正调节	0.2	0.002
调节内皮屏障的建立	0.2	0.003
趋化因子生物合成过程的积极调节	0.2	0.005
异型细胞-细胞黏附的正调节	0.2	0.005
白细胞圈养或滚动	0.2	0.006
白三烯代谢过程	0.2	0.007
调节 I- κ B 激酶/NF- κ B 信号传导	0.2	0.007
膜蛋白胞外域蛋白水解的正调节	0.2	0.007
脂质分解代谢过程的负调节	0.2	0.008
宿主共生体生长的负调控	0.2	0.008
白三烯生物合成过程	0.2	0.010
NF- κ B 导入细胞核的正调节	0.2	0.010

3 讨论

本研究通过网络药理学方法初步筛选出了三七的活性成分群、作用靶点、相关疾病以及关键通路。网络药理学是近年来在系统生物学与计算机技术高速发展的基础上建立的基于“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络,通过网络分析,揭示多分子的协同作用机制的一种新方法^[14]。网络药理学通过网络模型中使用目标蛋白质和基因的最短路径长度来推断“药物靶标”和“疾病基因”之间的相关性^[15]。目前多数复杂疾病的研究都和生物网络紧密联系,将方剂的多靶点协同作用与病证结合,从“关系-网络-功能”的角度探索中药单方和复方的治疗机制^[16],将方药、病证映射于生物分子网络,以网络为基础建立方药与病证的关联机制^[17]。

本研究共筛选出三七的有效活性成分 11 个,靶点 92 个,治疗 AS 的直接靶点 9 个,相关生物过程 23 个,显著关联通路 9 条,相关疾病 269 种,

可见三七药理作用的应用广泛,除了治疗 AS 外,还主要在疼痛^[18]、癌症^[19]、炎症、阿尔兹海默病^[20]等方面发挥作用,具有多成分、多靶点、多通路的特点,显示出中医药在治疗疾病上的“异病同治”的特色。在相关度较高的疾病表格中,AS 的相关度并不高,但相关度较高的疾病中有多种与 AS 直接相关,例如炎症、心肌梗死、心血管疾病、高血压病等,都是 AS 的影响因素或与 AS 直接相关^[21-22]。

三七成分众多,有研究表明,在 AS 大鼠模型中一次性使用三七总皂苷可显著降低血清中 Ca^{2+} 含量^[23], Ca^{2+} 广泛参与组织细胞的生物反应,如心肌收缩,各种腺体的分泌,血小板的聚集、释放、收缩、胞排,和体内的活血作用密不可分^[24]。槲皮素作为一种多羟基黄酮,已证实有多种药理作用,包括抗癌^[25]、心脏保护^[26],还有抗炎、抗病毒及免疫调节作用等^[27]。研究发现,槲皮素能明显抑制血管紧张素 II 引起的心肌细胞总蛋白质含量的增加,可显著提高 SOD 活性^[28],类黄酮类的化合物也被认为可能是治疗高脂血症和动脉粥样硬化的靶向化合物^[29],从三七治疗 AS 的“成分-靶点”的网络图(图 2)中可以看出,槲皮素与多个 AS 靶点相关,如 PLA2、ALOX、MMP3、SELE 等,都在 AS 的形成和发展中有着重要作用,槲皮素可能通过抑制这些靶点引发的过程起到治疗 AS 的目的,因此,槲皮素是三七有效成分群中治疗 AS 的关键成分之一。三七中主要成分人参皂苷 Rg1 和 Rb1 能抑制脂多糖刺激巨噬细胞(RAW 264.7)产生的促炎介质 TNF- α 和 IL-6 的表达^[30],这些有效成分是通过影响炎症因子从而治疗 AS。

三七的靶点类型多样,通过对三七有效成分进行相关靶点的筛选,筛选出治疗 AS 的直接靶点有 9 个,在这些靶点中,ALOX5^[31]等氧化还原酶类靶

基因与血管的形成和发展密切相关,直接参与动脉粥样硬化的形成和发展。肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 是一种确定的促动脉粥样硬化因子,通过增加内皮细胞的低密度脂蛋白转胞吞作用促进动脉粥样硬化,从而促进血管壁中的低密度脂蛋白的保留^[62]。TNF- α 也被认为是治疗心力衰竭与充血性心力衰竭的重要靶点^[63]。白细胞介素 1 (IL-1) 家族在免疫炎症的机制中起着重要的调节作用,其中 IL1B 的产生可以改变内皮的许多功能,从而影响动脉粥样硬化的形成过程,同时还能调节内皮细胞促凝活性的产生导致血栓形成^[64]。白三烯 (LTs) 是一种重要的炎症递质, LTA4H 是白三烯产生通路的重要调节点,表明 LTA4H 能够激活白细胞,促进单核细胞与血管内皮细胞黏附,增加血管的通透性;并且还能促进动脉中膜平滑肌细胞发生增殖和迁移^[65],在 AS 斑块的形成中发挥重要作用。SELE 也是一种血管内皮细胞中的炎症因子,直接参与血管内皮细胞的炎症反应^[66]。

目前认为,AS 是心血管疾病的主要原因,包括心肌梗死、心力衰竭、中风和跛行^[67],AS 的发病机制与炎症密不可分,AS 的形成过程由炎症反应介导^[68]。三七有效成分预测出的靶点中直接参与治疗 AS 的靶点有多个炎症因子,提示 AS 与炎症密切相关,各种炎症因子均可参与 AS 的病变过程,各种细胞(单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞等)均可释放炎症因子。在 Degree 值较高的靶点列表中也有多个与炎症相关的靶点,关键节点中度值最高的靶点 PTGS2 是一类炎症因子,其也在 AS 病变处表达增加,与 AS 的发生、发展及斑块稳定性密切相关^[69]。基质金属蛋白酶 (MMPs) 超家族成员也被发现在人 AS 病变处表达,且出现在斑块破裂时^[69],这些靶点在治疗心血管疾病中发挥重要作用。Cheng 等^[41]研究发现,在 AS 病变的低剪切应力区中,促 AS 炎症介质和 MMPs 活性的表达较高,三七治疗 AS 的靶点分析表明,炎症与 AS 密切相关,三七有效成分群可能是通过直接调控 AS 靶点如: LTA4H、IL1B、SELE 等,间接调控多个炎症靶点进而对 AS 发挥治疗作用。

三七的 KEGG 通路富集分析结果显示,三七通过多条信号通路发挥治疗 AS 作用,如 TNF 通路、NF- κ B 信号通路、类风湿性关节炎通路等,多个信号通路中都有 TNF 参与,表明 TNF 是三七治疗 AS 的关键靶点。肿瘤坏死因子受体 (TNF-R)

的两个亚型 TNF-R₁ 和 TNF-R₂ 可以激活 NF- κ B 信号通路和 PI3K-AKT 信号通路,实现抗病毒、免疫调节和细胞凋亡等生物学功能^[62]。NF- κ B 信号通路是几种炎症性疾病的关键细胞内信号转导系统,并且已经在 AS 的不同阶段建立了 NF- κ B 介导的信号转导的激活,从斑块形成到其不稳定和破裂^[63],同时, NF- κ B 信号通路还涉及血管生成、凋亡和肿瘤的过程^[64]。活化的 NF- κ B 转位到核内与其相关的 DNA 基序结合以诱导靶基因的转录,活化包括前炎症细胞因子,如 TNF、IL-1 及丝裂原等在内的多种信号途径^[65]。另一些通路则显示出三七除了治疗 AS 之外,还通过这些通路发挥治疗其他疾病的作用,类风湿性关节炎的主要病理特征也是炎症细胞浸润并伴持续性滑膜细胞增殖和关节破坏^[66],三七的靶点中多种炎症因子参与并激活类风湿性关节炎通路从而达到治疗类风湿性关节炎的作用。

AS 的形成是一个非常复杂的综合性过程,包括内皮损伤、低密度脂蛋白 (LDL) 氧化修饰、单核细胞黏附、平滑肌细胞增生以及斑块形成后不稳定因素,导致纤维帽破裂,形成血管堵塞、淤滞等情况,是心血管中发病率较高的一种疾病。炎症反应在 AS 中起着重要作用,具体体现在体内血脂水平升高,可改变血液流变性,进而损伤血管内皮细胞,引发炎症反应并使脂质沉积内膜,最终形成斑块^[67-69]。

本研究从网络药理学的角度揭示了三七通过直接和间接作用调控关键靶点发挥治疗 AS 的作用,三七通过靶点 LTA4H、ALOX5、MMP3、PLAU、TNF、IL1B、SELE、MPO、RXRA 直接对 AS 发挥治疗作用,同时间接通过调控关键炎症因子,进而调节炎症因子的信号通路,从而在炎症相关疾病如 AS 中发挥治疗作用。

参考文献

- [1] WANG T, GUO R, ZHOU G, et al. Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 188: 234-258. doi: 10.1016/j.jep.2016.05.005.
- [2] 夏鹏国, 张顺仓, 梁宗锁, 等. 三七化学成分的研究历程和概况 [J]. *中草药*, 2014, 45(17): 2564-2570.
- [3] 刘桂林, 窦迎春, 乔云. 三七总皂苷对动脉粥样硬化血管内皮的保护作用 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(9): 1094-1096.

- [4] 李韬,曲德英,雷波,等.三七粉对家兔实验性动脉粥样硬化的影响[J].中医研究,2006,19(1):17-19.
- [5] 彭磊,杜卫甫,姚淮芳.复方三七颗粒抗动脉粥样硬化实验研究[J].山西中医,2013,29(12):40-42.
- [6] 顾新梅,姚淮芳.复方三七颗粒对动脉粥样硬化血管平滑肌细胞凋亡及 Bcl-2/Bax 蛋白表达的影响[J].中医药临床杂志,2014,26(6):602-605.
- [7] 王永华,裴梦婕,黄超,等.一种中药系统药理学分析平台及分析方法:CN103093108A[P].2013-05-08.
- [8] LI YH, LI YY, FAN GW, et al. Cardioprotection of ginsenoside Rb1 against ischemia/reperfusion injury is associated with mitochondrial permeability transition pore opening inhibition[J].Chin J Integr Med,2016.
- [9] GUAN YY, ZHOU JG, ZHANG Z, et al. Ginsenoside-Rd from panax notoginseng blocks Ca^{2+} influx through receptor- and store-operated Ca^{2+} channels in vascular smooth muscle cells[J].Eur J Pharmacol, 2006, 548(1-3):129-136.
- [10] JIA C, XIONG M, WANG P, et al. Notoginsenoside R1 attenuates atherosclerotic lesions in ApoE deficient mouse model[J].PLoS One,2014,9(6):e99849.
- [11] 吴颖.三七皂苷 R1 对 LPS 诱导的小鼠心肌损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2013,29(2):179-184.
- [12] 姚瑶.基于系统药理学的中药复方配伍及作用机制研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2014:9.
- [13] RHULE A, NAVARRO S, SMITH JR, et al. Panax notoginseng attenuates LPS-induced pro-inflammatory mediators in RAW264.7 cells[J].J Ethnopharmacol, 2006, 106(1):121-128.
- [14] HOPKINS AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J].Nat Chem Biol,2008,4(11):682-690.
- [15] JAIN B, RAJ U, VARADWAJ PK. Drug target interplay: a network-based analysis of human diseases and the drug targets[J].Curr Top Med Chem, 2018, 18(13):1053-1061.
- [16] 李梢.基于生物网络调控的方剂研究模式与实践[J].中西医结合学报,2007,5(5):489-493.
- [17] 李梢.网络靶标:中药方剂网络药理学研究的一个切入点[J].中国中药杂志,2011,36(15):2017-2020.
- [18] 刘龙忠.中药三七在临床中的应用[J].现代医药卫生,2006,22(6):884.
- [19] 吴娟.三七皂苷元化合物在制备治疗癌症药物中的应用:CN103271929A[P].江苏:2013-09-04.
- [20] 易辉.三七提取液对阿尔茨海默病模型小鼠的保护作用研究[J].中国药房,2011,22(39):3667-3668.
- [21] 周慧,邓时慧,谷德祥.炎症与动脉粥样硬化的关系[J].中国医药指南,2008,6(9):61-63.
- [22] 李婧楠,张艳.动脉粥样硬化危险因素与中医病机研究[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(1):132-133.
- [23] JIANG QF, HUANG MY, WU KY, et al. Intervention effects of atorvastatin combined with panax notoginseng saponins on rats with atherosclerosis complicated with hepatic injury[J].Pharmacogn Mag, 2017, 13(51):430-438.
- [24] 曾紫凡,任莹璐,王勇,等.基于网络药理学预测丹参干预心力衰竭的作用机制研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(10):1353-1358.
- [25] RAUF A, IMRAN M, KHAN IA, et al. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review[J].Phytother Res,2018,32(11):2109-2130.
- [26] DAUBNEY J, BONNER PL, HARGREAVES AJ, et al. Cardioprotective and cardiotoxic effects of quercetin and two of its in vivo metabolites on differentiated h9c2 cardiomyocytes[J].Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2015, 116(2):96-109.
- [27] 孙涓,余世春.槲皮素的研究进展[J].现代中药研究与实践,2011,25(3):85-88.
- [28] 吴扬,顾玉梅.银杏叶提取物和槲皮素对心肌细胞肥大的防治作用及其机制[J].中国应用生理学杂志,2007,23(2):138-142.
- [29] LEE AY, PARK W, KANG TW, et al. Network pharmacology-based prediction of active compounds and molecular targets in Yijin-tang acting on hyperlipidaemia and atherosclerosis[J].J Ethnopharmacol, 2018, 221:151-159. doi: 10.1016/j.jep.2018.04.027.
- [30] ZHOU X, RAZMOVSKI-NAUMOVSKI V, CHANG D, et al. Synergistic effects of Danshen (Salvia Miltiorrhiza Radix et Rhizoma) and Sanqi (Notoginseng Radix et Rhizoma) combination in inhibiting inflammation mediators in RAW264.7 Cells[J].Biomed Res Int, 2016:5758195. doi: 10.1155/2016/5758195.
- [31] 姚倩倩,周畅,刘丽君,等.ALOX5AP 基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死相关性[J].青岛大学医学院学报,2013,49(6):471-475.
- [32] ZHANG Y, YANG X, BIAN F, et al. TNF- α promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: Crosstalk between NF- κ B and PPAR- γ [J].J Mol Cell Cardiol, 2014, 7(72):85-94. doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.02.012.
- [33] 曾紫凡,任莹璐,王勇,等.基于网络药理学预测丹参干预心力衰竭的作用机制研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(10):1353-1358.
- [34] 杨天.冠心病发病危险因素及炎症基因变异与疾病预后的关联研究[D].南京:东南大学,2015:14.
- [35] LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis[J].Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32:2045-2051. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.179705.
- [36] CAI G, ZHANG B, WENG W, et al. E-Selectin gene pol-

- ymorphisms and essential hypertension in Asian population: An updated meta-analysis [J]. PLoS One, 2014, 9 (7): e102058.
- [7] FROSTEGÅ J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. BMC Med, 2013, 11: 117. doi: 10.1186/11741-7015-11-117.
- [8] 王楠, 万建波, 李铭源, 等. 三七治疗动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中草药, 2008, 39(5): 787-790.
- [9] 冯月英, 李月华. 环氧合酶与动脉粥样硬化斑块稳定性 [J]. 中国组织工程研究, 2006, 10(44): 124-126.
- [10] CIPOLLONE F, PRONTERA C, PINI B, et al. Overexpression of functionally coupled cyclooxygenase-2 and prostaglandin E synthase in symptomatic atherosclerotic plaques as a basis of prostaglandin E₂-dependent plaque instability [J]. Circulation, 2001, 104(8): 921-927.
- [11] CHENG C, TEMPEL D, VAN HAPEREN R, et al. Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress [J]. Circulation, 2006, 113(23): 2744-2753.
- [12] 王文珊, 傅冷西, 叶君健. TNF- α 信号传导通路的研究进展 [J]. 福建医科大学学报, 2005, 39(增刊): 27-31.
- [13] PATERAS I, GIAGINIS C, TSIGRIS C, et al. NF- κ B signaling at the crossroads of inflammation and atherosclerosis: searching for new therapeutic links [J]. Expert Opin Ther Targets, 2014, 18(9): 1089-1101.
- [14] PAMUKCU B, LIP GY, SHANTSILA E. The nuclear factor-kappa B pathway in atherosclerosis: A potential therapeutic target for atherothrombotic vascular disease [J]. Thromb Res, 2011, 128(2): 117-123.
- [15] 徐艳杰, 程晓曙. 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇代谢与动脉粥样硬化 [J]. 基础医学与临床, 2013, 33(2): 235-238.
- [16] BOISSIER MC, SEMERANO L, CHALLAL S, et al. Rheumatoid arthritis: From autoimmunity to synovitis and joint destruction [J]. J Autoimmun, 2012, 39(3): 222-228.
- [17] NELSON RH. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease [J]. Prim Care, 2013, 40(1): 195-211.
- [18] SIASOS G, TOUSOULIS D, OIKONOMOU E, et al. Inflammatory markers in hyperlipidemia: from experimental models to clinical practice [J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(37): 4132-4146.

Study on the Action Mechanism of Sanqi (*Radix Notoginseng*) in Treating Atherosclerosis Based on Network Pharmacology

CHEN Yiwei, WANG Jun, ZHAO Kun, ZHAO Guangyao, JIANG Wenwen

(School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025)

ABSTRACT Objective To explore the action mechanism of Sanqi (*Radix Notoginseng*) in treating atherosclerosis. **Methods** Based on Traditional Chinese Medicine Systematic Pharmacology (TCMSP) database, oral bioavailability (OB) $\geq 30\%$, drug likeness (DL) ≥ 0.18 , cell permeability (Caco-2) ≥ -0.4 were taken as screening condition. Combined with the literature, the effective active ingredients of *Radix Notoginseng* was obtained. The target of active ingredients and related diseases were extracted through PharmMapper database. All targets of atherosclerosis were collected in OMIM, TTD, Drugbank and other databases. An active “ingredients-disease-target” network map was constructed, and was verified with the selected targets. The DAVID database was used for GO analysis and KEGG pathway enrichment analysis of the key targets. **Results** Totally 11 active components such as ginsenoside rh2, quercetin and β -sitosterol were screened by network pharmacology to act on 92 targets and 269 related diseases. Nine targets for direct treatment of atherosclerosis were leukotriene A4 hydrolase (LTA4H), arachidonic acid 5 lipoxygenase (ALOX5), matrix metalloproteinase 3 (MMP3), urokinase-type fibrinolysis Proenzyme activator (PLAU), tumor necrosis factor (TNF), interleukin 1 β (IL1B), human E-selectin (SELE), myeloperoxidase (MPO), retinol X receptor alpha (RXRA). GO analysis showed that biological processes were closely related to inflammation, including leukotriene metabolism and synthesis, and regulation of I- κ B kinase/NF- κ B signaling. KEGG analysis revealed multiple functions and signaling pathways associated with atherosclerosis. **Conclusion** The active constituents of *Radix Notoginseng* can directly regulate atherosclerosis-related targets, indirectly regulate key inflammatory factors, and then regulate inflammatory factor-related NF- κ B signaling pathways and TNF signaling pathways to play a role in the treatment of atherosclerosis.

Keywords *Radix Notoginseng*; atherosclerosis; network pharmacology; active ingredients; action targets; signaling pathway

(收稿日期: 2019-01-12; 修回日期: 2019-06-23)

编辑: 王利菊