

基于网络药理学探讨康妇炎胶囊治疗盆腔炎的分子作用机制[△]

赵静霞^{1*},高宏杰^{2#},贡磊磊³,李君¹(1.中国中医科学院西苑医院麻醉科,北京 100091;2.中国中医科学院中药信息研究所,北京 100700;3.首都医科大学附属北京妇产医院药事部,北京 100026)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)05-0567-06

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.05.014

摘要 目的:借助网络药理学方法探讨康妇炎胶囊治疗盆腔炎(pelvic inflammatory disease,PID)的药效物质基础及其分子机制。方法:通过中药系统药理学数据库与分析平台和中药分子机制生物信息学分析工具数据库收集相应的化学成分及相关药物和疾病靶标,分析这些靶标之间的相互作用关系,构建核心靶标网络,并对核心靶标进行生物信息学分析,最后建立康妇炎胶囊11味中药-成分-靶标-通路网络。结果:经筛选获得康妇炎胶囊中的249种成分,共涉及460个关键靶标。对前150个核心靶标分析结果显示,这些核心靶标可能通过影响肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、PI3K-Akt信号通路、趋化因子信号通路以及T细胞受体信号通路等炎症信号通路参与康妇炎胶囊治疗PID的过程,其中神经型一氧化氮合酶(NOS₁)、CC趋化因子2(CCL2)、SRY相关高迁移率组蛋白9(Sox9)和前列腺素内过氧化物合酶(PTGS2)等4个重要的炎症介质可能是康妇炎胶囊治疗PID的重要靶标。结论:本研究为康妇炎胶囊治疗PID提供了理论依据,也为下一步体内外实验以及临床研究提供了重要参考。

关键词 网络药理学;康妇炎胶囊;盆腔炎;分子机制

Molecular Mechanism of Kangfuyan Capsules in the Treatment of Pelvic Inflammatory Disease Based on Network Pharmacology[△]

ZHAO Jingxia¹, GAO Hongjie², GONG Leilei³, LI Jun¹(1. Dept. of Anesthesiology, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2. Institution of Information on Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Dept. of Pharmacy, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100026, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To analyze the pharmacodynamic material basis and molecular mechanism of Kangfuyan capsules in the treatment of pelvic inflammatory disease (PID) based on network pharmacology. **METHODS:** The corresponding chemical components and related drug and disease targets were collected through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and Bio-informatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine (BATMAN-TCM) database, the interaction relationships between these targets were analyzed, the core target network was constructed, and the bioinformatics analysis of the core target was performed, and finally the herbal-component-target-pathway network of 11 kinds of ingredients of Kangfuyan capsules was established. **RESULTS:** Totally 249 kinds of components were screened out from Kangfuyan capsules, involving 460 key targets. The analysis on the former 150 core targets indicated that these core targets may participate in the treatment of PID by Kangfuyan capsules through influencing inflammatory signaling pathways including TNF signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, chemokine signaling pathway and T cell receptor signaling pathway, among which the four important inflammatory mediators of NOS₁, CCL2, Sox9 and PTGS2 may be the important targets of Kangfuyan capsules in the treatment of PID. **CONCLUSIONS:** This study provides a theoretical basis for the treatment of PID with Kangfuyan capsules, an important reference for the next in vivo and ex vivo experiments as well as clinical studies.

KEYWORDS Network pharmacology; Kangfuyan capsules; Pelvic inflammatory; Molecular mechanism

[△] 基金项目:中国中医科学院西苑医院课题(No. 2019XYMP-35);中国中医科学院课题(No. ZZ140313)

* 主治医师。研究方向:围术期中西医结合。E-mail:591385982@qq.com

通信作者:副研究员。研究方向:中医药信息学。E-mail:39290429@qq.com

盆腔炎 (pelvic inflammatory disease, PID) 是指女性上生殖道 (子宫内 膜、输卵管、卵巢或盆腔腹膜) 感染引起的炎症, 是一种具有严重生殖后遗症的女性生殖道疾病^[1]。2013—2014 年美国国家健康与营养调查结果显示, 250 万 18~44 岁女性获得过 PID 诊断^[2]; 2004 年, 由北京大学第一医院牵头组织的全国 14 家医院的调查结果显示, 妇科门诊就诊患者中, PID 患病率约为 10.1%^[3]。PID 是育龄女性的常见病、多发病, 若未得到及时、积极、正确诊疗, 可引起输卵管囊肿、肝周围炎等近期后遗症和不孕症、异位妊娠、慢性盆腔炎及 PID 反复发作等远期后遗症, 严重影响女性健康及生活质量, 增加家庭和社会负担。PID 的治疗主要以广谱、经验性抗菌药物治疗为主, 必要时进行手术治疗^[4-6]。但临床上在治疗 PID 时, 存在抗菌药物应用不当、治疗疗程不够以及滥用抗菌药物等问题, 使得常规西药治疗存在一定的局限性。中药治疗 PID 疗效确切、不良反应小, 具有独特的优势^[7]。

根据临床表现, PID 属于中医学中“热入血室”“妇人腹痛”及“带下病”等范畴, 其病机为湿热之邪趁虚入体, 与冲任之气血相搏, 瘀滞胞宫, 或积郁肝经, 致气滞血瘀, 久则成癥, 而瘀阻冲任胞脉, 不通则痛^[8]。康妇炎胶囊是由蒲公英、败酱草、薏苡仁、赤芍、苍术、当归、川芎、香附、延胡索、泽泻和白花蛇舌草 11 味中药组成的复方制剂, 具有清热解毒、化瘀行滞和除湿止带的功效, 针对 PID, 药证相符, 临床疗效确切^[7]。梁旭东等^[9]的研究纳入了 438 例 PID 患者, 随机观察不同治疗方案的疗效, 发现康妇炎胶囊联合抗菌药物治疗 PID 的疗效显著, 且安全可靠。蔡竞等^[10]发现, 康妇炎胶囊可通过下调 PID 免前炎症细胞因子 [白细胞介素 (IL) 8] 和腹腔粘连相关细胞因子转化生长因子 β (TGF- β) 的表达, 并提高抗炎因子 (IL-4、IL-10) 的表达, 调整致炎和抗炎的动态平衡, 促使 PID 性疾病的康复。何延浩等^[11]建立了大鼠 PID 后遗症模型, 发现康妇炎胶囊能够减轻 PID 模型大鼠的子宫炎症, 提高模型大鼠的脏器指数及腹腔巨噬细胞的吞噬功能, 调整大鼠机体免疫能力, 从而改善大鼠 PID 后遗症。目前, 关于康妇炎胶囊治疗 PID 多集中于临床及药效学研究, 其治疗 PID 的分子机制尚无文献报道。本研究运用网络药理学方法预测康妇炎胶囊治疗 PID 的活性成分及其作用靶点, 为进一步的体内试验和临床应用提供依据。

1 资料与方法

1.1 康妇炎胶囊化学成分来源

基于中药分子机制生物信息学分析工具 (bio-informatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine, BATMAN-TCM) (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 和中药系统药理学数据库与分析平台 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP) (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 数据库, 分别检索蒲公英、败酱草、薏苡仁、赤芍、苍术、当归、川芎、香附、延胡索、泽泻和白花蛇舌草等 11 味中药的所有化学成分, 建立康妇炎胶囊化学成分库。

1.2 康妇炎胶囊靶点预测和 PID 靶标收集

基于 BATMAN-TCM ([http://bionet.ncpsb.org/batman-](http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/)

[tcm/](http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/)) 数据库, 收集 11 味中药化学成分潜在的靶点, 合并所有靶点并去重, 建立康妇炎胶囊候选靶标库。在人类孟德尔遗传综合数据库 (online mendelian inheritance in man, OMIM) (<http://www.omim.org/>) 中, 以“pelvic inflammatory disease”“pelvic infection”为关键词, 对 PID 疾病靶标进行检测, 对收集的靶标去重, 采用 DAVID 6.7 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对靶点进行标准化, 建立 PID 靶标库。

1.3 康妇炎胶囊药物靶标与 PID 靶标核心网络构建、核心靶标功能及通路分析

基于 String 10.5 数据库 (<http://string-db.org>), 提取康妇炎胶囊候选靶标与 PID 相关靶标相互作用信息, 设置蛋白种类为“homo sapiens”, 最高置信度参数评分 > 0.4, 其他参数不变。对参数“degree”“betweenness”和“neighborhood”进行分析, 取值方式为“degree” > 中位数, 进一步计算“betweenness”和“neighborhood”, 取满足 3 个拓扑结构特征值均 > 中位数的节点的靶标与其相互作用关系导入 Cytoscape 3.5.1 软件构建康妇炎胶囊成分靶标及 PID 靶标核心网络, 并将这些核心靶标导入 DAVID 6.7 数据库, 采用基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析 (<http://www.genome.jp/kegg/>) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析 (<http://www.geneontology.org> <http://www.genome.jp/kegg/>) 分别对核心网络靶标进行分析。

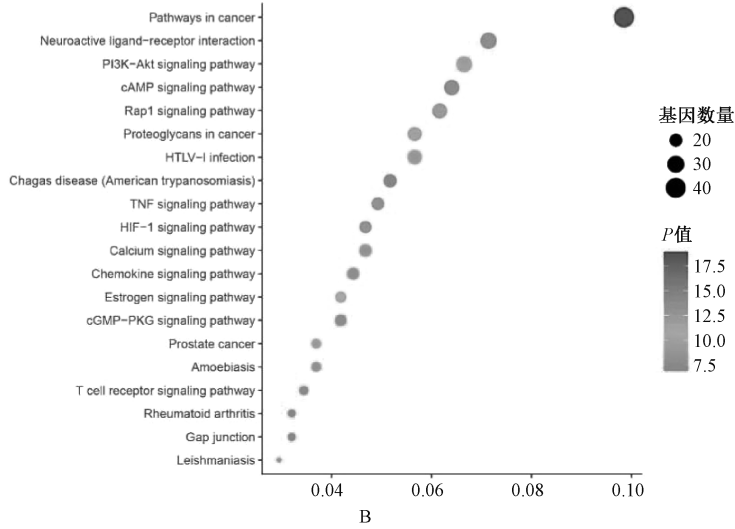
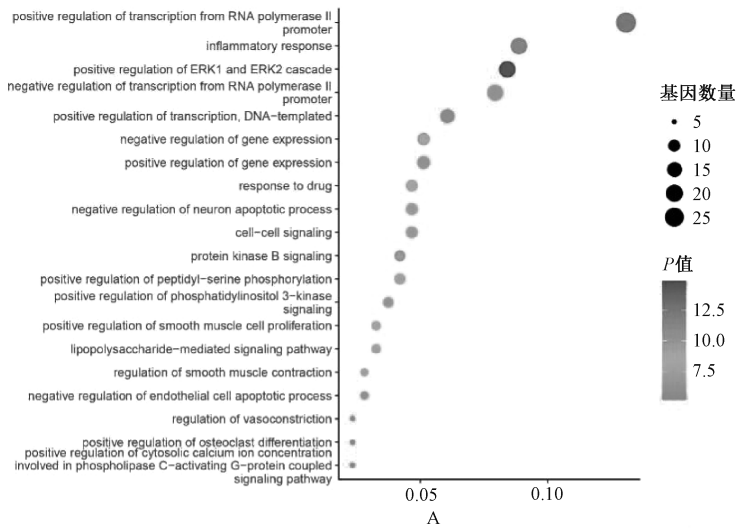
2 结果

2.1 康妇炎胶囊化学成分及其靶标预测

经过 BATMAN-TCM 数据库, 筛选整理获得康妇炎胶囊中 11 味中药的化学成分共 249 个, 预测靶标 1 594 个, 其中蒲公英化学成分 4 个, 预测靶标 89 个; 败酱草化学成分 17 个, 预测靶标 265 个; 薏苡仁化学成分 3 个, 预测靶标 48 个; 赤芍化学成分 9 个, 预测靶标 50 个; 苍术化学成分 15 个, 预测靶标 314 个; 当归 81 个成分, 预测靶标 1 185 个; 川芎 84 个, 预测靶标 946 个; 香附 12 个, 预测靶标 450 个; 延胡索 35 个, 预测靶标 563 个; 泽泻 14 个, 预测靶标 168 个; 白花蛇舌草 4 个, 预测靶标 165 个。其中 29 个成分重复, 这些药物中的靶标之间有所重合 (见表 1)。蔡少青等^[12]认为, 中药不同化学成分可通过相继与靶标分子结合, 形成叠加效应, 共同发挥作用。对上述靶标合并去重后, 共获得 1 594 个靶标。

2.2 康妇炎胶囊治疗 PID 核心靶标网络分析

通过 OMIM 数据库, 收集 PID 相关靶标, 经过 DAVID 数据库标准化, 去重后共获得 94 个靶标。基于 STRING 数据库中的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 数据库, 构建康妇炎胶囊潜在靶标与疾病靶标之间的相互作用网络。根据“degree” > 中位数为节点, 以此为标准, 筛选“degree”“betweenness centrality”和“neighborhood centrality”3 个拓扑结构特征值均 > 中位数的节点为关键靶标网络, 根据以上条件筛选出关键靶标 460 个, 根据“degree”显示前 150 个靶标, 见图 1。图中, 节点大小与“degree”呈正相关, 其中康妇炎胶囊化学成分靶标 143 个, PID 疾病靶标 11 个, 药物靶标和疾病靶标共 4 个。共有靶标有神经型一氧化氮合酶 (NOS₁)、CC 趋化因子 2 (CCL2)、SRY 相关高迁移率组



A. GO 功能富集分析; B. KEGG 通路富集分析

A. GO functional enrichment analysis; B. KEGG pathway enrichment analysis

图 2 康妇炎胶囊治疗 PID 关键靶标基因功能分析

Fig 2 Gene function analysis on key targets of Kangfuyan capsules in the treatment of PID

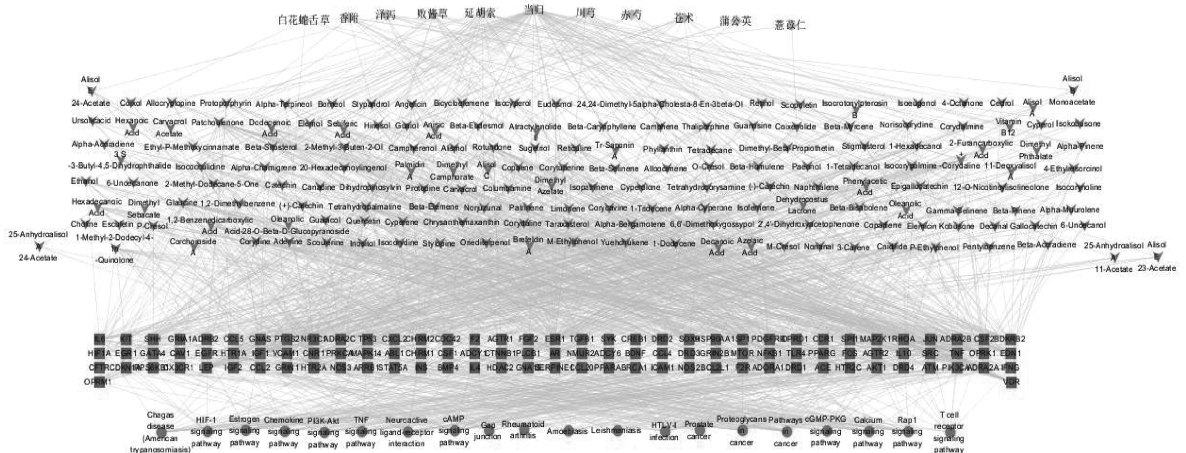


图 3 康妇炎胶囊“药材-成分-靶标-通路”网络图

Fig 3 Network diagram of "herb-compounds-target-pathway" of Kangfuyan capsule

过 COX-2、细胞外调节蛋白激酶 2 (ERK2)、蛋白激酶 C (PKC)、Janus 激酶 1 (JAK1)、JAK2、JAK3 及 NF- κ B 抑制蛋白激酶 β (IKK β)、TNF- α , 阻碍炎症信号传递^[24]。香附中的 Alpha-Cyperone 同样能够抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症因子 COX-2 和 IL-6, 其作用机制可能通过调控 NF- κ B 有关^[25]。延胡索中的黄连碱、小檗碱、巴马汀、二氢血根碱和去氢紫堇碱可通过影响 PI3K、JAK、PKC、ERK、IKK β 及 TNF- α 所在信号通路发挥抗炎作用^[26]。泽泻中的泽泻总三萜具有良好的抗炎作用^[27]。白花蛇舌草也是治疗 PID 的佳品^[28]。康妇炎胶囊中 11 味药材所含的成分可能通过影响 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、趋化因子信号通路和 T 细胞受体信号通路等通路中的靶标 IL-6、MAPK14、TNF、NF- κ B1、PTGS2、CCL2 及 NOS3 改善炎症反应。

3 讨论

PID 多因产后、剖宫产后、流产后以及妇科手术后细菌进入创面感染而致, 近年来, 多由下生殖道的性传播疾病 (sexually transmitted diseases, STD) 上行感染至上生殖道而造成。PID 多数以疼痛为主要表现。目前, 单用抗菌药物治疗的用药时间长, 日后容易迁延, 而配合清热解毒、理气活血的中药口服治疗, 可提高 PID 的治愈率。此外, PID 后遗症有组织破坏、粘连、增生及瘢痕。采用中医活血化瘀的方法治疗, 有助于恢复破坏组织、松解粘连、缓解增生及瘢痕形成。中药复方制剂康妇炎胶囊具有清热解毒、化瘀行滞和除湿止带的功效, 能够有效治疗 PID 和缓解 PID 后遗症。但其作用机制尚未阐明, 本研究采用网络药理学方法, 结合国内外专业数据平台和分析软件, 分析了康妇炎胶囊治疗 PID 的潜在靶标, 并对关键靶标进行了生物信息学分析, 构建了康妇炎胶囊治疗 PID 的多维网络图。

康妇炎胶囊是由蒲公英、败酱草、薏苡仁及赤芍等 11 味中药组成, 通过相关数据获得 249 种成分, 上述成分潜在的靶标有 1 594 个, 其中一些成分可能是康妇炎胶囊中的质量标志物, 通过与相应靶标相结合发挥抗炎作用, 从而改善 PID 及其后遗症^[29]。PID 疾病靶标收集结果显示, PID 发病机制中 94 个靶标可能通过直接或间接作用影响 PID 的发生发展过程。中药的化学实体与生命体分子网络的交互作用是中药治疗疾病的重要方式^[30]。在这些药物靶标和疾病靶标中, NOS₁、CCL2、Sox9 和 PTGS2 靶标是药物和疾病共有靶标, 这 4 个靶标均为炎症的重要介质, 在 PID 或炎症性疾病中发挥重要作用, 因此, 其可能在康妇炎胶囊治疗 PID 中发挥主导作用。进一步的生物信息学分析结果显示, 药物和疾病组成的核心靶标参与了炎症反应、LPS 介导的信号通路、ERK1 和 ERK2 级联的正向调控、PI3K 信号的正向调控等生物学过程, 其中 LPS 通过识别细胞膜上的 TLR4 受体诱发炎症反应过程^[31]。此外, 这些核心靶标参与 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、趋化因子信号通路及 T 细胞受体信号通路等炎症信号通路, 表明康妇炎胶囊可能通过干预上述通路中的核心靶标参与了 PID 及其后遗症的治疗。中药-成分-靶标-通路分析结果显示, 康妇炎胶囊

中的成分不仅可以通过影响 NOS₁、CCL2、Sox9 和 PTGS2 靶标发挥药效, 还可以通过干预 TNF 信号通路、趋化因子信号通路及 T 细胞受体信号通路等通路中的 IL-6、MAPK14、TNF、NF- κ B1 及 NOS3 等靶标参与 PID 的治疗过程。

本研究通过网络药理学方法, 建立了康妇炎胶囊中 11 味中药的中药-成分-靶标 (药物和疾病)-通路网络, 显示了中药多成分与靶标之间的关联, 并且明确了康妇炎胶囊药效物质及其发挥治疗 PID 的分子机制, 为康妇炎胶囊治疗 PID 及其后遗症提供了临床依据, 也为进一步的体内外试验提供了重要参考。

参考文献

- [1] Brunham RC, Gottlieb SL, Paavonen J. Pelvic Inflammatory Disease [J]. N Engl J Med, 2015, 372(21):2039-2048.
- [2] Kerisel K, Torrone E, Bernstein K, et al. Prevalence of Pelvic Inflammatory Disease in Sexually Experienced Women of Reproductive Age-United States, 2013-2014 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2017, 66(3):80-83.
- [3] 吴文湘, 廖秦平. 盆腔炎性疾病的流行病学 [J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(10):721-723.
- [4] Savaris RF, Fuhrich DG, Duarte RV, et al. Antibiotic therapy for pelvic inflammatory disease [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 4(4):CD010285.
- [5] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 盆腔炎症性疾病诊治规范 (修订版) [J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(6):401-403.
- [6] 米兰, 刘朝晖. 盆腔炎症性疾病后遗症 [J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(10):731-733.
- [7] 马堃, 罗颂平, 李敏, 等. 中医药防治盆腔炎症性疾病优势与证据研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(8):1449-1454.
- [8] 金哲. 盆腔炎症性疾病的中医药治疗 [J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(10):733-735.
- [9] 梁旭东, 张静, 王建六, 等. 康妇炎胶囊治疗盆腔炎症性疾病的临床观察 [J]. 使用妇产科杂志, 2013, 29(4):274-277.
- [10] 蔡竞, 贺丰杰, 朱虹丽, 等. 康妇炎胶囊对兔盆腔炎症性疾病后遗症炎症因子影响的实验研究 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 16(4):347-350.
- [11] 何延浩, 李冀红, 肖云芳, 等. 康妇炎胶囊治疗大鼠盆腔炎症性疾病后遗症的实验研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(12):1139-1142.
- [12] 蔡少青, 王璇, 尚明英, 等. 中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17):3435-3443.
- [13] Srivastava M, Baig MS. NOS1 mediates AP1 nuclear translocation and inflammatory response [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102:839-847.
- [14] Hsiao PC, Wang PH, Tee YT, et al. Significantly Elevated Concentration of Plasma Monocyte Chemotactic Protein 1 of Patients with Pelvic Inflammatory Disease [J]. Reprod Sci, 2010, 17(6):549-555.
- [15] Desireddi NV, Campbell PL, Stern JA, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1 α as possible biomarkers for the chronic pelvic pain syndrome [J]. J Urol, 2008, 179(5):1857-1861.

(下转第 576 页)