

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.16.012

基于网络药理学探讨鼻渊软胶囊治疗过敏性鼻炎作用机制

周 珊, 刘向荣, 范秀珍

(邵阳学院附属第一医院药剂科, 湖南 邵阳 422000)

摘要:目的 为鼻渊软胶囊治疗过敏性鼻炎提供参考。方法 通过中草药系统药理学平台(TCMSP)数据库获得并筛选鼻渊软胶囊中各味中药的活性成分,将筛选后的成分导入 Swiss Target Prediction 数据库,预测活性成分的潜在靶点;通过疾病数据库 GeneCards 检索过敏性鼻炎相关靶点,以上述预测的活性成分潜在靶点和过敏性鼻炎相关靶点绘制韦恩(Venn)图,获得共同靶点作为鼻渊软胶囊干预过敏性鼻炎的核心靶点,将核心靶点导入 String 数据库构建核心靶点蛋白相互作用(PPI)网络并进行分析。利用 DAVID 数据库进行基因本体论(GO)富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集,分析鼻渊软胶囊治疗过敏性鼻炎的作用机制。结果 筛选出鼻渊软胶囊 40 个活性成分,共预测 244 个潜在靶点;找到和过敏性鼻炎相关靶点 52 个,涉及的通路包括炎症通路、氧化应激通路。结论 鼻渊软胶囊可能通过炎症通路、氧化应激通路干预过敏性鼻炎。该研究可为阐明鼻渊软胶囊的药理活性及其作用机制提供参考。

关键词:过敏性鼻炎;鼻渊软胶囊;网络药理学;作用机制

中图分类号:R932;R285.5

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)16-0044-05

Mechanism of Biyuan Soft-Capsules in the Treatment of Allergic Rhinitis Based on Network Pharmacology

ZHOU Shan, LIU Xiangrong, FAN Xiuzhen

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Shaoyang College, Shaoyang, Hunan, China 422000)

Abstract: Objective To provide a reference for Biyuan Soft-Capsules in the treatment of allergic rhinitis. **Methods** The active ingredients of each traditional Chinese medicine in Biyuan Soft-Capsules were obtained and screened through Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform(TCMSP), the screened ingredients were imported into the Swiss Target Prediction database, the potential targets of active ingredients were predicted. The targets related to allergic rhinitis were searched through GeneCards. The above predicted potential targets of active ingredients and allergic rhinitis-related targets were drawn into Venn diagram, and the obtained common targets were used as the core targets of Biyuan Soft-Capsules in the intervention of allergic rhinitis. The core targets were imported into the String database to construct the protein-protein interaction(PPI) network of the core targets. Gene Ontology(GO) enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) pathway enrichment were performed by using the David database. The mechanism of Biyuan Soft-Capsules in the treatment of allergic rhinitis was analyzed. **Results** A total of 40 active ingredients of Biyuan Soft-Capsules were screened out and 244 potential targets were predicted. A total of 52 targets related to allergic rhinitis were identified, and the pathways involved in these key targets included inflammatory pathways and oxidative stress pathways. **Conclusion** Biyuan Soft-Capsules may interfere with allergic rhinitis through inflammation pathway and oxidative stress pathway, which can provide a reference for elucidating the pharmacological activity and mechanism of the Biyuan Soft-Capsules.

Key words: allergic rhinitis; Biyuan Soft-Capsules; network pharmacology; mechanism

过敏性鼻炎(AR)是临床常见耳鼻喉科变应性疾病,发病率较高,临床表现为反复发作的鼻腔瘙痒、流鼻涕、喷嚏阵发性发作、鼻塞声重等症状^[1-3],临床多使用抗组胺药治疗,但会产生中枢抑制作用,长期用药疗效欠佳,且副作用较多。鼻渊软胶囊可用于 AR 及鼻窦炎的治疗,现代临床研究显示,其可有效改善 AR 患者机体的组胺水平,减轻炎症应激反应。由于中药的多成分特性^[4-6],目前关于其作用机制鲜有研究。近年来兴起的网络药理学为阐明中药复方作用机制提供了思路,其融合了药理学、系统生物学、计算生物学等多学科,从多靶点的研究策略出发将药物-靶点网络与生物系统网络相结合,强调多个成分对信号通路的多途径调节,这与

中药多成分-多靶点的特点不谋而合^[7-9]。本研究中基于网络药理学方法探讨了鼻渊软胶囊干预 AR 可能的作用机制,为该药进一步应用于临床提供依据。现报道如下。

1 研究方法

1.1 有效成分筛选

通过中草药系统药理学平台(TCMSP)(<http://tcmspw.com/tcmsp.php>)捕捉药物、靶标与疾病间可能存在的关系。数据库包括 499 味中草药与每味中草药的化合物约 29 000 个。以鼻渊软胶囊各个单味药为关键词,在 TCMSP 上检索其化学成分。鼻渊软胶囊为口服制剂,服用后需经吸收、分布、代谢、排泄(ADME),故可根据化合物的类药性(DL)、口服生物利用度(OB)、血脑

第一作者:周珊,女,大学本科,副主任药师,研究方向为临床药学,(电子信箱)loxzzp@163.com。

屏障(BBB)、半衰期(HL)快速筛选出可能的活性成分,借助 TCMS 平台,将 $DL \geq 0.18$, $OB \geq 30$, $BBB \geq -0.3$, $HL \geq 4h$ 作为筛选 5 味药有机小分子活性成分的重要指标。

1.2 潜在靶点预测及化合物-潜在靶点网络构建

将筛选出的潜在活性成分在有机小分子数据库 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载其 Smile 格式文件,将转化好的格式文件导入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>),选择限定物种为 Homo sapiens。运行后获得其潜在靶点,通过 P 值选取其潜在靶点。将获得的潜在靶点名称导入 Uniport(<https://www.uniprot.org/>)数据库获得其 official name。

1.3 AR 相关靶标筛选

通过检索 GeneCards(www.genecards.org)/OMIM(<http://www.omim.org/>), TTD(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>), CTD(<http://ctdbase.org/>)等数据库,将“过敏性鼻炎”“allergic rhinitis”作为检索关键词,通过 P 值和靶点得分筛选高分靶点,作为与 AR 相关的疾病靶点。

1.4 活性成分-潜在靶点网络和 AR 疾病核心靶点蛋白相互作用网络(PPI)构建

通过构建蛋白相互作用网络,有助于从生物化学、信号转导等系统的角度诠释治疗疾病分子调控机制。将 1.3 项下收集的鼻渊软胶囊活性成分潜在靶点和 AR 疾

病靶点上传至韦恩图在线绘图软件 Venny 2.1(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>),获取其潜在靶点和疾病靶点的交集靶点,将重合的靶点作为鼻渊软胶囊干预 AR 的核心靶点,将其导入 String(<https://string-db.org/>),得到交集靶点蛋白相互作用网络。将结果导入 Cytoscape 3.7.1 软件,构建鼻渊软胶囊活性成分-潜在靶点网络和 AR PPI。

1.5 核心靶点基因本体论(GO)及京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集

将鼻渊软胶囊干预的 AR 核心靶点导入 DAVID 数据库,限定物种为“Homo sapiens”,DAVID 数据库可将生物信息资源融为一体,综合阐述蛋白或基因的生物学功能。对核心靶点进行 GO 富集和 KEGG 通路分析,其中 GO 富集包括分子功能、生物过程、细胞组成三部分,设定阈值 $P < 0.05$,保存结果,并按涉及的靶点数目多少进行排序,筛选排名靠前的生物过程或通路,选取排名前 20 的 GO 富集结果及 KEGG 通路富集结果,采用 Python 软件对结果进行可视化分析,总结鼻渊软胶囊调节 AR 可能的作用机制,并构建化合物-核心靶点-通路图。

2 结果

2.1 活性成分筛选

共收集到 40 个化学成分,其中苍耳子 6 个、金银花 8 个、野菊花 4 个、辛夷 12 个、茜草 10 个,详见表 1 (因篇幅有限,省去 Molecule Name)。

表 1 鼻渊软胶囊中活性成分筛选结果

Tab.1 Results of screening active ingredients of Biyuan Soft-Capsules

Mol ID	MW	OB(%)	BBB	DL	HL	归属	Mol ID	MW	OB(%)	BBB	DL	HL	归属
Mol 011678	414.79	36.91	1.15	0.75	4.93	苍耳子	Mol 012123	354.43	31.19	0.09	0.46	9.15	辛夷
Mol 000359	414.79	36.91	0.87	0.75	5.37	苍耳子	Mol 012124	356.45	100.06	0.16	0.36	4.03	辛夷
Mol 000358	414.79	36.91	0.99	0.75	5.36	苍耳子	Mol 012129	370.43	55.61	0.07	0.73	8.85	辛夷
Mol 000449	412.77	43.83	1.00	0.76	5.57	苍耳子	Mol 012130	372.45	59.37	0.24	0.51	14.38	辛夷
Mol 001755	412.77	36.08	1.22	0.76	5.49	苍耳子	Mol 012131	356.45	60.54	0.19	0.36	11.80	辛夷
Mol 011169	428.72	44.39	0.43	0.82	4.06	苍耳子	Mol 012136	356.45	60.11	0.48	0.45	7.77	辛夷
Mol 000358	414.79	36.91	0.99	0.75	5.36	金银花	Mol 000310	356.45	61.47	0.35	0.38	7.71	辛夷
Mol 000449	412.77	43.83	1.00	0.76	5.57	金银花	Mol 000315	340.40	39.31	0.46	0.44	14.61	辛夷
Mol 001494	308.56	42.00	1.14	0.19	5.39	金银花	Mol 009849	354.38	31.57	0.12	0.83	14.12	辛夷
Mol 001495	306.54	46.10	1.12	0.20	6.20	金银花	Mol 001494	308.56	42.00	1.14	0.19	5.39	辛夷
Mol 002773	536.96	37.18	1.52	0.58	4.36	金银花	Mol 000358	414.79	36.91	0.99	0.75	5.36	茜草
Mol 003036	412.77	43.83	0.96	0.76	5.79	金银花	Mol 000359	414.79	36.91	0.87	0.75	5.37	茜草
Mol 003059	552.96	47.25	0.05	0.57	4.37	金银花	Mol 005869	414.79	36.91	0.87	0.75	5.08	茜草
Mol 003095	358.37	51.96	-0.21	0.41	15.98	金银花	Mol 006139	312.29	102.89	-0.50	0.33	29.56	茜草
Mol 001689	284.28	34.97	-0.05	0.24	17.25	野菊花	Mol 006141	284.28	71.27	-0.87	0.27	29.08	茜草
Mol 000358	414.79	36.91	0.99	0.75	5.36	野菊花	Mol 006147	254.25	32.81	-0.14	0.21	30.82	茜草
Mol 000359	414.79	36.91	0.87	0.75	5.37	野菊花	Mol 006160	240.22	32.67	-0.26	0.19	31.03	茜草
Mol 008173	414.79	36.91	0.85	0.75	5.60	野菊花	Mol 006162	268.23	53.97	-0.61	0.24	29.51	茜草
Mol 012112	370.43	34.73	-0.04	0.73	8.61	辛夷	Mol 006170	270.25	77.12	-0.69	0.24	29.27	茜草
Mol 012120	340.40	58.79	-0.18	0.41	8.57	辛夷	Mol 006174	240.27	31.61	0.47	0.18	28.07	茜草

2.2 潜在靶点预测及 PPI 构建

获得潜在活性成分靶点 421 个,去重后得到 244 个。构建化合物-靶点网络,详见图 1。

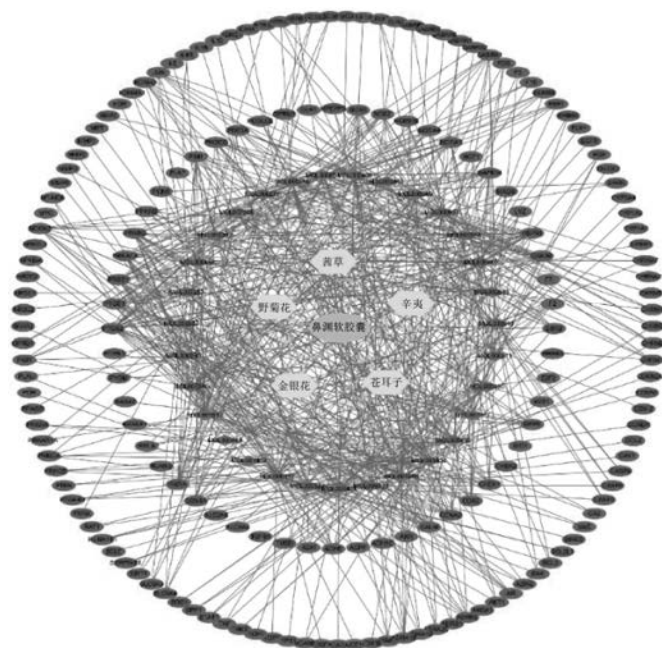


图 1 鼻渊软胶囊潜在靶点预测及化合物-潜在靶点网络
Fig.1 Prediction of potential targets and the network of compound-potential targets of Biyuan Soft-Capsules

2.3 活性成分干预 AR 的核心靶点筛选

通过 Genecard, OMIM, CTD 等靶点基因数据库筛选 AR 相关靶点,去重后获得 AR 靶点 294 个,将 2.2 项下预测的潜在靶点与 AR 疾病靶点相互映射,最终获得鼻渊软胶囊可能干预 AR 的相关靶点 52 个,导入 String 数据库,并将结果导入 Cytoscape 软件绘制靶点相互作用网络,节点的度值和介值中心度为描述网络节点重要性的指标^[10],这 2 个指标调节颜色深浅和大小,以表示该节点在网络中的重要程度,详见图 2。通过 Cytoscape 3.7.1 中的 NetworkAnalyzer 功能进行网络拓扑学分析,经计算该 PPI 网络共有 67 个节点,1 238 条边,网络介度中心度为 0.454。

2.4 核心靶点 GO 富集和 KEGG 通路分析

对获得的 67 个鼻渊软胶囊干预 AR 作用靶点进行 GO 富集和 KEGG 通路注释分析,结果见图 3。生物学过程富集到 $P \leq 0.01$ 的生物过程有 375 条。主要涉及对多肽反应、细胞迁移的正调控、细胞因子介导的信号通路、循环系统过程等;分子功能富集结果中,富集到 $P \leq 0.01$ 的分子功能有 92 条,主要涉及激酶结合、核受体活性、磷酸转移酶活性等;细胞组成富集结果中,富集到 $P \leq 0.01$ 的细胞组成有 18 个,涉及细胞组成受体复合物、膜筏、质膜等。以上结果分别选取前 20 条(其中 GO 富集选取 18 条),以对数($-\lg P$)值排序,绘制柱

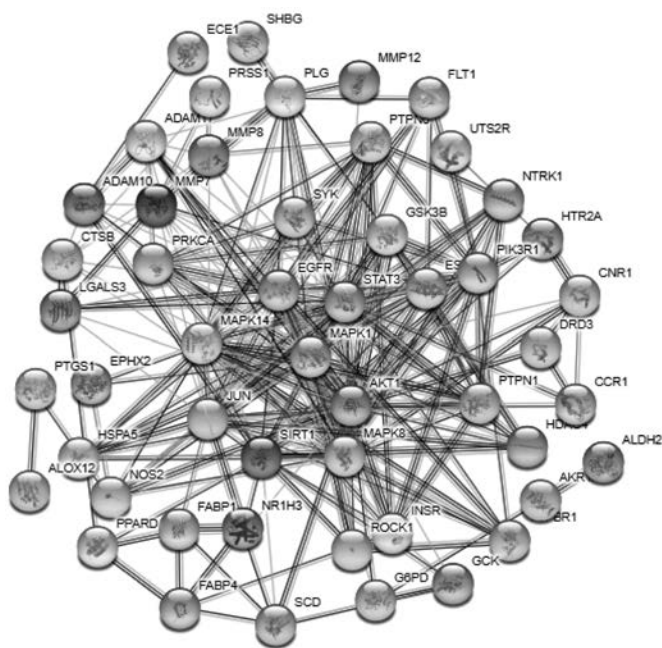


图 2 鼻渊软胶囊活性成分干预过敏性鼻炎核心靶点网络
Fig.2 PPI network of core targets of active ingredients of Biyuan Soft-Capsules in the intervention of allergic rhinitis

状图。其中,纵坐标为 GO 条目名称,横坐标为靶点数目值,其值表示富集在该 GO 条目上的靶点数,柱状长度代表 P 值,以 $-\lg P$ 表示。67 个核心靶点主要参与调控炎症通路、氧化应激通路。可见,鼻渊软胶囊的活性成分可能通过参与调控上述信号通路干预 AR。

3 讨论

AR 属常见鼻黏膜非感染性炎症性疾病,患者接触变应原后由免疫球蛋白 E(IgE)介导的炎症应激反应,导致组胺释放增加及多种免疫活性细胞及细胞因子参与的鼻黏膜慢性非感染性炎症疾病^[11],可引发阵发性打喷嚏、鼻塞、鼻痒、鼻塞等症状,严重时诱发其他疾病,甚至使患者丧失劳动力。其发病机制复杂,涉及遗传、变应原暴露、环境等因素,涉及炎症刺激、细胞凋亡、氧化应激等各个方面^[12-13]。因此,单一使用化学药难以获得满意的疗效。AR 属中医“鼻鼽”范畴,多见于肺气、脾气、肾气虚衰,导致抵御外邪不足、情志失调,鼻窍失养,肺气宣发肃降受阻^[14]。鼻渊软胶囊,由苍耳子、金银花、野菊花、辛夷、茜草制成,有清热解毒、发散风寒、通鼻窍等功效。临床常用来治疗 AR 的鼻塞等症状。现代药理学研究表明,鼻渊软胶囊具有收缩鼻黏膜血管的作用,并能促进分泌物吸收,从而改善鼻孔的通气功能。

网络药理学以“活性成分-靶点-疾病”多层次的相互作用网络为理念,结合对生物信息学数据库进行筛选和预测,运用可视化网络分析软件,综合观察药物对疾病网络的干预和影响,具有整体性、系统性特点^[15]。本研究中发现,鼻渊软胶囊可能干预 AR 的 52 个核心

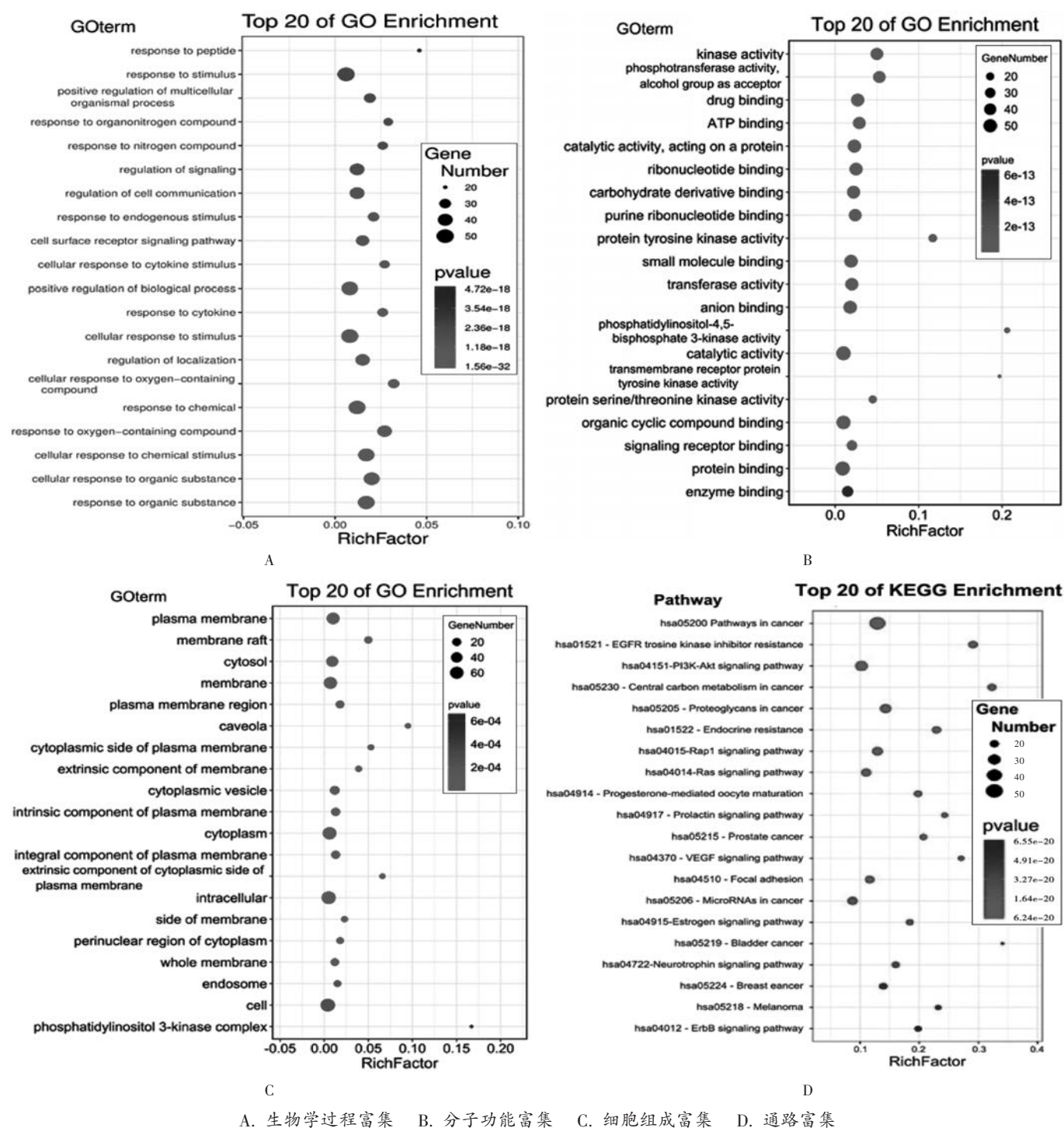


图 3 鼻渊软胶囊干预 AR 作用靶点生物学分析结果

A. Biological process enrichment B. Molecular functional enrichment C. Cell composition enrichment D. Pathway enrichment

Fig. 3 Results of biological analysis of target of Biyuan Soft-Capsules in the intervention of allergic rhinitis

靶点,同时发现其有效成分为挥发油类。通过进行“药效成分-靶标-通路”网络拓扑分析发现,鼻渊软胶囊的有效成分可作用于不同靶点与同一通路相连,相同靶点也可与不同通路相连,说明该药可能通过多成分、多靶点及多途径发挥药效。

本研究中,鼻渊软胶囊中 40 个潜在活性成分共涉及 40 个成分、128 条通路,52 个核心靶标蛋白和 15 条

通路与 AR 相关。分析结果表明,鼻渊软胶囊可能通过作用于神经活性受体配体相互作用通路、HIF-1 通路、钙信号通路、胆碱能突触通路等通路相关的靶标起到通鼻窍的功效。初步揭示了鼻渊软胶囊的潜在活性成分及其可能的作用机制,为进一步的药效物质基础和作用机制研究提供了理论依据。本研究虽采用网络药理学的方法对鼻渊软胶囊主要药效成分的机制作了预测分析,但