

保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调的网络药理学分析

谌 欢, 何云山, 何草芳, 毛 婧, 周建军, 彭国荏

谌欢, 何云山, 何草芳, 毛婧, 周建军, 彭国荏, 湘南学院附属医院 湖南省郴州市 423000

谌欢, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究.

基金项目: 湘南学院与湘南学院附属医院联合项目, No. 2021XJ82和2021XJ89.

作者贡献分布: 谌欢与何云山对此文所作贡献均等; 此课题由何云山设计; 研究过程由谌欢、何草芳与毛婧操作完成; 数据分析、论文撰写由何云山、谌欢完成; 周建军和彭国荏审校.

通讯作者: 彭国荏, 主管药师, 423000, 湖南省郴州市北湖区人民西路31号, 湘南学院附属医院. pgjiang65@163.com

收稿日期: 2023-06-30

修回日期: 2023-07-23

接受日期: 2023-08-03

在线出版日期: 2023-08-08

Network pharmacologic analysis of molecular mechanism of Baohe Wan in treatment of diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome combined with intestinal flora disorder

Huan Chen, Yun-Shan He, Cao-Fang He, Jing Mao, Jian-Jun Zhou, Guo-Jiang Peng

Huan Chen, Yun-Shan He, Cao-Fang He, Jing Mao, Jian-Jun Zhou, Guo-Jiang Peng, Affiliated Hospital of Xiangnan University, Chenzhou 423000, Hunan Province, China

Supported by: Joint Project of Xiangnan University and Affiliated Hospital of Xiangnan University, No. 2021XJ82 and No. 2021XJ89.

Corresponding author: Guo-Jiang Peng, Pharmacist-in-Charge, Affiliated Hospital of Xiangnan University, No. 31 Renmin West Road, Beihu District, Chenzhou 423000, Hunan Province, China. pgjiang65@163.com

Received: 2023-06-30

Revised: 2023-07-23

Accepted: 2023-08-03

Published online: 2023-08-08

Abstract

BACKGROUND

Network pharmacology integrates information such as drugs, targets, and diseases, effectively elucidating the potential interaction between multiple components of traditional Chinese medicine and multiple targets of diseases. However, in many network pharmacology studies, the effect of traditional Chinese medicine on disease targets is often emphasized, while the effect of the gut microbiota on disease targets is ignored. The inclusion of the gut microbiota in the study of network pharmacology can contribute a new idea for the multi-component, multi-target, and multi-approach study of traditional Chinese medicine.

AIM

To explore the possible molecular mechanism of Baohe Wan in the treatment of diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome combined with intestinal flora disorder through network pharmacology.

METHODS

The active ingredients and corresponding targets of Baohe Wan were screened based on the TCMSP and BATMAN-TCM databases. The GeneCards database was used to search related targets of diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome and intestinal flora, and Venny platform was used to screen common targets of active ingredients and diseases. Cytoscape 3.9.1 was used to build disease-target-compound networks to screen effective targets for drug target and disease target interactions. The STRING database was used to construct the protein-protein interaction

(PPI) network. The effective targets were analyzed using Gene Ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis based on the DAVID database.

RESULTS

A total of 549 chemical constituents were collected. According to $OB \geq 30\%$ and $DL \geq 0.18$, 45 active constituents were obtained, including quercetin, cortin, scutellarin, kaempferol, naringenin, etc. Venn diagram shows that there are 259 possible protein targets in the active ingredients of Baohe Wan, 34 targets that have effects on diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome, 66 targets that have effects on intestinal flora, and 11 common targets, among which PTGS2, TNF, TP53, ICM1, and IL10 are key targets. A total of 121 biological processes were obtained through GO function enrichment analysis, and 49 pathways were obtained through KEGG pathway enrichment screening, including the TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, NF- κ B signaling pathway, etc.

CONCLUSION

The preliminary screening and prediction by network pharmacology suggested that Baohe Wan may improve diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome combined with intestinal flora disorder through multiple ways and targets.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome; Diarrhea; Baohe wan; Pharmacology of network

Citation: Chen H, He YS, He CF, Mao J, Zhou JJ, Peng GJ. Network pharmacologic analysis of molecular mechanism of Baohe Wan in treatment of diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome combined with intestinal flora disorder. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(15): 622-629

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i15/622.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i15.622>

摘要

背景

网络药理学整合了药物、靶点、疾病等信息,能够高效地阐明中药多组分和疾病多靶点之间的潜在作用关系。然而在许多网络药理学研究中,往往只注重中药对疾病靶点的作用,而忽视肠道菌群对疾病靶点的作用。将肠道菌群纳入网络药理学的研究中,可为中药多成分-多靶点-多途径贡献了一种新思路。

目的

采用网络药理学方法,探讨保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调的可能分子机制。

方法

通过TCMSP、BATMAN-TCM等数据库,结合文献筛选出保和丸活性成分及相应靶点。通过GeneCards数据库检索食滞胃肠证泄泻、肠道菌群的相关靶点, Venny平台筛选活性成分与疾病的共同靶点。Cytoscape 3.9.1软件构建疾病-靶点-化合物网络,筛选药物靶点、肠道菌群靶点和疾病靶点相互作用的有效靶点。STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。利用DAVID数据库对有效靶点进行基因本体(Gene Ontology, GO)功能分析及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。

结果

共收集549种化学成分,根据 $OB \geq 30\%$ 及 $DL \geq 0.18$,共得到45个活性成分,包括槲皮素、皮素、汉黄芩素、山奈酚、柚皮素等。Venn图显示保和丸活性成分中对应259个可能蛋白靶点,与食滞胃肠证泄泻存在作用的靶点有34个,与肠道菌群存在作用的有66个,三者共同的靶点数为11个,其过氧化物合酶2(peroxide synthase 2, PTGS2)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、肿瘤蛋白P53(oncoprotein P53, TP53)、细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICM1)、白介素10(interleukin-10, IL-10)为关键靶点。GO功能富集分析得到121个生物过程,KEGG通路富集筛选得到49条通路,包括TNF信号通路、白介素17(interleukin-17, IL-17)信号通路、NF- κ B信号通路等。

结论

通过网络药理学的初步筛选及预测,保和丸可能通过多途径、多靶点改善食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 食滞胃肠证; 泄泻; 保和丸; 网络药理学

核心提要: 中药、疾病及肠道菌群之间存在复杂的相互作用,网络药理学可在三者之间找到一个结合点。基于网络药理学技术研究显示,保和丸治疗食滞胃肠证泄泻的作用机制可能与调节肠道微生态,恢复肠道黏膜免疫功能、修复机械屏障损伤、抑制炎症反应激活等有关。

文献来源: 谌欢, 何云山, 何草芳, 毛婧, 周建军, 彭国柱. 保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调的网络药理学分析. *世界华人消化杂志* 2023; 31(15): 622-629

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i15/622.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i15.622>

0 引言

食滞胃肠证泄泻是中医泄泻常见的六大证型之一, 发病率仅次于湿热证, 好发人群以小儿和脾胃功能不佳者为主, 是导致儿童营养不良、影响生长发育的重要原因, 也是影响脾胃功能不佳人群生活质量的常见因素^[1]。保和丸出自《丹溪心法》, 是治疗食滞胃肠证泄泻的经典方剂, 由山楂、神曲、莱菔子、半夏、连翘、陈皮、茯苓组成。山楂为君药, 善消肉食油腻之积; 神曲与莱菔子并为臣药, 神曲善化谷食陈腐之积; 莱菔子长于消面食痰浊之积。半夏、陈皮行气化滞, 和胃止呕; 茯苓健脾消食, 和中渗湿; 连翘微苦性凉, 具有升浮宣散、清热散结之力, 同时还可以防消降太过。全方用药谨守病机、配伍严谨, 共奏消食导滞和胃之功, 可治一切食积^[2]。肠道微生态是一个复杂且存在个体差异性的动态平衡的生态系统, 肠道菌群是肠道微生态的重要组成部分^[3]。泄泻是常见的胃肠道疾病, 与肠道菌群失调密切相关^[4]。肠道菌群作为中药的作用靶点之一, 可响应和介导中药的干预作用, 在中药防治疾病的机制中扮演着关键性作用^[5]。网络药理学整合了药物、靶点、疾病等信息, 通过对生物系统的网络分析来认识药物与机体之间的作用, 从而高效地阐明中药多组分和疾病多靶点之间的潜在作用关系。本文通过网络药理学对保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并菌群失调的物质基础及作用机制进行预测, 以期为该方的进一步研究与应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 活性成分筛选: 采用系统药理学分析平台[(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP), <http://tcmispw.com/tcmisp.php>]获取莱菔子、半夏、陈皮、茯苓、连翘活性成分与靶点等信息, 参数设置为口服生物利用度(oral bioavailability, OB)≥30%、类药性(drug-like, DL)≥0.18。以BATMAN-TCM数据库(Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine, <http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)获取山楂活性成分信息, 参数设置为score cutoff≥20、adjusted *P* value<0.05。并结合CNKI中的相关文献(1989/2022-11-26)对化学成分进行补充完善, 获取活性成分群。

1.2 方法

1.2.1 保和丸化学成分靶点的预测分析: 通过TCMSP平台寻找与活性化合物相关的潜在靶点, 并通过Uniprot数据库(Universal Protein, <https://www.uniprot.org/>)将活性化合物对应的靶点蛋白转换为基因名。

1.2.2 疾病靶点与肠道菌群靶点的确定: 通过Genecards

数据库(<https://www.genecards.org/>), 以“Diarrhea with gastrointestinal food stagnation syndrome”为关键词获取食滞胃肠证泄泻相关疾病基因, 以“Intestinal flora”为关键词获取人体肠道菌群相关基因。(检索时间: 2022-11-26)。

1.2.3 方-菌-疾病互作基因的确定: 利用Venny2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)在线分析工具对保和丸化学成分作用靶点基因、食滞胃肠证泄泻疾病基因及肠道菌群相关基因进行对比分析, 绘制Venn图, 得到三者共同靶点。

1.2.4 方-菌-疾病靶点的网络构建: 将活性成分与疾病靶点导入Cytoscape 3.9.1软件(<http://www.cytoscape.org/>), 构建靶点网络, 并将结果可视化。

1.2.5 方-菌-疾病潜在靶点蛋白互作网络的构建: 将1.4项中的共同靶点导入STRING数据库获取蛋白互作信息, 再将结果导入Cytoscape 3.9.1软件进行可视化及网络拓扑学分析, 构建PPI网络, 并筛选核心作用靶点。

1.2.6 关键靶点富集分析: 采用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)上保和丸有效作用靶点, 研究对象选择人类, 进行GO功能富集分析及可视化处理, 包括生物学过程和分子功能分析; 同时进行KEGG通路富集分析, 得到保和丸在食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调中的主要作用通路。

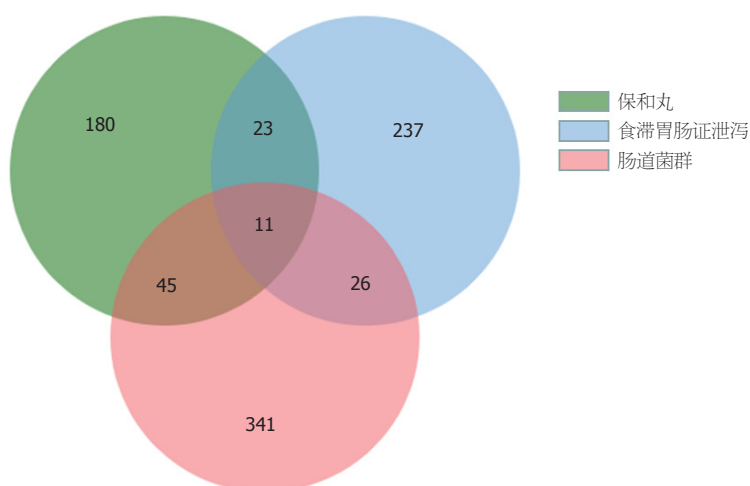
统计学处理 采用R4.1.2软件进行数据统计分析, 采用单因素方差分析组间差异, 组间两两比较用最小显著性差异法, *P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 活性成分筛选 通过检索TCMSP数据库、BATMAN-TCM数据库结合文献共收集到保和丸中化合物549个。其中通过包括TCMSP数据库检索出半夏116个, 茯苓34个, 陈皮63个, 连翘150个, 莱菔子52个。通过BATMAN-TCM数据库检索检索到山楂化学成分94个。结合CNKI相关文献(1989/2022-11-26)收集神曲化学成分40个。

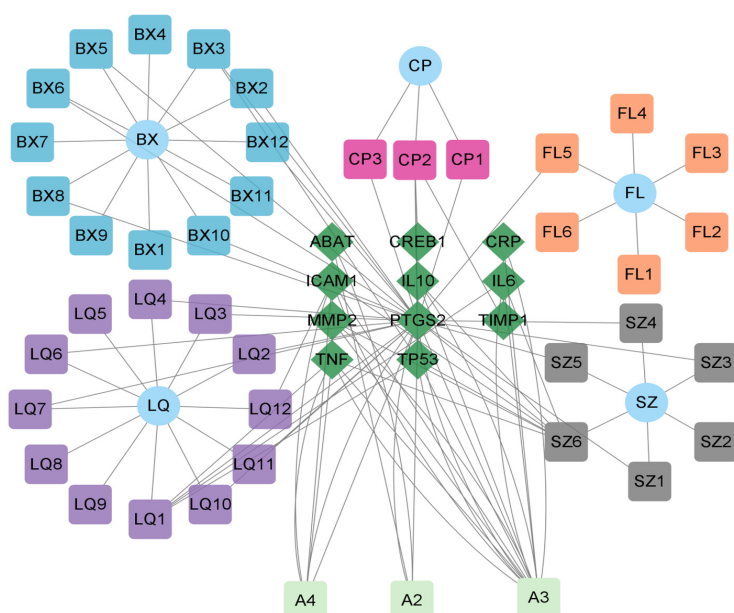
2.2 作用靶点筛选 在利用TCMSP数据库中选取的每个活性成分对应的靶点, 在UniProt数据库中进行检索, 得到所有靶点的基因名, 去除重复名后得到259个靶点。根据GeneCards人类基因组数据库检索食滞胃肠证泄泻疾病靶点、肠道菌群失调的治疗靶点, 得到食滞胃肠证泄泻疾病靶点298个, 肠道菌群失调靶点424个。采用Venny平台对相关靶点取交集, 最终得到11个, 见图1。

2.3 活性成分-靶点网络 利用Cytoscape 3.9.1软件将活性化合物及药物、疾病、肠道菌群共同靶点导入软件, 构建化合物-靶点网络(图2)。从图2可以看出, 过氧化氢酶2(peroxide synthase 2, PTGS2)、肿瘤坏死因



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i15.622 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 1 作用靶点的Venn图。



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i15.622 Copyright ©The Author(s) 2023.

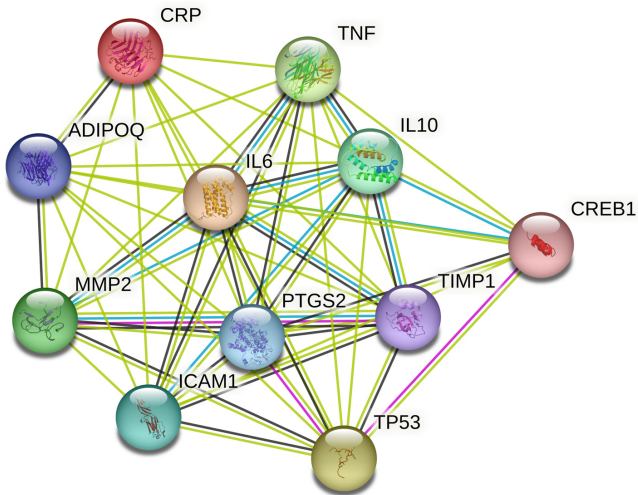
图 2 活性成分-疾病靶点网络图。BX: 半夏; CP: 为陈皮; FL: 茯苓; LQ: 连翘; SZ: 山楂; A2: 陈皮与神曲共同成分; A3、A4: 神曲与山楂共同成分。

子(tumor necrosis factor, TNF)肿瘤蛋白P53(oncoprotein P53, TP53)、细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICM1)、白介素10(interleukin-10, IL-10)可能是保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并菌群失调的关键靶点。猜测这些靶点在保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群中起到了桥梁作用。

2.4 蛋白质相互作用网络构建 将11个交集靶点导入STRING数据库, 限定物种为人类, 相关度>0.4, 剔除游离的靶点蛋白, 获取蛋白互作信息, 得到保和丸对食滞胃肠证泄泻合并菌群失调作用相关靶点蛋白互作网络(图3)。通过入Cytoscape 3.9.1软件进行Network Analyza,

Degree为10的靶点有TNF、IL-10、白介素6(interleukin-6, IL-6)、PTGS2、TP53、ICM1、脂联蛋白的C1Q和胶原结构区域(adiponectin, C1Q and collagen domain containing, ADIPOQ)。对比可以发现2.2中的关键靶点PTGS2、TNF、TP53、ICM1、IL10均在PPI网络中有所体现, 因而进一步反映PTGS2、TNF、TP53、ICM1、IL10在保和丸调控食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群中分作用。

2.5 GO功能及KEGG通路富集分析 将保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并菌群失调的潜在靶点进行GO功能和KEGG通路富集分析, GO功能富集分析包括生物过程(biological processes, BP)、细胞成分(cellular components,



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i15.622 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 3 蛋白质相互作用网络. PTGS2: 氧化合物酶2; TNF: 肿瘤坏死因子; TP53: 肿瘤蛋白P53; ICM1: 细胞间粘附分子-1; IL-10: 白介素10; IL-6: 白介素6; ADIPOQ: 脂联蛋白的C1Q和胶原结构区域; CRP: C蛋白反应; MMP2: 基质金属蛋白酶2; CREB1: 环磷酸腺苷应答元件结合蛋白1; TIMP1: 基质金属蛋白酶组织抑制剂1.

CC)和分子功能(molecular functions, MF)3个方面. 如图4所示, BP主要包括对平滑肌细胞增殖的正向调节及对外来生物刺激的反应等. CC主要包括细胞外空间、内质网腔及胶原蛋白三聚物等. MF主要包括蛋白酶结合、组蛋白乙酰转移酶结合及RNA聚合酶II序列特异性DNA结合转录因子结合等过程. KEGG富集分析显示主要涉及TNF信号通路、IL-17信号通路、NF- κ B信号通路等, 见图5.

3 讨论

从活性成分-靶点网络的结果中可以看出, PTGS2、TNF、TP53、ICM1、IL10可能是保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并菌群失调的关键靶点. 槲皮素、汉黄芩素、山奈酚、柚皮素等是调控这些靶点的主要活性成分. 槲皮素具有抗炎、抗癌、抗细胞凋亡和免疫保护等生物学功能, 是一种广泛地存在多种中草药中的多羟基黄酮类化合物^[6,7]. 张文举等^[8]通过观察槲皮素对豚鼠离体回肠收缩活动的影响和对小鼠小肠推进功能的影响发现, 槲皮素能通过抑制肠道的蠕动、抑制肠道毛细血管的通透性来发挥其止泻作用. 汉黄芩素是一种黄酮类的物质, 具有抗炎、抗氧化应激、抗肿瘤、保护神经等多种药理活性^[9,10]. 研究显示汉黄芩素可显著缓解溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠体重下降, 增加结肠长度, 改善结肠组织中上皮黏膜炎症细胞浸润和巨噬细胞浸润, 发挥保护肠道黏膜屏障功能^[11]. 山奈酚是一种来源于多种药食同源植物中的天然黄酮类化合物, 具有行气温中, 消食止痛之功效. 此外山奈酚具有抗氧化、抗炎、抗癌和保护神经等药理活性^[12], 可增加闭锁小带

蛋白(zonula occludens protein-1, ZO-1)、紧密连接蛋白(Occludin)和紧密连接蛋白1抗体(Claudin-1)三种紧密蛋白的表达, 促进结肠黏膜屏障完整性^[13].

泄泻是以排便次数增多, 粪质稀溏或完谷不化, 甚至泻出如水样为主症的病证, 按照中医对泄泻的辨证分型可分为寒湿困脾证、肠道湿热证、食滞胃肠证、脾气亏虚证、肾阳亏虚证、肝气乘脾证等6种证型^[2]. 食滞胃肠证泄泻常称为食积泻、伤食泻, 好发于小儿和脾胃功能不佳者, 对这类人群的生活质量有着重要的影响. 肠道菌群是肠道微生态系统的重要组成部分, 以一定比例的质和量处于相对平衡状态, 对维系人体正常生命活动有着重要作用^[14]. 泄泻是一种常见的胃肠道疾病, 常伴随着菌群失调, 而菌群失调又会进一步加重泄泻. IL-10是一种抗炎因子^[15], 其在胃肠道中的主要作用为抑制炎症反应而保护胃肠道. 肠道菌群对IL-10的表达有着重要的影响, Tanaka等^[16]采用葡聚糖硫酸钠诱导C57BL/6小鼠建立小鼠结肠炎模型, 予以植物乳杆菌06CC2进行干预, 发现IL-10表达高于对照组. ICAM1能够介导体内细胞趋化、淋巴细胞归巢、细胞黏附等过程, 是体内参与免疫调节的重要生物活性因子. 肠道菌群与ICAM1表达相关性分析结果显示, 肠道双歧杆菌、乳杆菌与ICAM1水平呈显著负相关, 肠杆菌和肠球菌与之呈显著正相关($P<0.05$)^[17]. 肿瘤坏死因子主要由活化的单核/巨噬细胞产生, 通过与相应受体结合, 可激活 κ 基因结合核因子(nuclear factor- κ -gene binding, NF- κ B)诱导炎症因子表达^[18]. 王沙沙等^[19]通过腹腔注射鸡源大肠杆菌建立细菌性腹泻小鼠模型, 予以蒲公英粗提物、枯草杆菌进行治疗. 结果显示模型组比较空白组小肠组织、血清中肿瘤

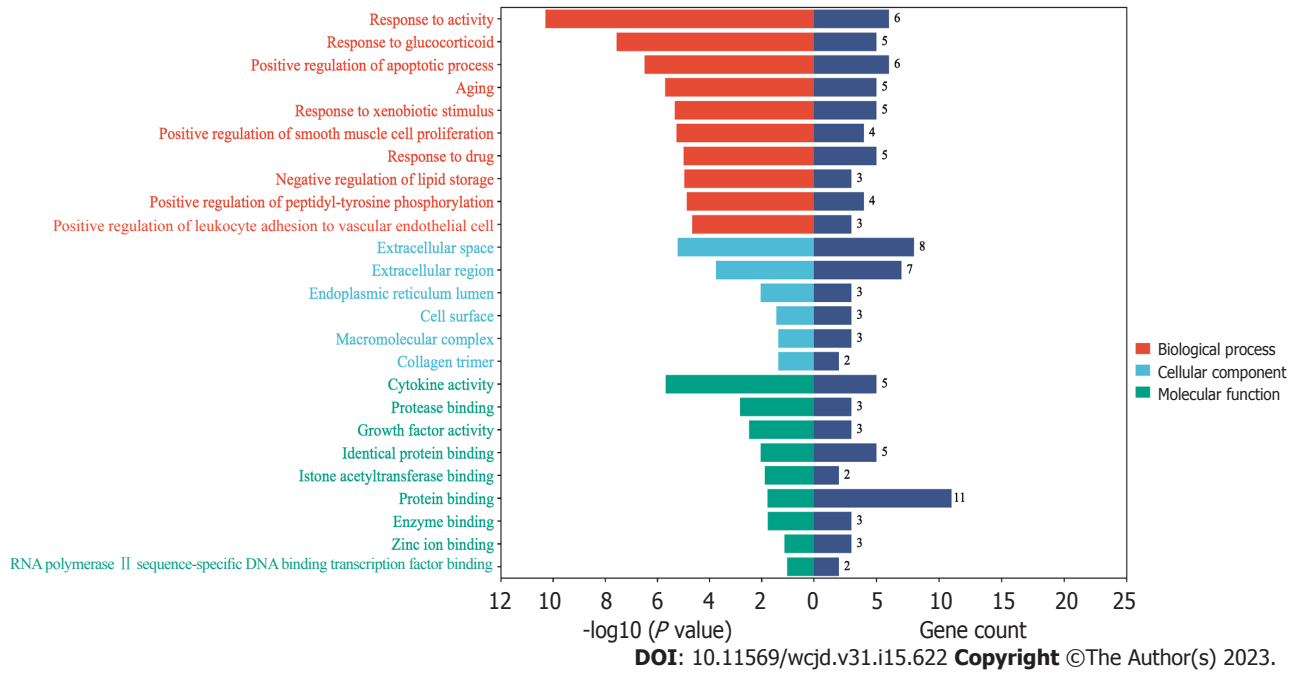


图 4 GO富集分析. 红色: GO生物学进程; 淡蓝色: GO分子功能; 绿色: GO细胞成分; 深蓝色: Gene count计数. GO: 基因本体.

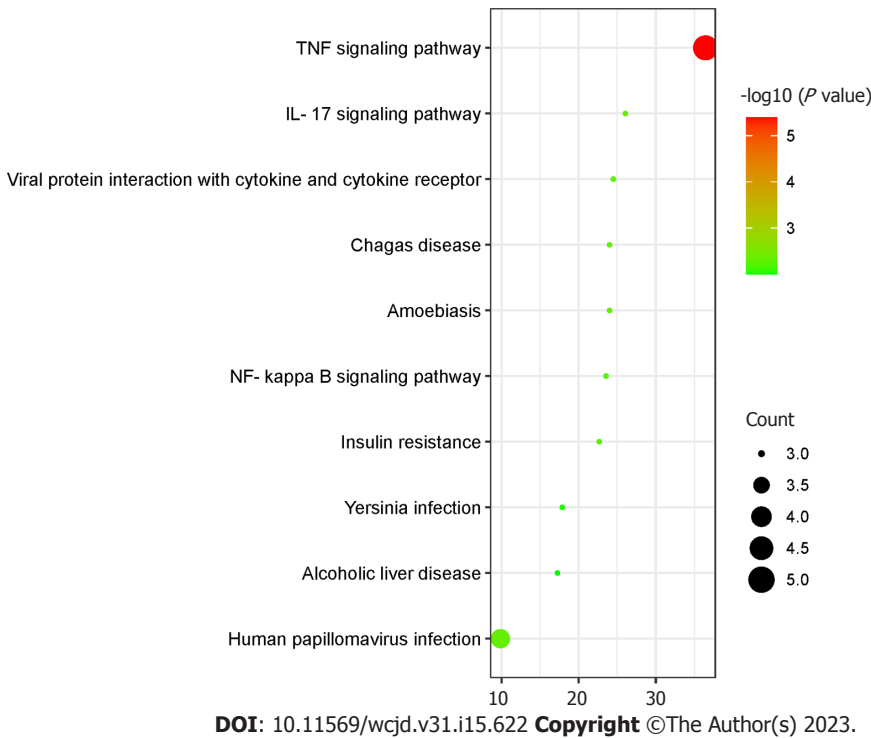


图 5 KEGG富集分析. 圆圈的大小表示gene count数, 圆圈越大表示count数值越大; 颜色表示P值, 颜色越红表示显著性越强. KEGG: 京都基因与基因组百科全书.

坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量有极显著性升高($P<0.01$); 中药组、益生菌组的小肠组织、血清中TNF- α 含量相比模型组明显降低($P<0.05$). 综上结果显示肠道微生物可通过调控IL10、TNF、ICAM1等基因的表达来改善肠道炎症, 促进肠道结构与功能恢复, 达到

治疗泄泻的作用.

保和丸出自《丹溪心法》, 具有消食导滞和胃的功效, 是治疗食滞胃肠证泄泻的经典方剂. 中草药防治疾病具有多成分-多靶点-多途径的特点, 可直接作用于疾病靶点, 亦可通过其他途径(如调控肠道微生物)发挥作

用. 笔者课题组团队研究发现, 保和丸水煎液可通过促进小肠内容物中可培养的乳酸菌生长、抑制可培养的大肠杆菌和双歧杆菌生长的方式调节食滞胃肠证泄泻小鼠的小肠微生态. 通过16S rDNA测序发现, 保和丸干预增加了鼠乳杆菌、罗伊氏粘液乳杆菌等有益菌丰度, 降低了隐秘罗尔斯通菌(*Ralstonia insidiosa*)等机会致病菌丰度^[20]. 活性成分是中药发挥疗效的重要物质基础, 在槲皮素对肠道菌群的调节作用研究发现, 在一定的浓度范围内(0.01 $\mu\text{mol/mL}$ 、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ 、0.1 $\mu\text{mol/mL}$)槲皮素能够扶植乳杆菌的增殖^[21]. 山奈酚可降低变形杆菌等致病菌相对丰度, 提高厚壁菌门与拟杆菌门的比例, 增加肠道菌群多样性和丰富度, 发挥缓解肠道炎症的作用^[22].

通过以上分析不难发现中药能够直接调控疾病靶点, 肠道菌群对疾病靶点也有调控作用, 而中药亦可作用于肠道菌群间接调控疾病靶点, 同时肠道菌群也能影响着中药的活性成分^[23]. 肠道菌群作为机体的一个重要“器官”, 与多种疾病的发生发展密切相关, 许多疾病的发生往往伴随着肠道菌群的失调. 因此面对药物、疾病、肠道菌群的复杂作用体系, 如何在三者之间寻找结合点成为一个亟待解决的问题. 网络药理学是基于系统生物学、基因组学、蛋白组学等学科理论, 运用高通量组学数据分析、计算机模拟及网络数据库检索等技术, 揭示中药多成分、多靶点的作用关系^[24]. 在许多网络药理学中, 常常只注重中药对疾病靶点的作用, 而忽视肠道菌群对疾病靶点的作用. 近些年来, 有部分研究者在做网络药理学时也会将肠道菌群纳入其中, 这为研究中药多成分-多靶点-多途径贡献了一种新思路. 如黄浪浪等人基于网络药理学探讨健脾化浊调脂方治疗动脉粥样硬化合并肠道菌群失调的机制, 发现健脾化浊调脂方能降低ApoE^{-/-}小鼠动脉白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、PTGS2、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)表达^[25].

4 结论

综上所述, 基于网络药理学技术研究显示, 保和丸治疗食滞胃肠泄泻的作用机制可能与调节肠道微生态, 恢复肠道黏膜免疫功能、修复机械屏障损伤、抑制炎症反应激活等有关. 槲皮素、汉黄芩素、山奈酚等活性物质可能是保和丸发挥疗效的物质基础, 其关键调控靶点基因为IL10、TNF、ICAM1、PTGS2等, 涉及的信号通路主要有TNF信号通路、IL-17信号通路、NF- κ B信号通路等.

文章亮点

实验背景

食滞胃肠证泄泻是中医泄泻常见的六大证型之一, 发病

率高、病程反复, 对人们的生活质量带来很大的影响. 泄泻的发生往往伴随着肠道菌群的失调, 研究证明显示, 中药方剂能够调节肠道菌群达到治疗疾病的作用.

实验动机

对保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并菌群失调的物质基础及作用机制进行预测, 以期为该方的进一步研究与应用提供参考.

实验目标

采用网络药理学方法, 探讨保和丸治疗食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调的可能分子机制.

实验方法

通过TCMSP、BATMAN-TCM等数据库, 结合文献筛选出保和丸活性成分及相应靶点. 通过GeneCards数据库检索食滞胃肠证泄泻、肠道菌群的相关靶点, Venny平台筛选活性成分与疾病的共同靶点. Cytoscape 3.9.1软件构建疾病-靶点-化合物网络, 筛选药物靶点、肠道菌群靶点和疾病靶点相互作用的有效靶点. STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络. 利用DAVID数据库对有效靶点进行基因本体(Gene Ontology, GO)功能分析及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.

实验结果

共收集549种化学成分, 根据OB $\geq$ 30%及DL $\geq$ 0.18, 共得到45个活性成分, 包括槲皮素、皮素、汉黄芩素、山奈酚、柚皮素等. Venn图显示保和丸活性成分中对应259个可能蛋白靶点, 与食滞胃肠证泄泻存在作用的靶点有34个, 与肠道菌群存在作用的有66个, 三者共同的靶点数为11个, 其中过氧化物合酶2(peroxide synthase 2, PTGS2)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、肿瘤蛋白P53(oncoprotein P53, TP53)、细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM1)、白介素10(interleukin-10, IL-10)为关键靶点. GO功能富集分析得到121个生物过程, KEGG通路富集筛选得到49条通路, 包括TNF信号通路、IL-17信号通路、NF- κ B信号通路等.

实验结论

通过网络药理学的初步筛选及预测, 保和丸可能通过多途径、多靶点改善食滞胃肠证泄泻合并肠道菌群失调.

展望前景

本研究基于网络药理学分析了保和丸治疗食滞胃肠证

泄泻合并肠道菌群失调的作用机制, 筛选了药物核心治疗靶点, 有望为未来进一步的细胞学或者动物模型验证药物生物学功能奠定了基础。

5 参考文献

- 何云山, 谭周进, 惠华英. 食滞胃肠泄泻动物模型制备思路与评价指标. *湖北中医药大学学报* 2020; 22: 121-125 [DOI: 10.3969/j.issn.1008 987x.2020.03.34]
- 邵好青, 何云山, 肖嫩群, 谢果珍, 谭周进. 泄泻食滞胃肠证小鼠模型的建立及保和丸的疗效. *时珍国医国药* 2022; 33: 10-15 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2022.01.03]
- 李玉丽, 袁振仪, 谭周进. 泄泻证候相关肠道菌群的研究进展. *中国实验方剂学杂志* 2021; 27: 209-217 [DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211698]
- Li YD, Liu BN, Zhao SH, Zhou YL, Bai L, Liu EQ. Changes in gut microbiota composition and diversity associated with post-cholecystectomy diarrhea. *World J Gastroenterol* 2021; 27: 391-403 [PMID: 33584071 DOI: 10.3748/wjg.v27.i5.391]
- Zhao T, Zhan L, Zhou W, Chen W, Luo J, Zhang L, Weng Z, Zhao C, Liu S. The Effects of Erchen Decoction on Gut Microbiota and Lipid Metabolism Disorders in Zucker Diabetic Fatty Rats. *Front Pharmacol* 2021; 12: 647529 [PMID: 34366839 DOI: 10.3389/fphar.2021.647529]
- Wang WY, Sun CX, Mao LK, et al. The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: a review. *Trends in Food Science & Technology* 2016; 56: 21-38 [DOI: 10.1016/j.tifs.2016.07.004]
- 张娟, 毛文静, 白庆云. 槲皮素及其衍生物防治肝损伤作用及机制的研究进展. *中草药* 2021; 52: 7348-7357 [DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.23.030]
- 张文举, 陈宝田, 王彩云, 朱全红, 莫志贤. 槲皮素止泻机制研究. *第一军医大学学报* 2003; 23: 1029-1031 [DOI: 10.3321/j.issn:1673-4254.2003.10.007]
- Hong M, Almutairi MM, Li S, Li J. Wogonin inhibits cell cycle progression by activating the glycogen synthase kinase-3 beta in hepatocellular carcinoma. *Phytomedicine* 2020; 68: 153174 [PMID: 31991293 DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153174]
- Bei W, Jing L, Chen N. Cardio protective role of wogonin loaded nanoparticle against isoproterenol induced myocardial infarction by moderating oxidative stress and inflammation. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2020; 185: 110635 [PMID: 31744760 DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110635]
- 陆璐, 刘宇婧, 李媛, 徐汉辰, 李光. 基于NLRP3相关炎症反应和肠道黏膜屏障功能探究汉黄芩素治疗溃疡性结肠炎小鼠的作用机制. *中华中医药杂志* 2022; 37: 5992-5999
- Wang J, Mao J, Wang R, Li S, Wu B, Yuan Y. Kaempferol Protects Against Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Through Intervening Oxidative and Inflammatory Stress Induced Apoptosis. *Front Pharmacol* 2020; 11: 424 [PMID: 32351385 DOI: 10.3389/fphar.2020.00424]
- 曲一帆. 山奈酚缓解小鼠溃疡性结肠炎的肠道微生态机理研究. 呼和浩特: 内蒙古医科大学 2021 [DOI: 10.27231/d.cnki.gnmyc.2021.000370]
- 李玉丽, 李小雅, 谭周进. 从菌群失调与泄泻的关系论中医的同病异治. *中国微生态学杂志* 2022; 34: 857-861 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202207021]
- Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 170-181 [PMID: 20154735 DOI: 10.1038/nri2711]
- Tanaka A, Kanmura S, Morinaga Y, Kawabata K, Arima S, Sasaki F, Nasu Y, Tanoue S, Hashimoto S, Takeshita M, Takeda S, Ido A. Oral administration of Lactobacillus plantarum 06CC2 prevents experimental colitis in mice via an anti-inflammatory response. *Mol Med Rep* 2020; 21: 1181-1191 [PMID: 31922249 DOI: 10.3892/mmr.2020.10925]
- 赵娟, 王晓蓉. 肠道菌群与肠易激综合征分型及患者血清细胞间黏附分子-1表达的关系. *中国微生态学杂志* 2021; 33: 1326-1329; 1339 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202111018]
- Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, Tsukamoto H, Shimoda T. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 1215-1228 [PMID: 20194223 DOI: 10.1093/rheumatology/keq031]
- 王沙沙. 中药联合益生菌对鸡源大肠杆菌致小鼠腹泻保护作用及机理研究. 延边大学 2017 [DOI: 10.27439/d.cnki.gybd.2017.000086]
- 邵好青. 保和丸水煎液对食滞胃肠证泄泻小鼠肠道微生态的作用机制研究. 湖南中医药大学 2022 [DOI: 10.27138/d.cnki.ghuzc.2022.000004]
- 陈樱萌, 胡满江, 曾钰鹏, 丁艺新, 丁静华, 李瑶璐, 陈晓熠, 苏立杰. 槲皮素对肠道菌群的调节作用研究. *食品研究与开发* 2020; 41: 6-15 [DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2020.10.002]
- Silva Dos Santos J, Gonçalves Cirino JP, de Oliveira Carvalho P, Ortega MM. The Pharmacological Action of Kaempferol in Central Nervous System Diseases: A Review. *Front Pharmacol* 2020; 11: 565700 [PMID: 33519431 DOI: 10.3389/fphar.2020.565700]
- 霍亮, 潘月顺, 刘鑫宇, 贺鹏, 仇琪. 肠道菌群对中药有效成分代谢作用的研究进展. *中华中医药杂志* 2022; 37: 1605-1608 [DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2002.08.003]
- 陈鹏, 马嘉泽, 张加敏, 胡俊杰, 李万里, 程议乐, 李晓柳, 丁康. 灌结灌肠液 II 改善溃疡性结肠炎菌群结构和炎症机制的网络药理学筛选及实验验证. *中医药导报* 2022; 28: 25-34, 52 [DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2022.09.005]
- 黄浪浪, 徐翊, 王建安, 刘言薇, 万强, 刘中勇. 基于网络药理学探讨健脾化浊调脂方治疗动脉粥样硬化合并肠道菌群失调的机制. *中成药* 2022; 44: 3347-3353 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.10.054]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

