

· 数据挖掘 ·

基于网络药理学的小陷胸汤治疗 2 型糖尿病的药理机制

施岚尔^{1,2}, 聂课朝^{1,2}, 张文婧^{1,2}, 郑美思^{1,2}, 刘闯^{1,2}, 朱章志^{2*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405;
2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

[摘要] **目的:** 利用网络药理学探索小陷胸汤治疗 2 型糖尿病 (T2DM) 的药理机制。**方法:** 在中药系统药理学技术平台 (TCMSP) 网站检索小陷胸汤的主要活性成分、对应的作用靶点及靶标基因, 通过人类基因数据库 (Gene Cards) 获得 T2DM 的相关靶标基因, 将药物活性成分靶点与 T2DM 靶点相映射, 获得交集靶点即为小陷胸汤作用于 T2DM 的预测靶点。利用 Cytoscape 3. 7. 1 软件构建药物活性成分-交集靶点网络模型, 选出关键活性成分。利用 STRING 网站构建交集靶点蛋白相互作用网络 (PPI), 选出关键靶点基因。利用 DAVID 6. 8 在线工具对交集靶点进行基因本体 (GO) 分析和基于京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。**结果:** 小陷胸汤作用于 T2DM 的活性成分有 30 个, 相关靶点 156 个, 关键有效成分 14 个, 关键靶点基因 18 个。GO 分析显示, 小陷胸汤治疗 T2DM 潜在基因的生物功能主要涉及转录调控、氧化应激、蛋白结合和炎症反应等; KEGG 通路富集显示小陷胸汤治疗 T2DM 影响的通路主要有缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路, 肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路, Toll 样受体信号通路, 甲状腺激素信号通路, 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路, 乙肝, 丙肝, 酪氨酸激酶受体 2 (ErbB) 信号通路, 钙离子信号通路和核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路等。**结论:** 小陷胸汤治疗 T2DM 机制可能是通过抑制炎症因子分泌, 参与抗炎反应, 降低氧化应激, 升高细胞内钙离子浓度, 阻断胰高血糖素信号通路, 激活 PI3K/Akt 通路等来改善胰岛素抵抗, 提高胰岛素敏感性, 降低血糖。

[关键词] 小陷胸汤; 2 型糖尿病; 网络药理学; 作用机制

[中图分类号] R2-0; R22; R285. 5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2020) 04-0198-09

[doi] 10. 13422/j. enki. syfjx. 20200105

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190911.1039.003.html>

[网络出版时间] 2019-09-11 14:41

Pharmacological Mechanism of Xiao Xianxiong Tang in Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus Based on Network Pharmacology

SHI Lan-er^{1,2}, NIE Ke-chao^{1,2}, ZHANG Wen-jing^{1,2}, ZHENG Mei-si^{1,2},
LIU Chuang^{1,2}, ZHU Zhang-zhi^{2*}

(1. *The First Clinical School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;*
2. *The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China*)

[Abstract] **Objective:** To explore the pharmacological mechanism of Xiao Xianxiong Tang in treating type 2 diabetes mellitus (T2DM) by network pharmacology. **Method:** The main active ingredients, corresponding targets and target genes of Xiao Xianxiong Tang were searched on Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) website. Relevant target genes of T2DM were obtained through Gene Cards. The targets of drug active ingredients were mapped to the targets of T2DM, and the intersection targets were obtained as the predictive targets of Xiao Xianxiong Tang on T2DM. Cytoscape 3. 7. 1 software was used to construct the drug active ingredient-intersection target network model and select the key active ingredients. Interactive

[收稿日期] 20190624 (015)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (8187141299)

[第一作者] 施岚尔, 在读博士, 从事中医药治疗内分泌疾病研究, E-mail: 20182101053@stu.gzucm.edu.cn

[通信作者] * 朱章志, 博士生导师, 主任医师, 从事中医药治疗内分泌疾病研究, E-mail: zzz@gzucm.edu.cn

protein-protein interaction network (PPI) was constructed by STRING website, and key target genes were selected. Gene function analysis (GO) and enrichment analysis based on the Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway were performed on the intersecting targets using DAVID6.8 online tool. **Result:** Xiao Xianxiong tang had 30 active ingredients, 156 relevant targets, 14 key active ingredients and 18 key target genes on T2DM. GO analysis showed that the biological functions of Xiao Xianxiong tang in the treatment of potential genes of T2DM mainly involved transcriptional regulation, oxidative stress, protein binding and inflammatory reaction. KEGG pathway enrichment showed that the main pathways of Xiao Xianxiong tang in the treatment of T2DM were hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) signaling pathway, tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway and thyroid hormone signaling pathway, phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway, hepatitis B, hepatitis C, tyrosine kinase receptor2 (ErbB) signaling pathway, calcium signaling pathway and nuclear factor-kappa B (NF- κ B) signaling pathway. **Conclusion:** Xiao Xianxiong tang is a multi-component, multi-target and multi-pathway process in the treatment of T2DM. It plays an important role in the treatment of T2DM by regulating transcription, oxidative stress, protein binding and inflammatory reaction. **Conclusion:** The mechanism of Xiao Xianxiong tang in treating T2DM may alleviate insulin resistance, increase insulin sensitivity and reduce blood sugar by inhibiting the secretion of inflammatory factors, participating in anti-inflammatory response, reducing oxidative stress, increasing intracellular calcium concentration, blocking glucagon signaling pathway and activating PI3K/Akt pathway.

[**Key words**] Xiao Xianxiong tang; type 2 diabetes mellitus; network pharmacology; mechanism of action

糖尿病是一种复杂的代谢疾病,其特征是血糖水平升高,胰岛素分泌和胰岛素作用缺陷。2015 年全球糖尿病发病率超过 4.15 亿,预计到 2040 年将达到 6.42 亿^[1]。随着我国经济发展,糖尿病患病率迅速上升,糖尿病与心血管病和肿瘤已成为威胁人民健康的三大慢性病。在过去的 30 年里,经过 7 次全国调查发现,中国大陆的糖尿病发患者群增长了 17 倍,并且糖尿病和糖调节异常在中国已经逐渐成为了流行病^[2]。由于发病机制不同,糖尿病有 1 型和 2 型两种主要形式^[3-4]。2 型糖尿病(T2DM)影响了 90%~95% 的糖尿病患者,是全球超过 3.8 亿人的一个重要健康问题。传统疗法如胰岛素和其他口服药物有导致低血糖症的危险,从而进一步加重患者的经济负担。因此,迫切需要开发出最佳有效的治疗方法。最近,基于其安全性、成本和有效性,中药被认为是一种潜在的糖尿病治疗方法^[5]。

小陷胸汤出自《伤寒论》,是治疗痰热互结的代表方剂,小陷胸汤治疗糖尿病及其并发症的临床研究有诸多报道,如用小陷胸汤干预糖尿病前期痰湿蕴热质患者,结果发现小陷胸汤能明显改善患者胰岛素抵抗,保护胰岛 β 细胞功能,阻止和逆转糖尿病的发展^[6],张增建^[7]报道,加味小陷胸汤治疗 73 例糖尿病皮肤瘙痒症患者,能够有效消除患者皮肤瘙痒症状,复发率低,效果满意,但是由于小陷胸汤成分复杂多样,其所发挥治疗 T2DM 的作用机制目前

尚未有明确研究报道。

由于中药成分的多样性,与人体相互作用的复杂性,中药复方的研究存在着成分过于复杂,作用机制不清的难题^[8],目前发掘复方的潜在分子机制仍然相当困难。现有研究多局限于针对某一靶点或某一基因阐释中药及中药复方的作用机制及通路,对中药多成分、多靶点、多途径的特点缺乏宏观的认识与分析^[9]。随着网络药理学的提出,单一靶标的研究逐步向整体、系统的调节研究转变^[10],通过生物学网络节点的连接和关系分析“分子-靶点-通路-疾病”的多层次网络,进而阐明中药复方的作用机制,实现分子作用的综合网络分析,最终从整体角度更加透彻地了解中药与机体的相互作用。本研究运用网络药理学技术与方法,对小陷胸汤治疗 T2DM 的作用机制进行从单一到整体、从部分到系统的研究,研究结果将对以后的实验研究指明方向。

1 方法

1.1 小陷胸汤的活性成分及靶点挖掘 中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)是一种独特的中草药系统药理学平台,他能捕捉药物、靶标和疾病之间的关系,能够从整体水平研究药物靶标网络和疾病网络,揭示中药性质与作用机制^[11-13]。借助 TCMSP 在线平台(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)获取小陷胸汤(黄连片、法半夏、瓜蒌)中各个中药的化学成分,根据口服生物利用度(OB)和类药

性(DL)筛选出符合条件的候选化合物其对应靶点,然后借助 Uniprot 数据库和美国国家生物技术信息中心数据库(NCBI),将物种限定为“人”,将靶点转换成对应的基因。

1.2 T2DM 相关靶点获取 以“type 2 diabetes mellitus”为检索词,在 Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>)中搜索 T2DM 的相关靶点。

1.3 “中药化学成分-作用靶点”网络的构建和分析 将中药的预测靶点与 T2DM 相关靶点取交集,所得交集靶点即为小陷胸汤作用于 T2DM 的预测靶点。构建中药化学成分-作用靶点网络,利用 Cytoscape3.7.1 软件中的“Network Analyzer”功能对中药化学成分-作用靶点网络进行分析,节点(node)代表小陷胸汤中所含药物化学成分与潜在作用靶点;边(edge)展现了中药成分和其作用靶点之间的联系,根据化合物与靶点连接情况筛选出小陷胸汤作用于 T2DM 的关键化合物。

1.4 PPI 网络的构建及关键靶点筛选 将药物-疾病交集靶点导入 STRING(<https://string-db.org/>)数据库进行蛋白质与蛋白质相互作用(PPI)分析,限定研究物种为“人”(“Homo sapiens”),最低相互作用评分设置为最高置信度[“highest confidence (0.900)”],其余参数保持默认设置,得到小陷胸汤作用于 T2DM 的 PPI 网络。借助 Cytoscape3.7.1 软件中的“Network Analyzer”对 PPI 网络进行拓扑分析,选取自由度(Degree),介数(Betweenness)和中心性(Closeness)都大于平均值的靶点为关键靶点。

1.5 基因本体(GO)功能分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将药物-疾病交集基因导入 DAVID6.8 数据库,输入靶基因名称列表,限定物种为“Homo Sapiens”,将靶基因名修正为官方名称(“official gene symbol”),设定阈值 $P < 0.05$,进行 GO 分析和基于 KEGG 通路富集分析。

2 结果

2.1 候选化合物及靶点的筛选结果 小陷胸汤中有黄连、半夏和瓜蒌共 3 味中药,在 TCMSP 中获得此 3 味药化合物共 244 个,设定 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$,得到筛选出有效化合物共 38 个,逐一对应靶点发现 8 个化合物无对应靶点,即小陷胸汤有效化合物 30 个,对应 168 个靶点。

2.2 T2DM 靶点基因获取结果 从 Gene Cards 数据库中检索到 T2DM 相关靶点基因 1 542 个。

2.3 网络构建及分析结果 将 168 个化合物靶点与 1 542 个 T2DM 靶点基因取交集,得到 156 个交

集基因,对应小陷胸汤中 30 个候选化合物,其中对应黄连化合物 11 个,半夏化合物 10 个,瓜蒌化合物 9 个,具体信息见表 1。借助软件 Cytoscape3.7.1 构建中药化合物-靶点基因相互作用网络,网络中有 186 个节点(小陷胸汤化合物节点 30 个,靶点基因节点 156 个)和 311 条边,见图 1。图中度值最高的化合物为槲皮素(querعتin),其次为 R-氢化小檗碱

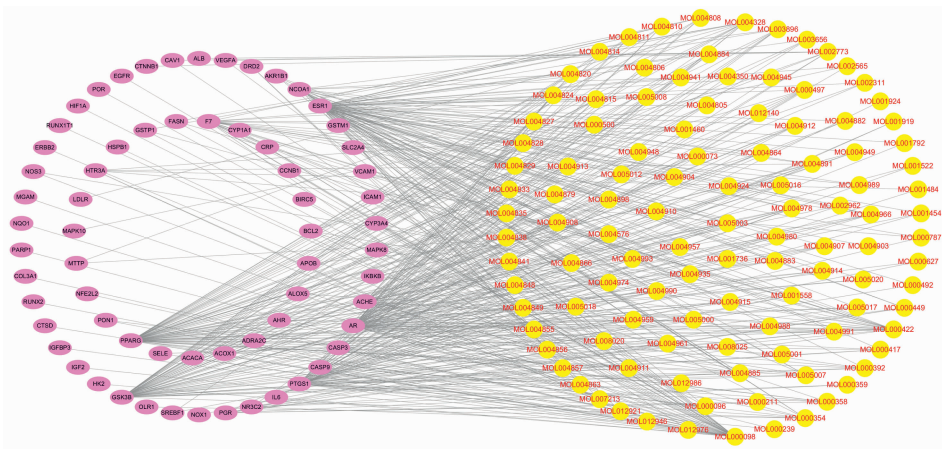
表 1 小陷胸汤中候选化合物成分

Table 1 Candidate compounds in Xiao Xianxiongtang

药物	化合物名称	CAS 编号	OB/%	DL	
黄连	berberine	2086-83-1	36.86	0.78	
	berberrubine	15401-69-1	35.74	0.73	
	epiberberine	6873-09-2	43.09	0.78	
	R-canadine	5096-57-1	55.37	0.77	
	berlambine	549-21-3	36.68	0.82	
	corchoroside A _{qt}	508-76-9	104.95	0.78	
	magnograndiolide	92618-98-9	63.71	0.19	
	palmatine	3486-67-7	64.6	0.65	
	quercetin	117-39-5	46.43	0.28	
	coptisine	3486-66-6	30.67	0.86	
半夏	worenine	38763-29-0	45.83	0.87	
	24-ethylcholest-4-en-3-one	84924-96-9	36.08	0.76	
	cavidine	32728-75-9	35.64	0.81	
	baicalein	491-67-8	33.52	0.21	
	beta-sitosterol	83-46-5	40.12	0.75	
	stigmasterol	83-48-7	36.91	0.75	
	gondoic acid	5561-99-9	43.83	0.76	
	coniferin	124151-33-3	30.70	0.20	
	10,13-eicosadienoic (3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl) piperazine-2,5-quinone	30223-50-8	N/A	39.99	0.20
	cycloartenol	469-38-5	42.15	0.24	
瓜蒌	mandenol	544-35-4	42.00	0.19	
	diosmetin	520-34-3	31.14	0.27	
	spinasterol	481-18-5	42.98	0.76	
	hydroxygenkwanin	2586-96-1	36.47	0.27	
	schottenol	521-03-9	37.42	0.75	
	10 α -cucurbita-5,24-diene-3 β -ol	35012-08-9	44.02	0.74	
	5-dehydrokarounidiol	148016-79-9	30.23	0.77	
	7-oxo-dihydrokaro-unidiol	N/A	36.85	0.75	
	linolenic acid ethyl ester	1191-41-9	43.99	0.50	

(*R*-canadine), 黄芩素 (baicalein), 小檗浸碱 (berlambine) 和 β -谷甾醇 (beta-sitosterol) 等, 见表 2。

这些度值较高的化合物可能是小陷胸汤发挥治疗 T2DM 的关键化合物。



绿色椭圆为半夏化合物, 蓝色椭圆为瓜蒌化合物, 紫色椭圆为黄连化合物, 黄色椭圆为交集靶点

图 1 中药化合物-靶点网络

Fig. 1 Traditional Chinese medicine (TCM) compound-target network diagram

表 2 小陷胸汤治疗 T2DM 关键化合物基本信息

Table 2 Basic information of key compounds in Xiao Xianxiong tang

中药	化合物	CSA 编号	边数/个
黄连	槲皮素 (quercetin)	117-39-5	127
黄连	<i>R</i> -氢化小檗碱 (<i>R</i> -canadine)	5096-57-1	20
半夏	黄芩素 (baicalein)	491-67-8	18
黄连	小檗浸碱 (berlambine)	549-21-3	14
半夏	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	83-46-5	14
黄连	巴马汀 (palmatine)	3486-67-7	13
半夏	豆甾醇 (stigmasterol)	83-48-7	13
黄连	黄连素 (berberine)	2086-83-1	12
黄连	小檗红碱 (berberrubine)	15401-69-1	10
黄连	表小檗碱 (epiberberine)	6873-09-2	9
半夏	卡文定碱 (cavidine)	32728-75-9	9
黄连	黄连碱 (coptisine)	3486-66-6	8
半夏	松柏萜 (coniferin)	124151-33-3	7
黄连	甲基黄连碱 (worenine)	38763-29-0	6

2.4 靶蛋白相互作用网络的构建及关键靶点筛选结果

为了进一步研究小陷胸汤治疗 T2DM 的作用机制, 将 156 个映射得到的交集靶点通过 STRING 数据库进行 PPI 网络分析, 见图 2。网络中有 135 个靶点可以发生蛋白相互作用 (有 21 个靶点未发生蛋白相互作用), 489 条边代表了蛋白之间相互作用。网络中各节点的平均自由度为 7.244, 平均介数为 1.14×10^{-3} , 平均中心度数为 0.468, 自由度、介数、中心度

数均超过平均值的靶点有 18 个, 见表 3。推测这些靶点可能是小陷胸汤治疗 T2DM 的关键靶点。

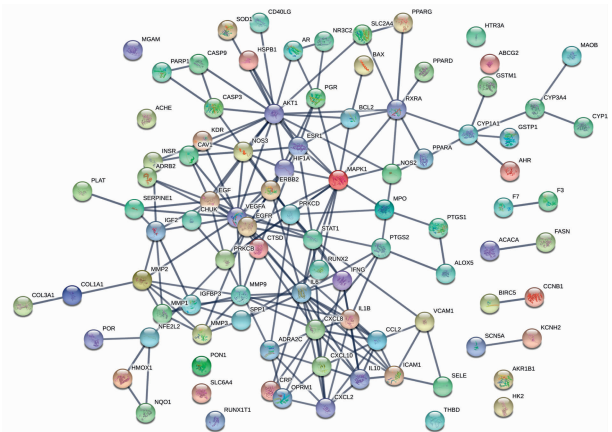


图 2 小陷胸汤治疗 T2DM 靶蛋白 PPI 网络

Fig. 2 PPI network diagram of Xiao Xianxiong tang in treatment of T2DM target protein

2.5 GO 功能分析结果

156 个小陷胸汤-T2DM 交集基因影响了 75 个生物学过程 ($P < 0.01$, $FDR < 0.01$), 选取 P 值排名前 20 的功能信息, 见表 4, 图 3。图表显示小陷胸汤活性成分主要富集在应对药物, RNA 聚合酶 II 启动子转录正调控、应对脂多糖、DNA 模板转录正调节、应对雌二醇、老化、应对缺氧、血管收缩正调节、应对有毒物质、血管生成正调节、一氧化氮生物合成过程的正调控、应对乙醇、炎症反应等生物过程中; 在分子功能方面, 主要在涉及了固醇激素受体, RNA 聚合酶 II 转录因子活性, 配体激活序列特异性 DNA 结合、蛋白结合、血管收缩

表 3 小陷胸汤治疗 T2DM 关键基因基本信息

Table 3 Basic information of key genes in treatment of T2DM with Xiao Xianxiongtang

基因	全称	自由度	介数	中心度数
JUN	原癌基因 jun(jun proto-oncogene)	32	0.014 58	0.576
AKT1	丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (serine/threonine kinase 1)	30	0.003 45	0.484
RELA	原癌基因 RELA(RELA proto-oncogene)	25	0.008 04	0.558
IL-6	白细胞介素-6(interleukin 6)	22	0.004 93	0.508
EGFR	表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)	19	0.012 88	0.692
FOS	原癌基因 fos(Fos proto-oncogene)	19	0.005 05	0.514
CXCL8	c-x-c 基序趋化因子配体 8(C-X-C motif chemokine ligand 8)	18	0.005 63	0.579
PRKCA	蛋白激酶 C α (protein kinase C alpha)	17	0.004 46	0.472
PRKCB	蛋白激酶 C β (protein kinase C beta)	15	0.005 41	0.700
RB1	Rb 转录共压子 1(RB transcriptional corepressor 1)	14	0.005 33	0.833
IL-1 β	白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta)	14	0.002 62	0.833
EGF	表皮生长因子(epidermal growth factor)	14	0.005 96	0.667
CASP8	凋亡蛋白酶-8(Caspase-8)	12	0.007 18	0.600
CYP1A1	细胞色素 P450 家族 1 亚家族成员 1(cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1)	10	0.003 34	0.750
CASP3	凋亡蛋白酶-3(Caspase-3)	9	0.002 20	0.556
PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma)	9	0.001 64	0.500
ICAM1	胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule 1)	8	0.001 78	0.571
ERBB2	erb-b2 受体酪氨酸激酶 2(erb-b2 receptor tyrosine kinase 2)	8	0.001 29	0.571

的正调节、转录因子结合、应对有毒物质、相同的蛋白质结合等；在细胞组成方面主要和细胞外间隙有关。

2.6 KEGG 富集通路分析结果 KEGG 通路富集分析发现,156 个交集靶点基因显著富集在 44 条通路上 ($P < 0.05$, $FDR < 0.01$) 其中 17 条通路与 T2DM 密切相关,见图 4,其中最有意义的 10 条通路包括缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路,肿瘤坏死因子(TNF)信号通路,Toll 样受体信号通路,甲状腺激素信号通路,磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(P13K/Akt)信号通路,乙型肝炎,丙型肝炎,酪氨酸激酶受体 2(ErbB)信号通路,钙离子信号通路和核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,提示小陷胸汤通过作用以上多条通路来发挥治疗 T2DM 的作用。

3 讨论

本研究基于网络药理学的技术,借助相应的数据库和软件,构建了网络并对靶点进行了通路富集分析,科学系统地探讨了小陷胸汤治疗 T2DM 的作用机制。

研究显示,小陷胸汤发挥治疗 T2DM 的关键化合物有槲皮素、黄芩素、黄连素、小檗红碱、表小檗碱等。已有研究报道,槲皮素可能通过抗氧化应激和

抗炎来减轻胰岛素抵抗,还能通过腺苷酸依赖的蛋白激酶(AMPK)途径改善胰岛素抵抗状态,发挥治疗 T2DM 的作用^[14-15];黄芩素能够通过清除自由基和抗氧化^[16]、降低血脂、抑制 α -葡萄糖苷酶活性^[17]、调节炎症细胞因子^[18]、保护 β 细胞功能^[19] 等途径来降低血糖;小檗碱能够通过抑制 Toll 样受体与脂多糖结合而减轻炎症反应,改善胰岛素抵抗^[20],还能抑制氧化应激和炎症反应抑制 T2DM 发生和发展^[21]。本研究结果与以上报道相符,说明小陷胸汤治疗 T2DM 具有多成分共同作用的特点

GO 功能富集分析提示小陷胸汤治疗 T2DM 可以通过作用多个靶点来发挥作用。

KEGG 富集通路分析发现 17 条通路与 T2DM 发病密切相关,其中多条通路与 T2DM 及其并发症的关系已被实验或临床研究验证,例如,患有乙肝或丙肝的患者更容易发生糖尿病,可能机制在于肝炎病毒感染会导致肝脏代谢异常,进而产生胰岛素抵抗^[22],乙肝病毒可以通过损伤肝功能而导致肝脏糖代谢异常^[23],丙肝病毒可以影响胰岛素信号传导、影响脂代谢和损伤胰岛细胞等,从而促使糖尿病的发生发展^[24];HIF- α 和糖尿病及其并发症的发生发展关系密切^[25],高糖缺氧状态下,细胞中会聚集大

表 4 药物-疾病交集基因具有的功能信息

Table 4 Functional information of drug-disease intersection genes

ID	Term	总数	P
GO:0042493	response to drug	29	2.94×10^{-20}
GO:0019899	enzyme binding	28	2.91×10^{-18}
GO:0005615	extracellular space	48	1.44×10^{-17}
GO:0045944	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	42	9.19×10^{-17}
GO:0003707	steroid hormone receptor activity	13	8.51×10^{-14}
GO:0032496	response to lipopolysaccharide	18	1.76×10^{-13}
GO:0045893	positive regulation of transcription, DNA-templated	28	2.10×10^{-13}
GO:0004879	RNA polymerase II transcription factor activity, ligand-activated sequence-specific DNA binding	11	6.17×10^{-13}
GO:0032355	response to estradiol	14	2.19×10^{-12}
GO:0007568	aging	17	2.65×10^{-12}
GO:0001666	response to hypoxia	17	5.04×10^{-12}
GO:0005515	protein binding	122	7.10×10^{-12}
GO:0045907	positive regulation of vasoconstriction	10	9.01×10^{-12}
GO:0008134	transcription factor binding	20	1.32×10^{-11}
GO:0009636	response to toxic substance	13	1.83×10^{-11}
GO:0042802	identical protein binding	30	3.28×10^{-11}
GO:0045766	positive regulation of angiogenesis	14	4.62×10^{-11}
GO:0045429	positive regulation of nitric oxide biosynthetic process	10	1.66×10^{-10}
GO:0045471	response to ethanol	13	2.32×10^{-10}
GO:0006954	inflammatory response	21	3.24×10^{-10}

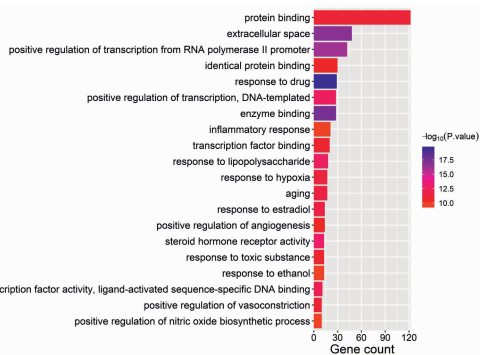
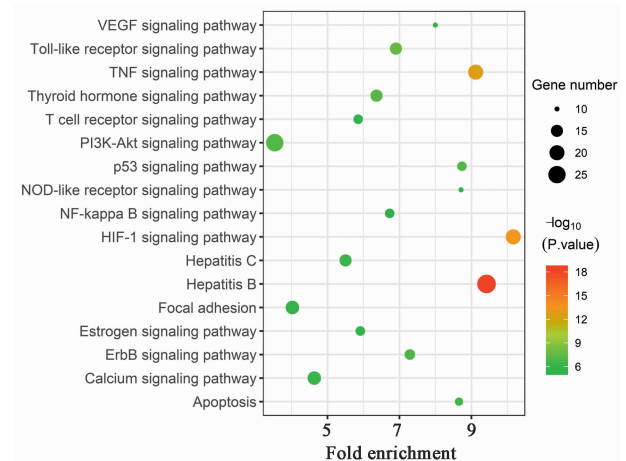


图 3 GO 功能富集分析柱状

Fig. 3 Histogram of GO function enrichment analysis

量 HIF- α ,加重糖尿病患者缺血缺氧状态而促进糖尿病并发症发生^[26];TNF 能够通过促进炎症因子的释放来诱导细胞凋亡^[27],TNF- α 与胰岛素抵抗有密切关系^[28],机制可能与 TNF- α 通过激活 NF- κ B 信号通路,抑制胰岛素信号传导有关^[29],此外,血清 TNF- α 水平与糖尿病肾病病程呈正相关,可能机制在于 TNF- α 通过产生炎症反应细胞因子,增加微血管通透性,从而损伤糖尿病肾小球组织^[30];Toll 样受体信号通路的激活与胰岛素抵抗有关,糖尿病患者



圆点越大,富集基因数越多;P 值越小,圆点颜色越红

图 4 小陷胸汤治疗 T2DM 关键靶点参与的通路富集信息

Fig. 4 Pathway enrichment information involving key targets of Xiao Xianxiongtang in treatment of T2DM

者体内 Toll 样受体 TLR2 和 TLR4 的表达增多,会促进 β 细胞凋亡,抑制胰岛素分泌,且导致胰岛素敏感性下降,进而促进糖尿病的发展^[31-33],高糖或高脂可以激活 Toll 样受体 4,促使靶细胞脱敏而加重胰

胰岛素抵抗^[34-35];糖尿病患者甲状腺水平下降会降低胰岛素敏感性、提高心血管疾病发生的风险^[36],游离三碘甲状腺原氨酸 FT3 会随着肾功能的减弱而下降^[37],FT3 水平的下降与糖尿病肾病的不良预后有着密切关系,可能与肾灌注减少、血脂紊乱和动脉硬化等有关^[38];PI3K/Akt 信号通路 with 葡萄糖代谢有着密切关系,该通路被抑制可引起胰岛素抵抗进而发生 T2DM^[39];ErbB2 受体信号转导缺陷容易导致心脏受损^[40-41],链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠实验证明 ErbB2 受体活化抑制会减弱其对心脏的保护,诱导细胞凋亡^[42];细胞内钙离子浓度与胰岛 β 细胞的分泌功能呈正相关^[43],研究表明骨钙素能够促进胰岛 β 细胞增殖、增加胰岛素分泌,提高机体对胰岛素的敏感性,还可以直接作用于胰岛细胞或通过脂联素途径来参与调节血糖代谢^[44-46];高糖刺激可以激活 NF- κ B,促进内皮细胞的凋亡,进而导致糖尿病心血管并发症^[47-48]。

小陷胸汤可以通过干预以上通路发挥治疗 T2DM 作用,例如,黄连素可以降低慢性肝炎患者和 IL-1 和 TNF- α 表达,显示出明显的抗炎作用^[49],还可以很好地保护 T2DM 大鼠的大血管,减轻糖尿病大鼠的糖尿病并发症,机制可能是其能够改善糖脂代谢并能够激活 PI3K/Akt/eNOS 通路^[50];槲皮素可以通过降低机体氧化应激水平而降低 T2DM 大鼠的血糖^[51],还可以有效抑制血管平滑肌细胞的 TNF- α 和单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 等炎症因子分泌^[52];小檗碱可以阻止脂多糖和 Toll 样受体结合来降低炎症反应、改善胰岛素抵抗从而发挥治疗 T2DM 作用^[20],可以很好地保护 T2DM 心肌病大鼠的心肌结构和心脏功能损伤^[53],还能够通过抑制肝脏组织中的 NF- κ B p65 蛋白活性来阻断胰高血糖素信号通路,从而降低空腹血糖水平^[54];黄连可以抑制热证模型大鼠血清中 FT3 含量的降低,使甲状腺功能恢复正常^[55];黄芩素能够升高细胞内钙离子浓度来促进胰岛素分泌,发挥治疗 T2DM 的作用^[56],还可以通过调节细胞内钙离子浓度、参与抗氧化来抑制缺氧/复氧导致的心肌细胞凋亡^[57]。

本研究结果结合已有报道发现,小陷胸汤可以通过干预以上多条通路来发挥治疗作用。

综上所述,本研究基于网络药理学的方法和技术,阐述了小陷胸汤治疗 T2DM 的活性成分、作用靶点和作用通路之间的关系,发现小陷胸汤多成分、多靶点、多通路的特点,通路富集结果提示小陷胸汤治疗 T2DM 的机制可能是通过抑制炎症因子分泌,参

与抗炎反应,降低氧化应激,升高细胞内钙离子浓度阻断胰高血糖素信号通路,激活 PI3K/Akt 通路等来改善胰岛素抵抗,提高胰岛素敏感性,降低血糖。

本研究为进一步的实验研究和临床应用提供思路和参考依据,也为中药复方作用机制提供了新方向。但是,本研究依旧存在一些不足需要解决,如网络药理学是基于数据进行研究,数据搜集的全面与否及活性成分筛选标准的制定尚不能做到完全准确。此外,本研究尚未考虑药物剂量及煎服方法对治疗结果的影响,因此本研究组将在今后进一步通过实验去验证本研究结果。

[参考文献]

- [1] QI G, LIANG C, Keping C. Treatment of diabetes mellitus using iPSC cells and spice polyphenols [J]. J Diabetes Res, 2017, doi:10.1155/2017/5837804.
- [2] SHEN X, Vaidya A, WU S, et al. The diabetes epidemic in china: an integrated review of national surveys [J]. Endocr Pract, 2016, 22: 1119-1129.
- [3] World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus [M]. Geneva: Department of Noncommunicable Disease Surveillance, 1999.
- [4] 施岚尔, 聂课朝, 张文婧, 等. 基于网络药理学探讨大黄黄连泻心汤治疗 2 型糖尿病作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(18): 160-166.
- [5] 宋丽娜, 宋菊敏. 胰岛 β 细胞胰岛素抵抗的研究进展 [J]. 医学综述, 2009, 15(3): 440-442.
- [6] 张利民, 邹莲霞, 巫祖强, 等. 小陷胸汤对糖尿病前期痰湿蕴热质患者胰岛素抵抗指数及 β 细胞功能的影响 [J]. 成都中医药大学学报, 2018, 41(4): 52-55.
- [7] 张增建. 加味小陷胸汤治疗糖尿病皮肤瘙痒症疗效观察 [J]. 光明中医, 2016, 31(3): 361-362.
- [8] 陈凯, 刘馨, 管怡晴, 等. 基于网络药理学构建新型中药复方降压抗纤方抗高血压心肌纤维化的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(20): 115-122.
- [9] 师帅, 胡元会, 吴华芹, 等. “丹参-三七”药对作用机制的网络药理学探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 192-197.
- [10] 王萍, 唐仕欢, 苏瑾, 等. 基于整合药理学的中药现代研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1297-1302.
- [11] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSPP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6(1): 13.
- [12] YANG Y F, YAN L, WANG J H, et al. Systematic

- investigation of *Ginkgo biloba* leaves for treating cardio-cerebrovascular diseases in an animal model [J]. ACS Chem Biol, 2017, 12(5):1363-1372.
- [13] 卢文丹,李莉,申艳佳,等. 基于血管舒缩相关 GPCR 靶点的小续命汤网络药理学研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(23):4698-4708.
- [14] Panchal S K, Poudyal H, Brown L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats [J]. J Nutr, 2012, 142(6):1026-1032.
- [15] Dhanya R, Arya A D, Nisha P, et al. Quercetin, a lead compound against type 2 diabetes ameliorates glucose uptake via AMPK pathway in skeletal muscle cell line [J]. Front Pharmacol, 2017, 8:336.
- [16] Kwak H J, YANG D, Hwang Y, et al. Baicalein protects rat insulinoma INS-1 cells from palmitate-induced lipotoxicity by inducing HO-1 [J]. PLoS One, 2017, 12(4):e0176432.
- [17] YANG J R, LUO J G, KONG L Y. Determination of α -glucosidase inhibitors from *Scutellaria baicalensis* using liquid chromatography with quadrupole time of flight tandem mass spectrometry coupled with centrifugal ultrafiltration [J]. Chin J Nat Med, 2015, 13(3):208-214.
- [18] CHEN M, YANG Z D, Smith K M, et al. Activation of 12-lipoxygenase in proinflammatory cytokine-mediated beta cell toxicity [J]. Diabetologia, 2005, 48(3):486-495.
- [19] FU Y, LUO J, JIA Z, et al. Baicalein protects against type 2 diabetes via promoting islet β -cell function in obese diabetic mice [J]. Int J Endocrinol, 2014, doi: 10.1155/2014/846742.
- [20] Jeong J J, JANG S E, Hyam S R, et al. The rhizome mixture of *Anemarrhena asphodeloides* and *Coptidis chinensis* ameliorates acute and chronic colitis mice by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to TLR4 and IRAK1 phosphorylation [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 10:1-11.
- [21] 李爱云,杨京,张昕宇,等. 小檗碱治疗 2 型糖尿病降血糖机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22):219-226.
- [22] 邓舒妮,张学思,李新玥,等. 慢性丙型肝炎病毒感染患者发生 2 型糖尿病的流行病学调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(6):1279-1283.
- [23] 张蕙彦. 慢性乙型肝炎病人 2 型糖尿病流行情况调查与相关因素分析 [J]. 中国卫生产业, 2014, 11(33):56-57.
- [24] 李平,汪茂荣. 丙型肝炎病毒感染与 2 型糖尿病相关性研究进展 [J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(2):253-256.
- [25] Girgis C M, CHENG K, Scott C H, et al. Novel links between HIFs, type 2 diabetes, and metabolic syndrome [J]. Trends Endocrinol Metab, 2012, 23(8):372-380.
- [26] XIA M H, HUANG R I, Semenza G L, et al. Identification of chemical compounds that induce HIF-1 α activity [J]. Toxicol Sci, 2012, 112(1):153-163.
- [27] Croft M, Benedict C A, Ware C F. Clinical targeting of the TNF and TNFR superfamilies [J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(2):147-168.
- [28] Hivert M F, Sullivan L M, Fox C S, et al. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor- α with insulin resistance [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(8):3165-3172.
- [29] Gratas-Delamarche A, Derbré F, Vincent S, et al. Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammatory loop [J]. Free Radic Res, 2014, 48(1):93-108.
- [30] 危正南,李涛,张庆红,等. MIF、TLR4、TNF- α 水平在糖尿病肾病患者中的变化及其临床意义 [J]. 疑难病杂志, 2016, 15(2):165-168.
- [31] Monden M, Koyama H, Otsuka Y, et al. Receptor for advanced glycation end products regulates adipocyte hypertrophy and insulin sensitivity in mice: involvement of Toll-like receptor 2 [J]. Diabetes, 2012, 62(2):478-489.
- [32] Kim H S, HAN M S, Chung K W, et al. Toll-like receptor 2 senses beta-cell death and contributes to the initiation of autoimmune diabetes [J]. Immunity, 2007, 27(2):321-333.
- [33] Schulthess F T, Paroni F, Sauter N S, et al. CXCL10 impairs beta cell function and viability in diabetes through TLR4 signaling [J]. Cell Metab, 2009, 9(2):125-139.
- [34] 刁红杰,鲁燕. Toll 样受体 4 介导的炎症反应与肥胖和胰岛素抵抗的研究进展 [J]. 中国糖尿病杂志, 2016, 11:1044-1048.
- [35] Kim J J, Sears D D. TLR4 and insulin resistance [J]. Gastroenterol Res Pract, 2010, 10:212563.
- [36] 马艳庆,张晓娟. 甲状腺激素水平与 2 型糖尿病患者代谢指标的关联性研究 [J]. 医药论坛杂志, 2018, 39(12):173-175.
- [37] 吴小梅,何爱琴,鲁一兵. 糖尿病肾病患者甲状腺激素水平变化及其与肾功能的关系 [J]. 山东医药, 2015, 55(37):37-39.
- [38] 贾方,王小娟,田晶,等. 2 型糖尿病患者中亚临床甲

- 状腺功能减退症与慢性肾脏病的相关性分析[J]. 山西医科大学学报, 2014, 45(11):1028-1031.
- [39] 李斌, 范源, 李鑫. 基于 PI3K/Akt 信号通路的中药治疗 2 型糖尿病胰岛素抵抗研究进展[J]. 中成药, 2017, 39(1):151-154.
- [40] Lemmens K, Doggen K, De Keulenaer G W. Role of neuregulin-1/ErbB signaling in cardiovascular physiology and disease: implications for therapy of heart failure[J]. *Circulation*, 2007, 116(8):954-960.
- [41] LIU X, GU X, LI Z, et al. Neuregulin-1/erbB-activation improves cardiac function and survival in models of ischemic, dilated, and viral cardiomyopathy [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48(7):1438-1447.
- [42] 雷蕾, 桂春, 胡明, 等. ErbB2 受体在糖尿病心肌病大鼠中表达和磷酸化的改变[J]. 岭南心血管病杂志, 2011, 17(3):228-231, 254.
- [43] 娄雪林, 徐涛, 周专. 胰腺 β 细胞的离子通道和胰岛素分泌[J]. 生命的化学, 2001, 21(2):150-152.
- [44] Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, et al. Osteocalcin differentially regulates A cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(13):5266-5270.
- [45] Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity [J]. *Nat Med*, 2001, 7(8):941-946.
- [46] Hwang Y C, Jeong I K, Ahn K J, et al. The uncarboxylated form of osteocalcin is associated with improved glucose tolerance and enhanced beta-cell function in middle-aged male subjects [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2009, 25(8):768-772.
- [47] 李连涛, 林丽香, 陈刚, 等. NF- κ B 信号通路对糖尿病血管内皮的影响[J]. 福建医药杂志, 2017, 39(6):14-19.
- [48] Sheu M L, Ho F M, CHAO K F, et al. Activation of phosphoinositide 3-kinase in response to high glucose leads to regulation of reactive oxygen species-related nuclear factor-kappaB activation and cyclooxygenase-2 expression in mesangial cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 66(1):187-196.
- [49] 赵曼. 黄连素治疗慢性乙型肝炎合并胆囊炎前后的血清细胞因子的变化[C] // 湖南中医药大学学报 2016/专集:国际数字医学会数字中医药分会成立大会暨首届数字中医药学术交流会论文集, 珠海, 2016:121-122.
- [50] 封芬, 谭安雄, 邓集湘. 黄连素对 2 型糖尿病大鼠胸主动脉 PI3K/Akt/eNOS 信号通路的影响[J]. 中国当代医药, 2018, 25(30):12-19.
- [51] 王建礼, 杨作成, 王聪, 等. 槲皮素对糖尿病大鼠的降糖作用及机制研究[J]. 济宁医学院学报, 2018, 41(2):135-138.
- [52] 李海禹, 孟哲, 王琛, 等. 槲皮素对氧化低密度脂蛋白诱导的血管平滑肌细胞炎症反应的影响[J]. 中国合理用药探索, 2018, 15(3):29-33.
- [53] 霍梦露, 王瑞瑶, 李超, 等. 小檗碱对高糖高脂饲料联合链脲佐菌素诱导的糖尿病心肌病大鼠的保护作用[J]. 中国临床保健杂志, 2019, 22(3):377-382.
- [54] 李爱云, 钟丛丛, 张宁. 小檗碱抑制 NF- κ B p65 改善肝脏糖异生的作用研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(5):1956-1960.
- [55] 王静, 陈悦, 袁子民. 黄连胆汁炙前后对热证模型大鼠血清甲状腺激素水平和体温的影响[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(12):1417-1419.
- [56] 郭阳艳, 刘萌萌, 杨晓华, 等. 黄芩素对大鼠胰岛素分泌的作用及机制研究[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6):820-824.
- [57] LU Y, KONG L C, ZHANG Z H. Baicalein protects rat cardiac myocytes from hypoxia/reoxygenation induced apoptosis via antioxidant and modulation of intracellular calcium concentration [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2012, 16(50):9425-9430.

[责任编辑 周冰冰]