

川芎抗动脉粥样硬化作用机制的网络药理学与分子对接技术研究

孟天伟¹, 姜楠¹, 杨欣欣¹, 李呈佳¹, 周亚滨², 刘影哲², 王贺², 常虹³

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江省哈尔滨市 150036; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江省哈尔滨市 150036; 3. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古包头市 014040)

[关键词] 网络药理学; 分子对接; 川芎; 动脉粥样硬化; 作用机制; 靶点; 通路; 富集分析

[摘要] **目的** 使用网络药理学与分子对接技术探究川芎抗动脉粥样硬化的作用机制。**方法** 运用中药系统药理(TCMSP)数据库筛选川芎的活性成分及质控成分,通过 Swiss Target Prediction 预测药物靶点。在 DrugBank 和 DisGeNET 数据库筛选出动脉粥样硬化的相关靶点。通过 STRING 构建靶点蛋白互作网络,运用 Cytoscape 绘制网络并进行拓扑学分析。使用 Omicshare 对相关靶点进行 GO 富集分析与 KEGG 富集分析。运用 DockThor 进行分子对接。**结果** 获得川芎抗动脉粥样硬化的 167 个相关治疗靶点,通过网络拓扑分析发现钙感受受体、丝裂原活化蛋白激酶 3 等 46 个靶点为核心靶点。GO 富集分析发现川芎在生物过程、分子功能、细胞组成多方面影响动脉粥样硬化的发生发展。KEGG 通路富集分析发现,川芎可能通过调节神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路等多条代谢通路来发挥抗动脉粥样硬化的作用。**结论** 运用网络药理学的方法证实了川芎抗动脉粥样硬化具有多途径、多靶点作用的特点。预测了川芎抗动脉粥样硬化的可能机制,为其后续基础研究提供了参考和理论依据。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Network pharmacology and molecular docking technology research on the mechanism of Chuanxiong in the treatment of atherosclerosis

MENG Tianwei¹, JIANG Nan¹, YANG Xinxin¹, LI Chengjia¹, ZHOU Yabin², LIU Yingzhe², WANG He², CHANG Hong³

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150036; 2. The First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150036; 3. Baotou Medical College, Baotou, Inner Mongolia 014040, China)

[KEY WORDS] network pharmacology; molecular docking; Chuanxiong; atherosclerosis; mechanism of action; target; pathway; enrichment analysis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the mechanism of Chuanxiong in the treatment of atherosclerosis (As) based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** TCMSP database was used to screen the active components of Chuanxiong, and Swiss target prediction was used to predict the drug targets. The relevant targets of As were screened in the databases of DrugBank and DisGeNET. The target protein interaction network was constructed by STRING, and the network was drawn by Cytoscape and analyzed by topology. Omicshare was used for GO enrichment analysis and KEGG enrichment analysis. DockThor was used for molecular docking. **Results** 167 related therapeutic targets were obtained. 46 targets, including CASR and MAPK3 etc. were found to be the core targets by network topology analysis. GO enrichment analysis showed that Chuanxiong could affect the occurrence and development of As in biological process, molecular function and cell composition. KEGG pathway enrichment analysis showed that Chuanxiong might play a role in the treatment of As by regulating multiple metabolic pathways such as neuroactive ligand receptor interaction and calcium signaling pathway etc. **Conclusions** By using network pharmacology method, it was confirmed that Chuanxiong had

[收稿日期] 2021-03-23

[修回日期] 2021-05-13

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82060784);黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q13168)

[作者简介] 孟天伟,硕士,医师,研究方向为中医药防治心血管疾病,E-mail 为 965130748@qq.com。通信作者王贺,博士,主治医师,硕士研究生导师,研究方向为中医药防治心血管疾病,E-mail 为 hehe880803@163.com。

the characteristics of multi-channel and multi-target action in the treatment of As. The possible mechanism of Chuanxiong in the treatment of As was predicted, which provided a reference and theoretical basis for its subsequent basic research.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)导致的心脑血管疾病已成为中国乃至全球范围内位居前列的死亡原因^[1]。近些年来研究认为动脉粥样硬化是对血管局部损伤的一种保护性的炎性反应,当损伤持续一定时间后,血管内膜出现纤维增生,最终形成斑块^[2]。动脉粥样硬化为现代医学病名,将其发病症状与中医古籍记载的疾病对比,认为该病属于中医“脉痹”、“中风”等范畴,《灵枢·经脉篇》有云:“经脉者,所以能决死生,处百病,调虚实,不可不通。”《素问·痹论篇》有云:“痹在于脉则血凝而不流”。经过历代医家总结发现本病为本虚标实证,由于正气不足,六淫夹杂而至,侵袭血脉,致血液凝涩,脉道闭阻。本虚主要是以气虚、阳虚、阴虚为主,病位主要在肝、脾、肾三脏。标实主要有血瘀、气滞、痰湿等,其中血瘀为该病最主要的病理特点,且常常夹杂于其他实邪之中。有研究^[3]证实,痰浊与血脂具有一定相似性,中医中的痰浊证型与高脂血症、动脉硬化等存在紧密的关联性。本病的主要治疗原则为活血化瘀,理气止痛。

川芎是一种产于四川,以根茎入药的中药,色黄白,形中空,性味辛、温,具有活血行气,祛风止痛的作用,归肝、胆、心包经。《本草经解》有云:“主中风入脑头痛,寒痹痠挛,缓急金疮,妇人血闭,无子。”川芎辛温香燥,走而不守,上至巅顶,下行血海,既能行散,又入血分,被称为血中之气药。活血祛瘀作用广泛,适宜瘀血阻滞各种病症;可治头风头痛、风湿痹痛等症。现代医学表明,川芎在治疗冠心病心绞痛及缺血性脑血管病等具有良好的疗效。现代研究^[4]发现,川芎在心脑血管、中枢神经、泌尿、呼吸、消化等系统均具有多方面的药理活性。朱尧等^[5]发现川芎嗪对脂质过氧化反应具有对抗作用,对于早期动脉粥样硬化的病变具有一定的延缓作用。川芎作为临床常用中药,一直被众多研究人员所研究,但在其治疗动脉粥样硬化的众多研究中,更多的是对于川芎中的某一个成分或单靶点,单通路的作用机制的相关研究,本次研究采用网络药理学结和分子对接的方法构建了川芎治疗动脉粥样硬化的相关靶点与通路的网络图,将相关靶点与通路可视化处理后展示,为后续的研究提供参考和依据。

1 材料和方法

1.1 川芎化学成分的获取及相关靶点筛选

通过中药系统药理数据库及分析平台TCMSP^[6](<https://tcmsp.com/tcmsp.php>)以川芎名称或汉语拼音为关键词进行检索,并以口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18作为筛选指标^[7],筛选出符合条件的有效成分;质控成分为药物主要成分,因此将其纳入此次研究之中,结合以往文献与TCMSP获得。

在Pubchem^[8]数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中查找各化学成分的“Smile”值。再通过Swiss Target Prediction^[9](<http://www.swisstargetprediction.ch/>)查找每个成分作用的靶点。将获得的相关靶点输入至UniProt(<https://www.uniprot.org/>)数据库中,以校正靶点名称。

1.2 动脉粥样硬化相关靶点筛选

通过DisGENET^[10]数据库(<http://www.disgenet.org/>)以及DrugBank^[11]数据库(<http://www.drugbank.ca/>),以“Atherosclerosis”为关键词检索,选取基因和疾病的相关性(Score_gda)的平均值0.0401以上的靶点,以保证此次研究的准确性。

1.3 川芎治疗动脉粥样硬化的核心靶点筛选

将川芎中化合物有效成分的靶点与As的靶点对应,筛选出川芎治疗As的相关靶点,将这些靶点输入STRING^[12]数据库(<https://string-db.org/>)中构建蛋白-蛋白互作网络,筛选阈值高于0.900的高置信度靶点。使用Cytoscape3.8.0^[13](<https://cytoscape.org/download.html>)软件构建川芎-As-靶点网络,并通过软件中的Network Analyzer功能进行网络拓扑分析,筛选节点自由度大于平均值6.864的靶点作为核心靶点。

1.4 GO富集分析和KEGG通路富集分析

使用BioMart^[14]进行基因ID类型转换,将GeneName转换成EnsemblGeneID,用于GO二级分类富集分析,BioMart是Ensembl(<http://www.ensembl.org/index.html>)的一个Web工具。使用Omicshare(<http://www.omicshare.com/tools/index.php/>)对川芎化合物成分治疗As的靶点进行GO二级分类富集分析,物种选择“智人”运行获得生物过程(biological processes)、分子功能(molecular functions)、细胞成分(cellular components)分析结果。然后用

Omicshare 对核心靶点进行 KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes) 通路富集分析, 筛选 P 值 < 0.3001 的条目, 认为这些通路在川芎治疗 As 的过程中起到重要作用, 以此来获得显著性较高的分析结果。

1.5 “靶点-通路”网络构建

利用 Cytoscape 软件对靶点与通路之间的关系进行可视化处理, 构建“靶点-通路”的网络药理图, 以便于后续的分析研究。

1.6 分子对接

将川芎的化合物成分与关键靶点进行分子对接, 通过 TCMSP 平台下载化合物的 3D 结构, 在 PDB 数据库中筛选分辨率小于 2.5Å 且与该晶体结构附合有小分子化合物的蛋白结构, 然后下载蛋白质分子结构, 运用受体-配体对接网站 DockThor (<https://dockthor.lncc.br/v2/>) 进行分子对接, 将对接结果通过 PyMol2.4.0^[15] 进行可视化处理, 观察对接亲和力来反映分子间结合的稳定性。

2 结果

2.1 川芎活性成分及潜在靶点的收集与筛选

通过 TCMSP 平台检索中药川芎的成分发现, 川芎的主要化学成分共有 189 个, 通过筛选获得川芎的化学成分为 8 个, 其中有两个质控成分, 分别为川芎嗪与阿魏酸。运用 Swiss Target Prediction 网站检索药物成分靶点后共获得靶点 675 个, 筛选重复后共获得靶点 459 个, 化合物邻苯丙氨酸(perlolyrine) 的靶点信息未被收录, 因此将其去除, 最终获得川芎有效化合物为 7 个, 靶点共 459 个。有效化合物的相关信息如表 1 所示。

表 1. 川芎化合物相关信息
Table 1. Information about Ligusticum
Chuanxiong compound

分子 ID	化合物名称	中文释义	口服生物利用度/%	类药性
MOL001494	Mandenol	曼陀诺	42.00	0.19
MOL002135	Myricanone	杨梅酮	40.60	0.51
MOL002151	Senkyunone	仙酮	47.66	0.24
MOL002157	wallichilide	环糊精	42.31	0.71
MOL000359	Sitosterol	谷甾醇	36.91	0.75
MOL002202	Ligustrazine	川芎嗪	20.01	0.03
MOL000360	Ferulic Acid	阿魏酸	39.56	0.06

2.2 动脉粥样硬化相关靶点的筛选

以“Atherosclerosis”为关键词在 DrugBank 数据库中共检索到疾病靶点数量为 46 个; 在 DisGENET 数据库中共检索到疾病靶点数量为 2 044 个, 以基因和疾病的相关性 (Score_gda) 的平均值为筛选标准, 选择数值在 0.0401 以上的靶点共 435 个, 两个数据库共获得靶点 481 个, 筛除重复靶点后最终获得靶点数量 472 个。

2.3 川芎治疗动脉粥样硬化的核心靶点筛选

将川芎中的靶点基因与 As 的靶点基因比对, 筛选出川芎治疗 As 的靶点数量为 167 个, 将这些靶点基因导入 STRING 数据库中获得靶蛋白互作网络 (图 1), 筛选阈值高于 0.900 的高置信度靶点, 共获得靶蛋白互作信息 503 个, 运用 Cytoscape 软件构建药物成分-疾病-靶点网络, 并通过软件中的 Network Analyzer 功能进行网络拓扑分析, 认为节点自由度大于平均值 6.476 的靶点为川芎治疗 As 的核心靶点, 共获得核心靶点 46 个。在网络中, 某个节点的自由度代表在本网络中该节点与其他节点相互作用的数目, 若自由度的值越大, 则证明该节点的重要性越高, 其中钙敏感受体与丝裂原活化蛋白激酶 3 的自由度为 26, 是本网络中度值最大的靶点, 因此川芎治疗 As 的过程中, 该靶点起到关键作用。

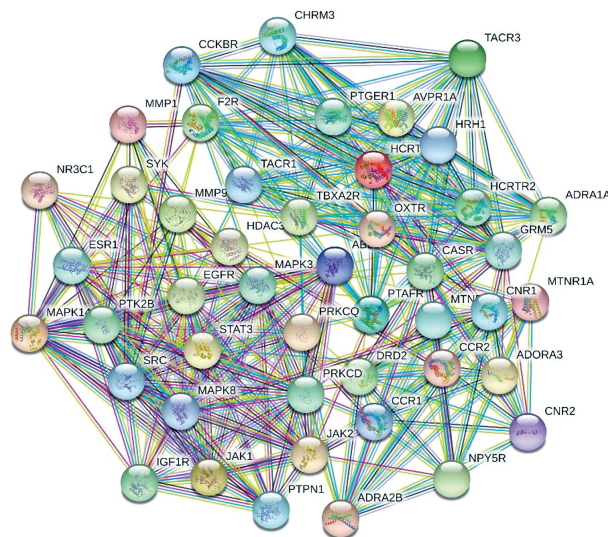


图 1. 川芎治疗 As 靶蛋白互作网络

Figure 1. Interaction network of As target proteins in Chuanxiong treatment

2.4 川芎治疗动脉粥样硬化的相关靶点网络构建

本次研究使用 Cytoscape 绘制出两副网络图, 包括“川芎-川芎各化合物成分-As-靶点”网络图, 以及“核心靶点”网络图 (图 2), 并将核心靶点以表格的

形式呈现出来(表 2)。

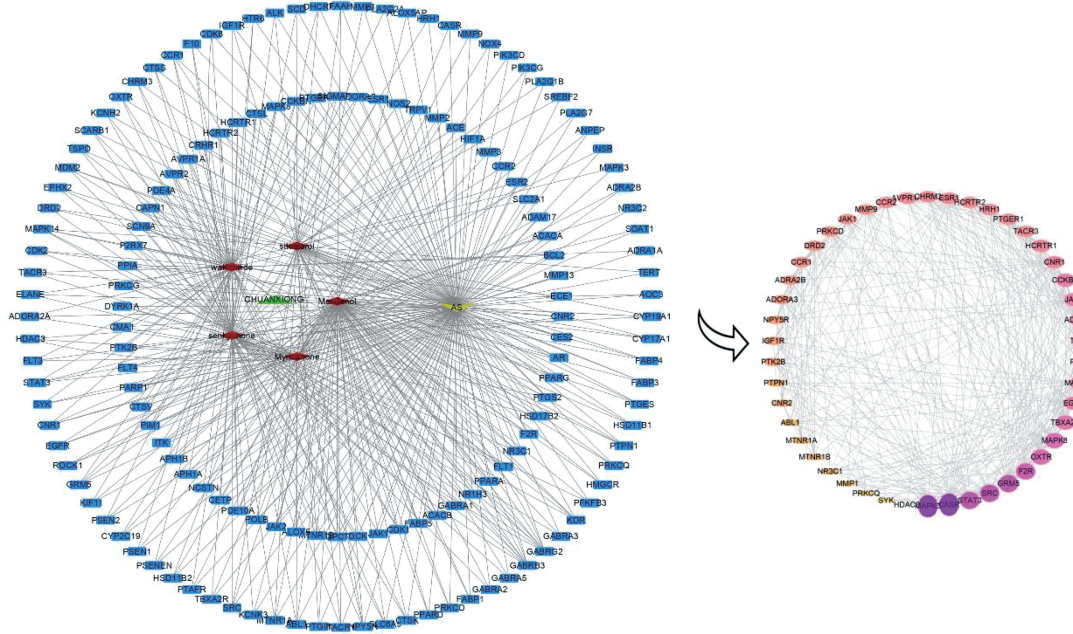


图 2. 川芎治疗 As 的相关网络图

左侧为“川芎-川芎各化合物-As-靶点”网络图,图中蓝色长方形代表相关靶点,红色菱形代表川芎各化合物,绿色三角形代表川芎,黄色箭头代表 As。右侧为核心靶点网络图,从黄色至紫色代表节点的自由度从低到高。

Figure 2. Related network diagram of Ligusticum Chuanxiong treating As

表 2. 核心靶点

Table 2. Core targets

靶点	汉译	自由度	靶点	汉译	自由度
CASR	钙敏感受体	26	CHRM3	胆碱能受体毒蕈碱 3	15
MAPK3	丝裂原活化蛋白激酶 3	26	CCR2	CC 基序趋化因子受体 2	15
GRM5	谷氨酸代谢型受体 5	21	ESR1	雌激素受体 1	15
SRC	SRC 原癌基因,非受体酪氨酸激酶	21	MMP9	基质金属酶 9	14
STAT3	信号转导子和转录激活子 3	21	DRD2	多巴胺受体 D2	14
F2R	凝血因子 II 凝血酶受体	20	CCR1	CC 基序趋化因子受体 1	14
OXTR	催产素受体	19	PRKCD	蛋白激酶 Cδ	14
MAPK8	丝裂原活化蛋白激酶 8	19	JAK1	Janus 激酶 1	14
TBXA2R	血栓烷 A2 受体	18	ADRA2B	肾上腺素受体 2B	13
PTAFR	血小板活化因子受体	17	ADORA3	腺苷 A3 受体	13
CCKBR	胆囊收缩素 B 受体	17	PTK2B	蛋白酪氨酸激酶 2β	12
TACR1	速激肽受体 1	17	IGF1R	胰岛素样生长因子 1 受体	12
ADRA1A	肾上腺素受体 1A	17	NPY5R	神经肽 Y 受体 Y5	12
JAK2	Janus 激酶 2	17	CNR2	大麻素受体 2	11
EGFR	表皮生长因子受体	17	PTPN1	蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 1 型	11
MAPK14	丝裂原活化蛋白激酶 14	17	NR3C1	核受体亚家族 3C 组成员 1	10
HCRTR1	降钙素受体 1	16	MTNR1A	褪黑激素受体 1A	10
CNR1	大麻素受体 1	16	MTNR1B	褪黑激素受体 1B	10
HRH1	组胺受体 H1	15	ABL1	ABL 原癌基因 1 非受体酪氨酸激酶	10
HCRTR2	降钙素受体 2	15	MMP1	基质金属酶 1	9
TACR3	速激肽受体 3	15	PRKCQ	蛋白激酶 Cθ	8
AVPR1A	精氨酸加压素受体 1A	15	SYK	脾相关酪氨酸激酶	7
PTGER1	前列腺素 E 受体 1	15	HDAC3	组蛋白脱乙酰基酶 3	7

2.5 GO 富集分析与 KEGG 通路富集分析结果

川芎治疗 As 的 GO 富集分析如图 3(图 3 为富集分析结果柱状图,蓝色代表生物过程,橙色代表分子功能,绿色代表细胞组成)。由图可知,这些核心靶点可以通过单一生物过程、细胞的生物过程、细胞对刺激的反应、细胞的代谢过程、生物过程调节、细胞信令、生物过程的正调控等方面影响生物过程;通过离子结合、催化活性、信号传感器活动、分子转运活性、核酸结合转录因子活性等方面影响分子功能;通过细胞自身、细胞器、细胞膜、细胞器部件、细胞外区等方面影响细胞组成。

以 $P < 0.001$ 为筛选条件,共筛选出川芎治疗 As

的 KEGG 通路富集分析 77 条,选取 P 值最小的前 20 条通路并制作成气泡图,如图 4 所示,具体通路结果如表 3 所示。由图表可知,川芎治疗 As 与多种通路相关,可能通过调节神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、癌症的途径、HIF-1 信号通路、催乳素信号通路等。利用 Cytoscape 软件对川芎治疗 As 的相关靶点与通路之间的关系进行可视化处理,构建“靶点-通路”的网络图(图 5)。蓝色菱形为相关靶点,粉色三角形为通路,在各通路中神经活性配体-受体相互作用自由度最大为 37,癌症的途径为 33,钙信号通路为 20,癌症中的蛋白多糖为 16,Rap1 信号通路为 15,该 5 条通路可能是川芎治疗 As 的关键通路。

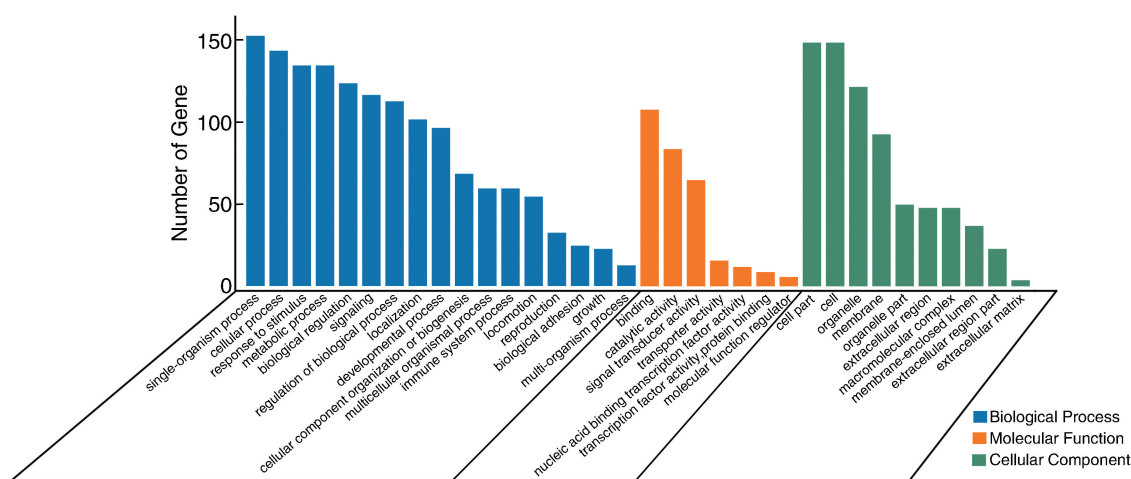


图 3. 川芎治疗 As 的 GO 富集分析柱状图

Figure 3. Histogram of GO enrichment analysis of Chuanxiong in the treatment of As

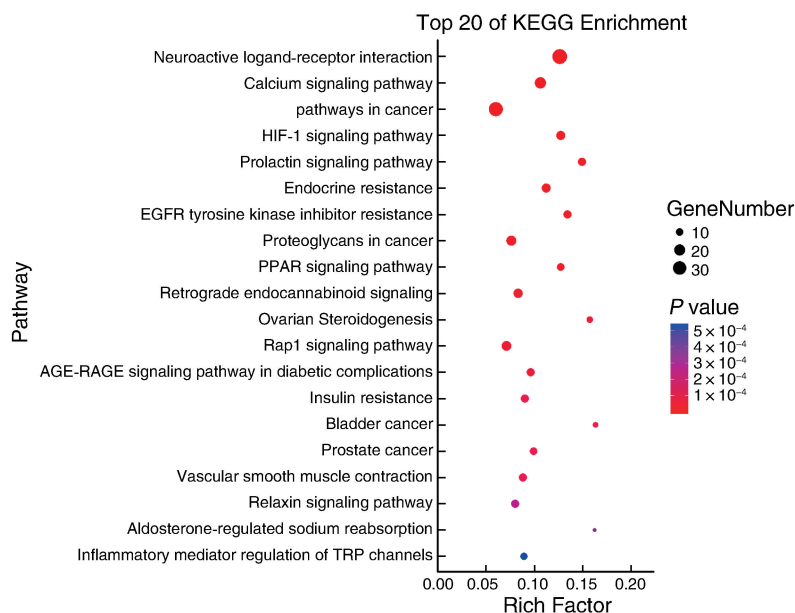


图 4. 川芎治疗 As 的 KEGG 富集分析气泡图

Figure 4. Bubble chart of KEGG enrichment analysis of Chuanxiong in the treatment of As

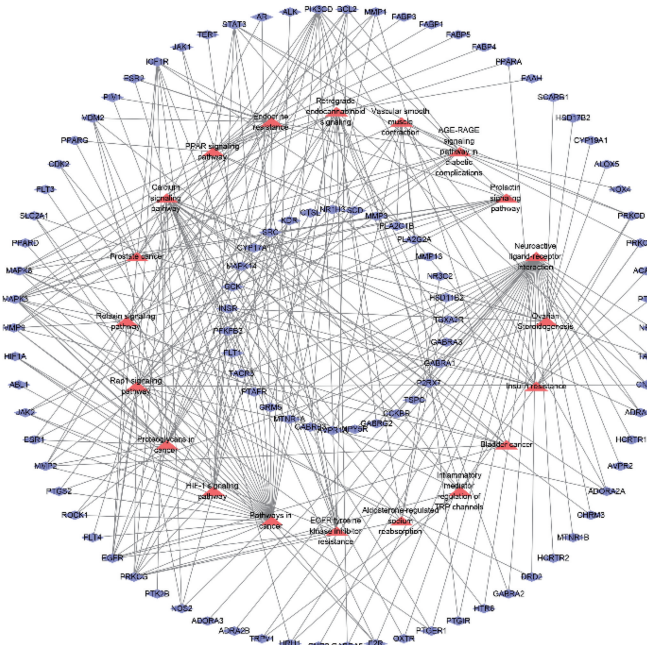


图 5. “靶点-通路”网络图

Figure 5. Network diagram of “target-path”

表 3. 川芎治疗 As 的 KEGG 通路富集分析

Table 3. KEGG pathway enrichment analysis of Chuanxiong treatment for As

通路名称	中文释义	频次	P 值
Neuroactive ligand-receptor interaction	神经活性配体-受体相互作用	37	1.26×10^{-22}
Calcium signaling pathway	钙信号通路	20	4.85×10^{-11}
Pathways in cancer	癌症的途径	33	1.08×10^{-10}
HIF-1 signaling pathway	HIF-1 信号通路	13	1.51×10^{-8}
Prolactin signaling pathway	催乳素信号通路	11	3.99×10^{-8}
Endocrine resistance	内分泌抵抗	13	7.23×10^{-8}
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药	11	1.19×10^{-7}
Proteoglycans in cancer	癌症中的蛋白多糖	16	4.95×10^{-7}
PPAR signaling pathway	PPAR 信号通路	10	7.94×10^{-7}
Retrograde endocannabinoid signaling	逆行内源性大麻素信号	14	9.14×10^{-7}
Ovarian steroidogenesis	卵巢类固醇生成	8	2.00×10^{-6}
Rap1 signaling pathway	Rap1 信号通路	15	2.75×10^{-6}
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路	11	3.43×10^{-6}
Insulin resistance	胰岛素抵抗	11	6.66×10^{-6}
Bladder cancer	膀胱癌	7	6.93×10^{-6}
Prostate cancer	前列腺癌	10	7.70×10^{-6}
Vascular smooth muscle contraction	血管平滑肌收缩	11	8.42×10^{-6}
Relaxin signaling pathway	松弛素信号通路	11	2.16×10^{-6}
Aldosterone-regulated sodium reabsorption	醛固酮调节的钠重吸收	6	3.31×10^{-5}
Inflammatory mediator regulation of TRP channels	TRP 通道的炎症介质调节	9	5.19×10^{-5}

2.6 分子对接分析

从核心靶点中筛选节点自由度最大的 5 个靶点与川芎的化合物成分进行分子对接,因 PDB 数据库中收录的 STAT3 靶点的蛋白结构不符合筛选标准,因此将自由度第 6 的靶点考虑在内。经过 DockThor 分析发现分子间稳定性最高的是化合物谷甾醇与靶点 SRC 为 -8.974 kcal/mol,选取得分排名前十的对接结果如表 4 所示。将对接得分前四的结果通过 PyMol 进行可视化处理(图 6),发现化合物谷甾醇和 SRC 靶点对接中与 LYS 的 237 位的氨基酸形成一个氢键, GLU 的 236 位的氨基酸形成一个氢键;化合物环糊精和 SRC 靶点对接中与 THR 的 163 位的氨基酸形成一个氢键;化合物谷甾醇和 GRM5 靶点对接中与 ARG 的 408 位的氨基酸形成两个氢键;化合物仙酮和 MAPK3 靶点对接中与 TYP 的 130 位的氨基酸形成一个氢键, ARG 的 70 位的氨基酸形

成一个氢键, LYS 的 197 位的氨基酸形成一个氢键。

表 4. 分子对接结果

Table 4. Molecular docking results

靶点	PDB ID	化合物名称	对接亲和力/(kcal/mol)
SRC	2h8h	谷甾醇	-8.974
SRC	2h8h	环糊精	-8.705
GRM5	6ffi	谷甾醇	-8.634
MAPK3	4qtb	仙酮	-8.087
CASR	5fbk	仙酮	-7.807
CASR	5fbk	环糊精	-7.77
CASR	5fbk	川芎嗪	-7.762
GRM5	6ffi	仙酮	-7.673
MAPK3	4qtb	谷甾醇	-7.582
SRC	2h8h	曼陀诺	-7.566

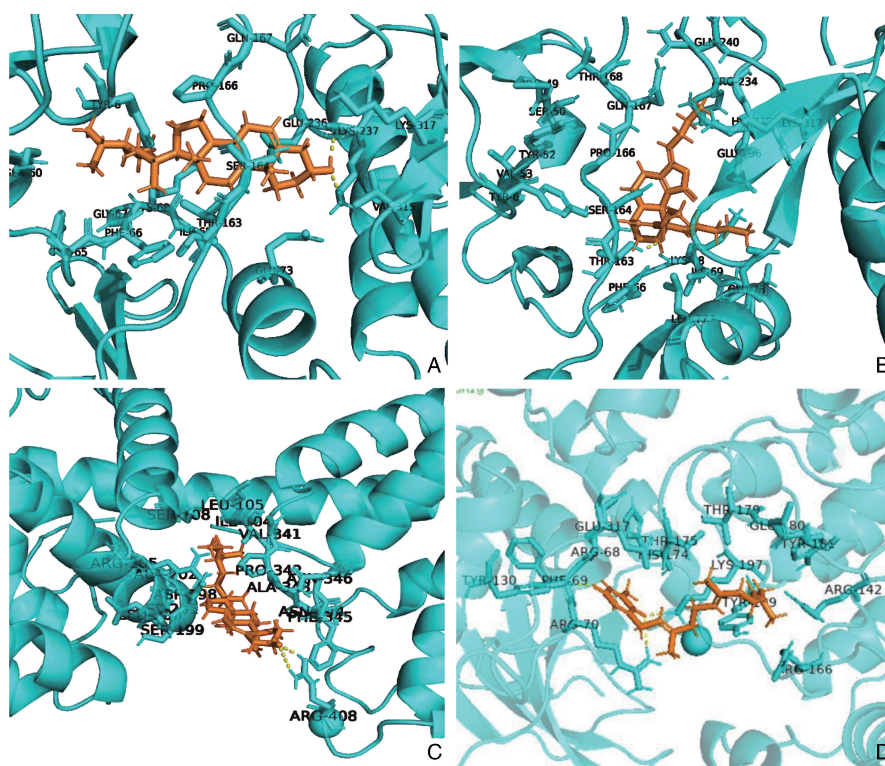


图 6. 分子对接得分前四的可视化图

A 为化合物谷甾醇和 SRC 靶点对接, B 为化合物环糊精和 SRC 靶点对接, C 为化合物谷甾醇和 GRM5 靶点对接, D 为化合物仙酮和 MAPK3 靶点对接。

Figure 6. Visualization of top four docking scores

3 讨论

动脉粥样硬化是冠心病、脑梗死、外周血管病的主要原因和病理基础,表现为大动脉及中动脉的

血管内膜出现脂质和复合糖类积聚,形成分散或成片的粥样斑块^[16]。As 是一种以巨噬细胞激活、血管内皮细胞功能障碍等过程为主要发展的炎症性疾病^[17]。中医通过活血化瘀为主要治法,益气养

血、化痰通络、解毒等方法辅助在临床治疗 As 中一直有着显著的疗效,川芎作为活血化瘀药中的常用药,在 As、冠心病心绞痛、急性心肌梗死等疾病中发挥着至关重要的作用。本研究发现川芎可以通过曼陀诺、环糊精、仙酮等 7 种化合物作用于 CASR、MAPK3、SRC 等 46 个核心靶点,并通过调节神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、癌症的途径、HIF-1 信号通路等发挥作用。

川芎中的有效成分能显著抑制血管收缩,降低细胞的兴奋性,舒张血管平滑肌;抑制乳酸脱氢酶的释放,进而修复损伤的血管内皮细胞。川芎还可以通过抑制血管平滑肌收缩,降低细胞膜流动,来稳定细胞膜,降低血管内皮细胞的损伤程度,防止微血栓形成^[18]。大量实验证明,川芎中的主要成分川芎嗪能够明显增加冠状动脉中的血流量,降低动脉压及冠状动脉阻力^[19-21],阿魏酸具有抑制血小板凝集、止痛以及缓解血管痉挛的作用^[22]。

CASR(钙敏感受体)是 G 蛋白偶联受体 C 家族成员,有研究表明,CASR 参与了大鼠 As 的形成,通过上调促凋亡蛋白的表达,下调抗凋亡蛋白的表达,导致内皮细胞凋亡^[23-25]。丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)是 MAP 激酶家族中的一员。MAP 激酶参与多种细胞过程如增殖、分化和转录调控。该激酶激活多种细胞刺激和目标特定的转录因子,从而调节即早期基因表达对细胞刺激的反应。有研究表明,MAP 激酶对于 T 细胞的增殖、凋亡和分化发挥着关键作用。Src 家族激酶参与配体诱导细胞反应包括增殖、生存、黏附和迁移的监管。Src 在很大程度上是血小板源生长因子(PDGF)全身的信号,而且要求通过细胞外基质蛋白来调节特定功能^[26]。

神经活性配体受体相互作用信号通路是质膜上所有与细胞内外信号通路相关的受体和配体的集合^[27]。潘玲珍等^[28]研究发现,神经活性配体受体相互作用信号通路会影响生物胺亚类中受体基因 Chrm3、Drd5 和 Htr1b 表达。生物胺是一种重要的刺激神经组织分子,与对应的受体结合后控制并调节着许多重要的生物功能,而基因表达的下调会造成动物的学习、认知能力下降及焦虑等不良情绪的产生。

钙信号是聚集在线粒体上的信号之一,它可以触发细胞凋亡的线粒体依赖性,线粒体膜的扰动会导致钙超载。钙离子通道受体在 As 模型大鼠中表达增加,激活促凋亡线粒体途径和 MAPK 途径^[29]。有研究发现^[30],钙信号可能在 As 形成过程中对主动脉基因表达的调控起重要作用。钙信号可能通

过对遗传、机械和环境损伤的机械反应而起作用,这些损伤触发细胞内钙稳态的失衡,导致病变发展的生物过程的变化。

癌症通路涉及血管生成、细胞增殖等过程。癌症主要是由基因改变引起的,因为基因改变导致维持细胞动态平衡的基因调控网络紊乱。多数癌症是由各种环境因素造成的体细胞突变和生殖细胞突变共同作用引起的。然而,多数突变位于基因组位置上缺乏蛋白编码能力的区域,其中包括以 RNA 分子发挥功能的基因区^[31]。

HIF-1 信号通路在多种心血管疾病、炎症、癌症和急性脏器损伤等过程中发挥重要作用。HIF-1 蛋白是缺氧状态下调控血管新生的重要分子,缺氧能够诱导 HIF-1 蛋白的表达并通过 HIF-1 蛋白与 VEGF、EPO 基因启动子区域的结合来启动 VEGF、EPO 的表达^[32-33],HIF-1 作为内源性保护分子在缺血缺氧性脑血管疾病、As、急性心肌梗死等疾病中对神经细胞的存活和心肌细胞的再生具有重要意义。有研究发现^[34],HIF-1 通过启动和促进泡沫细胞的形成、内皮细胞功能障碍、细胞凋亡、炎症增加和血管生成,在 As 的进展中起着关键作用。

综上所述,本次研究充分证明川芎可以通过多个药物化合物成分作用于多个 As 靶点,再对有效靶点进行通路分析后发现川芎通过调节神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、癌症的途径、HIF-1 信号通路等多条通路对 As 进行治疗和调控。现阶段对于川芎治疗 As 的通路研究并不全面,部分已被研究的通路如钙信号通路、HIF-1 信号通路等也仅仅是单条或少量通路的相关研究,而其他通路如神经活性配体-受体相互作用、癌症的途径等川芎治疗 As 的信号通路并未被提及或研究。此次研究不仅佐证了前期对川芎治疗 As 的研究结论,同时研究出新的治疗 As 的靶点方向与相关通路,为后续的研究提供新的思路和方向。虽然网络药理学技术已逐渐走向成熟,但缺少相关实验验证的结果仍有待商榷,也希望未来新兴学科的发展对医学事业的进步起到有力地推动作用。

[参考文献]

- [1] ZHOU M, WANG H, ZENG X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 394(1204): 1145-1158.
- [2] 陈纪林. 防治动脉粥样硬化的新动向[J]. *中国循环杂志*, 2001, 16(3): 163-163.
- [3] 刘美之, 郎艳松, 张鑫月, 等. 从痰、瘀、毒论治动脉粥样硬化

- 研究进展[J]. 中医杂志, 2014, 55(9): 800-803.
- [4] 张翠英, 章洪, 戚琼华. 川芎的有效成分及药理研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(10): 2264-2266.
- [5] 朱尧, 刘激激, 顾宁, 等. 川芎的活性成分及其心血管系统保护作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(7): 1701-1704.
- [6] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6(1): 13.
- [7] VEBER D F, JOHNSON S R, CHENG H Y, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates[J]. J Med Chem, 2002, 45(12): 2615-2623.
- [8] WANG Y, XIAO J, SUZEK T O, et al. PubChem: a public information system for analyzing bioactivities of small molecules[J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(Web Server issue): W623-W633.
- [9] GFELLER D, GROSIDIER A, WIRTH M, et al. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Web Server issue): W32-W38.
- [10] BAUER-MEHREN A, RAUTSCHKA M, SANZ F, et al. DisGeNET: a cytoscape plugin to visualize, integrate, search and analyze gene-disease networks[J]. Bioinformatics, 2010, 26(22): 2924-2926.
- [11] WISHART D S, KNOX C, GUO A C, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets[J]. Nucleic Acids Res, 2008, 36(Database issue): D901-D906.
- [12] FRANCESCHINI A, SZKLARCZYK D, FRANKILD S, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D808-D815.
- [13] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [14] SMEDLEY D, HAIDER S, BALLESTER B, et al. BioMart--biological queries made easy[J]. BMC Genomics, 2009, 10(1): 22.
- [15] SEELIGER D, DE GROOT B L. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina[J]. J Comput Aided Mol Des, 2010, 24(5): 417-422.
- [16] XIE S Q, CHENG W J, ZHU J, et al. Research progression on the mechanism of atherosclerosis[J]. World J Complex Med, 2016, 2: 85-90.
- [17] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [18] 罗仁书, 何治勇. 川芎有效成分药理作用的研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(9): 1294-1296.
- [19] FENG L, XIONG Y, CHENG F, et al. Effect of ligustrazine on ischemia-reperfusion injury in murine kidney[J]. Transplant Proc, 2004, 36(7): 1949-1951.
- [20] FENG L, KE N W, CHENG F, et al. The protective mechanism of ligustrazine against renal ischemia/reperfusion injury[J]. J Surg Res, 2011, 166(2): 298-305.
- [21] YANG L, LIAN Z, ZHANG B, et al. Effect of ligustrazine nanoparticles on Th1/Th2 balance by TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in rats with postoperative peritoneal adhesion[J]. BMC Surg, 2021, 21(1): 211.
- [22] SENTHIL R, SAKTHIVEL M, USHA S. Structure-based drug design of peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibitors: ferulic acid and derivatives[J]. J Biomol Struct Dyn, 2021, 39(4): 1295-1311.
- [23] BAI M, QUINN S, TRIVEDI S, et al. Expression and characterization of inactivating and activating mutations in the human Ca^{2+} -sensing receptor[J]. J Biol Chem, 1996, 271(19): 537-545.
- [24] BAI M. Structure and function of the extracellular[J]. Int J Mol Med, 1999, 4: 115-125.
- [25] 裴天仙, 王晶晶, 郭景玥, 等. 钙感受受体在动脉粥样硬化大鼠血管内皮细胞中的表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(3): 176-180.
- [26] KLINGHOFFER R A, SACHSENMAIER C, COOPER J A, et al. Src family kinases are required for integrin but not PDGFR signal transduction[J]. EMBO J, 1999, 18(9): 2459-2471.
- [27] LAUSS M, KRIEGNER A, VIERLINGER K, et al. Characterization of the drugged human genome[J]. Pharmacogenomics, 2007, 8(8): 1063-1073.
- [28] 潘玲珍, 闫智勇, 左长英, 等. 长期使用地西洋对神经活性配体受体相互作用信号通路的影响[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(5): 443-446.
- [29] 涂俊. 钙拮抗剂在心血管疾病中的作用机制及其不良反应预防措施研究[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(27): 120-122.
- [30] MAK S, SUN H, ACEVEDO F, et al. Differential expression of genes in the calcium-signaling pathway underlies lesion development in the LDb mouse model of atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 2010, 213(1): 40-51.
- [31] 杨新玲. 长非编码 RNAs 与癌症通路[J]. 生理科学进展, 2017, 48(4): 309-314.
- [32] ZHANG D, LV F L, WANG G H. Effects of HIF-1 α on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(16): 5071-5076.
- [33] CHENG L, YU H, YAN N, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α target genes contribute to retinal neuroprotection[J]. Front Cell Neurosci, 2017, 11: 20.
- [34] GAO L, CHEN Q, ZHOU X, et al. The role of hypoxia-inducible factor 1 in atherosclerosis[J]. J Clin Pathol, 2012, 65(10): 872-876.

(此文编辑 许雪梅)