

基于“中药作用机理辅助解析系统”的丹参治疗 心血管疾病作用机制解析

何帅兵, 张百霞, 王慧慧, 王耘*, 乔延江*

(北京中医药大学 中药信息工程研究中心, 北京 100102)

[摘要] 丹参作为临床上治疗心血管疾病的常用药物,虽然其治疗心血管疾病的作用机制已有研究,但是对其作用机制进行系统解析的报道却并不多见。该研究基于“中药作用机理辅助解析系统”,综合数据挖掘技术,以生物反应数据库为背景构建丹参有效成分靶点与心血管疾病相关蛋白相互作用的分子网络,以期从网络药理学的角度系统解析丹参治疗心血管疾病的作用机制。结果表明,丹参主要通过以下10条途径来治疗心血管疾病:促进脂质代谢;抗炎;调节血压稳定;负向调节凝血因子;抗血栓形成;调节细胞增殖;抗应激损伤;促进血管新生;抑制细胞凋亡;调节血管收缩与扩张;促进伤口愈合。该研究结果较为系统地解析了丹参治疗心血管疾病的作用机制,为临床治疗心血管疾病新药的研发,尤其是中药组分配伍的现代中药研发提供了线索。

[关键词] 丹参;心血管疾病;作用机制;实体语法系统;中药作用机理辅助解析系统;丹参酮II_A

Study on mechanism of *Salvia miltiorrhiza* treating cardiovascular disease through auxiliary mechanism elucidation system for Chinese medicine

HE Shuai-bing, ZHANG Bai-xia, WANG Hui-hui, WANG Yun*, QIAO Yan-jiang*

(Information Engineering Research Center for Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] *Salvia miltiorrhiza* is a traditional Chinese medicine (TCM) and is widely used as a clinically medication for its efficiency in treating cardiovascular disease. Due to TCM is a comprehensive system, the mechanism of *S. miltiorrhiza* treating cardiovascular disease through integrated multiple pathways are still unclear in some aspects. With the rapid progress of bioinformatics and systems biology, network pharmacology is considered as a promising approach toward reveal the underlying complex relationship between an herb and the disease. In order to discover the mechanism of *S. miltiorrhiza* treating cardiovascular disease systematically, we use the auxiliary mechanism elucidation system for Chinese medicine, built up a molecule interaction network on the active component targets of *S. miltiorrhiza* and the therapeutic targets of cardiovascular disease to offer an opportunity for deep understanding the mechanism of *S. miltiorrhiza* treating cardiovascular disease from the perspective of network pharmacology. The results showed that *S. miltiorrhiza* treating cardiovascular disease through ten pathways as follows: improve lipid metabolism, anti-inflammation, regulate blood pressure, negatively regulates blood coagulation factor and antithrombotic, regulate cell proliferation, anti-stress injury, promoting angiogenesis, inhibited apoptosis, adjust vascular systolic and diastolic, promoting wound repair. The results of this paper provide theoretical guidance for the development of new drugs to treat cardiovascular disease and the discovery of new drugs through component compatibility.

[收稿日期] 2015-05-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173568,81373985);国家自然科学基金重点项目(81430094);教育部新世纪优秀人才支持项目(NECT-11-0605)

[通信作者] *王耘,教授,博士生导师,Tel:(010)84738620,E-mail:wangyun@bucm.edu.cn;*乔延江,教授,博士生导师,Tel:(010)84738620,E-mail:yjqiao@263.net

[作者简介] 何帅兵,硕士研究生,Tel:17801080816,E-mail:wenyuxuan2530@163.com

[Key words] *Salvia miltiorrhiza*; cardiovascular disease; mechanism; entity grammar systems; auxiliary mechanism elucidation system for Chinese medicine; tanshinone II_A

doi:10.4268/cjcm20151904

丹参为唇形科鼠尾属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎,始载于《神农本草经》,被列为上品,其味苦,性微寒,归心、肝经,具有活血调经、凉血消痈、养血安神、祛瘀止痛、清心除烦等功效^[1]。丹参是我国常用传统中药,具有重要的药用价值,是临床上常用的活血化瘀要药,有“一味丹参,功同四物”的说法^[2]。据现代药理研究表明,丹参具有非常广泛的生物学活性,但在药理方面主要是以改善微循环、扩张血管、防治动脉粥样硬化为主,在临床上被广泛地用于心血管疾病的治疗^[3]。目前临床治疗心血管疾病常用的复方制剂如复方丹参片、冠心丹参滴丸、复方丹参滴丸、香丹注射液、丹参注射液等,也都以丹参为主要成分。

心血管疾病是全球发病率和致死率最高的疾病之一^[4],丹参作为临床治疗心血管疾病的常用药物,其对心血管系统的保护作用的机制虽然已有研究,但是对其作用机制进行系统解析的报道却并不多见,因此有待于对丹参治疗心血管疾病的作用机制做出进一步较为系统的研究。中药作用机制实质上是2个复杂系统的相互作用,即药物有效成分组成的复杂物质体系和病理条件下药物作用靶点组成的复杂生物体系,通过2个复杂系统的相互作用,从而达到治疗疾病的目的^[5]。这就决定了中药作用机制的复杂性,利用传统的有效成分提取和活性筛选策略对中药作用机制进行系统的解析不具备现实的可行性。

近年来,随着科学研究的进一步发展,基于系统生物学与网络生物学的方法作为一种新的药物作用机制解析方法已悄然兴起。在国外,利用网络生物学对药物多靶点作用网络、疾病相关生物网络的研究已有开展^[6]。在国内,众多学者也曾对基于系统生物学与网络生物学建立现代中药复方研究体系作出过相关探讨^[7-9]。目前,越来越多的研究者致力于该方法的研究,并进行各种尝试,为建立新的中药作用机制解析方法探索新的方向。

本研究利用本实验室基于实体语法系统,综合数据库技术、数据挖掘技术、定性推理技术所建立的“中药作用机理辅助解析系统”,构建丹参治疗心血管疾病的分子作用网络,以推断药物作用靶点与疾病相关蛋白的作用关系,从而系统解析丹参治疗心血管疾病的作用机制。

1 方法与数据来源

1.1 数据来源 丹参中所含化学成分来源于 TCMD(中药化学成分数据库)、《中药活性成分手册》以及本实验室经过文献整理所获得的化学成分数据。疾病相关蛋白来源于 TTD(<http://bidd.nus.edu.sg/group/TTD/ttd.asp>) 数据库,化合物靶点数据以及化合物与化合物靶点相互作用关系数据来源于 STITCH 数据库(<http://stitch.embl.de/>)。最终依据 hipathDB

数据库(<http://hipathDB.kobic.re.kr>)中的生物学反应及信号通路数据构建丹参治疗心血管疾病分子作用网络。

1.2 基于实体语法系统的靶点关系网络构建 实体语法系统(entity grammar systems, EGS)是针对生物复杂系统研究而提出的一种形式语法系统^[10]。通常情况下,实体语法系统用五元组 $G = (V_N, V_T, F, P, S)$ 表示,其中 V_N 和 V_T 表示系统中的基本元素, F 表示基本元素之间的结构关系, P 代表由已知实体产生新实体的推理规则, S 表示系统初始状态,即推理的起点。当无需考虑或区分末端字符与非末端字符时,实体语法系统可用四元组 $G = (V, F, P, S)$ 表示,其中 $V = V_N \cup V_T$ 。

本研究基于实体语法系统构建丹参作用于心血管疾病相关蛋白的生物作用网络。在本系统中 V 主要包含网络中各种类型的节点(中药名称,中药化学成分及其作用靶点,疾病名称及其相关蛋白,其他小分子和蛋白等), F 包括网络中的各种节点关系类型(include, interaction, neg, pos 等), P 为基于上述实体推断丹参作用靶点与心血管疾病相关蛋白作用关系的推理规则,类似于基本的推理公式。基于实体语法系统的“中药作用机理辅助解析系统”原理和技术方法具体见参考文献[11-12]。最终利用软件 Cytoscape_v3.2.1(<http://www.cytoscape.org/>)实现网络的可视化。

2 结果与分析

2.1 丹参有效成分作用靶点与心血管疾病相关蛋白的作用关系网络 依据 hipathDB 数据库中的生物学反应及信号通路数据,构建丹参有效成分作用靶点与心血管疾病相关蛋白的作用关系网络,见图1。图1中不同的形状表示不同的节点类型,其中方形节点代表中药,菱形节点代表中药化学成分,六边形节点代表中药化学成分作用靶点,V字形节点代表小分子,圆形节点代表蛋白,三角形节点代表疾病靶点,平行四边形节点代表疾病。箭头指向代表作用方向,其中三角形箭头代表正向调节作用,与之相反,T形箭头则表示负向调节作用,而无向边表示2个节点之间存在着相关关系。连接度是指节点在网络中具有连接边的数目。在图1中,节点的大小依据节点在网络中的连接度进行调节,节点越大表示该节点在该网络中的连接度越大,反之越小。节点的大小在一定程度上体现该节点在网络中的重要性。

由图1可知,丹参治疗心血管疾病主要是通过丹参酮 II_A,丹酚酸 B,丹参酮 II_B,熊果酸,黄芩苷,咖啡酸,隐丹参酮,丹参素,二氢丹参酮 I,3-羟基-4-甲氧基肉桂酸,迷迭香素,丁二酸,丹参酮 I 等13个化学成分通过 IKKB, EGF, INS, TNF- α , TP53, FYN, SI, VEGFA, CCND1, IL12B, CYP2C19, NOS2, STAT3, CASP3, NOTCH1, IL2, CASP8, BAK1, HIF1A, FOXP3, PTGS2 等21个化学成分靶点经过多步反应最终作

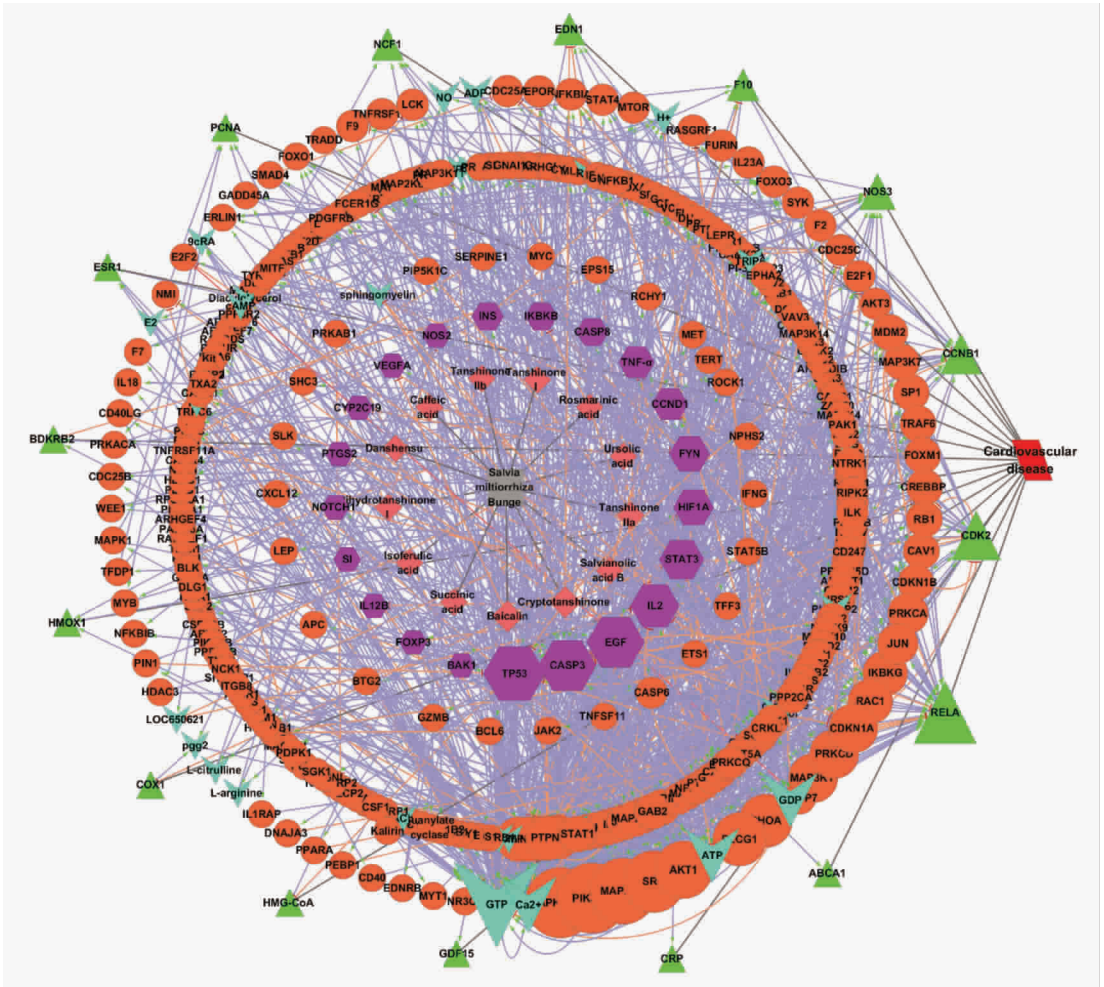


图 1 丹参治疗心血管疾病的生物分子作用网络

Fig. 1 The molecular network of *Salvia miltiorrhiza* on treating cardiovascular disease

用于 F10, HMG-CoA, COX1, ABCA1, CRP, ESR1, EDN1, HMOX1, PCNA, NCF1, CCNB1, CDK2, NOS3, BDKRB2, RELA, GDF15 等 16 个心血管疾病相关蛋白, 从而对心血管疾病发挥作用。其中 HMG-CoA, COX1, EDN1, F10, CDK2, NOS3 等既是丹参某些化学成分的直接作用靶点, 也是心血管疾病的直接相关蛋白, 也就是说丹参的某些化学成分可以通过这些靶点, 对心血管疾病直接进行调控。综上所述, 可以得知丹参治疗心血管疾病是通过多种化学成分经过多种途径作用

于多个疾病相关蛋白, 最终达到治疗疾病的目的。

2.2 丹参治疗心血管疾病子网络分析 由于网络本身的复杂性特征, 从整体出发直接对网络进行深入的解析似乎不太现实, 因此文章将通过提取子网络的方法对化学成分作用靶点与疾病相关蛋白的作用关系进行解析。在此, 笔者将以一条子网络为例, 对丹参治疗心血管疾病的作用机制做出相关解析, 见图 2。图 2 为丹参酮 II_A 通过疾病靶点 ABCA1 作用于心血管疾病的一条通路。

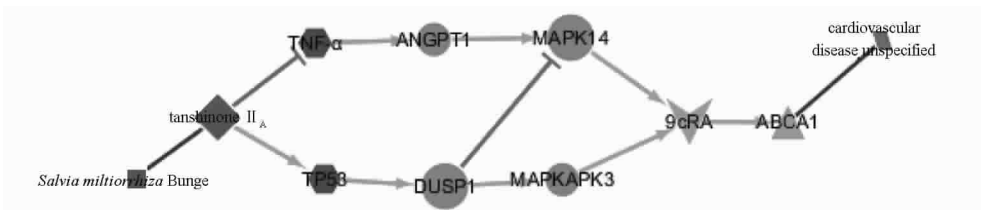


图 2 丹参酮 II_A 作用于 ABCA1 的信号通路

Fig. 2 The pathway network of tanshinone II_A to therapeutic target ABCA1

TNF- α (肿瘤坏死因子)是一种具有多种生物学效应的细胞炎症因子,局部高浓度的TNF- α 可以诱导产生血小板活化因子,增加花生四烯酸的释放,损伤冠状动脉内皮细胞,引起心肌损伤。对于急性病毒性心肌炎患者,注射外源性的TNF- α 会使心肌细胞病毒含量增高,心肌坏死,心肌炎加重。丹参酮II_A负向调节TNF- α 的活性,可以有效减轻其对心肌细胞的损伤,抑制心肌炎症的发生^[13]。

ANGPT(促血管生成素)是促使血管生成的一类因子,其中ANGPT1(促血管生成素1)是ANGPT家族中的一个成员。可正向调节VEGFR1(血管内皮生长因子受体)的表达^[14],VEGFR1可参与缺血性疾病的血管新生、血管损伤后重塑、动脉粥样硬化及某些炎症病变^[15]。

TP53是肿瘤抑制蛋白,TP53可以诱导血管平滑肌细胞的凋亡,从而防止由一些侵入性的医疗手段引起的血管增生狭窄,而对血管壁提供保护,从而减少动脉粥样硬化的发生。TP53功能的缺失将会增加动脉粥样硬化发生的可能性^[16-17]。丹参酮II_A正向调节TP53活性可以减少动脉粥样硬化的发生。

DUSP1(双特异性磷酸酶1)可特异性地抑制MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)家族成员MAPK14(丝裂原活化蛋白激酶14)的活性,是细胞中介导炎症反应的自限以及促进炎症消退的重要调控因子^[18]。心肌再灌注后由于氧自由基的大量释放、钙超载、炎症反应、代谢紊乱等加剧了心肌损伤,而MAPK14的激活在其中起重要的作用^[19]。MAPK14激活后,参与了炎症、凋亡、坏死及间质纤维化等多种病理生理过程。Gorog等^[20]发现,MAPK14的激活加重缺血再灌注后心肌梗死面积,而MAPK14抑制剂则减轻心肌缺血再灌注损伤。MAPK14信号通路的活化是TNF- α 等众多炎症细胞因子生成和介导心肌细胞损伤的重要途径,DUSP1通过催化已活化的MAPK14的去磷酸化修饰,抑制MAPK14的活性,抑制MAPK14活化可有效下调TNF- α 活性,从而抑制炎症反应中TNF- α 诱导的血管内皮细胞通透性增加,进而抑制粥样斑块的形成和减轻心肌损伤。

MAPKAPK3(丝裂原活化蛋白激酶活化蛋白激酶3)的激活在心脏缺血预处理过程中可以减少心肌梗死带来的损害^[21]。

9cRA(9-顺式维甲酸)能诱导Treg分化和抑制Th17分化^[22]。大量的动物实验证明Th17参与脂质代谢并且对促进动脉粥样硬化的形成有潜在作用,并可能参与斑块破裂的炎症过程^[23]。也有研究证实,Treg能够减轻心室肥厚和降低心肌纤维化,改善心室重构;其减少可能加重心室重构,促进慢性心力衰竭的发展^[24]。

同时9cRA可以上调ABCA1(三磷酸腺苷结合盒转运体A1)的表达^[25-27]。ABCA1是ABC转运蛋白超家族中的一员,正向调节ABCA1的表达可以提高血浆高密度脂蛋白的含量,增加巨噬细胞中胆固醇的流出,并降低饮食性动脉粥样

样硬化的发生。ABCA1是将胆固醇从细胞移出的主要转运体,ABCA1主要通过抗炎作用和介导胆固醇外流从而起到治疗心血管疾病的作用^[28],同时正向调节ABCA1表达可以有效降低动脉粥样硬化性心血管疾病的发生^[29]。

综上所述,丹参酮II_A可以通过抗炎和调节脂质代谢2条途径来治疗心血管疾病,这与已有的文献报道相一致^[30-31]。

3 讨论

本研究所得生物分子作用网络共有节点374个,边1409条,其中位于网络中心最密集处的为能量代谢分子GTP,说明药物在体内发挥作用与体内能量代谢密切相关。从网络的总体特征上来看,丹参中既存在一个化学成分与多个疾病相关蛋白作用的现象,同时也存在多个化学成分作用于一个疾病相关蛋白的现象。本研究按照中药-中药化学成分-化学成分作用靶点-蛋白或小分子-疾病相关蛋白-疾病这条完整的生物学过程,在分子水平上系统的解析了丹参治疗心血管疾病的分子作用机制。通过对整体网络进行分析,可以得出丹参主要通过以下10条途径来治疗心血管疾病:促进脂质代谢;抗炎;调节血压稳定;负向调节凝血因子,抗血栓形成;调节细胞增殖;抗应激损伤;促进血管新生;抑制细胞凋亡;调节血管收缩与扩张;促进伤口愈合。其中促进脂质代谢^[32],抗炎^[32],调节血压稳定^[32],负向调节凝血因子,抗血栓形成^[33],调节细胞增殖^[34],抗应激损伤^[4],促进血管新生^[35]等途径均与已有文献报道相一致。

显然,现有针对单一组分的实验研究难以快速有效的得出这样的结论,而基于网络药理学的方法有利于对中药治疗疾病的协同作用机制快速、有效的进行深入而全面的解析。然而,由于本研究是基于现有数据库,并综合文献搜索所得数据来进行作用机制的推断。因此,受数据库收录数据完整度的限制,造成了结果仍然具有一定的局限性。但是,相信随着相关研究的进一步发展,相关数据库收录的数据会更加完整,那么基于此方法得到的结果也会更加完善。

4 展望

本研究基于实体语法系统利用网络药理学的方法,在既有研究的基础上系统解析了丹参治疗心血管疾病的分子作用机制,为丹参治疗心血管疾病作用机制的研究提供了线索。为丹参通过组分配伍开发治疗心血管疾病的新药提供了数据基础。同时,对于充分发挥中药原材料的作用、减少毒副作用等方面均能产生积极的作用,为临床研究及应用提供了明确的科学依据。

[参考文献]

- [1] 宋伟. 丹参的药理作用的研究进展[J]. 北方药学, 2013, 10(5): 52.
- [2] 李巧玉, 刘杨, 包华音. 近5年丹参化学成分及药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2014(2): 145.
- [3] 王鑫森. 丹参的药理研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2013(1): 55.

- [4] 蒋晓蕊,苗琳,吴晓燕,等. 丹参酮 II_A 对心血管系统保护作用及机制的研究进展[J]. 中国当代医药,2014,21(14):183.
- [5] 杜冠华,王月华,张冉,等. 多成分多靶点是对中药作用机制的表面认识[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2009,11(4):480.
- [6] Nacher J C, Keith B, Schwartz J M. Network medicine analysis of chondrocyte proteins towards new treatments of osteoarthritis [J]. Proc Biol Sci, 2014, 281(1778): 20132907.
- [7] 严诗楷,赵静,窦圣姍,等. 基于系统生物学与网络生物学的现代中药复方研究体系[J]. 中国天然药物,2009,7(4):249.
- [8] Zhang A, Sun H, Yang B, et al. Predicting new molecular targets for rhein using network pharmacology [J]. BMC Syst Biol, 2012, 6: 20.
- [9] Zhao F, Guochun L, Yang Y, et al. A network pharmacology approach to determine active ingredients and rationality of herb combinations of Modified-Simiaowan for treatment of gout [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 3(35): 447.
- [10] Wang Y. Entity grammar systems: a grammatical tool for studying the hierarchical structures of biological systems [J]. Bull Math Biol, 2004, 66(3): 447.
- [11] Yan J, Wang Y, Luo S, et al. TCM grammar systems: an approach to aid the interpretation of the molecular interactions in Chinese herbal medicine[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(1): 77.
- [12] Luo J, Ren Y, Gu H, et al. dTGS: method for effective components identification from traditional Chinese medicine formula and mechanism analysis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, doi:10.1155/2013/840427.
- [13] 冯琳,孙昭辉. 肿瘤坏死因子 α 与心血管疾病[J]. 河北医药,1998,20(3): 157.
- [14] 田凤瑛. ANGPT1、ANGPT2、VEGF 在急性髓系白血病小鼠模型中的研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2013.
- [15] 葛晓利,高平进. VEGFR-1 与心血管疾病[J]. 中国微循环,2005,9(3):219.
- [16] Lesauskaite V, Ivanoviene L, Valanciūte A. Programmed cellular death and atherogenesis: from molecular mechanisms to clinical aspects [J]. Medicina, 2003, 39(6): 529.
- [17] Blin J, Ahmad Z, Rampal L R, et al. Preliminary assessment of differential expression of candidate genes associated with atherosclerosis [J]. Genes Genet Syst, 2013, 88(3): 199.
- [18] 任澎,刘永国,郭敏,等. p38 丝裂原活化蛋白激酶介导大鼠心肌缺血再灌注损伤信号传导的研究[J]. 中国循环杂志,2012,27(5):387.
- [19] 殷为,梅柱中. 双特异性磷酸酶 1:炎症反应的负调控因子[J]. 国际免疫学杂志,2012,35(5):338.
- [20] Gorog D A, Jabr R I, Tanno M, et al. MAPK-2 modulates p38MAPK localization and small heat shock protein phosphorylation but does not mediate the injury associated with p38MAPK activation during myocardial ischemia [J]. Cell Stress Chaperones, 2009, 14(5): 477.
- [21] Kim S O, Baines C P, Critz S D, et al. Ischemia induced activation of heat shock protein 27 kinases and casein kinase 2 in the preconditioned rabbit heart [J]. Biochem Cell Biol, 1999, 77(6): 559.
- [22] Duan M C, Zhong X N, Liu G N, et al. The Treg/Th17 paradigm in lung cancer [J]. J Immunol Res, 2014, 2014: 730380.
- [23] van Bruggen N, Ouyang W. Th17 cells at the crossroads of autoimmunity, inflammation and atherosclerosis [J]. Immunity, 2014, 40(1): 10.
- [24] Kvakani H, Kleinewietfeld M, Qadri F, et al. Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage [J]. Circulation, 2009, 119(22): 2904.
- [25] Mulya A, Lee J Y, Gebre A K, et al. Initial interaction of apoA-I with ABCA1 impacts in vivo metabolic fate of nascent HDL [J]. J Lipid Res, 2008, 49(11): 2390.
- [26] Singaraja R R, Brunham L R, Visscher H, et al. Efflux and atherosclerosis: the clinical and biochemical impact of variations in the ABCA1 gene [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(8): 1322.
- [27] Wang N, Lan D, Gerbod-Giannone M, et al. ATP-binding cassette transporter A7 (ABCA7) binds apolipoprotein A-I and mediates cellular phospholipid but not cholesterol efflux [J]. J Biol Chem, 2003, 278(44): 42906.
- [28] 谭玉林,唐艳艳,张敏,等. ABCA1 介导胆固醇外流及抗炎的信号通路研究进展[J]. 生理科学进展,2015,46(1):52.
- [29] Joyce C, Freeman L, Brewer H B Jr, et al. Study of ABCA1 function in transgenic mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(6): 965.
- [30] Chen Z, Xu H. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanism of tanshinone II_A for atherosclerosis [J]. eCAM, 2014, 2014: 267976.
- [31] Liu Z, Wang J, Huang E, et al. Tanshinone II_A suppresses cholesterol accumulation in human macrophages: role of heme oxygenase-1 [J]. J Lipid Res, 2014, 55(2): 201.
- [32] 王冰瑶,吴晓燕,樊官伟. 丹参素保护心血管系统的药理作用机制研究进展[J]. 中草药,2014(17): 2571.
- [33] 范华英. 丹酚酸 A 抗血小板及抗血栓作用的研究[D]. 长春:吉林大学,2012.
- [34] 张秀萍. 丹参对血管平滑肌细胞增殖、凋亡的影响[D]. 武汉:湖北中医药大学,2012.
- [35] 池晓霞,高心宇. 丹参调节血管新生及其机制研究进展[J]. 海峡药学,2010(2): 3.