

基于网络药理学的宫外孕Ⅱ号方治疗异位妊娠作用机制

陈 思¹, 李 净¹, 刘晓荣¹, 邓高丕^{2*}

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

摘要: **目的** 基于网络药理学分析宫外孕Ⅱ号方治疗异位妊娠作用机制。**方法** 通过中药系统药理学技术平台、蛋白数据库和 string 数据库, 分别获取宫外孕Ⅱ号方中化合物及其对应的靶点, 并构建化合物-靶点蛋白相互作用网络。然后, 通过 DAVID 注释数据库对靶点进行 GO 功能、KEGG 通路富集分析。**结果** 共获得 125 种候选化合物, 130 个靶点, 11 个 Hub 蛋白, 关键靶点涉及 p53、TP53、JUN、VEGFA 等; GO 分析条目共 314 个, 涉及氧化应激, 促增殖抑制凋亡, 对药物、毒物的反应, 转录翻译及信号传导; KEGG 信号通路共 95 条, 含靶点数目较多的通路为癌症信号通路、环腺苷酸信号通路、钙离子信号通路等。**结论** 本研究通过网络药理学系统探讨了宫外孕Ⅱ号方候选成分所对应的靶点, 以及治疗异位妊娠的作用机制, 可为今后基础或临床研究提供科学依据。

关键词: 宫外孕Ⅱ号方; 异位妊娠; 网络药理学

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)07-1538-10

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2019. 07. 012

Action mechanisms for No.2 Gongwaiyun Decoction in treating ectopic pregnancy based on network pharmacology

CHEN Si¹, LI Jing¹, LIU Xiao-Rong¹, DENG Gao-Pi^{2*}

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

KEY WORDS: No. 2 Gongwaiyun Decoction; ectopic pregnancy; network pharmacology

异位妊娠是指受精卵着床于子宫体腔以外的部位, 其主要临床表现为停经、阴道流血、腹痛, 甚至晕厥与休克^[1], 发病率占妊娠女性的 2%, 其所致的输卵管破裂出血可致孕妇死亡, 是一种十分凶险的妇科急腹症, 占妊娠死亡的 2. 7%^[2]。临床上对异位妊娠的治疗可分为药物及手术, 甲氨蝶呤为最经典的药物, 但有一定的副作用, 如胃肠道反应、腹痛加重、肝酶升高、脱发等; 手术包括输卵管开窗术及输卵管切除术, 前者虽然创伤较小, 但术后有 8%~9% 的患者发生持续异位妊娠, 而后者有一定几率影响后续宫内妊娠率^[3], 对于有生育要求的育龄期妇女产生不良的影响。

中医认为, 异位妊娠发病机理为少腹血瘀^[4], 临床上可采用化瘀消癥杀胚类中药治疗, 一方面最大程度保全育龄期妇女的生育功能, 另一方面治疗早期输卵管妊娠的成功率可达 88. 9%^[5]。宫外孕Ⅱ号方由丹参、赤芍、桃仁、三棱、莪术 5 味药材组成, 方中丹参、桃仁、赤芍活血化瘀, 从而达到消积作用; 三棱、莪术行气止痛, 消癥散结, 诸药合用, 共奏活血化瘀、消癥杀胚功效, 可改善局部血液微循环, 抑制血小板聚集, 促进包块消散吸收, 减轻病灶周围的粘连^[4], 是中医治疗异位妊娠的经典方剂, 为活血化瘀、消癥杀胚的代表方, 临床疗效明显, 对甲氨蝶呤联合米非司酮具有增效

收稿日期: 2018-08-12
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81163295); 中医药强省建设专项中医优势病种突破项目 (粤中医办函 [2015] 19); “邓高丕广东省名中医传承工作室” (粤中医办函 [2019] 5)
作者简介: 陈 思 (1994—), 女, 硕士生, 研究方向为中西医结合妇科。E-mail: 444181072@qq.com
* 通信作者: 邓高丕 (1960—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中西医结合妇科。E-mail: denggaopi@126.com

减毒作用，患者 HCG 水平恢复正常时间及盆腔包块消失时间明显小于单用西药，还能提高患者心理健康、活动评分等生活质量^[6-8]；现代药理研究发现，该方可通过抑制滋养细胞的增殖^[9]或拮抗雌孕激素来使绒毛组织因缺乏雌孕激素而变性、坏死，达到治疗异位妊娠的作用^[10-11]，同时能消炎抗菌，减少炎症反应，消除输卵管粘连，为有效恢复输卵管功能及缩小包块体积提供良好的基础条件，另一方面促进微循环，从而达到消除瘀血、减少不良反应的效果^[12]。

中医药特色体现在中药复方对疾病的整体治疗调节，通过多种中药配伍组方来达到治疗疾病的作用。网络药理学作为药物研究的新模式，包括系统生物学、多向药理学、生物信息等多种学科，其整体性、系统性的特点与中医药整体观念、辨证论治、组方配伍的原则不谋而合^[13]，可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，为研究药物机制与靶点提供新策略与方向，并可从大量生物信息资源和中药数据信息中提取相关数据，建立疾病-基因或蛋白质靶标-中药活性成分的相互作用网络，并进行数据挖掘，对中药治疗疾病的机制进行分析预测^[14]。因此，本研究将通过网络药理学对宫外孕Ⅱ号方的有效成分进行研究，建立“化合物-靶点-通路”网络，探究其治疗异位妊娠的作用机制，为后续研究提供参考和依据。

1 方法

1.1 化学成分检索 通过中药系统药理学技术平台（TCMSP）（<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP>）检索宫外孕Ⅱ号方中丹参、赤芍、桃仁、三棱、莪术化学成分，共搜集了 996 种，其中丹参 404 种、赤芍 238 种、桃仁 132 种、三棱 60 种、莪术 162 种。

1.2 活性化合物筛选 口服生物利用度是药物吸收、分布、代谢、排泄（ADME）特性中最重要的药物代谢动力学参数之一，表示口服的药物达到血液循环所占口服剂量的比例，其比例高者一般是决定生物活性分子（即有效作用分子）类药性的关键指标；类药性是指化合物分子与已知药物分子的相似性，是物理化学性质（相对分子质量、脂水

分配系数、溶解度等）、结构特征（如环结构、氢键受体、可旋转键数目和给体数等）、药物分子在体内的综合反映（如血脑屏障渗透性、口服生物利用度等合理的药代动力学性质和毒性）。本研究中丹参、赤芍、桃仁、三棱、莪术中的化合物口服生物利用度筛选阈值均 $\geq 30\%$ ，化合物类药性筛选阈值均 ≥ 0.18 ，得到符合条件的候选化合物。

1.3 靶点和疾病预测 基于 TCMSP 数据库，将宫外孕Ⅱ号方的有效化合物逐一配对潜在靶点。同时，通过蛋白质数据库（Uniprot Database，<http://www.uniprot.org/>）获得与候选化合物相关的靶点蛋白信息，并在 TCMSP 数据库中筛选靶点-靶点对应的疾病。

1.4 化合物-靶点网络构建 将宫外孕Ⅱ号方中化合物及其相关靶点蛋白通过 Cytoscape 3.5.1 软件（<http://www.cytoscape.org/>）构建化合物-靶点网络，使两者关系可视化，并对其进行网络拓扑学分析。其中，靶点度值（Degree）是拓扑结构中的中药参数，可用于评价方中的有效化合物、靶点的重要程度。

1.5 PPI 网络构建 为了阐明靶点蛋白的相互作用，本研究利用 string 数据库将靶点蛋白所对应的基因构建 PPI 网络，并根据结果统计靶蛋白关联频次，导出可视化同行进行研究分析。再通过 cytoscape 软件中的 bytohubba 插件，获取度值为前 10 的 hub 蛋白。

1.6 GO 功能、KEGG 通路富集分析 GO 功能富集分析是指对差异基因的生物途径进行注释及分类并进行富集统计学分析；KEGG 通路富集分析是东京大学和京都大学共同研制的数据库，可查询通路，并与 David 数据库相关联。本研究通过 David v6.7 数据库（<http://david.ncifcrf.gov/>）对 PPI 网络中的蛋白进行 GO 功能、KEGG 通路富集分析，以“ $P < 0.05$ ，FDR < 0.05 ，基因数大于 10”作为条件进行筛选，得出宫外孕Ⅱ号方中化合物的靶点蛋白在基因功能和信号通路中的作用，并利用 Cytoscape 3.5.1 软件对 GO-BP 富集分析中的 GO 条目和 KEGG 通路富集分析中的通路绘制条形图。

2 结果

2.1 活性化合物 宫外孕Ⅱ号方中有 996 个化合

物, OB≥30%、DL≥0.18 者有 125 个 (丹参 65 个、赤芍 29 个、桃仁 23 个、三棱 5 个、莪术 3 个), 其中丹参与赤芍有共同化合物 1 个, 赤芍、桃仁与三棱有共同化合物 1 个, 赤芍与三棱有共同化合物 1 个, 桃仁、三棱与莪术中有共同化合物 1 个。见表 1。

表 1 宫外孕 II 号方中活性化合物

Tab. 1 Active compounds in No. 2 Gongwaiyun Decoction

分子 ID	化合物	来源中药	分子 ID	化合物	来源中药	分子 ID	化合物	来源中药
M0006	luteolin	丹参	M7064	przewalskin b	丹参	M0569	digallate	丹参
M1601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	丹参	M1659	poriferasterol	丹参	M1771	poriferast-5-en-3β-ol	丹参
M1942	isoimperatorin	丹参	M2222	sugiol	丹参	M2651	dehydrotanshinone II _A	丹参
M2774	baicalin	丹参	M6824	α-amyrin	丹参		5,6-dihydroxy-7-isopropyl-	
	2-isopropyl-8-					M7036	1,1-dimethyl-2,3-	丹参
M7041	methylphenanthrene-3,4-dione	丹参	M7045	3α-hydroxytanshinone II a	丹参		dihydrophenanthren-4-one	
							(E)-3-[2-(3,4-	
M7049	4-methylenemiltirone	丹参	M7050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	丹参	M7048	dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl] acrylic acid	丹参
M7058	formyltanshinone	丹参	M7059	3-β-hydroxymethylenetanshinquinone	丹参	M7051	6-O-syringyl-8-O-acetyl shanzhiside methyl ester	丹参
M7063	przewalskin a	丹参	M7068	przewaquinone B	丹参	M7061	methylenetanshinquinone	丹参
	(6S,7R)-6,7-dihydroxy-1,6-					M7069	przewaquinone C	丹参
M707	dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	丹参	M7071	przewaquinone F	丹参	M7077	sclareol	丹参
M7079	tanshinaldehyde	丹参	M7081	danshenol B	丹参	M7082	danshenol A	丹参
M7085	salvilenone	丹参	M7088	cryptotanshinone	丹参	M7093	dan-shexinkum D	丹参
M7094	danshenspiroketallactone	丹参	M7098	deoxyneocryptotanshinone	丹参	M7100	dihydrotanshinlactone	丹参
M7101	dihydrotanshinone I	丹参	M7105	epidanshenspiroketallactone	丹参	M7107	C09092	丹参
							(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-	
M7108	isocryptotanshinone	丹参	M7111	isotanshinone II	丹参	M71132	2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acryloyl] oxy-propionic acid	丹参
M7115	manool	丹参	M7118	microstegiol	丹参	M7119	miltionone I	丹参
M7120	miltionone II	丹参	M7121	miltipolone	丹参	M7122	miltirone	丹参
M7123	miltirone II	丹参	M7124	neocryptotanshinone II	丹参	M7125	neocryptotanshinone	丹参
	1-methyl-8,9-dihydro-7H-						(Z)-3-[2-(E)-2-	
M7127	naphtho[5,6-g]benzofuran-6,10,11-trione	丹参	M7130	prolithospermic acid	丹参	M7140	(3,4-dihydroxyphenyl) vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl] acrylic acid	丹参
M7141	salvianolic acid G	丹参	M7142	salvianolic acid J	丹参	M7143	salvilenone I	丹参
							(6S)-6-hydroxy-1-methyl-	
M7145	salviolone	丹参	M7149	NSC 122421	丹参	M7150	6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone	丹参
M7151	tanshindiol B	丹参	M7152	przewaquinone E	丹参	M7154	tanshinone II A	丹参
	(6S)-6-(hydroxymethyl)-							
M7155	1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	丹参	M7156	tanshinone VI	丹参	M0358	β-sitosterol	赤芍
M0359	sitosterol	赤芍	M0449	stigmasterol	赤芍	M0492	(+)-catechin	赤芍
M1002	ellagic acid	赤芍	M1918	paeoniflorgenone	赤芍	M1921	lactiflorin	赤芍
M1924	paeoniflorin	赤芍	M1925	paeoniflorin_qt	赤芍	M2714	baicalein	赤芍
M2776	baicalin	赤芍	M2883	ethyl oleate (NF)	赤芍	M4355	spinasterol	赤芍

续表 1

分子 ID	化合物	来源中药	分子 ID	化合物	来源中药	分子 ID	化合物	来源中药
M5043	campest-5-en-3β-ol	赤芍	(1S,2S,4R)-trans-			M6992	(2R,3R)-4-methoxyl-distylin	赤芍
	1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -		M6990	2-hydroxy-1,8-cineole-β- <i>D</i> -glucopyranoside	赤芍			
M6994	glucopyranosyl-8- <i>O</i> -benzoylpaeonisuffrone_qt	赤芍	M6996	1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosylpaeonisuffrone_qt	赤芍	M6999	stigmast-7-en-3-ol	赤芍
M7003	benzoyl paeoniflorin	赤芍	M7004	albiflorin	赤芍	M7005	albiflorin_qt	赤芍
M7008	4-ethyl-paeoniflorin_qt	赤芍	M7012	4- <i>O</i> -methyl-paeoniflorin_qt	赤芍	M7014	8-debenzoylpaeonidanin	赤芍
M7016	paeoniflorigenone	赤芍	M7018	9-ethyl-neo-paeoniaflorin A_qt	赤芍	M7022	evofolin B	赤芍
M7025	isobenzoylpaeoniflorin	赤芍	M0296	hederagenin	桃仁	M0358	β-sitosterol	桃仁
M0493	campesterol	桃仁	M1323	sitosterol α1	桃仁	M1328	2,3-didehydro GA70	桃仁
M1329	2,3-didehydro GA77	桃仁	M1339	GA119	桃仁	M1340	GA120	桃仁
M1342	GA121-isolactone	桃仁	M1343	GA122	桃仁	M1344	GA122-isolactone	桃仁
			4a-formyl-7α-hydroxy-1-					
M1348	gibberellin 17	桃仁	M1349	methyl-8-methylidene-4α,4bβ-gibbane-1α,10β-dicarboxylic acid	桃仁	M1350	GA30	桃仁
M1351	gibberellin A44	桃仁	M1352	GA54	桃仁	M1353	GA60	桃仁
M1355	GA63	桃仁	M1358	gibberellin 7	桃仁	M1360	GA77	桃仁
M1361	GA87	桃仁	M1368	3- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroylquinic acid	桃仁	M1371	populoside_qt	桃仁
M0296	hederagenin	三棱	M0358	β-sitosterol	三棱	M0392	formononetin	三棱
M0449	stigmastrol	三棱	M1297	trans-gondoic acid	三棱	M0296	hederagenin	莪术
M0906	wenjine	莪术	M0940	bisdemethoxycurcumin	莪术			

2.2 靶点和化合物-靶点网络 宫外孕Ⅱ号方中候选化合物 125 个, 有 119 个可在 TCMSP 数据库中匹配, 化合物-靶点网络见图 1。由图可知, 网络中共有 230 个节点, 其中化合物节点 100 个, 靶点节点 130 个、1 181 条边, 每条边表示化合物与靶点直接的关系; 度值表示链接该节点的条数, 度值越大, 表示该节点与其他节点的相互作用越广泛, 在网络中起到枢纽的重要作用, 度值前 6 的化合物为 β-谷甾醇 (M358)、1, 2, 5, 6-四氢丹参酮 (M1601)、4-亚甲丹参新酮 (M7049)、豆甾醇 (M449)、2-异丙基-8-甲基菲-3, 4-二酮 (M7041)、鼠尾草酚酮 (M7145), 对应的作用靶点分别为 46、42、42、40、40、40 个。

β-谷甾醇促进肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤增生的药理活性明显^[15-16], 对肿瘤防治有重要作用, 可抗胰腺癌、宫颈癌、肝癌、结肠癌, 其机制为可增加细胞内钙离子水平使肿瘤细胞凋亡, 或通过上调或下调与癌症发生相关靶基因 TP53、JNK1 表达^[17-18]; 1, 2, 5, 6-四氢丹参酮、4-亚甲丹参新酮、2-异丙基-8-甲基菲-3, 4-二酮、鼠尾草酚酮均属于丹参酮类化合物, 具有抗菌、消炎、抗肿瘤作用, 还可改善外周血液循环、加快微循环血液流通^[19], 此外丹参酮还具有雌激素样活性, 可通过影响 ERα、ERβ 表达来发挥作用, 其机制与降低 Bcl-2/bax 比例或诱导 p53 表达相关^[20-21]; 豆甾

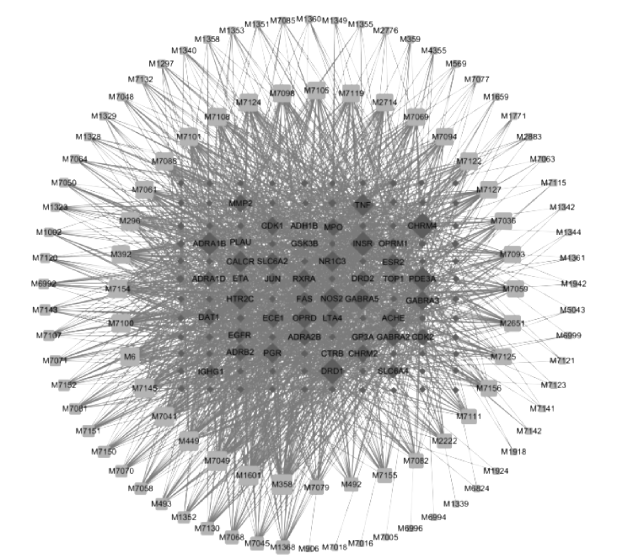


图 1 宫外孕Ⅱ号方化合物-靶点网络

Fig. 1 Compound-target network for No. 2 Gong-waiyun Decoction

醇^[22-23]具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎症等药理活性, 在宫外孕Ⅱ号方治疗异位妊娠的机制中可通过这些机制起到了治疗的作用, 也与 PPI 网络中的靶点分析及 KEGG 富集分析中的信号通路集合相关联。

另外, 度值前 5 的靶点蛋白分别为 M4 型乙酰胆碱受体 (CHRM4)、多巴胺受体 D1 (DRD1)、骨骼肌内胰岛素受体 (INSR)、磷酸二酯酶 3A (PDE3A)、α1B-肾上腺素受体 (ADRA1B), 度值

分别为 80、77、68、67、63。

2.3 PPI 网络及 Hub 蛋白提取 将 130 个靶点蛋白对应的基因输入 String 数据库，获取 PPI 网络，网络中含有 118 个节点、864 条相互作用关系，见图 2，根据节点的高低绘制出前 10 对应基因的网络，见图 3。



图 2 宫外孕Ⅱ号方相关靶点的 PPI 网络
Fig. 2 PPI network for the relevant targets of No. 2
Gongwaiyun Decoction

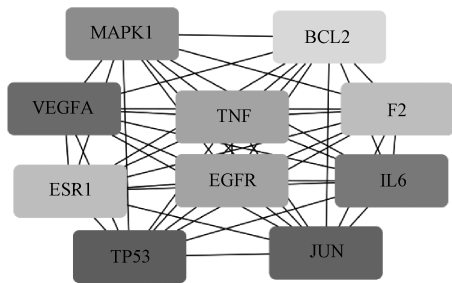


图 3 宫外孕Ⅱ号方 PPI 网络中靶点基因
Fig. 3 Target genes in PPI network for No. 2
Gongwaiyun Decoction

然后，通过 cytohubba 插件中的 Degree 算法筛选出前 11 的蛋白，作为 Hub 蛋白，根据其得分由大至小依次分为肿瘤抑制因子 p53（TP53）、转录因子激活蛋白 1（JUN）、血管内皮生长因子 A（VEGFA）、白介素-6（IL6）、丝裂原活化蛋白激酶 1（MAPK1）、表皮生长因子受体（EGFR）、肿瘤坏死因子（TNF）、雌激素受体 1（ESR1）、凝血酶素（F2）、B 淋巴细胞瘤-2（Bcl-2），分别联系 51、50、47、45、43、42、42、40、40、38 个蛋白。其中，TP53 可通过转录调控 p21、Bax 等许多靶基因的表达来抑制细胞增殖，诱导细胞凋亡，参与 DNA 修复维持基因稳定，抑制肿瘤血管生成^[24]；Bcl-2 可通过与该家族的促凋亡蛋白结合而

抑制细胞凋亡，也可通过抑制细胞色素 C 从而保护细胞不发生凋亡^[25]；TNF 靶点可通过介导细胞凋亡的细胞表面分子来诱导细胞凋亡^[26]；研究表明，化瘀消癥杀胚复方可从受体水平拮抗雌孕激素，通过促进输卵管蜕膜溶解来加速绒毛组织坏死，从而治疗异位妊娠^[11]，而雌激素受体 ESR 可与雌激素结合，主要作用为促进女性生殖器官的发育，并对心血管系统、神经系统、胰岛功能、骨代谢、肿瘤等多种系统有重要影响，其功能失调可导致许多雌激素相关疾病^[27-31]；MAPK1 为和转录调控因子，与细胞增殖、分化和凋亡有关，雌激素与 ESR 结合后，可以来 ESR 传导通路调节 MAPK1，进而调控相应细胞因子的表达^[32]；雌激素作用于 ER 后可增强 VEGF 表达，同时 MAPK1 也是其启动子之一，被激活后也可增强 VEGF 表达，从而促进血管发生、形成，增强微血管通透性，改善微循环^[30]；有研究发现异位妊娠患者血清中 IL-6 水平比宫内早孕妇女或正常非孕妇女高^[31]，它为参与机体炎症反应的一种重要的糖蛋白，可直接损伤血管内皮细胞，减少血管内皮前列腺环素的产生，导致血液呈高凝状态并引起血管收缩，同时增加血管细胞黏附分子表达，产生血管收缩因子的平衡紊乱^[32]。由此推测，宫外孕Ⅱ号方可通过调控细胞凋亡、拮抗雌孕激素、促进血管发生、改善微循环等方法达到治疗异位妊娠的目的，而且 TP53、TNF、IL-6、MAPK1 等为今后该方药理学研究和临床应用提供的新的思路和依据。

2.4 GO 功能富集分析 在 DAVID 平台进行 GO 功能富集分析，对宫外孕Ⅱ号方 PPI 网络中 102 个靶点蛋白在基因功能中的作用进行研究，得到 314 个条目，具有显著意义（ $P<0.05$ ）的有 14 个，从中筛选出基因数大于 10 个者，共得到 8 个，见图 4，包括氧化应激，促增殖抑凋亡，对药物、毒物的反应，转录翻译，信号传导。

2.5 KEGG 通路富集分析 在 DAVID 平台进行 KEGG 通路富集分析功能，对宫外孕Ⅱ号方 PPI 网络中 102 个蛋白在信号通路中的作用进行研究，得到 95 条信号通路，按 $P<0.05$ 、FDR <0.05 、基因数大于 10 的条件筛选出 6 条，见图 5，包括神经活性配体-受体相互作用信号通路、癌症信号通路、环腺苷酸的信号通路、血清素神经突触的信号通路、钙离子信号通路、环磷酸鸟苷-蛋白激酶信号通路，通路上基因靶点越多，宫外孕Ⅱ号方越可能通过这些通路来达到治疗作用，具体见表 2。

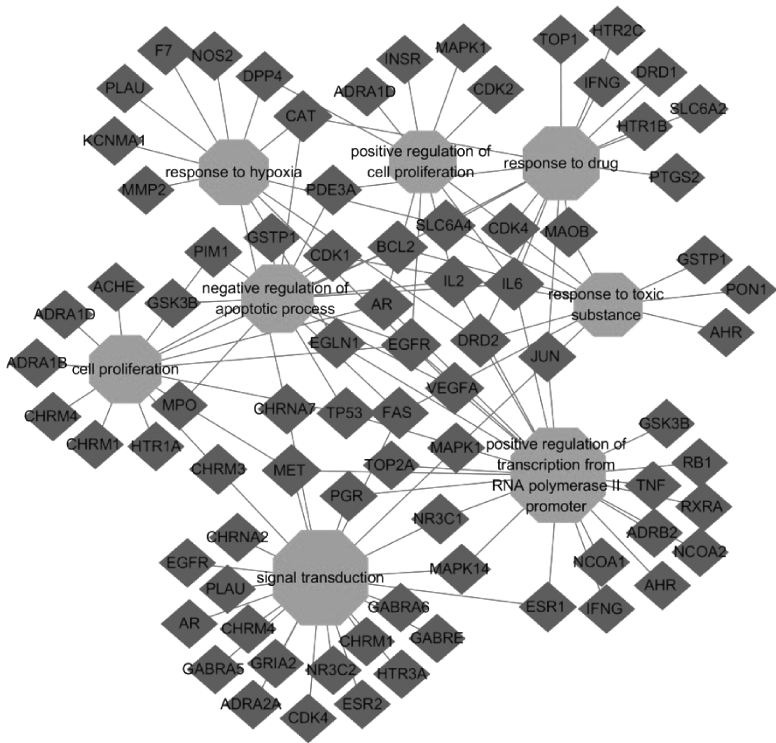


图 4 宫外孕 II 号方 GO 生物学功能分析

Fig. 4 GO biological function analysis for No. 2 Gongwaiyun Decoction

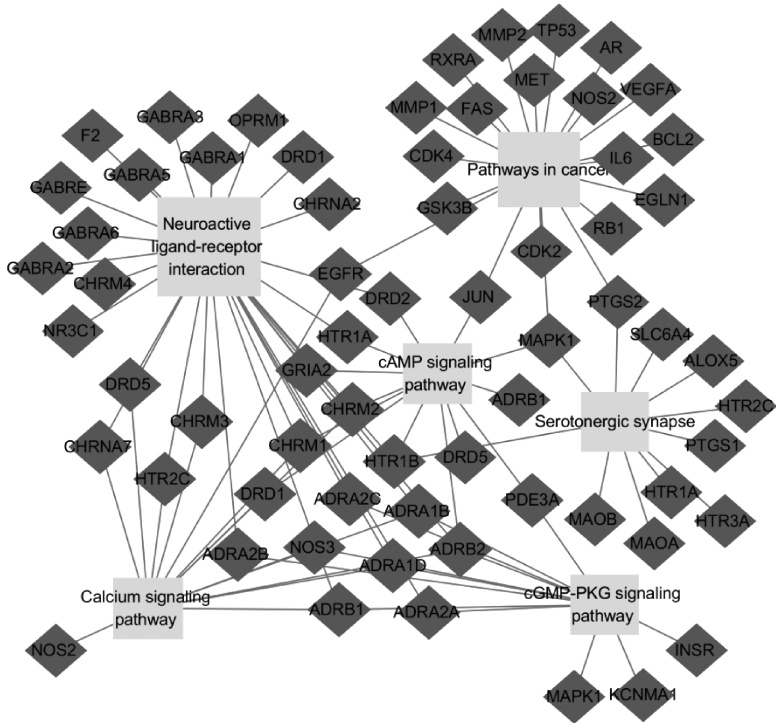


图 5 宫外孕 II 号方 KEGG 富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis for No. 2 Gongwaiyun Decoction

大多数基因富集在神经活性配体-受体相互作用通路、癌症信号通路、钙离子信号通路上，分别有 30 个（图 6）、20 个（图 7）、14 个（图 8）。其中，癌症信号通路包含许多靶点基因，如 IL6、TP53、MAPK1、JUN、BCL2、VEGFA 等，在 PPI 网络构建中发现它们可使宫外孕 II 号方起到治疗

表 2 宫外孕Ⅱ号方 PPI 网络中的通路 (P<0.01, gene amount=Top 5)			
Tab. 2 Pathways in PPI network for No. 2 Gongwaiyun Decoction (P<0.01, gene amount=Top 5)			
通路	基因数	基因名	P 值
神经活体配体-受体相互作用通路	30	降钙素受体基因 (CALCR), μ-阿片受体基因 (OPRM1), 多巴胺受体 D1 型基因 (DRD1), 多巴胺受体 D2 型基因 (DRD2), 多巴胺受体 D5 型基因 (DRD5), 糖皮质激素受体基因 (NR3C1), 羟色胺受体 1B 型基因 (HTR1B), 羟色胺受体 1 A 型基因 (HTR1A), α2 A 肾上腺素能受体基因 (ADRA2A), 烟碱乙酰胆碱受体 α7 基因 (CHRNA7), 肾上腺受体 α2C 受体基因 (ADRA2C), 肾上腺受体 α2B 受体基因 (ADRA2B), 烟碱乙酰胆碱受体 α2 基因 (CHRNA2), γ-氨基丁酸 A 受体基因 (GABRE), γ-氨基丁酸受体 A2 基因 (GABRA2), γ-氨基丁酸受体 A1 基因 (GABRA1), γ-氨基丁酸受体 A3 基因 (GABRA3), γ-氨基丁酸受体 A6 基因 (GABRA6), γ-氨基丁酸受体 A5 基因 (GABRA5), β2 肾上腺素受体基因 (ADRB2), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M4 抗体基因 (CHRM4), β1 肾上腺素能受体基因 (ADRB1), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M3 抗体基因 (CHRM3), 谷氨酸受体 2 基因 (GRIA2), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M2 抗体基因 (CHRM2), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M1 抗体基因 (CHRM1), α1B-肾上腺收徒基因 (ADRA1B), 5-羟色胺 2C 受体基因 (HTR2C), α1D-肾上腺能受体 (ADRA1D)	6.94×10 ⁻¹⁹
钙离子信号通路	14	表皮生长因子受体基因 (EGFR), 多巴胺受体 D1 型 (DRD1), 多巴胺受体 D5 型 (DRD5), β2 肾上腺素能受体 (ADRB2), β1 肾上腺素能受体 (ADRB1), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M3 (CHRM3), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M2 (CHRM2), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M1 (CHRM1), α1B-肾上腺素受体基因 (ADRA1B), 神经型烟碱乙酰胆碱受体 α7 基因 (CHRNA7), 一氧化氮合酶 (NOS3), 一氧化氮合酶 (NOS2), 5-羟色胺 2C 受体基因 (HTR2C), α1D-肾上腺素能受体 (ADRA1D)	6.51×10 ⁻⁷
癌症信号通路	20	表皮生长因子受体基因 (EGFR), 雄激素受体基因 (AR), 白细胞介素 6 基因 (IL6), 前列腺素内过氧化物合酶基因 (PTGS2), 维甲酸 α 受体基因 (RXRA), 肝细胞生长因子受体基因 (MET), 肿瘤蛋白 p53 基因 (TP53), 脯氨酰羟化酶 2 基因 (EGLN1), 视网膜母细胞瘤基因 (RB1), 周期蛋白依赖性激酶 4 (CDK4), 基质金属蛋白酶 (MMP2), 周期蛋白依赖性激酶 2 (CDK2), 基质金属蛋白酶 1 (MMP1), 丝裂原活蛋白激酶 1 (MAPK1), JUN 基因, B 细胞淋巴瘤-2 基因 (BCL2), 糖原合成激酶基因 (GSK3B), 血管内皮生长因子 A (VEGFA), 脂肪酸合成酶基因 (FAS), 一氧化氮合酶 (NOS2)	8.33×10 ⁻⁷
5-羟色胺能突触	11	丝裂原活蛋白激酶 1 (MAPK1), 5-羟色胺受体 1B (HTR1B), 5-羟色胺受体 1 A (HTR1A), 前列素内过氧化物合酶基因 (PTGS2), 单胺氧化酶 A 基因 (MAOA), 5-羟色胺转移蛋白基因 (SLC6A4), 前列素内过氧化物合酶基因 (PTGS1), 单胺氧化酶 B 基因 (MAOB), 5-脂氧合酶激活蛋白基因 (ALOX5), 5-羟色胺受体 3 亚型基因 (HTR3A), 5-羟色胺受体 2 亚型基因 (HTR2C)	2.01×10 ⁻⁶
cAMP 信号通路	13	丝裂原活蛋白激酶 1 (MAPK1), 5-羟色胺受体 1B (HTR1B), 多巴胺受体 D1 型基因 (DRD1), β2 肾上腺素能受体 (ADRB2), 5-羟色胺受体 1 A (HTR1A), β1 肾上腺素能受体 (ADRB1), 谷氨酸受体 2 基因 (GRIA2), 多巴胺受体 D2 型基因 (DRD2), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M2 (CHRM2), JUN 基因, 多巴胺受体 D5 型 (DRD5), 毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M2 (CHRM1), 磷酸二酯酶 3 A (PDE3A)	1.19×10 ⁻⁵
cGMP-PKG 信号通路	12	钾通道 M 亚组 α 亚基 (KCNMA1), 丝裂原活蛋白激酶 1 (MAPK1), β2 肾上腺素能受体 (ADRB2), β1 肾上腺素能受体 (ADRB1), α2 A 肾上腺素能受体基因 (ADRA2A), α1B-肾上腺受体基因 (ADRA1B), 磷酸二酯酶 3 A (PDE3A), 一氧化氮合酶 (NOS3), 肾上腺受体 α2C 受体基因 (ADRA2C), 肾上腺受体 α2B 受体基因 (ADRA2B), 骨骼肌内胰岛素受体 (INSR), α1D-肾上腺素能受体 (ADRA1D)	1.23×10 ⁻⁵

异位妊娠的作用。

3 讨论

异位妊娠属于妇产科常见的急腹症，其发病率呈逐渐增加趋势，考虑到患者生育能力，保证再次妊娠不受到影响，提高保守治疗疗效成为妇产科医生关注的重点之一。中医认为，异位妊娠病机为少腹血瘀证，故大多采用活血化瘀、消癥杀胚法进行治疗，以宫外孕Ⅱ号方为代表方，临床疗效良好^[8,33-34]。

为了进一步探索该方作用机制，本研究采用网络药理学方法，根据化合物、蛋白、信号通路等多个数据库构建网络，并对靶点功能进行富集，系统

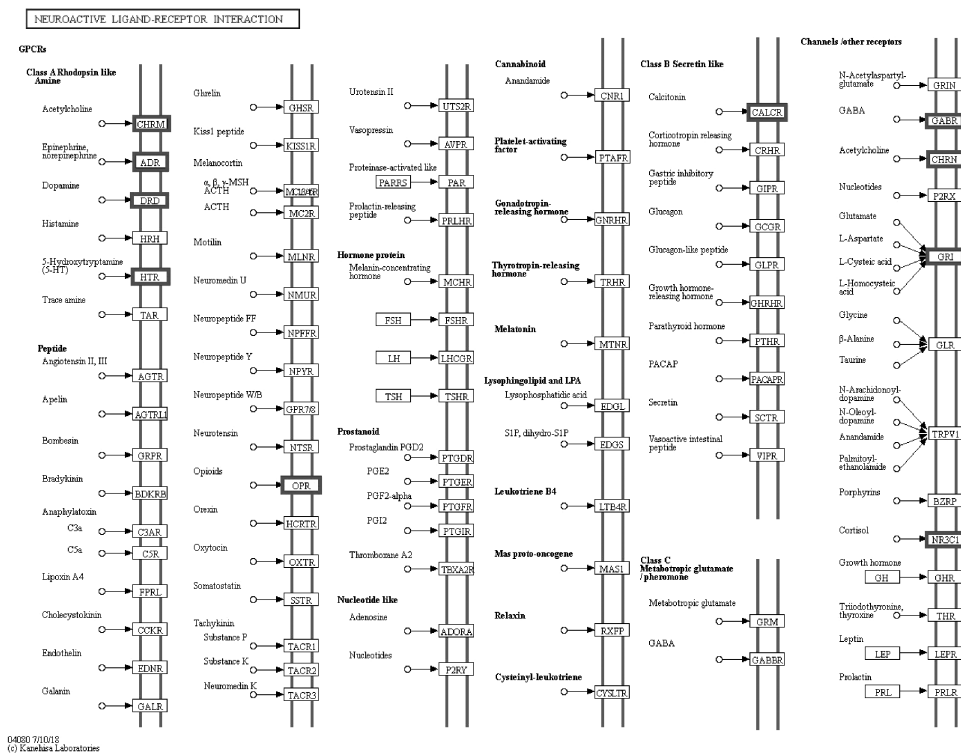


图 6 神经活性配体-受体相互作用通路

Fig. 6 Neuroactive ligand-receptor interaction pathways

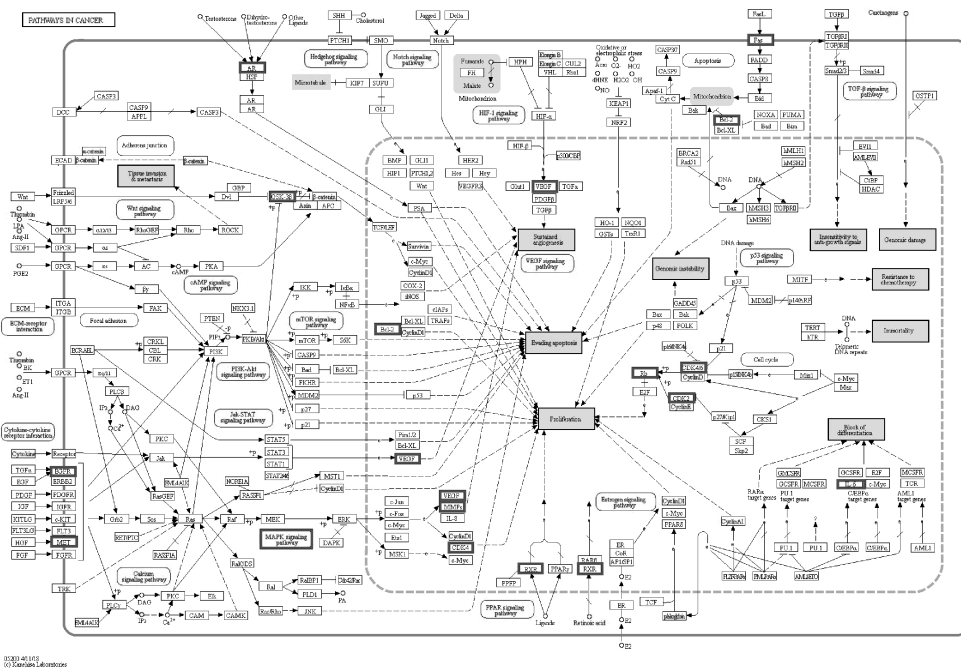


图 7 癌症信号通路

Fig. 7 Cancer signaling pathways

综合地展现药物对疾病干预和影响的机制。结果, 宫外孕Ⅱ号方核心化合物有 β -谷甾醇、1, 2, 5, 6-四氢丹参酮、4-亚甲丹参新酮、豆甾醇、2-异丙基-8-甲基菲-3, 4-二酮、鼠尾草酚酮等; 核心 Hub

蛋白为 TP53、JUN、VEGFA、IL6、MAPK1、EGFR、TNF、ESR1、F2、BCL2 等; GO 富集分析得出其治疗机制可能为通过氧化应激, 促增殖抑制凋亡, 对药物、毒物的反应, 转录翻译及信号传导

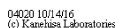


图 8 钙离子信号通路

综上所述,本研究通过网络药理学对宫外孕Ⅱ号方化合物、靶点、作用通路进行系统分析,初步验证了该方治疗异位妊娠的药理作用及相关机制,为今后进一步研究奠定理论基础。

- [1] 丰有吉, 沈 铿. 妇产科学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71-75.
- [2] Barnhart K T, Franasia J M. ACOG practice bulletin No. 193: tubal ectopic pregnancy[J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 131(3): e91-e103.
- [3] Cheng X, Tian X, Yan Z, *et al*. Comparison of the fertility outcome of salpingotomy and salpingectomy in women with tubal pregnancy: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152343.
- [4] 罗颂平, 谈 勇. 中医妇科学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 138-143
- [5] 邓高丕, 宋 阳, 何燕萍. 输卵管妊娠辨病分期辨证分型治疗方案的研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2007, 34(11): 1576-1578.

- [6] 杨励勤,陈华盈.宫外孕Ⅱ号方辅助治疗异位妊娠的临床疗效及安全性评估[J].中医药导报,2016,22(23):102-104.
- [7] 左晓琴.宫外孕Ⅱ号方联合米非司酮治疗宫外孕临床研究[J].河南中医,2015,35(8):1948-1950.
- [8] 杨梅.宫外孕Ⅱ号方联合甲氨蝶呤治疗气虚瘀阻型异位妊娠随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2013,27(10s):41-42.
- [9] 李晓荣,黄艳茜,邓高丕.化瘀消癥杀胚中药复方诱导人输卵管妊娠滋养细胞凋亡[J].中成药,2014,36(9):1813-1817.
- [10] 徐娟,邓高丕,郜洁.化瘀消癥杀胚中药对异位妊娠裸鼠体内模型的影响[J].中华中医药杂志,2014,29(10):3115-3118.
- [11] 刘玲,邓高丕.化瘀消癥杀胚复方含药血清对输卵管妊娠滋养细胞ER、PR、MMPs2的影响[J].中华中医药杂志,2013,28(12):3701-3704.
- [12] 胡时聪.不同血 β -hCG值宫外孕患者实施米非司酮联合甲氨蝶呤和宫外孕Ⅱ号治疗的疗效观察[J].世界中西医结合杂志,2015,10(8):1107-1109.
- [13] 张彦琼,李梢.网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2015,29(6):883-892.
- [14] 宋阔魁,毕天,展晓日,等.网络药理学指导下的中药有效成分发现策略[J].世界科技技术(中医药现代化),2014,16(1):27-31.
- [15] Massi A, Bortolini O, Ragno D, et al. Research progress in the modification of quercetin leading to anticancer agents[J]. *Molecules*, 2017, 22(8): e1270.
- [16] 王娟,刘军权,陈复兴,等. β -谷甾醇对人共刺激细胞杀伤胃癌SGC-7901细胞的影响及其机制的探讨[J].免疫学杂志,2014,30(7):578-584.

[17]

肖志彬, 贾韩学, 刘小雷. β -谷甾醇药理学活性的研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(8): 66-68.

[18]

王莉, 杨永杰, 陈松华, 等. β -谷甾醇对子宫颈癌细胞微管系统的影响[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(39): 2771-2775.

[19]

汤成泳, 孔令希, 罗成, 等. 丹参酮对左氧氟沙星在盆腔炎模型大鼠子宫组织中分布的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(5): 494-498.

[20]

刘娟, 刘颖. 丹参药理活性成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(7): 15-17.

[21]

郭傲玮, 蒲位凌, 骆莹莹, 等. 丹参雌激素样作用及机制研究近况[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(5): 324-328.

[22]

周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.

[23]

李庆勇, 姜春菲, 张黎, 等. β -谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1173-1175.

[24]

Riley T, Sontag E, Chen P, *et al.* Transcriptional control of human p53-regulated genes[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(5): 402-412.

[25]

张自阔, 李河川, 何谷. 基于 Bcl-2 蛋白关键位点抑制剂的研究[J]. 华西药学期刊, 2017, 32(4): 347-353.

[26]

Andera L. Signaling activated by the death receptors of the TNFR family[J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2009, 153(3): 173-180.

[27]

陈泓. microRNA 与雌激素受体关系的研究进展[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(8): 1250-1253.

[28]

谢辛慈, 吴佳, 潘芬芬, 等. 雌激素受体与肿瘤发生的研究进展[J]. 药物生物技术, 2015, 22(2): 156-159.

[29]

Paech K, Webb P, Kuiper G G, *et al.* Differential ligand activation of estrogen receptor ER α and ER β at AP1 sites[J]. *Science*, 1997, 277(5331): 1508-1510.

[30]

李鹏程, 刘玉玲, 党群, 等. 雌激素受体 α 、雌激素受体 β 、激活蛋白 1、血管内皮生长因子在大鼠子宫内膜异位症模型中的表达及意义[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(14): 7-11.

[31]

杨丽娟, 王永珍, 张伟, 等. 血清白细胞介素-6、8 在异位妊娠早期诊断中的价值探讨[J]. 江西医药, 2009, 44(6): 553-555.

[32]

Chen Q, Zhang Y, Tong M, *et al.* Pre-treatment with calcium prevents endothelial cell activation induced by multiple activators, necrotic trophoblastic debris or IL-6 or preeclamptic sera: possible relevance to the pathogenesis of preeclampsia[J]. *Placenta*, 2013, 34(12): 1196-1201.

[33]

李艳娟. 宫外孕 II 号联合甲氨蝶呤、米非司酮治疗异位妊娠随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(10): 109-110.

[34]

韩慧, 罗庭威. 加味宫外孕 II 号方治疗陈旧性宫外孕包块 45 例[J]. 河南中医, 2013, 33(5): 738-739.

基于网络药理学的金复康口服液治疗非小细胞肺癌机制

陈石秀¹, 陈佳蕾¹, 谢瑞芳¹, 周昕¹, 许玲², 董昌盛¹, 杨铭^{1*}
(1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

摘要: **目的** 基于网络药理学分析金复康口服液治疗非小细胞肺癌机制。**方法** 通过建立化学成分、靶点、疾病数据库, 进行主要活性成分和靶标筛选, 并对其进行多层次复杂网络分析、GO 及 KEGG 通路富集分析。**结果** 金复康口服液中筛选出 85 个满足类药性评估的主要活性化合物, 以及 130 个复方的主要作用靶标。多层次网络模型分析显示, 复方网络与疾病网络具有较好的节点相似性; 生物功能的富集分析显示, 与疾病显著共关联的信号通路主要有 PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路、催乳激素信号通路及凋亡信号通路等 7 条通路。**结论** 网络药理学可从整体上揭示金复康口服液治疗非小细胞肺癌的作用机制, 并为该制剂二次开发及基础研究提供依据。

关键词: 金复康口服液; 非小细胞肺癌; 网络药理学

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)07-1547-09
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.07.013

收稿日期: 2018-09-20
基金项目: 上海市教育委员会科研创新项目 (15ZZ066); 上海市临床药学重点专科建设项目 (沪卫计药政 [2017] 5)
作者简介: 陈石秀 (1994—), 男, 硕士。Tel: 18621830191, E-mail: chen-csx@foxmail.com
* 通信作者: 杨铭 (1979—), 男, 副主任药师, 研究方向为药物信息学在中医药领域的应用。Tel: (021) 64385700-7305, E-mail: yangpluszhu@sina.com