

# 基于生物信息学预测蒲公英干预炎症的“药效网络”及机制研究

王腾宇 白根本

(北京中医药大学生命科学院, 北京 102488)

**摘要** 目的:借助生物信息学、数据挖掘技术预测并筛选蒲公英干预炎症的主要活性成分及其潜在靶点,探讨蒲公英对炎症的疾病-多靶点-多成分的干预作用机制。方法:依据在线中医药生物信息学分析工具(BATMAN-TCM)筛选蒲公英活性成分的作用靶点,进行KEGG信号通路和Gene Ontology数据富集分析。采用Cytoscape软件构建蒲公英活性抑制炎症的成分-靶点网络。结果:在蒲公英中筛选出5个活性成分,为菊黄质、毛茛黄素、咖啡酸、七叶内酯和胆碱,共涉及炎症9个靶点,且活性成分与预测的靶点有较好的相互作用。结论:蒲公英抗炎的机制与腺苷酸激酶(ADK)、腺苷A1受体(ADORA1)、螺旋环螺旋结构域扩散酶(CHUK)等靶点有关。

**关键词** 蒲公英 生物信息学 预测 靶点 抗炎活性成分

**中图分类号** R282.710.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2018)02-0073-03

**基金项目** 北京中医药大学自主选题项目—在读研究生项目(2017-JYB-XS-017)

蒲公英是菊科蒲公英属植物蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand. Mazz.)、碱地蒲公英(*Taraxacum sinicum* Kitag)及同属植物的干燥的全草。蒲公英始载于《唐本草》,入肝、胃经,主要分布于我国西南和西北等地区,其味苦、甘,性寒,具清热解毒、消肿散结、利尿通淋之功效。现代药理研究表明,蒲公英具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化、保肝利胆等作用,临床主要用于各种炎症、胃溃疡等多种疾病的治疗<sup>[1]</sup>。

蒲公英主要含有萜类、有机酸类、总黄酮类、多糖类成分和其他类成分。萜类主要包括三萜和倍半萜类成分,如伪蒲公英甾醇棕榈酸酯等三萜类成分和蒙古蒲公英素B等倍半萜类成分;有机酸类成分主要包括绿原酸、咖啡酸、棕榈酸等,其中绿原酸和咖啡酸具有抗菌活性;黄酮类是蒲公英有效成分,以芦丁为代表,含量较大;蒲公英多糖为其具有抗氧化活性的代表;其他类成分包括香豆素、木质素等<sup>[2]</sup>。

炎症是机体对致炎因子的损伤所发生的一种以防御反应为主,损伤和抗损伤并存的基本病理过程。中医认为所谓炎症是邪正斗争,阴阳失调,升降失常所致。平家奇等<sup>[3]</sup>通过建立二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型等,证明蒲公英提取物具有明显的体内抗炎作用。Kim等<sup>[4]</sup>研究了蒲公英叶提取物对P物质和脂

多糖刺激的原代培养大鼠星形细胞中肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )的影响,推断蒲公英叶提取物有明显的抗炎活性。

生物信息学是一种基于网络视角、整体水平观察药物作用靶点或药效基础,发现先导化合物,识别新药靶点的研究新策略<sup>[5]</sup>。生物信息学能从系统水平探索中药调控机体治疗疾病的多成分、多靶点的机制,并逐渐作为一种创新型的研究策略被引入到中药及其复方的药效物质基础研究中。本研究采用生物信息学方法分析中药蒲公英抗炎活性成分和可能的分子作用机制,为蒲公英质量控制提升、药效基础研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 靶点及其对应有效成分的预测** 首先采用数据挖掘法挖掘BATMAN-TCM数据库中蒲公英抗炎活性的潜在靶点,并登陆BATMAN-TCM服务器(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>),分别上传蒲公英的主要靶点,得到每个靶点对应的有效成分筛选结果,将两部分数据进行整合<sup>[6]</sup>。BATMAN-TCM系统可以分析疾病靶点富集度的显著性水平并对有效成分与目标靶点相关性进行评分(score)。通过统计分析,选择合适的计算方法预测传统中药治疗疾病的显著性P值,最终选择有统计学意义的预测蒲公英所治疗

的疾病。以 $P < 0.05$ 作为“药物-通路”网络构建的数据。以 $P < 0.05$ , score cutoff=10为基准,显示蒲公英治疗炎症的显著性分析,及所对应的靶点和有效成分。

**1.2 网络的构建及分析** 根据上述预测结果,使用Cytoscape软件中的关联功能(Merge),将筛选出的活性成分、潜在靶点以及与靶点对应的疾病信息构建一个药物-靶点-疾病网络。在生成的网络中,节点代表化合物、蛋白质或疾病,边代表化合物-靶点以及靶点-疾病相互作用。

**1.3 KEGG通路分析** KEGG数据库是一个联系基因组信息和功能信息的知识库,其子数据库PATHWAY汇集了分子交互作用及其反应网络人工通路图。BATMAN-TCM是一个基于网络访问的功能注释系统,利用BATMAN-TCM工具分析KEGG pathway可以直观观测到蒲公英的富集通路目标基因对应的蛋白及相互关系,有助于了解疾病的分子学机理,并为新药的研发提供有效参考靶点。

**1.4 GO Ontology分析** 基因本体GO (Gene Ontology)体系集成了多种异质数据库的信息,用结构化的自然语言术语对基因和基因产物的功能进行注释和分类,是研究基因功能相似性的有力工具。利用BATMAN-TCM数据库分析,蒲公英在基因本体论的生物学进程(biological process)富集分析。

## 2 结果

**2.1 蒲公英干预炎症的靶点筛选** 检索BATMAN-TCM数据库发现,蒲公英中具有抗炎活性的靶点共9个(见表1),与炎症经典通路基本吻合。

表1 蒲公英中具有抗炎活性的对应靶点 ( $P < 0.05$ , score cutoff=10)

序号	描述	靶点
1	腺苷酸激酶	ADK
2	腺苷 A1 受体	ADORA1
3	螺旋环螺旋结构域扩散激酶	CHUK
4	二氢叶酸还原酶	DHFR
5	核因子- $\kappa$ B 亚单位抑制剂	IKKBK
6	1B 型磷脂酶 A2	PLA2G1B
7	磷脂酶 D1	PLD1
8	过氧化物酶体增殖物激活受体	PPARG
9	前列腺素内过氧化物合酶 2	PTGS2

**2.2 蒲公英的活性成分筛选** 通过BATMAN-TCM数据库整理出蒲公英中共14个化合物,手动筛选蒲公英干预炎症的靶点对应成分共5个(见表2),为菊黄质、毛茛黄素、咖啡酸、七叶内酯和胆碱,主要涉及了生物碱、木质素、皂苷、萜类等。

表2 蒲公英抗炎的活性成分筛选 ( $P < 0.05$ , score cutoff=10)

序号	NCBI 编号	靶点	成分名称
1	945097	ADK	菊黄质、毛茛黄素
2	11539	ADORA1	菊黄质、毛茛黄素
3	1147	CHUK	咖啡酸
4	1719	DHFR	七叶内酯
5	3551	IKKBK	咖啡酸
6	5319	PLA2G1B	咖啡酸
7	5337	PLD1	胆碱
8	5468	PPARG	七叶内酯、咖啡酸
9	5743	PTGS2	七叶内酯、咖啡酸

**2.3 网络构建及分析** 使用Cytoscape软件构建在抗炎方向蒲公英活性成分-作用靶点的网络模型,如图1所示。从图中可以看出,5个主要活性成分的9个潜在靶点对比到炎症上,且不同的活性成分可作用于相同的靶点,也可作用于不同的靶点,充分体现了蒲公英多成分、多靶点的作用机制。

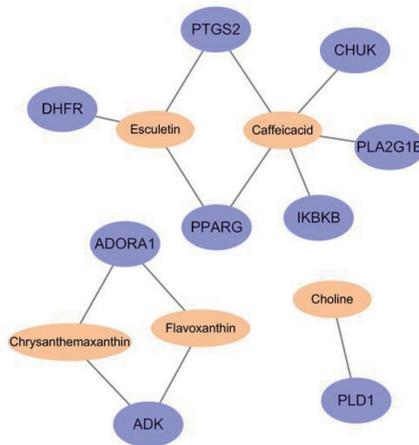


图1 蒲公英抗炎活性的靶点-成分网络关系图

**2.4 KEGG通路分析** 在KEGG数据库富集分析结果排名前5的通路分别为视黄醇代谢(Retinol Metabolism)、类固醇生物合成(Steroid Biosynthesis)、甘油磷脂代谢(Glycerophospholipid Metabolism)、醚脂质代谢(Ether Acid Metabolism)、花生四烯酸代谢(Arachidonic Acid Metabolism),见图2。

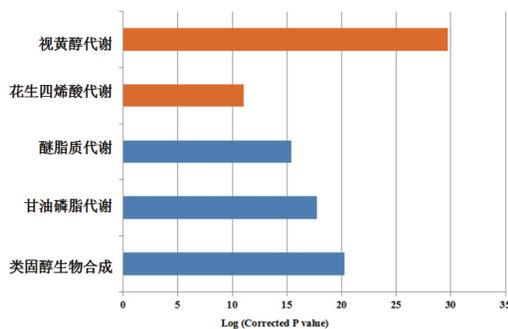


图2 KEGG数据库通路富集结果(前5)

2.5 GO Ontology分析 在基因本体论(GO)的生物学进程(biological\_process)富集分析结果排名前5的生物学进程分别为脂质代谢过程(Lipid Metabolic Process)、脂质结合(Lipid Binding)、氧化还原酶活性(Oxidoreductase Activity)、小分子代谢过程(Small Molecule Metabolic Process)、次代谢过程(Secondary Metabolic Process),见图3。

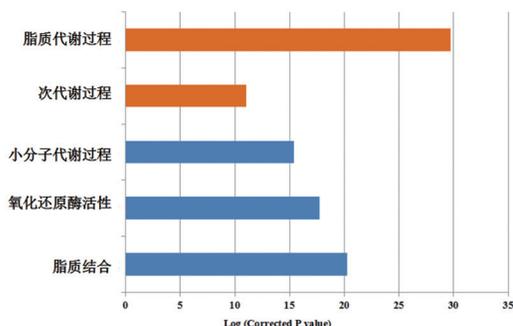


图3 GO生物学进程 (Biological Process) 富集分析结果

### 3 讨论

药效相互作用网络是研究药物作用或机制分子基础的新途径和新方法,也是目前国际上生物信息学研究的热点之一。发现并建立成分与疾病相关的分子作用网络,对于研究复杂疾病机制至关重要,也是现代生物医学所面临的重大挑战。生物信息学依靠数据挖掘,探索疾病表型-基因-靶点-药物相互作用的相互关系,通过网状分析药物对疾病网络的干预与影响,寻找可能的组合药物靶标,预测相关疾病的治疗靶点和成分。

本研究以蒲公英为例,采用生物信息学数据挖掘的方法考察蒲公英治疗疾病的分布情况,并将其与相关靶点进行对接,根据疾病与靶点相关性推测蒲公英具有抗炎活性可能的机制,并进一步对蒲公英的药理作用进行了KEGG和GO富集分析。计算结果表明,蒲公英抗炎的作用机制靶点包括腺苷酸激酶(ADK)、腺苷A1受体(ADORA1)、螺旋环螺旋结构域扩散激酶(CHUK)等。

腺苷酸激酶(ADK)是一种磷酸转移酶,也是一种遍布人体细胞的内源性核苷,与其他的磷酸转移酶共同维持细胞中核苷酸的正常含量,在能量代谢、细胞生长活动中起着十分重要的作用<sup>[7]</sup>。在缺血、缺氧或者炎症等恶劣的环境下,局部组织中腺苷的浓度会相应升高,调节局部组织和细胞的能量代谢,保护其免受外界因素的损伤,促进血管生成和毛细血管密度增加。腺苷受体(ADOR)由A1、A2a、A2b和A3 4种亚型组成,这4种亚型都是G蛋白偶联受体。腺苷及其受体参与了各种各样的生物过程,腺苷受

体的激活具有调控炎症反应等生物学功能,可以调控炎症微环境。此外,螺旋环螺旋结构域扩散激酶(CHUK)编码的蛋白可使核因子NF- $\kappa$ B信号通路上的节点磷酸化,从而激活NF- $\kappa$ B,最终促进成套促炎基因的表达,从而使炎症加重<sup>[8]</sup>。

本研究中蒲公英的化学成分与相关靶标的相互作用研究能初步揭示其分子基础及复杂的作用机理。此外,生物信息学的应用可提示中药相关药理作用靶点,筛选中药有效靶成分,大大减少实验工作量,降低中药新药开发及研究的风险,有助于中药现代化发展及创新药物的发现。但仅基于数据库的化学成分的分析,不经含量筛选纳入所有化合物信息,可能错误高估含量极低、非特征性化合物在中药材及其复方中的作用。因此,利用中药化学提取技术找到与该药功能主治相吻合的有效成分,揭示其成分含量、药效物质基础,可弥补生物信息学的不足。因而,综合应用生物信息学和中药化学先进理念和技术,靶向提高中药复方吸收率和纯度,明确药物作用机制,是科学研究中药的关键。

#### 参考文献

- [1] 于立恒.蒲公英药理作用研究进展[J].实用中医杂志, 2012, 28(7): 617.
- [2] 谢沈阳,杨晓源,丁章贵,等.蒲公英的化学成分及其药理作用[J].天然产物研究与开发, 2012, 24(1): 141.
- [3] 平家奇,刘利本,邹娟,等.蒲公英提取物体内抗炎作用研究[J].延边大学农学学报, 2010, 32(1): 52.
- [4] KIM H M, SHIN H Y, LIM K H, et al. Taraxacum officinale inhibits tumor necrosis factor- $\alpha$  production from rat astrocytes[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2000, 22(3): 519.
- [5] LIU X, ZHANG M, HE L, et al. Chinese herbs combined with Western medicine for severe acute respiratory syndrome (SARS) [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2012, 10: CD004882.
- [6] LIU Z, GUO F, WANG Y, et al. BATMAN-TCM: a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21146.
- [7] DECLERCK P J, MÜLLER M. Hydrogenosomal ATP: AMP phosphotransferase of Trichomonas vaginalis[J]. Comp Biochem Physiol, B, 1987, 88(2): 575.
- [8] HAYDEN M S, GHOSH S. Shared principles in NF- $\kappa$ B signaling[J]. Cell, 2008, 132(3): 344.

第一作者:王腾宇(1991—),男,硕士研究生,研究方向为生物转化。

通讯作者:白根本,博士,教授。baigb@263.net

收稿日期:2017-09-15

编辑:吴宁