

海马益智散防治阿尔茨海默病的作用及其机制

——基于网络药理学进行分析

库德热提·阿吉 木太里普·吐逊 靳剑*

新疆乌鲁木齐市中医医院

DOI:10.12238/bmtr.v6i5.10052

[摘要] 目的: 通过网络药理学方法初步探索海马益智散防治的阿尔茨海默病的作用及其机制。方法: 通过检索国内外文献及TCMSP数据库获取海马益智散中7味中药的化学成分,以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 作为筛选条件获得其活性成分。采用SWISS数据库对活性成分进行潜在靶点预测,以Cytoscape软件构建化学成分-靶点网络、靶点-疾病-疾病分类网络,同时运用STRING数据库对靶点进行蛋白质相互作用分析,采用DAVID数据库对靶点进行通路富集分析。结果: 本研究共筛选出海马益智散中40个活性成分,可作用于687个靶点,其中核心靶点包括STAT3、MAPK、AKT1、JAK2,涉及信号通路包括P13K-Akt、AGE-RAGE、EGFR信号通路。结论: 海马益智散防治阿尔兹海默症作用可能与其作用于STAT3、MAPK、AKT1、JAK2靶点及P13K-Akt、AGE-RAGE、EGFR信号通路有关。

[关键词] 海马益智散; 阿尔兹海默病; 防治作用机制

中图分类号: R197.65 文献标识码: A

Analysis of the effect and mechanism of Haima Yizhi Powder on preventing and treating Alzheimer's disease based on Internet pharmacology

Kudereti Aji Mutailipu·Tuerxun Jian Jin*

Xinjiang Urumqi City Traditional Chinese Medicine Hospital

[Abstract] Objective: To initially explore the role and mechanism of Haima Yi in preventing and treating Alzheimer's disease through online pharmacology methods. Methods The chemical compositions of 7 traditional Chinese medicines in Haima Yizhi Powder were obtained by searching domestic and foreign literature and TCMSP database, with $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ as screening conditions to obtain its active ingredients. The SWISS database was used to predict potential targets for active ingredients, and Cytoscape software was used to build chemical component-target networks and target-disease-disease classification networks. At the same time, the STRING database was used to analyze protein interactions on targets, and the DAVID database was used to conduct path enrichment analysis on targets. Results In this study, a total of 40 active ingredients in Haima Yizhi Powder were screened, which could act on 687 targets. The core targets included STAT3, MAPK, AKT1, and JAK2, and the signaling pathways involved included P13K-Akt, AGE-RAGE, and EGFR signaling pathways. Conclusion The preventive and therapeutic effect of Haima Yizhi Powder on Alzheimer's disease may be related to its action on STAT3, MAPK, AKT1, JAK2 targets and P13K-Akt, AGE-RAGE, and EGFR signal pathways.

[Key words] Haima Yizhi Powder; Alzheimer's disease; Prevention and treatment mechanism

引言

阿尔茨海默病是一种起病隐匿、进行性发展的神经系统退行性疾病,中医药在防治此病方面具有独特优势和特色。阿尔茨海默病主要表现为记忆障碍、失语、失用、失认等全面性痴呆

症状,病因迄今未明,西医方面尚无特效的治疗手段。而中医药治疗此病,一方面可以延缓西药的治疗效果,另一方面可以针对患者个体所出现的具体症状进行改善,如记忆力下降、语言功能受损等^[1]。中医药治疗阿尔兹海默病主要采用补益肝肾、益气

养血等原则,通过辨证论治,延缓病情进展^[2]。海马益智散是乌鲁木齐市中医医院杨椿年主任医师(新疆名老中医蒋贤达先生的学术继承人)的经验方,总结了临床中治疗卒中后血管性轻度认知障碍之特长,经反复临床证明、调整处方而研制成的具有新疆特色的纯中药制剂,经临床应用,治疗卒中后认知障碍有显著疗效^[3-5],至今已运用近三十年。该方由海马、益智仁、肉苁蓉、远志、菖蒲等中药组成,具有补肾填髓以治本,祛瘀涤痰开窍以治标之功效,适用于临床辨证为肾虚亏虚,痰瘀阻窍型血管性痴呆的患者。但至今尚缺乏其防治阿尔茨海默病作用及其机制研究报道。因此,本实验拟采用网络药理学方法分析其防治阿尔茨海默病作用及可能的作用机制,旨在为其进一步深入研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 活性成分的筛选

本研究采用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>),以海马、益智仁、肉苁蓉、远志、石菖蒲、郁金、川芎为关键词,检索海马益智散中7味中药的全部化学成分。以化合物口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18作为活性成分的筛选条件。但是,依据上述活性成分筛选方法,仍会将部分具有药理作用的有效成分筛除。因此,本研究根据已有的文献报道进一步验证和补充,最终确定出附子汤中具有活性的成分。

1.2 获取潜在抗Alzheimer's靶点与蛋白质相互作用网络(PPI)

在GeneCards、OMIM以及TTD平台数据库中以“nono-alcoholic fatty liver disease”为关键词进行检索,筛选得到抗Alzheimer's疾病靶点。将主要活性成分靶点与抗Alzheimer's靶点查重筛选,利用Venn在线软件获取共同靶点Venn图,得到的共同靶点作为抗Alzheimer's的潜在靶点。通过STRING平台获取PPI蛋白互作网络,并导入Cytoscape v3.10.0进行拓扑分析,通过连接度(Degree值)的中位数筛选出核心潜在活性成分抗Alzheimer's的核心靶点,用cytoHubba计算出hub gene并且绘图。

1.3 构建活性成分-靶点-通路网络

为了更清晰地展示核心药组对抗阿尔兹海默病的作用机制,运用Cytoscape v3.10.0软件绘制成网络图,通过Degree值预测核心潜在成分抗阿尔兹海默作用的主要活性成分

1.4 生物信息富集分析

将在获得的关键核心药组抗阿尔兹海默潜在靶点,利用Metascape数据库进行基因本体GO(Gene Ontology)注释及京都基因与基因组百科全书KEGG(Kyoto encyclopedia of genes and genomes)通路富集分析。将上一步筛选出的与阿尔兹海默相关的靶点映射到DAVID数据(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>)中进行GO富集分析,选取富集结果中P值小于0.05的前20个通路绘制气泡图,探索这些靶点所参与的生物过程、分子功能、细胞组成在慢性肝病的治疗中的生物学意义。

2 结果

2.1 活性成分的筛选

通过TCMSP数据库,分别对海马益智散中的7味中药进行检索,以OB≥30%和DL≥0.18为筛选条件,得到海马中活性成分6个,其中益智仁中活性成分11个,肉苁蓉中活性成分6个,远志中活性成分4个,石菖蒲中活性成分3个,郁金中活性成分6个,川芎中活性成分4个。剔除重复的活性成分,共收集到其胡萝卜苷、白杨素、山奈酚、柚皮素、原儿茶酸、肉豆蔻酮及油酸、亚油酸等40个化学成分。

2.2 潜在抗阿尔兹海默靶点获取

以“Alzheimer's disease”为关键词进行检索,从GeneCards、OMIM以及TTD平台数据库收集非酒精性脂肪肝疾病靶点并进行删除重复项,获得阿尔兹海默疾病靶点546个,与核心药物组活性成分预测靶点进行筛选后得到共同靶点,利用Venn在线软件获取共同靶点Venn图,得到阿尔兹海默的潜在共同靶点283个。

2.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

PPI分析结果表明,共含有靶蛋白283个,靶蛋白相互连线5843条,平均度值为41.3,平均介数0.506。PPI网络图中的每一个节点表示一个蛋白质,节点间的边表示蛋白质间相互作用,粗细表示蛋白分子相互之间的作用强度,在整个网络中节点越大、颜色越深,对应度值越大;边越粗、颜色越深,两者之间联系越紧密,推测这些可能是核心药组发挥抗阿尔兹海默的重要靶点,Cytoscape_v3.10.0软件进行网络拓扑分析,以平均度值为依据,选取大于平均度值的靶点作为核心靶点,按照度值大小筛选出STAT3、MAPK、AKT1、JAK2等前10个靶点作为核心靶点。

2.4 通路富集分析

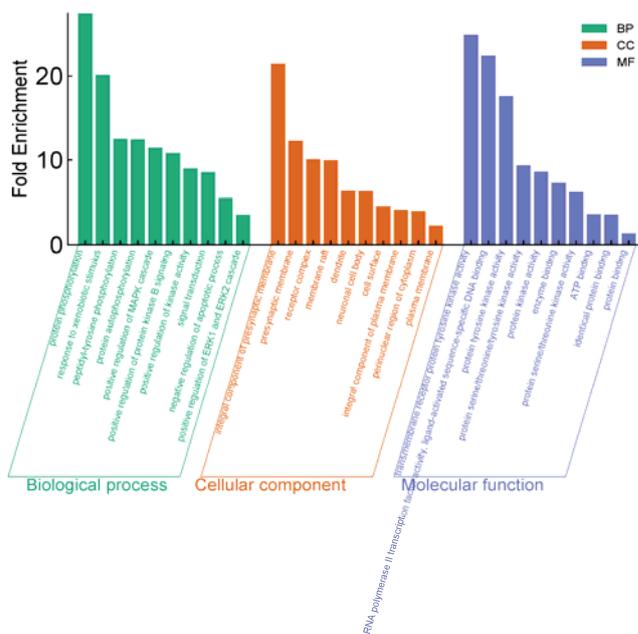


图1 核心靶点GO富集分析柱状图

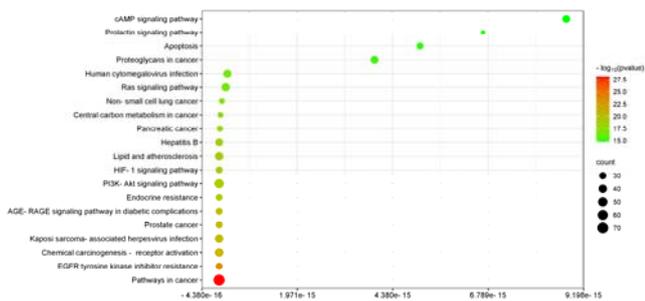


图2 核心靶点KEGG通路气泡图

运用DAVIDA平台 (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>) 进行通路富集分析。通过KEGG分析,发现富集了265个通路富集主要包括GOBP、GOMF、GOCC三个方面。GOBP主要涉及对细胞对化学应激的反应、脂肪酸代谢过程、细胞对氧化应激的反应、活性氧代谢过程、对氧化应激的反应等; GOMF主要包括配体激活的转录因子活性、DNA结合转录因子结合、细胞因子受体结合、泛素样蛋白连接酶结合、类固醇激素受体活性等; GOCC主要包括膜筏、膜微结构域、膜区、质膜筏等。对KEGG与GO进行的通路分析,设置了P<0.01为筛选条件,取P值最小的前二十条通路进行分析,运用“微生信”网站进行绘图,结果如图5所示。通过“靶点-通路”网络拓扑分析,如图1、2、3所示。

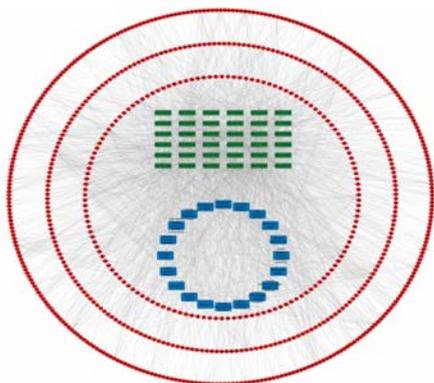


图3 关键核心药组成分-靶点-通路网络

3 讨论

本研究通过网络药理学方法初步探索了海马益智散防治阿尔茨海默病的作用及其机制,为传统中药在复杂疾病治疗中的应用提供了新的视角。研究结果显示,海马益智散中的活性成分具有多靶点作用特性,这一特性与现代药物研发中的多靶点策略相契合,为阿尔茨海默病这类多因素、多环节的复杂疾病提供了新的治疗思路。具体而言,本研究发现海马益智散中的活性成分可以作用于包括STAT3、MAPK、AKT1和JAK2在内的多个核心靶点。这些靶点不仅与阿尔茨海默病的病理过程密切相关,还在细胞信号传导、炎症反应、细胞凋亡等多个生理和病理过程中发

挥着重要作用。因此,海马益智散可能通过调节这些关键靶点的功能,对阿尔茨海默病产生广泛的治疗作用。进一步的分析还发现,这些活性成分主要涉及的信号通路包括P13K-Akt、AGE-RAGE和EGFR信号通路。这些通路在阿尔茨海默病的发病和治疗过程中起着重要作用,涉及神经元存活、突触可塑性、炎症反应等多个方面。海马益智散中的活性成分可能通过调节这些信号通路的活性,从而改善阿尔茨海默病患者的神经功能,减缓疾病进程。这一发现为海马益智散防治阿尔茨海默病提供了初步的理论依据,并显示出其与传统西药相比可能具有的独特优势和潜力。特别是,海马益智散作为一种天然药物,其多成分、多靶点的作用机制可能更符合中医的整体观念和辨证施治原则,为阿尔茨海默病的治疗提供了新的思路和方向。然而,本研究仅为初步探索,仍需要进一步的实验验证和深入研究。未来的研究可以针对这些核心靶点和信号通路进行更深入的分析,如采用基因敲除或过表达技术验证靶点的具体作用,或采用高通量测序技术进一步挖掘与阿尔茨海默病相关的新的靶点和信号通路。同时,也可以考虑进行临床试验,以评估海马益智散在阿尔茨海默病患者中的实际疗效和安全性,为其临床应用提供更有力的证据。

总之,本研究为海马益智散防治阿尔茨海默病提供了新的思路和方向,有望为这一领域的研究和开发提供有益的参考。随着对阿尔茨海默病发病机制的深入研究和中药现代化进程的加速,相信海马益智散等传统中药在阿尔茨海默病防治中将发挥越来越重要的作用。

【参考文献】

[1]赵克武,张宁,董晓红,等.补阳还五汤防治阿尔茨海默病的研究进展[J].中草药,2024,55(8):2843-2852.
 [2]唐婷颖,杨宏志.基于数据挖掘和网络药理学探讨中药干预阿尔茨海默病机制[J].老年医学与保健,2024,30(2):374-381.
 [3]陈红霞,张佳佳.海马益智散治疗卒中后血管性认知功能障碍患者临床观察[J].新疆中医药,2014,32(4):3.
 [4]张佳佳,马斌,陈红霞.海马益智散治疗卒中后血管性轻度认知功能障碍患者有效性及安全性分析[J].新疆中医药,2016,34(3):3.
 [5]靳剑,木太里普·吐逊,李志辉,等.海马益智散对血管性痴呆大鼠模型抗氧化应激及学习记忆能力的影响[J].新疆中医药,2019,37(4):4.

作者简介:

库德热提·阿吉(1974--),男,新疆乌鲁木齐人,副主任医师,研究方向: 中药制剂临床应用。

靳剑(1984--),男,汉族,新疆乌鲁木齐人,本科,主管药师,研究方向: 中药制剂临床应用。