

基于网络药理学分析半夏-黄芩-黄连治疗 幽门螺杆菌相关性胃炎的作用机制

张 彧¹, 吴东升¹, 徐 寅², 杨仁义¹, 喻 斌^{2*}

¹湖南中医药大学, 长沙 4102082; ²湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007

摘要:基于前期数据挖掘结果,采用网络药理学方法分析“半夏-黄芩-黄连”治疗幽门螺杆菌(Hp)相关性胃炎的主要有效化合物及作用机制。本研究通过TCMSP平台筛选“半夏-黄芩-黄连”药对中潜在活性成分;Swiss Target Prediction数据库获得潜在活性成分的作用靶点, Gene Cards数据库、OMIM数据库获得Hp相关性胃炎的主要致病靶点;构建“中药-成分-靶点”网络模型及PPI网络图分析药对中主要活性成分及作用靶点蛋白;采用David数据库对药对作用靶点进行生物功能及代谢通路分析。筛选出药对潜在活性成分35个;得到药对治疗Hp相关性胃炎的潜在作用靶点蛋白37个;涉及通路77条。该研究初步揭示了“半夏-黄芩-黄连”干预Hp感染诱导的慢性胃炎可能是通过多成分、多靶点、多途径发挥抗炎作用,并调控胃癌进程,为阐释其治疗Hp相关性胃炎的作用机制与物质基础提供了科学依据。

关键词:幽门螺杆菌相关性胃炎;半夏;黄芩;黄连;网络药理学

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)4-0592-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.4.007

Mechanism of Pinellia-Scutellaria-Coptis in treating *Helicobacter pylori*-related gastritis based on network pharmacology

ZHANG Yu¹, WU Dong-sheng¹, XU Yin², YANG Ren-yi¹, YU Bin^{2*}

¹Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

²First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China

Abstract: Consulting the previous research, the paper analyzed the main effective compounds and mechanisms of Pinellia, Scutellaria and Coptis in treating *Helicobacter pylori* associated gastritis based on network pharmacology. The compounds of Pinellia, Scutellaria and Coptis were obtained in the TCMSP platform. The targets of compounds were obtained in the Swiss Target Prediction database. The targets of *Helicobacter pylori* associated gastritis were obtained in the Gene Cards database and the OMIM database. Constructed a "herbs-compounds-targets" network association diagram and protein-protein interaction to analyze the main effective compounds and targets in Pinellia, Scutellaria and Coptis. A functional enrichment analysis and metabolic pathway of the targets of Pinellia, Scutellaria and Coptis were analyzed in David database. A total of 35 potential active compounds were screened, 37 targets were related to disease and 77 pathways were involved. The herapeutic mechanism of Pinellia, Scutellaria and Coptis on the *Helicobacter pylori* associated gastritis and regulating the gastric cancer reflects the characteristics of multi-component, multi-target, and multi-pathway, which provides a scientific basis for further explaining the action mechanism and the material basis of Pinellia, Scutellaria and Coptis against *Helicobacter pylori* associated gastritis.

Key words: *Helicobacter pylori* associated gastritis; Pinellia; Scutellaria; Coptis; network pharmacology

全球慢性胃炎最常见的原因是幽门螺杆菌(*He-*

licobacter pylori, Hp)感染。Hp感染对胃黏膜造成进行性损伤,在消化性溃疡、胃癌、胃MALT淋巴瘤等多种重要疾病中起着致病作用^[1-3]。《幽门螺杆菌胃炎京都全球共识报告》认为Hp诱导的胃炎是消化性溃疡及其并发症以及胃癌最重要的危险因素,提出将Hp相关性胃炎作为一种独立的疾病^[4]。

收稿日期:2019-12-09 接受日期:2020-04-01

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(81904176);湖南省科技创新项目(2018SK51201);湖南省研究生科研创新项目(CX20190593);湖南中医药大学中医国内一流建设学科(2018年-2020年)

* 通信作者 E-mail:yubin410@163.com

《第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告》指出, Hp 相关性胃炎不管有无症状和(或)并发症,都应该接受根除治疗,根除 Hp 可显著改善胃黏膜炎性反应,阻止或延缓胃黏膜萎缩,肠化生的发生和发展,部分逆转萎缩^[5]。目前我国 Hp 感染率达约 50%^[6],传统三联/四联根除 Hp 的方法受到感染人群基数大、Hp 耐药、再感染率高等严峻挑战。

随着中医药在现代医学研究中的不断深入,中药同样能发挥根除 Hp 的作用^[7]。作者前期工作对中医药治疗幽门螺杆菌感染的 178 篇文献进行用药规律分析发现,基于关联规则计算药物组合时“半夏-黄连-黄芩”置信度最高,且单味中药使用频次均在前 5^[8],推测半夏-黄芩-黄连可能具有较好的幽门螺杆菌作用。网络药理学是一种药物研究新模式,其系统性、整体性的研究特点与中医整体观、辨证论治原则相符,通过构建“分子-靶点-通路”多层次网络,揭示中药药效物质基础及其分子机制。故本文拟利用网络药理学方法更为系统和整体地研究“半夏-黄连-黄芩”治疗 Hp 相关性胃炎的药理机制,以期为进一步实验研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 “半夏-黄芩-黄连”药对的潜在活性化合物筛选

通过中药系统药理学技术平台(TCMSP; <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.pHp>)收集半夏、黄芩、黄连 3 味药的化学成分。根据成分的药物动力学(absorption and distribution and metabolism and excretion, ADME)参数进行筛选,参考中药系统药理学技术平台研发人员意见^[9],筛选条件为药物口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,化合物类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 ,血脑屏障(blood-brain barrier, BBB) ≥ -0.3 ,药物半衰期(drug half-life, HL) ≥ 4 h,得到符合条件的潜在活性化合物。

1.2 化合物、疾病潜在作用靶点预测及共同靶点筛选

针对筛选出潜在活性化合物,通过 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获得这些潜在活性化合物的 2D 化学结构。将潜在活性化合物的 SDF 格式文件导入到 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),限定研究物种为人类,由此获得与潜在活性化合物最相关的靶点信息。

利用 Gene Cards 数据库(<http://www.genecards.org/>)和 OMIM 数据库(<http://www.omim.org/>)搜索关键词幽门螺杆菌相关性胃炎(*Helicobacter pylori*-associated gastritis),将两数据库检索结果进行合并,删除重复靶点,取交集,得到 HAG 的潜

在致病靶点。

将潜在活性化合物的作用靶点和 HAG 的致病靶点导入 bioinformatics Evolutionary Genomics 数据库(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>),将潜在活性化合物和 HAG 共同靶点相映射,取交集最终获得“半夏-黄芩-黄连”治疗 HAG 的共同作用靶点。

1.3 “中药-成分-靶点”网络的构建

根据以上预测结果,使用 Cytoscape 软件构建“中药-成分-靶点”关系网络模型,节点(node)代表单味药种类、潜在活性化合物与共同作用靶点;边(edge)用来连接单味药与化合物、化合物与作用靶点,展现单味药-化合物-作用靶点之间的联系,寻找发挥主要重要的有效活性成分。

1.4 蛋白质相互作用网络的构建

蛋白质相互作用网络(protein-protein interaction, PPI)是指从生物化学,信号转导和遗传网络的角度研究化合物和疾病相关蛋白质分子之间的相关性。将“半夏-黄芩-黄连”治疗 HAG 的潜在作用靶点导入 String 数据库(<https://string-db.org/>),限定研究物种为人类,获得蛋白互作关系,导出保存为 TSV 格式文件。将该文件中 node1、node2 和 Combinedscore 信息导入 Cytoscape 软件绘制蛋白互作网络,设置节点的大小代表其 degree 值,节点越大,表示其 degree 越大,最终获得 PPI 网络图。

1.5 GO 功能分析和 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。将“半夏-黄连-黄芩”治疗 HAG 的潜在作用靶点导入 David 数据库(https://david.ncicrf.gov),限定研究物种为人类,选择 Gene Ontology 下的分子功能(molecular function, MF)、生物过程(biological process, BP)和细胞组成(cellular component, CC)3 个部分进行 GO 富集分析,选择 pathway 分析下的 KEGG pathway,设定显著性为 $P < 0.05$,进一步寻找活性成分作用靶点显著富集的主要功能注释与体内通路。导出文件,对 P 值取负对数,得出“-lgP”, P 值越小,-lgP 越大,富集程度越大,反之亦然。利用 Excel 对 GO 分析和 KEGG 通路富集分析中的通路绘制条形图。

根据上述所得到的核心靶点、GO 通路 BP、MF、CC 富集分析富集程度前 10 的信息以及 KEGG 富集分析富集程度前 20 的通路导入 Cytoscape,得到“靶点-CC-BP-MF-KEGG”网络。

2 结果

2.1 “半夏-黄芩-黄连”药对潜在活性化合物筛选结果

在 ADME 参数为 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$, $BBB \geq -$

0.3, $HL \geq 4h$ 条件下筛选潜在活性化合物, 分别得到半夏 9 个、黄连 7 个、黄芩 24 个, 除去 5 个重复活性化合物, 共筛选到“半夏-黄芩-黄连”药对潜在活性化合物 35 个 (见表 1)。

表 1 半夏、黄芩、黄连中潜在活性化合物信息

Table 1 Information on potential active compounds in Pinellia, Scutellaria and Coptis

中药 Herb	潜在活性化合物 Potential active compound
半夏 Pinellia	松柏苷 (coniferin)、卡维汀 (cavidine)、环阿屯醇 (cycloartenol)、gondoic acid、24-ethylcholest-4-en-3-one、10,13-eicosadienoic
黄连 Coptis	黄连素 (berberine)、小檗红碱 (berberrubine)、(R)-canadine、小檗浸碱 (berlambine)、甲基黄连碱 (worenine)
黄芩 Scutellaria	金合欢素 (acacetin)、汉黄芩素 (wogonin)、半枝莲素 (rivularin)、三裂鼠尾草素 (salvigenin)、去甲汉黄芩素 (norwogonin)、黄芩黄酮 I (panicolin)、谷甾醇 (sitosterol)、千层纸素 A (oroxilin a)、黄芩黄酮 II (skulkeapflavone II)、黄芩新素 (neobaicalein)、莽苈黄酮 (moslosooflavone)、11,13-eicosadienoic acid, methyl ester、二氢木蝴蝶素 A (dihydrooroxilin A)、dihydrobaicalin_qt、5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone、5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone、dihydrooroxilin、(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one、5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone
半夏和黄芩 Pinellia and Scutellaria	黄芩素 (baicalein)、 β -谷甾醇 (beta-sitosterol)、豆甾醇 (stigmasterol)
黄连和黄芩 Coptis and Scutellaria	黄连碱 (coptisine)、表小檗碱 (epiberberine)

2.2 “半夏-黄芩-黄连”药对治疗幽门螺杆菌相关性胃炎潜在作用靶点预测

将潜在活性化合物的 2D 结构 SDF 格式上传到 Swiss Target Prediction, 得到所有成分的预测靶点 2 806 个, 其中半夏 499 个、黄连 399 个、黄芩 1 908 个。通过 Gene Cards、OMIM 查找到 HAG 相关的基因 227 个, 将潜在活性化合物和 HAG 共同靶点相映射。图 1 中紫色、红色、绿色、黄色圈各代表疾病幽门螺杆菌相关性胃炎 (HAG)、中药半夏 (BX)、中药黄连 (HL) 以及中药黄芩 (HQ) 的预测靶点, 相交的部分表示共同的靶点, 获得“半夏-黄芩-黄连”治疗

HAG 的潜在作用靶点 37 个。

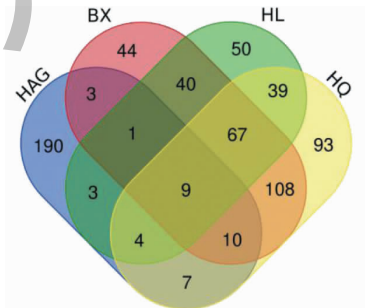


图 1 半夏、黄芩、黄连活性成分与 HAG 基因靶点映射 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of the target of active constituents of Pinellia, Scutellaria and Coptis and HAG gene target

表 2 半夏、黄芩、黄连活性成分与 HAG 共同靶点

Table 2 Common targets of active ingredients and HAG of Pinellia, Scutellaria and Coptis

中药 Herb	数量 Number	作用靶点 Target
HAG BX HL HQ	9	MET、PLK1、CHEK1、MAPK8、MAPK3、PTGES、ABCB1、STAT3、PTGS2
HAG BX HL	1	MAPK14
HAG BX HQ	10	MMP2、NOS2、CYP2C19、EGFR、CDK1、TERT、CFTR、PRKDC、APEX1、MMP9
HAG HL HQ	4	ICAM1、SELE、F2、HSP90AA1
HAG BX	3	MALT1、MTOR、TGFB1
HAG HL	3	MAPK1、GSTP1、MAP2K1
HAG HQ	7	MMP7、HSP90AB1、HIF1A、NOS3、MPO、AKR1A1、DAPK1

2.3 “中药-成分-靶点”网络构建与主要活性成分分析

根据上述所得到的“中药-成分-靶点”中3种单味药材、35个潜在活性化合物与2806个作用靶点导入Cytoscape,得到“中药-成分-靶点”网络图(文中未展示)。Degree值表示链接该节点的条数, Degree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。Degree值前

表3 “半夏-黄芩-黄连”药对中主要活性成分及其作用靶点

Table 3 Main active ingredients in Pinellia, Scutellaria and Coptis and its target

中药 Herb	化学成分 Compound	Degree	作用靶点 Target
黄芩 Scutellaria	5, 2'-Dihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone	17	MET, PLK1, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CCNB3, CDK1, CCNB1, F2, CCNB2, CDK1, TERT, APEX1, MMP9, DAPK1, MMP7, HSP90A1, MPO
	黄芩新素 Neobaicalein	15	MET, PLK1, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, APEX1, MMP9, MMP7, MPO, HSP90A1, DAPK1
	去甲汉黄芩素 Norwogonin	15	MET, PLK1, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, CFTR, APEX1, MMP9, F2, DAPK1, MPO
	黄芩黄酮 II Skullcapflavone II	15	MET, PLK1, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, APEX1, MMP9, MMP7, MPO, HSP90A1, DAPK1
半夏和黄芩 Pinellia and Scutellaria	黄芩素 baicalein	14	MET, PLK1, MAPK3, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, CFTR, PRKDC, APEX1, MMP9
黄芩 Scutellaria	5, 8, 2'-Trihydroxy-7-methoxyflavone	14	MET, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, CFTR, APEX1, MMP9, F2, DAPK1, AKR1A1
	金合欢素 Acacetin	14	MET, PLK1, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, CFTR, MMP9, F2, DAPK1, MPO
	黄芩黄酮 I Panicolin	14	MET, PLK1, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, APEX1, MMP9, F2, AKR1A1, MMP7
黄连 Coptis	汉黄芩素 Wogonin	14	MET, ABCB1, PTGS2, MMP2, NOS2, EGFR, CDK1, TERT, APEX1, MMP9, HSP90AA1, DAPK1, MPO, AKR1A1

2.4 蛋白质相互作用网络分析的构建

图2是蛋白质相互作用网络图,其中节点色彩越明亮代表该节点的degree值越大,同一种色彩下节点的直径越大,代表该节点的degree值越大。蛋白质相互作用网络图中共涉及节点37个、边262条,degree值 ≥ 20 的靶蛋白有9个,从大到小分别为EGFR、PTGS2、STAT3、MAPK3、MAPK8、HSP90AA1、MAPK1、MMP9、MTOR,表明这些蛋白质在整个网络中占据重要的地位,这些作用靶点在“半夏-黄芩-黄连”治疗HAG中发挥重要作用。

2.5 靶点生物功能分析及“靶点-CC-BP-MF-KEGG”网络构建

9 (Degree值 ≥ 14)的化合物为5, 2'-dihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone、黄芩新素(neobaicalein)、去甲汉黄芩素(norwogonin)、黄芩黄酮II(skullcapflavone II)、黄芩素(baicalein)、5, 8, 2'-三羟基-7-甲氧基黄酮(5, 8, 2'-trihydroxy-7-methoxyflavone)、金合欢素(acacetin)、黄芩黄酮I(panicolin)、汉黄芩素(wogonin)。主要活性成分及作用靶点见表3。

2.5.1 GO富集分析

GO通路BP富集分析结果显示,富集基因程度前10的是肽基-丝氨酸磷酸化(peptidyl-serine phosphorylation)、细胞对机械刺激的反应(cellular response to mechanical stimulus)、NO生物合成过程的正调节(positive regulation of nitric oxide biosynthetic process)、对压力的反应(response to stress)、细胞凋亡过程负调节(negative regulation of apoptotic process)、应激激活MAPK级联的调节(regulation of stress-activated MAPK cascade)、脂多糖介导的信号通路(lipopolysaccharide-mediated signaling pathway)、基因表达的正调节(positive regulation of gene

expression)、肽基-苏氨酸磷酸化(peptidyl-threonine phosphorylation)、对药物的反应(response to drug), 见图3。

binding)、NO合酶调节剂活性(nitric-oxide synthase regulator activity)、蛋白激酶结合(protein kinase binding), 见图5。

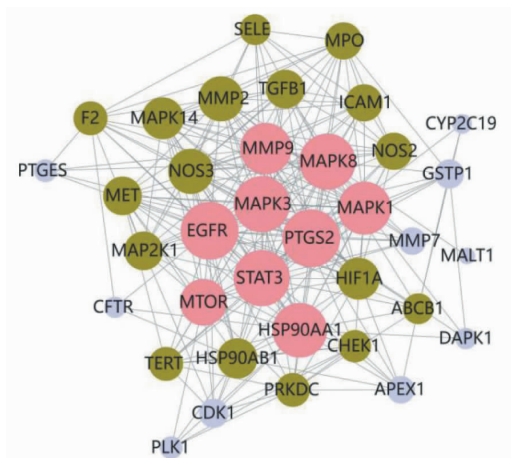


图2 半夏、黄芩、黄连与HAG的蛋白质相互作用网络图

Fig. 2 Protein-protein interaction of Pinellia, Scutellaria, Coptis and HAG

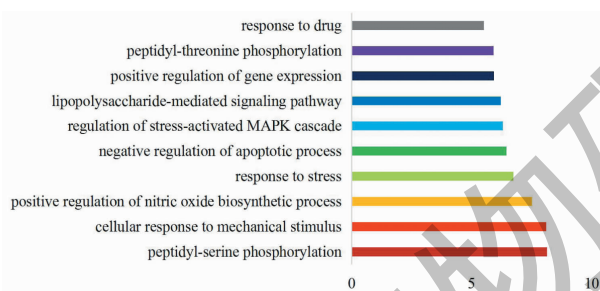


图3 药物对潜在靶点GO通路富集BP分析

Fig. 3 Biological process analysis of drug-to-potential target GO pathway enrichment

GO通路CC富集分析结果显示,富集基因程度前10的是胞质(cytosol)、膜小凹(caveola)、细胞表面(cell surface)、细胞核(nucleus)、细胞外间隙(extracellular space)、外泌体(extracellular exosome)、线粒体(mitochondrion)、顶端质膜(apical plasma membrane)、核质(nucleoplasm)、蛋白质复合物(protein complex), 见图4。

GO通路MF富集分析结果显示,富集基因程度前10的是蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性(protein serine/threonine kinase activity)、ATP结合(ATP binding)、蛋白激酶活性(protein kinase activity)、酶结合(enzyme binding)、激酶活性(kinase activity)、蛋白结合(protein binding)、MAP激酶活性(MAP kinase activity)、蛋白磷酸酶结合(protein phosphatase

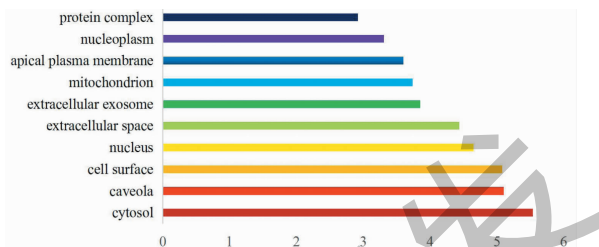


图4 药物对潜在靶点GO通路富集CC分析

Fig. 4 cellular component analysis of drug-to-potential target GO pathway enrichment

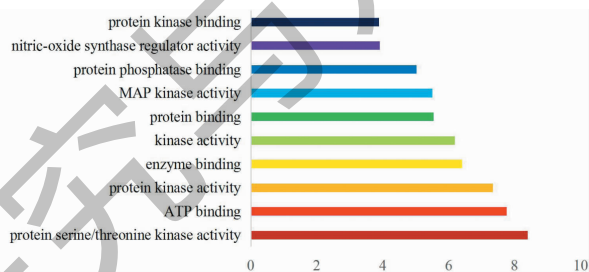


图5 药物对潜在靶点GO通路富集MF分析

Fig. 5 molecular function analysis of drug-to-potential target GO pathway enrichment

2.5.2 KEGG富集分析

KEGG富集分析共富集出77条通路,结果显示,“半夏-黄芩-黄连”治疗HAG的37个潜在作用靶点主要参与的关键通路是癌症途径、癌症中的蛋白多糖、HIF-1信号通路、TNF信号通路、FoxO信号通路、癌症中的中心碳代谢及胆碱代谢、GnRH信号通路、VEGF信号通路、ErbB信号通路等,见表4。

2.5.3 “靶点-CC-BP-MF-KEGG”网络构建

根据上述所得到的核心靶点、GO通路BP、MF、CC富集分析富集程度前10的信息以及KEGG富集分析富集程度前20的通路导入Cytoscape,得到“靶点-CC-BP-MF-KEGG”网络。其中,粉色代表作用靶点,黄色代表MF分析,紫色代表CC分析,绿色代表KEGG分析;蓝色代表BP分析。可以看到“半夏-黄连-黄芩”药对的作用靶点分布在多种细胞组分中,以胞质为主,通过多种结合方式参与生物进程,包括MAPK级联的调节、细胞凋亡过程、脂多糖介导的信号通路、NO生物合成过程、氨基酸磷酸化、对机械刺激、压力及药物的反应等等(见图6)。

表 4 KEGG 通路富集分析结果 (-lgP 前 20)
Table 4 KEGG pathway enrichment analysis results (-lgP top 20)

信号通路 Signaling pathway	-lgP	信号通路 Signaling pathway	-lgP
Pathways in cancer	11.781	Prostate cancer	5.277
Proteoglycans in cancer	8.518	GnRH signaling pathway	5.192
Progesterone-mediated oocyte maturation	7.970	NOD-like receptor signaling pathway	5.033
HIF-1 signaling pathway	7.629	Choline metabolism in cancer	4.929
Estrogen signaling pathway	7.522	VEGF signaling pathway	4.849
Bladder cancer	7.281	Toxoplasmosis	4.716
TNF signaling pathway	7.256	Renal cell carcinoma	4.680
FoxO signaling pathway	6.493	Leishmaniasis	4.525
Central carbon metabolism in cancer	6.097	Prolactin signaling pathway	4.525
Pancreatic cancer	6.057	ErbB signaling pathway	4.098

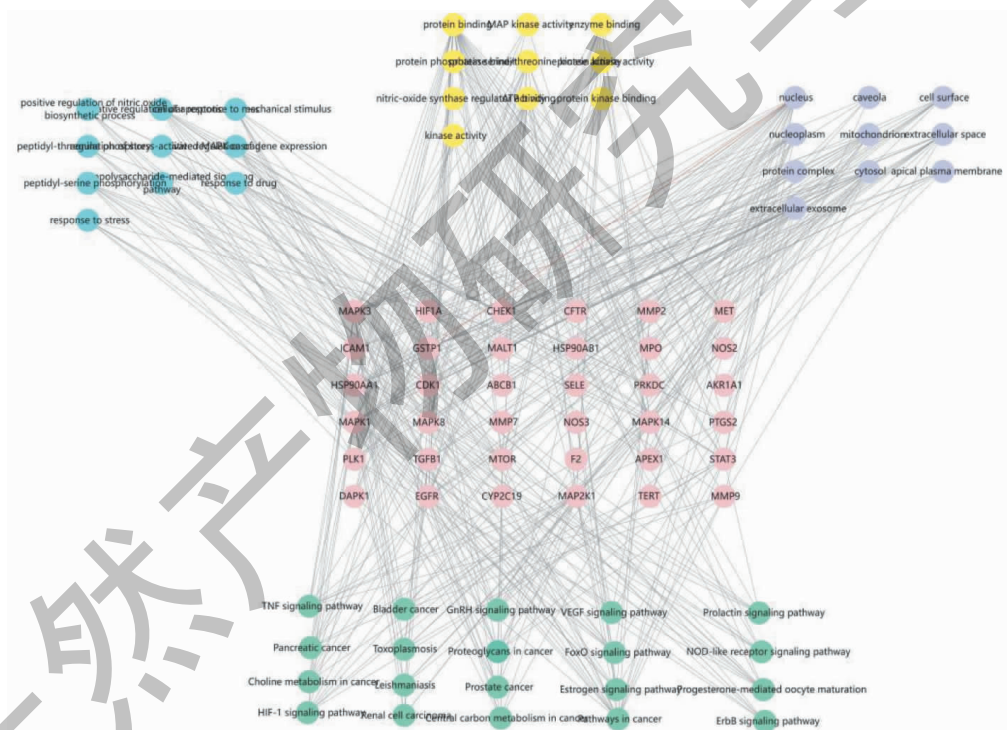


图 6 “靶点-CC-BP-MF-KEGG”网络图
Fig. 6 "protein target-CC-BP-MF-KEGG" association diagram

3 讨论

本研究中,笔者通过设置 ADME 参数筛选出“半夏-黄连-黄芩”药对潜在活性化合物 35 种,其中部分化合物已通过体内/外实验研究证实其具有杀灭或抑制 Hp 作用。例如,黄芩素、千层纸素 A 可能是加味小柴胡汤抗 Hp 的有效物质^[10],黄芩素能够显著增加阿莫西林对幽门螺杆菌的抗菌活性,具有

抗菌增敏剂的应用前景^[11];黄连碱可以抑制幽门螺杆菌脲酶活性^[12],与传统三联疗法相比,含黄连素的四联方案根除 Hp 治疗可获得更优的根除率^[13];而黄芩苷则可通过抗炎,促增殖并抗凋亡等减轻 Hp 诱导的胃黏膜上皮细胞损伤^[14]。在“中药-成分-靶点”网络图中发现,在潜在活性化合物中 Degree 值最高的化合物包括黄芩素、黄芩新素、去甲汉黄芩

素、黄芩黄酮 I、黄芩黄酮 II、金合欢素、汉黄芩素等,提示这几种有效化合物可能在抑杀 Hp 中起着更重要的作用,可能是半夏、黄连、黄芩治疗 Hp 相关性胃炎的有效成分。但目前对于这几种有效成分相关实验研究较少,尚无相关作用机制报道,有待进一步实验研究。

将潜在活性化合物和 HAG 共同靶点相映射,得到药物-疾病共同作用靶点 37 个。其中 EGFR、PTGS2、STAT3、MAPK3、MAPK8、HSP90AA1、MAPK1、MMP9、MTOR 等 9 个蛋白在蛋白质相互作用网络中占重要作用。目前已有研究发现,EGFR、MAPK 在 Hp 感染到进展为胃癌的过程中发挥着重要作用^[15,16]。IL-6/STAT3 信号通路可被幽门螺杆菌 Tip α 激活,诱导胃癌细胞上皮-间质转化(EMT)的形成^[17],而通过抑制 MTOR 信号通路可以有效的降低过表达 CagA 的 Hp 的侵袭能力,阻断 EMT 过程^[18]。MMP-9 在 Hp 感染性胃癌组织中表达上调,与 Hp 共同促进胃癌的发生、发展,影响预后^[19]。iNOS 的表达与 Hp 感染相关,iNOS 可能参与胃 MALT 淋巴瘤的发生、发展^[20]。HSP90 表达强度可能成为监测慢性萎缩性胃炎转归的生物学指标^[21]。目前,前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2) 蛋白在 Hp 感染中的作用尚未见相关报道。提示“半夏-黄连-黄芩”可能通过作用以上靶蛋白来干预 Hp 相关性胃炎。

GO 富集分析结果表明,“半夏-黄连-黄芩”药对的作用靶点分布在多种细胞组分中,以胞质为主,通过多种结合方式参与生物进程,包括 MAPK 级联的调节、细胞凋亡过程、脂多糖介导的信号通路、NO 生物合成过程、氨基酸磷酸化、对机械刺激、压力及药物的反应等等。丝氨酸蛋白激酶 MAPK 是经典的细胞信号转导通路,参与细胞内基因的转录调控,参与细胞的分化、转化、增殖、凋亡等多种生物学过程。有研究认为 Hp 可通过激活 MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路,上调 P-Akt 蛋白和 P-P38 蛋白水平参与胃癌细胞耐药的形成^[22]。脂多糖是 Hp 重要的毒力因子之一,通过 TLR4,COX-2 等途径参与胃癌的发生,且可能提示胃癌的预后^[23]。提示“半夏-黄连-黄芩”药对可能通过多靶点、多通路,在 Hp 相关性胃炎中起到治疗作用。

Hp 是胃癌的 I 类致癌原,约 90% 非贲门部胃癌的发生与 Hp 相关。KEGG 通路富集结果表明,“半夏-黄连-黄芩”药对作用通路主要涉及癌症途

径、HIF-1 信号通路、TNF 信号通路、FoxO 信号通路、胆碱能抗炎通路、VEGF 信号通路、ErbB 信号通路等。FoxO4 在细胞凋亡调控和胃癌的发生发展中起重要作用,在某些癌症病变组织中 FoxO4 的表达还和 Hp 感染密切相关^[24]。胆碱能抗炎通路抗炎机制是乙酰胆碱或其他激动剂与乙酰胆碱受体结合,调控 NF- κ B,Janus 激酶/信号转导与转录激活子通路,抑制炎症介质的生成和释放,从而发挥抗炎作用。针灸可以通过胆碱能抗炎通路,防治 Hp 感染致胃黏膜炎性损伤,促进胃黏膜修复^[25]。可以看出,Hp 可以通过多靶点、多通路导致胃炎并逐步向胃癌发生、发展,因此对于 HAG 的治疗需要通过多成分-多靶点-多途径的中药发挥治疗作用。

综上所述,本研究通过网络药理学分析得到“半夏-黄连-黄芩”药对治疗 Hp 相关性胃炎的有效化合物 35 个,部分化合物已有相关报道对 Hp 有抑制或杀灭作用;得到“半夏-黄连-黄芩”药对治疗 Hp 相关性胃炎作用靶点 37 个,参与 6 条主要通路,主要与抗炎与调控胃癌进程相关。此次分析体现了“半夏-黄连-黄芩”治疗 HAG 多成分、多靶点、多途径的治疗特点,为中医药治疗多因素导致的复杂疾病提供了新的研究思路,也为下一步实验探究“半夏-黄连-黄芩”干预 HAG 的作用机制提供了理论依据和研究方向。

参考文献

- 1 Malferteiner P, Chan FK, McColl KE. Peptic ulcer disease [J]. Lancet, 2009, 374: 1449-1461.
- 2 Fock KM, Graham DY, Malferteiner P. *Helicobacter pylori* research: historical insights and future directions [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10: 495-500.
- 3 Malferteiner P, Mégraud F, O'Morain CA, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht IV florence consensus report [J]. Gut, 2012, 61: 646-664.
- 4 Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis [J]. Gut, 2015, 64: 1353-1367.
- 5 Liu WZ, Xie Y, Lu H, et al. Fifth Chinese national consensus report on the management of *Helicobacter pylori* infection [J]. Chin J Gastroenterol (胃肠病学), 2017, 22: 346-360.
- 6 Nagy P, Johansson S, Molloy-Bland M. Systematic review of time trends in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China and the USA [J]. Gut Pathog, 2016, 8: 8.
- 7 Wu HZ, Lei LM, Huang S, et al. Clinical effects of triple therapy combined with traditional Chinese medicine in treat-

- ment of *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis [J]. World Chin J Digestol (世界华人消化杂志), 2015, 23: 1963-1967.
- 8 Zhang Y, Wu DS, Xu Y, et al. Medication regularity of anti-*Helicobacter pylori* of Chinese herbs based on literature of integrative medicine in treating *Helicobacter pylori*-related gastropathy [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2019, 44: 4985-4991.
 - 9 Ru JL. Construction and utilization of traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform [D]. Xianyang: Northwest A&F University (西北农林科技大学), 2015.
 - 10 Hu LJ. Studies on serum pharmacology of anti-*Helicobacter pylori* and anti-inflammatory effective fractions of modified xiao chaihu decoction [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine (湖北中医药大学), 2016.
 - 11 Gao F, Zhou PG, Yu P. Study on anti-*Helicobacter pylori* activity of berberine, baicalin, thein and emodin combined with amoxicillin [J]. Sichuan Zhongyi (四川中医), 2017, 35: 141-144.
 - 12 Chen HB. Investigation on the effect of synthetic coptisine free base on anti-inflammation and anti-gastric ulcer [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2018.
 - 13 Si XB, Zhang XM, Lan Y. Berberine-based quadruple therapy for patients with *Helicobacter pylori* associated peptic ulcer: A meta-analysis [J]. World Chin J Digestol (世界华人消化杂志), 2018, 26: 1864-1873.
 - 14 Deng ZY, Wang Q. Protective effect and mechanism of Baicalin in alleviating *Helicobacter pylori*-induced human gastric epithelial GES-1 cells injury [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2017, 23(19): 145-149.
 - 15 Siregar G, Sari D, Sungkar T. Serum VEGF levels in *Helicobacter pylori* infection and correlation with *Helicobacter pylori* cagA and vacA genes [J]. Open Access Maced J Med Sci, 2017, 5: 137-141.
 - 16 Miu YJ, Yang L. Effect of paclitaxel combined with cisplatin on MAPK/NF- κ B signal in the treatment of *Helicobacter pylori* gastric cancer [J]. J Southeast Univ: Med Sci (东南大学学报: 医学版), 2018, 37: 706-710.
 - 17 Han L, Chen GD, Zeng SS, et al. TNF- α -inducing protein of *Helicobacter pylori* induces epithelial mesenchymal transition (EMT) in gastric cancer cells through activating IL-6/STAT3 signaling pathway [J]. Immunol J (免疫学杂志), 2019, 35: 105-111.
 - 18 Chen YH. The function of mTOR in *Helicobacter pylori* cagA induced cell physiological change [D]. Xiamen: Xiamen University (厦门大学), 2018.
 - 19 Xu WM, Zhang HY, He M, et al. Expression and significance of cyclin D1 and MMP-9 in *Helicobacter pylori* infectious gastric cancer [J]. J Clin Exp Pathol (临床与实验病理学杂志), 2019, 35: 213-215.
 - 20 Zhao TJ, Zhao YH, Yuan B, et al. Expression of iNOS in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma carcinoma and its clinical significance [J]. Chin J Oncol Prev Treat (中国癌症防治杂志), 2016, 8: 154-157.
 - 21 Sun LM. The key technique of long term monitoring gastric precancerous lesions and expression of heat shock protein in gastric mucosa [D]. Zhejiang: Zhejiang University (浙江大学), 2006.
 - 22 Zhang BZ, He CH, Wang YD, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* and multidrug resistance in gastric cancer cells and its mechanisms [J]. Chin J Nosocomiol (中华医院感染学杂志), 2018, 28: 975-978.
 - 23 Zhou H, Zhang J. Research progress of the relationship between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and the sonic hedgehog signaling pathway [J]. Int J Digest Dis (国际消化病杂志), 2013, 33: 364-366.
 - 24 Zhang C, Wang DR, Qu F, et al. Clinical study of transcription factor FOXO4 in gastric cancer and its relationship with *Helicobacter pylori* infection [J]. Chin J Curr Adv Gen Surg (中国现代普通外科进展), 2013, 16: 210-213.
 - 25 Liu XM, Xie H, Li GM, et al. Review of study on mechanism of acupuncture and moxibustion on cell signal transduction induced by *Helicobacter pylori* infection in gastric mucosal inflammatory injury [J]. J Tradit Chin Med (中医杂志), 2019, 60: 440-444.