

## 基于网络药理学的丹参治疗深静脉血栓作用机制探讨

任璐彤<sup>1,2</sup>, 李佳怡<sup>2</sup>, 刘蔚<sup>2</sup>, 王添全<sup>2</sup>, 曹俊岭<sup>3\*</sup>

1. 内蒙古自治区人民医院 药学处, 呼和浩特 010000; 2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100105; 3. 北京中医药大学东方医院 药学部, 北京 100078

**【摘要】目的** 基于网络药理学方法探讨丹参治疗深静脉血栓(DVT)的作用机制。**方法** 通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)和化学专业数据库筛选丹参的有效成分及相应的靶蛋白,通过TTD、DrugBank、OMIM、GAD、PharmGKB等数据库筛选出DVT的靶点,利用Venn在线软件获取药物与疾病的共同靶点,运用Cytoscape 3.7.2软件构建“化合物-靶点-疾病”网络图。使用STRING数据库绘制蛋白互作(PPI)网络,利用DAVID、Bioconductor数据库对有效作用靶点进行GO功能、KEGG通路富集分析。**结果** 共筛选出丹参化合物36个,有效作用靶点70个。通过Venn图获得36个药物疾病共同靶点,PPI网络发现ESR1、APP、FOS、MMP9、NR3C1、CASP3、MYC等可能是丹参治疗DVT的关键靶点。利用DAVID数据库与Bioconductor数据库进行GO功能分析发现其结果不完全一致。KEGG通路分析发现其主要通路包括白细胞介素17(IL-17)、肿瘤坏死因子(TNF)及核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)等经典信号通路。**结论** 本研究初步揭示了丹参治疗DVT的关键靶点和涉及的生物学过程及信号通路,发现其作用是多靶点、多通路,为今后的分子生物学实验奠定了基础。

**【关键词】** 丹参;深静脉血栓;网络药理学;作用机制

**【中图分类号】** R285;R543.6

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1672-3384(2020)09-0027-09

**Doi:** 10.3969/j.issn.1672-3384.2020.09.006

## Mechanism of *Salvia miltiorrhiza* against deep vein thrombosis based on network pharmacology

REN Lu-tong<sup>1,2</sup>, LI Jia-yi<sup>2</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, WANG Tian-quan<sup>2</sup>, CAO Jun-ling<sup>3\*</sup>

1. Department of Pharmacy, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot 010000, China; 2. School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100105, China; 3. Department of Pharmacy, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

**【Abstract】Objective** This study was to explore the mechanism of *Salvia miltiorrhiza* treatment for deep vein thrombosis based on network pharmacology. **Methods** The effective components and corresponding target proteins of *Salvia miltiorrhiza* were screened by the Chinese Medicine System Pharmacology Analysis Platform (TCMSP) and the database of chemistry specialty. The targets of deep vein thrombosis were screened by TTD, DrugBank, OMIM, GAD, PharmGKB database and other databases. Venn's online software was used for obtaining common targets of drugs and diseases, and Cytoscape 3.7.2 software was used for building a "compound-target-disease" network diagram. The STRING database was used to draw a protein interaction (PPI) network, and the DAVID database and the Bioconductor database were used to perform GO function and KEGG pathway enrichment analysis on effective targets. **Results** A total of 36 *Salvia miltiorrhiza* compounds were screened, and 70 effective targets were screened. 36 common targets for drug diseases were obtained through Venn diagrams. The PPI network found that ESR1, APP, FOS, MMP9, NR3C1, CASP3, MYC, etc. Might be the key targets for *Salvia miltiorrhiza* treatment in deep vein thrombosis. Using DAVID database and Bioconductor database for GO function analysis found that the results were not completely consistent. KEGG pathway analysis revealed that its main pathways include classical signaling pathways such as interleukin 17 (IL-17) signaling, tumor necrosis factor (TNF) signaling, and nuclear factor kappa-B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway. **Conclusion** This study reveals the key targets of *Salvia miltiorrhiza* for deep vein thrombosis and the biolog-

基金项目:北京中医药改革专项(项目编号:201806)

\*通信作者:曹俊岭, E-mail: caojunling72@163.com

ical processes and signal pathways involved. It was found that its role is multi-target and multi-path, laying a foundation for future molecular biology experiments.

**【Key words】** *Salvia miltiorrhiza*; deep vein thrombosis; network pharmacology; mechanism of action

深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)形成是指由于血管损伤、血流缓慢、血液性质改变等因素导致的深静脉血流障碍的一类病症,发病主要以下肢为主<sup>[1]</sup>。血栓形成后,除少数能自行消融或局限于发生部位外,大部分会扩散至整个肢体的深静脉主干,若不能及时诊断和处理,多数会演变为深静脉血栓后综合征(post-thrombotic syndrome, PTS),影响患者的生活质量,甚至并发肺栓塞<sup>[2]</sup>。中医理论认为,血栓形成是由于血脉不通、血凝而不流所导致的血瘀证,所以中医的主要治疗方法为活血化瘀。

丹参作为活血化瘀的常用口服中药材,具有改善微循环、扩血管、降血脂、防治动脉粥样硬化等多种药理活性,主要作用于心脑血管方面,使血液循环速度加快,起到抗血小板聚集等作用<sup>[3]</sup>。以丹参为主的抗DVT治疗中,常与传统抗凝药华法林等长期联用,导致出血等不良事件的发生。新型口服抗凝药(novel oral anti coagulants, NOACs)如达比加群酯、利伐沙班等在临床上开始大量使用,但丹参与NOAC联用的研究几乎空白,因此亟需相关机制研究来证实丹参与抗凝药联合应用的有效性<sup>[4]</sup>。查阅文献发现,关于丹参的网络药理学研究涉及领域较广,包括冠心病、肥胖、糖尿病、肿瘤、脑供血不足与帕金森病等,目前并无丹参抗DVT的较新研究。因此,本研究拟通过网络药理学方法,深入研究丹参抗DVT的机制、作用靶点与相关通路,以阐释其抗血栓的内涵。

## 1 资料与方法

### 1.1 丹参化学成分数据库的构建

利用中药系统药理学分析平台TCMSP数据库和化学专业数据库检索丹参主要化学成分,进一步通过PubMed数据库中相关文献收集丹参化学成分,并利用PubChem数据库对其分子结构进行确证,建立丹参化学成分数据库。

### 1.2 丹参有效活性化合物的筛选

中药多为口服制剂,在体内需经过吸收(absorption)、分布(distribution)、代谢(metabolism)及排泄

(excretion)过程到达靶点器官、组织发挥作用,即ADME过程,也就是中药的药动学特性。为了筛选潜在有效活性化合物,构建包括口服生物利用度(oral bioavailability, OB)、药物相似性(drug-likeness, DL)、小肠上皮细胞渗透率(Caco-2 permeability)和里宾斯基(Lipinski)类药五原则在内的综合模型,对化合物的ADME性质进行预测。

**1.2.1 OB评估** OB是指口服给药后药物进入全身血液循环的相对量和速率。描述口服药物由胃肠道吸收及经过肝脏而到达体循环血液中的药量占口服剂量的百分比。本研究以OB≥30%作为筛选条件。

**1.2.2 DL评估** DL是指化合物与已知药物的相似性,DL值较低时,提示该化合物不适宜作为药物。DL≥0.18(整个相似度的平均值)则认为该化合物与DrugBank数据库中药物具有一定的相似性。本研究以DL≥0.18作为筛选条件。

**1.2.3 Caco-2细胞渗透率评估** Caco-2是口服药物的吸收主要细胞,Caco-2细胞渗透率决定人体吸收药物的速度和程度,并最终影响其生物利用度,因此模拟Caco-2细胞对药物的转运是预测药物吸收的关键。本研究Caco-2细胞渗透率的阈值设为≥0.4。

**1.2.4 里宾斯基类药五原则** 按照类药五原则,口服药物必须满足以下特点<sup>[5]</sup>:①氢键供体数目(hydrogen bond donor count, HBDC)(以NH和OH键数目之和计)≤5个;②相对分子质量(molecular weight, MW)≤500;③油水分配系数(log P)≤5;④氢键受体数目(hydrogen bond acceptor count, HBAC)≤10个;⑤可旋转键数目(rotatable bond count, RBC)≤10个。

### 1.3 丹参有效活性成分潜在靶点预测

药物分子是通过与特定的分子靶点相结合,并调节其生物活性或转录水平,从而发挥药物的作用。为了阐明药物的作用机制,收集丹参有效活性成分作用靶点。相应靶点从以下3个方面获得:①在PubChem数据库中以化学文摘社(chemical abstracts service, CAS)号检索,整理其靶点;②在TCMSP数据库中以化

合物名检索并整理其靶点;③在PubMed数据库中基于文献挖掘作用靶点。此外,利用SysDT药物-靶点预测模型对收集的靶点信息进行进一步筛选,最终将获得的靶点映射到UniProt数据库归一化和标准化命名,最终整合并建立化合物-靶点数据库。

#### 1.4 相关疾病靶点检索

“deep venous thrombosis”作为关键词,对五大常用数据库(包括TTD、DrugBank、OMIM、GAD、PharmGKB等)进行已知疾病靶点的检索及筛选。删除检索结果中重复的靶点,即可获得DVT发病过程已知的靶点。

#### 1.5 药物-疾病靶点网络构建及可视化分析

为明确丹参与DVT的相互作用,利用Venn在线软件将药物与疾病靶点取交集,通过Venn图的形式展现药物靶点与疾病靶点间存在的交集靶点,运用Cytoscape 3.7.2软件进行可视化分析。

#### 1.6 丹参抗DVT相关靶点蛋白互作网络的构建和分析

为进一步探讨丹参发挥抗DVT活性作用机制,本研究基于蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)关系,利用STRING数据库,构建丹参潜在靶点的PPI网络与根据各自度排名的前30位靶蛋白。

#### 1.7 丹参抗DVT相关靶点GO生物富集分析

##### 1.7.1 利用DAVID数据库进行GO生物富集分析

GO富集分析指在某一功能层次上统计蛋白或者基因的数目组成的一个有向无环图,包括生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组分(cellular component, CC)3个分支。将靶点导入DAVID数据库进行富集分析,其P值均小于0.05。

##### 1.7.2 利用Bioconductor数据库进行GO生物富集分析

Bioconductor是一种基于R语言的生物信息

软件包,主要用于生物数据的注释、分析、统计及可视化。将34个DVT靶点进行ID转换,利用R语言编程搜索Bioconductor数据库进行GO生物富集分析,并选择前15位富集结果制作气泡图。

#### 1.8 丹参抗DVT相关靶点KEGG通路富集分析

KEGG通路注释分析,借助基因ID与UniProt数据库中ID之间的转换,将结果输入至KEGG Mapper中检索丹参抗DVT的作用机制并进行探讨。

## 2 结果

### 2.1 丹参有效活性成分筛选结果

将丹参化合物数据库中已发现的202种丹参活性成分按照1.2要求逐一筛选,最后筛选出有效活性成分30种,其具体信息见表1。

### 2.2 丹参有效活性成分靶点与DVT靶点筛选结果

丹参有效活性成分靶点基因为70个,DVT的靶标基因为1291个。利用R语言进行统计分析,并绘制其Venn图(见图1)。经交集显示,药物-疾病交集靶点基因共34个,这34个靶点基因为丹参治疗DVT提供重要依据。

### 2.3 “化合物-靶点-疾病”网络构建

将丹参有效化合物分子、靶点和相关疾病导入Cytoscape 3.7.2软件构建其“化合物-靶点-疾病”网络,利用Cytoscape 3.7.2软件的NetworkAnalyzer与CentiScape 2.2工具计算网络拓扑参数,包括度值(degree, D)、介数(中介中心性)(betweenness, B)、接近中心性(closeness centrality, CC)等,利用D、B与CC排序确定关键节点,探讨丹参的主要作用靶点、主治疾病及其作用机制。其网络图见图2。

图2中除drug:Danshen与disease:DVT共63个节点(29个潜在化合物和34个潜在靶点)和300条边

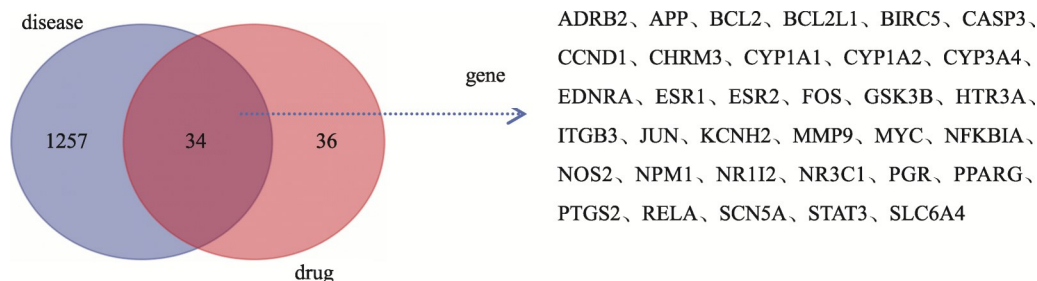


图1 药物分子靶点与疾病靶点 Venn 图

表1 丹参有效活性成分相关信息

| 分子名称                               | OB    | DL   | Caco-2 | MW    | log P | HBDC(个) | HBAC(个) | RBC(个) |
|------------------------------------|-------|------|--------|-------|-------|---------|---------|--------|
| Trijuganone B                      | 38.75 | 0.36 | 0.96   | 280.3 | 2.5   | 0       | 3       | 0      |
| Isoimperatorin                     | 45.46 | 0.23 | 0.97   | 270.3 | 3.8   | 0       | 4       | 3      |
| Dehydrotanshinone II A             | 43.76 | 0.40 | 1.02   | 292.3 | 4.0   | 0       | 3       | 0      |
| Arucadiol                          | 33.77 | 0.29 | 1.19   | 298.4 | 4.6   | 2       | 3       | 1      |
| Ro 09-0680                         | 40.86 | 0.23 | 1.23   | 264.3 | 4.2   | 0       | 2       | 1      |
| 3 $\alpha$ -hydroxytanshinone II A | 44.93 | 0.44 | 0.53   | 310.3 | 2.9   | 1       | 4       | 0      |
| 4-methylenemiltirone               | 34.35 | 0.23 | 1.25   | 266.3 | 3.9   | 0       | 2       | 1      |
| Formyltanshinone                   | 73.44 | 0.42 | 0.54   | 290.3 | 2.8   | 0       | 4       | 1      |
| Methylenetanshinquinone            | 37.07 | 0.36 | 1.03   | 278.3 | 3.3   | 0       | 3       | 0      |
| Przewaquinone C                    | 55.74 | 0.40 | 0.42   | 296.3 | 2.2   | 1       | 4       | 0      |
| Sclareol                           | 43.67 | 0.21 | 0.84   | 308.5 | 4.9   | 2       | 2       | 4      |
| Tanshinaldehyde                    | 52.47 | 0.45 | 0.57   | 310.3 | 2.3   | 0       | 4       | 1      |
| Danshenol B                        | 57.95 | 0.56 | 0.53   | 354.4 | 3.7   | 1       | 4       | 2      |
| Salvilenone                        | 30.38 | 0.38 | 1.46   | 292.4 | 4.5   | 0       | 2       | 1      |
| Cryptotanshinone                   | 52.34 | 0.40 | 0.95   | 296.4 | 3.8   | 0       | 3       | 0      |
| Dan-shexinkum D                    | 38.88 | 0.55 | 0.67   | 336.4 | 3.7   | 1       | 4       | 1      |
| Deoxyneocryptotanshinone           | 49.40 | 0.29 | 0.85   | 278.3 | 3.2   | 0       | 3       | 0      |
| Dihydrotanshinone I                | 45.04 | 0.36 | 0.95   | 278.3 | 3.2   | 0       | 3       | 0      |
| Isocryptotanshinone                | 54.98 | 0.39 | 0.93   | 296.4 | 4.3   | 0       | 3       | 0      |
| Isotanshinone II                   | 49.92 | 0.40 | 1.03   | 294.3 | 4.9   | 0       | 3       | 0      |
| Microstegiol                       | 39.61 | 0.28 | 1.05   | 298.4 | 4.8   | 1       | 2       | 1      |
| Miltionone II                      | 71.03 | 0.44 | 0.62   | 312.4 | 3.4   | 1       | 4       | 0      |
| Miltipolone                        | 36.56 | 0.37 | 0.50   | 300.4 | 2.8   | 1       | 3       | 0      |
| Miltirone                          | 38.76 | 0.25 | 1.23   | 282.4 | 4.9   | 0       | 2       | 1      |
| Neocryptotanshinone II             | 39.46 | 0.23 | 0.76   | 270.3 | 3.5   | 1       | 3       | 0      |
| Nortanshinone                      | 34.72 | 0.37 | 0.50   | 280.3 | 2.2   | 0       | 4       | 0      |
| Salviolone                         | 31.72 | 0.24 | 1.04   | 268.3 | 3.1   | 1       | 2       | 0      |
| Tanshinone II A                    | 49.89 | 0.40 | 1.05   | 294.3 | 4.3   | 0       | 3       | 0      |
| Tanshinone II B                    | 65.26 | 0.45 | 0.44   | 310.3 | 2.9   | 1       | 4       | 1      |
| Tanshinone VI                      | 45.64 | 0.30 | 0.48   | 296.3 | 2.4   | 2       | 4       | 2      |

注:OB表示口服生物利用度;DL表示药物相似性;Caco-2表示小肠上皮细胞渗透率(Caco-2 permeability);MW表示相对分子质量;log P表示油水分配系数;HBDC表示氢键供体数目;HBAC表示氢键受体数目;RBC表示可旋转键数目

(排除 mol 与 drug、gene 与 disease 的连线)。节点的数量由其 D 值大小决定,D 值越大,节点越多。每个活性成分可作用于多个靶点,网络拓扑学结构分析显示,化合物的平均 D 值为 6.55,说明丹参治疗 DVT 为多靶点属性,其中 D 值较大(D=20)的化合物为丹参

酮 II A,其次为隐丹参酮(D=12)、丹参新醌 D(D=10)。许多靶点也与多种化合物相关,这可能表明丹参在发挥药效过程中不同化合物具有协同作用,其中 PTGS2、SCN5A、ADRB2 的 D 值较大(D>20),CHRM3 与 ESR1 次之(D>10)。每个节点的相对位置



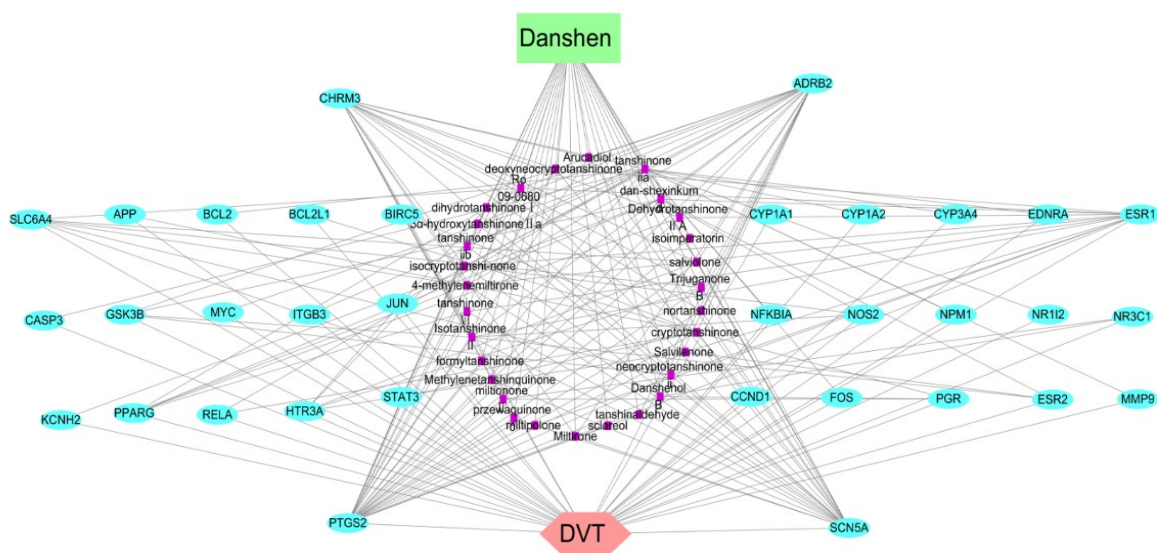


图2 “化合物-靶点-疾病”生物网络图

由其CC值决定,CC值越大,越接近所有其他节点。其中丹参酮II A、隐丹参酮、丹参新酮D位于网络的中心(>平均中心度0.0068)。蛋白靶点中CC值较高的有PTGS2、SCN5A、ADRB2、CHRM3、ESR1、SLC6A4。

## 2.4 丹参抗DVT相关靶点PPI网络

将34个药物-疾病共同靶点上传至STRING在线数据库平台获得PPI网络数据。PPI网络包含34个节点和192条相互作用关系,利用Cytoscape 3.7.2软件对网络拓扑学特征进行分析,发现其B和D值均大于均值(D=11.29, B=31.35)的关键节点有7个,占总节点数的20.58%。这些关键节点分别是ESR1、APP、FOS、MMP9、NR3C1、CASP3、MYC等靶蛋白。边的粗细表示靶点相互作用分值(combine score)大小,边越粗相互作用分值越大。其PPI网络见图3,前30位靶蛋白排名见图4(横坐标为各靶点D值)。

## 2.5 GO生物富集分析

**2.5.1 利用DAVID数据库进行GO生物富集分析** 将34个药物-疾病靶点导入DAVID数据库中进行富集分析。BP分析(图5a)中排名靠前的有核因子kB(nuclear factor kappa-B, NF-kB)(14个靶点)、DNA-dependent(14个靶点)、regulation of RNA metabolic process(14个靶点)、regulation of cell transcription(12个靶点)。CC分析(图5b)中排名靠前的有cytosol(8个靶点)、membrane fraction(5个靶点)、insoluble fraction(5个靶点)、cell fraction(5个

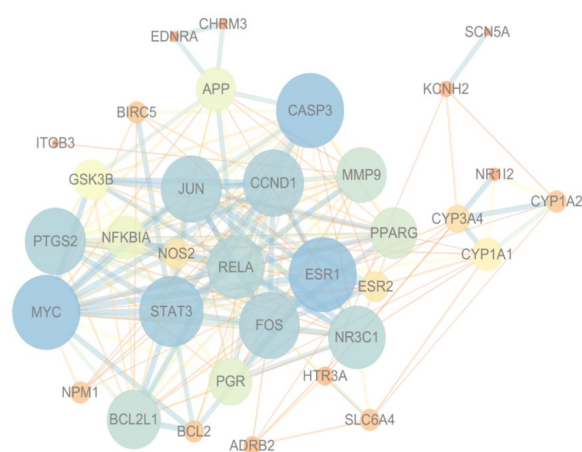


图3 丹参抗DVT相关靶点PPI网络

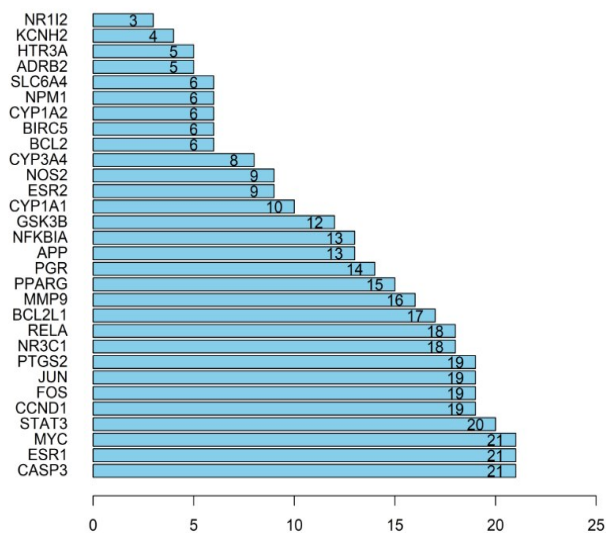
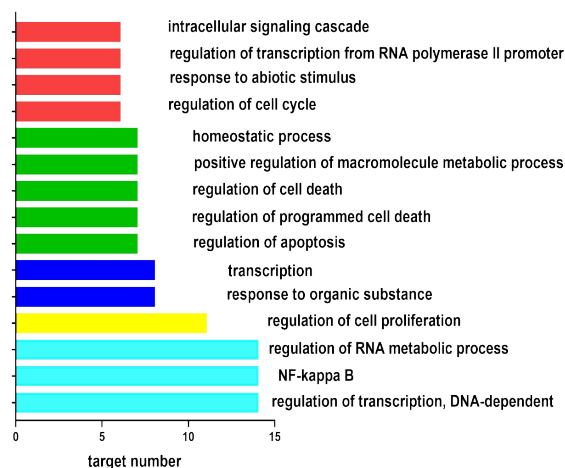
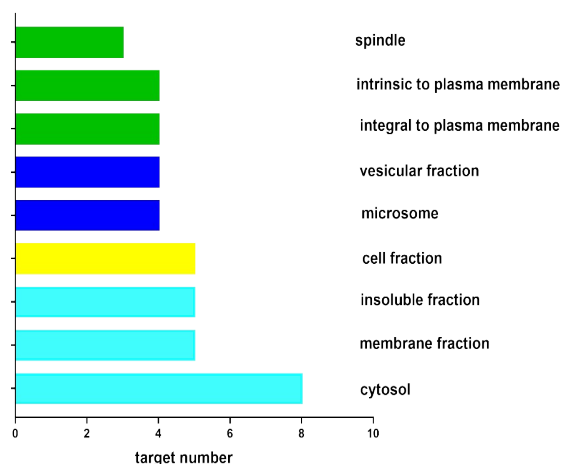


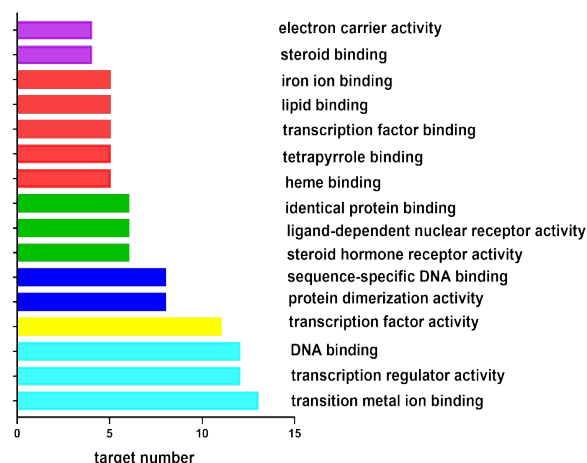
图4 丹参抗DVT前30位靶点排名



5a. 生物过程



5b. 细胞组分



5c. 分子功能

图5 药物-疾病靶点的GO生物富集分析

靶点)。MF分析(图5c)中排名靠前的有 transition metal ion binding(13个靶点)、transcription regulator activity(12个靶点)、DNA binding(12个靶点)。

**2.5.2 利用 Bioconductor 数据库进行 GO 生物富集分析** 选择前 15 位富集结果制作气泡图(图6)( $P < 0.05$ )。通过富集因子(rich factor)和  $P$  值富集到通路上的基因个数来衡量 GO 富集程度。其中富集因子指差异表达的基因中位于该通路条目的基因数目与所有基因中位于该通路条目的基因总数的比值。结果显示,关键靶蛋白主要富集于 DNA-binding transcription activator activity、RNA polymerase II-specific、nuclear receptor activity、transcription factor activity、direct ligand regulated sequence-specific DNA binding、NF- $\kappa$ B 信号通路等。

## 2.6 KEGG 通路富集分析

KEGG 通路富集分析包括 IL-17 信号、TNF 信号、晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end product, AGE)-糖基化终末产物受体(receptor of AGE, RAGE)信号及 NF- $\kappa$ B 转录因子的调控等。分析结果表明,丹参可通过信号传导-内分泌-能量代谢发挥抗 DVT 的作用,即丹参作用于多个靶点发挥抗 DVT 的作用。其 KEGG 通路富集图见图7(横坐标为靶点个数),NF- $\kappa$ B 通路见图8。

## 3 讨论

根据国家中医药管理局《中医病证诊断疗效标准》<sup>[6]</sup>,DVT 归类为“股肿”。中医认为下肢 DVT 形成是内外因使周身气血运行不畅、外邪疫毒蓄积所致。血瘀气滞、经脉瘀滞、湿热蕴结、气机不畅是主要发病机制,其病因包含诸如长时间坐或卧床、损伤,出现血气运行失常,而血液运行滞缓,又因多有外部损伤,招致静脉瘀滞,阻碍血液回流,聚生湿热,游走而发病。因此“活血化瘀”主要治则可降低 DVT 的发生,临床上丹参等活血药或药物制剂的可行性已然被医学者们的大力应用而证实。但丹参与抗凝药华法林、NOAC 等的长期联合抗凝治疗中,其出血风险不容忽视,严重影响抗凝的治疗效果与患者用药依从性,亟需相关研究考察其安全性并指导合理用药<sup>[7]</sup>。

### 3.1 丹参抗 DVT 为多靶点相互作用

本研究结果显示,丹参的有效化合物为 30 个,丹参酮 II A、隐丹参酮、丹参新醌 D 为其主要抗 DVT 的物质,可将其设定为相关实验含量测定目标化合物。

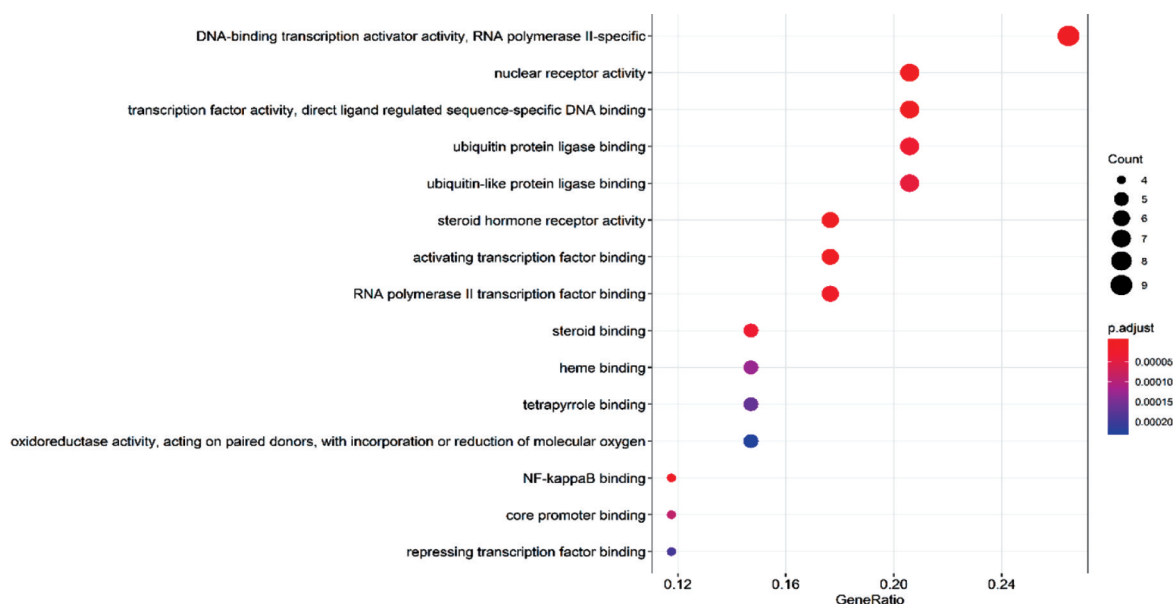


图6 药物-疾病靶点的GO富集分析气泡图

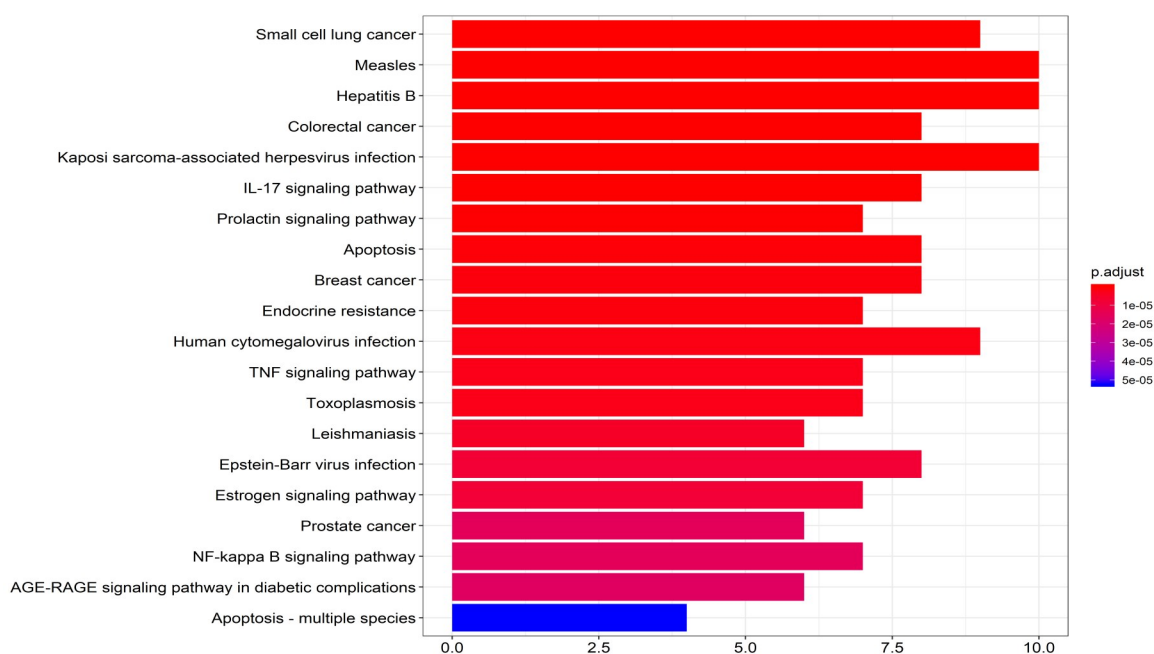
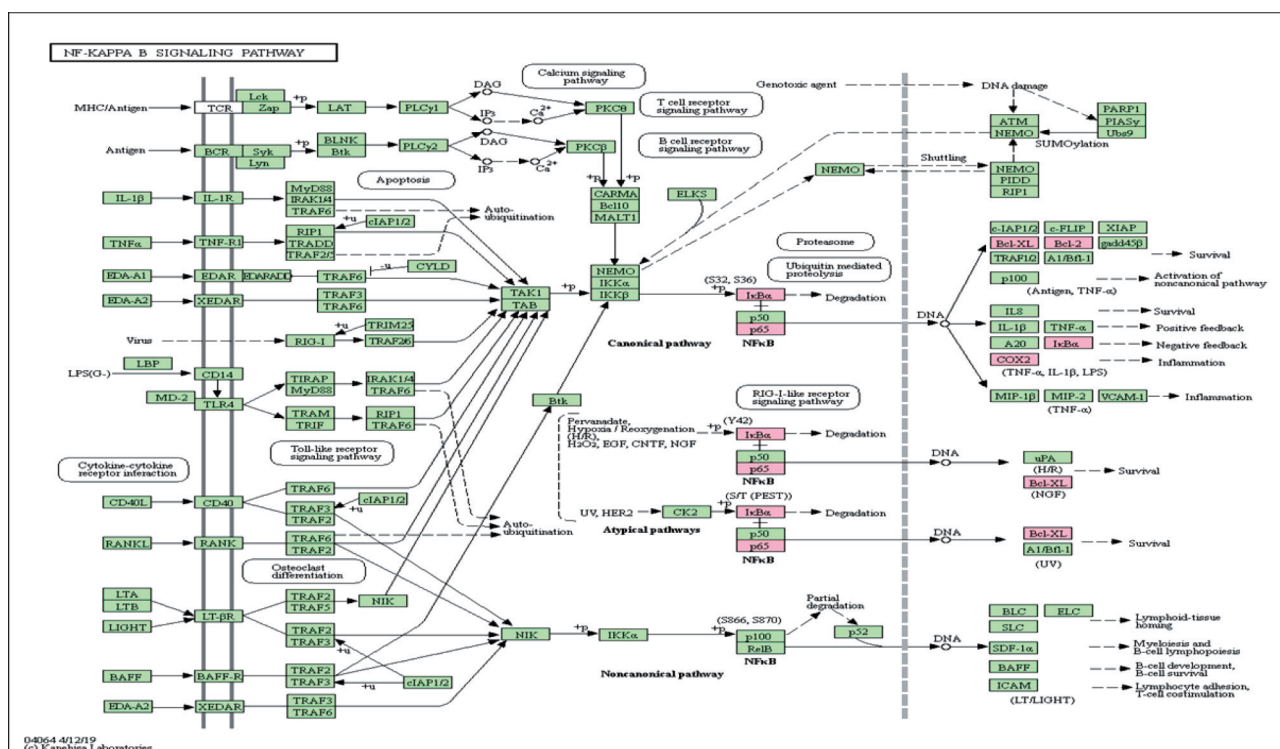


图7 药物-疾病靶点的KEGG通路富集分析图

其中与DVT相关共同作用靶点34个,“化合物-靶点-疾病”网络中靶点D值较高的有PTGS2、SCN5A、ADRB2、CHRM3、ESR1、SLC6A4, PPI结果显示其抗DVT关键靶点为ESR1、APP、FOS、MMP9、NR3C1、CASP3、MYC等。其中,PTGS2为环氧酶-2基因,环氧酶-2主要参与血管舒缩、血小板聚集、胃黏膜血流、胃黏液分泌及肾功能等的调节,PTGS2基因多态性是心肌梗死发生的易感标志;SCN5A为5型钠离

子通道基因,突变可能影响钙平衡而造成心肌损伤导致心血管疾病的发生,其临床表现以进行性心力衰竭、心律失常、血栓栓塞、甚或猝死等;ADRB2为 $\beta_2$ 肾上腺素能受体,该受体主要分布在血管平滑肌细胞和肾脏的多种细胞中,通过改变血管紧张性,调节肾脏 $\text{Na}^+$ 的排出及血管紧张肽原酶、肾素的释放,影响血管的舒缩与血栓的形成;ESR1、APP、FOS等虽不直接参与抗血栓环节,但可通过中介效应进行信号传导,





**图 8** NF- $\kappa$ B 信号通路

调控 PTGS2、SCN5A、ADRB2 等功能基因的表达<sup>[8]</sup>。除此之外,这些靶点参与配体调节序列特异性 DNA 结合、RNA 聚合酶 II 特异性、核受体活性、转录因子活性、DNA 结合转录激活因子活性等的表达,通过能量代谢、氧化应激、信号传导、在细胞核、细胞质、细胞膜部位发生蛋白结合、离子结合、酶反应等分子反应,参与机体自身免疫病、慢性炎症及癌症的相关环节,而血清炎症因子为 DVT 诊断的重要指标。由此可推断,丹参的作用不止于活血化瘀,在抗炎、免疫与抗癌中也发挥其疗效。

### 3.2 不同方法进行GO富集分析

本研究首次通过2种不同数据库进行GO富集分析。Bioconductor数据库项目始于2001年,由美国综合癌症中心的核心团队及来自国际机构的其他成员共同完成,每年更新2次。DAVID数据库是2003年由美国人类逆转录病毒学和免疫信息学实验室开发。Bioconductor数据库因其需要结合R语言进行编程操作,其使用广泛性低于DAVID。探索两者对GO富集分析的差异与不同,若两者对富集分析有交集,则富集靶点可信度较高,避免了单一数据库涵盖不全面等情况。

本次研究 Bioconductor 数据库结果与 DAVID 数据库富集结果并不完全一致,提示不同的数据库其基因富集通路有所差异。但 DAVID 与 Bioconductor 数据库作为 GO 富集分析的主要方法,两者在本次研究中仍有部分结果一致,如 RNA 聚合酶 II 特异性、DNA 结合转录激活剂活性、NF- $\kappa$ B 等信号通路。

### 3.3 NF- $\kappa$ B 作为丹参抗 DVT 主要通路的浅析

通过 KEGG 富集分析发现, 丹参通过多靶点、多通路作用特点发挥其药理作用。NF- $\kappa$ B 通路或为丹参在抗 DVT 治疗中的重要通路。此外, KEGG 富集分析结果中还覆盖糖尿病相关的 AGE-RAGE、炎症相关的白介素家族、TNF、EB 病毒感染、泛素介导的蛋白水解、肝炎病毒、DNA 复制、内质网中的蛋白加工等信号通路。说明丹参除直接作用于抗 DVT 相关信号通路, 还具有影响体内多种代谢途径的靶点以发挥抗 DVT 作用的潜力。

NF- $\kappa$ B 是转录因子家族的通用名称,其起二聚体作用并调节涉及免疫、炎症和细胞存活的基因。最新研究<sup>[9]</sup>发现,炎症反应在 DVT 发病过程中起关键作用,有待后续试验证实。NF- $\kappa$ B 作为一种多靶点的核转录因子,其特性是能够在炎症及应激状态下迅速降



解激活,从而增强与DNA的结合位点、调控靶向基因的表达,快速引起细胞因子的释放。因此炎症状态下机体NF- $\kappa$ B活性表达明显上升;同时NF- $\kappa$ B激活后调控的细胞因子中包括一系列促炎症因子(如IL-6、TNF- $\alpha$ )的释放进一步加重炎症损伤的程度,形成扩增效应<sup>[10]</sup>。

根据本研究网络药理学研究结果推测,丹参抗DVT的治疗中其作用途径包括抑制Ser32和36上抑制性 $\kappa$ B激酶(inhibitory  $\kappa$ B kinase, IKK)介导的抑制蛋白- $\kappa$ B(I- $\kappa$ B $\alpha$ )磷酸化,使其无法降解成p50/p65,直接抑制NF- $\kappa$ B二聚体进入细胞核激活基因转录,阻止其典型途径的发生(图8);丹参还可作用于非经典途径的触发源肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)家族,使其无法启动NF- $\kappa$ B诱导激酶(NF- $\kappa$ B-inducing kinase, NIK)和IKK- $\alpha$ 介导的非典型途径,阻止p100磷酸化并加工成p52,使p52/RelB异二聚体无法发生核易位,使其无法进入细胞核与靶基因表面的DNA位点结合,减缓血小板、白细胞、中性粒细胞过度聚集、粘附及对血管壁的损伤,减少血栓的形成。除此之外,丹参还可抑制炎症因子、TNF、粘附因子的释放,阻碍其对NF- $\kappa$ B的扩增效应,减缓炎症损伤。

综上所述,丹参的抗DVT机制是围绕NF- $\kappa$ B通路进行的多通路、多靶点的复杂网络共同协作产生,若与NOAC类抗凝药物联用,出血等不良事件的发生

是否与此通路有关,有待进一步验证。

## 【参考文献】

- [1] 中华医学会外科学分会血管外科学组. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南(第3版)[J]. 中华血管外科杂志, 2017, 2(4): 201-208.
- [2] 樊炜静, 张寅峰, 严仕梦, 等. 压力治疗在预防术后深静脉血栓形成中的应用[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(14):1116-1120.
- [3] 张建永, 王岚, 梁日欣, 等. 基于网络药理学分析丹参山楂组分配伍抗动脉粥样硬化的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23):4408-4415.
- [4] 张德隆, 王洪志. 1例华法林与注射用丹参多酚酸盐合用致眼结膜出血的病例分析[J]. 首都食品与医药, 2018, 25(15):66.
- [5] 徐文. 基于网络药理学方法的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的配伍合理性分析[J]. 临床药物治疗杂志, 2017, 15(7):18-21.
- [6] Yap C W. PaDEL-descriptor: an open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints [J]. J Comput Chem, 2011, 32(7): 1466-1474.
- [7] 钱东阳, 严广斌, 余楠生, 等. 初次全髋和全膝关节置换术后静脉血栓栓塞症的预防[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2015, 9(6):750-754.
- [8] Faria M, Domingues R, Paixão F, et al. TNF- $\alpha$  mediated activation of NF- $\kappa$ B downregulates sodium-iodide symporter expression in thyroid cells[J]. PloS One, 2020, 15(2): 2743-2751.
- [9] Li C L, Liu X H, Qiao Y, et al. Allicin alleviates inflammation of diabetic macroangiopathy via the Nrf2 and NF- $\kappa$ B pathway [J]. EUR J Pharmacol, 2020, 22(12):39-46.
- [10] Ercan G, Yigiturk G, Erbas O. Therapeutic effect of adenosine on experimentally induced acute ulcerative colitis model in rats [J]. Acta Cir Bras, 2020, 34(12):633-644.

收稿日期:2020-04-22

本文编辑:任洁