

文章编号 1006-8147(2021)05-0454-07

论 著

基于网络药理学探讨清胰汤治疗急性胰腺炎的作用机制

王夏雨¹, 施继禹¹, 贾傲¹, 杨振伟¹, 崔云峰²

(1. 天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2. 天津市南开医院肝胆胰外科, 天津 300100)

摘要 目的: 基于网络药理学探讨清胰汤(QYT)治疗急性胰腺炎(AP)的作用机制, 并结合动物实验验证。方法: 通过 BATMAN 数据库检索 QYT 中 8 味中药化合物的作用靶点, Gene Cards 数据库检索 AP 的基因靶点, 筛选得到药物与疾病的交集靶点。利用 STRING 和 Cytoscape 将交集靶点进行蛋白互作分析, 推测核心靶点, 构建“中药材-活性化学成分-靶点”网络, 并对“药物-疾病”靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析, 得到 QYT 在治疗 AP 过程中所涉及的相关重要靶点及通路。利用实验验证 QYT 在治疗 AP 中对自噬过程的调控作用。结果: 分析发现 QYT 所含化合物共 214 种, 对 AP 有效的活性化合物 121 种, 活性化合物对应蛋白靶点删除重复值后得到 1 853 个, AP 疾病靶点 1 000 个, “药物-疾病”靶点 145 个, GO 功能富集分析 1 310 条, KEGG 通路富集 67 条(均 $P < 0.05$), 主要涉及坏死、凋亡、炎症反应、自噬等生物学进程; 实验结果证实 QYT 减轻了 AP 的病理损害, 同时减轻了自噬进程。结论: 网络药理学揭示 QYT 主要通过减少自噬, 调节炎症因子, 改善微循环障碍和肠屏障损伤等方式治疗 AP, 具有多靶点、多组分的潜在机制。经动物实验验证, QYT 可能通过调控自噬发挥效用。

关键词 清胰汤; 急性胰腺炎; 自噬; 网络药理学

中图分类号 R285

文献标志码 A

Mechanism of QingyiTang in the treatment of acute pancreatitis based on network pharmacology

WANG Xia-yu¹, SHI Ji-yu¹, JIA Ao¹, YANG Zhen-wei¹, CUI Yun-feng²

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Division of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China)

Abstract Objective: To investigate the mechanisms underlying QingyiTang in treatment of acute pancreatitis by using a network pharmacology approach and to validate by experimental test. **Methods:** The targets of the eight Chinese herbal compounds in QingyiTang were searched by BATMAN database, and the gene targets of acute pancreatitis were searched by Gene Cards database, and the intersection targets of drugs and diseases were screened. STRING and Cytoscape were used to analyze the protein interactions of the intersecting targets, the core targets were inferred, and the "Chinese herbal medicine-active chemical component-target" network was constructed, and GO and KEGG enrichment analysis on the "drug-disease" targets to obtain the important targets and pathways involved in the treatment of acute pancreatitis with QingyiTang. The regulation of autophagy process in the treatment of acute pancreatitis by using Qingyi Tang was validated. **Results:** A total of 214 compounds in QingyiTang were analyzed, and 121 active ingredients were found to have the therapeutic effects on acute pancreatitis. After removing duplicates, obtained 1 853 protein targets of active compounds, 1 000 acute pancreatitis disease targets, 145 drug-disease intersection targets, 1 310 GO items and 67 KEGG pathways (all $P < 0.05$), which mainly involved biological processes such as necrosis, apoptosis, inflammatory response, and autophagy. With these results, this study focused on the treatment of acute pancreatitis by QingyiTang through autophagic process, and the experimental results confirmed that QingyiTang reduced the pathological damage of acute pancreatitis while mitigating the autophagic process. **Conclusion:** The potential mechanism of QingyiTang for treating acute pancreatitis with multi-target and multi-component is revealed by network pharmacology, mainly through reducing autophagy, regulating inflammatory factors, improving microcirculatory disorders and intestinal barrier damage. The effectiveness is verified by animal experiments and QingyiTang may be exerted through regulating autophagy.

Key words QingyiTang; acute pancreatitis; autophagy; network pharmacology

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床中较为常见的外科急腹症之一, 具有发病急、进展快的特点, 经常出现局部和全身并发症, 病情较重者可发生全身炎症反应综合征(systemic inflammatory re-

sponse syndrome, SIRS), 甚至出现器官功能的衰竭^[1]。目前尚没有针对 AP 发病的特效药物, 治疗多以对症支持治疗为主^[2]。中药因其多靶点的药理活性特征, 在治疗 AP 的实践中相较于西药具有更佳的疗效和预后价值^[3]。清胰汤(QingyiTang, QYT)及其加减方作为全国广泛运用的 AP 治疗方剂, 在临床实践过程

作者简介 王夏雨(1993-), 女, 硕士在读, 研究方向: 肝胆胰外科临床与基础研究; 通信作者: 崔云峰, E-mail: nkyycyf@163.com。

中疗效显著^[4]。现已有研究显示 QYT 可通过抗凋亡、减少坏死、减轻炎症反应等途径起到治疗 AP 的作用^[5],但其具体治疗靶点、作用机制仍待探索。本文以网络药理学为基础,探讨 QYT 治疗 AP 的潜在分子机制,并对通过筛选得到的重要生物学进程进行实验验证,以期对 QYT 治疗 AP 的分子机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 建立 QYT 化合物数据库 通过 BATMAN-TCM 中药系统药理数据库,依次检索 QYT 全方中药(柴胡、黄芩、延胡索、黄连、木香、白芍、大黄、芒硝)化学成分。根据 BATMAN-TCM 数据库中药物动力学参数,得到活性成分作为候选化合物及靶点。去重后得到与有效成分关联的靶点 1 853 种,构建 QYT 化合物数据库。

1.2 AP 预测靶点的筛选 通过 Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>)以“acute pancreatitis”为关键词检索,筛选收集 AP 相关靶点,并将疾病数据库靶点信息整理。

1.3 QYT 对 AP 的共同靶点获取 将 QYT 药物靶点与疾病靶点于 Venny 在线软件作图工具平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)录入取交叉,得到药物与疾病发生作用的共同靶点。

1.4 “中药-活性成分-靶点”网络模型构建 将 QYT 全部中药活性成分靶点和 AP 疾病靶点蛋白导入至 Cytoscape3.7.1 软件,生成“中药-活性成分-靶点”的网络图。

1.5 药物-疾病靶点蛋白相互作用网络构建 将筛选得到的“QYT-AP”活性化合物成分共同靶蛋白录入 STRING 11.0^[6](<https://string-db.org/>)数据库,分析得到蛋白-蛋白互相作用(protein-protein interaction, PPI)网络。

1.6 功能富集分析 将 QYT 治疗 AP 的作用靶点,以 Gene Symbol 的格式导入 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行基因本位论功能(gene ontology, GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书通路富集分析(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)。设定阈值 $P < 0.05$,筛选具有显著性差异的生物学过程和通路。

1.7 动物实验

1.7.1 药物和仪器 雨蛙肽及脂多糖购自 Sigma;中药 QYT 柴胡 5 g,黄芩 3 g,胡黄连 3 g,白芍 5 g,木香 3 g,延胡索 3 g,生大黄(后下)5 g,芒硝 3 g 购自天津市南开医院药房,采取水煎法制备药物:药液比例为 1:1 的 QYT 浓缩液; α -淀粉酶(AMS)试剂盒(淀粉-碘比色法)购自南京建成生物工程研究所;

LC3、P62、 β -actin 抗体均购自 Abcam 公司。石蜡组织块包埋机、病理切片机、摊片机、烘片机、病理染色机、全自动玻璃盖片机、显微镜均为美国 Leica 公司。

1.7.2 实验动物准备及分组 24 只体重为 20~22 g 雄性健康 C57 BL/6 小鼠(SPF 级),购自北京华阜康生物科技股份有限公司[小鼠许可证号:SCXK(京)2014-0004],饲养于天津市南开医院试验动物中心。适应性喂养 1 周后,将小鼠随机分为正常对照组 8 只,AP 模型组(AP 组)8 只,QYT+AP 模型组(QYT 组)8 只。全部小鼠在自由饮水条件下禁食 12 h 后开始实验。依据文献^[7],采取雨蛙肽及脂多糖腹腔注射方法制备小鼠 AP 模型。对 AP 组、QYT 组小鼠腹腔注射雨蛙肽(50 μ g/kg),每小时 1 次,连续注射 7 次;在第 7 次注射的同时给予脂多糖(10 mg/kg)腹腔注射。QYT 组在第 1 次雨蛙肽注射前 1 h 及第 7 次雨蛙素注射后 1 h,予以 QYT(10 mL/kg)灌胃。正常对照组小鼠予以同等次数、剂量的生理盐水腹腔注射及灌胃。

1.7.3 标本采集与检测 末次注药后 12 h 处死小鼠,收集小鼠血清样本。使用血清淀粉酶试剂盒检测血清淀粉酶含量,严格按照说明书操作进行;切取胰腺组织标本,一部分进行固定、包埋、切片、HE 染色,封片后于光学显微镜下观察各组胰腺组织结构并依照 Schmidt 病理评分标准^[8]对其严重程度进行评分。

1.7.4 胰腺组织自噬情况检测 取小鼠胰腺组织 1 mm³ 于 4℃ 条件下用 2.5% 戊二醛固定 2 h,经锇酸固定、乙醇脱水、丙酮浸润、3% 醋酸铀-柠檬酸铅双染色后切片等步骤,于透射电镜下观察胰腺组织并拍照。

1.7.5 自噬相关蛋白表达检测 另取部分小鼠胰腺组织,于含 PMSF 的 RIPA 裂解液中充分匀浆裂解,进行 BCA 蛋白定量检测蛋白浓度后,采用 Western 印迹法检测自噬标志蛋白 LC3 II、LC3 I、P62 蛋白表达情况,经 SDS-PAGE 电泳、PVDF 转膜、封闭、发光成像等步骤,用 Image J 软件分析灰度值以获知蛋白表达水平。

1.8 统计学处理 所有数据采用 Graph Pad Prism 8.0.2 软件进行处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,通过单因素方差分析比较各组间差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

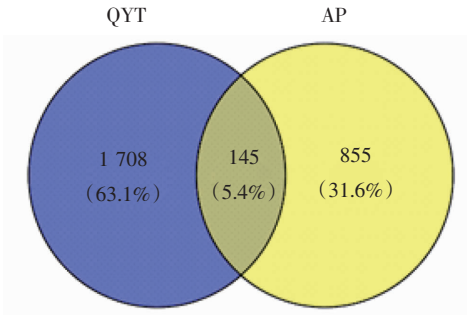
2.1 QYT 化学成分数据库及化学成分作用靶点数据库的筛选 通过 BATMAN-TCM 数据库检索清胰汤全方 8 味中药,以 Inference Score > 20 为筛选条件,柴胡共找到 81 种化合物,大黄 58 种,白芍 35 种,

木香 66 种,黄芩 63 种,胡黄连 23 种,延胡索 46 种,芒硝($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)化合物信息未得到。删除重复值后,得到 QYT 中含有的 214 个化合物,并收集活性化合物的对应蛋白靶点,删除重复值后总共获取 1 853 个蛋白靶点。

2.2 AP 疾病靶点数据库 通过在 Gene Cards、CTD 数据库中检索 AP,选取 Inference Score >20 分的蛋白靶点,筛选得到疾病相关靶点为 1 000 个。

2.3 QYT-AP 共同靶点的筛选 在 Venny 2.1 在线软件作图工具平台上输入 1 853 个药物靶点、1 000 个疾病靶点,绘制韦恩图,两者取交集后获得药物-疾病共同靶点 145 个,见图 1。

2.4 QYT 中药物活性化学成分和靶点 QYT 中有



注:QYT:清胰汤;AP:急性胰腺炎

图 1 QYT 与 AP 靶点韦恩图

Fig 1 Venn diagram of the target intersection of QYT and AP

214 个化合物,其中作用于 145 个药物-疾病共同靶点的化合物有 121 个,前 30 个化合物见表 1。

表 1 QYT 化合物表

Tab 1 Basic information of compounds from QYT

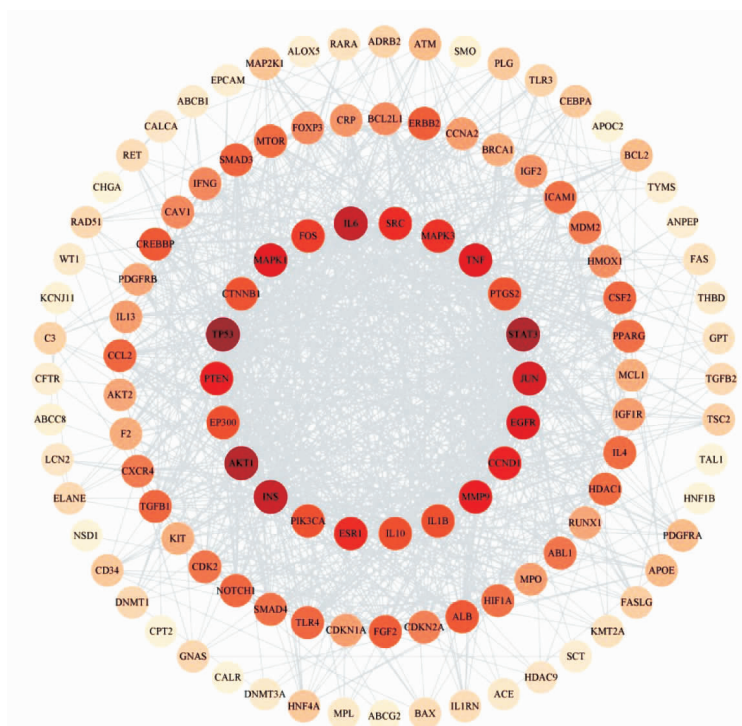
序号	化合物	分子式	来源药材	序号	化合物	分子式	来源药材
1	Progesterone	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	大黄	16	Beta-Ionone	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	木香
2	(E)-4-Phenyl-3-Buten-2-One	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}$	大黄	17	Gamma-aminobutyric acid	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2$	木香
3	Betulin	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$	木香	18	Pulegone	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	柴胡
4	Stigmasterol	$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$	柴胡	19	Citrulline	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$	柴胡
5	Carvone	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$	柴胡	20	Alpha-linolenic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	柴胡
6	Caprylic acid	$\text{C}_{8}\text{H}_{16}\text{O}_2$	柴胡	21	Linolenic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	柴胡
7	Lauric acid	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$	柴胡	22	Beta-humulene	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	柴胡
8	Nonanoic acid	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_2$	柴胡	23	Myrcene	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	柴胡
9	Isoallylbenzene	C_9H_{10}	木香	24	Phenylacetic acid	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$	延胡索
10	Yuechukene	$\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2$	延胡索	25	(+)-Corydaline	$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_4$	延胡索
11	Stearic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	柴胡	26	Corydaline	$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_4$	木香
12	8-Nonenoic acid	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_2$	柴胡	27	Tetrahydropalmatine	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$	延胡索
13	Nootkatone	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$	木香	28	Serotonine	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	木香
14	(E)-9-Isopropyl	$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}$	木香	29	Aplotaxene		
15	Artemisia ketone	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	木香	30			

2.5 QYT 干预 AP 的 PPI 网络图 将 145 个 QYT 干预 AP 的靶点导入 STRING 数据库,设置可信度(interaction score)为 0.7,得到 PPI 网络图,见图 2。根据拓扑指标度值(degree)调节节点颜色深浅以突出核心靶点,Degree 结果显示白细胞介素 6(interleukin 6,IL6)、信号转导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription,STAT)3、肿瘤抑制蛋白 53(tumor suppressor 53,TP53)、丝氨酸/苏氨酸激酶 1(serine/threonine kinase 1,AKT1)、丝裂原活化蛋白激酶 3(mitogen-activated protein kinase 3,MAPK3)等为 QYT 干预 AP 的核心靶点。

2.6 GO 生物学功能分析 通过 DAVID 数据库对

145 个共同靶点进行 GO 功能分析,根据 $\text{FDR} < 0.05$ 进行筛选,共得到富集信息 1 310 条,其中生物学过程(biological process,BP)1 190 条,分子功能(molecular function,MF)62 条,细胞组成(cellular component,CC)58 条;BP、MF 和 CC 前 10 条富集信息见图 3。MF 分析可看出靶点主要涉及载体活性,染色质 DNA 结合,羧基还原酶等分子功能。CC 分析得出靶点主要涉及线粒体、线粒体基质、细胞质等细胞成分。BP 分析得出靶点主要涉及核因子(NF)- κB 正向调节、炎症反应、MAPK 激活、JAK-STAT 级联反应等生物学过程。

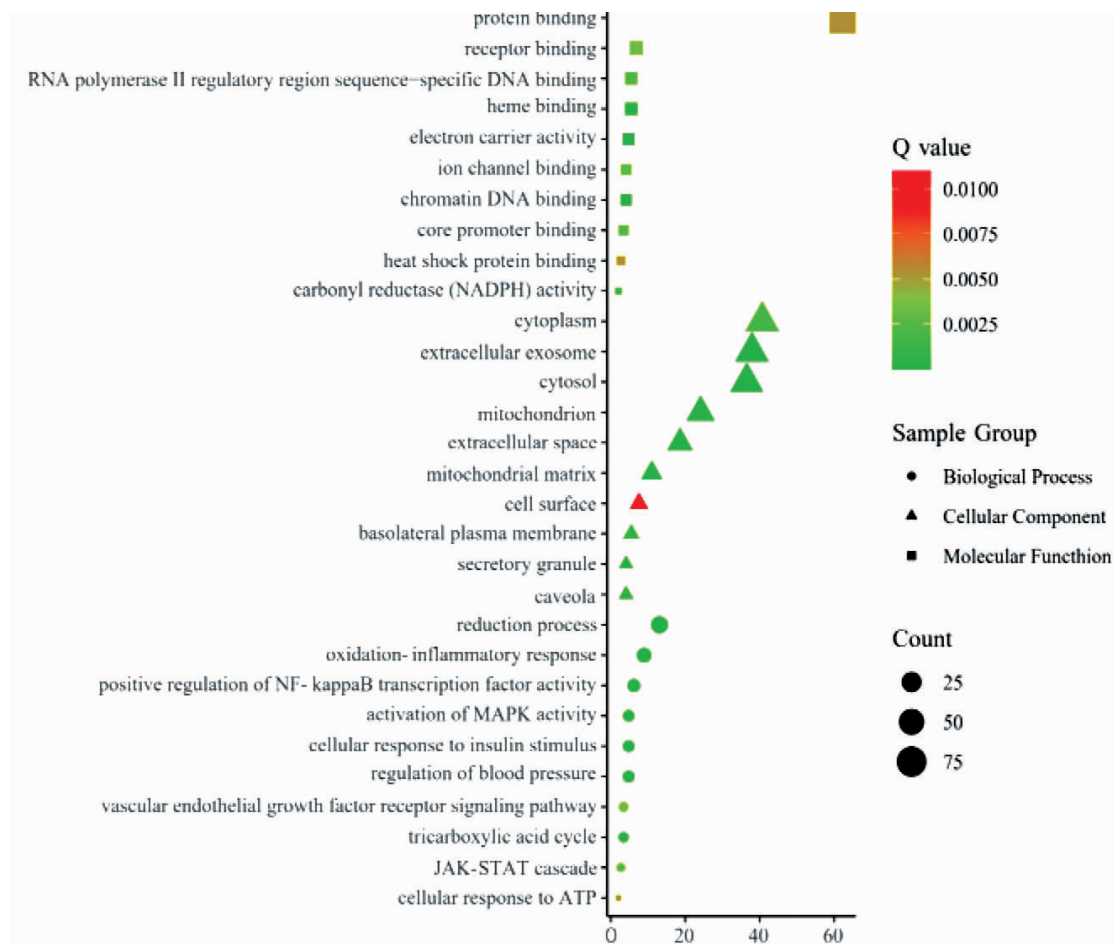
2.7 KEGG 通路富集分析 KEGG 分析得到 67 条通路信息,依 P 值排序居前 10 位的结果见表 2。



注:QYT:清胰汤;AP:急性胰腺炎

图2 QYT治疗AP的PPI网络

Fig 2 PPI network of QYT in treating AP



注:OYT:清胰汤;AP:急性胰腺炎

图3 QYT干预AP靶点GO功能富集

Fig 3 GO function enrichment of QYT in treating AP

表 2 KEGG 富集分析潜在相关通路(前 10 位)

Tab 2 KEGG pathway enrichment analysis for candidate related pathway targets(top10)

KEGG 通路	基因数	基因名称	P	FDR
hsa04151:PI3K-Akt signaling pathway	28	CDKN1A,PTEN,FASLG,BRCA1,FGF2,EGFR,IGF1R,INS,CCND1,AKT2,AKT1,MAPK1,MAPK3,MCL1,PDGFRB,MAP2K1,TSC2,MTOR,IL4,IL6,PIK3CA,KIT,CDK2,BCL2,MDM2,TP53,TLR4,BCL2L1	0.000 000 000 000 000 003 9	0.000 000 000 114
hsa04668:TNF signaling pathway	16	JUN,MAP2K1,CSF2,FOS,PTGS2,TNF,MMP9,ICAM1,IL6,PIK3CA,AKT2,CCL2,AKT1,FAS,MAPK1,MAPK3	0.000 000 000 000 000 013	0.000 000 24
hsa05321:Inflammatory bowel disease (IBD)	12	IL10,IL4,JUN,TGFB2,IL6,TGFB1,SMAD3,IL13,STAT3,FOXP3,TLR4,TNF	0.000 000 000 000 031	0.000 000 003
hsa04012:ErbB signaling pathway	13	CDKN1A,JUN,MAP2K1,SRC,EGFR,MTOR,PIK3CA,AKT2,ERBB2,ABL1,AKT1,MAPK1,MAPK3	0.000 000 000 000 12	0.000 000 007
hsa04210:Apoptosis	11	PIK3CA,AKT2,BCL2,AKT1,FAS,BAX,FASLG,ATM,TNF,TP53,BCL2L1	0.000 000 000 000 14	0.000 000 100
hsa04150:mTOR signaling pathway	10	PIK3CA,AKT2,PTEN,AKT1,TSC2,MAPK1,TNF,MTOR,INS,MAPK3	0.000 000 000 001 6	0.000 000 243
hsa04630:Jak-STAT signaling pathway	13	IL10,CSF2,IL13,STAT3,MPL,IL4,IL6,PIK3CA,CCND1,AKT2,EP300,AKT1,BCL2L1	0.000 000 000 006 5	0.000 001 189
hsa04115:p53 signaling pathway	10	CDKN1A,CCND1,CDK2,PTEN,MDM2,FAS,TSC2,BAX,ATM,TP53	0.000 000 000 014	0.000 001 332
hsa04152:AMPK signaling pathway	12	CCNA2,PIK3CA,CCND1,AKT2,HNF4A,AKT1,TSC2,PPARG,CFTR,MTOR,IGF1R,INS	0.000 000 717 13	0.000 001 34
hsa04010:MAPK signaling pathway	16	PDGFRB,JUN,TGFB2,MAP2K1,TGFB1,FASLG,FOS,FGF2,TNF,EGFR,AKT2,AKT1,FAS,MAPK1,TP53,MAPK3	0.000 001 588 32	0.000 002 80

2.8 动物实验部分

2.8.1 各组小鼠血清淀粉酶结果 与正常对照组相比,AP 组小鼠血清淀粉酶显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$),QYT 组血清淀粉酶明显低于 AP 组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 各组小鼠血清淀粉酶含量比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Comparison of serum amylase levels between groups($\bar{x}\pm s$)

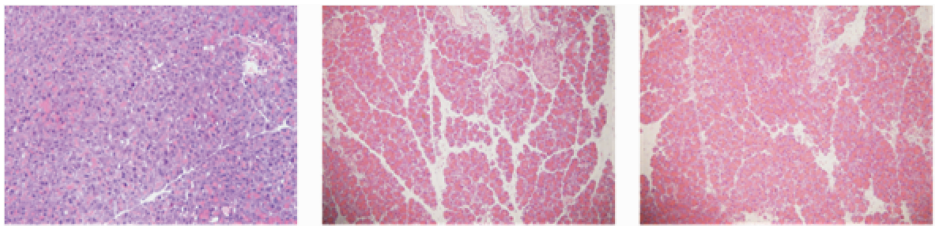
组别	例数	AMY(U/dL)
正常对照组	8	1 242.80±36.84
AP 组	8	1 869.62±167.46*
QYT 组	8	1 473.83±130.99* [△]

注:AP 组:急性胰腺炎模型组;QYT 组:QYT 给药+AP 模型组;AMY:血清淀粉酶;与正常对照组比较,* $P<0.05$;与 AP 组比较,[△] $P<0.05$

2.8.2 胰腺组织病理变化 HE 结果可见正常对照组胰腺结构基本完整,组织被膜完整,细胞结构正常,排列紧密,无水肿和炎症浸润;AP 组胰腺腺泡水肿,小叶结构破坏,间隔增宽,胰腺组织不同程度水肿坏死,伴大量炎性细胞浸润,胰腺导管内可见出血;QYT 组也可见胰腺组织损伤,但程度明显较 AP 组降低,见图 4。

2.8.3 胰腺组织病理评分 与正常对照组相比,AP 组胰腺组织病理评分均明显升高,具有统计学意义,与 AP 组相比,QYT 组各项病理评分均明显降低,具有统计学意义(表 4)。

2.8.4 小鼠胰腺组织电镜结果 如图 5 所示,电



Control 组 AP 组 QYT 组

注:Control 组:正常对照组;AP 组:急性胰腺炎模型组;QYT 组:清胰汤给药+急性胰腺炎模型组

图 4 各组小鼠胰腺组织 HE 染色(100×)

Fig 4 HE staining of pancreatic tissues of all groups (100×)

表4 各组小鼠胰腺病理评分($\bar{x} \pm s$)Tab 4 Pancreatic pathology score of mice in all groups($\bar{x} \pm s$)

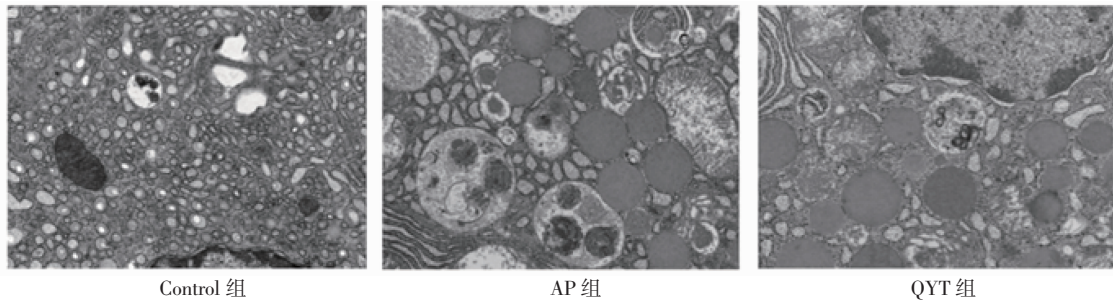
组别	例数	水肿	炎症	坏死	出血
正常对照组	8	0.27±0.05	0.30±0.07	0.24±0.07	0.11±0.03
AP组	8	3.33±0.19*	3.43±0.23*	3.11±0.24*	3.23±0.20*
QYT组	8	1.96±0.16 [△]	1.50±0.21 [△]	1.65±0.26 [△]	1.24±0.16 [△]

注: AP组:急性胰腺炎模型组;QYT组:清胰汤给药+急性胰腺炎模型组;与正常对照组相比,* $P < 0.05$;与AP组比较,[△] $P < 0.05$

镜下观察到正常对照组的腺泡细胞结构规则,基底区粗面内质网丰富;AP组中,细胞结构破坏,

胞质内自噬空泡明显增多,酶原颗粒增加,个别可见细胞核固缩,线粒体肿胀、嵴消失;QYT组的胰腺腺泡细胞超微结构病理改变程度明显轻于AP组,细胞结构较为完整,酶原颗粒较正常对照组增多。

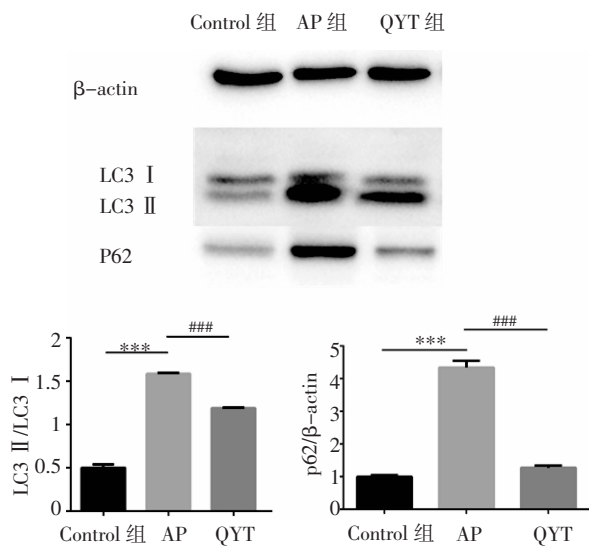
2.8.5 蛋白印迹实验 与正常对照组相比,AP组小鼠胰腺组织的LC3 II/I比值、P62表达水平均明显升高(均 $P < 0.001$);与AP组相比,QYT组中LC3 II/I比值、P62表达水平降低(均 $P < 0.001$),见图6。



注: Control组:正常对照组;AP组:急性胰腺炎模型组;QYT组:清胰汤给药+急性胰腺炎模型组

图5 各组小鼠胰腺组织超微结构电镜图(25 000×)

Fig 5 Electron microscopy images of pancreatic tissues in all groups (25 000×)



注: Control:正常对照组;AP:急性胰腺炎模型组;QYT:清胰汤给药+急性胰腺炎模型组;与正常对照组相比,*** $P < 0.001$;与AP组相比,### $P < 0.001$

图6 各组胰腺组织中自噬标志蛋白表达

Fig 6 Expression of autophagy marker protein in pancreatic tissues in all groups

3 讨论

自噬作为分解代谢的过程,是维持细胞稳态的重要方式之一,在胰腺炎中,自噬被激活但溶酶体降解这一过程被抑制,自噬体形成增加与溶酶体降解降低之间的不平衡导致自噬通量阻滞,会导致严重的腺泡细胞变性和胰蛋白酶原激活,导致AP的

发生^[9]。现有研究证明,QYT可通过抗凋亡,减少坏死,减轻炎症反应等多途径发挥治疗AP的作用,其中包括通过改善肠屏障通透性缓解AP的炎症反应^[10],减少肠道内毒素的产生和吸收,缓解AP引起的肠道屏障损伤^[11],及通过减少II型肺泡上皮细胞的凋亡来减少重症AP诱导的急性肺损伤等^[12]。但对QYT治疗AP作用机制的研究相对孤立,基于分子机制的研究较少,故本研究通过网络药理学的方法,对于QYT治疗AP的作用机制进行分析,结果发现自噬是QYT干预AP的途径之一。

通路富集分析结果显示,QYT治疗AP的信号通路共67条,其中涉及磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-Akt)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、炎症性肠病(IBM)、细胞凋亡、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、Janus激酶/STAT、P53、腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)、MAPK等通路。其中PI3K/Akt/mTOR信号转导途径被认为是自噬启动和调节的主要途径^[13]。PI3K通过磷酸化Akt,影响下游从而调节自噬。有研究表明mTOR激活后发生自噬,溶酶体重整可关闭自噬小体的形成,导致溶酶体重新形成,进入下一轮自噬^[14]。AMPK通过磷酸化mTORC1等自噬相关蛋白来直接促进自噬,或通过调节转录因子下游的自噬相关基因的表达来间接促进自噬,疏

化氢通过 AMPK/mTOR 途径过度激活自噬而加重 AP^[15];自噬与 p53 之间存在重要关系,p53 激活自噬,自噬也可以通过为 DNA 复制和修复提供底物来抑制 p53 激活^[16]。在 QYT 与 AP 靶点作用的活性化学成分中,大黄中的大黄素(emodin),可通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导自噬^[17]。大黄中的大黄酸(rhein)通过产生 ROS 经 Fas 死亡途径和线粒体途径诱导 caspase 依赖性凋亡,减弱自噬^[18]。STRING 结果显示,药物-疾病靶点主要作用于 TP53、STAT3、IL-6、AKT1 等靶点,IL-6 通过多种互补机制调控自噬,包括抑制 mTORC1 的靶标和激活 Akt,刺激 LC3 的转化和自噬体的形成,增加自噬酶产生。有研究表明 miR-148a 通过下调 IL-6 / STAT3 信号转导抑制自噬而作用于 AP^[19]。STAT3 可作为由 IL-6 激活的急性期基因转录增强子,通过上调自噬的负调节剂或下调必需的自噬基因,导致自噬抑制^[20]。

动物实验结果证实,在雨蛙素联合脂多糖诱导的 AP 小鼠模型中,经 QYT 治疗后 AP 小鼠的炎症减轻,自噬反应减弱。

综上所述,QYT 可能通过调节自噬发挥治疗 AP 的作用。但 QYT 干预自噬过程的具体通路仍不明确,需进一步完善体内外实验,进行通路和具体作用靶点的验证,为临床的合理应用以及新治疗方法提供思路依据。

参考文献:

- [1] BANKS P A, BOLLEN T L, DERVENIS C, et al. Classification of acute pancreatitis -2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus[J]. Gut, 2013, 62(1): 102
- [2] TENNER S, BAILLIE J, DEWITT J, et al. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis [J]. Am J Gastroenterol, 2013, 108(9): 1400
- [3] ZHANG X P, SHI Y, ZHANG L. Progress in the study of therapeutic effects of traditional Chinese medicine and extracts in treating severe acute pancreatitis[J]. JOP, 2007, 8(6): 704
- [4] 曾基强, 余鹏, 王和曹, 等. 清胰汤对重症急性胰腺炎治疗价值的系统评价[c]//浙江省外科学学术会议. 2007: 544-547.
- [5] 杨东鹰, 段绍斌, 居来提-艾力, 等. 清胰汤对重症急性胰腺炎患者的疗效及血中肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-6、8 的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(12): 1122-1124.
- [6] LIU G, ZHANG J, CHEN H, et al. Effects and mechanisms of alveolar type II epithelial cell apoptosis in severe pancreatitis-induced acute lung injury[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(3): 565
- [7] HOU C Q, ZHU X L, SHI C Y, et al. Igaratimod (T-614) attenuates severe acute pancreatitis by inhibiting the NLRP3 inflammasome and NF- κ B pathway[J]. Biomed Pharmacother, 119: 109455
- [8] SCHMIDT J, RATTNER D W, LEWAND R K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy[J]. Ann Surg, 1992, 215(1): 44
- [9] CHECLER F, GOIRAN T, Alves da Costa C. Nuclear TP53: an unraveled function as transcriptional repressor of PINK1[J]. Autophagy, 2018, 14(6): 1099
- [10] ZHANG J W, ZHANG G X, CHEN H L, et al. Therapeutic effect of Qingyi decoction in severe acute pancreatitis-induced intestinal barrier injury[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(12): 3537
- [11] 张经文, 陈海龙, 王玉玺, 等. 重症急性胰腺炎肠道屏障损伤时 SPLA-2 的表达及清胰汤的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2013, (32): 3537-3542.
- [12] LIU G, ZHANG J, CHEN H, et al. Effects and mechanisms of alveolar type II epithelial cell apoptosis in severe pancreatitis-induced acute lung injury[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(3): 565
- [13] ZHENG J, FENG X, HOU L, et al. Latanoprost promotes neurite outgrowth in differentiated RGC-5 cells via the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway[J]. Cell Mol Neurobiol, 2011, 31(4): 597
- [14] MUNSON M J, GANLEY I G. MTOR, PIK3C3, and autophagy: signaling the beginning from the end[J]. Autophagy, 2015, 11(12): 2375
- [15] JI L, LI L, QU F, et al. Hydrogen sulphide exacerbates acute pancreatitis by over-activating autophagy via AMPK/mTOR pathway[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(12): 2349
- [16] NI Q, ZHANG W, SUN K, et al. *In vitro* effects of emodin on peritoneal macrophage intercellular adhesion molecule-3 in a rat model of severe acute pancreatitis/systemic inflammatory response syndrome[J]. Biomed Rep, 2014, 2(1): 63
- [17] WU L, CAI B C, ZHENG S Z. Effect of emodin on endoplasmic reticulum stress in rats with severe acute pancreatitis[J]. Inflammation, 2013, 36(5): 1020
- [18] LI Y, SHEN F, BAO Y, et al. Apoptotic effects of rhein through the mitochondrial pathways, two death receptor pathways, and reducing autophagy in human liver L02 cells [J]. Environ Toxicol, 2019, 34(12): 1292
- [19] MIAO B, QI W J, ZHANG S W, et al. miR-148a suppresses autophagy by down-regulation of IL-6/STAT3 signaling in cerulein-induced acute pancreatitis[J]. Pancreatol, 2019, 19(4): 557
- [20] YOU L, WANG Z, LI H, et al. The role of STAT3 in autophagy[J]. Autophagy, 2015, 11(5): 729

(2021-01-20 收稿)