

· 基础研究 ·

基于网络药理学的百合抗抑郁作用机制研究[△]

何丹, 黄建华, 曾宏亮, 黄小龙, 舒骏, 邹笃准, 赵河, 张水寒*

湖南省中医药研究院, 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410013

[摘要] 目的: 采用网络药理学方法探究百合抗抑郁的作用机制。方法: 通过检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、BATMAN 等在线数据库并结合文献调研, 构建百合成分数据库; 通过 SwissTargetPrediction 平台预测各成分潜在作用靶点, 构建“成分-靶点”网络; 以抑郁症为背景从 GeneCards、OMIM、DrugBank 数据库获得疾病靶点; 通过与百合各成分靶点比对获得百合及抑郁共有靶点; 采用 Cytoscape 构建百合抗抑郁的“成分-靶点-通路”网络, 并进行 KEGG 通路富集分析。结果: 通过网络药理学方法筛选得到百合发挥抗抑郁作用的 16 个生物活性成分, 这些成分可作用于 88 个抑郁症相关的靶标。其中百合皂苷可能是其抗抑郁主要活性成分。百合可通过多靶点(STAT3、AKT1、JUN、VEGFA、TNF、APP、MAPK14、ESR1、AR 和 HSP90AA1 等)参与小胶质细胞激活或衰减及雌激素水平的调节发挥抗抑郁作用, 其中晚期糖基化终末产物(AGE)/晚期糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路、鞘脂信号通路、C 型凝集素受体信号通路、雌激素信号通路可能是其抗抑郁关键途径。结论: 预测了百合抗抑郁的活性成分和潜在靶点, 为百合及其复方抗抑郁机制研究提供参考。

[关键词] 百合; 抑郁; 网络药理学; 通路分析; 百合皂苷

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)12-1996-10

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20200305008

Study on Mechanism of Antidepressant of Lillii Bulbus Based on Network Pharmacology

HE Dan, HUANG Jian-hua, ZENG Hong-liang, HUANG Xiao-long, SHU Jun,

ZOU Du-zhun, ZHAO He, ZHANG Shui-han*

Hunan Academy of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410013, China

[Abstract] **Objective:** To explore the antidepressant mechanism of Lillii Bulbus by using network pharmacology. **Methods:** The database of Lillii Bulbus ingredients was constructed by searching online databases such as the traditional Chinese medicine system pharmacology database and analysis platform (TCMSP), BATMAN and combining literature research. The SwissTargetPrediction platform was used to predict the potential targets of each component and build a "component-target" network. The GeneCards, OMIM, and DrugBank databases were used to get the disease targets. The common targets of Lillii Bulbus and depression are obtained by comparing with component target of Lillii Bulbus. Cytoscape was used to construct the "component-target-pathway" network of antidepressant in lily, and conduct KEGG pathway enrichment analysis. **Results:** Network pharmacology methods successfully identified 16 biologically active ingredients in Lillii Bulbus, which acted on 88 depression-related targets. Among them, *Lilium* saponin may be its main antidepressant component. Lillii Bulbus can participate in microglial activation or attenuation through multiple targets (including STAT3, AKT1, JUN, VEGFA, TNF, APP, MAPK14, ESR1, AR and HSP90AA1), and The regulation of estrogen levels exerts antidepressant effects, among which the AGE/RAGE signaling pathway, PI3K/Akt signaling pathway, sphingolipid signaling pathway, C-type lectin receptor signaling pathway, and estrogen signaling may be the key antidepressant pathways. **Conclusion:** This study successfully predicted the antidepressant active ingredients and potential targets of Lillii Bulbus, which provided a scientific basis for the study of antidepressant mechanism of Lillii Bulbus.

[Keywords] Lillii Bulbus; depression; network pharmacology; pathway analysis; *Lilium* saponin

[△] **[基金项目]** 名贵中药资源可持续利用能力建设项目(2060302); 全国中药资源普查项目(财社〔2017〕66号); 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-HUN-21); 湖南省高新技术产业科技创新引领计划项目(2020SK2029)

* **[通信作者]** 张水寒, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药资源开发和综合利用; E-mail: zhangshuihan0220@126.com

百合为百合科植物卷丹 *Lilium lancifolium* Thumb.、百合 *L. brownii* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 或细叶百合 *L. pumilum* DC. 的干燥肉质鳞叶。其味甘、苦，性微温，归肺经；兼有养阴润肺、清心安神之效；用于肺热咳嗽、干咳久咳、热病后虚热、烦躁不安。化学成分分析表明，百合的可食用鳞茎中含淀粉、蛋白质、纤维素、多糖、皂苷和生物碱等成分，其中皂苷、类黄酮和多糖是百合的主要活性成分。

抑郁是因郁怒、思虑、悲哀、忧愁等情志不遂所致的心神失常^[1]。《金匱要略》认为，百合可滋养心肺之阴、补益心肺之气，因而在古代神志病治疗中应用历史悠久^[2]。故百合清心安神可能是其抗抑郁功效的依据。现代研究证实，百合可提高抑郁症大鼠脑内神经递质多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)水平，同时降低血清皮质醇(COR)、促肾上腺皮质激素(ACTH)水平及下丘脑促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)mRNA水平，改善大鼠抑郁样症状^[3-5]。百合还可与地黄、知母、紫石等联合用于糖尿病、脑卒中、慢性心力衰竭等并发抑郁的治疗^[6-7]。然而，由于中药复杂的成分体系，百合抗抑郁涉及的物质基础和分子机制尚不清晰。因此，解析百合治疗抑郁的潜在作用机制可为百合及其复方解郁研究提供参考。

网络药理学从网络角度描述生物系统，通过整合大量实验及虚拟模型将传统的“一靶，一药”模式转变为“网络靶点，多组分治疗”的模式，与中医整体性原则一致，为阐明中药和疾病之间的复杂性提供了可能^[8-10]。本研究结合网络分析及虚拟对接技术，从生物信息学的角度揭示百合多成分-多靶点网络的科学内涵，揭示百合“清心安神”的抗抑郁潜在物质基础及作用机制，为百合研究及相关产品研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 成分数据库的构建

以“百合”为关键词检索中医药整合药理学研究平台(TCMP, <http://www.tcmip.cn/TCMIP/>, ver. 20)^[11]、中药分子机制的生物信息学分析工具(BATMAN, <http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)^[12]中相关成分，去除重复成分，经文献检索验证后通过 ChemBioDraw 14.0 软件绘制各化合物的分子结构，并保存其 Mol 或 SDF 格式文件。

1.2 成分靶标预测

采用 SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)在线分析工具对百合活性成分的潜在作用靶点进行预测^[13-14]。将上述百合活性成分文件上传至 Swiss Target Prediction 网站，以“Homo sapiens”为背景预测靶点；以每个成分预测概率值 > 0.5 的前 15 个靶点作为潜在有效靶标建立成分靶点数据库^[15]。

1.3 抑郁靶点收集

以“depression”为关键词、“Homo sapiens”为限定条件从 GeneCards (<https://www.genecards.org/>, ver. 4.9.0)、OMIM (<http://www.omim.org/>)、DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>)数据库中初步筛选疾病相关靶蛋白，去除冗余靶点后，结合文献数据验证，建立抑郁靶点数据库。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析

通过 STRING (<https://string-db.org/>, ver. 11.0)数据库将检索到的百合活性成分靶点与抑郁相关靶点进行在线关联，靶点基原选择“Homo sapiens”；选择相关性得分(interaction score) ≥ 0.70 的高置信度靶标。

1.5 网络构建与分析

采用可视化软件 Cytoscape (ver. 3.7.0)构建百合成分-靶点网络、百合-抑郁 PPI 网络及百合成分-靶点-通路网络。计算网络中各节点(node)及边(edge)的拓扑属性，将度(degree)值 ≥ 10 ，且 degree $\geq$ 中介中心度(betweenness centrality, BC)值中位数 2 倍的靶点视为网络的关键靶点，作进一步分析。

1.6 富集分析

进行基因本体(GO)及京都基因与基因组百科全书(KEGG, <http://www.genome.ad.jp/kegg/>)通路的富集分析，选择 $P \leq 0.05$ 的条目进行进一步研究。

2 结果

2.1 百合成分-靶点网络分析

从 TCMIP 及 BATMAN 数据库中共检索获得 11 种百合化学成分。此外王百合苷类(regaloside B、C、E、F、I)虽未被数据库收录，但本课题组前期研究和文献调研表明，其可能是百合质量评价的潜在成分，且有研究表明，百合皂苷类成分是其抗抑郁的有效部位之一^[16-18]，故将这 5 个化合物也纳入网络分析。百合

成分信息见表 1。对百合的 16 个活性化合物进行 Swiss Target Prediction 在线预测, 删除冗余成分后共获得 110 个潜在靶点(见表 2)。应用 Cytoscape 建立百合成分-靶点网络(126 个节点, 300 条边), 见图 1。

表 1 百合潜在活性成分

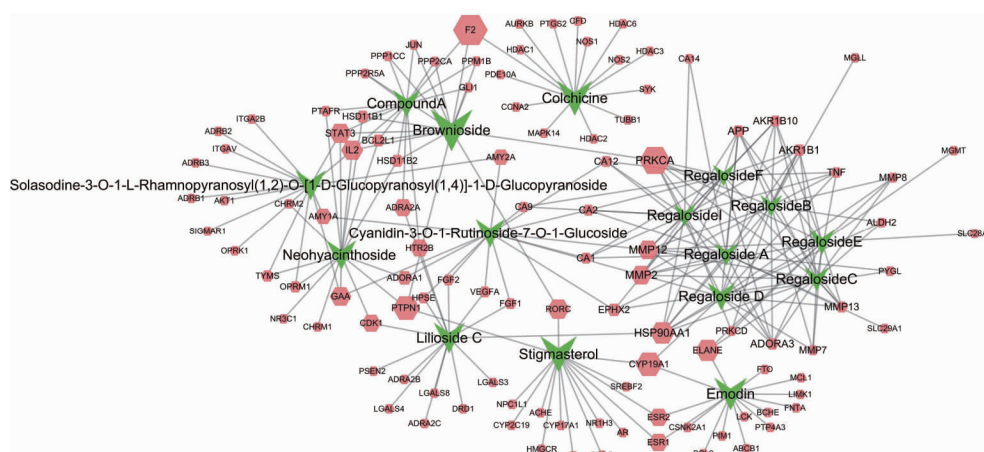
编号	化合物	分子式	相对分子质量
1	豆甾醇(stigmasterol)	C ₂₁ H ₂₄ O ₅	356
2	lilioside C	C ₉ H ₁₈ O ₈	254
3	王百合苷 A(regaloside A)	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	400
4	百合皂苷(brownioside)	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₇	882
5	秋水仙碱(colchicine)	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	399
6	大黄素(emodin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270
7	26-O-1-D-glucopyranosyl-31, 26-dihydroxy-15-choleslen-16, 22-dioxo-3-O-1-L-rhamnopyranosyl-(1, 2)-1-D-glucopyranoside	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	900
8	neohyacinthoside	C ₅₇ H ₉₃ NO ₂₅	1191
9	王百合苷 D(regaloside D)	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	400
10	solasodine-3-O-1-L-rhamnopyranosyl(1, 2)-O- [1-D-glucopyranosyl(1, 4)] -1-D-glucopyranoside	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₆	883
11	cyanidin-3-O-1-rutinoside-7-O-1-glucoside	C ₃₃ H ₄₂ O ₂₀	758
12	王百合苷 E(regaloside E)	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₂	458
13	王百合苷 F(regaloside F)	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₁	430
14	王百合苷 I (regaloside I)	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	442
15	王百合苷 B(regaloside B)	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	442
16	王百合苷 C(regaloside C)	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	416

表 2 百合潜在作用靶点

编号	基因	靶点	编号	基因	靶点
1	AR	androgen receptor	19	STAT3	signal transducer and activator of transcription 3
2	NPC1L1	niemann-pick C1-like protein 1	20	TUBB1	tubulin beta-1 chain
3	HMGCR	HMG-CoA reductase	21	HDAC6	histone deacetylase 6
4	CYP51A1	cytochrome P450 51 (by homology)	22	HDAC1	histone deacetylase 1
5	CYP19A1	cytochrome P450 19A1	23	HDAC3	histone deacetylase 3
6	NR1H3	LXR-alpha	24	HDAC2	histone deacetylase 2
7	CYP17A1	cytochrome P450 17A1	25	SYK	tyrosine-protein kinase SYK
8	RORC	nuclear receptor ROR-gamma	26	PTGS2	cyclooxygenase-2
9	ESR1	estrogen receptor alpha	27	MAPK14	MAP kinase p38 alpha
10	ESR2	estrogen receptor beta	28	CCNA2	CDK2/cyclin A
11	SHBG	testis-specific androgen-binding protein	29	PDE10A	phosphodiesterase 10A
12	SREBF2	sterol regulatory element-binding protein 2	30	CFD	complement factor D
13	ACHE	acetylcholinesterase	31	AURKB	serine/threonine-protein kinase aurora-B
14	CYP2C19	cytochrome P450 2C19	32	NOS1	nitric-oxide synthase, brain
15	PTPN1	protein-tyrosine phosphatase 1B	33	NOS2	nitric oxide synthase, inducible
16	HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha	34	PIM1	serine/threonine-protein kinase PIM1
17	VEGFA	vascular endothelial growth factor A	35	CSNK2A1	casein kinase II alpha
18	PSEN2	gamma-secretase	36	PTP4A3	protein-tyrosine phosphatase 4A3

续表 2

编号	基因	靶点	编号	基因	靶点
37	<i>FGF1</i>	acidic fibroblast growth factor	74	<i>ELANE</i>	leukocyte elastase
38	<i>HPSE</i>	heparanase	75	<i>FNTA</i>	protein farnesyltransferase
39	<i>CDK1</i>	cyclin-dependent kinase 1	76	<i>MCL1</i>	induced myeloid leukemia cell differentiation protein
40	<i>FGF2</i>	basic fibroblast growth factor	77	<i>BCL2</i>	apoptosis regulator
41	<i>LGALS4</i>	galectin-4	78	<i>FTO</i>	alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase
42	<i>LGALS3</i>	galectin-3	79	<i>LIMK1</i>	LIM domain kinase 1
43	<i>LGALS8</i>	galectin-8	80	<i>LCK</i>	tyrosine-protein kinase
44	<i>HTR2B</i>	serotonin 2b(5-HT2b) receptor	81	<i>ABCB1</i>	P-glycoprotein 1
45	<i>ADRA2A</i>	alpha-2a adrenergic receptor	82	<i>BCHE</i>	butyrylcholinesterase
46	<i>ADRA2C</i>	adrenergic receptor alpha-2	83	<i>PTAFR</i>	platelet activating factor receptor
47	<i>ADRA2B</i>	alpha-2b adrenergic receptor	84	<i>GAA</i>	lysosomal alpha-glucosidase
48	<i>DRD1</i>	dopamine D1 receptor	85	<i>CHRM2</i>	muscarinic acetylcholine receptor M2 (by homology)
49	<i>MMP12</i>	matrix metalloproteinase 12	86	<i>CHRM1</i>	muscarinic acetylcholine receptor M1
50	<i>PRKCA</i>	protein kinase C alpha	87	<i>NR3C1</i>	glucocorticoid receptor
51	<i>MMP2</i>	matrix metalloproteinase 2	88	<i>TYMS</i>	thymidylate synthase (by homology)
52	<i>AKR1B1</i>	aldose reductase	89	<i>ADORA1</i>	adenosine A1 receptor
53	<i>MMP13</i>	matrix metalloproteinase 13	90	<i>OPRM1</i>	Mu opioid receptor (by homology)
54	<i>ADORA3</i>	adenosine A3 receptor	91	<i>TNF</i>	TNF-alpha
55	<i>EPHX2</i>	epoxide hydratase	92	<i>AKR1B10</i>	aldo-keto reductase family 1 member B10
56	<i>APP</i>	beta amyloid A4 protein	93	<i>ALDH2</i>	aldehyde dehydrogenase
57	<i>PYGL</i>	liver glycogen phosphorylase	94	<i>MMP7</i>	matrix metalloproteinase 7
58	<i>SLC29A1</i>	equilibrative nucleoside transporter 1	95	<i>MMP8</i>	matrix metalloproteinase 8
59	<i>CA2</i>	carbonic anhydrase II	96	<i>SIGMAR1</i>	sigma opioid receptor
60	<i>CA1</i>	carbonic anhydrase I	97	<i>ITGAV</i>	integrin alpha-V/beta-3
61	<i>CA12</i>	carbonic anhydrase XII	98	<i>AKT1</i>	serine/threonine-protein kinase
62	<i>CA14</i>	carbonic anhydrase XIV	99	<i>ITGA2B</i>	integrin alpha-IIb/beta-3
63	<i>BCL2L1</i>	apoptosis regulator Bcl-X	100	<i>AMY2A</i>	pancreatic alpha-amylase
64	<i>IL2</i>	interleukin-2	101	<i>AMY1A</i>	AMY1C
65	<i>F2</i>	thrombin	102	<i>ADRB2</i>	adrenergic receptor beta
66	<i>GLI1</i>	zinc finger protein GLI1	103	<i>ADRB1</i>	beta-1 adrenergic receptor
67	<i>HSD11B2</i>	11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2	104	<i>ADRB3</i>	beta-3 adrenergic receptor
68	<i>HSD11B1</i>	11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1	105	<i>OPRK1</i>	kappa opioid receptor
69	<i>JUN</i>	proto-oncogene c-JUN	106	<i>CA9</i>	carbonic anhydrase IX
70	<i>PPM1B</i>	protein phosphatase 2C beta	107	<i>PRKCD</i>	protein kinase C delta
71	<i>PPP1CC</i>	serine/threonine protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit	108	<i>MGMT</i>	6-O-methylguanine-DNA methyltransferase
72	<i>PPP2CA</i>	serine/threonine protein phosphatase 2A, catalytic subunit, alpha isoform	109	<i>SLC28A3</i>	solute carrier family 28 member 3
73	<i>PPP2R5A</i>	serine/threonine protein phosphatase 2A, 56 kDa regulatory subunit, alpha isoform	110	<i>MGLL</i>	monoglyceride lipase



注：粉色六边形代表靶点；绿色倒三角表示成分。

图 1 百合成分-靶点网络

2.2 百合-抑郁 PPI 网络分析

2.2.1 百合抗抑郁潜在靶点 以“depression”为关键词从 GeneCards、OMIM、DrugBank 数据库中共获得 9719 个与抑郁发生发展相关的潜在靶点。将预测的百合潜在靶点与抑郁靶点进行比对，发现 95 个百合-抑郁的共有靶点(见图 2)。

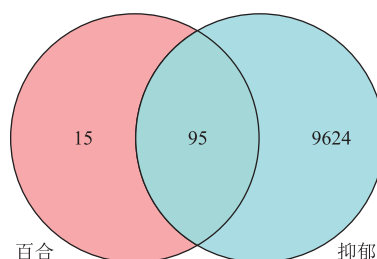
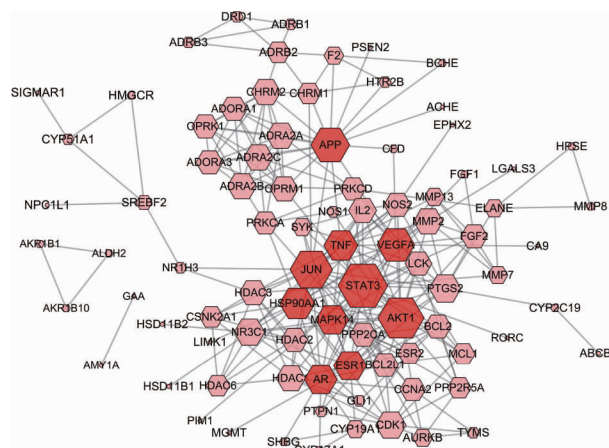


图 2 百合-抑郁共有靶点

2.2.2 百合-抑郁 PPI 网络 将上述 95 个共有靶点导入 STRING 数据库，进行在线靶点互作分析；选取交互作用得分 ≥ 0.7 的高可信度靶点，构建百合-抑郁 PPI 网络(见图 3)。该网络包括 88 个节点、274 条边。其中节点度值排名前 10 的靶点为百合-抑郁 PPI 网络的关键靶点。

小胶质细胞是中枢神经系统中的常驻巨噬细胞，其异常激活或衰减将诱导促炎细胞因子 [白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)] 或抗炎细胞因子的释放，产生神经毒性，导致抑郁的发生，因此，小胶质细胞可能是减轻各种神经系统疾病病理变化的潜在靶标^[19-22]。巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)可在慢性应激条件下通过激活小胶质细胞来减少抑郁样行为^[23]。Kwon 等^[23]研究表明，小胶质细胞中信号转导和转录激活因子 3(STAT3)的缺失



注：粉色代表靶点；红色代表排名前 10 位的靶点。

图 3 百合-抑郁 PPI 网络

可促进 M-CSF 在神经元细胞中的合成，激活蛋白激酶 B(Akt)/糖原合成激酶 3β (GSK3 β) 和细胞外调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2) 等抗抑郁类信号通路的磷酸化。Kang 等^[24]研究发现，Akt1 可通过维持线粒体膜电位的不对称性及调节半胱氨酸蛋白酶活性来防止炎症性小胶质细胞活化，预防神经退行性损伤。有研究表明，血管内皮生长因子(VEGF)通过直接影响许旺细胞(Schwann cells)、神经元祖细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞，在周围和中枢神经系统中发挥神经营养和神经保护作用，抗抑郁类药可诱导海马 VEGF 的表达；这可能与调节神经发生和神经元发育以及大脑血管的分化和形成有关^[25]。Wu 等^[26]发现，慢性不可预性的压力(CUS)将加速认知障碍的发生，并导致海马淀粉样 β (APP) 片段显著增加。

研究发现，许多精神障碍(包括焦虑症和抑郁

症), 女性的患病率高于男性, 而这些差异被认为是女性体内雌二醇(E_2)或孕酮等激素水平的波动造成^[27-28]。 E_2 主要通过 2 种经典的雌激素受体亚型 α ($ER\alpha$)和 $ER\beta$ 结合发挥作用。Różycka 等^[29]证明, 雄性雌激素受体 1^{-/-}($ESR1^{-/-}$)小鼠的苯丙胺运动反应减弱, 而雌性 $ESR1^{-/-}$ 和 $ESR2^{-/-}$ 小鼠则显示反应增强, 为治疗不同性别的情绪障碍提供了新的途径。Han 等^[30]发现 E_2 还可通过抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)的激活发挥神经保护作用。

通过 PPI 网络分析, 预测百合可能通过直接或间接的方式参与上述靶点的调控, 通过影响小胶质细胞激活或衰减, 参与 E_2 水平的调节等发挥其多靶点抗抑郁的作用(见图 4)^[31]。

2.3 百合-抑郁 PPI 网络群(Cluster)分析

使用 MCODE 工具对 PPI 靶点进行网络群分析, 共获得 8 个中心靶标簇(见表 3 和图 5)。选择得分大于 4 的前 3 个模块(群集 1~3)分析百合-安神 PPI

网络中的重要网络群。

丁腾等^[32]构建百合地黄汤抗抑郁网络, 发现该方可通过抑制脑内肾上腺素 β 受体(ADRB)功能亢进, 促进凋亡调节因子 Bcl-2 的表达, 抑制大鼠海马星形胶质细胞的凋亡, 发挥抗抑郁作用。本研究中也发现百合可作用于 ADRA 与 ADRB 2 种肾上腺素受体基因的多个亚型, 这些受体功能缺失被认为与情绪记忆和创伤后应激障碍有关^[33]。王博龙等^[34]构建百合知母汤抗抑郁网络, 发现该方可通过调节 ERK1/2、磷酸肌醇 3-激酶(PI3K)、Akt、MAPK 等靶点, 增加海马神经突触的可塑性来缓解抑郁症状, 这与本研究预测结果一致。此外这 2 个网络均发现百合可协同地黄或知母作用于 5-羟色胺受体(HTR), 修复受损的单胺类神经递质功能而发挥抗抑郁作用。本研究在百合潜在作用靶点预测中发现其另一亚型 HTR2B, 但在网络分析中该靶点未列于关键靶点中, 造成这一差异的原因可能是数据库的选择差异及多药材共作的结果。

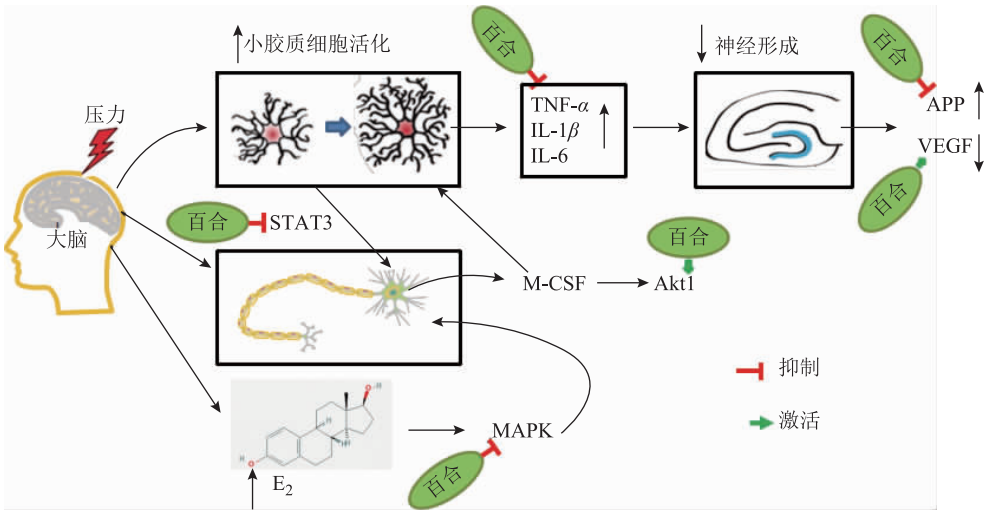
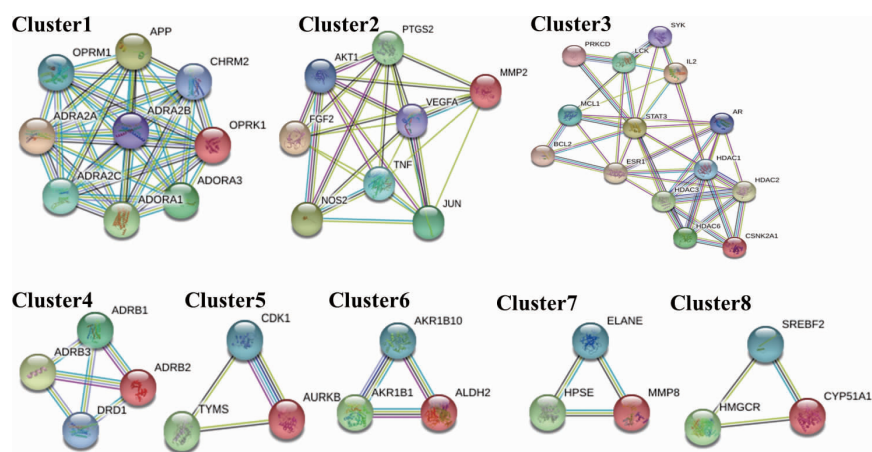


图 4 百合潜在抗抑郁靶点

表 3 百合-抑郁 PPI 网络分类信息

网络群	得分	节点	边	基因名称
1	9.000	9	36	ADRA2B、ADRA2C、CHRM2、ADRA2A、APP、ADORA3、OPRK1、OPRM1、ADORA1
2	6.286	8	22	AKT1、NOS2、FGF2、JUN、PTGS2、TNF、MMP2、VEGFA
3	4.462	14	29	CSNK2A1、ESR1、SYK、HDAC2、AR、HDAC3、HDAC1、HDAC6、STAT3、PRKCD、LCK、BCL2、IL2、MCL1
4	4.000	4	6	DRD1、ADRB2、ADRB3、ADRB1
5	3.000	3	3	TYMS、CDK1、AURKB
6	3.000	3	3	ALDH2、AKR1B10、AKR1B1
7	3.000	3	3	MMP8、ELANE、HPSE
8	3.000	3	3	HMGCCR、SREBF2、CYP51A1



注：Cluster 1 ~ 8 表示 8 个中心靶标簇。

图 5 百合-抑郁 PPI 网络群分类

2.4 百合抗抑郁潜在靶点的 KEGG 分析

为了阐明百合治疗抑郁的潜在机制，在 PPI 网络的基础上对 88 个高置信度靶点进行 KEGG 富集，共富集到 20 条生物通路；进一步构建了百合抗抑郁的成分-靶点-通路网络(见图 6~7 和表 4)。该网络由 88 个节点(包括 16 个成分节点、52 个抑郁相关节点和 20 条通路节点)和 472 条边组成。通路网络结果展示了百合成分与靶点、蛋白与蛋白、蛋白与通路间的串扰和传递关系，从现代药理角度解释了百合多成分、多靶点、多途径参与抗抑郁的潜在分子机制。

越来越多的证据支持抗炎在抗抑郁中的积极作用。研究表明，高糖可促进晚期糖基化终末产物(AGE)和其受体 RAGE 间的相互作用，进而上调致炎基因和氧化应激反应，参与糖尿病神经病变。研究证实，抑制海马和前额叶皮层中的 AGE-RAGE 信号传导可改善糖尿病并发抑郁和焦虑等症状^[35-36]。脂多糖(LPS)诱导的核转录因子- κ B(NF- κ B)激活直接受小胶

质细胞中 PI3K/Akt 磷酸化的调节，这暗示抑制 PI3K/Akt 可能有助于预防神经炎症^[37-38]。此外，PI3K-Akt 通路还可与 ER α 相互调节，改善雌激素水平，从而在围绝经期抑郁症大鼠模型中发挥抗抑郁样作用^[39-40]。大脑是脂质含量最丰富的器官之一，鞘脂及其代谢酶在大脑神经元信息流和传导中发挥重要作用，可通过自分泌/旁分泌信号传导方式参与小胶质细胞的炎症反应的活化，诱发抑郁^[41-44]。Dectin-1 是第一个被发现的非 Toll 样受体，其可诱导抗炎因子的表达，并通过不依赖 Syk 的途径终止炎症过程，参与小胶质细胞的神经重塑，发挥抗抑郁和免疫调节作用^[45-46]。

综上所述，百合可能通过糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、神经活性配体-受体相互作用、PI3K-Akt 信号通路、鞘脂信号通路、松弛素信号通路、C 型凝集素受体信号通路、雌激素信号通路等参与免疫调节、抗炎；通过星形胶质细胞活化、神经元和突触重塑等相关途径发挥抗抑郁作用。

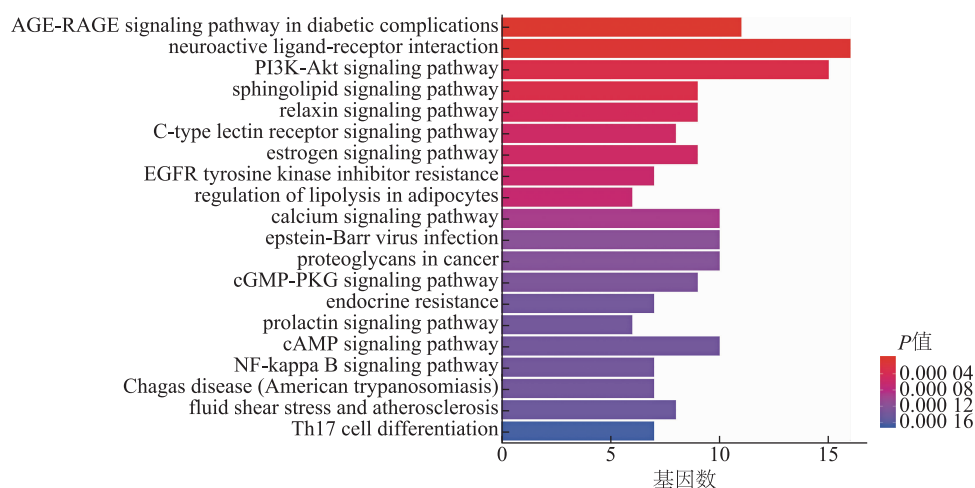
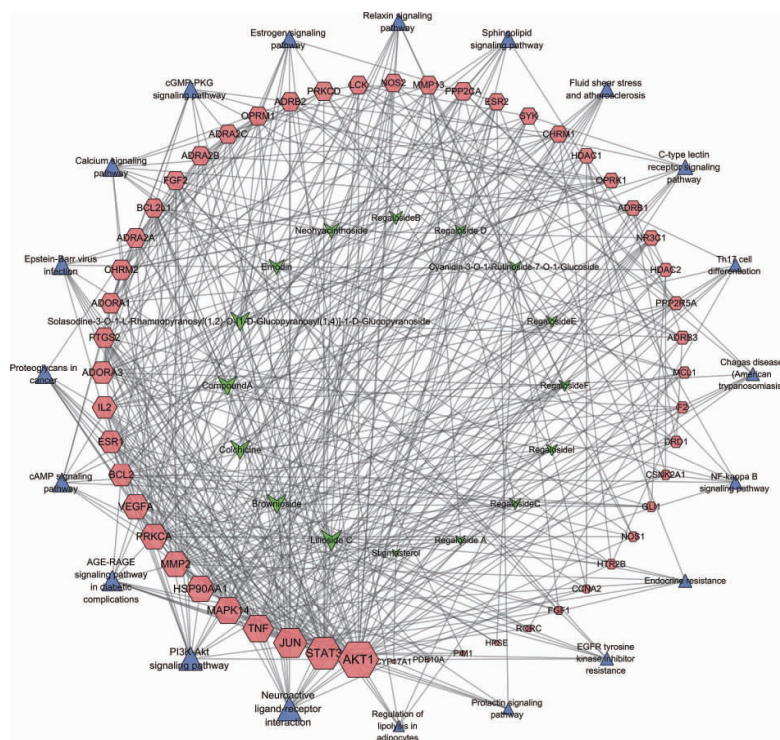


图 6 百合抗抑郁成分-靶点-通路网络的 KEGG 富集分析



注：粉色六边形代表靶点；绿色倒三角表示成分；蓝色三角形代表通路。

图7 百合抗抑郁成分-靶点-通路网络

表 4 基于 PPI 网络的 KEGG 分析

编号	通路名称	<i>P</i> 值	基因名称	基因数
hsa04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	1.83×10^{-6}	<i>TNF</i> 、 <i>PIM1</i> 、 <i>AKT1</i> 、 <i>PRKCD</i> 、 <i>PRKCA</i> 、 <i>JUN</i> 、 <i>BCL2</i> 、 <i>MMP2</i> 、 <i>STAT3</i> 、 <i>MAPK14</i> 、 <i>VEGFA</i>	11
hsa04080	neuroactive ligand-receptor interaction	6.31×10^{-5}	<i>CHRM2</i> 、 <i>CHRM1</i> 、 <i>NR3C1</i> 、 <i>ADORA3</i> 、 <i>ADORA1</i> 、 <i>ADRB1</i> 、 <i>ADRB2</i> 、 <i>DRD1</i> 、 <i>HTR2B</i> 、 <i>OPRM1</i> 、 <i>ADRA2C</i> 、 <i>F2</i> 、 <i>ADRA2B</i> 、 <i>ADRA2A</i> 、 <i>ADRB3</i> 、 <i>OPRK1</i>	16
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	2.79×10^{-4}	<i>CHRM2</i> 、 <i>CHRM1</i> 、 <i>FGF1</i> 、 <i>FGF2</i> 、 <i>AKT1</i> 、 <i>PRKCA</i> 、 <i>MCL1</i> 、 <i>IL2</i> 、 <i>BCL2</i> 、 <i>BCL2L1</i> 、 <i>HSP90AA1</i> 、 <i>SYK</i> 、 <i>PPP2R5A</i> 、 <i>PPP2CA</i> 、 <i>VEGFA</i>	15
hsa04071	sphingolipid signaling pathway	2.79×10^{-4}	<i>TNF</i> 、 <i>ADORA3</i> 、 <i>ADORA1</i> 、 <i>AKT1</i> 、 <i>PRKCA</i> 、 <i>BCL2</i> 、 <i>PPP2R5A</i> 、 <i>PPP2CA</i> 、 <i>MAPK14</i>	9
hsa04926	relaxin signaling pathway	4.33×10^{-4}	<i>AKT1</i> 、 <i>PRKCA</i> 、 <i>JUN</i> 、 <i>NOS1</i> 、 <i>MMP2</i> 、 <i>MMP13</i> 、 <i>NOS2</i> 、 <i>MAPK14</i> 、 <i>VEGFA</i>	9
hsa04625	C-type lectin receptor signaling pathway	5.34×10^{-4}	<i>TNF</i> 、 <i>AKT1</i> 、 <i>PRKCD</i> 、 <i>JUN</i> 、 <i>IL2</i> 、 <i>SYK</i> 、 <i>PTGS2</i> 、 <i>MAPK14</i>	8
hsa04915	estrogen signaling pathway	5.34×10^{-4}	<i>AKT1</i> 、 <i>PRKCD</i> 、 <i>JUN</i> 、 <i>ESR1</i> 、 <i>ESR2</i> 、 <i>BCL2</i> 、 <i>HSP90AA1</i> 、 <i>MMP2</i> 、 <i>OPRM1</i>	9

3 结论

本研究应用网络药理学揭示百合治疗抑郁的分子机制,分别构建“成分-靶点”“蛋白-蛋白”和“成分-靶点-通路”网络,发现百合抗抑郁的16个潜在活性成分、88个潜在靶点和10条生物通路。百合可通过多靶点(STAT3、Akt1、JUN、VEGFA、TNF、

APP、MAPK14、ESR1、AR 和 HSP90AA1 等)参与小胶质细胞激活或衰减及雌激素水平的调节,从而发挥抗抑郁作用,其中 AGE-RAGE 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、鞘脂信号通路、C 型凝集素受体信号通路、雌激素信号通路可能是其抗抑郁关键途径。百合类皂苷(王百合苷 A~F、I)可作用多个靶点,可能是百合及百合类复方抗抑郁成分群。本研究为百

合及其复方抗抑郁的临床应用提供了参考。

参考文献

- [1] 肖怡,赵志付. 中医对抑郁症的认识和治疗概述[J]. 北京中医药,2008,27(9):740-742.
- [2] 张联惠,闫瑞兰,黄斌强. 试论《金匱要略》对神志病的八种治法[J]. 武警医学院学报,1996,5(3):45-49.
- [3] 罗林明,裴刚,覃丽,等. 中药百合化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2017,28(6):824-837.
- [4] 王倩,范文涛. 基于网络药理学的“百合-熟地黄”药对治疗抑郁症机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2018,29(6):754-758.
- [5] 张颖,陈宇霞,陈朝,等. 百合抗抑郁的应用和研究现状[J]. 医学综述,2016,22(17):3438-3440.
- [6] 陈微,赵树华,许淑芬,等. 百合地黄汤治疗脑卒中后抑郁症的疗效观察[J]. 中国老年学杂志,2004,24(5):417-418.
- [7] 聂皎,李青,曹颖颖. 百合地黄汤治疗慢性心力衰竭合并抑郁状态33例[J]. 云南中医中药杂志,2010,31(11):41-42.
- [8] ZHANG G B, LI Q Y, CHEN Q L, et al. Network pharmacology: A new approach for Chinese herbal medicine research [J]. Evid-Based Complementary Altern Med, 2013,2013:1-9.
- [9] ZUO H L, ZHANG Q R, SU S B, et al. A network pharmacology-based approach to analyse potential targets of traditional herbal formulas: An example of Yu Ping Feng decoction[J]. Sci Rep,2018,8:11418.
- [10] PANG X C, KANG D, FANG J S, et al. Network pharmacology-based analysis of Chinese herbal Naodesheng formula for application to Alzheimer's disease[J]. Chin J Nat Med,2018,16(1):53-62.
- [11] XU H Y, ZHANG Y Q, LIU Z M, et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine[J]. Nucleic Acids Res,2019,47(D1):D976-D982.
- [12] LIU Z Y, GUO F F, WANG Y, et al. BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J]. Sci Rep,2016,6:21146.
- [13] KEISER M J, ROTH B L, ARMBRUSTER B N, et al. Relating protein pharmacology by ligand chemistry[J]. Nat Biotechnol,2007,25(2):197-206.
- [14] CAMPILLOS M, KUHN M, GAVIN A C, et al. Drug target identification using side-effect similarity [J]. Science, 2008,321(5886):263-266.
- [15] GFELLER D, GROSIDIER A, WIRTH M, et al. SwissTargetPrediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules[J]. Nucleic Acids Res,2014,42(W1):W32-W38.
- [16] 蔡萍,何丹,陈林,等. 高效液相色谱-飞行时间-串联质谱和随机森林算法的蜜炙百合与生百合指纹图谱研究[J]. 分析科学学报,2019,35(4):474-478.
- [17] YANG B, LIU Z R, WANG Q, et al. Pharmacokinetic comparison of seven major bioactive components in normal and depression model rats after oral administration of Baihe Zhimu decoction by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal,2018,148:119-127.
- [18] 张黄琴,严辉,钱大玮,等. 不同产地百合药材中8种活性成分的分析与评价[J]. 中国中药杂志,2017,42(2):311-318.
- [19] BRITES D, FERNANDES A. Neuroinflammation and depression; Microglia activation, extracellular microvesicles and microRNA dysregulation [J]. Front Cell Neurosci, 2015,9:476.
- [20] STEINER J, WALTER M, GOS T, et al. Severe depression is associated with increased microglial quinolinic acid in subregions of the anterior cingulate gyrus: Evidence for an immune-modulated glutamatergic neurotransmission? [J]. J Neuroinflammation,2011,8(1):94.
- [21] CALDEIRA C, OLIVEIRA A F, CUNHA C, et al. Microglia change from a reactive to an age-like phenotype with the time in culture[J]. Front Cell Neurosci,2014,8:152.
- [22] KREISEL T, FRANK M G, LICHT T, et al. Dynamic microglial alterations underlie stress-induced depressive-like behavior and suppressed neurogenesis[J]. Mol Psychiatry, 2014,19(6):699-709.
- [23] KWON S H, HAN J K, CHOI M, et al. Dysfunction of microglial STAT3 alleviates depressive behavior via neuron-microglia interactions[J]. Neuropsychopharmacology, 2017,42(10):2072-2086.
- [24] KANG J Q, CHONG Z Z, MAIESE K. Akt1 protects against inflammatory microglial activation through maintenance of membrane asymmetry and modulation of cysteine protease activity [J]. J Neurosci Res, 2003, 74(1):37-51.
- [25] NOWACKA M M, OBUCHOWICZ E. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in the central nervous system: A new element in the neurotrophic hypothesis of antidepressant drug action [J]. Neuropeptides, 2012, 46(1):1-10.
- [26] WU Q M, YANG X Y, ZHANG Y, et al. Chronic mild stress accelerates the progression of Parkinson's disease in A53T α -synuclein transgenic mice[J]. Exp Neurol,2016, 285:61-71.

- [27] WHARTON W, GLEASON C E, SANDRA O, et al. Neurobiological underpinnings of the estrogen-mood relationship [J]. Curr Psychiatry Rev, 2012, 8 (3): 247-256.
- [28] COHEN L S, SOARES C N, VITONIS A F, et al. Risk for new onset of depression during the menopausal transition[J]. Arch Gen Psychiatry, 2006, 63(4): 385.
- [29] RÓŻYCKA A, SŁOPIEN R, SŁOPIEN A, et al. The MAOA, COMT, MTHFR and ESR1 gene polymorphisms are associated with the risk of depression in menopausal women[J]. Maturitas, 2016, 84: 42-54.
- [30] HAN D, SCOTT E L, DONG Y, et al. Attenuation of mitochondrial and nuclear p38 α signaling: A novel mechanism of estrogen neuroprotection in cerebral ischemia[J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 400: 21-31.
- [31] 胡霖霖, 张永华. 百合逍遥散对抑郁模型大鼠行为学及HPA-HPT-HPG轴的影响[J]. 中医杂志, 2014, 55(19): 1676-1680.
- [32] 丁腾, 孙宇宏, 杜霞, 等. 经典名方百合地黄汤的化学成分与网络药理学研究[J]. 中草药, 2019, 50(8): 1848-1856.
- [33] GIBBS A A, BAUTISTA C E, MOWLEM F D, et al. Alpha 2B adrenoceptor genotype moderates effect of reboxetine on negative emotional memory bias in healthy volunteers[J]. J Neurosci, 2013, 33(43): 17023-17028.
- [34] 王博龙, 刘志强, 陈春林. 百合知母汤抗抑郁作用机制的网络药理学研究[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(12): 988-995.
- [35] ERGENC M, OZACMAK H S, TURAN I, et al. Melatonin reverses depressive and anxiety like-behaviours induced by diabetes: Involvement of oxidative stress, age, rage and S100B levels in the *Hippocampus* and prefrontal cortex of rats [J]. Arch Physiol Biochem, 2019, doi: 10. 1080/13813455. 2019. 1684954.
- [36] 鲍伟杰, 张文健, 许世清, 等. AGE-RAGE 系统在糖尿病神经病变中的作用[J]. 生理科学进展, 2014, 45(2): 137-139.
- [37] ZHAO M, ZHOU A, XU L, et al. The role of TLR4-mediated PTEN/PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway in neuroinflammation in hippocampal neurons [J]. Neuroscience, 2014, 269: 93-101.
- [38] JAYASOORIYA R G P T, LEE K T, KANG C H, et al. Isobutyrylshikonin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide and prostaglandin E₂ production in BV₂ microglial cells by suppressing the PI3K/Akt-mediated nuclear transcription factor- κ B pathway [J]. Nutr Res, 2014, 34(12): 1111-1119.
- [39] ZHANG F, FENG F, YANG P X, et al. Four-and-a-half-LIM protein 1 down-regulates estrogen receptor α activity through repression of AKT phosphorylation in human breast cancer cell [J]. Inter J Biochem Cell Biol, 44(2): 320-326.
- [40] LI H C, JING Y Q, HUI Y H, et al. PI3K-AKT signaling activation and icariin: The potential effects on the perimenopausal depression-like rat model [J]. Molecules, 2019, 24(20): 14-27.
- [41] NARAYAN S, THOMAS E A. Sphingolipid abnormalities in psychiatric disorders: A missing link in pathology? [J]. Front Biosci Landmark Ed, 2011, 16: 1797-1810.
- [42] MÜHLE C, REICHEL M, GULBINS E, et al. Sphingolipids in psychiatric disorders and pain syndromes [J]. Handb Exp Pharmacol, 2013, 216(2): 431-456.
- [43] NAYAK D, HUO Y, KWANG W X T, et al. Sphingosine kinase 1 regulates the expression of proinflammatory cytokines and nitric oxide in activated microglia [J]. Neuroscience, 2010, 166(1): 132-144.
- [44] ASSI E, CAZZATO D, DE P C, et al. Sphingolipids and brain resident macrophages in neuroinflammation: An emerging aspect of nervous system pathology [J]. Clin Devel Immunol, 2013, 4(4): 54-71.
- [45] SHAH V B, HUANG Y C, KESHWARA R, et al. Beta-glucan activates microglia without inducing cytokine production in Dectin-1-dependent manner [J]. J Immunol, 2008, 180(5): 2777-2785.
- [46] BAO H, RAN P, ZHU M, et al. The prefrontal dectin-1/AMPA receptor signaling pathway mediates the robust and prolonged antidepressant effect of proteo- β -glucan from Maitake [J]. Sci Rep, 2016, 6: 28395.

(收稿日期: 2020-03-05 编辑: 田苗)