

# 基于网络药理学探讨山茱萸治疗心源性休克的作用机制研究

杨润瑞<sup>1</sup>, 王 勇<sup>1,2</sup>, 段柳剑<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>中国科学院分子植物科学卓越创新中心中国科学院合成生物学重点实验室, 上海

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月24日; 发布日期: 2023年1月31日

## 摘要

目的: 探究山茱萸干预心源性休克的潜在机制。方法: 从TCMSP数据库获取山茱萸的有效成分和潜在靶点。收集GeneCards、OMIM、Drugbank和PharmGkb等数据库中的心源性休克相关基因。对两者取交集后找出发挥作用的化合成分和潜在靶点。对潜在靶点进行PPI、GO、KEGG分析, 探究山茱萸干预心源性休克的作用机制。结果: 通过TCMSP共找出山茱萸中的20个化学成分, 54个靶点。综合所有疾病数据库共获得492个心源性休克相关基因。两者取交集后得到15个山茱萸干预心源性休克潜在靶点。PPI结果显示, PTGS2、ADRB2、DRD1、ADRA1A、ADRA1B、CASP3之间有较强的相互作用关系。GO结果表明, BP与腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路、肾上腺素能受体信号通路、管径调节的调节有关。CC与膜筏、膜微域、突触前膜的内在成分有关。MF参与G蛋白偶联胺受体活性、儿茶酚胺结合、参与凋亡信号通路的半胱氨酸型肽酶活性有关。KEGG结果显示, 交集基因与钙信号通路、cGMP-PKG信号通路、唾液分泌、心肌细胞肾上腺素能信号通路、IL-17信号通路、组氨酸代谢、TNF信号通路有关。结论: 山茱萸可能通过调节PTGS2、ADRB2、DRD1、ADRA1A等靶点进而干预心源性休克患者的预后。

## 关键词

山茱萸, 心, 心源性休克, 缺血性损伤, 网络药理学

# Study on the Mechanism of the Action of *Cornus officinalis* in Treating Cardiogenic Shock Based on Network Pharmacology

Runrui Yang<sup>1</sup>, Yong Wang<sup>1,2</sup>, Liujuan Duan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Key Laboratory of Synthetic Biology, Chinese Academy of Sciences, Center for Excellence and Innovation of

\*通讯作者。

Molecular Plant Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai

Received: Dec. 28<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jan. 24<sup>th</sup>, 2023; published: Jan. 31<sup>st</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** To explore the potential mechanism of *Cornus officinalis* intervention in cardiogenic shock. **Methods:** The active components and potential targets of *Cornus officinalis* were obtained from the TCMSP database. Collect cardiogenic shock-related genes from GeneCards, OMIM, Drugbank and PharmGkb databases. Find out the active compounds and potential targets after the intersection of the two. PPI, GO and KEGG were analyzed for potential targets to explore the mechanism of the action of *Cornus officinalis* intervention in cardiogenic shock. **Results:** A total of 20 chemical constituents and 54 targets were identified from *Cornus officinalis* by TCMSP. A total of 492 cardiogenic shock-related genes were obtained from all disease databases. Fifteen potential targets of *Cornus officinalis* for cardiogenic shock intervention were obtained after the intersection of the two. PPI results showed that PTGS2, ADRB2, DRD1, ADRA1A, ADRA1B, CASP3 had a strong interaction relationship. GO results showed that BP was related to the activation of adrenergic receptor signal pathway by adenylate cyclase, the regulation of adrenergic receptor signal pathway and the regulation of pipe diameter. CC is related to the internal components of membrane raft, membrane microdomain and presynaptic membrane. MF is involved in G protein-coupled amine receptor activity, catecholamine binding and cysteine peptidase activity involved in the apoptosis signal pathway. KEGG results showed that the cross genes were related to calcium signaling pathway, cGMP-PKG signaling pathway, salivary secretion, adrenergic signaling pathway, IL-17 signaling pathway, histidine metabolism and TNF signaling pathway. **Conclusion:** *Cornus officinalis* may interfere with the prognosis of patients with cardiogenic shock by regulating PTGS2, ADRB2, DRD1, ADRA1A and other targets.

## Keywords

*Cornus officinalis*, Heart, Cardiogenic Shock, Ischemic Injury, Network Pharmacology

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

心源性休克(Cardiac Shock, CS)是由于心脏泵血功能障碍导致外周器官和组织灌注不足，引起全身微循环功能障碍的危急重症，归属于中医学“脱证”的范畴。患者主要症状为四肢冰凉、大汗少尿、血压降低、以及静息心率增快。其死亡率高，住院病死率高达 67% [1]，在临幊上引起了广泛的关注。目前，西医治疗手段主要有非药物疗法和药物疗法，无论是 ECMO、PCI、IABP 等非药物疗法，还是去甲肾上腺素、多巴胺等药物疗法，都有其局限性[2][3][4]，并未显著降低 CS 相关病死率。

山茱萸为山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis*)的干燥成熟果肉，其味酸、涩，性微温，归肝、肾经，具有补益肝肾、涩精固脱的功效[5]。据《医学衷中参西录》记载，清末名医张锡纯常用超大剂量山茱萸以回阳救逆，治疗脱证，其中单用山茱萸的病案就有 8 例，均疗效显著[6]。国医大师李士懋在临幊中多次以山茱萸治疗脱证，证实山茱萸在内科危急病证的抢救中有着确切良好的疗效[7]。虽然中医临幊

运用山茱萸治疗 CS 具有独到的见解和显著的临床疗效，但具体分子作用机制尚不清楚。

网络药理学是一门运用网络方法分析药物 - 疾病 - 靶点之间“多成分、多靶点、多途径”协同作用关系的药理学分支学科[8]，为研究传统中药与现代药理学之间的相互关系搭建了桥梁。本研究基于网络药理学构建“成分 - 靶点 - 通路 - 疾病”的多维网络，探索山茱萸治疗 CS 的有效分子靶点和潜在机制，以期对 CS 的临床治疗与药物研究提供一定的理论依据与新思路。

## 2. 方法

### 2.1. 山茱萸有效成分及靶点的筛选

采用 TCMSP 数据库(<https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>)与相关文献筛选山茱萸的有效成分及靶点。以生物利用度(Oral Bioavailability)和类药性(Drug-like Properties)作为参数，筛选“OB > 30%， DL > 0.18”的有效成分，获得相对应的作用靶点。利用 Uniport 数据库对靶点蛋白名称进行标准化处理。

### 2.2. CS 疾病靶点的获取

以“Cardiogenic Shock”为词条搜索以下数据库：GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)，Drugbank 数据库(<https://www.drugbank.ca/>)、PharmGkb 数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)，获得的疾病相关基因合并去重。

### 2.3. 山茱萸治疗 CS 的潜在靶点的获取

在 Venny 2.1 (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)在线作图工具平台上，分别导入山茱萸的有效成分靶点与 CS 相关靶点，绘制韦恩图，二者交集即为山茱萸治疗 CS 的潜在靶点。

### 2.4. “中药 - 有效成分 - 靶点” 网络的构建及主要有效成分筛选

将筛选得到的有效成分及作用靶点导入 Cytoscape 3.8.1 软件中，构建“中药 - 有效成分 - 靶点”网络。

### 2.5. PPI 蛋白互作网络的构建与分析

将山茱萸治疗 CS 的 15 个潜在作用靶点输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)，物种设定为“Homo sapiens”，最低阈值设为 $\geq 0.4$ ，获得蛋白与蛋白之间的相互作用关系。将数据保存为 TSV 格式，利用 Cytoscape 3.8.1 进行可视化处理绘制交集靶点 PPI 网络图。

### 2.6. 富集分析

运用“clusterProfiler” R 包进行基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。“clusterProfiler” R 包作为一种用户友好的富集工具，具有基于多种资源的集成基因聚类分析功能。GO 富集分析从生物学过程(Biological Process, BP)、分子功能(Molecular Function, MF)、细胞成分(Cellular Component, CC)三个维度进行分析；KEGG 数据库主要用于通路分析。当 P 值小于 0.05 时被认为具有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 中药化合成分及靶点的获取

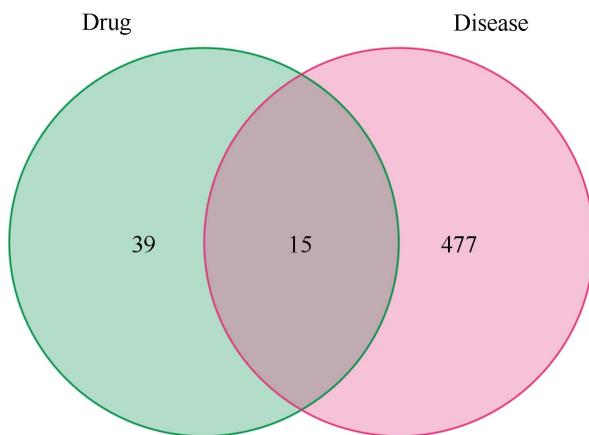
通过 TCMSP 数据库检索获得山茱萸 20 个化合成分和 54 个药物靶标。其中，药物靶点较多的化合成为 Stigmasterol、Beta-sitosterol、Tetrahydroalstonine、Hydroxyogenkwanin，这表明这些成分可能具有较强的药理作用。出现频率较多的靶点包括 NCOA2、PTGS2、PTGS1、ADRB2、CHRM3、PGRSCN5A、ADRA1B、CHRM1、HSP90AA1，这意味着这些靶点能被山茱萸内的多种成分干预。

### 3.2. 疾病靶点的获取

从 GeneCards、OMIM、Drugbank 和 PharmGkb 数据库中分别含有 CS 的相关靶点 317、193、31 和 49 个。去除重复靶点后共含有 492 个。

### 3.3. 山茱萸治疗 CS 的潜在靶点的获取

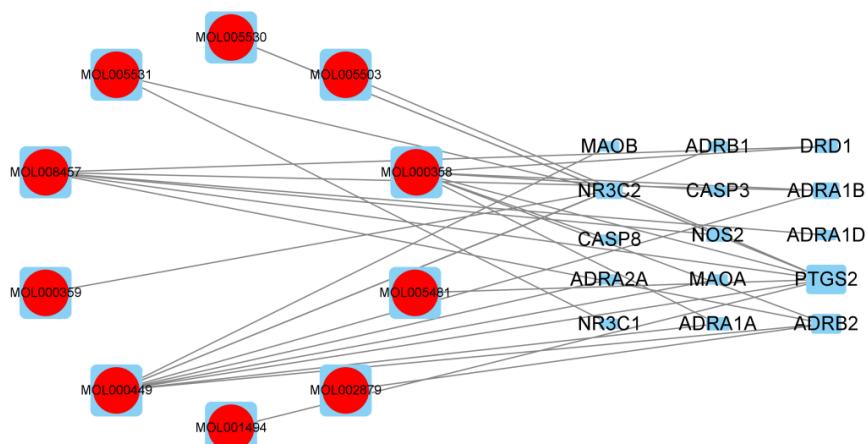
药物靶点与疾病靶点取交集后获得包括 PTGS2、ADRB2、DRD1、ADRA1A、ADRA1B、CASP3、CASP8NR3C2、ADRA2A、MAOB、MAOA、ADRB1、NOS2、NR3C1、ADRA1D 在内的 15 个交集基因(见图 1)。



**Figure 1.** The Venn diagram of drug target and disease target  
**图 1.** 药物靶点与疾病靶点的韦恩图

### 3.4. 绘制成分 - 靶点网络图

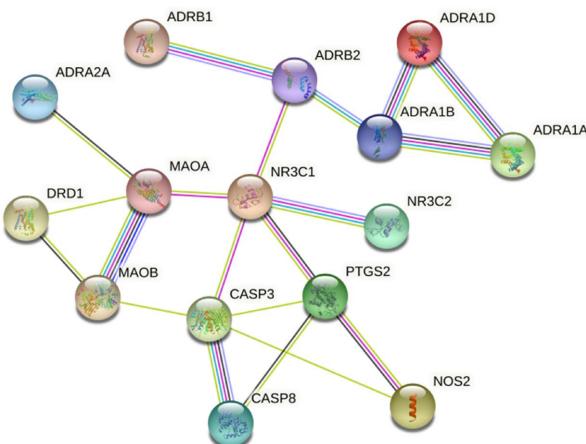
绘制成分 - 靶点网络图后发现，山茱萸调控 CS 的潜在成分主要为 Diop、beta-sitosterol、sitosterol 、Tetrahydroalstonine、Mandenol、Telocinobufagin、Cornudentanone、Hydroxygenkwanin。这些化合物可通过调节 PTGS2、ADRB2、DRD1、ADRA1A、ADRA1B、CASP3、CASP8NR3C2、ADRA2A、MAOB、MAOA、ADRB1、NOS2、NR3C1、ADRA1D 影响 CS 患者的预后(见图 2)。



**Figure 2.** The network diagram of “active ingredient-target”  
**图 2.** “有效成分 - 靶点” 网络图

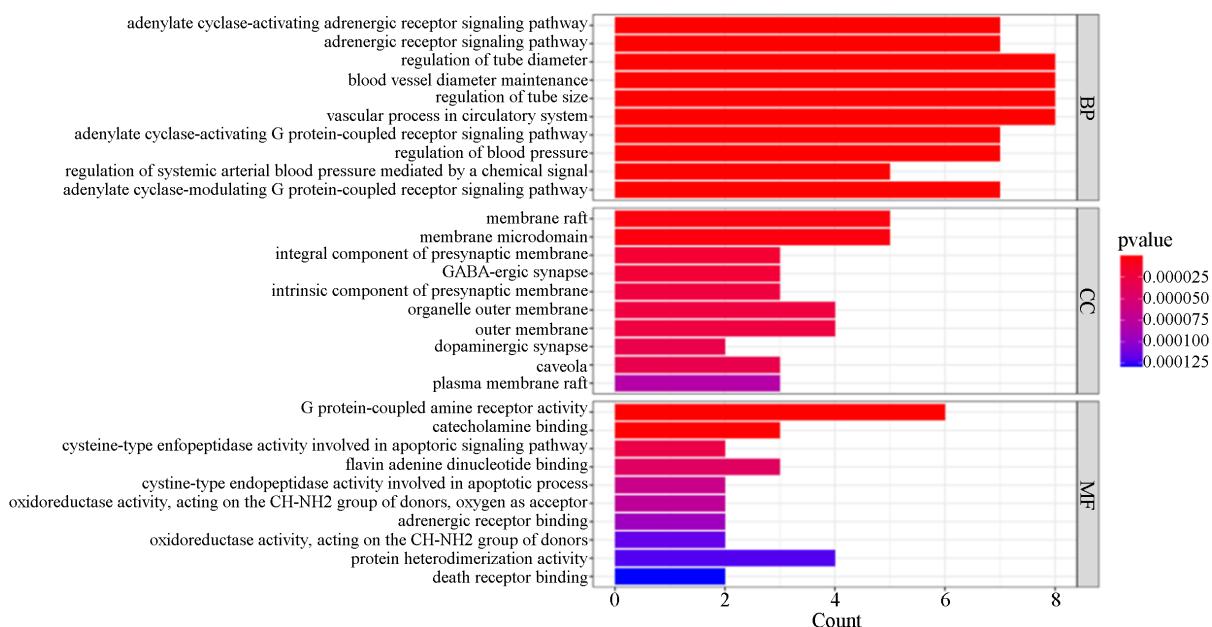
### 3.5. PPI 绘制

PPI 结果显示, PTGS2、ADRB2、DRD1、ADRA1A、ADRA1B、CASP3 之间有较强的相互作用关系(见图 3)。



**Figure 3.** Construction and analysis of PPI protein interaction network  
**图 3.** PPI 蛋白互作网络的构建与分析

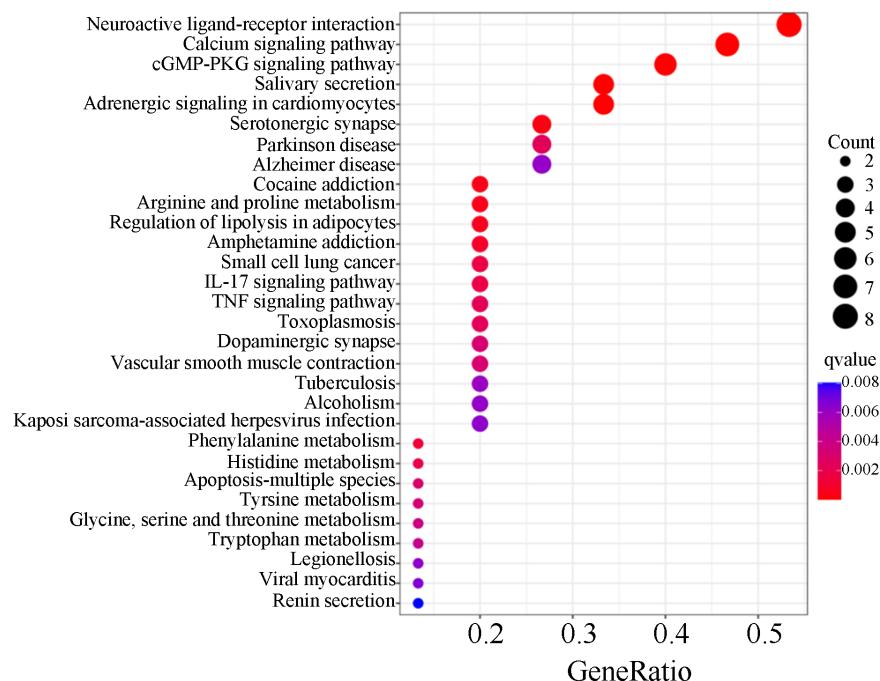
### 3.6. 富集分析



**Figure 4.** The bar chart of GO enrichment analysis  
**图 4.** GO 富集分析条形图

GO 结果表明(见图 4), BP 与腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路、肾上腺素能受体信号通路、管径调节、血管直径维持管尺寸的调节有关。CC 与膜筏、膜微域、突触前膜的整体成分、gaba 能突触、突触前膜的内在成分有关。MF 参与 G 蛋白偶联胺受体活性、儿茶酚胺结合、参与凋亡信号通路的半胱

氨酸型肽酶活性、黄素腺嘌呤二核苷酸结合、参与凋亡过程的半胱氨酸型肽酶活性有关。KEGG 结果显示，交集基因与神经活性配体 - 受体相互作用、钙信号通路、cGMP-PKG 信号通路、唾液分泌、心肌细胞肾上腺素能信号通路、血清素能突触、可卡因成瘾、精氨酸和脯氨酸代谢、脂肪细胞脂解调控、苯丙胺成瘾、苯丙氨酸代谢、小细胞肺癌、IL-17 信号通路、组氨酸代谢、TNF 信号通路有关(见图 5)。



**Figure 5.** The bubble diagram of KEGG enrichment analysis  
**图 5. KEGG 富集分析气泡图**

#### 4. 讨论

CS 是由于各种原因导致心排血量降低，导致终末器官灌注不足和缺氧为特征的一种临床综合征，若病人体克时间过长，则易出现全身炎症反应、酸中毒、肝肾功能损伤和心衰等症状[9]。因此，在恢复病人意识后，应注意缓解病人的微循环障碍，防止造成不可逆的器官损伤[10]。而中医理论将 CS 可归为“厥证”“脱证”等范畴。《伤寒论》中记载“阴阳气不相顺接”揭露了厥证的内涵和实质。《内经》中也对厥证的症状有诸多描述，如“暴厥者，不知与人言……津脱者，腠理开，汗大泄”。因此，厥证大多有发病急骤、病情危重、预后不良等临床特征。山茱萸是当前临床中常见的中药材，本身有着补益肝肾、平调阴阳之功效。其味酸性温。大能收敛元气，振作精神，固涩滑脱。因得木气最浓，收涩之中兼具条畅之性，故又通利九窍，流通血脉，治肝虚自汗，肝虚胁疼腰疼，肝虚内风萌动，且敛正气而不敛邪气，与其他酸敛之药不同，是以《神农本草经》谓其逐寒湿痹也。《神农本草经》谓主寒湿痹，诸家本草，多谓其能通利九窍，其性不但补肝，而兼能利通气血可知。故临床治疗厥脱等证山茱萸多用之。

本研究表明， $\beta$ -谷甾醇等化合物可干预 CS 的发病进展。其中， $\beta$ -谷甾醇是植物中天然存在的最丰富的植物甾醇之一，具有较强的抗炎作用[11]。研究表明， $\beta$ - 谷甾醇可降低免疫细胞 NO、ROS 的产生及 iNOS 等炎症介质的表达，并调节血浆总胆固醇、低密度脂蛋白、C 反应蛋白含量降低，血管细胞黏附因子的表达下调，阻止 THP-1 单核细胞与血管平滑肌细胞的黏附[12]。此外， $\beta$ - 谷甾醇可通过非竞争性抑制凝血酶的活性发挥抗凝作用，促进微循环的恢复[13]。这些证据表明， $\beta$ - 谷甾醇在改善微循环防止缺

血性损伤等方面具有较好的疗效。

蛋白互作分析表明, PTGS2、ADRB2、DRD1、ADRA1A、ADRA1B、CASP3、CASP8NR3C2、ADRA2A、MAOB、MAOA、ADRB1、NOS2、NR3C1、ADRA 等山茱萸治疗 CS 的靶基因相互间具有较强的相互作用。其中, PTGS2 是生成前列腺素的关键酶, 是血管在遭受再灌注损伤后引起炎症反应中的重要标志物[14]。ADRB1、ADRB2 为高频突变型血压受自主神经和体液因素调节相关基因, 其基因多态性的改变可通过调节肾上腺素  $\beta_1$ 、 $\beta_2$  受体, 可影响交感神经活性引起血流压力的异常[15] [16]。多巴胺 D1 受体(DRD1)通过抑制 NLRP3 炎性小体激活参与体内神经免疫系统紊乱所引发的炎症反应[17]。ADRA1A、ADRA2A、ADRA1B 等均属肾上腺类受体, 与机体内血管舒缩反应的发生有关[18]。CASP3 是凋亡相关蛋白酶在外界刺激的影响下激活促使细胞凋亡的发生[19]。NR3C1 是糖皮质激素受体基因, 可通过参与生长、代谢、炎症与应激反应等干预全身及心血管系统的生理作用[20]。故这些靶点均参与心源性休克的发生或机体的后续损伤。

KEGG 结果表明, 山茱萸治疗 CS 的靶基因多富集在钙信号通路、cGMP/PKG 信号通路、心肌细胞肾上腺素能信号通路、血清素能突触、IL-17 信号通路、组氨酸代谢、TNF 等信号通路。研究表明, 钙离子广泛分布于心肌细胞中, 但 SR 钙释放、钙回摄、钙储存等钙循环的紊乱极易引起心力衰竭或心源性休克。cGMP/PKG 信号通路在调节血管内皮细胞正常生理功能、维持血管通透性的过程中具有重要意义[21]。而 IL-17 与 TNF 等信号通路则与休克后的缺血性炎症损伤有关[22] [23]。故山茱萸可能通过调节这些信号通路进而改善患者的预后。

## 5. 结论

综上所述, 本研究运用网络药理学和生物信息学的方法在一定程度上揭示了山茱萸干预心源性休克的潜在机制。未来本课题组将持续关注这一学术领域, 开展相关体内体外实验, 对这一结果进行验证。总之, 山茱萸可能通过调节 PTGS2、ADRB2、DRD1 等靶点干预心源性休克。

## 基金项目

贵州省科技创新人才团队(黔科合平台人才[2020] 5010); 贵州省发改委工程研究中心建设项目(黔发改高技[2020] 896 号)。

## 参考文献

- [1] Jentzer, J.C., et al. (2019) Cardiogenic Shock Classification to Predict Mortality in the Cardiac Intensive Care Unit. *Journal of the American College of Cardiology*, **74**, 2117-2128. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.07.077>
- [2] 孙兵, 唐晓. 机械循环支持流感病毒相关心肌炎所致难治性心源性休克[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(8): 601.
- [3] Shah, A.H., Puri, R. and Kalra, A. (2019) Management of Cardiogenic Shock Complicating Acute Myocardial Infarction: A Review. *Clinical Cardiology*, **42**, 484-493. <https://doi.org/10.1002/clc.23168>
- [4] 刘东坚. 参附注射液用于急性心肌梗死伴心源性休克急救的效果[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(22): 31-32. <https://doi.org/10.16282/j.cnki.cn11-9336/r.2020.22.024>
- [5] 园丁. 滋补肝肾山茱萸[J]. 药物与人, 2006(12): 39.
- [6] 李德顺, 汤小虎. 张锡纯应用山茱萸特色分析[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(2): 164-165.
- [7] 王四平, 吕淑静, 吴中秋, 李士懋. 李士懋教授运用山茱萸治疗脱证验案 3 则[J]. 新中医, 2010, 42(4): 103-104. <https://doi.org/10.13457/j.cnki.jncm.2010.04.036>
- [8] Hopkins, A.L. (2007) Network Pharmacology. *Nature Biotechnology*, **25**, 1110-1111. <https://doi.org/10.1038/nbt1007-1110>
- [9] Thiele, H., Zeymer, U., Neumann, F.J., et al. (2012) Intraaortic Balloon Support for Myocardial Infarction with Cardiogenic Shock. *The New England Journal of Medicine*, **367**, 1287-1296. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1208410>

- [10] Reynolds, H.R. and Hochman, J.S. (2008) Cardiogenic Shock: Current Concepts and Improving Outcomes. *Circulation*, **117**, 686-697. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.613596>
- [11] Babu, S. and Jayaraman, S. (2020) An Update on  $\beta$ -Sitosterol: A Potential Herbal Nutraceutical for Diabetic Management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **131**, Article ID: 110702. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110702>
- [12] Koo, H.J., Park, H.J., Byeon, H.E., et al. (2014) Chinese Yam Extracts Containing  $\beta$ -Sitosterol and Ethyl Linoleate Protect against Athero-Sclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice and Inhibit Muscular Expression of VCAM-1 *in Vitro*. *Journal of Food Science*, **79**, H719-H729. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12401>
- [13] Gogoi, D., Pal, A., Chattopadhyay, P., et al. (2018) First Report of Plant-Derived  $\beta$ -Sitosterol with Antithrombotic, *in Vivo* Anticoagulant, and Thrombus-Preventing Activities in a Mouse Model. *Journal of Natural Products*, **81**, 2521-2530. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00574>
- [14] 侯文, 卢建森, 左怀文, 刘宏胜. 熊果酸通过调控 PTGS2 对小鼠肝缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 实用器官移植电子杂志, 2022, 10(4): 353-359.
- [15] Katsarou, M.S., Karathanasopoulou, A., Andri-Anopoulou, A., et al. (2018) Beta 1, Beta 2 and Beta 3 Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms in a Southeastern European Population. *Frontiers in Genetics*, **9**, 560-568. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00560>
- [16] 蒋玲, 王慧, 刘彦娜, 等. 原发性高血压病人 FMD、NMD 与血压、心率变异性之间的关系探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(8): 1472-1477.
- [17] Yan, Y., Jiang, W., Liu, L., et al. (2015) Dopamine Controls Systemic Inflammation through Inhibition of NLRP3 Inflammasome. *Cell*, **160**, 62-73. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.047>
- [18] Han, J., Zuo, J., Zhu, D. and Gao, C. (2018) The Correlation between SNPs within the Gene of Adrenergic Receptor and Neuropeptide Y and Risk of Cervical Vertigo. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **32**, e22366. <https://doi.org/10.1002/jcla.22366>
- [19] Lakhani, S.A., Masud, A., Kuida, K., et al. (2006) Caspases 3 and 7: Key Mediators of Mitochondrial Events of Apoptosis. *Science*, **311**, 847-851. <https://doi.org/10.1126/science.1115035>
- [20] Liu, B., et al. (2019) The Glucocorticoid Receptor in Cardiovascular Health and Disease. *Cells*, **8**, Article 1227. <https://doi.org/10.3390/cells8101227>
- [21] 董丹红, 庞玺倬, 李琳. PKG 信号通路在 ACS 患者 PCI 术后血管内皮损伤中作用[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(8): 27-32.
- [22] 杨尚伟, 王娜娜, 何文洁, 张馨予, 王若州, 井维尧, 袁博, 杜小正, 王金海. Th17 细胞及其相关效应因子在缺血性脑卒中炎性损伤中的作用研究概况[J]. 甘肃中医药大学学报, 2022, 39(3): 110-114. <https://doi.org/10.16841/j.issn1003-8450.2022.03.18>
- [23] 史冬, 赵建玉, 闫振宇, 李玺. NF- $\kappa$ B 调节 TNF- $\alpha$  表达减轻大鼠缺血性脑血管病脑组织损伤[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(10): 2403-2405.