

# 基于中药整合药理学计算平台的小柴胡汤抗脓毒症的分子机制研究<sup>Δ</sup>

杨清鑫<sup>1,2\*</sup>, 吕红君<sup>1</sup>, 王小博<sup>1</sup>, 任劲松<sup>2</sup>, 曾南<sup>1#</sup>(1.成都中医药大学药学院药理教研室, 成都 611137; 2.四川中医药高等专科学校药学院, 四川绵阳 621000)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1506-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.14

**摘要** 目的:探讨小柴胡汤抗脓毒症的物质基础和作用机制,为该方的临床应用和研发提供参考。方法:借助中药整合药理学计算平台(TCMIP)进行小柴胡汤化学成分分析、疾病靶标预测、基因功能和通路富集分析,并建立“中药-化学成分-核心靶标-关键通路”的多维网络关系,对小柴胡汤抗脓毒症的作用机制进行探讨。结果:预测小柴胡汤的224个化学成分(包括柴胡皂苷、人参皂苷、甘草苷等)与脓毒症相关的118个核心靶标之间有相互作用,包括直接靶标血小板因子(PF)4、髓样分化因子(MYD)88、Toll样家族受体(TLR)4、CD14、一氧化氮合酶(NOS)3等,其抗脓毒症作用机制涉及神经系统、内分泌、免疫应答、能量代谢等。结论:小柴胡汤基于“神经-内分泌-免疫-代谢”等从多层面、多途径、多通路实现其抗脓毒症的作用。本研究初步揭示了小柴胡汤抗脓毒症潜在作用机制,为该方进一步的药效物质基础和作用机制研究以及临床应用提供了理论依据。

**关键词** 小柴胡汤;中药整合药理学计算平台;脓毒症;作用机制;活性成分;靶点;通路分析

## Study on Molecular Mechanism of Xiaochaihu Decoction for Sepsis Based on TCMIP Platform

YANG Qingxin<sup>1,2</sup>, LYU Hongjun<sup>1</sup>, WANG Xiaobo<sup>1</sup>, REN Jinsong<sup>2</sup>, ZENG Nan<sup>1</sup>(1.Teaching and Research Section of Pharmacology, College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2.School of Pharmacy, Sichuan College of TCM, Sichuan Mianyang 621000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the substance basis and mechanism of Xiaochaihu decoction in treatment of sepsis, and to provide reference for clinical application and R&D of the decoction. METHODS: Based on TCM integrative pharmacology platform (TCMIP), chemical component analysis of Xiaochaihu decoction, disease target prediction, gene function and pathway enrichment analysis were all performed. The multi-dimensional network relationship of “TCM-chemical components-core targets-key pathways” was established, and the mechanism of Xiaochaihu decoction in treatment of sepsis was investigated. RESULTS: A total of 224 predicted chemical ingredients of Xiaochaihu decoction (including saikoside, ginsenoside, glycyrrhizin, etc.) interacted with 118 key targets about sepsis, including PF4, MYD88, TLR4, CD14, NOS3, etc. Its anti-sepsis mechanism involved nervous

- [6] 孙杰,王芎,郭斌,等.三棱黄酮体外诱导A549及MCF-7细胞S/G<sub>2</sub>周期停滞的研究[J].天然产物研究与开发, 2011,23(2):224-227,282.
- [7] 孙杰,王芎,郭斌,等.三棱黄酮抗HeLa宫颈癌:降低分裂期细胞比率诱导细胞凋亡[J].食品科学, 2011,32(1):210-214.
- [8] 冯娅茹,张文婷,李二文,等.三棱化学成分及药理作用研究进展[J].中草药, 2017,48(22):4804-4818.
- [9] 胡旭光,邓小慧,李淑贤,等.不同三棱提取物药理活性的比较研究[J].陕西中医, 2009,30(8):1091-1093.
- [10] 李可意,刘红梅.高效液相色谱法测定三棱超临界萃取物中芦丁的含量[J].时珍国医国药, 2008,19(3):684-685.
- [11] LEE SY, CHOI SU, LEE JH, et al. A new phenylpropaneglycoside from the rhizome of Sparganium stoloniferum[J]. *Arch Pharm Res*, 2010,33(4):515-521.
- [12] 余成浩,彭腾,杜洁,等.“三棱-莪术”组分配伍对大鼠子宫肌瘤的影响[J].中药药理与临床, 2014,30(3):104-107.
- [13] 李傲,徐晓玉,董伟,等.三棱丸抑制大鼠异位子宫内膜芳香化酶及环氧合酶-2表达的研究[J].中国中药杂志, 2008,33(11):1297-1301.
- [14] 沈东成,徐秋霞,余舒鹏,等.生三棱-生莪术组分配伍对卵巢囊肿大鼠雌激素受体的作用研究[J].江西中医药大学学报, 2017,29(2):68-69,103.
- [15] 王恒,李伟东.三棱薄层色谱鉴别及总黄酮的含量测定[J].成都中医药大学学报, 2016,39(1):10-14.

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81473399)

\* 博士研究生。研究方向:中药药效与毒理学。E-mail:243122521@qq.com

# 通信作者:教授,博士。研究方向:中药药效与毒理学。E-mail:zengnan966@126.com

(收稿日期:2018-11-09 修回日期:2019-03-28)

(编辑:唐晓莲)

system, endocrine system, immune response and energy metabolism, etc. CONCLUSIONS: Based on "neuronal-endocrine-immune-metabolism", Xiaochaihu decoction achieved its role in regulating sepsis by multi-level, multi-channel and multi-channel. This research may reveal the potential mechanism of Xiaochaihu decoction for sepsis, and the prescription provide theoretical basis for further experimental research of pharmacodynamic substance basis and mechanism of action.

**KEYWORDS** Xiaochaihu decoction; TCMIP; Sepsis; Mechanism of action; Chemical ingredients; Target; Pathway analysis

脓毒症(Sepsis)是机体对感染的反应失调而引起的器官功能障碍<sup>[1]</sup>,其早期表现为高炎症反应状态,但应用抗细胞因子和抗炎症介质的治疗在临床上基本无效<sup>[2]</sup>。研究表明,脓毒症在发生过程中促炎反应与抗炎反应同时存在,即机体在发生炎症反应综合征(SIRS)同时存在代偿性抗炎反应综合征(CARS)<sup>[3]</sup>,二者之间失衡导致的免疫紊乱可能是脓毒症的主要致病机制。脓毒症的发病率、病死率高<sup>[2]</sup>,亟需重视,故寻求新的治疗方法势在必行,调节免疫可能是其新的治疗方向<sup>[3]</sup>。现代药理学研究表明,小柴胡汤具有抗炎和增强人体免疫功能的作用,特别是对机体免疫反应具有双向调节性<sup>[4]</sup>,这为治疗脓毒症提供了一个新的契机。小柴胡汤方出自东汉张仲景的《伤寒论》,由柴胡、黄芩、人参、半夏、(炙)甘草、生姜、大枣7味药材组成,用于治疗伤寒少阳证。该方组方精良、配伍严谨,在长期的医疗实践中,被广泛应用于肝胆、消化、内分泌、血液、免疫等系统疾病的治疗<sup>[5-6]</sup>。

中药复方常用于中医临床治疗中,但其物质基础与机体活动以及疾病靶标之间的关系尚不明确,仍然是亟待突破的关键科学问题,应从多层次、多环节对中药复方与机体的相互作用关系进行系统解析。整合药理学作为中药现代化研究的新方法,为传统方剂的现代研究与应用提供了新的思路。中药复方的现代研究,需要加强整合,包括整体与局部的整合,宏观与微观的整合,体内 ADME (Absorption, distribution, metabolism, excretion)过程与活性评价的整合,计算与实验的整合,也就是进行整合药理学研究<sup>[7]</sup>。借助相关整合药理学的平台,可构建小柴胡汤的“多成分-潜在作用靶标-疾病靶标-相互作用网络”的多维网络关联性联系,为其后续的开发提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料来源

中药整合药理学计算平台[TCMIP, 网址: <http://www.tcmip.cn/>],共有4大数据库,包括中药方剂数据库、中药材数据库、中药成分数据库、疾病/症状靶标数据库;其中中药方剂数据库依据《中华人民共和国卫生部药品标准-中药成方制剂》,收录了由中医传承辅助系统整理的4 052种中成药,主要记载方剂名称、剂型、服用方法、方剂功效、治疗中医疾病名称、方剂组成(包括药材名称、用量、方剂地位)等信息;中药材数据库依据2015年版《中国药典》,收录了400余味常用中药材,包括每一味药材的中文名称、拉丁名称、性味归经、基原、产地、采集

期、功效等信息;中药成分数据库收录了中药材数据库中中药材所含的1.3万余个化学成分信息,包括成分名称、CAS号、中文名称、英文名称、分子式、相对分子量、理化性质、药物代谢性质、药理作用等;疾病/症状靶标数据库整合了Drugbank(<https://www.drugbank.ca/>)、OMIM(<http://www.omim.org/>)、HPO(<http://human-phenotype-ontology.github.io/>)、TTD(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、京都基因与基因组百科全书(KEGG,<http://www.kegg.jp/>)、基因本体(GO)数据库(<http://www.geneontology.org>)等数据库资源,提供治疗疾病或症状的药物名称、药物疗效和临床应用,以及药物靶标的基因和蛋白质相关信息,并可按照疾病或者症状关键词进行检索]由北京大品种联盟科技咨询有限公司搭建。

### 1.2 化学成分的搜集

在TCMIP中建立任务列表,在“中药信息”项中添加“半夏”“柴胡”“大枣”“甘草”“黄芩”“人参”“生姜”7味药材,搜集中药成分数据库中收录的相关化学成分,建立小柴胡汤的化学成分数据库。

### 1.3 候选靶标的搜集

进入TCMIP,在“疾病靶标信息”项中,输入脓毒症的英文“Sepsis”作为关键词进行检索,在疾病/症状靶标数据库中收集脓毒症的已知治疗靶标。所得结果作为小柴胡汤候选靶标来源。

### 1.4 共有靶标的预测

进入TCMIP,然后在“中药靶标预测”界面选取相似性分数 $\geq 0.8$ 的所有靶标作为小柴胡汤的潜在靶标。TCMIP可采用二维结构进行相似性搜索,并采用Tanimoto系数定义的相似度计量方法,通过与美国FDA批准的所有药物进行化学结构(“1.2”项筛选出的)相似性比对,进行小柴胡汤中半夏、柴胡、大枣、甘草、黄芩、人参、生姜7味药材的共有靶标预测,并进行共有靶标分析<sup>[8-9]</sup>。

### 1.5 蛋白质-蛋白质相互作用的网络建立

在TCMIP上进行“1.2”和“1.3”项下操作后可直接获得小柴胡汤治疗脓毒症的候选靶标与脓毒症靶标之间的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)信息。TCMIP主要整合了Reactome、HAPPI、HPRD、OPHID、InAct、PDZ-Base、MINT、DIP等数据库中的PPI<sup>[10]</sup>。此步骤可获取小柴胡汤作用候选靶标与脓毒症靶标之间的互作关系,进一步通过TCMIP的网络分析模块,计算小柴胡汤作



表3 小柴胡汤抗脓毒症20个候选靶标参与的通路信息

Tab 3 The pathway information of 20 candidate targets of Xiaochaihu decoction for sepsis

排名	条目	数目	P
1	Amino acid metabolism	89	$5.66 \times 10^{-34}$
2	Overview	68	$6.18 \times 10^{-32}$
3	Alzheimer's disease	67	$9.59 \times 10^{-32}$
4	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	63	$3.15 \times 10^{-31}$
5	Carbohydrate metabolism	94	$4.07 \times 10^{-31}$
6	Parkinson's disease	60	$6.33 \times 10^{-30}$
7	Oxidative phosphorylation	56	$4.63 \times 10^{-28}$
8	Energy metabolism	60	$9.54 \times 10^{-27}$
9	Carbon metabolism	47	$7.26 \times 10^{-25}$
10	Huntington's disease	62	$8.25 \times 10^{-25}$
11	Endocrine and metabolic diseases	69	$3.61 \times 10^{-23}$
12	Glycolysis / Gluconeogenesis	34	$6.57 \times 10^{-21}$
13	Propanoate metabolism	24	$1.09 \times 10^{-20}$
14	Pyruvate metabolism	27	$2.57 \times 10^{-20}$
15	Neurodegenerative diseases	80	$4.91 \times 10^{-20}$
16	Citrate cycle (TCA cycle)	22	$1.07 \times 10^{-18}$
17	Metabolism of cofactors and vitamins	54	$4.32 \times 10^{-17}$
18	Valine, leucine and isoleucine degradation	25	$4.82 \times 10^{-17}$
19	Glutamatergic synapse	39	$8.27 \times 10^{-16}$
20	Purine metabolism	46	$3.57 \times 10^{-14}$

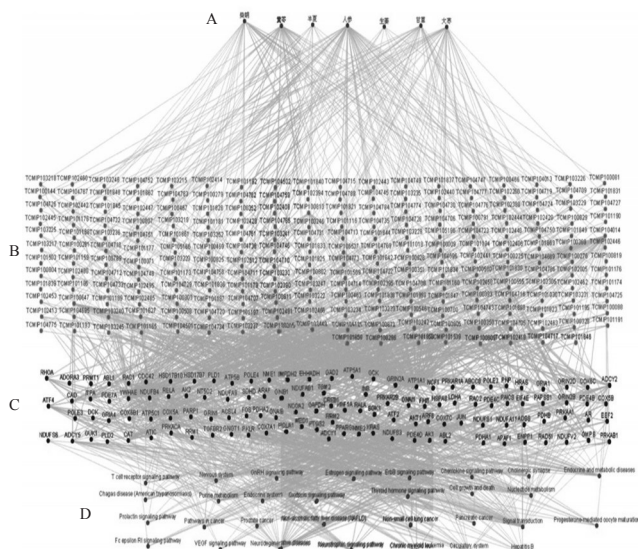
## 2.6 小柴胡汤抗脓毒症的关键靶标基因功能及通路富集分析

通过富集分析,针对小柴胡汤的关键潜在靶标,将P排名前20的通路显示出来。结果发现其基因功能涉及胞质溶胶、腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)结合、线粒体、线粒体基质、线粒体内膜、胞外体、蛋白激酶活性、辅酶I结合、三羧酸结合、蛋白结合、酶结合等多个与能量代谢相关的条目,推测脓毒症可能与人体能量代谢有较大关联。根据P值越小的前20排名得到小柴胡汤抗脓毒症的KEGG通路,结果显示,其主要作用通路有嘌呤代谢、核苷酸代谢、碳代谢、丙酮酸盐代谢、氨基酸代谢等多条代谢途径以及内分泌系统、雌激素受体信号转导通路、内分泌和代谢性疾病、趋化因子信号通路、促性腺激素释放激素信号转导通路、神经系统等。小柴胡汤抗脓毒症20个关键靶标的基因功能信息见表4,KEGG通路富集分析结果见表5(表中的“条目”只列出英文,中文略)。

## 3 讨论

### 3.1 小柴胡汤抗脓毒症的理论依据

小柴胡汤为汉代张仲景所创,疗效肯定,应用广泛,被历代奉为经典,目前仍是临床使用概率最高的方剂之一。该方是治疗少阳证的经典名方,少阳证的主要症状为往来寒热,而发热亦是脓毒症的主要临床症状,故利用该方治疗脓毒症具有一定的依据。文献记载,在小柴胡汤主治病症中,以发热最多<sup>[13]</sup>。有文献调查了1984—2002年间关于小柴胡汤治疗发热的报道<sup>[14]</sup>,显示小柴胡汤所治疗的发热以高热居多,适合疾病种类广泛,其中感染性发热较多,同时对非感染性发热(包括癌性发热、免疫系统引起的发热)和不明原因发热亦有效。实验



注:A.中药;B.化学成分;C.核心靶标;D.关键通路

Note: A. TCM; B. chemical component; C. core target; D. key pathway

pathway

图2 小柴胡汤抗脓毒症的“中药-化学成分-核心靶标-关键通路”多维网络关系

Fig 2 The multidimensional network relationship of “TCM-chemical component-core targets-key pathways” of Xiaochaihu decoction for sepsis

与的通路信息,发现其主要作用于能量代谢、氨基酸代谢和糖代谢。小柴胡汤20个候选靶标具有的基因功能信息见表2,小柴胡汤20个候选靶标参与的通路信息见表3(表中的“条目”只列出英文,中文略)。

表2 小柴胡汤抗脓毒症20个候选靶标具有的基因功能信息

Tab 2 The gene function information of 20 candidate targets of Xiaochaihu decoction for sepsis

排名	条目	数目	P
1	mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	45	$2.58 \times 10^{-61}$
2	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	44	$6.13 \times 10^{-61}$
3	Mitochondrion	175	$5.57 \times 10^{-60}$
4	mitochondrial respiratory chain complex I	43	$1.44 \times 10^{-56}$
5	oxidation-reduction process	117	$4.33 \times 10^{-54}$
6	mitochondrial matrix	88	$7.28 \times 10^{-53}$
7	mitochondrial respiratory chain complex I assembly	42	$5.93 \times 10^{-47}$
8	mitochondrial inner membrane	89	$1.01 \times 10^{-45}$
9	NAD binding	31	$5.90 \times 10^{-39}$
10	Cytosol	248	$6.41 \times 10^{-34}$
11	electron carrier activity	39	$5.03 \times 10^{-33}$
12	extracellular-glutamate-gated ion channel activity	18	$6.49 \times 10^{-27}$
13	tricarboxylic acid cycle	21	$8.79 \times 10^{-25}$
14	extracellular exosome	195	$1.34 \times 10^{-22}$
15	ionotropic glutamate receptor signaling pathway	18	$7.15 \times 10^{-22}$
16	voltage-gated sodium channel complex	14	$4.46 \times 10^{-21}$
17	ATP binding	126	$1.18 \times 10^{-20}$
18	aldehyde dehydrogenase (NAD) activity	15	$1.15 \times 10^{-19}$
19	myelin sheath	35	$1.56 \times 10^{-19}$
20	response to drug	51	$2.46 \times 10^{-19}$

表4 小柴胡汤抗脓毒症20个关键靶标具有的基因功能信息

Tab 4 The gene function information of 20 key targets of Xiaochaihu decoction for sepsis

排名	条目	数目	P
1	Cytosol	287	$5.09 \times 10^{-24}$
2	mitochondrion	142	$3.33 \times 10^{-46}$
3	mitochondrial matrix	69	$7.32 \times 10^{-39}$
4	ATP binding	144	$2.94 \times 10^{-38}$
5	myelin sheath	42	$1.52 \times 10^{-29}$
6	mitochondrial inner membrane	61	$8.42 \times 10^{-25}$
7	protein kinase activity	41	$7.00 \times 10^{-23}$
8	NAD binding	21	$1.30 \times 10^{-22}$
9	tricarboxylic acid cycle	19	$1.31 \times 10^{-22}$
10	response to drug	51	$1.44 \times 10^{-22}$
11	extracellular exosome	169	$5.67 \times 10^{-21}$
12	protein serine/threonine kinase activity	50	$7.18 \times 10^{-21}$
13	identical protein binding	67	$1.58 \times 10^{-20}$
14	protein binding	361	$1.28 \times 10^{-18}$
15	mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	20	$3.16 \times 10^{-18}$
16	Cytoplasm	239	$1.44 \times 10^{-17}$
17	platelet activation	27	$2.48 \times 10^{-17}$
18	enzyme binding	43	$7.11 \times 10^{-17}$
19	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	18	$6.05 \times 10^{-16}$
20	electron carrier activity	23	$1.12 \times 10^{-15}$

表5 小柴胡汤抗脓毒症20个关键靶标所参与的通路信息

Tab 5 The pathway information of 20 key targets of Xiaochaihu decoction for sepsis

排名	条目	数目	P
1	Purine metabolism	67	$2.24 \times 10^{-22}$
2	Nucleotide metabolism	68	$1.77 \times 10^{-23}$
3	Overview	57	$2.01 \times 10^{-23}$
4	Carbon metabolism	44	$8.27 \times 10^{-23}$
5	Neurodegenerative diseases	82	$9.72 \times 10^{-23}$
6	Endocrine system	120	$5.96 \times 10^{-21}$
7	Estrogen signaling pathway	39	$3.60 \times 10^{-19}$
8	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	48	$5.48 \times 10^{-19}$
9	Endocrine and metabolic diseases	61	$1.05 \times 10^{-18}$
10	Parkinson's disease	46	$1.81 \times 10^{-18}$
11	Carbohydrate metabolism	73	$1.97 \times 10^{-18}$
12	Chemokine signaling pathway	53	$3.92 \times 10^{-18}$
13	Huntington's disease	52	$4.40 \times 10^{-18}$
14	Hepatitis B	46	$4.62 \times 10^{-18}$
15	Pyruvate metabolism	24	$5.43 \times 10^{-17}$
16	Alzheimer's disease	47	$3.87 \times 10^{-16}$
17	Amino acid metabolism	62	$4.90 \times 10^{-16}$
18	GnRH signaling pathway	34	$5.21 \times 10^{-16}$
19	Nervous system	87	$8.43 \times 10^{-16}$
20	Prostate cancer	33	$1.27 \times 10^{-15}$

研究<sup>[15]</sup>也表明,小柴胡汤可明显降低肺炎链球菌感染模型动物死亡的发生率及内毒素致发热模型动物各时间段体温的升高水平。此外,少阳证多由免疫功能失调所致,而免疫功能失调也是脓毒症的主要致病机制之一<sup>[16]</sup>,表明小柴胡汤抗脓毒症也具有一定的理论依据。

### 3.2 小柴胡汤抗脓毒症的靶点预测

目前小柴胡汤抗脓毒症的应用效果尚未被发现,而

且其活性成分和作用机制的研究亦较为匮乏。本文借助整合药理学方法,从多成分、多靶标角度揭示该方抗脓毒症的潜在分子机制,为其临床开发提供参考。结果表明,小柴胡汤抗脓毒症主要与224个化学成分相关,其活性成分可针对多个靶点、多条通路发挥抗脓毒症的作用,作用可能与神经系统、嘌呤代谢、核苷酸代谢等代谢相关通路,T细胞信号通路、趋化因子信号通路、FcεRI信号通路等炎症相关通路,促性腺激素释放激素信号通路、雌激素受体信号传导通路、催乳素信号通路、催产素信号通路等与内分泌系统相关的通路及循环系统有关,上述靶点及通路与文献报道<sup>[17]</sup>中的脓毒症的发病机制研究具有一定的吻合性,涉及到脓毒症发病机制的各个环节,同时表明TCMIP在预测中药及复方作用机制方面具有较高的准确性。综上,本研究基于TCMIP进行预测,发现小柴胡汤抗脓毒症作用的发挥可能与调控神经系统、内分泌系统、免疫系统及各种代谢等密切相关,即其可从“神经-内分泌-免疫-代谢”等多个层面、多种途径来干预脓毒症,研究结果可为小柴胡汤抗脓毒症的相关研究提供一定参考,但该方抗脓毒症的作用机制研究以及临床开发仍需通过进一步的实验研究进行验证。此外,预测结果提示小柴胡汤在乙型肝炎、非酒精性脂肪肝、阿尔茨海默病等疾病治疗中存在一定的应用价值,与其现有的一些临床应用相关,且为小柴胡汤的后续研究与开发提供了借鉴。

### 3.3 小柴胡汤各单味中药抗脓毒症的分析

现代药理研究亦提示,小柴胡汤中的各味中药具有一定抗脓毒症作用,其中柴胡的主要化学成分包括皂苷类、挥发油类、黄酮类、糖类、香豆素类等,柴胡皂苷、挥发油是柴胡的主要活性成分,具有良好的抗炎作用,柴胡多糖通过对骨髓间充质细胞(BMCs)的免疫再分布的影响作用,能有效恢复脓毒症晚期的免疫平衡,具有很好的免疫调节作用<sup>[18]</sup>。黄芩具有清热燥湿、泻火解毒等功效,临床上广泛用于多种急性感染性疾病<sup>[19]</sup>;黄芩中含有黄酮类化合物、挥发油及多糖等各种成分,且具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗过敏<sup>[20]</sup>、抗内毒素等药理作用,黄芩苷是黄芩抗内毒素作用的有效成分之一<sup>[21]</sup>。脓毒症属中医“血证”范畴,病机多为气阴两虚、阳脱阴竭,故治疗以补气固脱为主。人参大补元气,对人体有滋补强壮作用<sup>[22]</sup>;人参中含有人参皂苷、多糖等多种化学成分,人参多糖作为人参发挥药效的活性成分,具有明显的增强免疫的作用;人参多糖主要通过阻止特异性免疫细胞凋亡和提高机体免疫防御来治疗脓毒症<sup>[23]</sup>;人参皂苷中的人参皂苷Rg<sub>5</sub>和人参二醇型皂苷(PDS)可改善脓毒症损伤<sup>[22]</sup>。甘草具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效,主要化学成分有三萜类、黄酮类、生物碱类及多糖类<sup>[24]</sup>;其三萜类成分甘草甜素作为高迁移率族蛋白B1(HMGB1)的抑制剂,可在脓

毒症模型小鼠中发挥有效作用<sup>[25]</sup>。甘草多糖对小鼠机体免疫有增强作用<sup>[26]</sup>。大枣含有大量成分复杂的糖类物质,大枣多糖具有增强免疫的作用<sup>[27]</sup>。生姜醇提物具有显著的抗肿瘤作用和免疫调节活性<sup>[28]</sup>。中医学认为脓毒症的病机还包括气机紊乱,临床常采用调气和胃来治疗脓毒症,半夏苦辛燥,具有散结除痞、降逆和胃的功效,故半夏在脓毒症的治疗上也具有较好的开发前景<sup>[29]</sup>。

### 3.4 小柴胡汤抗脓毒症的作用机制

脓毒症的发病机制较为复杂,包括炎症感染、免疫失调、凝血功能活化、代谢紊乱、神经-内分泌系统-免疫调节系统失调等,涉及机体的多系统、多器官的病理改变<sup>[30]</sup>。研究表明发生脓毒症时,血小板作为炎症反应、凝血激活和血栓形成的核心因素,其参与到脓毒症的各个环节。PF4作为血小板活化的标记物及活化后释放的含量最丰富的活性因子之一<sup>[31]</sup>,会通过正反馈加强炎症反应,并促进炎症介质的大量释放,同时,炎症介质又加重炎症反应,最终引起多器官功能障碍综合征<sup>[32]</sup>。研究发现TLRs介导的信号传导通路和脓毒症的发病有关,TLRs通过识别病原相关分子模式与细胞外受体结合启动炎症信号通路的激活<sup>[33]</sup>,TLR4是革兰氏阴性菌脂多糖(LPS)信号转导的主要受体,TLR4介导的信号转导通路是脓毒症中炎症因子产生的重要途径。研究表明,LPS首先与LPS结合蛋白(Lipopolysaccharide binding-protein, LBP)结合,再传递给CD14分子,形成LPS/LBP/CD14复合物,然后与TLR4/MD2相互作用<sup>[34]</sup>,TLR4被激活后通过MyD88依赖型信号转导途径和MyD88非依赖型信号通路引起炎症性细胞因子的高表达,并激活核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B),从而促进各种炎症介质大量分泌释放,如白细胞介素(IL)-1、IL-6、IL-8等,导致脓毒症的进一步加重<sup>[35]</sup>。其中共有靶标是缓激肽B2受体(BDKRB2),其作为G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)超家族成员,缓激肽(BK)可通过B2受体活化磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/AKT)通路<sup>[36]</sup>,而PI3K/AKT通路在炎症反应过程中发挥重要作用,发生脓毒症时PI3K/AKT活化并激活其下游的NLRP3炎症小体,使其释放量明显增加,从而加重机体的炎症反应<sup>[37]</sup>。本研究涉及的通路包括缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解等氨基酸代谢通路,碳水化合物代谢、碳代谢、糖酵解/糖异生、丙酸代谢、丙酮酸盐代谢、柠檬酸循环等糖代谢通路。脓毒症早期处于呼吸加快,ATP生成增加、激素分泌增多的高代谢状态,后期表现为ATP生成减少和激素分泌下调、代谢率降低、线粒体功能出现紊乱的状态,且研究发现线粒体利用氧的能力降低是脓毒症发病的关键<sup>[38]</sup>;亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸作为重要的生糖氨基酸都可以调节血糖水平,为机体活动提

供能量,脓症患者中高血糖问题普遍存在,血糖的高低不仅反映病情严重程度,也与病情预后关系密切。脓毒症发生时,巨噬细胞的有氧糖酵解为巨噬细胞快速释放大量的炎症介质和细胞因子提供能量,并促进乳酸的进一步聚集,这是介导巨噬细胞免疫功能过度激活的关键机制。由此,推测小柴胡汤是通过影响线粒体活动,影响机体能量代谢,保证线粒体有氧呼吸过程的正常进行,从而缓解脓毒症引起的微循环障碍及多器官功能衰竭;以及调节机体氨基酸代谢和糖代谢的紊乱,降低脓毒症患者的病死率及改善预后。

此外文献研究<sup>[39]</sup>表明,脓毒症发生时,因患者激素分泌呈昼夜节律性改变,继而内分泌代谢发生变化,脓毒症时过度炎症反应可抑制促肾上腺皮质激素(Adreno-cortico-tropic-hormone, ACTH)对肾上腺皮质醇的促分泌作用,引起“相对性肾上腺皮质功能不全”,最终导致组织损伤和器官功能障碍<sup>[39]</sup>。已有文献报道<sup>[40]</sup>表明,小柴胡汤对内分泌具有显著调节作用,具有类似激素的作用,能促进垂体-肾上腺-皮质功能,增加糖皮质激素的分泌及其与受体的结合,发挥间接的抗炎作用。而且,小柴胡汤对促肾上腺皮质激素(ATCH)的分泌具有双向调节作用,不仅能促进ATCH的分泌,也会抑制ATCH的分泌。由此推测小柴胡汤抗脓毒症可能与代谢、内分泌系统密切相关。亦可见小柴胡汤抗脓毒症是从多层次协同发挥作用,具有多靶点性,符合中医学的整体观。

总之,小柴胡汤抗脓毒症的相关通路涉及神经系统、内分泌系统、细胞生长与死亡、循环系统等多个方面,主要包括促性腺激素释放激素信号通路、雌激素受体信号传导通路、催乳素信号通路、催产素信号通路等与内分泌系统相关的通路;以及T细胞信号通路、趋化因子信号通路、Fc $\epsilon$ RI信号通路等炎症相关通路,以及嘌呤代谢、核苷酸代谢等代谢相关通路;以及血管内皮细胞生长因子信号通路等循环系统相关通路;以及内分泌和代谢性疾病、神经退行性疾病、前列腺癌、乙型肝炎等疾病相关通路。不同化学成分的作用靶点分布于不同的信号通路,相互协调,再次表明小柴胡汤抗脓毒症的作用发挥与调控内分泌系统、免疫系统、代谢密切相关,小柴胡汤可以从“神经-内分泌-免疫-代谢”等多层面、多途径、多通路来干预脓毒症。

### 参考文献

- [1] GOTTIS JE, MATTHAY MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management[J]. *BMJ*, 2016. DOI: 10.1136/bmj.i1585.
- [2] 闫圣涛, 李红伟, 张国虹, 等. 脓毒症发病机制及标志物新进展[J]. *中日友好医院学报*, 2014, 28(6): 355-357.
- [3] 姚咏明, 张卉, 李春盛. 脓毒症治疗新策略: 免疫调理研究

- 新认识[J].医学与哲学,2017,38(2):28-31.
- [4] 金方明,方泰惠,周玲玲.小柴胡汤的免疫药理学研究进展[J].陕西中医,2004,25(1):92-93.
- [5] 吴贵娥.小柴胡汤古代运用考探[D].北京:北京中医药大学,2005.
- [6] 曹秋梅,许周洁,聂源,等.浅析小柴胡汤近十年药理研究与临床应用[J].亚太传统医药,2017,13(2):76-77.
- [7] 许海玉,杨洪军.整合药理学:中药现代研究新模式[J].中国中药杂志,2014,39(3):357-362.
- [8] 薛潇春,胡晋红.网络药理学研究方法与应用进展[J].药学实践杂志,2015,33(5):401-405.
- [9] 许海玉,刘振明,付岩.中药整合药理学计算平台的开发与应用[J].中国中药杂志,2017,42(18):3633-3638.
- [10] ZHANG Y, MAO X, SU J. A network pharmacology-based strategy deciphers the underlying molecular mechanisms of Qixuehe capsule in the treatment of menstrual disorders[J]. *Chin Med*, 2017, 12(1):23-39.
- [11] YU G, ZHANG Y, REN W. Network pharmacology-based identification of key pharmacological pathways of Yin-Huang-Qing-Fei capsule acting on chronic bronchitis[J]. *Int J Chronic Obstr*, 2017, 12(2):85-94.
- [12] BHOLA PD, LETAI A. Mitochondria-judges and executioners of cell death sentences[J]. *Molecular Cell*, 2016, 61(5):695-704.
- [13] 赵裕沛,王兴华.小柴胡汤临床应用近况[J].甘肃中医,2006,19(12):42-44.
- [14] 张玲玲,史欣德.小柴胡汤治疗发热的调查分析[J].辽宁中医学院学报,2003,5(4):311-313.
- [15] 钱妍,吴整军.小柴胡汤抗感染与解热作用的实验研究[J].中华医院感染学杂志,2008,18(4):576-578.
- [16] 王丽敏,张丽艳,谷松.解析小柴胡汤“和法”调节自身免疫性疾病机制[J].中华中医药学刊,2018,36(1):218-220.
- [17] 卢幼然,狄浩然,丁军颖.脓毒症免疫失衡机制及中医治疗[J].世界中医药,2018,13(9):2362-2366.
- [18] 颜美玲,杨柳,侯阿娇.柴胡化学成分及药理作用研究进展[J].中医药信息,2018,10(5):103-109.
- [19] 袁晓雯,姜楠,陈冰.单味中药治疗脓毒症的研究进展[J].中国中医基础医学杂志,2017,23(5):736-739.
- [20] 吉晓丽.黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J].中医临床研究,2017,9(9):128-129.
- [21] 雷玲,胡竟一,余悦.黄芩的抗内毒素作用研究[J].中药药理与临床,2007,23(3):46-47.
- [22] 袁晓雯,姜楠,陈冰.单味中药治疗脓毒症的研究进展[J].中国中医基础医学杂志,2017,23(5):736-739.
- [23] 吴晓民,赵丹,朱艳萍.人参多糖的药理作用与临床研究进展[J].人参研究,2016,28(5):40-46.
- [24] 吴宗耀,牛李义,梁喜爱.甘草化学成分及药理作用分析[J].河南中医,2010,30(12):1235-1236.
- [25] 丁岗强,康谊,刘俊平.甘草甜素对脓毒症小鼠急性肺损伤保护作用的实验研究[J].中华医院感染学杂志,2014,23(19):4742-4744.
- [26] 李发胜,赵珏,池晓峰.甘草多糖对小鼠免疫调节作用的影响[J].中国中医药信息杂志,2009,16(6):35-36.
- [27] 吴国泰,何小飞,牛亭惠.大枣的化学成分、药理及应用[J].中国果菜,2016,36(10):25-28.
- [28] 高群.生姜醇提取物抗肿瘤作用的实验研究[J].科技信息,2010,7(16):784-788.
- [29] 靳晓琪,黄传奇,张耕.半夏原植物性状、功效、禁忌、毒性以及炮制工艺考证[J].中国药房,2018,29(23):3289-3292.
- [30] 师灵灵,韩艳秋,任慧娟.脓毒症的病理生理机制研究进展[J].中华医院感染学杂志,2016,26(8):1914-1916.
- [31] 赵战芝,何钊,唐雅玲. PF4通过NF- $\kappa$ B上调巨噬细胞MMP-9表达[J].中南医学科学杂志,2015,43(1):9-13.
- [32] 林幼萍,冯茹.脓毒症患者血小板参数检测的临床意义[J].内科急危重症杂志,2013,19(3):163-164.
- [33] 张建平,苏云,张立宏.脓症患者TLR-4、TIRAP/Mal基因多态性的探讨[J].临床医药文献电子杂志,2018,5(42):36-42.
- [34] 李炯,叶圳,顾宏刚.锦红汤对脓毒症大鼠小肠TLR4及其信号通路表达的影响[J].河南中医,2018,38(5):690-693.
- [35] 李淑芳,汪海慧,闫国良.抗炎合剂对脓毒症急性肺损伤TLR4/MyD88信号通路的干预研究[J].上海中医药杂志,2017,51(1):177-180.
- [36] 傅聪.缓激肽B2受体信号通路抑制氧化应激诱导的内皮祖细胞和心脏干细胞衰老的机制研究[D].南京:东南大学,2016.
- [37] 杨蕊,许华,王兵. PI3K/AKT信号通路在大鼠腹腔感染性脓毒症急性肾损伤中的作用[J].天津医药,2018,46(6):581-584.
- [38] 刘艺欣,贾宝辉,黄兆豪,等.脓毒症中的先天免疫、能量改变与自噬[J].南昌大学学报(医学版),2018,58(2):92-96.
- [39] 翟建华,么颖,刘晨燕.脓症患者内分泌代谢变化[J].继续医学教育,2018,3(1):98-100.
- [40] 王纓,朱建军,曾晓辉.小柴胡汤免疫-内分泌调节药理研究概述[J].辽宁中医杂志,2008,35(12):1949-1950.

(收稿日期:2018-12-12 修回日期:2019-01-28)

(编辑:刘 萍)