

基于网络药理学探究黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的作用机制*

陈红阳¹, 杨志华^{1,2}, 贾壮壮^{1,2}, 刘震³, 郭利平^{1,4△}

(1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381;
3. 包头市中心医院, 内蒙古 包头, 014040; 4. 天津市中医药研究院附属医院, 300120)

摘要:目的 基于网络药理学研究益气活血药对黄芪-川芎治疗缺血性脑卒中的作用机制。方法 从 TCMSP 数据库筛选黄芪、川芎活性化合物及靶点,在 Uniprot 数据库转化为基因靶点,通过 Cytoscape 3.8.0 构建化合物-靶点网络。在 OMIM、DisGeNET、TTD 数据库及文献报道收集缺血性脑卒中的治疗靶点,构建疾病-靶点网络。将化合物-靶点网络与疾病-靶点网络结合,筛选黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中潜在核心靶点。利用 STRING 平台,获得核心靶点 PPI 网络。将核心靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 富集分析。结果 筛选出黄芪-川芎药对的活性化合物 17 个,潜在核心靶点 18 个,包括 IL-1 β 、NOS3、CASP3、BDNF 等,可通过调节 PI3K/AKT 信号通路、MAPK 信号通路、TLR 信号通路、NF- κ B 信号通路等多个途径,参与调节 NO 生物合成、细胞凋亡、炎症及免疫反应、血管生成及器官再生等机制,从而改善缺血性脑卒中病理损伤。结论 通过网络药理学揭示了益气活血药对黄芪-川芎"多组分、多靶点、多机制"治疗缺血性脑卒中的作用特点,为其深入研究提供了科学依据。

关键词: 网络药理学;黄芪-川芎;缺血性脑卒中

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2021)01-0088-10

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.01.011

Pharmacological Mechanism of Hedysarum Multijugum Maxim.and Chuanxiong Rhizoma for Treatment of Cerebral Ischemic Stroke Based on Network Pharmacology

CHEN Hongyang¹, YANG Zhihua^{1,2}, JIA Zhuangzhuang^{1,2}, LIU Zhen³, GUO Liping^{1,4}

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300381, China;

3. Baotou Central Hospital, Baotou 014040, China;

4. Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Tianjin 300120, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the mechanism of Hedysarum Multijugum Maxim.and Chuanxiong Rhizoma for ischemic stroke based on network pharmacology. **Methods** The active chemical components and targets of Hedysarum Multijugum Maxim. and Chuanxiong Rhizoma were obtained from TCMSP database. Targets were converted to genes by Uniprot database. Components-targets network were established by Cytoscape 3.8.0. The targets of ischemic stroke were obtained from OMIM、DisGeNET、TTD database and literatures, which constituted disease-targets network. Components-targets network and disease-targets network were merged and the potential core targets were predicted. Potential core targets were entered into the STRING platform to obtain a protein-protein interaction (PPI) network. Finally, GO functional enrichment analysis and the KEGG enrichment analysis of potential core targets were calculated. **Results** There are 18 predicted core targets for 17 compounds and the core targets included IL1B、NOS3、CASP3、BDNF, which may via regulating PI3K/AKT signaling pathway, MAPK signaling pathway, TLR signaling pathway, NF- κ B signaling pathway, etc, affected regulations of NO biosynthesis, apoptosis, inflammation and immune response, angiogenesis and organ regeneration, etc, so as to participate in a series of physiological and pathological processes of ischemic stroke. **Conclusion** Network pharmacology exhibited multi-component, multi-target, and multi-mechanism biological effects of Hedysarum Multijugum Maxim and Chuanxiong Rhizoma, which provides a scientific basis for further study.

KEY WORDS: network pharmacology; Hedysarum Multijugum Maxim.and Chuanxiong Rhizoma; cerebral ischemic stroke

收稿日期: 2021-01-13

* 基金项目: 天津市科技计划项目(15ZXLCY00020);内蒙古自治区自然基金项目(2020BS08012)

第一作者简介: 陈红阳(1990-),女,在读博士研究生,研究方向:中医药治疗心脑血管疾病研究。

△通信作者: 郭利平, E-mail: lpgtjn@163.com

缺血性脑卒中中以局部脑组织血液循环障碍为主要病理表现,通常由脑血管阻塞、脑血流灌注不足、氧合受损等引起,进而导致机体多重功能损伤^[1],具有高发病率、高致残率和高死亡率的特点,给家庭及社会经济带来沉重负担^[2]。目前,缺血性脑卒中的首选治疗策略是血管再通治疗,但由于其治疗时间窗有限,且易发生出血转化、脑缺血再灌注损伤等并发症,因而影响其临床疗效^[3-4]。

中药具有多组分、多靶点、多机制等特点,在治疗缺血性脑卒中这一发病机制复杂的疾病中具有独特优势。缺血性脑卒中属于中医“中风”范畴,气虚血瘀是其主要病机特点,贯穿于疾病发生发展的各个阶段^[5]。黄芪-川芎作为益气活血常用药对,广泛应用于气虚血瘀型心脑血管疾病的临床治疗。前期研究表明^[6],黄芪-川芎是近现代名老中医治疗缺血性脑卒中中使用频率最高的益气活血药对。黄芪味甘性温,归肺、脾经,具有益气扶正、利水消肿、升阳固脱等功效,为补气药之长;川芎味辛性温,气善走窜,既能上行达于巅顶,又能下行至于血海,活血祛瘀作用广泛。二者配伍共奏益气活血之功,与缺血性脑卒中气虚血瘀的主要病机特点相契合。网络药理学是系统生物学的重要组成部分,可从多个角度阐释药物-靶点-疾病间的系统关联,与中医学整体观念的基本特点相吻合,为研究作用成分繁多、分子机制复杂的中药提供可靠的方法^[7]。本文基于网络药理学研究黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的作用机制,以期为后续进一步深入研究提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 黄芪、川芎活性化合物遴选及数据库构建 通过西北农林科技大学生命科学院研发的 TCMSP 数据库(<http://tcmsp.w.cn/tcmssp.php>)对黄芪、川芎所含的化合物进行查询汇总,设置参数 OB $\geq$ 30%、DL $\geq$ 0.18、Caco-2 $\geq$ -0.4、BBB $\geq$ -0.3、HL $\geq$ 4 h,通过 ADME 模块对查询到的化合物进行遴选,构建黄芪、川芎活性化合物数据库。

1.2 药物-靶点网络构建 通过黄芪、川芎活性化合物成分筛选出对应的作用靶点并剔除重复蛋白,经 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)将蛋白靶点转化为基因靶点,进行靶点基因的标准化处理,通过 Cytoscape 3.8.0 构建黄芪、川芎药物-靶点网络。

1.3 疾病-靶点网络与药物-靶点网络融合 通过 OMIM 数据库(<http://www.omim.org/>)、DisGeNET 数据库(<http://www.disgenet.org/>)、TTD 数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)及文献报道收集缺血性脑卒中治疗的相关靶点,构建缺血性脑卒中相关靶点数据库,并与药物-靶点网络进行融合,筛选出黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点。

1.4 潜在核心靶点 PPI 蛋白互作网络分析 通过 STRING 平台(<https://string-db.org/>),建立黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中潜在核心靶点的蛋白互作网络(protein-protein interaction network, PPI network),将各个潜在核心靶点之间互相作用可视化。

1.5 GO 富集分析及 KEGG 信号通路富集分析 通过 DAVID 数据库(<https://david.ncicrf.gov/>)、KEGG 数据库(<https://www.kegg.jp/>)及 Cytoscape 3.8.0 软件中 Glue GO 插件及 cytoHubba 插件,进行 Biological Process、Cellular Component、Molecular Function 功能 GO 富集分析及 KEGG 通路富集分析,综合预测黄芪-川芎药对与缺血性脑卒中靶点的生物学作用及调控通路。

2 结果

2.1 黄芪、川芎活性化合物信息 通过对黄芪、川芎所含化合物进行 ADME 筛选,剔除重复化合物与缺少靶点的化合物,最终共得出 17 个活性成分,其中黄芪 11 个,川芎 6 个。见表 1。

2.2 药物-靶点调控网络 通过对黄芪 11 个化合物进行分析,删除单味药内不同化合物的重复靶点,获得黄芪对应潜在靶点 93 个;对川芎 6 个化合物进行分析,删除单味药内不同化合物的重复靶点,获得川芎对应潜在靶点 58 个;删除二味药物的重复靶点以后,获得黄芪、川芎药对潜在治疗靶点 97 个。“药物-靶点”调控网络见图 1。

2.3 黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点 以“Ischemic Stroke”为关键词在 OMIM、DisGeNET、TTD 数据库及文献报道中收集缺血性脑卒中治疗的相关靶点 393 个,构建“疾病-靶点”调控网络,见图 2;将“疾病-靶点”调控网络与“药物-靶点”调控网络对应的靶点进行比对,共筛选出 18 个重合靶点。筛选出的 18 个重合靶点即可能是黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点,见表 2。

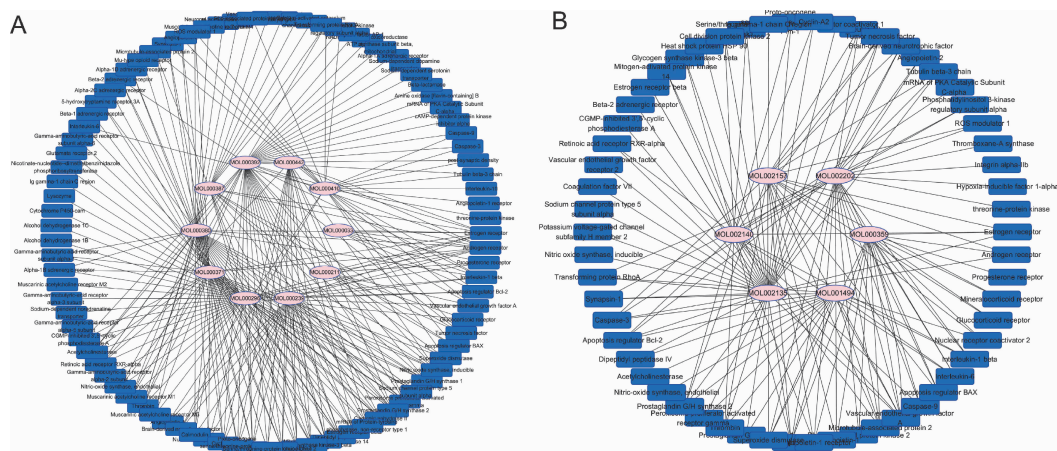
表 1 黄芪、川芎活性化合物信息

MOL ID	Molecule Name	Herb
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	黄芪
MOL000211	Mairin	黄芪
MOL000239	Jaranol	黄芪
MOL000296	hederagenin	黄芪
MOL000371	3,9-di-O-methylnissolin	黄芪
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	黄芪
MOL000387	Bifendate	黄芪
MOL000392	formononetin	黄芪
MOL000398	isoflavanone	黄芪
MOL000410	Astragaloside IV	黄芪
MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxyptero-car-pene	黄芪
MOL000359	sitosterol	川芎
MOL001494	Mandenol	川芎
MOL002135	Myricanone	川芎
MOL002140	Perlolyrine	川芎
MOL002202	tetramethylpyrazine	川芎
MOL002157	wallichilide	川芎

表 2 黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点

Number	Protein name	Gene name
1	interleukin 1 beta	IL1B
2	interleukin 10	IL10
3	tumor necrosis factor	TNF
4	cyclin dependent kinase inhibitor 2A	CDKN2A
5	interleukin 6	IL6
6	angiopoietin 1	ANGPT1
7	angiopoietin 2	ANGPT2
8	estrogen receptor 1	ESR1
9	integrin subunit alpha 2b	ITGA2B
10	vascular endothelial growth factor A	VEGFA
11	nitric oxide synthase 3	NOS3
12	caspase-3	CASP3
13	BCL2 related protein A1	BCL2A1
14	coagulation factor VII	F7
15	androgen receptor	AR
16	estrogen receptor 2	ESR2
17	peroxisome proliferator activated receptor gamma	PPARG
18	brain derived neurotrophic factor	BDNF

2.4 潜在核心靶点 PPI 蛋白互作网络 将黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点导入 STRING 平台,得到靶点蛋白互作 PPI 网络,见图 3。该网络包括 18 个节点、84 条边,平均度值为 9.33,其中节点为靶点蛋白,边为各蛋白之间相互作用关系,节点连接边数越多代表其在网络中的作用越重要。



注:A.黄芪活性化合物-靶点调控网络;B.川芎活性化合物-靶点调控网络

图 1 黄芪、川芎药物-靶点调控网络

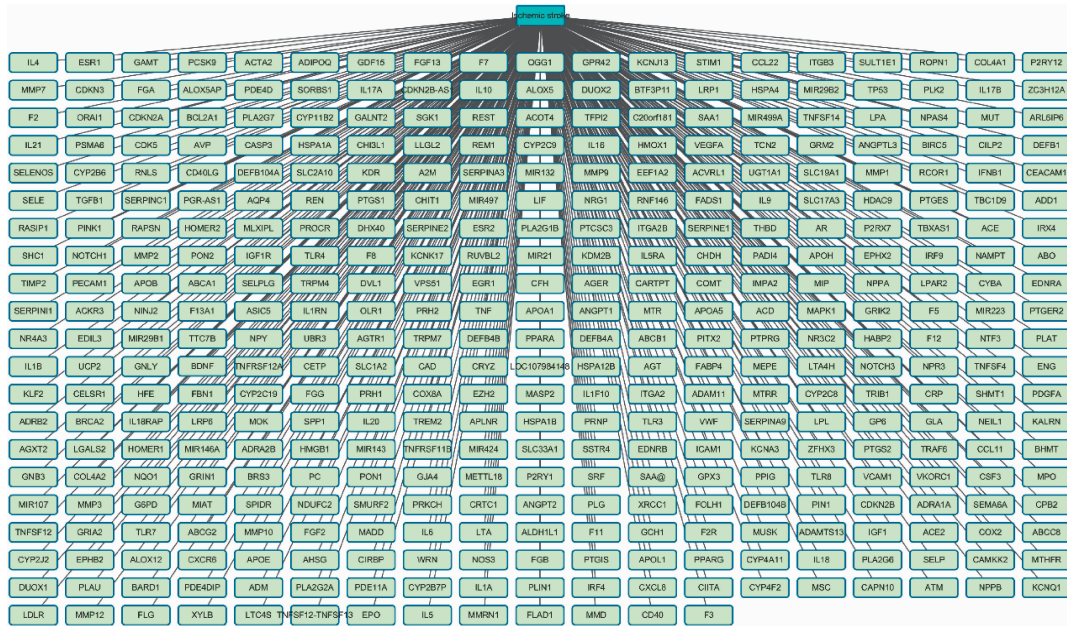


图 2 缺血性脑卒中疾病-靶点调控网络

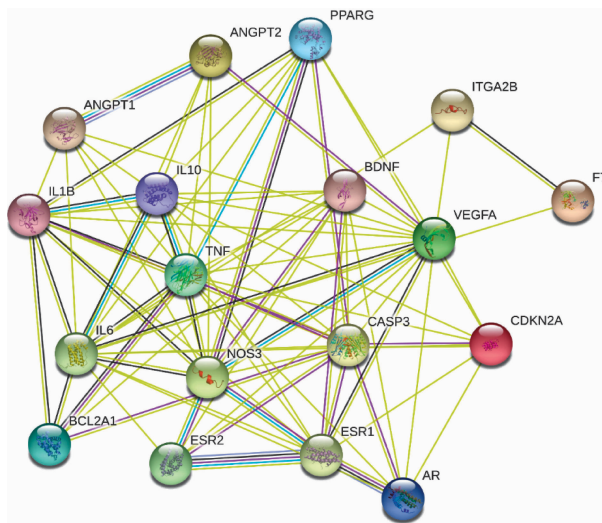


图 3 黄芩-川芎药对治疗缺血性脑卒中潜在核心靶点 PPI 网络

2.5 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析 黄芩-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点 GO 功能富集分析结果显示,主要涉及一氧化氮(nitric oxide, NO)生物合成的正调控、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)活性的调节、细胞凋亡的负调控、蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)信号的正调控、I- κ b 激酶/NF- κ b 信号的调节、雌激素反应、炎症及免疫反应、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的正调控、血管内皮细胞迁移的正调控、内皮细胞屏障(endothelial cell barrier, ECB)

建立的调控、蛋白质磷酸化的正调控、血管生成及器官再生的调控、细胞成熟及老化、蛋白质复合物组装的正调控、干扰素 γ (interferon- γ , IFN γ)产生的正调控等生物过程(Biological Process, BP);参与的细胞组成(Cellular Component, CC)主要涉及细胞外区、细胞外间隙、细胞质、质膜等有关;涉及的分子功能(Molecular Function, MF)主要包括蛋白质结合、DNA 结合、细胞因子(cytokine, CK)活性、类固醇激素受体、类固醇结合、生长因子活性、转录因子结合、雌激素受体活性等,见图 4-7。

黄芩-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在核心靶点 KEGG 通路富集分析显示, 主要涉及缺氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶信号通路(phosphatidylinositol-3-kinases/ protein kinase B, PI3K/AKT)、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)信号通路、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、Toll 样受体(Toll-like Receptor, TLR)信号通路、雌激素信号通路、NF- κ B 信号通路、NOD 样受体(NOD-like Receptor, NLR)信号通路、肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)、白细胞介素 10(interleukin 10, IL-10)抗炎信号通路、Tie 信号通路, 见图 8。

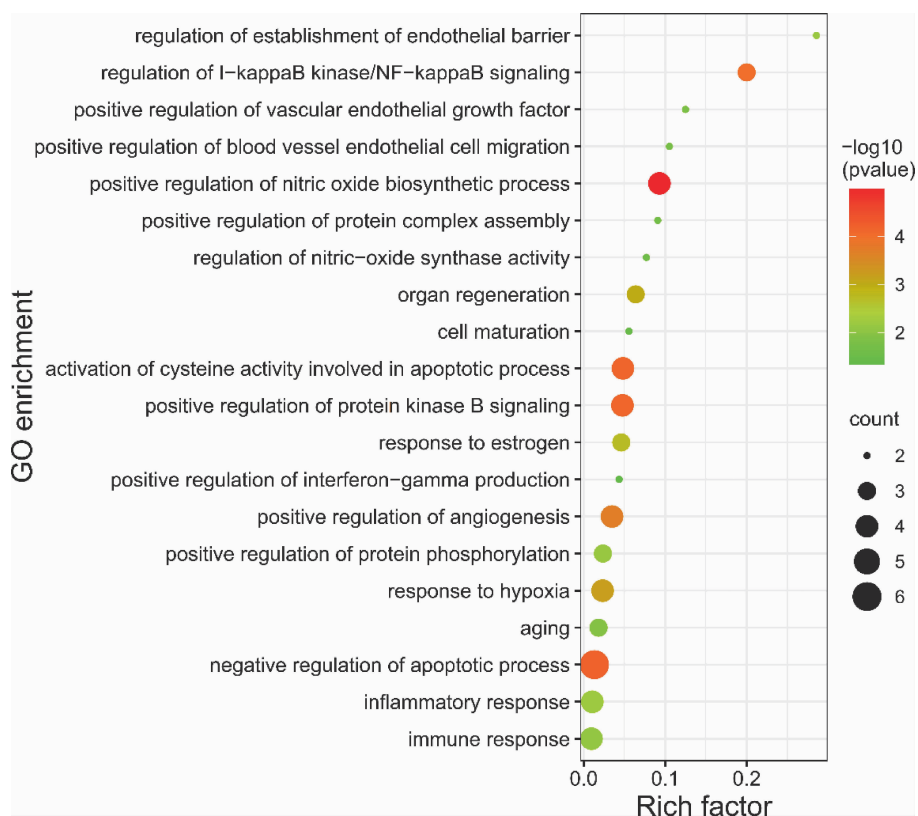


图 4 核心靶点 GO 功能富集 BP 分析

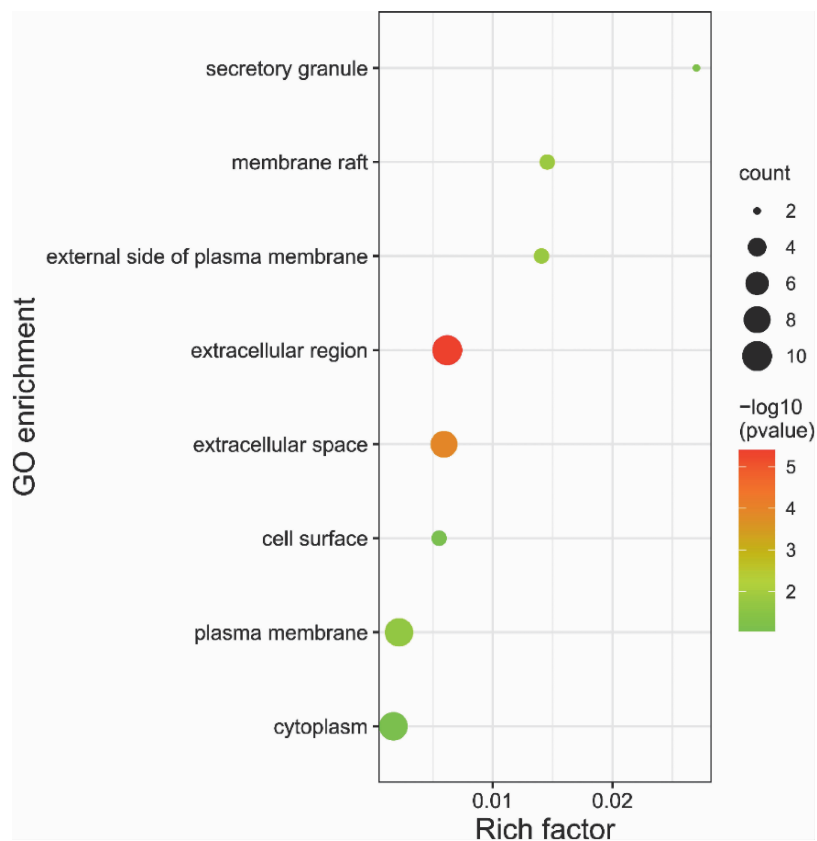


图 5 核心靶点 GO 功能富集 CC 分析

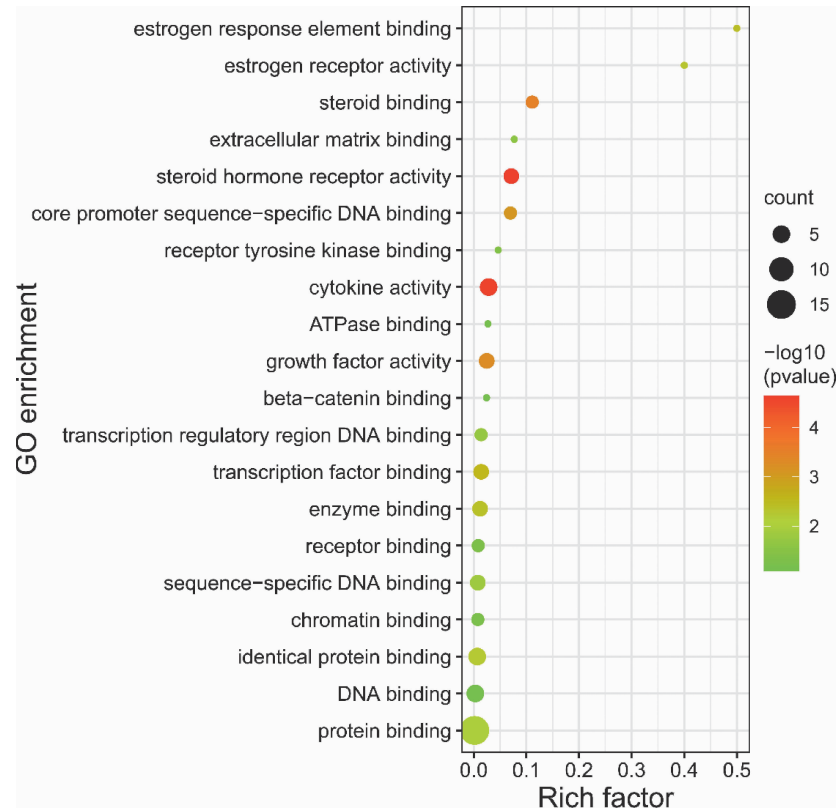


图 6 核心靶点 GO 功能富集 MF 分析

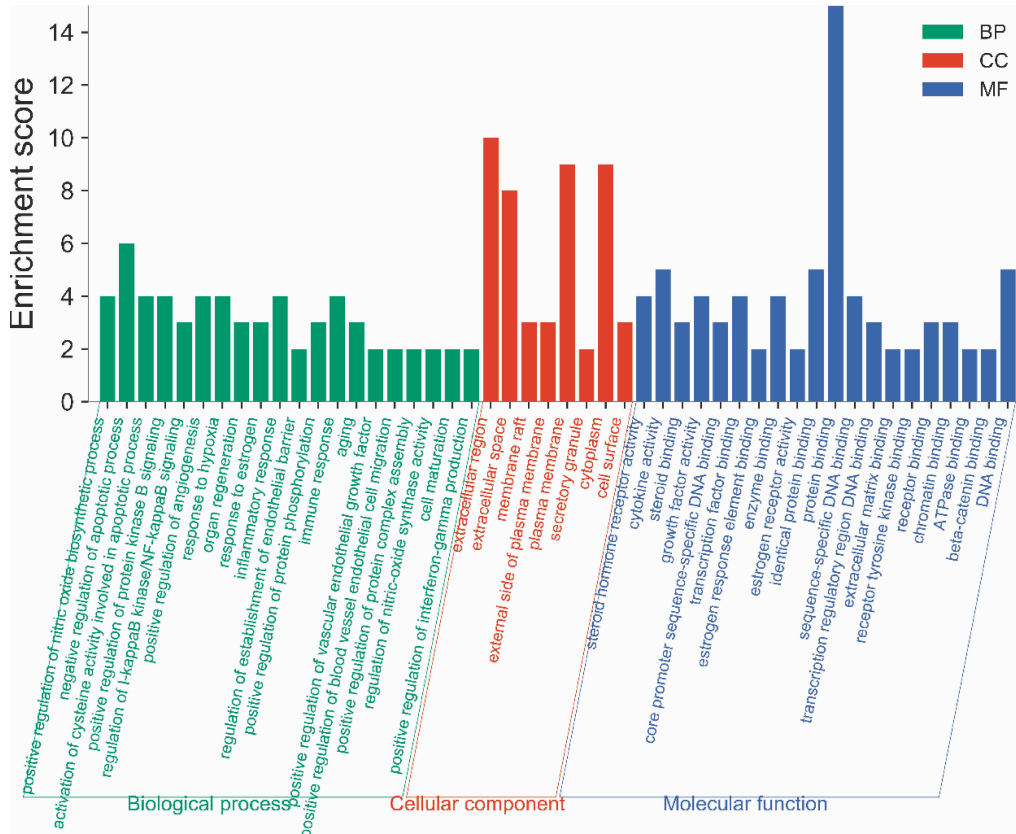
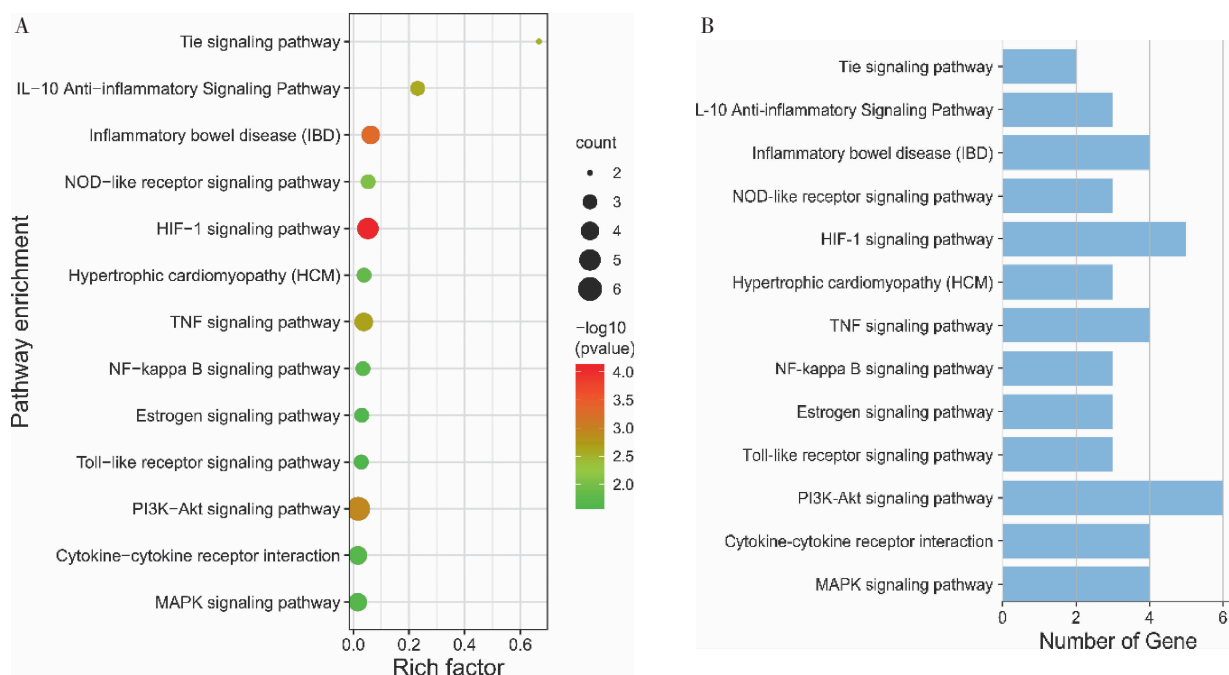


图 7 核心靶点 GO 功能富集注释图



注:A.KEGG 通路富集分析图;B.KEGG 通路基因数目注释图

图 8 核心靶点 KEGG 信号通路富集分析

3 讨论

中医的整体观念、辨证论治理论及中药多组分、多靶点、多机制的作用特点,符合网络药理学利用大数据资源,建立“药物-靶点-疾病”相互作用网络,系统预测药物与疾病的网络关系,已被广泛应用于系统揭示中药对疾病作用的物质基础和效应机制。益气活血法是缺血性脑卒中的重要治疗思路,黄芪-川芎作为益气活血代表药对,临床广泛用于治疗气虚血瘀型脑卒中。本研究采用网络药理学方法,初步探讨黄芪-川芎药对治疗缺血性脑卒中的潜在物质基础及治疗机制。

通过构建黄芪、川芎活性化学成分数据库,共筛选出 17 个活性成分,其中黄芪 11 个,川芎 6 个;通过构建“药物-成分-靶点”网络,初步发现黄芪-川芎药对的活性成分治疗缺血性脑卒中主要作用于包括 IL-1B、IL-6、IL-10、TNF、CDKN2A、ANGPT1、ANGPT2、ESR1、ITGA2B、VEGFA、NOS3、CASP3、BCL2A1、F7、AR、ESR2、PPARG、BDNF 在内的 18 个潜在核心靶点;通过对潜在核心靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析发现,潜在核心靶点可通过调节 HIF-1 信号通路、PI3K/AKT 信号通路、IBD 信号通路、TNF 信号通路、MAPK 信号通路、细胞

因子-细胞因子受体相互作用、TLR 信号通路、雌激素信号通路、NF- κ B 信号通路、NLR 信号通路、HCM、IL-10 抗炎信号通路、Tie 信号通路等多个途径,参与调节 NO 生物合成、NOS 活性、细胞凋亡、AKT 信号、I- κ b 激酶/NF- κ B 信号、雌激素反应、炎症及免疫反应、VEGF、血管内皮细胞迁移、内皮细胞屏障的建立、蛋白质磷酸化、血管生成及器官再生、细胞成熟及老化、蛋白质复合物组装、IFN γ 生成、CK 活性、生长因子活性、雌激素受体活性等多个生物过程、细胞组成及分子功能。

缺血性脑卒中发病机制复杂,由多种因素共同参与并相互影响,进而引起一系列级联损伤反应。当脑血管闭塞、脑组织血氧供应不足时,体内的氧自由基、氮自由基等高活性分子过量产生,超过机体内源性抗氧化系统的清除能力,引起氧化/硝化应激反应。NO 是体内重要的多态性、内源性调节物质,在正常生理状态下能够扩张血管、抑制血小板聚集、参与突触间信号传递,但过度产生的 NO 则会产生神经毒性作用^[8]。NOS 是 NO 的一种合成限速酶,可在一些辅助因子的作用下催化 L-精氨酸合成 NO,NO 能够与超氧阴离子反应形成 ONOO⁻等神经毒性更强的物质,而内源性 SOD 清除超氧阴离子的能力不足以抑制

ONOO⁻的产生^[9]。ONOO⁻引发的一系列氧化损伤是NO导致神经系统破坏的重要因素^[10],ONOO⁻可直接引起脑组织结构损伤和离子通道破坏,最终导致线粒体酶损伤、DNA链断裂以及脂肪过氧化;另一方面,NO在合成ONOO⁻的过程中被过度消耗,因此也限制了NO正常生理功能的发挥^[10-11]。此外,NOS还能通过氧化还原反应转化为ROS生成酶,促进ROS的生成^[12],进一步加重脑组织损伤。NOS有3种亚型,即内皮型(nNOS)、神经元型(eNOS)和诱导型(iNOS)。病理条件下,iNOS和nNOS催化生成过量的NO,产生神经毒性作用,而eNOS主要合成血管内皮中的NO,对脑组织具有保护作用。缺血性脑卒中发生时,神经细胞中iNOS和nNOS的表达显著增加,而eNOS活性降低,进一步导致内皮功能障碍、血脑屏障破坏、细胞凋亡等^[13]。

脑缺血发作数小时后,缺血半暗带区域由于存在少量血液供应,故该区域的细胞死亡形式以神经元凋亡为主,神经元凋亡的多少对脑梗死体积大小及神经功能的恢复都有重要影响,氧化/硝化应激反应、炎症反应、钙超载等病理过程均可通过不同途径导致细胞凋亡。PI3K/AKT和MAPK信号通路是细胞内重要的信号转导通路,具有抗凋亡、促进细胞增殖的作用,在脑缺血损伤中发挥着重要作用。脑缺血缺氧时,PI3K被激活,PI3K下游许多效应分子,其中AKT是通路的中心环节,对细胞存活具有重要意义,它可通过调控下游的多个作用靶点,如Bcl-2蛋白家族、Caspase蛋白家族等,使相关凋亡蛋白磷酸化而失去活性^[14],同时,AKT还可减少线粒体膜内外交界处的蛋白性孔道开放^[15],改善线粒体功能,进而发挥抗凋亡效应。MAPK在中枢神经系统中广泛表达,当MAPK磷酸化底物被激活时,可以调节相关基因的转录,从而影响细胞凋亡和存活过程^[16]。MAPK信号通路具有抗凋亡和促凋亡的双重作用,不同的细胞外刺激可以激活不同的MAPK信号传导通路,其中ERK1/2、JNK以及p38 MAPK信号通路是MAPK最重要的3个亚家族途径。研究表明^[17],神经细胞中ERK1/2信号通路的激活是针对脑组织缺血缺氧刺激而启动的一种保护机制,在脑缺血中发挥抗凋亡的作用,对神经元具有保护作用;但也有研究发现^[18],ERK1/2信号通路在不同刺激下也可发挥促凋亡的作用,ERK1/2信号通路

在神经元凋亡中的双重作用可能与不同的细胞种类、不同的刺激干预、MAPK通路间的相互作用等因素有关。而大多数文献报道,JNK和p38 MAPK信号通路可促进神经细胞的凋亡,加重各器官缺血再灌注损伤^[19],然而也有研究证实,在细胞内JNK和p38 MAPK的活化也可作为保护性因素,抑制细胞凋亡^[20],其不同作用可能由其在不同细胞中的表达以及激活程度所决定。

炎症免疫反应是缺血性脑卒中发展过程中的一个关键因素,脑缺血后数小时内,炎症免疫细胞激活,诱导细胞因子、粘附分子和趋化因子等释放,促使炎症免疫细胞在损伤部位浸润,释放的细胞因子又可进一步激活炎症免疫细胞,导致脑组织损伤加重。TNF家族是在小鼠癌细胞的血清中发现的一组细胞因子,在各种炎症免疫反应中发挥着重要作用,其中TNF- α 是TNF家族中的重要成员,脑缺血早期广泛存在于神经元内,围绕缺血组织,并可诱导白细胞聚集、粘附、迁移至损伤脑组织中,是炎症反应的起始因子^[21];IL-10又被称为细胞因子合成抑制因子,在机体中主要调节免疫及炎症反应,其可在脑缺血时通过抑制TNF- α 、IL-1、IFN γ 等促炎因子减轻脑组织缺血性损伤^[22],从而发挥神经保护作用;NF- κ B是B淋巴细胞前体细胞中的一种核转录因子,其可调节DNA转录、细胞因子的产生以及细胞的存活,参与炎症、免疫、细胞凋亡等病理过程。脑缺血损伤时,神经细胞中的NF- κ B被激活,促使黏附分子、细胞因子等炎症免疫基因大量转录,通常被认为是脑缺血后炎症级联反应的始动因素^[23-24]。脑缺血的炎症损伤可通过TLR的信号传导^[25],TLRs属于模式识别受体,主要在免疫细胞内表达,研究表明^[26-27],大多数类型的TLRs,尤其是TLR2和TLR4可产生细胞因子和趋化因子,在脑缺血损伤后表达明显增加,进而加重缺血组织的炎症性损伤,因此抑制TLR2和TLR4信号传导通路可能是治疗脑缺血损伤的重要靶点。

血管新生对于脑组织的修复以及神经功能的恢复具有重要意义,也是缺血性卒中的一个潜在治疗靶点。VEGF是一种血管生长和血管渗透因子,是目前公认最强大的促血管生成因子之一,在缺血缺氧情况下可与血管内皮细胞上的特异性受体结合,促进内皮细胞增殖,在血管生成早期阶段起作用。研究发

现^[28-29],血清 VEGF 水平与脑梗死面积以及长期预后相关,其原因可能与其促血管新生作用有关,但作为血管通透性增强因子,VEGF 也常导致血脑屏障渗漏,加重脑水肿。Ang 与 VEGF 功能类似,二者相互协同,共同调节血管新生过程,其中 Ang-1 在平滑肌细胞、周细胞中表达,通过旁分泌形式作用于血管内皮,可促进新生血管的成熟和稳定,Ang-2 主要由内皮细胞表达,对 Ang-1 有拮抗作用,Tie2 是血管内皮细胞的特异性受体,主要由血管周围细胞表达^[30-31]。Ang-1 与 Ang-2 可竞争性地与 Tie2 结合,但只有 Ang-1 与 Tie2 结合才能诱导其磷酸化,从而介导血管内皮细胞与壁细胞(血管周围细胞)相互作用,促使血管周围细胞向内皮细胞迁移,促进内皮细胞增殖^[32],在血管生成后期维持新生血管的完整性及稳定性,并加强内皮细胞和间质细胞之间的紧密连接,保护血脑屏障,从而对抗 VEGF 引发的血脑屏障渗漏^[33]。VEGF 与 Ang-1/Tie2 系统可相互协同,共同调节血管新生的过程,促进血管形成和成熟稳定。

雌激素是人体常见的一种甾体类固醇激素,作为中枢神经递质之一,雌激素不仅能够调节人体生长发育,还可以通过血脑屏障进入中枢神经系统,参与各种中枢神经系统疾病的病理生理过程。研究表明^[34],雌激素可能通过促进神经再生、减少氧自由基、拮抗兴奋性氨基酸毒性、减轻炎症反应以及抑制钙超载等机制发挥神经保护作用,可降低缺血性脑卒中的发病率,改善神经功能。除神经保护作用外,雌激素还可促进内皮细胞增殖和血管生成,同时内皮细胞中 eNOS 的表达,提高 NO 的生物利用度,进而促进血管扩张,增加脑血流量,减轻脑缺血损伤^[35]。

本研究基于网络药理学方法,系统分析了益气活血代表药对黄芪-川芎“多组分-多靶点-多机制”治疗缺血性脑卒中的靶点及作用机制,为其临床应用提供了理论依据。网络药理学作为一种基于数据库的虚拟研究模式,并不能确切地揭示药物在生物体内的作用机制及途径,因此通过网络药理学分析出的结果,尚需进一步验证有效成分及靶点的作用机制。

参考文献:

- [1] LEE N T, SELAN C, CHIA J S J, et al. Characterization of a novel model of global forebrain ischaemia-reperfusion

injury in mice and comparison with focal ischaemic and haemorrhagic stroke[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):18170.

- [2] KATAN M, LUFT A. Global burden of stroke [J]. *Semin Neurol*, 2018, 38(2):208-211.
- [3] SHI K, ZOU M, JIA D M, et al. tPA Mobilizes immune cells that exacerbate hemorrhagic transformation in stroke [J]. *Circ Res*, 2021, 128(1):62-75.
- [4] WANG Y, XIAO G, HE S, et al. Protection against acute cerebral ischemia/reperfusion injury by QiShenYiQi via neuroinflammatory network mobilization [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125:109945.
- [5] 姜超, 徐中菊, 王婷. 益气活血法在急性缺血性脑卒中治疗的应用[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2017, 15(18):2271-2273.
- [6] 陈红阳, 刘震, 贾壮壮, 等. 基于数据挖掘的名老中医治疗缺血性脑卒中用药规律分析 [J]. *云南中医学院学报*, 2020, 43(5):79-84.
- [7] 解静, 高杉, 李琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. *中草药*, 2019, 50(10):2257-2265.
- [8] 倪远宁, 季晖, 王琳娜, 等. 一氧化氮与神经血管单元的关联性及相关药物研究进展[J]. *药学进展*, 2015, 39(1):5-12.
- [9] GHASEMI M, MAYASI Y, HANNOUN A, et al. Nitric Oxide and mitochondrial function in neurological diseases[J]. *Neuroscience*, 2018, 376:48-71.
- [10] FENG J, CHEN X, GUAN B, et al. Inhibition of peroxynitrite-induced mitophagy activation attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(8):6369-6386.
- [11] NISHIGAKI C, NAKAYAMA M, MIYATA H. Cell physiological responses of RAW264 macrophage cells to a 50-Hz magnetic field [J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(12):1628-1632.
- [12] 李岩, 王凯华. 脑缺血再灌注损伤过氧化相关机制及中医药治疗[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(5):113-116.
- [13] 王仁杰, 张艳军, 王星星, 等. 利用知识发现工具 Arrow-smith 探讨龙血竭及其有效成分治疗缺血性脑卒中的潜在作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(22):194-201.
- [14] 仇志富, 颜勇, 吴晓光. PI3K/Akt 信号转导通路神经细胞凋亡研究进展 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2015, 32(10):952-953.
- [15] GUO C, HAO L J, YANG Z H, et al. Deferoxamine-me-

- diated up-regulation of HIF-1 α prevents dopaminergic neuronal death via the activation of MAPK family proteins in MPTP-treated mice [J]. *Exp Neurol*, 2016, 280: 13-23.
- [16] 董晓红,王悦阳,贺紫薇,等. 中医药调控脑缺血 MAPK 信号通路的研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2019, 16(4): 47-50.
- [17] SI W, WANG J, LI M, et al. Erythropoietin protects neurons from apoptosis via activating PI3K/AKT and inhibiting Erk1/2 signaling pathway [J]. *3 Biotech*, 2019, 9(4): 131.
- [18] GAO X, LI H, DONG Z, et al. Relationship between Erk1/2 signal pathway and nerve cell apoptosis rats with ischemic stroke[J]. *Cell Mol Biol*, 2019, 65(7): 127-131.
- [19] UZDENSKY A B. Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins[J]. *Apoptosis*, 2019, 24(9-10): 687-702.
- [20] MING Y C, CHAO H C, CHU S M, et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) protected intestinal ischemia-reperfusion injury through JNK and p38/MAPK-dependent pathway for anti-apoptosis[J]. *Pediatr Neonatol*, 2019, 60(3): 332-336.
- [21] LIU R, XU N G, YI W, et al. Electroacupuncture attenuates inflammation after ischemic stroke by inhibiting NF- κ B-mediated activation of microglia [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 8163052.
- [22] STEEN-LOUWS C, HARTGRING S A Y, POPOV-CELEKETIC J, et al. IL4-10 fusion protein: a novel immunoregulatory drug combining activities of interleukin 4 and interleukin 10 [J]. *Clin Exp Immunol*, 2019, 195(1): 1-9.
- [23] LI W, SUWANWELA N C, PATUMRAJ S. Curcumin prevents reperfusion injury following ischemic stroke in rats via inhibition of NF- κ B, ICAM-1, MMP-9 and caspase-3 expression[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4710-4720.
- [24] YANG C H, YEN T L, HSU C Y, et al. Multi-targeting andrographolide, a novel NF- κ B inhibitor, as a potential therapeutic agent for stroke [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): 1638.
- [25] 王萍, 张密霞, 庄朋伟, 等. 脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制研究进展[J]. *天津中医药大学学报*, 2014, 33(5): 317-320.
- [26] NALAMOLU K R, SMITH N J, CHELLUBOINA B, et al. Prevention of the severity of post-ischemic inflammation and brain damage by simultaneous knockdown of Toll-like receptors 2 and 4 [J]. *Neuroscience*, 2018, 373: 82-91.
- [27] TAJALLI-NEZHAD S, KARIMIAN M, BEYER C, et al. The regulatory role of Toll-like receptors after ischemic stroke: neurosteroids as TLR modulators with the focus on TLR2/4[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(3): 523-537.
- [28] HAN Y W, LIU X J, ZHAO Y, et al. Role of Oleanolic acid in maintaining BBB integrity by targeting p38MAPK/VEGF/Src signaling pathway in rat model of subarachnoid hemorrhage [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 839: 12-20.
- [29] SHEN Y, GU J, LIU Z, et al. Inhibition of HIF-1 α reduced blood brain barrier damage by regulating MMP-2 and VEGF during acute cerebral ischemia [J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 288.
- [30] RUAN L, WANG B, ZHUGE Q, et al. Coupling of neurogenesis and angiogenesis after ischemic stroke [J]. *Brain Res*, 2015, 1623: 166-173.
- [31] 张获, 徐鸣曙, 张英杰, 等. 脑缺血后周细胞及相关血管生成信号通路的研究进展 [J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(5): 534-539.
- [32] 董育玮, 陆伦根. 血管生成素/Tie 系统在血管生成中的作用[J]. *诊断学理论与实践*, 2014, 13(3): 331-335.
- [33] WANG L, ZHANG X, LIU X, et al. Overexpression of α 5 β 1 integrin and angiopoietin-1 co-operatively promote blood-brain barrier integrity and angiogenesis following ischemic stroke [J]. *Exp Neurol*, 2019, 321: 113042.
- [34] TORO-URREGO N, VESGA-JIMÉNEZ D J, HERRERA M I, et al. Neuroprotective role of hypothermia in hypoxic-ischemic brain injury: combined therapies using estrogen[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2019, 17(9): 874-890.
- [35] DUCKLES S P, KRAUSE D N. Mechanisms of cerebrovascular protection: oestrogen, inflammation and mitochondria[J]. *Acta Physiol*, 2011, 203(1): 149-154.