

基于网络药理学和分子对接探讨甘草防治阿尔茨海默病的分子机制

马震东¹, 黄晓风¹, 朱思林¹, 郭晋言¹, 黄淑芸¹, 陈倩文¹, 杨 春^{1*}, 杜以宽^{2*} (1. 广东医科大学干细胞与再生组织工程重点实验室, 广东东莞 523808; 2. 东莞市人民医院中心实验室, 广东东莞 523059)

摘要: **目的** 运用网络药理学和分子对接技术探究甘草防治阿尔茨海默病(AD)的分子机制。**方法** 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选甘草活性成分, 并利用有关数据库筛选AD相关靶点。以Cytoscape软件构建“药物-化合物-靶点”网络, 并用分子对接验证有效成分与靶点亲和力。**结果** 筛选出甘草64个活性成分和692个靶点, 这些靶点与82个AD相关潜在靶点有较强相互作用, 主要富集于神经活性配体受体相互作用、AD通路、钙信号通路、5-羟色胺能突触、cAMP信号通路等12条通路。分子对接结果显示甘草素、光甘草素和甘草宁O等化合物与关键靶点淀粉样前体蛋白(APP)、单胺氧化酶B(MAOB)、半胱天冬蛋白酶3(CASP3)、5-羟色胺转运体(SLC6A4)、乙酰胆碱酯酶(AchE)具有良好亲和力。**结论** 甘草中甘草素、甘草素等化合物可能通过作用于APP、CASP3、MAOB、SLC6A4、ACHE等靶点, 介导5-羟色胺能突触通路, 进而发挥防治AD作用。

关键词: 阿尔茨海默病; 甘草; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R 932

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)06-0684-09

Molecular mechanism of Glycyrrhiza in prevention and treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology and molecular docking

MA Zhen-dong¹, HUANG Xiao-feng¹, ZHU Si-lin¹, GUO Jin-yan¹, HUANG Shu-yun¹, CHEN Qian-wen¹, YANG Chun^{1*}, DU Yi-kuan^{2*} (1. Key Laboratory of Stem Cell and Regeneration tissue Engineering, Guangdong Medical University, Dongguan 523000, China; 2. Central Laboratory, Dongguan People's Hospital, Dongguan 523059, China)

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of Glycyrrhiza in prevention and treatment of Alzheimer's disease (AD) using network pharmacology and molecular docking. **Methods** The active components of Glycyrrhiza were screened by the Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). AD-associated targets were screened using related databases. The drug-compound-target network was constructed by Cytoscape software, and the affinity between effective components and targets was verified by molecular docking. **Results** Sixty-four active components and 692 targets of Glycyrrhiza were screened. These targets had strong interaction with 82 potential AD-associated targets, mainly enriched in 12 pathways, such as neuroactive ligand-receptor interaction, AD pathway, calcium signaling, serotonergic synapse, cAMP signaling and so on. The molecular docking revealed that glycyrrhizin, glabrene and gancaonin O had good affinity with key targets amyloid precursor protein (APP), monoamine oxidase B (MAOB), caspase-3, SLC6A4 and AchE. **Conclusion** Glycyrrhiza compounds such as isoliquiritigenin and glycyrrhizin may prevent and treat AD by acting on APP, caspase-3, MAOB, SLC6A4 and AchE and mediating serotonergic synaptic pathway.

Key words: Alzheimer's disease; Glycyrrhiza; network pharmacology; molecular docking

阿尔茨海默病(AD)是一种以进行性脑神经元丢失和萎缩为特征的疾病,属中医领域“痴呆”范畴,主要因心脾二脏的气血不足、心神失养所致^[1]。认知障碍是AD和其他呆病的主要症状之一。甘草既善温

基金项目: 广东省自然科学基金面上项目(No.2020A1515010011, 2021A1515011580), 广东省中医药局面上项目(No.20202101, 20211216), 广东医科大学大学生创新创业训练项目(No.GDMU2019003, GDMU2019041, GDMU2020010, GDMU2020078), 2020年度省级和国家级大学生创新创业训练计划项目(No.202010571003, S202010571041)

收稿日期: 2021-03-12; **修订日期:** 2021-09-18

作者简介: 马震东(2001-), 男, 在读本科生

通信作者: 杨 春(1982-), 女, 博士, 副教授, E-mail: yangchunangel@163.com

杜以宽(1983-), 男, 博士, 副研究员, E-mail: yikuan.du@foxmail.com

运脾胃,又可除烦解郁,有补脾益气等功效,对认知障碍有保护作用^[2]。临床应用,甘草副作用小,在治疗神经退行性疾病中发挥一定作用,是中医治疗AD最常用的十种中药之一^[3]。

本文借助中药系统药理学数据库与分析平台TCMSP结合疾病靶点数据库DisGeNET、Drugbank和OMIM,通过构建甘草活性成分作用靶点网络与AD相关靶点网络相互映射来挖掘甘草防治AD的主要活性成分及作用靶点,利用DAVID数据库进行功能注释和富集分析,探究甘草防治AD的作用机制通路,并通过Ledock进行分子对接加以验证,试图为甘草药效物质基础和作用机制的实验研究提供大数据集成的理论依据。

1 材料和方法

1.1 甘草活性化学成分筛选及对应靶点信息的获取

通过TCMSP数据库(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)获取甘草活性成分信息。以口服生物利用度(OB)≥30%、血脑屏障(BBB)≥-0.3、类药性(DL)≥0.18为条件对甘草活性成分进行筛选。将符合条件的活性成分在Pubchem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中进行检索并校对,获取其2D结构,保存为SDF格式。将收集到的2D结构导入到SwissTargetPredict数据库进行靶点预测,以Possibility>0为筛选条件,获取相关程度较高的甘草成分靶点信息。

1.2 AD相应靶点的获取及交集靶点的获取

通过DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)、OMIM(<http://www.omim.org/>)以及Drugbank(<https://www.drugbank.ca/>)数据库,以“Alzheimer's Disease”为关键词检索AD相关靶点,并应用Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)对疾病靶点进行标准化,运用EXCEL剔除重合靶点信息,最后将甘草活性成分相应靶点与AD相关靶点通过Venny(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)进行映射,获得甘草防治AD的潜在靶点。

1.3 药物-活性成分-疾病-靶点网络的构建

将筛选得到的活性成分、甘草防治AD的潜在靶点等信息输入Cytoscape软件构建“药物-活性成分-疾病-靶点”网络,通过“Network analyzer”功能进行拓扑学分析,分析内容包括度值(Degree)、介度中心性(Betweenness centrality)、近性中心性(Closeness centrality)等参数。以大于上述参数的2倍中位数值为条件筛选出甘草防治AD的主要活性成分。

1.4 基于STRING数据库的蛋白相互作用网络构建

为进一步了解化合物、靶点和蛋白质之间的复杂

关系,将甘草防治AD的潜在靶点导入STRING(<https://string-db.org/>)数据库,限定物种为人,设定最小相互作用参数为“medium confidence(0.40)”,保存为TSV文件,将所得文件导入Cytoscape进行PPI网络可视化并根据度值筛选出甘草防治AD的潜在关键靶点。

1.5 甘草治疗AD生物过程与代谢通路富集分析

为说明甘草防治AD潜在靶点在基因功能中的作用,通过DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)进行基因本体论(GO)分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能注释和富集分析。以 $P<0.01$ 为筛选标准,筛选出最显著富集的生物学注释,并通过微生信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对结果作可视化处理。

1.6 关键靶点与活性成分的分子对接

为预测甘草活性成分与靶点间结合亲和力,利用Ledock分子对接软件对甘草中的核心化合物和关键靶点进行分子对接试验。在TCMSP数据库中下载活性成分mol2结构文件,通过Chem 3D软件优化力学结构后保存,作为配体;从PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)中获取靶蛋白PDB文件,在PyMOL对蛋白进行去水、分离出活性中心的原配体,作为受体;利用Ledock进行分子对接,通过微生信网站将活性成分与对应靶蛋白对接得到的结合能构建为热图。

2 结果

2.1 甘草活性成分的筛选

在TCMSP数据库中检索到280个甘草化合物信息。根据设置的筛选条件,共筛选出69个化合物,然后利用PubChem数据库排除无效成分,得到64个化合物,用GC1-GC64表示,见表1。通过SwissTargetPrediction数据库进行靶点预测,得到甘草活性成分相关靶点692个。

2.2 甘草防治AD的潜在靶点筛选

在OMIM、DrugBank和DisGeNET数据库中分别获得198、98和93个AD靶点,合并去重后,共得到310个AD相关靶点。通过Venny对64个活性成分对应的靶点与OP相关靶点匹配后取交集得到甘草防治AD的82个潜在靶点,见图1。

2.3 甘草-活性成分-靶点-疾病网络

运用Cytoscape软件构建甘草-活性成分-靶点-疾病网络图,见图2。该网络图由146个节点,804条边组成,其中紫色代表甘草,黄色代表活性成分,绿色代表疾病,蓝色代表交集靶点。以度值、介度中心性、接

表1 甘草的64种有效成分

MOL ID	编号	有效成分(英文名)	有效成分(中文名)	OB/%	BBB	DL
MOL004805	GC1	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydro-pyrano[2,3-f]chromen-4-one	—	31.79	0.25	0.72
MOL004957	GC2	HMO	异芒柄花素	38.37	0.25	0.21
MOL001792	GC3	DFV	甘草素	32.76	-0.29	0.18
MOL004910	GC4	Glabranin	光甘草宁	52.90	0.31	0.31
MOL004948	GC5	Isoglycyrol	异甘草酚	44.70	0.05	0.84
MOL004833	GC7	Phaseolinisoflavan	菜豆异黄烷	32.01	0.46	0.45
MOL000500	GC8	Vestitol	糖醇	74.66	0.30	0.21
MOL004945	GC9	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	异补骨脂二氢黄酮	36.57	-0.04	0.32
MOL004991	GC10	7-Acetoxy-2-methylisoflavone	7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮	38.92	0.16	0.26
MOL002565	GC11	Medicarpin	美迪紫檀素	49.22	0.53	0.34
MOL003896	GC12	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	7-甲氧基-2-甲基异黄酮	42.56	0.56	0.20
MOL004810	GC13	Glyasperin F	粗毛甘草素 F	75.84	-0.15	0.54
MOL004885	GC14	licoisoflavanone	甘草异黄烷酮	52.47	-0.22	0.54
MOL004911	GC15	Glabrene	光甘草素	46.27	0.04	0.44
MOL005000	GC16	Gancaonin G	甘草宁 G	60.44	0.23	0.39
MOL004808	GC17	Glyasperin B	粗毛甘草素 B	65.22	-0.09	0.44
MOL004879	GC18	Glycyrin	格里西轮	52.61	-0.13	0.47
MOL004811	GC19	Glyasperin C	粗毛甘草素 C	45.56	0.07	0.40
MOL004959	GC20	1-Methoxyphaseollidin	1-甲氧基菜豆素	69.98	0.48	0.64
MOL004882	GC21	Licocoumarone	甘草香豆酮	33.21	0.06	0.36
MOL005012	GC22	Licoagroisoflavone	—	57.28	0.09	0.49
MOL004941	GC23	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	新甘草苷	71.12	-0.25	0.18
MOL004828	GC24	Glepidotin A	鳞叶甘草素 A	44.72	0.06	0.35
MOL004883	GC25	Licoisoflavone	甘草异黄酮 A	41.61	-0.27	0.42
MOL004985	GC26	icos-5-enoic acid	二十碳五烯酸	30.70	1.09	0.20
MOL004915	GC27	Eurycarpin A	广藿香素 A	43.28	-0.06	0.37
MOL004856	GC28	Gancaonin A	甘草宁 A	51.08	0.13	0.40
MOL003656	GC29	Lupiwighteone	黄羽扇豆魏特酮	51.64	-0.23	0.37
MOL004912	GC30	Glabrone	光果甘草酮	52.51	-0.11	0.50
MOL004835	GC31	Glypallichalcone	刺甘草查尔酮	61.60	0.23	0.19
MOL004907	GC32	Glyzaglabrin	甘草皂苷	61.07	-0.20	0.35
MOL004814	GC33	Isotrifoliol	异榭皮酚	31.94	-0.25	0.42
MOL000497	GC34	licochalcone a	甘草查尔酮 A	40.79	-0.21	0.29
MOL004855	GC35	Licoricone	甘草利酮	63.58	-0.14	0.47
MOL004996	GC36	gadelaideic acid	(E)-9-二十烯酸	30.70	0.94	0.20
MOL004884	GC37	Licoisoflavone B	甘草异黄酮 B	38.93	-0.18	0.55
MOL005001	GC38	Gancaonin H	甘草宁 H	50.10	-0.14	0.78
MOL004978	GC39	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	—	36.21	0.61	0.52

续表 1						
MOL ID	编号	有效成分(英文名)	有效成分(中文名)	OB/%	BBB	DL
MOL004849	GC40	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethyl-prop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-couma-rin	—	59.62	-0.23	0.43
MOL004891	GC41	shinpterocarpin	紫檀素	80.30	0.68	0.73
MOL004838	GC42	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimeth-yl-5-chromenol	—	58.44	0.34	0.38
MOL004815	GC43	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-di-methylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	—	39.62	-0.12	0.35
MOL004913	GC44	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	—	48.14	-0.19	0.43
MOL004989	GC45	6-prenylated eriodictyol	6-异戊烯基炔雌醇	39.22	-0.29	0.41
MOL000359	GC46	sitosterol	没食子酸	36.91	0.87	0.75
MOL005016	GC47	Odoratin	香膜质素	49.95	-0.24	0.30
MOL004863	GC48	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	甘草宁 L	66.37	-0.13	0.41
MOL004866	GC50	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chromone	甘草宁 O	44.15	-0.28	0.41
MOL004966	GC51	3'-Hydroxy-4'-O-Methylglabridin	3'-甲氧基格拉布里丁	43.71	0.73	0.57
MOL004974	GC52	3'-Methoxyglabridin	—	46.16	0.47	0.57
MOL004820	GC53	kanzonols W	—	50.48	0.04	0.52
MOL005003	GC54	Licoagrocarpin	—	58.81	0.61	0.58
MOL005017	GC55	Phaseol	菜豆酚	78.77	-0.06	0.58
MOL004848	GC56	licochalcone G	甘草查尔酮 G	49.25	-0.04	0.32
MOL005018	GC57	Xambioona	夏姆比奥纳	54.85	0.52	0.87
MOL004988	GC58	Kanzonol F	—	32.47	0.56	0.89
MOL000392	GC59	formononetin	芒柄花黄素	69.67	0.02	0.21
MOL002311	GC60	Glycyrol	甘草醇	90.78	-0.20	0.67
MOL001484	GC61	Inermine	高丽槐素	75.18	0.40	0.54
MOL000239	GC62	Jaranol	华良姜素	50.83	-0.22	0.29
MOL000211	GC63	Mairin	白桦脂酸	55.38	0.22	0.78
MOL004857	GC64	Gancaonin B	甘草宁 B	48.79	-0.10	0.45

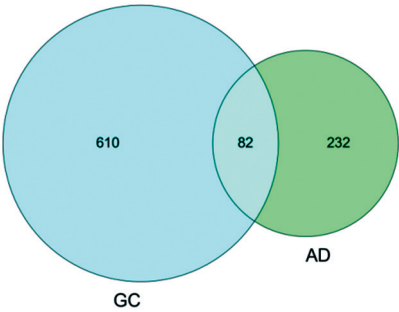


图1 甘草与AD的交集靶点图

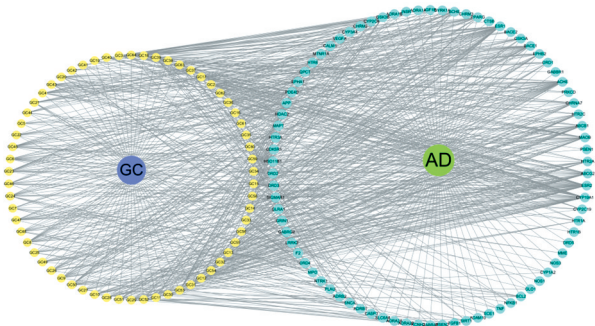


图2 “药物-成分-靶点-疾病”网络图

近中心性的2倍中位数值为条件筛选出的10个主要活性成分为甘草素、7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮、光甘草素、甘草宁O、7-甲氧基-2-甲基异黄酮、异槲皮酚、

糖醇、kazonols W、异补骨脂二氢黄酮、鳞叶甘草素A。

2.4 甘草靶点PPI网络构建与核心靶点分析结果

将82个交集靶点导入STRING数据库,并通过Cytoscape软件进行可视化,见图3。网络图由82个节点和567条边组成,82个节点代表82个蛋白靶点,567条边代表567对蛋白质间的相互作用。图中度值排名前5的是淀粉样前体蛋白(APP)、乙酰胆碱酯酶(ACHE)、半胱天冬蛋白酶3(CASP3)、5-羟色胺转运体(SLC6A4)及单胺氧化酶B(MAOB)。

2.5 甘草有效成分靶点的功能通路注释

使用DAVID数据库进行GO富集分析,共得到106个条目($FDR < 0.01$),包含61个生物过程(BP)条目,26个分子功能(MF)条目,19个细胞组成(CC)条目。甘草防治AD的潜在靶点富集最显著的10个条目中,有3个为生物过程,分别为对药物的反应、对安非他命的反应及腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路;有4个为细胞组成,分别为质膜、质膜的组成部分、轴突和树突;有2个为分子功能,分别为药物结合和多巴胺神经递质受体活性。表明甘草活性成分可以通过调控多个复杂的生物学途径防治AD。结果见图4。

KEGG通路分析共富集出38条通路, $P < 0.01$ 的信号通路12条。结果表明甘草防治AD的潜在靶点主要在神经活性配体受体相互作用通路、阿尔茨海默病通路、钙信号通路、5-羟色胺能突触通路、cAMP信号通路、多巴胺能突触通路等中富集,提示上述通路

与甘草干预AD的发生发展密切相关。见图5和表2。

2.6 分子对接结果

一般认为配体与受体结合的构象稳定时能量越低,发生的作用可能性越大。以结合能 ≤ -5.0 kJ/mol作为标准,对“2.3”项中筛出的10个主要活性成分和“2.4”项中度值排名前5的关键靶点进行分子对接验证。结果显示,甘草中主要活性成分与APP、CASP3、ACHE、SLC6A4、MAOB等关键靶点的结合能均小于 -5.0 kJ/mol,提示有效活性成分与关键靶点的结合活性较好,筛选结果可靠。其中甘草宁O与MAOB的结合活性最好。分子对接得分见图6,图中数值单位为kJ/mol。选取成分甘草素、kansonols W与靶点MAOB进行分子对接展示,见图7。

3 讨论

AD是一种与年龄相关的慢性进行性神经退行性疾病。AD患者发病过程中, β -淀粉样蛋白($A\beta$)沉积活化小胶质细胞,进一步引起氧化应激、炎症损伤及细胞凋亡,最终导致神经元功能缺损^[4],而甘草活性成分可能通过抗氧化、抗炎和抗凋亡等途径发挥治疗AD的作用^[5]。此外,近年研究发现,微生物群-肠道-大脑轴在神经退行性疾病的发展中起着重要作用,AD患者中肠道微生物群发生显著改变^[6]。通过对肠道微生物群施加积极影响,可能减少甚至逆转AD患

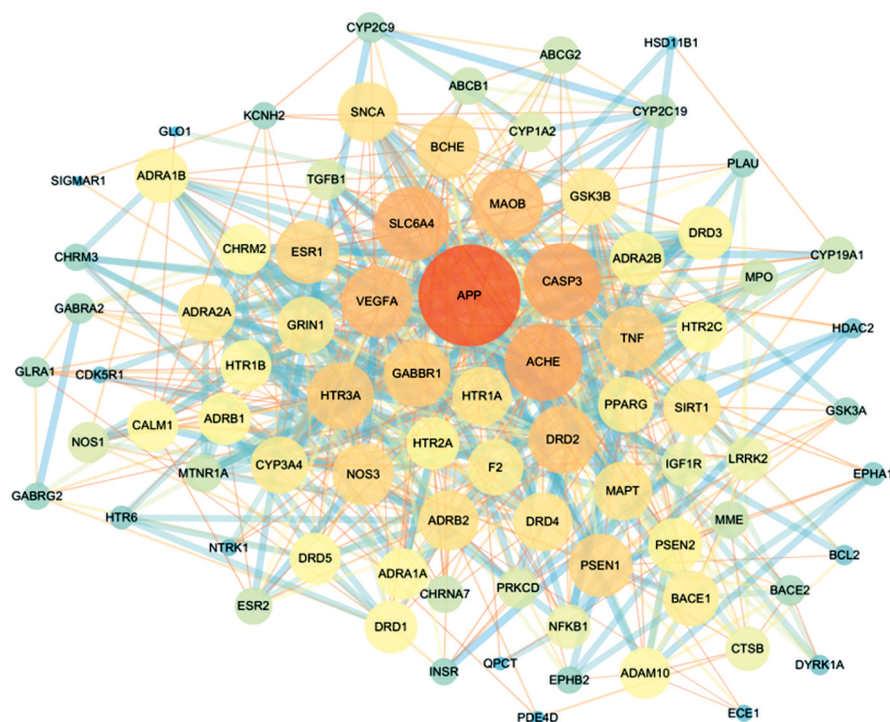


图3 蛋白互作网络图

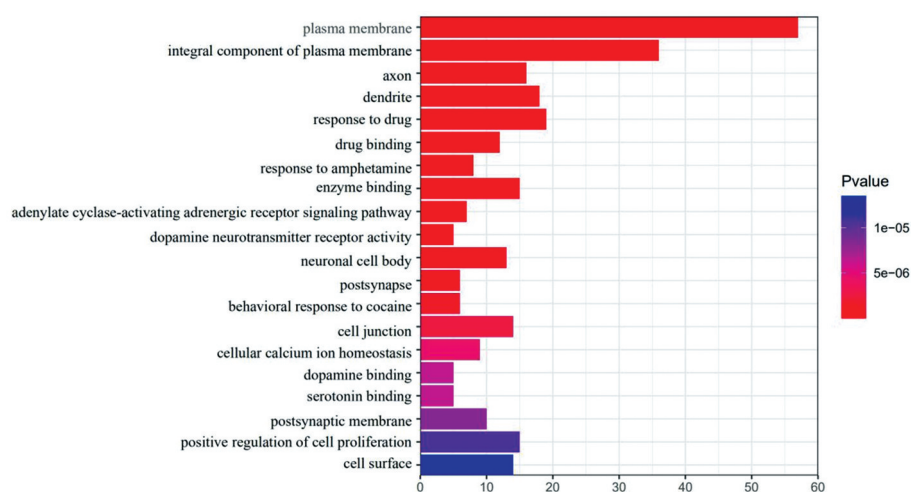


图4 甘草防治AD靶点GO分析

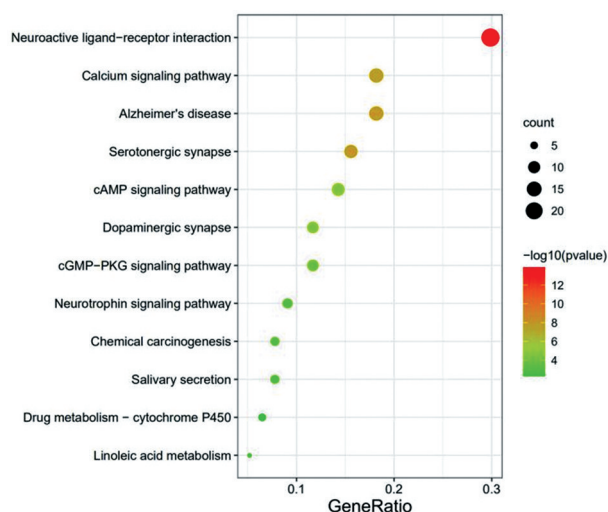


图5 甘草防治AD靶点KEGG富集分析

者认知下降的情况。研究报道甘草中活性成分可通过调控肠道微生物群预防各种疾病的发生,在日常饮食中合理加入适量甘草或许能起到延缓AD发生的作用^[7-8]。因此,本文通过网络药理学方法探讨甘草预防及治疗阿尔茨海默病的多成分、多靶点、多通路作用机制,将成为防治AD的一个新思路。

TCMSP是中药网络药理学研究常用数据库,但是,甘草次酸^[9]和甘草酸二铵^[10]在数据库未见收录。而满足OB $\geq$ 30%、DL $\geq$ 0.18及BBB $\geq$ -0.3特征的甘草酚^[11]在相关研究中显示出抗AD的作用,也未在最终筛选的64种成分里。此外,甘草中含有的甘草苷、异甘草素、槲皮素、山柰酚等黄酮类化合物及萜类化合物甘草酸虽不满足筛选条件,但同样已有文献报道上述成分均具有抗AD作用^[10, 12-14]。本文在TCMSP数据库的基础上,经文献查阅及数据挖掘,增加了8个甘草中具有抗AD作用的成分,对TCMSP数据库的筛

选结果进行了补充,为下一步的靶点预测以及通路筛选奠定基础。

KEGG富集分析结果显示,5-羟色胺能突触通路富集了12个靶点,其中包括APP、MAOB、CASP3及SLC6A4等5个关键靶点,提示该通路可能为甘草防治AD的主要途径。CASP3是半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶家族的成员,在细胞凋亡和突触可塑性调节中起重要作用,能通过裂解Akt激活GSK3 β 激酶通路,调节AD患者tau的磷酸化^[15]。研究表明,AD患者中5-羟色胺合成受损,抗氧化系统失衡,通过CASP3和p53蛋白激活神经元凋亡,在脑内发生炎症反应,进而导致大脑中神经元的树突棘丢失^[16]。甘草酸二铵能减少脂质过氧化和线粒体细胞色素C释放以及CASP9和CASP3的激活,进而抑制A β (1-42)介导的神经毒性^[17]。异甘草素能通过抑制A β (25-35)诱导的神经细胞凋亡、钙离子浓度升高以及活性氧的生成,降低Bax活性和减少CASP3的表达来对神经元起保护作用^[18]。MAO是机体内参与单胺类物质代谢的主要酶类,可催化5-羟色胺的代谢,在衰老和AD中发挥一定的作用。MAOB的高活性会增加过氧化应激反应,进而导致AD的形成^[19]。分子对接结果显示,甘草活性成分与MAOB结合活性均较高,其中甘草宁O的结合活性最好,但却没有相关的文献报道甘草宁O治疗AD。而甘草中的异甘草素^[20]、甘草酚和甘草素^[11]等活性成分均已研究证明能抑制MAOB的活性。此外,AD患者中脑淀粉样变性的进展与神经炎症和SLC6A4活性降低有关^[21]。维持大脑活动所需的胆碱能激活程度受中枢5-羟色胺能转运速度调节,ACHE和SLC6A4的双重抑制剂可能有助于治疗AD^[22]。ACHE为胆碱能神经传递的调节因

表2 KEGG通路基因富集结果

信号通路	基因数	富集基因名
Neuroactive ligand-receptor interaction	23	CHRM2, GABRA2, CHRM3, CHRNA7, HTR1A, HTR1B, HTR2C, ADRB1, ADRB2, HTR2A, F2, ADRA1B, ADRA1A, ADRA2B, GABRG2, ADRA2A, HTR6, MTNR1A, DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5
Alzheimer's disease	14	GSK3B, APP, MME, PSEN2, ADAM10, PSEN1, TNF, BACE1, BACE2, CASP3, MAPT, CALM1, CDK5R1, SNCA
Serotonergic synapse	12	CYP2C9, APP, HTR6, MAOB, CASP3, HTR1A, HTR1B, HTR2C, HTR3A, HTR2A, CYP2C19, SLC6A4
Calcium signaling pathway	14	CHRM2, CHRM3, NOS3, CHRNA7, HTR2C, ADRB1, ADRB2, HTR2A, ADRA1B, ADRA1A, HTR6, DRD1, CALM1, DRD5
cAMP signaling pathway	11	CHRM2, HTR6, PDE4D, HTR1A, HTR1B, ADRB1, DRD1, ADRB2, CALM1, DRD2, DRD5
Dopaminergic synapse	9	GSK3B, GSK3A, MAOB, DRD1, CALM1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5
cGMP-PKG signaling pathway	9	NOS3, INSR, ADRB1, ADRB2, CALM1, ADRA1B, ADRA1A, ADRA2B, ADRA2A
Chemical carcinogenesis	6	HSD11B1, CYP2C9, CHRNA7, CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4
Neurotrophin signaling pathway	7	NTRK1, GSK3B, PRKCD, PSEN2, BCL2, PSEN1, CALM1
Salivary secretion	6	CHRM3, ADRB1, ADRB2, CALM1, ADRA1B, ADRA1A

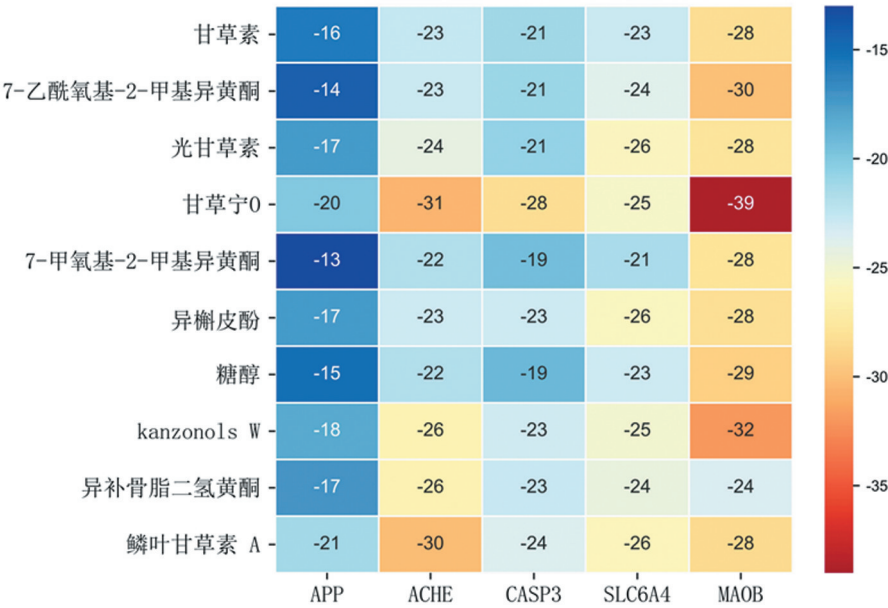


图6 甘草主要活性成分与关键靶点分子对接得分热图

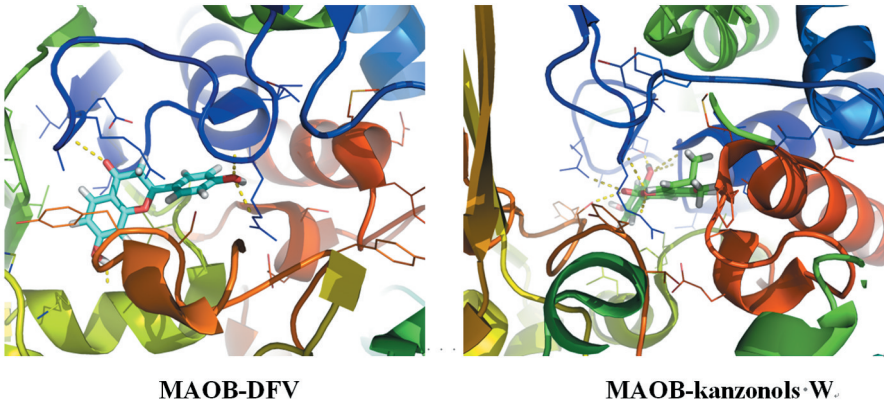


图7 甘草素、kanzonols W与靶点MAOB分子对接展示图

子,通过抑制ACHE催化功能,能改善AD。甘草素和甘草酚均能有效抑制ACHE,进而增强记忆作用^[11]。

本研究的富集分析结果显示甘草也可以通过调节cAMP信号通路来治疗AD。环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(cAMP responsive element bind protein, CREB)是介导cAMP信号通路级联反应的转录因子,参与调控基因的表达,并具有调节转录活性的能力。AD患者中CREB的表达水平降低, A β 主要通过降低磷酸化的CREB来降低脑源性神经营养因子(BDNF),进而导致AD患者突触功能障碍和认知功能障碍^[23]。上调cAMP/CREB/BDNF通路在改善记忆障碍、治疗AD中发挥重要作用。甘草素能通过抑制ACHE和激活BDNF/ERK/CREB信号通路来调节胆碱能系统^[24]。甘草查尔酮A衍生物通过激活依赖于CREB的BDNF/AKT/ERK和BCL2来抑制细胞存活和抗凋亡,从而对SH-SY5Y细胞起到神经保护作用^[25]。相关研究表明cAMP信号通路与5-羟色胺能突触通路可能存在一定关系。抑制cAMP效应物蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)和由cAMP激活的交换蛋白活性,可减弱5-羟色胺的过度兴奋效应^[26], 5-羟色胺能通过介导5-羟色胺受体能够刺激或抑制AC-cAMP-PKA信号转导通路^[27]。以上分析表明,甘草可通过多成分、多靶点、多通路来治疗AD,并且靶点与通路、通路与通路之间存在一定的联系。

通过网络药理学分析方法及相关文献报道的佐证,我们预测以异甘草素、甘草素为活性成分, CASP3/MAOB/SLC6A4/ACHE为靶点, 5-羟色胺能突触通路为切入点,可进一步探索甘草防治AD所发挥的具体机制。

参考文献:

- [1] 惠怀正. 基于古代医籍数据挖掘的痴呆证治规律研究[D]. 云南中医药大学, 2020.
- [2] BAN J Y, PARK H K, KIM S K. Effect of glycyrrhizic acid on scopolamine-induced cognitive impairment in mice[J]. *Int Neurourol J*, 2020, 24(1):S48-S55.
- [3] 姜懿纳, 罗林明, 陈乃宏. 甘草与神经退行性疾病的相关研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(3):455-460.
- [4] 陈燕婷, 崔理立. 小胶质细胞——阿尔茨海默病中重新回炉的热点[J]. *广东医科大学学报*, 2020, 38(6):641-646.
- [5] CHIU Y J, LEE C M, LIN T H, et al. Chinese herbal medicine glycyrrhiza inflata reduces abeta aggregation and exerts neuroprotection through anti-oxidation and anti-inflammation[J]. *Am J Chin Med*, 2018:1-25.
- [6] DE J R D V, FORLENZA A S, FORLENZA O V. Relevance of gut microbiota in cognition, behaviour and Alzheimer's disease[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 136:29-34.
- [7] YUN, LIU, TIANYU, et al. Diammonium glycyrrhizinate protects against nonalcoholic fatty liver disease in mice through modulation of gut microbiota and restoration of intestinal barrier[J]. *Mol Pharmaceut*, 2018, 15(9):3860-3870.
- [8] HUANG K, LIU Y, TANG H, et al. Glabridin prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity through gut microbiota modulation and colonic macrophage polarization in mice[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:107.
- [9] WAGLE A, SEONG S H, ZHAO B T, et al. Comparative study of selective in vitro and in silico BACE1 inhibitory potential of glycyrrhizin together with its metabolites, 18alpha- and 18beta-glycyrrhetic acid, isolated from *Hizikia fusiformis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(4):409-418.
- [10] PAUDEL Y N, ANGELOPOULOU E, SEMPLÉ B, et al. Potential neuroprotective effect of the HMGB1 inhibitor glycyrrhizin in neurological disorders[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2020, 11(4):485-500.
- [11] JEONG G S, KANG M G, LEE J Y, et al. Inhibition of butyrylcholinesterase and human monoamine oxidase-B by the coumarin glycyrol and liquiritigenin isolated from glycyrrhiza uralensis[J]. *Molecules*, 2020, 25(17):3896.
- [12] YANG W T, ZHENG X W, CHEN S, et al. Chinese herbal medicine for Alzheimer's disease: Clinical evidence and possible mechanism of neurogenesis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 141:143-155.
- [13] RAMALINGAM M, KIM H, LEE Y, et al. Phytochemical and pharmacological role of liquiritigenin and isoliquiritigenin from radix glycyrrhizae in human health and disease models[J]. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10:348.
- [14] SIMUNKOVA M, ALWASEL S H, ALHAZZA I M, et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease[J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(9):2491-2513.
- [15] CHU J, LAURETTI E, PRATICO D. Caspase-3-dependent cleavage of Akt modulates tau phosphorylation via GSK3beta kinase: Implications for Alzheimer's disease[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(7):1002-1008.
- [16] KHAVINSON V, LINKOVA N, KOZHEVNIKOVA E, et al. EDR peptide: Possible mechanism of gene expression and protein synthesis regulation involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Molecules*, 2020, 26(1):159.
- [17] ZHU X, CHEN C, YE D, et al. Diammonium glycyrrhizinate upregulates PGC-1alpha and protects against Abeta1-42-induced neurotoxicity[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35823.
- [18] LEE H K, YANG E J, KIM J Y, et al. Inhibitory effects of glycyrrhizae radix and its active component, isoliquiritigenin, on A β (25-35)-induced neurotoxicity in cultured rat cortical neurons[J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(5):897-904.

- [19] YEUNG A, GEORGIEVA M G, ATANASOV A G, et al. Monoamine oxidases (MAOs) as privileged molecular targets in neuroscience: Research literature analysis[J]. *Front Mol Neurosci*, 2019,12:143.
- [20] 孔卓,孙德萌,陈爱乾,等. 异甘草素衍生物的合成及其抑制单胺氧化酶B的活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2019,44(21): 4653-4660.
- [21] METAXAS A, ANZALONE M, VAITHEESWARAN R, et al. Neuroinflammation and amyloid-beta 40 are associated with reduced serotonin transporter (SERT) activity in a transgenic model of familial Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2019,11(1):38.
- [22] ABE Y, AOYAGI A, HARA T, et al. Pharmacological characterization of RS-1259, an orally active dual inhibitor of acetylcholinesterase and serotonin transporter, in rodents: possible treatment of Alzheimer's disease[J]. *J Pharmacol Sci*, 2003,93(1):95-105.
- [23] AMIDFAR M, DE OLIVEIRA J, KUCHARSKA E, et al. The role of CREB and BDNF in neurobiology and treatment of Alzheimer's disease[J]. *Life Sci*, 2020,257:118020.
- [24] KO Y H, KWON S H, LEE S Y, et al. Liquiritigenin ameliorates memory and cognitive impairment through cholinergic and BDNF pathways in the mouse hippocampus[J]. *Arch Pharm Res*, 2017,40(10):1209-1217.
- [25] LIN T H, CHIU Y J, LIN C H, et al. Exploration of multi-target effects of 3-benzoyl-5-hydroxychromen-2-one in Alzheimer's disease cell and mouse models[J]. *Aging Cell*, 2020,19(7):e13169.
- [26] LOPEZ E R, CARBAJAL A G, TIAN J B, et al. Serotonin enhances depolarizing spontaneous fluctuations, excitability, and ongoing activity in isolated rat DRG neurons via 5-HT4 receptors and cAMP-dependent mechanisms[J]. *Neuropharmacology*, 2020,184:108408.
- [27] SRIVASTAVA A, SINGH P, GUPTA H, et al. Systems approach to identify common genes and pathways associated with response to selective serotonin reuptake inhibitors and major depression risk[J]. *Int J Mol Sci*, 2019,20(8):1993.

HIV合并结核患者CD4⁺T细胞数、抗逆转录病毒治疗时机选择与结核相关免疫重建炎症综合征关系的Meta分析

李晓亮,李佩珠,林娇如,高仲爱,张 璟 (广东省珠海市慢性病防治中心职业卫生科,广东珠海519000)

摘要:目的 系统评价艾滋病合并结核(TB-HIV)患者CD4⁺T细胞数、抗逆转录病毒疗法(ART)治疗时机选择与结核相关免疫重建炎症综合征(TB-IRIS)的关系。方法 检索PubMed和EMBASE数据库1980年1月-2019年12月英文文献,使用R语言Meta程序包V3.3.2进行分析。结果 该次分析共纳入10个RCT研究共5226个研究对象。Meta分析结果显示低CD4⁺T细胞数和早期ART治疗可增加TB-IRIS发生率。结论 CD4⁺T细胞数和接受ART治疗时机可影响TB-IRIS的发生率。

关键词: CD4⁺T细胞; 抗逆转录病毒疗法; 人类免疫缺陷病毒; Meta分析

中图分类号: R 511

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)06-0692-05

Association between CD4⁺T cells, antiretroviral therapy timing and tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV patients with tuberculosis: a Meta analysis

LI Xiao-liang, LI Pei-zhu, LIN Jiao-ru, GAO Zhong-ai, ZHANG Jing (Department of Occupational Health, Zhuhai Center for Chronic Disease Control, Zhuhai 519000, China)

Abstract: Objective To evaluate the association between CD4⁺T cells, antiretroviral therapy (ART) timing and tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome (TB-IRIS) in HIV patients with tuberculosis using a Meta analysis. Methods The English literatures between January 1980 and December 2019 were retrieved on PubMed and

基金项目: 珠海市医学科研项目(No.ZH3310200038PJL)

收稿日期: 2021-03-01; 修订日期: 2021-06-09

作者简介: 李晓亮(1988-),男,硕士,主治医师