

· 综述 ·

网络药理学研究方法与应用进展

薛潇春, 胡晋红 (第二军医大学附属长海医院药学部, 上海 200433)

[摘要] 网络药理学是近年来研究较热的一门新兴的药理学分支学科。以其“多基因,多靶点”的特点与复杂疾病的治疗理念相吻合。区别于传统繁复的药理学实验方法,网络药理学以其独特的研究方法获取药物与靶点相关的信息,既节省时间又节省费用。该文通过检索中国知网和 PubMed 数据库,从网络构建、网络分析、实验验证 3 个方面介绍了网络药理学研究方法,并阐述其应用进展,为深入研究药理学领域拓展新的思路。

[关键词] 网络药理学;生物网络;网络构建;网络分析

[中图分类号] R96 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)05-0401-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.05.005

Research methods and applications in network pharmacology

XUE Xiaochun, HU Jinhong (Department of Pharmacy, Changhai Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Recently, network pharmacology was a pop emerging pharmacology branch. The theory of "multi-gene, multi-target" about network pharmacology was consistent with treatment of complex disease. Different from the traditional experimental methods about pharmacology, the research methods of network pharmacology uniquely obtain the information of drugs and relative targets with less time and less money. In this paper, according to the searching of China Knowledge Resource Integrated Database and PubMed, three aspects about research methods of network pharmacology together with its applications were introduced: network construction, network analysis and experimental validation. The introductions of the methods gave us a new vision in researching the field of pharmacology deeply.

[Key words] network pharmacology; biological network; network construction; network analysis

网络药理学(network pharmacology)的概念由英国药理学家 Hopkins 于 2007 年首次提出,并定义为一门以系统生物学和多向药理学为理论基础,利用生物分子网络分析方法,选取特定节点进行新药设计和靶点分析的药理学分支学科^[1,2]。随着现代文明的发展,人类疾病谱发生了很大变化,据 2013 年中国卫生年鉴统计显示,目前威胁我国人民健康排名前几位的疾病是肿瘤、心脑血管疾病、糖尿病等复杂疾病。复杂疾病的发生及发展涉及到机体调控网络中多个基因和信号通路^[3]。生物体内各条信号传导通路组成了错综复杂的信号网络,阻断其中任何一条通路将会引起其他通路反馈性地激活或抑制。网络药理学以其“多基因、多靶点”的特点与复杂疾病的治疗理念相吻合,通过阐述药物-靶点-

基因-疾病之间的复杂网络关系,进行新药研发和药物作用机制研究。由于是从网络获取数据进行分析,不需消耗大批实验材料与试剂进行探索性研究,因此,网络药理学研究方法可以大大节省科研时间和费用。

笔者结合已发表的网络药理学文章,介绍网络药理学研究方法及应用进展,为深入研究药理学领域拓展新的思路。

1 数据基础

从中国知网(<http://www.cnki.net/>)里检索“关键词”为“网络药理学”的所有文献,从 PubMed 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)里检索“Title/Abstract”为“network pharmacology”的所有文献(检索时间段为 2009 年 1 月 1 日至 2014 年 5 月 7 日)。检索结果共得 180 篇文献,其中中国知网数据库含 83 篇,PubMed 数据库含 97 篇。由图 1 可以看出,自 2009 年起有关网络药理学的文献逐年递增,2012 年增加比较明显。根据本文

[作者简介] 薛潇春,硕士研究生,主管药师.研究方向:皮肤药理学. Tel:13921138342;E-mail:windsnow007@163.com

[通讯作者] 胡晋红,硕士,主任药师.研究方向:皮肤药理学. Tel:(021)31162302;E-mail:hjhong@126.com

研究内容,从 180 篇文献里筛选涉及药物(或化合物)及其相关疾病网络药理学研究方法(或步骤)的文献,共得到 56 篇文献,以此作为数据基础,探讨网络药理学的研究方法及应用进展。

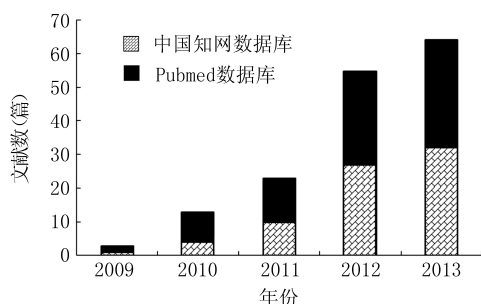


图1 2009—2013年发表的有关网络药理学的文献数

2 网络药理学的研究方法

2.1 生物网络的构建

网络药理学的研究离不开生物网络的构建。生物网络是采用数学领域图论的研究手段,借助复杂网络的研究方法,将生物体中各种物质及其相互作用加以抽象,如将构成系统内的各个组分抽象成节点,他们之间的联系或相互作用关系描绘成边,由节点和边构成的图就是网络,最后组成一个包含多个体、多层次相互作用的复杂网络。包括生物分子为基础的蛋白质相互作用网络、信号通路网络、代谢网络、基因调控网络、miRNA 网络、生物过程网络、组织网络等^[3,4]。

2.1.1 网络的数据来源

生物网络的数据来源主要有两种:一种是基因芯片、蛋白质芯片、测序技术等高通量分析结果,化学信息学知识及其他实验数据。另一种是对已知公认数据库的文本挖掘。对本文研究文献进行整理,共得 108 个数据库,将所得数据库按出现频率排序,频率 ≥ 5 的数据库列表介绍(表 1)。这些数据库包括:通路信息数据库(KEGG, PharmGkb, Reactome)、药物靶点数据库(Drugbank, TTD)、结构信息数据库(RCSB PDB, Pubchem)、蛋白质相互作用数据库(HPRD, MINT, BioGRID, DIP)、基因信息数据库(GO, OMIM, DAVID)和蛋白质序列和功能数据库(UniProt)。在实际运用中,两种来源的数据会同时出现在网络药理学研究中。

2.1.2 网络的可视化工具

生物网络构建的方式目前有 2 种:一种是在公共数据库中提供的代谢网络和基因调控网络图等(如 KEGG)基础上进行修改。另一种是在获取节点间连接强度数据后,采用网络可视化和分析工具构建新的网络图。常用的网络可视化和分析工具包括 Cytoscape, IPA, NAVi-

GaTOR, Pajek, GUESS, NetworkX, Osprey, Net-Miner, QuACN, Multinet, UCINET 等。本文研究文献中使用最多的是 Cytoscape 软件。Cytoscape 软件是一款整合了网络注释、基因表达谱和其他数据集,将分子相互作用、生物学通路可视化的软件工具^[5]。这款软件功能强大,既可以实现网络可视化,又可以进行网络分析。由于其更新速度快且免费使用,在实际科研工作中使用较多。

2.1.3 网络的类型

网络的节点包括基因、通路、疾病、化合物、蛋白质结构域、生物学进程、蛋白质、代谢物、药物、内源性小分子等。边代表的相互作用包括实验测定理化相互作用、基因调控相互作用、基因共表达等其他相互作用。不同的节点和边构成了丰富的生物网络(见表 2)。由表 2 可见共有 20 种网络类型,75 个网络数目,平均每篇文献包含网络数目 1.3 个。其中构建最多的是药物-靶点网络。通过对药物-靶点网络的构建,结合基因功能注释,可以有效预测到具有重要生物学功能的靶点信息。

2.2 网络的分析方法

网络分析通常包括:网络拓扑学信息计算、随机网络生成和比较以及网络分层和聚类^[6]。常用的网络拓扑学分析内容包括度(degree)、介数(betweenness)、最短路径(shortest path)、瓶颈(bottleneck)、中心节点(hub)、模块(module)、楔点(choke point)^[7-9]等(图 2)。

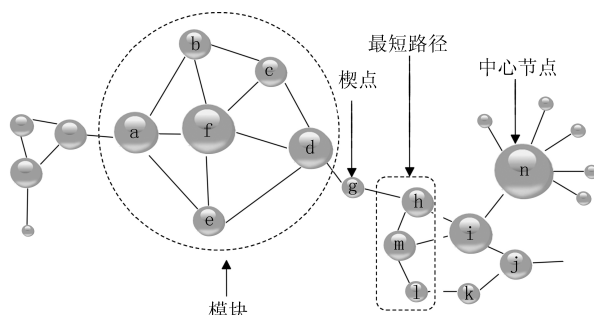


图2 网络拓扑分析示意图

注:1.图中球形代表节点,英文字母标注显示不同的节点,球的直径大小与度值成比例。2.图中直线代表边

图 2 显示:n 的节点度最大,为网络的中心节点。节点 a、b、c、d、e、f 之间的连接紧密,构成一个模块。节点 g 为网络的楔点,只需较少能量就可攻击到,但对网络能产生较大的影响。节点 h 到 l 之间有 hml、himl、hijkl、hmijkl 4 条路径,其中 hml 之间的距离最小,被称为最短路径。在生物网络中,大多数节点度较小,而一小部分节点度很大,度值大的节点被认为是中心节点。介数是网络中所有最短路径中经过该节点的路径的数目占最短路径总数的比

表1 文献出现频率≥5次的网络药理学数据库

数据库名称	频率(次)	描述
DrugBank	27	关于药物、靶点和通路的生物信息学和化学信息学数据库
KEGG	21	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), 京都基因与基因组百科全书, 通过基因组测序和高通量实验方法获取海量的分子数据集, 从分子水平上了解包括细胞、有机体和生态系统在内的生物系统功能
RCSB PDB	21	the Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB), RCSB 蛋白质数据银行提供了生物大分子物质的结构信息。大分子物质包括实验室测定的蛋白、核酸及两者复合物
TTD	12	Therapeutic Target Database (TTD), 治疗靶点数据库, 通过已发表文献数据提供已知治疗蛋白和核酸靶点信息、靶向疾病信息、信号通路信息和直接作用于这些靶点的药物信息, 同时还提供与其他数据库的交叉连接
HPRD	11	Human Protein Reference Database (HPRD), 人类蛋白参考数据库, 一个研究蛋白质相互作用的数据库。该数据库可视化地展示和整合了结构域信息、翻译后修饰信息、相互作用网络信息和人类蛋白组中每个蛋白相关疾病信息数据平台
PubChem	11	the PubChem Database (PubChem), 有关有机小分子生物活性数据。数据库目前由美国国家生物技术信息中心维护, 存储了大量小分子化合物的结构和生化实验数据
GO	10	the Gene Ontology (GO), 基因本体论是重要的生物信息学来源, 通过提供限定的术语词汇来描述基因产物特征和基因产物注释数据, 目的是将来自不同物种和不同数据库的基因和基因产物标准化
OMIM	9	Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), 在线人类孟德尔遗传, 持续更新的关于人类基因和遗传信息的数据库。OMIM 是基因组学基础知识的来源, 链接了大量生物信息学数据, 能够让临床医生和生物化学研究者深入理解人类表型和疾病信息
DAVID	7	the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) 用于注释、可视化和整合生物信息资源的数据库。提供功能注释去理解基因列表的生物学意义
MINT	7	the Molecular INTeraction database 分子相互作用数据库, 经试验验证过的蛋白质相互作用
UniProt	7	Universal Protein (UniProt), 是提供蛋白质序列和功能信息的数据库。包括 UniProt Knowledgebase (UniProtKB)、UniProt Reference Clusters (UniRef) 和 UniProt Archive (UniParc) 3 个数据库
BioGRID	5	Biological General Repository for Interaction Datasets (BioGRID), 从模式生物和人类上提供蛋白相互作用数据
DIP	5	Database of Interacting Proteins (DIP), 蛋白质相互作用数据库是依据实验测定数据来源的蛋白质相互作用资源库
PharmGkb	5	Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGkb), 药物基因组学数据库为临床医生提供给药剂量指导, 潜在的基因与药物关系, 基因型和表型关系的数据。研究基因突变如何影响药物反应
Reactome	5	the Reactome Knowledgebase (Reactome) 一种免费的通过同行评审的关于通路的公共资源数据库。利用生物信息学工具去可视化、理解和分析通路知识来用于基础研究, 基因组分析, 建模, 系统生物学和教育

表2 网络药理学文献中涉及到的生物网络类型和数量

关联性	节点1	节点2	节点3	数量
2种	药物	靶点	—	31
		化合物	—	7
		蛋白结构域	—	1
	基因	靶点	—	4
		通路	—	1
	靶点	靶点	—	2
		通路	—	1
		疾病	—	6
	蛋白	蛋白	—	8
		化合物	—	1
	化合物	通路	—	1
		生物学过程	—	1
疾病		—	2	
通路	疾病	—	1	
	代谢物	—	1	
蛋白结构域	蛋白结构域	—	1	
	靶点	—	1	
3种	化合物	靶点	疾病	2
		靶点	通路	2
		疾病	生物学过程	1
	基因	疾病	基因	1
		疾病	影响因素	1

例。一个节点的介数值越大, 流经它的数据分组越多, 意味着它更容易拥塞, 成为网络的瓶颈, 是网络的关键节点。网络分析中关注最多的是度和介数, 高的度值和介数值节点是新药发现和靶点预测的重点。本文所用文献大部分是基于 Cytoscape 软件的 Network Analysis 工具来进行网络分析的。在网络分析中, 往往将整个网络划分为亚组进行分析。亚组分析方法是基于图论和聚类的数学分析方法, 包括 BK, K-core, IPCA, CPM, SA 等算法^[9]。网络生成和比较方法在网络分析中也十分有用, Li 等^[10]发现中药靶点与特定疾病基因间的平均最短路径距离 (ASPD) 显著小于中药靶点与随机选择疾病基因间的 ASPD, 这个发现证实了中药治疗特定疾病的合理性。

2.3 实验验证预测结果 网络药理学是基于网络分析的方法得到结果, 为验证其方法的可靠性, 可进

一步进行实验确证。验证方法包括体内实验和体外实验 2 种。张新庄等^[11]利用网络药理学方法预测热毒宁注射液抗流感病毒的分子作用机制,并通过体外流感病毒神经氨酸酶筛选模型对网络预测结果进行验证,结果表明具有高节点度和高介数的木犀草素呈现较强的抑制作用,高节点度和低介数的槲皮素呈现较弱的抑制作用,充分证实节点度和介数在预测网络关键节点时的重要作用。Sheng 等^[12]运用网络药理学的方法分析了复方血栓通胶囊抗血栓的药理学机制。揭示了复方活性成分在凝血、纤溶和血小板聚集方面发挥的作用。并使用 LPS 诱导的 DIC 大鼠模型验证了复方血栓通胶囊能够显著抑制凝血系统的激活,发挥抗血栓的作用。

3 网络药理学的应用进展

网络药理学已经在很多方面得到应用,如表 3 所示。

表 3 网络药理学的应用

应用实例	疾病/药物	文献数量	合计
疾病治疗的药理学机制研究	流感病毒	1	37
	银屑病	2	
	慢性肾病	1	
	气道炎症	4	
	痛经	1	
	心血管疾病	12	
	糖尿病	2	
	类风湿关节炎	5	
	神经系统疾病	4	
	癌症	5	
	疾病的发病机制	脑部疾病	
丙型肝炎		1	
耳鸣		1	
新药发现	偏头痛	1	4
	心脑血管疾病	2	
	成瘾性	1	
中西药作用机制的比较	肾病	1	1
疾病影响因素的探讨	肺癌	1	1
药物作用机制的探讨	复方丹参方	1	8
	六味地黄丸	2	
	托彻普	1	
	附子	2	
	大黄酸	1	
	调脾护心方	1	
药物的重定位	法舒地尔	1	1

笔者将其应用分为 7 类,其中对疾病治疗的药理学机制研究的应用最多,共有 37 篇文献,而在相关疾病研究中,心血管疾病方面的文献数量最多,这与心血管疾病的复杂发病机制有关。Zheng 等^[13]运用反向网络靶点筛选(reverse Network Targeting and Screening, rNTS)(一种基于靶点的药物发现方法,包括网络分析、药物靶向、模拟生物体 ADME 筛选和实验验证),从天然产物中筛选出 salvianolic acid A、salvianolic acid B、rosmarinic acid、licochalcone A、curcumin 5 种作用于心血管疾病的多靶点药物(multi-target drugs)。Li 等^[14]运用基于网络的靶点预测回归模型 drugCIPHER,揭示葛根苓莲汤剂治疗 2 型糖尿病的 19 个活性成分,并表明其作用机制。另外,随着人们对药物作用机制不断有新的发现,网络药理学逐渐成为研究药物重定位的有效方法。

当然,网络药理学的方法本身也存在部分不足。网络数据库需要通过不断的更新来完善信息的完整性;各类数据资源的实验环境不同,带来数据可比性、准确性的疑义;数据资源本身方法的可靠性,如基因芯片^[15]寻找疾病生物标记物时,样本量小没有生物学意义,某些中等表达的生物标记物可能被忽略等等。尽管如此,不断出现的新方法策略为网络药理学研究的可行性增加说服力。Engin 等^[16]在原有的“节点攻击”和“边的攻击”上提出了“界面攻击”的说法。界面攻击是指攻击一组或多组具有结构上相似界面的蛋白-蛋白相互作用。在生物系统网络中,攻击界面比攻击单个节点更能引起功能改变。Engin 举例说明了药物阻断 CDK6 和 CDKN2D 界面时也能影响 CDK4 和 CDKN2D 的相互作用。“界面攻击”说法的提出为网络药理学研究带来新的方向。

随着大数据时代的到来,怎样充分挖掘网络信息知识,给我们每个人带来挑战。结合丰富的网络信息和迫切的医疗科研需要,我们可以充分发挥网络药理学研究方法的优点。在实际科研工作中可以从这两个角度出发:①基于疾病:通过网络数据库和文本挖掘方法寻找靶点。同时运用化学信息学手段、计算机预测和数据库查寻方法,寻找新药或药物组合方案。②基于药物(主要是中药):通过网络数据库、文本挖掘知识和计算机预测获取活性成分与靶点信息,构建化合物-靶点网络,分析网络,探讨中药的药理学作用机制。伴随着中药现代化的发展,网络药理学在中药研究方面显示着不可比拟的优越性,为中药药理学发展带来蓬勃生机。

随着大数据时代的到来,怎样充分挖掘网络信息知识,给我们每个人带来挑战。结合丰富的网络信息和迫切的医疗科研需要,我们可以充分发挥网络药理学研究方法的优点。在实际科研工作中可以从这两个角度出发:①基于疾病:通过网络数据库和文本挖掘方法寻找靶点。同时运用化学信息学手段、计算机预测和数据库查寻方法,寻找新药或药物组合方案。②基于药物(主要是中药):通过网络数据库、文本挖掘知识和计算机预测获取活性成分与靶点信息,构建化合物-靶点网络,分析网络,探讨中药的药理学作用机制。伴随着中药现代化的发展,网络药理学在中药研究方面显示着不可比拟的优越性,为中药药理学发展带来蓬勃生机。

【参考文献】

[1] Hopkins AL. Network pharmacology [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25(10):1110-1111.
 [2] Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in

- drug discovery[J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11):682-690.
- [3] Barabasi AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease[J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(1):56-68.
- [4] Satoh JI. Molecular network of microRNA targets in Alzheimer's disease brains[J]. Exp Neurol, 2012, 235(2):436-446.
- [5] Lopes CT, Franz M, Kazi F, et al. Cytoscape web: an interactive web-based network browser[J]. Bioinformatics, 2010, 26(18):2347-2348.
- [6] 周文霞,程肖蕊,张永祥. 网络药理学:认识药物及发现药物的新理念[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(1):4-9.
- [7] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: theory, methodology and application[J]. Chin J Nat Med, 2013, 11(2):110-120.
- [8] Azmi AS. Adopting network pharmacology for cancer drug discovery[J]. Curr Drug Discov Technol, 2013, 10(2): 95-105.
- [9] Yang M, Chen JL, Xu LW, et al. Navigating traditional Chinese medicine network pharmacology and computational tools[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 731969.
- [10] Li S, Zhang B, Jiang D, et al. Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of traditional Chinese herbal formulae[J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11(suppl 11):S6.
- [11] 张新庄,萧伟,徐筱杰,等. 利用网络药理学方法研究热毒宁注射液抗流感病毒的分子作用机制[J]. 物理化学学报, 2013, 29(7):1415-1420.
- [12] Sheng SJ, Wang JX, Wang LR, et al. Network pharmacology analyses of the antithrombotic pharmacological mechanism of Fufang Xueshuantong Capsule with experimental support using disseminated intravascular coagulation rats[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 154(3): 735-744.
- [13] Zheng CL, Wang JN, Liu JL, et al. System-level multi-target drug discovery from natural products with applications to cardiovascular diseases[J]. Mol Divers, 2014, 18(3): 621-635.
- [14] Li HY, Zhao LH, Zhang B, et al. A network pharmacology approach to determine active compounds and action mechanisms of ge-gen-qin-lian decoction for treatment of type 2 diabetes[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014: 495840.
- [15] Fan X, Shi L, Fang H, et al. DNA microarrays are predictive of cancer prognosis: a reevaluation[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(2): 629-636.
- [16] Engin HB, Keskin O, Nussinov R, et al. A strategy based on protein-protein interface motifs may help in identifying drug off-targets[J]. J Chem Inf Model, 2012, 52(8): 2273-2286.
- [收稿日期] 2014-08-31 [修回日期] 2014-11-26
[本文编辑] 顾文华

(上接第391页)

- [17] 李冰. Nrf2 信号通路及其分子调控机制[J]. 国外医学(医学地理分册), 2012, 33(3): 148-150.
- [18] Cui GZ, Shan LC, Hung MW, et al. A novel Danshensu derivative confers cardioprotection via PI3K/Akt and Nrf2 pathways[J]. Int J Cardiol, 2013, 168(2):1349-1359.
- [19] 顾明,吴兴文,李芳萍,等. 丹参素对大鼠心室肌动作电位、L-型钙电流和ATP敏感性钾电流的作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 19(1): 1-5.
- [20] 钱为民,邓春玉,薛玉梅,等. 丹参素对豚鼠心室肌细胞L-型钙通道的影响[J]. 岭南心血管病杂志, 2002, 8(4): 276-278.
- [21] 赵艳威,谢文利,孙文军,等. 丹参素对豚鼠心室肌细胞钠电流的影响[J]. 武警医学院学报, 2005, 14(4): 256-257.
- [22] 张洁,曾晓荣,杨艳,等. 丹参素对猪冠脉平滑肌细胞钙激活钾通道的作用[J]. 基础医学与临床, 2005, 25(11): 1054-1057.
- [23] 董六一,陈志武. 心肌缺血/再灌注损伤与炎症反应[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(5): 582-588.
- [24] Guan Y, Yin Y, Zhu YR, et al. Dissection of mechanisms of a Chinese medicinal formula Danhong injection therapy for myocardia ischemia reperfusion injury *in vivo* and *in vitro*[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013(2): 1-124.
- [25] 权伟,周丹,郭超,等. 丹参素钠通过抑制炎症反应对心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中南药学, 2012, 12: 885-888.
- [26] 姜开余,顾振纶,阮长耿. 丹参素对CD11b、P-selectin、ICAM-1、VCAM-1、E-selectin表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2000, 16(6): 682-685.
- [27] Ridder DA, Schwanager M. NF- κ B signaling in cerebral ischemia[J]. Neuroscience, 2009, 158(3): 995-1006.
- [28] Liu XH, Pan LL, Jia YL, et al. A novel compound DSC suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by inhibition of Akt/NF- κ B signaling in macrophages[J]. Eur J Pharmacol, 2013, 708(1): 8-13.
- [29] Xie XN, Wang SX, Xiao L, et al. DBZ blocks LPS-induced monocyte activation and foam cell formation *via* inhibiting nuclear factor- κ B[J]. Cell Physiol Biochem, 2011, 28(4): 649-662.
- [30] Yang GD, Zhang H, Lin R, et al. Down-regulation of CD40 gene expression and inhibition of apoptosis with Danshensu in endothelial cells[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2009, 104(2): 87-92.
- [收稿日期] 2013-12-23 [修回日期] 2014-04-18
[本文编辑] 陈静