

· 中药药理与质量 ·

## 基于网络药理学探讨热毒宁注射液治疗登革热的分子机制

吴鹏<sup>1</sup>, 江勇<sup>2</sup>, 郑文江<sup>1</sup>, 赖艳妮<sup>1</sup>, 黄秀芳<sup>1</sup>, 庄轰发<sup>3</sup>, 詹少锋<sup>3</sup>, 刘小虹<sup>3</sup>  
(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东广州 510405; 2. 深圳市中西医结合医院, 广东深圳 518104;  
3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405)

**摘要:**【目的】基于网络药理学探讨热毒宁注射液治疗登革热的分子机制。【方法】收集文献报道的热毒宁注射液活性成分, 并通过瑞士靶点预测(SwissTargetPrediction)数据库预测上述成分的作用靶点; 通过人类基因数据库(GeneCards)、人类孟德尔遗传在线数据库(OMIM)、治疗靶点数据库(TTD)、比较毒理学数据库(CTD)收集登革热的主要靶点; 取药物-疾病交集靶点, 利用STRING数据库和Cytoscape 3.7.1软件构建关键靶点蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络, 根据关键靶点网络节点度值筛选出关键药效成分; 将交集靶点上传至Metascape平台进行基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析, 结合文献调研及关键靶点筛选出关键通路。【结果】热毒宁注射液共有31个活性成分作用于154个登革热靶点, 依据节点度值筛选出29个关键靶点, 并由此筛选出8个关键活性成分; GO和KEGG富集分析分别得到1501个、142个条目, 筛选出5条关键通路。【结论】热毒宁注射液治疗登革热可能通过作用GAPDH、AKT1、TNF、MAPK、CASP-3等关键靶点, 调节缺氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、核因子kappaB(NF-κB)信号通路、白细胞跨内皮迁移、黏附连接和线粒体自噬等关键信号通路, 发挥抗病毒、抗炎、调节免疫、调节凝血和纤溶、调节能量代谢、调节脂质代谢等作用。

**关键词:** 热毒宁注射液; 登革热; 抗病毒; 抗炎; 免疫调节; 信号通路; 网络药理学

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2022)01-0143-09

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.01.025

## Exploration of Molecular Mechanism of *Reduning* Injection in the Treatment of Dengue Fever Based on Network Pharmacology

WU Peng<sup>1</sup>, JIANG Yong<sup>2</sup>, ZHENG Wen-Jiang<sup>1</sup>, LAI Yan-Ni<sup>1</sup>, HUANG Xiu-Fang<sup>1</sup>,  
ZHUANG Hong-Fa<sup>3</sup>, ZHAN Shao-Feng<sup>3</sup>, LIU Xiao-Hong<sup>3</sup>

(1. The First Clinical Medical School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Shenzhen Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shenzhen 518104 Guangdong, China; 3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To explore the molecular mechanism of *Reduning* Injection in treating dengue fever based on network pharmacology. **Methods** The active constituents of *Reduning* Injection reported in literatures were collected, and the targets of the above constituents were predicted by SwissTargetPrediction database. The main targets of Dengue fever were collected by GeneCards, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Therapeutic Target Database (TTD), and the Comparative Toxicogenomics Database (CTD). The targets of drug-disease intersection were achieved to construct the protein-protein interaction (PPI) network using STRING database and Cytoscape 3.7.1 software, and then the key pharmacodynamic components were screened out according to the node degree value of the PPI network. The obtained intersection targets were uploaded to Metascape platform for analysis of gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG),

收稿日期: 2021-01-25

作者简介: 吴鹏(1994-), 男, 硕士研究生, 医师; E-mail: wupeng@stu.gzucm.edu.cn

通讯作者: 詹少锋, 男, 博士, 副主任医师; E-mail: zsfstone@126.com

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(编号: 2020B1111100002); 广东省自然科学基金资助项目(编号: 2017A030310129); 广州中医药大学第一附属医院国家临床医学研究中心建设项目(编号: 2110200309); 广州中医药大学“双一流”与高水平大学学科协同创新团队项目(编号: 2021XK16); 广州中医药大学科研团队培育项目(编号: 2019KYTD102)

and then the key pathways were screened out by literature research and key targets. **Results** There were 31 active constituents in *Reduning* Injection acting on 154 dengue fever targets. According to node degree, 29 key targets were screened out, and 8 key active constituents were obtained. GO and KEGG enrichment analysis results showed 1 501, 142 items, and 5 key pathways. **Conclusion** The treatment of dengue fever with *Reduning* injection plays a role in anti-virus, anti-inflammation, immune regulation, coagulation and fibrinolysis regulation, energy metabolism regulation and lipid metabolism regulation through acting on possible key targets such as GAPDH, AKT1, TNF, MAPK and CASP-3, and regulating hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) signaling pathway, nuclear factor-kappaB (NF- $\kappa$ B) signaling pathway, leucocyte transendothelial migration, adhesion junctions and mitochondrial autophagy.

**Keywords:** *Reduning* Injection; Dengue fever; anti-virus; anti-inflammation; immune regulation; signaling pathway; network pharmacology

登革热(Dengue fever)是感染登革病毒(Dengue virus)引起的一种急性传染病,广泛流行于全球热带及亚热带地区,主要通过蚊媒传播。据世界卫生组织(WHO)<sup>[1-2]</sup>统计,登革热在过去的50年间发病率增加了30倍,全球约有25亿人口面临登革热感染风险,各成员国报告的病例数高达320万人。随着全球变暖,其流行范围有向温带和寒带扩散的趋势,日益频繁的国际交流和经贸合作也为输入性疫情防控带来了严峻挑战。

登革病毒可分为4种血清型,各血清型之间、登革病毒与其他黄病毒属病毒之间具有交叉反应。其发病机制尚不明确,但多认为与抗体依赖的增强感染作用(ADE)、细胞因子风暴、宿主遗传多态性、病毒分子、先前感染病史等因素有关<sup>[3-4]</sup>,给抗病毒治疗药物和疫苗的研发带来了极大的挑战。由于缺乏有效的抗病毒治疗药物,目前临床上治疗登革热以对症支持为主<sup>[5]</sup>。首个获批上市的疫苗存在增加罹患重症登革热的风险,仅推荐用于流行地区既往感染的人群使用,无法满足防治需要<sup>[2]</sup>。因此,开发天然的中草药可为相关研究提供新的思考方向。

热毒宁注射液是由青蒿、金银花、栀子组成的中药注射液制剂,具有清热、疏风、解毒作用,临床上被广泛应用于感染性急症的治疗。作为国家二类新药,已被多部国家卫生部发布的诊疗指南收录,用于登革热、甲型H1N1流感、人感染H7N9禽流感、足口病和新型冠状病毒肺炎等病毒性传染病的救治<sup>[6-7]</sup>。证据显示,热毒宁注射液治疗普通型登革热,不仅在缩短发热时间、改善

白细胞和血小板水平、提高痊愈率方面具有显著优势,而且安全性良好<sup>[8]</sup>。鉴于中药多成分、多靶点、多途径的作用特点及网络药理学的系统整合研究方法<sup>[9]</sup>,本研究试从网络药理学角度分析热毒宁注射液治疗登革热的分子机制,以期为进一步研究提供科学依据,现将研究结果报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 药效成分及作用靶点的收集 首先收集公开报道的热毒宁注射液药效成分<sup>[10-11]</sup>,然后将化合物名称输入 PubChem 数据库(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>),下载其2D结构SDF文件,并将文件逐一上传至 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstarget-prediction.ch/>),限定物种为人,以CSV文件格式下载数据库预测的各个药效成分靶标基因,剔除Probability为0的靶点后,将所有成分-靶点整合至一张Microsoft Excel表格备用。

1.2 登革热相关靶点收集 以“dengue”为检索词在CTD (<http://ctdbase.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)中获取登革热相关基因,将所有基因整合至Excel表格,删重备用。

1.3 关键靶点蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络构建 将“1.1”和“1.2”项获得的药物靶点和疾病靶点分别上传至 Draw Venn Diagram (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)绘制韦恩图,并获取交集靶点基因列表。将交集靶点列表上传至 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>, Version 10.5)。限定物种为人,获取靶蛋白之间的

作用关系, 并将结果保存为 TSV 文件格式, 将文件导入 Cytoscape 3.7.1 可视化得到初始 PPI 网络。用其工具 Network Analyzer 对该网络进行拓扑分析, 根据节点度(Degree)值的2倍中位数筛选出关键靶点, 隐藏其余靶点, 并可视化展示。

**1.4 药效成分-交集靶点网络构建及关键药效成分筛选** 将“1.1”和“1.3”项获得的药效成分靶点与交集靶点相互映射, 通过 Cytoscape 3.7.1 构建药物活性成分-交集靶点网络。利用网络的筛选功能, 在交集靶点中展示“1.3”项获得的关键靶点, 并反向筛选出关键靶点对应的药效成分, 作为关键药效成分。

**1.5 基因本体论(GO)富集分析及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析** 将交集靶点上传至 Metascape (<http://metascape.org/gp/index.html#/>

main/step1)。限定物种为人, 选择“自定义分析(custom analysis)”, 分别进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。其中, GO 富集分析包括生物过程(biological process)、分子功能(molecular function)和细胞组分(cellular component)3个模块; KEGG 通路分析设定  $P < 0.01$ , 以确定交集靶点富集通路, 进一步去除其他疾病信号通路, 筛选出关键靶点富集较多的通路作为关键通路。

## 2 结果

**2.1 热毒宁注射液药效成分** 本研究通过对文献的收集整理, 得到热毒宁注射液化学成分72个, 最终在 PubChem 数据库检索到32个成分, 结果见表1。

表1 热毒宁注射液药效成分信息

Table 1 Information on pharmacodynamic constituents of Reduning Injection

编号	活性成分	PubChem CID	编号	活性成分	PubChem CID
Mol1	京尼平苷	137 706 142	Mol17	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	6 474 310
Mol2	京尼平苷酸	443 354	Mol18	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	10 075 681
Mol3	马钱子苷半缩醛内酯	101 939 796	Mol19	4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸	6 474 309
Mol4	7-表-马钱子苷半缩醛内酯	102 183 193	Mol20	4,5-O-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	460 892
Mol5	(Z)-aldosecologanin	6 440 698	Mol21	5-O-咖啡酰基奎宁酸	5 280 633
Mol6	肥牛木素	102 004 693	Mol22	4-O-咖啡酰基奎宁酸	9 798 666
Mol7	5'-甲氧基异落叶松树脂醇	14 521 669	Mol23	3,4-O-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	5 281 780
Mol8	落叶脂素	11 711 453	Mol24	反式咖啡酸	689 043
Mol9	异落叶松脂素	1 023 563	Mol25	反式阿魏酸	445 858
Mol10	香豆素	323	Mol26	丁香酸	10 742
Mol11	东莨菪内酯	5 280 460	Mol27	苯甲酸	243
Mol12	异鼠李素	5 281 654	Mol28	香草醛	1 183
Mol13	槲皮素	5 280 343	Mol29	4-hydroxy-2-nonenic acid	10 442 150
Mol14	芦丁	5 280 805	Mol30	莫诺苷	11 228 693
Mol15	金丝桃苷	5 281 643	Mol31	獐牙菜苷	161 036
Mol16	木犀草素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	5 280 445	Mol32	(E)-aldosecologanin	45 783 101

**2.2 药物靶点和疾病靶点收集** 经 SwissTargetPrediction 数据库预测, 32个化合物共获得1 350个靶点, 删重后得到410个。以“dengue”为检索词, 分别在 CTD 得到 2 675 个、GeneCards 735 个、OMIM 24个、TTD 3个靶点基因, 删重后得到3 219个靶点。

**2.3 关键靶点 PPI 网络构建** 将上述药物靶点与疾病靶点上传至 Draw Venn Diagram 获得两者交集的靶点 154 个, 见图 1-A。将 154 个交集靶点上传至 STRING 平台, 获得 PPI 网络 TSV 文件, 再导入

Cytoscape 3.7.1 软件得到初始 PPI 网络, 经 Network Analyzer 拓扑分析后将结果导出至 Excel 2016, 按照度值降序排列 154 个靶点, 计算得到所有节点的度值的 2 倍中位数为 44, 由此筛选出度值  $\geq 44$  的关键靶点 29 个。返回 Cytoscape 中的初始网络, 利用其筛选和隐藏功能, 构建出关键靶点 PPI 网络, 见图 1-B。

**2.4 药效成分-交集靶点网络构建及关键药效成分筛选** 将热毒宁注射液的 31 个成分[苯甲酸

(Mol27)无交集靶点, 弃去]与154个交集靶点导入 Cytoscape 进行网络构建和可视化, 并筛选出关键靶点对应最多的成分为关键成分, 见图1-C。如图所示, 热毒宁注射液活性成分与交集靶点网络图共包含185个节点, 503条边。菱形节点代表热毒宁注射液活性成分, 圆形节点代表交集靶点, 黄色节点代表筛选出的关键靶点及关键药效成分, 节点越大表示该节点的度值越大, 在网络中可能发挥枢纽作用。31个成分中有27个与关键靶点相互作用, 选取与关键靶点作用最多的8个成分进行展示, 分别为异落叶松脂素(Mol9)、木犀草素(Mol16)、反式咖啡酸(Mol24)、5'-甲氧基异落叶松脂醇(Mol7)、落叶脂素(Mol8)、异鼠李素(Mol12)、槲皮素(Mol13)和反式阿魏酸(Mol25), 各作用于10、10、8、7、7、7、7、7个关键靶点, 可能是热毒宁注射液发挥治疗作用的重要物质基础。

**2.5 GO富集分析及KEGG通路分析** GO富集分析得到条目1501个( $P < 0.05$ ), 其中生物过程条目1388个, 细胞成分条目30个, 分子功能条目83个。选取排名前20位的GO条目绘制柱状图, 见图1-D~F。

GO富集分析结果显示: 生物过程分析中富集靶点较多的有转移酶活性的正调控、对氧化应激的反应、对细菌来源分子的反应、活性氧代谢过程、细胞因子产生的正调控、细胞对氮化合物的反应、对创伤的反应和肽酰丝氨酸修饰等; 细胞组分分析中富集靶点较多的有膜筏、胞质囊腔、膜侧、局灶性黏附、突触后、胞质核周区、细胞外基质和线粒体外膜等; 分子功能分析中富集靶点较多的有以醇基为受体的磷酸转移酶活性、激酶结合、蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白质结构域特异性结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、血红素结合、丝氨酸水解酶活性和热休克蛋白结合等。

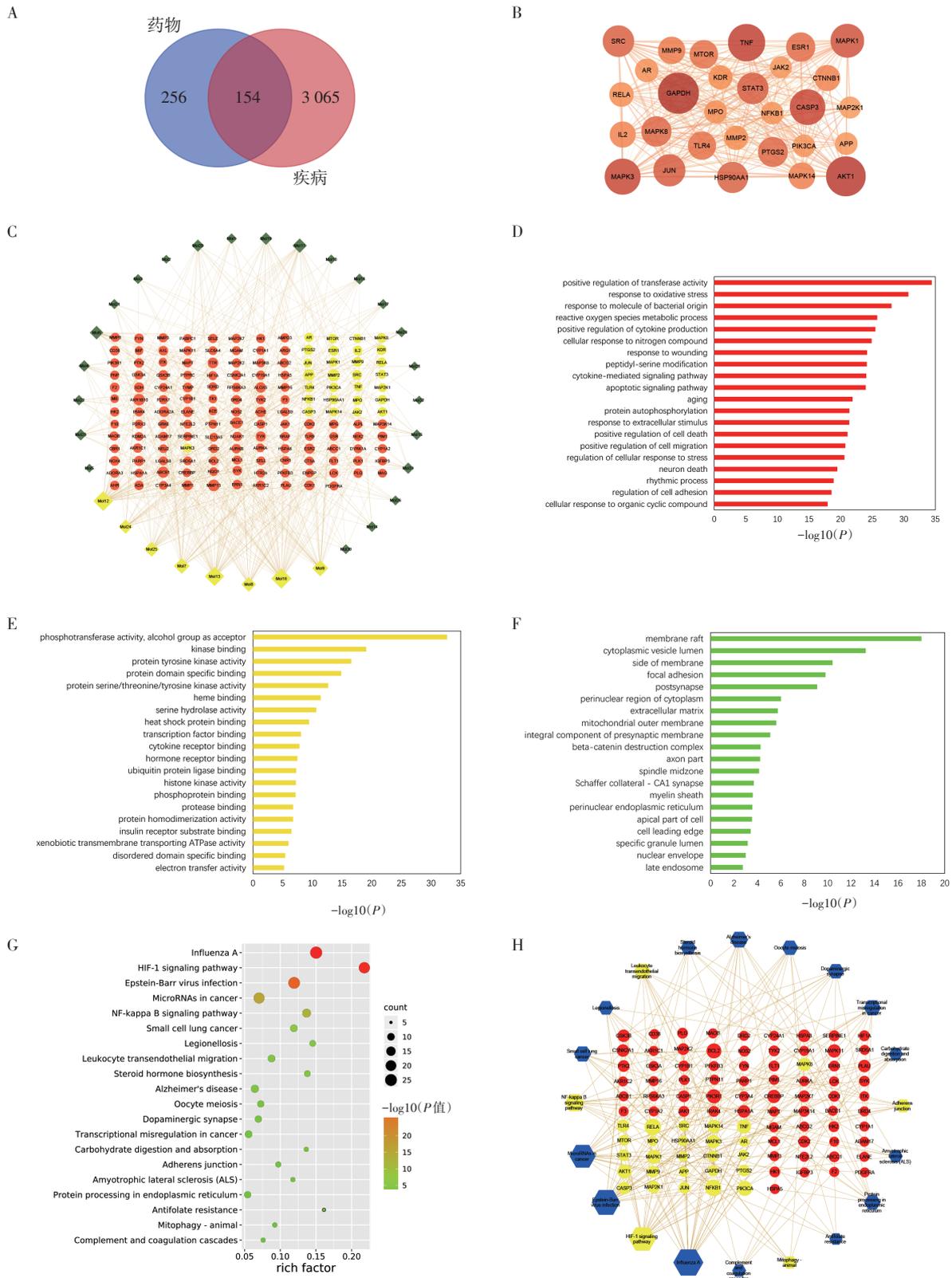
KEGG富集分析得到条目142个( $P < 0.01$ ), 排名前20位的通路有甲型流感、HIF-1信号通路、EB病毒感染、癌症中的微小RNA、NF- $\kappa$ B信号通路、小细胞肺癌、军团菌病、白细胞跨内皮迁移、类固醇激素的生物合成、阿尔茨海默氏病、卵母细胞减数分裂、多巴胺能突触、癌症中的转录失调、碳水化合物的消化吸收、黏附连接、肌

萎缩性侧索硬化症、内质网中的蛋白质加工、抗叶酸抵抗、线粒体自噬-动物、补体和凝血级联, 见图1-G。将这些通路及其包含的基因导入 Cytoscape 进行网络构建和可视化, 不考虑其他疾病信号通路, 结合文献检索及通路中包含的关键靶点数量, 筛选出前5条关键通路, 即HIF-1信号通路、NF- $\kappa$ B信号通路、白细胞跨内皮迁移、黏附连接和线粒自噬, 分别包含11、5、5、4、4个关键靶点, 见图1-H。如图所示, 通路-靶点网络共包含116个节点, 226条边。圆形节点代表靶点, 六边形节点代表通路, 黄色圆形节点代表关键靶点, 黄色六边形节点代表关键通路。

### 3 讨论

登革热作为一种新兴病毒性传染病对人类健康构成了重大的威胁。尽管多数情况下感染登革病毒引起的临床症状较轻, 但部分患者可出现严重出血、休克或脏器损伤等危重表型, 致死率高。迄今尚无有效的策略用于预防和治疗登革病毒感染。中医药治疗登革热安全有效, 因此受到研究人员的广泛关注。热毒宁注射液由金银花、青蒿、栀子3味中药组成, 具有疏风、清热、解毒的作用, 被卫生部推荐用于登革热的治疗。基于中药多成分、多靶点、多途径调控疾病的特点, 本研究利用系统药理学及网络可视化方法探讨热毒宁注射液治疗登革热的作用机制, 首先对热毒宁注射液治疗登革热的154个潜在靶点进行PPI网络分析, 然后依据网络拓扑分析节点度值筛选出前29个关键靶点, 再通过关键靶点反向筛选出关键成分、关键通路, 以期为其基础研究和临床应用提供参考。

本研究筛选的29个关键靶点包括GAPDH、AKT1、TNF、MAPK3、CASP3、MAPK1等, 涉及能量代谢、细胞凋亡、炎症反应等生物过程。GAPDH主要参与细胞糖酵解途径, 近年来研究发现GAPDH还能参与许多亚细胞水平活动, 包括催化微管聚合、参与蛋白磷酸化修饰、参与膜融合和膜转运、促进细胞凋亡、调节蛋白质的表达、参与DNA损伤修复、作为转铁蛋白受体等<sup>[12]</sup>。有研究<sup>[13-14]</sup>发现, 登革病毒通过调节GAPDH活性, 增加糖酵解通量、影响病毒转录过程及宿主细胞脂质稳态, 从而促进感染和增殖。AKT1是AKT激



A. 热毒宁注射液-登革热交集靶点; B. 关键靶点 PPI 网络; C. 热毒宁注射液活性成分-交集靶点及关键成分-关键靶点网络图; D. GO 生物学过程富集分析; E. GO 分子功能富集分析; F. GO 细胞组分富集分析; G. KEGG 通路富集分析; H. 交集靶点-信号通路与关键靶点-关键信号通路网络

图1 热毒宁注射液治疗登革热的网络药理学分子机制

Figure 1 Network pharmacological molecular mechanism of Reduning Injection in the treatment of dengue fever

酶的主要亚型之一,调节代谢、增殖、细胞存活、生长和血管生成等多个生物过程。PI3K/AKT信号通路参与感染早期细胞的存活及促进登革病毒侵入,而且有助于病毒蛋白翻译<sup>[15]</sup>。运用该通路的抑制剂,可以抑制登革病毒复制<sup>[16]</sup>。TNF是细胞凋亡直接相关的促炎细胞因子。在登革热急性期,重症患者均可见显著升高的TNF- $\alpha$ <sup>[17-18]</sup>。TNF- $\alpha$ 在登革热感染中具有双重作用。一方面,高表达TNF- $\alpha$ 等位基因与登革出血热/登革休克综合征(DHF/DSS)的保护之间存在关联,可能与高水平的TNF- $\alpha$ 在感染早期抑制登革病毒负荷相关。但另一方面:①有证据显示TNF- $\alpha$ 并不能抑制病毒复制<sup>[19]</sup>;②TNF- $\alpha$ 可上调树突状细胞抗细胞凋亡因子,从而延长感染的树突状细胞存活时间,可能对感染重症化有促进作用<sup>[20]</sup>;③大量的TNF- $\alpha$ 可使血管内皮细胞活化表达免疫黏附因子,直接损伤内皮细胞,诱导血浆渗漏<sup>[21]</sup>。在重症登革热小鼠模型,运用舒尼替尼联合抗肿瘤坏死因子抗体治疗具有抗血管生成和抗炎的双重协同作用<sup>[22]</sup>,提示抗TNF可能是潜在的治疗方式。MAPK参与调节基因表达、分化、增殖、有丝分裂、凋亡和细胞存活等多个过程<sup>[23]</sup>。肝脏是登革病毒复制和发病机制密切相关的器官,登革病毒感染诱导的MAPK家族磷酸化与血管内皮功能障碍、肝功能损伤、肝细胞凋亡等有关<sup>[24]</sup>。p38 MAPK、JNK和ERK1/2抑制剂均可调节细胞凋亡的内在和外途径,减轻登革病毒感染诱导的肝损伤<sup>[25-27]</sup>。Caspase家族是细胞凋亡事件中的核心因子,主要分为凋亡启动因子、执行因子和炎症介导因子三大类<sup>[28]</sup>,凋亡启动因子被激活以后,通过各自介导Caspase酶级联反应依次激活凋亡执行因子,最终导致细胞凋亡,其中Caspase-3的活化是细胞凋亡的中心环节<sup>[29]</sup>。

依据29个关键靶点筛选出8个关键药效成分,包括异落叶松脂素、木犀草素、反式咖啡酸、5'-甲氧基异落叶松树脂醇、落叶脂素、异鼠李素、槲皮素和反式阿魏酸。木犀草素通过减少活性氧和活性氮的生成,调节花生四烯酸的代谢和NF- $\kappa$ B、MAPK、AP-1、JAK、STAT等信号通路多途径发挥抗炎效应<sup>[30]</sup>。研究显示,木犀草素在体外能抑制ADE介导的登革病毒感染,在体内对4种血清型的登革病毒复制均有抑制作用<sup>[31]</sup>。异鼠

李素具有心脑血管-神经保护、抗炎、抗缺氧、抗氧化、肾脏保护、肺脏保护、抗菌、抗病毒、调节免疫等作用。异鼠李素通过抑制NF- $\kappa$ B通路调节炎症介质、细胞因子和ROS的产生,从而发挥抗炎作用;通过激活PI3K/AKT和Nrf2/ARE信号通路抑制细胞凋亡,发挥抗氧化特性;此外,异鼠李素还具有保护血管内皮细胞的效应,可能与其抗炎、抗氧化和抗线粒体依赖性凋亡的作用有关<sup>[32]</sup>。槲皮素是已被证实的体外抗登革病毒最有效的化合物之一<sup>[33-34]</sup>,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗原虫、抗菌和保护心血管等药理作用<sup>[35]</sup>。研究人员<sup>[36-37]</sup>运用分子对接等方法发现,槲皮素可能是抑制病毒E蛋白的新型有效候选物之一,并且其衍生物槲皮素3-(6''-(E)-p-香豆酰基槐糖苷)-7-鼠李糖苷是一种有效的病毒RNA聚合酶抑制剂。由此可见,热毒宁注射液的活性成分具有抗病毒、保护血管内皮、抗炎、抗氧化等作用,对于登革热/重症登革热导致的细胞因子风暴、血浆渗漏等病理环节具有潜在的治疗价值。

由KEGG富集分析结果可知,热毒宁注射液具有抗病毒、抗菌、抗肿瘤、抗炎、调节免疫和神经保护等作用。其中与登革热最相关的通路有HIF-1信号通路、NF- $\kappa$ B信号通路、白细胞跨内皮迁移、黏附连接和线粒自噬,分别包含11、5、5、4、4个关键靶点。

HIF-1是机体在分子水平上应答缺氧应激的关键代谢调节因子。HIF诱导的蛋白表达主要帮助缺氧细胞的代谢和生存需要,功能包括血管再生、红细胞生成、凋亡、细胞分化/生存、糖代谢、pH值调节和铁代谢等。研究证实,登革病毒诱导的缺氧反应及代谢改变可以增强病毒RNA复制,其机制与HIF-1 $\alpha$ /2 $\alpha$ 和AKT表达增强,厌氧糖酵解的增加有关<sup>[38]</sup>。NF- $\kappa$ B是参与炎症介质调节的关键转录因子。在登革病毒感染过程中,NF- $\kappa$ B的激活导致细胞凋亡和过度炎症反应<sup>[39]</sup>,导致登革出血热<sup>[40]</sup>,其调节的促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 的水平升高与重症登革热有关<sup>[41]</sup>。因此,开发相关抑制剂下调登革病毒感染诱导的炎症反应,有望成为新的治疗措施<sup>[42]</sup>。线粒体自噬对于清除损伤线粒体,维持细胞线粒体网络功能具有重要意义。近年来,病毒感染与线粒体自噬的研究开始受到关注<sup>[43]</sup>。病毒介导的线粒体自噬有助于防止细胞凋亡,从而促

进病毒感染及传播;另外,线粒体自噬的抗炎效应也可以帮助病毒逃脱宿主的抗病毒免疫防御。线粒体作为协调先天免疫、自噬和炎症相关信号网络的中心枢纽,靶向线粒体的疗法为登革热的治疗提供了新视角<sup>[44]</sup>。白细胞跨内皮迁移是指白细胞跨血管内皮从血液向组织迁移,对于免疫监视和炎症至关重要。该过程有利于控制早期感染事件<sup>[45]</sup>。黏附连接对于维持组织结构和细胞极性非常重要,是控制内皮通透性最重要的组成部分之一<sup>[46]</sup>。在登革病毒感染的人内皮细胞模型中可以观察到黏附连接成分血管内皮-钙黏蛋白分解,运用特定的抑制剂可以防止分解,并消除登革病毒诱导的跨内皮渗漏<sup>[47]</sup>。

另外,类固醇激素的生物合成、内质网中的蛋白质加工、补体和凝血级联通路虽无关键靶点富集或富集较少,但与登革热的发病密切相关。类固醇激素的生物合成属于脂质代谢通路。研究发现,皮质醇在登革病毒感染早期显著升高,通过抑制细胞因子和其他促炎介质的产生下调炎症和免疫反应,有利于病程自限<sup>[48]</sup>。补体级联反应的激活可触发多种抗病毒、免疫调节作用<sup>[49]</sup>,而且补体替代途径过度活化与重症登革热有关<sup>[50]</sup>。登革热进展伴随的凝血和纤溶紊乱可能导致疾病晚期的弥散性血管内凝血<sup>[51]</sup>。研究表明,补体和凝血级联存在多处交汇,共同参与调节免疫和心血管系统功能<sup>[52]</sup>。鉴于二者级联的放大效应与疾病进展密切相关,该通路有待进一步研究,为重症登革热的诊疗提供新线索。机体缺血、缺氧、缺乏营养、氧化应激、病毒感染时,内质网内未成熟蛋白和错误折叠的蛋白大量滞留,引起内质网应激(ERS)<sup>[53]</sup>。登革病毒诱导的ERS为体内外自噬激活、病毒复制所必需<sup>[54]</sup>,并且在病毒生命周期中,登革病毒的复制和翻译很大程度上局限于ER。因此,调控登革病毒-内质网相互作用的分子可能是有效的干预策略<sup>[55]</sup>。

综上所述,热毒宁注射液治疗登革热可能通过异落叶松脂素、木犀草素、反式咖啡酸、5'-甲氧基异落叶松树脂醇、落叶脂素、异鼠李素、槲皮素和反式阿魏酸等关键成分作用于GAPDH、AKT1、TNF、MAPK、CASP3等关键靶点,调节HIF-1信号通路、NF- $\kappa$ B信号通路、白细胞跨内皮迁移、黏附连接和线粒自噬等关键信号通路,发

挥抗病毒、抗炎、调节免疫、调节凝血和纤溶、调节能量代谢、调节脂质代谢等作用。鉴于网络药理学的局限性,本研究结果有待于进一步实验验证。

#### 参考文献:

- [1] SHEPARD D S, UNDURRAGA E A, HALASA Y A, et al. The global economic burden of dengue: a systematic analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2016, 16(8): 935-941.
- [2] 李晋涛. 登革热防治研究进展[J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(19): 1902-1907.
- [3] KATZELNICK L C, COLOMA J, HARRIS E. Dengue: knowledge gaps, unmet needs, and research priorities [J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(3): e88-e100.
- [4] WILDER-SMITH A, OOI E E, HORSTICK O, et al. Dengue [J]. *Lancet*, 2019, 393(10169): 350-363.
- [5] 张复春, 何剑峰, 彭劼, 等. 中国登革热临床诊断和治疗指南[J]. *中华传染病杂志*, 2018, 36(9): 513-520.
- [6] 郑宏, 张海, 朱志国, 等. 热毒宁注射液治疗急诊相关疾病的研究进展[J]. *临床合理用药杂志*, 2020, 13(9): 179-181.
- [7] 国家卫生健康委办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版) [EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>, 2020-03-04.
- [8] 杨忠奇, 冼绍祥, 刘南, 等. 热毒宁注射液治疗普通型登革热的有效性及安全性临床研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(1): 135-138.
- [9] 但文超, 何庆勇, 曲艺, 等. 基于网络药理学的枳术丸调治血脂异常的分子机制研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(11): 2396-2405.
- [10] 葛雯, 李海波, 于洋, 等. 热毒宁注射液化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. *中草药*, 2017, 48(5): 1027-1036.
- [11] 王琳, 朱靖博. 热毒宁注射液微量化学成分研究[A]. *中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集* [C]. 青岛, 2018: 682.
- [12] 付国良, 黄晓红. 甘油醛-3-磷酸脱氢酶功能的研究进展[J]. *生物物理学报*, 2013, 29(3): 181-191.
- [13] ALLONSO D, ANDRADE I S, CONDE J N, et al. Dengue virus NS1 protein modulates cellular energy metabolism by increasing glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity [J]. *J Virol*, 2015, 89(23): 11871-11883.
- [14] SILVA E M, CONDE J N, ALLONSO D, et al. Dengue virus nonstructural 3 protein interacts directly with human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and reduces its glycolytic activity [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 2651.
- [15] CUARTAS-LOPEZ A M, HERNANDEZ-CUELLAR C E, GALLEGOS-GOMEZ J C. Disentangling the role of PI3K/Akt, Rho GTPase and the actin cytoskeleton on dengue virus infection [J].

- Virus Res, 2018, 256: 153-165.
- [16] CHEN H H, CHEN C C, LIN Y S, et al. AR-12 suppresses dengue virus replication by down-regulation of PI3K/AKT and GRP78[J]. Antiviral Res, 2017, 142: 158-168.
- [17] 王晴晴, 游晶, 冯霞, 等. 细胞因子在登革病毒致病机制中的作用研究进展[J]. 昆明: 昆明医学院学报, 2009, 30(S2): 297-301.
- [18] 王晴晴. 登革热患者血清 IL-12p70、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-10 的变化及其临床意义[D]. 昆明: 昆明医学院, 2010.
- [19] WATI S, LI P, BURRELL C J, et al. Dengue virus (DV) replication in monocyte-derived macrophages is not affected by tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), and DV infection induces altered responsiveness to TNF- $\alpha$  stimulation [J]. J Virol, 2007, 81(18): 10161-10171.
- [20] HO L J, WANG J J, SHAO M F, et al. Infection of human dendritic cells by dengue virus causes cell maturation and cytokine production [J]. J Immunol, 2001, 166(3): 1499-1506.
- [21] FERNANDEZ-MESTRE M T, GENDZEKHADZE K, RIVAS-VETENCOURT P, et al. TNF- $\alpha$ -308A allele, a possible severity risk factor of hemorrhagic manifestation in dengue fever patients[J]. Tissue Antigens, 2004, 64(4): 469-472.
- [22] BRANCHE E, TANG W W, VIRAMONTES K M, et al. Synergism between the tyrosine kinase inhibitor sunitinib and anti-TNF antibody protects against lethal dengue infection [J]. Antiviral Res, 2018, 158: 1-7.
- [23] PEARSON G, ROBINSON F, BEERS G T, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions [J]. Endocr Rev, 2001, 22(2): 153-183.
- [24] SREEKANTH G P, YENCHITSOMANUS P T, LIMJINDAPORN T. Role of mitogen-activated protein kinase signaling in the pathogenesis of dengue virus infection [J]. Cell Signal, 2018, 48: 64-68.
- [25] SREEKANTH G P, CHUNCHARUNEE A, SIRIMONTAPORN A, et al. SB203580 modulates p38 MAPK signaling and dengue virus-induced liver injury by reducing MAPKAPK2, HSP27, and ATF2 phosphorylation [J]. PLoS One, 2016, 11(2): e149486.
- [26] SREEKANTH G P, CHUNCHARUNEE A, CHEUNSUCHON B, et al. JNK1/2 inhibitor reduces dengue virus-induced liver injury[J]. Antiviral Res, 2017, 141: 7-18.
- [27] SREEKANTH G P, CHUNCHARUNEE A, SIRIMONTAPORN A, et al. Role of ERK1/2 signaling in dengue virus-induced liver injury[J]. Virus Res, 2014, 188: 15-26.
- [28] 李帅, 张炳东. 细胞凋亡途径的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(37): 103-106.
- [29] LARSEN B D, RAMPALLI S, BURNS L E, et al. Caspase 3/caspase-activated DNase promote cell differentiation by inducing DNA strand breaks [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(9): 4230-4235.
- [30] 于倩, 巫冠中. 木犀草素抗炎机制的研究进展[J]. 药学研究, 2019, 38(2): 108-111.
- [31] PENG M, WATANABE S, CHAN K, et al. Luteolin restricts dengue virus replication through inhibition of the proprotein convertase furin [J]. Antiviral Res, 2017, 143: 176-185.
- [32] LI W, CHEN Z, YAN M, et al. The protective role of isorhamnetin on human brain microvascular endothelial cells from cytotoxicity induced by methylglyoxal and oxygen-glucose deprivation [J]. J Neurochem, 2016, 136(3): 651-659.
- [33] ZANDI K, TEOH B T, SAM S S, et al. Antiviral activity of four types of bioflavonoid against dengue virus type-2 [J]. Virol J, 2011, 8: 560.
- [34] 吴莎, 金晓晗, 施珊珊, 等. 槲皮素和穿心莲内酯的体外抗病毒作用[J]. 中药材, 2012, 35(12): 2003-2006.
- [35] BATIHA G E, BESHBI SHY A M, IKRAM M, et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: quercetin [J]. Foods, 2020, 9(3): 374.
- [36] AARTHY M, SINGH S K. Discovery of potent inhibitors for the inhibition of dengue envelope protein: an in silico approach [J]. Curr Top Med Chem, 2018, 18(18): 1585-1602.
- [37] ANUSUYA S, GROMIHA M M. Quercetin derivatives as non-nucleoside inhibitors for dengue polymerase: molecular docking, molecular dynamics simulation, and binding free energy calculation [J]. J Biomol Struct Dyn, 2017, 35(13): 2895-2909.
- [38] FRAKOLAKI E, KAIMOU P, MORAITI M, et al. The role of tissue oxygen tension in dengue virus replication [J]. Cells, 2018, 7(12): 241.
- [39] JAN J T, CHEN B H, MA S H, et al. Potential dengue virus-triggered apoptotic pathway in human neuroblastoma cells: arachidonic acid, superoxide anion, and NF- $\kappa$ B are sequentially involved [J]. J Virol, 2000, 74(18): 8680-8691.
- [40] LIN J C, LIN S C, CHEN W Y, et al. Dengue viral protease interaction with NF- $\kappa$ B inhibitor alpha/beta results in endothelial cell apoptosis and hemorrhage development [J]. J Immunol, 2014, 193(3): 1258-1267.
- [41] SOUNDRAVALLY R, HOTI S L, PATIL S A, et al. Association between proinflammatory cytokines and lipid peroxidation in patients with severe dengue disease around defervescence [J]. Int J Infect Dis, 2014, 18: 68-72.
- [42] LI P, JIN Y, QI F, et al. SIRT6 acts as a negative regulator in dengue virus-induced inflammatory response by targeting the DNA binding domain of NF- $\kappa$ B p65 [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8: 113.
- [43] ZHANG L, QIN Y, CHEN M. Viral strategies for triggering and manipulating mitophagy [J]. Autophagy, 2018, 14(10): 1665-1673.
- [44] MOHANTY A, TIWARI-PANDEY R, PANDEY N R. Mitochondria:

- the indispensable players in innate immunity and guardians of the inflammatory response [J]. *J Cell Commun Signal*, 2019, 13 (3): 303-318.
- [45] BUSTOS-ARRIAGA J, MITA-MENDOZA N K, Lopez-Gonzalez M, et al. Soluble mediators produced by the crosstalk between microvascular endothelial cells and dengue- infected primary dermal fibroblasts inhibit dengue virus replication and increase leukocyte transmigration [J]. *Immunol Res*, 2016, 64 (2) : 392-403.
- [46] DEJANA E, TOURNIER-LASSERVE E, WEINSTEIN B M. The control of vascular integrity by endothelial cell junctions: molecular basis and pathological implications [J]. *Dev Cell*, 2009, 16(2): 209-221.
- [47] ANUPRIYA M G, SINGH S, HULYALKAR N V, et al. Sphingolipid signaling modulates trans- endothelial cell permeability in dengue virus infected HMEC- 1 cells [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2018, 136: 44-54.
- [48] CUI L, LEE Y H, KUMAR Y, et al. Serum metabolome and lipidome changes in adult patients with primary dengue infection [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013, 7(8): e2373.
- [49] CONDE J N, SILVA E M, BARBOSA A S, et al. The complement system in flavivirus infections [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 213.
- [50] 赵玉娇. 登革热流行病学调查及重症登革热病理机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
- [51] MAIRUHU A T, MAC G M, SETIATI T E, et al. Is clinical outcome of dengue-virus infections influenced by coagulation and fibrinolysis? A critical review of the evidence [J]. *Lancet Infect Dis*, 2003, 3(1): 33-41.
- [52] OIKONOMOPOULOU K, RICKLIN D, WARD P A, et al. Interactions between coagulation and complement- their role in inflammation [J]. *Semin Immunopathol*, 2012, 34(1): 151-165.
- [53] 徐晨阳, 覃月秋, 宋嗣恩, 等. PERK 通路 与疾病关系的研究进展[J]. *右江民族医学院学报*, 2020, 42(3): 365-368.
- [54] LEE Y R, KUO S H, LIN C Y, et al. Dengue virus-induced ER stress is required for autophagy activation, viral replication, and pathogenesis both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 489.
- [55] REID D W, CAMPOS R K, CHILD J R, et al. Dengue virus selectively annexes endoplasmic reticulum-associated translation machinery as a strategy for co-opting host cell protein synthesis [J]. *J Virol*, 2018, 92(7): e01766.

【责任编辑：侯丽颖】

## 《广州中医药大学学报》2022年征订启事

《广州中医药大学学报》(ISSN 1007-3213/CN44-1425/R)是由广东省教育厅主管、广州中医药大学主办的综合性中医药学术类刊物,国内外公开发行。本刊为中国科技核心期刊、T2级优秀中医药科技期刊、RCCSE中国核心学术期刊(A)、中文核心期刊(2011年版)、国家期刊方阵双效期刊,先后被国内外多个重要检索系统/数据库收录,并多次获国家、省部级优秀期刊奖项。

本刊为广大临床、教学、科研工作者提供学术交流平台,全方位、多角度报道中医药领域各学科具有前瞻性、创新性和较高学术水平的科研成果和临床诊疗经验,主要开设的栏目有:中医理论探讨、中医药临床研究、中西医结合研究、针灸与经络、中药药理、中药资源研究、南药园地、名医经验传承、中医证候研究、专家论坛、新学科与新技术、中医文献研究、中医药文化和岭南医学研究等。既可作为国内外中医药高校教师和研究人员进行中医药研究的参考,又可为临床医生诊疗疾病以及药物研究人员进行中药开发提供思路。

本刊2019年1月起改为月刊,于每月20日出版。邮局发行,邮发代号:国内为46-275,国外为BM7077。每期定价20.00元(未含邮费)。编辑部地址:广州市番禺区广州大学城环东路232号广州中医药大学办公楼725室,《广州中医药大学学报》编辑部,邮编:510006;联系人:刘老师;电话:(020)39354896;E-mail:gzzyxb@gzucm.edu.cn;投稿网址: <http://xb.zyxy.com.cn>。欢迎投稿! 欢迎订阅! 欢迎广告刊登!

·《广州中医药大学学报》编辑部·