

基于网络药理学及动物实验探讨温肺降浊方对血管性痴呆的作用

吴东霖¹, 张 鼎¹, 李丽琴¹, 宋晨曦¹, 余勉之¹, 胡跃强^{2*}
(1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530000; 2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530001)

摘要: **目的** 基于网络药理学、分子对接技术及动物实验验证温肺降浊方对血管性痴呆 (VaD) 的作用。**方法** 在公开数据库中检索温肺降浊方的有效成分和靶点信息, 通过 GeneCards、DisGeNet 基因数据库筛选 VaD 相关疾病基因, 构建蛋白互作网络, 进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析, 运用 Autodock 软件对核心靶点和药物主要活性成分进行分子对接, 最后通过永久性双侧颈总动脉闭塞构建 VaD 大鼠模型, 采用 Morris 水迷宫评估 VaD 大鼠学习认知能力, Nissl 染色检测海马区神经元损伤情况, Western blot 法检测 EGFR、MAPK3、IL-17 蛋白表达。**结果** 网络药理学结果显示, 获得温肺降浊方活性成分作用靶点 237 个, 疾病成分靶点 3 969 个, 交集靶点共 183 个; 分析得到治疗关键靶点包括 TP53、MAPK14、IL-17、AKT1、MAPK3、MYC、CASP3、STAT1、STAT3、TNF、EGFR; 富集分析表明温肺降浊方发挥治疗 VaD 的潜在作用靶点与氧化应激、对外来生物刺激的反应等生物过程相关, 主要涉及 IL-17、PI3K/Akt、肿瘤坏死因子 TNF 信号通路等; 分子对接结果显示配体和受体有良好的结合性。动物实验结果显示, 温肺降浊方高剂量组可改善 VaD 大鼠的空间学习记忆能力及海马神经元的病理损伤, 降低炎症相关蛋白 MAPK3、IL-17 蛋白表达, 升高 EGFR 蛋白表达 ($P<0.05$)。**结论** 温肺降浊方可能通过多种化学成分、多靶点途径延缓 VaD 疾病的发展, 其机制可能与抑制炎症反应, 增加神经前体细胞的增殖和存活, 改善海马神经元损伤, 增强认知水平有关。

关键词: 温肺降浊方; 血管性痴呆; 学习认知能力; 炎症反应; EGFR; MAPK3; IL-17; 网络药理学

中图分类号: R285.5; R966 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)03-0970-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.03.043

血管性痴呆 (vascular dementia, VaD) 作为认知障碍临床综合征, 常表现为思维迟钝、健忘、抑郁焦虑、定向障碍等临床症状, 通常由多种脑血管疾病引发。在 60 岁以上人群中, VaD 的罹患率仅次于阿尔茨海默病相关性痴呆, 是第二大常见认知障碍, 约占所有痴呆症的 20%, 对社会经济造成了巨大的负担^[1-2]。目前, 该病的治疗策略主要是通过通过对危险因素的控制, 警惕脑血管病的加重及改善认知功能的对症支持治疗为主^[3], 但由于 VaD 内在病理机制的复杂性及不确定性, 目前临床用药对症状的改善仍有明显的局限性。因此, 探索疗效可靠、安全性好的药物是现今的研究焦点。

中药多成分、靶点的协同作用, 在治疗 VaD 中具有独特的优势。温肺降浊方是课题组在扶阳中医学理论指导下以“温补肺肾”为治则治疗 VaD 拟定的中药方剂^[4]。实验研究表明, 温肺降浊方可以调节 CytC、Bax、Bcl-2 等蛋白表达介入神经元凋亡过程, 减少海马区突触损伤以改善大鼠认知功能^[5]。基于此, 本研究采用网络药理学及分子对接的方法预测温肺降浊方对血管性痴呆的作用机制, 并通过动物实验进行初步验证, 以期为进一步了解温肺降浊方的应用提供最新科学依据。

1 材料

1.1 药物 温肺降浊方由白附片、干姜、大黄、党参、三七、炙甘草组成, 药材均购自广西中医药大学第一附属医院药剂科, 经广西中医药大学李方存研究员鉴定为正品。将白附片煎煮 1 h 以去除药物毒性, 再加入 800 mL 纯水, 随后共同煎煮所有药物 30 min, 重复 2 次, 药液经 0.45 μm 过滤网进行过滤, 装入提前准备好的容器内, 于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。尼莫地平片 (国药准字 H14022821, 规格 20 mg/片, 批号 20220502) 购自亚宝药业集团股份有限公司。

1.2 动物 健康成年雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 (250 $\pm$ 30) g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004], 本研究经广西中医药大学科学实验中心动物伦理委员会批准 (伦理批号 DW20230425-105)。

1.3 试剂 4% 多聚甲醛 (武汉赛维尔生物科技有限公司,

收稿日期: 2024-04-22

基金项目: 国家自然科学基金地区基金 (82260904); 广西自然科学基金重点项目 (2019GXNSFDA245006); 广西中医脑病临床研究中心项目 (桂科 AD20238028); 广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划 (桂教人才 202006); 广西中医药大学博士研究生创新项目 (YCBXJ2023010)

作者简介: 吴东霖 (1995—), 男, 硕士生, 从事中医药防治脑系病证的研究。Tel: 18111587073, E-mail: wudonglin17@163.com

* **通信作者:** 胡跃强 (1973—), 男, 博士, 教授, 从事中医药防治缺血性脑血管疾病的研究。Tel: 13152510678, E-mail: 137463195@qq.com

货号 G1101); RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号 AR0101-164、AR7325-185); GAPDH 抗体 (合肥白鲨生物科技有限公司, 货号 BL006B); IL-17、EGFR、MAPK3 抗体 (英国 Abcam 公司, 货号 ab216167、ab32077、ab266519); ECL 发光检测试剂 (上海碧云天生物技术股份有限公司, 货号 P163100); 1% 甲苯胺蓝染色液 (北京索莱宝科技有限公司, 货号 S23052)。

1.4 仪器 RM2015 型病理切片机 (德国徕卡公司); 高速冷冻离心机 (济南欧莱博科学仪器有限公司); QQMK-10 型恒温箱 (上海启前电子科技有限公司); Power/PAC3000 型电泳、转膜系统 (美国 Bio-Rad 公司); XK-802 型水平脱色摇床 (江苏新康医疗器械有限公司); FluorChem FC2 型凝胶成像系统 (美国 ProteinSimple 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 温肺降浊方活性成分及靶点筛选 运用 TCMSP 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>), 分别以“附子”“干姜”“大黄”“党参”“三七”“甘草”为关键词进行检索, 获取其药物活性成分, 选取口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (DL) ≥ 0.18 的活性成分^[6], 通过 TCMSP 数据库查找温肺降浊方中主要成分的作用靶点, 运用 UniProt 数据库将名称统一处理转化为标准基因名称。

2.1.2 疾病靶点收集 借助 GeneCards、DisGeNet 平台, 以“vascular dementia”为关键词检索, 将所获基因运用 R 语言软件筛选、合并、去重后, 得到共同基因靶点并绘制韦恩图。

2.1.3 药物-活性成分-靶点网络构建与分析 运用 Cytoscape 3.7.1 软件, 将交集靶点、复方药物活性成分导入, 进行网络拓扑分析, 根据节点度值 (degree) 判断温肺降浊方治疗 VaD 的核心成分, 度值越大, 重要性越高^[7]。

2.1.4 蛋白互作网络构建与分析 将温肺降浊方和 VaD 交集靶点导入 STRING 平台, 以 0.700 作为最小相互作用阈值, 对离群靶点进行隐藏后完成蛋白相互作用 (PPI) 网络构建, 结果以 TSV 格式文件在 Cytoscape 3.7.1 软件中进行分析, 对核心靶标进行筛选。

2.1.5 GO 和 KEGG 富集分析 利用 R 4.2.2 软件进行 GO 分析与 KEGG 分析, 将互作网络中的基因简称进行转换 ID 后以矫正后的 $P < 0.05$ 为条件进行筛选排序, 再将结果可视化展示。

2.1.6 分子对接 在“温肺降浊方-活性成分-靶点”网络中, 对接分析筛选得到的关键活性成分与主要靶点, 运用 PubChem 平台获取活性成分的二维结构, PDB 平台提供靶蛋白的三维结构, 再通过 Chem3D 对活性成分进行三维结构调整优化后, 最终借助 AutoDock 与 PyMol 实现受体与配体的对接分析, 优化绘图进行可视化展示。

2.2 动物实验

2.2.1 VaD 模型制备 大鼠按照随机数表法分为假手术组、模型组、尼莫地平组和温肺降浊方低、中、高剂量组, 每组 10 只。参考文献 [8] 报道, 采用双侧颈总动脉永久性闭塞 (2VO) 制备动物模型, 大鼠腹腔内注射 40 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉, 经腹部正中切口暴露双侧颈总动脉, 轻轻分离双侧颈总动脉和迷走神经, 用 6-0 号丝线结扎双侧血管; 假手术组大鼠只暴露动脉不进行结扎。术中避免触碰迷走神经, 术后用加热毯维持大鼠体温。

2.2.2 药物干预 温肺降浊方低、中、高剂量组大鼠灌胃给予 0.75、1.5、3 g/kg 药液, 尼莫地平组灌胃给予 2 mg/kg 药液, 模型组及假手术组大鼠灌胃给予等体积蒸馏水, 连续 8 周。末次给药后, 大鼠禁食禁水 24 h, 腹腔内注射 1% 戊巴比妥钠麻醉, 断头取脑, 各组分别取 5 只进行心脏灌注, 其余 5 只剥离海马组织, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

2.2.3 Morris 水迷宫检测 正式实验前进行为期 2 d 的大鼠游泳寻找逃生平台训练, 依次从第 1~4 象限指定点面向池壁放入水迷宫中, 于 60 s 内成功停留站台, 即完成实验; 若 60 s 未成功找到站台, 人工引导大鼠至站台停留 10 s, 第 1~2 天为训练实验, 后 3 d 记录逃避潜伏期数据, 以平均数评估大鼠空间记忆能力。

2.2.4 脑组织病理观察 大鼠深度麻醉后取出脑组织, 浸入 4% 多聚甲醛后置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱固定 24 h, 常规石蜡包埋切片, 进行 Nissl 染色, 光学显微镜下观察神经元形态。

2.2.5 Western blot 法检测脑组织 EGFR、MAPK3、IL-17 蛋白表达 取于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存的脑组织, 剪碎后置于 1.5 mL EP 管中, 加入 RIPA 裂解液, 匀浆裂解 30 min, 离心后取上清, 使用 BCA 蛋白检测试剂盒进行定量分析。各组样本经电泳、转膜后, 5% 脱脂牛奶封闭, TBST 洗膜后用 EGFR、MAPK3、IL-17 (1 : 1 000) 一抗孵育, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜; TBST 洗膜, 将 PVDF 膜置于用封闭液稀释的相应二抗 (1 : 5 000) 中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育 2 h; TBST 洗膜, ECL 显色后曝光, 通过 ImageJ 8.0 软件进行分析, 以 GAPDH 为内参, 计算目的蛋白相对表达量。

2.2.6 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间比较符合方差齐性, 采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学分析

3.1.1 温肺降浊方活性成分及靶点筛选 以 OB $\geq 30\%$ 且 DL ≥ 0.18 为条件, 通过 TCMSP 检索筛选, 最终得到药物成分作用靶点 237 个, 通过 GeneCards、DisGeNet 数据库筛选及合并去重后, 共得到 VaD 靶点 3 969 个, 药物和疾病靶点相交共获得交集靶标 183 个, 见图 1。

3.1.2 药物-活性成分-靶点网络分析 通过 Cytoscape 3.7.1 软件构建“药物-活性成分-共有靶点”网络, 见图 2, 图中 237 个药物活性成分与 183 个共同靶点相对应。利用 Network Analyzer 分析, 网络中度值为该节点相关联边的

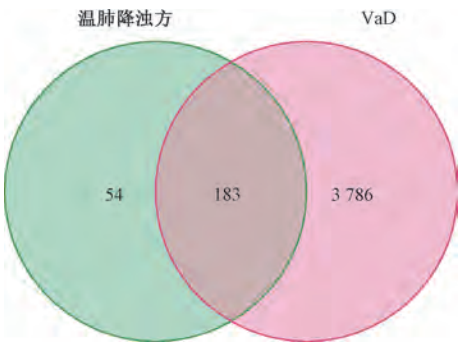
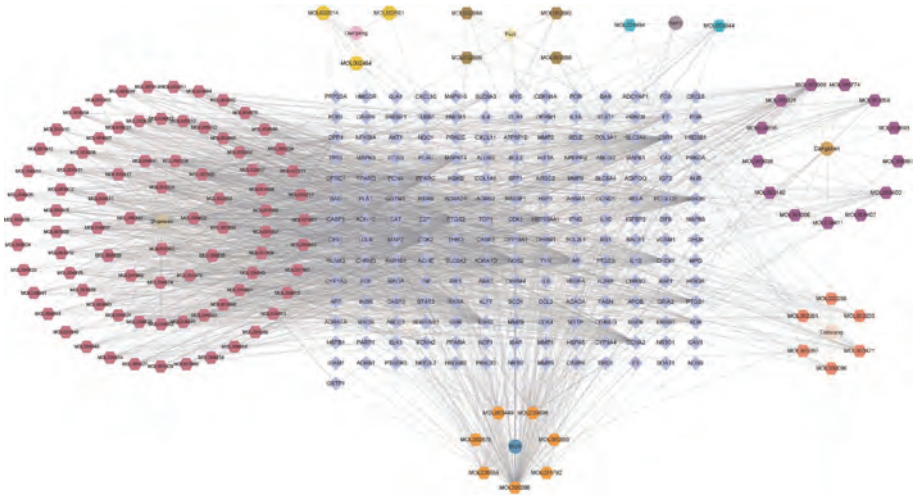


图 1 温肺降浊方治疗 VaD 的靶点交集韦恩图



注：Gancao 为甘草，Dahuang 为大黄，Fuzi 为附子，Ganjiang 为干姜，Dangshen 为党参，Sanqi 为三七，Multi 为多药共有。六边形为药物成分，菱形为疾病靶点。

图 2 温肺降浊方治疗 VaD 的药物-活性成分-靶点网络

可能是温肺降浊方治疗 VaD 的核心靶点。见图 4。



图 3 温肺降浊方与 VaD 交集靶点的 PPI 网络

3.1.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 GO 分析结果显示，生物学过程（BP）涉及条目主要是细胞对外来生物刺激的反应、对氧化应激的反应等；细胞组分（CC）主要富

条数，度值大小与活性成分关键程度呈正相关。排名前 5 位的成分分别为槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素、刺芒柄花素，这些成分可能是温肺降浊方治疗 VaD 的关键有效活性成分。

3.1.3 PPI 蛋白互作网络构建 将交集靶点导入 STRING 数据库，得到靶点蛋白 PPI 网络，见图 3。对 PPI 网络汇总的靶点进行拓扑分析，根据其平均值，多次筛选出同时大于每项 2 倍均值的的关键节点，得到核心网络靶点 11 个，分别为 TP53、MAPK14、IL-17、AKT1、MAPK3、MYC、CASP3、STAT1、STAT3、TNF、EGFR，表明这 11 个靶点

集在膜筏、膜微区和神经细胞体等条目；分子功能（MF）主要包含 DNA 结合位点、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合和信号受体激活活性等，见图 5A。运用 R 语言的 Cluster profiler 等函数包，进行 KEGG 通路富集分析，其中主要涉及 IL-17 信号通路、肿瘤坏死因子（TNF）信号通路以及 PI3K-Akt 信号通路等，提示温肺降浊方有可能通过这些信号通路治疗 VaD，从而提升认知水平，见图 5B。

3.1.5 分子对接验证 将度值排名前 5 位的关键成分槲皮素、木犀草素、山柰酚、柚皮素、刺芒柄花素，与主要的 3 个核心蛋白靶点（EGFR、MAPK3、IL-17）进行分子对接。结果显示，关键活性成分与核心靶点的结合能介于 -6.6 kcal/mol 与 -9.0 kcal/mol 之间，多数组合结合能 ≤ -7.0 kcal/mol，提示温肺降浊方核心成分同关键靶点蛋白间的结合活性高，见图 6。

3.2 动物实验验证

3.2.1 温肺降浊方对 VaD 大鼠逃避潜伏时间和穿越平台次数的影响 与假手术组比较，模型组大鼠逃避潜伏期延长 ($P<0.05$)，穿越平台次数减少 ($P<0.05$)；与模型组比较，尼莫地平组和温肺降浊方高剂量组大鼠逃避潜伏期缩短 ($P<0.05$)，穿越平台次数增加 ($P<0.05$)，而温肺降浊方低、中剂量组大鼠逃避潜伏期和穿越平台次数未见明

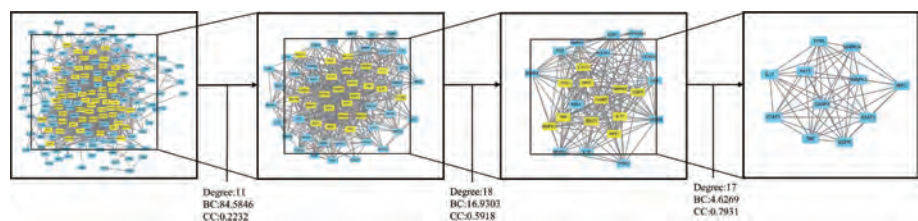


图 4 温肺降浊方治疗 VaD 核心靶点筛选过程

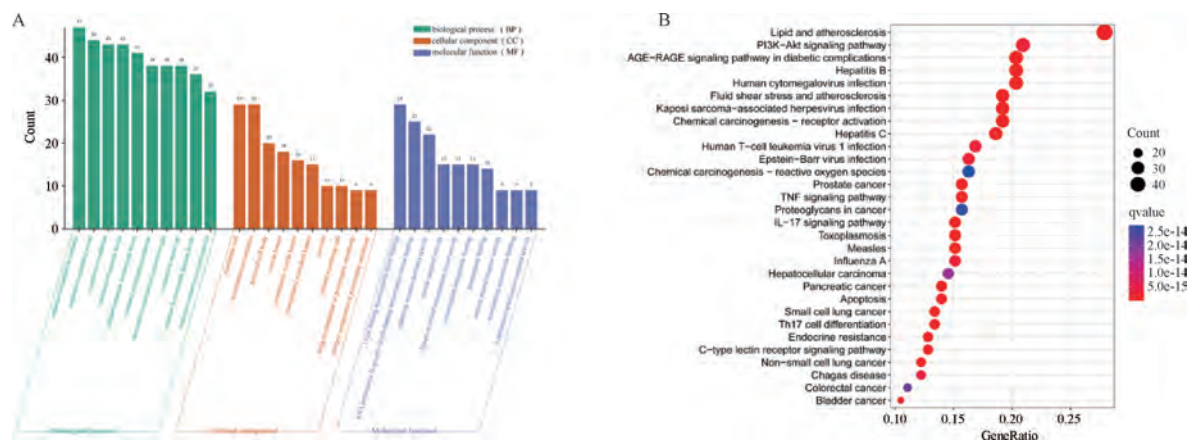
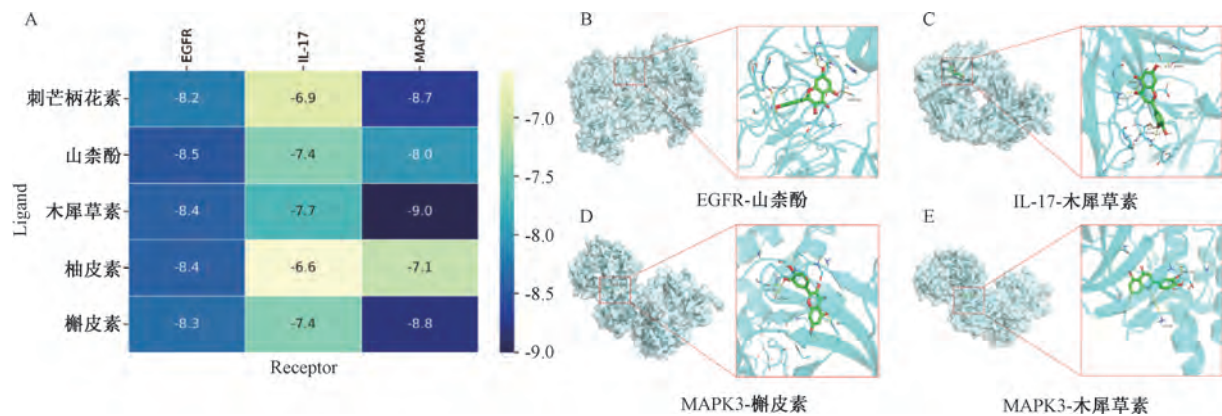


图 5 温肺降浊方治疗 VaD 作用靶点的 GO 功能 (A) 及 KEGG 通路 (B) 富集分析



注：A 为分子对接结合能热图，B~D 为分子对接模式图。

图 6 部分关键化合物与核心靶蛋白分子对接模式图

显变化 ($P>0.05$)，见表 1。

表 1 各组大鼠逃避潜伏时间和穿越平台次数比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	逃避潜伏时间/s	穿越原平台次数/次
假手术组	20.87±3.65	6.62±0.88
模型组	45.12±4.09 [*]	2.66±0.45 [*]
尼莫地平组	36.26±5.05 [#]	4.40±0.71 [#]
温肺降浊方低剂量组	45.10±4.25	2.86±0.55
温肺降浊方中剂量组	43.17±4.87	3.03±0.74
温肺降浊方高剂量组	36.14±4.32 [#]	4.49±0.76 [#]

注：与假手术组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ 。

3.2.2 温肺降浊方对 VaD 大鼠神经元形态的影响 假手术组大鼠神经细胞数量丰富，尼氏体较多，细胞排列井然有序，核呈清晰蓝色，细胞形态饱满且轮廓清晰；与假手术组比较，模型组大鼠神经细胞数量减少，细胞萎缩，尼氏

小体减少；与模型组比较，尼莫地平组和温肺降浊方各剂量组大鼠神经元均有不同程度改善，可见细胞胞体较为饱满，尼氏小体增多，其中以温肺降浊方高剂量组较为显著，见图 7。

3.2.3 温肺降浊方对 VaD 大鼠海马组织 EGFR、MAPK3、IL-17 蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠海马组织 EGFR 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，IL-17、MAPK3 蛋白表达均升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，温肺降浊方低、中剂量组大鼠 IL-17 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，EGFR、MAPK3 蛋白表达未见明显变化 ($P>0.05$)，而尼莫地平组和温肺降浊方高剂量组大鼠 EGFR 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，MAPK3、IL-17 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与尼莫地平组比较，温肺降浊方高剂量组蛋白表达变化更为显著 ($P<0.05$)，见图 8。

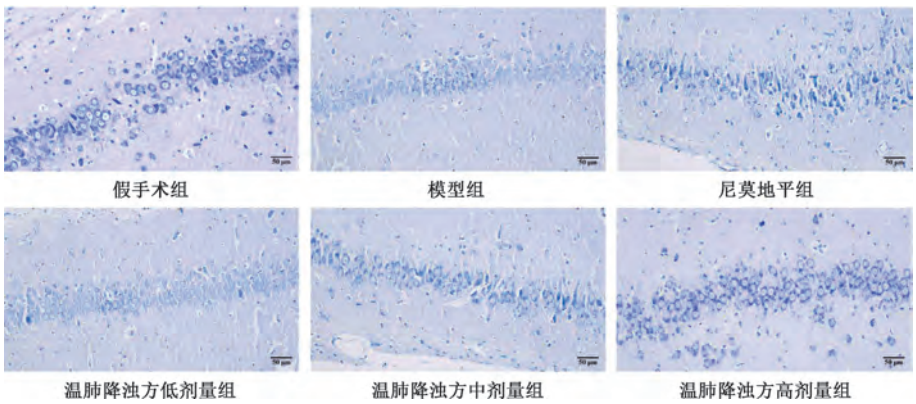
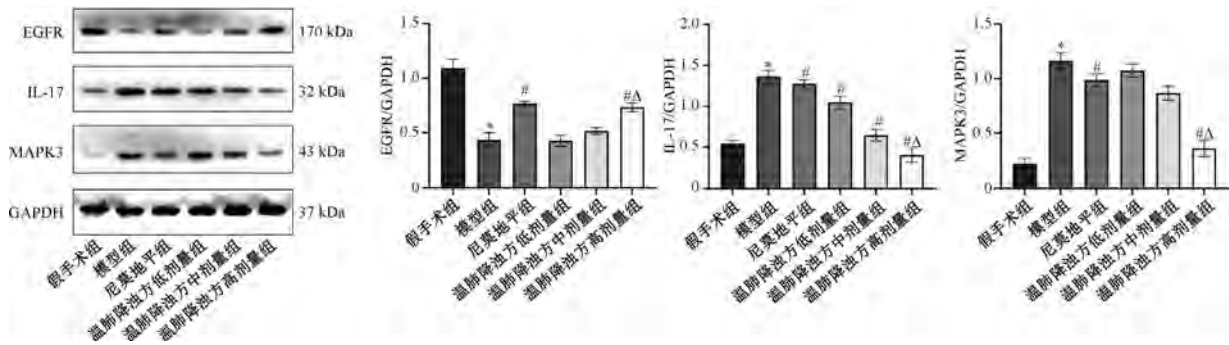


图 7 各组大鼠海马区损伤情况（Nissl 染色，×200）



注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ；与尼莫地平组比较， $\Delta P < 0.05$ 。

图 8 各组大鼠海马组织 EGFR、MAPK3、IL-17 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

4 讨论

血管性痴呆归属于“痴呆”“呆病”“文痴”等病证。病位在脑，肝心脾肾的脏腑虚衰都与其发病密切相关，综合古代医家论述及近年来的中医辨证分型文献研究^[9]，肺与 VaD 的关系历代鲜有记载，中医内科学教材也未阐述肺与痴呆的关系。《素问微蕴》中载有“肾为髓之下源，肺为髓之上源”，可知肺肾两者功能健全，则生理上金水相生，脑髓生化有源，髓旺则脑充，神机聪敏^[10]。肺肾功能失司，大肠传导功能失调，腑浊留滞，则浊毒内生，痹阻脑络。以此为切入点，温肺降浊方中以附子为君，温肾水，化精成气；党参为臣，润肺生津；使附子温而不燥，干姜入心、脾、肺经，助阳通脉，附子与干姜同用，温补先后天；三七活血化瘀，大黄下瘀血，破积聚，荡涤肠胃，导浊毒于外；炙甘草补中缓大黄、附子之峻烈之性。全方合用共奏温补肺肾、通腑降浊之功。

温肺降浊方治疗 VaD 的成分分析结果显示，槲皮素是广泛存在于多种中药材的天然黄酮类成分，具有抗氧化、抗炎、抗细胞凋亡等多种作用^[11-13]，可通过减少氧化损伤，维持胆碱能神经元功能起到神经血管保护作用^[14]，而槲皮素改善痴呆症状的机制与抑制神经炎症反应相关^[15]。木犀草素已被证明通过抑制 p38 MAPK 信号通路，抑制纤维 Aβ₁₋₄₀ 诱导的炎症反应对血脑屏障具有保护作用^[16]。山柰酚可减轻人内皮细胞凋亡，增强内皮细胞的血管生成功能^[17-18]，同时山柰酚可抗神经炎症反应及维持血脑屏障的

完整性^[19]。柚皮素通过抑制海马氧化应激和炎症反应可减轻 VaD 大鼠的认知障碍^[20]。研究表明，刺芒柄素可抑制 NOS 活性来抑制神经元凋亡并减轻神经炎症^[21-22]。

蛋白互作网络分析提示 EGFR、MAPK3、IL-17 等为温肺降浊方治疗 VaD 的关键靶点。MAPK3 是 MAPK 家族成员，MAPK 级联激活是多种信号通路的中心环节，可将膜受体信号转导至细胞内^[23]，其中 p38 MAPK 通路在脑缺血再灌注神经元损伤中发挥关键作用，在缺血性脑损伤急性期可诱导神经毒性，调节多种炎症物质的基因表达，相对地，炎症物质也能够激活 p38 MAPK 通路对下游因素产生影响，从而形成不良循环。已有实验表明，抑制 VaD 大鼠脑氧化应激失衡引起的由 ox-CaMKII/p38 MAPK/JNK-NF-κB 调控的相关炎症反应可以发挥神经保护作用，介导长期记忆调节功能障碍^[24]。EGFR 属于表皮生长因子家族的成员，可与多种配体结合，使其磷酸化，激活包括下游 MAPK 通路在内的多条通路，发挥相应生物学效应。大量的实验研究表明，EGFR 的上调可以使神经干细胞增殖和存活，并发挥对脑梗死后损伤神经元的保护作用^[25-26]。课题组前期研究表明，对 EGFR 表达的调控可调节多条信号通路的活性及串扰作用，减少神经元损伤，促进神经细胞存活，调节记忆障碍，以拮抗 VaD 的发生发展^[27]。IL-17 是由 T 辅助细胞 17 特异性分泌的促炎因子，其介导通路参与了 VaD 发生的高危因素——动脉粥样硬化、高血压和缺血再灌注损伤的发生^[28]。同时指南指出对危险因素的控制是治疗 VaD

的基石；与健康个体相比，VaD 患者的 IL-17 水平明显升高，通过恢复外周和中枢神经系统的 Th17/Treg 稳态平衡，可以减少促炎细胞因子分泌以提高其记忆和空间学习能力^[29]。上述研究与预测结果相似，核心靶点与主要药物成分分子对接结果良好，也证实了本研究预测结果的可靠性。

本研究动物实验结果显示，成模后大鼠的空间学习能力和认知记忆力下降，细胞破损严重，尼氏小体明显缺失，IL-17、MAPK3 蛋白表达升高，EGFR 蛋白表达降低；而经尼莫地平和高剂量温肺降浊方干预后，大鼠空间学习能力和认知记忆力均得到提升，同时可见细胞破损减少，形态较为饱满，尼氏小体增加，海马组织中 IL-17、MAPK3 蛋白表达降低，EGFR 蛋白表达升高；且与尼莫地平组比较，温肺降浊方高剂量组蛋白表达变化更为显著。

综上所述，温肺降浊方可以通过多靶点、途径协同作用延缓 VaD 疾病的发展，其可能与升高 IL-17、MAPK3 表达，降低 EGFR 表达，进而抑制炎症反应，增加神经前体细胞的增殖和存活，改善海马神经元损伤，增强认知水平有关。

参考文献：

[1] Wu Y T, Lee H Y, Norton S, *et al.* Prevalence studies of dementia in mainland china, Hong Kong and Taiwan: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (6): e66252.

[2] Bir S C, Khan M W, Javalkar V, *et al.* Emerging concepts in vascular dementia: A review[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30(8): 105864.

[3] Yu J H, Han K, Park S, *et al.* Incidence and risk factors for dementia in type 2 diabetes mellitus: A nationwide population-based study in Korea[J]. *Diabetes Metab J*, 2020, 44 (1): 113-124.

[4] 赖菁菁, 向军军, 汪庭龙, 等. 浅谈温补肺肾法治疗血管性痴呆的理论基础[J]. 湖南中医杂志, 2015, 31 (12): 134-135.

[5] 吴 林, 唐 农, 麻小梅, 等. 温肺降浊方对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区神经元凋亡及 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(20): 5074-5077.

[6] Xu X, Zhang W, Huang C, *et al.* A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6964-6982.

[7] Barabási A L, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(1): 56-68.

[8] Gupta S, Singh P, Sharma B M, *et al.* Neuroprotective effects of agomelatine and vinpocetine against chronic cerebral hypoperfusion induced vascular dementia[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2015, 12(3): 240-252.

[9] 马宏博, 司国民, 彭 敏. 血管性痴呆中医证候分布规律文献分析[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7 (3): 185-186; 221.

[10] 赖菁菁, 向军军, 汪庭龙, 等. 浅谈温补肺肾法治疗血管性痴呆的理论基础[J]. 湖南中医杂志, 2015, 31 (12): 134-135.

[11] 涂鄂文, 陈 琼, 宁 敏, 等. 槲皮素对脑出血大鼠神经细胞凋亡与 Bcl-2、Bax 蛋白表达的作用研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(5): 555-560.

[12] 李 阳, 苏艳瑜, 李国豪, 等. 槲皮素通过 Nrf2 通路对糖尿病大鼠胰腺氧化损伤的拮抗作用机制[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 208-214.

[13] 张红娜, 周玉法, 刘敬博, 等. 基于 NF-κB 和 Nrf2 信号通路探讨槲皮素的护肝功效及其作用机理[J]. 西北农业学报, 2020, 29(1): 143-149.

[14] Liu R, Zhang T T, Zhou D, *et al.* Quercetin protects against the Aβ₂₅₋₃₅-induced amnesic injury: involvement of inactivation of rage-mediated pathway and conservation of the NVU[J]. *Neuropharmacology*, 2013, 67: 419-431.

[15] 唐 森, 方 建, 高立功, 等. 基于 PINK1/Parkin 通路研究槲皮素减轻血管性痴呆大鼠海马神经元损伤的作用机制[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6529-6535.

[16] Zhang J X, Xing J G, Wang L L, *et al.* Luteolin inhibits fibrillary β-Amyloid₁₋₄₀-induced inflammation in a human blood-brain barrier model by suppressing the p38 MAPK-mediated NF-κB signaling pathways[J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 334.

[17] Zhong X, Zhang L, Li Y, *et al.* Kaempferol alleviates ox-LDL-induced apoptosis by up-regulation of miR-26a-5p *via* inhibiting TLR4/NF-κB pathway in human endothelial cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1783-1789.

[18] Hu W H, Wang H Y, Xia Y T, *et al.* Kaempferol, a major flavonoid in *Ginkgo Folium*, potentiates angiogenic functions in cultured endothelial cells by binding to vascular endothelial growth factor[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 526.

[19] Yang Y L, Cheng X, Li W H, *et al.* Kaempferol attenuates LPS-induced striatum injury in mice involving anti-neuroinflammation, maintaining BBB integrity, and down-regulating the HMGB1/TLR4 pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 491.

[20] Zhang J, Zhang Y, Liu Y, *et al.* Naringenin attenuates cognitive impairment in a rat model of vascular dementia by inhibiting hippocampal oxidative stress and inflammatory response and promoting *N*-methyl-*D*-aspartate receptor signaling pathway[J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(11): 3402-3413.

[21] 邹小蓉, 徐 露. 刺芒柄花素对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及其机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35 (6): 855-858.

[22] 闫 敏, 荆文馨, 林 强, 等. 刺芒柄花素对缺血性脑卒中的作用及机制[J]. 牡丹江医学院学报, 2023, 44(2): 20-24; 49.

[23] Bian Y, Lei J, Zhong J, *et al.* Kaempferol reduces obesity, prevents intestinal inflammation, and modulates gut microbiota in high-fat diet mice[J]. *J Nutr Biochem*, 2022, 99: 108840.

[24] Jiang H, Ashraf G M, Liu M, *et al.* Tilianin ameliorates cognitive dysfunction and neuronal damage in rats with vascular dementia *via* p-CaMKII/ERK/CREB and ox-CaMKII-dependent

MAPK/NF- κ B pathways[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6673967.

[25] Türeyen K, Vemuganti R, Bowen K K, *et al.* EGF and FGF-2 infusion increases post-ischemic neural progenitor cell proliferation in the adult rat brain[J]. *Neurosurgery*, 2005, 57 (6): 1254-1263.

[26] Sun D, Bullock M R, Altememi N, *et al.* The effect of epidermal growth factor in the injured brain after trauma in rats[J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27(5): 923-938.

[27] 陈 炜, 朱小敏, 胡跃强, 等. 益肺宣肺降浊方通过 EGFR 调节 PI3K/Akt-MAPK/Erk 通路改善血管性痴呆大鼠的记忆[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(8): 46-50; 269.

[28] Cortvrindt C, Speeckaert R, Moerman A, *et al.* The role of interleukin-17A in the pathogenesis of kidney diseases[J]. *Pathology*, 2017, 49(3): 247-258.

[29] Liu Q P, Pan P, Ling Z Z, *et al.* Acupuncture regulates the Th17/Treg balance and improves cognitive deficits in a rat model of vascular dementia[J]. *Heliyon*, 2023, 9(2): e13346.

小艾飞蜜膏对 MFC 胃癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫微环境的影响

管玉龙, 耿若愚, 马 冲, 赵 耀, 胡君萍*, 米仁沙·牙库甫*
(新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830017)

摘要: **目的** 研究小艾飞蜜膏对 MFC 胃癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫微环境的影响。**方法** 将 40 只 BALB/c 小鼠随机分为正常组、模型组、5-FU 组 (25 mg/kg) 和小艾飞蜜膏低、高剂量组 (1.35、2.70 g/kg), 每组 8 只, 除正常组外, 其余各组均建立 MFC 胃癌皮下荷瘤小鼠模型, 连续给药 9 d。给药结束后采集样本, 计算抑瘤率和脏器系数; HE 染色法观察肿瘤形态学变化; ELISA 法检测血清 IFN- γ 、IL-2、IL-1 β 、TGF- β 1 水平; 流式细胞术检测脾脏组织 T 淋巴细胞亚群变化; 转录组测序技术检测肿瘤组织差异表达基因; Cytoscape 3.10.2 软件筛选关键基因; qPCR 验证关键基因 mRNA 表达。**结果** 与模型组比较, 小艾飞蜜膏高剂量组小鼠肿瘤质量、脾脏和肾脏指数降低 ($P<0.05$), 肿瘤组织坏死区域增多; 小艾飞蜜膏各剂量组小鼠血清 IL-2 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), IFN- γ 、IL-1 β 、TGF- β 1 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 脾脏组织 CD4⁺T 细胞比例、CD4⁺/CD8⁺T 细胞比值升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), CD8⁺T 细胞、Treg 细胞、Th17 细胞比例均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。转录组测序筛选得到差异表达基因共 110 个, Cytoscape 3.10.2 软件筛选得到 *Adgre1*、*Serpinb2*、*Cxcr1*、*Cxcr2*、*DLL4*、*Serpina1b*、*Mcpt4*、*Tnfsf15*、*IL13ra2*、*Pdpn* 这 10 个关键基因。关键基因 mRNA 表达与转录组测序趋势相同, 与模型组比较, 小艾飞蜜膏高剂量组肿瘤组织 *Adgre1*、*Serpinb2*、*Cxcr1*、*Cxcr2*、*DLL4*、*Serpina1b*、*Mcpt4*、*Tnfsf15*、*IL13ra2*、*Pdpn* mRNA 表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 小艾飞蜜膏对 MFC 胃癌荷瘤小鼠肿瘤生长有抑制作用, 其抗肿瘤机制可能与提高荷瘤小鼠机体免疫功能, 改善肿瘤免疫抑制微环境, 抑制肿瘤细胞增殖有关。

关键词: 小艾飞蜜膏; 胃癌; 肿瘤生长; 免疫微环境; T 淋巴细胞; 转录组学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)03-0976-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.03.044

胃癌是全世界第五大常见癌症, 也是我国癌症致死的主要原因之一^[1]。现阶段胃癌的治疗策略主要包括手术、放疗、化疗以及靶向治疗等疗法, 但存在术后易复发、放化疗毒副作用大、耐药以及靶向治疗成本昂贵等弊端, 而中医药治疗胃癌具有不良反应少、成本低等特点, 并通过多成分、多途径、多靶点的综合调控作用, 能明显提高胃癌患者的生活质量和延长患者的生存期, 成为临床研究胃

癌的热点^[2]。小艾飞蜜膏是新疆维吾尔自治区维吾尔医医院长期使用的院内制剂, 由金钱白花蛇、高良姜、荜茇、胡椒、干姜共 5 味药组成, 临床应用时将复方中各味药材共研细粉, 加以炼蜜制成膏剂服用, 用于治疗消化道和生殖系统的肿瘤、炎症、漏症、顽固性疮疡、气结性恶疮等, 疗效显著^[3]。课题组前期研究证实, 小艾飞蜜膏能抑制 MFC 胃癌

收稿日期: 2024-08-14

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (81460616); 新疆少数民族科技人才特殊培养计划 (2022D03017); 新疆天然药物有效成分与药物释放技术重点实验室 (XJDX1713)

作者简介: 管玉龙 (2000—), 男, 硕士生, 从事天然药物研究与开发研究。E-mail: 1103036314@qq.com

* 通信作者: 胡君萍 (1971—), 女, 博士, 教授, 从事天然药物研究与开发研究。E-mail: hjp_yxy@163.com

米仁沙·牙库甫 (1980—) 女, 博士, 副教授, 从事天然药物研究与开发研究。E-mail: 1498514164@qq.com