

- [26] DiDonato J A, Mercurio F, Karin M. NF- κ B and the link between inflammation and cancer[J]. *Immunolo Rev*, 2012, 246(1): 379-400.
- [27] Hoesel B, Schmid J A. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer[J]. *Mol Cancer*, 2013, 12: 86.
- [28] Tsang C M, Lui V W Y, Bruce J P, et al. Translational genomics of nasopharyngeal cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 61: 84-100.
- [29] Yi M, Cai J, Li J J, et al. Rediscovery of NF- κ B signaling in nasopharyngeal carcinoma; How genetic defects of NF- κ B pathway interplay with EBV in driving oncogenesis? [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8): 5537-5549.
- [30] Zou W P, Restifo N P. T_H17 cells in tumour immunity and immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(4): 248-256.
- [31] Zarogoulidis P, Katsikogianni F, Tsiouda T, et al. Interleukin-8 and interleukin-17 for cancer[J]. *Cancer Invest*, 2014, 32(5): 197-205.

基于网络药理学探究附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的机制

孙健洪¹, 张若琛², 张颖利³, 解俊杰⁴, 石 妍^{5*}

(1. 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院药学部, 内蒙古 包头 014030; 2. 包头市第九中学, 内蒙古 包头 014000; 3. 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院医学整形外科, 内蒙古 包头 014030; 4. 内蒙古科技大学包头医学院第二附属医院党政办公室, 内蒙古 包头 014030; 5. 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院药剂科, 内蒙古 包头 014010)

摘要: **目的** 基于网络药理学研究附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的作用机制。 **方法** SD 大鼠随机分为对照组、模型组、附子理中丸组, 其中模型组及附子理中丸组应用葡聚糖硫酸钠 (DSS) 自由饮用法造模, 对照组正常饮水, 在不同时间节点进行 DAI 评分; 末次给药采集标本 HE 染色进行病理形态观察; 检索附子理中丸的活性化合物成分信息, 对成分的靶点进行预测、分析, 结合半柔性分子对接方法验证靶点; 应用 Western blot 法对关键靶点进行验证。 **结果** 与模型组对比较, 附子理中丸组评分降低 ($P<0.01$), 结肠组织溃疡愈合, 组织炎性细胞浸润减少。网络药理学筛选得到附子理中丸治疗溃疡性结肠炎靶点 76 个, 这些靶点参与核因子 κ 1 (NF- κ B1) 信号通路、T 细胞受体信号通路、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 信号通路等与溃疡性结肠炎密切相关的信号通路, 关键靶点有丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、NF- κ B1、TNF- α 、白介素-6 (IL-6)、NF- κ B3。验证实验表明附子理中丸可降低大鼠溃疡性结肠炎中 NF- κ B1、TNF- α 、IL-6、NF- κ B3 蛋白表达从而起到保护作用。 **结论** 网络药理学分析揭示附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的多途径、多靶点作用特点, 为后续的基础研究提供理论依据。

关键词: 附子理中丸; 溃疡性结肠炎; 网络药理学; 分子对接; NF- κ B

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-2027-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.055

溃疡性结肠炎是一种病因尚不确切的非特异性肠道疾病, 临床表现为腹痛、腹泻、里急后重及黏液脓血便等, 常呈连续慢性炎症反应状态, 发作与缓解交替, 迁延不愈, 根治困难, 给患者的生理和精神造成极大困扰。临床治疗常采用氨基水杨酸、糖皮质激素和免疫抑制剂等药物, 然而常规治疗难以有效缓解病情和防止复发, 还可能引起多种不良反应。因此, 探究溃疡性结肠炎的有效治疗方法已成为临床研究的热点^[1]。

附子理中丸由附子、干姜、白术、党参、甘草组成, 原方出自《阎氏小儿方论》, 后收录于《国家基本药物目录》, 具有温阳祛寒、益气健脾之功, 多用于脾胃虚寒所致脘腹冷痛、呃逆、肠易激综合征^[2], 对溃疡性结肠炎的疗效显著^[3-4], 作用机制与炎症密切相关。

网络药理学是融合了计算机技术、系统生物学、高通量筛选等技术, 研究“药物-靶点-疾病”之间复杂关系的交叉学科, 通过对中药多成分、多靶点、多通路、多功能

收稿日期: 2021-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960734); 包头医学院科学研究基金项目 (BYJJ-QM-2018027)

作者简介: 孙健洪 (1983—), 男, 硕士, 主管药师, 研究方向为中蒙药药理学。Tel: 15335510301, E-mail: 281180218@qq.com

* **通信作者:** 石 妍, 女, 硕士, 主任药师, 研究方向为医院药学。E-mail: shiyan2005@126.com

网络出版日期: 2021-07-19

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210719.1003.004.html>

以及中药配伍进行梳理,适合于中药方剂作用机制的研究^[5],已有较多学者通过网络药理学方法预测到中药的治疗靶点^[6-7]。本研究采用网络药理学全面解析附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的作用机制,以期对溃疡性结肠炎治疗研究提供新的方法与思路。

1 材料与方法

1.1 动物实验

1.1.1 动物及分组 SD 大鼠,清洁级,雄性,体质量 220~280 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2019-0010。动物饲养于明暗交替的清洁级动物饲养室中,环境温度 24~26℃,相对湿度 50%。动物实验遵循包头医学院动物伦理委员会规定。将 60 只雄性大鼠编号,按随机数字表法分为对照组、模型组和附子理中丸组,每组 20 只。

1.1.2 造模及给药 参考文献[8]报道方法,DSS 自由饮用法造模。适应性饲养 7 d 后将大鼠纳入实验,对照组大鼠给予普通饲料喂养,模型组和附子理中丸组大鼠自由饮用 5.0% DSS 水溶液,连续 7 d,大鼠出现腹泻、脓血便等症状,表明大鼠造模成功。附子理中丸(批号 Z15021454)购自包头中药有限责任公司,研磨后制成 0.75 g/mL 混悬液,造模成功后,附子理中丸组给予附子理中丸水溶液灌胃;对照组和模型组给予等量生理盐水,给药量为 15 g/kg,每天 1 次,连续 2 周。

1.1.3 一般行为及 DAI 评分 造模开始后,在 1、3、7、14、21 d 对各组大鼠进行 DAI 评分,计算公式为 DAI=(体质量下降率分数+大便性状分数+便血情况分数)/3,评分标准见表 1。

表 1 DAI 评分标准

计分	体质量下降率/%	大便性状	便血情况
0	0	正常	正常
1	1~5	松散状态,半成型	阳性
2	6~10	松散状态,不成型	强阳性
3	11~15	稀水样便	肉眼血便
4	≥16	稀水样便更加清长	肉眼血便更明显

1.1.4 标本采集 各组大鼠于末次药物干预后,禁食不禁水 24 h,称定体质量,10%水合氯醛(3.5 mL/kg)腹腔注射麻醉,剖开腹腔,自肛门向上截取长度约 8 cm 结肠,纵向剪开后用生理盐水冲洗清洁,剪碎后置于无酶冻存管于液氮中保存待测。取材完毕后处死大鼠。

1.1.5 结肠组织病理学检查 取大鼠结肠标本置于组织固定液中固定,制作蜡块、脱水、HE 染色,显微镜下进行病理学检查。

1.2 网络药理学分析

1.2.1 附子理中丸的活性成分及作用靶点 应用 TCMSP 2.3 数据库^[9](<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)获得附子理中丸中附子、党参、炒白术、甘草、干姜的活性化合物信息,活性化合物筛选条件设为经口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18。预测活性化合物作

用靶点采用 Swisstarget prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>),导入活性化合物 SMILES ID 进行预测,保存预测靶点信息。

1.2.2 溃疡性结肠炎靶点 应用 DISGENET 5.0 数据库^[10](<http://www.disgenet.org/>),以“Ulcerative colitis”为关键词,找到溃疡性结肠炎疾病相关靶点,删除重复靶点及靶点-疾病相关性得分小于 0.01 的靶点,与“1.2.1”方法中所获得的附子理中丸预测靶点相匹配,得到附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的作用靶点。

1.2.3 VENN 图的制作 使用 DrawVennDiagram 网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)将 5 味单味药及其溃疡性结肠炎相关靶点导入,应用 Venn diagram 网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)制作 VENN 图,找到多个单味药共同作用的靶点。

1.2.4 GO 分析及 KEGG 分析 应用 Cytoscape 2.3.5 软件中 Clue GO 插件将附子理中丸治疗溃疡性结肠炎靶点 uniprot ID 导入,设置物种,选择“GO 生物过程分析及 KEGG 通路分析”,设置 P 值<0.05,提交获得相关结果。GO 生物过程分析结果应用气泡图展示,KEGG 通路分析结果应用 Cytoscape 进行可视化处理。

1.2.5 关键节点选择 应用 Cytoscape 软件对 KEGG 分析结果构建网络,利用 cytoHubba 插件对靶点进行排序,cytoHubba 应用的是 Maximal Clique Centrality 方法,其综合 11 个拓扑分析方法和 6 个中心性方法,可综合多种因素选择关键靶点。

1.2.6 分子对接验证 选择关键靶点蛋白及其作用活性化合物,将下载的活性化合物结构式导入薛定谔 Maestro 中,优化所有小分子结构,预测其质子化状态,生成立体异构体。在 PROTEIN DATA BANK 数据库(<https://www.rcsb.org>)中下载蛋白结构式,将靶点蛋白导入软件中,对其进行加氢原子、去水分子和杂原子集团等处理,简单优化蛋白。对蛋白进行定义对接区域,生成格点文件,把处理好的小分子与定义的格点文件进行对接。

1.3 靶点验证 Western blot 检测 NF-κB1(p50)、NF-κB3(p65)、TNF-α、IL-6、MAPK1 蛋白表达。使用 RIPA 裂解液从结肠组织中提取总蛋白,用 BCA 法测定蛋白浓度,计算蛋白上样量,进行电泳,转膜,封闭,一抗 NF-κB1、TNF-α、IL-6(美国 Proteintech 公司)和 NF-κB3、MAPK1(英国 Abcam 公司)孵育,洗膜,二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司)孵育,洗膜,曝光扫描,并利用 Image J 软件进行数据分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 21.0 软件处理,计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较采用单因素方差分析,方差齐采用 SNK-q 检验,方差不齐采用 Game-Howell 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物实验 DAI 评分及大鼠结肠组织病理形态观察 如

表 2 所示,自开始造模为 1 d 起算,模型组和附子理中丸组在 7 d 评分最高,表示造模成功。用药 2 周后,与模型组比较,附子理中丸组大鼠症状好转 ($P<0.01$)。如图 1 所示,对照组大鼠结肠组织结构完整,未见溃疡形成;模型组大鼠发现的结构破坏,溃疡形成,组织大量炎性细胞浸润;附子理中丸组发现溃疡愈合,炎性细胞浸润减少。

表 2 各组大鼠不同时间点 DAI 评分 ($\bar{x}\pm s$, $n=20$)

组别	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d
对照组	0.17±0.05	0.18±0.06	0.17±0.03	0.18±0.04	0.16±0.03
模型组	0.15±0.08	2.05±0.14	3.33±0.22	3.56±0.32	3.80±0.18
附子理中丸组	0.16±0.04	1.97±0.18	3.31±0.31	2.18±0.29 ^{##}	1.89±0.43 ^{##}

注:与模型组比较,^{##} $P<0.01$ 。

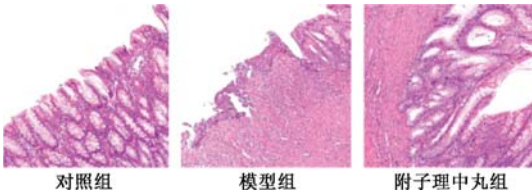


图 1 各组大鼠结肠组织形态 (HE 染色, $\times 50$)

2.2 网络药理学预测

2.2.1 靶点预测 为寻找附子理中丸的成分,应用 TCMSP 数据库检索到相关活性化合物信息,并下载其分子结构式。在 Swisstarget 数据库中基于分子结构预测附子理中丸的潜在靶点,并将靶点与溃疡性结肠炎的靶点进行对比,重复部分为预测的治疗靶点,整理靶点信息,得到潜在靶点 76 个,见表 3。

表 3 附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的潜在靶点

序号	基因 UniProt	基因简称	基因全称
1	P08183	ABCB1	ATP binding cassette subfamily B member 1
2	P27695	APEX1	apurinic/aprimidinic endodeoxyribonuclease 1
3	P10415	BCL2	BCL2, apoptosis regulator
4	P42574	CASP3	caspase 3
5	P16152	CBR1	carbonyl reductase 1
6	P51677	CCR3	C-C motif chemokine receptor 3
7	P51681	CCR5	C-C motif chemokine receptor 5 (gene/pseudogene)
8	P34998	CRHR1	corticotropin releasing hormone receptor 1
9	P10145	CXCL8	C-X-C motif chemokine ligand 8
10	P25024	CXCR1	C-X-C motif chemokine receptor 1
11	P25025	CXCR2	C-X-C motif chemokine receptor 2
12	P49682	CXCR3	C-X-C motif chemokine receptor 3
13	P00533	EGFR	epidermal growth factor receptor
14	P29323	EPHB2	EPH receptor B2
15	O75460	ERN1	endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1
16	P03372	ESR1	estrogen receptor 1
17	O00519	FAAH	fatty acid amide hydrolase
18	Q9HC97	GPR35	G protein-coupled receptor 35
19	P09211	GSTP1	glutathione S-transferase pi 1
20	Q8WU14	HDAC7	histone deacetylase 7
21	P41235	HNF4A	hepatocyte nuclear factor 4 alpha
22	O60760	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase
23	P14625	HSP90B1	heat shock protein 90 beta family member 1
24	P05362	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1
25	P14902	IDO1	indoleamine 2,3-dioxygenase 1
26	P60568	IL2	interleukin 2
27	P05231	IL-6	interleukin-6
28	P20701	ITGAL	integrin subunit alpha L
29	O60674	JAK2	Janus kinase 2
30	Q14145	KEAP1	kelch like ECH associated protein 1
31	Q5S007	LRRK2	leucine rich repeat kinase 2
32	P28482	MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1
33	Q00987	MDM2	MDM2 proto-oncogene
34	P16455	MGMT	O-6-methylguanine-DNA methyltransferase
35	P14174	MIF	macrophage migration inhibitory factor
36	P03956	MMP1	matrix metalloproteinase 1

续表 3

序号	基因 UniProt	基因简称	基因全称
37	P08254	<i>MMP3</i>	matrix metalloproteinase 3
38	P09237	<i>MMP7</i>	matrix metalloproteinase 7
39	P14780	<i>MMP9</i>	matrix metalloproteinase 9
40	P05164	<i>MPO</i>	myeloperoxidase
41	P19838	<i>NFKB1</i>	nuclear factor kappa B subunit 1
42	Q9Y239	<i>NOD1</i>	nucleotide binding oligomerization domain containing 1
43	Q9HC29	<i>NOD2</i>	nucleotide binding oligomerization domain containing 2
44	P35228	<i>NOS2</i>	nitric oxide synthase 2
45	P55786	<i>NPEPPS</i>	aminopeptidase puromycin sensitive
46	O75469	<i>NR1I2</i>	nuclear receptor subfamily 1 group I member 2
47	P04150	<i>NR3C1</i>	nuclear receptor subfamily 3 group C member 1
48	P22736	<i>NR4A1</i>	nuclear receptor subfamily 4 group A member 1
49	P04054	<i>PLA2G1B</i>	phospholipase A2 group IB
50	P14555	<i>PLA2G2A</i>	phospholipase A2 group IIA
51	P00749	<i>PLAU</i>	plasminogen activator, urokinase
52	P27169	<i>PON1</i>	paraoxonase 1
53	Q07869	<i>PPARA</i>	peroxisome proliferator activated receptor alpha
54	P37231	<i>PPARG</i>	peroxisome proliferator activated receptor gamma
55	P05771	<i>PRKCB</i>	protein kinase C beta
56	Q04759	<i>PRKCQ</i>	protein kinase C theta
57	P35354	<i>PTGS2</i>	prostaglandin-endoperoxide synthase 2
58	Q06124	<i>PTPN11</i>	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11
59	P17706	<i>PTPN2</i>	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 2
60	P08575	<i>PTPRC</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type C
61	Q13332	<i>PTPRS</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type S
62	Q04206	<i>RELA</i>	RELA proto-oncogene, NF- κ B subunit
63	O43353	<i>RIPK2</i>	receptor interacting serine/threonine kinase 2
64	P51449	<i>RORC</i>	RAR related orphan receptor C
65	P23443	<i>RPS6KB1</i>	ribosomal protein S6 kinase B1
66	P31645	<i>SLC6A4</i>	solute carrier family 6 member 4
67	Q9NYA1	<i>SPHK1</i>	sphingosine kinase 1
68	P25103	<i>TACR1</i>	tachykinin receptor 1
69	P01137	<i>TGFB1</i>	transforming growth factor beta 1
70	O00206	<i>TLR4</i>	toll like receptor 4
71	Q9NR96	<i>TLR9</i>	toll like receptor 9
72	P01375	<i>TNF</i>	tumor necrosis factor
73	Q8NER1	<i>TRPV1</i>	transient receptor potential cation channel subfamily V member 1
74	P29597	<i>TYK2</i>	tyrosine kinase 2
75	P19320	<i>VCAM1</i>	vascular cell adhesion molecule 1
76	P11473	<i>VDR</i>	vitamin D receptor

2.2.2 Venny 图 如图 2 所示, 预测结果中多数靶点可与多种药物作用, 其中脂肪酰胺水解酶 (fatty acid amide hydrolase, FAAH)、一氧化氮合酶 2 (nitric oxide synthase 2, NOS2)、维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α/β (peroxisome proliferator activated receptor α/β , PPARA)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1) 等与溃疡性结肠炎密切相关的靶点可与 5 味药共同作用。

2.2.3 靶点分析 GO 富集生物过程分析结果如图 3 所示, 靶点主要参与调节白细胞介导的细胞毒性、血管生成的正调控、树突细胞趋化性、对铵离子的反应、调控自噬等多种生物过程, 气泡图中 Y 轴代表生物过程名称, X 轴代表

靶点在生物过程中的比例, 气泡颜色代表 *P* 值, 节点大小代表参与生物过程的靶点数; KEGG 通路分析结果如图 4 所示, 靶点涉及 Toll 样受体 (toll like receptors, TLR) 信号通路、NOD 样受体 (nucleotide binding oligomerization domain like receptors, NLR) 信号通路、Janus 激酶/信号转导与转录激活子 (the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT) 信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性、白介素-17 (interleukin -17, IL-17) 信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化、Th17 细胞分化、T 细胞受体信号通路、TNF- α 信号通路等, 均与溃疡性结肠炎密切相关, 图中蓝色节点为靶点, 红色节点为通路, 共 80 个节点, 438 条边。

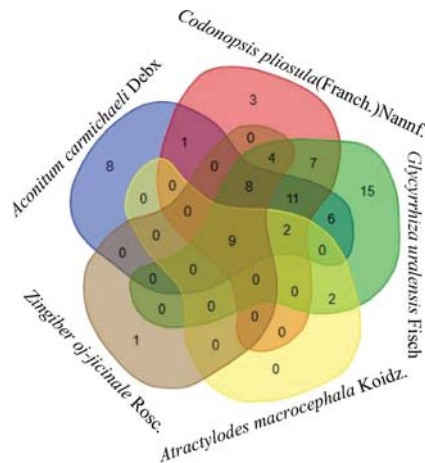


图 2 药物-潜在靶点韦恩图

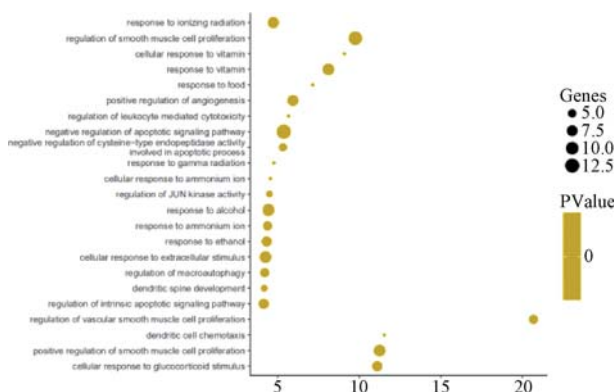


图 3 附子理中丸靶点参与的生物过程

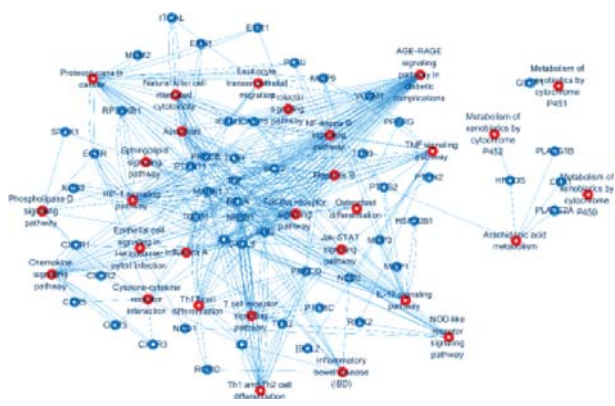


图 4 靶点-通路图

2.2.4 关键节点选择及分子对接 基于靶点通路图,应用 Cytoscape 软件的 cytoHubba 插件对靶点进行分析,确定关键靶点为 MAPK1、NF-κB1、TNF-α、IL-6、NF-κB3,其自由度和临近靶点数量等参数均优于其他靶点。找到作用于关键靶点的活性化合物成分,应用 Maestro 进行分子对接,对接结果中“吉布斯自由能绝对值>5”为有效对接。结果如图 5 所示,其中 5 个关键靶点可与不同成分作用,证明其作为溃疡性结肠炎潜在靶点的可行性。

2.3 关键靶点的验证 如图 6 所示,与模型组比较,附子理中丸能够降低 NF-κB1 p50、TNF-α、IL-6、NF-κB3 p65 的

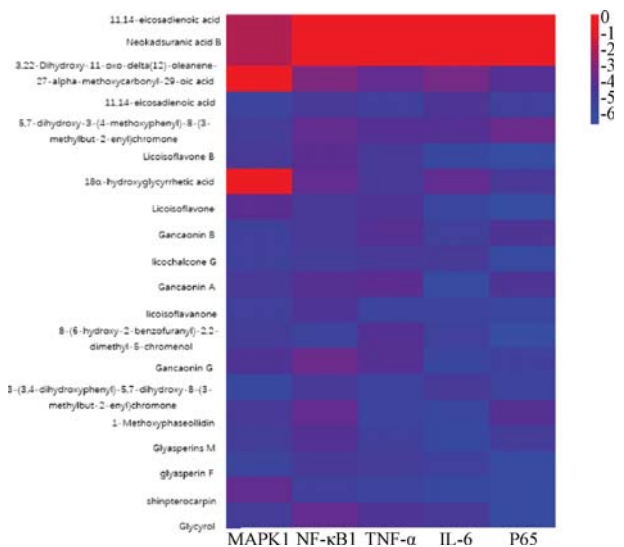


图 5 分子对接结果图

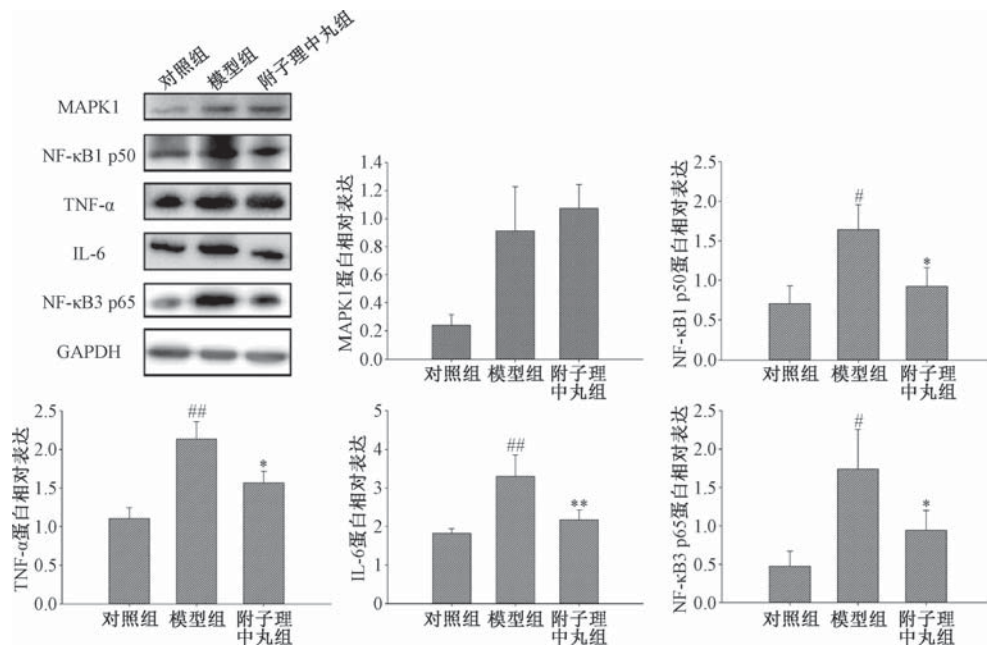
蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), 而对 MAPK1 蛋白表达无影响 ($P>0.05$), 表明附子理中丸能够通过 NF-κB1 p50、TNF-α、IL-6 及 NF-κB3 p65 靶点发挥保护作用。

3 讨论

附子理中丸具有温阳祛寒、益气健脾之功,多用于脾胃虚寒所致脘腹冷痛、呕吐泄泻、手足不温等症,临床使用广泛。胡利群等^[11]应用附子理中丸联合五维他口服溶液治疗溃疡性结肠炎,可改善疾病症状。附子理中丸疗效确切,作用迅速,但对其治疗溃疡性结肠炎的基础研究尚不多见。

采用 DSS 制备大鼠溃疡性结肠炎模型,发现给予附子理中丸能够缓解症状,促进溃疡愈合,减少组织炎性细胞浸润。网络药理学分析发现,附子理中丸主要通过参与上皮细胞凋亡过程、调控自噬、平滑肌收缩的积极调节、急性炎症反应的调节等生物过程来干预疾病的发生发展,反映出复方多途径的特点;参与调控的通路有 NF-κB 信号通路、TNF-α 信号通路、T 细胞受体信号通路、Toll 样受体信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化、Th17 细胞分化等,且均与炎症密切相关,由此推测附子理中丸可能主要通过调控各种信号因子发挥抗炎作用。结合多种分析结果,最终筛选到附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的关键靶点为 MAPK1、NF-κB1、TNF-α、IL-6、NF-κB3。

小肠上皮细胞中 IL-8 的产生依赖 ERK1/2 通路^[12], 而 IL-8 在结肠免疫系统中发挥潜在作用^[13], 但本实验结果发现,附子理中丸不能对该靶点蛋白表达发挥作用,表明 MAPK1 可能不是其治疗靶点。关键靶点中 TNF-α、IL-6 作为重要的炎症介质,其表达升高会导致细胞因子失衡,参与疾病的发生发展。在柳氮磺吡啶联合双歧杆菌三联活菌胶囊治疗溃疡性结肠炎的研究中发现,药物可通过降低炎症因子的表达恢复机体自身免疫,从而纠正溃疡性结肠炎病理过程中出现的细胞因子紊乱^[14]。本实验研究发现,溃疡性结肠炎中存在 TNF-α、IL-6 的高表达,表明其作为治



注：与对照组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图6 附子理中丸对潜在靶点蛋白表达的影响

疗靶点的可行性。

NF-κB是一种重要的调节因子包括 NF-κB1 p50、NF-κB2 p52、RE-LA p65、RELB 和 c-REL 等 5 个成员，它们以同型和异型二聚体的各种组合形式存在^[15]。在大多数细胞中，NF-κB 存在的主要形式是由 RE-LA 和 NF-κB1 组成的异二聚体^[16]，其中，NF-κB1 负责与 DNA 结合，RE-LA 参与调控下游多种靶基因的转录活性^[17]。Hegazy 等^[18]研究表明，溃疡性结肠炎患者的肠黏膜 TNF-α 和 RE-LA /p65 高表达，通过降低 IL-6、TNF-α 和 p65 表达，可以减轻炎症反应，改善黏膜状态。国外学者通过抑制 NF-κB 亚基（p65 / p50）的激活和转运，抑制了溃疡性结肠炎患者肠黏膜的炎性改变，起到保护肠黏膜的作用^[19]，这提示附子理中丸可通过该途径起到保护和修复黏膜的作用。本实验验证发现，附子理中丸可降低 NF-κB1、TNF-α、IL-6、NF-κB3 蛋白表达，对溃疡性结肠炎起到保护作用。

综上所述，附子理中丸可通过多途径、多靶点来治疗溃疡性结肠炎，在靶点间同样存在协同作用。本研究全面分析了附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的机制，为临床指导用药提供了新的理论依据，也为今后继续探索中药附子理中丸的作用机制提供了新线索。

参考文献：

- [1] 张旖晴, 魏 玮, 苏晓兰, 等. 中药有效成分在溃疡性结肠炎相关信号转导通路中的作用研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(4): 743-747.
- [2] 武红娜. 附子理中丸基本信息及临床应用进展[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(1): 179-180.
- [3] 卢本银, 史仁杰. 美沙拉嗪联合附子理中丸治疗脾肾阳虚证溃疡性结肠炎的效果及对血清 HIF-1α、SOCS-3 水平的

影响[J]. 中国现代医生, 2019, 57(16): 30-33.

- [4] 张 萍. 中药口服和灌肠并用治疗溃疡性结肠炎 100 例[J]. 世界中医药, 2011, 6(6): 493-494.
- [5] Liang X J, Li H Y, Li S. A novel network pharmacology approach to analyse traditional herbal formulae: the Liu-Wei-Di-Huang pill as a case study[J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(5): 1014-1022.
- [6] 文成当智, 张云森, 仁真旺甲, 等. 基于“味性化味-网络靶点-分子对接”的藏药五味麝香丸治疗“真布”病的作用机制研究[J]. 中国药房, 2020, 31(2): 164-172.
- [7] 史佩玉, 林 桢, 陈国铭, 等. 基于网络药理学的葶苈子潜在作用机制研究[J]. 中国药房, 2019, 30(20): 2823-2828.
- [8] 王 倩, 包永欣. 2 种质量浓度 DSS 致急性溃疡性结肠炎大鼠模型的构建与比较[J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(4): 574-577.
- [9] Ru J L, Li P, Wang J A, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [10] Piñero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D833-D839.
- [11] 胡利群, 张莲香, 张连凤. 附子理中丸联合五维他口服溶液治疗慢性溃疡性结肠炎的疗效观察与分析[J]. 中国医学创新, 2012, 9(3): 123-124.
- [12] Ibusuki K, Sakiyama T, Kanmura S, et al. Human neutrophil peptides induce interleukin-8 in intestinal epithelial cells through the P2 receptor and ERK1/2 signaling pathways[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(6): 1603-1609.
- [13] Lin X, Li J, Zhao Q, et al. WGCNA reveals key roles of IL8

- and MMP-9 in progression of involvement area in colon of patients with ulcerative colitis[J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(2): 252-258.
- [14] 施嫣红, 刘恒铭, 黄志刚, 等. 柳氮磺吡啶联合双歧杆菌三联活菌胶囊治疗溃疡性结肠炎的疗效[J]. *中国新药与临床杂志*, 2010, 29(10): 783-785.
- [15] Mukherjee S P, Behar M, Birnbaum H A, et al. Analysis of the RelA: CBP/p300 interaction reveals its involvement in NF- κ B-driven transcription [J]. *PLoS Biol*, 2013, 11(9): e1001647.
- [16] Wang P, Liu Z P, Zhang X Q, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene knockout reveals a guardian role of NF- κ B/RelA in maintaining the homeostasis of human vascular cells[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(11): 945-965.
- [17] Zhang Q, Lenardo M J, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. *Cell*, 2017, 168(1-2): 37-57.
- [18] Hegazy S K, El-Bedewy M M. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF- κ B activation in ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(33): 4145-4151.
- [19] Sakthivel K M, Guruvayoorappan C. Protective effect of acacia ferruginea against ulcerative colitis via modulating inflammatory mediators, cytokine profile and NF- κ B signal transduction pathways[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2014, 33(2): 83-98.

基于网络药理学和分子对接技术探讨精制冠心片治疗冠心病的机制

陈 敏^{1,2}, 邓萌萌², 伍蕊嗣², 周 波³, 韦 玮³, 潘晓鹃^{1,2*}

(1. 西南医科大学药学院, 四川 泸州 646000; 2. 四川省中医药科学院, 四川 成都 610041; 3. 重庆市中药研究所, 重庆 404100)

摘要: **目的** 利用网络药理学和分子对接技术研究精制冠心片治疗冠心病的分子机制。**方法** 应用中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP), 以口服生物利用度和类药性为限定条件筛选出精制冠心片中各药的化学成分及其蛋白靶点; 通过 Uniprot 数据库将蛋白靶点规范为相应的基因名称; 通过 GeneCards 数据库与 OMIM 数据库检索冠心病相关基因; 通过 David 数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析; 应用 Cytoscape 软件建立“中药—成分—靶点”网络图; 使用 Autodock 和 PyMol 软件对核心靶点 NCOA2、ADRB2、PTGS2 进行分子对接与可视化处理, 根据对接结果阐述精制冠心片治疗冠心病的潜在作用机制。**结果** 筛选出精制冠心片 160 个有效成分, 冠心病 1 368 个基因靶点, 共同靶点 112 个; 这些靶点涉及细胞内信号的正向转导、细胞群的增殖、细胞的积极代谢等生物过程。**结论** 精制冠心片通过激活 PI3K-Akt、MAPK、Akt 信号通路, 刺激血管内皮细胞增殖、调节蛋白质二聚活性、细胞因子活性、信号受体活性、过氧化物酶活性等治疗冠心病。

关键词: 网络药理学; 冠心病; 精制冠心片; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-2033-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.056

冠状动脉粥样硬化性心脏病是冠状动脉血管发生动脉粥样硬化病变而引起血管腔狭窄或阻塞, 造成心肌缺血、缺氧或坏死而导致的心脏病, 常被称为冠心病^[1]。世界卫生组织将冠心病分为无症状心肌缺血 (隐匿性冠心病)、心绞痛、心肌梗死、缺血性心力衰竭和猝死 5 种临床类型^[2]。冠心病的患病率在世界范围内不断增加, 也呈现出逐渐年轻化的状态, 其发病机制是体内脂质代谢异常, 血管中脂质沉淀在动脉内膜上, 出现类似于粥样物质的,

聚集成白色斑块, 堵塞动脉血管, 血液流动速度随之降低, 导致心脏缺血, 最终演变成冠状动脉粥样硬化性心脏病。病变过程是内皮细胞的改变, 由线状形逐渐变为圆石块形状, 使得单核细胞和巨噬细胞易于通过内皮到达皮下间隙, 驱动动脉粥样硬化的发生^[3], 同时脂蛋白水平增高, 刺激低密度脂蛋白 LDL 和其他脂蛋白聚集于病灶区, 形成脂斑斑块。血管内膜增厚中膜变薄、血管外膜大量纤维化, 逐渐形成纤维帽, 继而演变为纤维斑块^[4-5]。

收稿日期: 2020-11-04

作者简介: 陈 敏 (1995—), 女, 硕士生, 从事中药制剂及质量控制研究。Tel: 17809213757, E-mail: 17809213757@163.com

***通信作者:** 潘晓鹃 (1965—), 女, 研究员, 硕士生导师, 从事中药制剂及质量控制研究。Tel: (028) 85256112, E-mail: panxiaojuan1@163.com

网络出版日期: 2021-07-19

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210719.0930.002.html>