

淫羊藿治疗类风湿关节炎作用机制的网络药理学分析

李倩¹, 吴雍真¹, 柴艺汇¹, 高洁¹, 管连城², 陈云志¹(1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵州 贵阳 550002)

摘要: **目的** 运用网络药理学方法探讨淫羊藿治疗类风湿关节炎(RA)的作用机制。**方法** 利用中药系统药理学技术平台(TCMSP)数据库收集淫羊藿的主要活性成分及其作用靶点; 通过 GeneCards、OMIM 等数据库获取 RA 相关疾病靶点。取淫羊藿活性成分靶点与 RA 疾病靶点的交集基因(共同靶点), 作为淫羊藿对 RA 作用的潜在关键靶点基因。将交集基因上传至 String 数据库, 构建淫羊藿活性成分与 RA 疾病的共同靶点蛋白互作(PPI)网络, 并根据其度值筛选出核心靶点。借助 DAVID 分析平台对共同靶点进行基因本体(GO)分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。**结果** 共获得淫羊藿活性成分 23 个, 共同靶蛋白即关键靶标 72 个。重要活性成分包括槲皮素(Quercetin)、木犀草素(Luteolin)、山萘酚(Kaempferol)等; 核心靶点包括白细胞介素 6(IL-6)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)、半胱氨酸蛋白酶 3(CASP3)、表皮生长因子受体(EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 8(MAPK8)等; KEGG 主要通路富集在肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K-Akt)信号通路、促乳素(Prolactin)信号通路、甲状腺激素(Thyroid hormone)信号通路、缺氧诱导因子 1(HIF-1)信号通路等。**结论** 淫羊藿可能主要通过多成分、多靶点、多通路, 从调节炎症、免疫等多方面发挥对类风湿关节炎的治疗作用。

关键词: 淫羊藿; 类风湿关节炎; 网络药理学; 信号通路; 靶点; 炎症; 免疫调节

中图分类号: R285.5; R857.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)01-0079-08

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.01.011

Study on the Mechanism of Epimedii Folium in the Treatment of Rheumatoid Arthritis Based on Network Pharmacology

LI Qian¹, WU Yongzhen¹, CHAI Yihui¹, GAO Jie¹, GUAN Liancheng², CHEN Yunzhi¹(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025 Guizhou, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002 Guizhou, China)

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of Epimedii folium in the treatment of rheumatoid arthritis (RA) using the method of network pharmacology. **Methods** Collection of main active components and target genes of Epimedii folium was achieved by using TCMSP database of traditional Chinese medicine system pharmacology technology platform. The disease target genes of RA were obtained through GeneCards and OMIM databases. The component targets and disease targets were uploaded to String database to construct the interaction network of traditional Chinese medicine component target and disease target proteins, and the key targets were selected according to their Degrees. With the help of DAVID analysis platform, the key targets were analyzed by gene ontology(GO) analysis and genome encyclopedia(KEGG) pathway enrichment analysis. **Results** A total of 23 active components of Epimedii folium were obtained, and 72 key targets of intersection with RA were obtained. Quercetin, luteolin, kaempferol, and other important active ingredients were analyzed. Core targets include IL-6, VEGFA, CASP3, EGFR, MAPK8 and other corresponding genes, which were mainly enriched in TNF signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, Prolactin signaling pathway, Thyroid hormone signaling pathway, HIF-1 signaling

收稿日期: 2019-12-27

作者简介: 李倩, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医证候物质基础。Email: 1037541016@qq.com。通信作者: 陈云志, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中医证候物质基础。Email: 1239638026@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81874376); 贵州省科技计划项目(黔科合基础[2017]1401); 贵州省教育厅项目(黔教合 KY 字[2017]041)。

pathway and other signal pathways. **Conclusion** Epimedii folium may play a therapeutic role for rheumatoid arthritis mainly through regulating multiple components, multiple targets and multiple pathways from the aspects of regulating inflammation, immunity, etc.

Keywords: Epimedii folium; rheumatoid arthritis; network pharmacology; signaling pathway; target; inflammation; immunoregulation

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性、进行性、全身性的自身免疫性疾病,其主要特征是滑膜增生、炎细胞浸润、关节软骨和骨基质破坏,病变呈对称性、多发性、侵袭性^[1-2]。RA影响全球 0.5% 的人口^[3], 在中国的患病率也高达 0.36%^[4]。中医根据 RA 的症状特点将其归属为“痹证”“尪痹”等范畴。中医认为痹证多与肝、肾相关,由于先天禀赋不足或后天失养,遗精滑精,劳累过度,月经过多等而致肾虚。肾虚不可濡养筋骨,肝肾同源,久则关节变形,难以屈伸,而致骨损筋挛^[5]。“肝肾不足,肾精亏虚”则易导致 RA 的发生。中药淫羊藿(*Epimedium brevicornu* Maxim.)始载于《神农本草经》,据《中国药典》记载其具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的作用。近年来对淫羊藿的药理作用研究^[6-7]发现,其具有防治骨质疏松、调节免疫、抗氧化、抗肿瘤、延缓衰老、舒张血管等作用,与其“温补肾阳,强筋健骨”的功效密切相关。网络药理学是基于系统生物学的理论,对生物系统进行网络分析,选取特定信号节点(Nodes)进行多靶点药物分子设计的新学科。本文拟利用网络药理学方法对淫羊藿的活性成分、靶蛋白及其所涉及的基因功能、信号通路进行分析,为进一步研究淫羊藿防治 RA 提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 淫羊藿活性成分筛选及靶点预测 以“淫羊藿”为检索词利用中药系统药理学技术平台数据库(TCMSP, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>)检索淫羊藿的化学成分;以口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)≥30%,类药性(Drug likeness, DL)≥0.18 为标准,筛选出淫羊藿的活性成分。然后,逐一收集活性成分的潜在蛋白靶点,再通过 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/uniprot/>)对蛋白名称进行标准化,得到淫羊藿活性成分的潜在作用靶点。

1.2 RA 疾病相关靶点获取及药物活性成分-疾病靶点网络构建 以“Rheumatoid arthritis”为关键词,通过 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org>)检索获得

RA 相关的疾病基因。对所收集到的疾病靶点进行处理,删除多余重复的靶点,得到 RA 疾病相关靶点。通过与“1.1”项下的淫羊藿活性成分靶点进行匹配,得到淫羊藿活性成分靶点基因与 RA 相关靶点基因的交集基因,即为淫羊藿对 RA 作用的潜在关键靶点基因。使用 Cytoscape v3.7.2 软件构建淫羊藿活性成分-RA 靶点可视化网络。

1.3 淫羊藿活性成分与 RA 共同靶点的蛋白相互作用网络构建 将淫羊藿与 RA 疾病的靶点基因匹配后得到的交集基因(共同靶点)导入 String(<https://string-db.org>)数据库,物种限定为“Homo sapiens”,利用 String 数据库收集相关已知/预测的蛋白-蛋白相互作用关系(Protein-protein interactions, PPI),构建淫羊藿活性成分与 RA 疾病的共同靶点 PPI 网络。

1.4 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 将淫羊藿活性成分与 RA 疾病的靶点基因匹配后得到的交集基因导入 DAVID 平台(<https://david.ncifcrf.gov/>),分别进行 GO (Gene ontology)富集分析和 KEGG (Kyoto encyclopedia of gene and genomes)通路分析,设置 $P < 0.01$ 。分析交集基因的生物学意义,探讨淫羊藿治疗 RA 可能的作用机制。

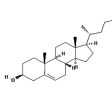
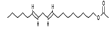
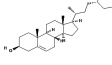
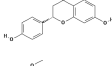
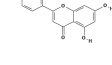
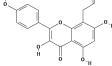
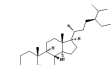
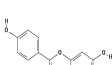
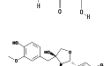
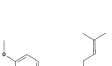
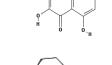
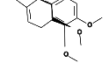
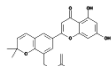
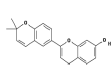
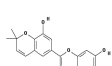
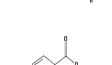
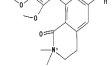
2 结果

2.1 淫羊藿的活性成分及其靶点 通过检索 TCMSP 数据库得到淫羊藿的化合物单体成分 130 个,以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为条件筛选得到活性成分共 23 个,见表 1。利用 TCMSP 数据库获得潜在活性成分的相应靶点蛋白,并通过 Uniprot 数据库将预测的靶点蛋白名转换为基因名,剔除重复项后得到淫羊藿活性成分潜在作用靶点蛋白 106 个。

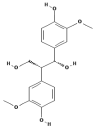
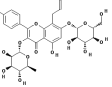
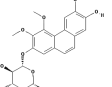
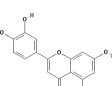
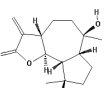
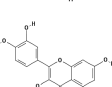
2.2 淫羊藿活性成分-RA 靶点网络 将 GeneCards 数据库、OMIM 数据库收集的 RA 疾病靶蛋白结果进行整合,并去除重复基因,共得到 RA 相关靶蛋白 4 157 个。将 21 个活性成分对应的靶蛋白与 GeneCards 数据库、OMIM 数据库中 RA 相关靶蛋白匹配后取交集,得到 72 个共同靶蛋白,见图 1。

表 1 淫羊藿活性成分信息表

Table 1 Active ingredient information sheet of epimedium

序号	MOL_ID	活性成分	中文名称	结构式	靶点 /个	OB/%	DL
1	MOL001510	24-epicampestrol	24-表油菜素 内酯		2	37.58	0.71
2	MOL001645	Linoleyl acetate	乙酸亚油醇酯		4	42.1	0.20
3	MOL001771	Poriferast-5-en-3beta-ol	β-谷甾醇		2	36.91	0.75
4	MOL001792	DFV	甘草素		12	32.76	0.18
5	MOL003044	Chryseriol	金圣草(黄)素		18	35.85	0.27
6	MOL003542	8-Isopentenyl-kaempferol	8-异戊烯基黄 酮		30	38.04	0.39
7	MOL000359	Sitosterol	谷甾醇		3	36.91	0.75
8	MOL000422	Kaempferol	山柰酚		63	41.88	0.24
9	MOL004367	Olivil	橄榄树脂素		4	62.23	0.41
10	MOL004373	Anhydroicaritin	脱水淫羊藿素		37	45.41	0.44
11	MOL004380	C-Homoerythran, 1,6-didehydro-3, 15, 16-trimethoxy-, (3.beta.)-	2,7-二氢高刺 桐春		38	39.14	0.49
12	MOL004382	Yinyanghuo A	-		9	56.96	0.77
13	MOL004384	Yinyanghuo C	-		11	45.67	0.50
14	MOL004386	Yinyanghuo E	-		11	51.63	0.55
15	MOL004388	6-hydroxy-11,12-dimethoxy-2,2-dimethyl-1,8-dioxo-2,3,4,8-tetrahydro-1H-isochromeno[3,4-h]isoquinolin-2-ium	6-羟基-11, 12-二甲氧基-2,2-二甲基-3,4-二氢异色 素[3,4-h]异喹 啉-2-鎓-1, 8-二酮		6	60.64	0.66
16	MOL004391	8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone	8-(3-甲基 丁-2-烯基)- 2-苯基色酮		30	48.54	0.25
17	MOL004394	Anhydroicaritin-3-O-alpha-L-rhamnoside	脱水甘油 30- α-L-鼠李糖 苷		1	41.58	0.61

(续表 1)

序号	MOL_ID	活性成分	中文名称	结构式	靶点 /个	OB/%	DL
18	MOL004396	1,2-bis (4- hydroxy-3-methoxyphenyl) propan-1,3-diol	1,2-双(4-羟 基-3-甲氧基 苯基)丙烷-1, 3-二醇		11	52.31	0.22
19	MOL004425	Icariin	淫羊藿苷		1	41.58	0.61
20	MOL004427	Icariside A7	淫羊藿次苷 A7		3	31.91	0.86
21	MOL000006	Luteolin	木犀草素		57	36.16	0.25
22	MOL000622	Magnograndiolide	广玉兰内酯		4	63.71	0.19
23	MOL000098	Quercetin	槲皮素		154	46.43	0.28

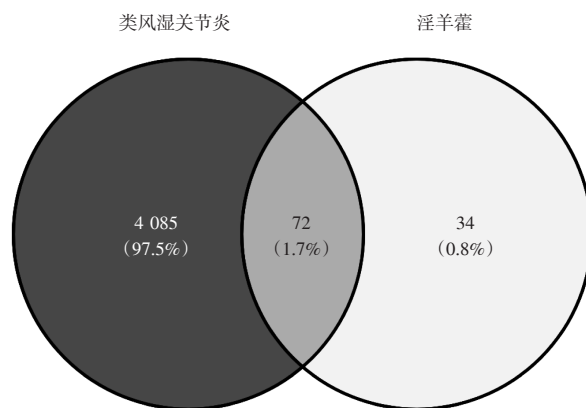


图 1 淫羊藿与类风湿关节炎疾病的共同靶点

Figure 1 Target matching of epimedium and RA

将 72 个共同靶蛋白及其对应的淫羊藿 18 个活性成分导入 Cytoscape v3.7.2 软件, 构建淫羊藿活性成分-类风湿关节炎疾病靶点网络, 见图 2。其中度值 (Degree) 排名前 5 位的活性成分为槲皮素 (Quercetin)、木犀草素 (Luteolin)、山柰酚 (Kaempferol)、脱水淫羊藿素 (Anhydroicaritin)、8-异戊烯基黄酮 [8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone], 这些成分可能为淫羊藿发挥抗 RA 药效的主要活性成分。

2.3 PPI 网络构建分析 将淫羊藿与类风湿关节炎疾病的 72 个共同靶蛋白导入 String 数据库, 分析蛋白-蛋白相互作用关系, 构建淫羊藿与 RA 的共同靶点 PPI 网络, 该网络共包括 72 个节点, 702 条边, 见

图 3。根据其度值(Degree)筛选出排名前 20 位的核心靶点, 包括白细胞介素 6(IL-6)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)、半胱氨酸蛋白酶 3(CASP3)、表皮生

长因子受体(EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8)、细胞周期蛋白 1(CCND1)、雌激素受体 1 (ESR1)、酪氨酸激酶受体 2(ERBB2)等, 见图 4。

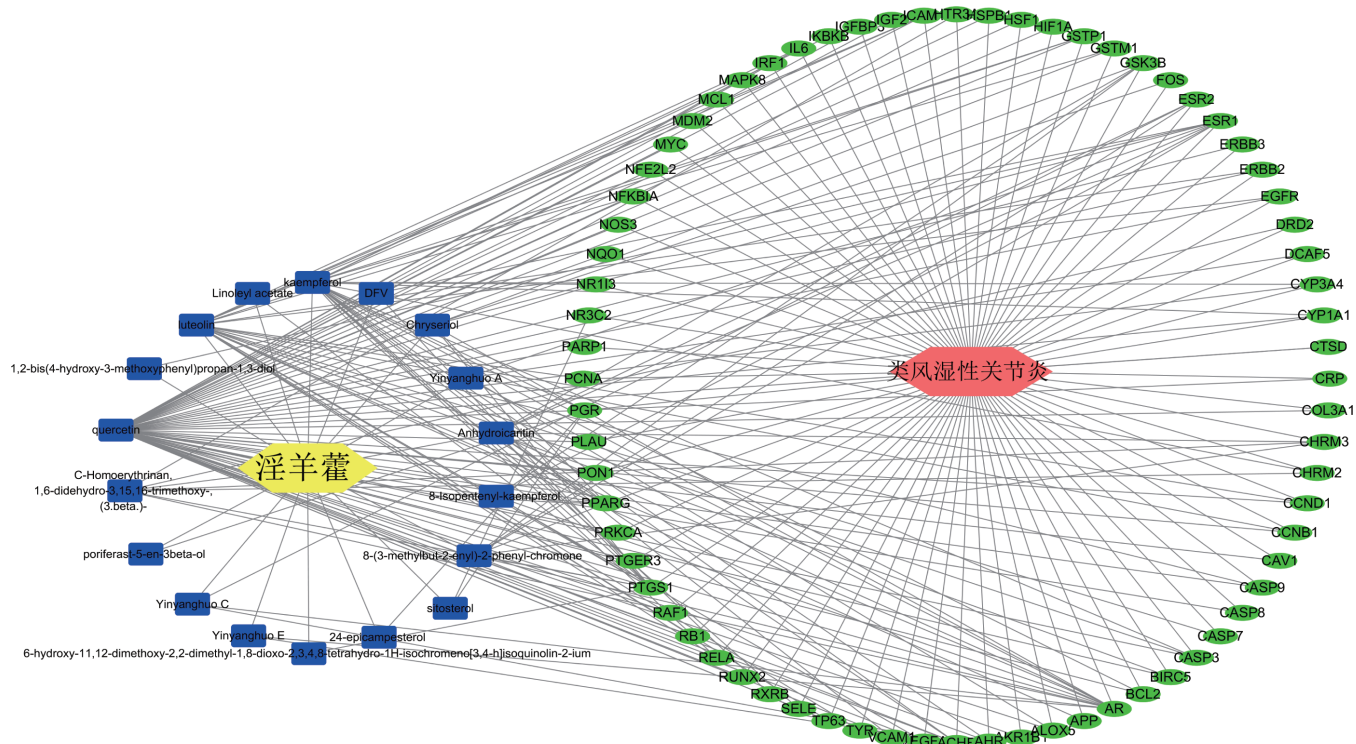


图 2 淫羊藿的“中药-活性成分-类风湿关节炎疾病靶点”网络

Figure 2 “Chinese medicine -active ingredient - target of RA” network of epimedium

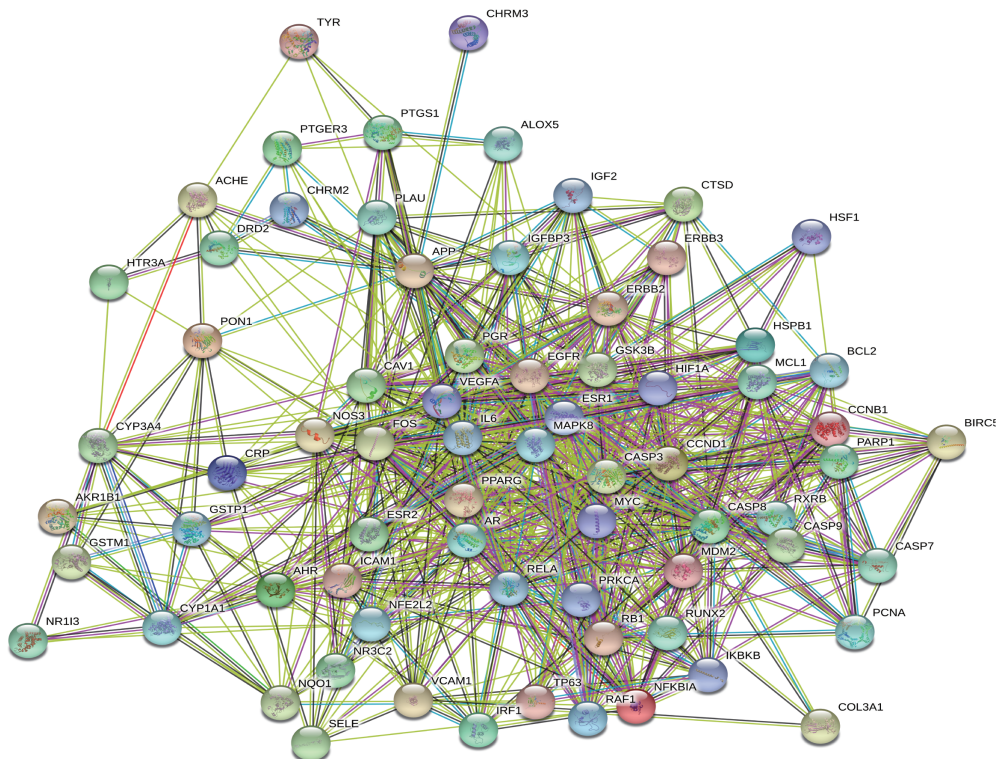


图 3 淫羊藿与类风湿关节炎疾病的共同靶点 PPI 网络

Figure 3 PPI network diagram of key targets of epimedium and RA

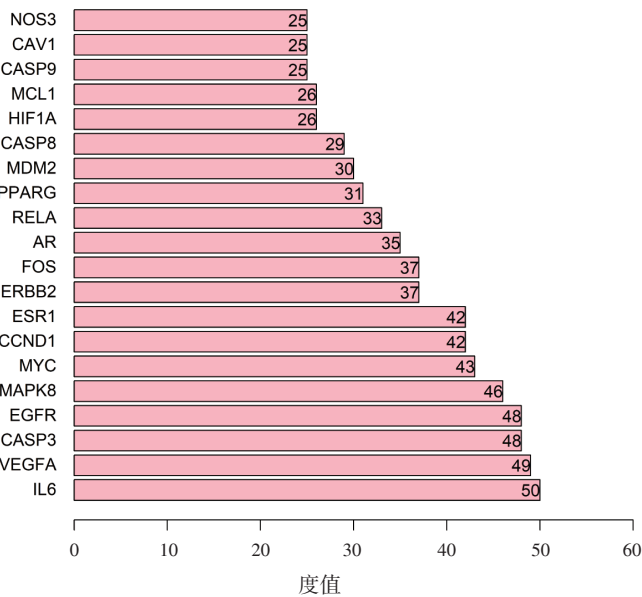


图 4 淫羊藿治疗类风湿关节炎的前 20 位核心靶点

Figure 4 Top 20 core targets of RA in the treatment by epimedii

2.4 GO 功能富集分析 通过 DAVID 数据库对淫羊藿治疗 RA 的 72 个潜在靶点蛋白进行分析, 根据 $P < 0.01$ 进行筛选, 共得到 178 个 GO 注释条目。按 P 值升序排列, 筛选出前 20 个 GO 注释, 其中 9 个与分子功能(MF)有关, 8 个与生物过程(BP)有关, 3 个与细胞成分(CC)有关。GO 注释多与 MF 和 BP

表 2 淫羊藿治疗类风湿关节炎相关潜在靶点的 GO 功能富集结果

Table 2 GO enrichment of potential therapy target genes of RA in the treatment by epimedii

序号	类型	GO_ID	GO 条目	中文注释	靶点/个	P 值
1	MF	GO: 0019899	Enzyme binding	酶结合	21	2.85×10^{-18}
2	BP	GO: 0045944	Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控	26	8.14×10^{-14}
3	MF	GO: 0042802	Identical protein binding	相同蛋白结合	23	1.46×10^{-13}
4	BP	GO: 0043066	Negative regulation of apoptotic process	凋亡过程的负调控	19	3.68×10^{-13}
5	MF	GO: 0005515	Protein binding	蛋白结合	62	4.78×10^{-10}
6	MF	GO: 0046982	Protein heterodimerization activity	蛋白异源二聚体活性	16	5.73×10^{-10}
7	MF	GO: 0008134	Transcription factor binding	转录因子结合	13	1.82×10^{-9}
8	CC	GO: 0005829	Cytosol	胞浆	36	2.34×10^{-9}
9	MF	GO: 0043565	Sequence-specific DNA binding	序列特异性 DNA 结合	16	2.51×10^{-9}
10	MF	GO: 0003707	Steroid hormone receptor activity	类固醇激素受体活性	8	3.06×10^{-9}
11	BP	GO: 0032355	Response to estradiol	对雌二醇的反应	9	4.38×10^{-9}
12	BP	GO: 0042493	Response to drug	对药物的反应	13	4.92×10^{-9}
13	MF	GO: 0004879	RNA polymerase II transcription factor activity, ligand-activated sequence-specific DNA binding	RNA 聚合酶 II 转录因子活性, 配体激活的序列特异性 DNA 结合	7	7.21×10^{-9}
14	BP	GO: 0010628	Positive regulation of gene expression	基因表达的正调控	12	1.21×10^{-8}
15	BP	GO: 0045893	Positive regulation of transcription, DNA-templated	转录正调控, DNA 模板	15	2.64×10^{-8}
16	BP	GO: 0007568	Aging	老化	10	3.03×10^{-8}
17	CC	GO: 0005654	Nucleoplasm	核质	31	4.30×10^{-8}
18	MF	GO: 0003700	Transcription factor activity, sequence-specific DNA binding	转录因子活性, 序列特异性 DNA 结合	19	4.68×10^{-8}
19	CC	GO: 0005634	Nucleus	细胞核	44	6.60×10^{-8}
20	BP	GO: 0009636	Response to toxic substance	对有毒物质的反应	8	6.78×10^{-8}

相关, 如酶结合、RNA 聚合酶 II 对转录的正调控、相同蛋白结合、凋亡过程的负调控等。见表 2。

2.5 KEGG 信号通路富集分析 通过 DAVID 数据库对淫羊藿治疗 RA 的 72 个潜在靶点蛋白进行分析, 根据 $P < 0.01$ 进行筛选, 共得到 63 条 KEGG 信号通路。按 P 值升序排列, 筛选出前 20 条关键信号通路, 见表 3。其中包括肿瘤坏死因子信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路、促乳素信号通路、甲状腺激素信号通路、缺氧诱导因子 1 信号通路等信号通路, 以及恶性肿瘤途径、前列腺癌、大肠癌、癌症中的蛋白聚糖、癌症中的微小基因等疾病相关通路。

3 讨论

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)作为一种严重的慢性自身免疫性炎症性疾病, 多发于手、足小关节, 具有对称性, 严重者可导致关节畸形、功能丧失。目前西医对于 RA 的治疗多采用镇痛抗炎、免疫抑制的方式, 具有较大的毒副作用^[8]。补肾中药淫羊藿味辛甘、性温, 具有补命门、益精气、强筋骨之效。现代药理研究^[9]表明, 淫羊藿既可促进成骨细胞的增殖分化, 又可抑制破骨细胞的活性。

表 3 淫羊藿与 RA 相关潜在靶点 KEGG 通路

Table 3 Potential target KEGG pathway related to “epimedium-RA”

序号	KEGG_ID	KEGG 通路	中文注释	靶点/个	P 值
1	hsa05200	Pathways in cancer	恶性肿瘤途径	27	3.90×10^{-16}
2	hsa05161	Hepatitis B	乙型肝炎	17	2.29×10^{-13}
3	hsa05215	Prostate cancer	前列腺癌	13	2.50×10^{-11}
4	hsa05205	Proteoglycans in cancer	癌症中的蛋白聚糖	15	4.01×10^{-9}
5	hsa04668	TNF signaling pathway	肿瘤坏死因子信号通路	12	4.03×10^{-9}
6	hsa05210	Colorectal cancer	大肠癌	10	5.33×10^{-9}
7	hsa05212	Pancreatic cancer	胰腺癌	10	8.22×10^{-9}
8	hsa05219	Bladder cancer	膀胱癌	8	9.40×10^{-8}
9	hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路	17	9.76×10^{-8}
10	hsa04917	Prolactin signaling pathway	促乳素信号通路	9	3.07×10^{-7}
11	hsa05206	MicroRNAs in cancer	癌症中的微小基因	15	3.70×10^{-7}
12	hsa05134	Legionellosis	军团菌病	8	6.71×10^{-7}
13	hsa05223	Non-small cell lung cancer	非小细胞肺癌	8	8.66×10^{-7}
14	hsa04919	Thyroid hormone signaling pathway	甲状腺激素信号通路	10	1.24×10^{-6}
15	hsa05222	Small cell lung cancer	小细胞肺癌	9	1.25×10^{-6}
16	hsa04210	Apoptosis	细胞凋亡	8	1.75×10^{-6}
17	hsa04066	HIF-1 signaling pathway	缺氧诱导因子 1 信号通路	9	3.17×10^{-6}
18	hsa05220	Chronic myeloid leukemia	慢性粒细胞白血病	8	4.87×10^{-6}
19	hsa05145	Toxoplasmosis	弓形虫病	9	8.80×10^{-6}
20	hsa05213	Endometrial cancer	子宫内膜癌	7	8.92×10^{-6}

因此,本文通过网络药理学方法构建了淫羊藿-活性成分-类风湿关节炎疾病靶点网络、淫羊藿与类风湿关节炎疾病的共同靶点 PPI 网络,系统分析淫羊藿治疗 RA 的作用机制。

以口服生物利用度 (Oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ ^[10-11], 类药性 (Drug likeness, DL) ≥ 0.18 ^[12] 为标准,筛选出淫羊藿的活性成分 23 个,药物活性成分靶点与 RA 相关疾病靶点取交集后,得到 72 个共同靶蛋白,对应 18 个活性成分。其中度值排名前 5 位的活性成分为槲皮素、木犀草素、山萘酚、脱水淫羊藿素、8-异戊烯基黄酮。研究发现,槲皮素可通过抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 激活,有效地减轻类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞炎症因子及基质金属蛋白酶的表达,从而起到保护软骨的作用^[13-14];山萘酚能够明显抑制骨吸收,从而改善骨质疏松大鼠骨小梁形态结构^[15]。其他活性成分包括淫羊藿苷、木犀草素等也与 RA 关系密切,但其具体作用机制有待进一步实验探讨。

通过对淫羊藿与类风湿关节炎疾病的共同靶点 PPI 网络分析发现,度值靠前的核心靶点包括白细胞介素 6 (IL-6)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、丝裂原活化蛋白激酶 8

(MAPK8) 等。研究^[16]表明,关节软骨破坏是 RA 患者致残的主要原因,也是 RA 的主要病理变化,其中破骨细胞的过度活化可能在 RA 的病理变化过程中扮演了重要角色。而白细胞介素对 RA 的骨破坏具有重要调控作用,以 IL-6 较为突出。IL-6 是机体免疫调控的关键细胞因子,也是参与 RA 进展期关节破坏的典型炎性细胞因子;IL-6 可刺激巨噬细胞、骨髓粒细胞集落的形成,并促使它们进一步形成破骨细胞的前体细胞,激发破骨细胞的活性,使骨吸收和骨形成的平衡遭到破坏,导致 RA 的发生^[17]。VEGFA 是血管内皮生长因子家族中的主要成员,也是骨性关节炎分子机制中的关键基因。研究^[18-19]发现,VEGFA 在关节软骨和滑膜组织中的表达明显升高与成骨、软骨、破骨细胞的存活、分化、成熟、迁移及升高的吸收活性有关,参与了滑膜增生、软骨退变、骨赘形成等过程。还有研究^[20-21]显示,VEGFA 的增加不仅与骨性关节炎的严重程度相关,还与其疼痛程度关系密切。丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 家族中研究最广泛的是 ERK1/2、JNK 以及 p38MAPK, MAPK 信号通路是 RA 发生发展机制中的关键通路^[22]。通过给予 II 型胶原诱导关节炎 (CIA) 模型大鼠 MAPK 信号转导通路抑制剂后发现,其可抑制大鼠滑膜炎及

关节软骨破坏,推测 MAPK 通路可调节致炎细胞因子及其下游的细胞信号传导通路,从而影响关节的炎症^[23]。CASP3 是 Caspase 家族中最重要的效应子,CASP3 可激活 CASP7,而 CASP7 的缺乏会导致细胞凋亡减弱^[24]。有研究^[25]认为,各种免疫细胞的凋亡减弱不平衡可能是导致 RA 的原因之一,Caspase 家族与 RA 易感性存在一定联系。

KEGG 通路富集分析结果表明,淫羊藿通过对 63 条 RA 相关通路的作用而达到干预 RA 的目的,其中包括疾病通路和信号通路。主要疾病通路大多与癌症相关,包括恶性肿瘤途径(Pathways in cancer)、癌症中的蛋白聚糖(Proteoglycans in cancer)、大肠癌(Colorectal cancer)、胰腺癌(Pancreatic cancer)、膀胱癌(Bladder cancer)、癌症中的微小基因(MicroRNAs in cancer)等。流行病学调查^[26]显示,随着 RA 患病期的延长,患者罹患癌症的危险性也在增加,其原因可能与慢性迁延性疾病对免疫系统的影响有关,或是 RA 与癌症都具有共同的患病倾向性。由于恶性肿瘤途径较为复杂,涉及多个下游信号通路如 MAPK 信号通路、VEGF 信号通路、糖蛋白(Wnt)信号通路、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路等,故淫羊藿治疗 RA 中关联性最强的多为肿瘤通路^[27]。有研究^[28]发现,RA 与淋巴瘤、肺癌等恶性肿瘤的发生有密切关系,但其机制尚不明确。

主要信号通路包括肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway)、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、促乳素信号通路(Prolactin signaling pathway)、甲状腺激素信号通路(Thyroid hormone signaling pathway)、缺氧诱导因子 1 信号通路(HIF-1 signaling pathway)等。研究^[29]发现,TNF 信号通路中的肿瘤坏死因子 α (TNF- α)在炎症反应过程中具有关键作用,TNF- α 可刺激 RA 患者体内滑膜成纤维细胞增生,产生金属蛋白酶,激活 B 细胞产生类风湿因子等自身抗体,从而导致关节软骨和骨的破坏。RA 滑膜组织中存在 Akt 表达,其被 PI3K 激活而逐渐磷酸化,刺激细胞因子如 TNF- α 、VEGF 等的表达,从而发挥其介导细胞生长、发育和血管调节作用的生物学效应^[30],且 PI3K-Akt 信号通路的激活会促进 RA 炎症的加重^[31]。HIF-1 信号通路中的低氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)可作为恶性肿瘤发生的诱导因子,在多种恶性肿瘤中都有过表达,HIF-1 α 在 RA 滑膜中也存在过度活

化^[32];而 pAkt 也可增强 HIF-1 α 的活性并启动 HIF-1 相关的靶基因转录,最终使细胞凋亡受到抑制^[33]。

综上所述,淫羊藿对 RA 的治疗具有多成分、多靶点、多通路的作用特点,其中 IL-6、VEGFA、CASP3、MAPK8 等重要靶点都被证实与 RA 的治疗密切相关,可能主要通过 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、HIF-1 信号通路等起到治疗 RA 的作用。本研究利用网络药理学方法探讨了淫羊藿治疗 RA 的可能作用机制,可为其进一步开发研究提供理论参考。

参考文献:

- [1] 池里群,周彬,高文远,等. 治疗类风湿性关节炎常用药物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2851-2858.
- [2] 曾小威,李世刚. 类风湿性关节炎治疗及免疫分子机制研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(11): 1044-1046.
- [3] OPAVA C H, MATHILDA B. Towards evidence-based hand exercises in rheumatoid arthritis[J]. Lancet, 2015, 385 (9966): 396-398.
- [4] 张卓莉. 类风湿关节炎诊断与治疗的递进式发展[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2013, 5(3): 30-32.
- [5] 邝丽仪. 类风湿关节炎的中医证治规律研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.
- [6] 李艳,于涛,苗明三. 淫羊藿的化学、药理与临床应用分析[J]. 中医学报, 2017, 32(4): 619-622.
- [7] 李建国,谢兴文,李鼎鹏,等. 中药淫羊藿治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(3): 389-393.
- [8] 宋明霞. 类风湿性关节炎治疗现状[J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(8): 1200-1204.
- [9] 刘亦恒,臧洪敏,张海英,等. 淫羊藿总黄酮对成骨细胞中 OPG 和 RANKL mRNA 基因表达影响的实验研究[J]. 中药材, 2005 (12): 1076-1078.
- [10] 徐飞飞. 基于系统药理学的中药抗骨质疏松活性研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2015.
- [11] 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.
- [12] TAO W, XU X, WANG X, et al. Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal Radix Curcumae formula for application to cardiovascular disease[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145(1): 1-10.
- [13] 贾庆运,王拥军,梁倩倩,等. 槲皮素对人类风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞炎症因子和基质金属蛋白酶的表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(6): 738-741.
- [14] 王友庆,陈士芳,梅珏. 槲皮素通过抑制 NF- κ B 减弱类风湿关节炎大鼠软骨细胞基质降解和细胞凋亡[J]. 免疫学杂志, 2019, 35 (6): 485-491.
- [15] 丁淑琴,杨风琴,张玮,等. 山奈酚治疗去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(24): 2925-2929, 2932.

- [16] SOUZA P P C, LERNER U H. The role of cytokines in inflammatory bone loss[J]. Immunological Investigations, 2013, 42(7): 555-622.
- [17] 凌芸, 汪年松, 冯辉, 等. 白介素在类风湿关节炎骨破坏中调控作用的研究进展[J]. 世界临床药物, 2014, 35(5): 329-333.
- [18] HAMILTON J L, NAGAO M, LEVINE B R, et al. Targeting VEGF and its receptors for the treatment of osteoarthritis and associated pain[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2016, 31(5): 911-924.
- [19] JACKSON J R, MINTON J A L, HO M L, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in synovial fibroblast is induced by hypoxia and interleukin 1beta[J]. The Journal of Rheumatology, 1997, 24(7): 1253-1259.
- [20] SAETAN N, HONSAWEK S, TANAVALLEE A, et al. Relationship of plasma and synovial fluid vascular endothelial growth factor with radiographic severity in primary knee osteoarthritis[J]. International Orthopaedics, 2013, 38(5): 1099-1104.
- [21] MABEY T, HONSAWEK S, NATTHAPHON S, et al. Angiogenic cytokine expression profiles in plasma and synovial fluid of primary knee osteoarthritis[J]. International Orthopaedics, 2014, 38(9): 1885-1892.
- [22] 张学增, 张育. RA治疗新靶点——信号转导通路的调节[J]. 现代免疫学, 2010, 30(3): 253-256.
- [23] NISHIKAWA M, MYOUI A, TOMITA T, et al. Prevention of the onset and progression of collagen-induced arthritis in rats by the potent p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor FR167653[J]. Arthritis and Rheumatism, 2003, 48(9): 2670-2681.
- [24] LAKHANI S A, MASUD A, KUIDA K, et al. Caspases 3 and 7: key mediators of mitochondrial events of apoptosis[J]. Science, 2006, 311(5762): 847-851.
- [25] 江雨霏, 沈波. Caspase基因与类风湿性关节炎易感性的关系[J]. 医学研究杂志, 2011, 40(2): 125-127.
- [26] 张旭明. 癌症与类风湿性关节炎的流行病学考虑[J]. 国外医学(内科学分册), 1986, 13(1): 10-11.
- [27] 吴雍真, 陈云志, 朱星, 等. 基于网络药理学探讨黄芪治疗骨质疏松有效成分及作用机制[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2020, 37(2): 10-15.
- [28] 郭君, 朱世为, 廖东, 等. 类风湿关节炎患者血清HIF-1 α 、ICAM-1、VCAM-1表达与恶性肿瘤的关系[J]. 癌症进展, 2017, 15(5): 555-558.
- [29] 姜旭淦, 许化溪. 信号转导途径在类风湿性关节炎治疗中的应用进展[J]. 医学综述, 2006, 12(8): 456-459.
- [30] GAO J, ZHOU X L, KONG R N, et al. MicroRNA-126 targeting PIK3R2 promotes rheumatoid arthritis synovial fibroblasts proliferation and resistance to apoptosis by regulating PI3K/AKT pathway[J]. Experimental & Molecular Pathology, 2016, 100(1): 192-198.
- [31] 邹丽华, 侯春福, 陈志煌, 等. 双乌宣痹颗粒对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞凋亡及PI3K/Akt信号通路的影响[J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(9): 721-726.
- [32] 杨妮娜, 詹景棣, 柳海晓, 等. 臭氧通过调节HIF-1 α -VEGF信号通路治疗类风湿性关节炎的实验研究[J]. 浙江医学, 2019, 41(21): 2265-2268, 2273.
- [33] ZENG L, ZHOU H Y, TANG N N, et al. Wortmannin influences hypoxia-inducible factor-1 alpha expression and glycolysis in esophageal carcinoma cells[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(20): 4868-4880.

(编辑: 邹元平)