

基于网络药理学联合分子对接探析香连丸治疗溃疡性结肠炎的分子机制

唐舒婷¹, 廖桂彬¹, 龚嘉倩¹, 吴苑¹, 黄梦芬¹, 陈明榆¹, 赵利娜², 陈斌²(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接研究方法探析香连丸治疗溃疡性结肠炎的作用机制。**方法** 检索 GEO DataSets 数据库获取溃疡性结肠炎的疾病靶点, 绘制差异基因火山图与热图。在 TCMSp 数据库中, 分别收集黄连和木香的活性成分和靶点。将溃疡性结肠炎的差异基因与香连丸有效成分靶点取交集, 并通过 Cytoscape 3.8.0 软件绘制香连丸治疗溃疡性结肠炎的“活性成分-靶点”网络, 通过 STRING 11.0 平台构建蛋白互作网络, 并根据度值大小筛选出核心靶点。同时将上述交集基因载入 R 软件中, 进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。使用 Surflex-Dock GeomX 进行分子对接验证。使用 PyMOL 2.5 和 ligplot+2.1 进行蛋白和配体之间的相互作用分析。**结果** 共筛选得到香连丸活性成分 20 个, 包括槲皮素、豆甾醇、小檗浸碱、黄连素等, 以及与 GEO 共有差异基因 26 个, 涉及 IL-6、CCL2、IL-1 β 、MMP9、PTGS2 等关键基因。GO 生物过程 597 条, 细胞成分 21 个, 分子功能 50 个, 主要涉及脂多糖刺激变化(response to lipopolysaccharide)等生物过程, 内质网腔(endoplasmic reticulum lumen)等细胞成分, 细胞因子活性(cytokine activity)等分子功能。KEGG 通路 48 条, 主要涉及 TNF 信号通路、IL-17 信号通路、Toll-样受体信号通路、NF- κ B 信号通路、Th17 细胞分化等经典信号通路。分子对接结果表明香连丸的活性成分可以对核心靶点 IL-6、CCL2、IL-1 β 、MMP9、PTGS2 发挥调控作用。**结论** 香连丸治疗溃疡性结肠炎具有多成分、多途径、多靶点作用的特点, 主要起到抗炎、抗氧化、调节肠道黏膜免疫系统、肠道平滑肌功能等多个作用, 证明了中医整体观念的优越性。本研究为后续进一步研究香连丸治疗溃疡性结肠炎的基础和临床研究以及新药研发提供了思路和借鉴。

关键词: 香连丸; 溃疡性结肠炎; 网络药理学; 分子对接; GEO 芯片

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)03-0365-09

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783.2021.03.010

Mechanism of *Xianglian* Pills in the Treatment of Ulcerative Colitis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

TANG Shuting¹, LIAO Guibin¹, GONG Jiaqian¹, WU Yuan¹, HUANG Mengfen¹, CHEN Mingyu¹, ZHAO Lina², CHEN Bin²(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism of *Xianglian* pills in the treatment of ulcerative colitis based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** GEO DataSets database was retrieved to obtain the disease targets of ulcerative colitis. The volcano map and heat map of differential genes were drawn. The active components and their targets of the two herbs (*Coptis chinensis*, *Aucklandia*) were screened out from TCMSp database and the intersections of *Xianglian* pills and ulcerative colitis disease targets were obtained. Cytoscape 3.8.0 software was used to construct the active ingredient-target network diagram. PPI network was constructed through STRING11.0 platform. And the core targets were confirmed by the degree values. The R software was used to analyze the GO function and KEGG pathway enrichment of genes. The docking study was performed by using the Surflex-

收稿日期: 2020-10-24

作者简介: 唐舒婷, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合防治消化系统疾病。Email: 1772338334@qq.com。通信作者: 陈斌, 男, 博士, 主任医师, 研究方向: 中西医结合防治消化系统疾病。Email: ddwchen@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82074197); 广州中医药大学第一附属医院创新强院资助项目(2019HIT25、2019ZD01); 广州中医药大学一流学科建设项目(2020年); 广东省研究生教育创新计划项目(2020JGXM031)。

Dock GeomX. The binding interactions between ligands and proteins were analyzed by using PyMOL and ligplot+.

Results 20 active ingredients were found in *Xianglian* pills for ulcerative colitis, including quercetin, stigmasterol, berberine, etc. 26 common differential genes were identified, namely IL-6, CCL2, IL-1 β , MMP9, PTGS2. GO analysis showed that a total of 597 biological processes, 21 cellular components and 50 molecular functions, mainly involving the biological process of response to lipopolysaccharide, cellular component of endoplasmic reticulum lumen and molecular function of cytokine activity. There were 48 KEGG pathways, mainly including TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, NF- κ B signaling pathway, Th17 cell differentiation and other classical signaling pathways. The results of molecular docking showed that the active components of *Xianglian* pills could regulate the core targets (IL-6, CCL2, IL-1 β , MMP9 and PTGS2).

Conclusion *Xianglian* pills can be used to treat ulcerative colitis in a multi-component, multi-pathway and multi-target manner. The drug mainly exhibited effects on anti-inflammatory, anti-oxidation, regulating intestinal mucosal immune system and intestinal smooth muscle function, which proved the superiority of the holism concept of traditional Chinese Medicine. This research provided ideas and references for further studies on the basic and clinical research of *Xianglian* pills in the treatment of ulcerative colitis as well as new drug development.

Keywords: *Xianglian* pills; ulcerative colitis; network pharmacology; molecular docking; GEO chip

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 又称非特异性溃疡性结肠炎, 是一种原因不明的慢性结、直肠炎性疾病, 具有急性暴发型病死率高、慢性持续型癌变率高、易反复发作等特点^[1]。溃疡性结肠炎以腹痛、腹泻、黏液脓血便、里急后重为主要临床表现。在 21 世纪, 溃疡性结肠炎已成为一种全球性疾病, 在亚洲国家, 其发病率正在加速上升^[2], 造成了极大的医疗负担。目前除 5-氨基水杨酸、皮质类固醇、免疫抑制剂、生物制剂等治疗药物外, 中医药因具有较好的临床疗效已成为一种重要的治疗方法^[3]。深入研究中医药治疗溃疡性结肠炎的作用机制具有重大的科学意义。

祖国医学中, 本病多被归于中医学“腹痛”“泄泻”“痢疾”“肠风”“脏毒”“肠癖”及“大瘕泄”等范畴。溃疡性结肠炎的病理性质为本虚标实, 病理因素主要有: ①湿邪(热); ②瘀热; ③热毒; ④痰浊; ⑤气滞; ⑥血瘀等^[3]。香连丸出自《太平惠民和剂局方》, 黄连、木香二药合用, 治疗湿热痢疾、赤白相兼、里急后重之症。黄连厚肠止痢, 现代医学研究^[4]发现黄连对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和志贺氏痢疾杆菌均有较强的抑制作用, 说明黄连具有广谱的抗菌活性。《日华子本草》云: “木香, 生永昌(云南保山)山谷。治心腹一切气, 止泻, 霍乱, 痢疾, 是行气止痛要药”^[5]。木香调气行滞, 消除里急后重之苦, 正应了刘完素在《素问病机气宜保命集》中提出的“调气则后重自除”之

意。除此之外, 古今医家多以黄连、木香药对加减化裁, 辨治溃疡性结肠炎。《寿世保元》取木香四两, 黄连二两为丸, 名曰观音救苦丸, 用于治疗大便下血; 蒲辅周在香连丸的基础上立参连散一方, 方拟黄连五两, 木香二两, 甘草三两, 苦参十两, 共为细末, 每服二钱, 痢疾白多, 红糖水冲服, 赤多, 白糖水冲服。蒲老治疗痢疾, 善用红糖与白糖两味, 亦为妙哉^[6]。

现代药理研究显示, 香连丸可以明显降低氧化应激反应, 促进细胞自噬, 减轻肠道炎性损伤, 促进组织修复^[7]; 香连丸可提高 Bcl-2 mRNA、减少 Bax mRNA 的表达, 改善结肠黏膜损伤, 减少上皮细胞凋亡, 改善细胞凋亡情况^[8]。虽然香连丸治疗溃疡性结肠炎在临床上取得了良好的疗效^[9-11], 但其发挥疗效的分子生物学基础尚未完全阐明, 相关研究仍旧匮乏。本研究运用网络药理学的方法, 筛选香连丸治疗溃疡性结肠炎的活性成分和潜在靶点, 并对其关键机制进行分析和预测, 以期阐释其可能的药效物质基础和分子作用机制。

1 材料与方法

1.1 溃疡性结肠炎的 GEO 基因芯片表达数据获取
选择 GEO DataSets 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/>), 检索溃疡性结肠炎, 获得表达谱数据共 87 条, 筛选下载 GSE107499 探针矩阵和 GPL15207 平台数据, 该基因芯片数据集来源于美国辉瑞公司

对溃疡性结肠炎受试者炎症与非炎症结肠组织的整体基因芯片测序表达,共 119 个样本。

1.2 溃疡性结肠炎差异热图、火山图的绘制 运行 R 软件,引用“limma”包和“pheatmap”包,设定筛选条件为差异倍数 $\log_2 F_c$ 的绝对值 > 1 , 矫正后的 P 值(adj. P . Val) < 0.05 , 从而得到溃疡性结肠炎的显著差异表达基因。再对数据进行校正,获取上调和下调最显著的 20 个基因进行差异基因热图的绘制,并输出火山图。

1.3 香连丸活性成分的筛选及“活性成分-靶点”网络的构建 在 TCMSP 数据库(<https://tcmspw.com/tcmsp.php>)中,分别检索黄连和木香。化合物的体内过程是药物成药性的重要指标^[12],口服生物利用度(Oral Bioavailability, OB)和类药性(Drug likeness, DL)是药物筛选最常见的药物动力学参数^[13]。以 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 作为筛选条件,获取木香和黄连的有效成分。在 Drugbank 数据库(www.drugbank.ca/)中查找香连丸活性成分的有效靶点。将“1.2”中溃疡性结肠炎的疾病差异基因与香连丸的有效成分靶点取交集后导入到 Cytoscape 3.8.0 软件,绘制“活性成分-靶点”网络。

1.4 PPI 蛋白互作网络的构建 将“1.3”中得到的“疾病-药物”交集基因导入到 STRING11.0 平台(<http://string-db.org/cgi/input.pl>),最低相互作用阈值设为中等“medium confidence(0.400)”,隐藏游离的节点,其他参数保持默认设置,构建 PPI 蛋白互作网络,根据度值大小筛选出核心靶点。

1.5 香连丸治疗溃疡性结肠炎的 GO 功能与 KEGG 通路富集分析 通过运行 R 软件,输入“1.3”中所获得的交集基因,在 R 软件中安装 Bioconductor 的“org.Hs.eg.db”人类数据库,以及“colorspace”“stringi”“ggplot2”“DOSE”“clusterProfiler”“enrichplot”绘图包,设置 P 值 Cutoff=0.05, Q 值 Cutoff=0.05,计算富集在每个 GO 功能上的基因数目,选取排名前 10 位的 GO 功能结果,绘制成柱状图。将排名前 30 位的 KEGG 富集通路,输出为气泡图。

1.6 香连丸核心成分与关键靶基因的分子对接验证 通过对“活性成分-靶点”网络、蛋白互作网络以及 GO、KEGG 富集分析结果进行整理分析,筛选出共有且度值最高的 IL-6、IL-1 β 、CCL2、MMP9 和 PTGS2 蛋白分别与度值最高的分子槲皮素、豆甾醇进行分子对接验证。从蛋白质结构数据库 RCSB 中(<https://www.rcsb.org/>)下载这 5 个蛋白的晶体结

构,蛋白质编号分别为 2ARW、3POK、4DN4、4H3X 和 5F19。使用 SYBYL-X 2.0 软件对蛋白质进行去水加氢、加电荷以及修复氨基酸侧链等。应用 Surflex-Dock 对 IL-6、IL-1 β 和 CCL2 的结合口袋进行预测,MMP9 和 PTGS2 的结合口袋以原生配体为参考生成结合口袋。分子对接使用 Surflex-Dock GeomX 进行,筛选结果以 Total-Score(总评分) > 5 为阈值。蛋白和配体之间的相互作用使用 Pymol 2.5 和 ligplot+ 2.1 进行分析。

2 结果

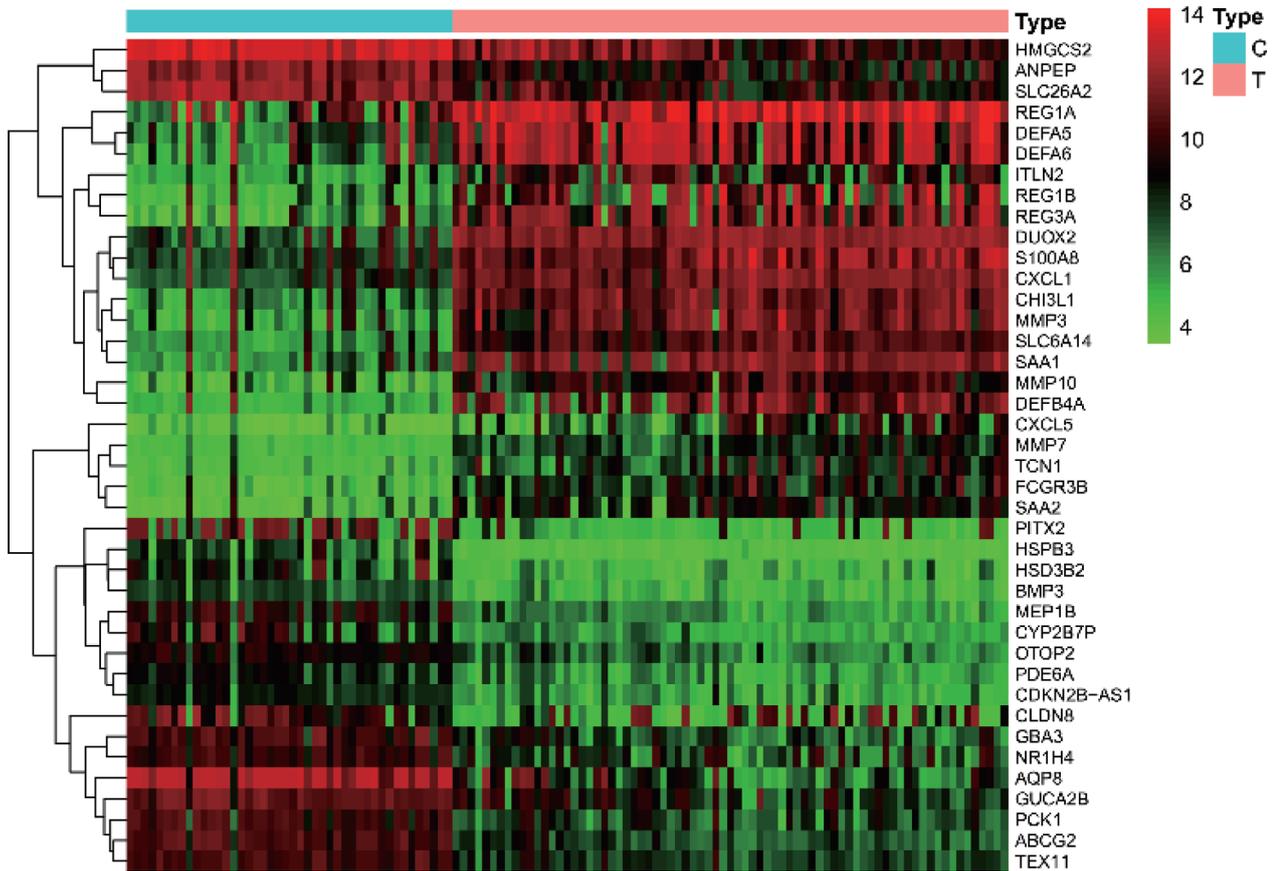
2.1 溃疡性结肠炎患者的病灶结肠组织与正常结肠组织的整体基因表达结果 共获得差异表达基因 849 个,其中上调基因 540 个,下调基因 309 个,采用差异热图(图 1)、火山图(图 2)对数据进行可视化处理。图 1 中横坐标为样品的名称,即对照组“C”(蓝色图例)代表 44 个溃疡性结肠炎患者正常结肠组织样本,实验组“T”(红色图例)代表 75 个病灶结肠组织样本;纵坐标为基因的名称,绿色、黑色、红色分别表示基因在样品中呈低、中、高表达。图 1 结果还表明,上调基因和下调基因分别集中在相应的模块区域,相互交叉混合区域较少,说明该芯片数据经筛选过滤后,能够保证分析的准确性。图 2 中横坐标显示差异倍数,纵坐标表示显著性水平,每个点代表基因,红点和绿点分别代表上调及下调的基因。

2.2 香连丸活性成分筛选结果 检索 TCMSP 数据库,设定筛选条件 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$,共筛选得到活性成分 20 个,其中黄连活性成分 14 个,木香活性成分 6 个,这些成分包括槲皮素(quercetin)、豆甾醇(Stigmasterol)、小檗浸碱(Berberine)、黄连素(berberine)等。结果见表 1。

2.3 香连丸治疗溃疡性结肠炎的调控网络构建结果

将香连丸药物活性成分和溃疡性结肠炎的差异表达基因相互映射,绘制“活性成分-靶点”网络(图 3)。得到 12 个与溃疡性结肠炎有关的活性成分,其中 3 个来源于木香,9 个来源于黄连,活性成分 MOL000098 代表的槲皮素对应靶点最多,因此认为该活性成分是香连丸治疗溃疡性结肠炎最关键的分子。

2.4 靶点蛋白与蛋白互作网络分析结果 将“2.3”获得的共有靶点上传至 STRING11.0 平台,得到相应的蛋白相互作用信息(图 4)。一共得到 25 个节点,



注：横坐标，蓝色表示对照组(C)，红色表示实验组(T)

图 1 溃疡性结肠炎患者病灶结肠组织与正常结肠组织差异基因热图

Figure 1 Heat map of differential genes between inflamed and non-inflamed colon tissue from UC subjects

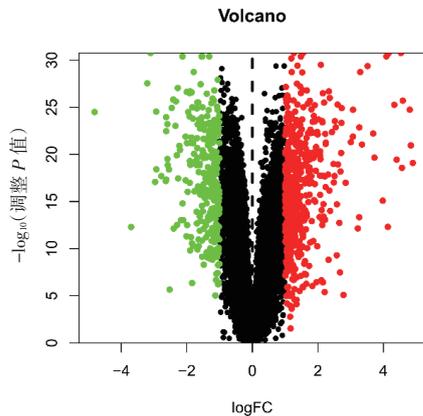


图 2 溃疡性结肠炎患者病灶结肠组织与正常结肠组织差异基因火山图

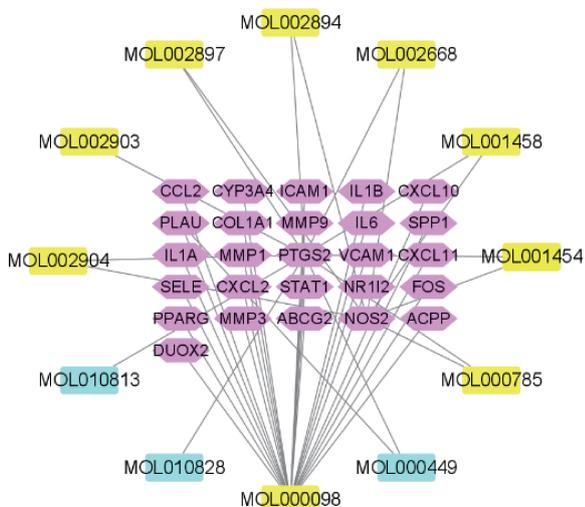
Figure 2 Volcano map of differential genes between inflamed and non-inflamed colon tissue from UC subjects

177 条边。平均度值为 13.6，大于平均度值的靶点有 17 个，其中排名前 8 位的依次为 IL-6、CCL2、IL-1β、MMP9、PTGS2、ICAM1、MMP1、VCAM1，其可能为香连丸治疗溃疡性结肠炎的关键靶点。

表 1 香连丸药物活性成分

Table 1 The active components of *Xianglian* pills

序号	分子 ID	分子名称	口服生物利用度(OB)/%	类药性(DL)	来源
1	MOL001454	berberine	36.86	0.78	黄连
2	MOL013352	Obacunone	43.29	0.77	黄连
3	MOL002894	berberrubine	35.74	0.73	黄连
4	MOL002897	epiberberine	43.09	0.78	黄连
5	MOL002903	(R)-Canadine	55.37	0.77	黄连
6	MOL002904	Berlambine	36.68	0.82	黄连
7	MOL002907	Corchoroside A _{qt}	104.95	0.78	黄连
8	MOL000622	Magnograndiolide	63.71	0.19	黄连
9	MOL000762	Palmidin A	35.36	0.65	黄连
10	MOL000785	palmatine	64.60	0.65	黄连
11	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	黄连
12	MOL001458	coptisine	30.67	0.86	黄连
13	MOL002668	Worenine	45.83	0.87	黄连
14	MOL008647	Moupinamide	86.71	0.26	黄连
15	MOL010813	Benzo[a]carbazole	35.22	0.22	木香
16	MOL010828	cynaropicrin	67.50	0.38	木香
17	MOL010839	lappadilactone	38.56	0.73	木香
18	MOL000211	Mairin	55.38	0.78	木香
19	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	木香
20	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	木香



注：粉色代表基因；黄色代表黄连活性成份；蓝色代表木香活性成分

图 3 香连丸治疗溃疡性结肠炎的“活性成分-靶点”网络
Figure 3 The “ingredients-targets” network of Xianglian pills in the treatment of UC

2.5 香连丸治疗溃疡性结肠炎的 GO 功能与 KEGG 通路富集分析结果 BP(biological process)表示香连丸治疗溃疡性结肠炎的基因生物过程，CC (cell component)表示基因细胞成分，MF (molecular function)表示基因分子功能。图 5 横坐标代表富集在每个 GO 上的基因数目，颜色代表富集的显著性，颜色越红代表 GO 富集越显著。从 GO 富集分析中可发现，其涉及到脂多糖刺激变化过程、对细菌来源的

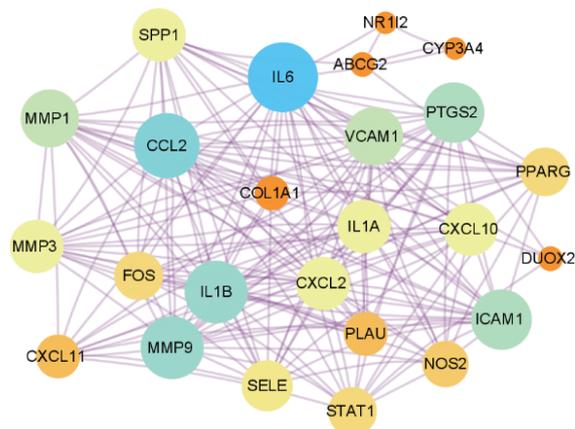


图 4 香连丸治疗溃疡性结肠炎的靶点蛋白互作网络
Figure 4 PPI Network of Xianglian pills in the treatment of UC

分子反应、免疫细胞迁移等生物过程，涉及到内质网腔等细胞成分，参与细胞因子活性、细胞因子受体结合作用、趋化因子受体结合作用等分子功能。在 KEGG 通路图中(图 6)，纵坐标代表香连丸治疗溃疡性结肠炎的通路，横坐标表示富集在该通路的基因比例。KEGG 相关信号通路涉及到肿瘤坏死因子 TNF 通路、IL-17 通路、Toll-样受体通路、NF-kappa B 通路、Th17 细胞分化等经典信号通路，提示香连丸通过作用于以上多条通路来发挥治疗溃疡性结肠炎的作用。通过查阅文献进一步筛选与溃疡性结肠炎关联性较大的信号通路进行分析，其中排名第 1 位的 TNF 信号通路成分如图 7 所示(引自 KEGG 数据库)。

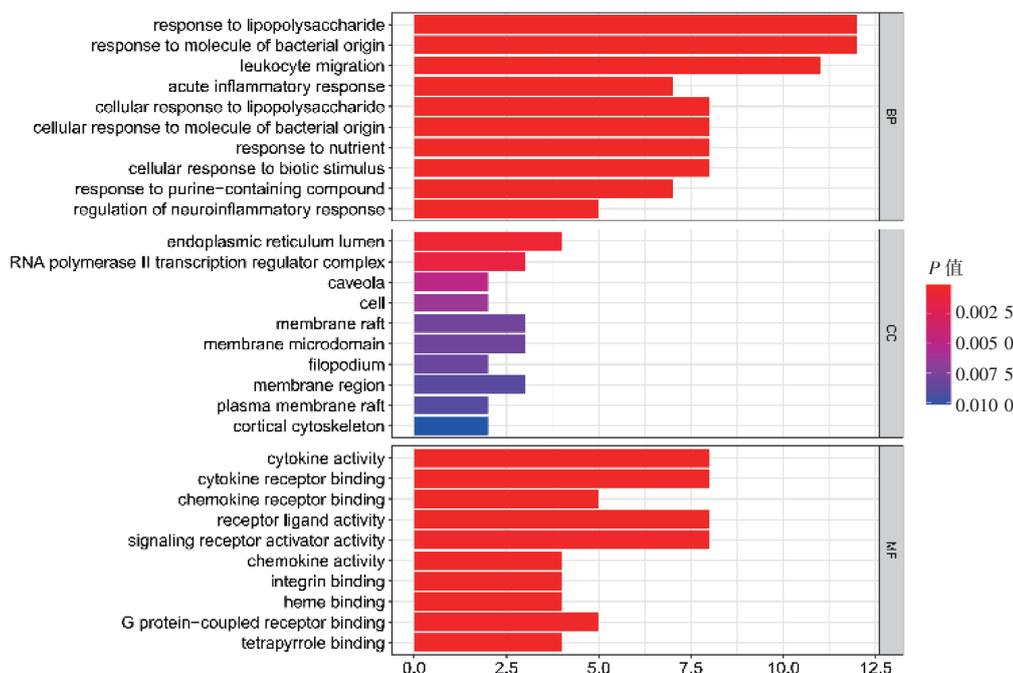


图 5 香连丸治疗溃疡性结肠炎的 GO 功能分析
Figure 5 GO Functions of Xianglian pills in the treatment of UC

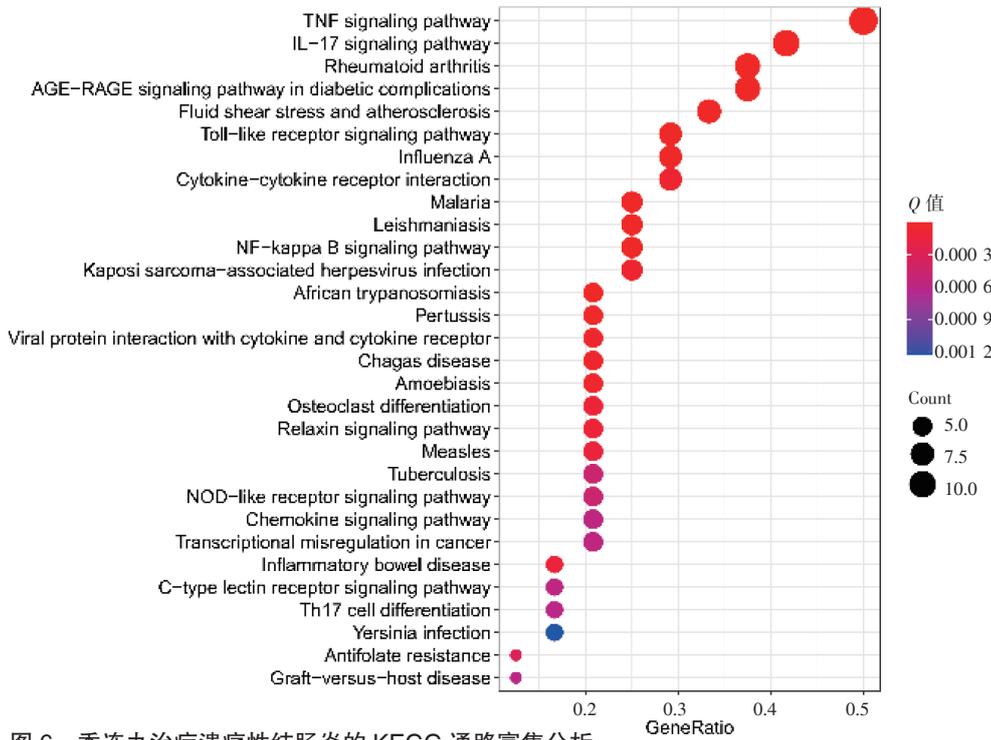


图 6 香连丸治疗溃疡性结肠炎的 KEGG 通路富集分析

Figure 6 Enrichment analysis of KEGG pathway of Xianglian pills in the treatment of UC

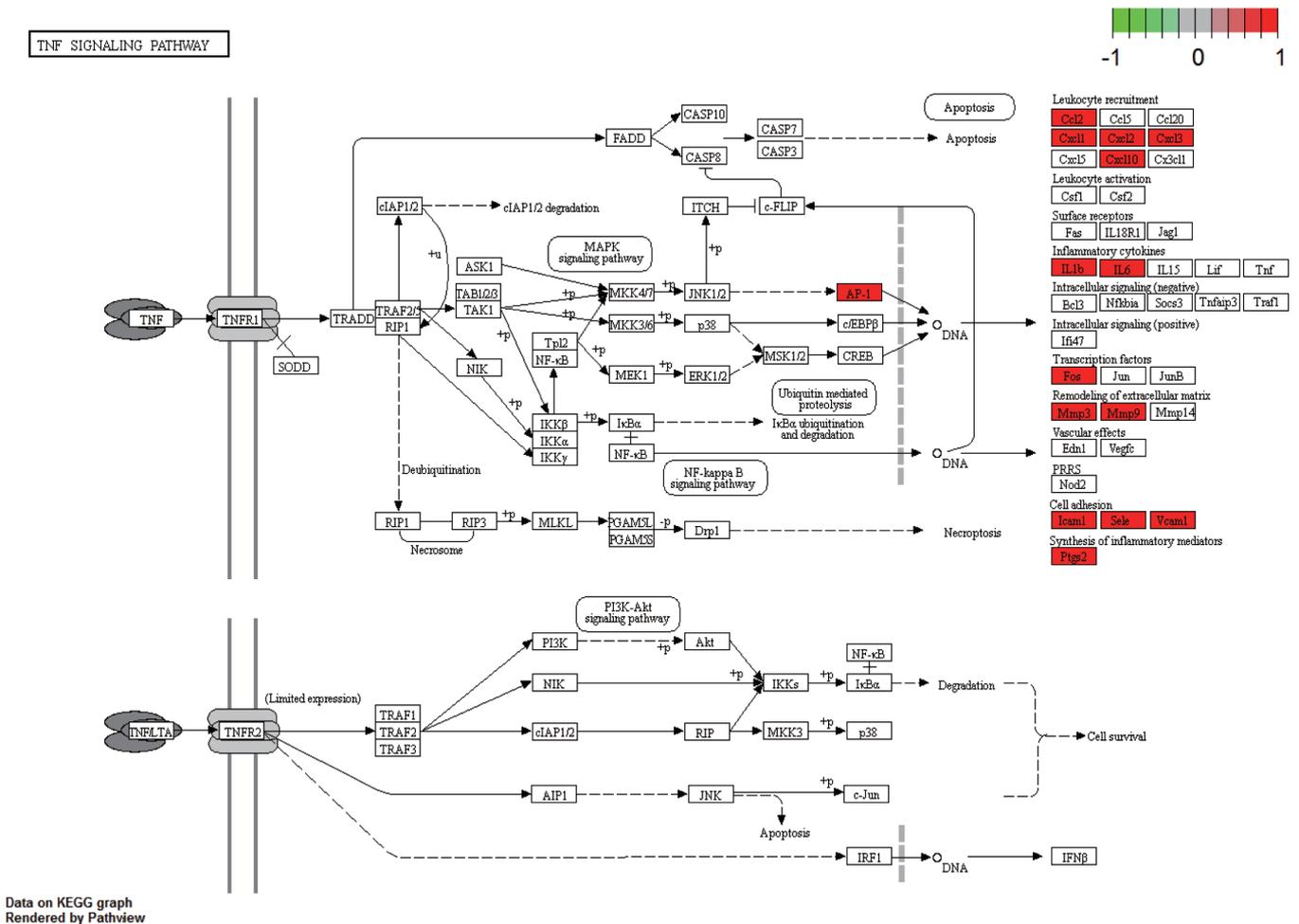


图 7 TNF 信号通路

Figure 7 TNF signaling pathway

2.6 香连丸核心成分作用于 IL-6、CCL2、IL-1β、MMP9 和 PTGS2 的分子对接验证结果

利用 Total-Score (总评分) 打分函数对小分子与靶蛋白相互作用结果进行评分, 数值愈大, 说明结合作用越好。当分值大于 5 分时说明分子与靶蛋白具有较好的结合活性, 分值大于 7 分则说明二者的结合构型具有强烈的活性。表 2 显示, 除槲皮素与 IL-6 外, 其余小分子与靶点的对接分值均大于 5, 表明这两种成分与靶点结合性能良好, 在一定程度上验证了成分-靶点之间的结合活性。进一步将每个靶蛋白中结合打分最高的活性成分(即槲皮素与 IL-1β、PTGS2, 豆甾醇与 IL-6、CCL2、MMP9)进行可视化, 对接可视化结果见图 8。其中左侧图例(A)为蛋白和配体分子之间的氢键相互作用图, 分子间氢键使用红色虚线表示; 右侧图例(B)为蛋白质和配体分子相互作用二维分析图, 氢键和疏水相互作用分别使用绿色虚线和红色弧线表示。

表 2 分子对接结果

Table 2 The results of molecular docking

序号	靶蛋白	PDB ID	小分子配体	对接分数
1	IL-6	2ARW	槲皮素	3.055 3
			豆甾醇	5.187 6
2	CCL2	4DN4	槲皮素	7.576 5
			豆甾醇	9.522 5
3	IL-1β	3POK	槲皮素	7.115 9
			豆甾醇	6.325 3
4	MMP9	4H3X	槲皮素	6.956 8
			豆甾醇	8.725 3
5	PTGS2	5F19	槲皮素	7.703 3
			豆甾醇	7.293 5

3 讨论

通过分析香连丸治疗溃疡性结肠炎的“活性成分-靶点”网络, 推测槲皮素、豆甾醇等成分是香连丸治疗溃疡性结肠炎的主要活性成分。其中槲皮素是黄连的有效活性成分, 豆甾醇为木香的主要活性成分。Manuela Dicarlo^[14]研究发现, 槲皮素通过调节上皮炎症基因, 作用于脂多糖诱导的肠道炎症模型(LPS-induced organoid)和温妮肠道炎症模型(Winnie organoid models), 通过下调重组蛋白 LCN-2、TNF-α 和 CCAAT/增强子结合蛋白 β(C/EBPβ) 从而抑制炎症介质的表达, 同时上调炎症抑制剂血红素加氧酶 1(HMOX1) 的表达, 发挥抗炎作用。Sotnikova Ruzena

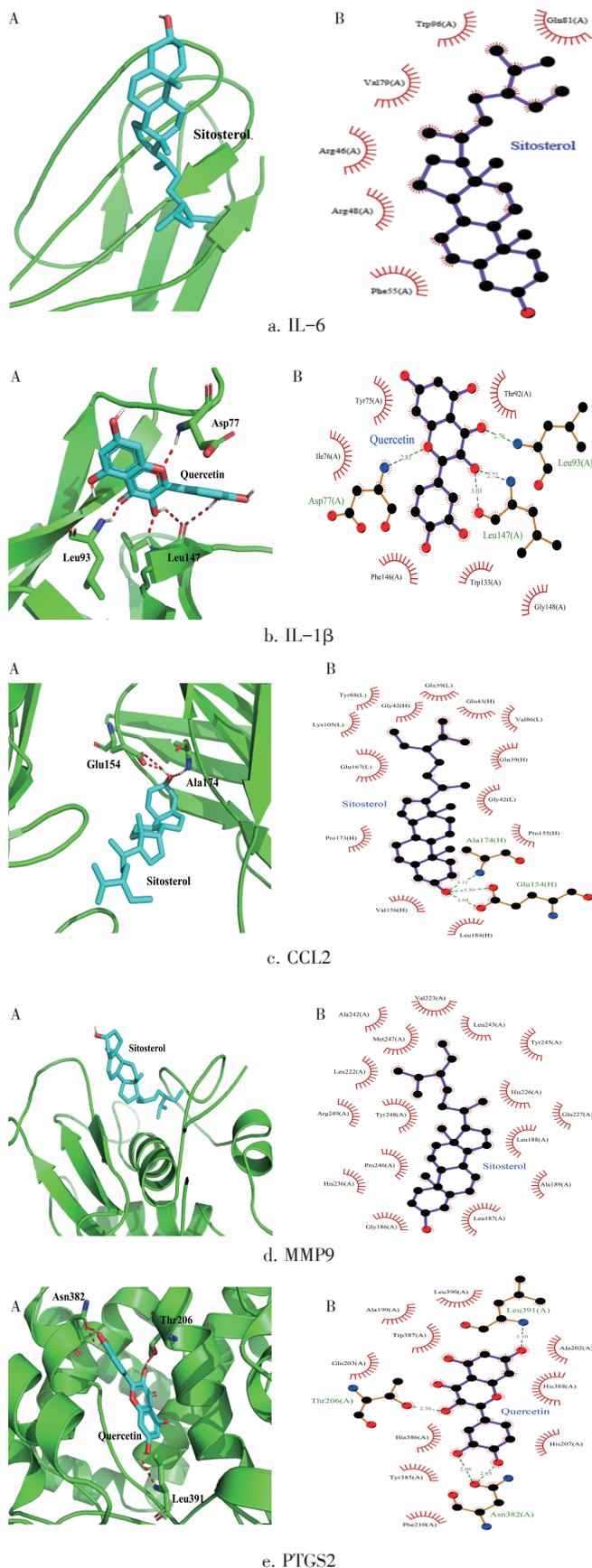


图 8 活性成分与靶蛋白相互作用分析
 Figure 8 Analysis of the interaction between active ingredients and target proteins

等^[15]研究亦认为槲皮素能有效抑制溃疡性结肠炎相关的结肠炎症损伤,发挥抗氧化和抗炎特性。豆甾醇能显著抑制结肠缩短,降低粪便中的血红素含量,降低结肠炎病理学评分,显著降低结肠组织炎症因子,如 IL-1 β 、IL-6、单核细胞趋化蛋白 MCP-1 和环氧合酶 COX-2 的 mRNA 表达^[16]。而从 GO 功能分析,可以发现香连丸参与的脂多糖反应,趋化因子受体结合作用与槲皮素、豆甾醇在溃疡性结肠炎中的特性相一致。除此之外,香连丸中的多个成分还具有调节肠道固有免疫、调控炎症因子及转录因子 NF- κ B 水平等机制作用。

通过对香连丸与溃疡性结肠炎共有的关键靶点进行 GO 功能注释和 KEGG 富集分析,可以发现大多数基因富集到了与溃疡性结肠炎直接或间接相关的通路上,从排名第 1 位的 TNF 信号通路中可以发现,其主要参与白细胞募集、炎症因子产生、细胞外基质重构、细胞黏附与炎症介质合成等过程,且 PPI 网络中平均度值排名前 5 位的 IL-6、CCL2、IL-1 β 、MMP9、PTGS2 均作用在 TNF 信号通路上。

IL-6 是一种促炎细胞因子,其可以激活免疫细胞 IL-1、IL-6、IL12/23 和 TNF- α 等的过量产生,可以造成细胞因子极化环境,从而驱动明显的 T 细胞反应异常,导致 IBD 炎症后续失控的组织损伤反应,同时在 IBD 黏膜环境中单核细胞可以通过表达单核/巨噬细胞趋化因子 CCL2/CCL7 来维持炎症环境,阻碍黏膜愈合和组织稳态的恢复^[17]。董锦涛等^[18]发现炎症反应和肠神经系统异常是引起溃疡性结肠炎结肠动力异常的又一重要机制,IL-1 β 在溃疡性结肠炎患者的血清、肠道黏膜和肠道平滑肌中均升高,从而引起平滑肌功能的异常,导致结肠平滑肌细胞对神经激肽 A 诱导的收缩能力明显下降,细胞内钙离子储存降低。金属基质蛋白酶家族(MMP),其参与 IBD 病变组织的重建和破坏过程,Neurath MF 等^[19]发现 MMP9 在溃疡性结肠炎患者中显著表达,实验模型中亦发现, MMP9 可激活肌球蛋白轻链激酶(MLCK)来损害结肠上皮通透性,在增强炎症程度上发挥着重要作用。此外,该研究亦证实 MMP9 有利于血管生成,并可以在结肠炎小鼠模型的炎症肠道中产生蛋白水解环境,从而刺激骨髓细胞流入结肠上皮细胞,并刺激 TNF 的生成。研究^[20]发现 MMP3、MMP12 和 MMP9 在 IBD 患者发炎的黏膜中持续高表达,活化的 MMP 可分解多种蛋白底物,包括 IgG1,

并可导致抗-TNF 药物无效。这也为生物制剂治疗提供了新思路,即高效且高选择性的 MMP 抑制剂的研发。PTGS2,即前列腺素-内过氧化物合酶 2 是转移性结直肠癌的预后生物标志物,通过产生炎症介质前列腺素 E2(PGE-2)在调节炎症反应中起关键作用,与慢性炎症性疾病的发展密切相关^[21]。

肿瘤坏死因子(TNF)由 IBD 患者肠道炎症部位的各种免疫和非免疫细胞产生,包括巨噬细胞、树突状细胞、T 细胞、成纤维细胞和脂肪细胞, TNF 在肠壁中具有多效作用,包括:①诱导新血管生成;②激活巨噬细胞产生促炎细胞因子;③通过坏死性凋亡通路促进潘氏细胞死亡;④增加肠上皮细胞凋亡;⑤调节 T 细胞凋亡;⑥抑制成纤维细胞基质金属蛋白酶的生成,进而活化 MMP,介导组织损伤^[19]。本研究认为香连丸治疗溃疡性结肠炎可能是通过调节 TNF 通路上的 IL-6、CCL2、IL-1 β 、MMP9、PTGS2 等关键基因表达,作用于肠壁上多效机制,发挥抗 TNF 作用。

综上,香连丸可能是通过槲皮素、豆甾醇等有效成分,调节 IL-6、CCL2、IL-1 β 、MMP9、PTGS2 等关键基因表达,进而作用于 TNF 等多条信号通路,从抗炎、抗氧化、调节肠道黏膜免疫系统、肠道平滑肌功能等多个方面共同发挥治疗溃疡性结肠炎的作用。这体现了香连丸治疗溃疡性结肠炎的多成分、多靶点、多通路的特点,这将为进一步研究香连丸治疗溃疡性结肠炎的基础研究以及新药研发提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] SCLANO G. Asthma, nasal polyposis and ulcerative colitis: a new perspective[J]. Clin Exp Allergy, 2002, 32(8): 1144-1149.
- [2] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies[J]. Lancet, 2018, 390(10114): 2769-2778.
- [3] 张声生,沈洪,郑凯,等. 溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3585-3589.
- [4] 杨宏博,苏敏,刘慧浪,等. 基于生物热力学的黄连不同提取部分抑菌活性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 51-56.
- [5] 韩保昇. 日华子本草[M]. 合肥:安徽科学技术出版社, 2005: 42.
- [6] 鲁军,杨东升,黄桢,等. 蒲辅周“利小便以实大便”法治疗痢疾经验采撷[J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(3): 212-214.
- [7] 韩莹,蔡庆宇,张岩. 香连丸对急性溃疡性结肠炎小鼠氧化应激

- 介导的细胞自噬的影响研究[J]. 中国中医急症, 2019, 28(5): 851-853.
- [8] 董艳, 陆金根. 香连丸对溃疡性结肠炎大鼠细胞凋亡及Bcl-2、Bax mRNA表达的影响[J]. 华西医学, 2016, 31(6): 1046-1051.
- [9] 周敏红, 叶柏. 叶柏教授从肺论治溃疡性结肠炎缓解期临床经验浅析[J]. 四川中医, 2016, 34(2): 1-3.
- [10] 林燕萍, 叶柏. 叶柏教授从肺脾论治溃疡性结肠炎(大肠湿热证)的经验[J]. 中国中医急症, 2016, 25(4): 630-632.
- [11] 王玉珏. 加味香连丸治疗溃疡性结肠炎63例[J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(4): 86-87.
- [12] 刘瑶, 洪岚, 余露山, 等. 创新药物转化研究中ADME的评价[J]. 药科学, 2011, 46(1): 19-29.
- [13] 李敏瑶, 温晓雯, 黄海阳, 等. 黄芩汤治疗溃疡性结肠炎分子作用机制的网络药理学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(2): 199-205.
- [14] DICARLO M, TETI G, VERNA G, et al. Quercetin exposure suppresses the inflammatory pathway in intestinal organoids from winnie mice[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(22): 5771.
- [15] SOTNIKOVA R, NOSALOVA V, NAVAROVA J. Efficacy of quercetin derivatives in prevention of ulcerative colitis in rats[J]. Interdiscip Toxicol, 2013, 6(1): 9-12.
- [16] 冯思敏, 宁可, 邵平, 等. β -谷甾醇和豆甾醇对小鼠急性结肠炎的治疗作用研究[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(12): 80-86.
- [17] HO G T, CARTWRIGHT J A, THOMPSON E J, et al. Resolution of inflammation and gut repair in IBD: translational steps towards complete mucosal healing[J]. Inflamm Bowel Dis, 2020, 26(8): 1131-1143.
- [18] 董锦沛, 张璐, 贺胜铎, 等. 溃疡性结肠炎的结肠动力异常[J]. 中华炎性肠病杂志, 2019, (3): 253-256.
- [19] NEURATH M F. Current and emerging therapeutic targets for IBD [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14(5): 269-278.
- [20] LOPETUSO L R, GASBARRINI A. Fighting the hype for predictors of efficacy in inflammatory bowel disease[J]. Inflamm Bowel Dis, 2020, 26(5): 764-765.
- [21] 刘胜伟, 刘京东, 王钰淳, 等. 基于网络药理学研究半夏泻心汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 华西药学杂志, 2020, 35(5): 572-578.

(编辑: 修春)

《中药新药与临床药理》“临床研究”栏目2021年扩大征稿

为更全面地反映中医药学术研究成果, 打造高质量的中医药学术交流平台, 优化杂志学科内容结构及满足作者的需求, 本刊拟从2021年起加强对临床中药研究科研成果的报道。栏目论文基本要求:

1. 研究对象: 中药新药(各期临床研究)、新上市后的中药制剂、医院中药制剂及已有一定研究基础的中药汤剂等。

2. 研究类型: 临床随机对照试验。

投稿网站: www.zyxy.com.cn。本刊只接受稿件采编系统投稿, 不接收纸质和Email投稿, 系统投稿不收取审稿费。

入选核心期刊情况: 本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)及RCCSE中国核心学术期刊。