

四妙丸对类风湿性关节炎和湿疹“异病同治”作用机制的网络药理学探讨

徐婷, 徐方方, 李诗慧, 陈辉清, 向俊, 杜憬生(广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510120)

摘要: **目的** 运用网络药理学方法分析四妙丸治疗类风湿性关节炎和湿疹的活性成分、作用靶点及关键通路, 探讨该方“异病同治”的作用机制。**方法** 通过检索中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库并结合文献筛选四妙丸中的活性成分及其作用靶点; 利用 OMIM、GeneCards、Drugbank 等数据库收集类风湿性关节炎和湿疹的疾病相关靶点; 活性成分作用靶点与疾病靶点取交集得到四妙丸治疗类风湿性关节炎和湿疹的共同靶点。通过 Cytoscape 3.7.1 软件构建“中药-活性成分-疾病共同靶点”网络; 运用 STRING 数据库构建共同靶点蛋白互作(PPI)网络。通过 Metascape 和 DAVID 数据库对共同靶点分别进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。**结果** 共筛选出四妙丸治疗类风湿性关节炎和湿疹的共同靶点 46 个, 对应四妙丸中的 45 种活性成分。四妙丸主要通过槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、油酸、3 β -乙酰氧基苍术酮等活性成分, 对 TNF、IL6、IL1B、CCL2、CXCL8 等关键基因进行调控, 实现对类风湿性关节炎和湿疹的异病同治作用。其作用机制可能与细胞黏附、白细胞迁移、对脂多糖的反应等生物过程有关, 并通过 TNF 信号通路、类风湿性关节炎、Toll 样受体信号通路等相关通路实现。**结论** 四妙丸是通过多成分、多靶点、多种信号通路来发挥治疗类风湿性关节炎和湿疹的作用, 与其抗炎及免疫调节作用密切相关。

关键词: 四妙丸; 网络药理学; 异病同治; 类风湿性关节炎; 湿疹; 抗炎; 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)12-1825-08

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.12.012

Exploration on Mechanisms of Simiao Wan in Treating Rheumatoid Arthritis and Eczema with Concept of “Treating Different Diseases with Same Method” Based on Network Pharmacology

XU Ting, XU Fangfang, LI Shihui, CHEN Huiqing, XIANG Jun, DU Jingsheng(The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To analyze the active components, targets and key pathways of Simiao Wan(SMW) in the treatment of rheumatoid arthritis(RA) and eczema using the method of network pharmacology, so as to explore its mechanism of “treating different diseases with same method”. **Methods** The active compounds and targets of Simiao Wan were screened by retrieving the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform(TCMSP) database combined with literature screening. Targets related to RA and eczema can be obtained by OMIM, GeneCards and DrugBank database. The common targets of disease-drug were selected based on STRING database for protein-protein interaction(PPI) network construction. The Cytoscape software was used to map “herbs-compounds-targets” network, while the targets were submitted to Metascape and DAVID database to analysis and annotate genes' function and pathways. **Results** Finally, 46 common targets of SMW treating RA and eczema and were screened out, and these targets were related to 45 candidate active compounds. Using “treating different diseases with same method” to treat RA and eczema by SMW is mainly achieved by regulating TNF, IL6, IL1B, CCL2, CXCL8 and other hub genes by quercetin, kaempferol, wogonin and other active ingredients. The

收稿日期: 2020-12-09

作者简介: 徐婷, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向: 中药药理与临床。Email: xuting20060519@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81703379)。

mechanism may be related to biological processes such as regulation of cell adhesion, leukocyte migration and response to lipopolysaccharide, and pathways including TNF signaling pathway, Rheumatoid arthritis, Toll-like receptor signaling pathway. **Conclusion** The result of the study preliminarily revealed characteristics of SMW in the treatment of RA and eczema with multi-component, multi-target and multi-pathway. It is closely related to anti-inflammatory and immune regulation.

Keywords: *Simiao Wan*; network pharmacology; *treating different diseases with the same method*; rheumatoid arthritis; eczema; anti-inflammatory; immune regulation

四妙丸出自清代张秉成所著的《成方便读》，由“黄柏八两、薏苡仁八两、苍术四两、牛膝四两”组成，是清热除湿尤其是除下焦湿热的要方，原方多用于治疗湿热下注所致的痹病。临床应用中常将四妙丸灵活化裁，用于治疗湿热下注所致各科杂症。类风湿性关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种以对称性多关节炎为主要临床表现的自身免疫性疾病，目前发病原因不明。该病属于中医风湿病范畴，一般诊断为“尪痹”。临床上常将四妙丸联合西药用于治疗湿热痹阻型 RA，能显著改善患者关节肿胀疼痛，控制病情活动，提高生活质量^[1]。在皮肤科疾病中，湿疹类皮肤病属于常见、多发性疾病。目前该病的西医治疗虽然能短时间控制病情，缓解症状，但停药后易出现症状反复。四妙丸被广泛应用于湿疹辨证属湿热证者，取其清热燥湿之功，效果明显且不易反复^[2]。RA 和湿疹虽属于不同疾病，但两者的发病特征都具有病因复杂、病证多样化、病程迁延等特点。四妙丸在治疗 RA 和湿疹方面发挥了中医药整体调节的独特优势，充分体现了中医方剂“异病同治”的理念。

目前关于四妙丸的研究，主要集中在对其加减拆方^[3-4]、临床应用经验总结^[5-6]、疗效评价^[7]等方面。方中各中药的活性成分和药理作用逐渐被揭示，但其“异病同治”的作用机制尚未阐明。网络药理学是在系统生物学与多向药理学的基础上提出的一种新思想、新策略，能够系统综合地观察药物对疾病网络的干预和影响，特别适合复杂中药体系的研究^[8]。故本研究拟尝试应用网络药理学方法，探讨四妙丸治疗 RA 和湿疹 2 种不同疾病的分子机制，阐释方证相应的现代内涵与疾病的联系，为复杂疾病的中医治疗理论研究提供思路和方法。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件 中药系统药理学分析平台

(TCMSP, <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>); UniProt 蛋白数据库 (<http://www.uniprot.org>); OMIM 数据库 (<http://www.omim.org>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); DrugBank 数据库 (<http://www.drugbank.ca>); STRING 11.0 数据库 (<https://string-db.org>); Metascape 数据库 (<http://metascape.org/gp>); DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov>); Cytoscape 3.7.1 软件。

1.2 四妙丸的活性成分筛选 利用 TCMSP 平台^[9]检索四妙丸中黄柏、薏苡仁、苍术、牛膝的化学成分。根据各成分的口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)和类药性指数(Drug likeness, DL)初步筛选出其中 OB $\geq$ 20%且 DL $\geq$ 0.1 的成分^[10]。再结合相关文献和《中华人民共和国药典》，对虽不符合筛选标准但有明确生物活性及药理作用报道的成分也纳入候选活性成分。

1.3 活性成分潜在作用靶点筛选 通过 TCMSP 平台检索“1.2”项下筛选出的活性成分的潜在作用靶点。使用 UniProt 数据库中的 UniProtKB 搜索功能，输入靶点名称并设定物种为人，将检索到的所有靶点蛋白校正为其官方名称(Official Symbol)。

1.4 四妙丸治疗 RA 和湿疹的共同靶点获取 输入关键词“Rheumatoid arthritis”和“Eczema”，通过 OMIM、GeneCards 数据库检索 RA 和湿疹的疾病相关靶点。同时参考疾病相关诊疗指南及文献，挖掘用于治疗 RA 和湿疹的一线药物，并结合 Drugbank 数据库，搜集一线药物对应靶点。整合上述全部疾病靶点，去除其中的重复基因，即为治疗 RA 和湿疹 2 种疾病的潜在靶点。将“1.3”项下获得的活性成分作用靶点与疾病靶点取交集，获得四妙丸治疗 RA 和湿疹的共同靶点。

1.5 “中药-活性成分-疾病共同靶点”网络构建及分析 利用“1.4”项下筛选得到的共同靶点反向筛选四妙丸中对应的活性成分。将四妙丸组方中的中

药、活性成分、共同靶点等有关信息导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 构建四妙丸“中药-活性成分-疾病共同靶点”网络。并利用 Network Analyzer 插件功能对网络的特征进行分析, 以获得四妙丸对 RA 和湿疹 2 种疾病“异病同治”的核心有效成分信息。

1.6 共同靶点蛋白互作(PPI)网络构建及分析 将“1.4”项下筛选得到的共同靶点输入 STRING 11.0 数据库, 构建共同靶点 PPI 网络; 物种选择“Homo Sapiens”, 阈值选择“Medium Confidence”“Combined score > 0.4”为筛选标准, 获取共同靶点 PPI 关系数据并保存为“.tsv”格式文件; 导入 Cytoscape 3.7.1 软件生成蛋白交互网络, 同时利用 cytoHubba 插件对 PPI 网络中的核心靶点进行分析, 选择最大团中心性(Maximal clique centrality, MCC)算法获取核心靶点信息并按照重要度大小排序。

1.7 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 分别采用 Metascape 和 DAVID 6.8 生物分子功能注释系统对“1.4”项下筛选得到的共同靶点进行基因本体(GO)功能分析, 以及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 并根据 *P* 值大小对结果进行排序, 对富集分析结果进行可视化。

2 结果

2.1 四妙丸活性成分及其作用靶点 由 TCMSP 数据库检索到四妙丸 4 味中药(苍术、牛膝、黄柏、薏苡仁)共有 403 种化合物, 其中苍术 49 种、牛膝 176 种、黄柏 140 种、薏苡仁 38 种。以 $OB \geq 20\%$ 、 $DL \geq 0.1$ 为标准进行筛选, 并结合相关文献和《中华人民共和国药典》补充 Beta-Eudesmol(β -桉叶醇)、2-Carene(2-萜烯)、Phellodendrine(黄柏碱)、Coixol(薏苡素)等有生物活性和药理作用报道的成分, 去除重复化合物, 最终获得四妙丸中可能的活性成分 131 种。进一步利用 TCMSP 平台对活性成分进行靶标预测, 排除重复靶点, 共获得 250 个活性成分潜在作用靶点。

2.2 四妙丸治疗 RA 和湿疹的共同靶点 通过 OMIM、GeneCards 及 Drugbank 数据库共检索得到 RA 相关疾病靶点 1 089 个, 湿疹相关疾病靶点 659 个。将四妙丸活性成分潜在作用靶点与 2 种疾病相关靶点取交集, 运用韦恩(Venn)图进行可视化, 结果见图 1。获得四妙丸治疗 RA 的作用靶点 107 个, 治疗湿疹的作用靶点 51 个, 共同靶点 46 个。从图 1 可以看出, 四妙丸治疗 RA 的靶点与湿疹的靶点具有较高的重合度, 说明其对 RA 和湿疹极可能存在相似的作用机

制。46 个共同靶点可能在四妙丸干预 RA 和湿疹 2 种疾病的发展过程中起着重要作用。

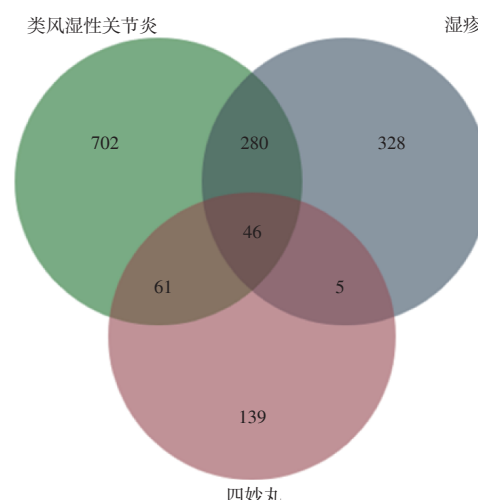


图 1 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的共同靶点

Figure 1 Common targets of Simiao Wan in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

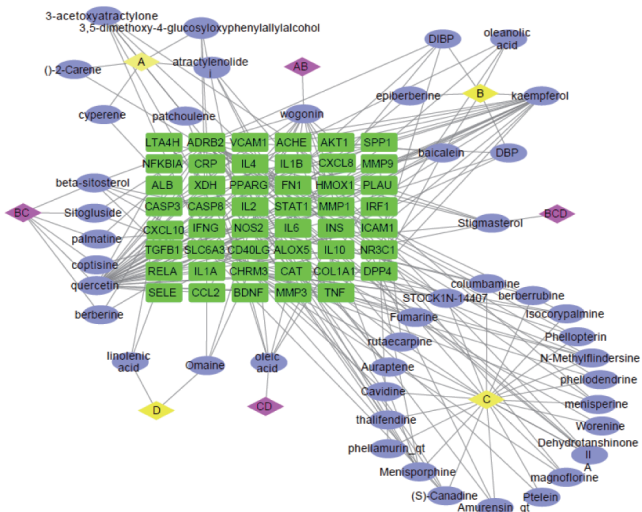
2.3 中药-活性成分-疾病共同靶点网络 为了阐明四妙丸多成分、多靶标与疾病之间的相互关系, 利用 46 个共同靶点反向筛选出四妙丸中对应的活性成分 45 种, 结果见表 1。其中来自苍术 7 种、牛膝 14 种、黄柏 29 种、薏苡仁 4 种, 共有成分 9 种。将 45 种活性成分与对应的中药及靶点连接, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建四妙丸治疗 RA 和湿疹的“中药-活性成分-疾病共同靶点”网络, 结果见图 2。该网络包含 99 个节点和 219 条边。抽提成分-靶点网络发现, 每个活性成分平均作用于 4.98 个靶标, 每个靶标平均连接 3.8 个化合物, 充分反映了一药多靶和一靶多药的复杂网络关系。其中, 度值(Degree)排名前 5 位的活性成分为槲皮素(Quercetin, Degree=37)、山柰酚(Kaempferol, degree=18)、汉黄芩素(Wogonin, degree=13)、油酸(Oleic acid, degree=7)、 3β -乙酰氧基苍术酮(3β -acetoxylatractylone, degree=6), 这些化合物因作用靶点较多, 可能成为四妙丸治疗 RA 和湿疹的关键有效成分。

2.4 四妙丸治疗 RA 和湿疹的共同靶点 PPI 网络 将 46 个共同靶点输入 STRING 11.0 数据库, 得到共同靶点的 PPI 关系, 以 Combined score > 0.4 为筛选标准, 将筛选后的信息导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建 PPI 网络, 见图 3。利用 Network Analyzer 插件功能, 计算出该网络平均 Degree 值为 26.9, 平均节点中心性为 0.009 28, 平均中介中心性为 0.73。进一步利用 cytoHubba 插件对共同靶点 PPI 网络进行核心靶

表 1 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的共同靶点对应的活性成分

Table 1 Active ingredients for common targets of *Simiao Wan* in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

编号	化合物	口服生物 利用度 (OB)/%	类药性 (DL)	来源
MOL000175	Cyperene (香附烯)	51.10	0.11	苍术
MOL000043	Atractylenolide I (白术内酯 I)	37.37	0.15	苍术
MOL000188	3 β -acetoxyatractylone (乙酰氧基苍术酮)	40.57	0.22	苍术
MOL000190	3,5-dimethoxy-4-glucosyloxyphenylallyl alcohol (二甲氧基-4-葡萄糖氧基苯基烯丙醇)	29.00	0.32	苍术
MOL000194	Patchoulene (广藿香烯)	51.71	0.11	苍术
MOL000168	2-Carene (2-萜烯)	46.69	0.04	苍术
MOL000173	Wogonin (汉黄芩素)	30.68	0.23	苍术、牛膝
MOL000263	Oleanolic acid (齐墩果酸)	29.02	0.76	牛膝
MOL002714	Baicalin (黄芩素)	33.52	0.21	牛膝
MOL002897	Epiberberine (表小檗碱)	43.09	0.78	牛膝
MOL000422	Kaempferol (山柰酚)	41.88	0.24	牛膝
MOL000057	DIBP (邻苯二甲酸二异丁酯)	49.63	0.13	牛膝
MOL000676	DBP (邻苯二甲酸二丁酯)	64.54	0.13	牛膝
MOL001454	Berberine (小檗碱)	36.86	0.78	牛膝、黄柏
MOL001458	Coptisine (黄连碱)	30.67	0.86	牛膝、黄柏
MOL000357	Sitogluside (胡萝卜苷)	20.63	0.62	牛膝、黄柏
MOL000358	Beta-sitosterol (β -谷甾醇)	36.91	0.75	牛膝、黄柏
MOL000785	Palmitine (掌叶防己碱)	64.60	0.65	牛膝、黄柏
MOL000098	Quercetin (槲皮素)	46.43	0.28	牛膝、黄柏
MOL002644	Phellopterin (珊瑚菜素)	40.19	0.28	黄柏
MOL002651	Dehydrotanshinone II A (去氢丹参酮 IIA)	43.76	0.40	黄柏
MOL002655	Amurensin-qt (去氢黄柏苷)	26.37	0.44	黄柏
MOL002662	Rutaecarpine (吴茱萸次碱)	40.30	0.60	黄柏
MOL002668	Worenine (甲基黄连碱)	45.83	0.87	黄柏
MOL002670	Cavidine (卡文定碱)	35.64	0.81	黄柏
MOL000764	Magnoflorine (木兰花碱)	26.69	0.55	黄柏
MOL000782	Menisporphine (蝙蝠葛波酚碱)	24.33	0.52	黄柏
MOL000787	Fumarine (蓝萆碱)	59.26	0.83	黄柏
MOL000790	Isocorypalmine (异紫堇杷明碱)	35.77	0.59	黄柏
MOL000786	STOCKIN-14407	22.28	0.64	黄柏
MOL000794	Menisperine (蝙蝠葛碱)	26.17	0.59	黄柏
MOL001131	Phellamurin-qt (二氢黄柏苷)	56.60	0.39	黄柏
MOL001455	(S)-Canadine (氢化小檗碱)	53.83	0.77	黄柏
MOL001457	Columbamine (非洲防己碱)	26.94	0.59	黄柏
MOL002331	N-Methylflindersine (N-甲基弗林德碱)	32.36	0.18	黄柏
MOL002894	Berberrubine (去甲小檗碱)	35.74	0.73	黄柏
MOL006239	Ptelein	72.44	0.15	黄柏
MOL006422	Thalifendine (唐松草定碱)	44.41	0.73	黄柏
MOL013434	Auraptene (橙皮油素)	25.62	0.24	黄柏
MOL002901	Phellodendrine (黄柏碱)	2.50	0.58	黄柏
MOL001884	Omaine (去乙酰基甲基秋水仙碱)	26.60	0.51	薏苡仁
MOL000432	Linolenic acid (亚麻酸)	45.01	0.15	薏苡仁
MOL000675	Oleic acid (油酸)	33.13	0.14	薏苡仁、黄柏
MOL000449	Stigmasterol (豆甾醇)	43.83	0.76	薏苡仁、牛膝、黄柏



注：A. 苍术；B. 牛膝；C. 黄柏；D. 薏苡仁；AB. 苍术、牛膝共有；BC. 牛膝、黄柏共有；BCD. 牛膝、黄柏、薏苡仁共有；CD. 黄柏、薏苡仁共有

图 2 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的“中药-活性成分-共同靶点”网络

Figure 2 “Herb- active compounds- common targets” network of Simiao Wan in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

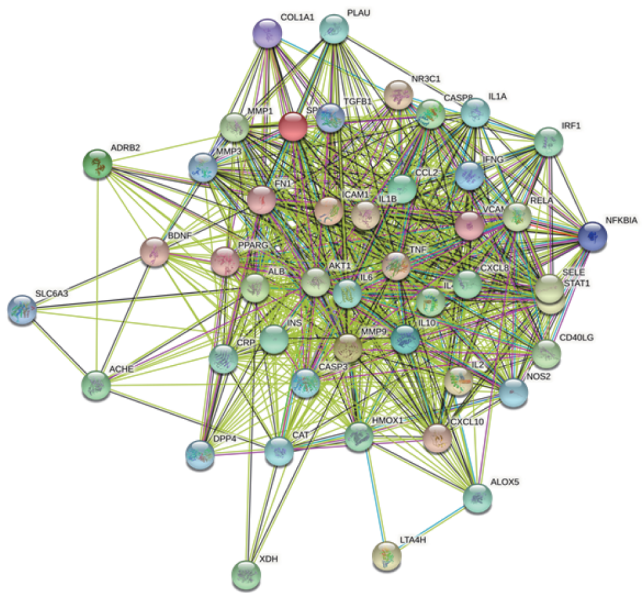


图 3 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的共同靶点蛋白相互作用(PPI)网络

Figure 3 Protein interaction network for common targets of Simiao Wan in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

点筛选，见图 4。结果表明，在 PPI 网络中评分较高的核心靶点有 TNF、IL6、IL1B、CCL2、CXCL8、ICAM1、INS、MMP9、IL10、IFNG 等，这些靶点均为 PPI 网络中度值较高且受到多味中药及活性成分调节的靶点。初步推测，上述靶点可能为四妙丸治

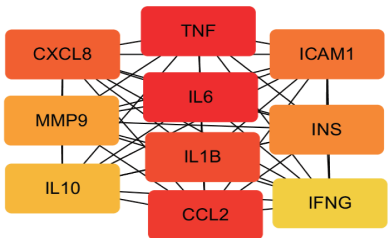


图 4 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的核心靶点网络

Figure 4 Network of core targets of Simiao Wan in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

疗 RA 和湿疹的关键靶标。

2.5 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 将共同靶点导入功能注释工具，限定研究物种为人类，分别上传至 Metascope 数据库进行 GO 功能富集分析，通过 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析。对 Metascope 设定参数为：最小重叠度 (Min overlap)=3、P 临界值 (P cutoff)=0.01、最小富集度 (Min enrichment)=1.5。通过 GO 富集析发现，四妙丸治疗 RA 及湿疹的共同靶点主要富集在 261 个生物学过程 (Biological process, BP)、33 种分子功能 (Molecular function, MF)、21 类细胞组分 (Cellular component, CC) 中。其中，显著性较高的 20 种生物过程、15 种分子功能和 10 种细胞组分见图 5。结果表明，四妙丸治疗 RA 及湿疹的靶标主要富集在调节细胞黏附、白细胞迁移、对脂多糖的反应、细胞增殖的负调控等生物过程中；此外，在分子功能方面，细胞因子受体结合、肿瘤坏死因子受体超家族结合、蛋白酶结合排位靠前；在细胞组分中，膜筏、细胞质核周区域、细胞外基质所占比例最大。

通过 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析，结果共获得 74 条代谢通路 ($P < 0.05$)，其中排前 20 位的通路见表 2。结果表明，四妙丸治疗 RA 及湿疹的共同靶点主要涉及免疫与炎症相关、传染性疾病相关、内分泌及代谢疾病相关等信号通路。其中免疫与炎症密切相关的信号通路包括 TNF 信号通路、Toll 样受体信号通路、NF- κ B 信号通路、T 细胞受体信号通路等，其中类风湿性关节炎信号通路、破骨细胞分化信号通路更是与 RA 直接相关。其中显著性最强的通路为 TNF 通路，富集到 AKT1、CCL2、CXCL10、NFKBIA、RELA、CASP3、CASP8、ICAM1、IL1B、IL6、MMP3、MMP9、SELE、TNF、VCAM1 等 15 个基因。推测四妙丸可能主要通过上述通路发挥抗炎及调节免疫的作用，从而实现对 RA 和湿疹的“异病同治”作用。



图 5 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的共同靶点的 GO 富集分析

Figure 5 Enriched gene ontology terms of common targets of *Simiao Wan* in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

表 2 四妙丸治疗类风湿性关节炎及湿疹的共同靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

Table 2 Enrichment analysis of KEGG metabolic pathways of common targets of *Simiao Wan* in the treatment of rheumatoid arthritis and eczema

通路	中文注释	基因数/个	P 值
TNF signaling pathway	TNF 信号通路	15	3.70E-14
Toxoplasmosis	弓形虫病	14	5.30E-14
Malaria	疟疾	11	2.00E-13
Leishmaniasis	利什曼病	12	2.80E-13
Chagas disease (American trypanosomiasis)	恰加斯病(美国锥虫病)	13	7.80E-13
Inflammatory bowel disease (IBD)	炎症性肠病(IBD)	11	3.50E-12
Rheumatoid arthritis	类风湿关节炎	11	9.50E-11
Influenza A	甲型流感	13	3.60E-10
Tuberculosis	结核	13	4.40E-10
Amoebiasis	阿米巴病	11	6.20E-10
Toll-like receptor signaling pathway	Toll 样受体信号通路	10	1.30E-08
Pertussis	百日咳	9	1.50E-08
African trypanosomiasis	非洲锥虫病	7	4.10E-08
NF-kappa B signaling pathway	NF-κB 信号通路	9	4.80E-08
Osteoclast differentiation	破骨细胞分化	10	8.20E-08
Allograft rejection	同种异体移植排斥	7	8.40E-08
T cell receptor signaling pathway	T 细胞受体信号通路	9	1.40E-07
Cytokine-cytokine receptor interaction	细胞因子与细胞因子受体的相互作用	12	1.80E-07
Type I diabetes mellitus	I 型糖尿病	7	1.80E-07
Hepatitis B	乙型肝炎	10	2.00E-07

3 讨论

四妙丸由黄柏、薏苡仁、苍术、牛膝组成，该方药少力专、药性平稳、组方精炼，具有清热利湿、舒筋通络的作用。研究^[3]表明，该方具有抗炎抑菌、调节免疫、解热镇静、镇痛等多种药理作用，故凡属炎性反应、免疫异常、氧化应激所致，病因属于湿热为患，病机为湿热下注者均可化裁使用。目前该方临床主要用于治疗痛风、关节炎、湿疹皮炎、妇科炎症等疾病，具有明显的“异病同治、一方多用”的特点。本研究运用网络药理学方法，探讨了四妙丸治疗骨科常见病类风湿性关节炎(RA)与皮肤科常见病湿疹两种不同疾病，实现“异病同治”可能的作用机理。

本研究构建了四妙丸治疗 RA 及湿疹的“中药-活性成分-共同靶点”网络，得到 46 个疾病共同靶点以及对应的 45 种活性成分。其中槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、油酸、3β-乙酰氧基苍术酮等活性成分作用最强。槲皮素、山柰酚为黄酮醇类化合物，研究^[11-12]表明其具有抗癌、抗氧化、抗病毒、抗炎、

增强机体免疫等多种药理作用。汉黄芩素为黄酮类化合物,也已被证实具有广泛的生物活性,包括抗炎、抗氧化、抗病原微生物、抗肿瘤等^[13]。油酸是薏苡仁油不饱和脂肪酸中含量最高的成分。3 β -乙酰氧基苍术酮是苍术挥发油的主要成分之一。推测上述有效成分可能是四妙丸实现对 RA 和湿疹“异病同治”的重要物质基础。槲皮素主要通过抑制炎症因子的表达发挥抗炎效果,还能通过对抗 CD3⁺和抗 CD28 活化引起 T 淋巴细胞增殖,从而减少白细胞介素(IL)2 的产生^[11]。有研究^[14]表明,槲皮素可以通过抑制 NF- κ B 激活,减弱炎症环境下软骨细胞内 MMP-13 产生、基质降解和细胞凋亡的作用,起到保护软骨和治疗 RA 的作用。山柰酚可以抑制炎症因子表达,具有良好的抗炎效果,对胶原蛋白诱导的关节炎小鼠使用山柰酚治疗后,可以减轻关节炎的发生频率和严重程度^[15]。此外,山柰酚还能作用于真皮或表皮细胞分泌的趋化因子,有效地维护表皮细胞稳态^[16],从而治疗和干预皮肤病如湿疹的进展。汉黄芩素是苍术和牛膝的共有成分,能够诱导 RA-FLS 细胞凋亡,通过 ROS/p38MAPK 信号通路参与 RA 成纤维样滑膜细胞的凋亡^[17]。

通过对四妙丸治疗 RA 和湿疹的共同靶点 PPI 网络的进一步筛选,得到 TNF、IL6、IL1B、CCL2、CXCL8、ICAM1、INS、MMP9、IL10、IFNG 等 10 个核心靶点。肿瘤坏死因子(TNF)超家族的多功能促炎细胞因子在维持细胞、组织和生物体内的稳态方面起着重要作用,可以调节炎症反应,其与慢性炎症性疾病、风湿病及皮肤病等疾病的发生有关^[18]。TNF 还可以通过 FOXP3 的去磷酸化作用损害 RA 患者的调节性 T 细胞(Treg)功能,而中药可以通过下调 TNF- α 的表达起到治疗湿疹的作用^[19]。诸多实验及临床研究均证实抑制 TNF- α 活性对治疗 RA 有效^[20-21],TNF- α 抑制剂在临床上的应用也说明了这点。IL-6 在免疫和炎症反应中具有重要作用,是机体重要的免疫-神经-内分泌调节因子,其主要在急、慢性炎症部位产生,分泌到血清中,并通过 IL-6 受体 α 诱导转录炎症反应。IL-6 的功能涉及多种与炎症相关的疾病状态,包括对湿疹^[21]和 RA^[22]的调控。有研究^[23]表明,下调细胞因子 IL-6 及 IL-10 的表达是治疗湿疹的作用机制之一。CCL2 属于内分泌 β (趋化因子 CC)家族,涉及以单核细胞浸润为特征的

疾病发病机理,如银屑病、RA 等。

四妙丸治疗 RA 和湿疹共同靶点的 GO 功能主要涉及调节细胞黏附、白细胞迁移、对脂多糖的反应、细胞增殖的负调控等生物过程。通过 KEGG 通路富集分析发现,共同靶点大多富集在 TNF 信号通路、类风湿性关节炎通路、Toll 样受体信号通路、NF- κ B 信号通路、T 细胞受体信号通路等炎症与免疫相关信号通路,与 RA、湿疹密切相关。有研究^[25]表明,四妙丸可以通过抑制体内过高的炎症细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌水平,提高大鼠红细胞天然免疫功能,而发挥抗炎和免疫调节作用。四妙丸配方颗粒能够缓解胶原诱导关节炎(CIA)大鼠的关节炎症,抑制关节滑膜增生和降低血清炎症因子水平,其机制可能与降低溶血磷脂酸(LPA)进而抑制滑膜炎症相关通路的作用有关^[26]。

综上所述,本研究通过网络药理学方法初步阐释了四妙丸对 RA 和湿疹的“异病同治”作用是通过槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、油酸等活性成分,作用于 TNF、IL6、IL1B、CCL2 等关键靶点,通过 TNF 信号通路、类风湿性关节炎通路、Toll 样受体信号通路、NF- κ B 信号通路等与炎症及免疫密切相关的信号通路来实现的,但仍需进一步的生物学验证。本研究结果体现了四妙丸具有多成分、多靶点、多途径协同作用的分子机制,可为下一阶段的深入研究提供参考,也可为临床上的合理应用和新药开发提供依据。

参考文献:

- [1] 李红. 四妙丸加味联合西药治疗湿热痹阻型类风湿关节炎36例临床观察[J]. 中医临床研究, 2017, 9(16): 31-33.
- [2] 王竹君, 陈敬. 四妙丸在皮肤科疾病中的应用举隅[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(7): 136-137.
- [3] 刘亚梅, 刘建梅. 四妙丸加减对痛风性关节炎的治疗效果及对实验室指标的影响[J]. 世界中医药, 2018, 13(6): 1428-1431.
- [4] 王璐, 徐键, 陈学奇. 四妙丸加减对湿瘀互结型慢性盆腔炎患者生活质量的影响[J]. 医药导报, 2016, 35(6): 601-603.
- [5] 彭宝虹. 浅谈魏中海教授对四妙丸的临床应用[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2015, 3(11): 190-191.
- [6] 金杰, 金晨曦, 耿玉杰, 等. 四妙丸在疑难脑病治疗中的运用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(9): 1322-1323.
- [7] 张国红, 李月红, 苏佳, 等. 加味四妙丸联合雷公藤风湿酒治疗活动期RA(湿热痹阻型)临床疗效观察[J]. 中医临床研究, 2017, 9(25): 98-100.

- [8] 田俊生, 秦雪梅. 网络药理学在中药“同病异治”和“异病同治”研究中的应用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(11): 861-862.
- [9] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6(1): 13-19.
- [10] 陈启洪, 李晓飞, 段灿灿, 等. 网络药理学探讨杜仲主要活性成分及药理作用机制[J]. 中药材, 2018, 41(2): 419-426.
- [11] 马纳, 李亚静, 范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8): 221-224.
- [12] 雷晓青, 陈鳌, 刘毅, 等. 山柰酚药理作用的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2017, 34(2): 61-62.
- [13] 种楠, 李勤, 冯艳红, 等. 汉黄芩素的抗肿瘤研究进展[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(11): 112-116.
- [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] LEE C J, MOON S J, JEONG J H, et al. Kaempferol targeting on the fibroblast growth factor receptor 3-ribosomal S6 kinase 2 signaling axis prevents the development of rheumatoid arthritis[J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(3): 401-422.
- [16] 安玉林. 山柰酚在真皮创伤和增生性瘢痕中对皮肤稳态的调控作用的研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2015.
- [17] 王慧莲, 孟庆良, 李松伟, 等. 汉黄芩素通过激活活性氧簇介导的p38MAPK信号通路诱导类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞凋亡[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(7): 890-895.
- [18] MOCCI G, MARZO M, PAPA A, et al. Dermatological adverse reactions during anti-TNF treatments: focus on inflammatory bowel disease[J]. J Crohns Colitis, 2013, 7(10): 769-779.
- [19] 葛一漫, 张朝明, 胡一梅, 等. 马齿苋提取物对急性湿疹大鼠皮肤TNF- α 与IL-4表达的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(12): 1637-1640.
- [20] 李涛, 王礼, 张廷. Foxp3磷酸化通过调控调节性T细胞功能对类风湿关节炎大鼠TNF- α 抑制状态影响的分子机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(9): 921-924.
- [21] 李可大. 免疫调节和前炎性因子(TNF- α)在类风湿性关节炎中的作用与意义[J]. 中华中医药学刊, 2004, 22(10): 1844-1846.
- [22] ROSSI J F, LU Z Y, JOURDAN M, et al. Interleukin-6 as a therapeutic target[J]. Clinical Cancer Research, 2015, 21(6): 1248.
- [23] 苗平, 陆梅生, 张冬青. IL-6/IL-6受体与类风湿关节炎关联性研究新进展[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(4): 355-360.
- [24] 王小勇, 陶承军, 应航宇, 等. 自制止痒湿疹合剂治疗慢性湿疹疗效及对血清IL-1、IL-2、IL-6水平的影响[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2016, 15(4): 221-224.
- [25] 王振宇. 四妙丸对类风湿性关节炎作用的实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2007.
- [26] 杨思思, 陈哲, 涂胜豪, 等. 四妙丸配方颗粒对CIA大鼠血清溶血磷脂酸和关节炎症的影响[J]. 临床急诊杂志, 2016, 17(10): 777-780.

(编辑: 邹元平)