

# 昆明山海棠-鸡血藤药对治疗类风湿关节炎作用机制的网络药理学研究<sup>△</sup>

刘丹凯<sup>1\*</sup>, 王强<sup>1</sup>, 魏振权<sup>1</sup>, 刘小宝<sup>2</sup>, 郑雪霞<sup>1</sup>, 钱凯<sup>1</sup>, 曾丽盈<sup>1</sup>, 许舒迪<sup>1</sup>, 林昌松<sup>2#</sup>(1.广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510006; 2. 广州中医药大学第一附属医院风湿病科, 广州 510405)

中图分类号 R593.22 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)19-2639-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.19.10

**摘要** 目的:研究昆明山海棠-鸡血藤药对治疗类风湿关节炎的作用机制。方法:通过检索治疗靶点数据库(TTD)、药物银行(DrugBank)和DisGeNET数据库获取类风湿关节炎靶点,并构建靶点互作(PPI)网络筛选关键靶点。以口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18、半衰期(HL)≥4 h为指标,借助中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)和中药综合数据库(TCMID)获取昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分,并预测其靶点,构建昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分-靶点网络;借助Systems Dock Web Site在线平台、Genomics平台筛选昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分和类风湿关节炎的共有靶点,然后利用Cytoscape 3.2.1软件中Cluego插件分析共有靶点的京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路。结果:共检索到类风湿关节炎靶点1 956个,其中关键靶点11个[包括白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF)、血管内皮生长因子A(VEGFA)等];昆明山海棠-鸡血藤药对共筛选出30种活性成分(包括木犀草素、芒柄花黄素、 $\beta$ -谷甾醇、雷公藤甲素等)和229个靶点。昆明山海棠-鸡血藤药对和类风湿关节炎的共有靶点有37个[包括基质金属蛋白2(MMP2)、TNF、VEGFA等];参与的KEGG信号通路有细胞凋亡、IL-17信号通路、Th17细胞分化信号通路、TNF信号通路等。结论:昆明山海棠-鸡血藤药对可能通过MMP2、TNF、VEGFA等靶点作用于细胞凋亡、IL-17信号通路等多条信号通路发挥治疗类风湿关节炎的作用,本研究结果可为进一步研究昆明山海棠-鸡血藤药对治疗类风湿关节炎的作用机制提供参考。

**关键词** 类风湿关节炎;昆明山海棠-鸡血藤药对;网络药理学;作用机制;信号通路

## Network Pharmacology Study on the Mechanism of Couplet Medicine of *Tripterygium hypoglaucum-Spatholobus suberectus* in the Treatment of Rheumatoid Arthritis

LIU Dankai<sup>1</sup>, WANG Qiang<sup>1</sup>, WEI Zhenquan<sup>1</sup>, LIU Xiaobao<sup>2</sup>, ZHENG Xuexia<sup>1</sup>, QIAN Kai<sup>1</sup>, ZENG Liying<sup>1</sup>, XU Shudi<sup>1</sup>, LIN Changsong<sup>2</sup> (1.The First Clinical Medical College, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China; 2.Dept. of Rheumatology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the mechanism of couplet medicine of *Tripterygium hypoglaucum-Spatholobus suberectus* in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). METHODS: The RA targets were retrieved and obtained by therapeutic target database (TTD), DrugBank and DisGeNET databases, and the protein protein interaction (PPI) network was constructed to screen its key targets. Using oral bioavailability (OB) ≥30%, drug like (DL) ≥0.18 and drug half-life (HL) ≥4 h as index, active components were obtained from couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus* by using TCM systematic pharmacological analysis platform (TCMSP) and TCM integrated database (TCMID), and the targets were predicted. The active component-target network of couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus* was constructed. Systems Dock Web Site online platform and Genomics platform were used to screen the active component and common targets of RA of couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus*; KEGG signaling pathways of common targets were analyzed by using Cluego plug-in unit of Cytoscape 3.2.1 software. RESULTS: Totally 1 956 RA targets were retrieved, involving 11 key targets [such as IL-6, TNF, VEGFA]. The couplet medicine contained 30 active components (including luteolin, erythroanthin,  $\beta$ -sitosterol and triptolide) and 229 targets. There were 37 common targets for couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus* and RA (including MMP2, TNF, VEGFA). KEGG signaling way involved cell apoptosis, IL-17 signaling pathway, Th17 cell differentiation pathway and TNF signaling pathway. CONCLUSIONS: The couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus* may play a role in the treatment of RA by acting on cell apoptosis, IL-17 signaling pathway and other signaling pathways through MMP2, TNF, and VEGFA target. The results of this study

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81774262, No.81573930);广东省自然科学基金资助项目(No.2017A030311009)

\* 硕士研究生。研究方向:中医药防治风湿病。电话:020-36598921。E-mail:liushuigaoshan0904@163.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中医药防治风湿病。电话:020-36598921。E-mail:linchs999@163.com

can provide a reference for further study on the mechanism of the effects of couplet medicine of *T. hypoglaucum*-*S. suberectus* on RA.

**KEYWORDS** Rheumatoid arthritis; Couplet medicine of *Tripterygium hypoglaucum*-*Spatholobus suberectus*; Network pharmacology; Mechanism; Signaling pathways

类风湿关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是以侵蚀性、对称性多关节炎为主要临床表现的慢性、全身性自身免疫性疾病,基本病理改变是滑膜炎和血管炎,滑膜炎是关节表现的基础,血管炎是关节外表现的基础,可逐渐出现关节软骨和骨破坏,最终导致关节畸形和功能丧失,其发病机制目前尚不明确;目前RA不能根治,其常用治疗药物可分为非甾体抗炎药、抗风湿药、糖皮质激素、植物药和生物制剂等五大类<sup>[1]</sup>。其中,以中药为主的植物药不仅来源广泛、种类丰富,而且具有多靶点、多途径、多环节以及整体调节的特点,在治疗RA方面有独特的优势<sup>[2-3]</sup>。

昆明山海棠为卫矛科雷公藤属植物,具有祛风湿、舒筋活络、清热解毒的作用<sup>[4]</sup>。现代药理研究表明,昆明山海棠具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤、抗病毒等作用<sup>[5]</sup>。鸡血藤为豆科植物密花豆的干燥藤茎,具有活血补血、调经止痛、舒筋活络之功效<sup>[4]</sup>。现代药理研究表明,鸡血藤具有免疫调节、抗炎、抗氧化、促进造血、抗肿瘤、抗病毒等作用<sup>[6]</sup>。

我院风湿病科常用院内制剂昆藤通痹合剂(批准文号:粤药制字Z20071157,旧名为二藤通痹合剂,主要成分为昆明山海棠和鸡血藤)治疗RA,临床疗效明显。本课题组前期在观察162例RA患者服用二藤通痹合剂后,发现其能有效改善患者的晨僵时间、休息痛和压痛关节数等临床症状<sup>[7]</sup>。其联合正清风痛宁缓释片能有效改善活动期RA患者关节疼痛肿胀的症状,增强抗炎镇痛的作用<sup>[8]</sup>。由于中药及其复方具有“多成分、多途径、多靶点”的特点,疗效通常取决于其中有效成分群的综合作用。网络药理学是基于“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络,系统综合评价药物对疾病网络的干预,这与中药及其方剂的多成分、多途径、多靶点协同作用的原理相一致<sup>[9]</sup>,故利用网络药理学有助于进一步探讨昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA的作用机制。

因此,本研究拟通过网络药理学对昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA的活性成分、作用靶点、作用通路等进行研究,为其临床应用及深入研究提供依据。

## 1 方法

### 1.1 RA靶点获取及靶点蛋白互作(PPI)网络构建

1.1.1 RA靶点获取 以“Rheumatoid arthritis”为关键词,通过检索治疗靶点数据库(TTD)数据库(网址为<https://db.idrblab.org/ttd/>)、药物银行(DrugBank)数据库(网址为<https://www.drugbank.ca/>)、DisGeNET数据库

(网址为<http://www.disgenet.org/>)查询RA相关靶点。由于靶点命名存在不规范及信息来源不同等现象,本研究使用Uniprot数据库(网址为<https://www.uniprot.org/>)对靶点进行校正,并筛选重复项。

1.1.2 RA靶点PPI网络构建 将RA靶点导入STRING平台(网址为<https://string-db.org/>)构建PPI网络,将物种设置为“Homo sapiens”,其他参数保持默认设置,并使用Cytoscape 3.2.1软件(网址为<http://cytoscapeweb.cytoscape.org/>)对PPI网络进行分析,利用Network Analyzer分析节点度值和介度中心性。其中,度值反映与节点直接相连的节点数目,度值高的节点可能在网络中起到桥梁的作用;介度中心性是网络中经过某一节点的最短路径数,介度中心性越大,该节点影响力越大<sup>[10]</sup>。本研究选取度值、介度中心性同时满足排名前15的节点作为其关键靶点。

### 1.2 昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分-靶点网络的构建

1.2.1 昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分和靶点获取 以“昆明山海棠”为关键词,通过检索中药综合数据库(TCMID,网址为<http://183.129.215.33/tcmid/>)获取昆明山海棠的活性成分(由于TCMID数据库检索到的成分较少,故本研究将所有成分都纳入分析);以“鸡血藤”为关键词,通过检索中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)数据库(网址为<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)获取鸡血藤的活性成分。根据药动学特性(ADME)参数,利用口服生物利用度(OB)与类药性(DL)及半衰期(HL)进行筛选,筛选标准是 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 、 $HL \geq 4 \text{ h}$ <sup>[11]</sup>。将获得的活性成分通过DrugBank数据库提取靶点,并在Uniprot数据库进行靶点校正。为方便作图,本研究将筛选出的成分以中药名单词首字母和两个数字进行组合编码。

1.2.2 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点网络 将昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分和靶点导入Cytoscape 3.2.1软件构建昆明山海棠-鸡血藤活性成分-靶点网络,分析节点的度值和介度中心性,用于评价昆明山海棠-鸡血藤药对中活性成分的重要程度,本研究选取两者同时满足排名前10的节点作为昆明山海棠-鸡血藤药对的重要成分。

### 1.3 昆明山海棠-鸡血藤药对的重要成分-RA关键靶点的分子对接

将昆明山海棠-鸡血藤药对中的重要成分和RA关

键靶点通过 Systems Dock WebSite 在线平台 (网址为 <http://systemsdock.unit.oist.jp/iddp/home/index>) 进行分子对接评估其结合活性,使用 Docking Score 评价中药与靶点之间的结合活性,当 Docking Score 值 >4.25 表示分子与靶标具有一定的结合能力, >5.00 表示结合能力较强, >7.00 表示结合能力很强<sup>[12]</sup>。

#### 1.4 昆明山海棠-鸡血藤药对与 RA 共有靶点筛选

将昆明山海棠-鸡血藤药对与 RA 靶点导入 Genomics 平台 (网址为 <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 进行映射构建韦恩图,取三者交集得到昆明山海棠-鸡血藤药对和 RA 的共有靶点。

#### 1.5 共有靶点通路富集分析及昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点-KEGG 通路网络构建

将共有靶点导入 Cytoscape 3.2.1 软件中的 Clugo 插件进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集 ( $P < 0.05$ ), 结合相关文献筛选与 RA 相关的通路, 并将与 RA 相关的通路、活性成分和靶点导入 Cytoscape 3.2.1 软件构建昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点-KEGG 通路网络进行可视化处理, 从而更直观地反映昆明山海棠-鸡血藤的活性成分、靶点与通路之间的关系。

## 2 结果

### 2.1 RA 靶点获取与 PPI 网络构建结果

本研究共筛选到 1 956 个 RA 靶点。通过 STRING 平台构建 PPI 网络, 并使用 Cytoscape 3.2.1 软件进行分析。PPI 网络包含 1 807 个节点, 61 986 条边, 平均度值 68.61, 平均介度中心性 0.52 (本网络介度中心性数值较小, 结果是取 lg 对数后的值, 下同)。选取度值、介度中心性同时满足排名前 15 的节点作为其关键靶点, 包括白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF)、苏氨酸激酶 1 (AKT1)、胰岛素 (INS)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、细胞肿瘤抗原 p53 (TP53)、血清白蛋白 (ALB)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)、表皮生长因子受体 (EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)。RA 的关键靶点见表 1。

表 1 RA 的关键靶点

Tab 1 Key targets of RA

靶点	度值	介度中心性
IL-6	696	0.69
TNF	669	0.66
AKT1	622	0.66
INS	573	0.70
GAPDH	562	0.63
TP53	546	0.68
ALB	537	0.63
VEGFA	530	0.59
STAT3	479	0.53
EGFR	474	0.58
MAPK3	450	0.53

### 2.2 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点网络的构建结果

2.2.1 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分和靶点的获取 通过 TCMSP 和 TCMID 数据库, 昆明山海棠共纳入 10 个成分; 鸡血藤共纳入 20 个活性成分。将成分通过 DrugBank 数据库预测靶点, 并通过 Uniprot 数据库校正并删除重复项后, 昆明山海棠纳入 93 个靶点, 鸡血藤纳入 136 个靶点。昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分见表 2。

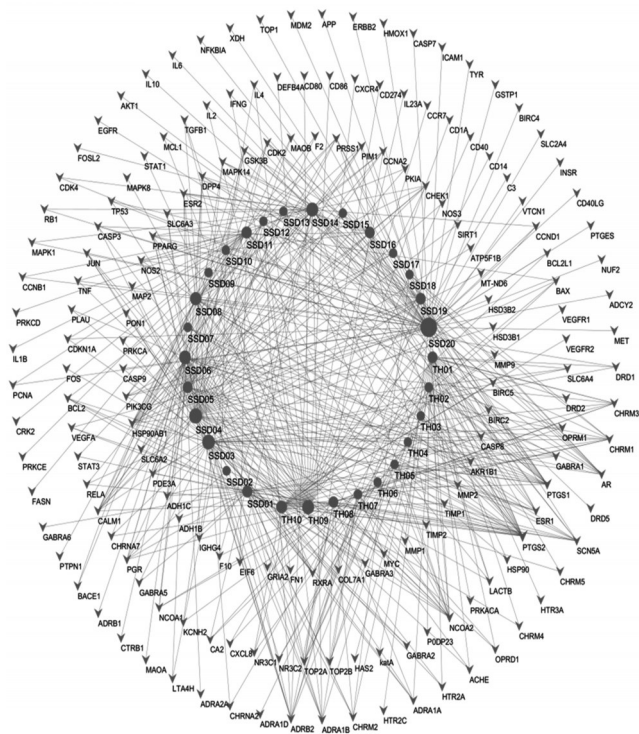
表 2 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分

Tab 2 Active components of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus*

编码	活性成分ID	活性成分名称	OB, %	DL	HL, h
TH01	MOL003272	维祖雅碱	29.27	0.65	
TH02	MOL000492	(+)-儿茶素	54.83	0.24	0.61
TH03	MOL011038	(+)-儿茶素-5-O-葡萄糖苷	2.90	0.79	
TH04	MOL003225	山海棠二萜内酯A	76.13	0.49	0.06
TH05	MOL006791	没食子儿茶素	24.18	0.27	
TH06	MOL003224	雷公藤内酯二醇酮	56.40	0.67	4.91
TH07	MOL003245	雷酚二萜酸	42.56	0.39	1.88
TH08	MOL003280	雷公藤内酯二醇	49.51	0.49	17.90
TH09	MOL003187	雷公藤甲素	51.29	0.68	4.14
TH10	MOL003186	雷公藤红素	17.84	0.78	
SSD01	MOL000296	常春藤皂苷元	36.91	0.75	5.35
SSD02	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78	5.22
SSD03	MOL000358	$\beta$ -谷甾醇	36.91	0.75	5.36
SSD04	MOL000392	芒柄花黄素	69.67	0.21	17.04
SSD05	MOL000417	毛蕊异黄酮	47.75	0.24	17.10
SSD06	MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	5.57
SSD07	MOL000461	3,7-二羟基-6-甲氧基二氢黄酮	43.80	0.26	15.14
SSD08	MOL000468	8-甲雷杜辛	70.32	0.27	15.83
SSD09	MOL000469	3-羟基-豆甾-5-烯-7-酮	40.93	0.78	4.89
SSD10	MOL000470	8-C- <i>L</i> -arabinosyluteolin	35.54	0.66	15.61
SSD11	MOL000471	芦荟大黄素	83.38	0.24	31.49
SSD12	MOL000483	(Z)-3-(4-羟基-3-甲氧基-苯基)-N-[2-(4-羟基苯基)乙基]丙酰胺	118.35	0.26	4.26
SSD13	MOL000493	菜油甾醇	37.58	0.71	4.71
SSD14	MOL000497	甘草查耳酮A	40.79	0.29	16.20
SSD15	MOL000501	Consume close grain	68.12	0.27	16.23
SSD16	MOL000502	Cajinin	68.80	0.27	14.23
SSD17	MOL000503	苜蓿内酯	57.49	0.60	11.10
SSD18	MOL000506	Lupinidine	61.89	0.21	7.46
SSD19	MOL000507	Psi-Baptigenin	70.12	0.31	21.95
SSD20	MOL000006	木犀草素	36.16	0.25	15.94

2.2.2 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点网络的构建 将昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分和靶点导入 Cytoscape 3.2.1 软件构建昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分-靶点网络, 详见图 1。结果, 昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分-靶点网络中共 202 个节点, 503 条边, 平均度值为 4.91, 平均介度中心性为 0.01。其中, 节点代表成分和靶点, 边代表节点之间的作用关系; 度值越大, 相应节点越大。选取度值、介度中心性同时满足排名前 10

的节点作为昆明山海棠-鸡血藤药对的重要活性成分,其重要活性成分有木犀草素、芒柄花黄素、 $\beta$ -谷甾醇、雷公藤甲素,详见表3。



注:圆形表示昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分;箭头表示靶点  
Note: Circle represents components of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus*; arrow represents targets

图1 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点网络图  
Fig 1 Active component-target network of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus*

表3 昆明山海棠-鸡血藤药对的重要活性成分  
Tab 3 Important active components of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus*

节点	重要活性成分	度值	介度中心性
SSD20	木犀草素	56	0.32
SSD04	芒柄花黄素	37	0.12
SSD03	$\beta$ -谷甾醇	36	0.15
TH09	雷公藤甲素	32	0.17
SSD14	甘草查耳酮A	32	0.08
SSD06	豆甾醇	29	0.12
TH10	雷公藤红素	23	0.10
SSD11	芦荟大黄素	23	0.09

### 2.3 昆明山海棠-鸡血藤药对的重要活性成分-RA 关键靶点的分子对接结果

将昆明山海棠-鸡血藤药对的重要活性成分-RA 关键靶点通过 Systems Dock WebSite 在线平台进行分子对接,结果:昆明山海棠-鸡血藤药对中的雷公藤甲素、木犀草素和 $\beta$ -谷甾醇与 RA 关键靶点具有较强的结合能力。昆明山海棠-鸡血藤药对的重要活性成分-关键靶点的分子对接结果见表4。

表4 昆明山海棠-鸡血藤药对重要活性成分-关键靶点的分子对接结果

Tab 4 Molecule docking of important active components-key target of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus*

关键靶点	Docking Score			
	木犀草素	芒柄花黄素	$\beta$ -谷甾醇	雷公藤甲素
IL-6	6.62	2.43	5.20	5.10
TNF	6.35	3.83	8.30	6.81
AKT1	6.67	2.67	5.40	5.30
INS	5.01	2.22	5.07	5.57
GAPDH	5.96	3.67	7.49	6.10
TP53	5.99	3.35	7.15	5.80
ALB	6.53	4.17	8.33	6.69
VEGFA	5.75	2.48	5.39	5.67
STAT3	7.84	2.02	4.98	4.98
EGFR	6.30	2.46	5.33	5.42
MAPK3	5.94	4.28	8.20	6.86

2.4 昆明山海棠-鸡血藤药对与 RA 共有靶点的筛选结果  
昆明山海棠-鸡血藤药对与 RA 共有靶点的韦恩图见图2、共有靶点见表5。

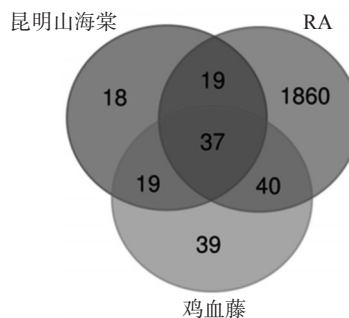


图2 昆明山海棠-鸡血藤药对与 RA 共有靶点的韦恩图  
Fig 2 Venn diagram of key target of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus* and RA

表5 昆明山海棠-鸡血藤药对与 RA 的共有靶点  
Tab 5 Common targets of couplet medicine of *T. hypoglaucom-S. suberectus* and RA

分类	数量	共有靶点(只列英文名称,中文名称略)
RA,昆明山海棠、鸡血藤	37	MMP2, PLAU, RXRA, BIRC5, BCL2, CASP8, ADRA1A, TNF, STAT3, PTGS2, CCND1, ESR1, ADRB2, VEGFA, TGFBI, MYC, ACHE, MCL1, MMP1, CASP3, IL-2, IFNG, IL-4, BCL2L1, AKR1B1, CA2, RELA, PGR, TP53, CDKN1A, PTGS1, HTR2A, JUN, AR, CALM1, BAX, MMP9
RA,昆明山海棠	19	CXCR4, C3, CD40, VTCN1, CXCL8, FNI, NR3C1, IL-23A, TIMP1, CD86, STAT1, CD14, CD80, FOS, OPRD1, MAPK8, TIMP2, TOP2B, CD274
RA,鸡血藤	40	XDH, NOS2, CCN1, MET, DPP4, PONI, PTGS, PPARG, GSTP1, MAPK14, PCNA, HSD3B1, F2, CDK4, CASP7, PDE3A, CCNA2, IL-6, HMOX1, BACE1, IL-10, MAPK1, PIK3CG, MDM2, EGFR, ERB2, HSD3B2, ICAM1, NOS3, RB1, CDK2, TYR, AKT1, SIRT1, IL-1 $\beta$ , NFkBIA, CTRB1, ESR2, CD40LG, APP
昆明山海棠、鸡血藤	19	SLC6A4, KCNH2, CHRMI, CHRNA2, CHRM4, ADRA1B, GABRA1, NR3C2, TOP2A, F10, NCOA1, CHRM2, OPRM1, NCOA2, CHRM3, LACTB, SCN5A, CHRNA7, DRD1

### 2.5 共有靶点通路富集分析及昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点-KEGG 通路网络的构建结果

2.5.1 共有靶点通路富集结果 将37个共有靶点通过Cytoscape 3.2.1软件中的Clugo插件进行KEGG通路富集,结果显示,与RA相关的信号通路有细胞凋亡(Apoptosis)、IL-17信号通路(IL-17 signaling pathway)、Th17细胞分化(Th17 cell differentiation)、TNF信号通路(TNF signaling pathway)、p53信号通路(p53 signaling pathway)、类风湿关节炎相关通路(Rheumatoid arthritis related pathway)、核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路(NF-kappa B signaling pathway)、T细胞受体信号通路(T cell receptor signaling pathway)、Th1和Th2细胞分化(Th1 and Th2 cell differentiation)、TGF- $\beta$ 信号通路(TGF-beta signaling pathway)。昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA的KEGG信号通路见图3。

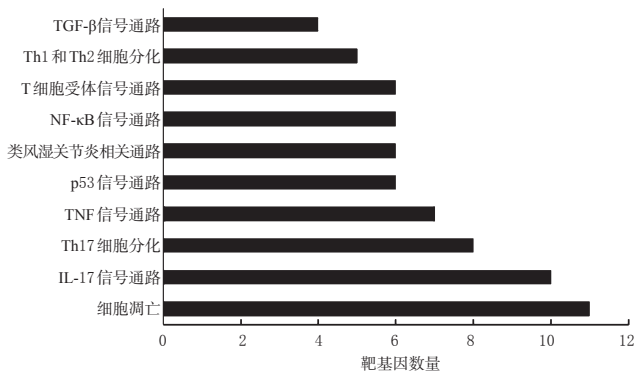


图3 昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA的KEGG信号通路

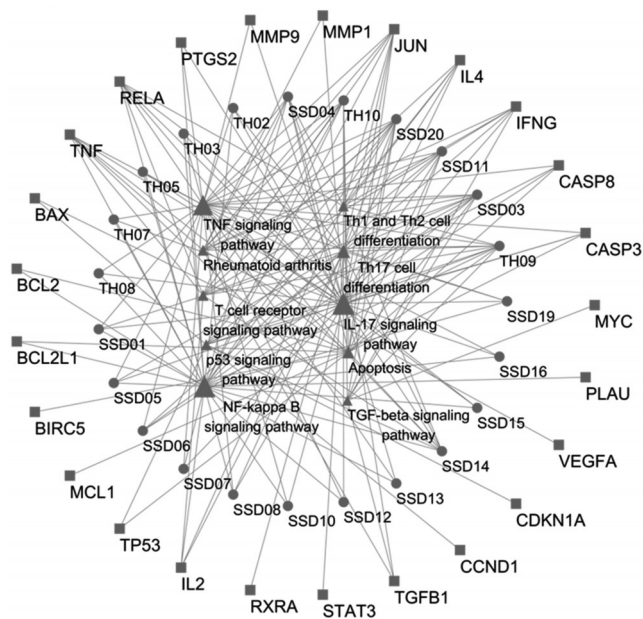
Fig 3 KEGG signaling pathway of couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus* in the treatment of RA

2.5.2 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点-KEGG通路网络图的构建结果 为了直观地反映昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分、靶点与KEGG通路之间的关系,本研究将相关数据导入Cytoscape 3.2.1软件构建昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点-KEGG通路网络,详见图4。

由图4可知,昆明山海棠-鸡血藤药对中分别有23、7、12和23种活性成分作用于IL-17信号通路、细胞凋亡通路、Th17细胞分化通路和TNF信号通路(即P值最小和靶点数量最多的前4条通路)。其中作用于IL-17信号通路和TNF信号通路的活性成分最多且成分一致。表明,昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分很可能通过作用于多条信号通路尤其是IL-17信号通路和TNF信号通路发挥治疗RA的作用。

### 3 讨论

根据分子对接结果可知,昆明山海棠-鸡血藤药对发挥主要作用的主要成分可能为雷公藤甲素、木犀草素和 $\beta$ -谷甾醇。相关研究发现,雷公藤甲素对RA患者体外培



注:圆形表示昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分;正方形表示靶点;三角形表示通路

Note: Circle represents components of couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus*; square represents targets; triangle represents pathways

图4 昆明山海棠-鸡血藤药对的活性成分-靶点-KEGG通路网络

Fig 4 Active component-target-KEGG pathway network of couplet medicine of *T. hypoglaucum-S. suberectus*

养的成纤维滑膜细胞具有一定的增殖抑制并能诱导其凋亡的作用<sup>[13]</sup>;木犀草素具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤和免疫双向调节等作用<sup>[14]</sup>; $\beta$ -谷甾醇是植物甾醇的重要组成部分,具有抗炎、调节人体甾体激素、抗氧化、抗肿瘤等作用<sup>[15]</sup>。因此,雷公藤甲素、木犀草素和 $\beta$ -谷甾醇很可能是该药对治疗RA的有效成分。

根据RA关键靶点和共有靶点分析,昆明山海棠-鸡血藤药对作用的关键靶点可能为TNF、TP53、VEGFA、STAT3。相关研究表明,TNF- $\alpha$ 通过抑制骨胶原合成、刺激成纤维细胞和软骨细胞产生前列腺素和胶原酶、刺激软骨细胞分泌金属蛋白酶、诱导外周血单核细胞分化为破骨细胞等途径,促进软骨破坏,加重炎症反应<sup>[16]</sup>。另有研究发现,RA滑膜衬里层VEGF蛋白表达与血管形态、弯曲血管走行方式及血管密度均呈正相关<sup>[17]</sup>。STAT3可诱导基质细胞RANKL表达的能力,加剧RA骨侵蚀,而沉默STAT3能明显抑制成纤维样滑膜细胞的增殖<sup>[18-19]</sup>。TP53在肿瘤的发生、增殖与转移有一定的作用<sup>[20]</sup>。故昆明山海棠-鸡血藤药对很可能通过调节TNF、VEGFA和STAT3靶点治疗RA。

KEGG通路富集分析结果显示,昆明山海棠-鸡血藤药对可能通过作用于细胞凋亡、IL-17信号通路、Th17细

胞分化和TNF信号通路等通路发挥治疗作用。相关研究表明,IL-17信号通路可通过诱导滑膜细胞、软骨和骨细胞分泌的促炎症细胞因子,促进成纤维细胞、内皮细胞等分泌IL-6、IL-8<sup>[21-22]</sup>。Th17细胞介导炎症反应并在自身免疫性疾病中发挥重要的作用,IL-17为Th17细胞的主要效应因子<sup>[23]</sup>。RA患者外周血CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞凋亡减少,CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞作为效应T淋巴细胞的重要成分,可参与免疫应答过程中的各个阶段,是RA浸润的炎细胞<sup>[24]</sup>。因此,细胞凋亡、IL-17信号通路、Th17细胞分化和TNF信号通路等通路很可能是昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA的潜在信号通路。

综上所述,本研究采用网络药理学对昆明山海棠-鸡血藤药对活性成分、作用靶点、作用通路进一步探讨,发现昆明山海棠和鸡血藤药对中的雷公藤甲素、木犀草素和 $\beta$ -谷甾醇等成分很可能通过TNF、VEGFA和STAT3等靶点作用于细胞凋亡、IL-17信号通路、Th17细胞分化和TNF信号通路等多条信号通路发挥作用。因此,昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA的药理学机制很可能是通过多组分、多靶点、多通路实现的。但由于数据库中纳入的信息可能来源于不同的试验条件,偏向于对热点领域的研究等局限性,且中药在煎煮过程中可能生成或破坏某些成分,故纳入分析的成分不一定能反映其实际作用于人体的成分。因此,本研究可为下一步研究提供参考,但昆明山海棠-鸡血藤药对治疗RA复杂的机制还有待进一步试验验证。

## 参考文献

[1] 葛均波,徐永健.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:808.

[2] 胡长玲,林兵,郑承剑,等.抗类风湿关节炎的天然药物及其作用机制研究进展[J].中草药,2011,42(7):1435-1440.

[3] 张靖,周彬,王彦丽,等.抗类风湿关节炎中药的研究进展[J].中草药,2013,44(15):2189-2194.

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:194,1056.

[5] 谢晨琼,周萍,李祥,等.昆明山海棠化学成分及药理作用和临床应用研究进展[J].中草药,2015,46(13):1996-2010.

[6] 秦建鲜,黄锁义.鸡血藤药理作用的研究进展[J].时珍国医国药,2014,25(1):180-183.

[7] 刘晓玲,陈纪藩,邓健,等.二藤通痹合剂治疗类风湿关节炎162例疗效观察[J].中药新药与临床药理,2005,16(4):294-295.

[8] 林昌松,姬森国,徐强,等.二藤通痹合剂联合正清风痛宁缓释片治疗类风湿关节炎疗效观察[J].辽宁中医杂志,2010,37(12):2308-2310.

[9] 张彦琼,李梢.网络药理学与中医药现代研究的若干进展

[J].中国药理学与毒理学杂志,2015,29(6):883-892.

[10] 周文霞,王同兴,程肖蕊,等.网络药理学研究中的网络分析技术[J].国际药学研究杂志,2016,43(3):399-409.

[11] 陈娟,顾俊菲,汪春飞,等.组分结构中药与网络药理学:病理机制网络的系统整体调控[J].中国中药杂志,2015,40(4):758-764.

[12] HSIN KY, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.

[13] 叶蕾,贾霜,潘文萍.雷公藤甲素对类风湿关节炎患者滑膜成纤维样细胞增殖的体外抑制作用研究[J].中国药房,2015,26(31):4357-4359.

[14] 杨颖,宋曙辉,徐桂花.黄酮类化合物木犀草素研究进展[J].粮食与油脂,2009(9):45-47.

[15] 任建敏.食物中植物甾醇生理活性及药理作用研究进展[J].食品工业科技,2015,36(22):389-393,399.

[16] 石慧,王丹彤,乌日嘎,等. TNF- $\alpha$ 介导的NF- $\kappa$ B信号通路在类风湿关节炎血管形成中的作用[J].医学综述,2012,18(15):2397-2400.

[17] 赵绵松,夏蓉晖,王玉华,等.骨关节炎与类风湿关节炎患者膝关节滑膜中血管内皮生长因子及血管形态的特征[J].北京大学学报(医学版),2012,44(6):927-931.

[18] BISHOP KA, MEYER MB. A novel distal enhancer mediates cytokine induction of mouse RANK1 gene expression [J]. *Mol Endocrinol*, 2009, 23(12): 2095-2110.

[19] GAO W, MCCORMICK J, CONNOLLY M, et al. Hypoxia and STAT3 signalling interactions regulate pro-inflammatory pathways in rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(6): 1275-1283.

[20] 张腾,袁梅,俞同福.肿瘤中TP53诱导的糖酵解和凋亡调节因子及其靶向治疗研究进展[J].肿瘤,2016,36(12):1383-1388.

[21] KOTAKE S, YAGO T, KAWAMOTO M, et al. Role of osteoclasts and interleukin-17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis crucial human osteoclastology[J]. *J Bone Miner Metab*, 2012, 30(2): 125-135.

[22] 余黄合,魏艳霞,林也,等. IL-23/IL-17炎症轴在类风湿关节炎发病机制中的研究进展[J].中国医药导报,2016,13(31):37-41.

[23] 王晨宇,王星,王琳,等. Th17细胞分化调节机制及与自身免疫性疾病关系研究进展[J].细胞与分子免疫学杂志,2014,30(6):660-662.

[24] 曹永贺,刘健.类风湿关节炎患者外周血CD4<sup>+</sup>T细胞存在凋亡缺陷[J].细胞与分子免疫学杂志,2015,31(5):682-685,688.

(收稿日期:2019-04-20 修回日期:2019-07-10)

(编辑:唐晓莲)