

## 基于网络药理学与 GEO 芯片探究痹祺胶囊治疗类风湿关节炎的作用机制

王中华<sup>1,2</sup>, 赵安兰<sup>1,2</sup>, 程超<sup>3</sup>, 王文<sup>3</sup>, 梁鲁纯<sup>3</sup>

1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

2. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

3. 天津中医药大学, 天津 301617

**摘要:** **目的** 利用网络药理学、分子对接方法和 GEO 芯片探究痹祺胶囊治疗类风湿关节炎的网络调控机制。**方法** 使用 TCSP 数据库和 SwissTarget Prediction 平台收集和筛选痹祺胶囊的活性成分及其作用靶点。使用 GEO 数据库收集类风湿关节炎差异基因。将痹祺胶囊作用靶点与类风湿关节炎差异表达基因取交集确定痹祺胶囊治疗类风湿关节炎的潜在基因。通过 Cytoscape 3.8.0 软件构建“中药-活性成分-靶点-疾病”网络和蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络。通过 R 软件对交集靶点进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。使用 AutoDock vina 软件对主要活性成分与核心靶点进行分子对接。**结果** 筛选得到痹祺胶囊治疗类风湿关节炎的潜在靶点 36 个, 主要涉及钙离子内稳态、炎症反应、前列腺素受体的活动等生物过程, 通过参与钙信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路等来发挥治疗类风湿关节炎的作用, 分子对接结果表明排名前 10 的主要活性成分与核心靶点 ADRB2、EGFR、PPARG 均具有较强的结合能力。**结论** 痹祺胶囊治疗类风湿关节炎通过参与钙信号通路、TNF 信号通路等来发挥治疗类风湿关节炎的作用, 排名前 10 的主要活性成分与核心靶点 ADRB2、EGFR、PPARG 均具有较强的结合能力。

**关键词:** 痹祺胶囊; 网络药理学; 作用机制; 类风湿关节炎; 分子对接; 槲皮素; 猪苓酸 C; 亚油酸

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)01-0050-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.01.007

## Mechanism of Biqi Capsules in treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and GEO chip

WANG Zhong-hua<sup>1,2</sup>, ZHAO An-lan<sup>1,2</sup>, CHENG Chao<sup>3</sup>, WANG Wen<sup>3</sup>, LIANG Lu-chun<sup>3</sup>

1. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300381, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Abstract: Objective** To predict the mechanism of Rheumatoid arthritis (RA) treated by Biqi Capsules using network pharmacology, molecular docking and GEO chip. **Methods** TCSP database and SwissTarget Prediction platform were used to collect and screen the active components and targets of Biqi capsules. RA differential genes were collected by GEO database. The target of Biqi capsule and the differentially expressed genes of rheumatoid arthritis were intersected to determine the potential genes of Biqi capsule in the treatment of rheumatoid arthritis. The “Drugs-active compounds-targets-disease” network and protein-protein interaction (PPI) network were constructed by Cytoscape 3.8.0 software. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) were analyzed for the intersection targets by R software. Molecular docking between main active components and core targets by AutoDock vina software. **Results** 36 potential targets of Biqi Capsules in treatment of rheumatoid arthritis were screened, which were mainly related to calcium homeostasis, inflammatory reaction, prostaglandin receptor activity and other biological processes, and played a role in treatment of rheumatoid arthritis by participating in calcium signal pathway and TNF signal pathway. the results of molecular docking showed that the top ten main active components had strong binding ability with core targets ADRB2, EGFR and PPARG. **Conclusion** Biqi Capsules plays a role in the treatment of rheumatoid arthritis by participating in calcium signal pathway

收稿日期: 2021-07-23

基金项目: 天津市卫生和计划生育委员会中西医结合科研课题 (2017126)

作者简介: 王中华, 副主任药师, 硕士, 主要从事中药鉴定、中药炮制、中药制剂、中药临床药学工作。E-mail: tjcm928@qq.com

and TNF signal pathway, and the results of molecular docking show that the top ten main active ingredients have strong binding ability with core targets ADRB2, EGFR and PPARG.

**Key words:** Biqi Capsules; network pharmacology; mechanism; rheumatoid arthritis; molecular docking; quercetin; umbellate C; linoleic acid

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以侵蚀性关节炎为主要临床表现的自身免疫性疾病, 基本病理表现为滑膜炎、血管翳形成, 并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<sup>[1]</sup>。RA 是所有慢性炎症性关节疾病中最常见的一种, 全球 RA 的发病率为 0.5%~1.0%<sup>[2]</sup>, 中国大陆地区发病率为 0.42%<sup>[3]</sup>。目前临床指南推荐联合使用抗风湿药物如甲氨蝶呤作为一线治疗药物<sup>[4]</sup>。但甲氨蝶呤起效较慢, 且长期应用会产生肝功能受损、胃肠道反应、白细胞减少等不良反应<sup>[5]</sup>。目前西医治疗方法并不能彻底治愈 RA, 而且对患者产生的副作用也比较大。RA 属于“痹证”范畴, 在古代文献中对其有“骨痹”“鹤膝风”“鼓椎风”等描述。痹祺胶囊出自汉代华佗传世验方“一粒仙丹”, 用于治疗水湿之地百姓常见的骨病。痹祺胶囊由马钱子、党参、茯苓、白术、丹参、地龙、三七、牛膝、川芎、甘草组成, Meta 分析表明痹祺胶囊治疗 RA 疗效确切<sup>[6]</sup>。多项临床研究表明痹祺胶囊治疗 RA 效果良好, 且不良反应较少, 是治疗 RA 安全有效的方药<sup>[7-9]</sup>。然而痹祺胶囊治疗 RA 的机制尚不明确, 这是限制其广泛应用的主要因素。

中药复方具有多化合物、多靶点的特点, 多靶点、多途径、多环节治疗疾病。由于中药化学成分复杂, 传统的研究方法难以充分阐明中药的作用机制。网络药理学为解决这一问题提供了一种方法, 适用于中药多复方、多靶点的研究<sup>[10]</sup>。本研究从网络药理学和分子对接的角度探讨痹祺胶囊对 RA 的作用机制, 为进一步的基础和临床研究提供方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 收集痹祺胶囊成分和作用靶点

通过检索中药系统药理学数据库 (<http://tcmispw.com/tcmisp.php>, TCMSP) 收集痹祺胶囊中的化合物。口服药物中被吸收入血的化合物才能产生作用<sup>[11]</sup>。口服生物利用度 (OB) 为药物口服剂量与体循环的比值, 是口服药物的重要药动学参数<sup>[12]</sup>。类药性 (DL) 指的是物理和化学性质, 是评价化合物是否与已知药物相似的定性原理<sup>[13]</sup>。本研究以 OB≥30%、DL≥0.18 为筛选条件, 最终获得

痹祺胶囊的活性成分。通过 DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com>) 和 SwissTarget Prediction 平台 (<http://www.swisstargetprediction.ch>) 对得到的活性成分进行作用靶点的预测和筛选。将所得靶点输入 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 对其名称进行规范, 限定物种为“Homo sapiens”, 校正靶点基因名为 gene symbol。

### 1.2 收集 RA 差异表达基因

本研究从 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>; 系列: GSE21959; 样本: 36 个样本, 其中 18 个为健康人, 18 个为 RA 患者) 收集 RA 相关基因, 其中满足  $P < 0.05$  和  $|\log_2(\text{fold change})| > 0.5$  的基因作为 RA 差异表达基因。

### 1.3 预测潜在基因

将 1.1 项中的痹祺胶囊作用靶点与“1.2”项中的 RA 差异表达基因取交集, 交集靶点即为痹祺胶囊治疗 RA 的潜在基因, 并绘制韦恩图。

### 1.4 构建“中药-活性成分-靶点-疾病”网络和蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络

将 1.1、1.2 项中收集的痹祺胶囊活性成分和 RA 差异表达基因导入 Cytoscape 3.8.0 软件, 构建痹祺胶囊“中药-活性成分-靶点-疾病”网络。以“1.3”项中交集靶点为研究对象, 通过 Cytoscape 3.8.0 软件的插件 Bisogenet 构建 PPI 网络。然后通过插件 CytoNCA 计算节点的度值 (degree)、中心性 (BC), 以评估网络中节点的拓扑重要性。

### 1.5 基因本体 GO 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析是描述候选靶点特征的重要方法, 利用 R 软件对交集靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。以  $P < 0.05$  为显著富集筛选条件, 并将结果可视化。

### 1.6 痹祺胶囊主要活性成分与核心靶蛋白的分子对接

在 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载核心靶蛋白的 3D 结构。利用 Pymol 软件对靶蛋白进行去溶剂、去除小分子有机物等前处理。然后在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

下载 1.4 中度值排名前 10 的主要活性成分的 2D 结构,通过 Chem3D Ultra 14.0 软件将小分子结构转化为 3D 结构,并对其进行能量最小化处理。通过 AutoDock 软件分别对蛋白质、小分子进行添加氢原子处理,赋 Gasteiger 原子电荷,同时完成对小分子可旋转键的设置,分别保存处理后的靶蛋白和小分子,最后运行 Vina 1.5.6 进行分子对接。然后通过 Pymol 软件将核心靶蛋白对应结合活性最强的结果可视化。

## 2 结果

### 2.1 痹祺胶囊成分和作用靶点的收集

通过检索和筛选,本研究共得到 243 个活性成分,其中马钱子 12 个、党参 18 个、茯苓 13 个、白术 5 个、丹参 59 个、地龙 21 个、三七 8 个、牛膝 17 个、川芎 7 个、甘草 83 个,删除重复值后共得到 226 个活性成分。通过 DrugBank 数据库和 SwissTarget Prediction 平台预测活性成分的作用靶点 4 452 个,其中马钱子、党参、茯苓、白术、丹参、地龙、三七、牛膝、川芎、甘草中活性成分作用靶点数量分别为 105、257、463、77、850、491、236、402、140、1 431 个,删除重复项得到 601 个药物靶点,痹祺胶囊中靶点数排名前 20 的活性成分的基本信息见表 1。从 GEO 数据库中得到 764 个 RA 差异表达基因,并绘制火山图展示差异表达基因的分布,如图 1 所示,框内的点代表显著差异表达的基因。将痹祺胶囊中活性成分所作用的靶点与 RA 的差异基因取交集,得到 36 个交集靶点,即 36 个痹祺胶囊活性成分治疗 RA 的潜在基因,见图 2。

### 2.2 “中药-活性成分-靶点-疾病”网络分析

利用 Cytoscape 3.8.0 软件构建痹祺胶囊中药-活性成分-靶点-疾病网络,如图 3 所示,圆形节点代表交集基因,菱形靶点表示潜在活性成分,节点大小代表节点的度值,节点越大,节点度值越大。该网络具有 190 个节点(142 个化合物、36 个靶基因和 12 个药物与疾病名称)和 303 条边,表明 36

表 1 痹祺胶囊中靶点数排名前 20 的活性成分的基本信息

Table 1 Basic information of top 20 active ingredients in terms of number of targets in Biqi Capsules

| 来源中药     | 化合物           | 对应靶点数 |
|----------|---------------|-------|
| 甘草、牛膝、三七 | 槲皮素           | 138   |
| 地龙       | 苍耳素           | 100   |
| 地龙       | 亚油酸           | 100   |
| 川芎       | 洋川芎酮          | 99    |
| 茯苓       | 齿孔酸           | 85    |
| 茯苓       | 猪苓酸 C         | 83    |
| 茯苓       | 茯苓新酸 C        | 75    |
| 茯苓       | 去氢齿孔酸         | 67    |
| 地龙       | 硬脂酸           | 64    |
| 茯苓       | 茯苓酸           | 63    |
| 白术       | $\alpha$ -香树精 | 58    |
| 牛膝       | $\beta$ -谷甾醇  | 58    |
| 甘草、牛膝    | 山柰酚           | 55    |
| 党参       | 蒲公英萜醇         | 55    |
| 党参、丹参    | 木犀草素          | 54    |
| 地龙       | 鸟嘌呤           | 46    |
| 地龙       | 鸟苷            | 46    |
| 地龙       | 胆固醇           | 44    |
| 牛膝       | 汉黄芩素          | 41    |
| 丹参       | 丹参酮 IIA       | 41    |

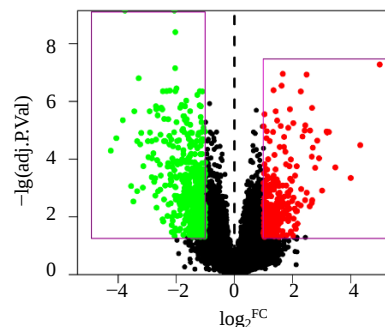
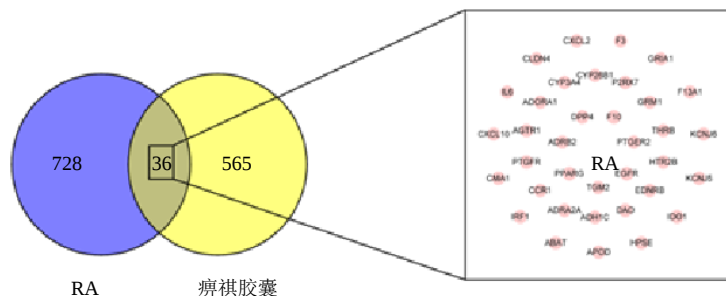


图 1 差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcano plot of differentially expressed genes



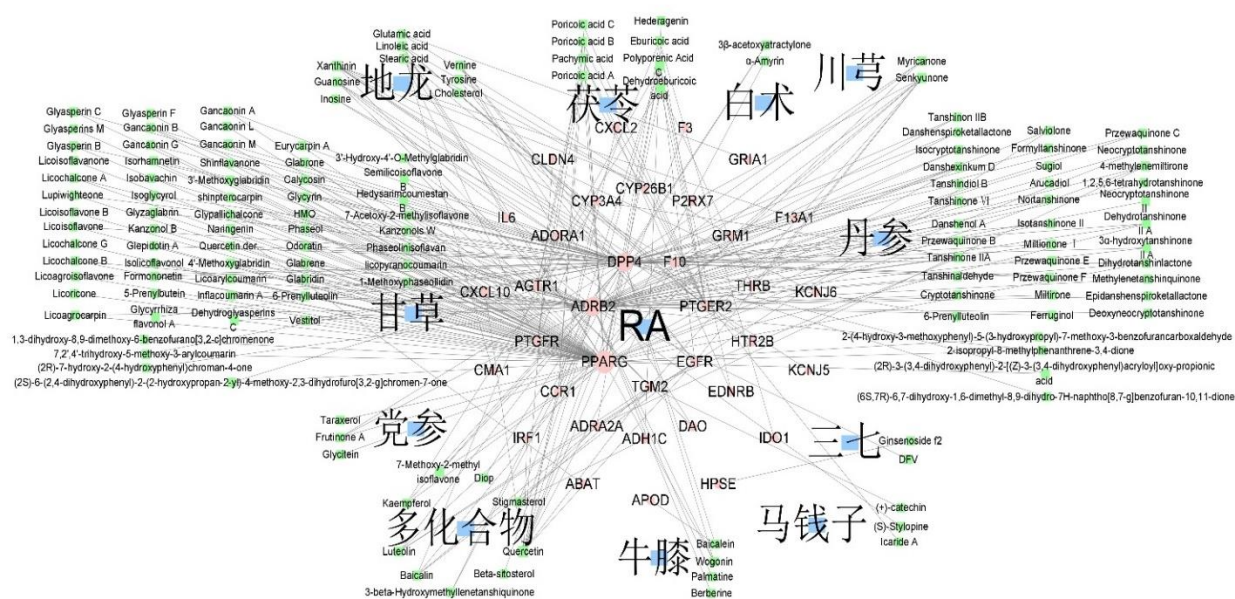


图 3 痹祺胶囊“中药-活性成分-靶点-疾病”网络

Fig. 3 Biqi Capsules “drugs-active compounds-targets-disease” network

个靶基因受到 142 个活性成分的调控。按照度值排序, 排名前 3 的为槲皮素、猪苓酸 C 和亚油酸, 分别作用于 12、8、8 个靶点。槲皮素是牛膝、三七、甘草的共同活性成分, 猪苓酸 C 是茯苓的活性成分和亚油酸是地龙的活性成分。

### 2.3 PPI 网络分析

为了阐明痹祺胶囊改善 RA 的机制, 本研究将痹祺胶囊活性成分作用于 RA 的潜在基因网络与 RA 相关的目标网络合并为 1 个包含 1 623 个节点和 23 666 条边的 PPI 网络, 如图 4-A 所示。有研究表明, 度值 > 74 的节点被确定为显著目标<sup>[14]</sup>。根据度值 > 74 筛选节点, 建立了痹祺胶囊治疗 RA 的重

要靶点网络, 其中有 182 个节点和 4 202 条边, 如图 4-B 所示。由于基因数量有限, 本研究第 2 次仅使用 BC 平均值进行筛选, 进一步鉴定候选靶点, 筛选出 94 个 BC 平均值 > 90.05 的靶点和 1 680 条边 (图 4-C)。最终鉴定出 94 个痹祺胶囊治疗 RA 的靶点, 其中 EGFR、PPARG、ADRB2 属于痹祺胶囊活性成分作用于 RA 的潜在靶点, 表明它们可能是痹祺胶囊治疗 RA 的核心靶点。

### 2.4 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

为了进一步证实痹祺胶囊治疗 RA 所涉及的生物学效应, 本研究基于生物过程 (BP)、细胞成分 (CC)、分子功能 (MF) 对 36 个交集基因进行 GO

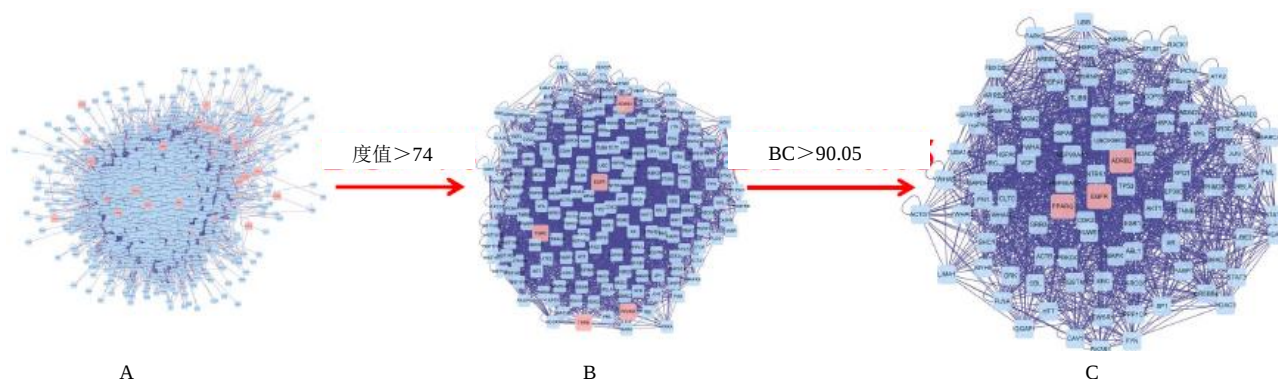


图 4 痹祺胶囊治疗 RA 的 PPI 网络

Fig. 4 PPI network of Biqi Capsules in treatment of RA

分析, 获得 966 个条目。通过 BP 富集分析获得 891 个条目, 包括钙离子内稳态、炎症反应、循环系统中的血管过程的调节等; 通过 CC 富集分析获得 21 个条目, 涉及质膜的外部、离子通道、膜筏等; 通过 MF 富集分析获得 54 个条目, 包括前列腺素受体的活动、G 蛋白偶联受体结合、神经递质受体活动等。以  $P < 0.05$  为显著富集筛选条件, 将 GO 功能富集条目按  $P$  值进行排序, 分别选取 BP、CC 和 MF 的前 10 绘制柱状图, 如图 5 所示。为了进一步阐明交集靶点的生物学过程, 本研究对交集靶点进行 KEGG 通路分析, 以  $P < 0.05$  为显著富集筛选条件, 发现潜在基因在 12 条通路中富集, 如图 6 所示, 主要涉及免疫系统相关通路如钙信号通路、炎症相关通路如肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路。

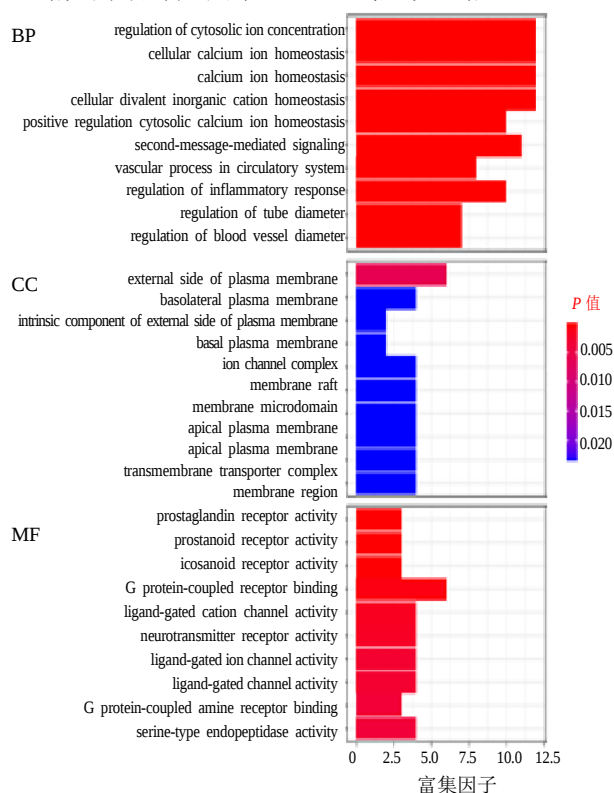


图 5 GO 功能富集图

Fig. 5 GO functional enrichment analysis

## 2.5 分子对接

将 PPI 拓扑分析得到的核心靶点 ADRB2 (PDB ID: 6KR8)、EGFR (PDB ID: 2RGP)、PPARG (PDB ID: 3K8S) 分别与“中药-活性成分-靶点-疾病”网络中排名前 10 的主要活性成分槲皮素、猪苓酸 C、亚油酸、苍耳素、洋川芎酮、茯苓酸 C、硬脂酸、丹参酮 II<sub>A</sub>、黄芩苷、豆甾醇进行分子对接, 见表 2。

若结合能小于 0, 表明小分子配体与受体蛋白能够自发地结合, 而且结合能越低, 表明小分子配体与受体蛋白结合力越强<sup>[15]</sup>。对接结果表明主要活性成分与核心靶蛋白结合能均小于 0, 其中 90% 的结合能  $\leq -20.92$  kJ/mol。3 个核心靶蛋白对应结合活性最强的化合物均为丹参酮 II<sub>A</sub>。本研究绘制了丹参酮 II<sub>A</sub> 与 ADRB2、EGFR、PPARG 的分子对接图, 如图 7 所示。

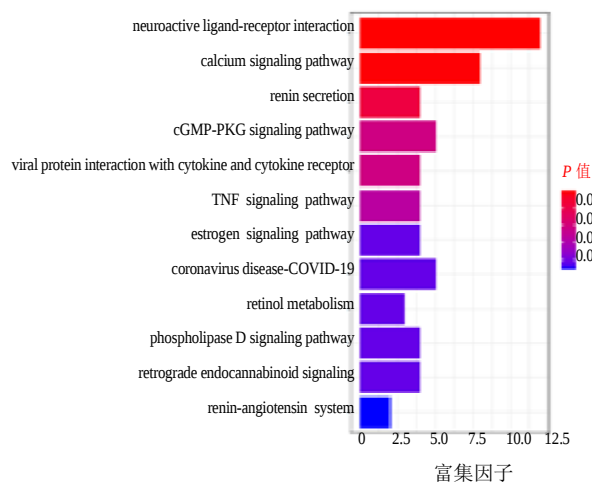


图 6 KEGG 通路富集图

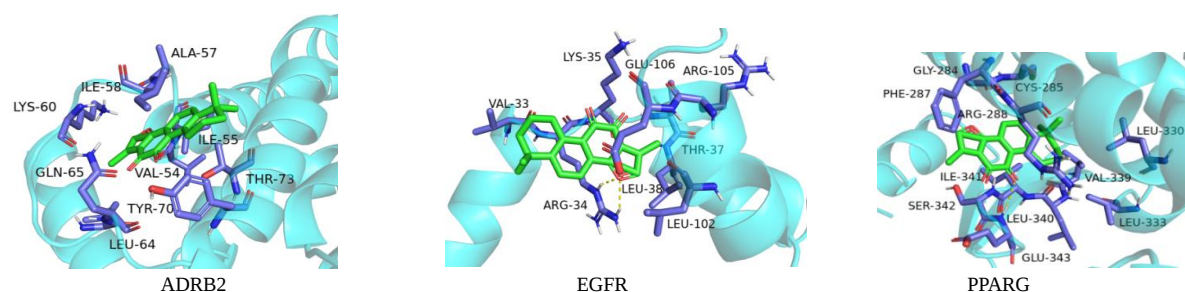
Fig. 6 KEGG pathway enrichment

表 2 痹祺胶囊中主要潜在活性成分与关键靶蛋白的结合能  
Table 2 Binding energies of key active compounds with core targets of Biqi Capsules

| 活性成分                | ADRB2/(kJ mol <sup>-1</sup> ) | EGFR/(kJ mol <sup>-1</sup> ) | PPARG/(kJ mol <sup>-1</sup> ) |
|---------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 丹参酮 II <sub>A</sub> | -38.91                        | -33.47                       | -37.66                        |
| 豆甾醇                 | -37.24                        | -28.87                       | -37.24                        |
| 猪苓酸 C               | -34.73                        | -28.03                       | -33.89                        |
| 槲皮素                 | -33.89                        | -29.29                       | -33.05                        |
| 黄芩苷                 | -30.96                        | -25.94                       | -32.64                        |
| 茯苓酸 C               | -29.29                        | -28.03                       | -29.71                        |
| 苍耳素                 | -27.61                        | -23.43                       | -28.45                        |
| 洋川芎酮                | -26.78                        | -28.03                       | -33.89                        |
| 硬脂酸                 | -25.52                        | -15.48                       | -20.50                        |
| 亚油酸                 | -20.92                        | -18.41                       | -23.85                        |

## 3 讨论

《灵枢·五变》言:“粗理而肉不坚者, 善病痹”, 认为痹证的发生内在因素是正气虚, 腠理不密。《黄帝内经·痹论》言:“风寒湿三气杂至合而为痹也。其风气胜者为行痹, 寒气胜者为痛痹, 湿气胜者为

图 7 丹参酮 II<sub>A</sub> 与 ADRB2、EGFR、PPARG 分子对接图Fig. 7 Molecular docking diagram of tanshinone II<sub>A</sub> with ADRB2, EGFR and PPARG

着痹也”，认为风寒湿邪是痹证的外在因素。《医学正传·痛风》有言：“大率因血虚受热，其血已自沸腾，或加之涉水受湿，热血得痛”，认为水湿是痹症的主要诱因。路志正教授<sup>[16]</sup>认为风湿病多为本虚标实之证，其产生的主要原因是气血亏虚、肝肾不足，通过长期的临床工作总结出“风湿病必夹湿、痰、瘀”的规律。综上可知，痹证是正气不足，感受外邪，阻滞经络，痹阻气血所引起的。痹祺胶囊正是遵循以上治疗原则立法，痹祺胶囊中的马钱子具有散寒消肿、通络止痛功效；党参、白术、茯苓健脾益气，丹参养血和血，4药同用益气养血；地龙、三七、牛膝、川芎活血化瘀，通络止痛；甘草调和诸药，共奏益气养血、活血通络止痛散寒之功，达到攻补兼施，祛邪扶正的目的，符合 RA 的病机。

研究表明，痹祺胶囊对 RA 具有一定的治疗作用，具有良好的抗炎镇痛效应<sup>[17-18]</sup>，保护关节软骨作用<sup>[19-20]</sup>。临床研究表明相比单纯使用甲氨蝶呤治疗 RA，痹祺胶囊联合甲氨蝶呤能提高临床疗效，且在调节血清免疫球蛋白水平方面也具有一定优势<sup>[21]</sup>。痹祺胶囊的主要活性化合物如槲皮素、猪苓酸 C 和亚油酸等对改善 RA 具有重要作用。研究表明槲皮素能够通过减轻炎症反应、抑制滑膜血管翳的形成、抑制滑膜增生、抑制中性粒细胞胞外诱捕网的形成、抑制破骨细胞的作用、调节 Th17/Treg 平衡等来减轻 RA<sup>[22]</sup>；亚油酸在机体内能转化为花生四烯酸，在脂氧化酶或环氧化酶的作用下进一步合成为前列腺素或白三烯，其中前列腺素和花生四烯酸与炎症反应有关<sup>[23]</sup>，有研究表明亚油酸可能通过激活 PI3K/Akt、p38 MAPK 和 ERK1/2 信号通路参与血管内皮细胞复杂的炎症过程<sup>[24]</sup>；猪苓酸 C 是茯苓中三萜类成分之一，研究发现猪苓酸 C 能够通过抑制 NO 合酶（诱导酶）的表达从而降低 NO 水平，达到抗炎的效果<sup>[25]</sup>。分子对接结果表明丹参酮 II<sub>A</sub> 与核

心靶蛋白的结合活性最强。丹参酮 II<sub>A</sub> 能够减轻脊髓损伤（spinal cord injury, SCI）大鼠的组织损伤和减轻促炎细胞因子（TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6）和 iNOS（NO 合酶）的产生<sup>[26]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 都是 RA 中关键的促炎细胞因子<sup>[27]</sup>。但是目前没有文献报道丹参酮 II<sub>A</sub> 对 RA 的治疗机制，这可作为下一步的研究方向。

通过 PPI 分析发现 EGFR、PPARG、ADRB2 是治疗 RA 的核心靶蛋白。研究表明 RA 与 EGFR 基因 rs17337023 SNP 位点相关，且 RA 患者较正常人血清 EGFR 蛋白水平升高<sup>[28]</sup>。体外培养实验表明在外源性表皮生长因子（EGF）的刺激下 RA 滑膜细胞中细胞外调节蛋白激酶（ERK）明显活化，证明了 EGF 在 RA 的发病中可能主要起刺激 RA 滑膜细胞过度增生的效应<sup>[29]</sup>。PPARG 是核受体超家族成员（PPAR）的分型之一。研究表明 PPARG 可能是一种重要的免疫炎症介质，在 RA 的治疗中有重要意义，它能够抑制 iNOS 的诱导，还可以减少 RA 中关键促炎细胞因子如 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的分泌<sup>[27]</sup>。 $\beta$ 2 肾上腺素受体（ $\beta$ 2-AR）属于 G 蛋白偶联肾上腺素受体家族， $\beta$ 2-AR 由 ADRB2 基因编码<sup>[30]</sup>。在人类 RA 及其动物模型中有  $\beta$ 2-AR 的参与<sup>[31]</sup>。

GO 分析表明痹祺胶囊主要调控钙离子内稳态、炎症反应、循环系统中的血管过程的调节等生物学过程，并涉及质膜的外部、离子通道、膜筏和 G 蛋白偶联受体结合等细胞组分和分子功能。在本研究中，钙信号通路和 TNF 信号通路在 KEGG 通路显著富集。钙信号通路对免疫系统中的许多细胞功能至关重要，在淋巴细胞中钙离子的持续进入对于激活 T 细胞通路中的磷酸酶的长时间激活是必要的<sup>[32]</sup>。RA 是一种自身免疫性疾病，有研究推断体内钙信号可能与 RA 的病因有关<sup>[33]</sup>。TNF- $\alpha$  是经典的促炎因子，TNF- $\alpha$  是 RA 发生的关键角色，一方

面它能够与成纤维滑膜细胞上 TNFR1 受体结合,促进 IL-1、IL-6、IL-8 等炎症细胞因子释放,加重关节软骨、骨损伤<sup>[34]</sup>;另一方面,TNF- $\alpha$  还能通过 VCAM-1 诱导血液中的免疫细胞进入关节,加重关节损伤<sup>[35]</sup>。另外有研究表明钙通道阻滞剂维拉帕米能够拮抗 TNF- $\alpha$  介导的炎症反应,减轻炎症和关节炎模型的关节破坏,其可能有助于炎症性关节炎的治疗<sup>[36]</sup>。

综上所述,本研究通过网络药理学和分子对接的方法,系统地探究痹祺胶囊抗 RA 的作用机制和分子靶点。痹祺胶囊对 RA 的治疗具有多成分、多靶点、多通路的作用特点,槲皮素、猪苓酸 C、亚油酸调节是调节 RA 的重要化合物。EGFR、PPARG、ADRB2 等是痹祺胶囊治疗 RA 的核心靶点。痹祺胶囊可能通过钙信号通路、TNF 信号通路等相关通路调控基因功能。分子对接结果表明主要活性成分与核心靶点有较强亲和能力。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中华医学会风湿病学分会, 2018 中国类风湿关节炎诊疗指南 [J]. 中华内科杂志, 2018, 57(4): 242-251.
- [2] Carey E, Ali A, Lindor K. Primary biliary cirrhosis [J]. *Lancet*, 2015, 386(10003): 1565-75.
- [3] 曾小峰, 朱松林, 谭爱春, 等. 我国类风湿关节炎疾病负担和生存质量研究的系统评价 [J]. 中国循证医学杂志, 2013, 13(3): 300-307.
- [4] Chaudhari K, Rizvi S, Syed B. Rheumatoid arthritis: current and future trends [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(5): 305-306.
- [5] 于萍, 任立敏, 王秀茹, 等. 甲氨蝶呤在国人类风湿关节炎治疗中不良反应的调查及分析 [J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(8): 550-553.
- [6] 杨艳, 范琳琳, 顾丽丽, 等. 痹祺胶囊治疗类风湿关节炎随机对照试验的 Meta 分析 [J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(6): 333-338.
- [7] 刘 维, 周艳丽, 张磊. 痹祺胶囊治疗类风湿关节炎临床观察 [J]. 天津药学, 2004, 16(6): 30-31.
- [8] 白海涛, 李剑. 痹祺胶囊治疗类风湿性关节炎 50 例临床观察 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(11): 1489-1490.
- [9] 陶义红. 痹祺胶囊治疗类风湿关节炎 58 例临床观察 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1756.
- [10] Hopkins A. Network pharmacology [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1.
- [11] 马飞祥, 薛培凤, 王媛媛, 等. 中药血清药物化学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1265-1270.
- [12] 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.
- [13] 韩春艳, 李燕, 刘刚. 类药性: 预测与实践 [J]. 化学进展, 2008, (9): 1335-1344.
- [14] Zhang Y, Li Z, Yang M, et al. Identification of GRB2 and GAB1 coexpression as an unfavorable prognostic factor for hepatocellular carcinoma by a combination of expression profile and network analysis [J]. *PloS One*, 2013, 8(12): 85170.
- [15] Liu W, Fan Y, Tian C, et al. Deciphering the molecular targets and mechanisms of HGWD in the treatment of rheumatoid arthritis via network pharmacology and molecular docking [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 7151634.
- [16] 姜泉, 罗成贵, 李纪川, 等. 路志正教授治疗风湿病用药经验举隅 [J]. 新中医, 2011, 43(9): 132-133.
- [17] 刘维, 周艳丽, 张磊, 等. 痹祺胶囊抗炎镇痛作用的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 2006, 13(5): 315-316.
- [18] Wang Q S, Cui Y L, Wang Y F, et al. Effects of compounds from Bi-Qi Capsule on the expression of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 136(3): 480-487.
- [19] 柳占彪, 师咏梅, 许放, 等. 痹祺胶囊对大鼠膝关节炎软骨组织影响的病理形态观察 [J]. 天津中医药, 2010, 27(4): 318-321.
- [20] 邢国胜, 金鸿宾, 王志彬, 等. 痹祺胶囊对兔骨性关节炎关节软骨破坏的干预作用 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2009, 15(5): 547-551.
- [21] 刘素芳, 赵阳, 贾彬, 等. 痹祺胶囊联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎的临床研究 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(8): 1727-1731.
- [22] 蒋海旭, 许杰, 陆清怡. 槲皮素治疗类风湿关节炎的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(5): 243-250.
- [23] 王瑜孜, 金心, 袁幼红. 中年女性亚油酸摄入与类风湿性关节炎的相关性 [J]. 中华关节外科杂志: 电子版, 2021, 15(1): 51-56.
- [24] Bernhard H, Wang L, Xabier A, et al. Linoleic acid induces proinflammatory events in vascular endothelial cells via activation of PI3K/Akt and ERK1/2 signaling [J]. *J Nutr Biochem*, 2006, 17(11): 766-72.
- [25] Tian G C, Yu C. Triterpenes from the fungus *Poria cocos* and their inhibitory activity on nitric oxide production in mouse macrophages via blockade of activating protein-1 pathway [J]. *Chem Biodivers*, 2011, 8(11): 2135-2143.
- [26] Xin Y, Yue Y, Fa L C, et al. Tanshinone II<sub>A</sub> attenuates the

- inflammatory response and apoptosis after traumatic injury of the spinal cord in adult rats [J]. *PloS One*, 2012, 7(6): e38381.
- [27] Kawahito Y, Kondo M, Tsubouchi Y, *et al.* 15-deoxy-delta(12,14)-PGJ(2) induces synoviocyte apoptosis and suppresses adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(2): 189-197.
- [28] Huang C, Chen H, Chen D, *et al.* Rheumatoid arthritis is associated with rs17337023 polymorphism and increased serum level of the EGFR protein [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0180604.
- [29] 燕太强, 吕厚山, 药立波, 等. 表皮生长因子对类风湿关节炎滑膜细胞的作用 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2000, 4(5): 270-273.
- [30] He R H, He Y J, Tang Y J, *et al.* The potential anticancer effect of beta-blockers and the genetic variations involved in the interindividual difference [J]. *Pharmacogenomics*, 2016, 17(1): 74-79.
- [31] Xu B, Ärlehang L, Rantapää-Dahlquist S B, *et al.*  $\beta$ 2-Adrenergic receptor gene single-nucleotide polymorphisms are associated with rheumatoid arthritis in northern Sweden [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 33(6): 395-398.
- [32] Vig M, Kinet J P. Calcium signaling in immune cells [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(1): 21-27.
- [33] Zhang M M, Jiang Y S, Lv H C, *et al.* Pathway-based association analysis of two genome-wide screening data identifies rheumatoid arthritis-related pathways [J]. *Genes Imm*, 2014, 15(7): 487-494.
- [34] Zhang H, Xiao W. TNFR1 and TNFR2 differentially mediate TNF- $\alpha$ -induced inflammatory responses in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. *Cell Biol Int*, 2017, 41(4): 415-422.
- [35] Kong D H, Kim Y K, Kim M R, *et al.* Emerging roles of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in immunological disorders and cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1057.
- [36] Wang W, Li Z, Meng Q, *et al.* Chronic Calcium channel inhibitor verapamil antagonizes TNF- $\alpha$ -mediated inflammatory reaction and protects against inflammatory arthritis in mice [J]. *Inflammation*, 2016, 39(5): 1624-1634.

[责任编辑 金玉洁]