

# 基于网络药理学探讨人参健脾丸预防性干预改善化疗性肠黏膜炎的作用机制及实验验证

翟建英<sup>1,2</sup>, 刘珊珊<sup>1,2</sup>, 朱晓光<sup>1,2</sup>, 张瀚涛<sup>1,2</sup>, 李晋生<sup>1,2</sup>, 徐意<sup>1,2\*</sup>

1. 北京中研同仁堂医药研发有限公司 中药复方新药开发国家工程研究中心, 北京 100079

2. 北京同仁堂股份有限公司, 北京 100079

**摘要:** **目的** 基于网络药理学和动物实验探讨人参健脾丸防治化疗性肠黏膜炎的有效成分及潜在作用靶点和通路。方法通过开放的中药数据库和疾病数据平台收集人参健脾丸的活性成分及治疗化疗性肠黏膜炎的潜在作用靶点, 通过 STING 在线分析平台构建蛋白相互作用 (PPI) 网络, 通过基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析探讨人参健脾丸治疗化疗性肠黏膜炎的有效成分及可能的作用靶点和通路。将大鼠随机分为对照组、模型组、谷氨酰胺散组、人参健脾丸 (4.8、2.4、1.2 g/kg) 组, 每组 12 只。末次给药后 24 h 取材。观察大鼠一般状态、体质量、腹泻评分; 血清炎症因子的变化情况; 肠组织病理改变情况以及 Toll 样受体 (TLR)/核因子 (NF- $\kappa$ B) 等的变化情况。**结果** 网络药理学研究结果显示, 共筛选出人参健脾丸的主要活性成分 76 个, 其中槲皮素、山柰酚和柚皮素对应靶点最多, 可能是人参健脾丸治疗化疗性肠黏膜炎的有效成分。其用于肠黏膜炎潜在靶点蛋白 152 个, 主要作用靶点蛋白涉及丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 3、蛋白激酶 B1 (Akt1)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 (IL) -6、NF- $\kappa$ B 等, 作用通路涉及磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/Akt 信号通路、IL-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、MAPK 信号通路等。动物实验结果显示: 与模型组比较, 人参健脾丸 4.8 g/kg 组大鼠体质量显著升高 ( $P < 0.05$ ); 人参健脾丸 (4.8、1.2 g/kg) 组大鼠腹泻评分显著降低 ( $P < 0.05$ , 0.01); 人参健脾丸 (4.8、2.4 g/kg) 组大鼠肠组织病理评分显著降低 ( $P < 0.01$ ); 人参健脾丸 4.8 g/kg 组大鼠血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平均显著降低 ( $P < 0.05$ , 0.01); 人参健脾丸 2.4 g/kg 组大鼠血清中 IL-1 $\beta$  显著降低 ( $P < 0.05$ ); 人参健脾丸 (4.8、1.2 g/kg) 组大鼠肠组织 TLR4、NF- $\kappa$ B 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ , 0.01)。**结论** 人参健脾丸具有多成分、多靶点、多通路的作用特点, 对化疗性肠黏膜炎具有治疗作用, 能通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路降低化疗性肠黏膜炎模型大鼠炎性水平发挥治疗作用。

**关键词:** 人参健脾丸; 化疗性肠黏膜炎; 网络药理学; 槲皮素; 山柰酚; 柚皮素

中图分类号: R975 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)11-2771-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.11.005

## Mechanism and experimental verification of preventive intervention of Renshen Jianpi Pills in improving chemotherapy-induced intestinal mucositis based on network pharmacology

ZHAI Jianying<sup>1,2</sup>, LIU Shanshan<sup>1,2</sup>, ZHU Xiaoguang<sup>1,2</sup>, ZHANG Hantao<sup>1,2</sup>, LI Jinsheng<sup>1,2</sup>, XU Yi<sup>1,2</sup>

1. National Engineering Research Center for Research and Development for TCM Multi-Ingredient Drugs, Beijing Zhongyan Tongrentang Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100079, China

2. Beijing Tongrentang Co.Ltd., Beijing 100079, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of Renshen Jianpi Pills in treatment of chemotherapy-induced intestinal mucositis based on network pharmacology and animal experiments verification. **Methods** Collect the active ingredients and potential therapeutic targets of Renshen Jianpi Pills for chemotherapy-induced intestinal mucositis through an open traditional Chinese medicine database and disease data platform. Construct a PPI network through the STING online analysis platform, and explore the effective ingredients, potential therapeutic targets, and pathways of Renshen Jianpi Pills for chemotherapy-induced intestinal mucositis through GO

收稿日期: 2024-09-26

基金项目: 北京市中医药科技发展资金项目 (BJZYB-2023-70)

作者简介: 翟建英, 女, 研究员, 硕士, 研究方向为中药药理毒理学。E-mail: zhaixingshou2008@163.com

\*通信作者: 徐意, 男, 副研究员, 医学博士, 研究方向为中药新药开发与评价。E-mail: xy706@sina.com

functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis. The rats were randomly divided into control group, model group, glutamine powder group, and Renshen Jianpi Pills (4.8, 2.4, and 1.2 g/kg) groups, with 12 rats in each group. Samples were taken 24 hours after the last dose. The general state, body weight and diarrhea score of rats were observed. Changes of serum inflammatory factors; Pathological changes of intestinal tissue and TLR/ NF- $\kappa$ B changes. **Results** Network pharmacology research results: 76 Active ingredients of Renshen Jianpi Pills were selected, among which quercetin, kaempferol, and naringenin have the most corresponding targets, which may be the effective ingredients of Renshen Jianpi Pills. 152 Potential target proteins were collected, and its main target proteins involve MAPK3, Akt1, TNF, IL6, NF- $\kappa$ B. Signaling pathways involve PI3K/Akt signaling pathway, IL-17 signaling pathway, tumor necrosis factor signaling pathway, MAPK signaling pathway, etc. The results of animal experiments showed as follows: Compared with model group, the body mass of rats in Renshen Jianpi Pills 4.8 g/kg group was significantly increased ( $P < 0.05$ ). The diarrhea scores of rats in the groups of Renshen Jianpi Pills (4.8, 1.2 g/kg) were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ). The intestinal histopathological scores of rats in the groups of Renshen Jianpi Pills (4.8, 2.4 g/kg) were significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in serum of rats in 4.8 g/kg group were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ). The serum IL-1 $\beta$  in the 2.4 g/kg group of rats was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The expressions of TLR4 and NF- $\kappa$ B protein in intestinal tissue of rats in the groups of Renshen Jianpi Pills (4.8, 1.2 g/kg) were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** Renshen Jianpi Pills has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway action. It has the therapeutic effect on chemotherapy-induced intestinal mucositis, and can reduce the inflammatory level of chemotherapy-induced intestinal mucositis model rats through TLR4/NF- $\kappa$ B pathway.

**Keywords:** Renshen Jianpi Pills; chemotherapy-induced intestinal mucositis; network pharmacology; quercetin; kaempferol; naringenin

国家癌症中心发布的 2022 年全国癌症报告指出,我国恶性肿瘤发病、死亡数持续上升。化疗仍然是恶性肿瘤临床最常用的治疗手段之一,然而化疗在杀伤肿瘤细胞的同时,对正常细胞也会造成损伤,其中胃肠道反应最为常见<sup>[1]</sup>。严重的胃肠道反应会降低患者生活质量,增加感染概率和死亡率,影响了化疗进程,因此改善化疗引起的肠黏膜炎及相关胃肠道不良反应,对改善患者的生活质量和提高肿瘤患者的预后具有极高的临床应用价值和社会效益。

目前临床治疗化疗性肠黏膜炎的药物价格高昂且疗效并不可观,中医药对本病具有良好的治疗效果<sup>[2-4]</sup>。中医学认为化疗药物属于“毒”“邪”等范畴,易耗损阳气,损伤脾胃之阳,化生内寒;脾气不升,胃气不降,脾运失健,水湿内生,湿邪郁久化热,流注大肠,发为湿热泄。因此,虚实夹杂,寒热错杂是其主要病机。

人参健脾丸出自《景岳全书》,由大健脾丸方加减而来。1995 年起收载于《中华人民共和国药典》。该药由人参、白术(麸炒)、茯苓、山药、陈皮、木香、砂仁、炙黄芪、当归、酸枣仁(炒)、远志(制)等组成,方中人参、白术补中益气,健脾和胃为君药;茯苓健脾渗湿止泻,山药补脾益气止泻,黄芪甘温,能补脾肺之气,且能升阳益胃,共为臣药;木香行气止痛,陈皮理气和胃,砂仁和中开胃,三

药芳香化湿,和胃醒脾止泻,当归补血活血,行气止痛,酸枣仁、远志宁心安神,以上均为佐药,诸药相合,共奏健脾益气,和胃止泻之功,临床用于治疗脾胃虚弱所致饮食不化、脘闷嘈杂、恶心呕吐、腹痛便溏、不思饮食、体弱倦怠等症,疗效较好。

网络药理学系统阐释药物作用的方法与中医以整体观认识疾病不谋而合<sup>[5-7]</sup>。本研究通过网络药理学预测人参健脾丸治疗化疗性肠黏膜炎的有效成分和潜在作用靶点;通过动物实验从体质量变化、腹泻评分、病理改变、炎症反应等角度验证其药效学作用和机制,以期药物用于干预/治疗化疗性肠黏膜炎的辅助用药提供科学支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 网络药理学预测人参健脾丸治疗化疗性肠黏膜炎的作用机制

**1.1.1 人参健脾丸活性成分和作用靶点收集** 以口服生物利用度(OB)  $\geq 30\%$ ,类药性(DL)  $\geq 0.18$  为筛选条件,通过 TCMSp、BATMAN-TCM、Symmap 数据库获取人参、白术、茯苓、山药、陈皮、木香、砂仁、黄芪、当归、酸枣仁、远志的活性成分和潜在作用靶点。通过 UniProt 数据库(限定物种为“homo sapiens”且通过验证的基因)将收集的潜在作用靶点名称统一为基因 Symbol。

**1.1.2 化疗性肠黏膜炎疾病基因收集** 通过 GeneCard 数据库(<https://www.genecards.org/>)、

OMIM 数据库 (<http://www.omim.org/>), 以“化疗性肠黏膜炎”为检索词检索疾病靶点基因。

**1.1.3 “成分-靶点”网络构建** 将以上 2 项所获得的基因通过韦恩图在线平台 (Venny 2.1.0) 进行合并去重, 获得与人参健脾丸有效靶点和肠黏膜炎疾病均相关的靶点基因, 并绘制韦恩图。随后通过 Cytoscape 软件构建“成分-靶点”网络。将与靶点蛋白相关最多的化学成分视为可能的有效成分。

**1.1.4 蛋白相互作用 (PPI) 网络构建** 利用 STRING 在线分析平台构建 PPI 网络, 物种选择“homo sapiens”, 筛选条件为“mediumconfidence (0.400)”, 隐藏不连接蛋白, 其余设置为默认值, 获取蛋白与蛋白之间的相互作用数据, 导入 Cytoscape 软件, 构建 PPI 网络, 根据 degree 值筛选出关键点蛋白。

**1.1.5 富集分析** 利用微生信平台对获得的靶标进行基因本体 (GO) 功能富集分析、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。根据  $q$  值 < 0.05, 筛选出排名前 10 位的生物过程 (BP)、分子功能 (MF)、细胞成分 (CC) 和排名前 10 位的 KEGG 通路, 结果进行柱状图和气泡图的可视化处理, 不同颜色节点代表不同类型富集结果, 其长短、大小与显著程度呈正相关。

## 1.2 实验验证

**1.2.1 实验动物** Wistar 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 180~200 g, 斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 许可证号 SCXK (京) 2019-0010, 合格证号 No. 110324231101791451。实验动物饲养于 SPF 级动物室内, 日光灯照明, 12 h 明暗周期, 自由饮水、饮食, 温度 20~26 °C, 送风 6~10 次/h。本实验经北京中研同仁堂医药研发有限公司实验动物福利伦理委员会审批通过 (编号 YJY-2023-030803)。

**1.2.2 实验材料** 谷氨酰胺散 (安徽万森制药有限公司, 规格 2.5 g/袋, 批号 2210191); 氟尿嘧啶注射液 (上海旭东海普药业有限公司, 规格 10 mL: 0.25 g, 批号 FA221101); 人参健脾丸 (北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂, 规格 6 g/丸, 批号 21015343); 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ELISA 检测试剂盒购自上海将来实业股份有限公司 (货号 JL13202、JL20884); Toll 样受体 4 (TLR4) 抗体购自 SANTA CRUZ 公司 (货号 sc-293072); 核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) P65 抗体购自 CST 公司 (货号 8242S)。

**1.2.3 实验仪器** Sartorius BT1324S 电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; 酶标仪 (美国伯腾仪器有限公司); Multifuge X4 Pro 离心机 (赛默飞世尔科技有限公司); Mini-PROTEAN® Tetra 电泳槽 (小型垂直电泳)、PowerPac™ Basics Power Supply 基础电泳仪 (美国伯乐公司); Odyssey® XF 成像系统 (美国 LI-COR 公司)。

**1.2.4 造模及分组给药** Wistar 大鼠适应性饲养 5 天后, 随机分为对照组、模型组、谷氨酰胺散组、人参健脾丸 (4.8、2.4、1.2 g/kg) 组, 每组 12 只。人参健脾丸给药剂量按照大鼠与人的等效剂量折算<sup>[8]</sup>。各组于实验第 1 天分别连续 ig 相应药物, 对照组和模型组给予动物饮用水, 1 次/d。根据文献报道<sup>[4]</sup>, 结合预实验结果, 本研究采用 ip 氟尿嘧啶注射液 100 mg/kg 的方式造模。实验第 6 天 ig 给药同时 ip 氟尿嘧啶注射液, 1 次/d, 连续 4 d, 空白对照组 ip 生理盐水。末次给药后 24 h 取材。

**1.2.5 一般状态观察** 观察各组大鼠精神状态及体质量变化等情况。

**1.2.6 腹泻评分** 分别在第 9、10 天观察各组大鼠腹泻情况, 并进行评分记录<sup>[9]</sup>。评分标准如下:

表 1 大鼠腹泻评分标准

Table 1 Standard of diarrhea scoring in rat

腹泻程度	症状	评分
正常	正常大便或无大便	0
轻度	轻度湿便或软便	1
中度	湿便或未成形便, 伴有重度肛周着色	2
重度	水样便, 伴有重度肛周着色	3

**1.2.7 组织病理学苏木精-伊红 (HE) 染色** 屈氏韧带下行 4~5 cm, 切取空肠 1.5 cm 左右, 置于多聚甲醛标本瓶中固定、洗涤、梯度酒精脱水, 二甲苯透明、浸蜡包埋、切片 (厚度 0.4  $\mu$ m)。切片脱蜡、水化, HE 染色, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固。拍照采集图像, 每张切片 40 倍下观察空肠的大体病变观察。肠黏膜损伤程度按 Chiu 氏 6 级评分法进行<sup>[10]</sup>。

**1.2.8 炎症因子指标检测** 腹主动脉取血, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, -80 °C 保存, 用于检测血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平。

**1.2.9 蛋白检测** 屈氏韧带下行 10 cm, 切取空肠 2~3 cm, 沿肠长轴方向剪开肠腔, 预冷生理盐水漂洗肠腔 3 次, 滤纸吸干水分, 组织匀浆, BCA 法检

测蛋白浓度，采用 Western blotting 技术检测模型动物结肠黏膜组织中 TLR4、NF-κB 蛋白表达情况。

**1.2.10 统计方法** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。数据先进行方差齐性检验，方差齐选用 One-Way ANOVA 法进行各组间比较；方差不齐选用 *t* 检验进行比较。

**2 结果**

**2.1 网络药理学研究结果**

**2.1.1 人参健脾丸有效成分及作用靶点** 通过

TCMSP、BATMAN-TCM、Symmap 数据库，以  $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ ，汇总删除重复后共查找到人参健脾丸有效成分 76 个，其中人参 15 个，白术 4 个，陈皮 5 个，山药 10 个，茯苓 6 个，木香 5 个，砂仁 8 个，黄芪 16 个，当归 9 个，酸枣仁 7 个，远志 10 个。共获得有效成分对应的靶点 345 个。选取排名前 30 名的活性成分，见表 2。

**2.1.2 人参健脾丸治疗化疗性肠黏膜炎的靶点预**

表 2 人参健脾丸活性成分

Table 2 Active ingredients of Renshen Jianpi Pills

MOL ID	有效成分	OB/%	DL	来源
MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30	黄芪
MOL005314	celabenzine	101.88	0.49	人参
MOL005815	citromitin	86.90	0.51	陈皮
MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	山药
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30	黄芪
MOL000392	formononetin	69.67	0.21	黄芪
MOL000433	(2S)-2-[[4-[(2-amino-4-oxo-1H-pteridin-6-yl)methylamino]benzoyl]amino]pentanedioic acid	68.96	0.71	黄芪
MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26	黄芪
MOL010828	cynaropicrin	67.50	0.38	木香
MOL001539	sanjoinenine	67.28	0.79	酸枣仁
MOL005308	aposiopolamine	66.65	0.22	人参
MOL005321	frutinone A	65.90	0.34	人参
MOL003648	inermin	65.83	0.54	人参
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42	黄芪
MOL005429	hancinol	64.01	0.37	山药
MOL000022	14-acetyl-12-senecioid-2E,8Z,10E-atractylentriol	63.37	0.30	白术
MOL000020	12-senecioid-2E,8E,10E-atractylentriol	62.40	0.22	白术
MOL005828	nobiletin	61.67	0.52	陈皮
MOL000310	denudatin B	61.47	0.38	山药
MOL005356	girinimbin	61.22	0.31	人参
MOL001736	(-)-taxifolin	60.51	0.27	山药
MOL000021	14-acetyl-12-senecioid-2E,8E,10E-atractylentriol	60.31	0.31	白术
MOL004328	naringenin	59.29	0.21	陈皮
MOL000787	fumarine	59.26	0.83	人参
MOL005430	hancinone C	59.05	0.39	山药
MOL005360	malkangunin	57.71	0.63	人参
MOL005384	suchilactone	57.52	0.56	人参
MOL000211	mairin	55.38	0.78	木香
MOL000322	kadsurenone	54.72	0.38	山药

测 通过 DrugBank、GeneCard、OMIM 搜索疾病靶点，删除重复后共获得靶点 1 907 个。通过微生信 Venny 2.1.0 构建 Venn 图，获得人参健脾丸 - 化疗性肠黏膜炎共同作用靶点基因 152 个，见图 1。

**2.1.3 人参健脾丸“成分 - 疾病”靶标可视化网络**

构建 将人参健脾丸各药物的活性成分与化疗性肠黏膜炎的共同靶点导入 Cytoscape 3.7.0 软件，构建“成分 - 疾病”网络图，见图 2。

**2.1.4 人参健脾丸 - 化疗性肠黏膜炎蛋白相互作用网络** 将 152 个共同靶标导入 STRING 数据库，

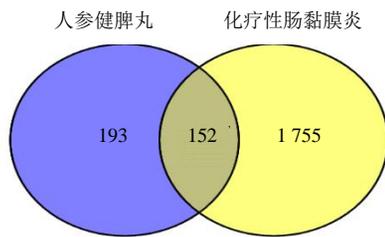


图 1 人参健脾丸 - 化疗性肠黏膜炎共同作用靶点韦恩图  
Fig. 1 Venn diagram of intersection targets of Renshen Jianpi Pills and chemotherapy induced intestinal mucosal inflammation

隐藏离散节点, 得到蛋白相互作用关系网络。网络中有 152 个节点, 代表所有预测靶标。边线 566 个, 代表靶标之间的相互联系, 节点颜色越深, 圆形越大表明 degree 值越大, 见图 3。

**2.1.5 富集分析** 以 PPI 网络中 degree 值为依据, 从大到小排序, 截取前 15 个作为核心网络靶点。利用微生信平台对核心靶点进行 GO 富集和 KEGG 富集分析。GO 富集分析共获得 860 个 GO 富集条目, BP 主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子的转录、调节基因表达、负调节凋亡过程、调控细胞增殖、药物反应、细胞分化、细胞粘附等; CC 主要涉及细胞外区

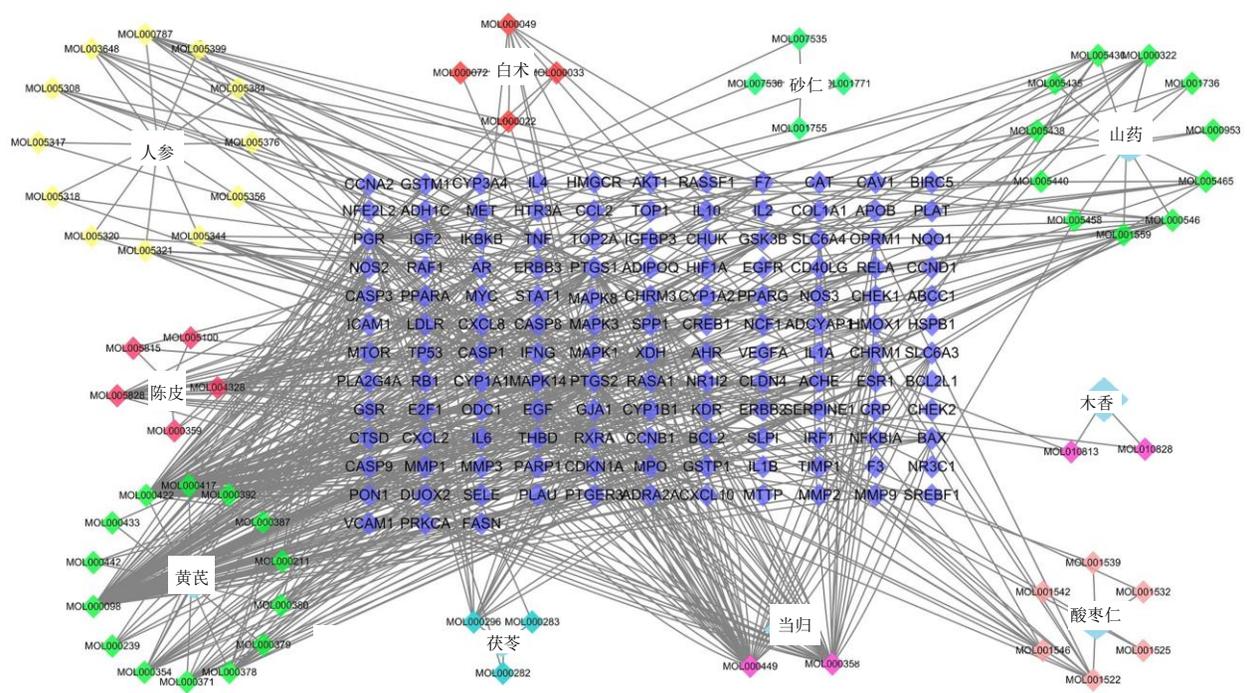


图 2 人参健脾丸“成分-疾病”靶标可视化网络

Fig. 2 Renshen Jianpi Pills active ingredient and disease target visualization network

域、细胞质核浆、细胞外的外来体、黏着斑、线粒体等; MF 主要涉及到蛋白结合、酶结合、生长因子活性、蛋白激酶结合等方面, 见图 4。KEGG 共富集出 141 条信号通路, 主要涉及癌症通路、癌症蛋白多糖、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、IL-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路等。对通路富集结果前 15 进行可视化处理, 应用气泡图显示, 见图 5。富集结果显示, 炎症反应在化疗性肠黏膜炎的发病过程中起着重要作用。

## 2.2 实验验证

**2.2.1 大鼠一般状况观察** 日常观察可见, 对照组

大鼠精神状态良好, 皮毛光洁顺滑, 活动自如。模型组大鼠普遍精神萎靡, 皮毛疏松没有光泽, 蜷卧、活动量减少, 稀便, 大部分动物肛周染脏, 人参健脾丸 4.8 g/kg 组大鼠皮毛少顺滑, 稀便和肛周染色较少。第 10 天时, 与对照组比较, 其余各组大鼠体质量明显下降 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 人参健脾丸 4.8 g/kg 组干预后, 大鼠体质量明显升高 ( $P < 0.05$ ), 见图 6。

**2.2.2 人参健脾丸对大鼠腹泻评分的影响** 与对照组比较, 第 9、10 天时, 模型组大鼠腹泻评分显著升高 ( $P < 0.05, 0.01$ )。与模型组比较, 第 10 天时人参健脾丸 4.8、1.2 g/kg 组大鼠腹泻评分显著降

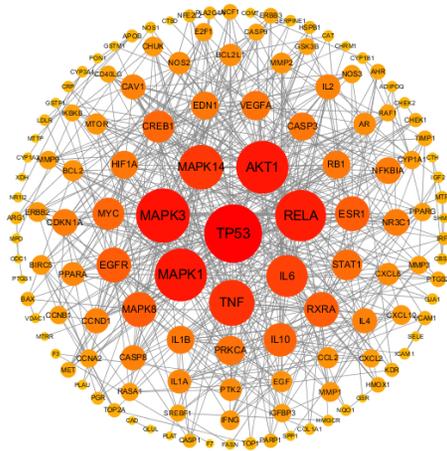


图 3 PPI 网络

Fig. 3 PPI network

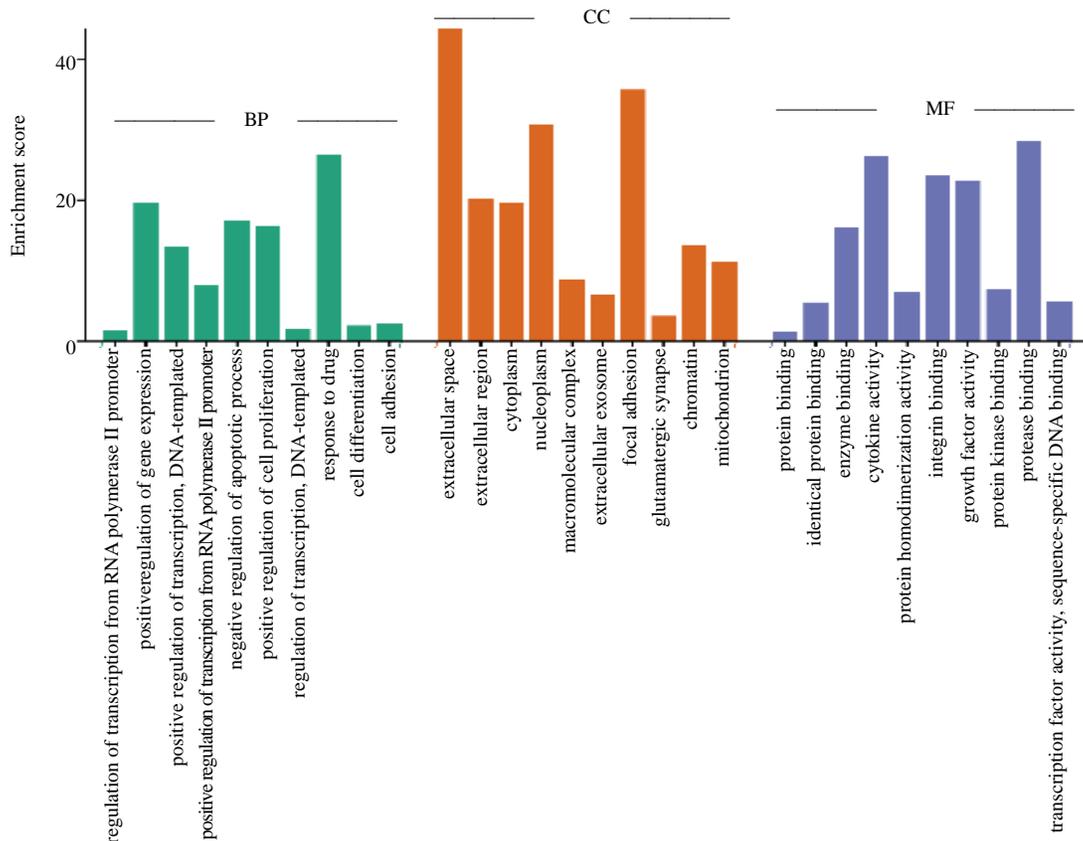


图 4 GO 功能富集分析

Fig. 4 GO function enrichment terms

变短、杯状细胞缺失，腺体大多数不完整，炎症细胞广泛浸润，呈典型炎症改变。与模型组比较，人参健脾丸组大鼠肠上皮结构、肠黏膜上皮大体结构有明显改善，局部见少量炎症细胞浸润（炎症细胞明显减少），黏膜底部可见一排隐窝，见图 7。

2.2.5 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠血清炎

低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，见表 3。

2.2.3 人参健脾丸对肠组织病理评分的影响 与对照组比较，模型组大鼠病肠组织病理评分显著增高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较，人参健脾丸 4.8、2.4 g/kg 组大鼠肠组织的病理评分显著降低 ( $P < 0.01$ )，见表 4。

2.2.4 人参健脾丸对肠组织病理形态的影响 对照组为正常的肠黏膜结构；可见排列整齐、完整的肠绒毛和肠隐窝，黏膜上皮细胞排列成高柱状，核位于基底部，肠绒毛为细长的指状突起，表皮被覆肠道上皮，黏膜底部可见一排隐窝。模型组主要表现为肠黏膜上皮大体结构不完整、上皮细胞排列紊乱、黏膜广泛缺失、肠隐窝形态丧失、肠绒毛减少、

性因子的影响 与对照组比较，模型组大鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。与模型组比较，人参健脾丸 4.8 g/kg 组大鼠血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平均显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )；人参健脾丸 2.4 g/kg 组大鼠血清中 IL-1 $\beta$  显著降低 ( $P < 0.05$ )，见表 5。

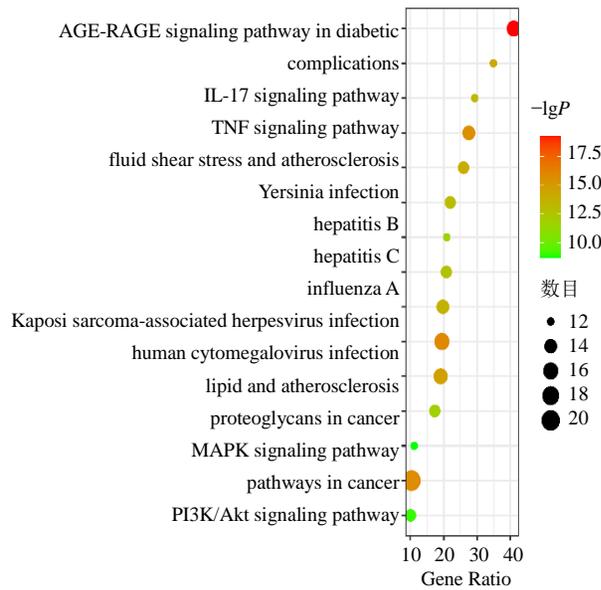


图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

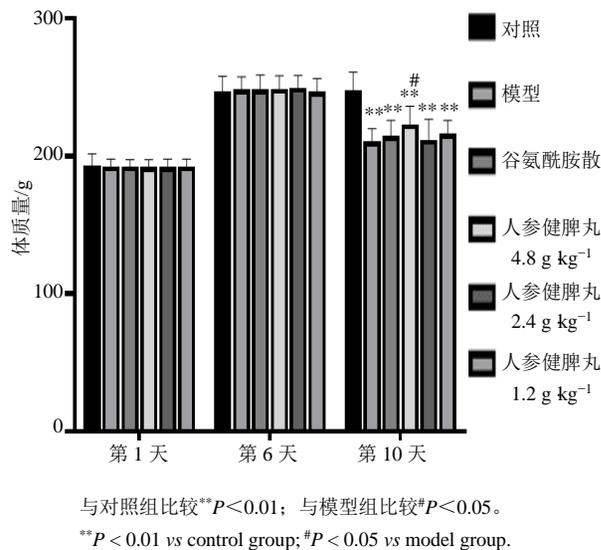


图 6 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Fig. 6 Effect of Renshen Jianpi Pills on body mass of rats with chemotherapy-induced intestinal mucositis ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

2.2.6 人参健脾丸对大鼠肠组织 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路的影响 与对照组比较, 模型组大鼠肠组织 TLR4 和 NF- $\kappa$ B 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 人参健脾丸 4.8、1.2 g/kg 组大鼠肠组织 TLR4 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 见表 6、图 8。

### 3 讨论

化疗性肠黏膜炎是肿瘤患者化疗过程中常见

表 3 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠腹泻评分的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 3 Effects of Renshen Jianpi Pills on chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(g kg <sup>-1</sup> )	腹泻评分	
		第 9 天	第 10 天
对照	—	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型	—	1.25 ± 1.54*	2.75 ± 0.62**
谷氨酰胺散	—	1.17 ± 1.47#	2.25 ± 1.06##
人参健脾丸	4.8	0.50 ± 1.17	1.17 ± 1.34##
	2.4	0.67 ± 1.23	2.33 ± 1.07
	1.2	0.67 ± 1.23	1.75 ± 1.42#

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group.

表 4 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠肠组织病理评分的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 4 Effects of Renshen Jianpi Pills on the pathological score of intestinal tissue in rats with chemotherapy-induced intestinal mucositis ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(g kg <sup>-1</sup> )	病理评分
对照	—	0.00 ± 0.00
模型	—	3.33 ± 0.65**
谷氨酰胺散	—	1.25 ± 0.62##
人参健脾丸	4.8	1.67 ± 0.98##
	2.4	1.67 ± 0.78##
	1.2	2.67 ± 1.15

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。  
\*\* $P < 0.01$  vs control group; ## $P < 0.01$  vs model group.

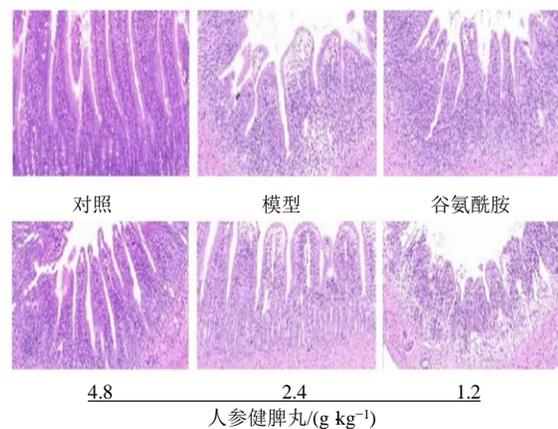


图 7 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎肠组织病理组织学的影响 (HE,  $\times 200$ )

Fig. 7 Effects of Renshen Jianpi Pills on the histopathological changes of intestinal tissue in rats with chemotherapy-induced intestinal mucositis (HE,  $\times 200$ )

表 5 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠血清 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 5 Effects of Renshen Jianpi Pills on the level of serum TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in rats with chemotherapy-induced intestinal mucositis ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(g kg <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ /(pg mL <sup>-1</sup> )	IL-1 $\beta$ /(g kg <sup>-1</sup> )
对照	—	11.31 $\pm$ 2.13	18.28 $\pm$ 4.75
模型	—	17.31 $\pm$ 4.26**	22.75 $\pm$ 4.18*
谷氨酰胺散	—	16.48 $\pm$ 5.79##	16.67 $\pm$ 3.96##
人参健脾丸	4.8	13.74 $\pm$ 3.85#	16.58 $\pm$ 4.14##
	2.4	15.73 $\pm$ 4.59	18.60 $\pm$ 6.41#
	1.2	14.47 $\pm$ 4.71	19.03 $\pm$ 5.99

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group.

表 6 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠肠组织 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 6 Effects of Renshen Jianpi Pills on TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in intestinal tissue of rats with chemotherapy-induced intestinal mucositis ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/(g kg <sup>-1</sup> )	蛋白相对表达量	
		TLR4	NF- $\kappa$ B
对照	—	0.74 $\pm$ 0.14	0.62 $\pm$ 0.28
模型	—	1.28 $\pm$ 0.28**	1.30 $\pm$ 0.19**
谷氨酰胺散	—	1.10 $\pm$ 0.25	1.44 $\pm$ 0.16
人参健脾丸	4.8	0.86 $\pm$ 0.17##	0.80 $\pm$ 0.11##
	2.4	1.09 $\pm$ 0.17	1.30 $\pm$ 0.43
	1.2	0.87 $\pm$ 0.19##	0.84 $\pm$ 0.34#

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group.

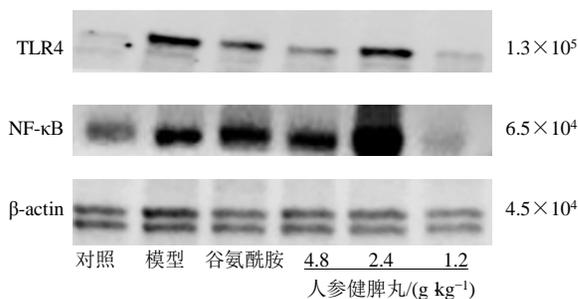


图 8 人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎大鼠肠组织 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路的影响

Fig. 8 Effects of Renshen Jianpi Pills on TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in intestinal tissue of rats with chemotherapy-induced intestinal mucositis

的消化道不良反应, 临床主要表现为厌食、恶心、呕吐、腹泻和腹痛等, 严重者不仅影响化疗效果、中断化疗进程, 而且会降低肿瘤患者的生存质量。

目前临床对化疗性肠黏膜炎以对症治疗为主, 缺乏有效的治疗药物<sup>[11]</sup>。目前认为化疗性黏膜炎的

病理过主要是 DNA 链断裂直接导致基底上皮细胞和黏膜下层细胞损伤, 同时生成调控下游信号的关键介质-活性氧物质, 活性氧物质通过调控下游信号通路诱发炎症反应和凋亡, 破坏上皮细胞完整性, 最终导致黏膜破坏, 即炎症反应贯穿了整个病理过程的大部分阶段, 如转录因子活化产生促炎细胞因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 等); 促炎因子引起上皮基底细胞死亡和损伤, 致使肠黏膜屏障损伤; 肠黏膜屏障受损后, 保护作用降低, 渗透性增大, 引起肠道局部定值菌群滋生, 进一步加重了肠黏膜组织损伤<sup>[12]</sup>。人参健脾丸临床用于治疗脾胃虚弱所致的饮食不化、脘闷嘈杂、恶心呕吐、腹痛便溏、不思饮食、体弱倦怠等症。基础研究提示, 人参健脾丸对利血平引起的小鼠小肠推进功能亢进有明显的抑制作用; 能够改善大黄所致脾虚小鼠的脾虚症状, 呈现出明显的止泻作用<sup>[13]</sup>。崔庆丽<sup>[14]</sup>等报道, 人参健脾丸能够防治结直肠癌伊立替康迟发性腹泻, 具有平衡肠道菌群稳态, 降低 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  血清炎症因子水平的作用。

本研究采用网络药理学技术, 共筛选出人参健脾丸主要活性成分 76 个, 其中槲皮素、山柰酚、柚皮素对应靶点最多。既往研究表明, 槲皮素是一种天然的黄酮类化合物, 在维持肠黏膜屏障功能、增强肠道微生物的多样性及抑制氧化应激反应均具有良好的作用<sup>[15-16]</sup>。研究发现, 槲皮素可通过调节肠道微生物的组成、黏液层的厚度、肠上皮细胞紧密连接蛋白的表达、胆汁和抗菌肽的生成以及细胞因子的分泌来维护肠道内环境稳态和机体健康<sup>[17]</sup>。山柰酚是一种来自于多种药食同源性植物中的天然黄酮类化合物, 具有抗炎和抗菌的生物活性<sup>[18]</sup>。研究显示, 山柰酚可以通过改善肠道微生物的多样性, 调节 TLR4 相关信号通路对结肠炎小鼠发挥保护作用<sup>[19]</sup>。曲一帆等<sup>[20]</sup>研究表明, 山柰酚可以提高溃疡性结肠炎小鼠的肠道菌群的丰富度及多样性, 降低致病菌 *Proteobacteria* 的丰度的同时提高 *Ruminococcaceae* 和 *Prevotellaceae* 等益生菌的丰度, 并且改变了肠道菌群的代谢谱。柚皮素具有抗炎<sup>[21]</sup>、抗氧化应激<sup>[22]</sup>、抗菌、抗肿瘤<sup>[23]</sup>、抗糖尿病、保护神经和保护心脏等多种药理作用。谢春燕等<sup>[24]</sup>研究发现, 柚皮素能够使溃疡性结肠炎大鼠肠组织结构损伤减轻, 缓解黏膜和黏膜下层的炎症细胞浸润。综合分析显示, 这 3 种成分很可能是人参健脾丸治疗肠黏膜炎的主要药效物质基础。GO 功能富

和 KEGG 通路富集分析结果显示, 人参健脾丸治疗肠黏膜炎的核心靶点涉及 TP53、MAPK3、Akt1、TNF、IL-6、NF- $\kappa$ B、ESR1 等, 通路主要涉及 PI3K/Akt 信号通路、IL-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、MAPK 信号通路等, 因此炎症反应是化疗性肠黏膜炎的核心病理过程。

TLR/NF- $\kappa$ B 通路是炎症反应过程中的关键信号通路。多项研究表明, TLR4/p38MAPK 信号通路在多种炎症性疾病的发病过程中起关键作用, 通过抑制 TLR4 受体活化, 可以进一步抑制 p38MAPK 活化<sup>[25]</sup>。作为炎症反应调节的关键转录因子 NF- $\kappa$ B 可以被 MAPK 激活, 磷酸化的 NF- $\kappa$ B 能够核移位以促进多种促炎基因转录, 引发 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  等众多促炎因子的分泌, 从而导致炎症因子风暴形成<sup>[26-27]</sup>。另外, TLR4 会诱导 PI3K 磷酸化, 而 Akt 是 PI3K 的主要下游效应分子, 活化的 PI3K 可直激活 Akt, 进而激活 IKK $\alpha$ , 使 NF- $\kappa$ B 抑制剂 I $\kappa$ B 降解, 导致 NF- $\kappa$ B 活化、促进 IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎症因子的释放<sup>[28]</sup>。综合分析网络药理学核心靶点, 根据目前文献报道, 在炎症级联反应过程中 MAPK3、Akt1、TNF、IL-6 等蛋白的上游均与 TLR 密切相关, 下游均与 NF- $\kappa$ B 密切相关, 因此本研究通过检测炎症反应过程中的核心靶点 TLR/NF- $\kappa$ B 蛋白和血清炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  进行实验验证。

动物实验证实人参健脾丸能够增加模型动物体质量, 降低腹泻评分, 对肠黏膜组织病理损伤有一定的保护作用, 提示人参健脾丸对化疗性肠黏膜炎具有治疗作用, 这与网络药理学分析所得结果一致。研究结果显示, 人参健脾丸能够降低模型动物血清炎症因子水平和肠黏膜组织内的 TLR4 和 NF- $\kappa$ B 蛋白表达, 提示通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路降低模型动物炎症因子水平可能是其发挥治疗化疗性肠黏膜炎的作用途径之一。

综上, 本研究开展了靶点和通路验证, 明确了通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路降低模型动物炎症因子水平是人参健脾丸治疗化疗性肠黏膜炎的作用途径之一, 其治疗化疗性肠黏膜炎的效应成分和作用机制有待进一步的深入研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] Sonis S T, Elting L S, Keefe D, *et al.* Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury [J]. *Cancer*, 2004, 100(9 Suppl): 1995-2025.

[2] 吴嘉振. 广藿香醇治疗 5-氟尿嘧啶所致肠黏膜炎的作用机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.

[3] 徐坠成. 黄芩苷-小檗碱联用对伊立替康诱导的化疗性肠炎的保护作用研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.

[4] 汪璐, 傅婷, 来岳标, 等. 姜黄素对 5-Fu 化疗大鼠肠黏膜屏障保护作用的实验研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(10): 2478-2480.

[5] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.

[6] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. *中草药*, 2024, 55(12): 4204-4213.

[7] Hu P X, Liang S F, He Y P, *et al.* Network pharmacology analysis to explore mechanism of Three Flower Tea against nonalcoholic fatty liver disease with experimental support using high-fat diet-induced rats [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(2): 273-282.

[8] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9: 1069-1072.

[9] 邓超. 生姜泻心汤预防伊立替康所致迟发性腹泻的机理研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.

[10] Chu C, Mcardle A H, Brown R, *et al.* Intestinal mucosal lesion in low-flow states [J]. *Arch Surg*, 101(4): 484-488.

[11] 唐寅博, 刘福宇, 单凯欣, 等. 基于网络药理学与实验验证探讨茯苓对化疗性肠黏膜炎小鼠的作用及机制 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(5): 814-820.

[12] Prisciandaro L D, Geier M S, Butler R N, *et al.* Evidence supporting the use of probiotics for the prevention and treatment of chemotherapy-induced intestinal mucositis [J]. *Cri Rev Food Sci Nutr*, 2011, 51(3): 239-247.

[13] 秦彩玲, 刘婷, 刘君英, 等. 人参健脾丸的药理及毒性研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1995(S1): 310-312.

[14] 崔庆丽, 胡彦辉, 崔庆安, 等. 人参健脾丸治疗伊立替康所致迟发性腹泻及对肠道菌群和血清炎症因子的影响 [J]. *中医药学报*, 2021, 49(5): 83-86.

[15] Yu J H, Hu G L, Cao H B, *et al.* Quercetin ameliorates lipopolysaccharide-induced duodenal inflammation through modulating autophagy, programmed cell seath and intestinal mucosal barrier function in chicken embryos [J]. *Animals*, 2022, 12(24): 3524.

[16] Lyu Y L, Zhou H F, Yang J, *et al.* Biological activities underlying the therapeutic effect of quercetin on inflammatory bowel disease [J]. *Mediators Inflamm*, 2022, 2022: 5665778.

[17] 梅华迪, 李袁飞, 马现永, 等. 槲皮素对动物肠道黏膜屏障功能的影响及其调控机制 [J]. *动物营养学报*, 2022, 34(9): 5475-5488.

[18] Park M Y, Ji G E, Sung M K. Dietary kaempferol suppresses

- inflammation of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 57(2): 355-363.
- [19] Qu Y F, Li X Y, Xu F Y, *et al.* Kaempferol alleviates murine experimental colitis by restoring gut microbiota and inhibiting the LPS-TLR4-NF- $\kappa$ B axis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 679897.
- [20] 曲一帆. 山柰酚缓解小鼠溃疡性结肠炎的肠道微生态机理研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2021.
- [21] Al-Rejaie S S, Abuhashish H M, Al-Enazi M M, *et al.* Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(34): 5633-5644.
- [22] Mehranfard N, Ghasemi M, Rajabian A, *et al.* Protective potential of naringenin and its nanoformulations in redox mechanisms of injury and disease [J]. *Heliyon*, 2023, 9(12): e22820.
- [23] Elnawasany S, Haggag Y A, Shalaby S M, *et al.* Anti-cancer effect of nano-encapsulated boswellic acids, curcumin and naringenin against HepG-2 cell line [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 270.
- [24] 谢春燕, 谢刚, 季语竹. 柚皮素通过 miR-22 抑制 NLRP3 炎症小体并减轻溃疡性结肠炎大鼠模型肠屏障损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(9): 1573-1581.
- [25] 龚享文, 杨钦河, 闫海震, 等. 疏肝健脾方药含药血清对 LPS 刺激下大鼠肝细胞炎症损伤及 TLR4/p38MAPK 信号通路影响的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(20): 4027-4033.
- [26] 李承泽, 褚福浩, 李园, 等. 达原饮调控 TLR/MAPK/NF- $\kappa$ B 通路防治 H1N1 感染诱发急性肺损伤的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(18): 52-60.
- [27] 冯慧聪, 高娜娜, 宋小峰. 小檗碱调控 TLR4/p38MAPK 通路促进脑缺血再灌注大鼠神经功能恢复 [J]. *锦州医科大学学报*, 2024, 45(3): 19-24.
- [28] 康建英, 颜丽珊, 顾春宇, 等. 基于 TLR4/PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨热毒宁注射液抑制脂多糖刺激的 BEAS-2B 细胞炎症因子表达的作用机制 [J]. *中国现代中药*, 1-11. [2024-11-11]. <https://doi.org/10.13313/j.issn.1673-4890.20240425003>.

[责任编辑 高源]