

## 基于网络药理学与体外实验验证佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎与 m<sup>6</sup>A 调控的关联

郭舒楠, 梁嘉颖, 王瑜洁, 戴卫波, 张伟耀\*

广州中医药大学附属中山中医院, 广东 中山 528400

**摘要:** **目的** 探讨佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎的潜在分子机制, 分析其与 m<sup>6</sup>A RNA 甲基化相关因子表达变化之间的关联。**方法** 整合网络药理学和疾病数据库筛选佛手柑内酯抗溃疡性结肠炎的候选靶点, 构建蛋白相互作用 (PPI) 网络并进行富集分析; 基于 GEO 队列 (GSE206285) 分析 m<sup>6</sup>A 调节因子在溃疡性结肠炎组织中的差异表达模式。采用分子对接技术评估佛手柑内酯与 m<sup>6</sup>A 核心蛋白的结合潜能。体外利用葡聚糖硫酸钠诱导 NCM460 肠上皮细胞建立损伤模型, 观察佛手柑内酯对细胞存活率的影响, 并检测 *WTAP*、*METTL3*、*METTL14*、*FTO*、*YTHDF1*、*YTHDF2* 等关键 m<sup>6</sup>A 因子 mRNA 表达变化。**结果** 网络药理学共筛选获得佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎的潜在靶点 47 个, 核心靶点以雌激素受体 1 (ESR1) 和细胞色素 P450 家族 (如 *CYP3A4*) 为主; 主要富集于细胞色素 P450 介导的外源物代谢、脂质代谢、花生四烯酸代谢及药物代谢等通路。临床队列 (GSE206285) 分析显示, 溃疡性结肠炎组织中 *METTL3*、*WTAP* 表达显著上调, *METTL14*、*YTHDF2* 表达显著下调 ( $P < 0.001$ )。分子对接结果表明, 佛手柑内酯对核心 m<sup>6</sup>A 调控蛋白具备潜在亲和力, 其中与 *METTL3*、*METTL14* 结合能最强, 与 *WTAP*、*FTO*、*YTHDF1/2* 等呈中等亲和力。体外实验证实, 在给予佛手柑内酯干预后, 1.25~40  $\mu\text{mol/L}$  佛手柑内酯可显著提高葡聚糖硫酸钠受损细胞的存活率 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ )。佛手柑内酯 (1.25、2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *WTAP*、*METTL3*、*YTHDF1* 表达均显著下调 ( $P < 0.001$ ), 佛手柑内酯 (2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *YTHDF2*、*FTO* 表达显著升高 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 佛手柑内酯 (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *METTL14* 表达显著上调 ( $P < 0.001$ )。**结论** 佛手柑内酯可能通过调节外源物代谢、脂质代谢及炎症相关通路并纠正 m<sup>6</sup>A 修饰相关因子失衡来发挥抗溃疡性结肠炎作用。*METTL3*、*METTL14*、*WTAP* 等关键 m<sup>6</sup>A 调控蛋白可能是其发挥表观遗传调控的潜在靶点。

**关键词:** 佛手柑内酯; 溃疡性结肠炎; 网络药理学; m<sup>6</sup>A; 分子对接; 生物信息学

**中图分类号:** R285.5; R286.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2026)07-1950-13

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.07.011

## Association between bergapten in intervention of ulcerative colitis and m<sup>6</sup>A regulation based on network pharmacology and *in vitro* experiments

GUO Shunan, LIANG Jiaying, WANG Yujie, DAI Weibo, ZHANG Weiyao

Zhongshan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan 528400, China

**Abstract: Objective** To explore the potential molecular mechanisms by which bergapten intervenes in ulcerative colitis, and to preliminarily analyze its association with expression changes of m<sup>6</sup>A RNA methylation-related regulators. **Methods** Network pharmacology was integrated with disease databases to screen candidate targets of bergapten against ulcerative colitis, and PPI network was constructed and subjected to enrichment analysis. Differential expression patterns of m<sup>6</sup>A regulators in ulcerative colitis tissues were analyzed based on the GEO cohort GSE206285. Molecular docking was employed to evaluate the binding potential between bergapten and core m<sup>6</sup>A proteins. *In vitro*, a dextran sodium sulfate-induced injury model was established in NCM460 intestinal epithelial cells to observe the protective effect of bergapten on cell viability, and to examine expression changes of key m<sup>6</sup>A factors, including *WTAP*, *METTL3*, *METTL14*, *FTO*, *YTHDF1*, and *YTHDF2*. **Results** Network pharmacology identified 47 potential targets

收稿日期: 2026-03-26

**基金项目:** 国家中医药管理局科技司科技共建项目 (GZY-KJS-GD-2025-093); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2023A1515011699); 中山市社会公益与基础研究专项 (2025B2007); 广州中医药大学医院联合基金项目 (GZYZS2024U08)

**作者简介:** 郭舒楠, 女, 硕士。E-mail: 1659365926@qq.com

**\*通信作者:** 张伟耀, 男, 主任医师。E-mail: youthleader123@163.com

of bergapten intervention in ulcerative colitis. The core targets were mainly represented by ESR1, and members of the cytochrome P450 family, such as CYP3A4. These targets were mainly enriched in cytochrome P450-mediated xenobiotic metabolism, lipid metabolism, arachidonic acid metabolism, drug metabolism, and related pathways. Analysis of the clinical cohort GSE206285 showed that METTL3 and WTAP were significantly upregulated in ulcerative colitis tissues, whereas METTL14 and YTHDF2 were significantly downregulated ( $P < 0.001$ ). Molecular docking results indicated that bergapten showed potential affinity for core m<sup>6</sup>A regulatory proteins, with the strongest binding energies observed for METTL3 and METTL14, while WTAP, FTO, YTHDF1/2 and other proteins showed moderate affinity. *In vitro* experiments have confirmed that bergapten 1.25–40  $\mu\text{mol/L}$  can significantly increase the survival rate of cells damaged by dextran sulfate sodium ( $P < 0.05, 0.001$ ). Expressions of WTAP, METTL3, and YTHDF1 in the bergapten (1.25, 2.5, 5  $\mu\text{mol/L}$ ) groups were significantly downregulated ( $P < 0.001$ ), while the expressions of YTHDF2 and FTO in the bergapten (2.5 and 5  $\mu\text{mol/L}$ ) groups were significantly increased ( $P < 0.01, 0.001$ ), and the expression of METTL14 in the bergapten (5  $\mu\text{mol/L}$ ) group was significantly upregulated ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** Bergapten may exert its anti-ulcerative colitis effects by regulating xenobiotic metabolism, lipid metabolism, and inflammation-related pathways, as well as by correcting the imbalance of the m<sup>6</sup>A modification network. Key m<sup>6</sup>A regulatory proteins, such as METTL3, METTL14, and WTAP may serve as potential targets through which bergapten exerts epigenetic regulatory effects.

**Key words:** bergapten; ulcerative colitis; network pharmacology; m<sup>6</sup>A; molecular docking; bioinformatics

溃疡性结肠炎是一种主要累及结肠与直肠黏膜的慢性非特异性炎症性肠病<sup>[1]</sup>。其病程迁延、易复发,严重影响患者的生活质量。溃疡性结肠炎的病理机制涉及遗传、环境、肠道微生态及免疫应答等多因素互作。其中肠上皮屏障不仅是抵御病原微生物及有害代谢物入侵的物理防线,更是维持肠黏膜免疫稳态的枢纽<sup>[2]</sup>。肠黏膜屏障受损导致肠腔抗原异常侵入固有层,过度激活局部免疫系统,诱发肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (IL)-1 $\beta$ 、IL-6 等促炎细胞因子级联释放,从而加剧局部组织损伤并促使疾病向重症化演变<sup>[3]</sup>。因此,探寻兼具黏膜屏障修复和抗炎活性的潜在药物是当前开发溃疡性结肠炎新型临床干预策略的重要方向<sup>[4]</sup>。

N<sup>6</sup>-甲基腺苷 (N<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A) 作为真核生物 mRNA 最丰富的内部修饰形式,其动态可逆过程由甲基转移酶 (Writers)、去甲基化酶 (Erasers) 和识别蛋白 (Readers) 协同调控,深度参与 RNA 的剪接、翻译及降解等过程<sup>[5]</sup>。近年研究表明, m<sup>6</sup>A 修饰网络失衡在炎症性肠病的病理演进中扮演着关键角色。m<sup>6</sup>A 的异常不仅会扰乱炎症信号传导,还直接影响肠上细胞的增殖、凋亡及屏障完整性<sup>[6-7]</sup>。靶向纠正异常的 m<sup>6</sup>A 表观修饰已成为溃疡性结肠炎机制解析及药物研发的新兴领域<sup>[8]</sup>。

佛手柑内酯是呋喃香豆素类化合物,具有显著的抗炎和抗氧化活性<sup>[9-10]</sup>。既往研究表明,佛手柑内酯可抑制脂多糖 (LPS) 诱导的巨噬细胞分泌促炎因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等),并在乙酸诱导的大鼠结肠炎模型中有效减轻结肠黏膜组织损伤、炎症

细胞浸润及肥大细胞脱颗粒<sup>[11]</sup>。为此,本研究拟综合运用网络药理学、临床转录组 (GEO) 数据挖掘及分子对接技术筛选佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎的核心靶点与通路;并结合体外细胞损伤模型,验证佛手柑内酯对关键 m<sup>6</sup>A 调控因子的干预效应,旨在从“代谢网络与表观遗传”双重维度探索佛手柑内酯改善溃疡性结肠炎的潜在机制,为其临床转化及靶向药物开发提供理论依据与候选分子。

## 1 网络药理学研究方法

### 1.1 佛手柑内酯靶点收集

佛手柑内酯的作用靶点通过“实验验证+计算预测”整合获取。实验验证靶点主要来源于 BindingDB (<https://www.bindingdb.org/>)、BPS Guide to Pharmacology (<https://www.guidetopharmacology.org/>)、ChEMBL 数据库 (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) (限定物种为 homo sapiens 且靶点类型为 single protein); 计算预测靶点来源于 Swiss Target Prediction 平台 (<https://www.swisstargetprediction.ch/>), 输入佛手柑内酯 Canonical SMILES, 物种限定为“homo sapiens”, 概率阈值设定为 probability  $\geq 0.05$ 。上述数据库检索后利用 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 将靶点统一映射为 HGNC 标准基因符号, 去重合并后获得佛手柑内酯的候选靶点集<sup>[12-13]</sup>。

### 1.2 溃疡性结肠炎靶点收集

溃疡性结肠炎相关疾病靶点整合自 GeneCards (<https://www.genecards.org/>), 纳入相关系数  $\geq 1.0$  的靶点; 而 DisGeNET (<https://disgenet.com/>) 以 GDA

score  $\geq 0.1$  为筛选阈值；Harmonizome 数据库 (<https://maayanlab.cloud/Harmonizome>) 采用其默认基因集结果<sup>[14]</sup>。对 3 大数据库的结果进行去重合并，构建溃疡性结肠炎疾病靶点集。

### 1.3 交集靶点与蛋白相互作用 (PPI) 网络构建

将佛手柑内酯候选靶点与溃疡性结肠炎靶点集取交集，获得可能介导佛手柑内酯抗溃疡性结肠炎作用的候选靶点。随后将交集靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>)，检索 PPI 信息，物种限定为 *homo sapiens*，并以综合置信度得分  $\geq 0.400$  作为筛选阈值。导出的相互作用关系使用 Network X (<https://networkx.org/>) 进行网络构建与拓扑学分析。依次计算各节点的度中心性、介数中心性、紧密中心性，取 3 项指标排名的均值作为综合评价依据筛选核心靶点。

### 1.4 基因本体 (GO) 与京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

利用 Enrichr 平台 (<https://maayanlab.cloud/enrichr/>)、GSEApy 软件包 (<https://gseapy.readthedocs.io/>) 对交集靶点进行功能富集分析<sup>[15-16]</sup>。采用 Benjamini-Hochberg 法进行多重检验校正，以校正后  $P < 0.05$  作为显著富集标准。

## 2 生物信息学分析

### 2.1 GEO 数据集获取与预处理

从 NCBI GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载溃疡性结肠炎临床转录组数据集 GSE206285 (平台: GPL13158)。纳入基线时点 550 例中重度溃疡性结肠炎患者与 18 例健康对照的结肠黏膜表达谱数据。探针经平台注释文件映射为基因符号，多探针对应同一基因时取平均值。表达矩阵经  $\log_2$  转换、分位数标准化及低表达过滤后用于后续。此外，引入独立队列 GSE75214 作为外部验证集，以评估核心发现的稳健性。

### 2.2 m<sup>6</sup>A 调节因子基因集的定义

m<sup>6</sup>A 调控因子按其生物学功能主要分为甲基转移酶、去甲基化酶、识别蛋白 3 类。本研究依据 Jiang 等<sup>[17]</sup>与 Zaccara 等<sup>[18]</sup>关于 m<sup>6</sup>A 调控机制的系统综述确定经典调节因子的组成，并参考 Gu 等<sup>[19]</sup>在溃疡性结肠炎 m<sup>6</sup>A 相关研究中所采用的因子集，经整合构建了包含 22 个 m<sup>6</sup>A 调节因子的基因集。该集合具体包括 8 个甲基转移酶 (*METTL3*、*METTL14*、*WTAP*、*VIRMA*、*RBM15*、*RBM15B*、*ZC3H13*、*METTL16*)、2 个去甲基化酶 (*FTO*、

*ALKBH5*)、12 个识别蛋白 (*YTHDF1*、*YTHDF2*、*YTHDF3*、*YTHDC1*、*YTHDC2*、*IGF2BP1*、*IGF2BP2*、*IGF2BP3*、*HNRNPC*、*HNRNPA2B1*、*RBMX*、*FMR1*)。此基因集统一用于本研究后续的转录组差异表达、相关性计算及分子对接分析。

### 2.3 差异表达分析

采用 R 4.4.3 环境下 limma 包 (版本 3.56.2) 计算差异表达基因。以  $|\log_2FC| > 0.5$  且 BH 校正后的  $P < 0.05$  为阈值，分别评估 m<sup>6</sup>A 调节因子及佛手柑内酯-溃疡性结肠炎交集靶点在溃疡性结肠炎与正常组织中的表达差异。

### 2.4 相关性分析与敏感性检验

采用 Spearman 秩相关评估全样本中佛手柑内酯-溃疡性结肠炎候选基因与 m<sup>6</sup>A 因子的表达相关性 (阈值:  $|\rho| > 0.3$  且校正  $P < 0.05$ )。为排除组间分离偏倚，进一步设定两类敏感性分析：①仅在溃疡性结肠炎样本内部重复计算 Spearman 相关；②在全样本中以分组为协变量进行偏相关分析。

### 2.5 综合优先级基因排序

为筛选与 m<sup>6</sup>A 相关炎症因子表达具有较强共表达关联的佛手柑内酯-溃疡性结肠炎关键靶基因，构建多维综合优先级评分。该评分整合以下 4 个维度：(1) 溃疡性结肠炎与对照组之间差异表达的绝对值  $|\log_2FC|$ ；(2) 与 m<sup>6</sup>A 因子的最大相关系数绝对值；(3) PPI 度中心性；(4) 显著富集的通路数。各指标经极差标准化标准化后加权求和排位。同时采用 10 000 次 Monte Carlo 权重扰动分析检验该排序的稳健性。

### 2.6 分子对接

采用分子对接方法评估佛手柑内酯与 m<sup>6</sup>A 修饰相关蛋白之间的潜在结合能力。纳入分析的 m<sup>6</sup>A 蛋白涵盖 3 大功能类别：甲基转移酶 (*METTL3*、*METTL14*、*WTAP*、*VIRMA*、*RBM15*、*RBM15B*、*ZC3H13*、*METTL16*)、去甲基化酶 (*FTO*、*ALKBH5*)、识别蛋白 (*YTHDF1*、*YTHDF2*、*YTHDF3*、*YTHDC1*、*YTHDC2*、*IGF2BP1*、*IGF2BP2*、*IGF2BP3*)，共计 18 个靶蛋白。

配体准备方面，佛手柑内酯的三维构象由其 SMILES 序列经 RDKit (<https://www.rdkit.org/>) 生成，采用 ETKDGv3 算法构建初始三维坐标，并通过 Merck 分子力场 (MMFF) 进行几何优化；当 MMFF 参数化不适用时，改用通用力场 (UFF) 完成优化。优化后的配体结构转换为 AutoDock

PDBQT 格式, 供后续对接使用。

受体准备方面, 蛋白结构统一来源于 AlphaFold Protein Structure Database (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) 的人源全长预测模型。鉴于 AlphaFold 预测结构各区段置信度存在显著差异, 本研究依据 PDB 文件 B-factor 字段所存储的残基级 pLDDT 值对结构进行分段处理: 将连续且 pLDDT $\geq 70$  的区域定义为高置信度片段, 剔除长度不足 60 个氨基酸残基的短片段, 并将超过 450 个残基的长片段进一步拆分, 以确保对接盒尺寸的合理性。各高置信度片段经提取后, 使用 Open Babel (<https://openbabel.org/>) 进行极性加氢处理并转换为受体 PDBQT 文件。需要指出的是, AlphaFold 预测结构缺乏配体诱导的构象变化和结晶水分子等实验结构所包含的关键信息, 且 blind docking 与片段化处理策略可能引入额外的系统性不确定性, 因此, 本研究将对接结果严格定位为假设生成工具, 用于辅助筛选值得进一步实验验证的候选蛋白, 而非作为直接物理结合的证据。

分子对接采用 AutoDock Vina v1.2 程序及其默认评分函数执行。针对每个高置信度片段实施 blind docking 策略: 对接盒基于片段全部原子的空间坐标自动生成, 3 个维度各外扩 4.0 Å (1 Å=0.1 nm), 并设定最小盒边长为 20.0 Å; 搜索参数设定为 exhaustiveness=24、n\_poses=20, 每次运行保留结合能最低的前 5 个构象, 结合能及 RMSD 数据从输出文件中的“REMARK VINA RESULT”字段解析获取。对于同一蛋白的多个高置信度片段, 首先记录所有片段中的全局最优 Vina 评分。考虑到多片段 blind docking 中直接选取全局最小值可能引入择优偏倚, 进一步基于各蛋白全部片段的得分分布计算加权校正值, 以提供更为稳健的跨蛋白比较基准。原始最优评分与校正后评分均予以报告, 所有对接结果仅作为潜在相互作用的计算预测参考。

### 3 体外实验验证方法

#### 3.1 试剂与仪器

佛手柑内酯 (质量分数 $\geq 98\%$ , 四川萃益润生物科技有限公司, 货号 CYR-F0015); 葡聚糖硫酸钠 (DSS, MP Biomedicals, 货号 160110); NCM460 细胞 (上海富衡生物科技有限公司); DMEM 培养基 (大连美仑生物技术有限公司, 货号 6123151); 胎牛血清 (FBS, 普诺赛生命科技有限公司, 货号 164210); 青霉素-链霉素双抗 (Gibco, 货号 15140-

122); TRIzol 试剂 (Invitrogen, 货号 15596026); 逆转录试剂盒 (TakaRa, 货号 RR036A); PCR 实验试剂盒 (TakaRa, 货号 RR420A); MTT 试剂 (Sigma-Aldrich, 货号 M5655); 二甲基亚砜 (DMSO, Sigma-Aldrich, 货号 D2650)。

MCO-170AICUVL-PC CO<sub>2</sub> 恒温培养箱 (日本普和希株式会社); NIKON DS-U3 倒置显微镜 (日本尼康); Multiskan FC 酶标仪 (赛默飞世尔科技有限公司); QuantStudio™ 1 实时荧光定量 PCR 仪 (赛默飞世尔科技有限公司); 2-16R 低温离心机 (恒诺仪器设备有限公司)。

#### 3.2 细胞培养与模型构建

人正常结肠黏膜上皮细胞 NCM460 采用含 10% 胎牛血清 (FBS) 和 1% 青霉素-链霉素双抗的完全培养基, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养。取对数生长期细胞, 经胰酶消化后计数, 以  $5 \times 10^3$  个/孔的密度接种于 96 孔板中, 每孔总体积为 100  $\mu$ L; 周边孔加入等量无菌 PBS 以减少边缘效应。细胞贴壁后弃去原培养基, 加入不同浓度葡聚糖硫酸钠的完全培养基, 各组设 5 个复孔, 同时设置不含细胞的空白组和未给药的对照组。培养 24 h 后, 每孔加入 10  $\mu$ L MTT 溶液 (5 mg/mL), 避光孵育 4 h; 弃去上清后加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砜 (DMSO), 置微孔振荡器避光振荡 10 min, 于 490 nm 波长下测定吸光度 (A) 值。细胞存活率按下面公式计算。综合细胞活力下降程度与剂量响应曲线稳定性, 最终选定 20 mg/mL 葡聚糖硫酸钠作为后续机制研究的工作浓度。此外, 为排除佛手柑内酯本身对细胞活力的直接影响, 另取贴壁细胞以 0.312 5~80  $\mu$ mol/L 佛手柑内酯单独处理 24 h, 按同法测定细胞活力, 筛选出对细胞活力无显著影响的安全浓度范围用于后续干预实验。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

在确定最佳葡聚糖硫酸钠造模浓度和佛手柑内酯安全浓度后, 将实验分为对照组、模型组和给药组, 对照组给予正常完全培养基; 模型组和给药组均先加入含有 20 mg/mL 葡聚糖硫酸钠的完全培养基培养 24 h 后; 随后弃去原培养基, PBS 洗涤 1 次, 模型组更换为含有 20 mg/mL 葡聚糖硫酸钠的完全培养基, 给药组更换为含 20 mg/mL 葡聚糖硫酸钠和上述筛得不同浓度的佛手柑内酯完全培养基继续共孵育 24 h; 对照组在对应的时间同步更换新的完全培养基以保证操作一致性。处理结束后进

行细胞活力检测或收集细胞用于 RT-qPCR 实验。

### 3.3 RT-qPCR 的测定

**3.3.1 细胞总 RNA 的提取** RT-qPCR 实验中, 佛手柑内酯干预浓度分别设为 1.25、2.50、5.00  $\mu\text{mol/L}$ 。取各组经前述方法干预处理后的 NCM460 细胞, 以 PBS 漂洗 1 次, 加入 TRIzol 试剂充分裂解。随后按照 TRIzol 试剂说明书完成氯仿抽提、异丙醇沉淀及 75%乙醇洗涤, 沉淀室温干燥后以适量 RNase-free 水溶解。

**3.3.2 RNA 浓度与纯度测定** 使用微量分光光度计检测所提取 RNA 的浓度和纯度。取 2  $\mu\text{L}$  RNA 溶液上机测定浓度和纯度, 当  $A_{260}/A_{280}$  比值处于 1.8~2.0 时, 表明 RNA 纯度良好, 无明显的蛋白质或

DNA 污染, 可用于后续逆转录。

**3.3.3 逆转录** 按照 SYBR Green qPCR 试剂盒说明书配置 PCR 扩增体系。通常 20  $\mu\text{L}$  反应体系包含: 2 $\times$ SYBR Green Master Mix 10  $\mu\text{L}$ 、正向与反向引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 0.4  $\mu\text{L}$ 、cDNA 模板 2  $\mu\text{L}$ , 其余体积使用无酶水补足。将配置好的反应液转入 96 孔 PCR 扩增板中, 置于实时荧光定量 PCR 仪上进行上机检测。反应程序通常设定: 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3~5 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 10 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  退火/延伸 30 s, 共进行 40 个循环; 扩增结束后绘制熔解曲线以验证引物扩增的特异性, 以  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 作为内参基因进行归一化, 采用相对定量法计算目的 mRNA 的相对表达水平。具体引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

| 基因             | 正向引物 (5'→3')                     | 反向引物 (5'→3')                    |
|----------------|----------------------------------|---------------------------------|
| $\beta$ -actin | 5'-GAGCACAGAGCCTCgCCTTT-3'       | 5'-ACATGCCCGAGCCGTTGTC-3'       |
| WTAP           | 5'-TCTTCCCAAGAAGGTTTCGATTGAGT-3' | 5'-TTCTTCAGACTCTCTTAGGCCAGTT-3' |
| METTL3         | 5'-GAACCAAGGAGGAGTGCATGAAAg-3'   | 5'-AAGGAAAGAGCAGTCACCTAAAGAC-3' |
| METTL14        | 5'-GGGATGTAGGTTTAGCTGACAGATT-3'  | 5'-ATGTCAAAGGCTTCTATATCGGCTT-3' |
| FTO            | 5'-CAGTTATAGCTGTGAAGGCCCTG-3'    | 5'-AAACCAGGTGTCTCTATGTCCCA-3'   |
| YTHDF1         | 5'-CCCTTAGAAAAAGCCAAGCAAGTG-3'   | 5'-CCCTCATTGTTTgTTTCGACTCTG-3'  |
| YTHDF2         | 5'-TTGAACCTTACTTGAGTCCACAGG-3'   | 5'-AAAGAATAGGAGAAGCCAATGGAGG-3' |

### 3.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 和 R 软件进行数据处理与统计分析。实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 所有实验至少独立重复 3 次。两组间比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 事后检验采用 Tukey 法。RT-qPCR 数据采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法进行相对定量分析。相关性分析采用 Spearman 秩相关分析。分子对接结果以最低结合能评价配体与受体的结合能力。除主分析外, 还进行了外部队列验证、组间分离偏倚校正、综合评分权重扰动及分子对接择优偏倚校正等稳健性分析。上述分析主要用于评估结果的可重复性与解释稳定性。

## 4 结果

### 4.1 佛手柑内酯靶点与溃疡性结肠炎疾病靶点的收集

综合 5 大数据库的检索结果, 经 HGNC 标准化去重后, 共获得 93 个佛手柑内酯的潜在作用靶点。同时, 从 GeneCards、DisGeNET、Harmonizome 数据库共收集并去重得到 4 019 个溃疡性结肠炎相关靶点。将药物靶点与疾病靶点取交集, 最终筛选出

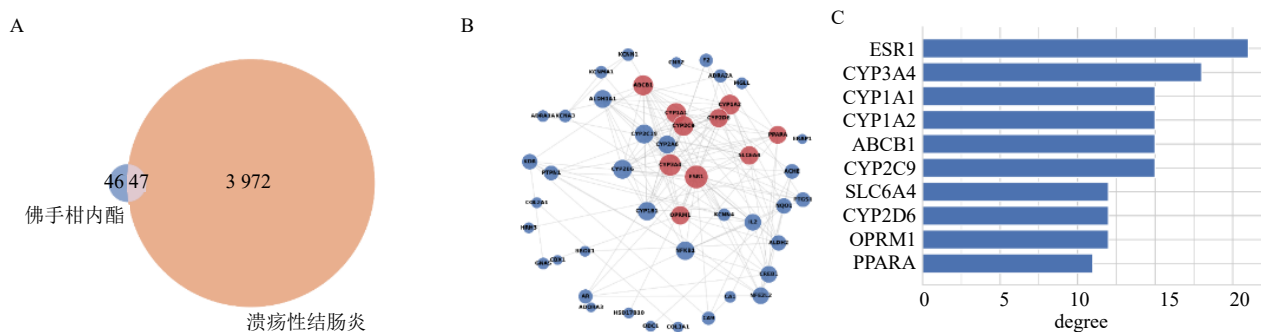
47 个佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎的潜在靶点, 见图 1A。

### 4.2 PPI 网络构建与核心基因分析

将上述 47 个交集靶点导入 STRING 数据库 (设定综合置信度得分  $\geq 0.400$ ), 构建了包含 47 个节点和 164 条边的 PPI 网络 (图 1B)。通过网络拓扑学中心性分析, 鉴定出排名前 5 位的核心靶点依次为雌激素受体 1 (ESR1)、细胞色素 P450 家族 3 亚家族 A 成员 4 (CYP3A4)、细胞色素 P450 家族 1 亚家族 A 成员 1 (CYP1A1)、细胞色素 P450 家族 1 亚家族 A 成员 2 (CYP1A2)、ATP 结合盒亚家族 B 成员 1 (ABCB1) 的综合得分位居前 5 位 (图 1C)。该网络显著富集了多个细胞色素 P450 家族成员, 提示外源物代谢在佛手柑内酯抗溃疡性结肠炎的过程中发挥着关键作用。

### 4.3 功能富集分析

如图 2 所示, 对 47 个交集靶点进行富集分析, 共获得 92 个显著的 GO 条目及 52 条 KEGG 通路 ( $P < 0.05$ )。在 GO 分析中, 生物学过程 (BP) 主要富集于花生四烯酸代谢、类固醇代谢及环氧合酶



A-佛手柑内酯与溃疡性结肠炎交集靶点 Venn 图, B-PPI 网络, C-PPI 网络中 degree 值排名前 10 位的核心靶点。

A-Venn diagram showing the intersection targets of bergapten and ulcerative colitis, B-PPI network, C-Top 10 core targets ranked by degree value in the PPI network.

图 1 佛手柑内酯与溃疡性结肠炎的靶点筛选及 PPI 网络分析

Fig. 1 Screening of target for bergapten and ulcerative colitis, and analysis of the PPI network

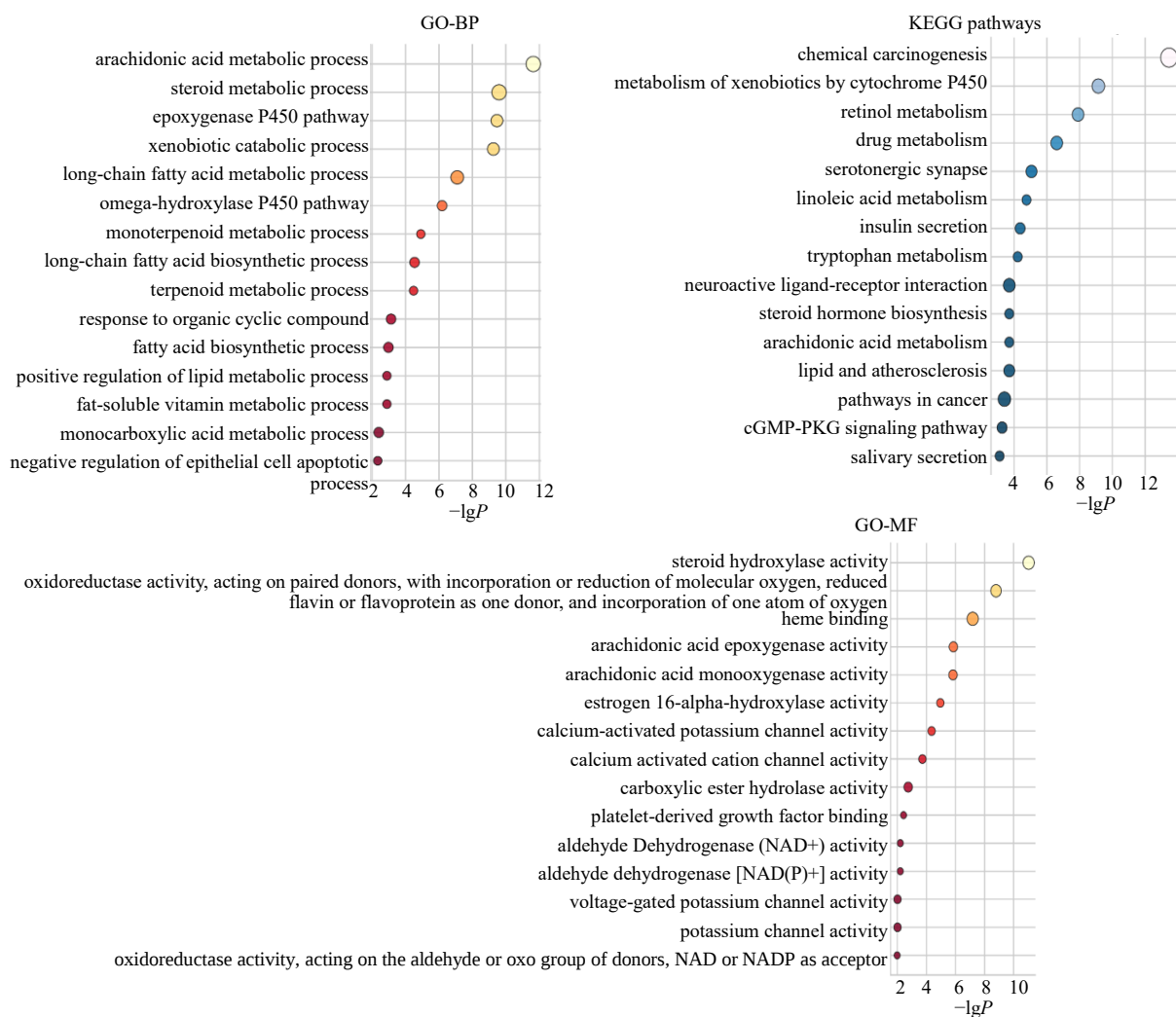


图 2 交集靶点的 GO 功能富集与 KEGG 通路分析

Fig. 2 Analysis of GO functional enrichment and KEGG pathways at the intersection targets

P450 通路等; 分子功能 (MF) 以类固醇羟化酶活性最为显著。KEGG 结果显示, 靶点主要富集于化

学致癌作用、细胞色素 P450 对外源异物的代谢、视黄醇代谢、药物代谢及花生四烯酸代谢等通路。这

表明佛手柑内酯主要通过干预肠道代谢、脂质稳态及炎症信号网络发挥作用。

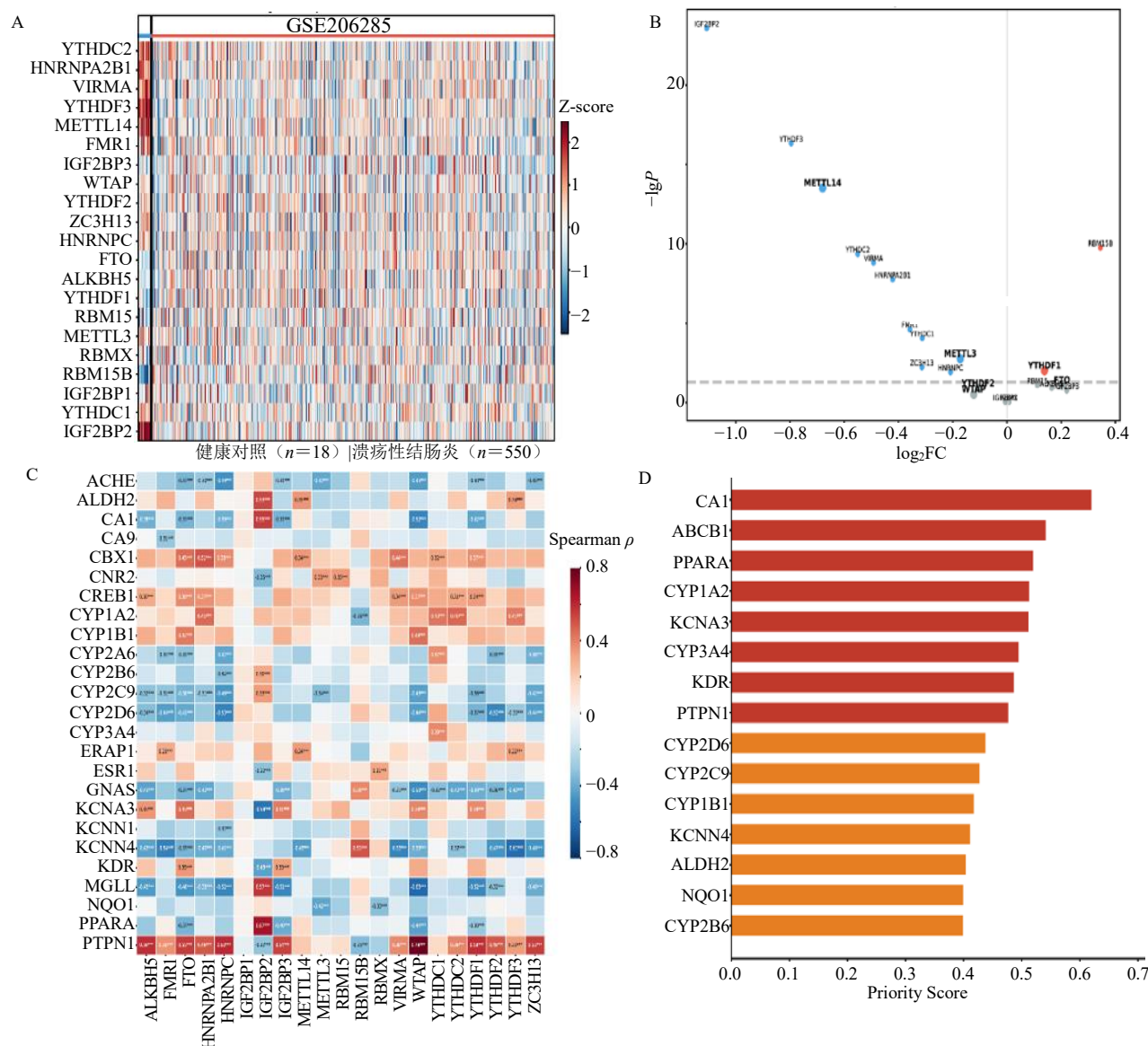
## 5 生物信息学分析结果

### 5.1 溃疡性结肠炎中 m<sup>6</sup>A 调节因子差异表达分析

前述网络药理学与富集分析结果提示,佛手柑内酯可能主要靶向 CYP450 酶系及过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (PPARA) 等介导的脂质代谢与炎症调控网络。大量研究表明,肠道炎症微环境中的代谢重编程与炎症因子转录本的稳定性,往往受控

于上游的 m<sup>6</sup>A RNA 表观转录修饰。为进一步探究佛手柑内酯干预上述候选靶点是否涉及上游表观遗传调控机制,本研究引入临床转录组数据进行关联分析。

基于 GSE206285 临床队列数据的分析显示,溃疡性结肠炎组与对照组的 m<sup>6</sup>A 调控因子呈现显著的差异表达聚类模式。差异分析提示,部分甲基转移酶与识别蛋白在溃疡性结肠炎结肠黏膜组织中存在异常表达(图 3A、B)。



A-GSE206285 的 m<sup>6</sup>A 调节因子的表达热图, B-m<sup>6</sup>A 调节因子差异表达聚类模式, C-候选靶点与 m<sup>6</sup>A 调节因子之间的 Spearman 秩相关性热图, D-基综合排序排名前 15 位的候选靶点。

A-expression heatmap of m<sup>6</sup>A regulatory factors for GSE206285, B-differential expression clustering pattern of m<sup>6</sup>A regulatory factors, C-Spearman rank correlation heatmap of candidate targets and m<sup>6</sup>A regulatory factors, D-top 15 candidate targets ranked by the comprehensive score.

图 3 基于 GSE206285 的 m<sup>6</sup>A 调节因子差异表达、探索性相关性分析及候选基因排序

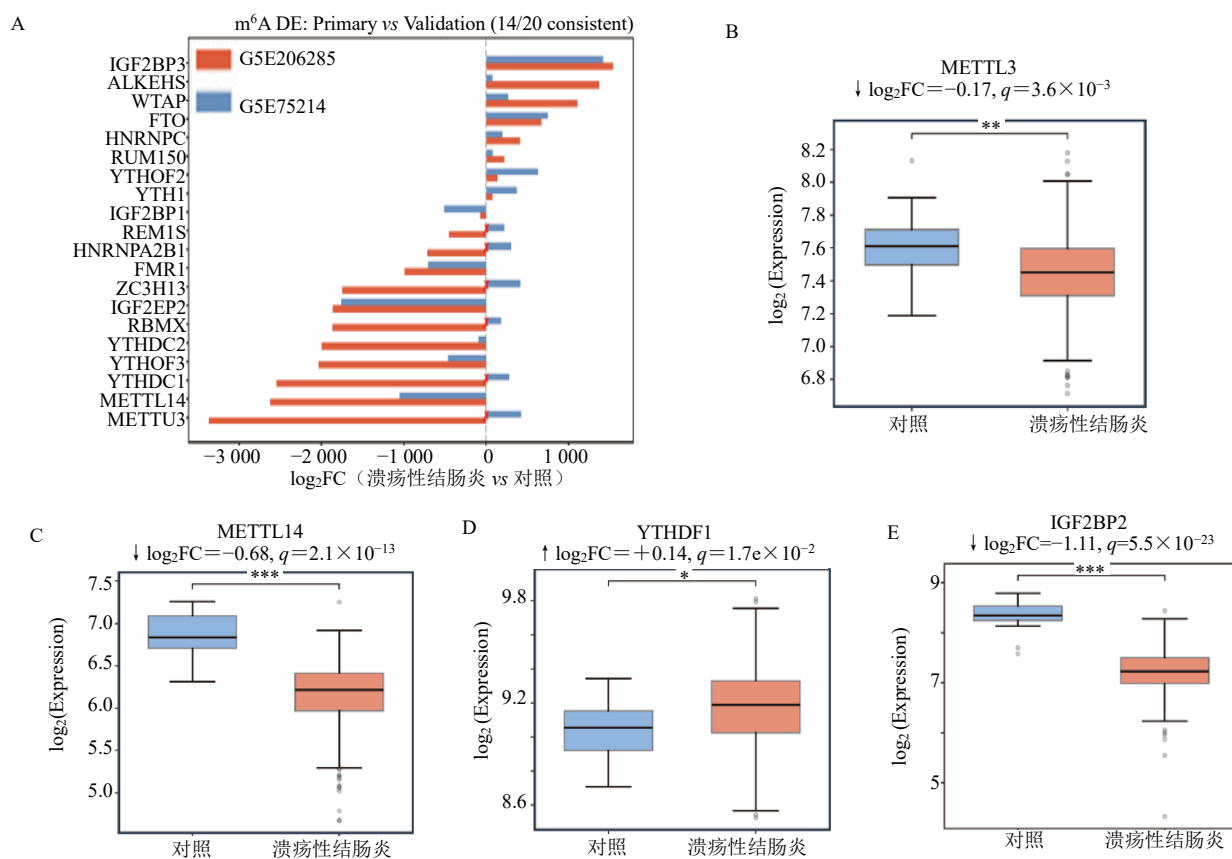
Fig. 3 Differential expression analysis of m<sup>6</sup>A regulatory factors based on GSE206285, exploratory correlation analysis and candidate gene ranking

## 5.2 佛手柑内酯与溃疡性结肠炎候选基因与 m<sup>6</sup>A 调节因子的相关性及其综合优先级排序

共表达分析表明, 佛手柑内酯与溃疡性结肠炎交集靶点与 m<sup>6</sup>A 调控因子之间存在广泛的正负相关关系 (图 3C)。基于差异表达幅度、与 m<sup>6</sup>A 调控因子的最大相关系数、PPI 度中心性及 GO、KEGG 富集条目数 4 个维度, 构建多证据综合优先级评分模型, 共筛选出 15 个高潜力核心靶点 (图 3D)。其中碳酸酐酶 1 (CA1)、ATP 结合盒亚家族 B 成员 1 (ABCB1)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (PPARA)、细胞色素 P450 家族 1 亚家族 A 成员 2 (CYP1A2)、钾电压门控通道亚家族 A 成员 3

(KCNA3) 的综合得分位居前 5 位, 可作为探索佛手柑内酯与溃疡性结肠炎候选靶点与 m<sup>6</sup>A 相关因子表达变化之间的潜在关联提供线索。

为评估上述差异表达模式的外部可重复性, 进一步在独立验证队列中对 m<sup>6</sup>A 调节因子的差异方向进行比较。结果显示, 20 个纳入分析的 m<sup>6</sup>A 调节因子中有 14 个在主队列与验证队列中呈现一致的变化方向 (图 4A), 提示溃疡性结肠炎相关 m<sup>6</sup>A 表达失衡具有一定跨队列稳定性。其中 GSE206285 队列中 m<sup>6</sup>A 调节因子 (METTL3、METTL14、YTHDF1、IGF2BP2) 表达的代表性箱线图见图 4B~4E。



A-GSE206285 与 GSE75214 中 m<sup>6</sup>A 调节因子的 log<sub>2</sub>FC 值比较, B-METTL3 箱线图, C-METTL14 箱线图, D-YTHDF1 箱线图, E-IGF2BP2 箱线图; 与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

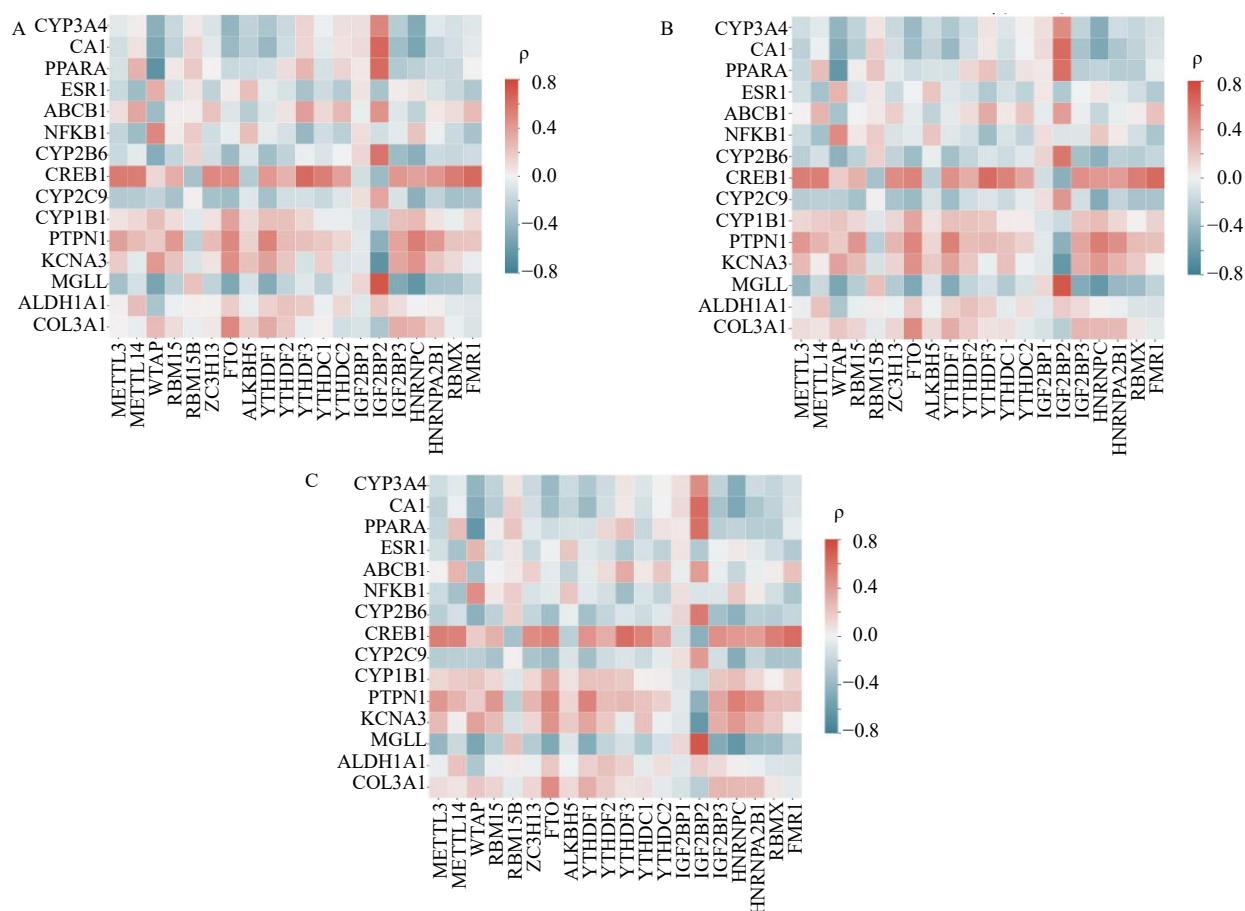
A-Comparison of log<sub>2</sub>FC values of m<sup>6</sup>A regulatory factors in GSE206285 and GSE75214, B-METTL3 box plot, C-METTL14 box plot, D-YTHDF1 box plot, E-IGF2BP2 box plot. \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group.

图 4 溃疡性结肠炎中 m<sup>6</sup>A 调节因子差异表达的跨平台验证

Fig. 4 Cross-platform validation of differential expression of m<sup>6</sup>A regulatory factors in ulcerative colitis

鉴于病例与对照合并分析中 Spearman 相关系数可能受组间表达水平差异的膨胀效应影响, 本研究进一步开展了敏感性分析, 见图 5。具体而言, 分别在仅含溃疡性结肠炎样本的组内分析、以分组

变量为协变量的偏相关分析中重新评估种子基因与 m<sup>6</sup>A 调控因子间的相关性。结果显示, 尽管相关系数在校正后有所衰减, 主要关联热点区域 (如 CA1 - IGF2BP2、PPARA - IGF2BP2、CYP3A4 -



A-病例与对照合并样本分析; B-仅限溃疡性结肠炎组内相关分析; C-控制协变量后的偏相关分析。

A - case-control combined sample analysis; B - correlation analysis within the ulcerative colitis group only; C - partial correlation analysis after controlling for confounding variables.

图 5 佛手柑内酯 - 溃疡性结肠炎候选靶点与  $m^6A$  调节因子相关模式的组间分离偏倚校正

Fig. 5 Bergapten - ulcerative colitis candidate target for ulcerative colitis and the inter-group separation bias correction of the pattern related to  $m^6A$  regulatory factors

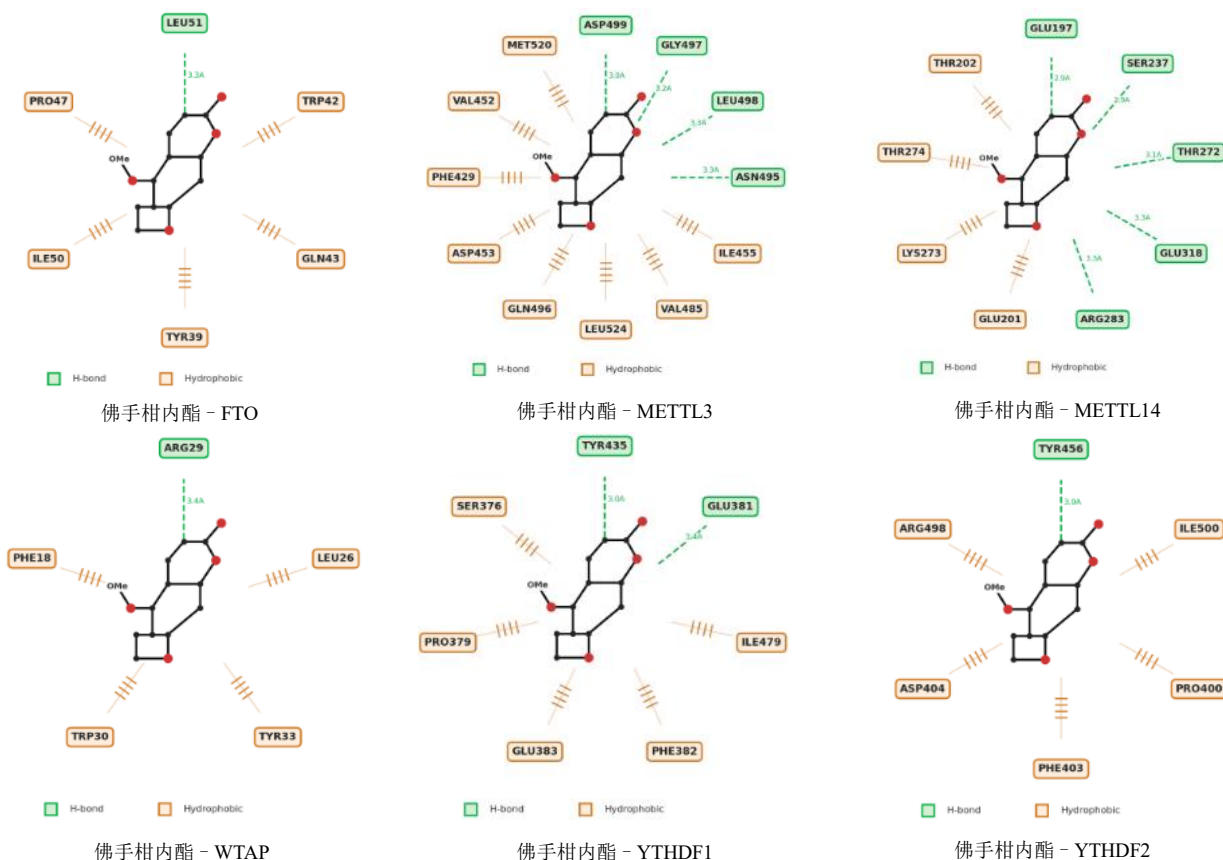
METTL14 等) 在 3 种分析策略中仍保持一致的方向性和相对排序, 表明主分析中观测到的佛手柑内酯靶点与  $m^6A$  调控因子间的共表达关系并非完全由疾病分组结构所驱动, 而在一定程度上反映了生物学层面的真实关联。

### 5.3 佛手柑内酯与 $m^6A$ 调控蛋白的分子对接结果

分子对接结果(图 6)显示, 佛手柑内酯与 18 个  $m^6A$  相关蛋白的结合能介于  $-4.57 \sim -7.46$  kcal/mol ( $1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$ ), 广泛的潜在亲和力。在甲基转移酶类蛋白中, 佛手柑内酯对核心催化亚基 METTL3 ( $-7.46$  kcal/mol) 和 METTL14 ( $-7.29$  kcal/mol) 的结合亲和力最强, 均突破了  $-7.0$  kcal/mol 的强结合阈值。其余组分中, WTAP、METTL16、RBM15/15B、VIRMA 的结合能集中在  $-5.19 \sim -6.89$  kcal/mol, 表现出中等的结合亲和力;

而 ZC3H13 ( $-4.69$  kcal/mol) 结合能较高, 提示发生直接作用的概率较小。针对去甲基化酶类蛋白中, 佛手柑内酯与 FTO ( $-6.72$  kcal/mol) 和 ALKBH5 ( $-6.70$  kcal/mol) 的结合能表现出高度一致性, 均具备中等偏上的理论亲和力。在识别蛋白类蛋白方面, 佛手柑内酯与 YTHDC1 ( $-7.18$  kcal/mol) 的结合亲和力最强, YTHDC2 ( $-6.96$  kcal/mol) 次之。其余 YTHDF1/2/3 和 IGF2BP1/2/3 的结合能则相对集中在  $-5.49 \sim -6.04$  kcal/mol, 结合趋势相对偏弱。

上述数据表明,  $m^6A$  修饰网络中的关键甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白均具备成为佛手柑内酯作用靶点的潜力。然而, 分子对接仅提示佛手柑内酯与部分  $m^6A$  相关蛋白之间可能存在潜在相互作用, 不能作为直接结合或功能调控的实验证据, 后续仍需相关实验进行进一步验证。

图 6 佛手柑内酯与 m<sup>6</sup>A 调控蛋白的分子对接分析Fig. 6 Molecular docking analysis of bergapten and m<sup>6</sup>A regulatory proteins

## 6 体外实验验证结果

### 6.1 佛手柑内酯对细胞活力的影响及葡聚糖硫酸钠损伤模型建立

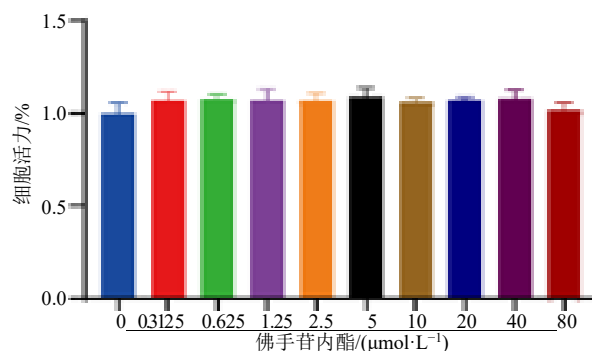
为评估佛手柑内酯的安全性及干预效果,首先检测了单一用药的细胞毒性。结果显示,0.3125~80  $\mu\text{mol/L}$  的佛手柑内酯处理 NCM460 细胞 24 h,未对细胞活力产生显著影响,见图 7,证实该浓度范围具有良好的细胞安全性,其中,80  $\mu\text{mol/L}$  佛手柑内酯仅用于评价安全性上限,为减少高浓度药物产生的非特异性影响,未纳入后续损伤干预实验中。在葡聚糖硫酸钠损伤模型构建中,1.25~160 mg/mL 葡聚糖硫酸钠即可引起细胞活力显著下降 ( $P<0.05$ 、0.001),见图 8。

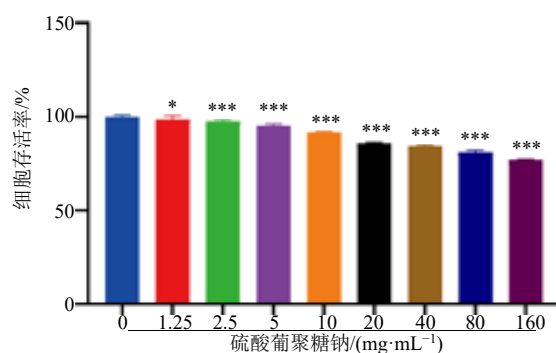
给予佛手柑内酯干预后,1.25~40  $\mu\text{mol/L}$  佛手柑内酯可显著提高葡聚糖硫酸钠受损细胞的存活率 ( $P<0.05$ 、0.001),见图 9。

### 6.2 佛手柑内酯对葡聚糖硫酸钠诱导的 m<sup>6</sup>A 相关基因表达的影响

RT-qPCR 结果证实,佛手柑内酯能有效回调葡聚糖硫酸钠诱导的 m<sup>6</sup>A 因子表达失衡。在甲基化转

移酶方面,佛手柑内酯 (1.25、2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *WTAP*、*METTL3* 表达均显著下调 ( $P<0.001$ ),而佛手柑内酯 (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *METTL14* 表达显著上调 ( $P<0.001$ )。在去甲基化酶方面,佛手柑内酯 (2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *FTO* 表达显著升高 ( $P<0.01$ 、0.001)。在读取蛋白方面,佛手柑内酯 (1.25、2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *YTHDF1* 表达显著降低,佛手柑内酯 (2.5、5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 *YTHDF2* 表达显著升高 ( $P<0.01$ 、0.001),见图 10。

图 7 佛手柑内酯对细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )Fig. 7 Effect of bergapten on cell viability ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )



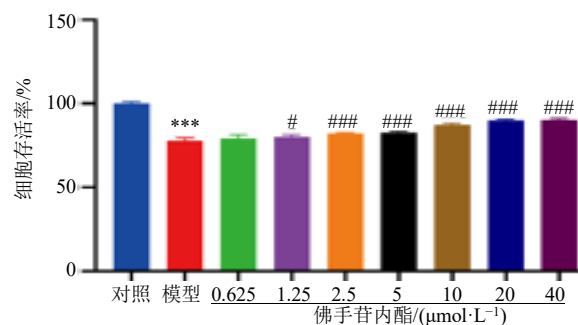
与 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  组比较: \* $P<0.05$  \*\*\* $P<0.001$ 。

\* $P<0.05$  \*\*\* $P<0.001$  vs 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  group.

图 8 不同浓度硫酸葡聚糖钠对细胞存活率的影响

( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 8 Effect of different concentrations of sodium dextran sulfate on cell survival rate ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )



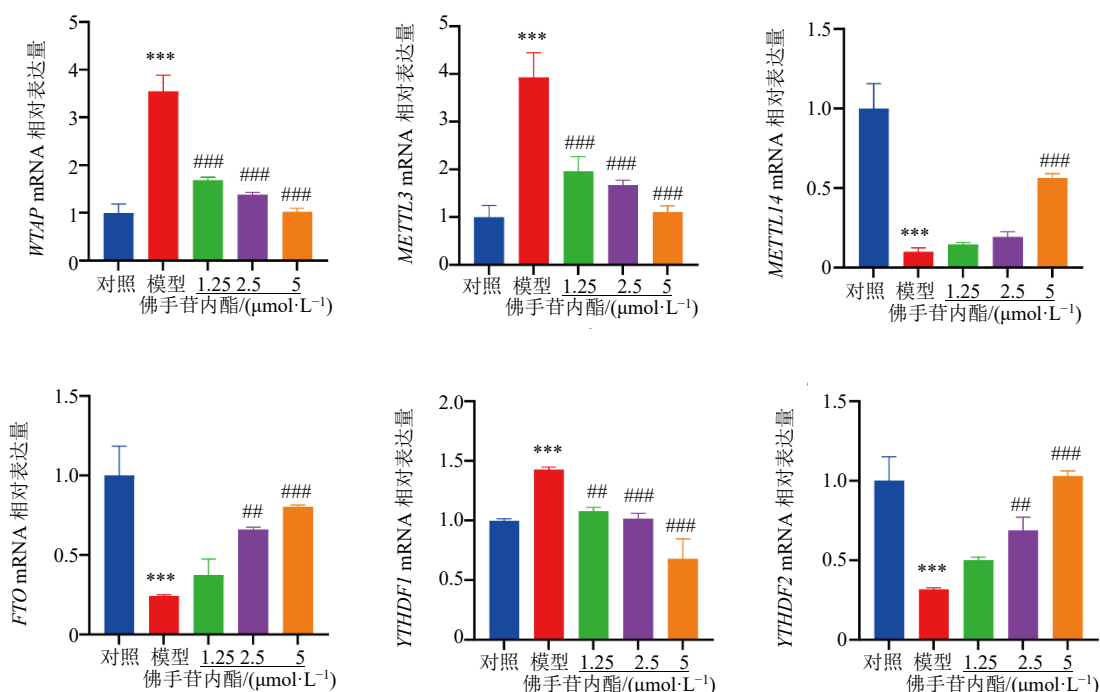
与对照组比较: \*\*\* $P<0.001$ ; 与模型组比较: # $P<0.05$  ### $P<0.001$ 。

\*\*\* $P<0.001$  vs control group; # $P<0.05$  ### $P<0.001$  vs model group.

图 9 佛手柑内酯对硫酸葡聚糖钠诱导的细胞存活率的影响

( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 9 Effect of bergapten on the cell survival rate induced by sodium dextran sulfate ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )



与对照组比较: \*\*\* $P<0.001$ ; 与模型组比较: ## $P<0.01$  ### $P<0.001$ 。

\*\*\* $P<0.001$  vs control group; ## $P<0.01$  ### $P<0.001$  vs model group.

图 10 佛手柑内酯对硫酸葡聚糖钠诱导的 m<sup>6</sup>A 相关基因 mRNA 表达异常的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Fig. 10 Effect of bergapten on the abnormal expression of m<sup>6</sup>A-related gene mRNA induced by sodium dextran sulfate ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

## 7 讨论

溃疡性结肠炎的发病机制涉及肠上皮屏障受损、免疫失衡及局部代谢异常等多个维度的网络交织。本研究的网络药理学分析筛选出 CYP450 相关代谢酶、ABCB1/P-gp、PPARA 等核心节点,提示

佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎的作用机制并非局限于下游的终末炎症因子抑制,而是可能起始于“代谢-转运-受体”这一上游调控网络<sup>[16-17]</sup>。活动期溃疡性结肠炎患者结肠黏膜中往往存在 ABCB1/P-gp 表达显著下降及转运体功能障碍,这

与屏障防御减弱密切相关<sup>[18]</sup>。结合既往研究证实佛手柑内酯在实验性结肠炎中的抗炎和抗氧化特性,本研究筛选出的靶点网络为其药效学表现提供了合理的分子解释基础<sup>[10-11]</sup>。

功能富集分析进一步表明,佛手柑内酯的候选靶点高度集中于细胞色素 P450 介导的外源物代谢、花生四烯酸代谢、脂肪酸代谢及类固醇代谢等通路。肠道炎症微环境中存在明显的免疫代谢重编程,CYP450 系统不仅是药物代谢的核心,也是调控炎症脂质介质(如花生四烯酸衍生物)代谢的关键酶系<sup>[17]</sup>。在核心靶点中,PPARA 作为连接脂质代谢与炎症调控的关键枢纽,其激活状态对缓解肠道炎症具有重要意义<sup>[20]</sup>。因此,佛手柑内酯可能通过干预这些代谢节点,重塑脂质介质生成,切断“代谢紊乱-炎症级联”的恶性循环<sup>[21]</sup>。

值得注意的是,网络药理学所揭示的代谢与炎症通路更多属于疾病干预的下游效应网络,尚不足以完全阐释肠黏膜代谢-炎症稳态失衡的上游驱动机制。溃疡性结肠炎的发生发展不仅涉及代谢酶与炎症介质的异常,更受到转录后调控网络的深度影响。近年来,*m<sup>6</sup>A* RNA 甲基化修饰被认为是连接环境应激、代谢重编程与屏障损伤的核心表观遗传机制。如 WTAP 介导的 *m<sup>6</sup>A* 修饰异常已被证实直接参与肠黏膜免疫失衡与上皮屏障功能受损<sup>[22]</sup>。鉴于此,本研究在网络药理学提示“代谢-炎症”特征的基础上,引入临床转录组数据进行向上追溯,探究佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎是否涉及 *m<sup>6</sup>A* 调控因子的表达变化。这一策略并非不同分析模块的简单并列,而是基于“上游表观修饰调控下游代谢/炎症转录本”的生物学逻辑所进行的机制延伸。

除了传统代谢与炎症通路,本研究提示 *m<sup>6</sup>A* 相关因子表达变化可能参与佛手柑内酯干预溃疡性结肠炎的潜在机制。临床转录组(GSE206285)分析显示,溃疡性结肠炎患者肠黏膜中存在显著的 *m<sup>6</sup>A* 修饰网络重塑,表现为 METTL3、WTAP 等甲基化酶异常上调,而 METTL14、FTO 等去甲基化酶及 YTHDF2、YTHDF3、IGF2BP2 等识别蛋白下调。既往研究表明,WTAP/YTHDF2 轴的异常激活可推动肠道炎症进展,而 FTO 的下调则通过扰乱鞘脂代谢加重结肠炎<sup>[7, 23]</sup>。分子对接结果提示,佛手柑内酯与 METTL3、METTL14、FTO、YTHDC1 等核心 *m<sup>6</sup>A* 蛋白具有良好的结合潜能,这为其直接干预表观遗传网络提供了结构层面的可能性。

代谢异常与 *m<sup>6</sup>A* 相关表达的变化并非彼此独立的病理事件,而可能在溃疡性结肠炎中形成相互影响的调控关系。一方面,肠道炎症可引起脂质代谢、花生四烯酸代谢、鞘脂代谢及外源物代谢紊乱,这些代谢的改变可进一步影响炎症因子的释放、氧化应激和上皮细胞损伤<sup>[24]</sup>。另一方面,*m<sup>6</sup>A* 相关因子的异常表达可能通过影响验证通路或代谢相关转录本的稳定性、剪接和翻译的效率,参与机体炎症反应的紊乱或代谢-炎症网络重塑<sup>[21]</sup>。因此,本研究中佛手柑内酯与溃疡性结肠炎候选靶点富集于代谢相关通路,同时体外观察到 *m<sup>6</sup>A* 相关因子的 mRNA 表达异常被部分回调,提示佛手柑内酯可能通过“代谢调控-*m<sup>6</sup>A* 相关因子表达改善-上皮炎症/损伤缓解”的关键路径发挥作用。然而本研究尚未检测相关关键指标,因此体外实验只能作为研究的初步证据。

体外实验为上述网络预测与机制假说提供了关键验证。研究证实,佛手柑内酯不仅具有良好的细胞安全性,还能显著逆转葡聚糖硫酸钠诱导的 NCM460 肠上皮细胞活力下降。更重要的是,佛手柑内酯在体外成功回调了葡聚糖硫酸钠引起的 *m<sup>6</sup>A* 调控因子表达失衡:显著下调异常升高的 WTAP、METTL3 和 YTHDF1,并恢复 METTL14、FTO、YTHDF2 的表达。这种对部分 *m<sup>6</sup>A* 相关因子 mRNA 表达异常的回调作用,与转录组分析的疾病特征高度契合。恢复 FTO 水平可能有助于改善上皮细胞的脂质代谢<sup>[24]</sup>,而下调 WTAP 和 METTL3 则可能削弱促炎性转录本的 *m<sup>6</sup>A* 修饰驱动<sup>[23]</sup>。

总体而言,佛手柑内酯可能通过干预靶基因代谢通路与纠正 *m<sup>6</sup>A* 表观遗传表达异常的双重路径协同发挥抗溃疡性结肠炎作用。本研究将佛手柑内酯的作用机制由传统的炎症代谢层面延伸至 RNA 表观修饰领域,为相关机制的深入论证提供了探索性框架与数据支撑。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 岳诗棋,张永宣,王妍,等. 中医调控氨基酸代谢重编程治疗溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(24): 9233-9245.
- [2] Neurath M F, Artis D, Becker C. The intestinal barrier: A pivotal role in health, inflammation, and cancer [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2025, 10(6): 573-592.

- [3] Jia J H, Liu Y, Wang D, *et al.* Ulcerative colitis: Signaling pathways, therapeutic targets and interventional strategies [J]. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2026, 11(1): 51.
- [4] Iacucci M, Santacroce G, Majumder S, *et al.* Opening the doors of precision medicine: Novel tools to assess intestinal barrier in inflammatory bowel disease and colitis-associated neoplasia [J]. *Gut*, 2024, 73(10): 1749-1762.
- [5] Nie K, Yi J, Yang Y Y, *et al.* A broad m<sup>6</sup>A modification landscape in inflammatory bowel disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 9: 782636.
- [6] Zhang T, Ding C B, Chen H F, *et al.* m<sup>6</sup>A mRNA modification maintains colonic epithelial cell homeostasis via NF- $\kappa$ B-mediated antiapoptotic pathway [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(12): eabl5723.
- [7] Wang S J, Yang Y Z, Jiang X H, *et al.* Nurturing gut health: Role of m<sup>6</sup>A RNA methylation in upholding the intestinal barrier [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 271.
- [8] Zhu X C, Wang J Y, Zhang H, *et al.* Downregulated KLF4, induced by m<sup>6</sup>A modification, aggravates intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 470.
- [9] Zhou Y, Wang J, Yang W D, *et al.* Bergapten prevents lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW264.7 cells through suppressing JAK/STAT activation and ROS production and increases the survival rate of mice after LPS challenge [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 48: 159-168.
- [10] Luo T, Jia X, Feng W D, *et al.* Bergapten inhibits NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis via promoting mitophagy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(9): 1867-1878.
- [11] Adakudugu E A, Ameyaw E O, Obese E, *et al.* Protective effect of bergapten in acetic acid-induced colitis in rats [J]. *Heliyon*, 2020, 6(8): e04710.
- [12] UniProt Consortium. UniProt: The universal protein knowledgebase in 2025 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2025, 53(D1): D609-D617.
- [13] 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.
- [14] Diamant I, Clarke D J B, Evangelista J E, *et al.* Harmonizome 3.0: Integrated knowledge about genes and proteins from diverse multi-omics resources [J]. *Nucleic Acids Res*, 2025, 53(D1): D1016-D1028.
- [15] Fang Z Q, Liu X Y, Peltz G. GSEAPy: A comprehensive package for performing gene set enrichment analysis in python [J]. *Bioinformatics*, 2023, 39(1): btac757.
- [16] Chen E Y, Tan C M, Kou Y, *et al.* Enrichr: Interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool [J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 128.
- [17] Jiang X L, Liu B Y, Nie Z, *et al.* The role of m<sup>6</sup>A modification in the biological functions and diseases [J]. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2021, 6(1): 74.
- [18] Zaccara S, Ries R J, Jaffrey S R. Reading, writing and erasing mRNA methylation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 608-624.
- [19] Gu C Z, Wu J L, Zhang W, *et al.* Immune infiltration of ulcerative colitis and detection of the m<sup>6</sup>A subtype [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 7280977.
- [20] Li C L, Li Z Q, Zheng Y. Natural products targeting the MAPK signaling pathway: Potential options for ulcerative colitis treatment [J]. *Front Pharmacol*, 2026, 16: 1721584.
- [21] Guo Y X, Wang B Y, Gao H, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ : A pivotal regulator of the gastrointestinal tract [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 864039.
- [22] Zhang Y C, Li N, Zhang D, *et al.* WTAP-mediated m<sup>6</sup>A modification of PTPN1 contributes to ulcerative colitis pathogenesis through regulating colonic epithelial cell phenotypes [J]. *Hum Cell*, 2025, 39(1): 3.
- [23] Xie X R, Cheng S, Chen X, *et al.* WTAP promotes the progression of ulcerative colitis by silencing the expression of CES2 through m<sup>6</sup>A modification [J]. *J Autoimmun*, 2024, 148: 103295.
- [24] Ma Y R, Zhang X Y, Xuan B Q, *et al.* Disruption of CerS6-mediated sphingolipid metabolism by FTO deficiency aggravates ulcerative colitis [J]. *Gut*, 2024, 73(2): 268-281.

[责任编辑 高源]