

基于生物信息学整合分析、机器学习及多维 WGCNA 研究乌梅治疗溃疡性结肠炎的潜在作用机制

曾大凌¹, 史 英^{2*}, 张锋利², 刘争辉³, 冯 荣¹, 单瑞琪¹

1. 陕西中医药大学 中西医结合学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西中医药大学第二附属医院 消化内科, 陕西 咸阳 712000

3. 陕西中医药大学附属医院 消化内科, 陕西 咸阳 712000

摘要: **目的** 探讨乌梅治疗溃疡性结肠炎的潜在作用机制, 筛选乌梅治疗溃疡性结肠炎的关键作用靶基因, 并评估其辅助诊断价值。**方法** 以 GSE87466 为发现集, 进行差异表达分析, 筛选差异表达基因 (DEGs)。整合乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点及 GSE87466-DEGs, 获得候选交集基因, 并进行基因本体 (GO) 与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析和蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建。基于 90 个候选交集基因, 在 GSE87466 中采用最小绝对收缩和选择算子 (LASSO)、随机森林 (RF)、支持向量机 (SVM)、XGBoost、决策树 (DT)、K 近邻 (KNN)、神经网络 (NNET)、梯度提升机 (GBM)、广义线性模型 (GLM) 及 C5.0 共 10 种机器学习算法筛选候选关键靶基因。随后结合 GSE87466、GSE38713 和 GSE75214 的表达验证及辅助诊断模型比较, 确定最终 hub 基因。进一步在 GSE87466 中进行免疫浸润分析及多维加权基因共表达网络分析 (WGCNA), 以探讨关键基因与疾病表型及免疫炎症微环境之间的关系, 并通过分子对接评价乌梅活性成分与候选靶蛋白的潜在结合能力。**结果** 在 GSE87466 中共筛得 972 个 DEGs, 其中上调 620 个, 下调 352 个。乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点与 GSE87466-DEGs 取交集后获得 90 个候选基因。PPI 网络包含 68 个节点和 320 条边, 共筛得 36 个核心基因。机器学习筛选获得 6 个候选关键靶基因: 编码蛋白溶质载体家族 16 成员 1 (*SLC16A1*)、血管细胞黏附分子 1 (*VCAM1*)、水通道蛋白 8 (*AQP8*) 和双氧化酶 2 (*DUOX2*)、ATP 结合盒亚家族 G 成员 2 (*ABCG2*) 和核受体亚家族 1H 组成员 4 (*NR1H4*)。表达验证显示, *SLC16A1* 和 *AQP8* 在溃疡性结肠炎组中低表达, *VCAM1* 和 *DUOX2* 在溃疡性结肠炎组中高表达, 且在 3 个数据集中变化趋势一致。模型比较后, 最终确定 *SLC16A1*、*AQP8*、*VCAM1* 和 *DUOX2* 为最终 hub 基因。4 基因模型在 GSE87466、GSE38713 和 GSE75214 中的曲线下面积 (AUC) 分别为 1.000、0.933、0.988, 提示其具有较好的辅助诊断效能。ssGSEA 免疫浸润分析显示, GSE87466 中 27 类免疫细胞有 26 类存在显著差异, 且 *AQP8* 和 *SLC16A1* 与大多数免疫细胞浸润总体呈负相关, 而 *VCAM1* 和 *DUOX2* 总体呈正相关。多维 WGCNA 显示, MEdarkslateblue 模块与疾病状态及中性粒细胞、单核细胞、M1 型巨噬细胞、活化树突状细胞和 CD4⁺ T 细胞呈显著正相关, 而 MEbrown2 模块与上述性状呈显著负相关; *VCAM1* 和 *DUOX2* 位于 MEdarkslateblue 模块, *SLC16A1* 位于 MEbrown2 模块, *AQP8* 属于 MEdarkslateblue 模块但总体呈负向变化趋势。**结论** 乌梅可能通过调控免疫炎症相关网络干预溃疡性结肠炎的发生发展。*SLC16A1*、*AQP8*、*VCAM1* 和 *DUOX2* 可能是乌梅干预溃疡性结肠炎的重要关键靶基因, 并具有一定的辅助诊断潜力。**关键词:** 乌梅; 溃疡性结肠炎; 生物信息学; 机器学习; 多维加权基因共表达网络分析; 编码蛋白溶质载体家族 16 成员 1; 血管细胞黏附分子 1; 水通道蛋白 8

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)09-2545-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.09.008

Potential mechanisms of *Fructus Mume* in treatment of ulcerative colitis based on integrated bioinformatics, machine learning and multidimensional WGCNA

ZENG Daling¹, SHI Ying², ZHANG Fengli², LIU Zhenghui³, FENG Rong¹, SHAN Ruiqi¹

1. School of Traditional Chinese and Western Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

3. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

收稿日期: 2026-05-04

基金项目: 陕西省科技厅项目 (2022JM-506); 陕西省中医药科技创新提质扩能计划项目 (TZKN-CXPT-03)

作者简介: 曾大凌, 研究方向是消化系统疾病的基础与临床研究。E-mail: 814372360@qq.com

*通信作者: 史 英, 副主任医师, 研究方向是消化系统疾病的基础与临床研究。E-mail: 405262439@qq.com

Abstract: Objective To explore the potential mechanism of *Fructus Mume* in treatment of ulcerative colitis, screen key target genes of *Fructus Mume* against ulcerative colitis, and evaluate their auxiliary diagnostic value. **Methods** The dataset GSE87466 was used as the discovery set for differential expression analysis to identify differentially expressed genes (DEGs). Candidate intersecting genes were obtained by integrating potential targets of *Fructus Mume*, ulcerative colitis-related disease targets and GSE87466-derived DEGs. Gene ontology (GO), Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses and protein-protein interaction (PPI) network construction were performed on these intersecting genes. Based on the 90 candidate intersecting genes, ten machine learning algorithms including least absolute shrinkage and selection operator (LASSO), random forest (RF), support vector machine (SVM), extreme gradient boosting (XGBoost), decision tree (DT), k-nearest neighbor (KNN), neural network (NNET), generalized boosted regression model (GBM), generalized linear model (GLM) and C5.0 were applied in GSE87466 to select candidate key target genes. Subsequent expression validation across GSE87466, GSE38713 and GSE75214 as well as comparison of auxiliary diagnostic models were conducted to determine the final hub genes. Immune infiltration analysis and multi-dimensional weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) were further performed in GSE87466 to investigate the associations between key genes, disease phenotypes and the immune-inflammatory microenvironment. Molecular docking was adopted to assess the potential binding affinity between active ingredients of *Fructus Mume* and candidate target proteins. **Results** A total of 972 DEGs were identified in GSE87466, consisting of 620 upregulated and 352 downregulated genes. Ninety candidate genes were obtained after intersecting potential targets of *Fructus Mume*, ulcerative colitis disease targets and GSE87466 DEGs. The PPI network contained 68 nodes and 320 edges, from which 36 core genes were extracted. Six candidate key target genes were screened via machine learning: Solute carrier family 16 member 1 (*SLC16A1*), Aquaporin 8 (*AQP8*), ATP-binding cassette subfamily G member 2 (*ABCG2*), vascular cell adhesion molecule 1 (*VCAM1*), nuclear receptor subfamily 1 group H member 4 (*NR1H4*) and dual oxidase 2 (*DUOX2*). Expression validation demonstrated that *SLC16A1* and *AQP8* were downregulated, whereas *VCAM1* and *DUOX2* were upregulated in UC samples, with consistent expression trends across the three datasets. After model comparison, *SLC16A1*, *AQP8*, *VCAM1* and *DUOX2* were identified as the final hub genes. The four-gene model yielded AUC values of 1.000, 0.933 and 0.988 in GSE87466, GSE38713 and GSE75214 respectively, indicating favorable auxiliary diagnostic performance. Single-sample gene set enrichment analysis (ssGSEA) for immune infiltration revealed significant differences in 26 out of 27 immune cell subtypes in GSE87466. *AQP8* and *SLC16A1* were generally negatively correlated with the infiltration of most immune cells, while *VCAM1* and *DUOX2* showed overall positive correlations. Multi-dimensional WGCNA showed that the MEDarkslateblue module was significantly positively correlated with disease status as well as neutrophils, monocytes, M1 macrophages, activated dendritic cells and CD4⁺ T cells, whereas the MEBrown2 module exhibited significant negative correlations with these traits. *VCAM1* and *DUOX2* belonged to the MEDarkslateblue module, *SLC16A1* was assigned to the MEBrown2 module, and *AQP8* was classified into the MEDarkslateblue module with an overall negative expression trend. **Conclusion** *Fructus Mume* may intervene in the initiation and progression of UC by regulating immune-inflammatory networks. *SLC16A1*, *AQP8*, *VCAM1* and *DUOX2* serve as vital target genes of *Fructus Mume* for UC intervention and possess potential for auxiliary diagnosis.

Key words: *Fructus Mume*; ulcerative colitis; integrated bioinformatics; machine learning; WGCNA; *SLC16A1*; *VCAM1*; *AQP8*

溃疡性结肠炎是一种以结直肠黏膜持续性炎症为主要特征的炎症性肠病,临床上多表现腹痛、腹泻、黏液脓血便及反复发作^[1-2]。溃疡性结肠炎病程迁延、易复发,可显著降低患者生活质量,并带来长期疾病负担^[3]。有研究认为,溃疡性结肠炎的发生发展与遗传易感性、肠黏膜屏障损伤、肠道菌群失衡、免疫反应异常激活及多种炎症介质持续释放等因素密切相关,但其具体分子调控网络尚未完全阐明^[4]。因此,进一步筛选与溃疡性结肠炎发生发展密切相关的关键靶点,并探讨其潜在调控机制,对于提高疾病诊疗水平和寻找新的干预策略具有重要意义^[5]。乌梅为传统中药,具有敛肺涩肠、生津安蛔等功效,在消化系统疾病防治中具有一定应用基础^[6]。研究提示,乌梅含有酚类、有机酸、黄酮和甾醇等多类活性

成分,相关活性成分具有抗炎、抗氧化、调节免疫及改善肠黏膜修复和肠道微环境等作用,在溃疡性结肠炎防治中显示出潜在应用价值^[6-9]。既往动物实验表明,乌梅提取物可减轻实验性结肠炎损伤并促进结肠黏膜修复^[10];已有研究提示,乌梅在实验性结肠炎中具有一定保护作用,并可能通过多成分、多靶点及多通路协同干预溃疡性结肠炎发生发展^[11]。此外,一些与乌梅相关的候选活性成分,如山柰酚、柚皮素和 β -谷甾醇等天然活性分子,也被报道可在结肠炎模型中发挥抗炎作用,并改善肠黏膜屏障功能^[12-15]。然而,乌梅干预溃疡性结肠炎的关键作用靶点及其与疾病分子表达特征之间的关系仍缺乏系统阐释。

基于此,本研究以 GSE87466 为发现集,整合乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点及差异

表达基因,结合基因本体(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析、蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络、10种机器学习算法、免疫浸润分析和多维加权基因共表达网络分析(WGCNA),从计算生物学角度筛选乌梅治疗溃疡性结肠炎的候选关键基因;并在GSE38713和GSE75214中对候选基因的表达一致性及辅助诊断价值进行验证,以期后续实验研究和机制阐释提供依据。

1 方法

1.1 数据来源

从GEO数据库下载GSE87466、GSE38713和GSE75214数据集。GSE87466作为发现集,用于差异表达分析、乌梅-溃疡性结肠炎候选作用基因筛选、功能富集分析、PPI网络构建、机器学习筛选、免疫浸润分析及多维WGCNA。GSE38713和GSE75214作为外部验证集,用于候选基因表达一致性及辅助诊断价值验证。对各数据集分别进行背景校正、标准化处理及基因注释转换;当同一基因对应多个探针时,取其平均表达值作为该基因的表达水平。本研究未将发现集与外部验证集合并建模,而是分别用于筛选与独立验证。

1.2 差异表达分析及乌梅-溃疡性结肠炎候选靶点获取

采用R软件及limma包对GSE87466进行差异表达分析,以调整后 $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 1$ 为筛选条件,筛选溃疡性结肠炎组与正常对照组之间的差异表达基因(DEGs),并绘制热图和火山图。随后在TCMSP、HIT、HERB、BATMAN和ETCM数据库检索乌梅相关成分及作用靶点,其中TCMSP数据库以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为活性成分筛选条件;对补充成分在PubChem获取结构信息后导入Swiss Target Prediction预测潜在靶点,合并去重后构建乌梅作用靶点库。以“ulcerative colitis”为关键词,在GeneCards、TTD、DrugBank、OMIM、DisGeNET和TCMIP数据库检索溃疡性结肠炎相关靶点,其中GeneCards保留 $score \geq 1$ 的条目。将药物靶点、疾病靶点与GSE87466-DEGs取交集,获得乌梅治疗溃疡性结肠炎的候选作用基因。

1.3 GO、KEGG富集分析及PPI网络构建与核心基因筛选

以乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点与GSE87466差异表达基因的交集基因为研究对象,进行GO功能富集、KEGG通路富集及PPI网

络分析。GO分析包括生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)3个层面,KEGG分析用于筛选候选基因涉及的主要信号通路。将交集基因导入PPI网络进行拓扑分析,计算节点的度中心性、中介中心性和接近中心性等指标,并根据网络拓扑参数筛选核心基因。

1.4 机器学习筛选关键基因

以乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点与GSE87466差异表达基因取交集获得的90个候选基因为基础,在GSE87466中分别采用最小绝对收缩和选择算子(LASSO)、随机森林(RF)、支持向量机(SVM)、XGBoost、决策树(DT)、K近邻(KNN)、神经网络(NNET)、梯度提升机(GBM)、广义线性模型(GLM)及C5.0共10种算法进行特征筛选。结合不同算法筛得基因的重复支持情况,筛选候选hub基因,并在GSE87466中对候选基因进行表达验证。

1.5 差异表达验证与候选关键基因筛选

对候选hub基因在GSE87466、GSE38713和GSE75214中进行表达验证,分析其不同数据集中的表达趋势及稳定性。在此基础上,于GSE87466中分别构建6基因和4基因Logistic回归模型,并结合模型判别能力、校准能力、临床净获益及模型简洁性比较结果,确定最终hub基因。随后在GSE38713和GSE75214中对最终模型进行进一步验证。

1.6 诊断模型评估

对Logistic回归模型采用ROC曲线、列线图、校准曲线、决策曲线和PCA图进行评估,以评价模型的判别能力、校准能力及潜在临床应用价值。

1.7 免疫浸润分析

用单样本基因集富集分析方法评估GSE87466中27类免疫细胞的浸润水平,比较溃疡性结肠炎组与正常对照组之间的差异,并分析最终hub基因与免疫细胞浸润水平之间的相关性,以探讨关键基因在溃疡性结肠炎免疫炎症微环境中的潜在作用。

1.8 多维WGCNA

基于GSE87466,对样本进行聚类及离群值检测后,剔除2个离群样本,最终纳入106个样本用于多维WGCNA。以Group及免疫浸润分析中具有代表性的免疫细胞为性状,包括中性粒细胞、单核细胞、M1型巨噬细胞、活化树突状细胞和 $CD4^+$ T细胞,构建多维WGCNA网络。筛选与疾病状态及免疫浸润密切相关的共表达模块,并结合基因显著

性 (GS) 和模块成员度 (MM) 评估最终 hub 基因在关键模块中的位置。

1.9 分子对接

结合乌梅候选活性成分筛选结果及既往相关药理学研究证据, 选取山柰酚、柚皮素和 β -谷甾醇作为代表性候选活性成分进行分子对接, 并以最终筛选得的 4 个 hub 基因编码蛋白溶质载体家族 16 成员 1 (SLC16A1)、血管细胞黏附分子 1 (VCAM1)、水通道蛋白 8 (AQP8) 和双氧化酶 2 (DUOX2) 作为受体进行分子对接分析。受体蛋白三维结构均从 AlphaFold Protein Structure Database 获取, 物种限定为 Homo sapiens, 对应 UniProt 编号分别为 SLC16A1 (P53985)、VCAM1 (P19320)、AQP8 (O94778) 和 DUOX2 (Q9NRD8)。配体采用其三维结构文件进行对接分析。对接前对受体和配体结构进行预处理, 包括去除无关分子、补加氢原子及结构优化等, 以保证对接结果的可靠性。随后对活性成分与靶蛋白

进行分子对接, 并以结合能作为评价指标。

2 结果

2.1 GSE87466 差异表达基因筛选及乌梅 - 溃疡性结肠炎候选作用基因获取

对 GSE87466 进行差异表达分析后, 共筛得 972 个差异表达基因, 其中上调基因 620 个, 下调基因 352 个。火山图显示差异表达基因在两组间分布清晰, 聚类热图显示溃疡性结肠炎组与正常对照组整体表达模式存在明显差异, 提示该数据集具有较好的组间区分度。TCMSP 数据库中依据 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 的条件筛得 8 个符合条件的乌梅候选活性成分, 并结合 HIT、HERB、BATMAN 和 ETCM 数据库收录的相关成分及作用靶点进行补充整合, 合并去重后构建乌梅潜在作用靶点库。进一步将乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点与 GSE87466-DEGs 取交集, 共获得 90 个候选基因, 作为后续 PPI 网络构建及功能分析的基础, 见图 1。

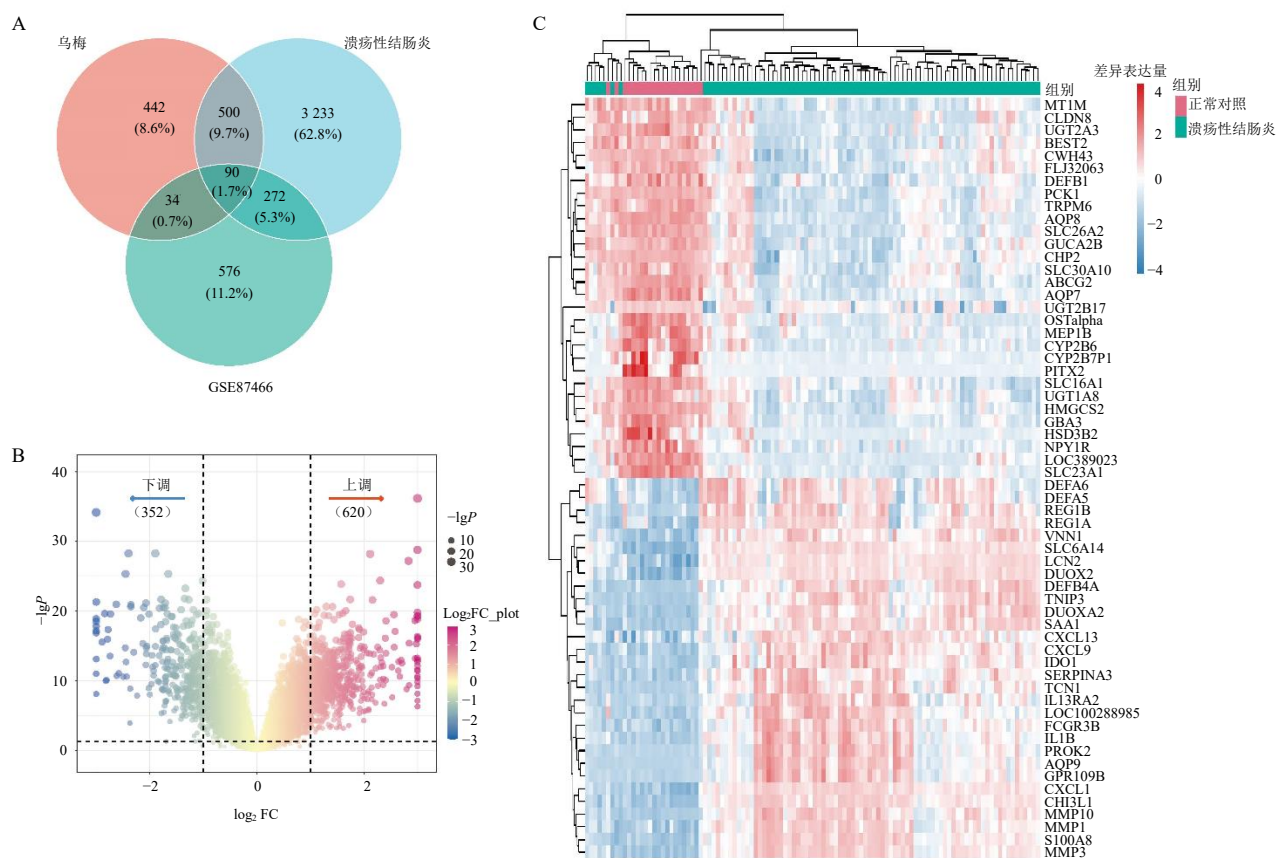


图 1 乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病靶点与 GSE87466 差异表达基因的韦恩图 (A)、GSE87466 差异表达基因火山图 (B)、GSE87466 差异表达基因聚类热图 (C)

Fig. 1 Venn diagram of potential targets of *Mume Fructus*, ulcerative colitis-related targets and differentially expressed genes in GSE87466 (A), volcano plot of differentially expressed genes in GSE87466 (B), and clustering heatmap of differentially expressed genes in GSE87466 (C)

2.2 GO、KEGG 富集分析及 PPI 网络构建

GO 分析显示, 交集基因主要参与细菌来源分子和脂多糖刺激反应、炎症反应调控等 BP, 主要定位于细胞黏附相关蛋白复合物、分泌颗粒膜、膜筏和质膜外侧等 CC, 并具有 G 蛋白偶联受体结合、金属内肽酶活性、细胞因子受体结合和整合素结合等 MF。KEGG 分析显示, 相关基因主要富集于白细胞介素 (IL)-17 信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、脂质与动脉粥样硬化及类风湿关节炎等通路。进一步构建 PPI 网络, 结果显示该网络包含 68 个节点和 320 条边, 共筛得 36 个核心靶点, 其中 IL-6、IL-1B、TNF、趋化因子配体 2 (CCL2) 和基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 等位于网络中心区域, 提示其可能在乌梅干预溃疡性结肠炎过程中发挥重要作用, 见图 2、3。

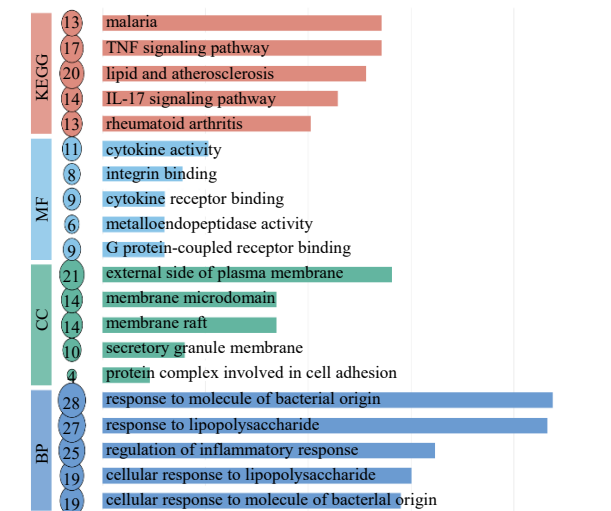


图 2 GO 和 KEGG 富集分析

Fig. 2 GO and KEGG enrichment analyses

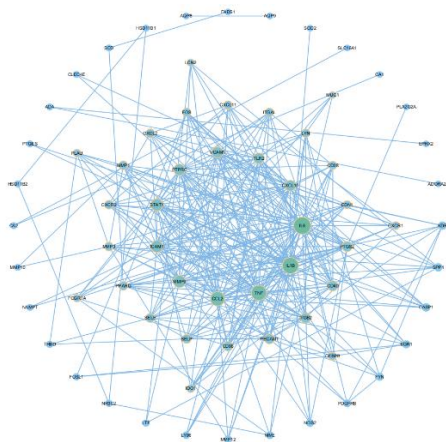


图 3 PPI 网络

Fig. 3 PPI network

2.3 10 种机器学习算法筛选候选关键靶基因

基于 90 个候选交集基因, 在 GSE87466 中采用 LASSO、RF、SVM、XGBoost、DT、KNN、NNET、GBM、GLM 和 C5.0 共 10 种机器学习算法进行特征筛选, 共获得 37 个初筛基因。不同算法对部分基因具有重复支持, 提示这些基因具有较好的筛选稳定性。结合不同算法重复支持情况及后续表达差异分析, 最终纳入 *SLC16A1*、*AQP8*、ATP 结合盒亚家族 G 成员 2 (*ABCG2*)、*VCAM1*、核受体亚家族 1H 组成员 4 (*NR1H4*) 和 *DUOX2* 共 6 个候选关键靶基因, 用于后续跨数据集验证与模型比较。进一步在 GSE87466 中对上述 6 个候选基因进行表达验证, 结果显示 *SLC16A1*、*AQP8*、*ABCG2* 和 *NR1H4* 在溃疡性结肠炎组中低表达, *VCAM1* 和 *DUOX2* 在溃疡性结肠炎组中高表达, 且差异均具有统计学意义, 提示机器学习筛得的候选基因发现集中具有较好的表达区分能力, 见图 4。

2.4 候选关键靶基因的跨数据集表达验证及最终 hub 基因确定

对 6 个候选关键靶基因在 GSE87466、GSE38713 和 GSE75214 中进行表达验证。结果显示, *SLC16A1* 和 *AQP8* 在溃疡性结肠炎组中总体呈低表达趋势, *VCAM1* 和 *DUOX2* 在溃疡性结肠炎组中总体呈高表达趋势, 且在不同数据集中的变化方向较一致。进一步比较不同基因组合的模型表现发现, 4 基因组合在保持较好区分能力的同时结构更为简洁, 且在外部验证集中表现稳定。因此, 最终确定 *SLC16A1*、*AQP8*、*VCAM1* 和 *DUOX2* 为乌梅干预溃疡性结肠炎的最终 hub 基因, 见图 5、6。

2.5 最终 hub 基因组合的辅助诊断模型构建与外部验证

基于最终 4 个 hub 基因构建 Logistic 回归辅助诊断模型。结果显示, 4 基因模型在 GSE87466 中的曲线下面积 (AUC) 为 1.000, 在 GSE38713 和 GSE75214 中的 AUC 分别为 0.933、0.988, 提示该模型在发现集及外部验证集中均具有较好的区分能力。结合 GSE38713 和 GSE75214 中的表达验证结果可见, *SLC16A1*、*AQP8*、*VCAM1* 和 *DUOX2* 构成的 4 基因模型在不同数据集中均具有较好的稳定性和辅助诊断价值, 见图 7。

2.6 GSE87466 免疫浸润分析

基于 ssGSEA 对 GSE87466 进行免疫浸润分析, 共纳入 27 类免疫细胞, 其中 26 类在溃疡性结肠炎

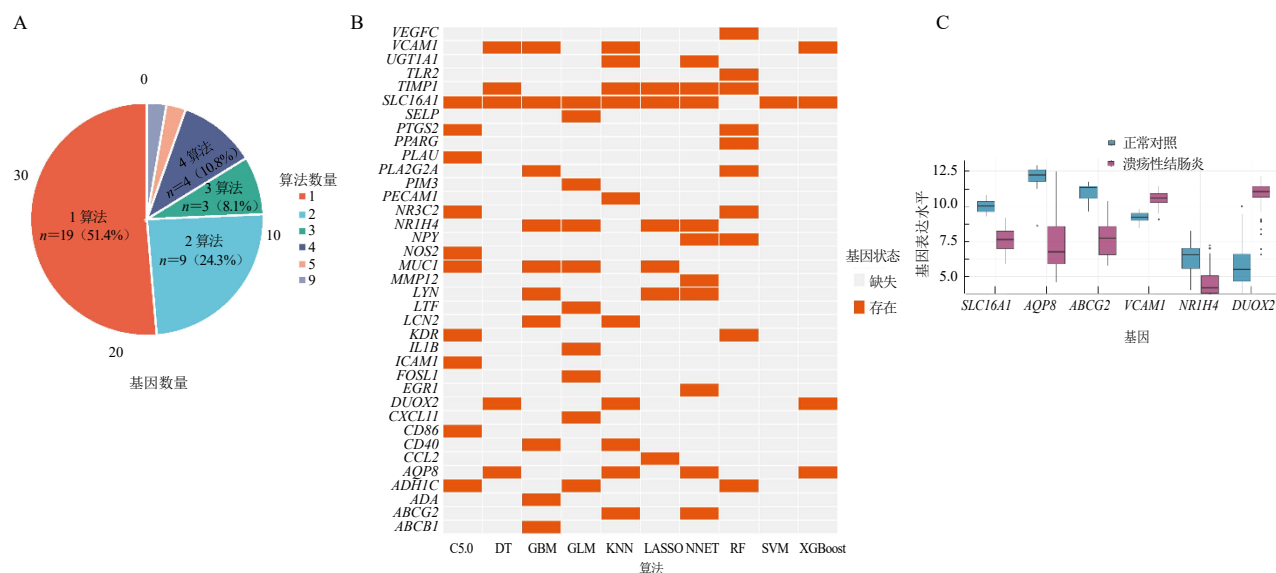


图 4 不同机器学习算法支持频次下的基因分布 (A)、10 种机器学习算法筛得基因的交集 heatmap (B) 和关键候选基因在 GSE87466 中的表达验证 (C)

Fig. 4 Gene distribution according to the support frequency of different machine learning algorithms (A), intersection heatmap of genes screened by 10 machine learning algorithms (B), and expression validation of candidate key genes in GSE87466 (C)

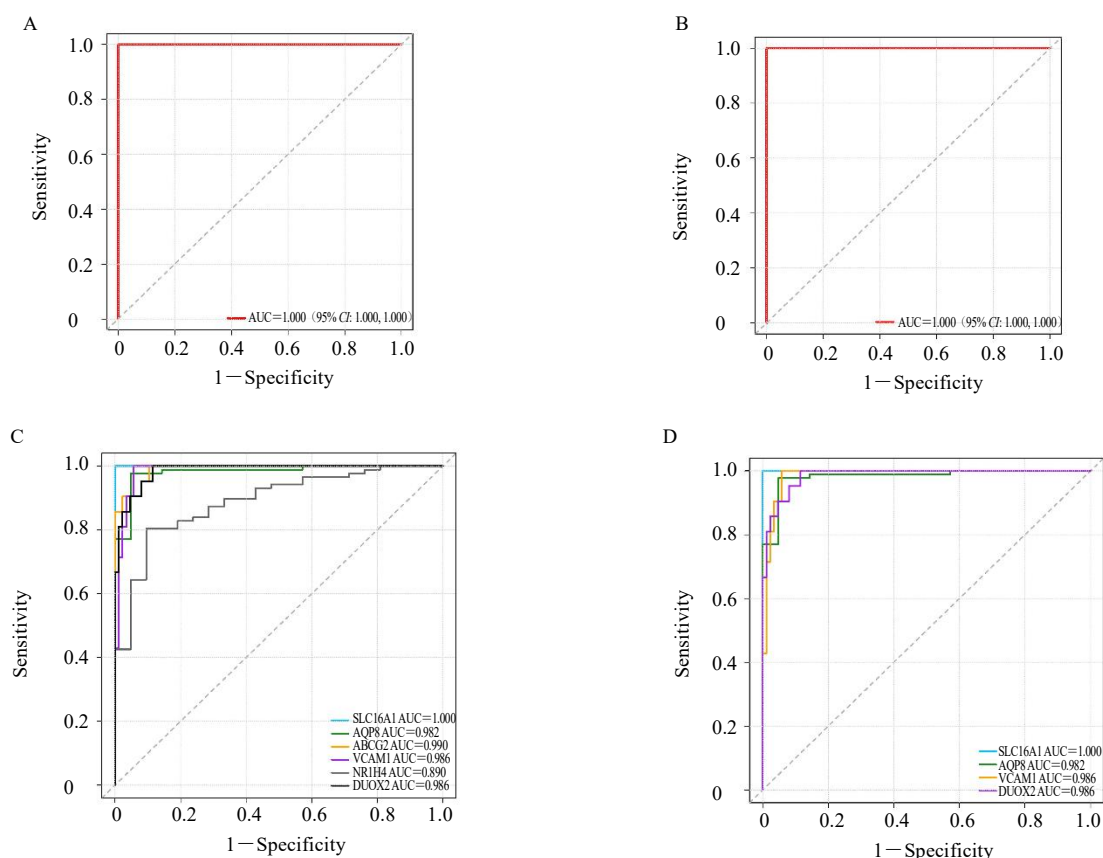


图 5 6 基因 (A)、4 基因 (B) 联合诊断模型 ROC 曲线和 6 基因 (C)、4 基因 (D) 单基因 ROC 曲线

Fig. 5 ROC curve of the 6-gene (A) and 4-gene (B) combined diagnostic model and ROC curves of individual genes in the 6-gene (C) and 4-gene (D) model

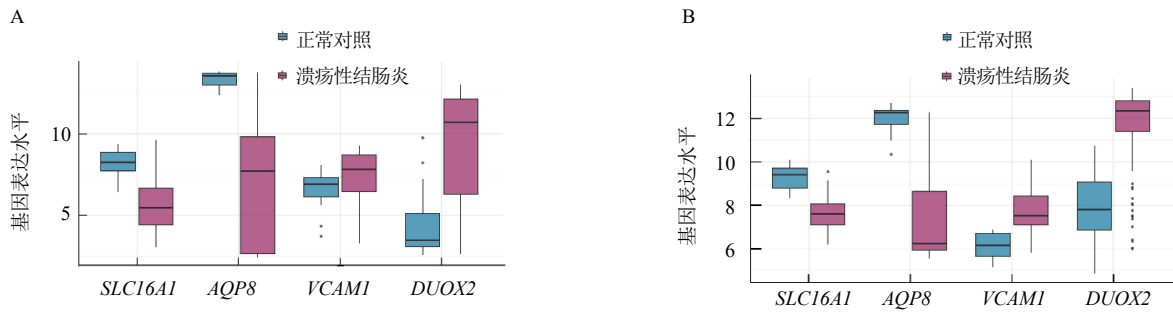


图 6 最终 4 个 hub 基因在 GSE38713 (A) 和 GSE75214 (B) 中的表达验证

Fig. 6 Expression validation of the four candidate key genes in GSE38713 (A) and GSE75214 (B)

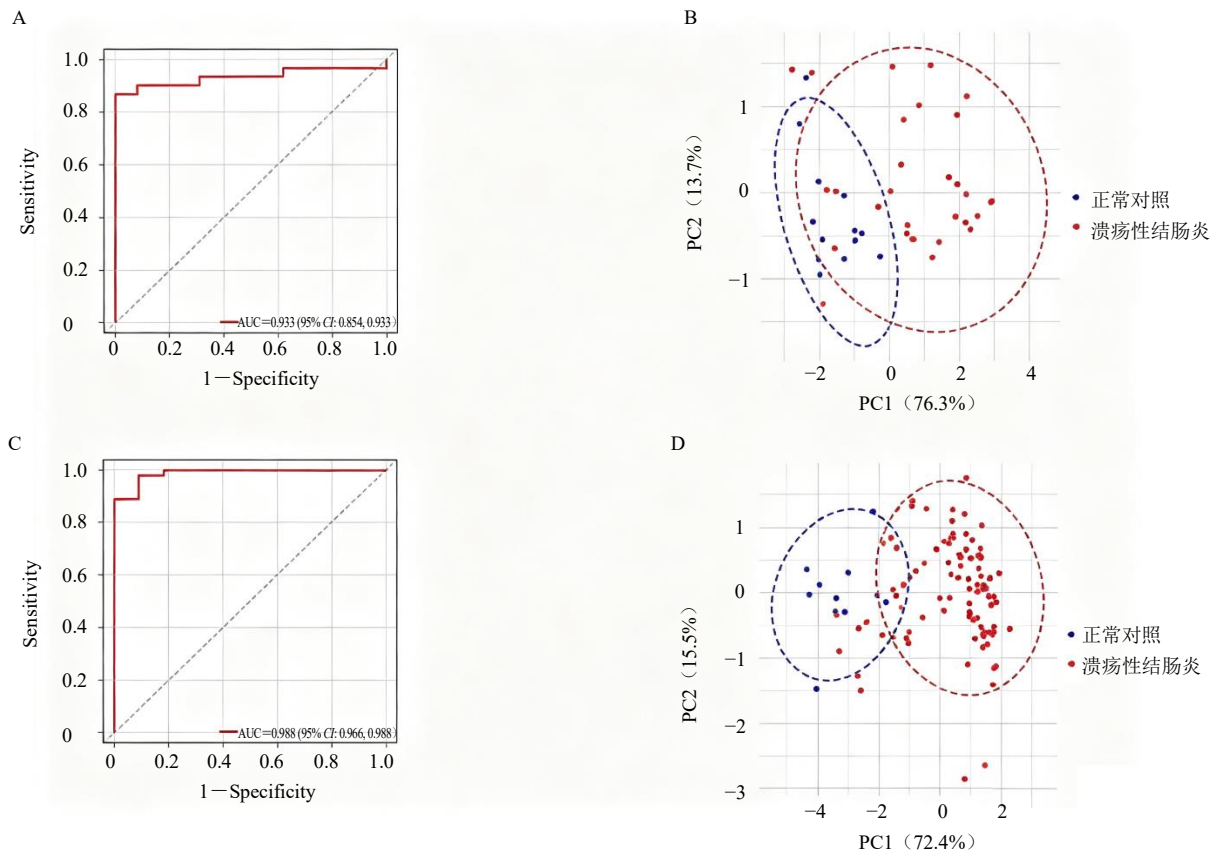


图 7 GSE38713 中 4 基因联合诊断模型 ROC 曲线 (A) 和 PCA 图 (B), GSE75214 中 4 基因联合诊断模型 ROC 曲线 (C) 和 PCA 图 (D)

Fig. 7 ROC curve (A) and PCA plot (B) of the 4-gene combined diagnostic model in GSE38713 and ROC curve (C) and PCA plot (D) of the 4-gene combined diagnostic model in GSE75214

组与正常对照组之间差异具有统计学意义。总体来看, 溃疡性结肠炎组中 B 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、自然杀伤细胞/自然杀伤细胞 T 细胞、单核细胞、M1/M2 巨噬细胞、树突状细胞、浆细胞样树突状细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、浆细胞、细胞毒性细胞、耗竭 T 细胞、中枢记忆 T 细胞、效应记忆 T 细胞、活化 CD8⁺ T 细胞和活化树突状细胞等细胞浸润水平升高, 而 Th1 细胞、Th17 细胞和调节性 T

细胞等细胞相对降低, 提示溃疡性结肠炎组织存在明显的免疫激活和炎症细胞浸润。进一步相关性分析显示, AQP8 和 SLC16A1 与大多数免疫细胞浸润水平总体呈负相关, 而 VCAM1 和 DUOX2 与大多数免疫细胞浸润水平总体呈正相关。其中, AQP8 与中性粒细胞、单核细胞和 M1 巨噬细胞呈较强负相关, VCAM1 与 CD4⁺ T cells、树突状细胞、活化树突状细胞和中枢记忆 T 细胞呈较强正相关。上述结果提示,

最终 4 个 hub 基因可能通过参与免疫炎症微环境调控而影响溃疡性结肠炎的发生发展, 见图 8。

2.7 GSE87466 多维 WGCNA

样本聚类结果显示, 纳入分析的样本整体质量较好, 未见新的明显离群样本。软阈值分析表明, 随着软阈值增大, 尺度无关拓扑拟合指数逐渐升高, 所构建网络符合无尺度网络特征。进一步进行模块识别和模块合并后, 共获得多个共表达模块。模块-trait 相关性分析显示, ME_{darkslateblue} 与 Group 及中性粒细胞、单核细胞和 M1 巨噬细胞、活化树突状细胞和 CD4⁺ T 细胞均呈显著正相关, 相关系数分别为 0.71、0.89、0.89、0.86、0.90、0.87; ME_{brown2} 与上述性

状均呈显著负相关, 相关系数分别为-0.89、-0.76、-0.83、-0.83、-0.79、-0.72, 提示上述模块分别代表与疾病和炎症浸润增强或降低相关的关键共表达模块。结合 GS/MM 分析, 最终 4 个 hub 基因中, VCAM1 和 DUOX2 位于 darkslateblue 模块, 且与疾病状态及关键免疫细胞浸润总体呈正相关; SLC16A1 位于 brown2 模块, 与疾病状态及关键免疫细胞浸润总体呈负相关; AQP8 归属于 darkslateblue 模块, 但其与疾病状态及免疫浸润总体呈负相关, 并具有较高绝对模块成员度。上述结果提示, 最终 4 个 hub 基因与溃疡性结肠炎免疫炎症微环境密切相关, 可能参与疾病发生发展的不同调控方向, 见图 9。

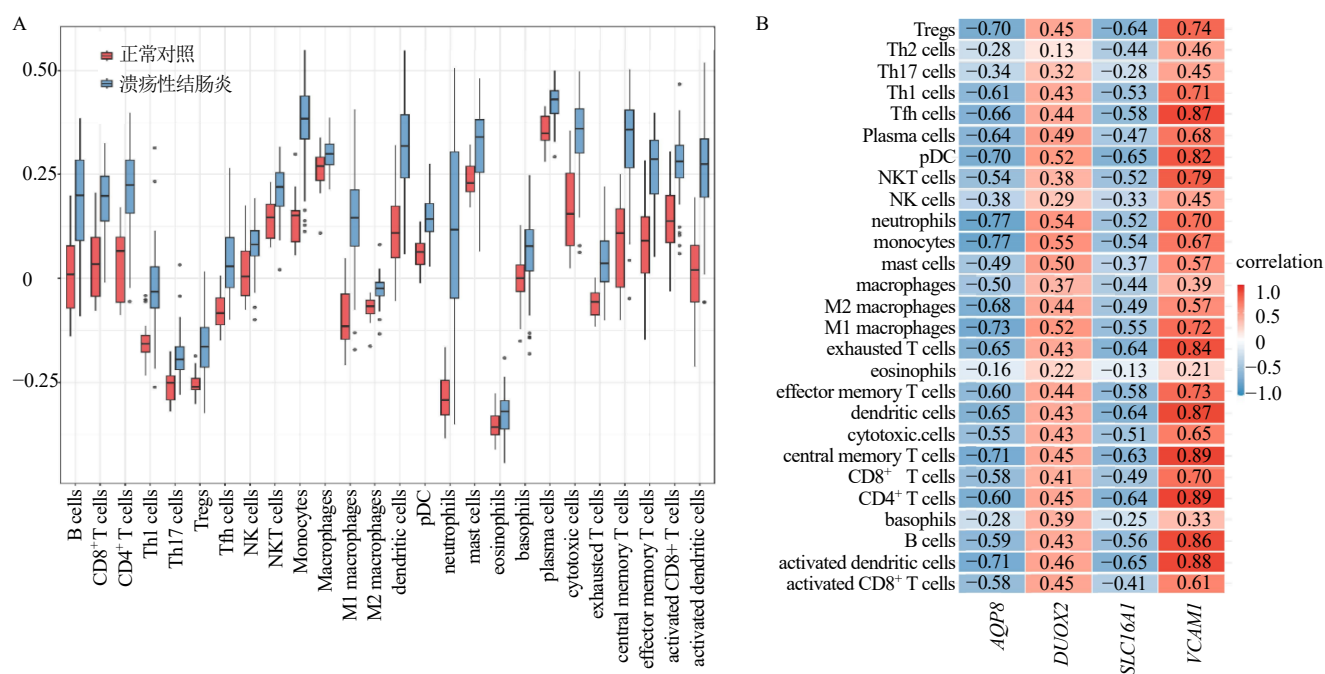


图 8 显著差异免疫细胞分组比较图 (A) 和 4 基因与免疫细胞浸润水平的相关性热图 (B)

Fig. 8 Group comparison of significantly different immune cells (A) and correlation heatmap between four genes and immune cell infiltration levels (B)

2.8 分子对接

所有配体-受体复合物的最佳结合能均不高于-6.98 kcal/mol (1 cal=4.2 J), 且结果提示配体均位于对接盒内, 说明各活性成分与关键靶蛋白之间均具有较好的结合活性。具体而言, SLC16A1 与 β -谷甾醇的结合能 (-8.81 kcal/mol) 最低, 为本次对接中的最优组合; VCAM1 与 β -谷甾醇、山柰酚和柚皮素的结合能分别为-8.43、-8.25、-8.21 kcal/mol, 均表现出较强亲和力; DUOX2 与柚皮素的结合能为-8.17 kcal/mol, 提示二者具有较稳定的结合能力。相比之下, AQP8 与山柰酚的结合能为-6.98 kcal/mol, 虽仍具有良好结合活性, 但在所有组合中相对较弱。总体

来看, 乌梅活性成分与最终 4 个 hub 基因编码蛋白均具有较好的结合潜能, 其中 SLC16A1、VCAM1 和 DUOX2 可能是更具优势的关键作用靶点。进一步对代表性复合物进行可视化分析发现, 活性成分能够稳定嵌入受体蛋白结合口袋, 并与周围氨基酸残基形成较稳定的相互作用。考虑到部分复合物虽具有较低结合能, 但相互作用模式以疏水作用为主、图形展示不够直观, 因此本研究优先选取结合能较低且相互作用显示更清晰的配体-受体复合物作为代表进行展示。上述结果从结构层面支持了乌梅活性成分通过作用于 SLC16A1、VCAM1、AQP8 和 DUOX2 干预溃疡性结肠炎的可能性, 见图 10、11。

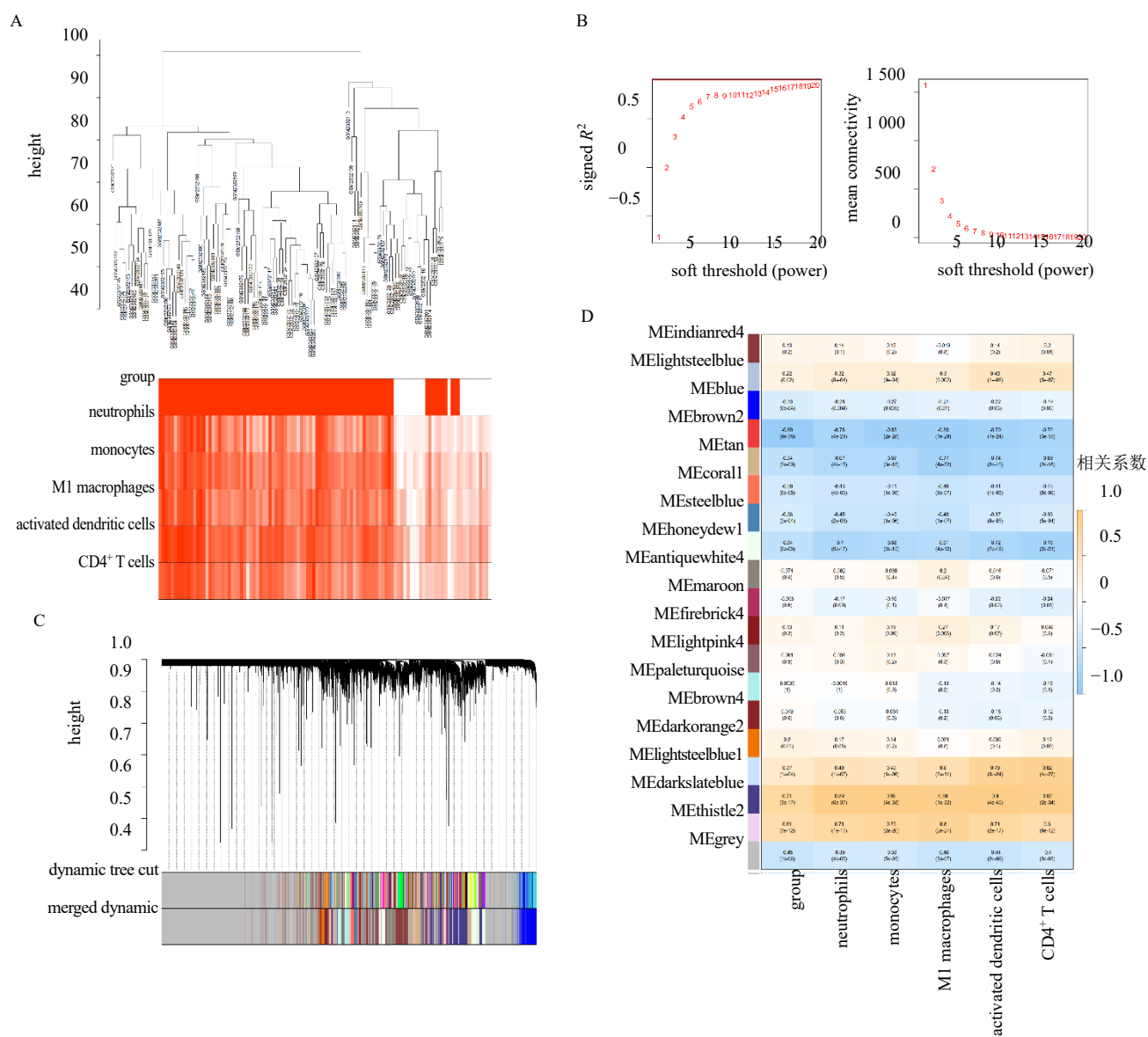


图 9 样本聚类及 trait 热图 (A)、软阈值分析图 (B)、模块识别及合并结果 (C) 和模块-trait 关系热图 (D)
Fig. 9 Sample clustering and trait heatmap (A), soft-thresholding power analysis (B), module identification and merging results (C), and module-trait relationship heatmap (D)

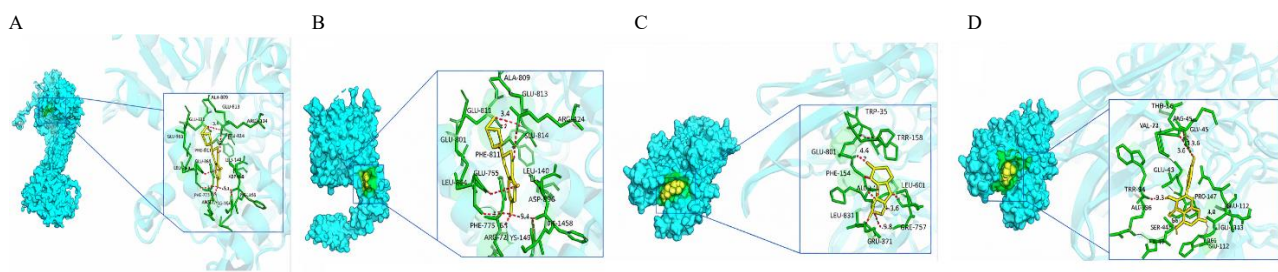


图 10 DUOX2 与柚皮素 (A)、SLC16A1 与柚皮素 (B)、VCAM1 与 β -谷甾醇 (C)、VCAM1 与山奈酚 (D) 相互作用模式图
Fig. 10 Interaction patterns of DUOX2 and naringenin (A), SLC16A1 and naringenin (B), VCAM1 and β -sitosterol (C), and VCAM1 and kaempferol (D)

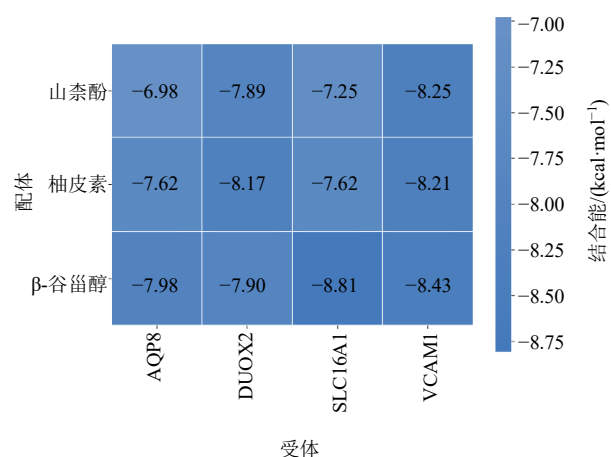


图 11 乌梅活性成分与关键靶蛋白的分子对接结合能热图
Fig. 11 Molecular docking binding-energy heatmap of active components of *Mume Fructus* and key target proteins

3 讨论

本研究整合乌梅潜在作用靶点、溃疡性结肠炎疾病相关靶点及溃疡性结肠炎疾病表达谱，筛选出 *SLC16A1*、*AQP8*、*VCAM1* 和 *DUOX2* 这 4 个候选关键基因。富集分析显示，候选基因主要涉及炎症反应、脂多糖刺激反应、细胞黏附、细胞因子受体结合以及 IL-17、TNF 等炎症相关信号通路。溃疡性结肠炎的发生发展与肠上皮屏障损伤、肠道菌群失衡和免疫反应异常激活密切相关^[3, 16]。细胞因子网络失衡在溃疡性结肠炎中具有关键作用，TNF、IL-23、IL-17、IL-6 和 IL-1 β 等炎症因子可参与慢性肠道炎症维持和组织损伤^[17]。此外，核因子- κ B、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B、Toll 样受体、Janus 激酶/信号传导及转录激活蛋白等通路也与溃疡性结肠炎炎症反应、屏障破坏和免疫调控异常有关^[5, 18]。因此，本研究富集到的相关生物过程和信号通路与溃疡性结肠炎已知病理机制总体一致，提示乌梅干预溃疡性结肠炎可能涉及上皮稳态、免疫炎症和氧化应激等过程。

SLC16A1 和 *AQP8* 主要反映溃疡性结肠炎中上皮稳态受损。肠上皮紧密连接由闭合蛋白、密封蛋白和闭锁小带蛋白等蛋白共同维持，其结构和功能异常可导致肠通透性升高并促进炎症反应持续^[19-20]。*SLC16A1* 编码单羧酸转运蛋白 1，是短链脂肪酸尤其丁酸进入肠上皮细胞的重要转运体。丁酸是结肠上皮细胞的重要能量来源，并参与肠上皮屏障和免疫稳态调节^[21]。短链脂肪酸还可通过单羧酸转运蛋白 1、钠偶联单羧酸转运蛋白 1 等转运体进入细胞，

或通过 G 蛋白偶联受体 41、G 蛋白偶联受体 43 和 G 蛋白偶联受体 109A 等受体发挥免疫调节作用^[22]。本研究中 *SLC16A1* 在 3 个数据集中均呈低表达，且与多数免疫细胞浸润总体呈负相关，提示其下调可能与丁酸转运受限、上皮能量代谢障碍和黏膜保护能力下降有关。近年溃疡性结肠炎生物信息学研究也将 *SLC16A1* 筛选为溃疡性结肠炎相关关键基因，并验证其在溃疡性结肠炎黏膜中下调^[23-24]。*AQP8* 主要与肠上皮水转运和液体稳态有关。既往研究显示，*AQP8* 表达降低是胶原性结肠炎活动期的重要特征之一，且 *AQP8* 低表达与排便频率升高相关^[25]。水通道蛋白家族在肠道水转运、屏障功能、炎症反应和氧化应激中具有重要作用，*AQP* 表达异常可能与多种肠道疾病相关^[26]。本研究中 *AQP8* 在溃疡性结肠炎组中低表达，并与多数免疫细胞浸润总体呈负相关，提示其可能与炎症状态下肠上皮水转运异常和屏障稳态下降有关。结合 *SLC16A1* 的表达变化，二者可能共同反映溃疡性结肠炎中上皮代谢、水转运及黏膜稳态受损这一病理环节。*VCAM1* 和 *DUOX2* 则更多反映炎症募集、氧化应激增强及黏膜损伤持续。*VCAM1* 是血管细胞黏附分子，可通过与 $\alpha_4\beta_1$ 和 $\alpha_4\beta_7$ 等整合素相互作用，促进免疫细胞黏附、停留和跨内皮迁移^[27]。相关研究显示，*VCAM1* 与溃疡性结肠炎炎症细胞募集、黏膜炎症活动和屏障损伤密切相关^[28]。本研究中 *VCAM1* 在溃疡性结肠炎组高表达，并与单核细胞、中性粒细胞、M1 型巨噬细胞及活化树突状细胞等炎症相关免疫细胞浸润呈正相关，提示其可能参与溃疡性结肠炎局部炎症细胞募集和黏膜炎症维持。*DUOX2* 是肠上皮中重要的活性氧生成酶，参与上皮先天免疫、微生物防御和黏膜稳态调节^[29]。转录组研究显示，*DUOX2* 在溃疡性结肠炎样本中显著上调，并与活性氧生成、趋化因子信号和炎症反应有关^[30]。本研究中 *DUOX2* 在溃疡性结肠炎组高表达，并与多种炎症相关免疫细胞浸润呈正相关，提示其可能通过上皮来源活性氧生成、氧化应激增强和菌群-免疫互作紊乱参与溃疡性结肠炎炎症反应。免疫浸润分析和多维 WGCNA 进一步支持上述机制判断。溃疡性结肠炎黏膜炎症涉及中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、T 细胞和 B 细胞等免疫细胞的组成和状态变化^[31-32]。本研究中 *SLC16A1* 和 *AQP8* 总体与免疫细胞浸润呈负相关，而 *VCAM1* 和 *DUOX2* 总体与炎症相关免疫细胞浸润呈正相

关,说明 4 个基因在溃疡性结肠炎免疫微环境中可能具有不同作用方向。WGCNA 结果显示,VCAM1 和 DUOX2 位于与疾病状态及炎症浸润增强方向一致的 MEdarkslateblue 模块,SLC16A1 位于与上述性状负相关的 MEbrown2 模块。AQP8 虽然归属于 MEdarkslateblue 模块,但其自身在溃疡性结肠炎组中低表达,且与多数免疫细胞浸润呈负相关。共表达模块反映的是整体转录背景中的协同变化趋势,并不意味着模块内所有基因均与表型方向完全一致。因此,AQP8 可能处于炎症相关转录背景中,但其自身表达变化更接近上皮稳态相关分子受抑的表现。综合来看,SLC16A1、AQP8、VCAM1 和 DUOX2 分别对应溃疡性结肠炎中上皮稳态受损和炎症损伤增强两个相关病理过程。SLC16A1 下降可能与丁酸转运减少和上皮能量代谢受损有关,AQP8 下降可能与肠上皮水转运异常和液体稳态破坏有关;VCAM1 升高可能与白细胞黏附迁移和炎症细胞募集有关,DUOX2 升高则可能与上皮来源 ROS 生成、氧化应激增强及菌群-免疫互作异常有关。类似研究也常将 WGCNA、机器学习和免疫浸润分析结合,用于筛选溃疡性结肠炎诊断标志物并解释其与免疫微环境的关系^[33-34]。氧化应激和免疫浸润相关研究也提示,DUOX2、SLC16A1 等基因可作为溃疡性结肠炎分子标志物并参与疾病相关免疫炎症网络^[35-36]。因此,本研究筛得的 4 个基因不仅具有表达差异意义,也与溃疡性结肠炎免疫炎症微环境密切相关,具有一定辅助诊断潜力。

乌梅及其活性成分的既往研究为上述推测提供了一定依据。乌梅提取物可促进葡聚糖硫酸钠诱导结肠炎小鼠的结肠黏膜愈合,其机制可能与胞质磷脂酶 A₂ 介导的溶血磷脂酰胆碱合成及上皮细胞迁移增强有关^[10]。醋酸诱导溃疡性结肠炎大鼠研究显示,乌梅可降低 TNF- α 、IL-8、MMP9 等炎症相关指标,并通过降低活性氧和丙二醛、提高超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶发挥抗氧化作用^[37]。Gong 等^[9]研究显示,乌梅含有有机酸、酚类、黄酮和萜类等多类成分,并具有抗炎、抗氧化和胃肠道保护等药理作用。分子对接结果显示,山柰酚、柚皮素和 β -谷甾醇与 SLC16A1、AQP8、VCAM1 和 DUOX2 编码蛋白均具有较好的结合潜能。山柰酚可缓解葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎,并抑制脂多糖-Toll 样受体 4-核因子- κ B 轴^[12]。柚皮素可降低葡聚糖硫酸钠诱导结肠炎小鼠炎症和氧化应激水

平,并改善肠屏障功能^[38]。 β -谷甾醇可通过抑制核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体 3/半胱氨酸蛋白酶-1/焦亡素 D 介导的细胞焦亡减轻葡聚糖硫酸钠诱导的实验性结肠炎^[15]。结合本研究结果,乌梅相关活性成分可能通过影响上述关键靶点,参与上皮稳态、免疫炎症和氧化应激相关过程的调节。

本研究仍存在一定局限。相关结果主要基于公共数据库和计算分析,关键基因功能及乌梅活性成分与靶蛋白之间的直接作用关系仍需细胞、动物或临床样本进一步验证;同时,不同数据集间的样本来源、检测平台及临床信息差异也可能对结果产生影响。综上,乌梅可能通过调控与上皮稳态、免疫炎症及氧化应激相关的分子网络干预溃疡性结肠炎的发生发展。SLC16A1、AQP8、VCAM1 和 DUOX2 可能是乌梅干预溃疡性结肠炎的重要关键靶基因,并具有一定辅助诊断潜力,为后续机制研究和实验验证提供了依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Janssen L M, Ardabili A R, Romberg-Camps M J L, *et al.* Abdominal pain in patients with inflammatory bowel disease in remission: A prospective study on contributing factors [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2023, 58(10): 1041-1051.
- [2] van Gils T, Törnblom H, Hreinsson J P, *et al.* Factors associated with abdominal pain in patients with active and quiescent ulcerative colitis: A multicohort study [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2025, 61(2): 268-277.
- [3] Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2023, 402(10401): 571-584.
- [4] Bu S Y, Cheng X Z, Chen M, *et al.* Ulcerative colitis: Advances in pathogenesis, biomarkers, and therapeutic strategies [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2025, 18: 219-238.
- [5] 高松林, 覃雁, 张鹏, 等. 基于生物信息学分析活动期溃疡性结肠炎铜死亡相关基因及调控中药预测 [J]. *中草药*, 2024, 55(5): 1627-1640.
- [6] 张君成, 梁华, 王燕, 等. 乌梅药理作用研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021(8): 122-126.
- [7] Liu Z H, Peng Y, Ma P, *et al.* An integrated strategy for anti-inflammatory quality markers screening of traditional Chinese herbal medicine *Mume Fructus* based on phytochemical analysis and anti-colitis activity [J]. *Phytomedicine*, 2022, 99: 154002.

- [8] Bailly C. Anticancer properties of *Prunus mume* extracts (Chinese plum, Japanese apricot) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 246: 112215.
- [9] Gong X P, Tang Y, Song Y Y, *et al.* Comprehensive review of phytochemical constituents, pharmacological properties, and clinical applications of *Prunus mume* [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 679378.
- [10] Zhang J, Li Z, Zhang Y, *et al.* Mume Fructus (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) extract accelerates colonic mucosal healing of mice with colitis induced by dextran sulfate sodium through potentiation of cPLA2-mediated lysophosphatidylcholine synthesis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 119: 154985.
- [11] Wang R, Wang X C, Ou J M. Network pharmacology-based approach reveals that *Fructus mume* exerts therapeutic effects against ulcerative colitis via the AGE/RAGE signaling pathway [J]. *Arab J Chem*, 2024, 17(2): 105534.
- [12] 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- κ B axis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 679897.
- [13] Yu R Y, Zhou Q L, Liu T L, *et al.* Kaempferol relieves the DSS-induced chronic colitis in C57BL/6J mice, alleviates intestinal angiogenesis, and regulates colonic microflora structure [J]. *J Funct Foods*, 2023, 107: 105646.
- [14] Azuma T, Shigeshiro M, Kodama M, *et al.* Supplemental naringenin prevents intestinal barrier defects and inflammation in colitic mice [J]. *J Nutr*, 2013, 143(6): 827-834.
- [15] Zhang D, Ge F, Ji J, *et al.* β -sitosterol alleviates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis via inhibition of NLRP3/Caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1218477.
- [16] Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, *et al.* Ulcerative colitis [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6: 74.
- [17] Neurath M F. Strategies for targeting cytokines in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2024, 24(8): 559-576.
- [18] Niu S Y, Zhang Y. Targeting the PI3K/Akt pathway for the treatment of ulcerative colitis: Integrative regulatory features of traditional Chinese medicine [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1620138.
- [19] Arumugam P, Saha K, Nighot P. Intestinal epithelial tight junction barrier regulation by novel pathways [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2025, 31(1): 259-271.
- [20] Chelakkot C, Ghim J, Ryu S H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(8): 1-9.
- [21] Parada Venegas D, De la Fuente M K, Landskron G, *et al.* Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 277.
- [22] Vagnerová K, Hudcovic T, Vodička M, *et al.* The effect of oral butyrate on colonic short-chain fatty acid transporters and receptors depends on microbial status [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1341333.
- [23] Yang Z H, Wu X X, Luo L, *et al.* Identification and validation of biomarkers related to centrosome replication in ulcerative colitis based on bulk transcriptome, single-cell RNA sequencing and experiments [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1627926.
- [24] Hong Z X, Fang S L, Nie H H, *et al.* Identification of the immune infiltration and biomarkers in ulcerative colitis based on liquid-liquid phase separation-related genes [J]. *Sci Rep*, 2025, 15: 4484.
- [25] Escudero-Hernández C, Münch A, Østvik A E, *et al.* The water channel aquaporin 8 is a critical regulator of intestinal fluid homeostasis in collagenous colitis [J]. *J Crohns Colitis*, 2020, 14(7): 962-973.
- [26] Zhu C, Nie X Y, Lu Q, *et al.* Roles and regulation of Aquaporin-3 in maintaining the gut health: An updated review [J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1264570.
- [27] Pickett J R, Wu Y A, Ta H T. VCAM-1 as a common biomarker in inflammatory bowel disease and colorectal cancer: Unveiling the dual anti-inflammatory and anti-cancer capacities of anti-VCAM-1 therapies [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2025, 44(2): 40.
- [28] Shi W, Sun H H, Yao Q Q, *et al.* Phellodendrine ameliorates intestinal inflammation and protects mucosal barrier via modulating COL1A1, VCAM1 and IL-17 a [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 152: 114403.
- [29] Castrillón-Betancur J C, López-Agudelo V A, Sommer N, *et al.* Epithelial dual oxidase 2 shapes the mucosal microbiome and contributes to inflammatory susceptibility [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(10): 1889.
- [30] Misaghian S, Jafri M S. Transcriptional profiling identification of inflammatory signaling pathways in ulcerative colitis [J]. *PLoS One*, 2025, 20(9): e0330332.
- [31] Saez A, Herrero-Fernandez B, Gomez-Bris R, *et al.* Pathophysiology of inflammatory bowel disease: Innate immune system [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1526.
- [32] Corridoni D, Antanaviciute A, Gupta T, *et al.* Single-cell atlas of colonic CD8⁺ T cells in ulcerative colitis [J]. *Nat Med*, 2020, 26(9): 1480-1490.
- [33] Yang Y M, Hua Y W, Zheng H, *et al.* Biomarkers prediction and immune landscape in ulcerative colitis: Findings based

- on bioinformatics and machine learning [J]. *Comput Biol Med*, 2024, 168: 107778.
- [34] Qi Y C, Wang Y C, Zhang S Y, *et al*. Identification of key biomarkers and immune microenvironment features in ulcerative colitis: An integrated analysis using WGCNA and multiple machine learning algorithms [J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 13879-13896.
- [35] Duan S W, Yi Q C, Qiu M, *et al*. Identification and experimental validation of oxidative stress-related biomarkers in ulcerative colitis using machine learning [J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 11415-11435.
- [36] Jiang L, Zhang S K, Jiang C L, *et al*. Integrative biomarker discovery and immune profiling for ulcerative colitis: A multi-methodological approach [J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 24290.
- [37] Xu Z Y, Zhang X L, Wang W Y, *et al*. *Fructus mume*(wu Mei) attenuates acetic acid-induced ulcerative colitis by regulating inflammatory cytokine, reactive oxygen species, and neuropeptide levels in model rats [J]. *J Med Food*, 2022, 25(4): 389-401.
- [38] Cao R G, Wu X, Guo H, *et al*. Naringin exhibited therapeutic effects against DSS-induced mice ulcerative colitis in intestinal barrier-dependent manner [J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6604.

【责任编辑 金玉洁】