

基于网络药理学的气滞胃痛颗粒治疗胃炎作用机制探讨和实验验证

杨晓娟¹, 郭国松², 牛明³, 王兰¹, 毛乾泰¹, 冀召帅¹, 艾超^{1*}

1. 清华大学附属北京清华长庚医院/清华大学临床医学院 药理学部, 北京 102218

2. 南方医院白云分院, 广东 广州 510080

3. 中国人民解放军总医院 第五医学中心 中毒救治科, 北京 100071

摘要: **目的** 采用网络药理学的方法预测气滞胃痛颗粒治疗胃炎主要活性成分的作用靶点及其作用机制, 并采用细胞实验对部分主要靶点进行实验验证。 **方法** 在中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 和网络药理学在线数据库 (TCMID) 中获得气滞胃痛颗粒组方中药柴胡、白芍、枳壳、香附 (炙)、延胡索 (炙)、甘草 (炙) 的化学成分, 并在 TCMSP 和 PharmMapper 数据库中收集活性成分对应的靶点, 在药物靶标数据库 (TTD) 和人类孟德尔遗传数据库 (OMIM) 数据库中搜索与胃炎相关的蛋白和基因, 建立胃炎靶点数据库; 通过 DIP 数据库将成分靶点和疾病靶点进行关联, 建立化合物-靶点-疾病网络。将气滞胃痛颗粒治疗胃炎的相关靶点输入 STRING 数据库中构建靶点之间的蛋白质相互作用 (PPI) 关系; 使用 DAVID 数据库对靶点进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 使用 Cytoscape 3.5.1 软件自带的 Glue GO 插件进行基因本体论 (GO) 生物功能注释; 通过人类基因和基因型综合数据库 (OMM) 筛选炎症相关细胞相关的基因和蛋白靶点, 对气滞胃痛颗粒治疗胃炎的靶细胞进行富集。体外细胞实验以巨噬细胞 RAW264.7 为对象, 采用 $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 脂多糖 (LPS) 和 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ γ 干扰素 (IFN- γ) 制备细胞模型, 以含有最大无毒剂量气滞胃痛颗粒内容物的培养基处理 RAW264.7 模型细胞, 采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法测定各组 RAW264.7 细胞中环氧化酶 2 (COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) mRNA 表达。 **结果** 网络药理学预测得到气滞胃痛颗粒治疗胃炎的主要潜在的活性成分 25 个, 重要靶点 20 个, 其中关键靶点包括 COX-2、iNOS、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK-14)、表皮生长因子受体 (EGFR) 等, 作用机制可能与调节 TNF 信号通路、NOD 样受体信号通路、VEGF 信号通路等与胃炎密切相关的信号通路有关, 其药效作用主要表现为对炎症、血管内稳态、免疫、中枢神经及激素调节等生物过程的影响。气滞胃痛颗粒对 RAW264.7 模型细胞中 COX-2、iNOS、IL-6、TNF- α 的 mRNA 表达具有显著抑制作用。 **结论** 气滞胃痛颗粒可能主要通过修复胃黏膜、减轻炎症损伤、消除感染等实现其治疗胃炎作用。

关键词: 气滞胃痛颗粒; 胃炎; 网络药理学; 环氧化酶 2; 诱导型一氧化氮合酶; 白细胞介素 6; 肿瘤坏死因子 α

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2022) 12-2430-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.12.005

Discussion on mechanism of Qizhi Weitong Granules in treating gastritis based on network pharmacology and experimental verification

YANG Xiaojuan¹, WU Guosong², NIU Ming³, WANG Lan¹, MAO Qiantai¹, JI Zhaoshuai¹, AI Chao¹

1. Department of Pharmacy, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, School of Clinical Medicine, Tsinghua University, Beijing 102218, China

2. Baiyun Branch of Nanfang Hospital, Guangzhou 510080, China

3. Department of Poisoning Treatment, Fifth Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100071, China

Abstract: **Objective** To predict the target and mechanism of Qizhi Weitong Granule in treating gastritis by network pharmacological method, and to verify some of the main targets by cell experiment. **Methods** The chemical components of *Bupleuri Radix*, *Paeoniae Radix Alba*, *Aurantii Fructus*, *Cyperii Rhizoma*, *Corydalis Rhizoma* and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* were obtained from TCMSP and TCMID, and the corresponding target points of active components were collected from TCMSP and

收稿日期: 2022-07-14

第一作者: 杨晓娟, 女, 硕士, 药师, 主要从事中药质量标准研究和血药浓度监测。E-mail: 1528059490@qq.com

*通信作者: 艾超, 男, 硕士, 副主任药师, 主要从事医院药学和医事管理。E-mail: aichao@btch.edu.cn

PharmaMapper databases, Search the drug target database (TTD) and the human Mendelian genetic database (OMIM) database for proteins and genes related to gastritis, and establish the gastritis target database. The component target and disease target are related through DIP database to establish a compound target disease network. Input the relevant targets of Qizhi Weitong Granule for gastritis into STRING database to build the protein interaction (PPI) relationship between the targets. The DAVID database was used to enrich and analyze the Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway of the target, and the Glue GO plug-in included in the Cytoscape 3.5.1 software was used to annotate the biological function of the gene ontology (GO). The gene and protein targets related to inflammation related cells were screened through the comprehensive database of human genes and gene phenotypes (OMM) to enrich the target cells of Qizhi Weitong Granule in treating gastritis. *In vitro* cell experiment, macrophage RAW264.7 was used as the object, and the cell model was prepared by $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ lipopolysaccharide (LPS) and $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ γ interferon (IFN- γ). RAW264.7 model cells were treated with the medium containing the largest non-toxic dose of Qizhi Weitong Granules. The mRNA expression of cyclooxygenase-2 (COX-2), inducible nitric oxide synthase (iNOS), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor α (TNF- α) in RAW264.7 cells in each group were determined by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR). **Results** The network pharmacology predicted that there were 25 main potential active components and 20 important targets of Qizhi Weitong Granule in treating gastritis, and key targets include COX-2, iNOS, peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR- γ) mitogen activated protein kinase 14 (MAPK-14), epidermal growth factor receptor (EGFR), etc. The action mechanism of Qizhi Weitong Granule in treating gastritis may be related to the regulation of TNF signal pathway, NOD like receptor signal pathway, VEGF signal pathway and other signal pathways closely related to gastritis. Its pharmacodynamic effect is mainly manifested in its influence on biological processes such as inflammation, vascular homeostasis, immunity, central nervous system and hormone regulation. The mRNA expression of COX-2, iNOS, IL-6, TNF- α in RAW264.7 model cells were significantly inhibited by Qizhi Weitong Granule. **Conclusion** Qizhi Weitong Granule may achieve its therapeutic effect on gastritis mainly by repairing gastric mucosa, alleviating inflammatory damage and eliminating infection.

Key words: Qizhi Weitong Granule; gastritis; network pharmacology; cyclooxygenase 2; inducible nitric oxide synthase; interleukin 6; tumor necrosis factor α

胃病是我国常见的胃肠道疾病,也是消化系统中发病最高的疾病,由于社会竞争及饮食结构的变化和影响,当今社会胃病在人群中发病率高达80%^[1]。急慢性胃炎是最为常见的胃病种类,其中慢性胃炎的发病率(约50%)在各种胃病中居首位,且西医没有特别行之有效的方法。急慢性胃炎、胃溃疡等疾病以上腹部疼痛为主要症状,属于中医学“胃脘痛”范畴,常见胃气堵塞、隐痛(喜蜷缩体位),偶可吐酸水,神情疲倦,暖气胀气,大便黏腻,舌苔苍白,脉虚且缓等,中医药在治疗胃脘痛方面具有临床症状改善明显、疗效肯定等优势^[2]。

气滞胃痛颗粒治疗胃病疗效确切,是社会反响良好的中药大品种,由柴胡、白芍、枳壳、香附(炙)、延胡索(炙)、甘草(炙)6味药材组成,具有舒肝理气、和胃止痛的功效,临床上在治疗慢性胃炎、胃溃疡、促进胃动力等方面应用广泛^[3-4]。现代研究表明,气滞胃痛颗粒可能主要通过抑制继发的炎症反应、抑制外周神经末梢传导等作用,减轻慢性胃炎和胃溃疡的病理症状^[5],然而,目前有关气滞胃痛颗粒治疗胃炎的作用机制尚缺乏系统性研究,其药效物质亦不清楚,也为气滞胃痛颗粒的质量控制带来了巨大的挑战。

网络药理学是基于系统生物学理论,从药物、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发,通过采用复杂生物网络模型,揭示药物、基因、靶点、疾病之间复杂的整体生物网络关系,在此基础上分析、预测药物的药理学作用机制^[6-7]。与中药及中药复方具有多成分、多途径、多靶点、协同作用的特点相似^[8],他们都关注的是整体性而非局部性,都注重的是致病因素或者药物干预下机体或网络系统表现出的整体反应,而不单纯是观察某些局部的器官或病灶^[9]。可以说,网络药理学和中药复方之间在整体性和系统性方面具有高度的一致性,这也为中药复方的深入研究提供了新的机遇,运用网络与系统的思想来理解复方和生物系统的复杂性,使得现代复方研究由描述转为预测成为可能^[10]。因此,本研究应用网络药理学的思路,构建成分-靶点-通路的相互作用网络关系,分析气滞胃痛颗粒干预胃炎的关键作用靶点及其分子机制,并采用细胞实验对其进行可能作用机制的体外验证,以期为深入研究气滞胃痛颗粒的作用机制提供参考依据。

1 材料

SynergyH2 全功能微孔板检测仪(美国 BioTek 公司);万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器

上海有限公司);台式高速离心机(美国 Thermo 公司);微量移液器、多道移液器(德国 Eppendorf 公司);DK-600S 三用恒温水箱(上海精宏实验设备有限公司);Vortex-Genie® 2 涡旋仪(深圳市安必胜科技有限公司);离心管(美国康宁公司);XS-205 电子天平(美国 Mettler Toledo 公司)。二甲基亚砜(DMSO)购于美国 AMRESCO 公司(批号 3304C252);qPCR 基因芯片试剂盒购于上海碧云天有限公司(批号 180227)。气滞胃痛颗粒由华润三九医药股份有限公司提供(批号 20180809);小鼠巨噬细胞 RAW264.7 购于中国协和医学院细胞库;DMEM 高糖培养基购于美国 HyClone 公司(批号 SH3002201);胎牛血清(批号 10082139)、0.25% 胰酶(批号 25200056)、青霉素-链霉素(批号 15070063)购于美国 Gibco 公司;磷酸盐缓冲液(PBS)购于北京索莱宝科技有限公司(批号 P1020-500);TRizol Reagent 购于 Life 公司(批号 15596-026);DEPC 处理水购于 Solarbio 公司(批号 R1600)。脂多糖(LPS,批号 113M4068V)购于美国 Sigma 公司; γ 干扰素(IFN- γ ,批号 061398)购于 Peprotech 公司;CCK-8(批号 HYK03013000T)购于美国 Med Chem Express 公司。

2 方法

2.1 气滞胃痛颗粒的网络药理学分析

在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)和网络药理学在线数据库(TCMID, <http://www.megabionet.org/tcmid/>)中获得气滞胃痛颗粒组方中药柴胡、白芍、枳壳、香附(炙)、延胡索(炙)、甘草(炙)的化学成分,将符合口服生物利用度(OB)>30%、类药性(DL)>0.18 的化合物确定为潜在的活性成分^[11],并在 TCMSp 和 PharmMapper 数据库中收集活性成分对应的靶点,建立气滞胃痛颗粒成分的靶点数据库。以“gastritis”为关键词,在药物靶标数据库(TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>)和人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <http://www.megabionet.org/tcmid/>)数据库中搜索与胃炎相关的蛋白和基因,建立胃炎靶点数据库;通过 DIP(<http://dip.doc-mbi.ucla.edu/dip/Main.cgi>)数据库将以上靶点进行关联,建立化合物-靶点-疾病网络,提取该网络的交集部分,即确认为气滞胃痛颗粒干预胃炎的相关靶点;将确认的靶点输入 STRING(<https://string-db.org/>)数据库中构建靶点之间的蛋白质相互作用(PPI)关系;利用 Cytoscape 3.5.1 构建 PPI 网络并采

用“Network Analysis”对其进行分析,将符合中介中心性(Betweenness) ≥ 1 倍中位数、接近中心性(Closeness) ≥ 1 倍中位数和度(degree)值 ≥ 2 倍中位数^[12-13]的靶点定义为气滞胃痛颗粒干预炎症的关键靶点;使用 DAVID(<https://david.ncicrf.gov>)数据库对靶点进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,使用 Cytoscape 3.5.1 软件自带的 Glue GO 插件进行基因本体论(GO)生物功能注释,最后使用 Cytoscape 的 Merge 与 Union 功能构建药材-成分-靶点-通路网络;通过人类基因和基因表型综合数据库(OMM, <http://www.omim.org>)筛选炎症相关细胞相关的基因和蛋白靶点,建立细胞靶点数据集,对气滞胃痛颗粒治疗胃炎的细胞富集。

2.2 基于细胞实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)实验的气滞胃痛颗粒主要作用靶标验证

2.2.1 药液的制备 精密称定气滞胃痛颗粒内容物适量,加入 DMEM 高糖基础培养基,超声 30 min 溶解,过 0.22 μm 滤膜,配制成 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 储备液,备用;精密称取 LPS,加入无菌超纯水,配制为 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液,涡旋 10 min 使溶解,过 0.22 μm 滤膜后,分装,保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用;取 IFN- γ 加入无菌超纯水静置 10 min 使溶解,加 5% 海藻糖的 PBS 稀释至 10 mL,配制成 0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 母液,过 0.22 μm 滤膜后,分装,保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。实验前各药液用细胞培养基稀释至所需质量浓度。

2.2.2 细胞培养及处理 将 RAW264.7 细胞接种于 DMEM 完全培养基中(含 10% 胎牛血清、100 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素)置于 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养。取对数生长期的细胞,在 6 孔板中平均每孔接种 3×10^4 个细胞,连续培养 24 h,弃上清液。实验组分别加入含有不同质量浓度(100、200、400、500、1 000、1 500、2 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)气滞胃痛颗粒内容物的完全培养基,对照组添加等量完全培养基,空白组添加等量完全培养基(不加细胞),培养箱中继续培养 12 h,弃上清液,每孔加入 10% CCK-8 完全培养基,再次置于反应箱中 2 h,酶标仪检测各孔吸光度(A)值,检测波长 450 nm。计算细胞存活率。

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

2.2.3 样品收集与处理 将 6 孔板中的各组 RAW264.7 细胞的上清液吸出,弃去,每孔加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS,洗涤孔内残留的培养基 2 次,每次 1 mL,吸干孔内的 PBS,每孔加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 Trizol 试剂,放置 10 min,用枪头反复吹打,使细胞充分裂解。将 Trizol 试剂转移至无 RNA 酶的 1.5 mL 离心

管中,整个操作过程需要在冰上进行。将上述离心管在4℃、12 000 r·min⁻¹离心5 min。每管加入氯仿200 μL,用力振摇15 s。室温静置10 min,4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min;离心后,小心吸取上清无色水相500 μL至另一1.5 mL离心管中。加入500 μL异丙醇,振摇混匀,室温放置2~5 min,4℃、12 000 r·min⁻¹离心10 min;弃去上清,每管沉淀中加入用DEPC水新配制的75%乙醇1 mL,轻微振荡10 s,4℃、5 500 r·min⁻¹离心5 min,重复洗涤1次;弃去上清,4℃、14 800 r·min⁻¹离心2 min,用10 μL枪头吸取上清,尽量除去残留液体。管内沉淀在超净台中静置干燥5 min,加入20 μL DEPC处理水,吹打均匀;用2 μL DEPC处理水洗涤仪器,无尘试纸擦拭上下基座,取2 μL RNA样本在NanoDrop上进行检测,测定样品的浓度和纯度。

2.2.4 主要作用靶标的选择 依据各直接靶标度值排名并结合相关文献报道^[14-21]选择4个主要作用靶点环氧合酶-2(COX-2)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)进行体外验证。

2.2.5 qRT-PCR 检测细胞中 COX-2、iNOS、IL-6、TNF-α 表达 细胞贴壁后,分为对照组(完全培养基)、模型组(1 μg·mL⁻¹ LPS+0.2 μg·mL⁻¹ IFN-γ)和给药组(1 μg·mL⁻¹ LPS和0.2 μg·mL⁻¹ IFN-γ,在造模的基础上加入含有最大无毒剂量气滞胃痛颗粒内含物的储备液),培养基给药后培养24 h收集样品。按试剂盒的操作要求将RNA转变成cDNA,并测定相关主要作用靶标COX-2、iNOS、IL-6和TNF-α的表达情况。

2.3 统计学方法

所有实验均独立重复3次,采用SPSS 21.0进行统计学分析,计量资料使用Kolmogorov-Smirnov及Shapiro-Wilk法验证是否符合正态分布,符合正态分布的多组均数比较采用单因素方差分析(One Way ANOVA),组间比较采用最小显著差(LSD)法。

3 结果与分析

3.1 网络药理学结果

3.1.1 成分和靶点的筛选及其网络的构建 共筛选到气滞胃痛颗粒中的潜在活性成分176个,其中柴胡17个、延胡索(炙)49个、枳壳5个、香附(炙)18个、白芍13个、炙甘草92个(其中槲皮素、谷甾醇、异鼠李素等18个活性成分为重复成分);176个成分对应的作用靶点330个;以176个活性化合物和靶点为基础建立成分-靶点网络,见图1。其中,132个

成分能与15个以上的靶点存在相互作用关系。

3.1.2 气滞胃痛颗粒抗胃炎靶点及活性成分的分析 根据气滞胃痛颗粒所含化学成分与其作用靶标的对应关系以及DIP数据库中的PPI信息,将搜集到的化合物、药物作用靶标和疾病靶标进行关联,构建气滞胃痛颗粒治疗胃炎的成分-靶点-疾病网络,并通过Network Analyzer工具对网络中疾病靶标的度值、中介中心性和接近中心性3个拓扑参数进行评估和筛选,根据网络分析结果,筛选参数确定为接近中心性≥0.201 737,度值≥4,中介中心性≥0.001 62,最终筛选出满足条件的重要靶点44个(拓扑特征见表1),其中,药物的直接作用靶点即气滞胃痛颗粒抗胃炎的关键靶点共20个(directed=1),间接靶点24个(directed=0),在直接靶点中有17个蛋白(度值>10)存在85项相互作用关系(图2)。进一步分析发现:146个活性化合物作用在COX-2,该靶点与14个靶点存在相互作用关系;139个活性化合物作用在iNOS,该靶点与7个蛋白存在相互作用关系;131个活性化合物作用在过氧化物酶体增殖物激活受体γ(PPARγ),该靶点与12个靶点存在相互作用关系;117个活性化合物作用在凝血酶原(F2),该靶点与3个靶点存在相互作用关系;113个活性化合物作用在丝裂原活化蛋白激酶14(MAPK-14),该靶点与13个靶点存在相互作用关系。而表皮生长因子受体(EGFR)和细胞肿瘤抗原(TP53)均与15个靶点存在相互作用关系,分别仅2和3个成分作用于两者;转录因子AP-1(JUN)与14个靶点存在相互作用关系,仅6个成分作用于该靶点。以上靶点与血管内稳态、炎症、免疫、激素调节密切相关。以上结果推测,COX-2、iNOS、PPARγ、F2、MAPK-14、EGFR、P53、JUN对气滞胃痛颗粒抗胃炎机制的研究具有重要意义。

同时,成分和关键靶点的作用关系分析表明,槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、木犀草素、异鼠李素、豆甾醇、甘草醇、甘草查尔酮A、甘草黄酮、延胡索乙素等25个潜在活性成分可与7个以上的关键靶点存在相互作用关系,其中槲皮素与14个靶点相连,山柰酚与11个靶点相连,β-谷甾醇和木犀草素皆与10个靶点相连,异鼠李素和豆甾醇皆与8个靶点相连,这些成分可能是气滞胃痛颗粒的主要活性成分。25个成分的具体信息见表2。

3.1.3 直接靶标GO生物功能注释及KEGG通路富集 采用DAVID软件对气滞胃痛颗粒治疗胃炎的直接作用靶标进行通路富集分析,选择KEGG数据

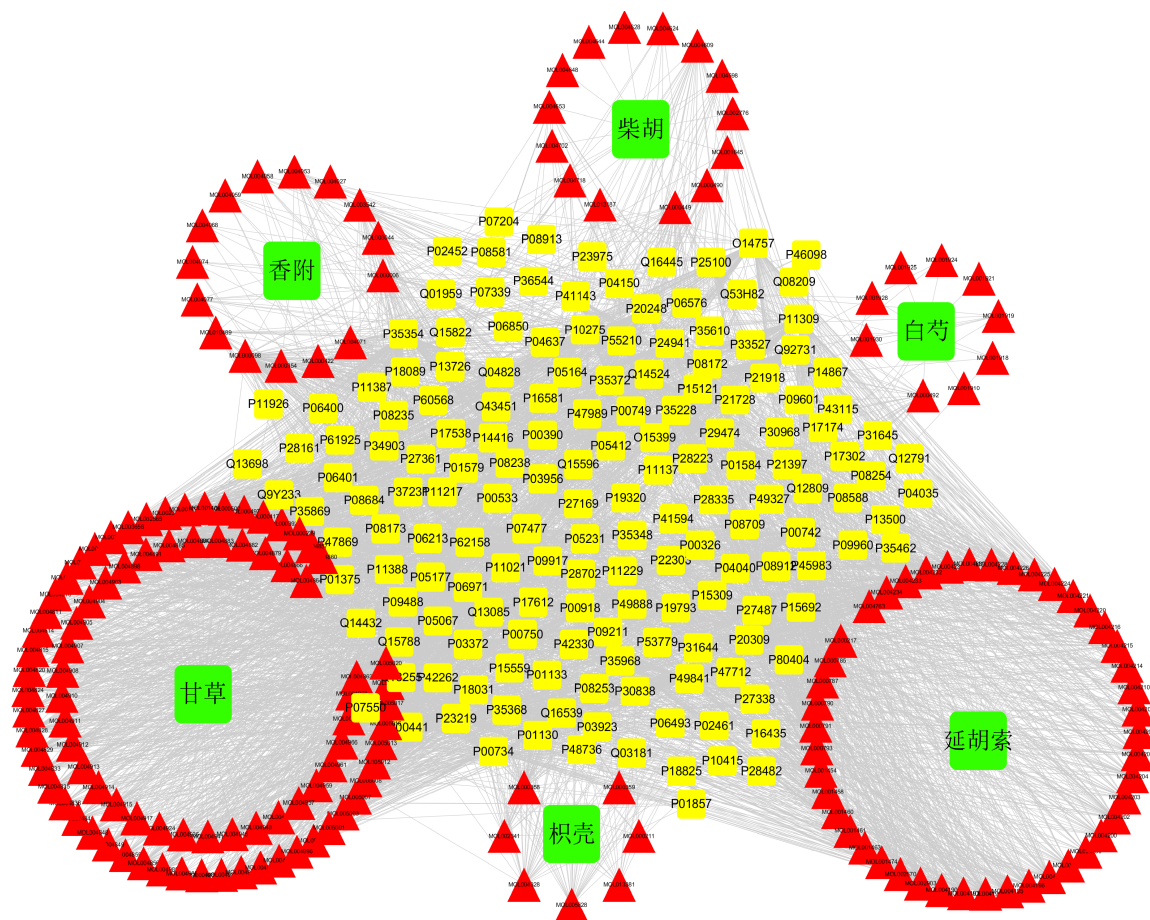


图1 气滞胃痛颗粒的药材-成分-靶点网络

Fig. 1 “drug-compound-target” network of Qizhi Weitong Granules

库作为分类依据,筛选 $P < 0.05$ 、假发现率(FDR) < 0.05 (采用Benjamini校正)且与胃炎相关的结果见表3。结果中可以看出气滞胃痛颗粒治疗胃炎主要与TNF、Toll和NOD样受体、MAPK、NF- κ B等信号通路有关,涉及免疫、炎症、凋亡等过程,以上通路下游调控的靶蛋白主要参与细胞、组织、器官、代谢、免疫和对应激的应答等过程,通过调节激素、COX2和iNOS的级联反应、血管内皮生长因子(VEGF)等信号通路来发挥抗胃炎作用。

为了进一步阐明气滞胃痛颗粒与胃炎相关的潜在生物学功能,利用Cytoscape 3.5.1的插件ClueGO对通路所涉及的靶蛋白进行生物学功能注释,分析结果表明,气滞胃痛颗粒与胃炎相关的潜在生物学功能主要富集在19个方面,包括急性炎症反应的调节、活性氧的代谢调节、一氧化氮生物合成过程、糖皮质激素刺激的细胞反应等(图3)。通路富集分析及GO生物功能注释结果表明气滞胃痛颗粒可通过调节RNA多聚酶II的激活、炎症因子释放、NO和活性氧生成等多个生物过程干预胃炎,且

其活性成分靶标分布于不同的通路,可能发挥协同作用。

3.1.4 气滞胃痛颗粒药材-成分-靶点-通路网络构建 从上述富集到的通路中筛选出与炎症过程相关的通路,构建气滞胃痛颗粒抗胃炎的药材-成分-靶点-通路关系网络,结果见图4。从该网络中可看出,气滞胃痛颗粒作用的直接靶点大致可分为3类:一类是受众多潜在活性成分调控,且与其他靶点存在相互作用关系,并参与炎症相关通路,如COX-2、iNOS、MAPK14等靶点;另一类是可受大多数成分调控,且与多数靶点相连,但未直接参与炎症相关通路,如PPARG;还有一类其可调控的成分很少,但与多数靶点存在相互作用关系,且直接参与炎症相关通路,如EGFR。本研究将第1类视为直接的关键靶点,后2类均视为间接的关键靶点。由此可见,气滞胃痛颗粒可能主要通过直接或者间接的调控以上关键靶点,干预炎症和损伤的发生,达到治疗胃炎的作用。

3.1.5 气滞胃痛颗粒治疗胃炎的细胞富集 通过

表1 气滞胃痛颗粒治疗胃炎的主要靶点

Table 1 Key anti-gastritis targets of Qizhi Weitong Granules

Uniprot ID	蛋白名称	Directed	度值	中介中心性	接近中心性
P35354	COX-2	1	147	0.014 168 65	0.300 683 99
P35228	iNOS	1	142	0.066 847 37	0.323 806 72
P37231	PPAR γ	1	139	0.023 007 60	0.302 255 23
P00734	F2	1	121	0.017 407 53	0.290 356 67
P07477	PRSS1	1	116	0.007 661 69	0.291 434 63
Q16539	MAPK 14	1	114	0.008 352 87	0.293 614 75
P23219	COX-1	1	95	0.006 337 66	0.291 434 63
P04637	TP53	1	63	0.149 260 69	0.313 462 64
P06400	RB1	1	36	0.065 383 49	0.274 270 03
P35968	VEGFR-2	1	33	0.010 346 81	0.247 466 79
P00533	EGFR	1	21	0.036 442 25	0.282 955 72
P05412	JUN	1	19	0.017 761 36	0.296 386 19
P06213	INSR	1	18	0.029 443 22	0.301 840 15
P04150	KDR	1	18	0.016 511 87	0.248 249 38
P15692	VEGFA	1	14	0.014 096 52	0.266 230 62
P05067	APP	1	13	0.023 538 54	0.258 831 84
P01375	TNF	1	11	0.030 743 09	0.270 889 82
P05231	IL6	1	9	0.009 824 60	0.261 231 28
P13500	CCL2	1	6	0.083 648 07	0.263 992 31
P16581	SELE	1	6	0.012 739 80	0.263 107 49
Q9Y6K9	IKBKG	0	22	0.025 857 73	0.245 916 31
P35222	CTNNB1	0	22	0.032 653 01	0.235 786 31
Q9Y4K3	TRAF6	0	22	0.028 297 95	0.234 228 47
P19838	NFKB1	0	21	0.012 886 87	0.216 808 05
Q04206	RELA	0	19	0.013 986 09	0.218 142 12
P25963	NFKBIA	0	17	0.019 827 52	0.239 694 66
O15111	CHUK	0	17	0.015 984 28	0.237 416 29
O14920	IKBKB	0	15	0.013 645 41	0.261 045 13
P31749	AKT1	0	13	0.017 158 09	0.275 025 03
Q99558	MAP3K14	0	13	0.012 949 65	0.233 382 88
Q16665	HIF1A	0	12	0.012 724 43	0.220 860 13
P09874	PARP1	0	11	0.020 830 44	0.243 626 69
P25445	FAS	0	11	0.061 446 13	0.233 531 66
P19438	TNFRSF1A	0	11	0.007 756 38	0.229 006 04
P24385	CCND1	0	10	0.019 657 18	0.285 825 75
Q99759	MAP3K3	0	10	0.014 595 29	0.224 836 33
O15350	CCL2	0	9	0.003 862 62	0.224 057 08
P41182	BCL6	0	8	0.012 687 16	0.235 634 65
Q86WV6	TMEM173	0	8	0.005 962 60	0.233 184 81
Q13936	CACNA1C	0	8	0.012 704 05	0.221 304 87
Q13546	RIPK1	0	7	0.022 294 11	0.238 498 26
P46531	NOTCH1	0	6	0.010 021 73	0.232 937 69
Q5S007	LRRK2	0	6	0.003 893 21	0.230 833 86
P17947	SPI1	0	6	0.007 349 21	0.218 315 45

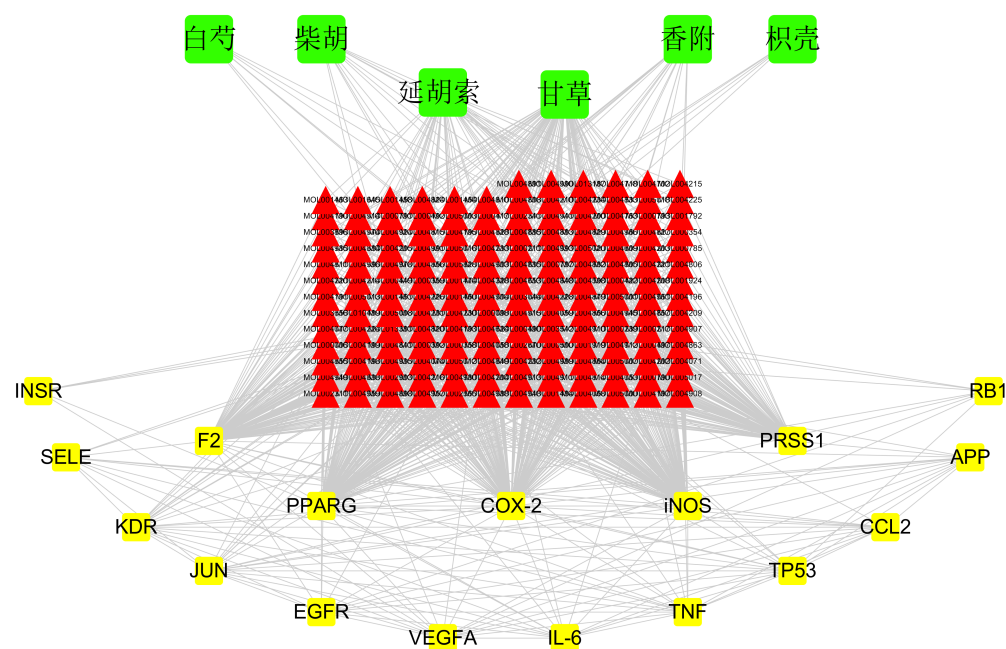


图2 气滞胃痛颗粒治疗胃炎的药材-成分-重要靶点网络

Fig. 2 Network of drug-component-key target of Qizhi Weitong Granules

表2 气滞胃痛颗粒治疗胃炎的25个主要活性成分的基本信息

Table 2 General information of 25 active compounds of Qizhi Weitong Granules

药材	化合物ID	化合物名称	OB/%	DL
XF、CH、GC、YHS	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
XF、CH、GC、BS	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
XF、BS、ZQ	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
XF	MOL000006	luteolin	36.16	0.25
XF、CH、GC	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
XF、CH、YHS	MOL000449	stigmaterol	43.83	0.76
ZQ	MOL005828	nobiletin	61.67	0.52
XF	MOL003542	8-isopentenyl-kaempferol	38.04	0.39
GC、YHS	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
GC	MOL000497	licochalcone a	40.79	0.29
GC	MOL002311	glycyrol	90.78	0.67
GC	MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.25	0.63
GC	MOL004828	glepidotin A	44.72	0.35
GC	MOL004848	licochalcone G	49.25	0.32
GC	MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.62	0.44
GC	MOL004883	licoisoflavone	41.61	0.42
GC	MOL004935	sigmoidin-B	34.88	0.41
GC	MOL004959	1-methoxyphaseollidin	69.98	0.64
GC	MOL004966	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin	43.71	0.57
GC	MOL005017	phaseol	78.77	0.58
YHS	MOL000787	fumarine	59.26	0.83
YHS	MOL000791	bicuculline	69.67	0.88
YHS	MOL001460	cryptopin	78.74	0.72
YHS	MOL004071	hyndarin	73.94	0.64
YHS	MOL004191	capaurine	62.91	0.69

人类基因和基因表型综合数据库(OMM, <http://www.omim.org>)筛选与5种炎症相关细胞(巨噬细

胞、中性粒细胞、浆细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞)相关的基因和蛋白靶点,建立细胞靶点数据集。针

表3 气滞胃痛颗粒治疗胃炎主要靶点的KEGG通路富集分析

Table 3 KEGG pathway enrichment analysis of main targets of Qizhi Weitong Granules in treatment of gastritis

条目	基因数量	占比/%	<i>P</i>	Benjamini
Epithelial cell signaling in Helicobacter pylori infection	7	35	1.70×10^{-8}	2.80×10^{-7}
Toll-like receptor signaling pathway	7	35	2.70×10^{-7}	3.20×10^{-6}
TNF signaling pathway	7	35	2.80×10^{-7}	3.10×10^{-6}
NOD-like receptor signaling pathway	6	30	3.20×10^{-7}	3.20×10^{-6}
Neurotrophin signaling pathway	7	35	5.60×10^{-7}	4.80×10^{-6}
RIG-I-like receptor signaling pathway	6	30	9.80×10^{-7}	7.30×10^{-6}
MAPK signaling pathway	8	40	2.90×10^{-6}	1.70×10^{-5}
NF-kappa B signaling pathway	6	30	2.90×10^{-6}	1.70×10^{-5}
T cell receptor signaling pathway	6	30	5.80×10^{-6}	3.00×10^{-5}
Apoptosis	5	25	2.10×10^{-5}	9.60×10^{-5}
B cell receptor signaling pathway	5	25	3.20×10^{-5}	1.40×10^{-4}
HIF-1 signaling pathway	5	25	1.20×10^{-4}	4.50×10^{-4}
PI3K-Akt signaling pathway	7	35	2.40×10^{-4}	8.80×10^{-4}
Ras signaling pathway	6	30	2.90×10^{-4}	1.10×10^{-3}
Adipocytokine signaling pathway	4	20	8.70×10^{-4}	2.90×10^{-3}
Rap1 signaling pathway	5	25	2.30×10^{-3}	6.90×10^{-3}
Sphingolipid signaling pathway	4	20	4.10×10^{-3}	0.012 0
VEGF signaling pathway	3	15	0.012 0	0.028 0
Inflammatory bowel disease (IBD)	3	15	0.013 0	0.030 0
Chemokine signaling pathway	4	20	0.014 0	0.030 0
Prolactin signaling pathway	3	15	0.016 0	0.034 0
Adherens junction	3	15	0.016 0	0.034 0
cAMP signaling pathway	4	20	0.016 0	0.034 0
Focal adhesion	4	20	0.018 0	0.037 0
FoxO signaling pathway	3	15	0.052 0	0.099 0
Wnt signaling pathway	3	15	0.055 0	0.100 0
Oxytocin signaling pathway	3	15	0.063 0	0.120 0

对该数据集,对气滞胃痛颗粒经网络预测具有直接作用的31个疾病靶点进行富集分析,并基于超几何分布计算相应的 P 值,其中 P 值最小的为巨噬细胞,并且在20个直接作用靶点中,巨噬细胞匹配的有18个。因此,巨噬细胞可能是气滞胃痛颗粒治疗炎症的主要作用细胞,结果见表4。

3.2 基于细胞实验的气滞胃痛颗粒主要作用靶标验证

气滞胃痛颗粒对小鼠巨噬细胞RAW264.7的细胞毒性CCK-8实验结果见图5,结果表明随着质量浓度的增加,细胞存活率降低,即对细胞的毒性增大,采用GraphPad Prism 6.0软件拟合结果表明,气滞胃痛颗粒对RAW264.7细胞的半数抑制浓度(IC_{50})为 $1\ 699.8\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,最大无毒质量浓度为 $500\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;在无毒质量浓度下考察气滞胃痛颗粒对炎症相关主要靶标的影响。在无毒质量浓度下对气滞胃痛颗粒的抗炎活性进行全基因组分析,其中RNA质量检测结果表明,所有样本RNA纯度介于1.8~2.2。满足进行后续qRT-PCR实验的需求。

以含最大无毒质量浓度的气滞胃痛颗粒培养

基处理RAW264.7细胞24 h后收集样品,按试剂盒的操作测定相关主要作用靶标的表达情况,qRT-PCR检测结果见图6。结果表明,与对照组比较,模型组RAW264.7细胞中 $COX-2$ 、 $iNOS$ 、 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ 表达量显著上升($P<0.01$),造模药物刺激起效;与模型组比较,气滞胃痛颗粒组对RAW264.7细胞中 $COX-2$ 、 $iNOS$ 、 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ 的表达具有显著抑制作用($P<0.01$),且各炎症因子表达水平与对照组相当。说明气滞胃痛颗粒对 $COX-2$ 、 $iNOS$ 、 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ 的表达有抑制作用,可能是其抗炎作用的部分机制。

4 讨论

气滞胃痛颗粒是治疗胃脘痛的非处方中成药,具有明显的促胃肠动力、抗胃溃疡、抗炎镇痛作用,临床实践表明其对急慢性胃炎的治疗效果较好^[22],然而,目前研究主要集中在药材的质控标准和药效学方面,而其抗胃炎的系统的作用机制鲜有报道,但由于中药的复杂性和整体性等原因,中药治疗疾病的作用机制难以阐明。本研究利用具有与中医药整体观思想一致特点的网络药理学对气滞胃痛颗粒抗胃炎作用机制进行初步的探讨,以期尝试性地阐释其治疗胃炎的分子机制,为进一步对气滞胃

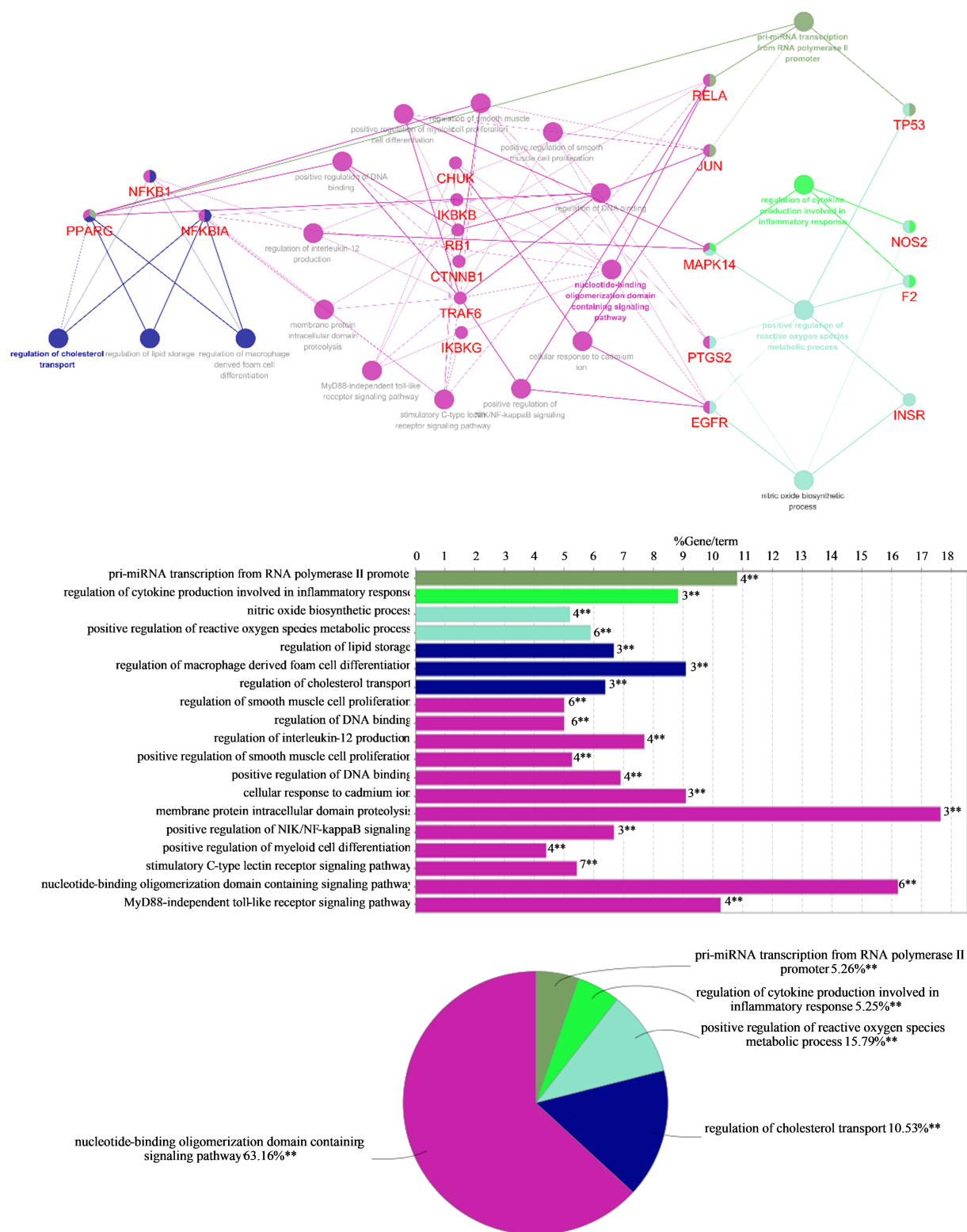


图3 气滞胃痛颗粒治疗胃炎关键靶点的GO生物功能注释

Fig. 3 GO biological function annotation for key targets of Qizhi Weitong Granules in treatment of gastritis

痛颗粒展开更多的研究提供参考依据。

本研究基于网络药理学的整体观思想,通过构建气滞胃痛颗粒的药材-成分-靶点-通路关系网络,

并对其进行拓扑参数、GO功能和通路富集等分析。分析结果表明,气滞胃痛颗粒具有多成分、多靶标、多效应的作用,COX-2、MAPK14、iNOS、PPAR γ 、

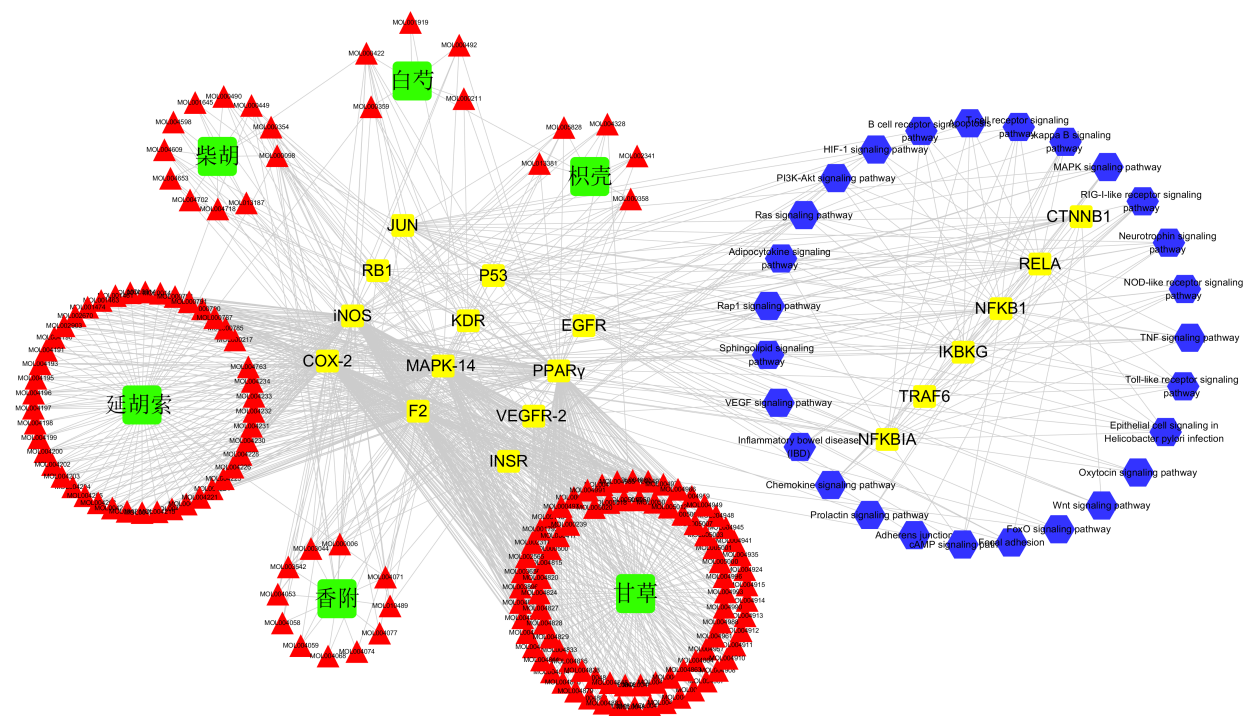


图4 气滞胃痛颗粒治疗胃炎的药物-成分-靶点-通路网络

Fig. 4 Network of drug-component-target-pathway of Qizhi Weitong Granules in treatment of gastritis

表4 气滞胃痛颗粒治疗胃炎的主要作用细胞预测

Table 4 Forecast of main cells of Qizhi Weitong Granules in treatment of gastritis

细胞	靶标总数	富集靶标	直接作用靶标	<i>P</i>	FDR
巨噬细胞	804	106	18	4.81×10^{-9}	2.40×10^{-8}
中性粒细胞	337	39	11	0.017 9	0.022 4
浆细胞	78	19	2	2.45×10^{-5}	6.12×10^{-5}
淋巴细胞	954	98	8	0.010 3	0.017 2
嗜酸性粒细胞	72	6	2	0.167 0	0.167 0

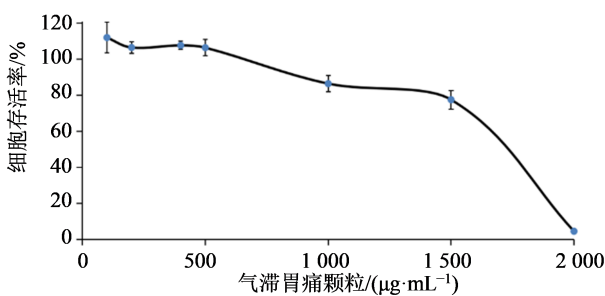


图5 气滞胃痛颗粒对RAW264.7细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Effect of Qizhi Weitong Granules on proliferation of RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

EGFR、P53等可能是其治疗胃炎的关键靶点,这些靶点可在气滞胃痛颗粒中槲皮素等黄酮类化合物和山柰酚等化合物的作用下,直接或间接地干预

TNF信号通路、Toll样受体信号通路、NOD样受体信号通路、MAPK信号通路、NF-κB信号通路、病灶黏连、神经营养因子信号通路、HIF-1信号通路、PI3K-Akt信号通路等多个炎症和损伤相关的过程,调节细胞增殖与凋亡、氧化物合成与代谢、基因转录与表达等生命活动,进而通过修复胃黏膜、减轻炎症损伤等功能发挥治疗胃炎的作用。COX-2是催化花生四烯酸(AA)裂解为前列腺素类(PGs)等致炎介质的关键酶,降低或抑制其活性能有效控制炎症的发生^[14-15]。有研究发现,胃炎患者的COX-2的蛋白阳性表达率很高,是加重患者胃黏膜损伤重要因素之一,抑制COX-2的表达可缓解胃炎的症状、修复胃黏膜并恢复其正常生理功能^[16-17]。气滞胃痛颗粒中槲皮素^[23]、木犀草素^[24]、甘草查耳酮

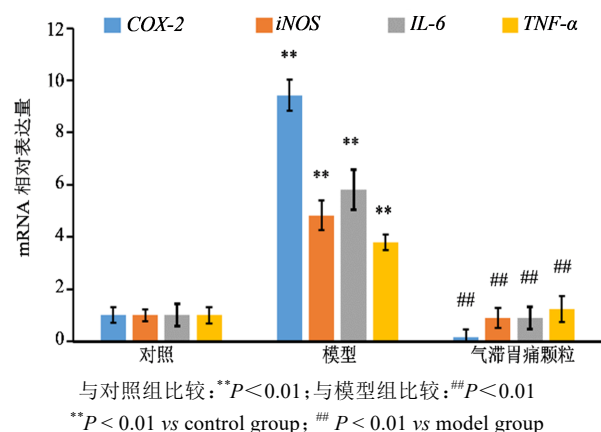


图6 气滞胃痛颗粒对LPS诱导的RAW264.7细胞COX-2、iNOS、IL-6和TNF-α表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Effect of Qizhiweitong Granules on expressions of COX-2, iNOS, IL-6 and TNF-α in RAW264.7 cells induced by LPS ($\bar{x} \pm s, n=3$)

A^[25]、甘草醇^[26]、β-谷甾醇^[27]、豆甾醇^[27]等潜在的活性物质,均可通过TLR4/NF-κB/ERK/MAPK等相关通路降低炎症因子分泌,减少COX-2的表达。MAPK14是p38蛋白激酶之一,能调控IL-1β、TNF-α等促炎因子或致炎介质基因的转录和表达,引发一系列的炎症损伤^[28]。气滞胃痛颗粒中的延胡索乙素等物质能抑制细胞外信号调节激酶和p38蛋白激酶磷酸化,而抑制炎症介质的分泌,保护胃黏膜。iNOS是NO产生过程中最主要的限速酶^[18],在细菌感染(如幽门螺旋杆菌)、炎症等病理状态下,损伤组织分泌和释放的大量细胞因子可增强iNOS表达,产生过量的NO^[19-20],加速毒性更大的羟自由基和过氧硝基阴离子等生成,导致细胞膜脂质过氧化损伤和细胞毒性,加剧胃黏膜受损及萎缩,是造成慢性胃炎加重的重要因素^[21,29]。气滞胃痛颗粒中异鼠李素^[30]、甘草黄酮、甘草查耳酮A^[31]、甘草醇^[26]等潜在的活性物质,能够显著抑制iNOS的表达,减少NO的合成与释放,从而有效地缓解炎症和感染对机体的损伤。PPARγ作为一种重要配体活化的转录因子之一,参与调节炎症与免疫反应及细胞分化和凋亡等多种生理反应^[32-33]。在病理性炎症反应中,TLR4的活化致使NF-κB下调PPARs表达,导致炎症因子表达增强和炎症产生^[34],而激活PPARγ亦可阻断炎症的发生和炎症因子的激活^[35]。气滞胃痛颗粒中含有的甘草查耳酮A等物质,可通过活化PPAR-γ通路,下调iNOS及COX-2等基因和蛋白的表达。EGFR与胃黏膜细胞的生长、增殖与分化密切相关,与配体EGF结合后能够调节黏膜细胞生长发育,促使胃黏膜组织再生与修复,进而发挥胃黏

膜防御与修复的作用^[36-37]。气滞胃痛颗粒中含有甘草黄酮和甘草查耳酮A,可显著降低由幽门螺旋杆菌感染导致的VEGF表达增加,改善血管生成活性,修复胃黏膜并防止胃癌的发生^[38]。

本研究通过数据挖掘及分析构建的气滞胃痛颗粒抗胃炎药材-成分-靶点-通路相互作用关系网络,充分体现了气滞胃痛颗粒多成分、多靶点、多途径治疗的整体观和系统性特点,初步阐释了气滞胃痛颗粒抗胃炎机制并预测了其关键的靶点及其潜在活性成分,为气滞胃痛颗粒抗胃炎机制的研究提供了参考依据,也为建立基于生物效应检测的质量评价方法提供了技术支撑,但其具体靶点和作用机制尚待进一步的实验研究加以探索及验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈灏珠, 林果为, 王吉耀. 实用内科学 [M]. 第14版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
Chen H Z, Lin G W, Wang J Y. *Practical Internal Medicine* [M]. 14th Edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013.
- [2] 李毅, 王忠, 周思凤. 中医辨证治疗脾胃气虚型胃痛的疗效观察 [J]. 中医临床研究, 2017, 9(3): 135-136.
Li Y, Wang Z, Zhou S F. Efficacy observation of TCM treatment on dyspepsodynia of deficiency of spleen and stomach [J]. *Clin J Chin Med*, 2017, 9(3): 135-136.
- [3] 杨欣欣, 王帅, 李天娇, 等. 基于谱效关系的气滞胃痛颗粒挥发油促胃动力质量控制方法研究 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 362-365.
Yang X X, Wang S, Li T J, et al. Study on quality control method for promoting gastric dynamics of volatile oil from Qizhi Weitong Granules based on spectrum effect relationship [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2022, 33(2): 362-365.
- [4] 李科标, 田杨, 韩晟, 等. 气滞胃痛颗粒治疗功能性消化不良的系统评价与药物经济学研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(18): 5106-5112.
Li K B, Tian Y, Han S, et al. Systematic review and pharmacoeconomic evaluation of Qizhi Weitong Granules in treatment of functional dyspepsia [J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(18): 5106-5112.
- [5] 孙方圆. 气滞胃痛颗粒治疗功能性消化不良的脑肠轴机制研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2017.
Sun F Y. Study on the brain-gut axis mechanism of qizhiweitong granules on functional dyspepsia [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2017.
- [6] Barabási A L, Gulbahce N, Loscalzo J. Network

- medicine: A network-based approach to human disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(1): 56-68.
- [7] 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.
- Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. *Chin Tradit Herb Drug*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [8] 严诗楷, 赵静, 窦圣姍, 等. 基于系统生物学与网络生物学的现代中药复方研究体系 [J]. *中国天然药物*, 2009, 7(4): 249-259.
- Yan S K, Zhao J, Dou S S, et al. Methodology of modernization research in traditional Chinese medicine based on systems biology and network biology [J]. *Chin J Nat Med*, 2009, 7(4): 249-259.
- [9] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. *药学报*, 2012, 47(6): 696-703.
- Liu Z H, Sun X B. Network pharmacology: New opportunity for the modernization of traditional Chinese medicine [J]. *Acta Pharm Sin*, 2012, 47(6): 696-703.
- [10] 李梢. 网络靶标: 中药方剂网络药理学研究的一个切入点 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(15): 2017-2020.
- Li S. Network target: A starting point for traditional Chinese medicine network pharmacology [J]. *China J Chin Mater Med*, 2011, 36(15): 2017-2020.
- [11] Li J S, Zhao P, Li Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufe Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15290.
- [12] Zhu F, Shi Z, Qin C, et al. Therapeutic target database update 2012: A resource for facilitating target-oriented drug discovery [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(Database issue): D1128-D1136.
- [13] Subudhi A K, Boopathi P A, Pandey I, et al. Disease specific modules and hub genes for intervention strategies: A co-expression network based approach for *Plasmodium falciparum* clinical isolates [J]. *Infect Genet Evol*, 2015, 35: 96-108.
- [14] Castoreno A B, Eggert U S. Small molecule probes of cellular pathways and networks [J]. *ACS Chem Biol*, 2011, 6(1): 86-94.
- [15] Zhang J, He J, Zhang L. The down-regulation of microRNA-137 contributes to the up-regulation of retinoblastoma cell proliferation and invasion by regulating COX-2/PGE2 signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 35-42.
- [16] 吴县斌, 苏东星, 潘志刚, 等. HIF-1 α 、COX-2在疣状胃炎患者胃黏膜组织中的表达及临床意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(36): 5680-5683.
- Wu X B, Su D X, Pan Z G, et al. HIF-1 α and COX-2 expression in varioliform gastritis [J]. *World Chin J Dig*, 2014, 22(36): 5680-5683.
- [17] 李合国, 劳绍贤. 清浊安中汤对慢性胃炎脾胃湿热证大鼠模型细胞凋亡及Bcl-2的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(21): 189-192.
- Li H G, Lao S X. Influence of qingzhuo anzhong decoction on apoptosis and bcl-2 in rat model with splenogastric hydropyrexia syndrome of chronic gastritis [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2012, 18(21): 189-192.
- [18] Liu Q, Sun N N, Wu Z Z, et al. Chaihu-Shugan-San exerts an antidepressive effect by downregulating miR-124 and releasing inhibition of the MAPK14 and Gria3 signaling pathways [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(5): 837-845.
- [19] Akimoto M, Hashimoto H, Shigemoto M, et al. Changes of nitric oxide and growth factors during gastric ulcer healing [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000, 36(5 suppl 1): S282-S285.
- [20] 伍红英, 方慧祺, 邓燕, 等. 尾型同源异型盒基因2、肿瘤坏死因子 α 蛋白表达及幽门螺杆菌感染与慢性胃病伴肠上皮化生关系研究 [J]. *中国医师进修杂志*, 2014, 37(4): 20-23.
- Wu H Y, Fang H Q, Deng Y, et al. The relationship between the expressions of caudal type homeobox genes 2, tumor necrosis factor- α protein expression, *Helicobacter pylori* infection and chronic gastropathy with intestinal metaplasia [J]. *Chin J Postgrad Med*, 2014, 37(4): 20-23.
- [21] 李慕然, 刘艳迪, 唐涛, 等. 幽门螺杆菌和慢性胃炎胃黏膜病理变化的关系研究 [J]. *天津医药*, 2015, 43(1): 54-56.
- Li M R, Liu Y D, Tang T, et al. Study on the relationship between the pathologic change of chronic atrophic gastritis and helicobacter pylori [J]. *Tianjin Med J*, 2015, 43(1): 54-56.
- [22] 姜敏. 中药治疗胆汁反流性胃炎 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(9): 259-260.
- Jiang M. Treatment of bile reflux gastritis with traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2011, 17(9): 259-260.
- [23] Caglayan Sozmen S, Karaman M, Cilaker Micili S, et al. Effects of quercetin treatment on epithelium-derived cytokines and epithelial cell apoptosis in allergic airway inflammation mice model [J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2016, 15(6): 487-497.
- [24] Wang S X, Cao M, Xu S H, et al. Effect of luteolin on inflammatory responses in RAW_{264.7} macrophages activated with LPS and IFN- γ [J]. *J Funct Foods*, 2017,

- 32: 123-130.
- [25] 龙小琴, 戴应和, 袁经权, 等. 甘草查尔酮A对THP-1巨噬细胞促炎因子表达的影响: 依赖于TLR-4/NF- κ B炎症信号通路[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(12): 1212-1218.
- Long X Q, Dai Y H, Yuan J Q, et al. Effect of licochalcone A on expression of proinflammatory cytokines in THP-1 macrophages—Dependent on the TLR-4/NF- κ B inflammatory signaling pathway [J]. Chin J Arterioscler, 2017, 25(12): 1212-1218.
- [26] Shin E M, Zhou H Y, Guo L Y, et al. Anti-inflammatory effects of glycyrol isolated from *Glycyrrhiza uralensis* in LPS-stimulated RAW_{264.7} macrophages [J]. Int Immunopharmacol, 2008, 8(11): 1524-1532.
- [27] 冯思敏, 宁可, 邵平, 等. β -谷甾醇和豆甾醇对小鼠急性结肠炎的治疗作用研究[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(12): 80-86, 94.
- Feng S M, Ning K, Shao P, et al. Research on the β -sitosterol and stigmasterol therapeutic effect of acute colitis in mice [J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2018, 33(12): 80-86, 94.
- [28] Al-Kofahi M, Omura S, Tsunoda I, et al. IL-1 β reduces cardiac lymphatic muscle contraction via COX-2 and PGE2 induction: Potential role in myocarditis [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 107: 1591-1600.
- [29] Gougol A, Dugum M, Dudekula A, et al. Clinical outcomes of isolated renal failure compared to other forms of organ failure in patients with severe acute pancreatitis [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(29): 5431-5437.
- [30] 陈伟明, 熊旭明. 异鼠李素对LPS诱导下THP-1细胞炎症因子释放的影响[J]. 广州医药, 2017, 48(5): 9-13.
- Chen W M, Xiong X M. The influence of the isorhamnetin on the releasing of inflammatory factor cytokines of the THP-1 cells stimulated by LPS [J]. Guangzhou Med J, 2017, 48(5): 9-13.
- [31] Kwon H S, Park J H, Kim D H, et al. Licochalcone A isolated from licorice suppresses lipopolysaccharide-stimulated inflammatory reactions in RAW_{264.7} cells and endotoxin shock in mice [J]. J Mol Med (Berl), 2008, 86(11): 1287-1295.
- [32] Ahmadian M, Suh J M, Hah N, et al. PPAR γ signaling and metabolism: The good, the bad and the future [J]. Nat Med, 2013, 19(5): 557-566.
- [33] Necela B M, Su W D, Thompson E A. Toll-like receptor 4 mediates cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and nuclear factor-kappaB in macrophages [J]. Immunology, 2008, 125(3): 344-358.
- [34] 耿彦婷, 张军平, 徐士欣, 等. PPARs与TLR-NF- κ B信号通路[J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(8): 1516-1520.
- Geng Y T, Zhang J P, Xu S X, et al. PPARs and TLR-NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Pathophysiol, 2012, 28(8): 1516-1520.
- [35] Collins A R. Pleiotropic vascular effects of PPARgamma ligands [J]. Drug News Perspect, 2003, 16(4): 197-204.
- [36] 陈钺, 龙子江, 蔡曼曼, 等. 胃舒灵对慢性胃炎模型大鼠胃黏膜EGF和EGFR表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 283-285.
- Chen C, Long Z J, Cai M M, et al. Effects of weishuling on the expression of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in stomach mucosa of chronic gastritis rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2013, 19(4): 283-285.
- [37] 任守忠, 梁娟, 郭建生, 等. 安胃丸对慢性胃炎大鼠胃黏膜EGFR、PCNA表达的影响[J]. 中成药, 2013, 35(8): 1785-1787.
- Ren S Z, Liang X, Guo J S, et al. Effect of Anwei Pill on the Expression of EGFR and PCNA in Gastric Mucosa of Rats with Chronic Gastritis [J]. Chin Tradit Pat Med, 2013, 35(8): 1785-1787.
- [38] Park J M, Park S H, Hong K S, et al. Special licorice extracts containing lowered glycyrrhizin and enhanced licochalcone A prevented *Helicobacter pylori*-initiated, salt diet-promoted gastric tumorigenesis [J]. Helicobacter, 2014, 19(3): 221-236.

[责任编辑 刘东博]