

基于网络药理学分析龙血竭缓解实验性溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜损伤的作用机制

崔晓娟¹, 奉建芳¹, 陈颖², 严炯艺¹, 熊万娜³, 黎芳^{1*}, 梁健钦^{1*}

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001

2. 梧州市红十字会医院, 广西 梧州 543002

3. 广西卫生职业技术学院, 广西 南宁 530023

摘要:目的 考察龙血竭(CDB)对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎(UC)的作用,以及通过网络药理学预测CDB潜在的主要活性成分、作用靶点、信号通路。方法 利用DSS诱导小鼠UC模型。Balb/c小鼠随机分为对照组,模型组,CDB组高、中、低剂量组及美沙拉嗪对照组,每组10只。除对照组外,各组小鼠自由饮用3.0% DSS溶液,连续7d,CDB组、美沙拉嗪组在造模期间ig给予对应的药物,每天称量小鼠体质量,进行隐血实验,观察动物粪便性状,进行DAI评分,实验未处死小鼠,取结肠进行HE染色并评分。通过TCMSP、String、Cytoscape等在线数据库构建“化合物-化合物靶点-疾病靶点”网络,提取核心化合物靶点、化合物作用的疾病靶点,对相关靶点进行GO、KEGG富集分析,分析CDB治疗UC可能调控的生物过程及作用机制。结果 与对照组比较,模型组小鼠炎症细胞浸润明显,大量杯细胞消失,病变程度波及肌层甚至全层;CDB组大鼠杯细胞重新长出,病变程度仅限于黏膜层,炎症减轻。通过网络药理学筛选出CDB的作用靶点112个,其中ABL1、F2、JAK2等14个核心化合物靶点可作用于ICAM1、IL-6、PTGS2、MTOR等11个疾病靶点。GO分析中包含415条富集通路,其中生物过程389条,分子功能9条,细胞组成17条。利用KEGG数据库对入选靶点进行相关通路富集,筛选出84条通路与UC有关。结论 CDB可以缓解DSS诱导的UC小鼠结肠黏膜损伤,可能通过剑叶龙血素C等黄酮类成分调控ABL1、F2、JAK2等靶点表达,然后间接调控IL-6、PTGS2等疾病蛋白表达,进而干预JAK2/STAT3、PI3K-Akt-mTOR通路,调节炎症因子的水平,抑制炎症反应,最终缓解UC小鼠结肠黏膜损伤。

关键词: 龙血竭; 溃疡性结肠炎; 作用机制; 网络药理学; 葡聚糖硫酸钠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)16-3872-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.020

Mechanisms of Chinese Dragon's Blood on alleviating colonic mucosal damage in mice with ulcerative colitis based on network pharmacology

CUI Xiao-juan¹, FENG Jian-fang¹, CHEN Ying², YAN Jiong-yi¹, XIONG Wan-na³, LI Fang¹, LIANG Jian-qin¹

1. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

2. Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou 543002, China

3. Guangxi Medical College, Nanning 530023, China

Abstract: Objective To investigate the effects of Chinese Dragon's Blood (CDB) on DSS-induced ulcerative colitis (UC) in mice, and predict the potential main active ingredients, targets and signaling pathways of CDB by network pharmacology. **Methods** Mouse UC model was induced by DSS. Balb/c mice were randomly divided into control group, UC group, CDB high, medium, and low dose group, mesalazine control group, 10 mice in each group. Except the control group, each group drank 3.0% DSS solution freely for seven consecutive days. The CDB group and mesalazine group were given corresponding medicines for gastric perfusion during the modeling period. The mice were weighed regularly every day to conduct occult blood test and observe the animals. The fecal traits

收稿日期: 2019-04-01

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(2017GXNSFAA198078); 国家自然科学基金资助项目(81560674); 国家自然科学基金资助项目(81960872); 2019年广西高校中青年骨干教师科研基础能力提升项目(2019KY0319)

作者简介: 崔晓娟(1994—),女,在读硕士生,研究方向为中药新型给药系统与新药开发。Tel: 13468558478 E-mail: 1985591105@qq.com

*通信作者 梁健钦 Tel: 18077778475 E-mail: 80004622@qq.com

黎芳 Tel: 15994311020 E-mail: 273228824@qq.com

were evaluated by DAI. At the end of the experiment, the mice were sacrificed and HE stained and scored. The “compound-compound target-disease target” network was constructed by online databases such as TCMSP, String, Cytoscape, etc, and the target targets of core compound targets and compounds were extracted, GO and KEGG enrichment analysis was performed on related targets. Treatment of biological processes and mechanisms of action that UC may regulate were analyzed. **Results** Compared with the control group, the infiltration of inflammatory cells in the model group was obvious, and a large number of cup cells disappeared, and the degree of lesions spread to the muscle layer or even the whole layer; The cup cells in the CDB group re-grew, the extent of the lesion was limited to the mucosa, and the inflammation was alleviated. Through the network pharmacology, 112 target targets of CDB were screened, and 14 core compound targets such as ABL1, F2, and JAK2 could be applied to 11 disease targets such as ICAM1, IL-6, PTGS2, and MTOR. The GO analysis contained 415 enrichment pathways, including 389 biological processes, nine molecular functions, and 17 cell components. The KEGG database was used to enrich the relevant pathways, and 84 pathways such as PI3K-Akt were screened for UC. **Conclusion** CDB can alleviate colonic mucosal injury induced by DSS in UC mice. It may regulate the expression of ABL1, F2, JAK2 and other target proteins through flavonoids, and then indirectly regulate the expression of IL-6, PTGS2 and other disease proteins. The JAK2/STAT3 and PI3K-Akt-mTOR pathways regulate the levels of inflammatory factors, inhibit the inflammatory response, and ultimately alleviate UC colonic mucosal damage.

Key words: Dragon's blood; ulcerative colitis; action mechanism; network pharmacology; DSS

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因目前仍十分不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病^[1], 是消化内科的常见疑难病, 诊断、治疗复杂, 预后差, 严重影响患者生活质量。临床上, UC 内科处理国际指南 (2015 年多伦多共识) 建议使用 5-氨基水杨酸 (5-ASA)、免疫抑制剂 (硫嘌呤类、甲氨蝶呤)、糖皮质激素、抗肿瘤坏死因子 (TNF) 单抗治疗 UC。但这几种药物长期使用普遍存在毒性、过敏反应、上消化道出血等副作用。UC 有效药物短缺、易复发的难题仍未解决。肠黏膜屏障受损是 UC 发生发展中的关键环节, 止血与促进溃疡愈合是 UC 治疗的关键。中医学在溃疡、出血治疗方面积累了大量宝贵的用药经验和特色药物。龙血竭 (CDB) 是从植物剑叶龙血树 *Dranaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的含脂木材经提取得到的树脂, 具有活血散瘀、定痛止血、敛疮生肌^[2]、抗炎止痛的功效, 与 UC 易出现溃疡、腹痛、便血的症状相符。常见 CDB 与其他药物联用治疗 UC 获得良好疗效的报道。推测 CDB 可改善 UC 结肠病变部位炎症、组织坏死, 促进结肠黏膜愈合, 但未见 CDB 对 UC 作用机制的报道。本研究采用葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导小鼠急性 UC 模型, 考察 CDB 对小鼠 UC 结肠黏膜损伤的影响, 并通过网络药理学分析 CDB 潜在的主要活性成分、作用靶点、信号通路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

EL104 型电子分析天平 (梅特勒公司); 石蜡切

片机 (德国 Leica RM 公司); -80 °C 超低温冰箱 (美菱低温科技有限责任公司); Olympus BX-53 型高清电子显微镜 (日本 Olympus 公司)。

1.2 试剂

CDB (原料药, 批号 20170101, 广西中医药大学制药厂); 美沙拉嗪肠溶片 (Dr. Falk Pharma GmbH 公司, 批号 16J05289L); DSS (相对分子质量 36 000~50 000, 美国 MP Biomedicals 公司); 便隐血 (OB) 试剂 (匹拉米洞半定量检测法, 珠海贝索生物技术公司)。

1.3 软件及数据库

TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)、TTD 数据库 (<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、Drugbank 数据库 (version 5.1.1, <https://www.drugbank.ca/>)、DRAR-CPI (<http://cpi.bio-x.cn/>)、UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)、String 数据库 (version 10.5, <https://string-db.org/>)、Cytoscape (version 3.7.1)。

1.4 动物

Balb/c 小鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 16~20 g, 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号 SCXK (湘) 2016-0002。实验前小鼠经适应性喂养 3 d, 室温 20~25 °C, 标准饲料喂养, 自由饮用纯水。

2 方法与结果

2.1 CDB 对 DSS 诱导的小鼠 UC 的作用

2.1.1 分组 将小鼠随机分为对照组、模型组、美沙拉嗪 (2.47 g/kg) 阳性对照组及 CDB 高、中、低剂量组 (根据临床用量换算得小鼠给药剂量为 4.44、

2.22、1.11 g/kg), 每组 10 只。除对照组外, 各组小鼠自由饮用 3.0% DSS 溶液, 连续 7 d, CDB 组、美沙拉嗪组在造模同时 ig 给予相应药物。每天定时称量小鼠体质量, 观察粪便性状, 进行隐血测试。

2.1.2 标本的采集与处理 于给药 7 d 后, 颈椎脱臼法处死小鼠, 剖取结肠, 清洗, 取远端结肠组织用 10% 中性福尔马林固定。

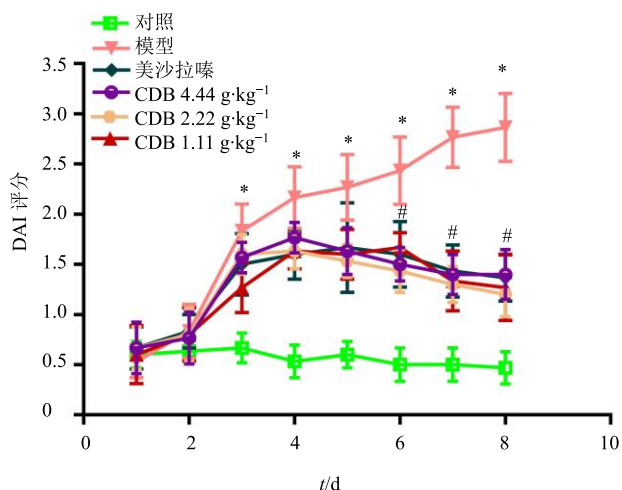
2.1.3 疾病活动指数 (DAI) 评分 $DAI = (\text{体质量下降分数} + \text{大便性状分数} + \text{大便隐血实验分数}) / 3$ 。评分标准^[3]如下: 0 分, 体质量无下降, 大便干硬、结实, 隐血实验正常; 1 分, 体质量下降 1%~5%, 大便轻度松散, 隐血实验正常; 2 分, 体质量下降 5%~10%, 大便松软, 隐血实验呈阳性; 3 分, 体质量下降 10%~15%, 腹泻、稀便, 隐血实验呈阳性; 4 分, 体质量下降 >15%, 黏血便、脓血便, 隐血实验显性出血即肉眼血便 (正常大便即成型大便, 松散大便即不黏附于肛门处的糊状大便, 稀便可黏附于肛门处的稀水样大便)。

结果表明, 与对照组比较, 模型组小鼠在第 3 天出现不同程度拉稀、体质量明显下降 ($P < 0.05$), DAI 评分显著上升 ($P < 0.05$), 第 5 天部分小鼠粪便隐血检测阳性, 第 7 天出现显性血便; 与模型组比较, CDB 组小鼠 DAI 评分呈先升后降的趋势, 第 6 天开始与模型组差异显著 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.1.4 HE 染色及评分 取固定后的结肠, 经石蜡包埋、切片、HE 染色。显微镜下观察肠组织病理

组织损伤情况, 并进行 HE 评分, 评分标准^[4]如下: (1) 炎症细胞浸润程度评分: 0 分, 无单核细胞浸润; 1 分, 固有层局部或多个位点有巨噬细胞、中性粒细胞浸润; 2 分, 炎性浸润在固有层呈连续分布, 并蔓延至黏膜下层; 3 分, 固有层、黏膜下层均有明显浸润, 并在黏膜下层呈连续分布; 4 分, 全层均有单核细胞、中性粒细胞、淋巴细胞严重透壁浸润。(2) 杯细胞损坏情况评分: 0 分, 无杯细胞损坏; 1 分, 杯细胞局部丢失; 2 分, 丢失多个位点杯细胞, 但仍有正常上皮; 3 分, 大量杯细胞消失; 4 分, 杯细胞全被损坏。(3) 病变深度评分: 0 分, 无; 1 分, 仅限于黏膜层; 2 分, 黏膜层、黏膜下层; 3 分, 波及肌层; 4 分, 全层。

HE 染色结果 (图 2、3) 显示, 对照组小鼠无明显炎症细胞浸润; 模型组小鼠有明显炎症细胞浸润, 大量杯细胞局部消失, 病变程度波及肌层甚至全层; CDB 组小鼠部分标本出现杯细胞重新长出的现象, 病变程度仅限于黏膜层, 炎症缓解。以上结果表明 CDB 具有缓解 UC 小鼠结肠黏膜损伤的作用。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, 下同
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group, same as below

图 1 各组小鼠 DAI 评分曲线

Fig. 1 DAI score curve of mice in each group

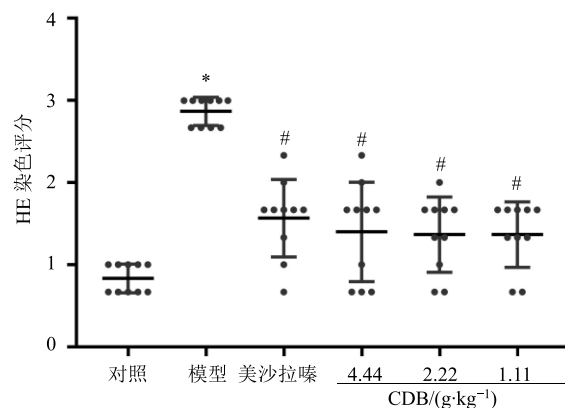


图 2 小鼠结肠组织 HE 染色评分散点图

Fig. 2 Scatter diagram of HE staining score in colon tissue of mice

2.2 CDB 缓解 UC 小鼠结肠损伤的网络药理学分析

2.2.1 化合物筛选及其作用靶点分析 通过使用 TCMSP 和 NCBI 等数据库得到 CDB 主要化合物 (包括黄酮类、查耳酮类、多聚查耳酮类、黄烷类、高异黄烷类、色原酮类、简单酚类、甾体皂苷类、三萜类、脂肪醇及其酯类等化合物)^[5-6], 并通过 TCMSP、ChemSpider、PubChem 等数据库进行化合物确证, 最后以口服生物利用度 (OB) 和类药性 (DL) 分析^[7] (TCMSP 标准: $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$) 以及 Lipinski 原则为标准, 筛选出 18 个目标化合物,

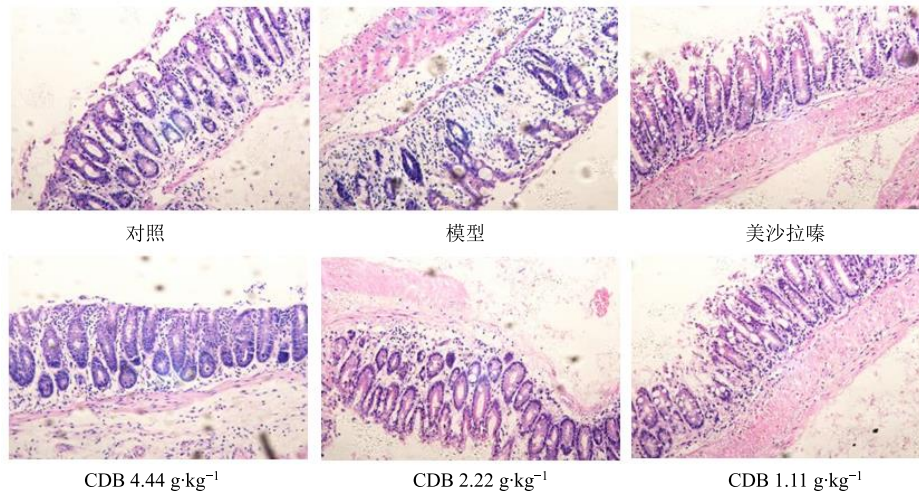


图 3 小鼠结肠 HE 染色图 (×200)

Fig. 3 HE staining map of mice colon (× 200)

分别是龙血素 A、龙血素 B、龙血素 C、龙血素 D、2'-甲氧基异甘草素、刺甘草查耳酮、剑叶龙血素 A、剑叶龙血素 B、剑叶龙血素 C、7,4'-二羟基黄酮、7,4'-二羟基黄烷、甘草素、异甘草素、farnisin、broussin、2,4,4'-三羟基二氢查耳酮、7,4'-二羟基-3'-甲氧基黄烷、柑橘素，将上述化合物保存为 mol2 格式文件。

利用 DRAR-CPI 数据库预测上述 18 个化合物的作用靶点 (筛选标准 Z' -score < -1.0)。对接分数 Z' -score 越小，化合物和靶点结合越牢固， Z' -score < -0.5 时说明化合物和靶点之间有潜在结合的可能性， Z' -score < -1.0 时说明化合物和靶点的结合度较高^[8]。通过 Uniprot 数据库转换成对应的基因名称，若 PBD ID 对应多个基因，则核对相对应的靶蛋白内容进行选择基因，确保蛋白和基因一对一，共得到 112 个靶基因。

2.2.2 疾病靶点筛选及其网络构建 通过 TTD 和 Drugbank 收集疾病相关的靶点，关键词为 colitics，再用 Uniprot 数据库转换成对应的基因名称，去重后得到 30 个疾病靶点 (图 4)，括号中数字代表度 (degree) 值：TNF (16)、IL6 (15)、PTGS2 (12)、ICAM1 (12)、PTGER4 (10)、MMP9 (9)、IL13 (9)、HRH2 (8)、IL1A (8)、CXCL10 (7)、MTOR (7)、MC5R (6)、MC1R (6)、MC4R (6)、MC3R (6)、MC2R (6)、ITGA4 (5)、NFKB2 (4)、MADCAM1 (4)、RPS6KB1 (4)、PTGS1 (4)、ATP4A (4)、SERPINC1 (3)、CCKBR (2)、ITGB7 (2)、WVVOX (2)、IL13RA2 (2)、ATP4B (1)、NDOR1 (0)、

ETFDH (0)。

2.2.3 化合物靶点蛋白互作 (PPI) 分析 将 112 个化合物靶点导入 String 数据库进行 PPI 分析，去除无相互作用的靶点，导入 Cytoscape 构建 PPI 网络图。如图 5 所示，该网络由 106 个节点、246 条边组成，网络密度为 0.48，平均节点度为 4.64。节点的大小由 degree 决定，degree 越大，节点越大；节点颜色由聚类系数决定，颜色相近的节点为同一类。由 String 数据库的 GO 分析结果显示，生物过程中与阳性表达细胞通讯、防御反应等 624 个生物过程相关；分子功能中与离子结合、阴离子结合等 85 个分子功能有关。KEGG 结果显示与癌症通路、蛋白多糖途径、代谢通路、TNF 信号通路等 107 条通路有关。

2.2.4 化合物靶点-疾病靶点 PPI 分析 将 106 个化合物潜在靶点以及 30 个疾病靶点，导入 String 数据库进行分析，得到由 136 个节点、517 条边组成的网络，网络密度为 0.528，平均节点度为 7.6 (12 个蛋白未参与 PPI)。如图 6 所示，由 String 数据库的 GO 分析结果显示生物过程中与有机环化合物的响应、内源性刺激反应、脂类反应等 849 个生物过程相关；分子功能中与类固醇激素受体、催化活性、离子结合等 88 个分子功能有关。KEGG 结果显示，142 个靶点与癌症通路、癌症蛋白多糖、MAPK 信号通路、补血和凝血级联通路、代谢途径等 133 条通路相关。

2.2.5 核心化合物靶点的提取以及“核心化合物靶点-疾病靶点”网络 PPI 分析 从靶点网络中选取 combined score > 0.652 的边 (edge，即蛋白的作用

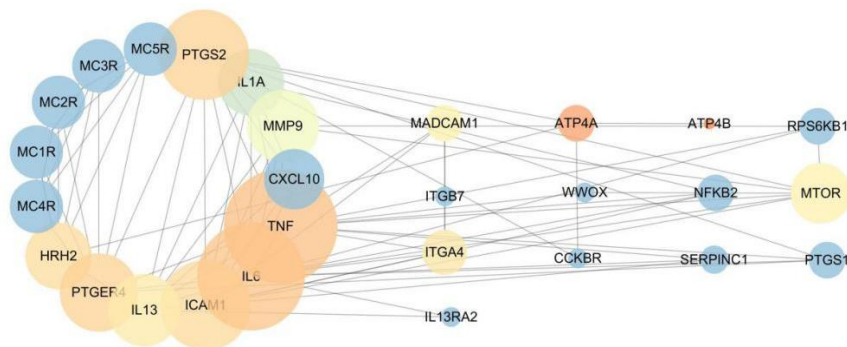


图 4 UC 疾病网络 PPI 图

Fig. 4 PPI diagram of UC disease network

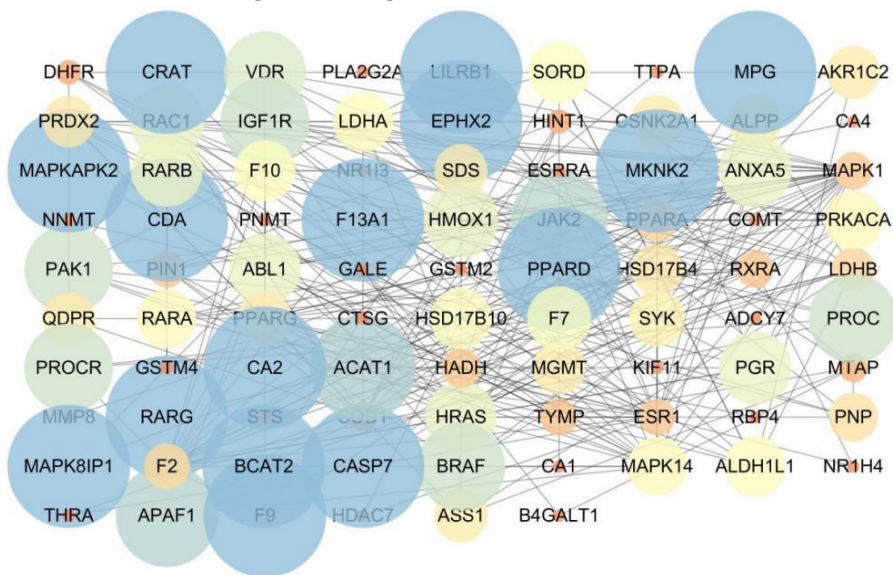


图 5 化合物靶点网络 PPI 图

Fig. 5 PPI diagram of compound target network

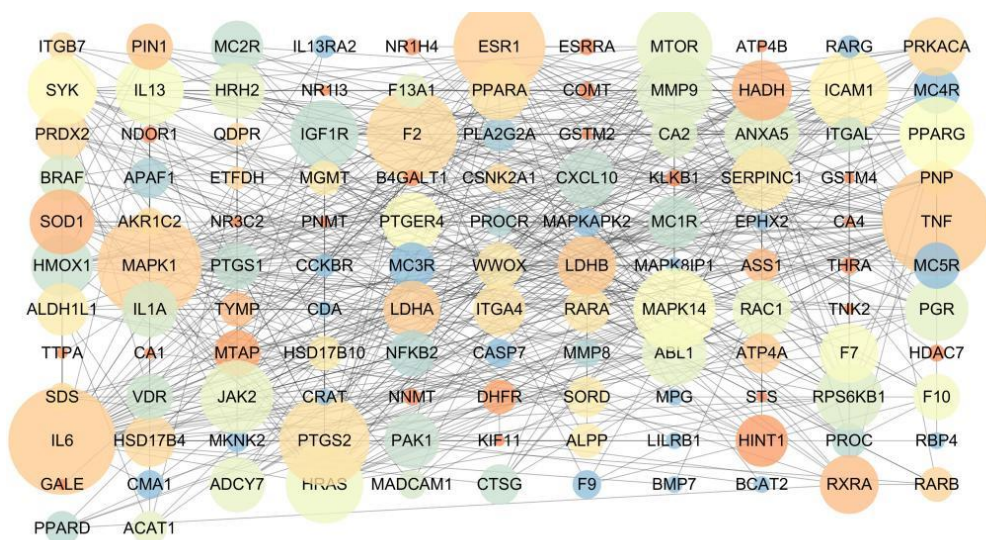


图 6 化合物靶点-疾病靶点网络 PPI 图

Fig. 6 PPI diagram of compound target-disease target network

关系), 共筛选出 14 个核心化合物靶点 (亦即作用于疾病靶点的化合物靶点, 分别是 ABL1 (19)、F2 (14)、JAK2 (12)、ANXA5 (11)、PPARG (9)、HRAS (9)、IGF1R (9)、F7 (6)、IL1A (4)、F10 (3)、ITGAL (3)、PLA2G2A (3)、RAC1 (3)、ADCY7 (1), 可作用于 11 个疾病靶点, 分别是 IL-6 (19)、ICAM1 (12)、PTGS2 (12)、MTOR (11)、RPS6KB1 (7)、SERPINC1 (6)、NFKB2 (4)、PTGS1 (4)、ITGB7 (2)、IL13RA2 (2)、MC3R (1)。将 14 个核心化合物靶点与 11 个疾病靶点导入到 String 数据库, 得到由 25 个节点、88 条边组成的网络, 网络密度为 0.705, 平均节点度为 7.04。GO 分析结果显示, 生物学过程中与阳性表达细胞通讯、防御反应、细胞迁移的正调节等 389 个生物过程有关; 分子功能与前列腺素-内过氧化物合酶活性、离子结合、阴离子结合、蛋白结合、肽激素结合等 9 个分子功能有关。通过 KEGG 分析, 主要富集在癌症通路、PI3K-Akt 信号通路、HTLV-1 感染通路、病毒性

心肌炎等 84 条通路有关。最主要的 (前 10) 通路及匹配蛋白见表 1。利用 Cytoscape 构建网络, 通过 MCODE 插件进行聚类分析, 得到 2 个子网络 (图 7), 其中网络 1 由 11 个节点、47 条边组成, 通过细胞内信号转导的正调节、细胞通讯的正调节、积极调节对刺激的反应调节癌症通路和 PI3K-Akt 信号通路; 网络 2 由 3 个节点 3 条边组成, 通过血液凝固过程调控补体和凝血级联等通路。

2.2.6 “化合物-化合物靶点-疾病靶点”网络的构建 通过 cytoscape 构建“化合物-化合物靶点-疾病靶点”网络, 如图 8 所示, CDB 中 18 种成分通过作用于 ABL1 等 13 个核心化合物靶点间接作用于 11 个核心疾病蛋白, 亦即 CDB 中最主要的活性成分是剑叶龙血素 C、7,4'-二羟基黄酮、7,4'-二羟基黄酮、famisin 等以黄酮类为主的化合物, 这些成分可作用于 F2、ABL1、JAK2、HRAS、ANXA5、PPARG 等靶点蛋白, 又间接作用于 IL-6、PTGS2 等疾病蛋白。同时 7,4'-二羟基黄酮等成分还作用于其他非疾

表 1 核心化合物靶点 KEGG 富集分析

Table 1 Results of KEGG enrichment analysis of CDB key compound targets

通路	蛋白数	FDR	网络中匹配的蛋白
pathways in cancer	9	2.36×10^{-8}	ABL1、HRAS、IGF1R、IL6、MTOR、NFKB2、PPARG、PTGS2、RAC1
PI3K-Akt signaling pathway	8	5.93×10^{-7}	HRAS、IGF1R、IL6、ITGB7、JAK2、MTOR、RAC1、RPS6KB1
HTLV-I infection	6	4.07×10^{-5}	ADCY7、HRAS、ICAM1、IL6、ITGAL、NFKB2
viral myocarditis	4	4.07×10^{-5}	ABL1、ICAM1、ITGAL、RAC1
complement and coagulation cascades	4	7.69×10^{-5}	F10、F2、F7、SERPINC1
ErbB signaling pathway	4	1.35×10^{-4}	ABL1、HRAS、MTOR、RPS6KB1
rheumatoid arthritis	4	1.35×10^{-4}	ICAM1、IL1A、IL6、ITGAL
Rap1 signaling pathway	5	1.49×10^{-4}	ADCY7、HRAS、IGF1R、ITGAL、RAC1
regulation of actin cytoskeleton	5	1.49×10^{-4}	F2、HRAS、ITGAL、ITGB7、RAC1
Ras signaling pathway	5	1.56×10^{-4}	ABL1、HRAS、IGF1R、PLA2G2A、RAC1

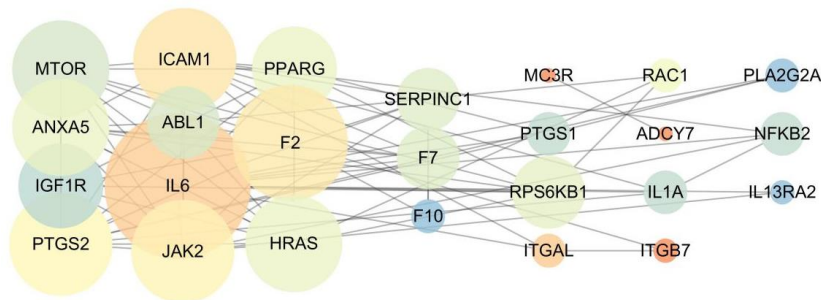


图 7 核心化合物靶点-疾病靶点网络 PPI 图

Fig. 7 PPI diagram of core compound target-disease target network

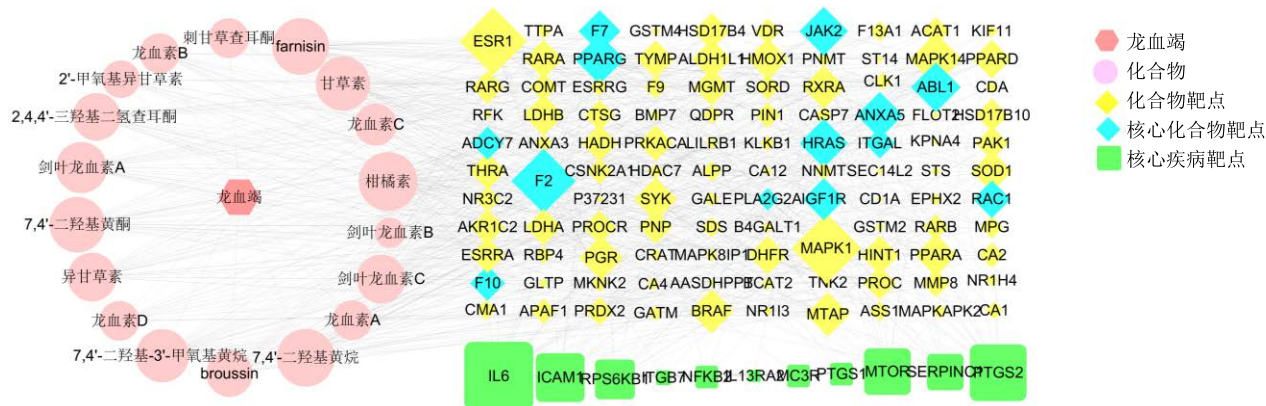


图 8 化合物-化合物靶点-疾病靶点网络图

Fig. 8 Diagram of compound-compound target-disease target network

病靶点上, 说明 CDB 中存在不同活性成分共同作用同一靶点的现象, 也存在一个化合物与多个靶点之间的相互作用关系, 体现了 CDB 的“多成分-多靶点”的作用机制。

3 讨论

CDB 具有消肿止痛、活血化瘀和改善机体免疫功能等作用, 美沙拉嗪可以有效抑制炎性介质白三烯形成, 减少炎症细胞因子的合成释放, 能够显著地抑制肠壁黏膜的炎症, 在临床上二者合用可治疗溃疡性结肠炎, 明显缓解患者腹泻、腹痛、便血等症状, 减轻炎症反应^[9]。研究表明剑叶龙血素 B 通过抑制环氧化酶 2 蛋白的诱导和细胞内钙离子浓度来阻断 P 物质的合成和释放, 发挥抗炎和镇痛作用^[10]。本研究通过网络药理学分析有效成分与疾病靶点之间的关系, 为探索 CDB 缓解 UC 的作用机制提供依据。

IL-6 和 TNF 受体阻断剂能够有效抑制 2 种促炎因子所引起的肠道损伤^[11], 干扰素 β 能够抑制 IL-13 的生成进而改善 UC 患者的肠道炎症^[12]。ICAM1 蛋白属于免疫球蛋白超家族是蛋白质编码基因, 该基因编码细胞表面糖蛋白, 其通常在在内皮细胞和免疫系统细胞上表达, ICAM1 的表达增加, 会导致炎症分子的集中, 从而产生炎症。PTGS2 可将花生四烯酸转化为前列腺素 H2 (PGH2), PTGS2 上调与细胞黏附增加、表型变化、细胞凋亡和肿瘤血管生成有关。因此 TNF、IL-6、PTGS2、ICAM1 是 UC 的靶标。文献报道, CDB 通过降低 IL-6, 提高 IL-13 的水平来治疗 UC^[13-14]。本研究“化合物靶点-疾病靶点”网络 PPI 分析显示, CDB 主要通过 ABL1、F2、JAK2 等间接作用于 ICAM1、IL-6、PTGS2、MTOR 等靶点发挥疗效起到

治疗 UC 的作用。ABL1 蛋白在细胞生长和存活相关的许多关键过程中起作用, ABL1 在细胞核或线粒体中易位, 其具有 DNA 结合活性并参与 DNA 损伤反应和细胞凋亡。F2 参与细胞存活、死亡、血管生成和侵袭, 可以在体内外下调 PI3K-Akt-mTOR 通路^[15]。JAK2 是参与特定细胞因子受体信号传导途径子集的蛋白酪氨酸激酶, IL-6 水平降低, 从而导致 JAK2 蛋白的表达降低^[16], JAK2 的激活可以调控下游靶基因的转录, 减少促炎因子的释放进而起到抗 UC 作用^[17]。由此推测, CDB 的作用于 ABL1、F2、JAK2 靶蛋白, 抑制 UC 炎症, 有待进一步验证。

炎症反应主要是由 NF- κ B 通路、MAPK 通路和 JAK-STAT 通路、PI3K-Akt-mTOR 通路等信号通路介导^[18]。研究表明, CDB 具有潜在的抗炎机制, 通过 PI3K-Akt-mTOR 通路验证其抗炎机制^[19], 可直接或间接抑制或阻断心肌组织 IL-6-JAK2-STAT3 通路的而发挥作用, 调节关键蛋白的表达, 减轻 UC 患者炎症的反应。本研究结果显示, CDB 干预的通路主要是经典炎症通路, 包括 PI3K-Akt-mTOR 通路、Ras 通路、RA 通路等, 进一步提示 CDB 主要通过调控炎症反应治疗 UC。

综上所述, CDB 缓解 DSS 诱导的小鼠 UC 结肠损伤的机制可能通过剑叶龙血素 C 等黄酮类成分调控 ABL1、F2、JAK2 等靶点表达, 间接调控 IL-6、PTGS2 等疾病蛋白表达, 进而干预 JAK2/STAT3、PI3K-Akt-mTOR 通路, 调节炎症因子的水平, 抑制炎症反应, 最终缓解 UC 结肠黏膜损伤。

参考文献

[1] 赖雨田. 培菲康与美沙拉嗪联用对轻中度溃疡性结肠炎患者的临床疗效及其对 CRP、ESR 水平的影响 [J].

- 抗感染药, 2019, 16(2): 332-334.
- [2] 万青, 王文清, 方建国, 等. 一测多评法测定龙血竭中 5 种有效成分 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4541-4545.
- [3] Maslowski K M, Mackay C R. Diet, gut microbiota and immune responses [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(1): 5-9.
- [4] 黄艳辉, 陈二林, 王玉洁, 等. 人参皂苷 Rd 治疗大鼠溃疡性结肠炎给药途径的研究 [J]. 甘肃医药, 2015, 34(7): 481-484.
- [5] 苏小琴, 李曼曼, 顾宇凡, 等. 龙血竭酚类成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1511-1514.
- [6] 龚韦凡. 龙血竭药材质量标准及镇痛活性的研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2018.
- [7] Ahmed S S, Ramakrishnan V. Systems biological approach of molecular descriptors connectivity: Optimal descriptors for oral bioavailability prediction [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40654.
- [8] 刘志强, 王博龙. 基于网络药理学探讨白花蛇舌草主要成分的抗癌机制 [J]. 中成药, 2018, 40(8): 1827-1832.
- [9] 叶可, 李家新, 梅芳. 龙血竭散灌肠联合美沙拉嗪口服治疗溃疡性结肠炎的疗效评价 [J]. 贵州医药, 2017, 41(7): 709-711.
- [10] Li Y S, Wang J X, Jia M M, *et al.* Dragon's blood inhibits chronic inflammatory and neuropathic pain responses by blocking the synthesis and release of substance P in rats [J]. *J Pharmacol Sci*, 2012, 118(1): 43-54.
- [11] Chen H, Shi H, Liu Y, *et al.* Activation of eoaieotropin releasing factor receptor 1 aggravates dextran sodium sulphate induced colitis in mice by promoting M1 macrophage polarization [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 234-242.
- [12] Kaser A, Blumberg R S. Lessons from type I interferons in ulcerative colitis [J]. *Gut*, 2011, 60(4): 430-431.
- [13] 王令. 龙血竭联合鱼腥草治疗溃疡性结肠炎大鼠模型的实验研究 [D]. 南充: 川北医学院, 2017.
- [14] 赵用, 刘佳, 马宝东, 等. 苓泽合剂对急性痛风性关节炎大鼠血清 IL-6、TNF- α 含量的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(1): 28-31.
- [15] Zheng H L, Wang L H, Sun B S, *et al.* Oligomer procyanidins (F2) repress HIF-1 α expression in human U87 glioma cells by inhibiting the EGFR/AKT/mTOR and MAPK/ERK1/2 signaling pathways *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 85252-85262.
- [16] 美热古丽·依米提. 基于 IL-6/JAK/STAT3 信号通路研究没食子提取物抗溃疡性结肠炎的作用机制 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2018.
- [17] 毛婧. 溃结宁膏对实验性溃疡性结肠炎大鼠 IL-6、gp130、JAK2、STAT3 的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2018.
- [18] 康喜龙. MicroRNA-5112 靶向 IKK γ 调控 NF- κ B 炎性通路的功能研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
- [19] Li C, Zhang Y, Wang Q Y, *et al.* Dragon's Blood exerts cardio-protection against myocardial injury through PI3K-AKT-mTOR signaling pathway in acute myocardial infarction mice model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, doi: 10.1016/j.jep.2018.09.010.