

• 数据挖掘与循证医学 •

从铁死亡探讨溃疡性结肠炎不同时期的发病机制及相关天然药物筛选

龚卓之¹, 曹 增², 姚梦茜¹, 孙梓宽², 王倩影¹, 刘 涛^{1*}

1. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102

2. 北京中医药大学研究生院, 北京 100029

摘要: **目的** 通过生物信息学从铁死亡角度探讨溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 活动期和缓解期的异同发病机制, 并筛选可能干预 UC 的天然药物, 为 UC 的治疗开辟新途径。 **方法** 在 GEO 数据库中检索与 UC 相关并符合筛选条件的数据集, 进行 limma 差异分析, 分别获得 UC 活动期、UC 缓解期的差异表达靶点。在 FerrDb 平台收集与铁死亡相关的靶点。构建铁死亡与 UC 差异表达共同靶点的蛋白互作 (protein-protein interaction network, PPI) 网络。通过 R 软件对与铁死亡相关的 UC 活动期和缓解期的靶点分别进行基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析。利用 CMap 平台筛选干预不同时期 UC 的天然活性成分, 并通过 TCMSP 找到天然活性成分所来源的中药。 **结果** GEO 数据库筛选出 GSE53306、GSE38713、GSE11223 数据集, 从 UC 活动期和缓解期样本分别筛选出差异常表达靶点 3985 个和 659 个。将收集得到的 388 个铁死亡相关靶点分别与 UC 不同时期相关靶点取交集, 导入 STRING 数据库, 得到与铁死亡相关的 UC 靶点间的 PPI, 筛选到 10 个核心基因。富集分析显示, UC 活动期与刺激的反应相关性较高, UC 缓解期与细胞解毒的反应、过氧化物的代谢相关性较高。神经退行性疾病-多种疾病是 UC 活动期与缓解期的共同信号通路。CMap 平台筛选结果显示, 大豆苷元、芦丁、胡椒碱、白藜芦醇、杨梅素、苦参碱、槲皮素、黄体酮、染料木素、大黄素为最有可能治疗 UC 的天然活性成分, 且这些活性成分广泛来源于多种中药, 分子对接结果显示天然活性成分与其对应的靶点结合能均 < 5.0 kcal/mol。 **结论** IL-6、IL-1 β 、CD44 是与 UC 最相关的靶点, 可通过神经退行性疾病、脂质和动脉粥样硬化等信号通路影响 UC 病情严重程度。大豆苷元、芦丁、胡椒碱等 10 种天然活性成分可能成为治疗 UC 的关键药物, 为 UC 的临床治疗开辟新途径。

关键词: 溃疡性结肠炎; 生物信息学; 铁死亡; 大豆苷元; 芦丁; 胡椒碱; 白藜芦醇; 杨梅素; 苦参碱; 槲皮素; 黄体酮; 染料木素; 大黄素

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)07-2187-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.07.019

Discussion on pathogenesis of ulcerative colitis at different stages from ferroptosis and screening of related natural drug

GONG Zhuo-zhi¹, CAO Zeng², YAO Meng-xi¹, SUN Zi-kuan², WANG Qian-ying¹, LIU Tao¹

1. Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China

2. Graduate School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the similarities and differences in the pathogenesis of ulcerative colitis (UC) from the perspective of ferroptosis through bioinformatics, and to screen natural drugs that may interfere with UC, so as to open up new avenues for the treatment of UC. **Methods** The data sets related to UC that met the screening criteria were retrieved from GEO database, limma differential analysis was performed, and the differential expression targets of UC in active and remission stage were obtained. Targets associated with ferroptosis were collected in the FerrDb platform. The protein-protein interaction network (PPI) of common targets of ferroptosis and UC differential expression were constructed. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses were performed by R software for the targets associated with ferroptosis in active and remission stages

收稿日期: 2022-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81830115)

作者简介: 龚卓之 (1998—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中西医结合防治消化系统疾病。E-mail: gzxxx@88.com

*通信作者: 刘 涛 (1973—), 男, 主任医师, 硕士。E-mail: lityf2@163.com

of UC, respectively. The CMap platform was used to locate the natural active ingredient for intervening different targets of UC and to find the traditional Chinese medicine (TCM) from which the natural active ingredients were derived by TCMSP. **Results** The GSE53306, GSE38713 and GSE11223 data sets were retrieved through the GEO database, and 3985 and 659 differential expression targets were obtained from UC active and remission stage samples, respectively. A total of 388 ferroptosis-associated targets were intersected with UC targets at different stages. The PPI networks between ferroptosis related targets and UC related targets was obtained by importing the STRING database, and 10 core genes were screened. GO and KEGG enrichment analysis showed that the response to stimulation was highly correlated during the active stage of UC, and the response to cellular detoxification and metabolism of peroxides were relatively advanced during the remission stage of UC. Neurodegenerative diseases-multiple diseases were common signaling pathways between UC active and remitting stages. CMap platform screening results showed that daidzein, rutin, piperine, resveratrol, myricetin, matrine, quercetin, progesterone, genistein, and emodin were the most likely natural active ingredients for treating UC, and these active ingredients were widely derived from a variety of TCM. Molecular docking results showed that binding energies of active ingredients and their corresponding targets were all < 5.0 kcal/mol. **Conclusion** IL-6, IL-1 β and CD44 are the most relevant targets for UC, which can affect the severity of UC through signaling pathways such as pathways of neurodegeneration-multiple diseases, lipid and atherosclerosis. Ten active ingredients, such as soya sapogenins, rutin and piperine, may become key drugs in treatment of UC and open up new avenues for the treatment of UC.

Key words: ulcerative colitis; bioinformatics; ferroptosis; daidzein; rutin, piperine; resveratrol; myricetin; matrine; quercetin; progesterone; genistein; emodin

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 按照病情严重程度分为活动期和缓解期, 活动期临床表现为持续或反复发作的腹泻、黏液脓血便伴腹痛、里急后重和不同程度的全身症状, 病程多在 4~6 周以上^[1]; 缓解期一般无症状 (排便次数正常且无血便和里急后重), 并且内镜复查见肠黏膜正常或无活动性炎症^[2]。研究表明, 超过 20% 的 UC 患者会在 30 年内发展为致死率高达 50% 的炎症性结肠癌^[3]。

铁死亡是一种新发现的细胞程序性死亡形式, 主要由铁介导的氧化损伤、脂质过氧化和细胞膜损伤驱动^[4]。铁是人体元素之一, 铁离子和亚铁离子的平衡是维持身体正常生理功能必不可少的条件, 一旦平衡被破坏, 亚铁离子的羟基自由基可通过 Fenton 反应催化产生大量的脂质活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 从而促进过度脂质氧化导致铁死亡^[5-6]。多项研究证实 ROS 和铁在 UC 病情发展过程中起重要作用^[7-8]。铁死亡的基本特征包括铁减少、脂质过氧化、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 减少、磷脂过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 失活和脂氧合酶 (lipoxygenase, LOX) 增加, 这些特征已被证实与 UC 的发病机制相关, 并且在 UC 小鼠模型中也观察到了铁死亡现象^[9-13]。有研究者发现铁死亡通过内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 应激介导的肠上皮细胞 (intestinal epithelial cell, IEC) 死亡从而导致 UC, 并且认为铁死亡是 UC 的潜在治疗靶点^[14]。

目前天然活性成分干预铁死亡的研究较少, 但研究前景广阔^[15]。已有研究显示黄芪多糖能明显抑制 ROS 的产生^[16]; 蒿甲醚通过抑制肝星状细胞活化从而抑制肝硬化铁死亡^[17]; 青蒿素可调节铁相关基因, 通过促进 ROS 聚集诱导白血病细胞 CCRF-CEM 铁死亡^[18]。但目前鲜有药物通过干预铁死亡来治疗 UC 的研究, 本研究希望能通过生物信息学从铁死亡角度明确 UC 不同时期的表达靶点并筛选可能具有干预 UC 作用的天然药物, 以期为 UC 的临床治疗提供思路。

1 资料和方法

1.1 UC 数据集收集及疾病靶点差异分析

通过在 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/>) 中检索与 UC 相关的数据集, 以样本量大于 10, 同时包含正常样本、UC 活动期及缓解期样本为筛选标准。将筛选得到的数据集矩阵进行规范化数据整理后, 通过 Bioconductor 下载 limma 程序包, 运用 R 软件对数据集中的靶点进行 limma 差异分析, 设置错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.05 , 表达差异倍数 (fold chang, FC) > 0.5 , 得到差异基因。

1.2 铁死亡相关靶点收集

FerrDb 平台是一个收集铁死亡调节因子、标记因子及与铁死亡关联疾病的数据库。通过 FerrDb 平台 (<http://www.zhounan.org/ferrdb/>) 收集与铁死亡相关的靶点, 包括铁死亡驱动因子、抑制因子、标记因子 3 种。

1.3 铁死亡与 UC 共同靶点的蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络

将收集得到的铁死亡相关靶点与 UC 相关靶点取交集, 得到铁死亡与 UC 之间的共同靶点。将上述共同靶点导入 STRING10.0 数据库(<https://string-db.org/>), 设置物种为“*homo sapiens*”, 得到铁死亡与 UC 靶点的 PPI 网络。将网络图以 tsv 的格式导入 Cytoscape 进行美化, 并对其拓扑学特征分析, 通过 Cytoscape 的插件 CytoNCA 计算参数来评价网络中每个节点在功能上的重要性, 筛选参数分别为中间中心性、接近中心性和度中心性。上述 3 个典型的中心属性参数可以评价网络节点的重要性, 值越大说明节点越接近网络中心位置。筛选排名前 10 的靶点作为核心靶点。

1.4 铁死亡与 UC 不同时期共同靶点的基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析

GO 富集从 3 个角度对基因进行分类, 分别为生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组分 (cellular component, CC), 可以从不同的层面解释基因的生物功能。KEGG 是一个整合了基因组、化学和系统功能信息的数据库, 常应用于基因的功能注释以了解其相关功能与作用通路。为了进一步了解铁死亡与 UC 不同时期的靶点功能以及在信号通路中的作用, 通过 Bioconductor 下载 clusterProfiler 程序包, 运用 R 软件分别对 UC 活动期与缓解期的相关靶点进行 GO 及 KEGG 富集分析, 设定阈值 $P < 0.05$ 。

1.5 CMap 数据库筛选通过铁死亡治疗 UC 的天然活性成分

通过 Connectivity map 关联性图谱 CMap clue 平台 (<https://clue.io/>) 定位天然活性分子。CMap 平台可用于建立药物-基因-疾病之间的联系。通过统计比较与疾病基因的表达谱, 可得到相关天然活性成分, 并给予-1 到 1 之间的分数。天然活性成分通常与疾病之间呈负相关关系, 其分数的绝对值越接近于 1 则代表该成分对疾病更可能有治疗作用。将通过差异分析得到的靶点及收集得到的铁死亡靶点取交集得到共同关键靶点, 将这些关键靶点按照在 UC 活动期、UC 缓解期中上调表达、下调表达进行分类, 分别命名为“up signature”及“down signature”

以 txt 的格式导入 CMap clue 后得到结构, 结果以 $FDR \leq 0.01$ 筛选, 并按照 score 大小排序。将所有符合条件的活性成分在 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/index.php>) 中进一步检索获得其对应中药。

1.6 核心靶点与活性成分的分子对接

分子对接技术通过分子之间的空间识别和能量识别, 利用计算机来模拟分子间的相互作用关系。通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心靶点的配体和受体的 3D 结构。核心靶点基因的蛋白质晶体结构经去水、加氢、模拟缺失环区域, 计算蛋白质电离, 对蛋白质结构进行质子化的预处理。活性对接箱由原配体和结合位点球确定。利用 Vina 开源程序 (<http://vina.scripps.edu/>) 进行对接, 并根据结合亲和力值评价靶点与活性化合物的结合强度与活性。

2 结果

2.1 UC 疾病靶点与铁死亡靶点收集

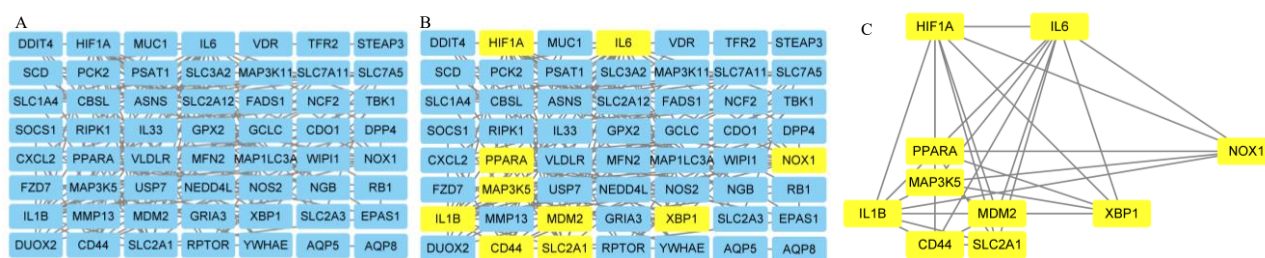
通过 GEO 数据库检索与 UC 相关的数据集, 筛选确定 GSE53306、GSE38713、GSE11223 数据集。GSE53306 数据集标题为“Differential gene expression between active and quiescent stages of ulcerative colitis: Insights into a distinctive pathogenesis profile”, 该数据库包含样本量 40 例, UC 活动期样本 16 例, UC 缓解期样本 12 例, 正常对照样本 12 例, 其发表于 2014 年 12 月 13 日, 最后更新于 2017 年 12 月 22 日。GSE38713 数据集标题为“Expression data from intestinal mucosa of patients with UC”, 该数据库包含样本量 43 例, UC 活动期样本 15 例, UC 缓解期样本 15 例, 正常对照样本 13 例, 其发表于 2012 年 11 月 9 日, 最后更新于 2019 年 3 月 15 日。GSE11223 数据集标题为“Colon biopsies from UC patients and healthy controls”, 该数据库包含样本量 198 例, UC 活动期样本 63 例, UC 缓解期样本 66 例, 正常对照样本 69 例, 其发表于 2008 年 4 月 21 日, 最后更新于 2017 年 4 月 12 日。将筛选出的数据集下载导出并进行数据的去重规范处理后运用 R 软件的 limma 程序包进行差异分析, UC 活动期样本得到差异表达靶点 3985 个, UC 缓解期样本得到差异表达靶点 659 个。通过 FerrDb 平台共收集得到铁死亡相关靶点 388 个。

2.2 UC 不同时期差异表达与铁死亡共同靶点 PPI 构建

将收集得到的铁死亡相关靶点分别与 UC 不

同时期差异表达靶点取交集,导入 STRING11.0 数据库,得到与铁死亡相关的 UC 差异表达靶点间的 PPI, 包含 68 个靶标蛋白及 171 条蛋白相互作用。运用 CytoNCA 插件对 PPI 网络进行拓扑学特征分析, 中心属性参数选用中间中心性、接近中心性和度中心性评价网络节点的重要性。筛选排名前 10 的靶点作为核心靶点, 将核心靶点颜色标黄, 其余靶点环绕核心靶点按圆周排列并将颜色标为蓝色 (图 1、2)。核心基因为白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF1A)、白细胞介素-1 β

(interleukin-1 β , IL-1 β)、过氧化物酶体增殖物活化受体 (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPARA)、葡萄糖转运蛋白 1 (solute carrier family 2 member 1, SLC2A1)、尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 1 (NADPH oxidase 1, NOX1)、白细胞分化抗原 44 (cluster of differentiation 44, CD44)、内质网应激蛋白 1 (x-box binding protein 1, XBP1)、有丝分裂原活化蛋白 3 激酶 5 (mitogen-activated protein 3 kinase 5, MAP3K5)、双微体 2 (mouse double minute 2, MDM2)。核心基因的拓扑学特征见表 1。



A-关键靶点筛选之前的 PPI 网络 B-关键靶点筛选过程中的 PPI 网络 C-10 个核心靶点网络

A-PPI network before screening key targets B-PPI network in the process of screening key targets C-network of ten core target

图 1 关键靶点筛选过程

Fig. 1 Key target screening process

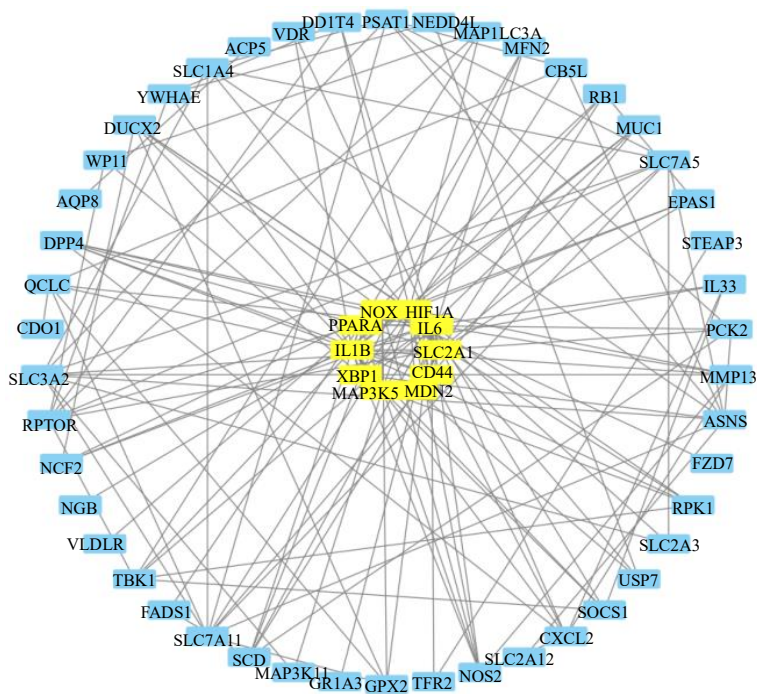


图 2 PPI 网络图

Fig. 2 PPI network diagram

表 1 关键靶点拓扑学性质

Table 1 Topological properties of key targets

基因	度中心性	中间中心性	接近中心性
<i>IL6</i>	25.0	691.043 4	0.280 612 23
<i>HIF1A</i>	21.0	555.933 9	0.272 277 24
<i>IL1β</i>	21.0	321.806 3	0.272 277 24
<i>PPARA</i>	15.0	319.030 3	0.259 433 95
<i>SLC2A1</i>	13.0	253.519 2	0.259 433 95
<i>NOX1</i>	12.0	152.862 8	0.251 141 55
<i>CD44</i>	11.0	130.626 3	0.254 629 64
<i>MAP3K5</i>	10.0	172.053 1	0.251 141 55
<i>XPB1</i>	10.0	230.121 9	0.259 433 95
<i>MDM2</i>	9.0	170.508 7	0.250 000 00

2.3 铁死亡与 UC 不同时期共同靶点的 GO 及 KEGG 富集分析

将通过筛选得到的铁死亡与 UC 不同时期差异表达的共同靶点进行 GO 及 KEGG 富集分析。运用 R 软件中的 Cluster Profiler 包，分别对铁死亡与 UC 活动期、缓解期的共同靶点进行 GO 富集分析，设定阈值 $P < 0.05$ 并根据 P 值从小到大分别绘制 BP、CC、MF 层面排名前 20 的 GO 富集分析图（图 3）。UC 活动期在 BP 中与刺激的反应相关性较高，其中外界刺激、饥饿、营养水平、氧化应激等反应相对靠前；在 CC 中膜、核所占比例较大；在 MF 中蛋白结合占比较大。UC 缓解期在 BP 中细胞解毒的反

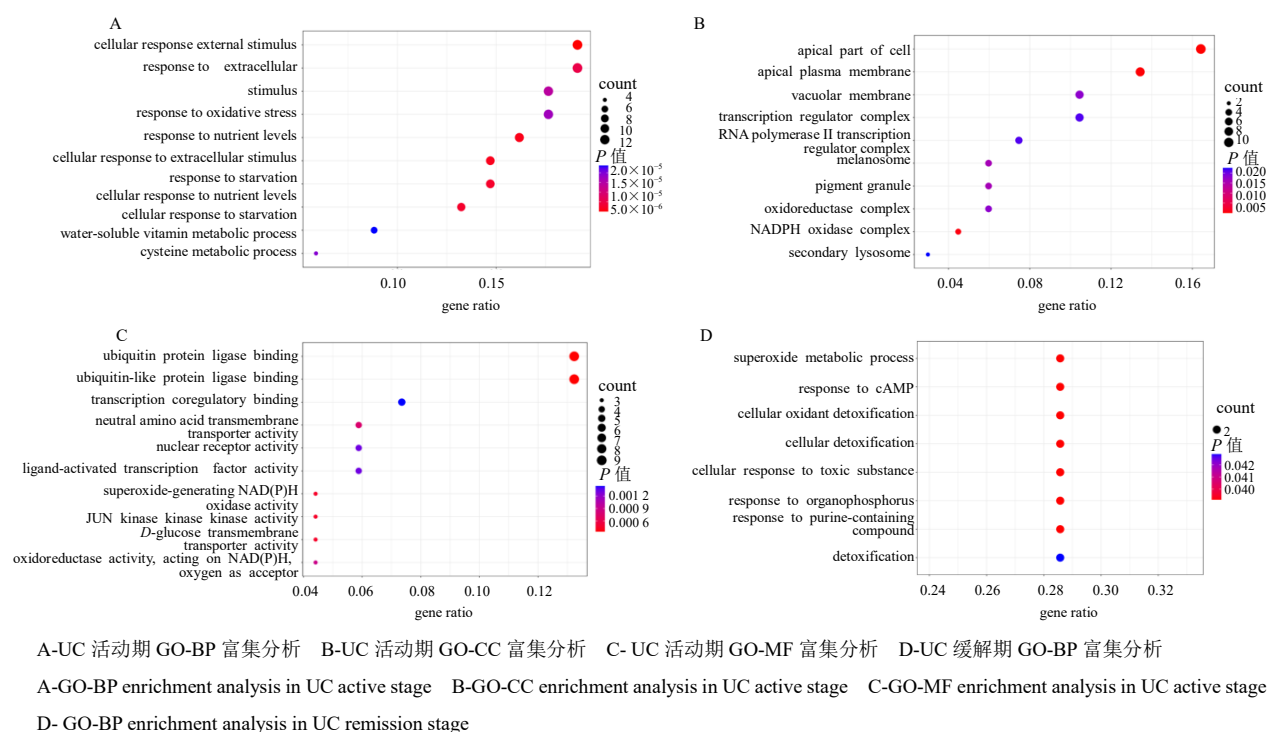


图 3 UC 不同时期差异表达与铁死亡共同靶点的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of common targets of differential expression of UC at different period

应、过氧化物的代谢相对靠前，CC 和 MF 部分由于核心靶点较少，无法获取结果。运用 R 软件中的 cluster Profiler 程序包，分别对铁死亡与 UC 活动期、缓解期的共同靶点进行 KEGG 富集分析，设定阈值 $P < 0.05$ ，并导出条目的 ID 号、 P 值和名称。根据 P 值从小到大排序绘制 KEGG 富集气泡图（图 4）。

在信号通路方面，神经退行性疾病-多种疾病通路（pathways of neurodegeneration-multiple diseases）是 UC 活动期与缓解期的共同信号通路。UC 活动期排序前 5 并与缓解期不同的信号通路分别是酒精

性肝病（alcoholic liver disease）、铁死亡（ferroptosis）、脂质和动脉粥样硬化（lipid and atherosclerosis）、NOD 样受体信号通路（NOD-like receptor signaling pathway）。UC 缓解期与活动期不同的信号通路分别是甲状腺激素合成（thyroid hormone synthesis）、阿米巴痢疾（amoebiasis）。

2.4 通过铁死亡治疗 UC 的天然药物成分筛选

通过差异分析，发现 UC 缓解期的上调靶点有 301 个，下调靶点有 357 个；UC 活动期的上调靶点有 2023 个，下调靶点有 1961 个。将分析得到的 UC

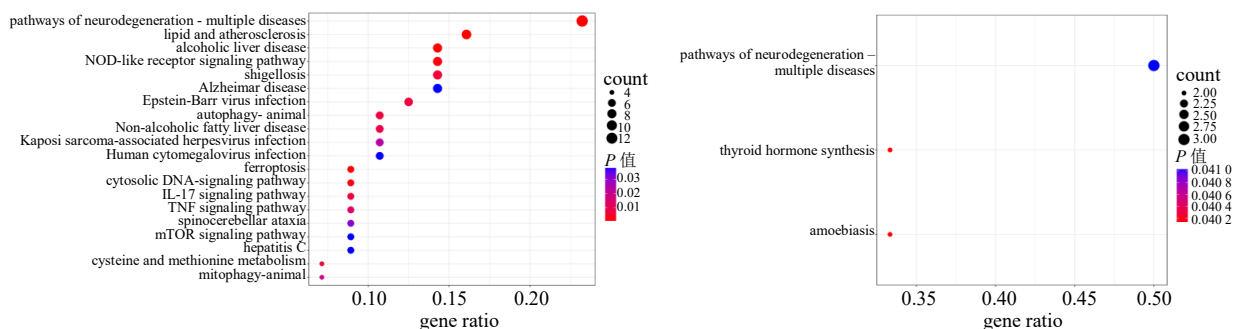


图 4 UC 活动期、缓解期差异表达与铁死亡共同靶点的 KEGG 富集分析 (左为活动期, 右为缓解期)

Fig. 4 KEGG enrichment analysis of common targets of differential expression of UC active stage and remission stage and ferroptosis (left is active stage, right is remission stage)

活动期与缓解期的关键上调和下调靶点导入 CMap 数据库平台, 设置 $FDR \leq 0.01$, 并筛选呈负相关的小分子化合物。从小分子化合物中通过 TCMSP 数据库筛选天然活性成分, 结果显示大豆苷元、芦丁、胡椒碱、白藜芦醇、杨梅素、苦参碱、槲皮素、黄体酮、染料木素、大黄素为最有可能治疗 UC 的活性成分。通过 TCMSP 数据库探寻天然活性成分所来源的中药, 发现有多种天然药物含有这些核心成分。山豆根含有大豆苷元、芦丁、苦参碱、染料木素和大黄素; 川牛膝含有大豆苷元、芦丁、槲皮素; 连翘含有芦丁和杨梅素; 败酱草、白花蛇舌草、白果和北沙参均含有芦丁和槲皮素 (表 2)。

2.5 核心靶点与药物小分子的分子对接

将核心靶点导入 TCMSP 数据库, 检索核心靶点与天然活性成分的匹配关系, 筛选条件设置为至少同时与 3 种上述所预测的活性成分匹配, 最终得到 IL-6、IL-1 β 、CD44 3 个靶点。通过 PDB 数据库筛选靶点 IL-6 (PDB ID:4o9h)、IL-1 β (PDB ID:6y8m)、CD44 (PDB ID:1uuh) 的蛋白结构, 并保存为 pdb 格式。通过 PubChem 数据库下载大豆苷元、芦丁、胡椒碱、白藜芦醇、杨梅素、苦参碱、槲皮素、黄体酮、染料木素、大黄素的 3D 化学结构, 保存为 sdf 格式, 通过 OpenBabe2.4.1 将其转换为 mol2 格式, 再利用 AutodockTools1.5.7 转换为 pdbqt 格式文件。利用 pymol 软件将靶点蛋白结构去除水分子、提取配体、确定对接 box 大小和去除杂质, 再利用 AutodockTools1.5.7 加氢、加电荷并保存为 pdbqt 格式文件。运用 Autodock vina 进行分子对接。一般认为, 结合能 < -5.0 kcal/mol (1 kcal = 4.2 kJ) 时, 说明化合物与靶点之间具有较强结合活性; 当结合能 < -7.0 kcal/mol 时则表示两者之间有强烈结合活性。分子对接结果显示, 得到的天然活性

成分与核心靶点结合能均 < -5.0 kcal/mol, 提示两者之间具有较强活性 (表 2)。利用 Discovery studio 将对接结果可视化处理, 将结合能 < -7.0 kcal/mol 的对接结果导出, 得到相互作用 3D 图 (图 5)。

3 讨论

UC 已被世界卫生组织列为现代难治病之一, 其病程漫长、迁延不愈, 且极易癌变, 给患者的工作和生活带来很大的痛苦^[19]。现代医学治疗 UC 主要通过激素、磺胺类药、免疫抑制剂等药物控制其症状, 但存在耐药、不良反应大、易反复等问题, 中药治疗 UC 的疗效佳, 不易产生不良反应。铁死亡是一种不同于坏死、凋亡以及其他具有细胞死亡典型特征的致死途径, 多项研究表明铁死亡在炎症中发挥着重要作用, 并且铁死亡过程中多伴有炎症反应^[20], 但目前鲜有从铁死亡角度探讨 UC 发病机制的研究。本研究从铁死亡探讨 UC 活动期与缓解期发病机制的异同, 并筛选得到治疗 UC 的天然活性成分, 为 UC 的临床治疗提供参考。

本研究通过生物信息学分析筛选得到干预铁死亡治疗 UC 的靶点有 IL6、IL1 β 、CD44 等。UC 中许多常见的免疫反应受炎症细胞因子介导, 炎症因子在肠道炎症持续过程中发挥着主导作用。在肠黏膜中促炎细胞因子与肠道生态关系密切, 促炎细胞因子如 IL-6、IL-1 等的过度产生导致肠道内环境紊乱是促使 UC 发生的重要环节。IL-1 β 分泌过多可激活树突样细胞、促进 IL-2R 过表达, 加重结肠黏膜局部的炎症反应^[21]。研究表明 IL-1 β 可诱导中性粒细胞和单核细胞分泌和释放前列腺素、白三烯等炎性物质, 促使肠黏膜充血水肿、变性坏死, 最终糜烂, 形成溃疡, 同时 IL-1 β 能介导巨噬细胞产生 IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 使炎症细胞聚集导致肠道发生损伤、隐窝脓

表 2 潜在的通过干预铁死亡治疗 UC 的天然活性成分

Table 2 Potential natural active component in treatment of UC by intervening ferroptosis

Molecule ID	活性成分名称	相对分子质量	来源中药	核心靶点	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
MOL000390	大豆苷元 (daidzein)	254.25	川牛膝、淡豆豉、女贞子、乳香、鸡血藤、山豆根、葛根、黄芪等 12 种中药	IL-6	-6.3
MOL000415	芦丁 (rutin)	610.57	艾叶、白果、白花蛇舌草、败酱草、北沙参、黄芪、连翘、金钱草、金银花、款冬花、牛膝、女贞子、青果、乌药、山豆根、吴茱萸、夏枯草、茵陈、泽漆、栀子、紫菀等 76 种中药	IL-6 IL-1β	-7.3 -6.4
MOL001592	胡椒碱 (piperine)	285.37	荜茇	IL-6 IL-1β	-6.1 -6.1
MOL012744	白藜芦醇 (resveratrol)	228.26	虎杖、桑白皮、土茯苓	IL-6 IL-1β	-5.8 -6.0
MOL002008	杨梅素 (myricetin)	318.25	篇蓄、侧柏叶、红花、黄药子、连翘、罗布麻叶、马齿苋、沙苑子、泽漆、枳椇子等 23 种中药	IL-6 IL-1β	-6.8 -7.3
MOL005944	苦参碱 (matrine)	248.41	苦参、山豆根、菟丝子、北豆根、槐角	IL-6 CD44	-6.1 -6.4
MOL000098	槲皮素 (quercetin)	302.25	艾叶、白果、白花蛇舌草、败酱草、半枝莲、北沙参、篇蓄、草果、侧柏叶、柴胡、车前子、川楝子、川牛膝、地榆、杜仲、藿香、黄芪等 188 种中药	IL-6 IL-1β	-6.8 -7.0
MOL006214	黄体酮 (progesterone)	314.51	沙棘、紫苏	CD44 IL-1β	-6.2 -7.4
MOL000481	染料木素 (genistein)	270.25	射干、杜仲、肉苁蓉、山豆根、葛根等 13 种中药	IL-1β	-6.5
MOL000472	大黄素 (emodin)	270.25	百合、板蓝根、薄荷、苍耳子、大黄、地骨皮、虎杖、山豆根、石菖蒲、泽泻、苘麻根、紫菀等 30 种中药	IL-1β	-6.8

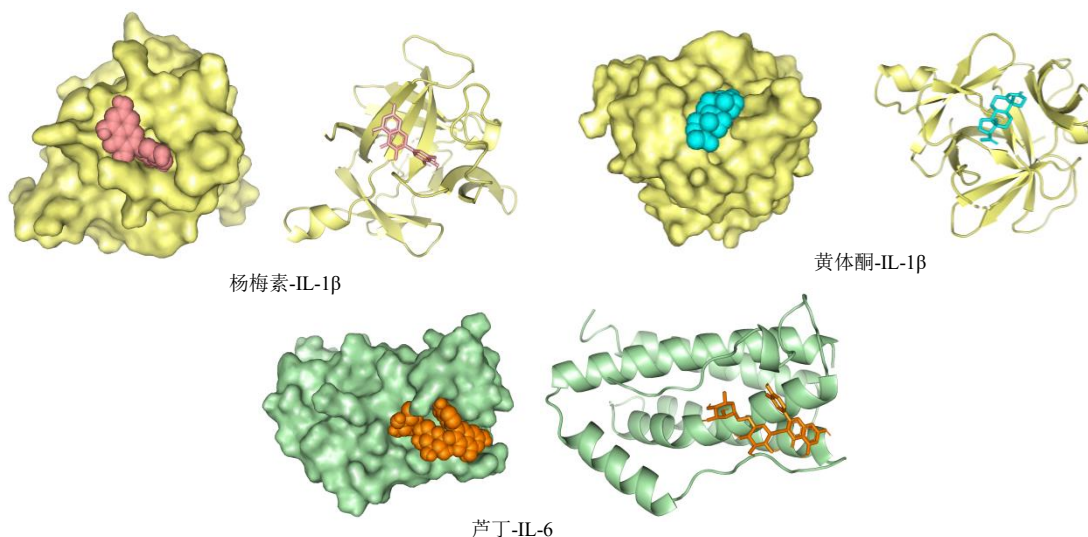


图 5 天然活性成分与核心靶点的分子对接 (结合能 < -7.0 kcal·mol⁻¹)

Fig. 5 Molecular docking of natural active ingredient and core target (binding energy < -7.0 kcal·mol⁻¹)

肿等病变^[22]。铁死亡与炎症细胞因子关系密切，其过程多伴有炎症的表现，细胞通过铁死亡分泌强烈激活固有免疫系统的因子，发挥调控细胞炎症、信

号转导和细胞生长的作用，当炎症反应超过一定限度时，大量释放促炎细胞因子^[23]。本研究发现 IL-6 为 UC 活动期的上调基因，但在 UC 缓解期中差异

表达不大, $\log_2FC$ 值较小, 故推测降低 IL-6 的水平可缓解 UC 活动期的症状, 但对 UC 缓解期的影响不大, 此观点与厉洁等^[24]的研究结果一致。

CD44 是一种细胞黏附分子, 与炎症过程关系密切。UC 的肠道炎症主要是白细胞浸润到肠壁, 而 CD44 在炎症细胞的浸润中起着重要作用。CD44 可以反映 UC 的严重程度, 其通过激活淋巴细胞, 参与淋巴细胞归位到淋巴组织, 引起 T 淋巴细胞活化, 参与炎症反应^[25]。炎症细胞因子的过度分泌可使 CD44 等细胞黏附分子表达上调。

神经退行性疾病信号通路是 UC 活动期与缓解期共同相关的信号通路, 其基本过程包括氧化应激和自由基形成、ER 应激等与铁死亡相关的过程, 铁死亡可通过形成自由基等过程介导 IEC 死亡从而导致 UC^[14]。反应性星形胶质细胞增生是神经退行性疾病的特征性病理改变之一, IL-1 β 已被证实在神经退行性疾病中介导反应性星形胶质细胞增生, 有研究发现神经元和胶质细胞的功能与 UC 的炎症反应相关^[26-27]。脂质和动脉粥样硬化信号通路是 UC 活动期特有的信号通路。铁死亡与脂质代谢异常、动脉粥样硬化关系密切, 铁超载可导致血管内皮细胞遭受 ROS 和脂质过氧化的损伤, 使动脉粥样硬化中内皮细胞发生铁死亡, 加重了动脉粥样硬化的发展^[28]。UC 患者的颈动脉内膜中层厚度明显高于健康人^[29]。IL-6 促进巨噬细胞摄取低密度脂蛋白, 加速脂质沉积并促进泡沫细胞形成, IL-6 会引起 CD44 高表达, 正反馈促进巨噬细胞分泌 IL-6, 进而加剧动脉粥样硬化的进展。有研究发现 UC 活动期患者脂质代谢异常^[30], 在 UC 活动期, 大量 IL-1 β 合成和释放, 单核细胞、巨噬细胞聚集于肠黏膜, ROS 大量生成, 脂质过氧化产物生成明显增加^[31]。

大豆苷元是大豆生长过程中形成的次生代谢产物, 是大豆中重要的功能活性成分之一, 可抑制细胞中 IL-6 的表达, 并且对肠道炎症损伤具有保护效果^[32-33]。芦丁是一种来源很广的黄酮类化合物, 有研究表明芦丁能降低 IL-1 β 和 IL-6 含量, 阻断其介导的炎症级联反应而减轻 UC 病情^[34-35]。胡椒碱是一种源自荜茇的生物碱, 表现出多种生物活性, 如解热、抗炎等作用。有研究发现以胡椒碱为主要成分的复方能显著改善葡聚糖硫酸钠诱导的 UC 小鼠的临床症状, 缓解小鼠结肠充血、水肿、溃疡和炎症细胞浸润等症状, 同时减少小鼠结肠组织中 IL-6 的含量^[36]。白藜芦醇是一种生物活性很强的多酚类

化合物, 具有很好的抗氧化和抗炎作用^[37], 将其作为补充剂治疗 UC 患者, 疗效稳定。白藜芦醇能显著降低大鼠肠道炎症模型中 IL-1 β 、IL-6 的含量^[38]。杨梅素是一种天然黄酮类的化合物, 其可以增加小鼠结肠组织中的抗氧化能力, 并降低组织中的 IL-1 β 、IL-6 的水平^[39]。苦参碱是苦参的主要有效成分, 还存在于山豆根、菟丝子、北豆根、槐角等中药中, 能抑制炎症介质释放。苦参碱可诱导细胞凋亡和阻滞细胞周期, 降低 CD44、CD54 等细胞黏附分子表达^[40]。苦参碱对溃疡损伤有明显修复作用, 可通过调节肠黏膜 IL-6、IL-1 β 等细胞因子失衡等过程干预 UC 发病过程^[41]。槲皮素是一种广泛存在于自然界的天然黄酮类化合物。以槲皮素为主要成分的复方可以改善 UC 模型小鼠脓血便症状, 缓解小鼠结肠缩短、血便、水肿、溃疡等炎症症状, 对肠黏膜屏障有一定修复作用, 同时减少小鼠结肠组织中 IL-6 的含量^[42]。黄体酮存在于自然界, 同时也是人体内的一种固醇激素, 对 UC 的发展起到抑制作用^[43], 分子对接结果显示, 其与 IL-1 β 结合最为紧密, 发挥作用的可能性最大。染料木素是一类植物雌激素, 具有酪氨酸激酶抑制活性, 可发挥抗氧化、抗炎等作用。研究者发现染料木素能降低结肠炎小鼠的疾病活动指数、结肠大体形态损伤指数, 同时减轻小鼠肠壁炎症细胞浸润, 降低 IL-1 β 水平^[44]。大黄素作为自然界中广泛存在的一种羟基蒽醌类化合物, 能修复、保护肠道屏障, 改善 UC 病理损伤, 抑制肠道局部炎症^[45]。有研究将“大黄酸-大黄素”联合治疗 UC, 结果示 IL-6、IL-1 β 水平显著降低, 并且减轻结肠黏膜损伤程度^[46]。

在中医看来, UC 属于“久痢”范畴, 素体脾气虚弱是发病基础, 感受外邪、饮食不节(洁)、情志失调等是其主要的发病诱因, 病机多为湿热蕴肠、气血不调^[1]。整体观念的认识论与辨证论治的方法论是中医药学基本理论, 中药治疗疾病也是多靶点作用的结果, 故本研究所预测的中药应用于临床仍需要以辨证论治为前提, 慎不可舍其辨证而施药。中医药在 UC 的治疗过程中具有独特优势, 如何利用铁死亡理论指导中医药有效防治 UC 是该领域新的研究热点。本研究系统分析了铁死亡干预 UC 的作用机制, 并预测了调节铁死亡治疗 UC 的天然活性成分。但关于上述成分能否成为治疗 UC 的天然药物并明确其发挥作用的具体机制, 仍需要实验探究和证明, 希望为临床提供新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张声生, 沈洪, 郑凯, 等. 溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见 (2017) [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3585-3589.
- [2] 吴开春, 梁洁, 冉志华, 等. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年北京) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(9): 796-813.
- [3] Lee Y, Sugihara K, Gilliland M G, *et al.* Hyaluronic acid-bilirubin nanomedicine for targeted modulation of dysregulated intestinal barrier, microbiome and immune responses in colitis [J]. *Nat Mater*, 2020, 19(1): 118-126.
- [4] Stockwell B R, Angeli J P F, Bayir H, *et al.* Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [5] Stoyanovsky D A, Tyurina Y Y, Shrivastava I, *et al.* Iron catalysis of lipid peroxidation in ferroptosis: Regulated enzymatic or random free radical reaction? [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 153-161.
- [6] Valko M, Morris H, Cronin M D. Metals, toxicity and oxidative stress [J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12(10): 1161-1208.
- [7] Tuzun A, Erdil A, Inal V, *et al.* Oxidative stress and antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease [J]. *Clin Biochem*, 2002, 35(7): 569-572.
- [8] Biasi F, Leonarduzzi G, Oteiza P I, *et al.* Inflammatory bowel disease: Mechanisms, redox considerations, and therapeutic targets [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(14): 1711-1747.
- [9] Dong S Q. Furin inhibits epithelial cell injury and alleviates experimental colitis by activating the Nrf2-Gpx4 signaling pathway [J]. *Dig Liver Dis*, 2021, 53(10): 1276-1285.
- [10] Wang S J, Liu W, Wang J, *et al.* Curculigoside inhibits ferroptosis in ulcerative colitis through the induction of GPX4 [J]. *Life Sci*, 2020, 259: 118356.
- [11] Tang B F. Pharmacological inhibition of MELK restricts ferroptosis and the inflammatory response in colitis and colitis-propelled carcinogenesis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 172: 312-329.
- [12] Chen Y J. *Astragalus* polysaccharide prevents ferroptosis in a murine model of experimental colitis and human Caco-2 cells via inhibiting NRF2/HO-1 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 911: 174518.
- [13] Chen Y R. Ferroptosis mediated DSS-induced ulcerative colitis associated with Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Immunol Lett*, 2020, 225: 9-15.
- [14] Xu M Y, Tao J, Yang Y D, *et al.* Ferroptosis involves in intestinal epithelial cell death in ulcerative colitis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 86.
- [15] 李畅, 王浩, 贺千羽, 等. 槲皮素通过诱导铁死亡抑制 A549 细胞增殖的作用及机制研究 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7112-7120.
- [16] Yang F, Yan G G, Li Y, *et al.* *Astragalus* polysaccharide attenuated iron overload-induced dysfunction of mesenchymal stem cells via suppressing mitochondrial ROS [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(4): 1369-1379.
- [17] Wang L, Zhang Z L, Li M M, *et al.* P53-dependent induction of ferroptosis is required for artemether to alleviate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis and hepatic stellate cell activation [J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(1): 45-56.
- [18] Ye J. Non-apoptotic cell death in malignant tumor cells and natural compounds [J]. *Cancer Lett*, 2018, 420: 210-227.
- [19] 申睿, 刘苗, 朱向东, 等. 中医药治疗溃疡性结肠炎实验研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1721-1725.
- [20] 龙茜, 林洁. 应用生物信息学从铁死亡角度筛选治疗盆腔炎症性疾病后遗症天然药物成分 [J]. 中药材, 2022, 45(4): 882-889.
- [21] 张海峰, 周国雄, 曹维, 等. 抑制 IL-1 β 表达对实验性小鼠溃疡性结肠炎的影响 [J]. 交通医学, 2016, 30(3): 209-213.
- [22] Arifa R D N, Madeira M F M, de Paula T P, *et al.* Inflammasome activation is reactive oxygen species dependent and mediates irinotecan-induced mucositis through IL-1 β and IL-18 in mice [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(7): 2023-2034.
- [23] 李维, 吕占云, 李道静, 等. 铁死亡与炎症反应的研究进展 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2019, 36(4): 359-361.
- [24] 厉洁, 曲海霞, 卫红军, 等. 溃疡性结肠炎患者炎症黏膜中 IL-6、IL-23 的表达及其临床意义 [J]. 胃肠病学, 2011, 16(3): 164-166.
- [25] 王雪, 颜玉, 任秀英, 等. 益生菌对溃疡性结肠炎大鼠 IL-1 β 、CD44 的作用 [J]. 黑龙江医药科学, 2014, 37(5): 24-25.
- [26] 秦明, 饶志仁, 杨琦, 等. 电针足三里穴对溃疡性结肠炎大鼠髓后联合核内神经元和胶质细胞形态学变化的影响 [J]. 解放军医学杂志, 2008, 33(12): 1454-1456.
- [27] Cui M, Huang Y, Tian C, *et al.* FOXO3a inhibits TNF- α and IL-1 β -induced astrocyte proliferation: Implication for reactive astrogliosis [J]. *Glia*, 2011, 59(4): 641-654.
- [28] 彭琪, 关秀茹. 自噬和铁死亡在动脉粥样硬化中的研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2021, 50(10): 17-21.
- [29] 贾百灵, 侯晓华. 白细胞介素-6 与溃疡性结肠炎的关系

- 系 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2004, 13(3): 217-221.
- [30] 刘闻莺, 刘欣艳, 余雪君, 等. 活动期溃疡性结肠炎与蛋白质和脂质代谢的相关性分析 [J]. 胃肠病学, 2013, 18(12): 738-740.
- [31] 胡雪峰, 李兰波. 奥沙拉嗪对溃疡性结肠炎患者脂质过氧化损伤和 IL-1 β 水平的影响 [J]. 中国实用医药, 2011, 6(36): 169-170.
- [32] 王彬. 甘蔗粗提物对肠道损伤的保护作用及机制研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [33] 李乐飞, 金鑫, 李程育, 等. 大豆苷元抑制人成骨样 MG-63 细胞分泌 IL-6 的分子机制研究 [J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2018, 27(6): 467-471.
- [34] 岳朝驰, 杨向东, 李俊, 等. 芦丁对溃疡性结肠炎小鼠的干预作用及 NLRP3 炎症小体的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(10): 1073-1078.
- [35] 刘佳妮. 基于 JAK2 信号通路探索芦丁缓解小鼠结肠炎作用及相关机制 [D]. 大连: 大连医科大学, 2021.
- [36] 李秋萍. 姜黄素—胡椒碱复方自微乳溃疡性结肠炎局部给药研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [37] 刘顺, 李赫宇, 赵玲. 白藜芦醇降血尿酸、抗炎作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 304-307.
- [38] 顾怡康, 王艺宙, 胥加龙, 等. 白藜芦醇治疗溃疡性结肠炎的机制研究进展 [J]. 药物生物技术, 2017, 24(1): 72-75.
- [39] 赵晶. 杨梅素对 DSS 诱导的小鼠急性溃疡性结肠炎的保护作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [40] 吴建波, 章圣辉, 韩义香, 等. 苦参碱诱导多发性骨髓瘤 RPMI8226 细胞凋亡及其对细胞黏附分子表达的影响 [J]. 中国实验血液学杂志, 2008, 16(1): 93-96.
- [41] 钟振东, 熊永爱, 杨玲. 苦参碱对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜细胞因子和自由基的影响 [J]. 中国医药生物技术, 2011, 6(4): 251-254.
- [42] 黄瑞雪. 姜黄素—槲皮素复方自微乳制备与药效学评价 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [43] 卢燕, 杜静, 赵景润, 等. 雌激素对溃疡性结肠炎患者 NF- κ B、IL-6 及 NO 表达的影响 [J]. 国际免疫学杂志, 2019, 42(1): 38-44.
- [44] 张怡华, 吕晓丹, 曾睿智, 等. 金雀异黄素对三硝基苯磺酸诱导的结肠炎小鼠的干预作用及其可能机制 [J]. 广西医学, 2022, 44(7): 739-744.
- [45] 石凯歌, 段志军. 大黄素修复肠屏障的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(9): 130-133.
- [46] 王晓红. 大黄、巴豆霜对溃疡性结肠炎大鼠药效机制及有效物质基础的探讨 [D]. 天津: 天津医科大学, 2012.

[责任编辑 潘明佳]