

基于生信分析和网络药理学探究华蟾素缓解奥沙利铂所致周围神经毒性的作用机制

陈公伯¹, 刘 恋^{1#}, 王鑫月¹, 王翕慧¹, 许靖格¹, 徐 青¹, 刘亚云¹, 盛德乔¹, 黄益玲¹, 尤程程¹, 郭煜晖², 邹昱琳^{3*}, 杨 轶^{1*}

1. 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 三峡大学基础医学院, 湖北 宜昌 443002

2. 三峡大学健康医学院, 湖北 宜昌 443002

3. 三峡大学第三临床医学院国药葛洲坝中心医院, 湖北 宜昌 443002

摘要: **目的** 借助生物信息学与网络药理学探究华蟾素缓解奥沙利铂诱导的周围神经毒性的靶点及作用机制。**方法** 通过 SwissTarget Prediction、PharmMapper、SuperPred 数据库预测华蟾素靶点, 从 GeneCards、OMIM、Harmonizome 3.0 数据库获取奥沙利铂诱导的周围神经毒性靶点, 结合 GEO 数据库奥沙利铂处理后的差异基因, 经交集分析得到共同靶点。运用 DAVID 数据库进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 通过 PPI 网络及机器学习筛选核心靶点, 采用 AutoDock、Gromacs 进行分子对接与动力学模拟, PyMOL、QtGrace 2.6 和 Python 3.7 辅助可视化, 利用单细胞分析探究核心靶点的特异性表达景观。**结果** 筛选华蟾素活性成分 37 种 (如噻根草醇、远华蟾毒精等), 获得共同靶点 45 个; PPI 及机器学习共同确定血小板衍生生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor beta, PDGFRB)、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1, CCND1) 等核心靶点。分子对接显示远华蟾毒精等与 CCND1、PDGFRB 结合能 < -5 kcal/mol, 动力学模拟证实 PDGFRB 与远华蟾毒精结合稳定, 单细胞分析提示华蟾素靶向基质细胞 PDGFRB 重塑神经支持性微环境。**结论** 华蟾素在急性奥沙利铂所致周围神经病变阶段通过靶向 PDGFRB 阳性神经基质细胞, 激活磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路发挥神经保护作用, 为化疗神经毒性早期预防提供理论依据。

关键词: 奥沙利铂所致周围神经毒性; 华蟾素; 网络药理学; 机器学习; 分子对接; 分子动力学模拟

中图分类号: Q811.4; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)15-5999-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.018

Exploring mechanisms of Huachansu in alleviating oxaliplatin-induced peripheral neuropathy via bioinformatic analysis and network pharmacology

CHEN Gongbo¹, LIU Lian¹, WANG Xinyue¹, WANG Xihui¹, XU Jingge¹, XU Qing¹, LIU Yayun¹, SHENG Deqiao¹, HUANG Yiling¹, YOU Chengcheng¹, GUO Yuhui², ZOU Yulin³, YANG Yi¹

1. Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, College of Basic Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

2. College of Medicine and Health Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

3. The Third Clinical Medical College of China Three Gorges University, Gezhouba Central Hospital of Sinopharm, Yichang 443002, China

Abstract: Objective To investigate the targets and mechanisms of Huachansu in alleviating oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity using bioinformatics and network pharmacology. **Methods** The targets of Huachansu were predicted via SwissTarget

收稿日期: 2026-04-02

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目 (2024AFB290); 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室 (三峡大学) 开放基金资助项目 (2024ZLGY06, 2025ZLKF08)

作者简介: 陈公伯, 硕士研究生, 从事消化道肿瘤疾病相关研究。E-mail: Chengongbo666@163.com

#共同第一作者: 刘 恋, 硕士研究生, 从事消化道肿瘤疾病相关研究。E-mail: lianliu420@163.com

*通信作者: 杨 轶, 硕士生导师, 副教授, 主要从事肿瘤药物药理研究。E-mail: yangyi1@ctgu.edu.cn

邹昱琳, 硕士生导师, 副主任药师, 主要从事临床药物治疗研究。E-mail: zouyulin1213@163.com

Prediction, PharmMapper, and SuperPred databases. Targets associated with oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity were retrieved from GeneCards, OMIM, and Harmonizome 3.0 databases. Combined with differential genes after oxaliplatin treatment from the GEO database, common targets were obtained through intersection analysis. The DAVID database was used for gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment. Core targets were screened via the PPI network and machine learning. Single-cell analysis was performed to explore the specific expression landscape of the core targets. AutoDock and Gromacs were employed for molecular docking and molecular dynamics simulation, with visualization assisted by PyMOL, QtGrace 2.6 and Python 3.7. **Results** A total of 37 active components of Huachansu were identified (e.g., telocinobufagin, hellebrigenol). Forty-five common targets were obtained. CCND1, PDGFRB, and other core targets were jointly determined by PPI network and machine learning. Molecular docking showed that telocinobufagin and other components exhibited binding energies of < -5 kcal/mol with Cyclin D1 (CCND1) and platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFRB). Molecular dynamics simulation confirmed the stable binding between PDGFRB and telocinobufagin. Single-cell analysis suggested that Huachansu targets PDGFRB in stromal cells to reshape the neuro-supportive microenvironment. **Conclusion** Huachansu exerts neuroprotective effects at the acute OIPN stage by targeting PDGFRB⁺ neural stromal cells and activating the phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) signaling pathway, providing a theoretical basis for the early prevention of chemotherapy-induced neurotoxicity.

Key words: oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity; Huachansu; network pharmacology; machine learning; molecular docking; molecular dynamics simulation

奥沙利铂诱导的周围神经毒性 (oxaliplatin-induced peripheral neuropathy, OIPN) 是奥沙利铂化疗严重的副作用之一。作为亚叶酸钙、氟尿嘧啶联合奥沙利铂 (folinic acid, 5-fluorouracil, oxaliplatin, FOLFOX) 和卡培他滨联合奥沙利铂 (capecitabine, oxaliplatin, XELOX) 等化疗方案的核心药物, OIPN 不仅是胃肠道癌症治疗中最常见的不良反应, 也是化疗诱导周围神经病变 (chemotherapy-induced peripheral neuropathy, CIPN) 中发病率最高、最受关注的类型^[1], 中医将其归属于“痹证、血痹、痿证”范畴, 核心病机为“本虚标实、痰瘀阻络”, 即化疗药毒耗伤气血致四末失养, 同时痹阻经络、痰瘀互结致气血不通, 形成“正虚-毒侵-瘀阻”的恶性循环^[2]。该发病风险与奥沙利铂剂量呈正相关^[3], 其机制核心涉及 DNA 损伤与修复异常、线粒体损伤、氧化应激、离子通道功能异常、神经炎症和转运体作用等多方面。目前多通过靶向分子机制和监测药动学优化化疗方案, 如调整奥沙利铂剂量或采用联合用药来预防和治疗 OIPN^[4-6]。但其最佳治疗方案尚未明确, 亟待进一步研究。

华蟾素来源于中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 干蟾皮, 经水提醇沉法制得的水溶性制剂, 具有清热解毒、消肿止痛、通络散结之功效^[7]。主要成分为华蟾毒精、蟾毒灵等蟾毒内酯类成分及水溶性多肽, 制剂有片剂、注射剂、胶囊等, 临床多用于恶性肿瘤、乙型肝炎及镇痛消炎治疗^[8-9]。华

蟾素的镇痛机制涉及多方面: 通过抑制核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路下调肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 等促炎因子表达, 减轻炎症介导的神经损伤; 调节 Na⁺、Ca²⁺、K⁺等离子通道功能, 阻滞痛觉信号传导; 激活阿片受体通路、上调脑内 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 含量, 协同发挥镇痛效应, 对癌性疼痛等多种疼痛类型均有确切缓解作用^[10]。基于 OIPN 的核心病机, 华蟾素既能清热解毒以清解化疗所致药毒之邪, 阻断神经损伤源头, 又能消肿止痛、通络散结以疏通痹阻经络, 精准契合 OIPN 的治疗需求。作为临床应用数十年的成熟中成药, 安全性已得到充分验证, 且能在发挥抗肿瘤作用的同时兼顾神经毒性防护, 与肿瘤患者临床需求高度契合, 使其成为 OIPN 防治领域具有开发潜力的理想药物。

针对华蟾素缓解 OIPN 这一科学问题, 本研究整合多种生物信息学术协同解析其机制。网络药理学可依托大数据构建全局互作网络, 实现对华蟾素有效成分候选靶点的系统筛选, 为机器学习提供筛选基础^[11-12]。机器学习可从复杂的转录组数据中自动学习特征, 辨识与华蟾素缓解 OIPN 显著相关的核心调控基因, 解决了靶点分散的问题^[13]。单细胞分析能够解析华蟾素缓解 OIPN 核心基因在肿瘤微环境的细胞异质性, 从而定位核心靶点的作用细胞类群, 弥补了转录组样本群体分析的局限^[14]; 分子对接联合

动力学模拟在原子层面精确评估华蟾素活性成分与靶蛋白的结合模式与亲和力,通过动态模拟验证结合稳定性以降低假阳性风险^[15]。本研究构建的多技术联合分析为华蟾素缓解 OIPN 的机制解析与药物靶点挖掘提供支撑,为后续临床推广奠定理论基础。

1 方法

1.1 华蟾素活性成分获取及 OIPN 相关靶点筛选

以“华蟾素”“Huachansu”和“HCS”为关键词,在中国知网和 PubMed 数据库检索 2010—2025 年文献,纳入采用色谱、色谱-质谱联用检测及文献回顾筛选等方式获取中华大蟾蜍提取物及其制剂(注射液、胶囊、片剂等)化学成分、入血原型组分的研究^[16-21],排除化学成分中嘌呤类、嘧啶类、氨基酸前体和胆固醇等基础内源性物质。经筛选后,合并不同剂型文献报道的化学成分并去重,最终获得活性成分。经 PubChem 数据库检索并下载活性成分的 SMILES 号及 2D 结构,提交至 SwissTarget Prediction、PharmMapper 和 SuperPred 平台预测靶点,物种均限定为 *Homo sapiens*。其中,PharmMapper 上传 2D 结构后开启构象生成,设置保留匹配得分前 300 的候选靶点;SwissTargetPrediction 与 SuperPred 直接导入 SMILES 号,采用平台默认参数。最后,将所有预测获得的靶点蛋白信息(UniProt ID)通过 UniProt 数据库 ID mapping 进行名称标准化处理获取其对应的官方基因简称,汇总后使用 R 4.2.1 进行字符串匹配去重,得到华蟾素潜在作用靶点集合。

使用 3 种不同关键词“oxaliplatin-induced peripheral neuropathy”“peripheral neuropathy induced by oxaliplatin”和“oxaliplatin-induced peripheral nerve damage”系统检索 GeneCards、OMIM 及 Harmonizome 3.0 数据库,收集 OIPN 相关靶基因,整合去重后获得 OIPN 相关靶基因集合。

1.2 奥沙利铂处理差异基因获取及共同靶点筛选

从 GEO 数据库选取 3 个奥沙利铂处理前后数据集:GSE41568(人结直肠癌组织,39 例样本,包含未接受化疗组 28 例、奥沙利铂治疗组 11 例)、GSE232525(人结直肠癌组织,2 例样本,包含奥沙利铂治疗前 1 例、奥沙利铂治疗后 1 例)及 GSE125002(大鼠脊髓背根神经节组织,6 例样本,包含对照组 3 例、奥沙利铂处理组 3 例),用 R 4.2.1 背景校正、标准化数据后,通过 limma 包进行差异表达分析。以 $|\log_2FC| > 1$ 且 $P < 0.05$ 为筛选标准,

合并各数据集差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),获得奥沙利铂处理相关 DEGs 集合。基于上述获得的 DEGs 集合,将华蟾素、OIPN 和奥沙利铂处理后 DEGs 靶点取交集得到华蟾素缓解 OIPN 作用靶点,并利用 Venny 2.1 网站构建韦恩图。

1.3 基因本体(gene ontology, GO)功能及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析

将华蟾素缓解 OIPN 作用靶点导入 DAVID 数据库,设 ID 类型为“Office Gene Symbol”,物种为“*Homo sapiens*”,KEGG 与 GO 富集均采用以校正 $P < 0.01$ 作为显著性富集条目的筛选标准,结果按校正 P 值从小到大排序。KEGG 通路富集结果采用气泡图展示,呈现显著性排名前 25 位的通路条目,气泡大小映射富集基因数量,颜色映射 P 值。GO 功能富集结果采用分组柱状图整合展示生物过程、细胞组分及分子功能三大分类,每类分别筛选并呈现显著性排名前 20 位条目,按功能类别分面展示,横轴为富集基因数量,颜色映射校正 P 值。使用 R 软件 tidyverse 包绘制可视化图并保存。

1.4 蛋白质互作(protein-protein interaction, PPI)网络与机器学习分析筛选核心靶点

将华蟾素缓解 OIPN 作用靶点提交至 STRING 数据库进行分析,限定物种为“*Homo sapiens*”,最小互作阈值设定为 high confidence > 0.7 ,获得 PPI 网络。将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.10.0 软件进行数据分析并绘制图形,根据度值(degree)、介数中心度(betweenness centrality)和接近中心度(closeness centrality)大于中位数筛选核心靶点。通过 CytoHubba 插件的最大团中心性(maximal clique centrality, MCC)、最大邻居组件(maximum neighborhood component, MNC)、degree 算法筛选交集靶点。同时,选择 GSE126773 数据集(大鼠脊髓背根神经节组织,13 例样本,包含对照组 7 例、奥沙利铂处理组 6 例)进行机器学习分析,将人类基因转换为对应大鼠基因,利用 R 语言中的 glmnet 包和 randomForest 包,分别通过最小绝对收缩选择算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)回归算法和随机森林(random forest, RF)算法,从 OIPN 相关的 DEGs 中筛选特征基因。将 2 种算法筛选得到的特征基因取交集,最终确定为与华蟾素、OIPN 及奥沙利铂处理相关的核心基因。

为评估靶点基因区分效能,采用 R 语言“rms”包进行靶点效能评估,构建 Nomogram 图展示靶点组合效应,绘制校准图评估模型拟合优度。采用 pROC 工具绘制各核心基因曲线下面积 (area under curve, AUC) 以明确其独立区分价值 ($AUC \geq 0.8$ 作为有效性阈值)。

1.5 单细胞数据分析

采用结直肠癌单细胞数据集 (GSE232525), 基于 Seurat v4.0 进行标准分析, 基因进行严格质量控制, 质控保留 RNA 计数 $\geq 1\,000$ 、基因数 > 200 、线粒体基因比例 $\leq 20\%$ 且血红蛋白基因比例 $\leq 1\%$ 的细胞。标准化采用 LogNormalize 方法, 以 vst 算法筛选前 2 000 个高变基因。主成分分析 (principal component analysis, PCA) 降维后, 经 Harmony 算法校正样本批次效应 (默认参数), 使用 ElbowPlot 函数根据拐点选取前 13 个主成分用于后续分析。基于校正后维度构建邻近网络, 采用 Louvain 算法聚类, 经 clustree 评估聚类稳定性后, 选定分辨率 0.4 完成分群, 在此基础上分别通过均匀流形近似与投影 (uniform manifold approximation and projection, UMAP) 和 t 分布随机邻域嵌入 (t -stochastic neighbor embedding, t -SNE) 对校正后数据进行可视化, 利用 FindAllMarkers 函数鉴定各细胞亚群的特异性标记基因。细胞注释采用“自动注释”联合“手动校验”: 先以 SingleR 获得初步标签, 再将各亚群前 20 个阳性标记基因与 CellMarker 2.0 数据库及文献报道的经典谱系标记 (如 PMID: 28319088、34450029) 比对, 人工确认后确定最终细胞类型。采用 VlnPlot 函数绘图, 将核心基因在各细胞类型中的表达分布特征可视化, 为核心基因的功能注释提供细胞层面的定位依据。

1.6 构建“成分-靶点-通路”网络及关键成分、靶点及重要通路的筛选

将华蟾素活性成分、华蟾素缓解 OIPN 作用的靶点及前 25 条 KEGG 富集通路注释为节点, 建立相互作用关系, 编写相应 Network 和 Type 的 Excel 文件, 并导入到 Cytoscape 3.10.0 软件, 构建华蟾素活性成分潜在靶点-疾病核心通路网络, 进行网络拓扑分析。根据度值筛选华蟾素缓解 OIPN 的关键成分、核心靶点和通路, 探究华蟾素活性成分的多靶点、多通路作用机制。

1.7 分子对接与动力学模拟验证

选取机器学习与 MCC、MNC、degree 算法交

集基因及成分-靶点-通路中度值前 10 活性成分中与两靶点相交的化合物, 进行分子对接验证。从 PDB 数据库下载靶点 PDB 文件, 经 PYMOL 去水去配体; PubChem 获取化合物 3D 结构, 用 Chem3D 优化。采用 AutoDock-Tools 1.5.7 对受体加氢并保存 PDBQT 格式及活性口袋数据, 运行 AutoDock 完成对接后, 通过 Pymol 可视化分析结果。随后, 进一步开展分子动力学模拟, 用 Pymol_win64 及 SPDBV_4.10 处理 AutoDock 的 pdbqt 文件: 筛选目标蛋白链、删除内源性小分子, 提取合格蛋白与小分子配体文件。拓扑构建: 蛋白自动加氢, 以 AMBER99SB-ILDN 力场构建并去除 Cl 等离子; 小分子采用 GAFF 力场。合并拓扑后, Gromacs 预处理: 添加盒子, 空间范围与最小距离设为 1、水模型、水离子并平衡电荷, 经最速下降法与共轭梯度法能量最小化, nvt、npt 预平衡后, 开展 100 ns 分子动力学模拟。轨迹处理后, 依次计算均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD)、均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF)、蛋白回转半径 (radius of gyration, Rg)、溶剂可及表面积 (solvent accessible surface area, SASA)、氢键数量及吉布斯自由能景观 (gibbs free energy landscape, GFEL), 最终用 QtGrace2.6 和 Python3.7 可视化分析结果。

2 结果

2.1 华蟾素活性成分靶点、OIPN 疾病靶点和奥沙利铂处理后差异基因的筛选

通过文献筛选得到包括蟾蜍毒素、华蟾毒精、蟾毒灵等 37 种华蟾素活性成分 (表 1), 经 SwissTarget Prediction、PharmMapper、SuperPred 数据库预测筛选获得 1 215 个华蟾素潜在靶点。在 GeneCards、OMIM、Harmonizome 3.0 数据库中获得 1 217 个 OIPN 疾病靶点 (图 1-A)。利用 GEO 数据库从 GSE41568、GSE232525 及 GSE125002 数据集获得 1 541 个 DEGs (图 1-B), 以上 3 个基因集取交集得到华蟾素缓解 OIPN 的 45 个靶基因 (图 1-C)。

2.2 GO 功能及 KEGG 通路富集分析

为阐明 45 个共同靶基因的生物功能及潜在调控通路, 进行了 GO 功能及 KEGG 通路富集分析, 选取富集显著性最高 (调整 $P < 0.01$) 的 GO 各亚类前 20 项、KEGG 前 25 项作图。其中与 OIPN 氧化应激异常、神经炎症浸润、神经元凋亡以及髓鞘破损等核心病理环节相关的生物学过程主要涉及凋亡信号通路的调控、对氧化应激的响应和白细

表 1 华蟾素活性成分
Table 1 Active ingredients in Huachansu

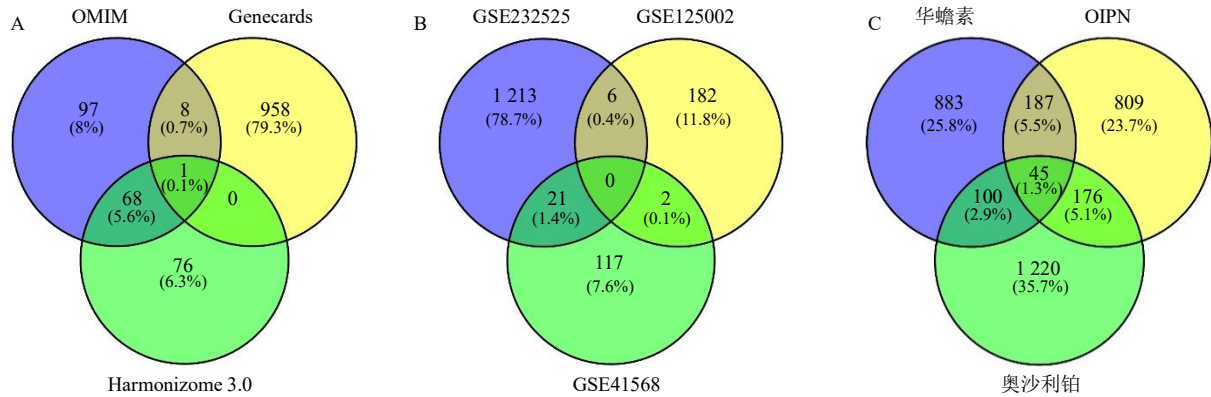
活性成分中文名称	活性成分英文名称	化学式	文献
蟾蜍毒素	bufotoxin	C ₄₀ H ₆₀ N ₄ O ₁₀	16
去乙酰华蟾毒精-3-单辛酸酯	desacetylcinobufagin-3-hemisubertae	C ₃₂ H ₄₄ O ₈	18
19-氧代-华蟾毒它灵	19-oxo-cinobufotalin	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	18
华蟾毒精/华蟾酥毒基	cinobufagin	C ₂₆ H ₃₄ O ₆	16-19
1β-羟基华蟾毒精/华蟾毒它灵/华蟾毒精醇	cinobufaginol	C ₂₆ H ₃₄ O ₇	16-19
日蟾毒它灵-3-草酸盐	gamabufotalin-3-oxalate	C ₂₆ H ₃₄ O ₈	19
蟾毒它灵	bufotalin	C ₂₆ H ₃₆ O ₆	17,19
3β-甲酰基脂蟾毒配基	3β-formyloxylresibufogenin	C ₂₅ H ₃₂ O ₅	19
蟾毒它里灵/阿根廷蟾毒精	bufotalinin	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	19
16-去乙酰基-19-氧代华蟾毒它灵	16-desacetyl-19-oxocinobufotalin	C ₂₄ H ₃₀ O ₇	19
脂蟾毒精	resibufagin	C ₂₄ H ₃₁ O ₅	16,19
脂蟾毒配基	resibufogenin	C ₂₄ H ₃₂ O ₄	16-18,20-21
南美蟾毒精	marinobufagin	C ₂₄ H ₃₂ O ₅	19
ψ-异沙蟾蜍精/异沙蟾蜍精	bufarenogin	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	19
11α,19-二羟基南美蟾毒精	11α,19-dihydroxymarinobufagin	C ₂₄ H ₃₂ O ₇	19
蟾蜍二烯内酯	bufadienolide	C ₂₄ H ₃₄ O ₂	18
蟾毒灵	bufalin	C ₂₄ H ₃₄ O ₄	16-18,20-21
远华蟾毒精	telocinobufagin	C ₂₄ H ₃₄ O ₅	17-19
嚏根草醇	hellebrigenol	C ₂₄ H ₃₄ O ₆	17,19
环(苯丙-高脯)	cyclo(Phe-HPro)	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₃	17
蟾蜍丁酸	bufobutanolic acid	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₄	19
蟾毒色胺/N-三甲基-五羟色胺	bufotenidine	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O	17,19
4,9-脱水河豚毒素	4,9-anhydro-tetrodotoxin	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₅	19
阿达林	adalinine	C ₁₃ H ₂₃ NO ₂	19
脱氢蟾蜍色胺	dehydrobufotenine	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O	17,19
N-乙酰-5-羟色胺	N-acetyl-5-hydroxytryptamine	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	17
蟾硫堇/蟾蜍噻吩	bufothionine	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	17,19-21
蟾蜍色胺	bufotenine	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	19
蟾蜍色胺氮氧化物	bufotenine nitrogen oxide	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₂	19
蟾蜍绿啶	bufoviridine	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₄ S	19
5-甲氧基-色胺	5-methoxy-tryptamine	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	19
环(高脯-亮)	cyclo(Hpro-Leu)	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₃	17
5-羟色醇	5-hydroxy tryptophol	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂	17
5-羟色胺	serotonin	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	17
邻乙氧苯甲酰胺	ethenzamide	C ₉ H ₁₁ NO ₂	19
环甘氨酸脯氨酸二肽	cyclo-pro-gly-dipeptide	C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂	19
甘氨酸甜菜碱	glycinebetaine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	17

胞迁移等；细胞组分主要涉及树突生长锥、黏着斑和神经髓鞘等；分子功能主要涉及抗氧化活性、过氧化物酶活性和趋化因子结合等。核心通路主要富集于 PI3K-Akt、晚期糖基化终产物-晚期糖基化终产物受体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycosylation end products, AGE-

RAGE)、TNF、IL-17 和坏死性凋亡等信号通路 (图 2-A、B)。上述核心条目对应的生物学功能与核心通路是华蟾素发挥抗氧化、抗炎、抗凋亡神经保护作用的关键调控靶点。

2.3 PPI 网络的构建及可视化分析

为探索 45 个靶基因对应蛋白之间的相互作用，

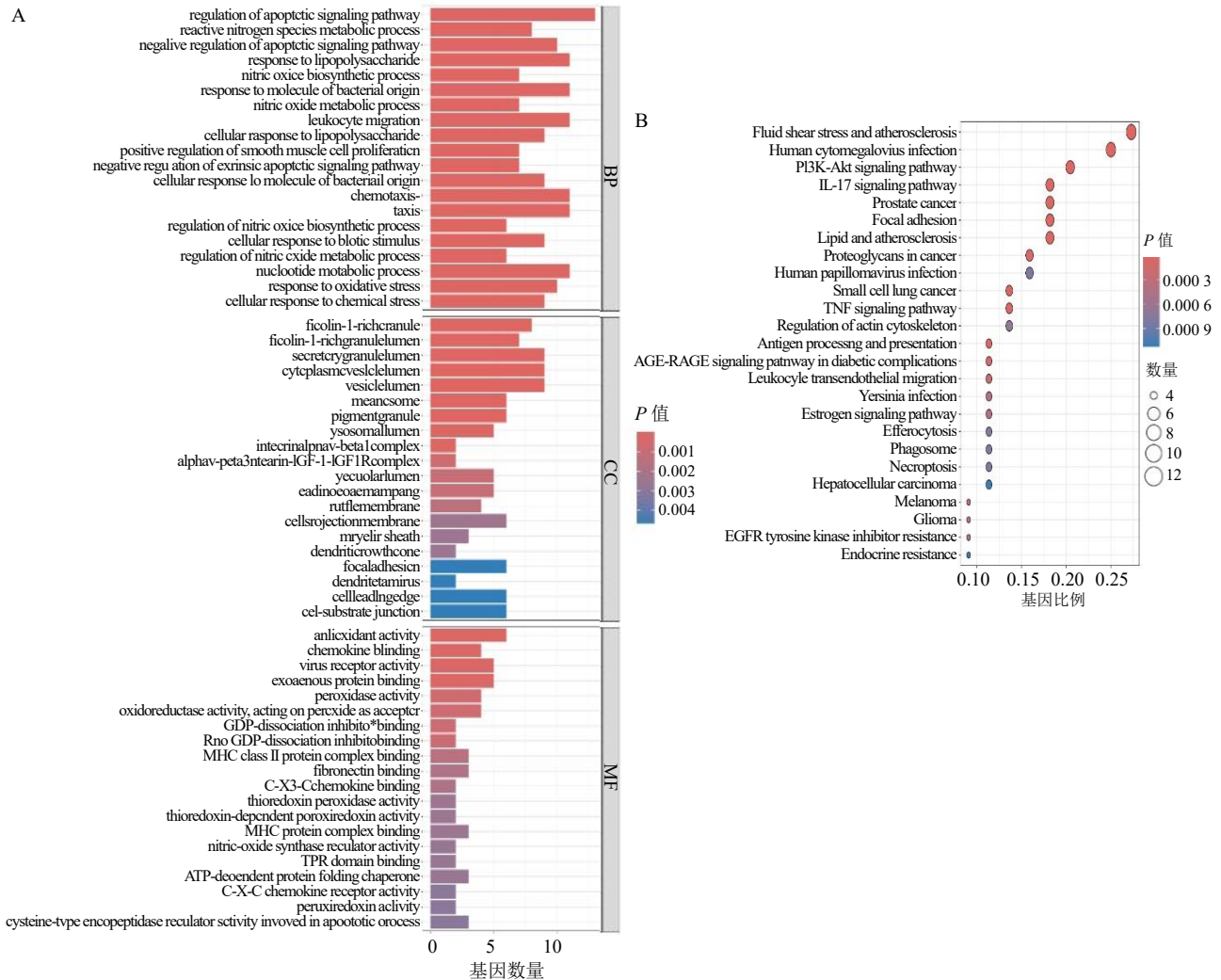


A-3 个数据库 OIPN 疾病交集靶点；B-3 个数据集奥沙利铂处理差异基因交集靶基因；C-华蟾素靶点、OIPN 疾病靶点和奥沙利铂处理相关靶点共同靶点。

A-intersection targets of OIPN disease across three databases; B-intersection target genes of differentially expressed genes after oxaliplatin treatment from three datasets; C-common targets among HCS targets, OIPN disease targets and oxaliplatin treatment-related targets.

图 1 华蟾素缓解 OIPN 差异基因的获得

Fig. 1 Acquisition of differential gene for Huachansu in alleviating OIPN



A-排名前 20 的 GO 富集分析；B-排名前 25 的 KEGG 富集分析。

A-GO enrichment analysis of top 20 ranked items; B-KEGG enrichment analysis of top 25 ranked items.

图 2 交集靶点的 GO 功能及 KEGG 通路富集分析

Fig. 2 GO function and KEGG pathway enrichment analysis of intersection targets

将靶点蛋白导入 String 数据库,得到包含 43 个节点、211 条边的蛋白互作网络。经 MCC、MNC 和 degree 3 种算法筛选获得 10 个核心靶点:胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF1)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、IL-1B、CC 基序趋化因子配体 2 (CC motif chemokine ligand 2, CCL2)、热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1

(heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90AA1)、血小板衍生生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor beta, PDGFRB)、CXC 趋化因子受体 4 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)、HSP90AB1、细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1, CCND1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) (图 3)。

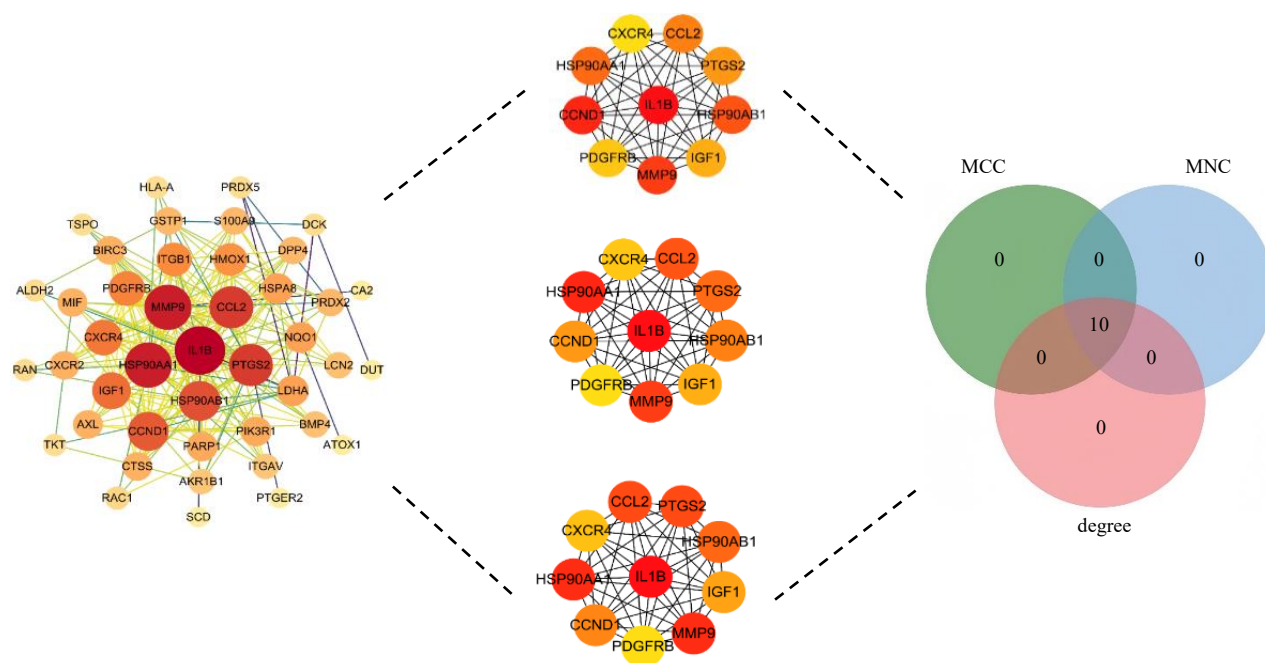


图 3 PPI 网络构建和核心靶点筛选

Fig. 3 Construction of PPI network and screening of core targets

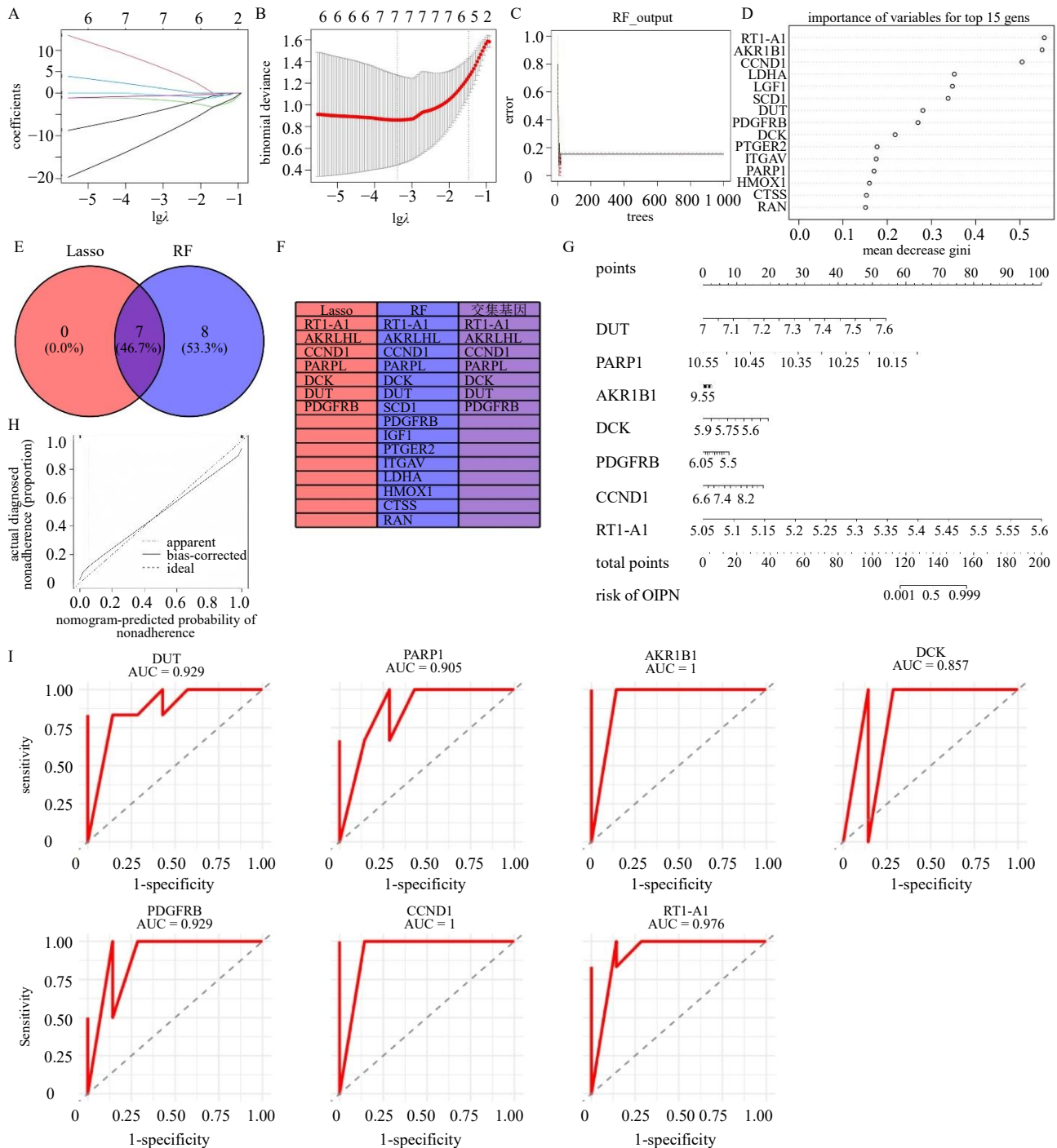
2.4 基于机器学习算法筛选关键基因和诊断性能验证

为进一步得到华蟾素缓解 OIPN 的核心基因,本研究基于 GSE126773 数据集,运用 LASSO 算法和 RF 算法对 45 个潜在靶点进行了机器学习。LASSO 算法通过 L1 正则化压缩冗余基因系数,筛选得到 7 个特征基因 (图 4-A、B), RF 算法通过决策树集成学习评估独立贡献,筛选得到 15 个高重要性基因 (图 4-C、D),二者取交集获得 PDGFRB、CCND1 和聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 [poly(ADP-ribose) polymerase 1, PARP1] 等 7 个关键基因 (图 4-E、F)。为了验证关键基因的诊断性能,对 7 个基因构建了 Logistic 回归列线图及校正曲线,验证显示真实及预测风险差异小 (图 4-G、H); 单独受试者工作特征 (receiver operator characteristic, ROC) 评估显示,7 个关键基因均表现出优异的预测效能, AUC 均接近 1:醛酮还原酶家族 1 成员 B1 (aldo-keto

reductase family 1 member B1, AKR1B1) 和 CCND1 达到 1.000, 大鼠 RT1-Ia 类 A1 基因座 (RT1 class Ia locus A1, RT1-A1) 为 0.976, 脱氧尿苷三磷酸酶 (deoxyuridine triphosphatase, DUT) 和 PDGFRB 均为 0.929, PARP1 为 0.905, 脱氧胞苷激酶 (deoxycytidine kinase, DCK) 为 0.857, 提示上述基因在预测华蟾素保护 OIPN 效应较强的区分能力 (图 4-I)。

2.5 华蟾素活性成分-核心靶点-KEGG 通路网络的构建

构建华蟾素活性成分-靶点-通路网络,其中颜色深浅及线条密度反映活性成分、核心通路及核心靶点的关联程度 (图 5-A、B)。为明确华蟾素核心活性成分,采用度值、介数中心度和接近中心度 3 个拓扑参数评估 37 个活性成分在网络中的重要性 (表 2)。度值直接反映成分连接的靶点数量,可表征其多靶点调控范围,其排名最高的活性成分为远



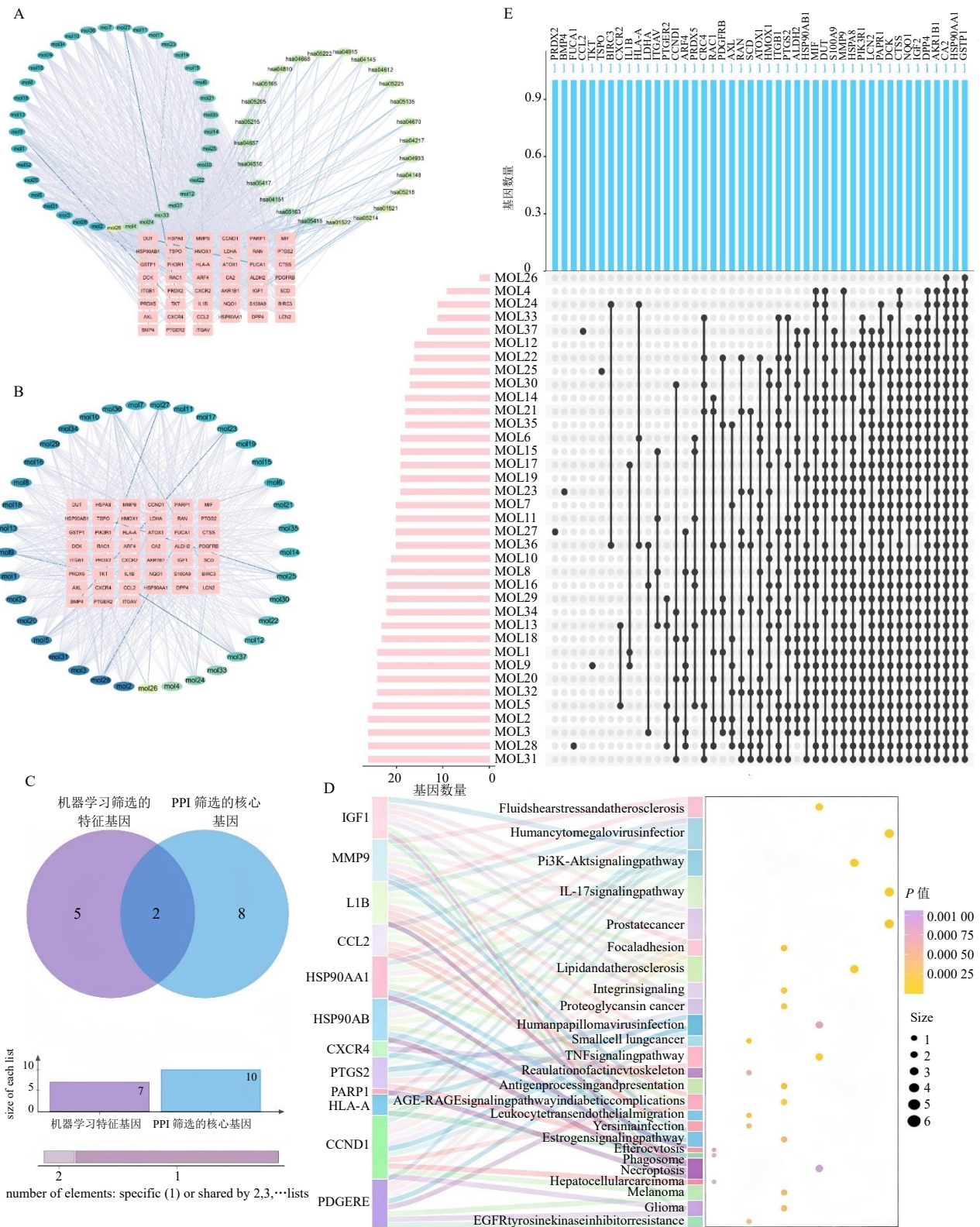
A-LASSO 回归分析筛选变量动态过程图; B-LASSO 回归交叉验证参数选择图; C-RF 回归分析随机森林决策树; D-RF 回归分析重要性排名前 15 的基因; E-LASSO 与 RF 韦恩图; F-LASSO 与 RF 交集基因; G-诊断模型构建情况列线图; H-诊断模型校正曲线; I-诊断模型 ROC 曲线。
A-dynamic process diagram of variable screening via LASSO regression analysis; B-parameter selection diagram for cross-validation of LASSO regression; C-random forest decision trees from RF regression analysis; D-top 15 genes ranked by importance in RF regression analysis; E-venn diagram of LASSO and RF results; F-intersected genes of LASSO and RF; G-nomogram showing the construction of the diagnostic model; H-calibration curve of the diagnostic model; I-ROC curve of the diagnostic model.

图 4 机器学习筛选关键基因与诊断性能验证

Fig. 4 Screening of key genes via machine learning and verification of diagnostic performance

华蟾毒精 (mol2)、嚏根草醇 (mol3)、4,9-脱水河豚毒素 (mol28) 和 *N*-乙酰-5-羟色胺 (mol31), 提示

这 4 种成分是华蟾素发挥药理核心调控作用的活性物质。为聚焦核心靶点, 将 PPI 网络中识别出的排



A-华蟾素活性成分-靶点-通路网络图; B-华蟾素活性成分-靶点图; C-PPI 网络与机器学习共同靶点韦恩图; D-核心靶点-KEGG 通路对应桑基图; E-华蟾素活性成分-靶点交互式集合可视化图。

A-network diagram of active ingredients-targets-pathways of Huachansu; B-diagram of active ingredients-targets of Huachansu; C-Venn diagram of common targets from PPI network and machine learning; D-sankey diagram of core targets corresponding to KEGG pathways; E-interactive set visualization diagram of active ingredients-targets of Huachansu.

图 5 华蟾素活性成分-靶点-KEGG 通路网络挖掘关键药效分子与机制

Fig. 5 Mining key pharmacodynamic molecules and mechanisms of Huachansu via active ingredient-target-KEGG pathway network

表 2 华蟾素核心成分网络拓扑参数
Table 2 Network topology parameters of core components of Huachansu

编号	中文名称	度值	介数中心度	接近中心度
mol2	远华蟾毒精	26	0.022 495 991 409 579 77	0.522 580 645 161 290 3
mol3	嚏根草醇	26	0.027 548 246 835 829 65	0.522 580 645 161 290 3
mol28	4,9-脱水河豚毒素	26	0.051 529 350 258 626 57	0.522 580 645 161 290 3
mol31	N-乙酰-5-羟色胺	26	0.020 802 321 035 958 31	0.522 580 645 161 290 3
mol5	蟾蜍丁酸	25	0.032 844 481 210 783 38	0.515 923 566 878 980 9
mol1	蟾毒灵	24	0.022 092 386 557 484 98	0.509 433 962 264 150 9
mol9	华蟾毒精/华蟾酥毒基	24	0.043 809 907 810 908 60	0.509 433 962 264 150 9
mol20	11 α ,19-二羟基南美蟾毒精	24	0.017 680 692 393 113 43	0.509 433 962 264 150 9
mol32	蟾硫堇/蟾蜍噻啉	24	0.014 383 679 136 884 13	0.509 433 962 264 150 9
mol13	3 β -甲酰基脂蟾毒配基	23	0.031 436 931 201 996 22	0.503 105 590 062 111 9
mol18	南美蟾毒精	23	0.014 974 473 499 262 72	0.503 105 590 062 111 9
mol8	19-氧代-华蟾毒它灵	22	0.017 447 466 565 361 37	0.496 932 515 337 423 3
mol16	脂蟾毒精	22	0.017 658 694 180 123 68	0.496 932 515 337 423 3
mol29	阿达林	22	0.014 976 035 475 616 32	0.496 932 515 337 423 3
mol34	蟾蜍色胺氮氧化物	22	0.017 234 841 425 595 11	0.496 932 515 337 423 3
mol10	1 β -羟基华蟾毒精/华蟾毒它灵	21	0.006 585 523 659 448 91	0.490 909 090 909 090 9
mol7	去乙酰华蟾毒精-3-单辛酸酯	20	0.007 426 966 598 946 88	0.485 029 940 119 760 5
mol11	日蟾毒它灵-3-草酸盐	20	0.013 181 039 451 507 35	0.485 029 940 119 760 5
mol27	蟾毒色胺/N-三甲基-五羟色胺	20	0.033 658 415 647 951 24	0.485 029 940 119 760 5
mol36	环(高脯-亮)	20	0.039 060 240 537 642 97	0.485 029 940 119 760 5
mol6	蟾蜍毒素	19	0.016 662 241 364 318 74	0.479 289 940 828 402 4
mol15	16-去乙酰基-19-氧代华蟾毒它灵	19	0.012 081 071 516 748 40	0.479 289 940 828 402 4
mol17	脂蟾毒配基	19	0.011 253 974 632 881 86	0.479 289 940 828 402 4
mol19	ψ -异沙蟾蜍精/异沙蟾蜍精	19	0.004 605 117 547 655 15	0.479 289 940 828 402 4
mol23	邻乙氧苯甲酰胺	19	0.031 333 066 814 202 77	0.479 289 940 828 402 4
mol14	蟾毒它里灵/阿根廷蟾毒精	18	0.005 937 178 302 292 84	0.473 684 210 526 315 8
mol21	5-羟色醇	18	0.009 683 816 842 991 24	0.473 684 210 526 315 8
mol35	5-甲氧基-色胺	18	0.008 075 730 200 651 20	0.473 684 210 526 315 8
mol25	蟾蜍二烯内酯	17	0.028 106 152 785 523 41	0.468 208 092 485 549 1
mol30	脱氢蟾蜍色胺	17	0.008 575 118 818 294 06	0.468 208 092 485 549 1
mol12	蟾毒它灵	16	0.002 895 064 492 802 37	0.462 857 142 857 142 9
mol22	5-羟色胺	16	0.007 832 662 052 196 51	0.462 857 142 857 142 9
mol37	蟾蜍绿啉	14	0.026 656 075 368 980 23	0.452 513 966 480 446 9
mol24	环甘氨酸脯氨酸二肽	11	0.014 765 560 182 271 96	0.437 837 837 837 837 9
mol33	蟾蜍色胺	11	0.002 809 735 190 853 55	0.437 837 837 837 837 9
mol4	环(苯丙-高脯)	9	0.000 841 123 385 092 35	0.428 571 428 571 428 6
mol26	甘氨酸甜菜碱	2	0.000 009 242 893 572 45	0.399 014 778 325 123 2

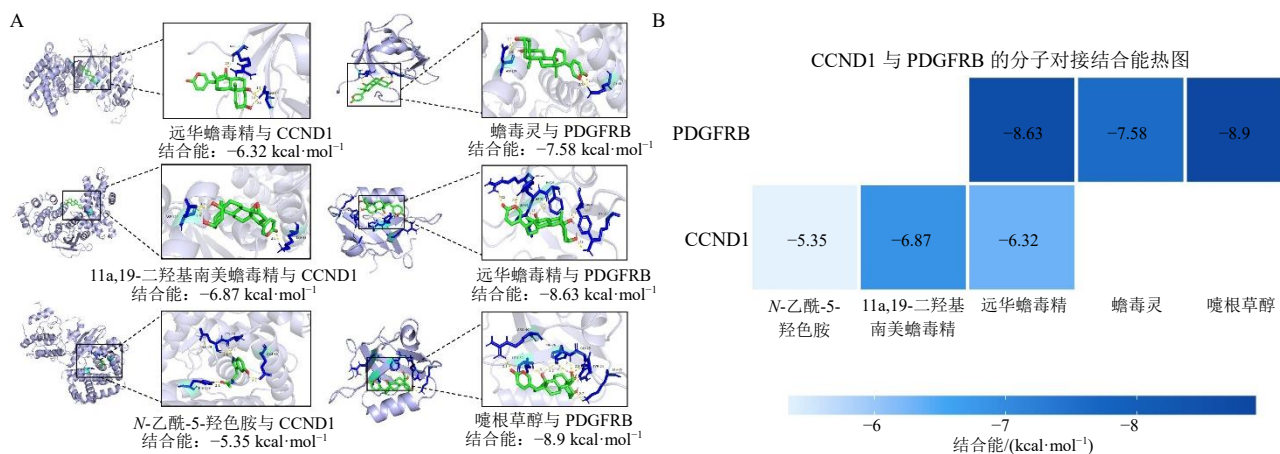
名前 10 的核心节点与 OIPN 显著相关的机器学习关键特征靶点取交集，筛选得到基因 PDGFRB、CCND1，该方法兼顾靶点的网络枢纽地位与疾病关联的统计稳健性，有效避免单一方法的假阳性风险（图 5-C）。潜在靶点与核心信号通路交互可视化的桑基图显示，PDGFRB 与 CCND1 均涉及癌症通路、

PI3K-Akt 信号通路，其中 PI3K-Akt 及 AGE-RAGE 信号通路可能在华蟾素缓解 OIPN 中起重要作用（图 5-D）。华蟾素活性成分-靶点交互可视化图（图 5-E）显示，CCND1 关联 19-氧代-华蟾毒它灵等 5 种成分，PDGFRB 关联 5-羟色胺、嚏根草醇等 8 种成分。

2.6 分子对接结果

为验证华蟾素活性成分与核心靶点的结合能力,将 PPI 网络和机器学习筛选交集靶点(CCND1、PDGFRB)与活性成分-靶点网络分析筛选出的度值前 10 的化合物进行分子对接,其对接自由结合能

均 <-5 kcal/mol (1 kcal=4.2 kJ),说明 CCND1、PDGFRB 与其关联化合物具有较好的结合亲和力。其中,PDGFRB 与噻根草醇(mol3)、远华蟾毒精(mol2)对接的亲和力最高,分别为 -8.9 、 -8.63 kcal/mol (图 6-A、B)。



A-核心化合物与关键靶点的分子对接; B-结合能热图。

A-molecular docking of core compounds and key targets; B-binding energy heat map.

图 6 华蟾素核心活性成分与关键靶点分子对接

Fig. 6 Docking of core active compounds in Huachansu with key targets

2.7 分子动力学模拟结果分析

选取结合能最高的噻根草醇与远华蟾毒精分别与 PDGFRB 开展分子动力学模拟分析,以评估华蟾素活性成分与关键靶点在生理环境下结合的动态稳定性。结果(图 7-A~H)显示,远华蟾毒精与 PDGFRB 结合的 RMSD 在约 20 ns 后进入稳定平台期,噻根草醇与 PDGFRB 结合全程波动无稳定平台,前者构象稳定性更优;与 PDGFRB 结合远华蟾毒精较噻根草醇 RMSF 整体更低、波动更小;2 个复合物 Rg 均小于 2 nm,构象紧凑且整体稳定,SASA 在 55~70 nm² 内平稳波动,其中远华蟾毒精与 PDGFRB 结合波动幅度更小;远华蟾毒精复合物氢键与近距离原子对数量更多且更稳定,结合作用更强;二者均存在唯一全局最低自由能构象,但远华蟾毒精复合物自由能盆地更窄更深,构象稳定性更强。结果表明,远华蟾毒精与 PDGFRB 形成的复合物在构象稳定性与分子间结合亲和力上均显著优于噻根草醇。

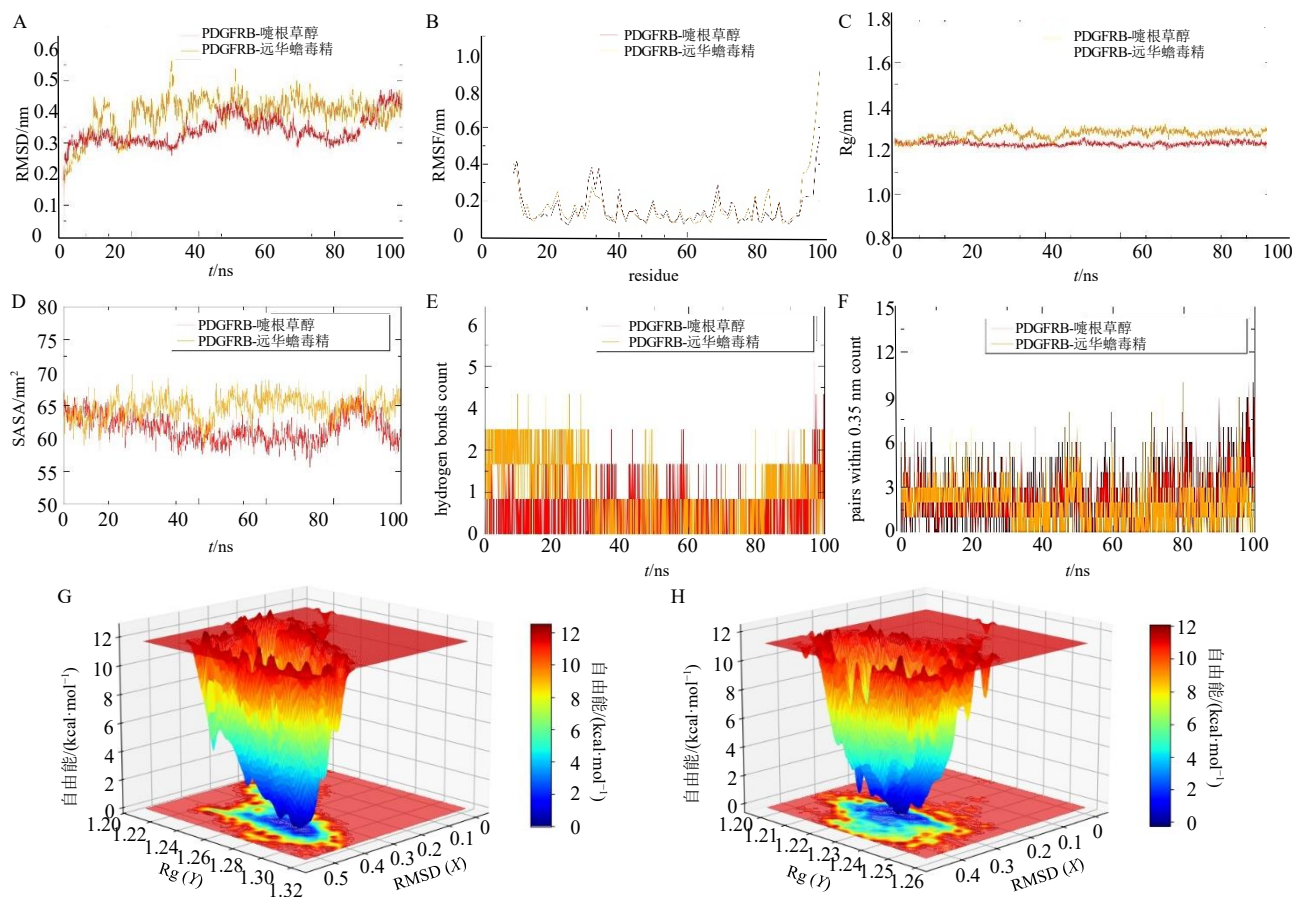
2.8 单细胞数据分析

为明确核心靶基因在结直肠癌微环境中的细胞特异性分布,选取奥沙利铂治疗前后的人结直肠

癌数据集 GSE232525 进行单细胞分析。经过无监督聚类 UMAP 可视化及标记基因注释明确 T 细胞、B 细胞和上皮细胞等 8 类细胞(图 8-A、B)。细胞比例显示,经过奥沙利铂治疗后(奥沙利铂组)T 细胞、B 细胞占比分别上升 17%和 10%,提示奥沙利铂诱导了肿瘤微环境中适应性免疫应答的激活。上皮细胞、恶性细胞分别下降 9%和 47%,反映了奥沙利铂对快速增殖肿瘤细胞的毒性杀伤效应。基质细胞占比下降 8%,表明奥沙利铂的治疗显著耗竭了肿瘤微环境中的支持性细胞成分(图 8-C)。靶基因特异性表达分析显示,核心靶点 PDGFRB 与 CCND1 均在基质细胞中富集,在 OIPN 的发生发展中,基质细胞的减少会破坏血-神经屏障、削弱神经营养支持,加重神经损伤(图 8-D)。

3 讨论

急性 OIPN 指输注后数小时至 7 d 内出现的冷诱发感觉异常,主要归因于电压门控钠离子通道(voltage gated sodium channel, Nav)功能障碍。然而,越来越多的证据表明,在急性症状出现之前,奥沙利铂已启动一系列细胞级联反应,包括线粒体 DNA 损伤、氧化应激爆发及早期神经炎症。有研究



A-均方根偏差; B-均方根波动; C-回转半径; D-溶剂可及表面积; E-氢键数量; F-原子对<3.5 nm 数量; G-远华蟾毒精与 PDGFRB 自由能景观图; H-嚏根草醇与 PDGFRB 自由能景观图。

A-root mean square deviation; B-root mean square fluctuation; C-radius of gyration; D-solvent accessible surface area; E-hydrogen bond count; F-number of atom pairs less than 3.5 nm; G-free energy landscape of telocinobufagin and PDGFRB; H-free energy landscape of hellebrigenol and PDGFRB.

图 7 嚏根草醇、远华蟾毒精与关键靶点分子动力学模拟结果

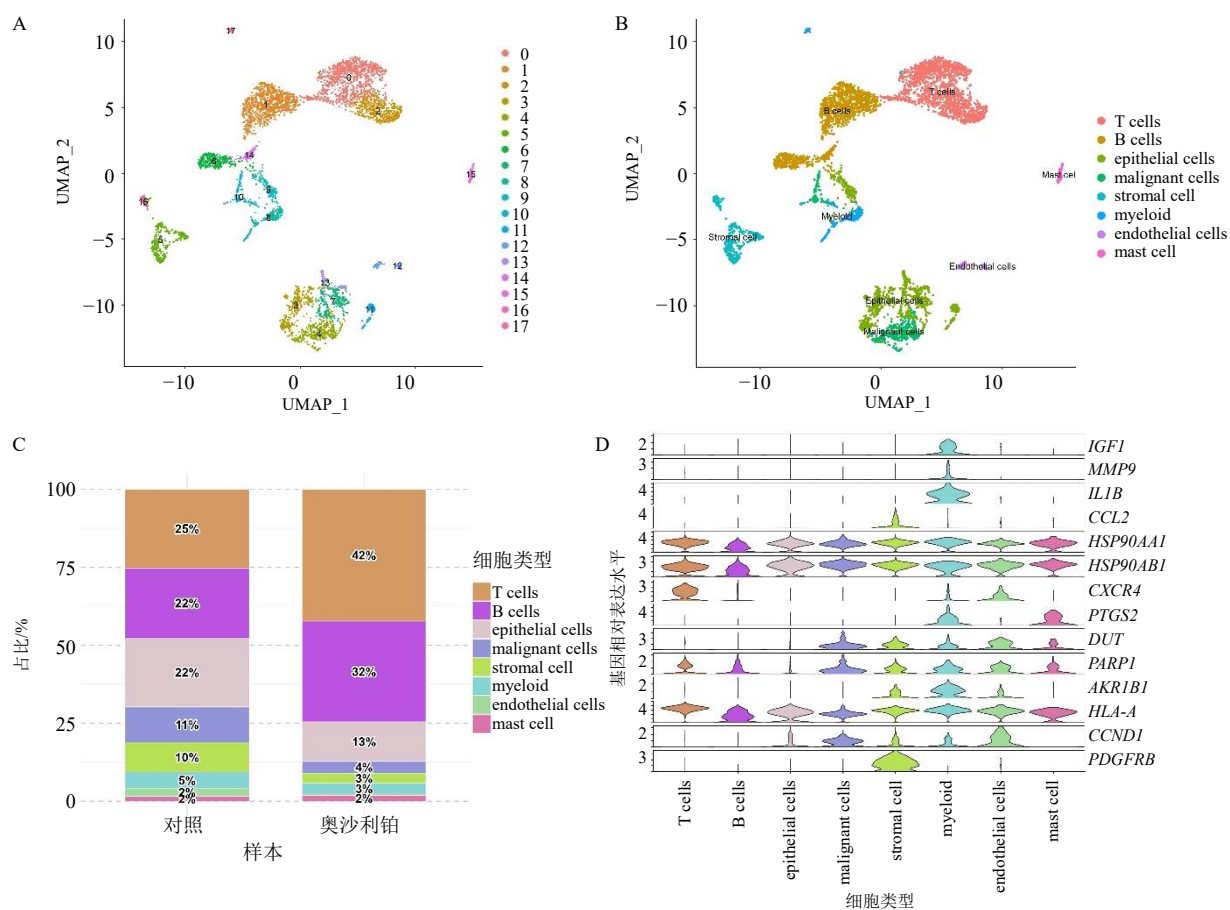
Fig. 7 Molecular dynamics simulation results of hellebrigenol, telocinobufagin and key targets

表明,急性期症状的严重程度是慢性 OIPN 的强预测因子^[22-24]。因此,在亚临床阶段或急性期进行早期干预,可能是阻断疼痛慢性化进程的关键。华蟾素的抗炎、镇痛特性与 OIPN 亚临床期-急性期的核心发病机制高度契合,但现有研究仅聚焦于华蟾素对普通疼痛或肿瘤本身的作用,尚未涉及华蟾素缓解 OIPN 的特异性机制,其关键作用靶点、核心调控通路及“成分-靶点-疾病”的协同作用模式仍属空白,限制了华蟾素在 OIPN 临床治疗中的精准应用。

为系统解析华蟾素缓解 OIPN 的复杂机制,本研究首先构建了“成分-疾病”靶点的 PPI 网络。识别出 10 个核心靶点,其中,IL-1B 作为炎症启动子激活胶质细胞并释放炎症介质,放大神经炎症与痛觉信号^[25-26]; PTGS2 催化前列腺素合成,直接加剧痛觉过敏和神经炎症^[27]; CCL2 则趋化单核细胞/巨

噬细胞浸润神经组织,放大炎症级联反应^[28]。MMP9 降解神经基底膜成分破坏血-神经屏障,同时激活炎症因子,协同加重神经炎症^[29]。它们作为炎症反应的核心驱动基因,提示调控神经炎症是华蟾素发挥作用的核心通路之一。

随后,本研究将靶点置于疾病表型数据中进行机器学习,以提升靶点的疾病相关性及预测效能,由此获得 7 个关键靶点,其中,PARP1 在奥沙利铂诱导的 DNA 损伤和氧化应激下过度活化,通过消耗氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)破坏神经元能量代谢,加重线粒体损伤与氧化应激,诱发神经毒性,而 PARP 抑制剂可阻断此过程,发挥神经保护和化疗增敏作用^[30]。这表明华蟾素的作用机制不限于缓炎症解这



A-无监督聚类 UMAP 图; B-细胞注释 UMAP 图; C-细胞组成比例图; D-核心基因的细胞类型特异性表达分析。

A-unsupervised clustering UMAP plot; B-cell annotation UMAP plot; C-cell composition proportion plot; D-cell type-specific expression analysis of core genes.

图 8 奥沙利铂治疗前后人结直肠癌单细胞图谱

Fig. 8 Single-cell atlas of human colorectal cancer before and after oxaliplatin treatment

一下游症状,更可能通过干预奥沙利铂诱导的 DNA 损伤-能量代谢这一上游核心事件,实现更为根本的神经保护。

值得注意的是,CCND1 与 PDGFRB 作为 2 种方法共同验证的交集靶点,可能是华蟾素发挥神经保护作用的核心枢纽。KEGG 富集分析显示,二者均显著富集于 PI3K-Akt 信号通路,提示可能通过 PI3K-Akt 轴介导神经保护与修复过程。

PI3K-Akt 信号通路是急性神经损伤中的核心神经保护通路。在缺血性卒中、脊髓损伤等多种急性神经损伤模型中,该通路通过调控凋亡相关蛋白阻断线粒体凋亡途径,显著抑制神经元凋亡,并且增强神经元抵御炎症与氧化应激损伤的能力、维持神经元存活,还能助力神经结构与功能恢复,促进轴突再生与神经修复^[31-34]。值得注意的是,PI3K-Akt 通路的神经保护作用并非仅限于神经元自身,

其在神经微环境支持细胞(如基质细胞)中的激活同样至关重要。基质细胞(如周细胞、成纤维细胞)是神经微环境的核心支持组分,可通过多途径发挥神经保护作用。其中,周细胞通过维持血-神经屏障(blood-nerve barrier, BNB)完整性,减轻炎症与继发性损伤,神经内膜成纤维细胞则分泌促轴突生长因子,直接支持神经元存活与再生^[35-36]。因此,基质细胞的存活、增殖及分泌功能为损伤后微环境稳态重建提供支撑,是神经损伤早期保护的关键环节。本研究单细胞测序分析显示,PDGFRB 特异性表达于基质细胞群,通路分析富集于 PI3K-Akt 信号通路。由此提示,基质细胞中 PDGFRB 介导的 PI3K-Akt 信号激活可能是连接细胞外微环境信号与细胞内神经保护响应的关键分子桥梁。

近年来研究表明,BNB 功能障碍是化疗药物所致周围神经损伤发病机制中的关键环节^[37]。

PDGFRB⁺周细胞作为 BNB 的核心结构组分, 不仅通过紧密连接调控屏障通透性, 还通过旁分泌及细胞外囊泡转运神经营养因子 (脑源性神经营养因子、神经生长因子、神经营养因子 3) 与血管内皮生长因子等生长因子, 协同支持神经元存活并促进外周神经损伤后的功能恢复^[38-41]。针对奥沙利铂周围神经病变的研究提出, 铂类药物可直接损伤周细胞, 导致紧密连接蛋白 (ZO-2、occludin) 表达下调、BNB 通透性增加^[42-44], 进而会加剧神经毒性物质渗入和神经炎症, 提示 PDGFRB⁺周细胞是 OIPN 病理进程中的关键靶点。并且, 脑周细胞中 PDGFRB-PI3K-Akt-mTOR 信号已被证实可促进周细胞存活^[45-46]。多项研究已证实华蟾素可直接调控 PI3K-Akt 信号通路, 在乳腺癌、胃癌及结直肠癌中, 华蟾素均以 PIK3CA 为分子开关, 抑制 PI3K 激酶活性或下调 p110 α 蛋白表达, 使下游 AKT/mTOR 失活, 发挥抑制肿瘤增殖、迁移及诱导凋亡的作用^[16-17,47]。但 PI3K-Akt 通路的生物学效应具有显著的细胞与组织特异性, 并非单向调控模式。肿瘤细胞内通路病理性激活会驱动恶性进展, 而外周神经组织中该通路的激活或表达上调是缓解外周神经损伤、促进轴突再生与髓鞘修复的重要分子事件。研究表明, PI3K-Akt 信号通路激活后, 其下游经典效应分子糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β) 因 Ser9 位点的磷酸化而失活, 进而抑制细胞凋亡、促进细胞存活, 该机制已在血管内皮细胞、神经元和施万细胞中得到证实。鉴于 PI3K-Akt/GSK-3 β 是一条进化上高度保守的生存信号轴, 且周细胞作为神经血管单元的重要组成部分, 也应与上述细胞类型共享该保护机制^[48-50]。

华蟾素对 PI3K-Akt 通路的双向调控本质上取决于细胞类型决定的分子开关与组织的特异性, 在肿瘤中表现为“抑制增殖”, 在神经周细胞中表现为“促进存活”。因此, 推测华蟾素可能通过激活外周神经中 PDGFRB⁺周细胞中的 PI3K-Akt 通路, 保护周细胞并恢复其屏障维持与神经营养功能, 进而缓解 OIPN, 这与本研究得到的结论一致。

尽管在理解华蟾素缓解急性 OIPN 的分子机制方面已取得显著进展, 但本研究仍存在若干局限性。作为计算生物学研究, 尚未经体内实验验证; 受限于 OIPN 相关外周神经单细胞测序数据的稀缺性, 所采用单细胞数据源于经奥沙利铂化疗的结直肠癌组织, 与外周神经组织存在来源差异; 靶点预

测及分子动力学模拟亦无法完全排除假阳性或与体内环境的偏差。未来需通过体内外细胞与动物模型验证其调控效应。

4 结论

本研究整合网络药理学、生物信息学及计算机辅助药物设计方法, 系统分析了华蟾素在急性 OIPN 阶段发挥神经保护作用的潜在机制, 揭示华蟾素缓解急性 OIPN 的核心机制在于其关键活性成分远华蟾毒精选择性靶向 PDGFRB⁺神经基质细胞, 激活 PI3K-Akt 信号通路, 通过维持血-神经屏障完整性、促进神经营养因子释放, 恢复神经周围微环境支持功能。此外, 基于网络药理学靶点预测分析, 华蟾素还可能协同干预 PARP1 相关能量代谢障碍及早期神经炎症反应, 形成“微环境修复-能量代谢调控-炎症调节”的协同防御网络, 进而阻断急性损伤向慢性疼痛转化。后续研究需通过实验验证上述机制, 为华蟾素在化疗神经毒性“早期预防-精准干预”中的临床应用提供理论支撑

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cheng F, Zhang R Q, Sun C, *et al.* Oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity in colorectal cancer patients: Mechanisms, pharmacokinetics and strategies [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1231401.
- [2] 陈珍雨, 刘璐, 姚舒宁, 等. 化疗诱发的周围神经病变毒性机制及中医药防治策略 [J]. *中草药*, 2026, 57(6): 2356-2367.
- [3] Ali N T, Mohamed A A, Yousef B A. The incidence of oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity at Khartoum oncology hospital: A cross-sectional survey [J]. *Asia Pac J Oncol Nurs*, 2020, 7(3): 266-272.
- [4] Burgess J, Ferdousi M, Gosal D, *et al.* Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Epidemiology, pathomechanisms and treatment [J]. *Oncol Ther*, 2021, 9(2): 385-450.
- [5] Cavaletti G, Marmiroli P. Management of oxaliplatin-induced peripheral sensory neuropathy [J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1370.
- [6] Sałat K. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Part 2: Focus on the prevention of oxaliplatin-induced neurotoxicity [J]. *Pharmacol Rep*, 2020, 72(3): 508-527.
- [7] 王宁军, 芦殿荣, 杨柳, 等. 华蟾素缓解癌性疼痛作用机制的研究进展 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2016, 11(4): 590-592.
- [8] 宋少晨, 张冠南, 李柳, 等. 基于癌毒病机理论探讨华

- 蟾素治疗消化系统恶性肿瘤及其作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(21): 5999-6007.
- [9] 周秀丽, 刘宝生, 马文明, 等. 华蟾素制剂在肿瘤患者的临床使用分析 [J]. 中国药物警戒, 2024, 21(7): 791-797.
- [10] 巴茜远, 周诗旸, 罗欣欣, 等. 华蟾素抗癌性疼痛的药理作用及作用机制的研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2019, 25(9): 695-698.
- [11] Nogales C, Mamdouh Z M, List M, *et al.* Network pharmacology: Curing causal mechanisms instead of treating symptoms [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2): 136-150.
- [12] 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.
- [13] Besli N, Ercin N, Celik U, *et al.* How to expedite drug discovery: Integrating innovative approaches to accelerate modern drug development [J]. *ACSi*, 2025: 581-600.
- [14] Inayatullah M, Dwivedi A K, Tiwari V K. Advances in single-cell omics: Transformative applications in basic and clinical research [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2025, 95: 102548.
- [15] Yan D J, Ma Y, Chen X, *et al.* Molecular dynamics-driven drug discovery [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2025, 27(24): 12633-12651.
- [16] Yang Z T, Wang Y F, Huang S C, *et al.* Identification of potential anti-tumor targets and mechanisms of Huachansu Injection using network pharmacology and cytological experiments in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2024, 19(5): e0303650.
- [17] Deng Y Q, Gao M, Lu D, *et al.* Compound-composed Chinese medicine of Huachansu triggers apoptosis of gastric cancer cells through increase of reactive oxygen species levels and suppression of proteasome activities [J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155169.
- [18] Huang J H, Chen F Y, Zhong Z F, *et al.* Interpreting the pharmacological mechanisms of Huachansu Capsules on hepatocellular carcinoma through combining network pharmacology and experimental evaluation [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 414.
- [19] 吴欢, 唐卯星, 陶欣怡, 等. UPLC-ESI-QTOF/MS⁺E 结合 UNIFI 快速分析华蟾素注射液化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(3): 498-506.
- [20] 王卫锋, 罗红锁, 李捷. 高效液相色谱法测定华蟾素片中中华蟾素毒基和脂蟾毒配基含量 [J]. 中国药业, 2010, 19(10): 36-37.
- [21] 吴毅, 许妍, 赵雯, 等. HPLC 法同时检查华蟾素片中蟾毒灵、华蟾酥毒基及酯蟾毒配基限量和测定蟾蜍嗉吟的含量 [J]. 中国药事, 2012, 26(1): 53-56.
- [22] Velasco R, Alemany M, Villagrán M, *et al.* Predictive biomarkers of oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity [J]. *J Pers Med*, 2021, 11(7): 669.
- [23] Yang Y, Zhao B, Gao X J, *et al.* Targeting strategies for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: Clinical syndrome, molecular basis, and drug development [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 331.
- [24] Calls A, Torres-Espin A, Tormo M, *et al.* A transient inflammatory response contributes to oxaliplatin neurotoxicity in mice [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2022, 9(12): 1985-1998.
- [25] Mahmoud O, Oladipo O, Mahmoud R H, *et al.* Itch: From the skin to the brain—peripheral and central neural sensitization in chronic itch [J]. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1272230.
- [26] Song Q B, E S H, Zhang Z Y, *et al.* Neuroplasticity in the transition from acute to chronic pain [J]. *Neurotherapeutics*, 2024, 21(6): e00464.
- [27] Jang Y, Kim M, Hwang S W. Molecular mechanisms underlying the actions of arachidonic acid-derived prostaglandins on peripheral nociception [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 30.
- [28] Chen Y Y, Liu S Y, Wu L L, *et al.* Epigenetic regulation of chemokine (CC-motif) ligand 2 in inflammatory diseases [J]. *Cell Prolif*, 2023, 56(7): e13428.
- [29] Zhang Y, Shu X H, Zhang Y, *et al.* Astrocyte-derived MMP-9 is a key mediator of pseudorabies virus penetration of the blood-brain barrier and tight junction disruption [J]. *Vet Res*, 2025, 56(1): 72.
- [30] McQuade R M, Stojanovska V, Bornstein J C, *et al.* PARP inhibition in platinum-based chemotherapy: Chemopotentiation and neuroprotection [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 137: 104-113.
- [31] Guo Y, Yu Y H. PI3K/Akt pathway and neuroinflammation in sepsis-associated encephalopathy [J]. *Open Med*, 2025, 20: 20251248.
- [32] Duan Z D, Peng Y Q, Xu D Y, *et al.* Scutellarin alleviates neuronal apoptosis in ischemic stroke via activation of the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(5): 2175.
- [33] Chen T B, Yu L C, Cai Z J, *et al.* Identification and experimental validation of biomarkers associated with PI3K/AKT signaling pathway in spinal cord injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2026, 63(1): 572.
- [34] Liu T L, Li X L, Zhou X W, *et al.* PI3K/AKT signaling and neuroprotection in ischemic stroke: Molecular mechanisms and therapeutic perspectives [J]. *Neural Regen Res*, 2025, 20(10): 2758-2775.
- [35] Sprenger-Svačina A, Svačina M K R, Otlů H G, *et al.*

- Endoneurial immune interplay in peripheral nerve repair: Insights and implications for future therapeutic interventions [J]. *Front Neurosci*, 2025, 19: 1602112.
- [36] Hara M, Kadoya K, Endo T, *et al.* Peripheral nerve-derived fibroblasts promote neurite outgrowth in adult dorsal root ganglion neurons more effectively than skin-derived fibroblasts [J]. *Exp Physiol*, 2023, 108(4): 621-635.
- [37] Reinhold A K, Hartmannsberger B, Burek M, *et al.* Stabilizing the neural barrier—A novel approach in pain therapy [J]. *Pharmacol Ther*, 2023, 249: 108484.
- [38] Heming M, Börsch A L, Wolbert J, *et al.* Multi-omic identification of perineurial hyperplasia and lipid-associated nerve macrophages in human polyneuropathies [J]. *Nat Commun*, 2025, 16: 7872.
- [39] Sharma K, Zhang Y P, Paudel K R, *et al.* The emerging role of pericyte-derived extracellular vesicles in vascular and neurological health [J]. *Cells*, 2022, 11(19): 3108.
- [40] Shimizu F, Sano Y, Abe M A, *et al.* Peripheral nerve pericytes modify the blood-nerve barrier function and tight junctional molecules through the secretion of various soluble factors [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(1): 255-266.
- [41] Gaceb A, Özen I, Padel T, *et al.* Pericytes secrete pro-regenerative molecules in response to platelet-derived growth factor-BB [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38(1): 45-57.
- [42] Jindatip D, Nopparat W, Kobutree P, *et al.* Pericyte loss and detachment in experimental cisplatin-induced neuropathy [J]. *Int J Morphol*, 2019, 37(2): 509-514.
- [43] Tothonglor A, Kobutree P, Roumwong A, *et al.* Cisplatin-induced alterations in the blood-nerve barrier: Effects of combination of vitamin B₁, B₆ and B₁₂ [J]. *Folia Morphol*, 2023, 82(1): 53-62.
- [44] Patai R, Csik B, Nyul-Toth A, *et al.* Persisting blood-brain barrier disruption following cisplatin treatment in a mouse model of chemotherapy-associated cognitive impairment [J]. *GeroScience*, 2025, 47(3): 3835-3847.
- [45] Shen J, Xu G H, Zhu R X, *et al.* PDGFR- β restores blood-brain barrier functions in a mouse model of focal cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(8): 1501-1515.
- [46] Sweeney M D, Ayyadurai S, Zlokovic B V. Pericytes of the neurovascular unit: Key functions and signaling pathways [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(6): 771-783.
- [47] Yang H X, Chen Y X, Dai C L, *et al.* Huachansu suppresses colorectal cancer via inhibiting PI3K/AKT and glycolysis signaling pathways: Systems biology and network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 343: 119479.
- [48] Tan J H, Geng L, Yazlovitskaya E M, *et al.* Protein kinase B/Akt-dependent phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 β in irradiated vascular endothelium [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(4): 2320-2327.
- [49] Endo H, Nito C, Kamada H, *et al.* Activation of the Akt/GSK3 β signaling pathway mediates survival of vulnerable hippocampal neurons after transient global cerebral ischemia in rats [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26(12): 1479-1489.
- [50] Dou S, Li Z J, Zheng B Y, *et al.* ROCK inhibition promotes axon and myelin regeneration via PI3K/Akt/GSK3 β in a mouse sciatic nerve injury model [J]. *Int J Mol Med*, 2025, 57(1): 1-12.

[责任编辑 潘明佳]