

基于网络药理学从巨噬细胞极化途径研究维药刺山柑治疗RA的作用机制

刘永丰¹, 刘新^{1*}, 刘永寿², 毕瑞雪³

¹新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐

²黑龙江中医药大学第一临床医学院, 黑龙江 哈尔滨

³新疆医科大学乌鲁木齐市中医医院, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年11月25日; 录用日期: 2023年12月19日; 发布日期: 2023年12月29日

摘要

目的: 应用网络药理学方法筛选刺山柑治疗类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的靶点, 从巨噬细胞极化途径探讨刺山柑防治类风湿关节炎的药理机制。方法: 通过查阅相关文献检索刺山柑的主要化学成分; 通过Pubchem有机小分子生物活性数据库检索化学成分的SMILES结构式, 经Swiss ADME数据库筛选后将符合标准的化学成分上传至Swiss Target Prediction数据库预测药物活性靶点; 通过人类基因数据库(Gencards)、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)数据库获取巨噬细胞极化相关靶点; 绘制韦恩图并获取刺山柑活性成分与巨噬细胞极化的共同靶点; 基于String平台构建药物疾病共同靶点的蛋白互作网络; 基于David平台进行基因本体(gene ontology, GO)生物功能分析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; 采用Cytoscape-v3.9.0软件构建“成分-靶点-通路”网络, 应用网络分析仪(network analyzer)功能获得各成分、靶点的网络拓扑参数, 筛选刺山柑发挥调控巨噬细胞极化的重要活性成分及核心靶点。结果: 通过文献检索获得25个刺山柑活性成分及186个相关靶点; 通过Gene Cards、OMIM数据库获得4081个巨噬细胞极化潜在靶点; 将药物成分作用靶点与巨噬细胞极化相关靶点映射后, 得到刺山柑调控巨噬细胞极化治疗RA的靶点165个; GO生物功能富集分析得到681个条目, 其中生物过程445条, 细胞组分74条, 分子功能162条; KEGG通路富集分析获得136个信号通路, 主要涉及HIF-1信号通路、氮素代谢通路、ROS通路、PI3K-Akt信号通路等生物学途径; 网络拓扑分析得出刺山柑调控巨噬细胞极化的重要活性成分异鼠李素、木犀草素、山柰酚、芹菜素等化合物, 重要靶点基因主要有AKT1、TNF、EGFR等。结论: 刺山柑可能通过异鼠李素、山柰酚、木犀草素、芹菜素等潜在药效成分调控AKT1、TNF、EGFR等多个靶点基因的表达, 通过HIF-1信号通路、氮素代谢通路、ROS通路、PI3K-Akt信号通路等多个信号通路协同作用, 发挥调控巨噬细胞极化介导RA治疗的作用。

关键词

刺山柑, 巨噬细胞极化, 类风湿关节炎, 网络药理学

*通讯作者。

Study on the Mechanism of Uygur Medicine *Capparis spinosa* in Treating RA from Macrophage Polarization Pathway Based on Network Pharmacology

Yongfeng Liu¹, Xin Liu^{1*}, Yongshou Liu², Ruixue Bi³

¹Institute of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

²The First Clinical College of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

³Urumqi Hospital of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Nov. 25th, 2023; accepted: Dec. 19th, 2023; published: Dec. 29th, 2023

Abstract

Objective: To investigate the mechanism of treatment of rheumatoid arthritis (RA) with macrophage polarization pathway of capers based on network pharmacology. **Methods:** The main chemical constituents of capers were retrieved by referring to relevant literature. SMILES structural expressions of chemical components were retrieved through Pubchem organic small molecule bioactivity database, and chemical components meeting the criteria were screened by Swiss ADME database and uploaded to Swiss Target Prediction Database for drug active targets prediction. Targets related to macrophage polarization were obtained from the Human Gene Database (Gencards) and the online mendelian inheritance in man (OMIM) database. The common target of active components of capers and macrophage polarization was obtained by Wynn diagram. The protein interaction network of common target of drug disease was constructed based on String platform. The biological functions were analyzed based on the gene ontology (GO) platform and the enrichment analysis of the kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway was conducted based on the David platform. Cytoscape-v3.9.0 software was used to construct the “component-target-pathway” network, network topology parameters of each component and target were obtained by network analyzer, and important active components and core targets of Capers were selected to play a role in regulating macrophage polarization. **Results:** 25 active ingredients and 186 related targets of capers were obtained by literature search. A total of 4081 potential targets for macrophage polarization were obtained by Gene Cards and OMIM database. After mapping the targets of drug components to the targets related to macrophage polarization, 165 targets of capers regulating macrophage polarization for RA treatment were obtained. GO biological function enrichment analysis obtained 681 items, including 445 biological processes, 74 cell components, and 162 molecular functions. KEGG pathway enrichment analysis obtained 136 signaling pathways, mainly involving HIF-1 signaling pathway, nitrogen metabolism pathway, ROS pathway, PI3K-Akt signaling pathway and other biological pathways. Network topology analysis showed that isorhamnetin, luteolin, kaempferol, apigenin and other important active components of capers regulate the polarization of macrophages, and the important target genes were mainly AKT1, TNF, EGFR and so on. **Conclusions:** Capers may regulate the expression of AKT1, TNF, EGFR and other target genes through potential pharmacodynamic components such as isorhamnetin, kaempferol, luteolin and apigenin, and through the synergistic effect of HIF-1 signaling pathway, nitrogen metabolism pathway,

ROS pathway, PI3K-Akt signaling pathway and other signaling pathways. Play a role in regulating macrophage polarization mediating RA therapy.

Keywords

Capparis spinosa, Macrophage Polarization, Rheumatoid Arthritis, Network Pharmacology

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种病因未明的进行性、系统性自身免疫疾病,其基础的病理改变为关节滑膜炎、血管翳形成,并逐渐出现关节软骨和骨的破坏,导致关节畸形和功能障碍[1]。在我国 RA 患病率已达到 0.42%,并呈现不断升高趋势,病程为 5~10 年患者致残率为 43.48% [2],既造成患者自身生活质量减低,而且长期的医疗和康护费用形成严重的经济困境。RA 炎症过程中涉及固有免疫系统的 ILCs 亚群和适应性免疫系统的细胞失衡以及细胞因子调节失调等不同途径[3]。巨噬细胞是固有免疫系统重要成员,不仅可以吞噬和杀灭致病微生物,还能通过生产多种促炎细胞因子和趋化因子参与 RA 致病过程。在不同的微环境影响下,巨噬细胞可极化为不同的亚型,发挥促炎和抗炎的不同作用[4],这一生物学过程被称为巨噬细胞极化[5]。根据功能及炎症因子分泌水平分,可将其分为两种表型:一种为脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)和(或)干扰素(interferon, IFN)- γ 等促炎因子诱导的经典活化巨噬细胞,即 M1 型巨噬细胞,分泌促炎介质 TNF- α 、IL-12、IL-6,活性氧(reactive oxygen species, ROS)和一氧化氮(nitricoxide, NO)等。第二种为 IL-4、IL-13、IL-10 和 TGF- β 等诱导的抗炎巨噬细胞,即 M2 型巨噬细胞,可分泌 TGF- β 、VEGF、EGF 等因子,具有促进组织修复、血管再生及纤维化的功能[6]。M1 和 M2 极化失衡是 RA 重要病理变化之一。在 RA 患者中, M1/Th1 激活发生在 toll 样受体(TLR)和干扰素(IFN)信号主导的炎症环境中,它促进肿瘤坏死因子 TNF- α 、白介素 IL-1、IL-12、IL-18 和 IFN γ 、趋化因子和基质金属蛋白酶的大量产生,导致破骨细胞形成、侵蚀和进行性关节破坏。另一方面, M2/Th2 反应的激活决定了抗炎过程中生长因子和细胞因子的释放,从而导致 RA 的临床缓解[7]。

刺山柑(*Capparis spinosa* L.)为白花菜科山柑属藤本植物,《新疆药用植物志》记载其有祛风除湿、散寒、止痛、消肿等功效[8] [9],为新疆地区维吾尔医治疗风湿病习用药材,近年来,许多学者对刺山柑在抗风湿方面的作用进行了研究,周海凤[10]等动物实验发现刺山柑精制提取物,能有效缓解弗氏完全佐剂和 II 型胶原引起的大鼠关节附件的肿胀,其作用机制可能是通过下调 TNF- α 、IL-1、IFN- α 等相关炎症因子的表达。古丽娜[11]等发现刺山柑凝胶能够下调促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-17 和上调抑炎因子 IL-10 表达水平,达到缓解类风湿关节炎症状、缩短病程及治疗疾病的作用。上述研究表明,刺山柑治疗 RA 机制可能是调控巨噬细胞极化通路,但具体作用机制尚不明确。

网络药理学是一种通过构建“药物-疾病-靶点”多级网络,揭示药物与疾病关联,进而在蛋白质、分子和基因水平上阐释药物对疾病作用机制[12]的生物信息学系统研究方法。本研究采用网络药理学方法,获取维药刺山柑的主要活性成分,从巨噬细胞极化途径揭示维药刺山柑调控 RA 的机制,为刺山柑的临床应用及科学研究提供参考。

2. 资料与方法

2.1. 刺山柑活性成分及作用靶点的收集

查询相关文献[13] [14] [15]获取刺山柑化学成分,并将化学成分名称输入 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)依次进行检索,获取化学成分的 SMILES 结构式,借助 Swiss ADME 数据库(<http://www.swissadme.ch/>),进一步筛选刺山柑疗效较完善的活性化合物。将筛选所得数据导入 Swiss Target Prediction 平台[16],筛选出置信度(probability)≥0.1 的靶点,并在蛋白质序列数据库(<https://www.uniprot.org/>) [17],进行靶点蛋白名称标准化处理,整合药物相关靶点。

2.2. 巨噬细胞极化相关靶点的收集

基于人类孟德尔遗传数据库(<https://www.omim.org/>) [18]、人类基因数据库(<https://www.genecards.org/>) [19]进行检索,以“Macrophage polarization”作为检索词,整合去重,获取巨噬细胞极化的潜在靶点数据。

2.3. 刺山柑活性成分 - 巨噬细胞极化共同靶点的获取及蛋白相互作用网络 (Protein Protein Interaction, PPI)的构建

将刺山柑活性成分相关靶点及巨噬细胞极化靶点输入 Venny 2.1 网站(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)建立数据库,筛选交集靶点,绘制韦恩图(Venn diagram)。

随后利用 String 平台(<https://cn.string-db.org/>) [20]预测“刺山柑活性成分 - 巨噬细胞极化”靶点相互作用关系,设定物种为智人(Homo sapiens),最小互相作用阈值为“highest confidence (>0.9)”,其他参数保持默认设置,获取 PPI 数据网络。

2.4. 富集分析

将刺山柑作用于巨噬细胞极化的靶点信息上传至 David (<https://david.ncifcrf.gov/>) [21]数据库,分别进行 GO 基因本体生物功能分析和 KEGG 通路富集分析,设置 $P < 0.01$,结果应用在线绘图系统 Hiplot (<https://hiplot-academic.com/>)进行数据可视化,选取前 10 个条目绘制富集分析图。

2.5. “药物成分 - 靶点 - 信号通路”网络的构建

将药物成分和靶点信息导入 Cytoscape-v3.9.0 软件,构建“药物成分 - 靶点 - 信号通路”的模式图,并使用网络分析仪(network analyzer)插件获得各成分、靶点的网络拓扑参数,获得刺山柑调控巨噬细胞极化的重要活性成分及核心靶点。

3. 结果

3.1. 刺山柑活性成分及其相关靶点

通过文献检索获得刺山柑化学成分,经 Swiss ADME 数据库,根据 5 类药性预测(egan, Lipinski, veber, ghose, muegge)结果中有 2 个及 2 个以上“YES”作为筛选条件,最终获得阿魏酸、芹菜素、山奈酚等 25 个刺山柑活性成分(见表 1)。通过将 SMILES 结构式上传至 Swiss Target Prediction 数据库,预测得到药物作用靶点,合并去重,共得到刺山柑活性成分相关靶点 186 个。

3.2. 巨噬细胞极化相关靶点

以“Macrophage polarization”作为检索词作为关键词,在 GeneCards 数据库检索得到 3930 个巨噬细

胞极化的潜在靶点, OMIM 数据库中获得 151 个巨噬细胞极化的潜在靶点。去除重复靶点后, 将潜在靶点在 Uniprot 数据库进行基因名称规范, 共获得 4081 个潜在靶点。

3.3. “药物 - 疾病” 共同靶点及 PPI 网络

应用 Venny 2.1 网站将 186 个刺山柑活性成分靶点与 4081 个巨噬细胞极化相关靶点进行映射, 最终得到 “药物 - 疾病” 共有靶点 165 个, 并绘制 Venn 图(见图 1)。将获得的 165 个 “药物 - 疾病” 共有靶点上传至 String 数据库, 构建 PPI 网络, 该网络包含 165 个相互作用节点和 1210 条相互作用关系(见图 2)。

Table 1. *Capparis spinosa* L. active ingredients

表 1. 刺山柑活性成分

ID	Effective component	Canonical SMILES
CSG1	3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸	CCN1CSC2=C1C=CC(=C2)S(=O)(=O)O
CSG2	胆碱	C[N+](C)(C)CCO
CSG3	阿魏酸	COC1=C(C=CC(=C1)C=CC(=O)O)O
CSG4	白藜芦醇	C1=CC(=CC=C1C=CC2=CC(=CC(=C2)O)O)O
CSG5	补骨脂素	C1=CC(=O)OC2=CC3=C(C=CO3)C=C21
CSG6	丁香酸	COC1=CC(=CC(=C1O)OC)C(=O)O
CSG7	对羟基苯甲酸	C1=CC(=CC=C1C(=O)O)O
CSG8	对香豆酸	C1=CC(=CC=C1C=CC(=O)O)O
CSG9	反式肉桂酸	C1=CC=C(C=C1)C=CC(=O)O
CSG10	奎宁酸	C1C(C(C(C1(C(=O)O)O)O)O)O
CSG11	没食子酸	C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C(=O)O
CSG12	木犀草素	C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
CSG13	芹菜素	C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O
CSG14	芹菜素-7-O-葡萄糖苷	C1=CC(=CC=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O)O)O
CSG15	山奈酚	C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
CSG16	香草醛酸	COC1=C(C=CC(=C1)C(=O)O)O
CSG17	香豆素	C1=CC=C2C(=C1)C=CC(=O)O2
CSG18	亚精胺	C(CCNCCCN)CN
CSG19	异补骨脂素	C1=CC2=C(C=CO2)C3=C1C=CC(=O)O3
CSG20	异硫氰酸乙酯	CCN=C=S
CSG21	异硫氰酸异丙酯	CC(C)N=C=S
CSG22	异硫氰酸仲丁酯	CCC(C)N=C=S
CSG23	异鼠李素	COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
CSG24	原儿茶酸	C1=CC(=C(C=C1C(=O)O)O)O
CSG25	棕榈酸	CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O

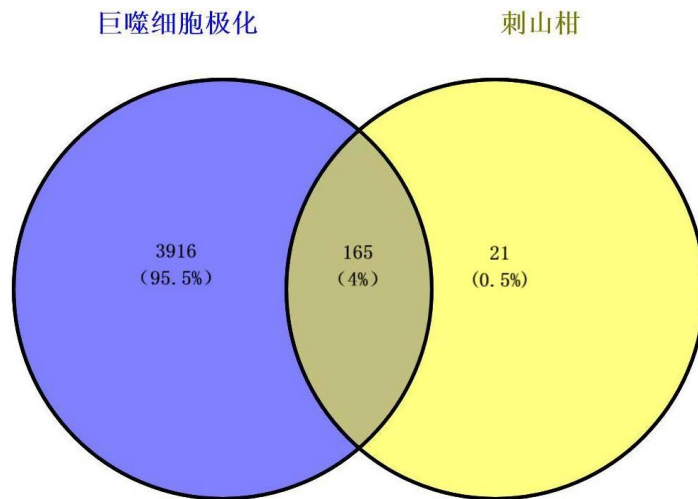


Figure 1. Wayne analysis of drug targets versus disease targets
图 1. 药物靶点与疾病靶点韦恩分析图

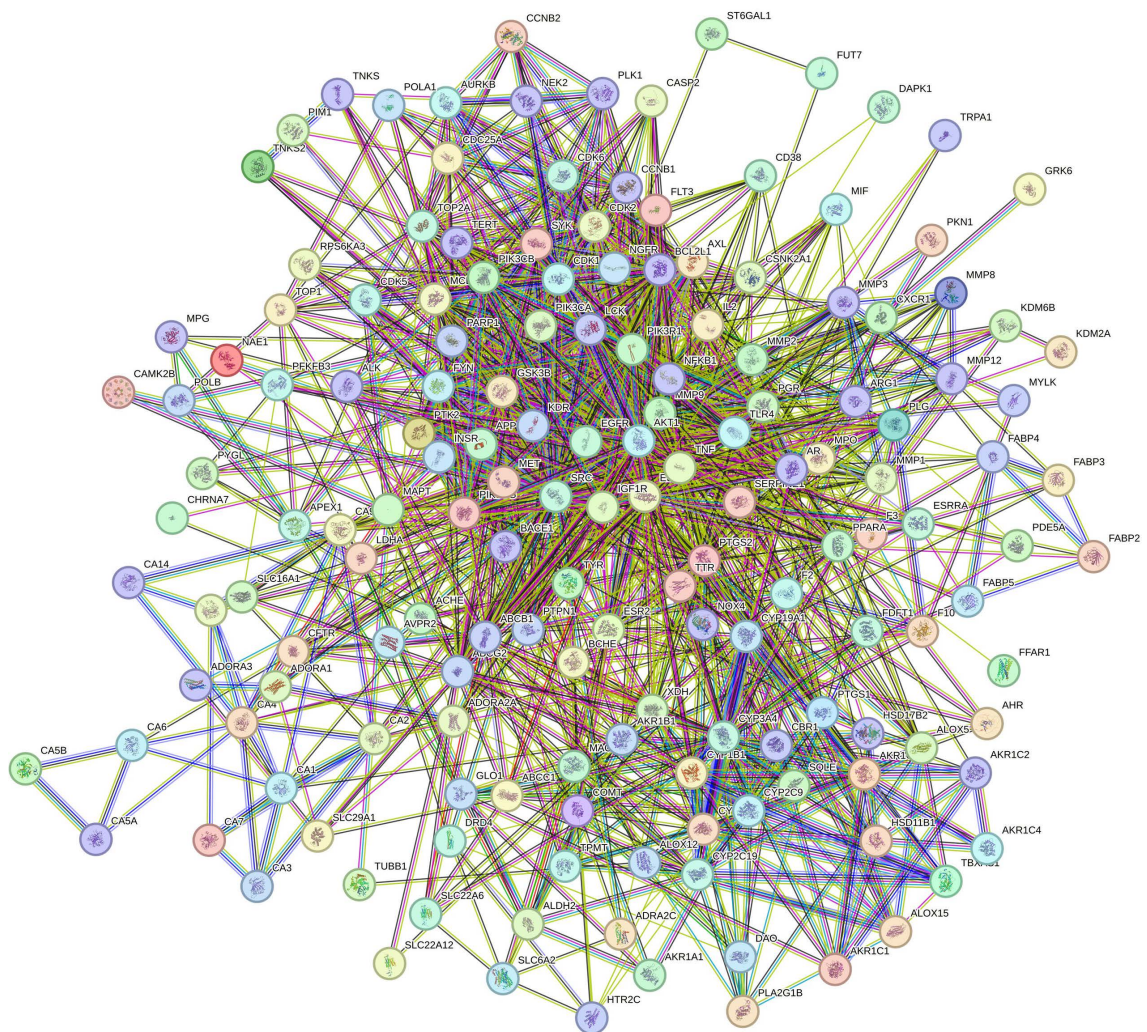


Figure 2. PPI network diagram
图 2. PPI 网络图

3.4. GO 生物功能和 KEGG 通路富集分析

将 165 个“药物-疾病”共有靶点导入 David 平台, 进行 GO 生物功能分析和 KEGG 通路富集分析, 包括生物过程(biological processes, BP)、细胞组分(cellular components, CC)、分子功能(molecular functions, MF), 以 $P < 0.01$ 为主要筛选标准, 获得 GO 生物功能条目 681 条, 其中 BP445 条, 主要涉及蛋白激酶 B 信号传导的正向调节(positive regulation of protein kinase B signaling)、蛋白质磷酸化(protein autophosphorylation)、对药物的反应(response to drug)、单碳代谢过程(one-carbon metabolic process); CC79 条, 主要涉及质膜(plasma membrane)、胞浆(cytosol)、细胞质(cytoplasm)、细胞外分泌体(cytoplasm)、大分子复合物(macromolecular complex)等; MF154 条, 主要涉及水解酶活性(hydro-lyase activity)、碳酸盐脱水酶活性(carbonate dehydratase activity)、酶结合(enzyme binding)、ATP 结合(ATP binding)等(见图 3)。

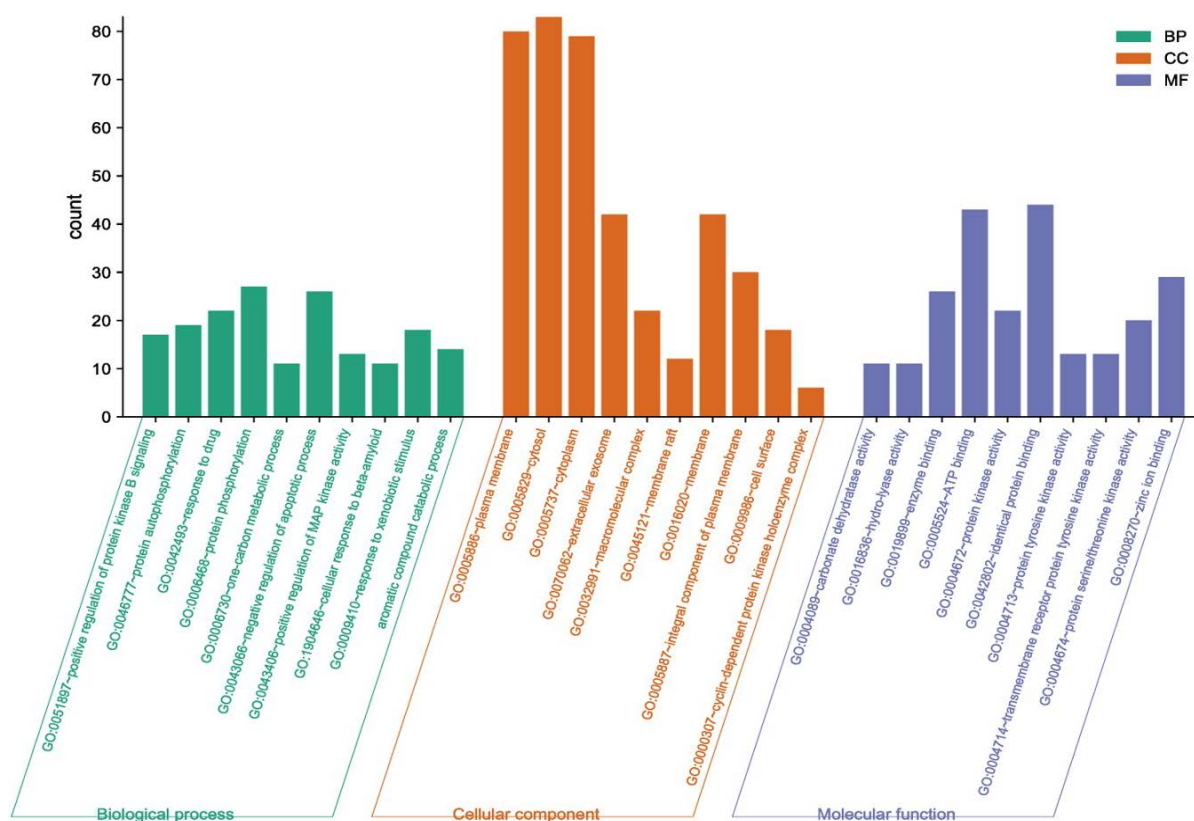


Figure 3. GO Biofunction analysis histogram

图 3. GO 生物功能分析柱状图

KEGG 分析共获得 136 个信号通路, 主要涉及缺氧诱导因子通路(HIF-1 signaling pathway)、活性氧致癌(chemical carcinogenesis-reactive oxygen species)、氮代谢(nitrogen metabolism)、PI3k-AKT 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、癌症通路(Pathways in cancer)等(见图 4)。

3.5. “药物成分-靶点-通路”网络的构建

应用 Cytoscape-v3.9.0 软件构建“药物成分-靶点-通路”可视化模式图, 共见 200 个节点, 724 个相互关系(见图 5)。借助网络分析(network analyzer)功能进行网络拓扑分析, degree 度值越高, 表示参与的生物过程越多, 获得度值最高的四种核心有效成分, 分别是异鼠李素、山奈酚、芹菜素、木犀草素。主要靶点基因, degree 度值最高前四依次为 AKT1、TNF、EGFR、SRC。

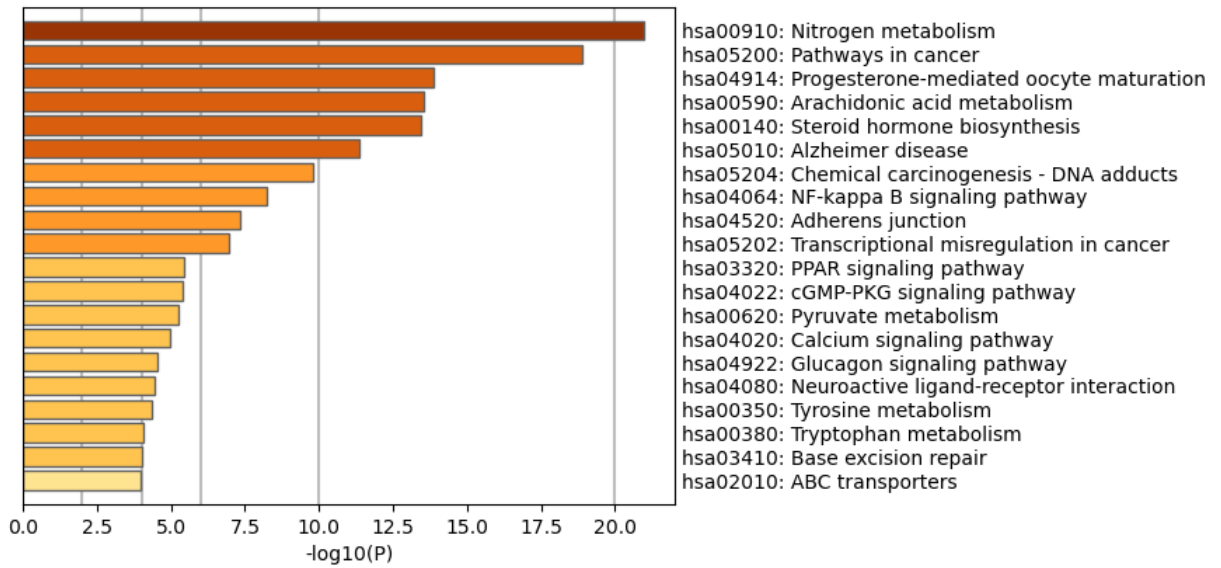


Figure 4. KEGG pathway analysis diagram

图 4. KEGG 通路分析图

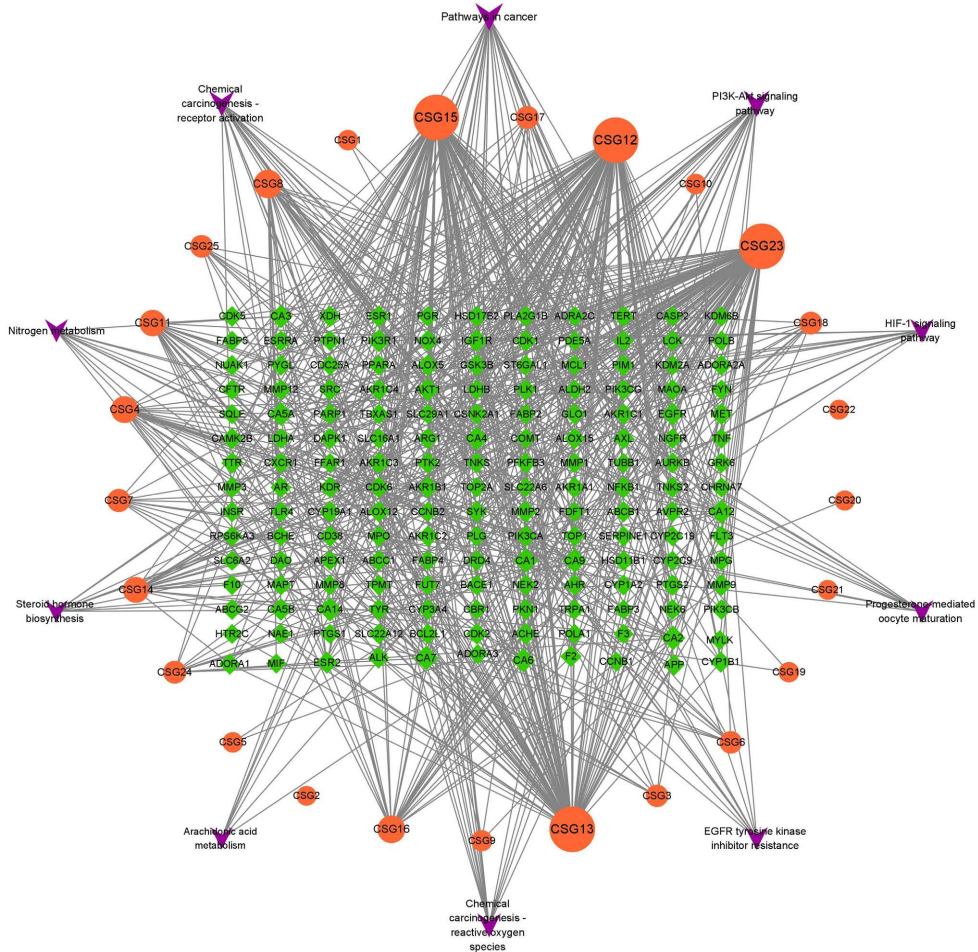


Figure 5. Drug composition-target-pathway network

图 5. “药物成分 - 靶点 - 通路”网络

4. 讨论

现代医学研究表明巨噬细胞极化参与 RA 的滑膜炎症和骨侵蚀, 并与 RA 疾病活动密切相关[22]。同时有研究表明刺山柑对巨噬细胞极化相关因子具有调节作用。本研究采用网络药理学方法从巨噬细胞极化途径探讨分析了刺山柑治 RA 的潜在作用机制。共挖掘出刺山柑成分 25 个, 药物潜在靶点 186 个, 巨噬细胞极化相关靶点 4081 个, “药物 - 疾病” 共同靶点 165 个。

本研究发现在“药物成分 - 靶点 - 通路”网络中异鼠李素(isorhamnetin)、山柰酚(kaempferol)、木犀草素(luteolin)、芹菜素(celery)等黄酮化合物自由度最高。已有研究发现, 这 4 种成分对巨噬细胞极化平衡具有调控作用, 发挥显著的抗炎活性。异鼠李素对 LPS 所介导的促炎性因子释放具有一定抑制作用, 陈伟明[23]等通过用 ELISA 法检测细胞炎症因子释放, 证实异鼠李素能减弱 LPS 刺激下 THP-1 细胞 IL-6、TNF- α 、MCP-1 等炎症因子的释放, 并与作用浓度相关。山柰酚被证实能够抑制高糖和 LPS 诱导巨噬细胞产生的 NO 及 IL-1 β , 诱导巨噬细胞向 M2 型转化[24]。动物实验研究结果证实对改善 CIA 模型小鼠关节水肿、调节炎症细胞迁移、软骨改变和骨侵蚀[25]产生作用。有研究发现, 木犀草素可能通过参与下调 p-STAT3 及上调 p-STAT6 来调节 RAW264.7 细胞极化, 既抑制 M1 型巨噬细胞标志物的表达, 并促进 M2 型标志物的表达[26]。郑梦菲[27]等用 100 ng/mL LPS 刺激 RAW264.7 巨噬细胞构建炎症模型, 发现木犀草素和芹菜素可以抑制模型中巨噬细胞 NF- κ B 信号通路的激活, 调控巨噬细胞极化。以上研究提示, 异鼠李素、山柰酚、木犀草素、芹菜素等成分可能是刺山柑调控巨噬细胞极化治疗 RA 的重要活性成分, 参与抑制炎症和免疫反应进而发挥治疗作用。

KEGG 通路富集分析发现刺山柑主要通过调控 HIF-1 信号通路、氮素代谢通路、ROS 通路、PI3K-Akt 信号通路等生物学途径调节巨噬细胞极化平衡发挥抑制炎症和免疫反应、调节骨代谢的作用。低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF), 是组织细胞在低氧状态下诱导最直接的唯一调控因子, 由氧依赖性的功能亚单位 α 亚基(包括 1 α 、2 α 、3 α)和结构亚单位 β 亚基构成[28] [29]。

巨噬细胞极化常伴随着代谢水平的变化。M1 型巨噬细胞以糖酵解为主要途径获取能量。研究表明 HIF-1 α 通过直接反式激活编码丙酮酸脱氢酶激酶 1(pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1)的基因, PDK1 使丙酮酸脱氢酶失活, 丙酮酸无法转化为乙酰辅酶 A, 导致丙酮酸在三羧酸循环中无法被进一步代谢, 三羧酸循环受到抑制。并将葡萄糖代谢物从线粒体分流到糖酵解, 诱导巨噬细胞 M1 型极化[30] [31]。与此同时, 细胞氧化呼吸链减弱, 在 6-磷酸果糖-2 激酶(6-phosphofructo-2-kinase, PFK2)催化作用下, 活性氧(ROS)和一氧化氮(NO)生成增多, ROS 与 NO 产生协同效应, 从而促使巨噬细胞分泌促炎因子, 介导巨噬细胞 M1 型极化[32]。潘书涵[33]等的研究也表明人 RA-FLS 细胞培养液与细胞中 TNF- α 、HIF-1 α 、iNOS 以及 NO 等巨噬细胞极化诱导因子均会逐渐增加。

PI3K 可将磷脂酰肌醇 2 磷酸(PIP2)磷酸化成磷脂酰肌醇 3 磷酸(PIP3)。多种生长因子和细胞因子等都能通过激活 PI3K 活化 PI3K/AKT 通路, 进而引起级联反应。AKT 是一种特异性蛋白激酶, 参与了 PI3K 信号的许多下游活动, 同时还扮演着 PI3K/AKT 通路传导信使的重要角色, AKT 被活化后可调控细胞存活、增殖和凋亡的蛋白靶点[34]。研究显示 PI3K/Akt 信号通路在巨噬细胞激活和基因表达中发挥至关重要的作用, Akt 激酶参与巨噬细胞极化调控, 敲除 Akt1 基因引起 M1 极化, 相反, 敲除 Akt2 则引起 M2 极化[35] [36]。有文献报道, PI3K 被激活后导致趋化因子 SDF-1 表达增加, 造成破骨细胞 OC 前体细胞数量增加、迁移增强, 启动 RA 骨破坏[37]。此外, 关键靶点还富集在类固醇激素生物合成信号通路、黄体酮介导的卵母细胞成熟通路、癌症通路, 提示刺山柑对性激素分泌、癌症等亦有调控作用。

PPI 网络拓扑分析可知, 刺山柑调控巨噬细胞极化的主要靶点为 TNF、AKT1、EGFR 等。TNF 家族包括 TNF- α 和 TNF- β , 研究表明 TNF- α 诱导的滑膜炎症反应是 RA 发病中重要的原因之一。此外还调控

IL-1、IL-6 和 MMPs 等炎症因子的释放, 激活破骨细胞分泌蛋白酶消化骨基质, 是骨质破坏的重要机制[38]。TNF- α 抑制剂为临床常用生物制剂, 可通过阻断 TNF- α 与受体结合, 已经成为治疗 RA 的有效策略[39]。AKT1 是 PI3K/Akt 通路的重要一员, 该通路参与调节细胞周期、控制凋亡等诸多方面、血管形成等病理生理过程[40]。RA 患者滑膜中 EGFR 基因所表达的 AP-1 蛋白水平的升高将增加 IL-6 的产生, 促进滑膜成纤维细胞增殖[41]。

5. 结语

本文采用网络药理学为研究方法, 构建“刺山柑有效成分-靶点-巨噬细胞极化”网络模式图, 分析了有效成分-靶点-信号通路之间的相互作用关系, 并推测维药刺山柑可能通过异鼠李素、山奈酚、木犀草素、芹菜素等潜在药效成分协同作用于 AKT1、TNF、EGFR 等多个靶点, 通过 HIF-1 信号通路、氮素代谢通路、ROS 通路、PI3K-Akt 等多个信号通路协同作用, 初步揭示了刺山柑调控巨噬细胞极化治疗 RA 的作用机制, 为药效物质基础提供了参考依据, 对于未来更深入的机制研究具有一定的参考价值, 同时刺山柑调控巨噬细胞极化治疗 RA 的具体生物学机制有待更进一步的实验论证。

基金项目

国家自然科学基金(项目编号: 81860834)。

参考文献

- [1] Guo, Q., Wang, Y., Xu, D., Nossent, J., Pavlos, N.J. and Xu, J. (2018) Rheumatoid Arthritis: Pathological Mechanisms and Modern Pharmacologic Therapies. *Bone Research*, **6**, 107-120. <https://doi.org/10.1038/s41413-018-0016-9>
- [2] 田新平, 李梦涛, 曾小峰. 我国类风湿关节炎诊治现状与挑战: 来自中国类风湿关节炎 2019 年年度报告[J]. 中华内科杂志, 2021, 60(7): 593-598.
- [3] 薛宏伟, 吴瑞荷, 丁婷婷, 等. 固有淋巴细胞调控类风湿关节炎免疫稳态的研究进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2021, 25(5): 334-338.
- [4] 李雪, 罗清. 巨噬细胞极化在类风湿关节炎中的作用[J]. 生命科学, 2018, 30(3): 261-266.
- [5] 宋丹, 熊晓蕃, 杨雨, 等. 巨噬细胞极性重塑在疾病和组织稳态中的作用[J]. 中国细胞生物学学报, 2022, 44(5): 904-916.
- [6] Patel, U., et al. (2017) Macrophage Polarization in Response to Epigenetic Modifiers during Infection and Inflammation. *Drug Discovery Today*, **22**, 186-193. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.08.006>
- [7] Maurizio, C., Rosanna, C., Emanuele, G., et al. (2022) The Role of M1/M2 Macrophage Polarization in Rheumatoid Arthritis Synovitis. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article 867260. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.867260>
- [8] 毛祖美, 主编. 新疆植物志(第二卷第二册) [M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2019.
- [9] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 维吾尔药卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 222-223.
- [10] 周海凤, 乐心逸, 王娴娴, 等. 刺山柑果实精制提取物抗类风湿关节炎的实验研究[J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(3): 227-230.
- [11] 古丽娜·卡里曼江, 阿丽亚·依拉木, 阿布都艾则孜·艾尔肯, 等. 刺山柑凝胶治疗类风湿关节炎作用及机理研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(10): 52-58.
- [12] Shao, L.I. and Zhang, B. (2013) Traditional Chinese Medicine Network Pharmacology: Theory, Methodology and Application. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **11**, 110-120. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60037-0](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60037-0)
- [13] 敖明章, 高莹莹, 余龙江. 刺山柑化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(3): 463-467.
- [14] 杨涛, 刘玉琴, 王长虹, 等. 刺山柑的化学成分、药理活性与临床应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2453-2458.
- [15] 谢丽琼, 薛淑媛, 颜雪, 等. 维药刺山柑化学成分和药理研究进展[J]. 西北药学杂志, 2007, 22(4): 67-68.
- [16] Antoine, D., Olivier, M. and Vincent, Z. (2019) SwissTargetPrediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Research*, **47**, W357-W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>

- [17] Lussi, Y.C., *et al.* (2023) Searching and Navigating UniProt Databases. *Current Protocols*, **3**, e700 <https://doi.org/10.1002/cpz1.700>
- [18] Amberger, J.S. and Hamosh, A. (2017) Searching Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): A Knowledgebase of Human Genes and Genetic Phenotypes. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. <https://doi.org/10.1002/cpbi.27>
- [19] Safran, M., Dalah, I., Alex, J., *et al.* (2013) GeneCards Version 3: The Human Gene Integrator. *Database*, **2010**, baq020. <https://doi.org/10.1093/database/baq020>
- [20] Szklarczyk, D.S., *et al.* (2021) Correction to “The STRING Database in 2021: Customizable Protein-Protein Networks, and Functional Characterization of User-Uploaded Gene/Measurement Sets”. *Nucleic Acids Research*, **49**, 10800. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab835>
- [21] Jiao, X., Sherman, B.T., Huang, D.W., *et al.* (2012) DAVID-WS: A Stateful Web Service to Facilitate Gene/Protein List Analysis. *Bioinformatics*, **28**, 1805-1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts251>
- [22] 余芸, 蔡伟伟, 周静, 等. 代谢重编程调控巨噬细胞极化及其在类风湿关节炎中的作用[J]. 药理学学报, 2020, 55(9): 2027-2034.
- [23] 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.
- [24] 赵笑芸. 山奈酚调节 LPS 及高糖诱导的 RAW264.7 细胞 M1/M2 表型转化保护足细胞损伤的体外研究[D]: [硕士学位论文]. 太原: 山西医科大学.
- [25] Olivier, F., *et al.* (2018) Anti-Inflammatory Effects of Polyphenols in Arthritis. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, **98**, 1653-1659. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8664>
- [26] 王书侠, 姚孝明, 葛亮, 等. 木犀草素对巨噬细胞炎症极化的影响及机制[J]. 解放军医学杂志, 2018, 43(12): 1013-1018.
- [27] 郑梦菲, 刘健, 屈玮. 6 种 5,7-二羟基黄酮对巨噬细胞 M1 极化的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(5): 152-158.
- [28] Wang, G.L., Jiang, B.H., Rue, E.A., *et al.* (1995) Hypoxia-Inducible Factor 1 Is a Basic-Helix-Loop-Helix-PAS Heterodimer Regulated by Cellular O₂ Tension. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**, 5510-5514. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5510>
- [29] Semenza, G.L., Wang, G.L., Semenza, G.L. and Wang, G.L. (1993) A Nuclear Factor Induced by Hypoxia via *de Novo* Protein Synthesis Binds to the Human Erythropoietin Gene Enhancer at a Site Required for Transcriptional Activation. *Molecular and Cellular Biology*, **12**, 5447-5454. <https://doi.org/10.1128/mcb.12.12.5447-5454.1992>
- [30] Galván-Peña, S. and O’Neill, L.A.J. (2014) Metabolic Reprogramming in Macrophage Polarization. *Frontiers in Immunology*, **5**, Article 420. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00420>
- [31] Wang, T., Liu, H., Lian, G., *et al.* (2017) HIF1 α -Induced Glycolysis Metabolism Is Essential to the Activation of Inflammatory Macrophages. *Mediators of Inflammation*, **2017**, Article ID: 9029327. <https://doi.org/10.1155/2017/9029327>
- [32] 丁弋娜, 卢哲, 史丽云. 线粒体参与巨噬细胞极化的作用及其机制[J]. 免疫学杂志, 2016, 32(8): 720-724. <https://doi.org/10.13431/j.cnki.immunol.j.20160141>
- [33] 潘书涵, 王永萍, 张阳. 基于 TNF- α -HIF-1 α -iNOS-NO 信号通路探讨大黄素对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(4): 817-820.
- [34] 刘琼, 李永乐, 董平, 等. PI3K/AKT 信号通路类风湿关节炎相关性探讨[J]. 风湿病与关节炎, 2021, 10(3): 62-66.
- [35] Xu, F., *et al.* (2013) Akt1-Mediated Regulation of Macrophage Polarization in a Murine Model of *Staphylococcus aureus* Pulmonary Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, **208**, 528-538. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit177>
- [36] Arranz, A., Doxaki, C., Vergadi, E., *et al.* (2012) Akt1 and Akt2 Protein Kinases Differentially Contribute to Macrophage Polarization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 9517-9522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119038109>
- [37] Adapala, N.S., Root, S., Lorenzo, J., *et al.* (2019) PI3K Activation Increases SDF-1 Production and Number of Osteoclast Precursors, and Enhances SDF-1-Mediated Osteoclast Precursor Migration. *Bone Reports*, **10**, Article 100203. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2019.100203>
- [38] Bergstrm, B., Lundqvist, C., Vasileiadis, G.K., *et al.* (2019) The Rheumatoid Arthritis Risk Gene AIRE Is Induced by Cytokines in Fibroblast-Like Synoviocytes and Augments the Pro-inflammatory Response. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 1384. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01384>
- [39] Lim, H., Sang, H., *et al.* (2019) Molecular Sciences Structural Biology of the TNF α Antagonists Used in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article 768.

<https://doi.org/10.3390/ijms19030768>

- [40] Huang, X., Liu, G., Guo, J., *et al.* (2018) The PI3K/Akt Pathway in Obesity and Type 2 Diabetes. *International Journal of Biological Sciences*, **14**, 1483-1496. <https://doi.org/10.7150/ijbs.27173>
- [41] Yuan, F.L., Li, X., Lu, W.G., *et al.* (2013) Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as a Therapeutic Target in Rheumatoid Arthritis. *Clinical Rheumatology*, **32**, 289-292. <https://doi.org/10.1007/s10067-012-2119-9>