Pharmacy Information 药物资讯, 2023, 12(4), 387-400
Published Online July 2023 in Hans. https://www.hanspub.org/journal/pi
https://doi.org/10.12677/pi.2023.124047

Hans汉斯

基于网络药理学探讨羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎的作用机制

单文婷，杨晓龙，刘　霞*

贵州中医药大学基础医学院，贵州　贵阳

收稿日期：2023年6月24日；录用日期：2023年7月21日；发布日期：2023年7月28日

摘　要

目的：基于网络药理学研究羌活、独活、苍术对治疗类风湿性关节炎作用机制。方法：从TCMSP、OMIM、Drugbank、GeneCards、PharmGkb、TTD数据库中确定羌活、独活、苍术潜在活性成分、作用靶点和疾病的差异基因映射筛选出共同靶点，利用Cytoscape 3.8.1软件建立“中药－活性成分－靶点网络－疾病”调控网络图，将筛选得到的靶点在相互作用基因/蛋白质搜索工具平台STRINGV 10.5构建起靶蛋白相互作用(PPI)网络，通过R包进行基因组百科全书(KEGG)信号通路和基因本体(GO)富集分析，以研究其抗炎机制。结果：通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)从羌活、独活、苍术药中共筛选得到41个化合成分，211个药物靶标；经OMIM、Drugbank、GeneCards、PharmGkb、TTD数据库分析确定羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎(RA)共同靶点83个，利用string数据构建羌活、独活、苍术和类风湿性关节炎的靶点。GO分析表明生物过程(BP)涉及对药物的反应、对氧化应激的反应、细胞对化学压力等，细胞成分(CC)涉及膜筏、膜微域、膜区等区域，分子功能(MF)涉及核受体活性、配体激活的转录因子活性、DNA结合的转录因子结合等生物学过程。KEGG结果表明，羌活、独活、苍术对于治疗类风湿性关节炎的途径信号通路包括药物的反应(信号通路包括IL-17途径、TNF)、氧化应激反应、细胞对化学压力的反应、活性氧代谢过程等通路。结论：羌活、独活、苍术对于改善类风湿性关节炎的作用机制是通过影响前列腺素PTGS2、原癌基因(Ctnnb1)、肾上腺素能受体β2 (ADRB2)、原癌基因c-FOS (FOS)、A型γ-氨基丁酸受体α亚基蛋白GABRA1、热休克蛋白、雌激素受体基因(ESR1)、苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、细胞外信号调节激酶(MAPK1)的表达进而调控氧化应激反应、免疫球蛋白、前列腺素反应等途径实现的。

关键词

羌活，独活，苍术，网络药理学，类风湿性关节炎

Exploring the Mechanism of Action of Qiangwu, Duhu and Cangzhi in the Treatment of Rheumatoid Arthritis Based on Network Pharmacology

*通讯作者。

文章引用: 单文婷, 杨晓龙, 刘霞. 基于网络药理学探讨羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎的作用机制[J]. 药物资讯, 2023, 12(4): 387-400. DOI: 10.12677/pi.2023.124047

Wenting Shan, Xiaolong Wang, Xia Liu*

School of Basic Medical Sciences, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Jun. 24th, 2023; accepted: Jul. 21st, 2023; published: Jul. 28th, 2023

Abstract

OBJECTIVE: This paper aims to investigate the mechanism of action of Qiangwu, Doklam and Cangzhi in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology. METHODS: We identified potential active ingredients, targets and diseases from TCMSP, OMIM, Drugbank, GeneCards, PharmGkb and TTD databases and screened out common targets using Cytoscape 3.8.1 software to establish a "Chinese herbal medicine-active ingredient-target network-disease" regulatory network. The screened targets were then used to construct their target protein interaction (PPI) networks in STRINGV 10.5, an interactive gene/protein search tool platform, and the genomic encyclopedia (KEGG) signaling pathways and gene ontology (GO) enrichment analysis were performed by R package to investigate their anti-inflammatory mechanisms. RESULTS: A total of 41 chemotactic components and 211 drug targets were obtained from Qiangwu, Duxue and Cangjiao drugs by the Traditional Chinese Medicine Systematic Pharmacology Analysis Platform (TCMSP); 83 common targets of Qiangwu, Duxue and Cangjiao for the treatment of rheumatoid arthritis (RA) were identified by OMIM, Drugbank, GeneCards, PharmGkb and TTD database analysis. The string data were used to construct targets for Qiang Zhi, Doklamia, Cang Zhi and rheumatoid arthritis. GO analysis showed that biological processes (BP) involved response to drugs, response to oxidative stress, cellular response to chemical stress, *etc*., cellular components (CC) involved regions such as membrane rafts, membrane microdomains, membrane regions, *etc*., and molecular functions (MF) involved nuclear receptor activity, ligand-activated transcription factor activity, DNA-bound. The KEGG results showed that the pathway signaling pathways of Qiangwu, Doklam and Cangzhi for the treatment of rheumatoid arthritis include the response to drugs (signaling pathways including IL-17 signaling pathway, TNF signaling), oxidative stress response, cellular response to chemical stress, reactive oxygen metabolic process and other pathways. CONCLUSION: The mechanism of action of Qiangwu, Duxue, and Cangjiao for improving rheumatoid arthritis is through affecting prostaglandins (PTGS2), proto-oncogene (Ctnnb1), adrenergic receptor beta 2 (ADRB2), proto-oncogene c-FOS (FOS), type A gamma-aminobutyric acid receptor alpha subunit protein (GABRA1), heat shock protein (HSP90AB1), and The expression of estrogen receptor gene (ESR1), threonine protein kinase (AKT1), extracellular signal-regulated kinase (MAPK1) and thus regulate signaling pathways such as oxidative stress response, immunoglobulin, and prostaglandin response were achieved.

Keywords

Qiang Zhi, Dou Shu, Cang Zhu, Network Pharmacology, Rheumatoid Arthritis

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

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性多关节对称性疾病，属于中医“痹证”范畴[1]。类风湿性关节炎主要表现为关节对称且持续炎症损害，若不及时治疗会导致患者关节变形，关节活动度降低，

躯体功能下降，严重影响患者生活质量[2]。目前临床上用于治疗 RA 主要以抗风湿病药物、糖皮质激素及生物制剂为主，如甲氨蝶呤、肿瘤坏死因子 α 抑制剂、白细胞介素抑制剂、羟氯喹、甲泼尼龙等一线药物的不良反应，临床上迫切需要发现新的药物来治疗类风湿性关节炎[3]，风湿性关节炎从病程上讲，它可分为慢性与活动期，活动期多数热痹，常兼风、寒、湿、燥邪等杂合致病，慢性多与风、寒、湿三气相关，临床表现为关节疼痛、屈伸不利、关节浮肿、常无灼热感、伴气血闭阻不通之证[4]。羌活辛、苦，性温，具有解表散寒，祛风除湿，止痛的功效。独活辛、苦，微温。具有祛风除湿，通痹止痛，解表的功效[5]。苍术辛、苦，温，有燥湿健脾、祛风湿等功效，三者常配伍用于湿阻中焦、风寒湿痹、脚膝肿痛等[6]。综上所述，羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎的靶点及通路极为相似，通过炎症反应、免疫调节及抗氧化等多维网络调控，发挥治疗作用[7]，但具体作用机制尚不清楚，网络药理学是一种以系统药理学为基础，研究药物与疾病相互作用的新兴学科[8]。在网络药理学中，药物－靶点网络使研究人员探究药物治疗疾病的作用机制更加简洁。疾病靶点可应用于药物设计、药物发现和生物标志物检测领域[9]。故本研究以羌活、独活、苍术中具有治疗 RA 的主要活性成分为研究对象，通过建立“成分－靶点－通路－疾病”多维网络，并进行分析，从而探索羌活、独活、苍术发挥药效的成分，以期系统探究其协同作用机制，为开发高效低毒的 RA 新药提供理论支持。从而探索羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎的潜在分子机制[10]，为羌活、独活、苍术的临床应用以及类风湿性关节炎相关疾病基础与临床研究提供一定的理论依据[11]。

2. 方法

2.1. 数据库与软件

中药系统药理学分析平台(TCMSP, https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php)；通用蛋白质数据库 UniProt (http://www.uniprot.org/uploadlists)；人类基因数据库 Genecards (http://www.genecards.org)；蛋白质互作平台 STRINGV 10.5 (http://string-db.org)；生物学信息注释数据库 DAVIDV 6.8 (http:///david.ncifcrf.gov)；网络拓扑属性分析软件 Cytoscape 3.8.1 (http:///cytoscape.org)。

2.2. 羌活－独活－苍术有效成分及靶点的收集

采用 TCMSP 数据库及相关文献筛选羌活、独活、苍术的有效成分及药物靶点。根据口服生物利用度(OB) ≥ 30%和类药性(DL) ≥ 0.18 的原则收集羌活、独活、苍术三味中药的化学成分，把靶点分别输入数据库 UniProt (http://www.uniprot.org/uploadlists)，定义种源为人，检索目标蛋白的基因名称。与类风湿关节炎有关靶点获得，通过 Genecards 数据库(http://www.genecards.org)检索 rheumatoid arthritis。将相互之间的关系整理成 Microsoft Excel 文件导入 Cytoscape 3.8.1 绘制药物－活性成分－靶点网络图，从中分析参数，选出三者的核心作用成分。取药物共同靶点和疾病靶点的交叉部分，绘制羌活、独活、苍术和类风湿关节炎靶点交集图。

2.3. 类风湿性关节炎疾病靶点的获取

用“osteoporosis”作为关键词，在人类孟德尔遗传数据库 OMIM、Drugbank、GeneCards、PharmGkb、TTD 数据库中检索，得到类风湿性关节炎疾病的相关靶点。与上述羌活、独活、苍术活性成分预测作用靶点取交集，得到羌活－独活－苍术治疗类风湿性关节炎的作用靶点。运用 GEO2R 进行分析，设定 $P \leq 0.05$，获取差异 mRNA。使用 R 包展示各样本的归一化信号强度及二维分布特征。

2.4. “中药－有效成分－靶点－疾病”网络的构建及主要有效成分筛选

利用 Cytoscape 3.8.1 软件构建“中药－活性成分－交集靶点－疾病”调控网络图，并进行拓扑分析，

药效成分与靶点的重要性将通过软件中计算连接度(Degree)参数来评判。

2.5. 蛋白互作网络的构建与分析

将羌活、独活、苍术治疗 RA 的潜在作用靶点输入 STRING 数据库(https://string-db.org)，物种设定为人，获得蛋白与蛋白之间的相互作用关系，将数据保存为 TSV 格式，获得 PPI 网络信息，把 node1、node2 和 Combine score 信息导入 Cytoscape 3.8.1 进行绘制 PPI 网络并进行拓扑分析。

2.6. 富集分析

为了研究与潜在目标相关的生物学功能，我们通过 R 包进行了基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。R 包作为一种用户友好的富集工具，具有基于多种资源的集成基因聚类分析。GO 富集分析从三个维度对基因进行解释和注释，包括细胞成分(CC)、分子功能(MF)和生物过程(BP)分析。KEGG 数据库主要用于通路分析。低于 0.05 的 P 值被认为具有统计学意义。

2.7. 分子对接

利用 PDB 数据库(http://www.rcsb.org)下载核心靶点的 3D 结构 PDB 格式，运用 Pymol 软件对靶点蛋白进行去水、去配体等操作；在 ZINC 数据库中下载 3D 结构 sdf 格式，并利用 OpenBabel GUI 软件转化为 mol2 格式；最后运行 Vina 进行分子对接并将结果可视化.

3.结果

3.1. 中药化合成分及靶点的获取

羌活、独活、苍术共三种药物的交集有 41 个化合成分，211 个药物靶标。Wogonin、3β-acetoxyatractylone、beta-sitosterol、Ammidin、O-Acetylcolumbianetin、Angelicone、Cnidilin、beta-sitosterol、Diosmetin。

3.2. 疾病靶点的获取

通过 R 语言对 GEO 数据库中 GSE71226 数据集进行标准化及 PCA 分析，观察样本内各基因表达数据的稳定性及空间分布。经差异分析后共得到 4084 个类风湿性关节炎相关靶点，4084 个疾病靶点与 211 个药物靶标取交集后，共获得 145 个差异基因(图 1)。充分体现了羌活、独活、苍术多成分、多靶点的作用机制。

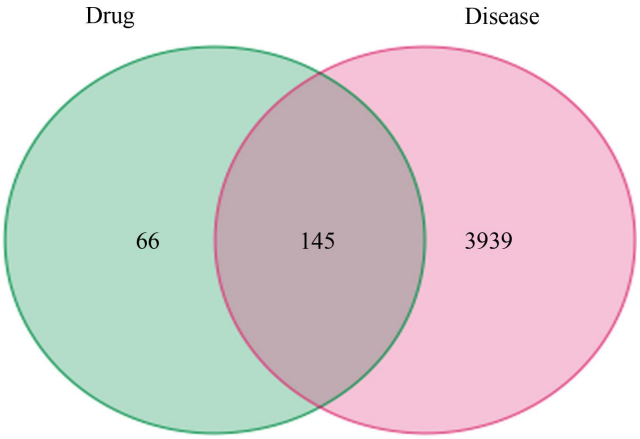


Figure 1. Venn diagram of drug targets and disease targets
图 1. 药物靶点与疾病靶点的韦恩图

3.3. “中药－有效成分－靶点”网络的构建及主要有效成分筛选

通过 TCMSP 平台共找到 170 个靶蛋白，将这些靶蛋白转化成对应的基因。将 200 个靶基因与 Genecards 数据库挖掘到的 4084 个抗炎相关基因映射后，得到共同靶基因 145 个(图 2)，即为羌活、独活、苍术药对抗炎作用靶点。运用 Cytoscape 3.8.1，绘制羌活、独活、苍术有效成分治疗类风湿性关节炎致病基因的网络图(图 3)。20 个活性成分及 42 个靶基因建立的活性成分－靶点网络图中，共有 61 个节点、115 条边，其中度值前五的药物分别是汉黄芩素(wogonin)、欧前胡素(Ammidin)、β-谷甾醇(beta-sitosterol)、香豆素(Angelicone)、香叶木素(Diosmetin)、珊瑚菜内酯(Phellopterin)，度值前五的靶点是前列腺素－过氧化物内膜合酶(PTGS2)、γ-氨基丁酸 A 受体(GABRA1)、热休克蛋白(HSP90AB1)、β-2 肾上腺素(ADRB2)、二肽基肽酶(DPP4)充分体现了中药治疗疾病具有多成分、多靶点、多通路的特点。

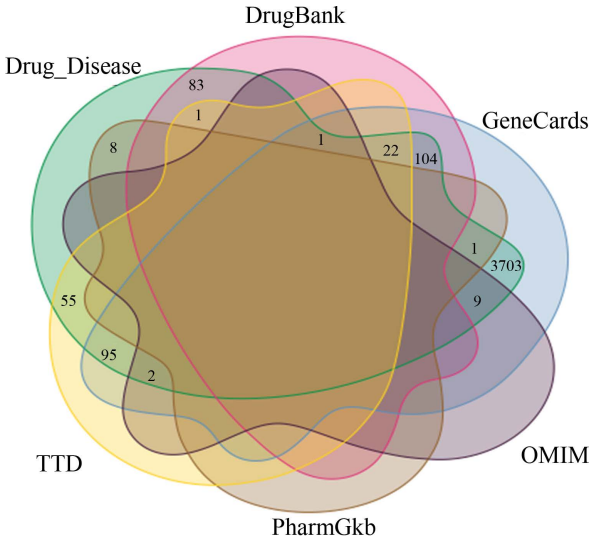


Figure 2. Acquisition of disease target genes
图 2. 疾病靶基因获取图

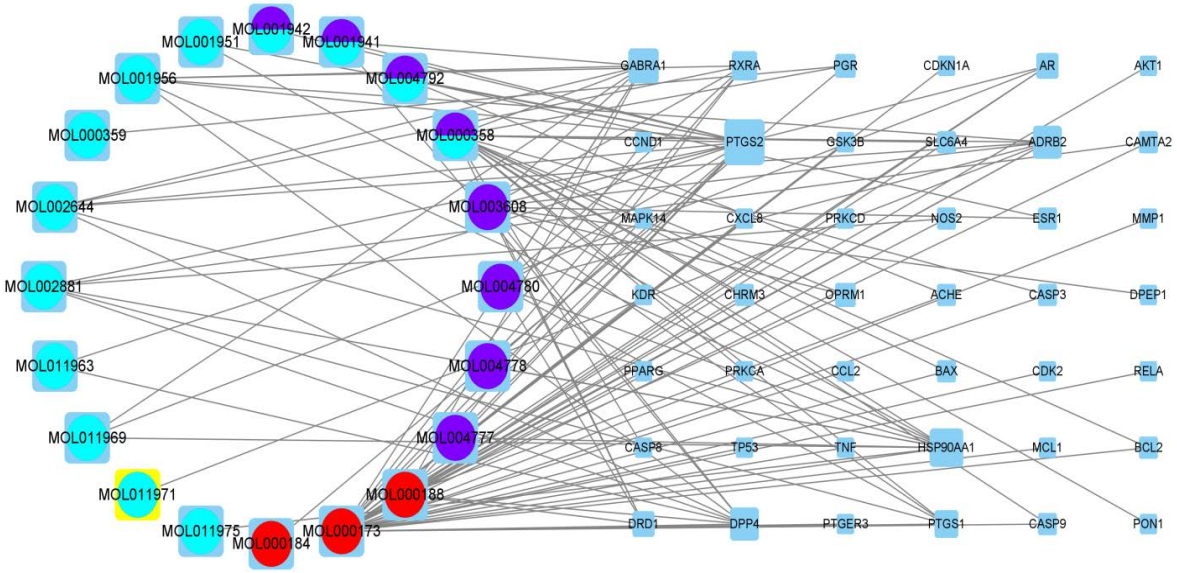
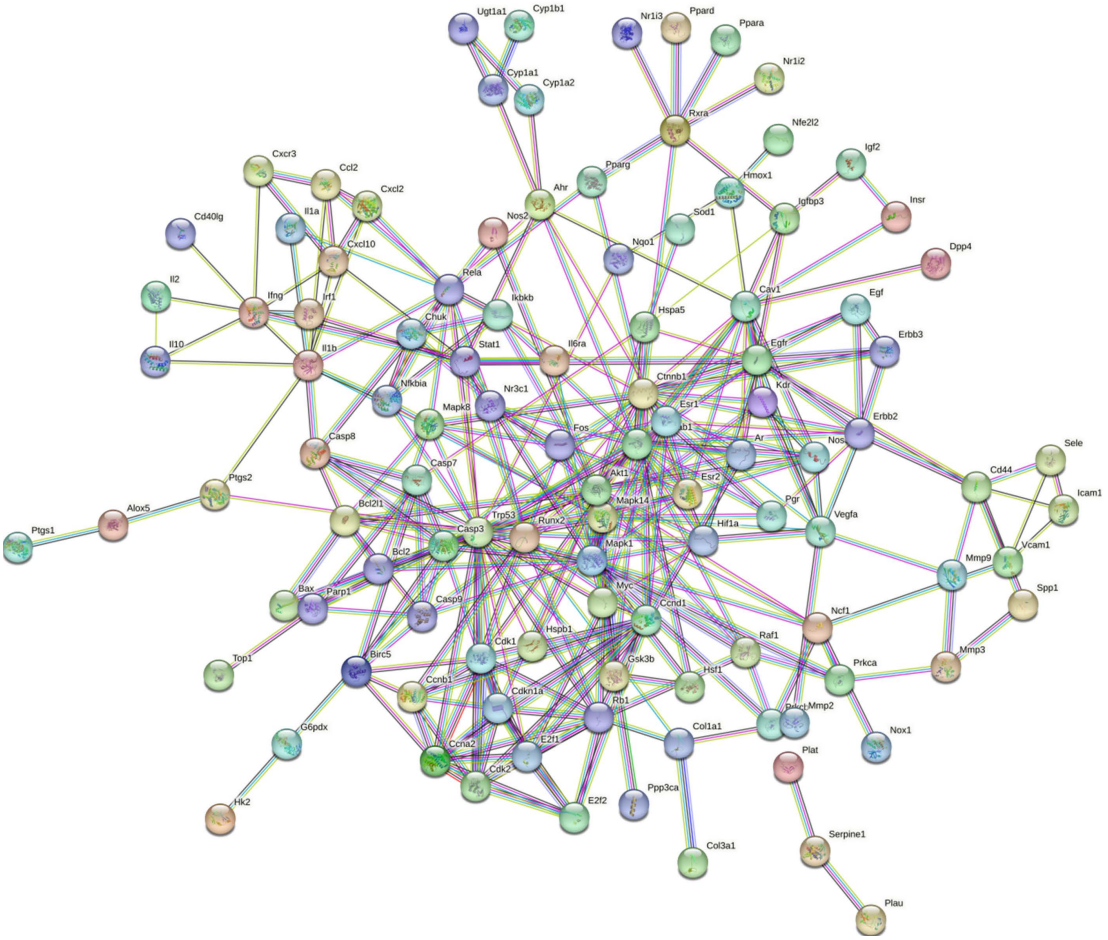


Figure 3. Network diagram of the active ingredients of drugs for the treatment of RA causative genes
图 3. 药物有效成分治疗 RA 致病基因的网络图

3.4. 蛋白相互作用网络

将 145 个交集靶点通过 STRING 数据库构建 PPI 网络，见图 4。该网络共有 145 个节点和 2705 条边。根据度值排序，前列腺素 PTGS2、原癌基因(Ctnnb1)、肾上腺素能受体 β2 (ADRB2)、原癌基因 c-FOS (FOS)、A 型 γ-氨基丁酸受体 α 亚基蛋白 GABRA1、热休克蛋白(HSP90AB1)、雌激素受体基因(ESR1)、苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、细胞外信号调节激酶(MAPK1)度值较高，可能是在羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎中发挥重要作用的核心靶点。PPI 图中显示有 2705 条边，145 个靶点，靶点的平均 degree 值为 37.3。



注：不同颜色的边代表不同类型，边的粗细代表关联分值大小，节点即为靶点。

Figure 4. Protein interaction network analysis of the combination of Qiangwu, Doklam and Cangzhi against RA
图 4. 羌活、独活、苍术联合对抗 RA 的蛋白互作网络分析图

3.5. 共有基因靶点的 GO 生物过程及 KEGG 通路富集分析

145 个交集基因 GO 功能富集分析结果显示：生物过程(BP)有 1238 条，主要与急性炎症反应、炎症反应的调节、活性氧代谢过程、细胞对生物刺激的反应及对脂多糖的反应等相关。

基因本体分析结果显示(图 5、图 6)，生物过程涉及对营养水平的反应、对细菌来源的分子的反应、对胶质细胞凋亡过程、对细胞外刺激的反应、脂多糖反应、肽基－丝氨酸的反应、生殖结构发育。细胞成分涉及膜筏、膜微域、细胞外膜、外部膜、转录调节器复合体、线粒体外膜、蛋白激酶复合物、突触

后膜、突触前膜的内在成分。分子功能涉及核受体活性、配体激活的转录因子活性、DNA 结合的转录因子结合、泛素蛋白连接酶结合、蛋白酶结合、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合、转录调控因子的结合、核受体活性、半胱氨酸内肽酶活性参与、凋亡信号通路与死亡结构域的结合。

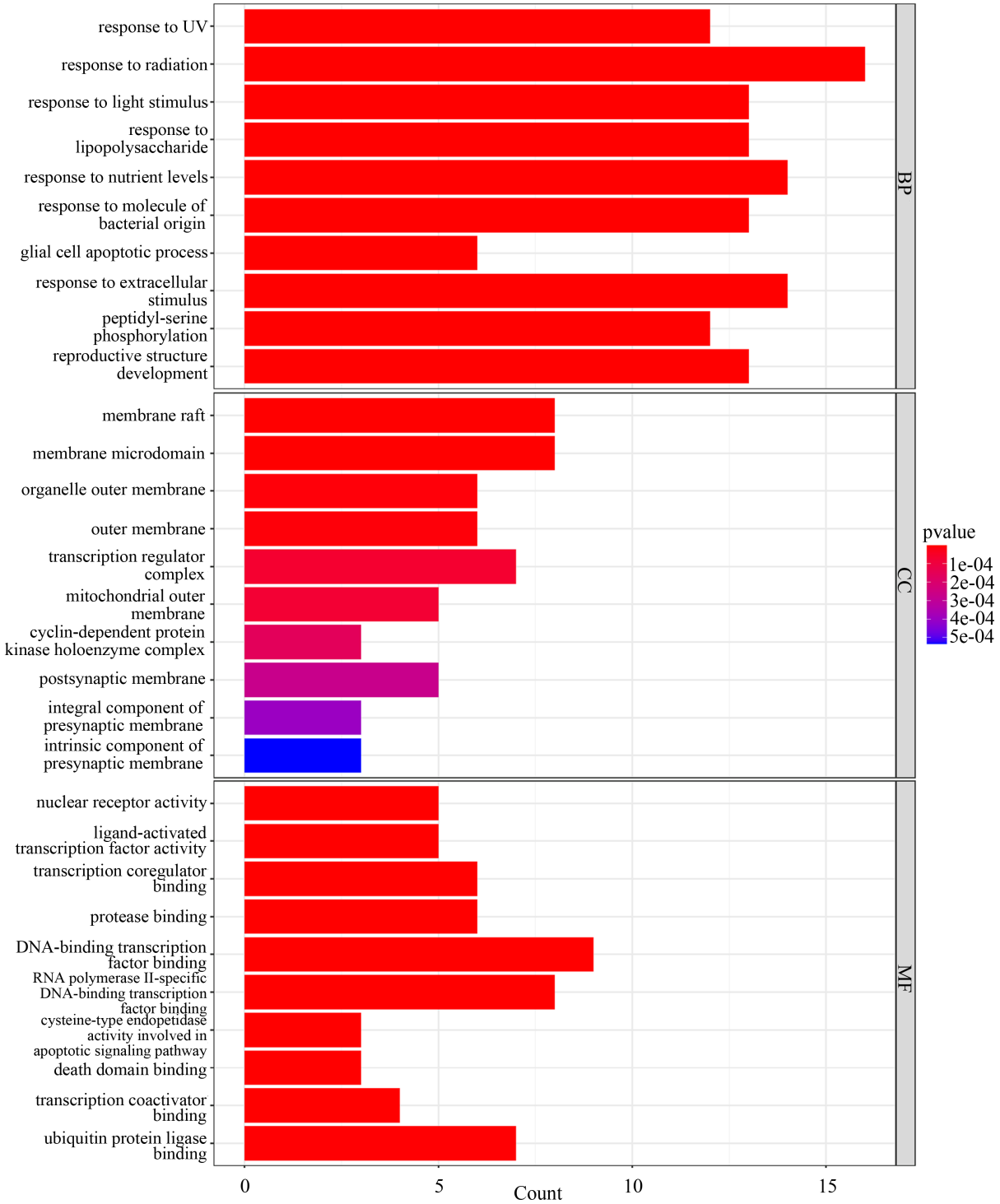


Figure 5. GO functional enrichment analysis of the combination of Qiangwu, Doklam and Cangzhi against RA
图 5. 羌活、独活、苍术联合对抗 RA 的 GO 功能富集分析

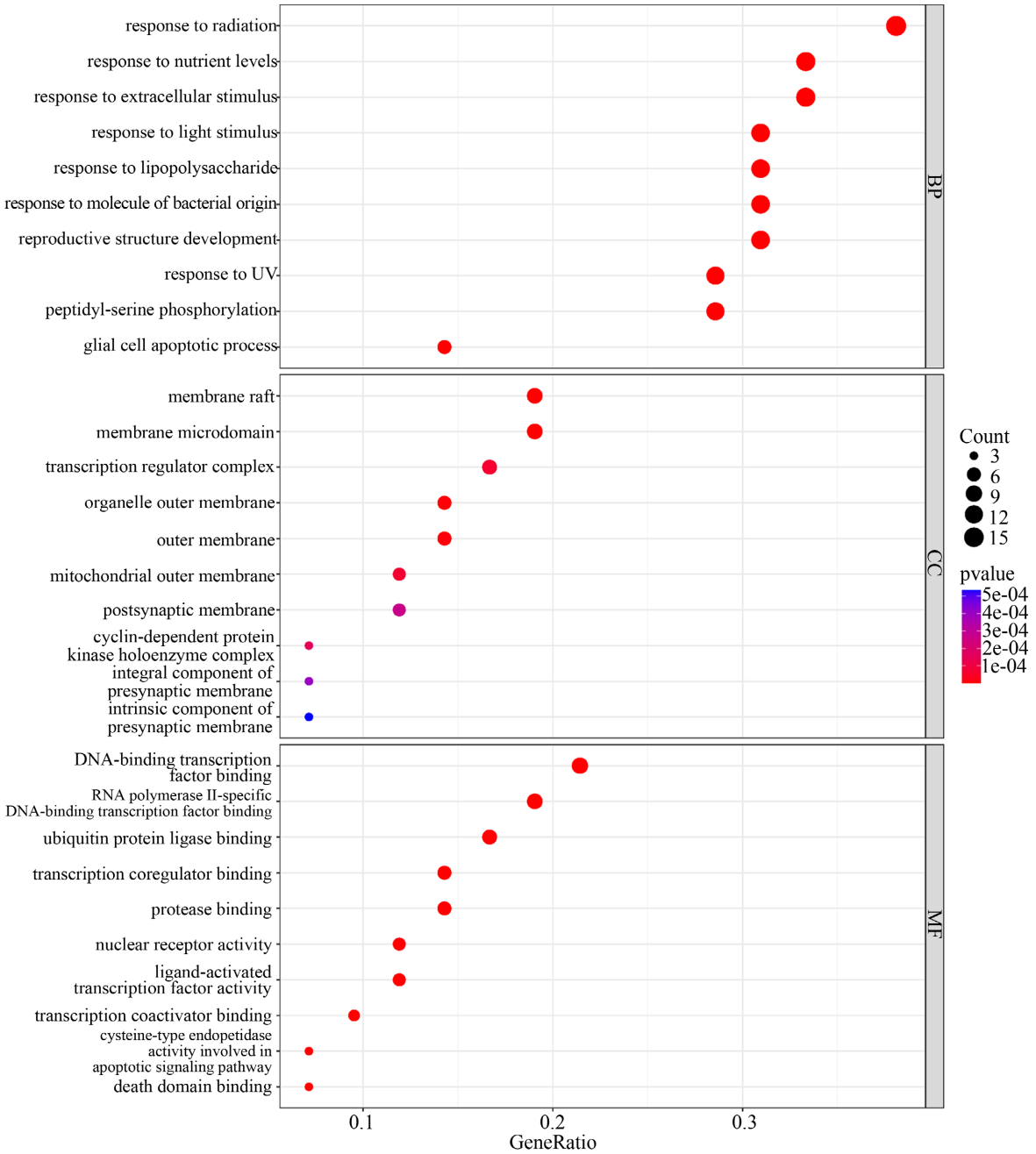


Figure 6. GO functional enrichment bubble diagram of the combination of Qiangwu, Doklam and Cangzhi against RA
图 6. 羌活、独活、苍术联合对抗 RA 的 GO 功能富集气泡图

京都基因与基因组百科全书 KEGG 分析结果表明(图 7、图 8)，羌活、独活、苍术治疗类风湿性关节炎的信号通路包括动脉粥样硬化、巨细胞病毒感染、乙肝病毒、PI3K-Akt 信号通路、肺癌、丙型肝炎、疱疹病毒感染、糖尿病并发症、人乳头瘤病毒感染、IL-17 信号通路、前列腺癌、非酒精性脂肪肝、麻疹、化学致癌物、受体激活、细胞凋亡、甲型流感、结核、p53 信号通路的直肠癌、弓形虫病、酒精性肝病、胃癌、肺癌、铂类耐药性、内分泌抵抗、美洲锥虫病、子宫内膜癌、甲状腺癌。从 KEGG 通路富集分析中，结合相关文献搜索，发现靶点主要富集在类风湿，选取图中与 RA 相关性较大的 Toll 样受体信号通路绘制通路图，见图 9。

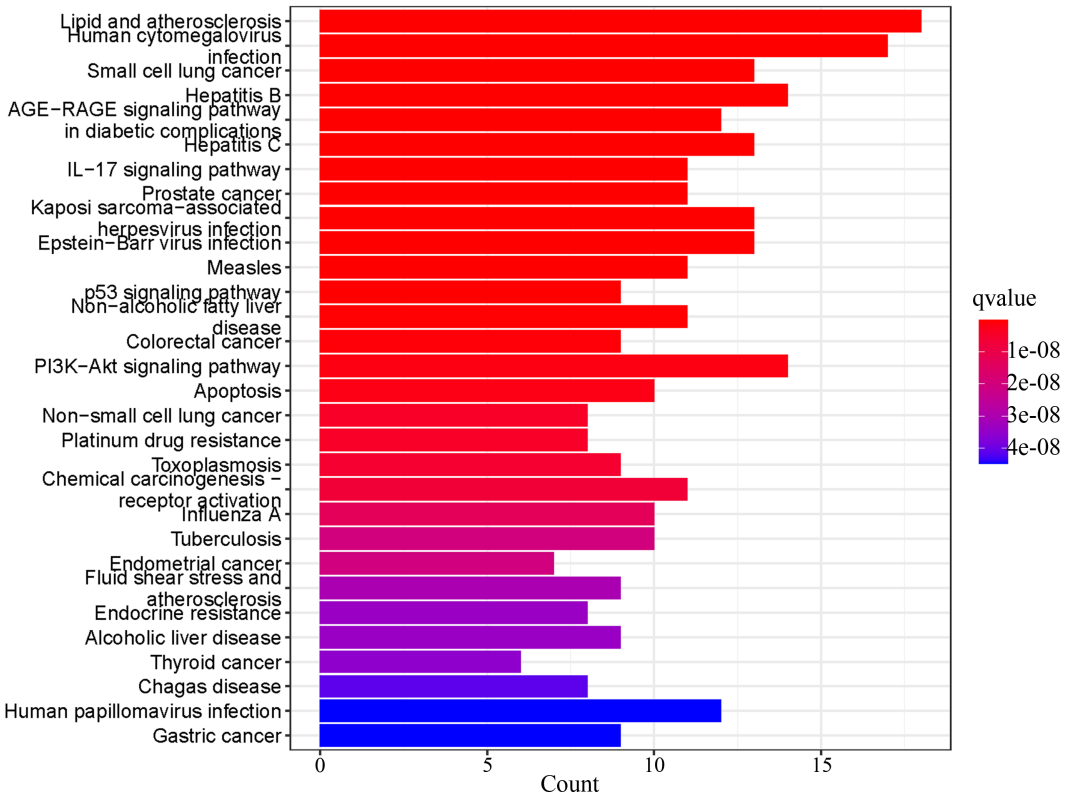


Figure 7. KEGG enrichment analysis of the combination of Qiangwu, Doklam and Cangzhi against RA
图 7. 羌活、独活、苍术联合对抗 RA 的 KEGG 富集分析

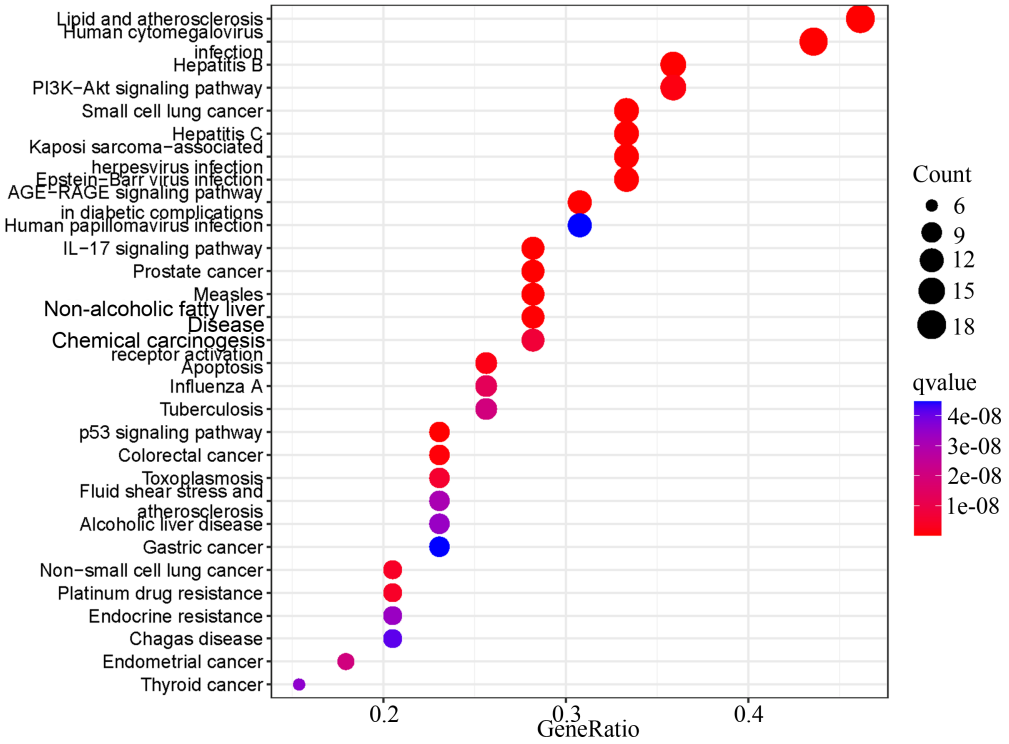


Figure 8. Bubble diagram of the combination of Qiangwu, Doklam and Cangzhi against RA KEGG enrichment analysis
图 8. 羌活、独活、苍术联合对抗 RA 的 KEGG 富集分析气泡图

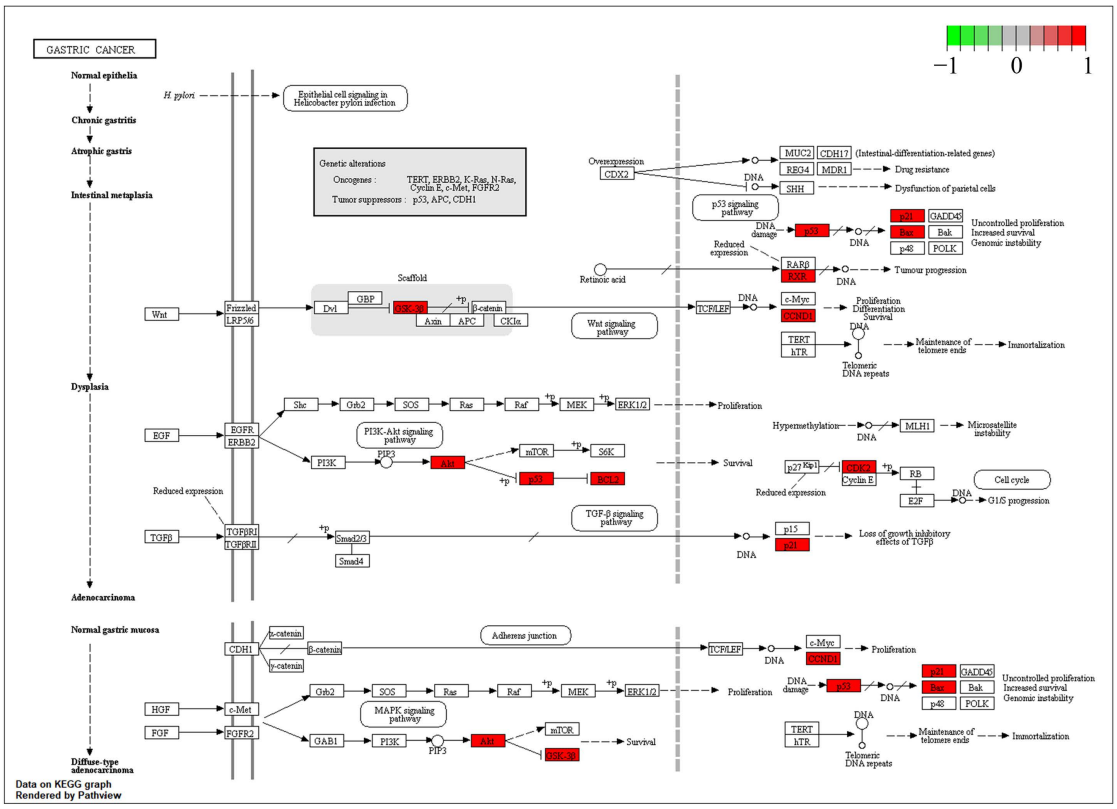


Figure 9. Toll-like receptor signaling pathway of Qiangwu-Duhu-Cangzhi in the treatment of RA
图 9. 羌活－独活－苍术治疗 RA 的 Toll 样受体信号通路

3.6. 分子对接

Figure 10. Molecular docking model of the core target proteins of Qiangwu, Doklam and Cangzhi for the treatment of RA
图 10. 羌活、独活、苍术治疗 RA 核心靶蛋白分子对接模型

通过 Autodock vina 将处理后的核心靶点 EGFR、CTNNB1、ESR1 进行分子对接。将这 3 个受体蛋白进行分子对接，结果见图 10。一般认为，配体与受体结合能越小，发生作用的可能性越大。结合能 <-0 kJ/mol 时，认为化合物与蛋白二者之间可自发进行结合且产生相互作用；结合能 <-5.0 kJ/mol 时，具有良好的亲和力。对接结果显示，与核心靶点具有良好的结合能，均可自发进行结合，并且他们之间有较好的亲和力。

4. 讨论

类风湿性关节炎(Rheumatoid arthritis, RA)是一种全身性慢性多关节对称性疾病，其特征是关节滑膜组织、软骨、骨骼以及关节外部位的炎症变化[12]。近年来发现，类风湿性关节炎是基于遗传和表观遗传成分产生的，但环境也发挥重要作用，如吸烟、灰尘暴露，尤其是代表“内部”环境的微生物组。与类风湿关节炎相关的遗传因素是那些决定骨量、骨大小、结构、微结构和内在特性的基因。已被确定为可能调节骨量的候选基因，包括 PTGS2 [13]、GABRA1 [14]、HSP90AB1 [15]、ADRB2 [16]、DPP4 [17]等。从各种基因的相互作用对骨骼强度和骨质量产生影响，类风湿关节炎的研究越来越复杂。这种复杂性使得类风湿关节炎症的治疗更加困难，但同时扩大了新药物靶点的可能性。

羌活、独活、苍术是临床上常见对于风湿、类风湿关节炎的治疗药物，羌活和独活，二者作用相近对于风湿、类风湿治疗的效果作用显著[18]，苍术和羌活、独活配合使用可增强机体免疫功能。本研究根据 OB、DL 以及文献挖掘纳入了 15 种成分，其中实验研究已明确证实的抗炎成分，汉黄芩素、欧前胡素、*β*-谷甾醇、香豆素、香叶木素、珊瑚菜内酯等物质是羌活、独活、苍术中含有骨质疏松靶点较多的成分[19]。其中汉黄芩素是一种天然的黄酮类化合物，先前研究表明，汉黄芩素可抑制佐剂诱导的小鼠血管通透性增加，有明显抑制足肿胀作用，并减少由合成多胺诱导的大鼠急性足跖水肿，抑制大鼠关节炎骨退行性变的继发性损害[20]。香豆素是一种有机化合物通过降低大鼠血清白细胞介素 1*α* (IL-1*α*)、IL-1*β*、IL-6、肿瘤坏死因子 *α* (TNF-*α*)等炎症因子的表达，能够阻断炎症反应下的 PEA 下降，升高 PEA 水平，能抑制 TNF-*α*、RNA 表达，有研究表明可显著抑制蛋清所致的大鼠足肿胀具有良好的抗炎作用[21]。*β*-谷甾醇是一种温和自由基清除剂，在抗炎、抗氧化及调节免疫[22]、促进软骨与骨质的修复、增加骨密度、抑制血管增生、增强纤维蛋白溶解、抗炎镇痛、免疫调节等作用。欧前胡素[23]是香豆素类化合物，实验证明通过耳肿胀法、足肿胀法、腹腔毛细血管法证实了能够降低前列腺 E (PETGS2)、IL-1、TNF-*α* 浓度抑制炎性细胞的生成对大鼠成纤维样滑膜细胞有抑制增殖发挥抗炎作用。香叶木素是天然类黄酮化合物具有较强的抗炎作用，Chen 等[24]发现香叶木素通过抑制 RA 成纤维样滑膜细胞的蛋白和核因子-κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB)通路发挥抑制炎症细胞增殖和抗炎作用。珊瑚菜内酯是香豆素化合物具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓之功效，有研究表明，珊瑚菜内酯能抑制诱导黏液素分泌[25]；通过抑制环氧化酶和微粒体前列腺素 E 合成酶的表达，从而抑制脂多糖所致巨噬细胞前列腺素合成产生抗炎作用[26]。上述研究均说明汉黄芩素、欧前胡素、*β*-谷甾醇、香豆素、香叶木素、珊瑚菜内酯有治疗类风湿性关节炎的潜力。

PPI 分析结果显示雌激素受体 *α* 基因，丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)，热休克蛋白(Hsp90AB1)，钙黏蛋白相关蛋白(CTNNB1)等关键靶点参与了类风湿性关节炎的发展，且能被羌活、独活、苍术所干预。雌激素受体 *α* 基因是雌激素受体 *α* (ER)的编码基因，雌激素通过雌激素受体 ESR1 和 ESR2 发挥作用[27]。雌激素可以直接作用于单核细胞和巨噬细胞，增加细胞因子 IL-1b、IL-6 和 TNF-*α* 的产生。促炎细胞因子 IL-1b 和 TNF-*α* 促进软骨降解，抑制蛋白的合成并引起炎症是 RA 的主要特征。ESR1 是 RA 发生与发展中最重要的调节基因，是诱导 RA 的潜在机制，ESR1 基因的突变可能是诱发 RA 致癌的潜在机制，并且与生物学进展与免疫反应有关，雌二醇及靶向的雌激素受体 ERK 信号通路对软骨细胞增殖的影响及可能的分子机制。研究发现，人内皮细胞上 ESR1 激活后能减少炎症介质 TNF-*α* 介导的促炎症细胞黏附分子产生，从而抑制炎症反应[28]。信号通路的激活是通过激酶组之间相互作用或通过蛋白介入形成多激酶复合物实现[29]。在骨髓中，骨髓间充质干细胞可以分化为成骨细胞，并分泌破骨细胞的细胞因子。RANKL 通过结合 RANK 促进成熟破骨细胞和骨吸收的形成，这种相互作用被 OPG 阻断。MAPK 增加骨髓基质细胞的途径和 RANKL 合成有关，RANKL 的表达也是由 MAPK 的激活诱导的[30]。RANK-RANKL 结合

有助于破骨细胞下游信号通路的激活，并最终促进破骨细胞特异性基因的表达。RANKL 和 OPG 调节破骨细胞分化，通过激活 OPG/RANKL/RANK 信号通路，在成骨细胞生成和破骨细胞生成之间发挥重要调节作用[31]。Hsp90AB1 是 Hsp90 的一种亚型，在细胞长期生长过程中有助于蛋白质结构稳定，在细胞信号转导、激素应答、转录调控、调节细胞凋亡、增殖至关重要[32]。细胞内的 *β*-catenin [33]是 CTNNB1 的一种关键蛋白，CTNNB1 蛋白发挥功能的途径有多种，其可作为经典 Wnt [34]通路 Wnt/*β*-catenin 信号通路的重要信号传递子，其在细胞核内的积聚可参与 Wnt/*β*-catenin 信号通路的激活。*β*-catenin 发生突变或核积聚[35]，激活 Wnt/*β*-catenin 信号通路[36]，促进炎症细胞的增殖、侵袭和转移。动物实验表明，CTNNB1 的激活会促进小鼠类风湿性关节炎模型的骨破坏形成[37]。因此，研究蛋白激酶，原癌基因，雌激素受体 *α* 基因，钙黏蛋白相关蛋白等靶点的表达和调控对类风湿性关节炎的发病机制和治疗具有重要意义。

KEGG 结果表明，羌活、独活、苍术对类风湿性关节炎患者胃癌、人乳头瘤病毒感染、查加斯病(美洲锥虫病)、凋亡信号通路、甲状腺癌、酒精肝的反应等途径有较好的调控作用。根据已有报道在胃癌中有白细胞介素[38]参与，白细胞介素释放的炎症介质调节免疫反应参与许多炎症性疾病的发生和进展，在调节自身免疫性疾病中发挥重要作用，活化的白细胞介素促进血管通透性和免疫细胞募集到炎症部位 T 细胞的数量增加导致类风湿性关节炎的发生。人乳头瘤病毒是球形 DNA 病毒，能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖。目前已分离出 130 多种，不同的型别引起不同的临床表现。p53 肿瘤抑制蛋白是 PI3K/Akt 信号通路的重要组成部分，其对各种细胞应激做出反应，如 DNA 损伤和癌基因表达失调[39]。Akt 可以以 PI3K 依赖的方式被磷酸化，阻断 Akt 激活可以促进病毒复制。PI3K/Akt 的下游效应物 p53 在病毒感染过程中被激活，从而抑制 p53 在细胞中的表达[40]。PI3K/Akt 信号通路在细胞生长和存活中起着重要作用，PI3K/Akt 途径不仅是病毒细胞进入所必需的，而且是细胞内运输和病毒复制所必需的。实验表明，p53 导致类风湿性关节炎[41] FLS 成纤维细胞样滑膜细胞的侵袭性和细胞性增加，并且还可能将正常 FLS 转化为表现出侵袭性类风湿性关节炎 FLS 样行为的细胞。因此 p53 肿瘤抑制因子[42]中的细胞突变等异常导致类风湿性关节炎滑膜增生和侵袭。查加斯病又称美洲锥虫病，在恰加斯病的急性期，临床表现一般不明显，但可有全身和心脏的表现。滑膜炎的发生以及类风湿性关节炎中肌炎[43]的存在增加了类风湿性关节病可能，就发病机制而言，有证据表明细胞介导的对骨骼肌的反应和伴随的体液免疫缺陷有关。用于治疗类风湿性关节炎的药物，如非甾体抗炎药和改善疾病的抗风湿药物也可能引起肝酶升高。与类风湿性关节炎相关的肝功能障碍通常不会发展为肝硬化。但类风湿性关节炎患者中自身免疫性肝病的患病率增加。类风湿性关节炎患者也有发展为非酒精性脂肪肝(NAFLD) [44]的风险。慢性炎症、使用甲氨蝶呤和类固醇可能是类风湿性关节炎诱发 NAFLD [45]的危险因素。甲状腺癌病变初期甲亢和甲减都会有和类风湿性关节炎相似的症状[46]，关节疼痛和关节僵硬，典型表现为手部麻木、麻刺痛或疼痛夜间更甚，这一系列症状在常常归入风湿病。甲状腺功能低下可以引起近端肌无力，而甲状腺功能亢进也可以导致近端肌无力。这种近端肌肉病变可能增加肩关节黏连，从而导致黏连性关节囊炎，导致类风湿性关节炎[47]。

综上所述，本研究应用网络药理学方法，对羌活、独活、苍术药物的活性成分、靶点以及通路间的复杂关系进行了分析，初步揭示了其通过影响细胞迁移与凋亡、调节免疫反应，抑制炎症因子产生，从而发挥抗炎效应，这为对其做进一步的抗炎机制实验研究指明了方向。

基金项目

国家自然科学基金(32000276)；贵州中医药大学 2021 年国家自然科学基金后补助资金科研创新探索专项基金(2018YFC 170810524)。

参考文献

[1] 李东晓, 马武开, 宁乔怡, 等. 马武开教授从脾论治类风湿关节炎的经验[J]. 风湿病与关节炎, 2015, 4(3): 29-31.

[2] 吴长怡, 陈锐, 任赵洋, 等. 李济仁治疗痛风性关节炎经验总结与延展[J]. 北京中医药, 2021, 40(4): 334-337.

[3] 毛霞, 陈文佳, 李鹰飞, 等. 基于网络药理学研究策略探究芍药苷对佐剂诱导型关节炎大鼠模型的治疗作用及其分子机制[J]. 药学学报, 2019, 54(11): 2000-2010.

[4] 周璐丽, 曾建国. 独活化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(12): 1739-1740.

[5] 沈鸿, 穆兰澄, 汪芳, 等. 羌活-独活在外用药活血散中的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(15): 228-234.

[6] 庄丹, 秦靖, 王慧阳, 等. 苍术的药效成分研究进展[J]. 生物加工过程, 2021, 19(3): 306-313.

[7] 吕柳, 刘洋. 浅谈羌活与独活的区别[J]. 天津中医药大学报, 2016, 35(6): 425-427.

[8] 刘晨, 王英豪, 陈智煌, 等. 药对羌活与独活及其单味药治疗佐剂关节炎初步研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(12): 20-22.

[9] 李成文, 刘彬. 黄元御用药心法[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 161.

[10] 刘颖姝. 益气养阴通络方经凋亡通路治疗类风湿关节炎的网络药理预测与验证[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022. https://doi.org/10.27213/d.cnki.glnzc.2022.000574

[11] 马丽梅, 杨军丽. 羌活药材的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(19): 6111-6120.

[12] McInnes, I.B. and Schett, G. (2017) Pathogenetic Insights from the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *The Lancet*, **389**, 2328-2337. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31472-1

[13] 梁学振, 骆帝, 李嘉程, 等. 激素性股骨头坏死中的 PTGS2 和 STAT3: 潜在铁死亡相关诊断生物标志物[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(36): 5898-5904.

[14] 李志超, 薛景才, 胡万里, 等. 基于网络药理学探讨加味阳和汤对骨性关节炎及骨质疏松症“异病同治”机制[J]. 浙江中西医结合杂志, 2023, 33(7): 654-658+662.

[15] 于荣强, 杨巧巧. DPP-4 抑制剂联合二甲双胍用于体质量超标的 2 型糖尿病的临床有效率分析[J]. 当代医学, 2020, 26(20): 118-120.

[16] 江明金, 王珠, 吕燕妮, 等. 钩藤碱调控微小 RNA-181a 抑制甲基苯丙胺大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞成瘾的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(17): 2055-2059. https://doi.org/10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.17.016

[17] 王莹琼, 陈建欧, 应晓媚, 等. RAGE、Hsp90AB1、TXNIP 在非小细胞肺癌患者中的表达及与淋巴结转移的相关性[J]. 广东医学, 2022, 43(4): 407-411. https://doi.org/10.13820/j.cnki.gdyx.20212526

[18] 李勇. 痹证初起重用羌活、独活治疗体会[J]. 中医临床研究, 2012, 4(16): 75.

[19] 曹春浩. 基于网络药理学探讨大黄素治疗类风湿性关节炎作用机制及实验验证[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2022. https://doi.org/10.27674/d.cnki.gcyku.2022.001526

[20] 黎浩, 胡蕴然, 杨慧, 等. 基于 Keap1/Nrf2/HO-1 通路汉黄芩素 7-O-*β*-D-乙基葡萄糖醛酸苷体外抗氧化应激作用研究[J]. 药物评价研究, 2023, 46(4): 772-780.

[21] 肖潇雨, 裴媛. 独活香豆素对乳胞素诱导的帕金森病模型大鼠血清炎症因子的影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2690-2693.

[22] 贾菊芳, 曾梦楠, 张贝贝, 等. *β*-谷甾醇对 OVA 诱导的过敏性哮喘大鼠模型中 Th17/Treg 免疫失衡的调节[J/OL]. 中国免疫学杂志: 1-15. http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.r.20221208.1504.001.html, 2023-04-10.

[23] 胡荣. 白芷中欧前胡素提取分离及主要药效学研究[D]: [博士学位论文]. 成都: 成都中医药大学, 2010.

[24] Chen, Y., Wang, Y., Liu, M., *et al*. (2020) Diosmetin Exhibits Anti-Proliferative and Anti-Inflammatory Effects on TNF-*α* Stimulated Human Rheumatoid Arthritis Fibroblast-Like Synoviocytes through Regulating the Akt and NF-*κ*B Signaling Pathways. *Phytotherapy Research*, **34**, 1310-1319. https://doi.org/10.1002/ptr.6596

[25] Heo, H.J., Kim, C., Lee, H.J., *et al*. (2006) Phellopterin Suppresses Airway Mucin Secretion Induced by Adenosine Triphosphate. *Journal of Applied Pharmacology*, **14**, 202-206.

[26] Ban, H.S., Lim, S.S., Suzuki, K., *et al*. (2003) Inhibitory Effects of Furanocoumarins Isolated from the Roots of *Angelica dahurica* on Prostaglandin E2 Production. *Planta Medica*, **69**, 408-412. https://doi.org/10.1055/s-2003-39702

[27] Lung, D.K., Reese, R.M. and Alarid, E.T. (2020) Intrinsic and Extrinsic Factors Governing the Transcriptional Regulation of ESR1. *Hormones and Cancer*, **11**, 129-147. https://doi.org/10.1007/s12672-020-00388-0

[28] 王健, 徐杰, 安雪青, 等. 雌激素活化 GPER 介导的 IL-6/STAT3 通路促进乳腺癌细胞 SKBR-3 增殖作用[J]. 第三

军医大学学报, 2014, 36(4): 340-345.

[29] 张丽云, 范宇, 李晓红. miR-885-5p 通过靶向 CTNNB1 抑制胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(17): 3083-3088.

[30] Reffitt, D.M., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H.F., Evans, B.A., Thompson, R.P., Powell, J.J. and Hampson, G.N. (2003) Orthosilicic Acid Stimulates Collagen Type 1 Synthesis and Osteoblastic Differentiation in Human Osteoblast-Like Cells *in Vitro*. *Bone*, **32**, 127-135. https://doi.org/10.1016/S8756-3282(02)00950-X

[31] Huan, J.N., Li, J., Han, Y., Chen, K., Wu, N. and Zhao, A.Z. (2003) Adipocyte-Selective Reduction of the Leptin Receptors Induced by Antisense RNA Leads to Increased Adiposity, Dyslipidemia, and Insulin Resistance. *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 45638-45650. https://doi.org/10.1074/jbc.M304165200

[32] Wang, L., Heidt, D.G., Lee, C.J., *et al*. (2009) Oncogenic Function of ATDC in Pancreatic Cancer through Wnt Pathway Activation and *β*-Catenin Stabilization. *Cancer Cell*, **15**, 207-219. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.01.018

[33] Kuo, T., Cheng, K.H., Shan, Y.S., *et al*. (2019) *β*-Catenin-Activated Autocrine PDGF/Src Signaling Is a Therapeutic Target in Pancreatic Cancer. *Theranostics*, **9**, 324-336. https://doi.org/10.7150/thno.28201

[34] Ram Makena, M., Gatla, H., Verlekar, D., *et al*. (2019) Wnt/*β*-Catenin Signaling: The Culprit in Pancreatic Carcinogenesis and Therapeutic Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 4242. https://doi.org/10.3390/ijms20174242

[35] Zhi, X., Tao, J., Xie, K., *et al*. (2014) MUC4-Induced Nuclear Translocation of *β*-Catenin: A Novel Mechanism for Growth, Metastasis and Angiogenesis in Pancreatic Cancer. *Cancer Letters*, **346**, 104-113. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.12.021

[36] Yu, L., Li, X., Li, H., *et al*. (2016) Rab11a Sustains GSK3*β*/Wnt/*β*-Catenin Signaling to Enhance Cancer Progression in Pancreatic Cancer. *Tumor Biology*, **37**, 13821-13829. https://doi.org/10.1007/s13277-016-5172-1

[37] Deng, S., Zhang, X., Qin, Y., *et al*. (2020) miRNA-192 and -215 Activate Wnt/*β*-Catenin Signaling Pathway in Gastric Cancer via APC. *Journal of Cellular Physiology*, **235**, 6218-6229. https://doi.org/10.1002/jcp.29550

[38] Pap, T., *et al*. (2001) Invasiveness of Synovial Fibroblasts Is Regulated by p53 in the SCID Mouse *in Vivo* Model of Cartilage Invasion. *Arthritis and Rheumatism*, **44**, 676-681. https://doi.org/10.1002/1529-0131(200103)44:3<676::AID-ANR117>3.0.CO;2-6

[39] Kim, M., Williamson, C.T., Prudhomme, J., Bebb, D.G., Riabowol, K., Lee, P.W.K., LeesMiller, S.P., Mori, Y., Rahman, M.M., McFadden, G. and Johnston, R.N. (2010) The Viral Tropism of Two Distinct Oncolytic Viruses, Reovirus and Myxoma Virus, Is Modulated by Cellular Tumor Suppressor Gene Status. *Oncogene*, **29**, 3990-3996. https://doi.org/10.1038/onc.2010.137

[40] Barjaktarovic, Z., Kempf, S.J., Sriharshan, A., Merl-Pham, J., Atkinson, M.J. and Tapio, S. (2015) Ionizing Radiation Induces Immediate Protein Acetylation Changes in Human Cardiac Microvascular Endothelial Cells. *Journal of Radiation Research*, **56**, 623-632. https://doi.org/10.1093/jrr/rrv014

[41] 李娟, 王建成, 陈小红. 人乳头瘤病毒感染对乳腺癌患者 p53、bcl-2 和 c-erbB-2 表达及预后的影响[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2023, 15(1): 76-79.

[42] 唐双阳. HPV 基因型分布及其 16 型 E2 蛋白经 Daxx 诱导宫颈癌细胞凋亡的分子机制[D]: [博士学位论文]. 衡阳: 南华大学, 2022. https://doi.org/10.27234/d.cnki.gnhuu.2022.000017

[43] Cossermelli, W., Friedman, H., Pastor, E.H., Nobre, M.R., Manzione, A., Camargo, M.E. and Shiroma, M. (1978) Polymyositis in Chagas's Disease. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **37**, 277-280. https://doi.org/10.1136/ard.37.3.277

[44] 李静, 尚平平, 田雪, 等. 哈巴俄苷调控脂多糖/Toll 样受体 4/核转录因子-*κ*B 改善小鼠非酒精性脂肪性肝病的研究 [J/OL]. 中国新药与临床杂志: 1-11. http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1746.R.20230410.1933.002.html, 2023-04-17.

[45] 王雪梅, 车悦, 王怡婷, 等. 非诺贝特和辛伐他汀对非酒精性脂肪肝小鼠线粒体功能的作用研究[J/OL]. 中国实验动物学报: 1-10. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2986.Q.20230328.1640.006.html, 2023-04-17.

[46] 郭辉, 程西锋, 蒲丹. 系统性红斑狼疮与自身免疫性甲状腺病发病的相关性探讨[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(5): 296-298.

[47] 鞠姜华, 高志红, 邱明才. Graves 病甲状腺功能亢进患者免疫球蛋白和抗核抗体检测的临床意义[J]. 中国慢性病预防与控制, 2008, 16(6): 578-580.