

# 基于网络药理学方法研究大黄牡丹汤治疗阑尾炎的作用机制及分子基础

朱远贵 朱志成 冯波 夏雨<sup>#</sup>

(江西省中西医结合医院普外一科 南昌 330003)

**摘要:**目的:运用网络药理学方法研究大黄牡丹汤治疗阑尾炎的作用机制及分子基础。方法:在中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)中,检索大黄牡丹汤中五味中药的主要化学成分,通过 TCMSP 平台查找及预测中药化合物对应靶点,在 Genecards 数据库中搜索阑尾炎疾病靶点,取两者靶点交集导入 Swiss 平台获得 PPI 网络,筛选核心作用靶点并构建大黄牡丹汤-潜在靶点-阑尾炎作用网络。对核心靶点进行基因本体(GO)分子功能及基因组百科全书(KEGG)富集分析。结果:筛选得大黄牡丹汤中主要活性成分 11 个,该活性成分的有效靶点 166 个,阑尾炎疾病靶点 709 个,取交集得核心靶点 66 个;GO 富集分析显示靶点基因主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、平滑肌细胞增殖正调控、蛋白磷酸化正调控等;KEGG 富集结果显示大黄牡丹汤可能具有调控 FoxO 信号通路、鞘脂类信号通路、Toll 样受体信号通路等功效。结论:大黄牡丹汤可通过调控机体炎症反应、FoxO 信号通路、鞘脂类信号通路、癌症通路、肿瘤坏死因子信号通路,参与促炎症细胞因子的转录调节等治疗阑尾炎。

**关键词:** 阑尾炎;大黄牡丹汤;网络药理学;作用机制

## The Mechanism and Molecular Basis of Rhubarb Peony Decoction Based on Network Pharmacology to Treat Appendicitis

ZHU Yuan-gui, ZHU Zhi-cheng, FENG Bo, XIA Yu<sup>#</sup>

(Department of General Surgery, Jiangxi Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanchang 330003)

**Abstract:** Objective: To study the mechanism and molecular basis of rhubarb peony decoction in the treatment of appendicitis by network pharmacology method. Methods: The main chemical components of five traditional Chinese medicines in rhubarb peony decoction were searched from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). The corresponding targets of TCM compounds were searched and predicted by the TCMSP platform. The appendicitis disease targets were searched in the Genecards database. The intersection of both targets was imported into the Swiss platform to obtain the PPI network. The core targets were screened and the network of rhubarb peony decoction-potential target-appendicitis was constructed. The core targets were enrichment analysis by gene ontology (GO) molecular function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). Results: There were 11 main active ingredients in rhubarb peony decoction, 166 effective targets of the active ingredients, 709 targets for appendicitis diseases, 66 intersection core targets; GO enrichment analysis showed that the target genes were mainly involved in positive transcription regulation of RNA polymerase II promoter, positive regulation of the nitric oxide biosynthesis, positive regulation of the smooth muscle cell proliferation, positive regulation of the protein phosphorylation, etc. KEGG enrichment results showed that rhubarb peony decoction may have the efficacy of regulating the FoxO signaling pathway, sphingolipid signaling pathway and Toll-like receptor signaling pathway. Conclusion: Rhubarb peony decoction can regulate the body's inflammatory response, FoxO signaling pathway, sphingolipid signaling pathway, cancer pathway, tumor necrosis factor signaling pathway, and participate in the transcription regulation of pro-inflammatory cytokines in the treatment of appendicitis.

<sup>#</sup> 通信作者:夏雨, E-mail: 932780892@qq.com

**Key words:** Appendicitis; Rhubarb peony decoction; Network pharmacology; Mechanism

中图分类号: R96

文献标识码: B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2022.01.002

阑尾是盲肠的一部分，它的根部连接于盲肠的后内侧壁，阑尾炎会表现为右下腹疼痛及压痛。急性腹痛最常见的病因就是急性阑尾炎，急性阑尾炎需手术治疗<sup>[1]</sup>。阑尾炎终生患病风险为 6%~7%。阑尾炎好发于青少年人群，发病率在 20~30 岁达到高峰<sup>[2]</sup>。阑尾炎常用治疗方式虽然为手术治疗，但是中药复方辅助治疗仍旧起到了不可忽略的作用<sup>[3]</sup>。大黄牡丹汤为泻下复方，具有泻热破瘀、散结消肿之功效，主治肠痈初起，湿热瘀滞证<sup>[4]</sup>，临床常用于治疗急性单纯性阑尾炎、急性胆道感染等湿热瘀结证<sup>[5]</sup>。网络药理学方法为现代研究的先进成果，它不仅符合中药复方整体、系统之理念，且深入于微观分子层面，可从现代化角度解释中药复方作用机制，为中医药现代化发展做出了不可忽略的贡献<sup>[6]</sup>。本研究运用网络药理学探讨大黄牡丹汤治疗阑尾炎的分子机制，以期对中药复方治疗阑尾炎研究提供有效参考。现报道如下：

1 工具与方法

1.1 大黄牡丹汤化学成分筛选及活性靶点构建 在中药系统药理学数据库及分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP) 中，检索大黄牡丹汤中“大黄、牡丹皮、桃仁、冬瓜子、芒硝”每味中药化学成分，设置口服利用度 (Oral Availability, OB) ≥ 30%，类药性 (Drug-likeness, DL) ≥ 0.18 作为筛选条件<sup>[7]</sup>。

1.2 大黄牡丹汤作用靶点、阑尾炎疾病靶点 Venn 分析及中药活性成分-靶点-疾病网络构建 通过 TCMSP 数据库搜索大黄牡丹汤活性成分对应的作用靶点，并校正相应靶点，以关键词“appendicitis”检索 Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)，搜集阑尾炎相关疾病靶点，采用 Excel 2019 分析并绘制 Venn 图，运用 Cytoscape 3.6.0 构建大黄牡丹汤活性成分-潜在靶点-阑尾炎疾病网络图。

1.3 蛋白质-蛋白质互作关系 (PPI) 网络拓扑分析、核心靶点的筛选、富集分析 运用 String 平台对交

集靶点进行分析，限定种属为“Homo sapiens”人源，分析模式选择 “Multiple proteins”，置信度设置为 0.4，构建蛋白互作网络。将网络导入 Cytoscape 运用 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析<sup>[8]</sup>。将核心靶点导入 David 平台，对大黄牡丹汤治疗阑尾炎的核心靶点进行基因本体 (GO) 分子功能和基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析，物种选为“Homo sapiens”，以错误发现率 (False Discovery Rate, FDR) < 0.05 作为显著功能和通路的临界值，获取相应的数据，绘制相应图形<sup>[9]</sup>。

2 结果

2.1 大黄牡丹汤有效成分 最终获得大黄牡丹汤有效活性成分 11 种，其中大黄 6 种、牡丹皮 2 种、桃仁 2 种、冬瓜子 1 种。有效化合物信息见表 1。

表 1 大黄牡丹汤活性化合物成分信息

| 中药  | Mol ID    | Molecule Name   | 化合物名称  | 口服利用度 (%) | 类药性  |
|-----|-----------|-----------------|--------|-----------|------|
| 大黄  | MOL002235 | EUPATIN         | 蛋白     | 50.80     | 0.41 |
|     | MOL002268 | rhein           | 大黄酸    | 47.07     | 0.28 |
|     | MOL002281 | Toralactone     | 乳内酯    | 46.46     | 0.24 |
|     | MOL000358 | beta-sitosterol | β-谷甾醇  | 36.91     | 0.75 |
|     | MOL000471 | aloe-emodin     | 芦荟大黄素  | 83.38     | 0.24 |
|     | MOL000422 | kaempferol      | 山柰酚    | 41.88     | 0.24 |
| 牡丹皮 | MOL000492 | (+)-catechin    | (+)儿茶素 | 54.83     | 0.24 |
|     | MOL000098 | quercetin       | 槲皮素    | 46.43     | 0.28 |
| 桃仁  | MOL000358 | beta-sitosterol | β-谷甾醇  | 36.91     | 0.75 |
|     | MOL000359 | sitosterol      | 谷甾醇    | 36.91     | 0.75 |
| 冬瓜子 | MOL000449 | Stigmasterol    | 豆甾醇    | 43.83     | 0.76 |

2.2 大黄牡丹汤作用靶点、阑尾炎疾病靶点 Venn 分析及中药活性成分-靶点-疾病网络 通过 TCMSP 检索化合物对应靶点得化合物靶点 526 个，经过删除重复值、Uniprot 数据库校正后得到 166 个有效靶点；搜索 Genecards 数据库获得阑尾炎疾病靶点 709 个。对两者靶点进行 Venn 分析得交集靶点 62 个。见图 1。将 62 个核心靶点对应的活性化合物及阑尾炎疾病靶点通过 Cytoscape 构建大黄牡丹汤活性成分-潜在靶点-阑尾炎疾病网络图。见图 2。

正调控、蛋白磷酸化正调控等;KEGG 富集结果显示大黄牡丹汤可能具有调控 FoxO 信号通路、鞘脂类信号通路、Toll 样受体信号通路等功效。

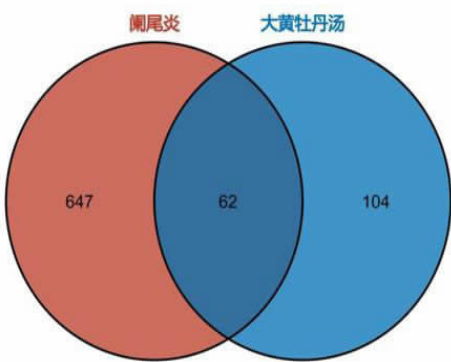


图 1 大黄牡丹汤与阑尾炎交集靶点 Venn 图

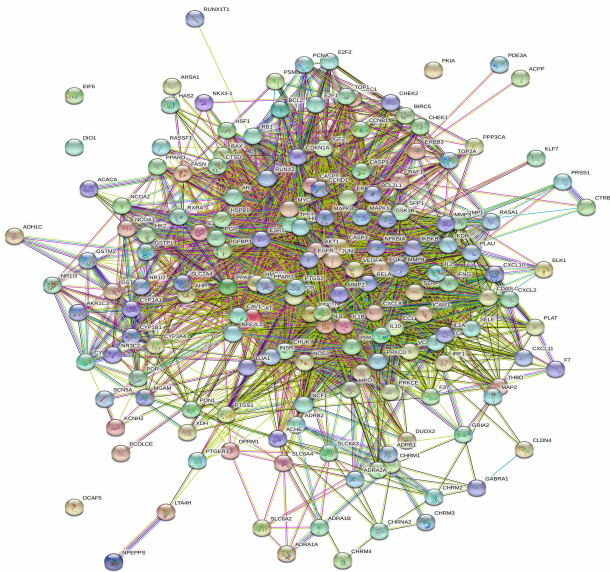


图 3 大黄牡丹汤潜在靶点的 PPI 网络图

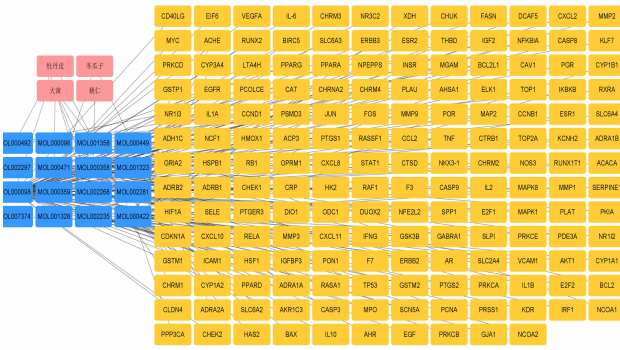
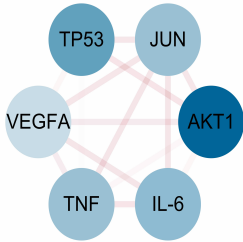


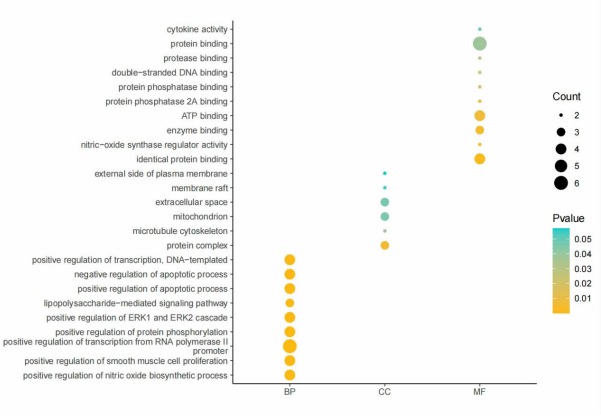
图 2 大黄牡丹汤活性成分-潜在靶点-阑尾炎疾病网络图

2.3 蛋白质-蛋白质互作关系网络拓扑分析、核心靶点筛选、富集分析 将 62 个潜在靶点导入 String 平台进行 PPI 网络拓扑分析。见图 3。再将 String 平台生成的 tsv 格式文件导入 Cytoscape 使用 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析,计算各个网络节点的 DC、BC、CC,取 DC、BC、CC 值前 6 位节点进行网络拓扑分析,最终得到白细胞介素 -6 (Interleukin6, IL-6)、肿瘤坏死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF)、蛋白激酶 B1 (AKT1)、肿瘤蛋白 P53 (TP53)、VEGFA、JUN 6 个核心靶点。见图 4。其靶点拓扑分析信息见表 2。将 6 个核心靶点导入 David 平台进行 GO、KEGG 富集分析,设置阈值为:生物过程 (Biological Processes, BP)、细胞组分 (Cellular Component, CC)、分子功能 (Molecular Function, MF) count≥5, ease≥0.1,按照 P 值升序取排列前 10 条 GO 富集信息<sup>[10]</sup>。见图 5。KEGG 富集分析设置阈 count≥5, ease≥0.1, 按照 P 值升序取排列前 20 条 KEGG 富集信息。见图 6。GO 富集分析显示靶点基因主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、平滑肌细胞增殖



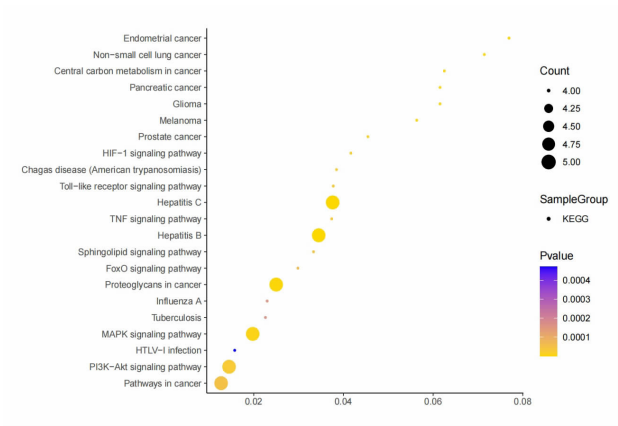
注:其中颜色深浅代表连接度值的大小。

图 4 大黄牡丹汤核心靶点 PPI 网络关系图



注:其中纵坐标表示 GO 条目名称,圆圈的大小代表富集在每个 GO 上基因的数目,圆圈颜色代表富集的显著性,颜色越蓝,基因在 GO 富集越显著。

图 5 大黄牡丹汤核心靶点的 GO 富集分析



注:其中横坐标为富集在 KEGG 通路的数目,纵坐标为通路名称,柱形图颜色代表富集显著性,颜色越红,在该通路富集越显著。

图 6 大黄牡丹汤核心靶点的 KEGG 富集分析

表 2 靶点及分子拓扑信息

| gene  | Degree | BetweennessCentrality | ClosenessCentrality |
|-------|--------|-----------------------|---------------------|
| AKT1  | 107    | 0.081 807 79          | 0.741 935 48        |
| TNF   | 93     | 0.049 853 28          | 0.696 969 70        |
| IL-6  | 94     | 0.046 545 88          | 0.700 000 00        |
| VEGFA | 89     | 0.017 473 07          | 0.665 289 26        |
| TP53  | 98     | 0.042 368 03          | 0.693 965 52        |
| JUN   | 93     | 0.041 416 56          | 0.690 987 12        |

3 讨论

大黄牡丹汤的网络药理学研究显示, 大黄牡丹汤主要作用于 AKT1, 蛋白激酶 AKT1 是细胞内生长因子信号传导的主要效应因子之一, 引发炎症反应的关键基因<sup>[11]</sup>。大黄牡丹汤可能通过调控 AKT1 基因表达抑制炎症反应从而达到治疗阑尾炎的疗效。临床研究显示, 阑尾炎患者 IL-6、TNF、TP53 基因表达均高于正常组, 这表明 IL-6、TNF、TP53 基因的异常表达为引发阑尾炎的关键基因, 调控这些基因的表达可能会对阑尾炎达到治疗作用<sup>[12]</sup>。富集分析结果表明, 大黄牡丹汤主要参与 FoxO 信号通路、鞘脂类信号通路、癌症通路、肿瘤坏死因子信号通路、Toll 样受体信号通路。此外, 核心靶点相关疾病包含恰加斯病(美洲锥虫病)、前列腺癌、黑素瘤、胰腺癌、神经胶质瘤、癌症的中枢碳代谢、非小细胞肺癌、子宫内膜癌。这表明大黄牡丹汤可能有这些疾病的治疗优势。

大黄牡丹汤重要活性化合物为大黄酸、芦荟大黄素、山柰酚、槲皮素、谷甾醇、豆甾醇等。其中大黄

酸、芦荟大黄素为中药大黄中可提取的蒽醌类化合物, 药理活性多样, 包括具有保护心血管、抗肿瘤、抗炎、抗癌、抗菌、免疫调节等广泛的药理活性<sup>[13]</sup>。槲皮素是一种天然的生物活性类黄酮, 存在于多种蔬菜和水果中, 在多种人类癌细胞中显示出良好的抗转移特性, 经槲皮素作为对照条件下的细胞伤口愈合时间延迟, 这表明经槲皮素处理的细胞中 AKT1 基因表达明显下调<sup>[14]</sup>。研究发现山柰酚能显著抑制 MAPK 通路的表达, 干扰素诱导的 IL-6 炎症因子的产生, 从而有效抑制炎症的发生<sup>[15]</sup>。

大黄牡丹汤有效成分多样, 作用网络复杂, 本研究选取的核心有效成分为直接作用于阑尾炎症状治疗的成分, 并未系统体现该复方泻热破结、散结消肿之中医理论, 其他成分也可能通过间接作用发挥治疗阑尾炎效果, 这有待后续研究进一步考证。

参考文献

[1]Ghani S,Fan KS,Fan KH,et al.Using the ensuring quality information for patients tool to assess patient information on appendicitis websites:systematic search and evaluation [J].J Med Internet Res, 2021,23(3):e22618.

[2]Rajpurkar P,Park A,Irvin J,et al.AppendiXNet: deep learning for diagnosis of appendicitis from a small dataset of CT exams using video pretraining[J].Sci Rep,2020,10(1):3958.

[3]王永光.大黄牡丹汤加味联合西医方案治疗阑尾周围脓肿的临床疗效观察[J].实用中西医结合临床,2021,21(4):25-26.

[4]孙文杰,陈亚峰,高磊,等.中药治疗急性胰腺炎机制的研究进展[J].中成药,2019,41(8):1932-1935.

[5]夏晓杰,丁宁,王昕.大黄牡丹汤保留灌肠治疗湿热瘀结型慢性盆腔炎临床观察[J].中国中医药现代远程教育,2020,18(22):72-74.

[6]王子怡,王鑫,张岱岩,等.中医药网络药理学:《指南》引领下的新时代发展[J/OL].中国中药杂志:1-12[2021-09-15]<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20210914.702>.

[7]李经蕾,侯炜.基于网络药理学探究“白花蛇舌草-土茯苓”治疗肺腺癌的作用[J/OL].中国中药杂志:1-12[2021-11-26]<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20210913.401>.

[8]吴倩文,赵书武,高丰,等.基于网络药理学和分子对接的感冒清热颗粒防治新型冠状病毒肺炎的作用机制[J].世界中医药,2021,16(19):2856-2863.

[9]孙丹晨,王志慧,乔卫.基于网络药理学酸枣仁生物碱抗抑郁作用机制的研究[J].天津医科大学学报,2021,27(5):439-445,481.

[10]赵俊,孙加琳,刘洪玲,等.基于网络药理学和分子对接探讨熊果酸治疗骨质疏松的分子机制[J].中国药房,2021,32(17):2066-2073.

[11]Truebestein L,Hornegger H,Anrather D,et al.(下转第 63 页)

2.4 两组治疗前后血清肿瘤标志物指标比较 治疗后观察组 CEA、CA15-3、CA12-5、CA19-9 均低于对照组 ( $P<0.05$ )。见表 4。

| 表 4 两组治疗前后血清肿瘤标志物指标比较( $\bar{x} \pm s$ ) |          |                |      |                  |      |                  |      |                  |      |
|------------------------------------------|----------|----------------|------|------------------|------|------------------|------|------------------|------|
| 组别                                       | <i>n</i> | CEA<br>(ng/ml) |      | CA15-3<br>(U/ml) |      | CA12-5<br>(U/ml) |      | CA19-9<br>(U/ml) |      |
| 观察组                                      | 49       | 16.01±         | 9.89 | 42.25±           | 5.59 | 53.09±           | 7.23 | 47.23±           | 7.51 |
| 对照组                                      |          | 14.92±         | 4.11 | 40.86±           | 6.34 | 51.93±           | 6.27 | 45.96±           | 7.92 |
| <i>t</i>                                 |          | 0.745          |      | 1.151            |      | 0.849            |      | 0.815            |      |
| <i>P</i>                                 |          | 0.458          |      | 0.253            |      | 0.398            |      | 0.417            |      |
| 观察组                                      | 49       | 10.06±         | 0.54 | 25.64±           | 4.12 | 34.87±           | 5.23 | 22.96±           | 4.61 |
| 对照组                                      |          | 11.01±         | 0.79 | 32.23±           | 5.22 | 41.89±           | 6.34 | 29.46±           | 5.96 |
| <i>t</i>                                 |          | 6.949          |      | 6.937            |      | 5.979            |      | 6.037            |      |
| <i>P</i>                                 |          | <0.01          |      | <0.01            |      | <0.01            |      | <0.01            |      |

3 讨论

NSCLC 发病率呈逐年递增趋势,早期症状较为隐匿,随病情发展逐渐出现痰血、低热、刺激性咳嗽等症状,多数患者耐受性差、免疫力低下,易发生感染<sup>[4]</sup>。目前,临床多以化疗为主,旨在延长患者生命、缓解疼痛、改善患者生存质量,虽取得一定疗效,但整体治疗效果欠佳。因此,探讨积极有效的治疗方案尤为重要。

紫杉醇属抗微管药物,是细胞周期特异性药物,具有抗肿瘤活性,可通过抑制微管蛋白形成、解聚、破坏有丝分裂,抑制肿瘤细胞增殖,促进癌细胞死亡,从而发挥抗肿瘤效果<sup>[5]</sup>。卡铂是 DNA 合成抑制剂,可通过形成 DNA 交叉连接,导致 DNA 断裂、错码,抑制其复制、转录,最终抑制肿瘤细胞增殖<sup>[6]</sup>。两者联合用药,虽能改善患者症状,但易引起胃肠道反应、骨髓抑制等不良反应。吉非替尼属氨酸激酶抑制剂,具有维持细胞稳态,抑制肿瘤生长、扩散、转移等作用,可通过抑制表皮生长因子受体酪氨酸激酶,进而干扰肿瘤细胞信号转导,控制肿瘤生长、转移,从

而杀灭肿瘤细胞,达到抗肿瘤效果;此外,其还可激活机体免疫,增强患者免疫力<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,观察组总有效率、疾病控制率均高于对照组,药物不良反应总发生率低于对照组 ( $P<0.05$ ),表明吉非替尼联合 PC 化疗方案治疗晚期 NSCLC 效果显著,不良反应低。本研究结果还显示,治疗后观察组 CEA、CA15-3、CA12-5、CA19-9 均低于对照组,体力状况、行为能力评分均高于对照组,无进展生存期长于对照组 ( $P<0.05$ ),表明两者联合能有效降低血清肿瘤标志物水平,改善患者生存质量,延长无进展生存期时间。

综上所述,吉非替尼联合 PC 化疗方案治疗晚期 NSCLC 效果显著,能有效提高患者生存质量,增加无进展生存期时间,改善血清肿瘤标志物,且药物不良反应低。

参考文献

[1]黄祥奇,李文娟,梁静,等.循环肿瘤细胞分型与非小细胞肺癌临床病理特征相关性研究[J].新医学,2020,51(12):933-938.  
[2]李雅倩,黄洁,杨双,等.吉非替尼片的药代动力学和生物等效性研究[J].中国临床药理学杂志,2020,36(12):1690-1693.  
[3]支修益,石远凯,于金明.中国原发性肺癌诊疗规范(2015 年版)[J].中华肿瘤杂志,2015,37(1):67-78.  
[4]李锐,叶胜兵,时姗姗,等.1 470 例非小细胞肺癌 EGFR 基因突变与临床病理特征的关系[J].诊断病理学杂志,2019,26(9):607-608.  
[5]王丽丽,欧阳明玥,赵松,等.多西紫杉醇诱导的多倍体非小细胞肺癌 A549 细胞增殖及凋亡特性研究[J].肿瘤研究与临床,2020,32(9):606-612.  
[6]卢央芳,陆意,仇建波,等.紫杉醇、卡铂联合重组人白细胞介素-11 治疗晚期非小细胞肺癌的疗效及安全性分析[J].中国医师杂志,2019,21(9):1400-1402.  
[7]潘鑫焱,李志民.吉非替尼治疗 IV 期非小细胞肺癌的效果及对肿瘤标志物水平的影响[J].医学临床研究,2019,36(2):274-276.

(收稿日期: 2021-11-10)

+++++

(上接第 10 页) Structure of autoinhibited Akt1 reveals mechanism of PIP3-mediated activation [J].Proc Natl Acad Sci USA,2021,118(33):e2101496118.

[12]Petroianu A,Barroso TVV,Buzelin MA,et al.Neuroendocrine appendicopathy in morphologically normal appendices of patients with diagnosis of acute appendicitis: Diagnostic study [J].Ann Med Surg (Lond),2020,60:344-351.

[13]谢晓蓉.芦荟大黄素衍生物的合成与协同抗菌活性研究[D].海口:

海南大学,2019.  
[14]Lu J,Wang Z,Li S,et al.Quercetin inhibits the migration and invasion of HCCLM3 cells by suppressing the expression of p-Akt1,matrix metalloproteinase (MMP) MMP-2 and MMP-9 [J].Med Sci Monit, 2018,24:2583-2589.  
[15]Qin P,Wu HM.Mechanism of kaempferol in anti-inflammation based on network pharmacology[J].IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,2021,692(3):032031.

(收稿日期: 2021-09-36)