

基于生物信息学与分子对接技术探讨苦参通过调节免疫相关基因治疗溃疡性结肠炎的分子机制

赵香妍*, 罗卫华, 姚海涛, 闫晓媛, 王雅丽, 刘宇博(北京市和平里医院药剂科, 北京 100013)

中图分类号 R932

文献标志码 A

文章编号 1672-2124(2024)02-0211-07

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2024.02.019



摘要 目的:基于生物信息学和分子对接技术,探讨苦参治疗溃疡性结肠炎(UC)的药理作用机制。方法:通过中药系统药理学数据库与分析平台及相关文献获取苦参的成分靶点信息,应用 GEO 数据库中的数据(GSE206285)获取 UC 差异表达基因,通过免疫相关基因(IRGs)数据库收集 IRGs,再利用 STRING 平台进行蛋白质-蛋白质相互作用分析,筛选苦参通过调节 IRGs 的表达治疗 UC 的核心靶点。通过 Metascape 平台对相关基因进行富集分析,最后将苦参中主要活性成分与核心靶点进行分子对接验证。结果:苦参通过调节免疫相关蛋白治疗 UC 的潜在活性成分为槲皮素、木犀草素、刺芒柄花素、8-异戊烯基-山柰酚、菜豆素、怀特酮、大豆抗毒素、高丽槐素、苦参素和苦参碱;核心靶点为基质金属蛋白酶(MMP)9、白细胞介素(IL)1 β 、CXC 趋化因子配体 8(CXCL8)、过氧化物酶体增生激活受体 γ (PPARG)、前列腺素内过氧化物合成酶 2(PTGS2)和 IL-6;参与的信号通路为癌症相关通路、脂质与动脉粥样硬化通路、AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路以及肿瘤坏死因子信号通路等;MMP9 与怀特酮的结合能为 -42.7 kJ/mol;PPARG 与菜豆素的结合能为 -41.9 kJ/mol;MMP9 与木犀草素、PTGS2 与木犀草素、PTGS2 与菜豆素、PTGS2 与大豆抗毒素的结合能均为 -40.6 kJ/mol。结论:本研究探讨了苦参通过调节 IRGs 治疗 UC 的潜在机制,为苦参临床应用的拓展及 UC 新的治疗策略提供理论基础。

关键词 苦参;溃疡性结肠炎;生物信息学;免疫相关基因;分子对接

Molecular Mechanism of Sophora Flavescens in the Treatment of Ulcerative Colitis Through Regulating Immune-Related Gene Based on Bioinformatics and Molecular Docking

ZHAO Xiangyan, LUO Weihua, YAO Haitao, YAN Xiaoyuan, WANG Yali, LIU Yubo (Dept. of Pharmacy, Beijing Hepingli Hospital, Beijing 100013, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To analyze the pharmacological mechanism of sophora flavescens in the treatment of ulcerative colitis (UC) based on bioinformatics and molecular docking. **METHODS:** The ingredients target information of sophora flavescens was obtained through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform and related literature, the differential expression genes of UC were obtained by using the dataset (GSE206285) in the GEO database, the IRGs were collected through immune-related gene (IRGs) database, and STRING platform was used to perform protein-protein interaction analysis, so as to screen the core targets of sophora flavescens in the treatment of UC through regulating the expression of IRGs. The enrichment analysis on related gene was conducted by using Metascape platform, and molecular docking verification was finally conducted on the main active ingredients and core targets in sophora flavescens. **RESULTS:** The potential active ingredients of sophora flavescens in the treatment of UC by regulating immune-related proteins were quercetin, luteolin, formononetin, 8-isoprenyl-kaempferol, phaseolin, wightone, glyceollin, maackiain, kushenin and matrine; the core targets were matrix metalloproteinase (MMP) 9, interleukin (IL) 1 β , CXC chemokine ligand 8 (CXCL8), PPARG, PTGS2 and IL-6; the involved signaling pathways were cancer-related pathway, lipid and atherosclerosis pathway, AGE-RAGE signaling pathway, IL-17 signaling pathway and tumor necrosis factor signaling pathway, etc.; the binding energy of MMP9 to wightone was -42.7 kJ/mol; the binding energy of PPARG to phaseolin was -41.9 kJ/mol; the binding energy of MMP9 to luteolin, PTGS2 to luteolin, PTGS2 to phaseolin and PTGS2 to glyceollin were -40.6 kJ/mol. **CONCLUSIONS:** This study has explored the potential mechanism of sophora flavescens in the treatment of UC by regulating IRGs, so as to provided a theoretical basis for the expansion of the clinical application of sophora flavescens and new therapeutic strategies for UC.

KEYWORDS Sophora flavescens; Ulcerative colitis; Bioinformatics; Immune-related genes; Molecular docking

* 药师, 硕士。研究方向:临床药学。E-mail: 15201208027@163.com

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是炎症性肠病中的一种慢性长期疾病, 发病机制尚不明确, 主要症状为腹痛、腹泻甚至血便等, 长期的慢性炎症状态显著增加了患者结直肠癌的发病风险^[1]。再过去的数十年中, 虽然 UC 的死亡率较低, 但在欧美发达国家的发病率和患病率仍然很高, 在发展中国家也呈迅速升高趋势。目前研究发现, UC 与肠道黏膜屏障的损伤有关, 肠道菌群紊乱、免疫功能失调及炎症细胞浸润肠道黏膜层可能是引起严重炎症反应的原因^[2]。虽然如 5-氨基水杨酸、皮质类固醇、免疫抑制剂和生物制剂等被广泛应用于临床治疗 UC, 但这些药物有限的治疗效果、较高的不良反应发生率以及较高的治疗费用等问题仍亟待解决^[3-4]。

基于传统中医药理论而应用的天然药物, 因其多成分、多靶点以及成本低廉等优势, 是目前治疗 UC 的潜在药物。传统中医理论认为, UC 证属湿热蕴肠证^[5]。而中药苦参作为经典清热燥湿的药物, 具有抗菌^[6]、抗炎^[7]和免疫调节^[8]等药理作用。目前已有报道, 苦参对于 UC 具有潜在的药物治疗效果^[9]。但其作用机制尚待阐明。本研究通过生物信息学和分子对接的方法, 全面系统地探讨了苦参通过调节免疫相关基因 (IRGs) 治疗 UC 的作用机制, 为后续 UC 治疗药物的开发提供更多理论支撑, 进一步开拓了传统中药的新视野。

1 资料与方法

1.1 苦参的化学成分及作用靶点筛选

采用中药系统药理学数据库和分析平台 (<https://www.tcmsp-e.com>)^[10] 检索苦参。根据口服利用度 (OB) $\geq 50\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 和肠上皮通透性 (Caco-2) > -0.4 为阈值, 初步筛选苦参中活性化合物及相关作用靶点。此外, 对已发表文献进行检索, 对数据库未收录的活性成分进行补充合并。使用 Cytoscape 3.9.1^[11] 软件将苦参-成分-靶点网络图可视化。

1.2 UC 相关差异基因分析

使用“ulcerative colitis”为检索关键词, 在基因表达综合数据库 (GEO)^[12] 中下载 UC 相关临床试验数据集 (GSE206285)^[13], 其中 18 例健康成年人作为对照组, 18 例诊断 UC 的成年患者、使用安慰剂治疗作为 UC 组。利用 R 语言对芯片原始数据进行二次分析, 利用 RMA 算法进行背景校正和矩阵数据归一化处理。并以 $P < 0.05$, $|\log FC| \geq 1$ 为条件对差异表达基因 (DEGs) 进行筛选, 最终确定 UC 的 DEGs。

1.3 苦参调节 IRGs 治疗 UC 核心靶点网络构建及功能模块识别

在免疫基因集数据库 (<https://www.immport.org>)^[14] 中获取 IRGs, 并与苦参作用靶点和 UC 相关 DEGs 取交集, 绘制交集靶点韦恩图。将交集靶点数据导入至 STRING 数据平台 (<https://string-db.org>)^[15] 进行分析处理, 隐藏无联系节点, 得到蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络图, 将数据导入

Cytoscape 软件对 PPI 网络进行可视化。分别使用软件内置插件 MCODE 和 cytohubba, 对上述获得的 PPI 网络进行功能模块识别。通过 MCODE 插件识别出核心靶点聚类模块。进一步使用 cytohubba 插件计算拓扑参数, 包括 MCC、EPC、Betweenness 和 Closeness 进行筛选, 确定交集的 hub 基因。合并结果后, 选择 $P < 0.05$, $|\log FC| \geq 1$ 的靶点认定为苦参通过调节 IRGs 治疗 UC 的核心靶点。

1.4 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析和基因本体 (GO) 功能富集分析

通过 Metascape 数据库 (<http://metascape.org>)^[16] 对苦参和 UC 共同作用得到的交集靶点进行 KEGG 通路富集分析和 GO 功能富集分析。以 $P < 0.05$ 为阈值, 将其按 P value 升序进行排序。分别使用 R 语言绘制通路富集气泡图和功能富集柱状图进行可视化。

1.5 苦参成分与核心靶点分子对接验证

从 PubChem 数据库^[17] 获取苦参活性成分的化学结构, 并从 PDB 数据库下载核心靶点蛋白结构, 利用 CB-dock2 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2>) 工具^[18], 计算分子中心和大小, 根据查询的配体匹配对接盒, 并计算结合能评分, 其中结合能表示为负数, 数值越小表示结合能力越强, 结合越稳定。以此对苦参成分与核心靶点的结合能力进行分子对接验证。

2 结果

2.1 苦参活性成分及作用靶点获取

获取苦参所包含化学成分 113 个, 通过 $OB \geq 50\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 和 $Caco-2 > -0.4$ 为阈值筛选后最终获得苦参相关活性成分槲皮素、木犀草素、刺芒柄花素、8-异戊烯基-山柰酚、菜豆素和怀特酮等 23 个。获取苦参活性成分相关靶点合计 201 个。苦参-成分-靶点网络图见图 1。

2.2 苦参活性成分及作用靶点分析

通过 GEO 芯片分析, UC 患者组与健康组对比, 发现 13 843 个 DEGs, 通过设置 $|\log FC| \geq 1$ 的阈值进行筛选后, 确定其中上调 DEGs 1 199 个, 下调 DEGs 905 个, 相关火山图见图 2。

2.3 苦参调节 IRGs 分析

通过数据库共获取 IRGs 靶点 1 793 个, 分别与苦参相关靶点、UC 疾病上调和下调 DEGs 取交集后绘制韦恩图, 确定苦参通过调节 IRGs 治疗 UC 的潜在靶点共计 68 个 (调节上调基因 46 个, 调节下调基因 22 个), 见图 3。

2.4 PPI 网络构建及核心靶点预测

通过 STRING 数据库分析潜在靶点, 获得扩展的 PPI 网络数据, 通过 Cytoscape 软件内置插件进行 MCODE 聚类分析, 获得 3 种模块, 数据可视化见图 4。进一步应用 Cytohubba 插件分别筛选 MCC、EPC、Betweenness 和 Closeness 前 20 位的靶点基因, 通过绘制韦恩图共确定 12 个 hub 基因 (见图 5), 进一步筛选出 $P < 0.05$, $|\log FC| \geq 1$ 的靶点认定基质金属蛋白酶 (MMP) 9、白细胞介素 (IL) 1 β 、CXC 趋化因子配体 8 (CXCL8)、

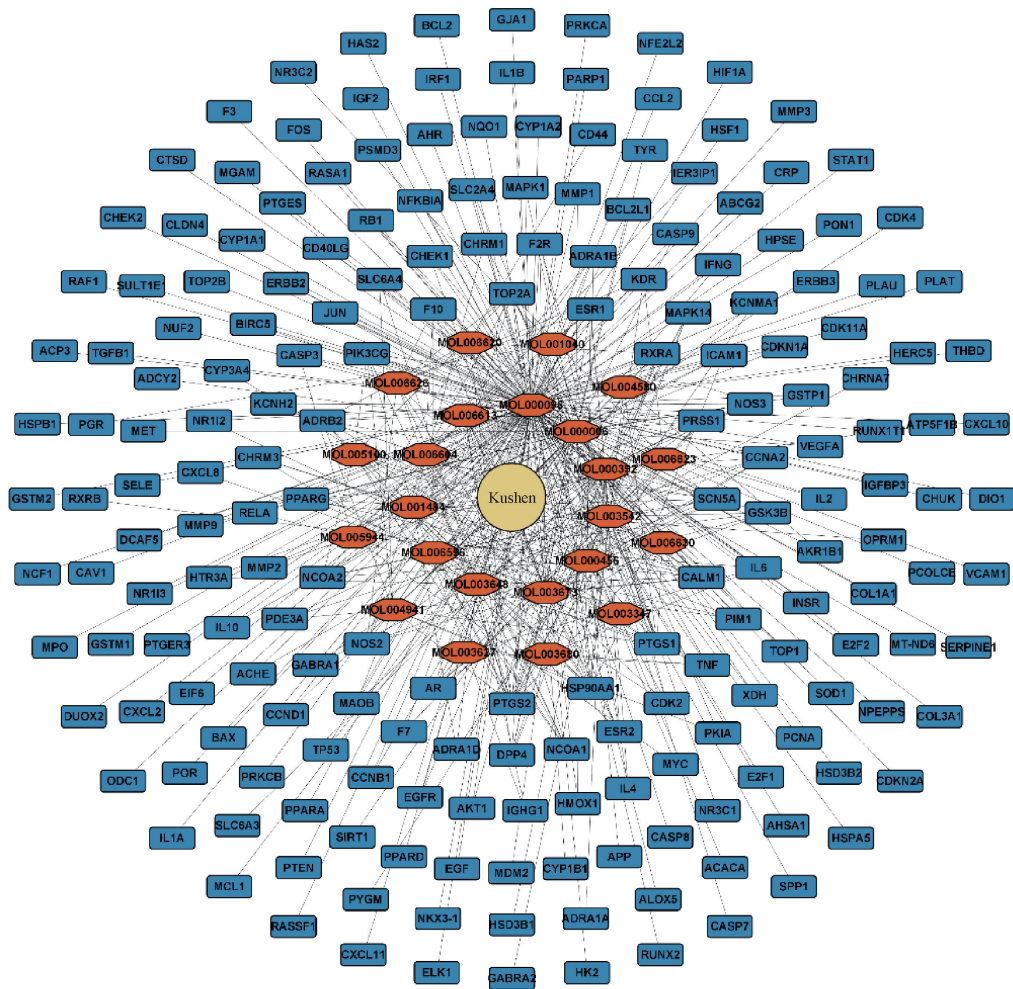


图 1 苦参-成分-靶点图

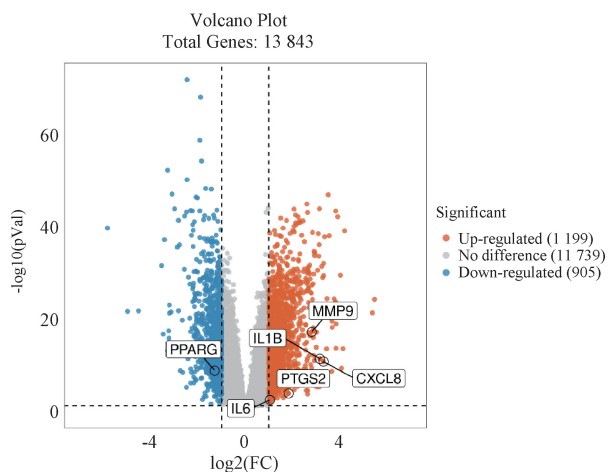


图 2 UC 差异表达基因火山图

过氧化物酶体增生激活受体 γ (PPARG)、前列腺素内过氧化物合成酶 2 (PTGS2) 和 IL-6 为苦参通过调节 IRGs 治疗 UC 的核心靶点。

2.5 KEGG 和 GO 富集分析

KEGG 富集分析结果见图 6。苦参通过调节 IRGs 治疗 UC

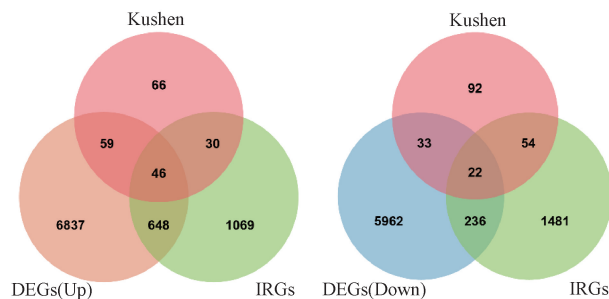


图 3 UC 苦参-UC 差异表达基因-免疫相关靶点韦恩图

的相关靶点主要富集于癌症相关通路、脂质与动脉粥样硬化通路、晚期糖基化终末产物 (AGE)-AGE 受体 (RAGE) 信号通路、IL-17 信号通路以及肿瘤坏死因子信号通路。GO 富集分析结果见图 7。其中,苦参涉及 UC 相关靶点的生物过程主要涉及对激素的反应、细胞对脂质的反应、炎症反应以及对细胞或生物体运动的正向调节等;细胞组成主要定位于细胞膜筏、细胞膜微结构域和受体复合物等;主要影响的分子功能包括信号受体调节和激活活性、受体的配体活性和细胞因子受体结合等。

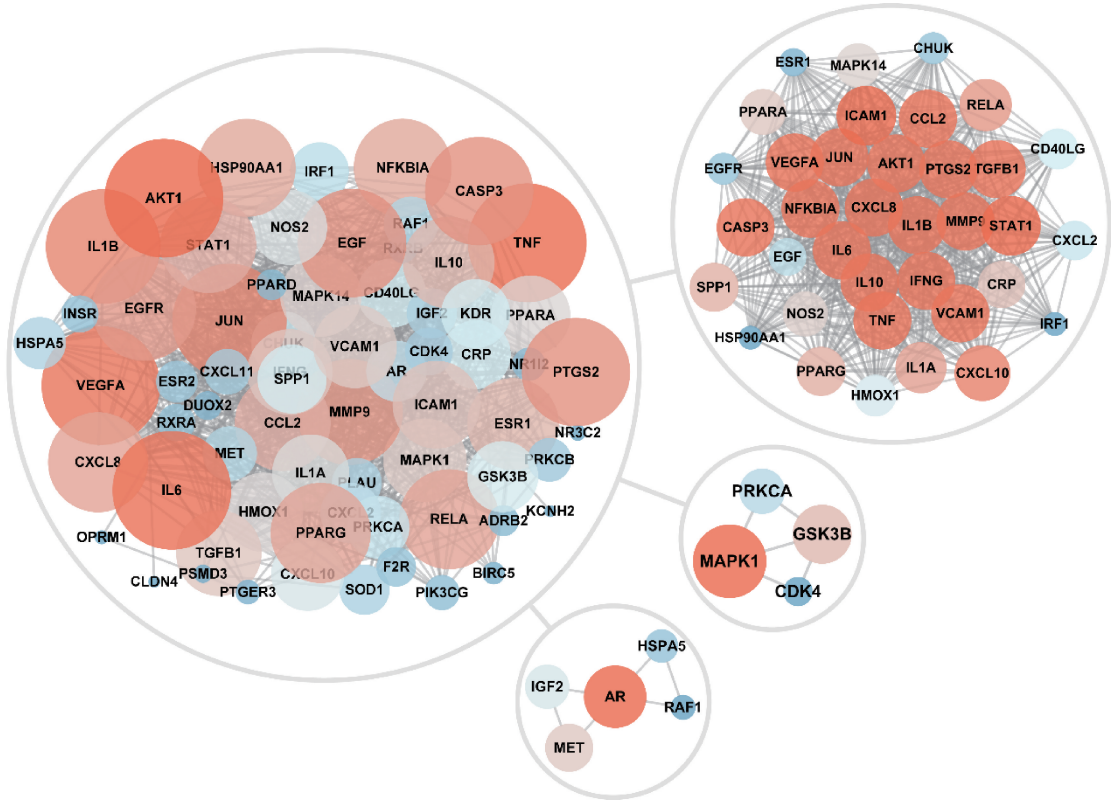


图 4 MCODE 模块聚类图

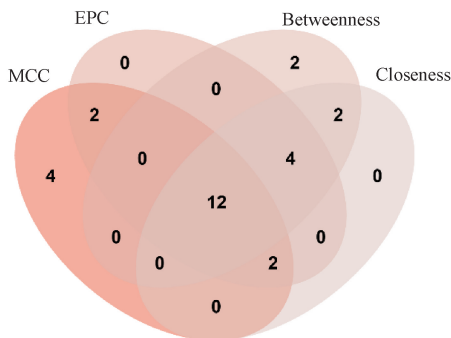


图 5 hub 基因韦恩图

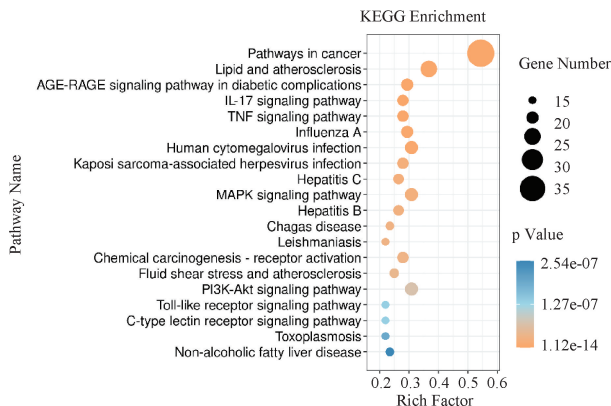


图 6 KEGG 通路富集分析

2.6 分子对接

根据苦参-成分-靶点分析的结果,获取 Degree 值居前

10 位的化合物结构,分别为槲皮素、木犀草素、刺芒柄花素、8-异戊烯基-山柰酚、菜豆素、怀特酮、大豆抗毒素、高丽槐素、苦参素和苦参碱,分别将之与 6 个核心靶点进行分子对接。全部分子对接结合能评分图见图 8(A)。其中结合能评分较低的受体配体:MMP9 与怀特酮,结合能为-42.7 kJ/mol;PPARG 与菜豆素,结合能为-41.9 kJ/mol;MMP9 与木犀草素、PTGS2 与木犀草素、PTGS2 与菜豆素、PTGS2 与大豆抗毒素的结合能均为-40.6 kJ/mol。图 8(B)—图 8(O)为结合能较低的 14 组分子对接结果。

3 讨论

UC 作为慢性自身免疫性疾病,在世界范围内的发病率逐年升高^[19]。令人困扰的是,截至目前 UC 的病因仍不明确。UC 的发病可能涉及免疫系统、遗传学、肠道菌群失调以及环境因素等,而该病在发达国家的发病率更高。UC 严重程度随着疾病的进展而逐渐加剧。随着 UC 的发展,患者每日排便次数会由<6 次发展至>10 次,炎症指标逐渐出现异常并可能出现发热、寒战和体重变化等症状^[19]。除腹泻和便血等肠道症状外,UC 还会引发多种并发症,累及眼睛、骨关节、皮肤和肝脏等,极大地影响了患者的生活质量^[20]。严重的 UC 患者可能出现结肠穿孔或发展为结肠癌,继而发生死亡的严重不良事件^[21]。肠屏障损伤是 UC 的显著病理特征,肠屏障能够被各种炎症因子或肠固有层中的细胞破坏,继而发生炎症级联反应,导致 UC 进一步发展。因此,调节炎症因子或炎症细胞是临床治疗或缓解 UC 的可行策略。修复肠屏障损伤、维持肠道稳态、调控中性粒细胞及肠道固有层免疫应答、调节肠道菌群均与免疫相关蛋白水平的变化关联密切。

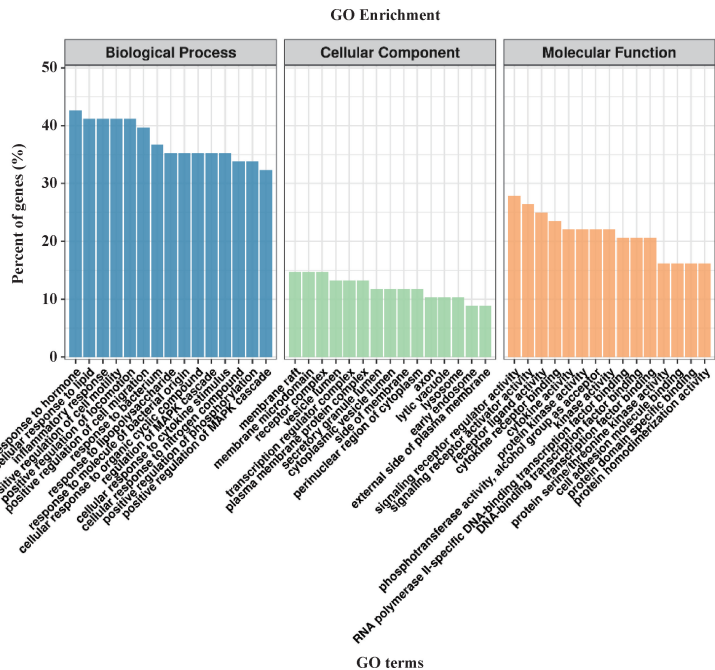
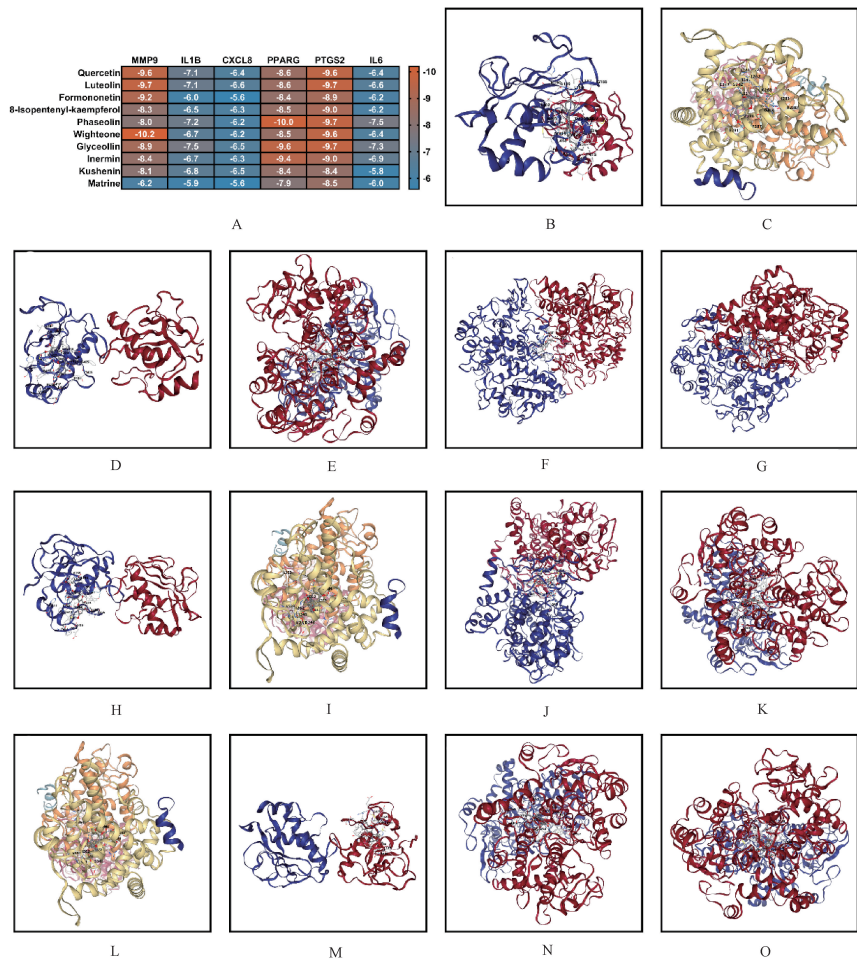


图 7 GO 功能富集分析



A. 分子对接结合能评分; B. MMP9 与怀特酮; C. PPARG 与菜豆素; D. MMP9 与木犀草素; E. PTGS2 与木犀草素; F. PTGS2 与菜豆素; G. PTGS2 与大豆抗毒素; H. MMP9 与槲皮素; I. PPARG 与大豆抗毒素; J. PTGS2 与槲皮素; K. PTGS2 与怀特酮; L. PPARG 与高丽槐素; M. MMP9 与刺芒柄花素; N. PTGS2 与 8-异戊烯基-山奈酚; O. PTGS2 与高丽槐素。

图 8 化合物与核心靶点分子对接

苦参作为传统天然药物,在中医药理论的指导下已沿用数千年,《神农本草经》《本草纲目》中均有记载。苦参所含活性成分种类繁多,包含黄酮类、生物碱类、苯丙素类和萜类等多种化学成分,因此,苦参也具有多种药理作用。多项研究结果表明,苦参具有明确的抗炎和免疫调节作用。张丽华等^[22]发现,苦参能够降低豚鼠血清肿瘤坏死因子 α 和IL-6水平,提高IL-10水平。苦参还具有双向免疫调节作用,桑秀秀等^[23]发现,氧化苦参碱能够显著提高血清IL-10和IL-27水平,还能够降低CD4⁺IL-17A表达,减轻炎症细胞浸润程度。杜锐等^[24]发现,苦参碱能够显著提高化疗患者血清CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺水平,并降低IL-6水平。以上均表明苦参具有潜在的免疫调节功能,是作为调节机体免疫功能的候选药物。

本研究基于GEO数据库UC基因表达芯片数据,应用生物信息学方法获取正常人与UC患者的结肠组织的DEGs,更加客观真实地发现了UC对于正常人体的病理改变过程中分子水平的变化。对于UC疾病的分子机制研究,GEO数据的挖掘是一种更加快速且科学的研究方法。本研究中,MMP9、IL-1 β 、CXCL8、PPARG、PTGS2和IL-6被认定为苦参通过调节IRGs治疗UC的核心靶点,且富集于IL-17信号通路上。同时,本研究还发现这些靶点还能够富集于reactome数据库^[25]中同属于免疫相关通路的IL-4^[26]、IL-13^[27]以及IL-10信号通路^[28]。IL-17细胞因子家族是由IL-17A—F组成的细胞因子亚群,能够促进炎症免疫反应,在急性和慢性炎症反应中均起关键作用^[29]。在IL-17家族细胞因子中,由IL-17A和IL-17E/IL-25激活的信号通路最具特征性。IL-17A与其受体复合物的结合导致核因子激活剂(ACT1)衔接蛋白的募集,该蛋白通过其共有的SEFIR结构域与IL-17受体相互作用。ACT1与IL-17受体复合物的相互作用导致肿瘤坏死因子受体相关因子(TRAF)-6和TRAF-3的募集以及一系列细胞内激酶的激活,包括转化生长因子酶1、 κ B抑制因子酶、胞外信号调节激酶(ERK)、糖原合成酶激酶-3 β 和p38丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)等。这些激酶共同促进核因子 κ B(NF- κ B)、激活蛋白-1和CCAAT-增强子结合蛋白依赖的促炎细胞因子、趋化因子和抗微生物肽的表达。与IL-17A相似,IL-17E信号传导需要ACT1,激活p38 MAPK、ERK和NF- κ B,并刺激促炎趋化因子和细胞因子如IL-6和IL-8的表达。然而,与IL-17A信号传导相反,IL-17E诱导的信号传导主要通过驱动IL-4、IL-5和IL-13的表达以及嗜酸性粒细胞的募集来促进Th2和Th9型免疫应答。此外,IL-17E可通过抑制Th1和Th17细胞发育所需细胞因子的分泌,发挥抗炎细胞因子的作用。因此,笔者推测苦参及其活性成分能够通过抗炎及调节机体免疫功能,来发挥治疗UC的作用。

在初步明确了苦参的作用机制后,本研究更进一步对其活性成分进行了分子对接验证。分子对接是依据配体与受体作用的钥匙与锁的原理,模拟配体小分子与受体生物大分子相互作用的一种技术方法^[30]。分子对接是基于结构的药物设计中最常用的方法之一,能够预测小分子配体与合适的靶标结合位点的结合构象。结合行为的表征在药物的合理设计以及阐明

基本的生化过程中起着重要的作用^[31]。本研究使用分子对接工具,将筛选出的核心靶点与苦参中的活性物质进行空间匹配和能量打分,根据能量排序最终得到分子间的最优结构和结合模式。MMP9与怀特酮、PPARG与菜豆素、MMP9与木犀草素、PTGS2与木犀草素、PTGS2与菜豆素、PTGS2与大豆抗毒素的对接结果表明了它们能够结合成为更为稳定的空间结构。因此,本研究推测苦参中的活性成分怀特酮、菜豆素、木犀草素以及大豆抗毒素是苦参治疗UC的潜在的药用活性物质。

综上所述,本研究结果证明了苦参能够调控多种UC相关分子靶点,进而影响多种信号通路及生物学过程,发现苦参通过调节IRGs治疗UC具有一定的科学依据及可行性。本研究为目前临床治疗UC提供了一种新的策略,但本研究仍存在着局限性。(1)UC的疾病过程漫长,临床表现复杂,仅通过GEO数据库获取的信息无法体现UC的全貌,开展的分析也因此较为片面。(2)本研究为基于生物信息学的数据挖掘与分析,对于所得结果尚需要进一步的实际临床研究或基础实验验证。

参考文献

[1] OLÉN O, ERICHSEN R, SACHS M C, et al. Colorectal cancer in ulcerative colitis: a Scandinavian population-based cohort study [J]. Lancet, 2020, 395(10218): 123-131.

[2] BUIE M J, QUAN J, WINDSOR J W, et al. Global Hospitalization Trends for Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in the 21st Century: A Systematic Review With Temporal Analyses [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2023, 21(9): 2211-2221.

[3] TRONCONE E, MONTELEONE G. The safety of non-biological treatments in ulcerative colitis [J]. Expert Opin Drug Saf, 2017, 16(7): 779-789.

[4] NAKASE H, UCHINO M, SHINZAKI S, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for inflammatory bowel disease 2020 [J]. J Gastroenterol, 2021, 56(6): 489-526.

[5] 中国中西医结合学会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗专家共识 [J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(1): 5-11.

[6] SUN T, LI X D, HONG J, et al. Inhibitory effect of two traditional Chinese medicine monomers, berberine and matrine, on the quorum sensing system of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2584.

[7] MA H Y, HUANG Q, QU W S, et al. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory effects of *Sophora flavescens* residues [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 224: 497-503.

[8] 李鹏帆, 罗月, 张玉丽, 等. 苦参及其复方治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究进展 [J]. 世界中医药, 2020, 15(6): 945-948.

[9] CHEN L, SHAO J, LUO Y, et al. An integrated metabolism *in vivo* analysis and network pharmacology in UC rats reveal anti-ulcerative colitis effects from *Sophora flavescens* EtOAc extract [J]. J Pharm Biomed Anal, 2020, 186: 113306.

[10] RU J L, LI P, WANG J A, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.

[11] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction

networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.

[12] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(D1): D991-D995.

[13] PAVLIDIS P, TSAKMAKI A, PANTAZI E, et al. Interleukin-22 regulates neutrophil recruitment in ulcerative colitis and is associated with resistance to ustekinumab therapy[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5820.

[14] BHATTACHARYA S, DUNN P, THOMAS C G, et al. ImmPort, toward repurposing of open access immunological assay data for translational and clinical research[J]. *Sci Data*, 2018, 5: 180015.

[15] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607-D613.

[16] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.

[17] KIM S, CHEN J, CHENG T J, et al. PubChem 2023 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D1373-D1380.

[18] LIU Y, YANG X C, GAN J H, et al. CB-Dock2: improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W159-W164.

[19] RUBIN D T, ANANTHAKRISHNAN A N, SIEGEL C A, et al. ACG clinical guideline: ulcerative colitis in adults [J]. *Am J Gastroenterol*, 2019, 114(3): 384-413.

[20] FEUERSTEIN J D, MOSS A C, FARRAYE F A. Ulcerative colitis [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(7): 1357-1373.

[21] SINGH B, HAYES S C, SPENCE R R, et al. Exercise and colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of exercise safety, feasibility and effectiveness[J]. *Int J Behav Nutr Phys Act*, 2020, 17(1): 122.

[22] 张丽华, 陈燕, 危炎靖, 等. 中药苦参水提物对慢性湿疹模型豚鼠炎症反应的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(2): 168-172.

[23] 桑秀秀, 王睿林, 韩延忠, 等. 氧化苦参碱通过免疫调节保护刀豆蛋白 A 诱导的小鼠免疫性肝损伤[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(6): 125-130.

[24] 杜锐, 张莹莹, 卢庆峰. 苦参注射液对宫颈癌患者化疗增敏作用和生存质量、免疫功能的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(12): 3051-3055.

[25] GILLESPIE M, JASSAL B, STEPHAN R, et al. The reactome pathway knowledgebase 2022 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D687-D692.

[26] NELMS K, KEEGAN A D, ZAMORANO J, et al. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions [J]. *Annu Rev Immunol*, 1999, 17: 701-738.

[27] HERSHEY G K K. IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(4): 677-690; quiz 691.

[28] MOORE K W, DE WAAL MALEFYT R, COFFMAN R L, et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor [J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 683-765.

[29] GU C F, WU L, LI X X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling[J]. *Cytokine*, 2013, 64(2): 477-485.

[30] JORGENSEN W L. Rusting of the lock and key model for protein-ligand binding[J]. *Science*, 1991, 254(5034): 954-955.

[31] KITCHEN D B, DECORNEZ H, FURR J R, et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(11): 935-949.

(收稿日期:2023-05-31 修回日期:2023-07-06)

(上接第 210 页)

[22] GUPTA S, WANG W, HAYEK S S, et al. Association between early treatment with tocilizumab and mortality among critically ill patients with COVID-19[J]. *JAMA Intern Med*, 2021, 181(1): 41-51.

[23] KEYHANI S, CHENG E M, HOGGATT K J, et al. Comparative effectiveness of carotid endarterectomy vs initial medical therapy in patients with asymptomatic carotid stenosis [J]. *JAMA Neurol*, 2020, 77(9): 1110-1121.

[24] ZHAO S S, LYU H, SOLOMON D H, et al. Improving rheumatoid arthritis comparative effectiveness research through causal inference principles: systematic review using a target trial emulation framework[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(7): 883-890.

[25] HERNÁN M A, ROBINS J M. Using big data to emulate a target trial when a randomized trial is not available[J]. *Am J Epidemiol*, 2016, 183(8): 758-764.

[26] LUIJKEN K, SPEKREIJSE J J, VAN SMEDEN M, et al. New-user and prevalent-user designs and the definition of study time origin in pharmacoepidemiology: a review of reporting practices [J]. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2021, 30(7): 960-974.

[27] YOSHIDA K, SOLOMON D H, KIM S C. Active-comparator design and new-user design in observational studies[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(7): 437-441.

[28] LEDERER D J, BELL S C, BRANSON R D, et al. Control of confounding and reporting of results in causal inference studies. Guidance for authors from editors of respiratory, sleep, and critical care journals[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2019, 16(1): 22-28.

[29] VANDERWEELE T J. Principles of confounder selection[J]. *Eur J Epidemiol*, 2019, 34(3): 211-219.

[30] 王小钦. 如何利用临床资料进行回顾性队列研究[J]. *协和医学杂志*, 2019, 10(1): 73-76.

[31] STÜRMER T, WANG T S, GOLIGHTLY Y M, et al. Methodological considerations when analysing and interpreting real-world data[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59(1): 14-25.

[32] 裴敏玥, 沈翀, 李楠, 等. Bootstrap 多重插补在填补医学研究中缺失数据的应用[J]. *中华儿科杂志*, 2022, 60(1): 2.

[33] LITTLE R J, D'AGOSTINO R, COHEN M L, et al. The prevention and treatment of missing data in clinical trials [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(14): 1355-1360.

(收稿日期:2023-11-22 修回日期:2023-12-22)