

基于生物网络探究三七治疗类风湿关节炎的作用机制[△]

邓茜^{1*}, 李湘媛¹, 彭紫凝¹, 毛丹宁¹, 孟凡雨¹, 黄元波¹, 晏蔚田², 刘念¹, 邓春玲³, 彭江云^{2#1}, 王宏^{3#2}
(1. 云南中医药大学第一临床医学院, 昆明 650500; 2. 云南中医药大学第一附属医院/云南省中医医院风湿病中心, 昆明 650032; 3. 昭通市中医医院肾病风湿科, 云南 昭通 657000)



中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2025)03-0266-09
DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2025.03.003

摘要 目的:运用生物信息学分析类风湿关节炎的核心基因,再通过网络药理学和分子对接法探究三七抗类风湿关节炎的作用机制。方法:根据中药成分的生物利用度在中药系统药理学数据库与分析平台、中医药信息数据库以及本草组鉴数据库检索三七的活性成分,通过 Swiss Target Prediction 数据库预测活性成分对应的靶点。通过 GEO 数据库获得的类风湿关节炎的基因芯片进行分析,利用生物信息学方法获取类风湿关节炎相关的差异表达基因,并分析类风湿关节炎相关的核心基因。取三七和类风湿关节炎的共同靶点,构建药物-成分-靶点网络,对交集靶点进行富集分析。再通过分子对接验证三七的核心成分与类风湿关节炎的核心基因之间的亲和力。结果:生物信息学分析表明,类风湿关节炎的核心基因包含鸟嘌呤核苷酸交换因子 1、CD8 α 分子 (CD8A) 和脾相关酪氨酸激酶 (SYK)。网络药理学结果显示,三七的 58 种主要化学成分可作用于类风湿关节炎的 53 个靶点,核心靶点包括淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶、C-X-C 基序趋化因子受体 4、表皮生长因子受体、颗粒酶 B、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 、CD8A、基质金属蛋白酶 9、SYK、整合素 α L、C-X-C 基序趋化因子受体 3 和脂肪酸合酶。对 53 个交集靶点进行富集分析,发现三七的主要活性成分可能通过多种生物学机制参与多条信号通路发挥抗类风湿关节炎的作用。分子对接结果表明,三七的主要活性成分与类风湿关节炎的核心基因具有良好的结合能力。结论:三七可以通过多成分、多靶点、多途径发挥抗类风湿关节炎的作用。
关键词 三七; 类风湿关节炎; 生物信息学

Mechanism of *Panax notoginseng* in the Treatment of Rheumatoid Arthritis Based on Biological Network[△]

DENG Qian¹, LI Xiangyuan¹, PENG Zining¹, MAO Danning¹, MENG Fanyu¹, HUANG Yuanbo¹, YAN Weitian², LIU Nian¹, DENG Chunlin³, PENG Jiangyun², WANG Hong³ (1. The First Clinical College, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 2. Rheumatology Center, the First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650032, China; 3. Dept. of Nephrology and Rheumatology, Zhaotong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yunnan Zhaotong 657000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To analyze the core genes of rheumatoid arthritis based on bioinformatics, and explore the mechanism of anti-rheumatoid arthritis effects of *Panax notoginseng* through network pharmacology and molecular docking. **METHODS:** The active components of *Panax notoginseng* were searched in Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, Traditional Chinese Medicine Integrated Database, and HERB based on the bioavailability, and the corresponding targets were predicted by Swiss Target Prediction. The rheumatoid arthritis gene chips obtained from GEO database were analyzed, and the differentially expressed genes (DEGs) associated with rheumatoid arthritis were obtained by bioinformatics method, and the core genes associated with rheumatoid arthritis were analyzed. The drug-component-target network was constructed by taking the common targets of *Panax notoginseng* and rheumatoid arthritis, and the enrichment analysis of the intersection genes was performed. The binding affinity between the core components of *Panax notoginseng* and core targets of rheumatoid arthritis was verified by molecular docking. **RESULTS:** The bioinformatics analysis showed that the hub genes of rheumatoid arthritis included Vav Guanine Nucleotide Exchange Factor 1, CD8 α Molecule (CD8A), and Spleen Tyrosine Kinase (SYK). Results of network pharmacology showed that 58 major chemical components of *Panax notoginseng* could act on 53 targets of rheumatoid arthritis, and the core targets included LCK, CXCR4, EGFR, GZMB, PPAR γ , CD8A, MMP9, SYK, ITGAL, CXCR3, and FASN. The enrichment analysis of 53 intersection genes showed that the

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目 (No. 82160901); 云南省教育厅科学研究基金项目 (No. 2023Y0463)

* 博士研究生。研究方向:中医药对风湿疾病防治的研究。E-mail: dengqian2005@163.com

通信作者 1: 主任医师。研究方向:中医药对风湿疾病防治的研究。E-mail: pengjiangyun@126.com

通信作者 2: 主治医师。研究方向:中医药对风湿、肾脏疾病防治的研究。E-mail: 1010692476@qq.com

major active components of *Panax notoginseng* may participate in multiple signaling pathways through various biological mechanisms to exert anti-rheumatoid arthritis effects. Molecular docking also indicated that the core active components of *Panax notoginseng* had good binding ability to the hub genes of rheumatoid arthritis. CONCLUSIONS: *Panax notoginseng* can exert anti-rheumatoid arthritis effects through multiple components, multiple targets, and multiple pathways.

KEYWORDS *Panax notoginseng*; Rheumatoid arthritis; Bioinformatics

类风湿关节炎是常见的免疫介导炎症性疾病,通常表现为滑膜关节疼痛、肿胀和僵硬,全球患病率为 0.5%~1%^[1]。由于其高发病率、高致残率的后果,类风湿关节炎已经造成了巨大的临床、经济和社会负担。目前,改变病情的抗风湿药是治疗类风湿关节炎的常规药物,近年来生物制剂也逐渐被用来改善类风湿关节炎^[2]。然而,高成本及长期服用引起的不良反应,仍然是这些药物的问题^[3]。

传统中药与天然药物凭借其低成本、低不良反应及显著的疗效,日益受到人们的广泛关注。其中,三七(*Panax notoginseng*)作为五加科植物三七的干燥根,不仅药食同源,更因其独特的药用价值而深受我国民众的青睐。诸如脊蛇祛湿胶囊^[4]、清络通痹方^[5]等含三七成分的中成药,在缓解类风湿关节炎症状、改善患者病情及提升生活质量方面,均展现出了显著的效果。现代研究表明,三七及其提取物具有许多功能,尤其是在抗炎方面^[6-7]。而炎症反应在类风湿关节炎的发病机制中发挥重要作用。网络药理学通过探讨药物、靶点和疾病之间的联系,强调整体性,全面揭示药物的作用机制。网络药理学与中医的系统性、辨证性和多成分调控的特点相吻合,为中药成分的研究提供了一种独特的方法,并被广泛用于预测中药的潜在有效成分和靶点以及深入研究中药的作用机制。因此,本研究拟采用网络药理学结合生物信息学的方法揭示三七抗类风湿关节炎的机制,为深入研究三七的作用提供理论参考。

1 资料与方法

1.1 三七活性成分及靶点的筛选

三七的化学成分收集来自多个数据库,包括中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://www.tcmsp-e.com/temsp.php>)、中医药信息数据库(TCMID, <https://www.bidd.group/TCMID/>)以及本草组鉴(HERB, <http://herb.ac.cn/>)。鉴于中草药在临床上通常口服给药,口服生物利用度(OB)和类药性(DL)是药物在胃肠道吸收的主要筛选条件。因此,本研究根据 OB \geq 30%和 DL \geq 0.18 的标准,从 TCMSP 数据库中筛选三七的活性成分。再通过 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索相应的化学成分,将 TCMID 和 HERB 数据库中活性成分的 SMILES 导入 SwissADME(<http://www.swissadme.ch/>)分析生物利用度。活性成分的筛选基于以下特征:(1)胃肠道吸收为“high”,表明该成分具有良好的 OB 和吸收能力;(2)5 个类别(Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge)中至少有 2 个设置为“YES”,表明该化合物具有良好的药样特性。最后,将收集到的有效成分的 SMILES 输入 Swiss Target Prediction 数据库(<https://www.swisstar-getprediction.ch/>),以获得相应的目标基因(probability $>$ 0.1)。再利用 Cytoscape(v 3.8.0)软件构建成分-靶点网络图。

1.2 类风湿关节炎的差异基因及核心(hub)基因的筛选

在 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>)中,

限定物种为“Homo sapiens”,以“rheumatoid arthritis”为关键词进行检索,得到类风湿关节炎相关的 GSE1919、GSE55235、GSE55457、GSE77298 和 GSE17755 的基因表达谱数据。将 GSE1919、GSE55235、GSE55457 和 GSE77298 作为训练集, GSE17755 作为外部验证集。其中 GSE1919 包含 10 个样品(5 个正常关节滑膜样品和 5 个类风湿关节炎滑膜样品), GSE55235 包含 20 个样品(10 个正常关节滑膜样品和 10 个类风湿关节炎滑膜样品), GSE55457 包含 33 个样品(10 个正常关节滑膜样品和 13 个类风湿关节炎滑膜样品), 10 个骨关节炎滑膜样品), GSE77298 包含 23 个样品(7 个正常关节滑膜样品和 16 个类风湿关节炎滑膜样品), GSE17755 包括 157 个样本(45 个正常外周血样品和 112 个类风湿关节炎外周血样本)。使用 R(v 4.2.2)的“limma”和“sva”软件包,对训练集数据进行批次校正及联合分析,筛选校正后符合 adj. $P < 0.05$ 和 $|\log_2(FC)| > 1$ 的基因作为差异表达基因(DEGs)。通过 STRING 数据库(<http://www.string-db.org/>),以互作评分 combination score $>$ 0.9 为条件对 DEGs 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,再通过 Cytoscape(v 3.8.0)软件对上调、下调 DEGs 进行可视化展示。Cytohubba 插件用于分析生物网络中的关键基因,将在 Cytohubba 插件中最大团中心性、最大邻域组件密度中心性、邻域组件中心性、度中心性、边缘渗透组件中心性、瓶颈中心性、离心率中心性、紧密中心性、辐射中心性、介数中心性等 10 项评分都处在 50 位的基因定义为类风湿关节炎的 hub 基因。通过验证集 GSE17755 构建疾病-对照的模型验证集,评价 hub 基因与疾病的关联程度。运用 R(v 4.3.0)“pROC”包,绘制受试者操作特征曲线(ROC 曲线),以曲线下面积(AUC)评估 hub 基因对于类风湿关节炎的诊断效能。

1.3 交集靶点筛选及相互作用网络的构建

将三七活性成分对应的靶点与类风湿关节炎的 DEGs 进行匹配和映射。将交集基因作为三七治疗类风湿关节炎的关键靶点,应用 Cytoscape(v 3.8.0)软件构建药物活性药物成分-疾病-靶点网络图。

1.4 交集靶点的核心基因筛选

将三七和类风湿关节炎的交集靶点输入 STRING 数据库(<http://www.string-db.org/>),选择物质为“Homo sapiens”,设置置信度 $>$ 0.4,隐藏网络游离节点,获得 PPI 网络,再将该网络导入 Cytoscape(v 3.8.0)软件中,同样运用 Cytohubba 插件计算拓扑网络的 10 项值,将在 10 项计算方法中排序均居前 10 位且出现 5 次及以上的基因认定为核心基因。

1.5 富集分析

基因本体(GO)功能富集分析包括生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞成分(CC),可用于潜在的生物分子机制分析。京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析用来识别生物功能和候选目标。

1.6 分子对接

从 RSCB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载 hub 基因的三维蛋白质结构,使用 PyMOL 37 消除原始配体和水分子,再通过 AutoDock (v 1.5.7) 为蛋白质受体添加氢原子。使用 ChemBio 3D(Ultra 14.0.0.117) 软件对三七的主要活性成分进行最小自由能结构优化,并使用 AutoDock Tool (v 1.5.7) 为小分子配体添加极性氢原子并设置扭转键。在 AutoDock Tools 中设置活性口袋坐标,编写对接脚本后调用 AutoDock Vina 执行半柔性对接,设定输出 20 个构象并筛选结合能最优的配体-受体复合物,最终通过 PyMOL 37 和 LigPlot 分析结合模式、亲和力及关键相互作用。

2 结果

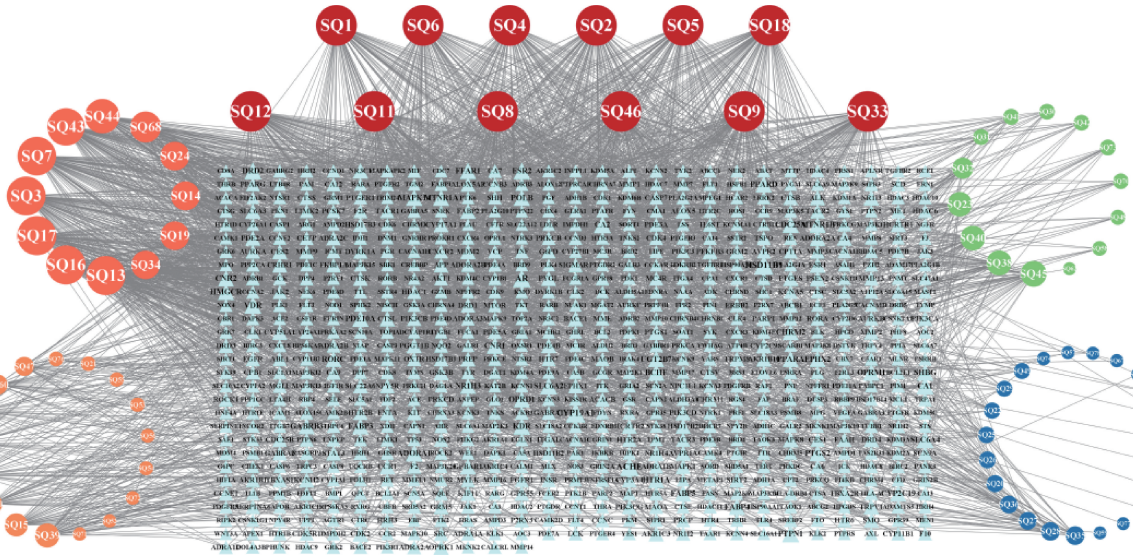
2.1 三七活性成分及其作用靶点

根据 OB 和 DL 条件,在 TCMSP 数据库中得到三七有效成

分 8 种。通过 SwissADME 对从 TCMID 中获得的 52 种和从 HERB 中获得的 349 种三七化学成分进行过滤。在删除重复成分以及无对应靶点的成分后,最终获得三七的 78 种有效成分及 768 个对应靶点。使用 Cytoscape (v 3.8.0) 软件进行可视化(图 1),得到槲皮素 (SQ1)、亚油酸乙酯 (SQ2)、环(酪-苯丙)二肽 (SQ4)、吴茱萸次碱 (SQ5)、人参炔三醇 (SQ6)、二丙基联苯二醇 (SQ8)、柠檬苦素 (SQ9)、人参三醇 (SQ11)、甘草素 (SQ12)、吴茱萸碱 (SQ18)、去氢吴茱萸碱 (SQ33) 及环(酪氨酸-亮氨酸)二肽 (SQ46),上述 12 种成分的度值均为 100,即为三七的主要成分。

2.2 类风湿关节炎相关靶点及 hub 基因

对训练集基因微阵列数据进行批次处理和分析后[图 2(A)],获得 411 个 DEGs,包括 269 个上调 DEGs 和 142 个下调 DEGs,见图 2(B)。根据 Cytoscape (v 3.8.0) 软件对 PPI 网



SQ 为三七。

图 1 药物-成分-靶点网络图

络的可视化,得到包含 221 个节点、489 条边的网络,见图 2(C)—图 2(D)。

根据 Cytoscape 插件 10 项评分,得到 3 个 hub 基因;鸟嘌呤核苷酸交换因子 1 (VAV1)、CD8 α 分子 (CD8A) 和脾相关酪氨酸激酶 (SYK),见图 3(A)。与训练集中的正常关节滑膜样品相比,3 个 hub 基因在类风湿关节炎滑膜样品表达均为上调,见图 3(B)—图 3(C)。在外部验证集中,VAV1 的 AUC 为 0.686,CD8A 的 AUC 为 0.776,SYK 的 AUC 为 0.568,见图 3(D)。

2.3 三七活性成分-类风湿关节炎靶点网络构建

将三七化学成分对应的 768 个靶点与类风湿关节炎的 411 个 DEGs 相交,获得交集靶点 53 个,其中,32 个上调靶点,21 个下调靶点,见图 4(A)。进一步将交集靶点和有效成分进行映射,发现三七的 58 种化学成分可作用于这 53 个靶点,其中 16 种成分可作用于 32 个上调基因,18 种成分可以作用于 21 个下调基因,24 种化学成分具有双向调节作用,见图 4(B)。

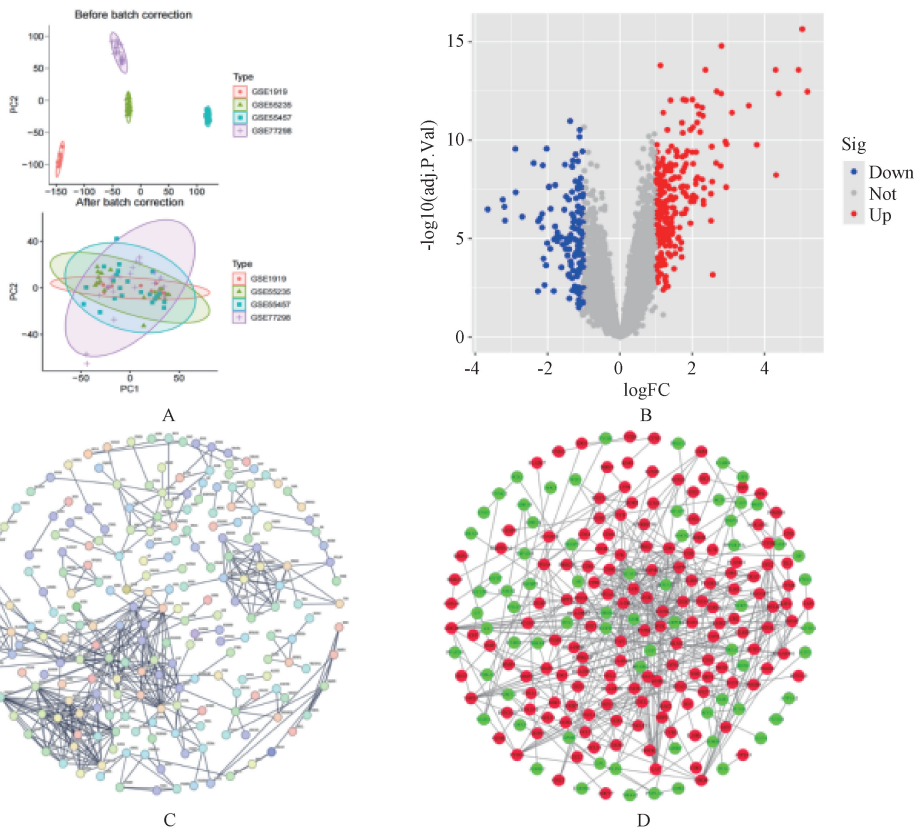
2.4 三七活性成分-类风湿关节炎靶点核心基因的筛选

通过 STRING 数据库对 53 个交集靶点进行互作分析,再通过 Cytoscape (v 3.8.0) 软件进行可视化,交集基因拓扑网络

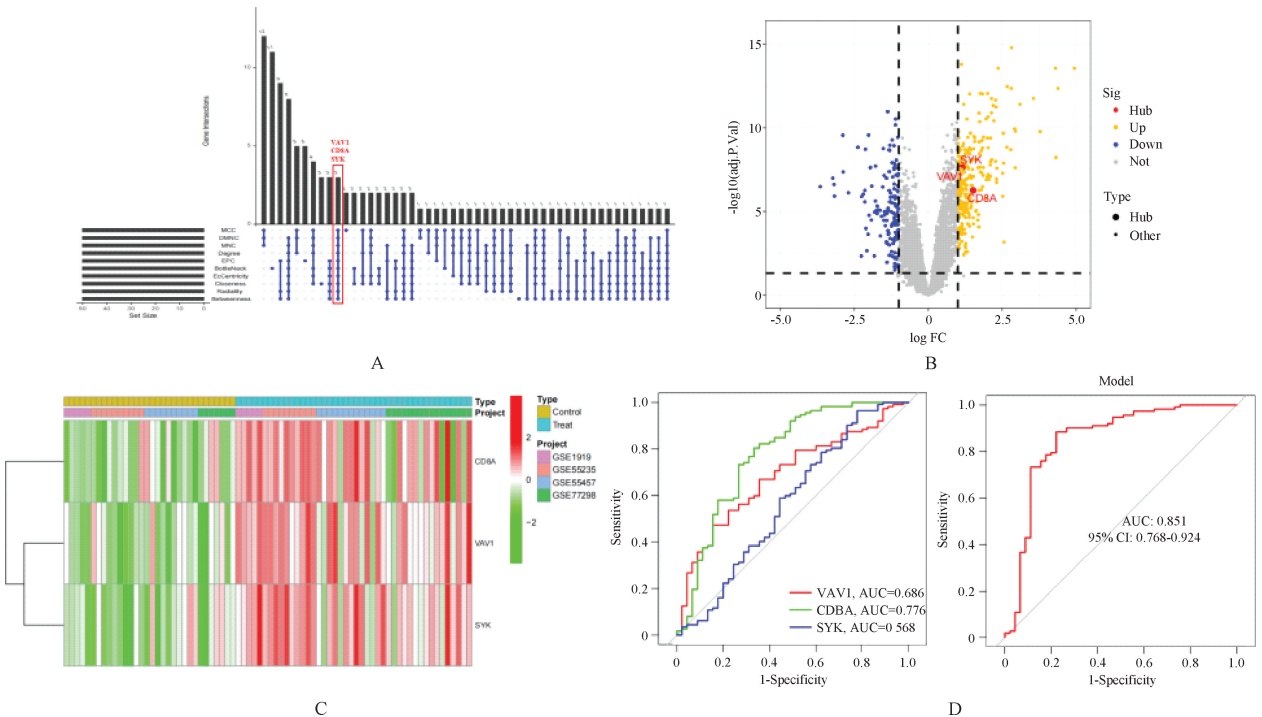
包括 46 个节点 (其中 18 个下调节点、28 个上调节点),135 条边,见图 5(A)。再根据出现在 Cytoscape 10 项计算方法出现频次,最终取淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶 (LCK)、C-X-C 基序趋化因子受体 4 (CXCR4)、表皮生长因子受体 (EGFR)、颗粒酶 B (GZMB)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、CD8A、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、SYK、整合素 α L (ITGAL)、C-X-C 基序趋化因子受体 3 (CXCR3) 以及脂肪酸合酶 (FASN) 等 11 个基因为交集基因的核心基因,见图 5(B)、表 1。

2.5 三七抗类风湿关节炎潜在靶点生物功能与通路的富集分析

通过 R (v 4.2.2) 对 53 个交集靶点进行 GO 功能富集分析,共涉及 346 个 BP,主要有白细胞迁移、视黄醇代谢以及烯烴化合物代谢等;8 个 CC,主要有整合素复合体、细胞粘附蛋白复合物和膜筏;53 个 MF,主要包含丝氨酸型内肽酶活性、丝氨酸型肽酶活性以及丝氨酸水解酶活性等,见图 6(A)—图 6(B)。根据成分-通路-靶点网络图,KEGG 通路富集共有 47 种三七有效成分通过 28 条信号通路作用于类风湿关节炎相关 37 个靶点,见图 6(C)—图 6(E)。主要信号通路涉及酪氨酸代谢、丙酮酸代谢、白细胞跨内皮迁移、癌症中的转录失调和



A. 批次校正前后基因微阵列数据表达情况; B. 训练集 GEO 芯片表达火山图; C. DEGs 的 PPI 网络图; D. Cytoscape 对 PPI 网络的可视化。
图 2 类风湿关节炎训练集基因芯片情况

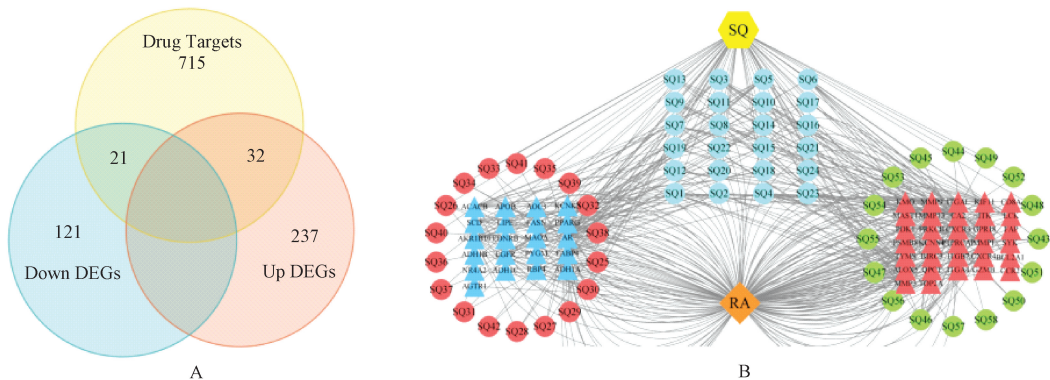


A. Hub 基因在 Cytoscape 插件 10 项评分中的分布情况; B. Hub 基因分布火山图; C. Hub 基因表达热图; D. 在外部验证集中 hub 基因的 ROC 曲线。
图 3 类风湿关节炎基因芯片的 hub 基因筛选及验证

酒精性肝病等。其中 20 个靶点在上述通路中发挥作用,其中包含了 6 个 hub 基因, *CXCR4*、*GZMB*、*PPARG*、*ITGAL*、*MMP9* 和 *FASN*。

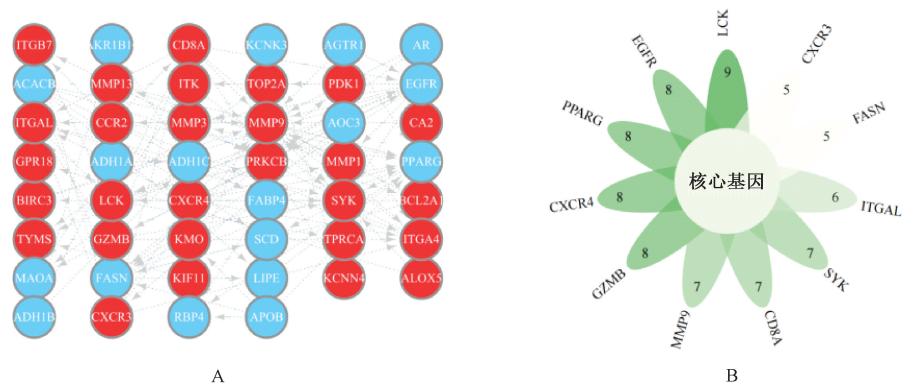
2.6 分子对接结果

通过拓扑网络分析,对得到的三七 12 种主要活性成分与类



A. 三七化学成分对应靶点与类风湿上调和下调 DEGs 的 Venn 图; B. 药物成分-靶点与疾病交集基因的拓扑网络图。

图 4 三七与类风湿关节炎的交集基因



A. Cytoscape 对 String 网络图的可视化; B. Cytoscape 10 项算法中基因出现频次。

图 5 交集基因 PPI 网络表达及核心基因筛选

表 1 CytoHubba 各项算法的前 10 位基因

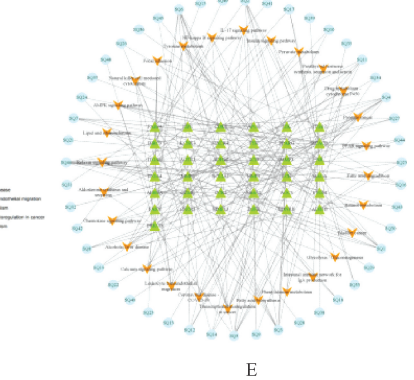
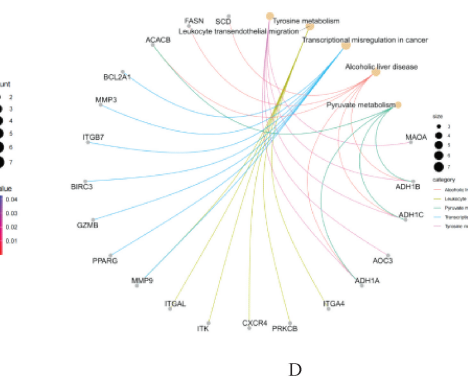
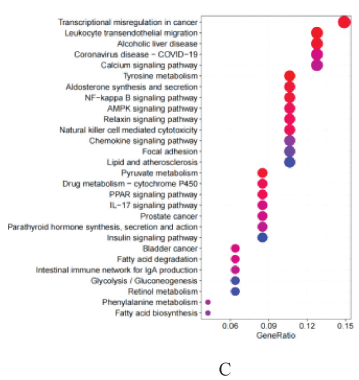
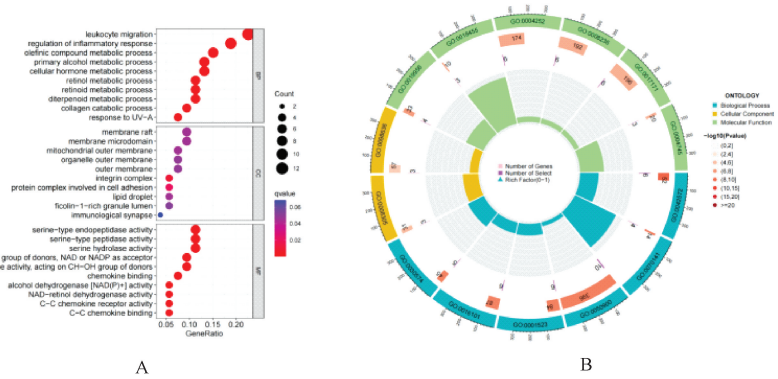
排序	度中心性	介数中心性	紧密中心性	最大团中心性	邻域组件中心性	最大邻域组件密度中心性	边缘渗透组件中心性	瓶颈中心性	辐射中心性	离心率中心性
1	EGFR	EGFR	EGFR	GZMB	EGFR	LIPE	EGFR	LCK	EGFR	ITGAL
2	MMP9	PPARG	MMP9	CD8A	PPARG	SCD	MMP9	MMP9	PPARG	LCK
3	PPARG	AOC3	PPARG	CXCR4	MMP9	GZMB	CXCR4	PPARG	MMP9	CXCR3
4	CXCR4	MMP9	CXCR4	ITGAL	CXCR4	ITGAL	CD8A	EGFR	CXCR4	ITGA4
5	LCK	MAOA	LCK	LCK	CD8A	ITGA4	PPARG	PRKCB	LCK	CCR2
6	CD8A	LCK	CD8A	CXCR3	LCK	CXCR3	LCK	FASN	SYK	GZMB
7	FASN	PRKCB	SYK	SYK	GZMB	AOC3	ITGAL	CXCR4	CCR2	AOC3
8	GZMB	FASN	FASN	ITGA4	ITGAL	MMP3	GZMB	AOC3	CD8A	PTPRCAP
9	ITGAL	CCR2	GZMB	EGFR	FASN	CD8A	CXCR3	MAOA	GZMB	ITK
10	SYK	APOB	CCR2	PPARG	SYK	ACACB	SYK	SYK	CXCR3	CXCR4

风湿关节炎相关的 3 个 hub 基因 (*VAV1*、*CD8A*、*SYK*) 进行分子对接,受体与配体对接亲和力见图 7。其中, SQ2(乙基亚油酸)和 SQ6(泛萘酮)与 *VAV1* 的亲和力相对较低 (>-21 kJ/mol),但与另外 2 个 hub 基因的亲和力较强。柠檬苦素 (SQ9) 对每个中心基因组都表现出较强的亲和力,图 8 展示了柠檬苦素与 hub 基因的对局部结构。总体来看,三七核心成分与类风湿关节炎相关 hub 基因的对接能力为 -39.8 ~ -18.0 kJ/mol,表明在自然条件下可以发生结合。

3 讨论

通过生物信息学分析,本研究获得 *VAV1*、*CD8A*、*SYK* 等 3 个与类风湿关节炎密切相关的 hub 基因。*VAV1* 是一种细胞内信号转导蛋白,在 T 细胞的信号转导中起着重要作用,并影响 T 细胞的发育、增殖和激活^[8]。研究发现,*VAV1* 的失活在

调节自身免疫性疾病和炎症中发挥关键作用^[9]。有研究证实,*VAV* 家族蛋白可能是类风湿关节炎和相关疾病的潜在治疗途径,而 *VAV1* 是最重要的药理学靶点^[10]。类风湿关节炎患者外周血 B 细胞 *SYK* 显著升高,且这些患者抗瓜氨酸蛋白抗体也表现出较强阳性^[11]。*SYK* 是 B 细胞受体信号传导中的关键分子,而布鲁顿酪氨酸激酶是调节 B 细胞增殖和活化过程的基础,目前,这 2 种激酶已被作为类风湿关节炎治疗的关键靶点提出^[12]。其中,*SYK* 也是本研究分析获得的三七抗类风湿关节炎的 hub 基因之一。*CD8A* 编码二聚体 CD8 蛋白的 CD8 α 链,主要参与细胞介导的免疫防御和 T 细胞发育,CD8A 可以作为许多疾病的诊断和预后的生物标志物,包括肿瘤和炎症性疾病^[13]。不难看出,对类风湿关节炎基因微阵列分析得到的 hub 基因与免疫细胞密切相关。研究结果显示,



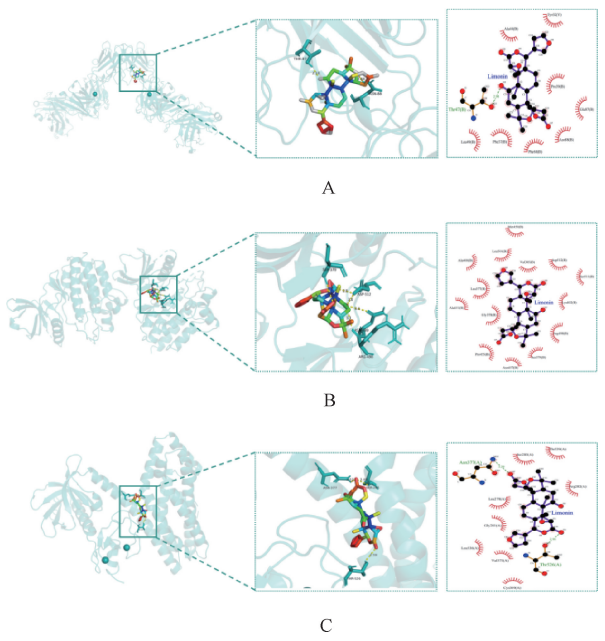
A. 交集基因的 GO 富集分析气泡图; B. 交集基因的 GO 富集分析圈图; C. 交集基因 KEGG 富集的前 30 条通路柱状图; D. 交集基因 KEGG 富集前 5 条通路弦图; E. 药物成分-交集基因-信号通路网络图。

图 6 三七与类风湿关节炎交集基因的富集分析

The core ingredients of SQ	Key targets of SQ in the treatment of RA		
	CD8A (7UVF)	SYK (4PUZ)	VAV1 (6NEW)
SQ1	-33.9	-32.2	-31.4
SQ2	-21.3	-20.9	-18.0
SQ4	-34.7	-35.2	-30.1
SQ5	-37.3	-39.0	-34.3
SQ6	-21.3	-22.2	-20.5
SQ8	-29.7	-29.3	-26.0
SQ9	-38.1	-39.8	-37.3
SQ11	-36.9	-36.9	-30.6
SQ12	-36.0	-32.2	-29.7
SQ18	-30.1	-30.6	-27.6
SQ33	-37.7	-38.5	-32.7
SQ46	-28.0	-30.1	-27.6

图 7 三七与类风湿关节炎的 hub 基因之间的分子对接热图

先天性和适应性免疫失调都参与了类风湿关节炎的发病机制^[14]。目前已知以 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞为代表的多种免疫细胞参与和介导了类风湿关节炎的自身免疫反应,自身免疫反应诱导趋化因子和蛋白酶的分泌,破坏免疫平衡,从而进一步加速软骨和骨的侵蚀。目前,针对免疫细胞或其产生的炎症因子的靶向药物已被用于临床,并取得了较好的疗效,例如,靶向 B 细胞表面 CD20 分子的利妥昔单抗是嵌合型单克隆抗体,可清除 B 细胞(除前 B 细胞和浆细胞以外),发挥抗类风湿关节炎的作用^[15];阿巴西普通过与 B 细胞表面的 CD80 和 CD86 结合,抑制 T 细胞的共刺激和活化,从而导致炎症介质的下调,目前已被批准并成功用于类风湿关节炎



A. 柠檬苦素与 CD8A; B. 柠檬苦素与 VAV1; C. 柠檬苦素与 SYK。

图 8 分子结合模式

的治疗^[16]。

同时在外部验证集中,本研究选择了不同类型的组织(全血和外周血)数据,可以评估模型在不同生物样本中的表现,提高模型的泛化能力,减少模型对训练数据的过度拟合,提高研究结果的可靠性和重复性。最终,VAV1、CD8A、SYK 的 AUC

均>0.500,其中完整模型的 AUC 为 0.914 [图 6(B)],高于单一基因的 AUC,表明该些 hub 基因对类风湿关节炎具有一定的诊断效能。

根据成分-靶点网络,得到 12 种三七的主要成分。其中,槲皮素作为黄酮类化合物的代表,具有多种药理活性,如抗炎、抗氧化等^[17-18]。亚油酸乙酯具有抗炎活性^[19]。吴茱萸次碱在表现出抗炎活性的同时,还可增强成骨细胞分化、骨形成,并降低骨髓基质干细胞中细胞的衰老^[20]。人参炔三醇可以通过抑制核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路抑制 LPS 诱导的小胶质细胞活化^[21]。柠檬苦素也具有有良好的抗炎活性,同时具有抗氧化、改善神经功能等作用^[22]。人参三醇除了具有抗氧化、抗炎的活性外,尤其突出的是对神经元的保护作用^[23]。甘草素通过抑制转化生长因子- β 1/信号传导蛋白 Smad2/3 通路来缓解类风湿关节炎及其心脏并发症^[24]。Dai 等^[25]发现,去氢吴茱萸碱在完全弗氏佐剂诱导的体内和体外佐剂诱导的关节炎中,可显著改善大鼠的关节红肿症状。同时,去氢吴茱萸碱可抑制 MH7A 关节炎滑膜成纤维细胞血清中的促炎因子,包括肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 (IL) 1 β 、IL-6 和 IL-17,以及 MMP1 和 MMP3 的相对 mRNA 表达。去氢吴茱萸碱通过减轻炎症反应和抑制成纤维细胞的异常增殖而在类风湿关节炎的治疗中发挥作用。上述研究表明,三七及其主要成分在抗炎中具有明显优势,同时也在抗氧化、抑制骨破坏等方面具有一定潜力。

对三七和类风湿关节炎的交集基因分析中得到了 11 个核心基因,其中 *CXCR4*、*GZMB*、*PPARG*、*ITGAL*、*MMP9* 和 *FASN* 等 6 个核心基因又富集在显著表达的 KEGG 信号通路上。*CXCR4* 为 G 蛋白偶联受体,作为 CXCL12 的受体参与造血和免疫系统中的归巢和趋化作用,而 CXCL12/CXCR4 轴可直接激活 NF- κ B 通路,在类风湿关节炎中发挥关键作用^[26]。*GZMB* 是颗粒酶家族成员,具有很强的凋亡活性。研究发现,沉默 *GZMB* 可以抑制半胱天冬酶-3 和消皮素 E 的激活,减少细胞焦亡,延缓类风湿关节炎中的炎症。*GZMB* 基因可能是类风湿关节炎的潜在治疗靶点^[27]。近期有研究发现,PPARG 在类风湿关节炎中可以通过促进自噬加速活性氧的清除,从而抑制活性氧介导的巨噬细胞极化和 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎症小体激活^[28]。*ITGAL* 作为整合素家族的成员,主要参与免疫反应、炎症过程和肿瘤微环境的构建^[29]。关节腔内炎症细胞的浸润会导致大量释放促炎细胞因子,而细胞因子可刺激 MMP 的产生,如 MMP1、MMP3、MMP9 和 MMP13 等。这种恶性循环最终导致关节软骨和骨的不可逆损伤。*FASN* 作为脂质代谢的中心调节因子,在炎症和免疫系统中过度表达^[30]。

KEGG 富集的通路主要涉及酪氨酸代谢、丙酮酸代谢、白细胞跨内皮迁移、癌症中的转录失调和酒精性肝病等。有研究发现,对于炎症性和自身免疫性疾病,阻断白细胞迁移具有广泛的应用前景^[31]。多项队列研究结果表明,类风湿关节炎患者发生恶性肿瘤^[32]、感染^[33]等疾病的风险增加。而代谢过程在类风湿关节炎中一直都发挥着重要作用^[34]。最后通过分子对接,发现三七的 12 个核心成分与类风湿关节炎的 hub 基因具有良好的结合效能。表明三七的主要活性成分与类风湿关节炎的关键治疗靶点通过氢键、疏水作用力和氨基酸残基的范德华力发生相互作用而稳定结合,进一步导致关键靶点的生物

学功能变化而发挥药效作用。

综上所述,本研究以生物信息学为研究手段,发现三七可能从代谢途径、炎症反应、疾病等通路,通过免疫调节、抗炎以及抑制骨质破坏等方面发挥抗类风湿关节炎的作用,初步阐明了三七治疗类风湿关节炎的作用机制。本研究也存在一些局限性:(1)仅从基因转录组的角度进行,缺乏多组试验;(2)后续还需要进一步体内和体外试验加以验证。

参考文献

- [1] CONRAD N, MISRA S, VERBAKEL J Y, et al. Incidence, prevalence, and co-occurrence of autoimmune disorders over time and by age, sex, and socioeconomic status: a population-based cohort study of 22 million individuals in the UK [J]. *Lancet*, 2023, 401(10391): 1878-1890.
- [2] MOK C C, MAK A. Therapeutic advances in rheumatoid arthritis [J]. *BMJ*, 2004, 384: e070856.
- [3] WEI K, JIANG P, ZHAO J A, et al. Biomarkers to predict DMARDs efficacy and adverse effect in rheumatoid arthritis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 865267.
- [4] LI Y J, ZHANG N N, PENG X, et al. Network pharmacology analysis and clinical verification of Jishe Qushi capsules in rheumatoid arthritis treatment [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(34): e34883.
- [5] 李慧敏,程芳,王敏,等.清络通痹方与甲氨蝶呤对老年阴虚络热型类风湿关节炎的疗效[J].*中国老年学杂志*, 2024, 44(21): 5209-5212.
- [6] WANG L L, KANG M L, LIU C W, et al. *Panax notoginseng* saponins activate nuclear factor erythroid 2-related factor 2 to inhibit ferroptosis and attenuate inflammatory injury in cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Am J Chin Med*, 2024, 52(3): 821-839.
- [7] WEI X B, WEN Y Q, HU Y Z, et al. Total saponins of *Panax notoginseng* modulate the astrocyte inflammatory signaling pathway and attenuate inflammatory injury induced by oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury in rat brain microvascular endothelial cells [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2024, 19(2): 267-276.
- [8] SHALOM B, FARAGO M, SALAYMEH Y, et al. Vav1 promotes B-cell lymphoma development [J]. *Cells*, 2022, 11(6): 949.
- [9] NEURATH M F, BERG L J. VAV1 as a putative therapeutic target in autoimmune and chronic inflammatory diseases [J]. *Trends Immunol*, 2024, 45(8): 580-596.
- [10] CONDE J, FERNÁNDEZ-PISONERO I, CUADRADO M, et al. Distinct roles of vav family members in adaptive and innate immune models of arthritis [J]. *Biomedicine*, 2021, 9(6): 695.
- [11] NEYS S F H, HEUTZ J W, VAN HULST J A C, et al. Aberrant B cell receptor signaling in circulating naïve and IgA⁺ memory B cells from newly-diagnosed autoantibody-positive rheumatoid arthritis patients [J]. *J Autoimmun*, 2024, 143: 103168.
- [12] GHOSHASTIDAR K, PATEL H, BHAYANI H, et al. ZYBT1, a potent, irreversible Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) inhibitor that inhibits the C481S BTK with profound efficacy against arthritis and cancer [J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2020, 8(4): e00565.
- [13] CUBITT C C, WONG P, DORANDO H K, et al. Induced CD8 α identifies human NK cells with enhanced proliferative fitness and modulates NK cell activation [J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(15): e173602.
- [14] HE Y B, AOUN M, XU Z W, et al. Shift in perspective: autoimmunity protecting against rheumatoid arthritis [J]. *Ann*

- Rheum Dis, 2024, 83(5): 550-555.
- [15] ABELES I, PALMA C, MEEDNU N, et al. B cell-directed therapy in autoimmunity[J]. Annu Rev Immunol, 2024, 42(1): 103-126.
- [16] COPE A P, JASENECOVA M, VASCONCELOS J C, et al. Abatacept in individuals at high risk of rheumatoid arthritis (APIPPRA): a randomised, double-blind, multicentre, parallel, placebo-controlled, phase 2b clinical trial[J]. Lancet, 2024, 403(10429): 838-849.
- [17] ATTA A, SALEM M M, EL-SAID K S, et al. Mechanistic role of quercetin as inhibitor for adenosine deaminase enzyme in rheumatoid arthritis: systematic review[J]. Cell Mol Biol Lett, 2024, 29(1): 14.
- [18] CARRILLO-MARTINEZ E J, FLORES-HERNÁNDEZ F Y, SALAZAR-MONTES A M, et al. Quercetin, a flavonoid with great pharmacological capacity[J]. Molecules, 2024, 29(5): 1000.
- [19] DAR K B, PARRY R A, BHAT A H, et al. Immunomodulatory efficacy of *Cousinia thomsonii* C. B. Clarke in ameliorating inflammatory cascade expressions[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 300: 115727.
- [20] ALI D, OKLA M, ABUELREICH S, et al. Apigenin and rutaecarpine reduce the burden of cellular senescence in bone marrow stromal stem cells [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2024, 15: 1360054.
- [21] HIRAMATSU G, UTA D, MIHARA K, et al. Inhibitory effect of panaxytriol on BV-2 microglial cell activation[J]. J Pharmacol Sci, 2021, 145(3): 273-278.
- [22] GAO X Y, HE D W, LIU Y T, et al. Oral administration of limonin (LM) exerts neuroprotective effects by inhibiting neuron autophagy and microglial activation in 6-OHDA-injected rats[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 123: 110739.
- [23] WANG Y W, ZHANG Y F, LI Y Y, et al. The necessity of eliminating the interference of panaxatriol saponins to maximize the preventive effect of panaxadiol saponins against Parkinson's disease in rats[J]. J Ginseng Res, 2024, 48(5): 464-473.
- [24] NING X R, NI Y H, CAO J J, et al. Liquiritigenin attenuated collagen-induced arthritis and cardiac complication via inflammation and fibrosis inhibition in mice[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2023, 71(4): 269-276.

(下转第 278 页)

(上接第 265 页)

- [8] OTASEK D, MORRIS J H, BOUÇAS J, et al. Cytoscape automation: empowering workflow-based network analysis [J]. Genome Biol, 2019, 20(1): 185.
- [9] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome[J]. BMC Syst Biol, 2014, 8(Suppl 4): S11.
- [10] YUAN F, PAN X Y, CHEN L, et al. Analysis of protein-protein functional associations by using gene ontology and KEGG pathway [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 4963289.
- [11] WU T Z, HU E Q, XU S B, et al. ClusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data [J]. Innovation (Camb), 2021, 2(3): 100141.
- [12] GOODSELL D S, ZARDECKI C, DI COSTANZO L, et al. RCSB protein data bank: enabling biomedical research and drug discovery [J]. Protein Sci, 2020, 29(1): 52-65.
- [13] NGUYEN N T, NGUYEN T H, PHAM T N H, et al. Autodock vina adopts more accurate binding poses but Autodock4 forms better binding affinity[J]. J Chem Inf Model, 2020, 60(1): 204-211.
- [14] MOOERS B H M. Shortcuts for faster image creation in PyMOL [J]. Protein Sci, 2020, 29(1): 268-276.
- [15] 储晓琴, 蒋建勤, 徐江慧, 等. 一测多评法测定百蕊草中百蕊草素 I、百蕊草素 II 和山柰酚的含量[J]. 云南中医学院学报, 2016, 39(2): 30-33.
- [16] 刘洋, PARVEEN Z, 邓玉林, 等. 百蕊草中黄酮类化合物研究[J]. 中药材, 2009, 32(4): 518-520.
- [17] 郑玲玲, 纪瑞锋, 韩红亮, 等. 百蕊草药材中 5 种黄酮类化学成分的含量测定[J]. 中国农学通报, 2022, 38(5): 30-36.
- [18] 周思倩, 方艳, 谭金桃, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析百蕊草醇提物的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(10): 1633-1646.
- [19] 张雅雯, 邵东燕, 师俊玲, 等. 山柰酚生物功能研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29(4): 400-405.
- [20] 胡泽香, 佟雷, 耿艳萌, 等. 木犀草素的药理活性及其制剂研究进展[J]. 中医临床研究, 2022, 14(10): 141-145.
- [21] 耿亚飞, 杨成, 赵炳天. 木犀草素对铜绿假单胞菌上清液诱导 RAW264.7 炎症反应的作用[J]. 中成药, 2023, 45(5): 1686-1690.
- [22] 张明发, 沈雅琴. 氧化苦参碱对呼吸系统患者临床治疗的药理作用研究进展[J]. 抗感染药理学, 2019, 16(9): 1473-1477, 1491.
- [23] VAN LOO G, BERTRAND M J M. Death by *TNF*: a road to inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2023, 23(5): 289-303.
- [24] HATA A N, BREYER R M. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation[J]. Pharmacol Ther, 2004, 103(2): 147-166.
- [25] SAMUELSSON B. Role of Basic Science in the Development of New Medicines: Examples from the Eicosanoid Field[J]. J Biol Chem, 2012, 287(13): 10070-10080.
- [26] SMYTH E M, GROSSER T, Wang M, et al. Prostanoids in health and disease[J]. J Lipid Res, 2009, 50 Suppl(Suppl): S423-S428.
- [27] ZHANG Z L. MiR-124-3p suppresses prostatic carcinoma by targeting *PTGS2* through the AKT/NF- κ B pathway [J]. Mol Biotechnol, 2021, 63(7): 621-630.
- [28] KANDASAMY P, ZARINI S, CHAN E D, et al. Pulmonary Surfactant Phosphatidylglycerol Inhibits Mycoplasma pneumoniae-stimulated Eicosanoid Production from Human and Mouse Macrophages[J]. J Biol Chem, 2011, 286(10): 7841-7853.
- [29] TU M, WEI T, JIA Y, et al. Molecular mechanisms of alveolar epithelial cell senescence and idiopathic pulmonary fibrosis: a narrative review[J]. J Thorac Dis, 2023, 15(1): 186-203.
- [30] 王依澜, 黄德美, 王飞, 等. 中药活性成分调节 PI3K/Akt 信号通路在急性肺损伤治疗中的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(6): 223-236.
- [31] 庞亚蓉, 席建宏, 王志旺, 等. 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路参与哮喘气道炎症反应的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(14): 1897-1901.
- [32] 冯惠, 赵卉. PI3K/Akt/mTOR 信号通路在慢阻肺中的研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2022, 27(8): 1278-1281.
- [33] 张俊英, 赵晓莉, 王鑫, 等. 不同气道损害肺炎支原体肺炎患儿 PI3K-Akt 信号通路变化及治疗转归[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(7): 1106-1110.

(收稿日期:2024-08-07 修回日期:2024-12-03)