

网络药理学结合转录组学方法探究加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎作用靶点

殷程豪, 孙宏文*

南京中医药大学苏州附属医院, 江苏 苏州

收稿日期: 2026年7月13日; 录用日期: 2026年8月6日; 发布日期: 2026年8月14日

摘 要

目的: 基于网络药理学及转录组学方法探讨加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的作用靶点。方法: 收集网络药理学和转录组学的共同靶点, 进行KEGG功能富集分析。构建PPI网络图并进行网络拓扑分析, 确定潜在核心靶点。构建通路-靶点网络图, 确定发挥关键作用的信号通路。结果: 通过KEGG富集分析、PPI分析、拓扑分析等得到6个潜在核心靶点(SRC、GSK3B、RXRA、RAF1、RPS6KB、PPARA), 以及9个主要信号通路(FAK信号通路、ErbB信号通路、Rap1信号通路、mTOR信号通路、PI3K-Akt信号通路、cAMP信号通路、VEGF信号通路、MAPK信号通路、FoxO信号通路)。结论: 通过网络药理学与转录组学研究发现加味祛瘀护膜剂中的活性成分起到治疗反流性食管炎的作用机制可能为: 通过SRC、GSK3B、RXRA、RAF1、RPS6KB、PPARA这6个核心靶点介导多个通路抑制炎症、细胞增殖, 进而改善炎症反应、阻止RE的进一步进展。以期为后续加味祛瘀护膜剂抗反流性食管炎的药理学研究和临床应用提供理论依据与参考线索。

关键词

反流性食管炎, 加味祛瘀护膜剂, 网络药理学, 转录组学

Exploration of Therapeutic Targets of Modified Quyu Humo Mixture for Reflux Esophagitis via Network Pharmacology Combined with Transcriptomics

Chenghao Yin, Hongwen Sun*

Nanjing University of Chinese Medicine Suzhou Affiliated Hospital, Suzhou Jiangsu

Received: July 13, 2026; accepted: August 6, 2026; published: August 14, 2026

*通讯作者。

文章引用: 殷程豪, 孙宏文. 网络药理学结合转录组学方法探究加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎作用靶点[J]. 临床医学进展, 2026, 16(8): 1117-1130. DOI: 10.12677/acm.2026.1682887

Abstract

Objective: To explore the therapeutic targets of Modified Quyu Humo Decoction in the treatment of reflux esophagitis based on network pharmacology and transcriptomics. **Methods:** Common targets shared by network pharmacology prediction and transcriptomic data were collected for KEGG functional enrichment analysis. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed and subjected to network topological analysis to screen potential core targets. A pathway-target network was established to identify the pivotal signaling pathways involved. **Results:** Six potential core targets (SRC, GSK3B, RXRA, RAF1, RPS6KB, PPARA) and nine major signaling pathways (FAK signaling pathway, ErbB signaling pathway, Rap1 signaling pathway, mTOR signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, cAMP signaling pathway, VEGF signaling pathway, MAPK signaling pathway, FoxO signaling pathway) were identified via KEGG enrichment analysis, PPI network analysis and topological analysis. **Conclusion:** Combined network pharmacology and transcriptomic analyses revealed that the active ingredients in Modified Quyu Humo Decoction exert therapeutic effects against reflux esophagitis through a potential mechanism: regulating the six core targets (SRC, GSK3B, RXRA, RAF1, RPS6KB, PPARA) to mediate multiple signaling pathways, inhibit inflammation and abnormal cell proliferation, alleviate inflammatory responses, and hinder the progression of reflux esophagitis (RE). This study provides theoretical basis and research clues for subsequent pharmacological research and clinical application of Modified Quyu Humo Decoction against reflux esophagitis.

Keywords

Reflux Esophagitis, Modified Quyu Humo Decoction, Network Pharmacology, Transcriptomics

Copyright © 2026 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

胃食管反流病是一种胃及十二指肠内容物反流入食管引起的相关症状和(或)并发症的疾病[1], 按照胃镜下所见可分为非糜烂性反流病、反流性食管炎和 Barrett 食管 3 种类型[2]。其中反流性食管炎发病率最高, 占胃食管反流性疾病的 48%~79% [3]。反流性食管炎典型症状为反流和烧心, 同时可伴有吞咽困难及胸痛等非典型症状以及哮喘、咳嗽等食管外症状表现。流行病学研究显示, 近年来由于物质生活的提高, 我国居民饮食结构的改变以及生活习惯的变化, 我国反流性食管炎的发病率呈现逐年上升趋势[4]。目前普遍认为反流性食管炎的发病机制可以概括为食管对反流物的防御能力降低和反流物对食管黏膜的侵犯作用两方面[5]。根治治疗反流性食管炎的关键在于阻止胃和十二指肠内容物反流, 但目前临床尚未发现能够有效阻止反流的药物, 故现代医学治疗反流性食管炎一般使用质子泵抑制剂(PPI)联合胃黏膜保护剂, 以期减轻酸性成分对食管黏膜的损伤, 并为已经损伤的食管黏膜创造良好的修复环境, 但临床实践证实该方法易产生不良反应, 长期使用会产生耐药性及依赖性, 且病情易复发[6]。

经过长期临床实践及经验积累, 中医在治疗反流性食管炎方面具有独特的优势, 相较于常规的西药口服治疗, 对患者采用包括针刺、口服中药以及热疗在内的中医综合疗法治疗, 可以更为显著地减轻患者体内炎性因子水平, 缓解患者反酸、食物反流、烧心以及胸骨后不适等临床症状, 具有良好的临床疗效, 并且具有不良反应少、安全性高、耐药性及依赖性更低的优势[7][8]。国医大师徐景藩教授从上消化

道钡餐检查的机制类推, 针对中药促进反流性食管炎食管黏膜损伤的修复总结出“三七-白及糊剂卧位服药法”。在临床上, 此法治疗食管贲门疾病和消化道溃疡、出血等疾病皆有良效[9] [10]。本课题组在前期研究中根据徐老的经验总结归纳得出了“祛瘀护膜法”[10], 并在临床实践中发现在三七-白及糊剂中加入海螵蛸能够增强治疗效果。海螵蛸又名乌贼骨, 味咸、涩, 性温, 归脾、肾经, 收敛制酸作用强, 兼止血, 具有中和胃酸、保护黏膜、抗溃疡、缩短凝血时间、止血等作用[11], 因而在祛瘀护膜剂的基础上加入海螵蛸作为粘膜保护剂, 以减轻酸性成分对食管黏膜的损伤。本文应用网络药理学对加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的分子网络机制进行分析, 通过转录组学对大鼠食管组织的 RNA 样本进行测序及生信分析, 以期发现加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的靶点及相关通路, 以期为加味祛瘀护膜剂临床应用推广提供科学依据。

2. 材料

2.1. 动物

SPF 级雄性大鼠 18 只, 体重(200±20)g, 由苏州希诺赛生物科技有限公司提供, 许可证号: SCXK(苏)2018-0006, 饲养于苏州市中医医院研究所动物实验室, 12h 光照/黑暗循环, 室温控制在 20℃~24℃, 相对湿度 45%~70%, 分笼、自由饮用水饲养。

2.2. 药物

试剂三七粉(产地: 云南, 批号: 220612)和白及粉(产地: 贵州, 批号: 221231)购自苏州市中医医院药房; 周氏藕粉(批号: 220610, 桂林周氏顺发食品有限公司)和淀粉(批号: 220318, 海宁枫园食品有限公司)购自超市。

3. 方法

3.1. 网络药理学

3.1.1. 加味祛瘀护膜剂靶点获取

通过中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>), 根据 ADME 原则进一步筛选, 选择口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18 的成分, 确定加味祛瘀护膜剂的活性成分及其靶点信息。通过 TCMSP 数据库获取每个活性成分对应的靶点信息, 同时利用 PubChem 数据库获取各成分的简化分子线性输入规范并依次导入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)靶点预测, 物种为“Homo sapiens”, Probability>0 的靶点蛋白作为活性成分作用靶点。两者进行合并去重, UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)将靶点转换成人源基因名。

3.1.2. 反流性食管炎疾病靶点获取

以“reflux esophagitis”为关键词检索 DisGeNET (<https://www.disgenet.org>)和 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org>), 其中 GeneCards 数据库所得靶点以相关性分数由高到低排序, 以“Relevance score 大于 1”为筛选条件筛选靶点, 所得结果合并之后去除重复靶点。

3.1.3. 加味祛瘀护膜剂及反流性食管炎共同靶点获取

通过 VENN2.1 对网络药理学和转录组学的靶点基因进行 VENN 分析, 绘制韦恩图, 得到共同靶点。

3.1.4. 构建中药活性成分-靶点相互作用网络

利用 Cytoscape3.9.1 软件(<https://cytoscape.org/>)构建“中药活性成分-靶点”网络图。其中, 边代表各节点的相互作用, 节点代表中药活性成分和共同靶基因。节点度值和相连边的数量有关, 度值越大,

说明网络中与该节点相关的节点数量越多。

3.2. 动物实验

3.2.1. 造模、分组

将 18 只 SPF 级大鼠随机取出 6 只作为空白组。其余 12 只大鼠应用“4.2 mm 幽门夹 + 2/3 胃底结扎术”进行 RE 造模[12]。大鼠适应性喂养 1 周, 术前 24 h 禁食不禁水, 手术当日大鼠腹腔注射 4% 水合氯醛($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)进行麻醉, 麻醉成功后以仰卧位置于鼠板, 以弹性布带固定四肢, 充分暴露胸腹部。将宽 3.0 mm 的双扁铁心扎线(夹心金属直径 0.3 mm)在 4.2 mm 直径的圆柱体上缠绕成幽门夹, 高压灭菌后备用。于剑突下腹前部选取大小为 $20 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$ 的区域备皮, 0.5% 碘伏消毒术野皮肤, 铺无菌洞巾。手术过程严格遵循无菌要求, 沿上腹部正中中线开腹, 于幽门十二指肠交界处避开血管, 套上幽门夹后血管钳夹紧。使用 3-0 线系住幽门夹闭合端, 另一端结扎 2/3 胃底, 限制幽门夹向远端移位。检查胃及十二指肠等部位无出血后, 腹腔注入庆大霉素(2 万 U)及 0.5% 甲硝唑 1 mL。用 5-0 线连续缝合腹膜, 3-0 线间断缝合肌肉及皮肤。伤口对皮, 75% 酒精消毒。术后待大鼠清醒, 予以自由饮用 5% 葡萄糖溶液, 禁食 24 h 后恢复常规饮食。术后每日按 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 向腹腔内注入盐酸左氧氟沙星注射液以预防感染, 共给药 3 天。造模第 7 天随机选取空白组大鼠 1 只和造模大鼠 2 只, 处死后采集食管组织, 石蜡包埋, HE 染色, 光镜下观察食管黏膜是否完整、有无糜烂、溃疡、水肿及炎性细胞浸润等情况, 判断造模是否成功。造模成功后, 除 5 只空白组大鼠外, 另外 10 只造模大鼠随机分为模型组, 加味祛瘀护膜剂组, 每组 5 只。

3.2.2. 给药、实验取材

造模成功当天开始给药, 31 g 淀粉 + 100 mL 蒸馏水调匀后文火加热并搅拌直至成半流质薄糊状, 空白组及模型组予以灌胃。临床上采用三七粉 3 g 、白及粉 3 g 及海螵蛸粉 3 g , 加入藕粉 20 g , 用 100 mL 蒸馏水充分调匀后, 文火加热, 搅拌直至成半流质薄糊状, 制成加味祛瘀护膜剂。根据人鼠体表面积法换算[13], 大鼠的等效剂量为 $0.99 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。根据本课题组前期研究, 3 倍等效剂量为较佳给药剂量[14], 即给药量为 $297 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。每日给药 1 次, 连续给药 14 天。取材前一晚禁食不禁水, 当天麻醉处死后, 取出食管组织 $4 \sim 8 \text{ cm}$, 沿食管纵轴切开, 取食管组织 2 cm 标本 1 块, 置于 -80°C 冰箱保存。

3.3. 转录组测序及数据分析

将保存的正常组、模型组和加味祛瘀护膜剂组大鼠的食管组织送至上海美吉生物医药科技有限公司进行转录组学测序。基于表达量定量结果, 进行组间差异基因分析, 获得两组间发生差异表达的基因, 差异分析软件为: DESeq2, 筛选阈值为: $|\log_2\text{FC}| \geq 0.585$ & $P\text{-value} < 0.05$, 得到空白组 vs 模型组、模型组 vs 加味祛瘀护膜剂组的差异表达 miRNA。

3.4. 共同靶点获取

将差异表达 miRNA 导入 TargetScan 数据库(https://www.targetscan.org/vert_80/), 选取物种为“human”获取其靶基因。通过 VENN2.1 对靶基因进行 VENN 分析, 绘制韦恩图, 得到共同靶点。

3.5. GO 功能及 KEGG 通路富集分析

将共同靶点提交 David 数据库(<https://david.ncif-crf.gov/>)进行基因本体(GO)功能富集分析, 包括生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组分(CC)3 个水平; 其中京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析设置 $P < 0.01$, 得到加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎相关的生物学功能和信号通路, 随后利用微生信 - 在线生物信息学分析平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)将富集结果可视化。将共有靶点导入

STRING 在线数据库, 以获取 PPI 网络图, 将其结果导入 Cytoscape 3.9.1 软件进行核心蛋白分析以“节点度值”“中介中心性”和“接近中心性”3 个主要参数筛选核心靶点, 并用筛选出的核心靶点与 KEGG 富集通路中的相关通路绘制通路-靶点网络图。

4. 结果

4.1. 加味祛瘀护膜剂药效活性成分及靶点的获取

各中药药效活性成分为三七 8 个、白及 7 个、海螵蛸 4 个, 共 19 种, 口服生物利用度和类药性均较高, 基本信息见表 1。16 种活性成分通过 Swiss Target Prediction 数据库查找潜在关联靶点 441 个, 由 GeneCards、DisGeNET 数据库检索得反流性食管炎相关靶点 3868 个, 将中药活性成分靶点和疾病靶点取交集, 去重, 获得 199 个共同靶点(见图 1), 即网络药理学预测加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的关键靶点。利用 Cytoscape 3.9.1 构建中药活性成分-靶点网络(见图 2)。

4.2. 转录组测序的差异表达基因

共完成 15 个样品测序, 共获得 157.56 M Raw Reads, Raw Reads 均达到 14.8 M 以上, Q30 碱基

Table 1. Active pharmaceutical ingredients
表 1. 药物活性成分

序号	成分名称	口服生物利用度(OB)/%	类药性(DL)	归属药物
1	quercetin	46.23	0.28	三七
2	DFV	32.76	0.18	三七
3	Diop	43.59	0.25	三七
4	ginsenoside f2	36.43	0.22	三七
5	ginsenoside rh2	36.32	0.56	三七
6	Mandenol	42.00	0.19	三七
7	Stigmasterol	43.83	0.76	三七
8	beta-sitosterol	36.91	0.75	三七
9	3,7-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-3-O-glucoside quyu13	31.46	0.78	白及
10	bletlol A	43.74	0.86	白及
11	2,3,4,7-tetramethoxyphenanthrene	39.09	0.29	白及
12	blespirol	43.74	0.86	白及
13	3-(p-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene	37.98	0.55	白及
14	1-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol	54.18	0.55	白及
15	1-(2,7-dihydroxy-4-methoxy-1-phenanthryl)-4-methoxyphenanthrene-2,7-diol	35.22	0.67	白及
16	glycoprotein	/	/	海螵蛸
17	Uracil	/	/	海螵蛸
18	Hypoxanthine	/	/	海螵蛸
19	Xanthine	/	/	海螵蛸

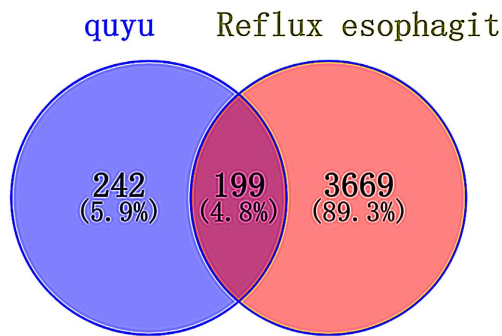


Figure 1. Common targets between TCM active ingredients and diseases
图 1. 中药活性成分和疾病共同靶点

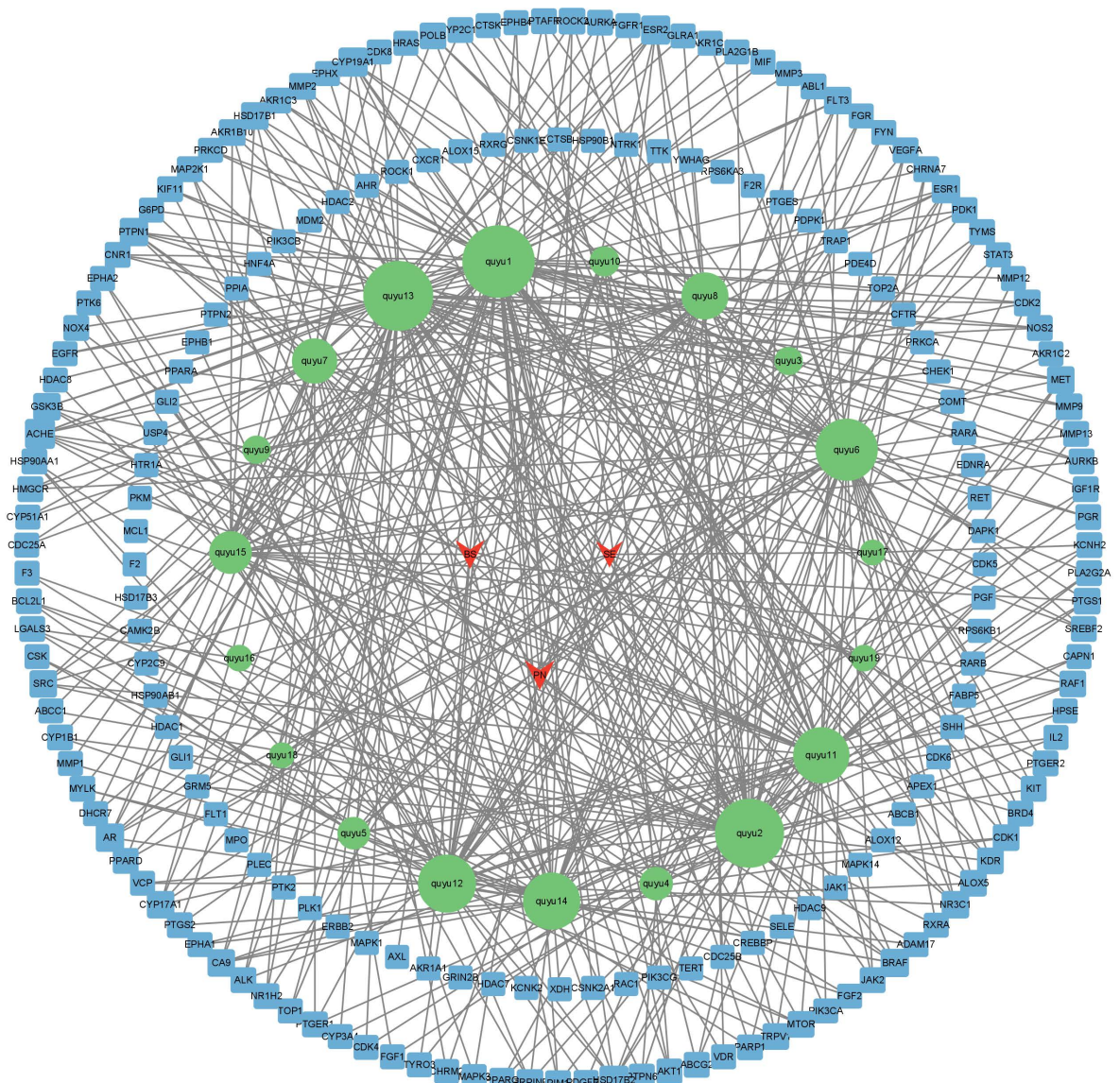


Figure 2. TCM active ingredient-target network
图 2. 中药活性成分 - 靶点网络表

百分比在 95.84% 以上, 分别将各样品的 Clean Reads 与指定的参考基因组(参考基因物种: *Rattus norvegicus*, 参考基因版本: mRatBN7.2, 参考基因来源 http://asia.ensembl.org/Rattus_norvegicus/Info/Index)进行序列比对, 比对到的 reads 数从 9511893 到 14767897 不等; 基于表达量定量结果, 进行组间差异基因分析, 获得组间发生差异表达的基因, (差异分析软件为: DESeq2, 筛选阈值为: $|\log_2FC| \geq 0.585$ & P-value < 0.05), 正常组 vs. 模型组筛选后共得到 15 个差异表达 miRNA, 加味祛瘀护膜剂组 vs. 模型组筛选后共得到 24 个差异表达 miRNA (见图 3)。

将正常组 vs. 模型组筛选到的 15 个差异表达基因和加味祛瘀护膜剂组 vs. 模型组筛选得到的 24 个差异表达 miRNA 进一步取交集, 得到 2 个共同差异表达 miRNA (见图 4)。

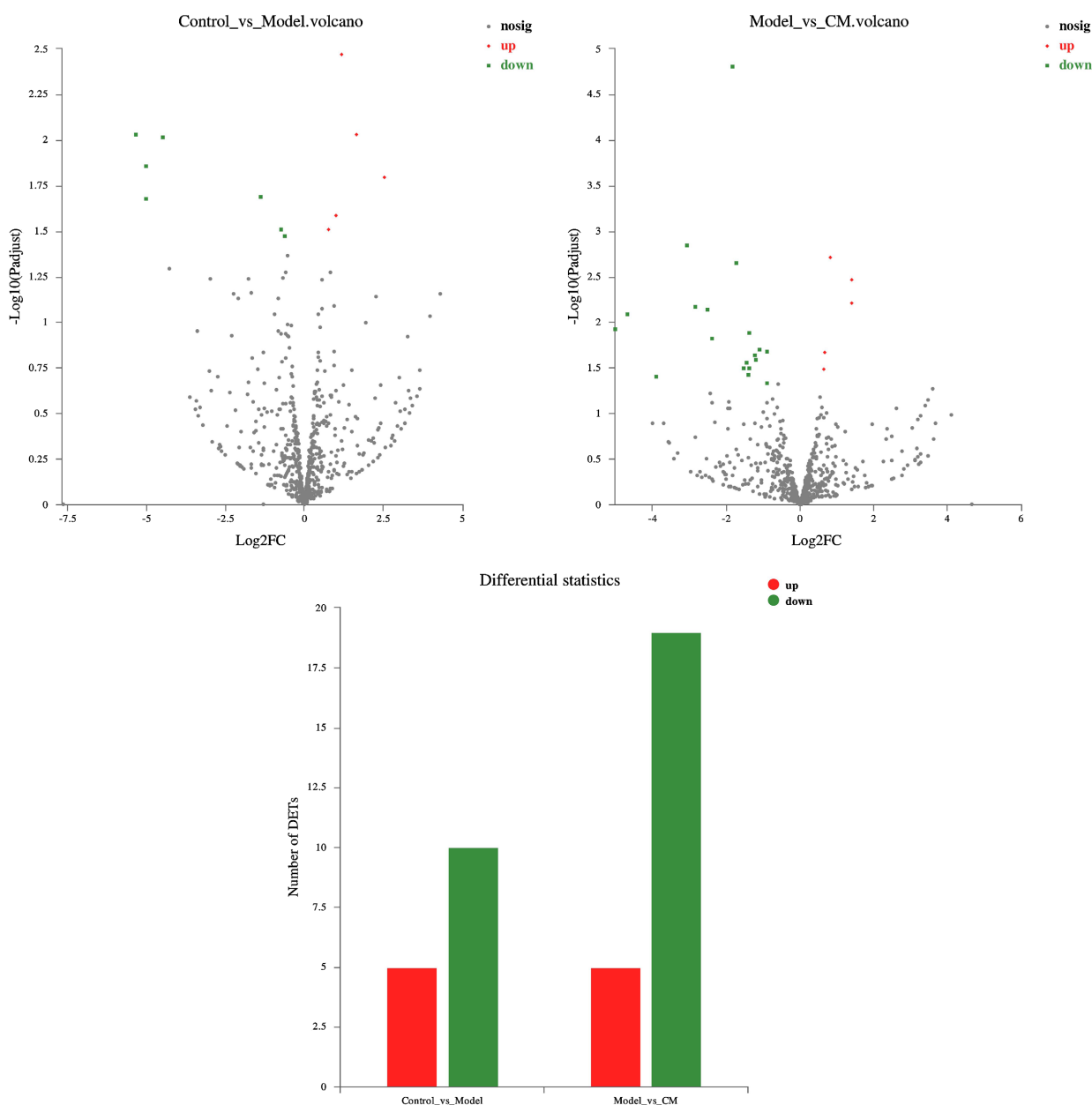


Figure 3. Differentially expressed miRNAs from transcriptome analysis. A: Volcano plot; B: Bar chart

图 3. 转录组学差异表达 miRNAs。A: 火山图; B: 柱状图

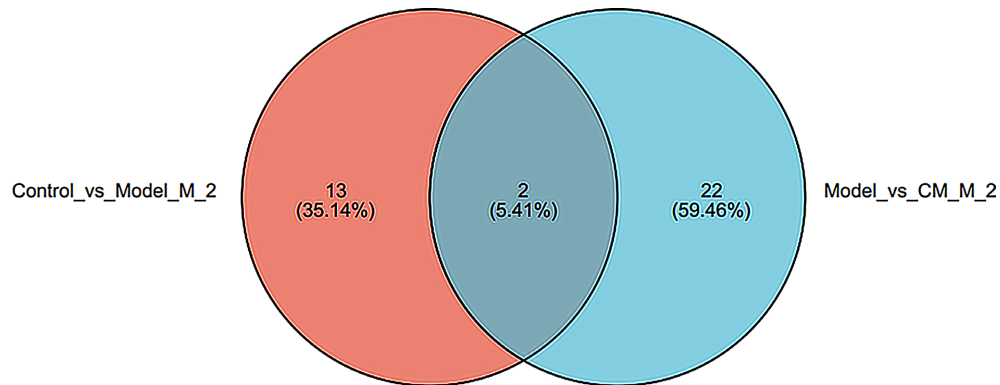


Figure 4. Intersection of DE miRNAs between Normal vs. Model and Modified Quyu Humo Formula vs. Model groups
图 4. 正常组 vs.模型组筛选和加味祛瘀护膜剂组 vs.模型组差异 miRNAs 交集

将 2 个共同差异表达 miRNA 导入 TargetScan 数据库, 选取物种为 “human” 获得靶基因 1513 个。将转录组学 miRNA 的 1513 个差异表达基因与网络药理学的 199 个靶点取交集, 共获得 23 个共同靶点 (见图 5)。

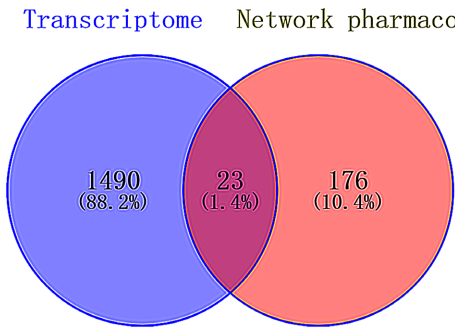


Figure 5. Common targets of transcriptomics and network pharmacology
图 5. 转录组学与网络药理学共同靶点

4.3. GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

为了研究加味祛瘀护膜剂干预后差异表达的 mRNA 的生物学功能, 对这 23 个共同靶点进行 GO 功能富集分析, 以 $P < 0.05$ 为条件共筛选得到 115 个显著富集条目, 其中 BP 分析 70 个, CC 分析 12 个, MF 分析 33 个。根据所得条目的显著性 P 值由小到大进行排列, 对 BP、CC、MF 中前 10 位的条目绘制条形图(见图 6)。GO 功能富集分析中排名较前的条目主要有: ① BP 分析: 信号转导(signal transduction)、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控(positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter)、DNA 模板转录的正调控(positive regulation of transcription, DNA-templated)、对细胞凋亡的负面监管(negative regulation of apoptotic process)等; ② CC 分析: 细胞核(nucleus), 核质(nucleoplasm)、胞质溶胶(cytosol), 细胞质(cytoplasm)、原生质膜(plasma membrane)等; ③ MF 分析: 酶结合(enzyme binding)、ATP 结合(ATP binding)、蛋白质结合(protein binding)等。

KEGG 通路富集分析结果显示 23 个共同靶点显著富集在 95 条通路上, 选取 $P < 0.01$ 的前 30 条通路, 绘制气泡图, 见图 7。图中气泡大小表示富集靶点数量, 颜色代表 P 值大小, 颜色越绿则显著性越大。KEGG 通路富集结果提示, 加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的过程与 FAK 信号通路(Focal adhesion kinase)、ErbB 信号通路(ErbB signaling pathway)、Rap1 信号通路(Rap1 signaling pathway)、mTOR 信号

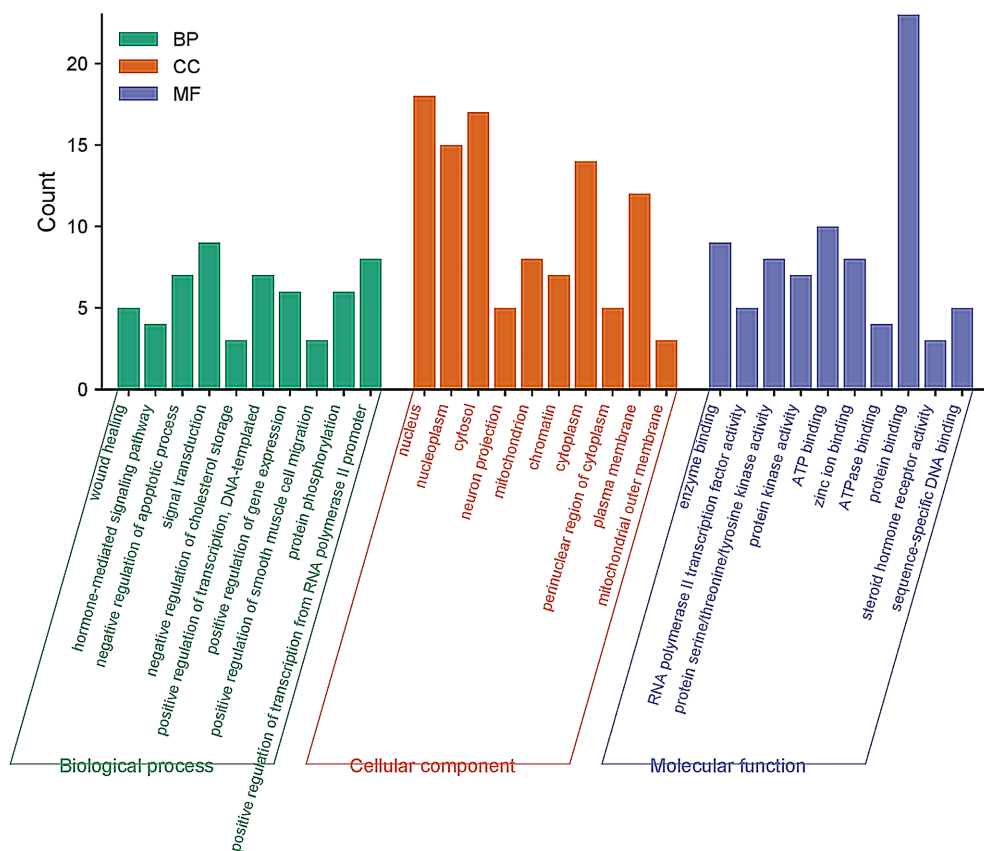


Figure 6. Significantly enriched GO terms. X-axis shows individual functional terms; Y-axis denotes the count of enriched genes

图 6. GO 功能富集分析显著富集条目。图中横坐标代表具体的条目，纵坐标代表富集在条目的基因个数

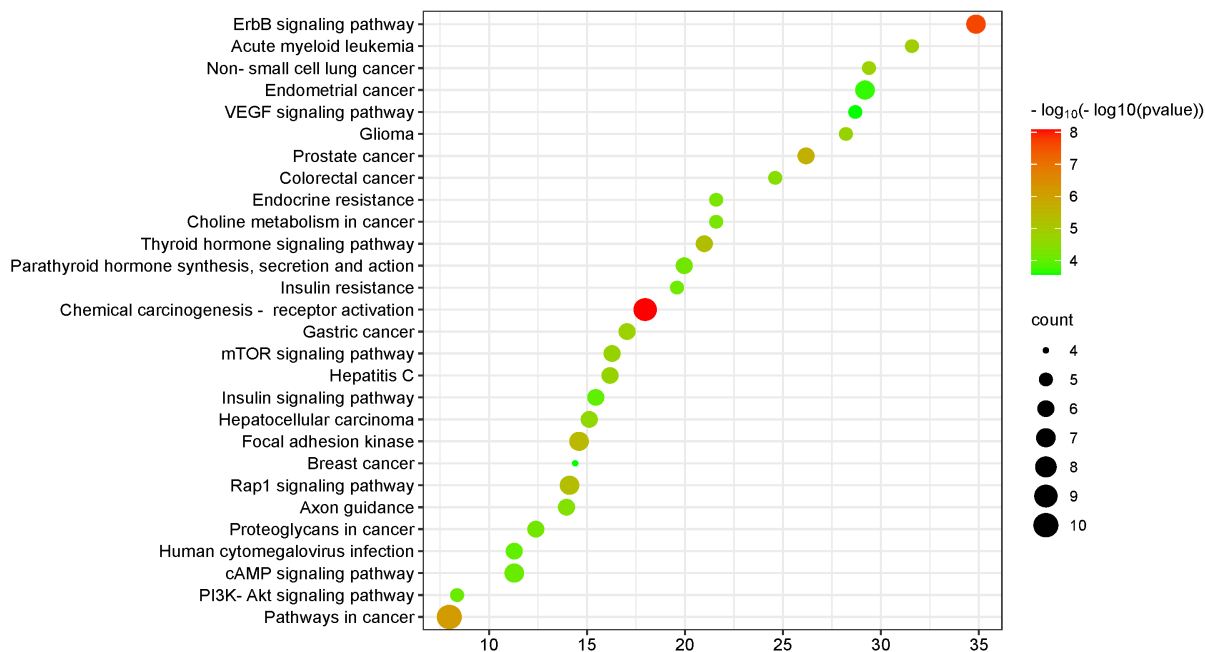


Figure 7. KEGG pathway enrichment analysis

图 7. KEGG 通路富集分析

通路(mTOR signaling pathway)、PI3K-Akt 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、cAMP 信号通路(cAMP signaling pathway)、VEGF 信号通路(VEGF signaling pathway)、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)、FoXO (FoXO signaling pathway)信号通路等密切相关。

4.4. PPI 网络的构建和核心靶点的筛选

将 23 个共有靶点导入 STRING 在线数据库, 以获取 PPI 网络图, 将此结果以 tsv.格式下载并导入 Cytoscape 3.9.1 软件, 结果见图 8 (图中有 23 个节点, 68 条边)。并进行核心蛋白分析, 得到该 PPI 网络的平均节点度值为 5.913043478, 中位数为 6, 平均中介中心性为 20.86956522, 中位数为 5.53030303, 平均接近中心性为 3.278656126, 中位数为 3.318181818。以“节点度值”“中介中心性”和“接近中心性”3 个主要参数筛选关键基因, 筛选阈值为节点度值 ≥ 5.913043478 , 接近中心性 ≥ 20.86956522 , 中介中心性 ≥ 3.318181818 , 筛选后得 8 个潜在核心靶点, 分别为 SRC、PPARA、AR、GSK3B、PARP1、RXRA、RAF1、RPS6KB1, 各项参数见表 2 潜在核心靶点。选取 KEGG 富集通路中 Enrichment 值及 P 值大于均值的 9 条相关通路和 8 个核心靶点绘制通路-靶点网络图(见图 9)。发现 FAK 信号通路、ErbB 信号通路、Rap1 信号通路、mTOR 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、cAMP 信号通路、VEGF 信号通路、MAPK 信号通路、FoXO 信号通路与 8 个核心靶点中的 SRC、GSK3B、RXRA、RAF1、RPS6KB、PPARA 有密切关系, 提示这 9 条信号通路和 6 个核心靶点在加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎中发挥关键作用。(有 2 个潜在核心靶点未与上述 9 条相关通路相连接, 故不做进一步讨论。)

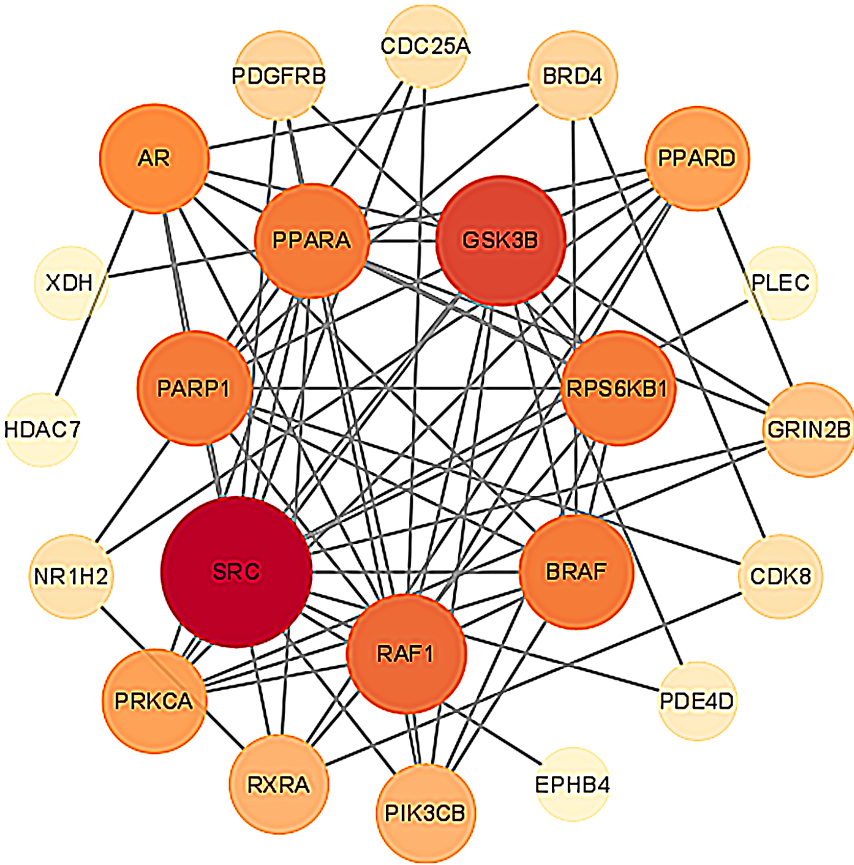


Figure 8. Protein-protein interaction network
图 8. 蛋白质互作网络图

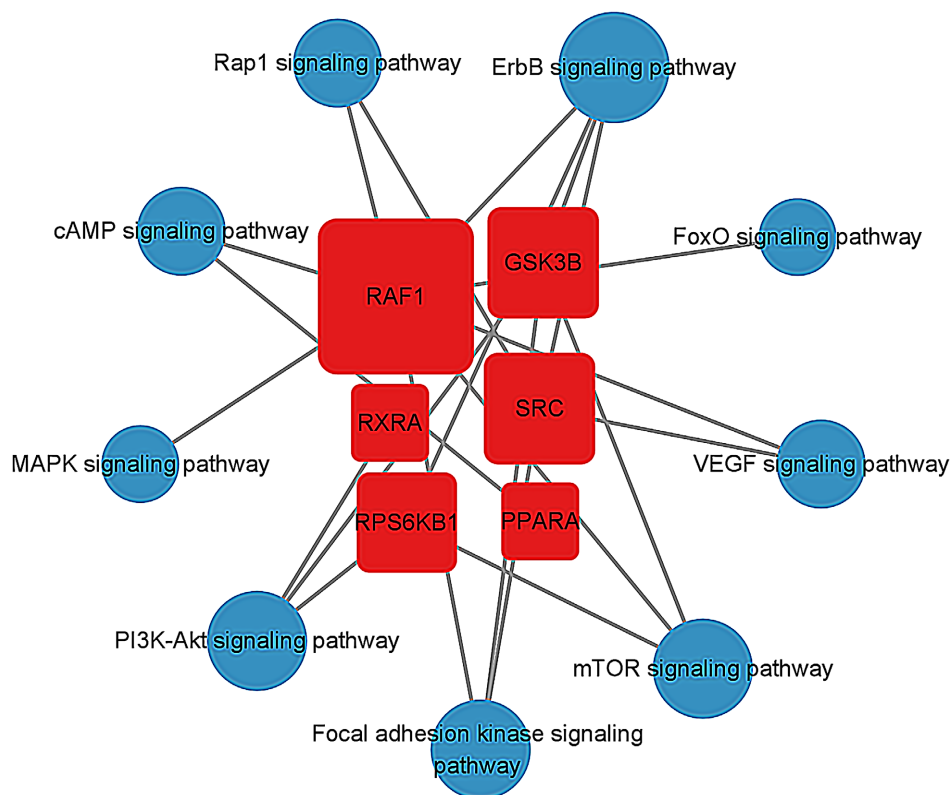


Figure 9. Network diagram of potential core targets-pathways

图 9. 潜在核心靶点 - 通路网络图

Table 2. Potential core targets

表 2. 潜在核心靶点

gene name	中介中心性	节点度值	径向中心性
SRC	160.5924964	16	3.954545455
PPARA	60.99365079	9	3.545454545
AR	49.71471861	8	3.5
GSK3B	45.40916306	12	3.772727273
PARP1	31.96471861	9	3.545454545
RXRA	29.07236652	6	3.454545455
RAF1	27.17936508	10	3.636363636
RPS6KB1	25.14963925	9	3.636363636

5. 讨论

反流性食管炎是消化系统常见疾病中的一种, 主要由胃酸、胃蛋白酶对食管黏膜损伤所引起, 会导致食管动力障碍, 产生反酸、烧心等症状, 发病率高, 病程长, 易反复, 对患者身心健康造成极大的负担。本研究通过网络药理学和转录组学对加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的作用机制进行分析, 旨在探究加味祛瘀护膜剂治疗反流性食管炎的作用靶点。

传统中医学认为, 加味祛瘀护膜剂中三七有散瘀止血, 消肿定痛的效果, 白芨有收敛止血、消肿敛

疮的效果。现代药学研究表明三七中的三七总皂苷具有改善细胞能量代谢、清除自由基及抗氧化应激、调控细胞凋亡信号通路、抗炎的作用[15]。白芨中的主要成分白芨多糖可通过调控 JNK、P38 MAPK 基因及蛋白的表达水平及下游炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的表达来减轻炎症反应, 保护胃黏膜[16]。

网络药理学发现加味祛瘀护膜剂的 15 种活性成分作用于 199 个靶点, 发现加味祛瘀护膜剂发挥药效作用的核心成分为槲皮素、 β -谷甾醇、豆甾醇以及 1-(4-羟基苄基)-4-甲氧基-9,10-二氢菲-2,7-二醇等二氢菲类化合物。朱亚南等通过研究证明 β -谷甾醇在体内有着抑制炎症因子的释放与聚集的作用, 通过加强机体清除氧自由基的能力保护胃食管黏膜[17]。Pandith 等研究发现豆甾醇在体内通过抑制脂多糖诱导的环氧酶 2 诱导型一氧化氮合成酶水平提高, 使一氧化氮减少释放, 起到保护食管黏膜屏障作用[18]。槲皮素属于黄酮醇类, 具有的抗炎、抗氧化、抗菌、抗癌等特性, 与可负向调节疾病进展相关的多种细胞内和细胞外信号通路, 降低 L-1 β 、IL-6、L-10、TNF-c 等炎症因子表达量有密切关系[19]。1-(4-羟基苄基)-4-甲氧基-9,10-二氢菲-2,7-二醇等二氢菲类化合物, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、消炎镇痛等作用[20]。

加味祛瘀护膜剂抗反流性食管炎治疗的核心靶点分别为 SRC、GSK3B、RXRA、RAF1、RPS6KB、PPARA。相关研究表明[21], SRC 可能通过调控 NF-KB、GR、AP-1 的表达发挥抗炎作用。RXRA 基因结合 DANCER 并通过 GSK3B 促进 RXRA 丝氨酸磷酸化, 增加 PIK3CA 基因转录水平, 进而激活 PI3K/AKT 信号通路[22], PI3K/AKT 信号通路细胞增殖相关, 过度激活 Akt 可使细胞凋亡产生抵抗, 从而导致 Barrett 食管发展为异型增生和腺癌[23]。PPARA 为过氧化物酶体增殖物激活受体 α , 被配体激活后调控多种基因转录, 其增殖物激活受体参与了反流性食管炎、Barrett 食管、食管腺癌发病过程中细胞增殖的调控[24]。RAF1 为原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶, 其对应的 c-Raf 蛋白是 ERK1/2 途径的一部分, 与食管癌密切相关。RPS6KB 为丝氨酸/苏氨酸激酶核糖体 s6 激酶家族成员, 作用是促进蛋白质合成、细胞生长和细胞增殖, 活性与人类癌症有关, 目前作用机制尚不明确, 可能参与了反流性食管炎发病过程中细胞增殖的调控。

本次研究通过 KEGG 通路富集分析结果显示, 加味祛瘀护膜剂通过影响 FAK 信号通路、ErbB 信号通路、Rap1 信号通路、mTOR 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、cAMP 信号通路、VEGF 信号通路、MAPK 信号通路、FoxO 信号通路等多条信号通路发挥治疗反流性食管炎的作用。其中 FoxO 信号通路与食管炎的发生发展相关, Rap1 信号通路、MAPK 通路、VEGF 通路、PI3K/Akt 通路炎症症状的改善相关, FAK 信号通路、mTOR 信号通路、ERBB 信号通路与食管炎的癌变相关。FOXO 转录因子是 Forkhead 转录因子家族成员之一, 广泛表达于成人的各组织器官中[25], 胃肠道主要表达的是 FOXO4。FOXO 蛋白通过抑制转录因子 NF- κ B 活化来抑制炎症[26] [27]。研究表明, 反流性食管炎组织病理损伤与 NF- κ B 和 TNF- α mRNA 的表达呈正相关, 与 FOXO4 mRNA 的表达呈负相关, FOXO4/NF- κ B/TNF- α 信号通路在反流性食管炎的发生和发展中起着重要的作用[28]。在人体中, MAPK 通路是先天免疫的重要组成部分, 参与包括细胞对热休克、有丝分裂和炎症等各种刺激的反应, 将信号扩增传递到细胞核, 进一步促进细胞因子 mRNA 的转录, 从而加剧炎症细胞因子释放。抑制该通路有助于改善炎症[29]。槲皮素通过 cAMP-Epac-Rap1 信号通路增加肺组织中 cAMP 的水平和 Epac 的含量, 减少炎症介质的释放和抑制血管通透性抑制炎症因子的释放, 阻止中性粒细胞的迁移及浸润, 剂量依赖性的减少蛋白渗出[30]。研究发现提示 VEGF 和 PI3K/Akt 通路参与 RE 食管病变, 可通过抑制 PI3K-Akt 通路活化, 下调食管组织 VEGF 蛋白表达, 改善反流性食管炎症状[31]。PI3K-Akt 食管组织上皮细胞增殖和凋亡关系密切, 食管上皮增殖过度而凋亡不足时, 则可能导致食管癌发生, VEGF 是 PI3K/Akt 信号通路激活的膜受体, 在食管癌、结肠癌等肿瘤细胞中过度表达[32]-[34]。大量的研究[35]-[38]已经证明: FAK 在肿瘤细胞的转化、迁移和浸润过程中发挥重要的作用, mTOR 在肿瘤细胞的存活、增殖和血管生成等方面具有调控作用, FAK 或 mTOR

在肿瘤细胞的高表达和 FAK/mTOR 信号通路的激活可以引起肿瘤细胞活化, 通过抑制 FAK/mTOR 通路可降低反流性食管炎进一步恶化的可能。ERBB 是酪氨酸激酶型受体, 相关研究表明[39][40]其与配体结合后会发生磷酸化, 进而激活下游的信号通路, 抑制本病发生恶变。

6. 结论

综上所述, 本次研究通过网络药理学与转录组学对祛瘀护膜剂活性成分、核心靶点、信号通路进行了分析, 由此发现加味祛瘀护膜剂能通过多成分、多靶点、多途径来协调发挥治疗反流性食管炎的作用, 并发现其主要作用机制可能为: 通过调控上述 6 个核心靶点, 介导 PI3K-Akt、cAMP-Epac-Rap1、MAPK 等通路, 减少炎症介质的释放, 抑制炎症, 改善当前症状, 同时通过介导 FAK/mTOR、FOXO4/NF- κ B/TNF- α 、ERBB 等通路, 抑制细胞增殖及细胞对细胞凋亡的抵抗, 阻止食管炎的进一步发展。以期为后续加味祛瘀护膜剂抗反流性食管炎的药理学研究和临床应用提供理论依据与参考线索。

声 明

动物实验经苏州市中医医院医学伦理委员会批准, 批件号: 2022 伦研批 044。

参考文献

- [1] Jurkiewicz, D., Wako-Czopnik, D., Pietruszewska, W., *et al.* (2021) Gastroesophageal Reflux Disease—From the Point of View of a Gastroenterologist. *Otolaryngologist and Surgeon*, **75**, 42-50.
- [2] 张声生, 朱生樑, 王宏伟, 等. 胃食管反流病中医诊疗专家共识意见(2017) [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2017, 25(5): 321-326.
- [3] 乔刚, 赵宏志. 反流性食管炎临床研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(4): 787-789.
- [4] 涂莹莹. 埃索美拉唑联合莫沙比利治疗反流性食管炎的效果评价[J]. 河南医学研究, 2017, 26(10): 1838-1839.
- [5] 刘晓红, 孟宪梅. 反流性食管炎发病机制及诊断、治疗研究[J]. 中国社区医师, 2019, 35(33): 6+8.
- [6] 尤亚. 降逆启膈散治疗胃食管反流病的临床疗效观察及减药模式对复发率的影响研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [7] 常海艳. 中医综合疗法在反流性食管炎治疗中的疗效观察[J]. 中国实用医药, 2021, 16(31): 155-157.
- [8] 高慧敏, 张明萍, 段恒. 反流性食管炎中医治疗研究进展[J]. 中医临床研究, 2021, 13(15): 46-48.
- [9] 陆为民, 徐丹华, 周晓波. 国医大师徐景藩教授诊治胃食管反流病的经验[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 703-705.
- [10] 张迎春, 孙宏文. 徐景藩临床应用糊剂护膜法治疗脾胃疾病经验撷菁[J]. 中医药临床杂志, 2020, 32(10): 1822-1826.
- [11] 蔡晓华. 海洋矿物药海螵蛸的研究进展与方向[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 4013-4015.
- [12] 邹方明. 慢性反流性食管炎大鼠模型的建立及 5-羟色胺 4 受体激动剂的抗食管黏膜炎症作用[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建医科大学, 2012.
- [13] Sherman, B.T., Hao, M., Qiu, J., Jiao, X., Baseler, M.W., Lane, H.C., *et al.* (2022) DAVID: A Web Server for Functional Enrichment Analysis and Functional Annotation of Gene Lists (2021 Update). *Nucleic Acids Research*, **50**, W216-W221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>
- [14] 徐心怡, 杨欣, 梁国强, 朱惠萍, 黄雪, 王爱民, 孙宏文. 祛瘀护膜剂调控 NLRP3/Caspase-1 信号通路对 RE 模型大鼠食管黏膜修复的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(4): 315-322.
- [15] 陈红艳, 陈安, 卢芳国, 等. 三七总皂苷的药理研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(1): 154-157.
- [16] 巩子汉, 王强, 段永强, 付晓艳, 虎峻瑞, 成映霞, 杨晓轶, 马骏, 白敏, 牟德海. 白及多糖对胃溃疡模型大鼠胃组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 JNK、p38 MAPK 基因蛋白表达水平的影响[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 90-95.
- [17] 朱亚南, 杨七妹, 张硕, 等. 黄芩苷与黄芩素药理作用及机制研究进展[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(4): 921-925.
- [18] Pandith, H., Zhang, X., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., Gritsanapan, W. and Baek, S.J. (2021) Effect of Siam Weed Extract and Its Bioactive Component Scutellarein Tetramethyl Ether on Anti-Inflammatory Activity through NF-

- κB Pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, **147**, 434-441. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.033>
- [19] Sharma, A., Kashyap, D., Sak, K., Tuli, H.S. and Sharma, A.K. (2018) Therapeutic Charm of Quercetin and Its Derivatives: A Review of Research and Patents. *Pharmaceutical Patent Analyst*, **7**, 15-32. <https://doi.org/10.4155/ppa-2017-0030>
- [20] 刘金梅, 安兰兰, 刘刚, 等. 白及化学成分和药理作用研究进展与质量标志物预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(6): 28-37.
- [21] 田文敏. 类固醇激素受体辅激活因子 1(SRC-1)在血管紧张素 II 诱导的小鼠高血压炎症反应中的作用及机制[D]: [硕士学位论文]. 厦门: 厦门大学, 2019.
- [22] 唐建明, 钟冠盛, 张海菠, 等. 长链非编码 RNA DANCER 通过激活 RXRA 基因丝氨酸磷酸化促进 PI3K/AKT 信号通路[C]//浙江省医学会临床流行病学与循证医学分会. 2018 年浙江省临床研究大会暨浙江省临床流行病学与循证医学学术年会资料汇编. 伦敦: 自然出版集团, 2018: 99.
- [23] Revathidevi, S. and Munirajan, A.K. (2019) Akt in Cancer: Mediator and More. *Seminars in Cancer Biology*, **59**, 80-91. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.06.002>
- [24] 姜志茹, 陈静, 郭海, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 在反流性食管炎、Barrett 食管和食管腺癌中的表达[J]. 广东医学, 2012, 33(13): 1903-1905.
- [25] Anderson, M.J., Viars, C.S., Czekay, S., Cavenee, W.K. and Arden, K.C. (1998) Cloning and Characterization of Three Human Forkhead Genes That Comprise an FKHR-Like Gene Subfamily. *Genomics*, **47**, 187-199. <https://doi.org/10.1006/geno.1997.5122>
- [26] 宁玉珍. FOXO1 通过诱导心肌细胞自噬降低氧化自由基对其细胞损伤的分子生物学机制研究[D]: [博士学位论文]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [27] 王峰, 张安兵. 基于 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路探究补阳还五汤对痛风模型大鼠滑膜组织细胞凋亡及炎症反应的影响[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(7): 612-619.
- [28] 祁永福, 赵健雄, 王学习, 等. 疏肝和胃降逆颗粒对反流性食管炎大鼠食管 FOXO4 信号通路的影响[J]. 广东医学, 2010, 31(20): 2633-2636.
- [29] Qi, F., Liu, M., Li, F., Lv, Q., Wang, G., Gong, S., et al. (2019) Interleukin-37 Ameliorates Influenza Pneumonia by Attenuating Macrophage Cytokine Production in a MAPK-Dependent Manner. *Frontiers in Microbiology*, **10**, Article ID: 2482. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02482>
- [30] Wang, X., Song, S., Li, Y., Hu, Z.q., Zhang, Z., Yan, C., et al. (2018) Protective Effect of Quercetin in Lps-Induced Murine Acute Lung Injury Mediated by Camp-Epac Pathway. *Inflammation*, **41**, 1093-1103. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0761-3>
- [31] 张锋利, 唐凤英, 沈舒文, 许栗晓媛. 桔梗枳壳汤加味对反流性食管炎模型大鼠 PI3K/Akt 信号通路及胃肠动力的影响[J]. 中医药导报, 2020, 26(10): 36-41.
- [32] 张小三, 张一鸣, 杨树军, 等. 微小 RNA-150 对食管癌细胞增殖、凋亡和 PI3K/Akt 通路的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(11): 13-18.
- [33] 贾永森, 林清, 张艳丽, 等. 噎膈血瘀证患者血清对食管癌 EC9706 细胞增殖及 PI3K/Akt 信号通路蛋白表达的影响[J]. 现代预防医学, 2015, 42(22): 4143-4146.
- [34] 刘志, 王兆涛, 刘如恩. 芍药苷抑制血管内皮细胞迁移侵袭和血管生成及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(2): 264-267.
- [35] 马玉泽. CXCL8/FAK 信号通路在胃癌细胞增殖、迁移及 EMT 中的作用[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2021.
- [36] 姚睿原, 贾晓阳, 郝慧芳. FAK/mTOR 信号通路在肿瘤细胞中的调控作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(1): 35-40.
- [37] 吴晓曼, 李明, 谭诗云. 内质网应激与 mTOR 信号通路在消化系统肿瘤中的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2021, 20(5): 532-535.
- [38] 高嵩, 于燕. mTOR 信号通路与肿瘤发生的机制研究[J]. 国外医学(医学地理分册), 2016, 37(4): 353-356.
- [39] Ghmkin, H. and Masaharu, S. (2022) ERBB Signaling Pathway in Cancer Stem Cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1393**, 65-81.
- [40] 葛晓晴. miR-193a-5p 下调 ERBB2 表达抑制食管鳞状细胞癌侵袭的机制研究[D]: [博士学位论文]. 郑州: 郑州大学, 2018.