

本文引用:陆海艳,牧晶,孙连祺,黄禾青,于道远,杜冠潮,代红雨. 基于网络药理学和分子对接技术探讨八珍汤治疗压疮的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(12): 1914-1922.

# 基于网络药理学和分子对接技术探讨八珍汤 治疗压疮的作用机制

陆海艳<sup>1</sup>, 牧晶<sup>2</sup>, 孙连祺<sup>3</sup>, 黄禾青<sup>1</sup>, 于道远<sup>1</sup>, 杜冠潮<sup>4</sup>, 代红雨<sup>3\*</sup>

(1.北京中医药大学,北京 100029;2.云南中医药大学,云南昆明 650500;

3.北京中医药大学东方医院,北京 100078;4.中国中医科学院研究生院,北京 100700)

**[摘要]** **目的** 采用网络药理学方法和分子对接技术探讨八珍汤治疗压疮的作用机制。**方法** 通过中药系统药理学技术平台(TCMSP)、UniProt、DrugBank数据库获取八珍汤中药物的活性成分及其潜在的作用靶点。借助 OMIM 数据库和 GeneCards 数据库检索压疮的相关靶点,获取药物与疾病的交集靶点并将其导入 STRING 数据库进行蛋白互作分析,通过 Cytoscape 3.7.2 软件将互作结果可视化。运用 DAVID 平台对交集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析,预测八珍汤治疗压疮的可能机制与通路。通过 AutoDock Vina 软件对核心活性成分和靶点进行分子对接验证。**结果** 检索出八珍汤中有效活性成分 150 个,潜在靶点 230 个,涉及压疮的靶点有 131 个。核心成分有槲皮素、柚皮苷、山柰酚等,关键靶点涉及 AKT1、IL-6、MAPK1、MAPK8、STAT3、VEGFA、EGF、IL-1 $\beta$  等。GO 功能富集分析得到 345 个条目,其中生物过程 256 个、细胞组成 38 个、分子功能 51 个。KEGG 通路富集筛选得到 116 条信号通路,PI3K-Akt、HIF-1、VEGF、MAPK、TNF 等信号通路是八珍汤治疗压疮重要的潜在通路。同时,分子对接结果表明槲皮素、山柰酚、查尔酮 A、柚皮苷、芒柄花素与 AKT1、IL-6、MAPK1、MAPK8、STAT3、VEGFA、EGF、IL-1 $\beta$  有很好的结合能力。**结论** 八珍汤治疗压疮具有多成分、多靶点、多通路的治疗特点,可能通过调节炎症反应、促进血管生成、抑制细胞凋亡等途径促进压疮愈合。

**[关键词]** 八珍汤;压疮;网络药理学;分子对接;作用机制;信号通路

**[中图分类号]**R285.5

**[文献标志码]**A

**[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.12.017

## Mechanism of Bazhen Decotion for Pressure Ulcer Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

LU Haiyan<sup>1</sup>, MU Jing<sup>2</sup>, SUN Lianqi<sup>3</sup>, HUANG Heqing<sup>1</sup>, YU Daoyuan<sup>1</sup>, DU Guanchao<sup>4</sup>, DAI Hongyu<sup>3\*</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming,

Yunnan 650500, China; 3. Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;

4. Graduate School of Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the mechanism of Bazhen Decotion in the treatment of pressure ulcer by using network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** Through traditional Chinese medicine system pharmacology (TCMSP), UniProt database and DrugBank database, the active ingredients and possible targets of Bazhen Decotion were obtained. Relevant targets for pressure ulcer were retrieved by using OMIM and GeneCards databases. The common targets of drugs and disease were obtained and imported into the STRING database to make protein interaction analysis. The interaction result was visualized by

**[收稿日期]**2021-06-19

**[基金项目]**国家中医药管理局中医药行业科研专项(2015468001);中医药继续教育导航工程-继教专委会建设及精品课程制作。

**[作者简介]**陆海艳,女,在读硕士研究生,研究方向:中医药治疗慢性创面。

**[通信作者]**\*代红雨,男,博士,教授,主任医师,硕士研究生导师,E-mail:dhy515@163.com。

Cytoscape 3.7.2 software. GO and KEGG enrichment analysis were performed on the common targets in the DAVID database to predict the possible mechanism and pathway of Bazhen Decotion in treating pressure ulcer. The molecular docking analysis of core active components and core targets was carried out by using AutoDock Vina software. **Results** A total of 150 effective active components combined with 230 potential targets were searched from Bazhen Decotion, of which 131 targets involved in pressure ulcer. The core components were quercetin, naringenin, kaempferol, etc. The key targets were AKT1, IL-6, MAPK1, MAPK8, STAT3, VEGFA, EGF, IL-1 $\beta$ , etc. There were 345 GO entries, including 256 items of biological process, 38 items of cell composition, and 51 items of molecular function, and 116 KEGG pathways were enriched and screened. PI3K/Akt, HIF-1, VEGF, MAPK, TNF and other signaling pathways were important potential pathways of Bazhen Decotion in the treatment of pressure ulcer. At the same time, the molecular docking results showed that quercetin, kaempferol, licochalcone A, naringenin, formononetin had good binding ability with AKT1, IL-6, MAPK1, MAPK8, STAT3, VEGFA, EGF, and IL-1 $\beta$ . **Conclusion** The mechanism of Bazhen Decotion in the treatment of pressure ulcer involves multiple components, multiple targets and multiple pathways. It can promote the healing of pressure ulcer by regulating inflammatory response, promoting angiogenesis and inhibiting apoptosis.

[**Keywords**] Bazhen Decotion; pressure ulcer; network pharmacology; molecular docking; mechanism; signal pathway

压疮是由于身体局部组织长期受压,发生持续性缺血和缺氧而导致的皮肤和(或)皮下组织的局部损伤<sup>[1]</sup>。根据损伤程度的不同压疮有不同的临床表现,严重者可引起全身感染,危及生命。随着人口老龄化社会的来临,压疮已成为一个越来越严重的慢性病并发症,世界伤口愈合联合会证实压疮的高发及难愈合会导致患者住院周期延长、生活质量下降,同时造成医疗资源的占用,带来严重的社会负担<sup>[2-3]</sup>。中医药在压疮的治疗上有着悠久的历史 and 独特的优势,压疮属于中医学“席疮”“褥疮”“溃疡”等范畴,虽发生于局部皮肉筋骨,属外证,然其“必先受于内,然后发于外”,故在治疗时应注重内治法的应用,从整体上调节五脏六腑气血。中医内治法是疮疡治疗的重要方法<sup>[4]</sup>,其中补法是疮疡内治的三大法则之一。中医学认为压疮是由于久病卧床,气虚血瘀,血脉不通,肌肤失养所致<sup>[5]</sup>。压疮患者的全身状态较差,多因其自身基础疾病的消耗所致,加之久卧伤气,导致气血盈亏,正气不足,创面愈合困难。气血两虚证是压疮的常见证型之一,针对这一病机,补益气血法在压疮的治疗中发挥着重要的作用<sup>[6-7]</sup>。

八珍汤源自古方《正体类要》,为气血双补代表方剂,临床常用于治疗气血两虚诸证,包括压疮的临床治疗<sup>[8-9]</sup>。《外科正宗》及《疡科心得集》均记载其可治疗疡科气血俱伤,久不收敛等溃疡诸证。《疮疡图谱》治疗压疮以补益气血、托毒生肌为法,方药选用八珍汤内服<sup>[10]</sup>。有实验研究<sup>[11]</sup>证明,八珍汤能上调大鼠创面血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达水平,改善局部组织的缺血状态,诱导新生血管形成,从而促进创面修复愈合。八珍汤还可促进人皮肤成纤维细胞增殖及表皮生长因

子(epidermal growth factor, EGF)、转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)等分泌,从而加速血管再生,促进肉芽组织生长及创面上皮化,有助于创面愈合<sup>[12]</sup>。李静等<sup>[13]</sup>用八珍汤内服联合外敷治疗压疮 20 例,总有效率达 95%。李倩、靳楠楠等<sup>[14-15]</sup>研究发现,加用八珍汤内服用于压疮的治疗较单纯对照组临床疗效更显著。但目前八珍汤治疗压疮的作用机制尚不明确。网络药理学是系统生物学重要的组成部分,能建立“成分-药物-靶点-疾病”多重网络关系,从整体上探索中药复方治疗疾病的作用机制,与中医药治疗疾病的整体观相吻合<sup>[16]</sup>。因此,本研究旨在运用网络药理学的方法筛选出八珍汤与压疮相关的活性分子和靶点,构建成分-靶点网络,并对靶点进行富集分析,结合分子对接验证来预测中药复方八珍汤治疗压疮的潜在作用机制,以期为基础研究提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 八珍汤成分、靶点筛选

通过中医药系统药理学平台(TCMSP, <http://tcmsp.com/index.php>)查找八珍汤中八味中药的活性化学成分,设置口服利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 且类药性(drug-likeness, DL)  $\geq 0.18$ 进行筛选,获得八珍汤中八味中药的活性成分。通过TCMSP数据库、DrugBank数据库(<https://go.drugbank.com/>)得到潜在的蛋白质靶点,将筛选出的蛋白质靶点在UniProt数据库(<https://www.uniprot.org>)转换为标准化的基因名称。

### 1.2 压疮相关靶点筛选

分别在 OMIM 数据库(<http://www.omim.org>)和

GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org>) 中以 “pressure ulcer” 为关键词进行检索, 获得与压疮相关的靶点基因。若 GeneCards 数据库中检索到的靶点过多, 可根据 Score 值来筛选靶点的数量。Score 值越大则说明靶点与疾病的关联性越强, 通常设定 Score 值大于中位数的靶点为疾病的潜在靶点。将两个疾病数据库获得的靶点合并去重后得到压疮的相关靶点。

### 1.3 有效靶点的获取及相关作用网络的构建

利用韦恩图将八珍汤靶点与压疮靶点取交集, 获得二者的交集靶点, 即为八珍汤治疗压疮的有效靶点。将有效靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org>), 构建蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 选取可信度  $\geq 0.7$  的数据, 将结果以 tsv 格式导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化分析。

### 1.4 “活性成分-有效靶点”网络构建分析

将药物活性成分与有效靶点基因导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行网络构建及可视化分析, 通过分析度值等网络拓扑参数来评价药物活性成分及其作用靶点的重要性。

### 1.5 靶点功能与通路的富集分析

将有效靶点导入 DAVID 数据库中进行 GO 注释分析与 KEGG 通路分析 ( $P < 0.05$ ), GO 富集分析主要分为 3 类, 包括生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组成 (cellular component, CC)。

### 1.6 分子对接验证

利用分子对接模拟软件 AutoDock Vina, 对可能发挥作用的主要活性成分及处于 PPI 网络中的核心靶点进行对接模拟计算。在 PDB 数据库中获得靶点及配体的结构, 利用 PyMol 和 AutoDock Vina 软件将其与活性成分分别进行对接。全部对接完成后, 根据活性成分和核心靶点最低结合能的数值来评价八珍汤活性成分与靶点的结合能力。

## 2 结果

### 2.1 八珍汤活性成分及相关靶点的获取

在 TCMS 数据库中以  $OB \geq 30\%$  且  $DL \geq 0.18$  为条件进行筛选, 获取八珍汤中所含药物的活性化学成分, 得到人参有效成分 22 个、白术 7 个、茯苓 15 个、甘草 92 个、当归 2 个、熟地黄 2 个、白芍 13 个、川芎 7 个, 去重后得到有效成分共 150 个, 部分活性成分见表 1。通过 TCMS 数据库、UniProt 数据

库、DrugBank 数据库, 检索到人参靶点 256 个, 白术 23 个、茯苓 30 个、甘草 1769 个、当归 69 个、熟地黄 34 个、白芍 123 个、川芎 42 个, 去重后共得到 230 个潜在作用靶点。

表 1 八珍汤的活性成分信息

MOL ID	分子名称	OB/%	DL
MOL000359	sitosterol(谷甾醇)	36.91	0.75
MOL000392	formononetin(芒柄花素)	69.67	0.21
MOL000449	stigmasterol(豆甾醇)	43.83	0.76
MOL000354	isorhamnetin(异鼠李素)	49.60	0.31
MOL000787	fumarine(原阿片碱)	59.26	0.83
MOL000300	dehydroeburicoic acid(去氢齿孔酸)	44.17	0.83
MOL000283	ergosterol peroxide(麦角甾醇过氧化物)	40.36	0.81
MOL000497	licochalcone a(查尔酮 a)	40.79	0.29
MOL001918	paeoniflorone(芍药黄酮)	87.59	0.37
MOL000211	mairin(丁子香酮)	55.38	0.78
MOL001924	paeoniflorin(芍药苷)	53.87	0.79
MOL001921	lactiflorin(芍药新苷)	49.12	0.80
MOL001928	albiflorin_qt(合欢素)	66.64	0.33
MOL001930	benzoyl paeoniflorin(苯甲酰芍药苷)	31.27	0.75
MOL000289	pachymic acid(茯苓酸)	33.63	0.81
MOL000358	beta-sitosterol( $\beta$ -谷甾醇)	36.91	0.75
MOL000422	kaempferol(山柰酚)	41.88	0.24
MOL000492	(+)-catechin((+)-儿茶素)	54.83	0.24
MOL004328	naringenin(柚皮苷)	59.29	0.21
MOL004855	licoricone(甘草酮)	63.58	0.47
MOL005317	deoxyharringtonine(去氧哈林通碱)	39.27	0.81
MOL005318	dianthramine(二安非他明)	40.45	0.20
MOL005320	arachidonate(花生酮)	45.57	0.20
MOL005357	gomisin B(五味子酯乙)	31.99	0.83
MOL000098	quercetin(槲皮素)	46.43	0.28
MOL005348	ginsenoside rh4_qt(人参皂苷 rh4_qt)	31.11	0.78
MOL005321	frutinone A(果丁酮 A)	65.90	0.34
MOL005401	ginsenoside rg5_qt(人参皂苷 rg5_qt)	39.56	0.79
MOL005344	ginsenoside rh2(人参皂苷 rh2)	36.32	0.56
MOL004917	glycyroside(黄甘草苷)	37.25	0.79

注: 因筛选结果过多, 故只列出部分结果如表所示

### 2.2 压疮相关靶点获取

从 GeneCards 数据库获得压疮靶点 4882 个, 根据经验设定 Score 大于中位数的靶点为疾病潜在靶点, 如通过 GeneCards 所得压疮靶点 Score 最大值为 76.5, 最小值为 0.15, 中位数为 2.63, 故设定  $Score > 2.63$  的靶点为压疮的潜在靶点。结合 OMIM 数据库检索获得的相关靶点, 合并后删除重复值, 最终得到 1496 个压疮相关靶点。

### 2.3 交集靶点 PPI 网络的构建

利用韦恩图工具将八珍汤靶点与压疮靶点取交集, 获得二者的交集靶点 131 个, 见图 1。将交集靶



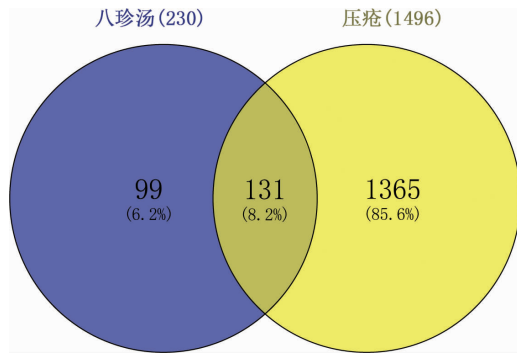


图1 八珍汤与压疮的交集靶点

点上传至 STRING 数据库,设置可信度  $\geq 0.7$ ,得到靶点 PPI 网络图,并将数据以 tsv 格式导入 Cytoscape 3.7.2 软件绘制蛋白关系网络图。网络中共有 126 个节点(靶点蛋白)、927 条边(PPI),见图 2。节点越大,对应的度值越大,度值越大说明越处于网络核心位置。结果表明,处于该 PPI 网络中心的靶点有 AKT1、IL-6、MAPK1、MAPK8、STAT3、VEGFA、EGF、IL-1 $\beta$  等,

推测其为八珍汤治疗压疮的重要靶点,见表 2。

#### 2.4 中药活性成分-有效作用靶点网络图的构建

运用 Cytoscape 3.7.2 构建八珍汤活性成分与有效靶点网络,见图 3。通过软件计算八珍汤治疗压疮网络的拓扑学参数,从而用来评价活性成分和作用靶点的重要性。结果发现,槲皮素、山柰酚、查尔酮 A、柚皮苷、芒柄花素等活性成分可作用于多个靶点,这些成分可能是八珍汤治疗压疮的主要活性成分,见表 3。

#### 2.5 靶点功能与通路的富集分析结果

利用 DAVID 数据库对有效靶点进行 GO 注释分析,分别选取 BP、CC、MF 中 20 个排名最靠前的结果,发现这些靶点 BP 主要涉及凋亡的负调控、基因表达的正调控、血管生成的正调控、对有机物的应答、对缺氧的应答、对脂多糖的应答、老化等。MF 主要涉及酶结合、蛋白质结合、转录因子结合、血红素结合、蛋白质均二聚活性等。CC 主要涉及细胞间隙、

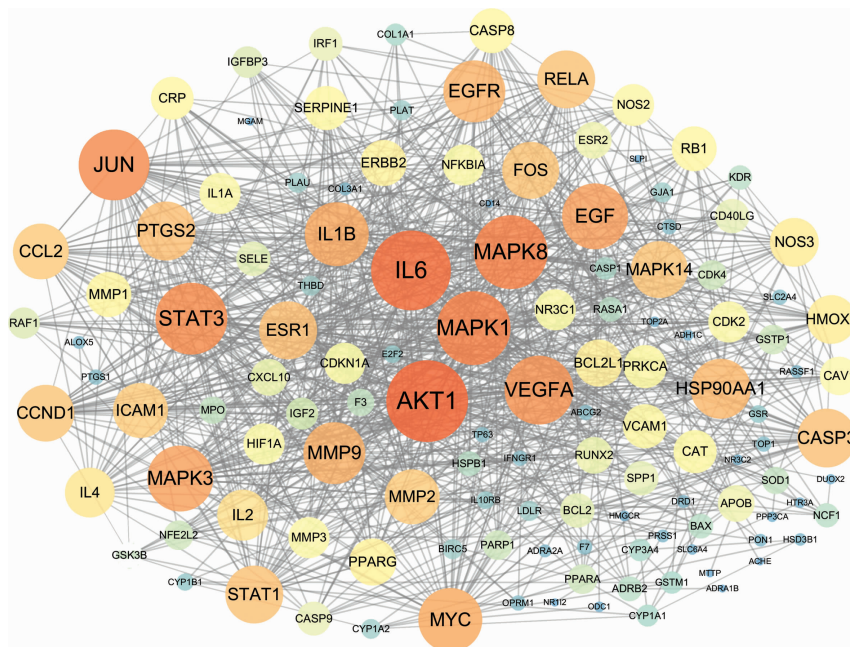
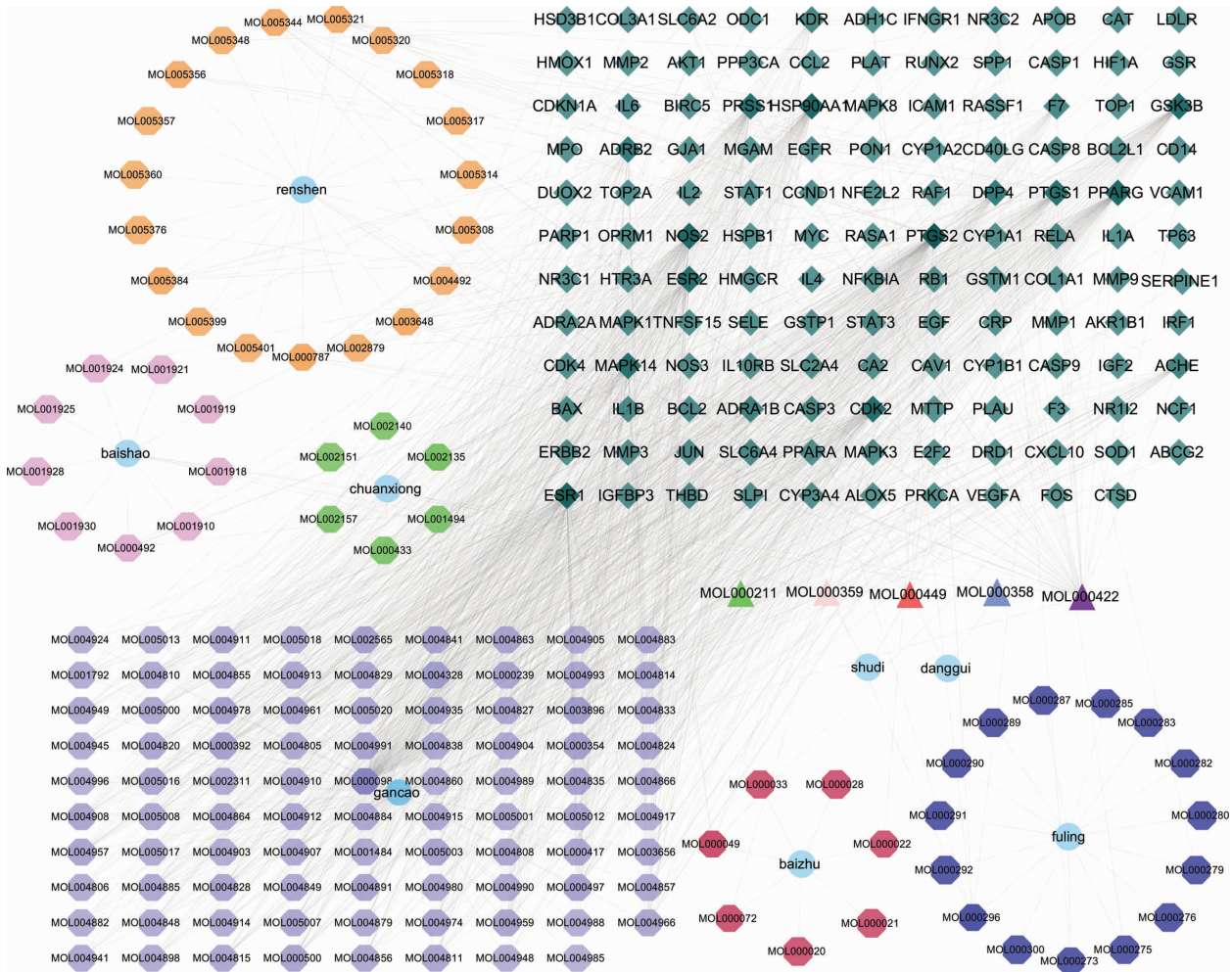


图2 交集靶点 PPI 网络

表 2 八珍汤治疗压疮核心靶点

靶点基因	名称	度值
AKT1	protein kinase B 1(丝氨酸/苏氨酸激酶 1)	56
IL-6	interleukin-6(白细胞介素-6)	54
MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1(丝裂原活化蛋白激酶 1)	48
MAPK8	mitogen-activated protein kinase 8(丝裂原活化蛋白激酶 8)	48
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3(信号传导及转录激活蛋白 3)	46
VEGFA	vascular endothelial growth factor A(血管内皮生长因子 A)	43
EGF	epidermal growth factor(表皮生长因子)	40
IL-1 $\beta$	interleukin-1 $\beta$ (白细胞介素-1 $\beta$ )	38



注:紫色正八边形代表甘草的有效成分,红色正八边形代表白术的有效成分,绿色正八边形代表川芎的有效成分,蓝色正八边形代表茯苓的有效成分,黄色正八边形代表人参的有效成分,粉色正八边形代表白芍的有效成分,三角形代表药物的共有成分,墨绿色菱形代表靶点

图 3 八珍汤成分与有效靶点网络图

表 3 八珍汤主要活性成分节点特征参数

MOLID	名称	连接度	介度	紧密度
MOL000098	quercetin(槲皮素)	99	0.425 730 10	0.485 666 10
MOL000422	kaempferol(山柰酚)	40	0.129 074 43	0.425 406 20
MOL000497	licochalcone a(查尔酮 a)	21	0.026 570 53	0.384 512 68
MOL004328	naringenin(柚皮苷)	21	0.055 145 11	0.381 456 95
MOL000392	formononetin(芒柄花素)	20	0.017 890 93	0.382 470 12

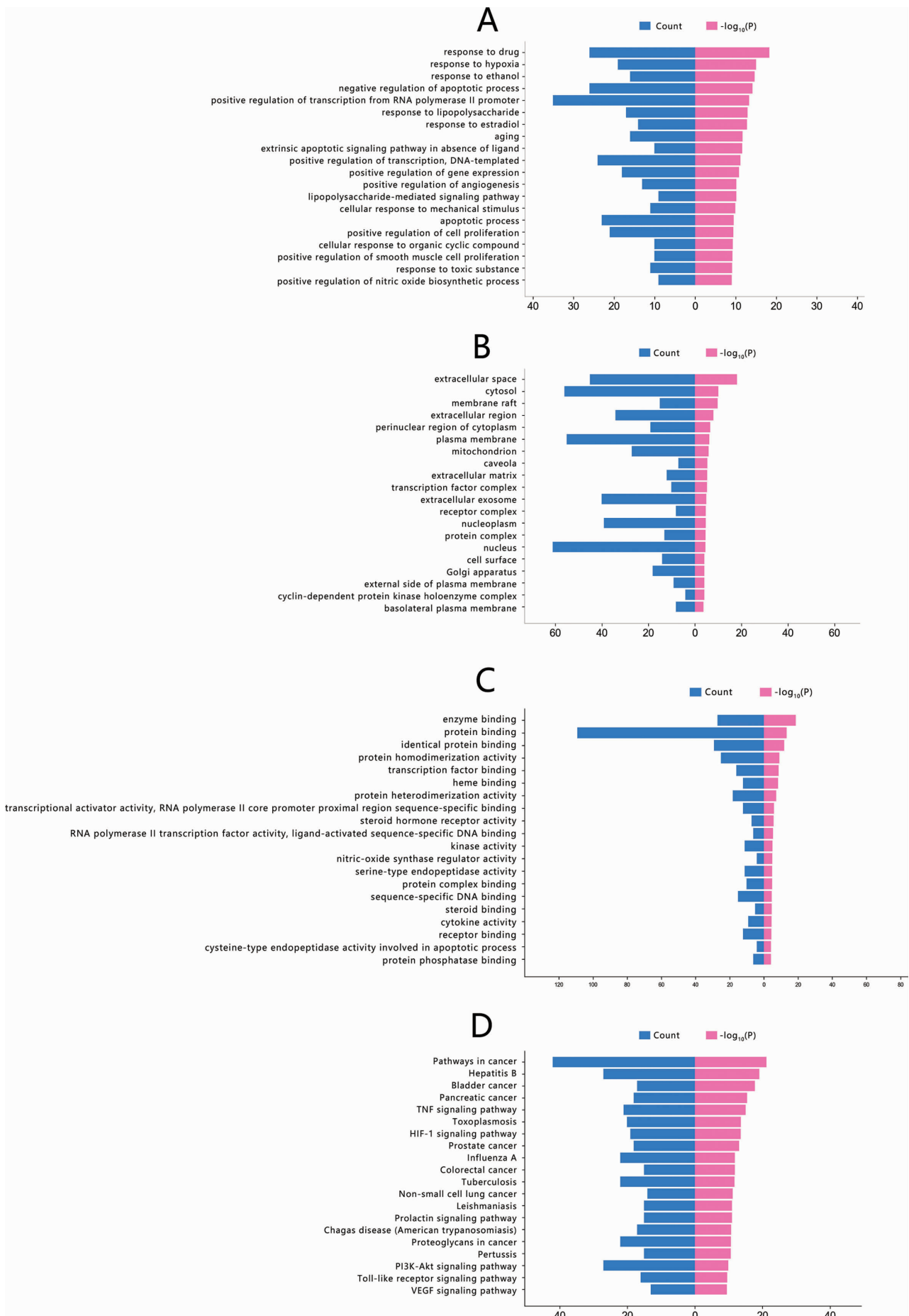
胞外区和细胞膜、线粒体、细胞核等方面。结果见图 4A、4B、4C。

KEGG 富集分析出来的信号通路共 116 条,包括癌症通路、TNF 信号通路、HIF-1 信号通路、VEGF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、Toll 样受体信号通路、MAPK 信号通路等,选取其中前 20 条通路将其可视化,见图 4D。

### 2.6 分子对接验证结果

将度值排名前 5 的药物主要活性成分(槲皮素、山柰酚、查尔酮 A、柚皮苷、芒柄花素)与 PPI 网络中

的 8 个核心靶点 (AKT1、IL-6、MAPK1、MAPK8、STAT3、VEGFA、EGF、IL-1 $\beta$ )进行对接,对接最低结合能见表 4。可以看出,所有的成分与靶点的最低结合能都小于 0,说明二者能够自发结合,最低结合能的数值越小说明成分与靶点蛋白结合的越好。对接结果显示,5 个活性成分与 8 个靶点的最低结合均能小于或者等于 -5.0 kcal/mol,说明这些活性化合物与以上靶点结合活性较好,其中 quercetin 与 STAT3 的对接效果最好。见图 5。



注:A.GO-BP分析;B.GO-CC分析;C.GO-MF分析;D.KEGG分析

图4 八珍汤成分与有效靶点的富集分析



表 4 八珍汤活性成分与关键靶点对接最低结合能(kcal/mol)

活性成分	VEGFA	IL-6	IL-1 $\beta$	EGF	STAT3	MAPK1	MAPK8	AKT1
quercetin(槲皮素)	-6.1	-7.5	-6.9	-6.0	-8.1	-7.2	-7.5	-6.0
kaempferol(山柰酚)	-5.6	-7.3	-7.4	-5.4	-6.8	-7.2	-7.7	-6.5
licochalcone a(查尔酮 a)	-5.6	-7.3	-7.8	-5.6	-7.1	-7.5	-7.7	-5.2
naringenin(柚皮苷)	-5.5	-7.6	-7.3	-5.0	-5.8	-7.3	-7.4	-6.1
formononetin(芒柄花素)	-5.5	-7.1	-7.0	-5.7	-5.8	-7.1	-7.2	-6.5

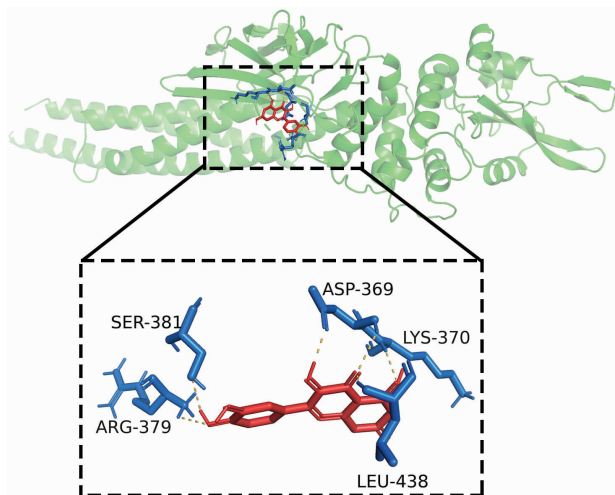


图 5 quercetin-STAT3 分子对接结果

### 3 讨论

随着老龄化社会的来临,压疮的发病率越来越高,严重影响患者的健康,加重了家属的护理负担和社会的经济负担。中医在压疮的治疗上具有不错的疗效和简便廉验的特点。《外科正宗》云:“气血者,人之所原稟……人之命脉,全赖于此。百病生焉,失此岂能无变,独疮科尤关系不浅。”气血在疮疡的发生发展及转归预后中发挥着重要作用,气血旺盛则不易发病,即使发病也能在正气的冲托和箍束毒邪的作用下,易起、易溃、易敛。气血两虚证是压疮的常见证型之一,气血两虚证除了托毒生肌外,更重要的是需要补足正气,运用中医的各种方法大补气血<sup>[17]</sup>。八珍汤为气血双补代表方剂,在创伤愈合领域应用广泛,可用于压疮的治疗、促进压疮修复愈合。

本文通过网络药理学方法对八珍汤进行研究,最终找到了 150 个潜在活性成分,预测了 230 个潜在靶点。将药物成分靶点与疾病靶点交集后共获得 131 个八珍汤治疗压疮的有效靶点。在“活性成分-有效靶点”网络图中槲皮素、山柰酚、查尔酮 A、柚皮苷、芒柄花素等成分可作用于多个靶点,推测其是八珍汤治疗压疮的主要活性成分。槲皮素是分布广泛的黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化和免疫调节的作

用<sup>[18]</sup>。在伤口治疗方面,槲皮素可通过减少伤口部位过度的炎症反应、提高 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 的水平促进创伤修复愈合<sup>[19-20]</sup>。对于压疮的治疗,研究<sup>[21]</sup>发现,槲皮素可减少免疫细胞浸润和促炎性细胞因子的产生,并能通过抑制 MAPK 途径改善缺血再灌注病变的伤口愈合过程,是压疮的潜在治疗剂,可见槲皮素对于压疮等慢性伤口具有促进愈合的作用。Salehi Majid 等<sup>[22]</sup>研究证实,柚皮苷对伤口愈合的过程具有积极作用,可在临床上用于治疗皮肤损伤。Luo Pei<sup>[23]</sup>发现板栗壳(CMS)对创伤愈合具有促进作用,此作用与山柰酚的抗炎活性有关。亦有实验研究<sup>[24]</sup>证实,山柰酚是治疗非糖尿病和糖尿病伤口的有效局部伤口愈合剂。这些成分均可能是八珍汤在压疮治疗过程中发挥作用的重要成分。

从 PPI 网络图中可以看出靶点间存在多种相互作用,AKT1、IL-6、MAPK1、MAPK8、STAT3、VEGFA、EGF、IL-1 $\beta$  等靶点度值较大,可能与压疮的愈合密切相关。结合 GO 及 KEGG 结果分析,压疮重要的发生机制为组织缺血缺氧及再灌注损伤,在缺氧条件下,会产生多种促血管生成因子,包括缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1)和 VEGF。HIF-1 包括对氧敏感的 HIF-1 $\alpha$  和组成性表达的 HIF-1 $\beta$ ,缺氧时 HIF-1 $\alpha$  会稳定积累并与 HIF-1 $\beta$  二聚化,转移到细胞核中,并激活促血管生成的重要靶基因如 VEGF 的转录,从而促进血管再生<sup>[25-27]</sup>。创面伤口血管新生对于改善压疮尤为关键,VEGFA 是最主要的 VEGF,能促进内皮细胞的增殖和迁移,从而刺激新生血管的生成<sup>[28-29]</sup>,在创面愈合中具有重要作用。VEGFA 表达减弱或降解加速都与创面愈合障碍相关,肖洪玲在大鼠压疮模型造模成功后发现模型组创面肉芽组织中 VEGF 含量明显降低,提示压疮肉芽组织形成不良可能与此有关<sup>[30]</sup>。EGF 是 HIF-1/VEGF 通路中重要的靶基因,它是细胞增殖和分化的关键调节剂,能刺激成纤维细胞和角质形成细胞的迁移和增殖以及胶原蛋白的沉积,能促进细胞外基质的增加及伤

口的再上皮化从而加速创面愈合。伤口应用 EGF 能使上皮快速再形成并能减少感染风险<sup>[31-33]</sup>。八珍汤能上调大鼠创面 VEGF 的表达水平、促进人皮肤成纤维细胞合成分泌 EGF、VEGF 等<sup>[11-12]</sup>,因此,八珍汤治疗压疮可能通过作用 HIF-1/VEGF 通路调控新生血管形成,从而改善压疮组织的缺血缺氧状态。AKT1 是一种血清素蛋白激酶,它参与调节内皮细胞和血管平滑肌细胞功能,包括细胞生长、迁移、存活和血管形成。STAT3 受 PI3K/Akt/mTOR 的调节,活化后的 STAT3 可促进血管新生。PI3K/Akt 信号通路在促进血管网络重建中也发挥了关键作用,可作为上游通路调控 HIF-1、VEGF 的表达来诱导血管的生成<sup>[34-36]</sup>。炎症反应在压疮形成过程中发挥着重要作用,TNF、MAPK 信号通路是重要的炎症通路,与压疮的发生发展密切相关<sup>[37-38]</sup>。压疮创面中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达高于正常皮肤组<sup>[39]</sup>,创面处于慢性炎症状态不利于组织修复愈合。八珍汤中多种成分均有抗炎作用,槲皮素能通过抑制 MAPK 通路激活来调节炎症反应,发挥对压疮的治疗作用,提示八珍汤可能通过调节炎症反应促使压疮由炎症期向增殖期转化,从而促进创面愈合。研究表明,细胞凋亡是压疮发生、发展过程中的关键性因素<sup>[40-41]</sup>,PI3K/Akt 信号通路是调控细胞凋亡的重要途径。韩超<sup>[42]</sup>提出 PI3K/Akt 信号通路的激活对压疮缺血再灌注损伤的组织具有保护作用,当组织细胞发生缺血再灌注损伤时,活化的 Akt 可防止细胞凋亡。王晴<sup>[43]</sup>也通过实验研究证实,局部低温能通过作用于 PI3K/Akt/GSK3 $\beta$  信号通路提高 Akt 和 GSK3 $\beta$  的磷酸化水平,抑制凋亡因子 Caspase-3 激活以及细胞色素 C 释放从而调控细胞凋亡、减轻大鼠压疮损伤。KEGG 通路结果显示,多个基因富集于 PI3K/Akt 信号通路,该信号通路是八珍汤治疗压疮的重要通路之一,因此八珍汤可能通过激活该通路抑制细胞凋亡从而改善压疮组织的损伤。

本研究以八珍汤为研究对象,通过网络药理学方法,对八珍汤治疗压疮的潜在作用靶点及作用机制进行了研究,推测八珍汤通过槲皮素、柚皮苷、山柰酚等成分发挥作用,通过作用 AKT1、IL-6、MAPK1、MAPK8、STAT3、VEGFA、EGF、IL-1 $\beta$  等靶点影响 PI3K/Akt、HIF-1/VEGF、MAPK、TNF 等信号通路进而促进内皮细胞及血管的生成、调节炎症反应、抑制细胞凋亡以促进压疮愈合。后期可对其进行实验验证,

为明确其作用机制和药物的推广应用提供更高等级的循证证据。

## 参考文献

- [1] SIBBALD R G, GOODMAN L, NORTON L, et al. Prevention and treatment of pressure ulcers[J]. *Skin Therapy Letter*, 2012, 17(8): 4-7.
- [2] DE AZEVEDO MACENA M S, DA COSTA SILVA R S, DIAS FERNANDES M I D C, et al. Pressure ulcer risk evaluation in critical patients: Clinical and social characteristics[J]. *The Open Nursing Journal*, 2017, 11: 91-97.
- [3] 路璐,李慧芳,张修航,等.压力性损伤的临床研究进展[J]. *中华保健医学杂志*, 2020, 22(5): 558-560.
- [4] 张金超,吕景晶,何秀娟,等.中医疮疡内治法的理论沿革[J]. *中医学报*, 2019, 34(7): 1390-1393.
- [5] 王宇,王海波.中西医结合治疗压疮的研究进展[J]. *中国医学装备*, 2018, 15(3): 134-136.
- [6] 洪惠玲,李淑丽,方少霞,等.浅谈褥疮的辨证施护[J]. *福建中医药*, 2007, 38(6): 61.
- [7] 荣志宏.压疮的辨证施护体会[J]. *中国医药导报*, 2010, 7(13): 105-106.
- [8] 周建飞,王小芄.中西医结合治疗老年患者巨大压疮[J]. *吉林医学*, 2012, 33(15): 3276-3277.
- [9] 蔡鑫,张晓琳.26例压疮的中医辨证治疗及护理[J]. *双足与保健*, 2017, 26(24): 161, 163.
- [10] 杨吉相.疮疡图谱[M].北京:人民卫生出版社,1991:106-107.
- [11] QUE H F, XING J. Effects of reinforcing qi and nourishing blood recipes on vascular endothelial growth factor and microvessel count in granulation tissue in rats with chronic skin ulcers[J]. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 2008, 6 (10): 1049-1053.
- [12] 孔令臻.补益气血中药对体外培养人皮肤成纤维细胞增殖及生长因子表达的影响[D].上海:上海中医药大学,2019.
- [13] 李静.中药内服外敷治疗压疮的疗效观察[J]. *中国当代医药*, 2012, 19(29): 102-103.
- [14] 李倩.八珍汤联合龙珠软膏内外兼治压疮 34 例临床观察[J]. *浙江中医杂志*, 2020, 55(8): 580.
- [15] 靳楠楠,胡丹华,程永华.封闭式负压吸引联合八珍汤治疗老年 3 期、4 期压疮临床观察[J]. *天津中医药大学学报*, 2019, 38(5): 458-460.
- [16] 解静,高杉,李琳,等.网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. *中草药*, 2019, 50(10): 2257-2265.
- [17] 马静,邓述华,周玉洁,等.中医药在压疮护理中的应用及研究现状[J]. *护理管理杂志*, 2016, 16(8): 547-549.
- [18] 蒋海旭,许杰,陆清怡.槲皮素治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(5): 243-250.
- [19] 付佳,黄潇红,黄静娟,等.槲皮素对糖尿病伤口的促愈合作用及相关机制研究[J]. *广东药科大学学报*, 2019, 35(3): 395-401.



- [20] GOPALAKRISHNAN A, RAM M, KUMAWAT S, et al. Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by increasing levels of VEGF and TGF- $\beta$ 1[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2016, 54(3): 187-195.
- [21] YIN G M, WANG Z J, WANG Z X, et al. Topical application of quercetin improves wound healing in pressure ulcer lesions[J]. *Experimental Dermatology*, 2018, 27(7): 779-786.
- [22] SALEHI M, EHTERAMI A, FARZAMFAR S, et al. Accelerating healing of excisional wound with alginate hydrogel containing naringenin in rat model[J]. *Drug Delivery and Translational Research*, 2021, 11(1): 142-153.
- [23] LUO P, LI X J, YE Y J, et al. Castanea mollissima shell prevents an over expression of inflammatory response and accelerates the dermal wound healing[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 220: 9-15.
- [24] ÖZAY Y, GÜZEL S, YUMRUTAŞ Ö, et al. Wound healing effect of kaempferol in diabetic and nondiabetic rats[J]. *Journal of Surgical Research*, 2019, 233: 284-296.
- [25] REY S, SEMENZA G L. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodeling[J]. *Cardiovascular Research*, 2010, 86(2): 236-242.
- [26] BHATTARAI D, XU X Z, LEE K. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) inhibitors from the last decade (2007 to 2016): A "structure-activity relationship" perspective[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2018, 38(4): 1404-1442.
- [27] 王艳艳,陈佳,姜丽萍,缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 及基质金属蛋白酶-9在早期压疮中的表达及作用[J]. *护理学杂志*, 2012, 27(9): 3-6.
- [28] ULUER E T, INAN S, OZBILGIN K, et al. The role of hypoxia related angiogenesis in uterine smooth muscle tumors[J]. *Biotechnic & Histochemistry*, 2015, 90(2): 102-110.
- [29] SASAKI T, KITADAI Y, NAKAMURA T, et al. Inhibition of epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation on tumor-associated endothelial cells leads to treatment of orthotopic human colon cancer in nude mice[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(12): 1066-1077.
- [30] 肖洪玲,龙子江,施慧,等.压疮灵对大鼠压疮模型局部 SOD、MDA、VEGF 和 EGF 表达的影响[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(1): 137-140.
- [31] PARK J W, BAE I H, KIM D Y. Enhanced regenerative healing efficacy of a highly skin-permeable growth factor nanocomplex in a full-thickness excisional mouse wound model[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014: 4551.
- [32] CHOI J K, JANG J H, JANG W H, et al. The effect of epidermal growth factor (EGF) conjugated with low-molecular-weight protamine (LMWP) on wound healing of the skin[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(33): 8579-8590.
- [33] JOHNSON N R, WANG Y D. Controlled delivery of heparin-binding EGF-like growth factor yields fast and comprehensive wound healing[J]. *Journal of Controlled Release*, 2013, 166(2): 124-129.
- [34] ERSAHIN T, TUNCBAG N, CETIN-ATALAY R. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway[J]. *Molecular BioSystems*, 2015, 11(7): 1946-1954.
- [35] JERE S W, HOURELD N N, ABRAHAMSE H. Role of the PI3K/AKT (mTOR and GSK3 $\beta$ ) signalling pathway and photobiomodulation in diabetic wound healing[J]. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2019, 50: 52-59.
- [36] 耿军辉,张丽军,王亚丽,等.PI3K/Akt 信号通路及肿瘤血管新生的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(9): 1462-1466.
- [37] 仇立波,孙忠人,张秦宏,等.电针刺激对压疮大鼠皮肤 p38 MAPK 表达的影响[J]. *中医药学报*, 2016, 44(1): 64-67.
- [38] 潘莹莹,高歌心,谢浩煌,等.TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 在大鼠压疮深部组织损伤中的表达及其对细胞凋亡作用[J]. *中国应用生理学杂志*, 2013, 29(5): 441-445.
- [39] 王莹,代彦丽,朴金龙,等.炎症因子、生长因子以及凋亡因子在压疮慢性难愈合性创面中的表达及作用[J]. *中国应用生理学杂志*, 2017, 33(2): 181-184, 188.
- [40] SIU P M, TAM E W, TENG B T, et al. Muscle apoptosis is induced in pressure-induced deep tissue injury[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2009, 107(4): 1266-1275.
- [41] WANG Y Y, PU L H, LI Z, et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  gene expression and apoptosis in ischemia-reperfusion injury[J]. *Nursing Research*, 2016, 65(1): 35-46.
- [42] 韩超,尹洪娜,杨稀瑞,等.艾灸对压疮大鼠皮肤损伤修复及 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(21): 2682-2688.
- [43] 王晴,白燕平,邢凤梅,等.大鼠压疮局部不同温度治疗对 PI3K/Akt/GSK3 $\beta$  信号通路的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(3): 10-15.

(本文编辑 苏维)