

本文引用: 王立春, 王定国, 林天东. 国医大师林天东治疗反流性食管炎的用药规律与核心药对的潜在机制研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(9): 1493-1501.

国医大师林天东治疗反流性食管炎的用药规律 与核心药对的潜在机制研究

王立春, 王定国, 林天东*

(海南省中医院, 海口 570203)

[摘要] **目的** 探讨国医大师林天东治疗反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)的用药规律与核心药对的潜在作用机制。**方法** 采集2020年1月至2022年1月于海南省中医院国医大师林天东门诊就诊的RE处方,建立处方数据库。采用用药频数统计及关联规则算法挖掘林天东教授治疗RE的核心药对,并利用网络药理学方法对核心药对的作用机制进行分析。**结果** 共有249张处方纳入研究,半夏-沉香为核心药对;半夏-沉香药对中口服生物利用度 $\geq 40\%$ 的主要活性成分为钩樟烷、环(酪氨酸-苯丙氨酸)二肽、槲皮素、次黄嘌呤核苷、豆甾醇、儿茶素、12,13-环氧-9-羟基十九碳-7,10-二烯酸、新木姜子碱、黄芩苷;半夏-沉香药对治疗RE核心靶点8个,重要通路10条。**结论** 国医大师林天东临床治疗RE的核心药对半夏-沉香可能通过调节机体免疫、抗炎、抗氧化、保护胃黏膜、抗肿瘤等反应发挥治疗作用。

[关键词] 反流性食管炎;数据挖掘;网络药理学;半夏厚朴汤;半夏;沉香;林天东

[中图分类号] R259

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.09.012

Medication rule and potential mechanism of the core drug pairs in treating reflux esophagitis by LIN Tiandong, the national master of TCM

WANG Lichun, WANG Dingguo, LIN Tiandong*

(Hainan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Haikou, Hainan 570203, China)

[Abstract] **Objective** To explore the medication rule and the potential mechanism of core drug pair of LIN Tiandong, the national master of TCM in the treatment of reflux esophagitis (RE). **Methods** Prescriptions of RE treated in professor LIN Tiandong's clinic of Hainan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2020 to January 2022 were collected to establish a prescription database. The drug frequency statistics and association rule algorithm were used to explore the core drug pairs of professor LIN Tiandong in the treatment of RE, and the mechanism of action of the core drug pairs was analyzed by network pharmacology. **Results** A total of 249 prescriptions were included in the study. Banxia (Pinelliae Rhizoma)-Chenxiang (Aquilariae Lignum Resinatum) was identified as the core drug pair. The main active components of OB $\geq 40\%$ in Banxia (Pinelliae Rhizoma)-Chenxiang (Aquilariae Lignum Resinatum) were linderane, (3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl) piperazine-2,5-quinone, quercetin, hypoxanthine-9-beta-D-ribofuranoside, stigmasterol, nubigenol, 12, 13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7, 10-dienoic acid, norboldine, and baicalin. There were 8 core targets and 10 important pathways for the treatment of RE by Banxia (Pinelliae Rhizoma)-Chenxiang (Aquilariae Lignum Resinatum). **Conclusion** The core drug of Banxia (Pinelliae Rhizoma)-Chenxiang (Aquilariae Lignum Resinatum) of LIN Tiandong (the national master of TCM)'s clinical treatment of RE may play a therapeutic role through regulating immune, anti-inflammatory, antioxidant, gastric mucosa protection, anti-tumor and other reactions.

[Keywords] reflux esophagitis; data mining; network pharmacology; Banxia Houpu Decoction; Banxia (Pinelliae Rhizoma); Chenxiang (Aquilariae Lignum Resinatum); LIN Tiandong

[收稿日期] 2022-05-12

[基金项目] 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)(琼财社〔2018〕186号);海南省卫生健康行业科研项目(21A200154);海南省重大科技计划项目(ZDKJ2021034)。

[第一作者] 王立春,女,主治医师,硕士,研究方向:中医药防治脾胃病。

[通信作者] *林天东,男,国医大师,教授,主任医师, E-mail: 546813765@qq.com。

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)作为一种临床多见的胃食管反流病,是常见的消化系统疾病之一,可引起患者食管黏膜出现炎症性病变,内镜下表现为食管糜烂或溃疡^[1]。RE的发病机制较为复杂,目前认为其与抗反流防御机制下降、胃排空延迟、食道清除功能减弱等有关,胆汁和胃蛋白酶等在食管黏膜损伤过程中也发挥重要的作用^[2]。临床以胸骨后烧灼感甚至灼痛、反酸等为主要表现,严重者可引发食管出血、狭窄等并发症,此外,还可伴有一系列食管外症状,如咳嗽、哮喘、咽喉不适等,给患者造成巨大的身心痛苦,并严重降低患者的生活质量^[3]。全球流行病学调查表明,RE在南亚和欧洲东南部发病率最高(超过25%),最低发病率在东南亚地区、法国和加拿大(低于10%),我国发病率比西方国家偏低;随着肥胖率增长、老龄化加剧,也导致我国的发病率呈逐年增长的趋势^[4-5]。目前,临床中仍以口服药物治疗为主,而质子泵抑制剂为治疗此病的一线用药,通过选择性抑制胃壁细胞膜 H^+-K^+-ATP 酶来减少胃酸分泌^[6]。此外,根据患者刻下证予以促进胃动力、保护胃黏膜等对症治疗;莫沙必利能上调5-HT₄受体活性,来增强胃动力,促进胃排空,减轻食管黏膜损伤^[7]。上述药物虽临床有一定效果,但只是在一定程度上缓解不适症状和体征,患者需长时间维持治疗,不能达到根治的效果,停药后复发率比较高^[8]。值得注意的是,临床中这类疾病的患者尚存在碱反流、气体反流、液体反流及混合反流。且已有研究显示,在抑酸治疗后,约30%的患者未见好转,或症状虽可在一定程度上得到改善,但停药后易复发^[9-10]。因此,探索防治RE更加有效的手段显得至关重要。

林天东教授,第四届国医大师,首届全国名中医,从医50余年,临证善用经方,精治脾胃病,每天的专家门诊量在100人次以上,居海南省中医个人门诊量首位。本研究通过回顾性分析国医大师林天东在临床上治疗RE处方,并借助数据挖掘和网络药理学方法,探讨林天东教授治疗RE的用药规律和特色,初步阐述其临床用药的作用机制,以丰富和发展中医药治疗RE的经验。

1 资料与方法

1.1 处方来源与筛选

采集2020年1月至2022年1月就诊于海南省

中医院林天东国医大师门诊并且第一诊断为RE的患者病历,对病历资料进行筛选,选取符合条件的有效病例249例(只采集患者的首诊处方,未纳入复诊处方),最终纳入处方249张。

1.2 诊断标准

RE诊断标准参照中华中医药学会脾胃病分会制定的《胃食管反流病中医诊疗专家共识意见(2017)》^[11]。

1.3 纳入标准

(1)第一诊断为RE的有效病例;(2)患者姓名、年龄、性别、中医诊断、西医诊断、处方用药等基本诊疗信息完整的病例。

1.4 排除标准

(1)诊断依据不明确者;(2)并发其他系统严重疾病者;(3)病历资料不完整者。

1.5 数据规范化处理

参照《中华人民共和国药典》^[12]将中药名称数据进行规范化处理,如“芍药”规范为“白芍”,“元胡”规范为“延胡索”,“川连”规范为“黄连”等。

1.6 数据录入与分析

将符合筛选要求的药物数据进行规范处理后,录入Excel 2010软件并建立林天东教授治疗RE原始处方药物数据库;随后发掘药物的四气、五味及归经的频次以及分布规律,并运用Weka 3.8软件对潜在的药物之间的关联规则进行深入分析。以上过程均采用双人录入的方式将上述指标输入并校对,以确保药物数据的准确性及有效性,如出现两人录入数据不一致的情况,则对照原始数据资料进行核查并修正。

1.7 网络药理学机制分析

对林天东教授处方中药的频次、组方规律进行综合分析,获得治疗RE核心药物处方,以中药名为关键词,检索中药系统药理学平台挖掘药物成分数据,根据口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和药物相似性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 的2个药物动力学参数进行筛选,获得活性成分及作用的蛋白质靶点,根据已发表的文献补充未预测的活性成分已知靶点,并在UniProt蛋白质数据库对靶点进行规范。检索GeneCards数据库、OMIM数据库、PharmGkb数据库、TTD数据库中治疗RE的潜在靶点。

利用Venny 2.1将两者靶点取交集并绘制韦恩图,得到药对成分-RE共同靶点。将关键靶点导入

STRING 11.0 数据库获得蛋白质之间相互作用的网络图,又经 Cytoscape3.8.2 软件中“CytoNCA”插件两次筛选后得到最终的核心靶点基因。利用 Cytoscape3.8.2 软件构建“成分-靶点”网络;最后运用 R4.1.0 软件得出药对治疗 RE 疾病的 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路富集分析,以进一步分析药对的具体作用机制。

2 结果

2.1 用药频次分布

林天东教授治疗 RE 原始处方药物数据库有处方 249 张,共涉及中药 111 味,累计使用总频次为 4623 次。按降序的排列方式对高频中药频次进行统计,使用频次>100 次的高频中药有半夏(187 次)、白术(145 次)、沉香(130 次)、蒲公英(129 次)、海螵蛸(125 次)等共 13 味,累计使用频次为 1622 次。详见表 1。

表 1 林天东教授治疗 RE 249 张处方的 13 味高频中药 (频次>100)分布

序号	中药	频次/次	频率/%
1	半夏	187	75.10
2	白术	145	58.23
3	沉香	130	52.21
4	蒲公英	129	51.81
5	海螵蛸	125	50.20
6	茯苓	124	49.80
7	厚朴	124	49.80
8	紫苏梗	124	49.80
9	陈皮	111	44.58
10	大枣	111	44.58
11	生姜	104	41.77
12	柴胡	104	41.77
13	黄芩	104	41.77

2.2 四气、五味、归经分布

林天东教授治疗 RE 原始处方药物数据库所含中药的四气、五味、归经统计分析结果见图 1,四气主要以温(2219 次)、寒(1321 次)、平(883 次)为主;五味主要以苦(2288 次)、辛(2176 次)、甘(2013 次)为主;归经主要以脾(3069 次)、胃(2409 次)、肺(2248 次)、肝(1831 次)为主。

2.3 高频中药常用药对组合统计及关联规则分析

对林天东教授治疗 RE 原始处方药物数据库中使用频次>100 次的高频中药进行设定,以最小支持度为 40%、最小置信度为 65%、最大前项数与后项均为 1 进行高频中药常用药对组合及药对间潜在关联规则分析,所得高频中药常用药对组合中频次最高的为沉香-半夏(130 次),依次为蒲公英-半夏(129 次)、海螵蛸-沉香(125 次)等。详见表 2。高频中药常用药对间配伍关联规则中支持度最高为沉香→半夏(52.21%),依次为蒲公英→半夏(51.81%)、海螵蛸→沉香(50.20%)等。详见表 3。

表 2 林天东教授治疗 RE 处方高频中药(用药频次>100)常用药对组合统计表

序号	药物组合	频次/次	序号	药物组合	频次/次
1	沉香,半夏	130	12	大枣,白术	111
2	蒲公英,半夏	129	13	陈皮,茯苓	111
3	海螵蛸,沉香	125	14	陈皮,厚朴	111
4	海螵蛸,蒲公英	125	15	陈皮,苏梗	111
5	海螵蛸,半夏	125	16	大枣,半夏	111
6	茯苓,半夏	124	17	柴胡,半夏	104
7	厚朴,半夏	124	18	黄芩,半夏	104
8	苏梗,半夏	124	19	柴胡,黄芩	104
9	厚朴,茯苓	124	20	生姜,白术	104
10	茯苓,苏梗	124	21	柴胡,沉香	104
11	苏梗,厚朴	124	22	黄芩,沉香	104

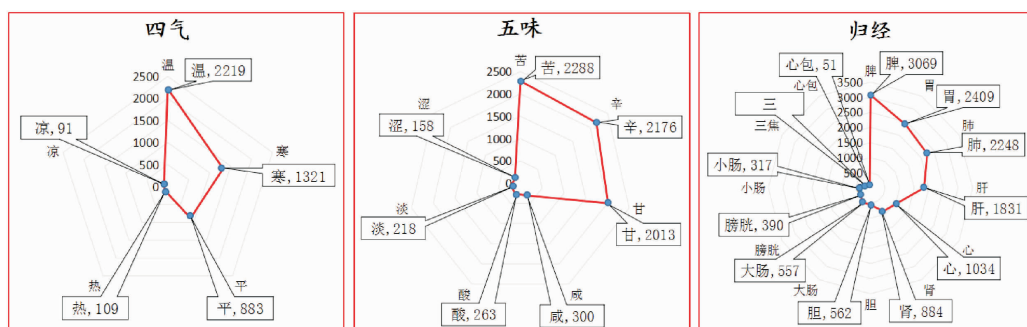


图 1 林天东教授治疗 RE 249 张处方的中药四气、五味、归经雷达图

表3 林天东教授治疗RE处方高频中药(用药频次>100)常用药对关联规则分析表

序号	关联规则		支持度/%	置信度/%	提升度
	前项	后项			
1	沉香	半夏	52.21	79.00	1.05
2	蒲公英	半夏	51.81	79.00	1.05
3	海螵蛸	沉香	50.20	98.00	1.87
4	海螵蛸	蒲公英	50.20	98.00	1.88
5	海螵蛸	半夏	50.20	78.00	1.04
6	茯苓	半夏	49.80	100.00	1.33
7	厚朴	半夏	49.80	100.00	1.33
8	紫苏梗	半夏	49.80	100.00	1.33
9	厚朴	茯苓	49.80	100.00	2.01
10	茯苓	紫苏梗	49.80	100.00	2.01
11	紫苏梗	厚朴	49.80	100.00	2.01
12	大枣	白术	44.58	82.00	1.41
13	陈皮	茯苓	44.58	82.00	1.65
14	陈皮	厚朴	44.58	82.00	1.65
15	陈皮	紫苏梗	44.58	82.00	1.65
16	大枣	半夏	44.58	70.00	0.94
17	柴胡	半夏	41.77	100.00	1.33
18	黄芩	半夏	41.77	100.00	1.33
19	柴胡	黄芩	41.77	100.00	2.39
20	生姜	白术	41.77	71.00	1.22
21	柴胡	沉香	41.77	67.00	1.29
22	黄芩	沉香	41.77	67.00	1.29

2.4 确定“沉香-半夏”为核心药对

通过频次分析得出,半夏使用频次位居第一,为187次;沉香使用频次位居第三,为130次。通过高频中药常用药对组合统计得出,药物模式中“沉香-半夏”的频次最高,为130次。通过高频中药常用药对关联规则分析得出,“沉香-半夏”高频药对的支持度最高。故综合分析,确定“沉香-半夏”为核心药对。

2.5 沉香-半夏有效成分及靶点的筛选

沉香-半夏药对活性成分及靶基因通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)检索中药“半夏”和“沉香”相关活性成分及对应靶点,并以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件得出药对的主要活性成分,再通过TCMSP检索各个活性成分的作用靶点蛋白,然后利用UniProt数据库将获取的蛋白名称转换成基因名。得出半夏和沉香符合条件的活性成分各有13个和9个,去重标准化之后药对的有效成分共21个,药对的药物靶点共检索到460个,经UniProt数据库矫正过基因名并去重保留唯一值后,有188个靶点基因,半夏-沉香药对活性成分及对应OB值和DL值见表4。

表4 “半夏-沉香”药对的有效成分

编号	有效成分	OB/%	DL
MOL010913	Linderane(钩樟烷)	77.09	0.25
MOL006957	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone(环(酪氨酸-苯丙氨酸)二肽)	46.89	0.27
MOL000098	Quercetin(槲皮素)	46.43	0.28
MOL006967	Hypoxanthine-9-beta-D-ribofuranoside(次黄嘌呤核苷)	44.72	0.21
MOL000449	Stigmasterol(甾甾醇)	43.83	0.76
MOL010916	Nubigenol(儿茶素)	42.55	0.19
MOL006937	12,13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid(12,13-环氧-9-羟基十九碳-7,10-二烯酸)	42.15	0.24
MOL010907	Norboldine(新木姜子碱)	40.92	0.46
MOL002776	Baicalin(黄芩苷)	40.12	0.75
MOL006936	10,13-eicosadienoic(10,13-二十碳二烯酸)	39.99	0.20
MOL003578	Cycloartenol(环戊醇)	38.69	0.78
MOL000358	Beta-sitosterol(β -甾甾醇)	36.91	0.75
MOL000359	Sitosterol(甾甾醇)	36.91	0.75
MOL001755	24-Ethylcholest-4-en-3-one(24-乙基胆甾醇-4-烯-3-酮)	36.08	0.76
MOL002670	Cavidine(消旋卡文定碱)	35.64	0.81
MOL002714	Baicalein(黄芩素)	33.52	0.21
MOL010496	DMPEC(酰磷脂酰乙醇胺)	32.38	0.39
MOL010495	6,7-dimethoxy-2-(2-phenylethyl)chromone(6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮)	31.93	0.30
MOL010917	Boldine(波尔定碱)	31.18	0.51
MOL000519	Coniferin(松柏素)	31.11	0.32
MOL005030	Gondoic acid(刚烯二酸)	30.70	0.20

2.6 沉香-半夏与 RE 共同靶点的筛选

于 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD 数据库去重保留唯一值后,共获取 RE 靶点基因 2019 个。药对靶点基因和 RE 靶点基因进行韦恩分析后,确定了 107 个药对靶点治疗 RE 发挥作用。详见图 2。

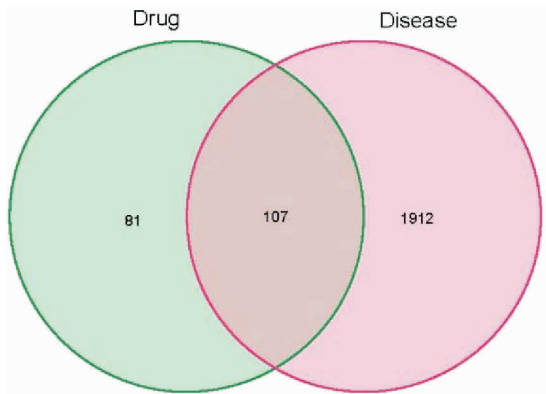


图2 “半夏-沉香”药对与 RE 靶点交集韦恩图

2.7 PPI 网络与核心靶点分析

将关键靶点导入 STRING 11.0 数据库获取蛋白互作网络,从而获得蛋白质之间相互作用的网络图,共 107 个节点和 352 条边,结果用 TSV 文件导出,并通过 R 语言将每个靶标的邻接节点数进行统

计排序,排名前 30 的靶标用柱状图的形式进行可视化显示。详见图 3。又经 Cytoscape3.8.2 软件中“Cytoscape3.8.2 软件中“CytoNCA”插件两次筛选后最终得到 8 个核心靶点基因,即 AKT1、TP53、JUN、CCND1、MAPK1、FOS、RELA、MAPK14。详见图 4。

2.8 构建半夏-沉香关键活性成分与疾病靶标的网络

利用 Cytoscape3.8.2 软件构建“成分-靶点”网络,圆圈代表两位中药中有效活性成分,红色代表半夏,蓝色代表沉香,绿色四边形越大代表基因连接节点的数目越多,相连的线表示有效活性成分与疾病靶标的对应关系。详见图 5。

2.9 生物过程及通路富集结果

最后运用 R4.1.0 软件得出“半夏-沉香”药对治疗 RE 疾病的 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路富集分析,以进一步分析“半夏-沉香”的具体作用机制。对药物作用靶点的分子功能(MF)、细胞组分(CC)以及参与的生物过程(BP)和差异表达基因进行信号通路分析,并依据 P-value 排名,将通路依次展示在结果中。通过研究核心药对的生物信号通路等生物学信息,可预测其发挥生物学功能的作用机制。详见图 6-7。

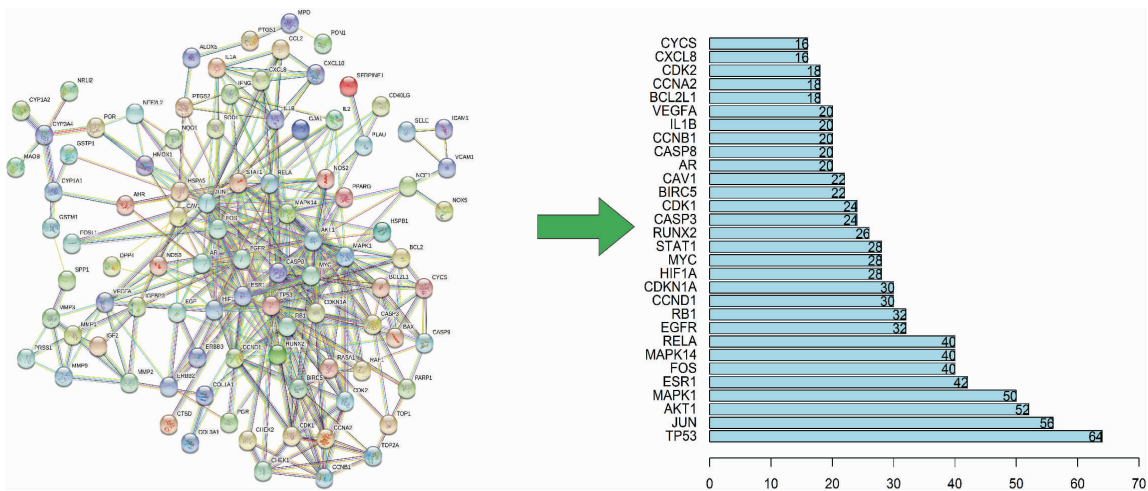


图3 “半夏-沉香”药对治疗 RE 的蛋白质互作网络

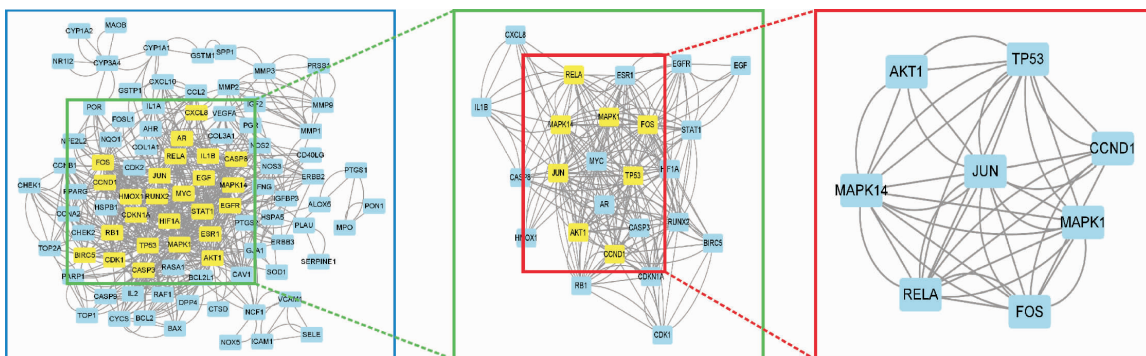


图4 交集基因 PPI 网络中核心靶点基因的筛选流程

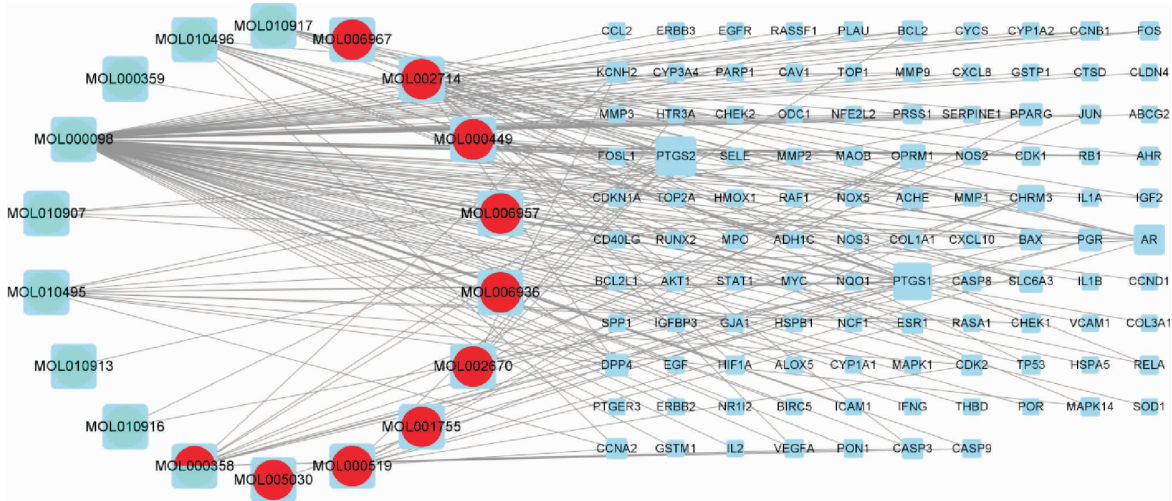


图5 半夏-沉香关键活性成分与疾病靶标的网络

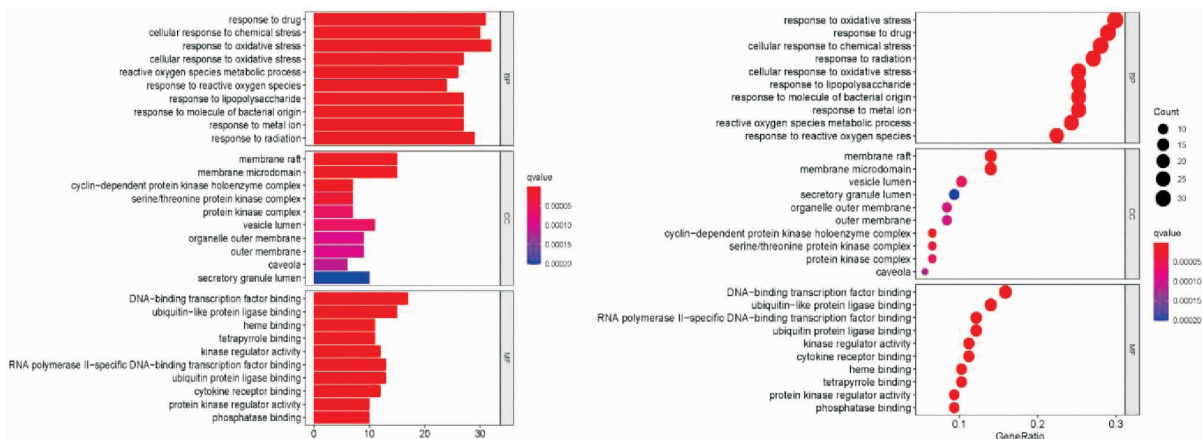


图6 潜在靶点的GO分析结果柱状图和气泡图

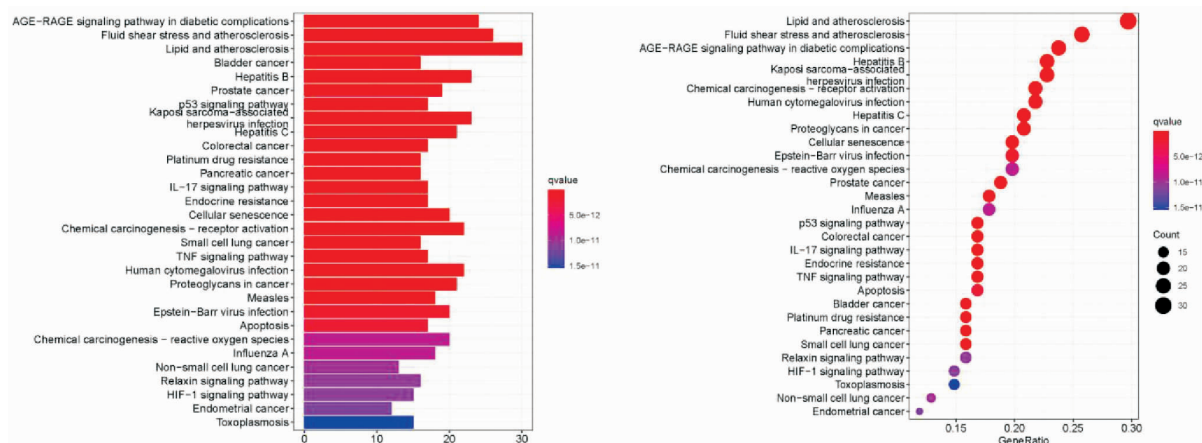


图7 潜在靶点的KEGG分析结果柱状图和气泡图

3 讨论

RE 属于中医学中“吐酸”“吞酸”“反胃”“嘈杂”“噎膈”“痞满”等范畴,多为素体虚衰、情志不畅、饮食不节、劳倦内伤等导致脾胃受损,胃失和降,胃气挟酸上逆而为病^[13]。此病的病位在食管和胃,与脾、肝、胆、肺等脏腑功能失调密切相关。

3.1 核心药对分析

本研究运用关联规则的数据挖掘手段,得到支持度达 52.21% 的核心药对半夏-沉香。《医学心悟·痰饮》载:“湿痰滑而易出,多生于脾,脾实则消之。”^[14]林天东教授认为 RE 的主要病机为脾失健运而痰湿内生,阻碍气机升降,因此,运用半夏厚朴汤为主方加减治疗。半夏味辛可以散逆气,用半夏祛痰、降逆

之功效治疗 RE 可效如桴鼓。沉香可通调一身之气,且能扶脾补中,用于脾胃升降失调者最为合适。二药合用可治疗 RE 的主要病机,因此为核心药对。

3.2 机制初步探讨

3.2.1 核心药对潜在有效成分 本研究初步筛选出核心药对半夏-沉香治疗 RE 中 $OB \geq 40\%$ 的主要活性成分为钩樟烷、环(酪氨酸-苯丙氨酸)二肽、槲皮素、次黄嘌呤核苷、豆甾醇、儿茶素、12,13-环氧-9-羟基十九碳-7,10-二烯酸、新木姜子碱、黄芩苷。YAERMAIMAITI 等^[15]研究发现,钩樟烷(1-2)和桉叶烷(3-5)对 LPS 诱导的巨噬细胞中 NO 产生的抑制作用,并展现出较强的抗炎作用。LUO 等^[16]研究发现,来自甘草、半夏的槲皮素、松柏素、甘草查尔酮a、甘草果苷和环(酪氨酸-苯丙氨酸)二肽活性成分,可能直接通过与 IL-6 和 STAT3 相互作用,抑制 IL-6 放大器,实现对 IL-6-STAT 的双重抑制,发挥着炎症反应、病毒防御和免疫反应的作用。WU 等^[17]研究发现,槲皮素可通过抑制 NF- κ B 和 IL-8 信号通路预防 RE 大鼠食管黏膜损伤。LEE 等^[18]研究发现,次黄嘌呤核苷属于核苷类成分,核苷类似物及衍生物需要通过体内成熟的 TLR7 途径来激活免疫细胞,并表现出较强的刺激 B 细胞和抗病毒作用。FENG 等^[19]研究发现,豆甾醇可以通过抑制参与炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、CSF-1 和辅酶 COX-2 表达的 NF- κ B 信号通路来缓解结肠炎,对小鼠结肠炎具有积极的治疗作用。YANAOKA 等^[20]研究发现,胃癌发病与氧自由基损害有关,部分具有生物活性功能的抗氧化物,如维生素 C、维生素 E、叶酸、大蒜素、儿茶素等发挥着免疫调节、抗氧化及抗癌作用,并可能有助于抑制胃癌发生。杨欣等^[21]研究发现,半夏中的 12,13-环氧-9-羟基十九碳-7,10-二烯酸等关键活性成分可能在抗肿瘤方面发挥着主要作用。李君等^[22]研究发现,新木姜子碱表现出显著的抗炎镇痛活性,与以往网络药理学研究推测新木姜子碱作用于多巴胺能和 5-羟色胺能突触通路的蛋白靶点发挥行气止痛一致。FU 等^[23]研究发现,黄芩苷预处理以 CD14 依赖性方式来预防 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症,研究结果支持黄芩苷在预防 LPS 诱导的炎症性疾病进展中的治疗作用。

3.2.2 核心基因靶点 交集靶点上利用 STRING 网站进行蛋白质相互作用网络分析,并将中心靶点进行排序筛选,又经 Cytoscape3.8.2 软件中“CytoNCA”插

件两次筛选,得出 AKT1、TP53、JUN、CCND1、FOS、MAPK1、MAPK14、RELA 等为高频靶点。有研究指出,PI3K/Akt 信号通路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;张锋利等^[24]的研究结果表明,桔梗枳壳汤加味可能通过抑制 PI3K/Akt 通路活化、降低 VEGF 含量,调节胃肠激素,增强胃肠动力,从而使 RE 所致食管病变有所改善。FUKUCHI 等^[25]研究结果进一步表明,胃食管反流病与 VLR 组 ESCC 的发生之间存在关系,同时发现 TP53 是 VLR 组线性型病变中最常见的突变基因。CHOO 等^[26]研究结果表明,JNK/MAPK 途径被脂多糖激活,西氏沼虾乙醇提取物可抑制 JNK 磷酸化,能减轻胃酸再灌注对食管组织的损伤,MsE 通过调节 NF- κ B 信号通路来下调炎症反应,从而促进实验性 RE 的改善。叶蔚等^[27]的研究结果显示,CCND1、PCNA、CDK4 参与了 RE—巴雷特食管—食管腺癌的演变过程,并可能是早期事件;同时肝胃郁热证组 PCNA、Cyclin D1、CDK4 明显高于其他证型的表达。LEE 等^[28]的研究结果表明,川楝子显著降低 NADPH 氧化酶和 AP-1/MAPK 相关蛋白的表达,说明川楝子可通过上调紧密连接蛋白保护食管黏膜,并通过降低 NADPH 氧化酶表达抑制 AP-1/MAPK 通路,从而减少对食管黏膜的损伤。ZHAO 等^[29]的研究结果表明,DMV 是 CAP 的重要核心,在接受酸性胃蛋白酶灌注的大鼠中,c-fos 阳性神经元显著增长;DMV 破坏后,c-fos 表达降低,说明 DMV 损伤可加重酸诱导的大鼠急性食管炎所致的食管损伤,而 CAP 对急性食管炎大鼠模型具有保护作用。RelA 是真核细胞转录因子 NF- κ B 家族一个重要的成员,有研究提示胃食管再灌注刺激 NF- κ B 信号通路可导致食管屏障功能受损,故靶向调控 NF- κ B 信号通路可能会影响食管屏障的抗再灌注功能,WU 等^[17]的研究结果表明,槲皮素不仅减轻胃食管反流性疾病的严重程度,而且通过抑制 IL-8 和 NF- κ B 信号通路直接预防食管黏膜损伤。

3.2.3 GO 分析和 KEGG 分析 R 语言 GO 分析和 KEGG 分析,筛选出半夏-沉香药对治疗 RE 涉及细胞对药物的反应、细胞对化学应激的反应、细胞对氧化应激的反应、活性氧代谢过程等生物过程及乙型肝炎信号通路、人巨细胞病毒感染信号通路、丙型肝炎信号通路、细胞衰老信号通路、爱泼斯坦-巴尔病毒信号通路、化学致癌-活性氧物种信号通路、p53

信号通路、IL-17 信号通路、HIF-1 信号通路、TNF 信号通路等相关靶点通路。姚志伟^[30]研究发现,乙型肝炎肝硬化病患 RE 的发生率要高于一般人群,且肝硬化程度重的发生率更高,肝硬化的并发症会影响胃食管连接处的结构,均会使反流加重。CMV 的胃肠道感染很罕见,CMV 食管炎是除了结肠炎外第二大 CMV 胃肠道感染的疾病^[31]。DERBAK 等^[32]研究发现,在慢性丙型肝炎患者中,胃食管反流病在超重患者中的发生率明显高于正常体质量患者。LYROS 等^[33]研究发现,细胞外高水平的 Dkk1 (Dickkopf-1) 通过细胞衰老诱导细胞周期停止,从而在体外抑制上皮细胞生长。同时揭示了食管上皮对酸性损伤反应的一种新机制,该机制涉及 Dkk1 的上调,以及之后 Wnt/ β -catenin 信号的调节和细胞衰老的诱导。EBV 病毒可感染绝大多数人类,LORENTSEN 等^[34]报道了一位严重且广泛的溃疡性食管炎患者,被确诊为原发性 EBV 感染,该患者主要表现为严重吞咽困难和上腹部疼痛、严重溃疡性食管炎、无传染性单核细胞增多症的全身症状。氧化应激可导致受影响器官的发育不良和癌症,有许多报道描述了抗氧化剂在治疗各种炎症性胃肠道疾病中的应用,甚至预防癌症的发展^[35]。闫龙腾等^[36]研究提示,通过抑制 PCNA、p53、CyclinD1 3 个基因蛋白的表达可以达到缓解甚至治疗 RE 的作用。朱峰等^[37]的研究结果表明,加用益气除痞汤治疗者治疗后,PGE2 水平高于采用奥美拉唑联合莫沙必利治疗者,而 IL-17、IL-23 水平低于采用奥美拉唑联合莫沙必利治疗者。刘琰等^[38]的研究结果推测活血通降方可以通过降低促炎细胞因子 IL-8、TNF- α 浓度减轻食管炎症,且以高浓度效果更好。孙颖等^[39]的研究结果表明 HIF-2 α 、HIF-1 α 均可参与到食管黏膜的损伤和修复过程。

4 结论

综上所述,半夏-沉香为林天东教授治疗 RE 复方中的核心药对,其可能通过钩樟烷、环(酪氨酸-苯丙氨酸)二肽、槲皮素、次黄嘌呤核苷、豆甾醇、儿茶素、12,13-环氧-9-羟基十九碳-7,10-二烯酸、新木姜子碱、黄芩昔活性成分作用于 AKT1、TP53、JUN、CCND1、FOS、MAPK1、MAPK14、RELA 等靶标,通过乙型肝炎信号通路、人巨细胞病毒感染信号通路、丙型肝炎信号通路、细胞衰老信号通路、爱泼斯坦-巴尔病毒信号通路、化学致癌-活性氧物种信号通路、

p53 信号通路、IL-17 信号通路、HIF-1 信号通路、TNF 信号通路等调控炎症反应,调节机体免疫和胃黏膜相关生理,调控氧化反应等治疗 RE。本研究通过数据挖掘与网络药理学研究方法,再辅以文献验证,总结国医大师林天东治疗 RE 的临床用药,并对核心药对半夏-沉香治疗 RE 的有效活性成分、靶点、通路之间进行探讨研究,为 RE 的中医药复方治疗提供参考。

参考文献

- [1] 汪忠镐,吴继敏,胡志伟,等.中国胃食管反流病多学科诊疗共识[J].中华胃食管反流病电子杂志,2020,7(1):1-28.
- [2] 张建琴,埃索美拉唑、莫沙必利、镁加铝治疗反流性食管炎的临床效果[J].临床医药文献电子杂志,2017,4(86):17000.
- [3] 薛令凯,崔庆,赵强,等.近端胃癌 2 种手术方式术后发生反流性食管炎的对比研究[J].中国现代普通外科进展,2017,20(7):546-548.
- [4] EUSEBI L H, RATNAKUMARAN R, YUAN Y H, et al. Global prevalence of, and risk factors for, gastro-oesophageal reflux symptoms: A meta-analysis[J]. Gut, 2018, 67(3): 430-440.
- [5] 屈坤鹏,成晓舟.我国部分地区胃食管反流病患率的 Meta 分析[J].中华胃食管反流病电子杂志,2015,2(1):34-44.
- [6] 丁香.反流性食管炎应用雷贝拉唑联合莫沙必利方案治疗效果及价值分析[J].中外医疗,2018,37(5):138-140.
- [7] 刘正金,韦玲.雷贝拉唑钠肠溶片联合胃复春片治疗慢性胃炎伴反流性食管炎的疗效及安全性[J].中国老年学杂志,2018,38(20):4925-4927.
- [8] 陆佳.枸橼酸莫沙必利对反流性食管炎的治疗与干预效果分析[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(98):88.
- [9] FOCK K M, TALLEY N, GOH K L, et al. Asia-Pacific consensus on the management of gastro-oesophageal reflux disease: An update focusing on refractory reflux disease and Barrett's oesophagus[J]. Gut, 2016, 65(9): 1402-1415.
- [10] SONG I J, KIM H K, LEE N K, et al. Prospective single arm study on the effect of ilaprazole in patients with heartburn but No reflux esophagitis[J]. Yonsei Medical Journal, 2018, 59(8): 951-959.
- [11] 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.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [13] 任莉,黄健.奥美拉唑联合气滞胃痛颗粒治疗反流性食管炎的临床疗效[J].医学综述,2018,24(7):1444-1448.
- [14] 程国彭.医学心悟[M].北京:人民卫生出版社,1963:147-149.
- [15] YAERMAIMAITI S, WANG P, LUO J, et al. Sesquiterpenoids from the seeds of *Sarcandra glabra* and the potential anti-inflammatory effects[J]. Fitoterapia, 2016, 111: 7-11.

- [16] LUO W K, DING R Q, GUO X H, et al. Clinical data mining reveals Gancao-Banxia as a potential herbal pair against moderate COVID-19 by dual binding to IL-6/STAT3[J]. *Computers in Biology and Medicine*, 2022, 145: 105457.
- [17] WU P, ZHOU L, LI Y J, et al. Protective effects of quercetin against chronic mixed reflux esophagitis in rats by inhibiting the nuclear factor- κ B p65 and interleukin-8 signaling pathways[J]. *Journal of Digestive Diseases*, 2015, 16(6): 319-326.
- [18] LEE J, CHUANG T H, REDECKE V, et al. Molecular basis for the immunostimulatory activity of guanine nucleoside analogs: Activation of Toll-like receptor 7[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(11): 6646-6651.
- [19] FENG S M, SUI M H, WANG D, et al. Pectinâ zein based stigmaterol nanodispersions ameliorate dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. *Food & Function*, 2021, 12(22): 11656-11670.
- [20] YANAOKA K, OKA M, YOSHIMURA N, et al. Preventive effects of etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on cancer development in extensive metaplastic gastritis, a *Helicobacter pylori*-negative precancerous lesion[J]. *International Journal of Cancer*, 2010, 126(6): 1467-1473.
- [21] 杨欣,李亚辉,潘思佳,等.基于PI3K/Akt信号通路筛选附子-半夏抗肿瘤活性成分及关键靶点[J].*中国实验方剂学杂志*, 2019,25(10):170-179.
- [22] 李君,梁晓.鸭公树子中生物碱类成分及抗炎镇痛活性研究[J].*中国现代中药*,2022,24(5):799-804.
- [23] FU Y J, XU B, HUANG S W, et al. Baicalin prevents LPS-induced activation of TLR4/NF- κ B p65 pathway and inflammation in mice via inhibiting the expression of CD14[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2021, 42(1): 88-96.
- [24] 张锋利,唐凤英,沈舒文,等.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.
- [25] FUKUCHI T, HIRASAWA K, SATO C, et al. Potential roles of gastroesophageal reflux in patients with superficial esophageal squamous cell carcinoma without major causative risk factors[J]. *Journal of Gastroenterology*, 2021, 56(10): 891-902.
- [26] CHOO B K, NAN L, NAM H H, et al. Ethanol extract of *Magnolia sieboldii* buds ameliorated esophageal tissue injury induced by gastric acid reflux in rats via regulating the nuclear factor- κ B signaling pathway[J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2020, 16(67): 161.
- [27] 叶蔚,刘彬彬,姚嘉明,等.不同中医证型反流性食管炎患者食管黏膜 Cyclin D1、CDK4、PCNA、p16 的表达[J].*北京中医药*, 2018,37(7):622-624.
- [28] LEE JIN A, SHIN MI-RAE, CHOI JEONG WON, et al. Effect of toosendan fructus on chronic acid reflux esophagitis rats[J]. *The Korea Journal of Herbology*, 2021,36 (3):1-8.
- [29] ZHAO L, XIE P Y, GENG B, et al. Destruction of the dorsal motor nucleus of the vagus aggravates inflammation and injury from acid-induced acute esophagitis in a rat model[J]. *Analytical Cellular Pathology*, 2019, 2019: 8243813.
- [30] 姚志伟.乙型肝炎肝硬化患者上消化道病变胃镜检出结果分析[J].*医学信息*,2020,33(18):94-95.
- [31] 谈路轩,曹伟军,黄文斌,等.免疫正常患者巨细胞病毒食管炎1例报道并文献复习[J].*胃肠病学和肝病学杂志*,2018,27(2):236-238.
- [32] DERBAK M, BOLDIZHAR O, KOVAL G, et al. Clinical and endoscopic characteristics of the gastroduodenal mucosal lesions in patients with chronic hepatitis c infection with different body mass status[J]. *Georgian Medical News*, 2019, Issue 288 (288): 73-77.
- [33] LYROS O, RAFIEE P, NIE L H, et al. Dickkopf-1, the Wnt antagonist, is induced by acidic pH and mediates epithelial cellular senescence in human reflux esophagitis[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2014, 306(7): G557-G574.
- [34] LORENTSEN R D, KLARSKOV L L, STEENHOLDT C. Severe ulcerative oesophagitis caused by primary Epstein-Barr virus infection in an immunocompetent individual[J]. *BMJ Open Gastroenterology*, 2021, 8(1): e000586.
- [35] KIM Y J, KIM E H, HAHM K B. Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases: Challenges and opportunities[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2012, 27(6): 1004-1010.
- [36] 闫龙腾,马琼,胡冬雄,等.砂仁对反流性食管炎大鼠食管的保护作用及其机制研究[J].*时珍国医国药*,2021,32(6):1332-1335.
- [37] 朱峰,李杨,张鹏,等.益气除痞汤治疗反流性食管炎的效果及对患者胃肠动力、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-23(IL-23)的变化影响[J].*中华中医药学刊*,2022,40(8):193-196.
- [38] 刘琰,唐艳萍,刘磊,等.活血通降方对反流性食管炎模型大鼠食管动力、血清炎症因子及食管下括约肌SCF/c-kit信号通路的影响[J].*中医杂志*,2022,63(3):269-275.
- [39] 孙颖,吴嶸.低氧诱导因子对胃食管反流小儿并发反流性食管炎的诊断作用[J].*现代消化及介入诊疗*,2019,24(3):289-291.