

基于网络药理学及动物实验探讨蒙药胡日查-6 治疗变应性鼻炎的作用机制研究

苏日古格, 李花, 乌日柴夫, 韩额尔德木图, 孟永梅

内蒙古医科大学 蒙医药学院, 内蒙古 呼和浩特 010110

摘要: **目的** 基于网络药理学及动物实验探讨蒙药胡日查-6 治疗变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 的作用机制。 **方法** 从 TCMSPP 数据库和文献获得胡日查-6 的化合物及靶点, OMIM、TTD、Disgenet 和 GeneCards 数据库搜索 AR 相关靶点, 后将胡日查-6 靶点与 AR 靶点取交集, 构建“化合物—交集靶点”网络, 选择关键化合物并应用 STRING 数据库绘制 PPI 蛋白互做网络进行核心靶点的筛选。使用 R 语言对交集靶点进行基因本体富集 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (kyto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析, 借助 AutoDockVina 软件对关键化合物及靶点进行分子对接验证。构建 AR 豚鼠模型, 以胡日查-6 治疗 6 周后, 对豚鼠鼻部症状进行行为学评分, 取鼻黏膜组织进行 HE 染色观察病理改变, ELISA 检测豚鼠血清 IL-4、IFN- γ 水平。 **结果** 筛选出胡日查-6 治疗 AR 的可能靶点为 107 个, 胡日查-6 治疗 AR 相关的化合物 30 个, 槲皮素、木犀草素、山柰酚、异鼠李素、奎宁等为关键化合物, 核心靶点为 VEGFA、STAT3、IL-1B、IL-6、ALB 等。KEGG 通路分析主要涉及 TNF、IL-17、Toll 样受体和 HIF-1 等多条信号通路, 分子对接显示关键化合物与核心靶点之间具有较强的结合能力。动物实验表明, 胡日查-6 能够有效减轻豚鼠鼻部症状, 改善鼻黏膜病理改变, 降低豚鼠血清中 IL-4 水平, 提高 IFN- γ 水平。 **结论** 胡日查-6 通过多靶点、多通路治疗 AR, 并可能通过参与炎症反应减轻鼻黏膜组织炎症浸润、缓解 AR。

关键词: 蒙药; 胡日查-6; 变应性鼻炎; 网络药理学; 动物实验

中图分类号: R765.21

文献标志码: A

文章编号: 1673-3770(2024)02-0041-11

引用格式: 苏日古格, 李花, 乌日柴夫, 等. 基于网络药理学及动物实验探讨蒙药胡日查-6 治疗变应性鼻炎的作用机制研究[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2024, 38(2):41-51. SU Riguge, LI Hua, WU Richaifu, et al. Elucidation of the Mongolian medicine Huricha-6 mechanism in treating allergic rhinitis via network pharmacology and animal experiments[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(2):41-51.

Elucidation of the Mongolian medicine Huricha-6 mechanism in treating allergic rhinitis via network pharmacology and animal experiments

SU Riguge, LI Hua, WU Richaifu, HAN Eerdemutu, MENG Yongmei

College of Mongdian Medicine, Inner Mongolia Medical Vniversity, Hohhot 010110, Inner Mongolia, China

Abstract: Objective To explore the possible mechanism of Mongolian medicine Huricha-6 in treating allergic rhinitis, based on network pharmacology and animal experiments. **Methods** Compounds and targets of Huricha-6 were obtained from the TCMSPP database and literature. Allergic rhinitis (AR)-related targets were identified via searches of the OMIM, TTD, Disgenet, and GeneCards databases. Then, the Huricha-6 target and AR target intersection was identified by constructing a "compound-intersection target" network and selecting key compounds. The STRING database was used to draw the protein interaction network to screen core targets, and R language was used to conduct gene ontology (GO) and kyto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis on intersection targets. AutoDockVina software was used to verify key compounds and targets by molecular docking. An AR guinea pig model was constructed for Huricha-6 testing. Guinea pigs were treated with Huricha-6 for 6 weeks, then their nasal symptoms were evaluated by behavioral assessment. Nasal mucosa tissue was taken for HE staining to observe lesions, and IL-4 and IFN- γ levels were detected by ELISA. **Results** Network pharmacology analysis identified 107 possible targets for Huricha-6 relevant to AR treatment, and 30 compounds related to Huricha-6 in the treatment of AR. Quercetin, luteolin, kaolin, isorhamnetin and quinine were the key compounds, and the key target include VEGFA, STAT3, IL-1B, IL-6 and ALB. KEGG pathway enrichment revealed

收稿日期: 2023-05-26

基金课题: 国家民委-教育部蒙医药研发工程重点实验室开放基金项目 (MDK2020015); 内蒙古医科大学第十五届高等学校教学名师计划项目 (NYJXMS202203); 内蒙古医科大学善学计划 (ZY0201031); 内蒙古医科大学中医学 (蒙医学) 一流学科研究生创新项目 (2022MYYLXKYC006); 内蒙古医科大学中医学 (蒙医学) 一流学科建设项目 (myxylx202313)

通信作者: 孟永梅. E-mail: ymmeng@immu.edu.cn

involvement of TNF, IL-17, Toll and HIF-1 pathways. Molecular docking supports the premise that key compounds will exhibit strong binding to core targets. Animal experiments demonstrate that Huricha-6 can effectively reduce nasal symptoms, improve pathological changes in the nasal mucosa, significantly reduce serum IL-4 levels, and increase IFN- γ levels. **Conclusion** Huricha -6 can ameliorate AR symptoms via interactions with multiple targets that act in multiple pathways, may alleviate inflammatory cell infiltration of nasal mucosal tissue, and alleviate AR symptoms by modulating the inflammatory response.

Key words: Mongolian medicine; Huricha-6; Allergic rhinitis; Network pharmacology; Animal experiments

变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是由多种因素引起的鼻黏膜过敏性疾病, 发病率为 10%~40%, 处于逐年上升的趋势^[1], 严重影响患者的生活质量, 带来沉重的经济负担^[2]。目前 AR 患者常见的治疗措施包括对患者进行健康教育、避免接触变应原、药物治疗、过敏原免疫治疗、生物制剂、鼻腔冲洗、针灸和手术。但 AR 尚无根治方法, 临床治疗主要针对 AR 症状的缓解^[3]。民族医药在缓解 AR 症状方面已得到临床肯定, 在治疗 AR 症状有独特的优势, 具有费用低、疗效良好、不良反应少等优势^[4]。

胡日查-6 是蒙医临床常用制剂, 临床研究^[5]表明胡日查-6 可明显改善 AR 患者症状, 且总有效率达 94.74%。课题组前期实验研究也表明胡日查-6 对卵清蛋白 (ovalbumins, OVA) 诱导的 AR 清洁级 Wistar 大鼠具有治疗作用, 但其主要发挥作用的化合物及其作用机制尚不明确。本研究拟通过网络药理学结合动物实验探讨胡日查-6 治疗 AR 的作用机制。

1 资料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 胡日查-6 化合物及靶点获取

使用中药药理信息挖掘平台 TCMSP (<http://tcmsp.com/tcmssearch.php>) 获取 6 味蒙药的化合物, 以药物口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (drug likeness, DL) ≥ 0.18 为筛选依据, 并通过运行 addSymbol.pl 脚本获取化合物相对应靶点的基因名。其中黑云香相关化合物是通过文献^[6-7]查找, 并在化源网 (<https://www.chemsrc.com/>) 查询相应的 CAS 号, 输入到 PubChem (pubchem.net) 数据库下载化合物 2D 结构 sdf 文件, 将其上传到 SwissADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch/index.php>) 并将满足药代动力学条件的化合物输入到 SwissTargetPrediction (www.swisstargetprediction.ch) 数据库勾选“Homo Sapiens”对化合物进行靶点预测, 并筛选可能性为 0 以上的靶点作为化合物靶点。

1.1.2 AR 相关靶点获取

通过 OMIM (<http://www.omim.org>)、TTD (<http://db.idrblab.net>)、DisGeNET (www.disgenet.org)、GeneCards (www.genecards.org) 数据库, 以“allergic rhinitis”“anaphylactic rhinitis”为关键词检索 AR 相关靶点, 将以上检索结果去除重复项后作为 AR 相关靶点。其中 GeneCards 数据库选取分值大于中位数的靶点, DisGeNET 数据库选取分值大于 0.8 以上的靶点。

运用 Venny2.1 软件将胡日查-6 化合物靶点与 AR 相关靶点取交集并制作韦恩图。

1.1.3 交集靶点的获取

运用 Venny2.1 软件将胡日查-6 化合物靶点与 AR 相关靶点取交集并制作韦恩图。

1.1.4 构建“化合物-交集靶点”网络

将化合物、交集靶点导入 Cytoscape3.7.1 软件, 剔除与交集靶点无作用关系的化合物, 构建“化合物-交集靶点”网络图并分析, 结合度值 (degree)、中介中心性 (betweenness, BC) 及接近中心性 (closeness, CC) 值为参考值, 进一步筛选出关键化合物。

1.1.5 PPI 蛋白互作网络构建

将得到的交集靶点导入 String 数据库 (<http://www.string-db.org/>), 物种限定为“Homo sapiens”, 置信度为 ≥ 0.4 同时隐藏无节点的靶点, 并保存 tsv 文件。将文件导入到 Cytoscape3.7.1 软件中 CytoHubba 插件的 MCC 分析法筛选出 10 个核心 (Hub) 靶点。

1.1.6 GO 和 KEGG 富集分析

运用 R 语言 clusterProfiler 包^[8]对交集靶点进行基因本体富集 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (kyto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 筛选条件为 $P < 0.01$, $q < 0.01$ 。结合前期实验及网络药理学结果, 选择目标通路, 通过 R 语言对其通路进行可视化, 以呈现靶点以及其与上下游分子的调控关系。

1.1.7 分子对接验证

利用 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 下载核心靶点蛋白 3D 结构, 采用 AutoDock Tools vina 软件对核心靶点和关键化合物预处理并进行分子对接。分子对接的结合能越小, 提示化合物与蛋白质之间结合越牢固, 结合能 < 0 表示可以自由结合^[9], 结合能小于 -5.0 kcal/mol 表示化合物和靶点之间有良好的结合能力, 结合能小于 -7.0 kcal/mol 表明化合物与靶点有强烈的结合能力^[10]。同时将地塞

米松作为阳性对照与核心靶点进行分子对接,比较化合物、阳性药物与核心靶点的结合能。

1.2 动物实验

1.2.1 实验动物

SPF 级雄性豚鼠由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,体重 250~280 g,许可证号:SCXK(京)2021-0011,合格证号:110011220107662365。饲养于内蒙古医科大学动物房开放区:饲养环境温度(20±2)℃,明暗交替各 12 h,自由进食进水、保持室内安静及环境清洁。动物实验符合医学伦理学规范,伦理编号为 YKD202001044。

1.2.2 AR 模型建立及行为学评价

将 40 只豚鼠随机分为空白组(12 只)、模型组(14 只)、胡日查-6(内蒙古蒙药股份有限公司,Z15020418)治疗组(14 只)。除空白组外,其余各组均建立 AR 豚鼠模型。将 0.3 mg OVA(Solarbio 公司,A8040)和 30 mg 氢氧化铝(成都市科龙化工试剂厂,21645-51-2)加入 1 mL 生理盐水配制成混悬液,腹腔注射豚鼠进行基础致敏,隔天 1 次,共 7 次。第 15 天起用 OVA 溶液(30 mg OVA 溶于 1 mL 生理盐水)滴鼻行鼻腔激发,每侧 50 μL,连续 12 d。空白组则以生理盐水替代 OVA,其余操作同模型组。末次滴鼻激发 30 min 内观察豚鼠挠鼻、喷嚏及流涕的情况,采用叠加量化计分法计分^[11]。

1.2.3 给药及取材

于造模后第 2 天给予治疗组豚鼠胡日查-6(0.465 g/kg)灌胃治疗 6 周。空白组与模型组给予等体积的生理盐水。豚鼠末次灌胃给药后禁食不禁水 12 h,麻醉后腹主动脉取血,3 000 r/min 离心

10 min,取上清液保存于-80℃冰箱中用于后续 ELISA 检测,取鼻黏膜组织用 10% 甲醛溶液固定,以备后续病理检查。

1.2.4 行为学评分

治疗后观察各组豚鼠挠鼻、喷嚏及流涕等鼻部过敏症状情况,采用叠加量化计分法计分。

1.2.5 HE 染色及病理评分

将固定好的鼻部组织修块并置于 EDTA 脱钙液(武汉塞维尔生物科技有限公司,CR2303302)中脱钙 6 周,石蜡包埋后切片(厚度 4 μm)进行 HE 染色(Leica 公司,101221),在数字病理扫描系统(Leica 公司,AperioCS2)下观察各组豚鼠鼻黏膜组织病理改变,并进行病理评分^[12]。

1.2.6 ELISA 检测豚鼠血清中白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、干扰素-γ(interferon gamma, IFN-γ)水平

ELISA 检测 IL-4(江苏酶免有限公司,MM-033201)、IFN-γ(江苏酶免有限公司,MM-034501)含量,实验步骤按照试剂盒内说明书进行检测。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 26.0 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行为学评分、病理评分、IL-4 及 IFN-γ 水平的多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 胡日查-6 化合物及靶点获取

共得到胡日查-6 去重后的化合物 37 个,化合物对应靶点为 297 个,具体化合物结果见表 1。

表 1 蒙药胡日查-6 部分化合物
Table 1 Compounds of Mongolian medicine Huricha-6 pills

MOLID	分子名称	OB	DL	药材名称
MOL001002	ellagic acid	43.06	0.43	诃子
MOL006376	7-Dehydrosigmasterol	37.42	0.75	诃子
MOL006826	chebulic acid	72.00	0.32	诃子
MOL009135	ellipticine	30.82	0.28	诃子
MOL009136	Peraksine	82.58	0.78	诃子
MOL009137	(R)-(6-methoxy-4-quinolyl)-[(2R, 4R, 5S)-5-vinylquinuclidin-2-yl] methanol	55.88	0.40	诃子
MOL009149	Cheilanthifoline	46.51	0.72	诃子
MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75	红花
MOL002694	4-[(E)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one	48.47	0.36	红花
MOL002695	lignan	43.32	0.65	红花
MOL002710	Pyrethrin II	48.36	0.35	红花
MOL002712	6-Hydroxykaempferol	62.13	0.27	红花
MOL002714	baicalein	33.52	0.21	红花

续表

MOLID	分子名称	OB	DL	药材名称
MOL002717	qt_carthamone	51.03	0.20	红花
MOL002721	quercetagetin	45.01	0.31	红花
MOL002757	7,8-dimethyl-1H-pyrimido[5,6-g]quinoxaline-2,4-dione	45.75	0.19	红花
MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58	红花
MOL002776	Baicalin	40.12	0.75	红花
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	红花
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	红花
MOL000953	CLR	37.87	0.68	红花
MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	闹羊花
MOL005137	492-06-8	68.35	0.21	闹羊花
MOL001040	(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	42.36	0.21	甘松
MOL001689	acacetin	34.97	0.24	甘松
MOL007088	cryptotanshinone	52.34	0.40	甘松
MOL010813	Benzo[a]carbazole	35.22	0.22	木香
MOL010828	cynaropicrin	67.50	0.38	木香
MOL000211	Mairin	55.38	0.78	木香
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	木香、红花
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	木香、甘松
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	闹羊花、红花
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	闹羊花、红花
MOL006931	Isolariciresinol	6.96	0.39	黑云香
MOL000244	(-)-Borneol	81.80	0.05	黑云香
MOL000714	Phenylacetaldehyde	48.19	0.02	黑云香
MOL001578	Hypnon	38.65	0.02	黑云香

2.2 AR 相关靶点筛选

采用不同数据库筛选 AR 相关靶点,其中 OMIM 数据库得到 127 个 AR 靶点,TTD 数据库得到 27 个,DisGeNET 数据库 1 148 个,GeneCards 数

据库得到 440 个。将以上所得结果进行删除重复项,最终得到 AR 相关靶点 1 574 个。

2.3 交集靶点获取

胡日查-6 与 AR 交集靶点为 107 个,结果见图 1。

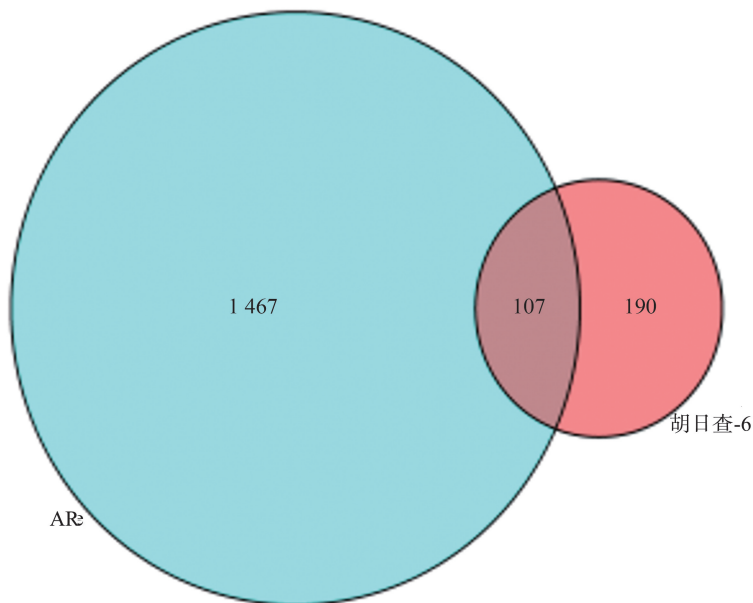


图 1 胡日查-6 与 AR 交集靶点图

Figure 1 Intersection target of Huricha-6 and AR

2.4 构建“化合物-交集靶点”网络

通过“化合物-交集靶点”网络分析,筛选得到

胡日查-6 治疗 AR 的 30 个化合物,化合物-交集靶点网络见图 2,排名前 5 的化合物结果见表 2。

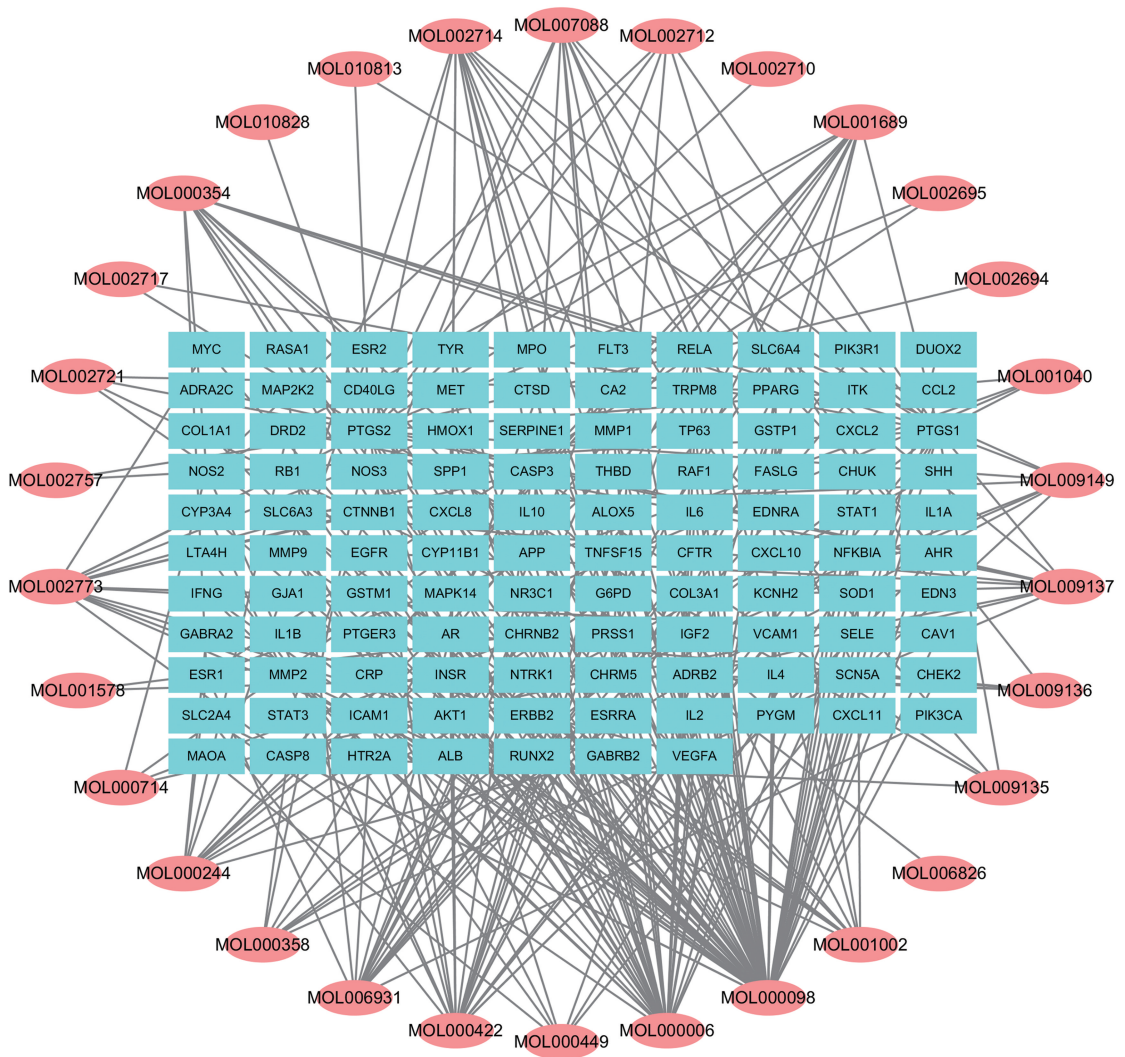


图 2 化合物-交集靶点网络图
 Figure 2 Compound-intersection target network diagram

表 2 胡日查-6 治疗 AR 的核心化合物
 Table 2 Core compounds in the treatment of AR by Huricha-6

化合物	MOL	BC	CC	度值
槲皮素	MOL000098	0.502 644 72	0.537 549 41	67
木犀草素	MOL000006	0.125 341 19	0.421 052 63	32
山柰酚	MOL000422	0.066 620 44	0.405 970 15	23
异鼠李素	MOL000354	0.060 370 25	0.378 830 08	11
奎宁	MOL009137	0.060 370 25	0.378 830 08	11

2.5 PPI 蛋白互做网络构建

交集靶点 PPI 网络包含 107 个节点,1 530 条边,平均自由度为 28.6,平均局部聚类系数为 0.629,结果见图 3。共筛选出 10 个核心(Hub)靶点,分别是血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、重组人信号转导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、白细胞介素-1B (interleukin-1B, IL-1B)、

白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白蛋白 (albumin, ALB)、前列腺素氧化环化酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、蛋白激酶 B1 (AKT Serine/threonine kinase 1, AKT1)、CC 趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)、白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10)、CXC 趋化因子配体 8 (C-X-C motif chemokine Ligand 8, CXCL8)。

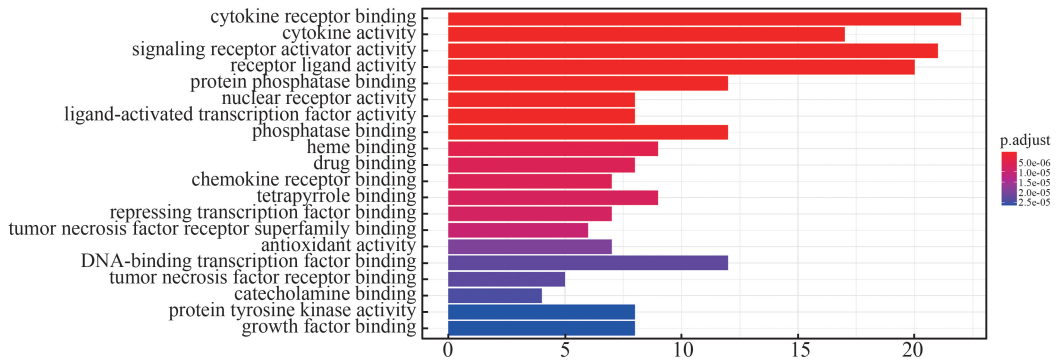


图4 胡日查-6 治疗 AR 的 GO 分析
 Figure 4 GO analysis of Huricha-6 in the treatment of AR

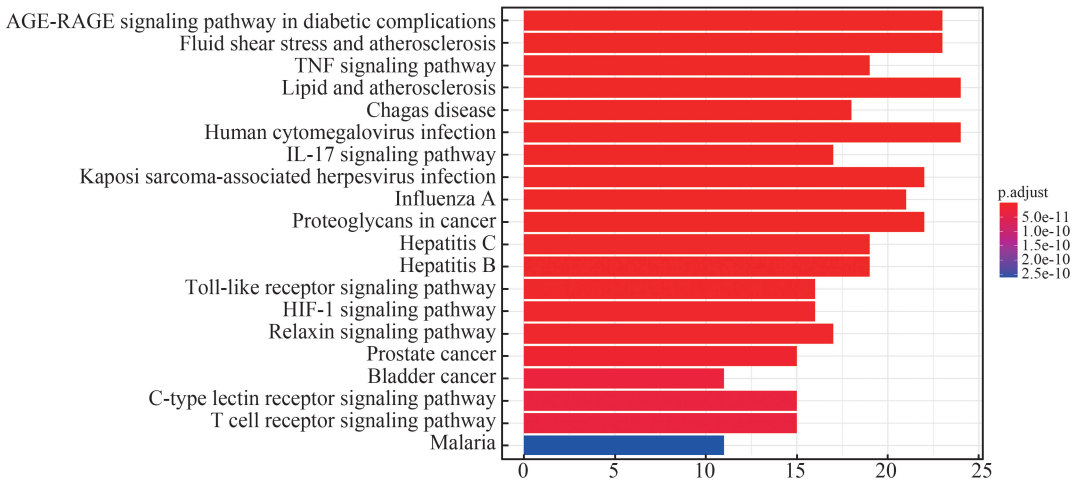


图5 胡日查-6 治疗 AR 的 KEGG 通路分析
 Figure 5 KEGG pathway analysis of Huricha-6 in the treatment of AR

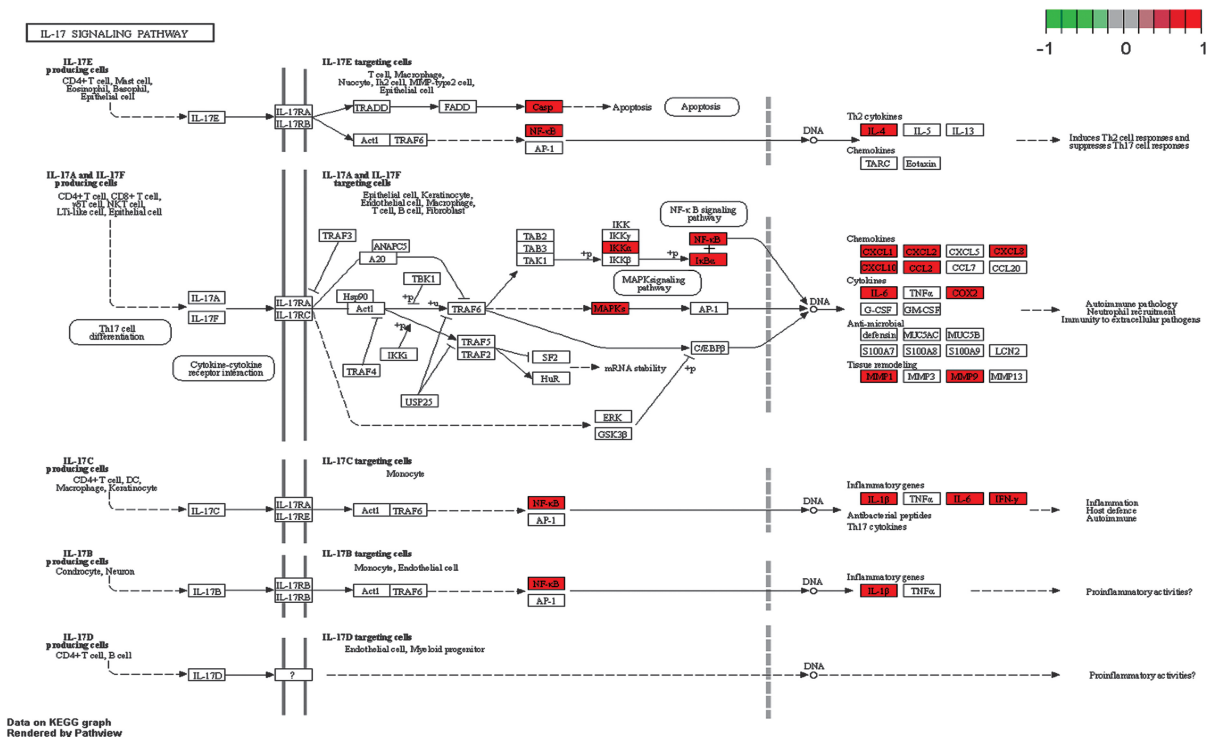


图6 IL-17 信号通路图(红色代表富集的治疗靶点)
 Figure 6 IL-17 signaling pathway (red represents enriched therapeutic targets)

2.7 分子对接验证

在 PDB 数据库中得到蛋白编号为 1mkk (VEGFA)、1bg1 (STAT3)、2nvh (IL-1B)、1alu (IL-6)、1n5u (ALB)、3nt1 (PTGS2)、2uzr (AKT1)、7so0 (CCL2)、2ilk

(IL-10)、6wzk (CXCL8)。关键化合物与靶点的结合能均小于 -5.0 kcal/mol; 结合能小于 -7.0 kcal/mol 的有 27 组, 占 54%, 结合能平均值为 -7.8 kcal/mol。阳性药物的平均结合能 -7.7 kcal/mol, 结果见图 7、表 3。

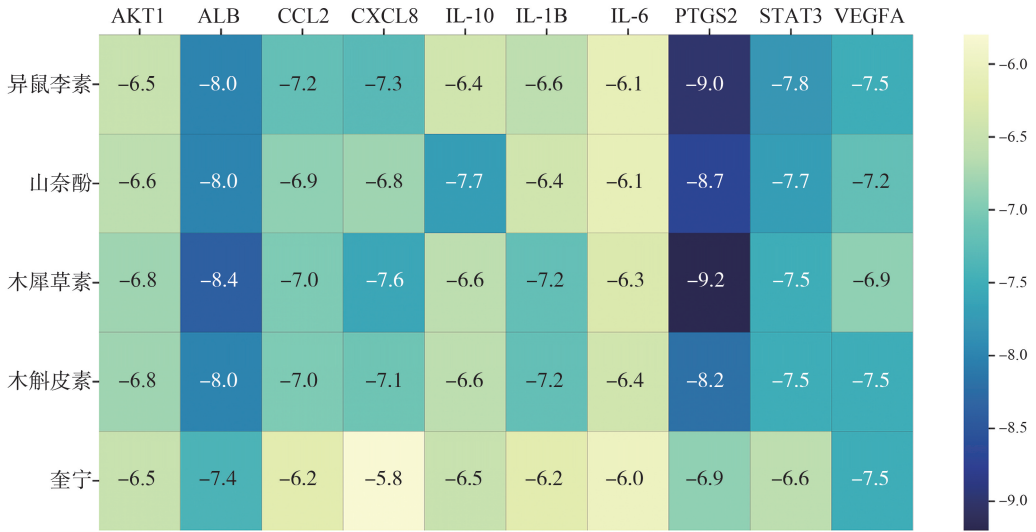


图 7 分子对接热图

Figure 7 Molecular docking heat map

表 3 核心靶点与阳性对照的分子对接结果

Table 3 Molecular docking results of core target and positive control

受体	配体	化学式	结合能/(kcal/mol)
VEGFA	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-8.8
STAT3	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-7.3
IL-1B	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-7.6
IL-6	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-8.3
ALB	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-7.7
PTGS2	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-8.9
AKT1	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-7.9
CCL2	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-7.1
IL-10	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-7.0
CXCL8	地塞米松	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	-6.7

2.8 行为学评分

治疗后各组豚鼠行为学评分分别为空白组 (2.58±1.16) 分、模型组 (5.21±1.67) 分、胡日查-6 治疗组 (3.36±1.60) 分。与空白组相比, 模型组豚鼠行为学评分显著升高 (P<0.001); 与模型组相比, 胡日查-6 治疗组行为学评分显著下降 (P=0.002)。

2.9 HE 染色及病理评分

镜下空白组豚鼠鼻黏膜结构正常, 纤毛柱状上皮完整, 无明显炎症细胞浸润。与空白组相比, 模型组豚鼠鼻黏膜纤毛受损、脱落, 黏膜下可见大量嗜酸性粒细胞及淋巴粒细胞为主的炎性细胞浸润, 伴血管扩张、充血; 与模型组相比, 胡日查-6 治疗组豚鼠鼻黏膜纤毛相对整齐, 黏膜下炎性细胞浸润减少, 血管

扩张、充血程度减轻, 结果见图 8。各组豚鼠鼻黏膜病理评分分别为空白组 (0.68±0.99) 分、模型组 (2.21±0.80) 分、胡日查-6 治疗组 (1.00±1.04) 分。与空白组相比, 模型组豚鼠鼻黏膜病理评分显著升高 (P<0.001); 与模型组相比, 胡日查-6 治疗组豚鼠鼻黏膜病理评分显著降低 (P=0.002)。

2.10 豚鼠血清中 IL-4、IFN-γ 水平

3 组豚鼠血清 IL-4 水平为空白组 (32.97±6.07) pg/mL, 模型组 (68.14±5.59) pg/mL, 胡日查-6 治疗组 (62.25±2.16) pg/mL。与空白组相比, 模型组豚鼠血清 IL-4 水平显著升高 (P<0.001); 与模型组相比, 胡日查-6 治疗组豚鼠血清 IL-4 水平显著降低 (P=0.003)。3 组豚鼠血清 IFN-γ 水平为空白组

(196.98 ± 31.57) pg/mL、模型组(119.68 ± 45.38) pg/mL、胡日查-6 治疗组(161.39 ± 28.63) pg/mL。与空白组相比,模型组豚鼠血清 IFN- γ 水平显著降低

($P < 0.001$);与模型组相比,胡日查-6 治疗组豚鼠血清 IFN- γ 水平显著升高($P = 0.004$)。

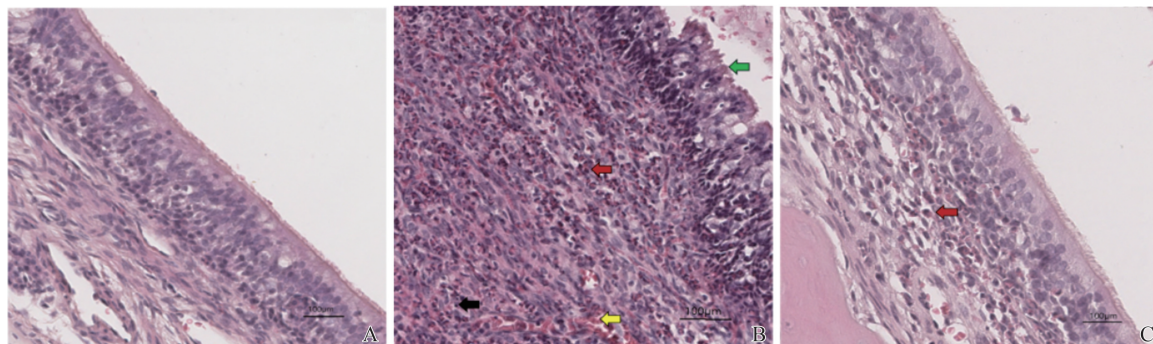


图8 各组豚鼠鼻黏膜 HE 染色图片($\times 400$)

绿色箭头示纤毛受损;红色箭头示嗜酸性粒细胞;黑色箭头示淋巴细胞;黄色箭头示血管扩张

A:空白组;B:模型组;C:胡日查-6 治疗组

Figure 8 HE staining pictures of nasal mucosa of guinea pigs in each group ($\times 400$)

Green arrow indicates ciliary damage; Red arrow indicates eosinophils; Black arrow indicates lymphocytes; Yellow arrow indicates dilated blood vessels

A: Blank group; B: Model group; C: Huricha-6 treatment group

3 讨论

蒙医学中 AR 属于亚玛病范畴,寒热错杂、罹患感冒、劳累过度或抵抗力低的同时亚玛粘虫或亚玛头虫病侵入鼻部引发打喷嚏、流鼻涕、鼻塞不通气^[13]。胡日查-6,别名满朝格-6、闹楚格-6、六锐丸,方中诃子调理体素、解毒,红花清肝热,闹羊花止痛,木香以调节体素、止痛,黑云香以调节赫依血紊乱止痛,各药相配起到祛热止痛通窍之功效^[5]。但是迄今为止,关于胡日查-6 对 AR 的机制研究较少。因此,本研究通过网络药理学结合动物实验探讨胡日查-6 治疗 AR 的作用机制。

基于网络药理学分析,我们筛选出槲皮素、木犀草素、山柰酚、异鼠李素、奎宁等 5 个关键化合物,以及 VEGFA、STAT3、IL-1B、IL-6、ALB、PTGS2、AKT1、CCL2、IL-10、CXCL8 等 10 个核心靶点。分子对接验证证实,这些化合物可以自由地与靶点结合,表明胡日查-6 具有治疗作用。其中木犀草素与关键靶点的平均结合能最高,结合能平均值为 -7.3 kcal/mol,与阳性对照组相仿,并且木犀草素与 STAT3、PTGS2、ALB 和 CXCL8 之间的结合能低于阳性对照。说明木犀草素与这些蛋白的结合更加稳定,其可能是胡日查-6 治疗 AR 最有效的化合物。前期实验及 KEGG 富集结果分析综合评判,胡日查-6 的治疗靶点主要富集在与 AR 相关的 TNF、IL-17、Toll 样受体和 HIF-1 等多条信号通路,这些通路炎症反应、免疫调节等相关^[14-16]。研究已证实^[17],IL-17 信号通路在 AR 中起关键作用,其能促进 AR 和过

敏性疾病中嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的表达,引发严重的过敏反应。此外,IL-17 的表达与 AR 病情的严重程度密切相关^[18]。因此,我们推测 IL-17 信号通路可能是胡日查-6 治疗 AR 的关键途径。为了进一步验证这一假设,我们选取了该信号通路中的炎症因子 IL-4 和 IFN- γ 作为治疗靶点,并通过动物实验对结果进行了验证。实验结果显示,经过胡日查-6 治疗,AR 豚鼠的鼻部症状得到缓解,鼻黏膜组织的炎症细胞浸润减少,血清中 IL-4 水平下降,IFN- γ 水平升高。这表明胡日查-6 对 AR 具有治疗效果,并参与了 AR 豚鼠的炎症反应过程。

本研究尚存在一些局限性。首先在 TCMSPP 数据库中未找到黑云香化合物,通过文献查找并将符合药代动力学条件的化合物纳入研究,但文献的有些化合物结构图与化源网上存在差异,为确保结果的准确性,并未将这些化合物纳入研究,因此,结果可能存在一定偏差。其次,在阳性药物的选择上,我们未能找到与治疗 AR 相关的典型化合物,所以选择了临床上常用的地塞米松作为阳性药物。然而,由于地塞米松属于激素类药物,可能两者之间缺乏可比性。再次,在验证实验方面,我们仅仅做了 IL-17 信号通路相关 IL-4 和 IFN- γ 2 个因子进行验证。

综上,本研究采用网络药理学方法对胡日查-6 治疗 AR 豚鼠的可能作用机制进行整体的预测和分析。结果表明,胡日查-6 具有多靶点和多通路治疗 AR。进一步的动物实验表明,胡日查-6 可能通过 IL-17 信号通路中的 IL-4、IFN- γ 等炎症因子的表