

引用:刘博洋,陈柳青. 基于网络药理学探讨凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮的作用机制[J]. 湖南中医杂志, 2024, 40(6): 199-204, 209.

基于网络药理学探讨凉血五花汤加味 治疗玫瑰痤疮的作用机制

刘博洋¹, 陈柳青²

(1. 湖北中医药大学, 湖北 武汉, 430065;

2. 武汉市第一医院, 湖北 武汉, 430022)

[摘要] 目的: 基于网络药理学探讨凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮的作用机制。方法: 通过 TCMSp 获取凉血五花汤加味的有效活性成分及其对应靶点, 从 GeneCards、DrugBank、OMIM、TTD 数据库检索玫瑰痤疮靶点, 运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物-成分-靶点网络图, 借用 STRING 数据库构建药物和疾病交集靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络, 通过 DAVID 数据库与微生信在线生物信息学分析可视化云平台对核心靶点基因进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果: 从凉血五花汤加味中筛选出42个活性成分, 关键成分包括槲皮素、山柰酚、木犀草素、 β -胡萝卜素、青蒿素等, 预测靶点222个, 药物疾病共同靶点45个, 核心靶点为白细胞介素-6(IL-6)、表皮生长因子受体(EGFR)、肿瘤坏死因子(TNF)、半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3)、基质金属蛋白酶-9(MMP9)等; GO功能和KEGG通路富集分析筛选出114条信号通路, 主要涉及TNF、白细胞介素-17(IL-17)、高级糖基化终末产物-受体(AGE-RAGE)、NOD样受体(NLR)信号通路等。结论: 凉血五花汤加味可能基于多成分、多靶点、多通路的特点, 相互协同发挥对玫瑰痤疮的治疗作用。

[关键词] 玫瑰痤疮; 凉血五花汤; 作用机制; 网络药理学

[中图分类号] R275.986.4 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2024.06.043

Mechanism of action of Jiawei Liangxue Wuhua decoction in treatment of acne rosacea: A study based on network pharmacology

LIU Boyang¹, CHEN Liuqing²

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei, China;

2. Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of action of Jiawei Liangxue Wuhua decoction in the treatment of acne rosacea based on network pharmacology. Methods: TCMSp was used to obtain the active components of Jiawei Liangxue Wuhua decoction and their corresponding targets, and GeneCards, DrugBank, OMIM, and TTD databases were used to obtain the targets of acne rosacea. Cytoscape 3.7.2 was used to construct a drug-component-target network; STRING database was used to construct a protein-protein interaction network for the intersecting targets of the drug and the disease; DAVID database and Weishengxin Online Bioinformatics Visualization Cloud Platform were used to perform gene ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Results: A total of 42 active components were obtained for Jiawei Liangxue Wuhua decoction, with the key components including quercetin, kaempferol, luteolin, β -carotene, and artemisinin, and there were 222 predicted targets and 45 intersecting targets of the drug and the disease, with the key targets including interleukin-6, epidermal growth factor receptor,

第一作者: 刘博洋, 男, 2021级硕士研究生, 研究方向: 中西医结合防治皮肤病及医学美容的研究

通信作者: 陈柳青, 女, 医学博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 中西医结合防治皮肤病及医学美容的研究, E-mail: chlq36@126.com

tumor necrosis factor (TNF), CASP3, and matrix metalloproteinase-9. The GO functional enrichment analysis and the KEGG pathway enrichment analysis obtained 114 signaling pathways, mainly including the TNF, interleukin-17, AGE-RAGE, and NOD-like receptor signaling pathways. Conclusion: Jiawei Liangxue Wuhua decoction exerts a therapeutic effect on acne rosacea through the synergistic effect of multiple components, targets, and pathways.

[Keywords] acne rosacea; Liangxue Wuhua decoction; mechanism of action; network pharmacology

玫瑰痤疮是一种慢性炎症性皮肤病,主要病变部位为面部皮肤、血管和毛囊皮脂腺,发病年龄为30~60岁,女性发病率高于男性。它的特点是短暂或持续的面部中央红斑,可见扩张的毛细血管,常伴有丘疹、脓疱、面部干燥脱屑、灼热刺痛等症状,晚期还会出现皮肤增生性改变,严重影响患者的心理健康和生活质量^[1]。该病的发生与遗传、血管舒缩功能障碍、天然免疫功能异常、皮肤屏障功能异常、神经血管调节功能失调与和微生态紊乱等多个方面有关^[2-4],但其确切分子机制尚不完全清楚。目前玫瑰痤疮的药物治疗主要包括抗生素、维A酸制剂、钙调磷酸酶抑制剂、羟氯喹、缩血管药等,但存在抗生素耐药性、药物系统性不良反应、病情易复发等不足^[5-6]。

凉血五花汤是皮肤科名家赵炳南经过多年临床实践总结而成的经验方,由凌霄花、玫瑰花、红花、鸡冠花、野菊花五味药物组成,在此基础上加味青蒿,具有清热凉血、活血化瘀的优良功效,广泛应用于多种面部红斑性皮肤病^[7-8]。临床研究表明,凉血五花汤加味可减少患者面部红斑、丘疹、脓疱,减轻毛细血管扩张,改善面部灼热、瘙痒感等自觉症状,相比于单一治疗方式,联用凉血五花汤加味可在一定程度上提高玫瑰痤疮的治疗应答率,降低复发率^[9-10]。本研究利用网络药理学方法,对凉血五花汤加味中药物的有效成分和治疗玫瑰痤疮的分子作用靶点、细胞信号通路等方面进行探索,旨在揭示其分子作用机制,为今后相关研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 凉血五花汤加味活性成分及其作用靶点筛选

在中医药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://old.tcmssp-e.com/tcmssp.php>)上设置中药化学成分筛选条件为类药性(DL)≥0.18,口服生物利用度(OB)≥30%,获取凉血五花汤加味中红花、鸡冠花、凌霄花、玫瑰花、野菊花、青蒿的活性成分,再利用TCMSP数据库并结合文献检索,收集活性成分的靶标蛋白,最后通过UniProt(<https://www.uniprot.org/>)数据库,将靶标蛋白名转化成标准基因名称;使用Cytoscape 3.7.2软件建立药物-活性成分-作用靶点网络图。

1.2 玫瑰痤疮潜在靶点的获取 分别在GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、Drugbank([\[drugbank.com/\]\(https://go.drugbank.com/\)\)、TTD\(<https://db.idrblab.net/ttd/>\)、OMIM\(<https://omim.org/>\) 4个数据库中检索“rosacea”,选取4个数据库得到的靶点合集,删除重复项,得到玫瑰痤疮疾病靶点。](https://go.</p></div><div data-bbox=)

1.3 凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮潜在靶点筛选

将凉血五花汤加味作用靶点和玫瑰痤疮的疾病靶点录入Venny 2.1平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>),得到凉血五花汤加味和玫瑰痤疮交集靶点,即为凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮潜在治疗靶点,通过Cytoscape 3.7.2软件构建药物-成分-潜在靶点-疾病网络图。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建与拓扑分析 将“1.3”项下获得的药物与疾病的共同靶点上传至STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>),物种限定为“Homo Sapiens”,设定中等置信度(0.4),其余参数不变,将获得的数据保存为“TSV文件”,导入Cytoscape 3.7.2软件,通过Network Analyzer功能分析PPI网络中各个节点的度值参数,根据Degree值设置节点大小,筛选得到凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮的核心靶点,绘制PPI网络图。

1.5 基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将药物和疾病之间共同靶点导入DAVID数据库(<https://david.ncicrf.gov/>)进行聚类分析,对关键靶点相关的细胞组分(CC)、分子功能(MF)、生物过程(BP)进行GO功能与KEGG通路富集分析,再通过微生信在线生物信息学分析可视化云平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制柱状图与气泡图。

2 结果

2.1 凉血五花汤加味活性成分与作用靶点 通过TCMSP检索共获得58种潜在活性成分,其中红花16种、鸡冠花5种、凌霄花3种、玫瑰花6种、野菊花9种、青蒿19种,去除部分药物共有成分,剩余42种活性成分,获得预测靶点222个。利用Cytoscape 3.7.2软件构建药物-活性成分-作用靶点网络图(见图1)。其中湖绿色菱形节点代表作用靶点,圆形节点代表凉血五花汤加味活性成分,红色六边形代表4种药物共有成分,橘色红色六边形代表3种药物共有成分,紫色六边形代表2种药物共有成分。

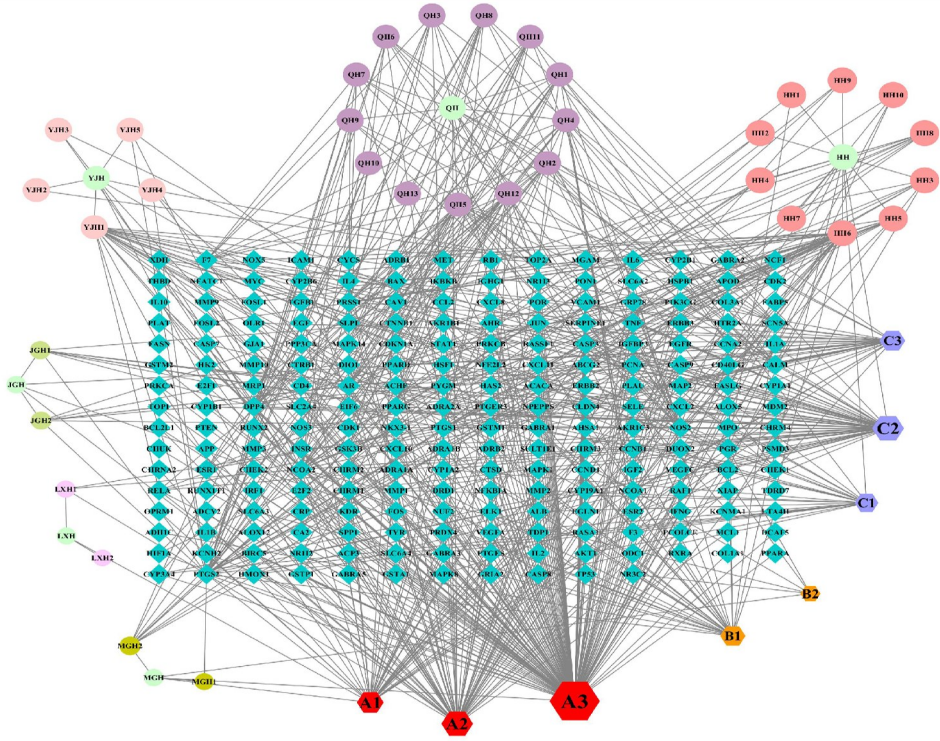


图 1 药物-活性成分-作用靶点-网络图

2.2 凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮潜在靶点 分别在 GeneCards、Drugbank、OMIM、TTD 数据库检索“rosacea”，整理去重后共获得 649 个疾病靶点。将凉血五花汤加味作用靶点和玫瑰痤疮疾病靶点输入 Venny 2.1 平台，获得交集靶点 45 个，即为凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮潜在治疗靶点，利用 Cytoscape 3.7.2 软件构建药物-成分-潜在靶点-疾病网络图(见图 2)。其中绿色节点代表凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮活性成分，蓝色代表潜在靶点，每条边代表成分和靶点的相互作用，其中槲皮素、山柰酚、木犀草素、β-胡萝卜素、青蒿素等成分对应的靶点最多，可能是凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮潜在靶点的核心成分(见表 1)。

2.3 PPI 网络构建与拓扑分析 将 45 个凉血五花汤加味和玫瑰痤疮交集靶点输入 STRING 数据库，得到 PPI 网络 TSV 文件，将文件导入 Cytoscape 3.7.2 软件绘制 PPI 网络，进行拓扑分析(见图 3)，图中形状越大、颜色越深代表 degree 值越大，靶点越重要，其中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF)、表皮生长因子受体(EGFR)、半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3)、基质金属蛋白酶-9(MMP9)等靶点可能在凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮中发挥关键作用。

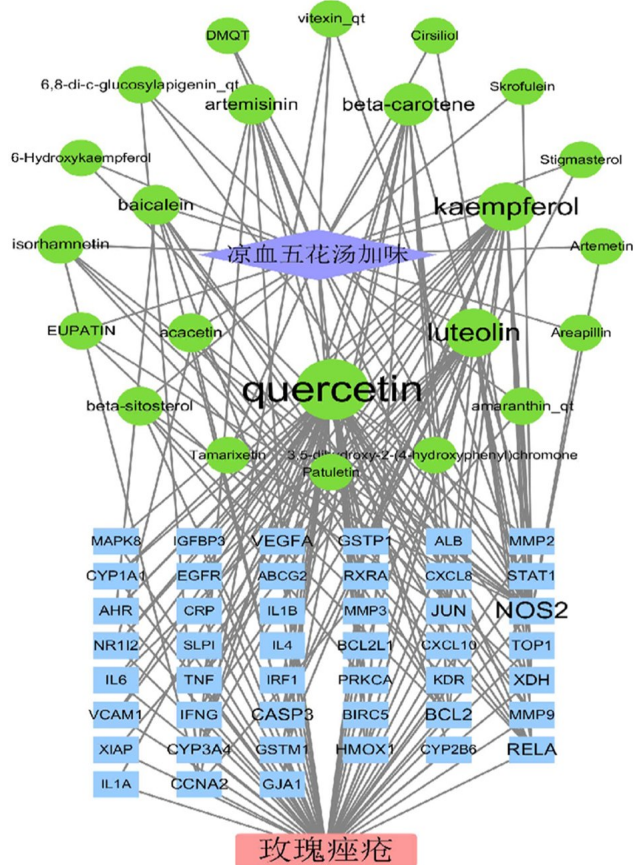


图 2 药物-成分-潜在靶点-疾病网络图

表1 凉血五花汤加味干预玫瑰痤疮的活性成分(前10位)

序号	名称	来源	OB/%	DL	度值	序号	名称	来源	OB/%	DL	度值
1	槲皮素(queretin)	红花、玫瑰花、野菊花、青蒿	46.43	0.28	37	6	黄芩素(baicalein)	红花	33.52	0.21	7
2	山柰酚(kaempferol)	红花、青蒿	41.88	0.24	19	7	金合欢素(acacetin)	野菊花	34.97	0.24	5
3	木犀草素(luteolin)	红花、鸡冠花、野菊花、青蒿	36.16	0.25	19	8	异鼠李素(isorhametin)	鸡冠花、青蒿	49.60	0.31	5
4	β-胡萝卜素(beta-carotene)	红花、玫瑰花	37.18	0.58	10	9	β-谷甾醇(beta-sitosterol)	红花、凌霄花、玫瑰花、野菊花	36.91	0.75	5
5	青蒿素(artemisinin)	青蒿	49.88	0.31	7	10	苋菜苷(amaranthin-qt)	鸡冠花	76.99	0.52	3

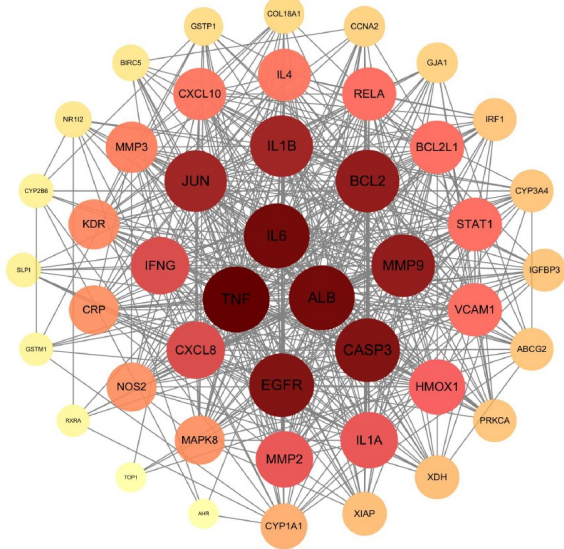


图3 药物与疾病核心靶点的PPI网络图

2.4 GO功能富集与KEGG通路分析 GO功能富集分析中共确定了359条GO条目,其中CC 24条, BP 280条, MF 55条,筛选 $P \leq 0.01$, Count 值前10位

的条目作图(见图4)。涉及BP主要有对脂多糖的细胞反应(cellular response to lipopolysaccharide)、基因表达的正向调节(positive regulation of gene expression)、凋亡过程的负向调节(negative regulation of apoptotic process)、DNA诱导转录的正向调节(positive regulation of transcription, DNA-templated);涉及CC主要有核浆(nucleoplasm)、细胞质(cytoplasm)、细胞核(nucleus)、细胞外间隙(extracellular space)等;涉及MF主要有蛋白质同源二聚化活性(protein homodimerization activity)、相同蛋白质结合(identical protein binding)、酶结合(enzyme binding)等。KEGG通路富集分析得到114条通路,按 $P < 0.05$ 排序,选择前20个信号通路进行可视化(见图5),主要涉及肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway)、白细胞介素-17(IL-17 signaling pathway)、高级糖基化终末产物-受体(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、NOD样受体(NOD-like receptor signaling pathway)信号通路等。

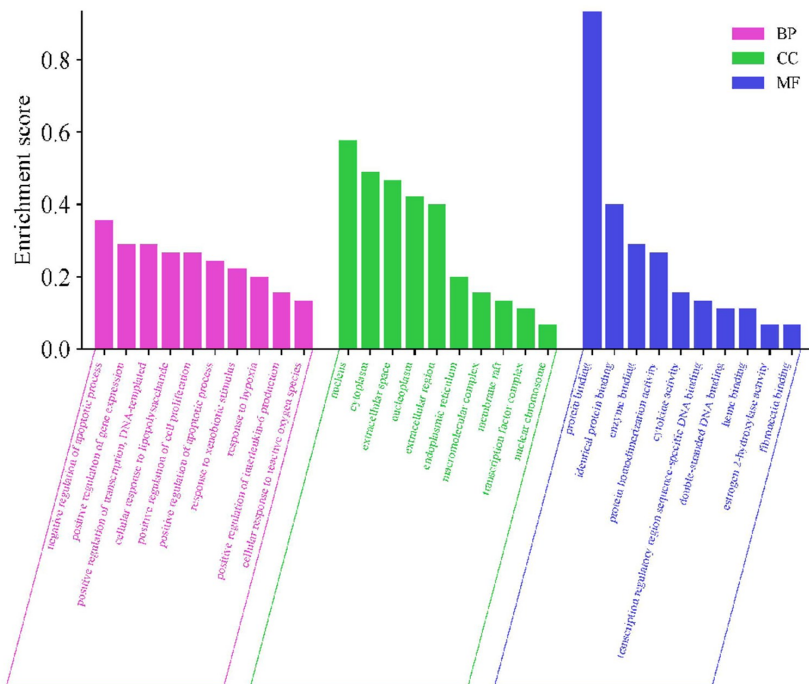


图4 GO功能富集分析(前10位)

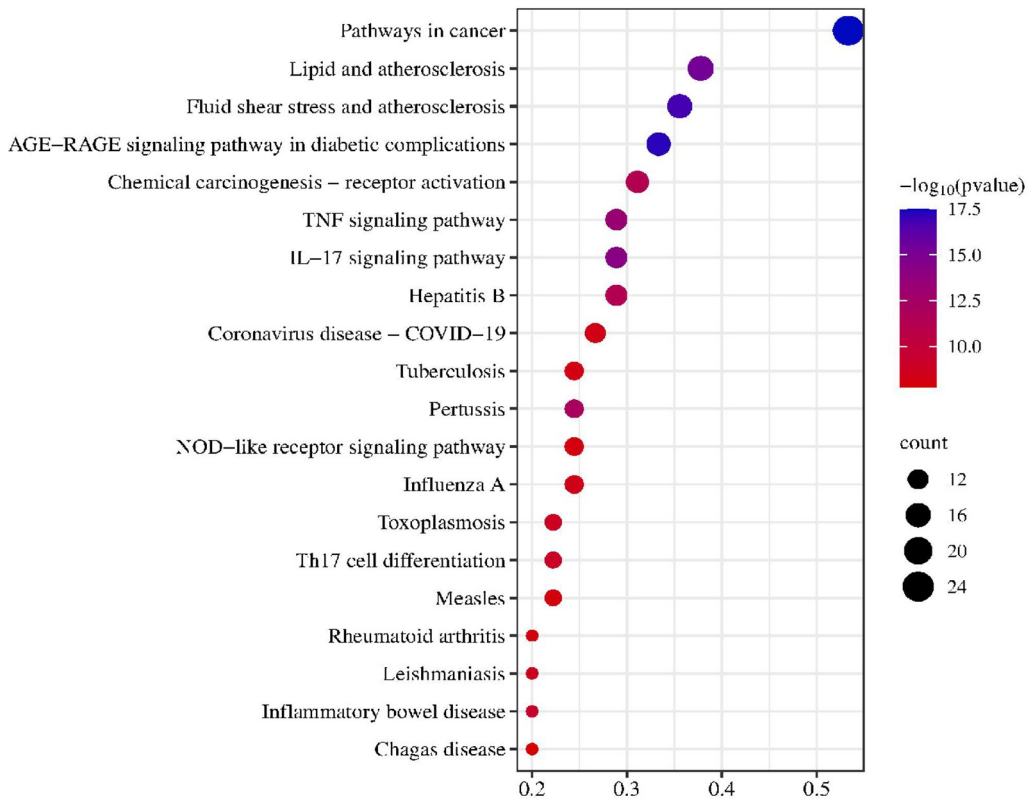


图 5 KEGG 通路富集分析(前 20 位)

3 讨 论

玫瑰痤疮属于中医学“酒齄鼻”“肺风”“粉刺”等范畴,《素问·生气通天论》曰:“劳汗当风,寒薄为皴,郁乃痤。”《诸病源候论·面体诸病》言:“此由饮酒,热势冲面,而遇风冷之气相搏所生,故令鼻面生皴,赤疱币币然也。”中医学认为玫瑰痤疮多因饮食不节,肺胃积热上蒸,复感风邪,血瘀凝结而成,治宜清热凉血、活血化瘀。凉血五花汤中凌霄花味甘、酸,性微寒,凉血祛风而不凝滞,活血通经而不伤正,是为君药;鸡冠花清热凉血活血,红花、玫瑰花理气活血化瘀,均为臣药;血热日久易生毒,故佐以野菊花清热解毒,全方共奏凉血活血、清热解毒之功^[11]。此外,由于玫瑰痤疮属于光敏性红斑性皮肤病,具有日晒后加重这一特点,添加青蒿不仅能清透血分伏热,其中的青蒿琥酯还有抑制光敏反应的作用^[12],对玫瑰痤疮样炎症反应也具有抑制作用^[13]。故临床常用凉血五花汤加青蒿治疗玫瑰痤疮等具有光敏性面部红斑性皮肤病^[7,14]。

本研究通过网络药理学方法初步筛选出凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮的主要活性成分为槲皮素、山柰酚、 β -胡萝卜素、木犀草素、青蒿素等。研

究表明槲皮素和山柰酚是自然界常见的黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗菌等多种药理特性,可抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 等炎症因子和多条炎症信号通路的激活,减轻皮肤炎症损伤^[15-16]。木犀草素具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗肿瘤等作用,可以通过减少活性氧的生成进而抑制炎症因子的表达还能干扰花生四烯酸的代谢,抑制核因子- κ B (NF- κ B) 信号通路,缓解炎症反应^[17-18]。 β -胡萝卜素具有抗突变、抗氧化的特性,有学者发现口服 β -胡萝卜素可以降低皮肤对紫外光的敏感性^[19-20]。青蒿素能通过抑制白细胞介素-8 (IL-8) 所致的嗜中性粒细胞趋化,减轻皮炎小鼠的炎症反应,此外青蒿素类药物可以通过抑制血管内皮生长因子 (VEGF) 和 MMP9 表达,发挥抗血管生成作用,改善玫瑰痤疮样皮炎^[21-22]。

凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮核心靶点为 TNF、IL-6、EGFR、CASP3、MMP9 等。TNF 和 IL-6 是常见用于衡量机体炎症水平的因子,长期的炎性刺激会导致毛细血管的增生与扩张,出现皮肤红斑、丘疹等改变,研究发现抑制 IL-6、TNF- α 的表

达可减弱玫瑰痤疮样表现和炎症反应^[23-24]。EGFR属于酪氨酸激酶受体,它在细胞迁移、黏附、增殖、凋亡等生物过程中具有重要作用,在皮肤的角质形成细胞中,EGFR信号是调节皮肤屏障功能和炎症的关键信号因子^[25-26]。MMP-9属于MMP家族,玫瑰痤疮的皮损中MMP-9的活性与表达都迅速上升,并会引发炎症组织损伤、炎症细胞聚集以及细胞外基质的降解,这些改变可能会导致玫瑰痤疮的发病或者病情的加重^[27]。

通过GO功能和KEGG通路富集分析发现,凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮主要通过调控IL-17、TNF、AGE-RAGE、NOD样受体等信号通路发挥作用。局部皮肤天然免疫反应过度激活是玫瑰痤疮炎症反应的重要因素,这一过程涉及的靶点主要为抗菌肽LL-37、激肽释放酶5(KLK5)和Toll样受体2(TLR2)^[28]。抗菌肽LL-37可招募天然免疫细胞,促进血管扩张再生的作用,进而诱导皮肤出现玫瑰痤疮样炎症反应,KLK5在水解抗菌肽前体中起关键作用,玫瑰痤疮中天然免疫分子TLR2在角质形成细胞中的过度表达会促进角质形成细胞释放KLK5,KLK5水解抗菌肽前体,致使有免疫活性的LL-37在局部增多,LL-37可促进白细胞趋化和肥大细胞脱颗粒,诱导促炎介质如IL-6和MMP9的释放^[2]。此外,LL-37还可促进NLRP3炎症小体的组装和激活,诱导细胞死亡并激活许多其他促炎因子如IL-8和TNF- α 等加重炎症反应。IL-17是一种来源于CD4⁺的促炎细胞因子,在痤疮患者的皮损中呈高表达,IL-17可以通过JAK/STAT路径上调VEGF的表达,诱导血管生成,引起皮肤毛细血管扩张^[29]。目前暂无充分证据表明AGE-RAGE信号通路直接参与了玫瑰痤疮的发生发展,但RAGE激活会使NF- κ B向细胞核转移,与DNA序列结合,进而调控靶基因包括细胞因子TNF- α 、IL-6、IL-1 β 与黏附分子VCAM-1、ICAM的表达,这些机制在促进玫瑰痤疮的发生过程中具有重要的作用^[30]。

本研究通过网络药理学方法探讨凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮的潜在作用机制,结果显示,凉血五花汤加味治疗玫瑰痤疮的有效成分可多靶点调控,参与多种信息通路和生物学过程,体现了凉血五花汤加味多成分-多靶点-多通路治疗玫瑰痤疮的作用特点,符合中医药多层次治疗疾病的特

点。研究不足之处在于,该研究通过现有网络数据库和利用已知的PPI关系进行网络拓扑,数据库中的数据有限,致使数据库收录的信息也存在一定的偏倚,凉血五花汤加味相关确切治疗途径还有待进一步实验验证。

参考文献

- [1] 赵辨. 中国临床皮肤病学[M]. 2版. 南京:江苏凤凰科学技术出版社,2017:783.
- [2] 袁新,汪霖,邓智利,等. 玫瑰痤疮发病机制研究进展[J]. 中国皮肤性病学杂志,2021,35(8):943-948.
- [3] RODRIGUES-BRAZ D, ZHAO M, YESILIRMAK N, et al. Cutaneous and ocular rosacea: Common and specific physiopathogenic mechanisms and study models[J]. Mol Vis, 2021, 27:323-353.
- [4] THOMPSON K G, RAINER B M, ANTONESCU C, et al. Comparison of the skin microbiota in acne and rosacea[J]. Exp Dermatol, 2021, 30(10):1375-1380.
- [5] 李峰,赵文. 玫瑰痤疮的治疗进展[J]. 临床皮肤科杂志, 2022, 51(6):378-380.
- [6] VAN ZUUREN E J, ARENTS B W M, VAN DER LINDEN M M D, et al. Rosacea: New concepts in classification and treatment[J]. Am J Clin Dermatol, 2021, 22(4):457-465.
- [7] 秦万里,陈硕,曲剑华. 曲剑华应用凉血五花汤治疗面部红斑性皮肤病经验[J]. 中医药导报, 2020, 26(11):181-183.
- [8] 张小燕,赵子赫,杨磊. 赵炳南凉血五花汤辨治红斑类皮肤病概述[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(1):232-234.
- [9] 张海贞,鄧永涛,胥亚彤. 超分子水杨酸联合凉血五花汤治疗玫瑰痤疮临床经验[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2023, 39(10):725-727.
- [10] 邵丽芳,田蓉,杨庆琪,等. 米诺环素联合凉血五花汤加减治疗玫瑰痤疮的疗效分析[J]. 中国医疗美容, 2020, 10(6):84-87.
- [11] 赵炳南,张志礼. 简明中医皮肤病学[M]. 北京:中国中医药出版社,2014:261-295.
- [12] 李婷,胡阳,俞爱华,等. 口服青蒿琥酯治疗酒渣鼻31例临床观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2015, 29(3):330-332.
- [13] 李婷,曾庆文,陈向明,等. 青蒿琥酯对小鼠玫瑰痤疮样炎症的作用观察[J]. 中华皮肤科杂志, 2017, 50(9):650-653.
- [14] 朱慧婷,李伯华,杨岚,等. 赵炳南凉血五花汤活法治疗玫瑰痤疮的中医经验[J]. 中华医学美容美容杂志, 2022, 28(1):65-66.
- [15] LIM H J, KANG S H, SONG Y J, et al. Inhibitory effect of quercetin on propionibacterium acnes-induced skin inflammation[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 96:107557.
- [16] 万春梅,石春蕊,高军. 槲皮素和山柰酚对痤疮相关致病菌抗菌作用及网络药理学研究[J]. 安徽医药, 2023, 27(10):2092-2098.
- [17] 丁晓彦,林志军,王岱. 金银花-连翘药对的成分和药理作用研究进展[J]. 山东科学, 2019, 32(3):36-41.