

· 数据挖掘 ·

## 基于网络药理学和体内实验验证霍山石斛治疗胃溃疡的作用机制

桂文琪, 方媛, 聊晓玉, 孙纪, 俞年军, 彭代银\*, 韩岚\*

(安徽中医药大学药学院, 中药复方安徽省重点实验室, 安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 合肥 230012)

**[摘要]** 目的:通过网络药理学方法及体内实验研究探讨霍山石斛治疗胃溃疡(GU)的作用机制。方法:从中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库及文献中收集建立霍山石斛的成分库,寻找其主要活性化合物,并通过TCMSP等数据库预测作用靶点。从GeneCards、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、DisGeNET等数据库中筛选GU相关基因,将成分靶点与疾病基因交集后构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,并进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。根据预测结果采用苏木素-伊红(HE)染色法、免疫组化、酶联免疫吸附测定法(ELISA)、蛋白免疫印迹法(Western blot)、实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)等实验验证霍山石斛对乙酸诱导GU大鼠模型的影响。结果:筛选出霍山石斛63种有效成分,得到霍山石斛治疗GU的靶基因37个,PPI分析得到多个霍山石斛治疗GU的可能核心靶点,并通过作用于磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)、缺氧诱导因子-1(HIF-1)、肿瘤坏死因子(TNF)、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)等信号通路和各种生物过程影响GU的发展。体内实验结果显示,霍山石斛可显著降低模型大鼠血清中白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ),白细胞介素-6(IL-6)及TNF- $\alpha$ 等炎症因子的水平( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),增加溃疡边缘的胃血流量(GBF),增加溃疡边缘表皮生长因子(EGF),表皮生长因子受体(EGFR)的表达( $P<0.01$ ),显著下调GU大鼠胃组织中PI3K, Akt蛋白和mRNA的表达,上调人第10号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)蛋白和mRNA的表达( $P<0.01$ )。结论:网络药理学分析及动物实验结果提示,霍山石斛可以通过调节EGFR/PI3K/Akt信号通路抑制组织炎症,增加溃疡边缘的胃微循环血流,促进细胞增殖和受损胃黏膜的修复。

**[关键词]** 霍山石斛; 胃溃疡; 网络药理学; 作用机制; 磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)07-0151-11

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220507

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220105.1700.004.html>

**[网络出版日期]** 2022-01-06 20:59

### Mechanism of *Dendrobium huoshanense* in Treatment of Gastric Ulcer: Based on Network Pharmacology and *in Vivo* Experiment

GUI Wen-qi, FANG Yuan, LIAO Xiao-yu, SUN Ji, YU Nian-jun, PENG Dai-yin\*, HAN Lan\*  
(School of Pharmacy of Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Province Key Laboratory of Chinese Medicinal Compounds, Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine, Heifei 230012, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the mechanism of *Dendrobium huoshanense* in the treatment of gastric ulcer (GU) based on network pharmacology and *in vivo* experiment. **Method:** The active components of *D. huoshanense* were searched from Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis

**[收稿日期]** 2021-10-28

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(U19A2009);安徽高校科研创新平台团队项目(皖教秘科[2015]49)

**[第一作者]** 桂文琪,在读硕士,从事中药药理学研究,E-mail:gwq1405@stu.ahtcm.edu.cn

**[通信作者]** \*彭代银,教授,博士生导师,从事中药资源研究与开发、中药药理学研究,E-mail:pengdaiyin@163.com;

\*韩岚,教授,硕士生导师,从事中药药理方向的研究,E-mail:hanlan56@ahtcm.edu.cn

Platform (TCMSP) and literature, and the targets of the components were screened from TCMSP and SwissTargetPrediction. GU-related genes were retrieved from GeneCards, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), and DisGeNET. Thereby, the common targets of the disease and the medicinal were yielded and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed, followed by Gene Ontology (GO) term enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment. According to the predicted results, hematoxylin-eosin (HE) staining, immunohistochemistry, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western blot, and real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) were used to validate the effects of *D. huoshanense* on acetic acid-induced GU in rats. **Result:** A total of 63 active components of *D. huoshanense* and 37 target genes of *D. huoshanense* for the treatment of GU were screened out. PPI network analysis yielded several possible core anti-GU targets of *D. huoshanense*. They influenced the development of GU by acting on signaling pathways such as phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt), hypoxia inducible factor-1 (HIF-1), tumor necrosis factor (TNF), and nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), and various biological processes. The *in vivo* experiment showed that *D. huoshanense* significantly reduced the levels of inflammatory factors such as interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), and TNF- $\alpha$  in the serum of model rats ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), increased gastric blood flow (GBF) at the ulcer margin, raised the expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) at the ulcer margin ( $P < 0.01$ ), significantly down-regulated protein and mRNA expression of PI3K and Akt, and up-regulated protein and mRNA expression of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) in the gastric tissues of GU rats ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Through regulating EGFR/PI3K/Akt signaling pathway, *D. huoshanense* can inhibit tissue inflammation, increase gastric microcirculatory blood flow at the ulcer margin, and promote cell proliferation and repair of damaged gastric mucosa.

**[Keywords]** *Dendrobium huoshanense*; gastric ulcer; network pharmacology; mechanism; phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway

胃溃疡(GU)是一种典型的消化性溃疡疾病,主要的病理特征是胃黏膜或近端肠道的黏膜破裂并延伸至黏膜肌层<sup>[1]</sup>。研究发现我国一些地区的GU发病率高达6.07%<sup>[2]</sup>,且吸烟、过量饮酒或长期服用非甾体抗炎药的人发病率更高<sup>[3-4]</sup>。目前被广泛认可GU的发病机制是攻击因子与防御因子失衡及幽门螺杆菌感染<sup>[5]</sup>。但治疗方法有限,临床常用质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂、胃酸中和剂、抗生素等进行治疗,且多有副作用。因此,寻找高效、低毒的治疗GU的药物具有重要意义。

依据GU上腹部疼痛、泛酸、恶心呕吐、暖气腹胀等症状,可纳入中医学“胃脘痛”“吐酸”“痞满”“嘈杂”等范畴<sup>[6]</sup>。霍山石斛是兰科石斛属的草本植物,最早记载于《神农本草经》,具有滋阴清热、益胃生津的功效,古籍中多有厚肠胃的记载。有研究报道,霍山石斛多糖能增强肠道的免疫反应<sup>[7]</sup>,改善氧化应激和抑制体内急、慢性炎症<sup>[8]</sup>,还能调节肠道水液代谢,改善大鼠脾脏、小肠和大肠的病理状态,发挥养阴清热、厚肠胃的作用<sup>[9]</sup>。由此可知,霍山石斛对胃肠功能的保护作用与多种因素有关,但其治疗

GU的作用机制尚不清楚,需要进一步研究。

网络药理学以系统生物学和多向药理学为理论基础,以生物分子网络分析方法为工具,寻找和识别疾病相关网络的关键节点<sup>[10-11]</sup>,其整体性、系统性和对药物间相互作用的关注也符合中医药的基本特点。为了探究霍山石斛治疗GU的作用机制,本研究拟采用网络药理学方法构建“药物-靶点-疾病”网络,并通过网络分析、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路和基因本体(GO)分析探讨霍山石斛在GU治疗中的潜在作用机制,并进一步通过体内实验验证网络药理学预测的霍山石斛治疗GU的分子机制,为临床治疗和药物研发提供科学参考依据。

## 1 网络药理学分析

**1.1 霍山石斛活性成分和靶点的收集及筛选** 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)<sup>[12]</sup>和相关文献收集霍山石斛的化学成分,建立成分库。在PubChem数据库中搜索各化学成分的基本信息,并统一化学成分名称,下载并保存其PubChem ID和2D结构图。将获得的化学成分结构

图以SDF格式上传至Swiss ADME数据库进行药物代谢动力学(ADME)筛选<sup>[13]</sup>。符合以下条件的成分被保留。①胃肠道吸收在药代动力学指标中显示为“高”;②类药性筛选中两项及两项以上符合。从TCMSP和Swiss Target Prediction数据库<sup>[14]</sup>中筛选获得霍山石斛活性成分的靶点。并使用Uniprot数据库将蛋白质名称统一为基因名称。并通过Cytoscape 3.8.0构建“霍山石斛-活性成分-靶点”网络。

**1.2 GU相关靶点的收集与分类** 在GeneCards数据库、在线人类孟德尔遗传(OMIM)数据库和DisGeNET数据库中搜索关键词“胃溃疡”,将获得的靶点信息进行合并,去除重复的靶点,得到与GU对应的靶点,对筛选出的GU相关基因和靶点信息进行分析。对霍山石斛的成分靶点和GU疾病的基因靶点进行映射,得到了疾病和药物的共同潜在靶点。将共同靶点输入DisGeNET数据库,并从数据库中检索基因名称以获得相应的蛋白质类别,并通过Cytoscape 3.8.0构建“霍山石斛-活性成分-靶点-疾病”网络。

**1.3 建立蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络** 为寻找霍山石斛治疗GU的核心基因,利用STRING 11.0数据库构建PPI网络,了解蛋白质之间的相互作用,并通过Cytoscape 3.8.0对获得的PPI网络数据进行了网络拓扑分析和可视化。

**1.4 GO分析和KEGG分析** 将获得的霍山石斛治疗GU的潜在靶点输入David数据库,对潜在的靶点进行GO分析和KEGG途径富集的筛选。并利用Cytoscape 3.8.0构建“霍山石斛-关键成分-核心靶点-通路”的网络图。

## 2 体内实验验证

### 2.1 材料

**2.1.1 动物** SPF级SD大鼠,雄性,体质量180~220 g,共48只,购自安徽医科大学实验动物中心,合格证号SCXK(浙)2019-0002,温度23~25℃,湿度50%~60%,实验前适应性饲养1周,自由进食和饮水,本实验得到安徽中医药大学伦理委员会的批准(动物伦理学编号AHUCM-rats-2021015)。

**2.1.2 试剂** 冰乙酸(天津市风船化学试剂科技有限公司);4%多聚甲醛、伊红染液、苏木素染液、苏木素分化液、苏木素返蓝液及表皮生长因子受体(EGFR)抗体(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为G1101、G1002、G1004、G1309、G1340、GB111504);表皮生长因子(EGF)抗体(北京博奥森

生物技术有限公司,货号bs-2010R);无水乙醇、二甲苯、正丁醇及中性树胶(国药集团化学试剂有限公司,货号分别为100092683、10023418、100052190、10004160);大鼠白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、大鼠白细胞介素-6(IL-6)、大鼠白细胞介素-10(IL-10)、大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(江苏酶免实业有限公司,货号分别为MM-0047R2、MM-0190R2、MM-0195R2、MM-0180R2);BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号P0012S);磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)抗体、人第10号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)内参抗体(成都正能生物技术有限责任公司,货号分别为341468、321015、380626);蛋白激酶B1(Akt1,武汉赛维尔生物科技有限公司,货号GB111114);山羊抗兔二抗(Abbkine科技有限公司,货号A21020);极超敏化学发光试剂盒(山东思科捷生物技术有限公司,货号ED0015-B);TRIzol[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,货号15596026];反转录试剂盒(兰杰柯科技有限公司,货号BL696A);SYBR Green实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR) Master Mix(日本Toyobo公司,货号117400)。

**2.1.3 药物** 霍山石斛干条(批号180402),购自安徽省霍山县长冲中药开发有限公司,经安徽中医药大学中药资源系俞年军教授鉴定为正品,使用纯水煎煮药物2次提取药材<sup>[15]</sup>,经旋转蒸发器浓缩至0.28 g·mL<sup>-1</sup>,存于4℃冷藏备用;奥美拉唑粉针剂(批号202101022,湖南五洲通药业有限责任公司),使用前用生理盐水配置成水溶液,现用现配,给药剂量为4 mg·kg<sup>-1</sup>(根据人与大鼠给药量进行换算)。

**2.1.4 仪器** EG 1160型组织病理包埋仪、RM2135型组织病理切片机(德国徕卡仪器有限公司),QP-B型切片漂烘仪(安徽合肥电子研究所),RT-6000型酶标仪(雷杜生命科学股份有限公司),JW3021HR型离心机(安徽嘉文有限公司),GL-88B型漩涡混合器(其林贝尔仪器制造公司),perflux 5000型激光多普勒血流仪(Perimed中国有限公司),Olympus CX31型显微镜、BH-2型光学显微镜(日本Olympus公司),applied biosystems 7500型Real-time PCR仪(赛默飞世尔科技有限公司),BioPhotometer plus核酸蛋白测定仪(德国艾本德公司)

### 2.2 方法

**2.2.1 分组与造模** 大鼠适应性饲养7 d后采用恒

机数字表法随机分为正常组,模型组,奥美拉唑组,霍山石斛高、中、低剂量组(2.8、1.4、0.7 g·kg<sup>-1</sup>),每组8只。参考文献[16-17]采用冰乙酸烧灼法对除正常组外的大鼠进行造模,将麻醉后的大鼠固定于鼠板上,胸骨剑突2 cm范围剃毛并消毒,于剑突下沿腹中线行2 cm左右切口,打开腹腔,用无齿镊于大鼠腹腔内找到胃的位置,将胃体轻拉出腹腔使胃部完全暴露。以蘸100%冰乙酸的直径0.5 cm的圆形滤纸贴于胃前壁胃窦胃体交界部位近幽门侧浆膜上烧灼30 s,取下后再重复烧灼操作1次,注意避开血管走行部位,生理盐水冲洗后用纱布吸干,覆上大网膜,在局部喷射庆大霉素以防感染。放回胃,以缝合线逐层缝合切口,并用碘伏、乙醇消毒,常规饲养。

**2.2.2 大鼠用药剂量及给药** 大鼠给药剂量根据人与大鼠给药剂量换算,换算公式参考第四版《药理学实验方法》,即 $D_b' = D_a \cdot R_{ab} \cdot S_b$ ,  $S_b = 1/(W/W_{标})^{1/3}$ ,其中 $D_b'$ 为大鼠非标准体质量剂量(大鼠标准体质量 $W_{标}$ 为150 g,实验大鼠体质量 $W$ 取180 g), $D_a$ 为人的每1 kg体质量剂量(参考2020版《中国药典》一部中霍山石斛干品用量6~12 g<sup>[18]</sup>),按每天平均用药量7 g折算成大鼠的用量,取人标准体质量为60 kg), $R_{ab}$ 为人与大鼠的换算系数(查表可得为6.17), $S_b$ 为校正系数。按上述公式计算可知,霍山石斛高、中、低组大鼠用药剂量约等于2.8、1.4、0.7 g·kg<sup>-1</sup>,相当于临床人用量的4、2、1倍。造模后第3天,每天上午9点开始灌胃给药,奥美拉唑组、霍山石斛高、中、低剂量组分别按照4 mg·kg<sup>-1</sup>、2.8、1.4、0.7 g·kg<sup>-1</sup>灌胃奥美拉唑溶液和霍山石斛水提液,正常组和模型组均按照体质量(10 mL·kg<sup>-1</sup>)灌胃生理盐水,连续灌胃14 d,1次/d。

**2.2.3 大鼠胃血流量(GBF)的测定** 末次给药结束后2 h,用戊巴比妥钠(40 mg·kg<sup>-1</sup>)麻醉各组大鼠,切开大鼠左侧最后一根肋骨处的皮肤和肌肉,暴露胃体,用激光多普勒血流仪测量溃疡边缘和正常组动物胃窦部的血流量值(测量时,用沾有生理盐水的纱布保持胃体湿润),待机器基线稳定后,连续测量5 min。每组中随机选择6只动物进行测量。

**2.2.4 溃疡面积和溃疡抑制率的计算** 胃血流量测定结束后进行取材,取胃并沿着胃大弯切开,倒出胃内容物后,用冰生理盐水冲洗,置于冰盒上,肉眼观察胃壁形态并拍照,以评估溃疡愈合情况,将图像导入Image J软件计算GU模型大鼠胃组织溃疡面积,每张图像计算3次后取平均值,即得每只大

鼠溃疡面积,并用各组大鼠溃疡面积总和计算溃疡抑制率,其计算公式如下:溃疡抑制率=(模型组溃疡面积-给药组溃疡面积)/模型组溃疡面积。

**2.2.5 苏木素-伊红(HE)染色和免疫组化法检测EGF、EGFR的表达** 取材后,每组各取3只大鼠的胃组织用4%多聚甲醛进行固定,固定24 h后,在溃疡部位切取大小为1.0 cm×1.0 cm的胃组织进行石蜡包埋,将蜡块切成5 μm厚的片状,在65℃恒温箱中烘烤2 h,然后进行HE染色。免疫组化染色:对组织进行补水,修复抗原,阻断内源性过氧化物酶并与一抗共同孵育,第2天再与二抗孵育,然后用DAB(3,3'-二氨基联苯胺)显色,最后用苏木素重新染色,中性胶密封。用显微镜和免疫组化法观察胃组织的病理变化,拍照,用Image J软件计算图片中蛋白质表达区域的百分比。

**2.2.6 ELISA检测血清中IL-1β,IL-6,IL-10,TNF-α的表达水平** GBF血流量测量结束后,采用真空负压采血管经腹主动脉取血,静置30 min后,低速离心机以3 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min(离心半径10 cm),吸取上清,按照ELISA试剂盒说明书检测大鼠血清中IL-1β、IL-6、IL-10、TNF-α的表达水平。

**2.2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测胃组织中PI3K、Akt、PTEN蛋白表达水平** 取以溃疡中心直径为1 cm的胃组织,用组织研磨器研磨,加入裂解液和蛋白酶抑制剂研磨至匀浆,并使用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品经10% SDS-PAGE分离并转移到硝酸纤维素过滤膜上,滤膜在室温下用5%的脱脂牛奶封闭后,置于一抗[稀释比,PI3K(1:1 000)、Akt1(1:500)、PTEN(1:1 000)]中在4℃冰箱孵育过夜,二抗(稀释比1:12 000)在室温下水平摇床孵育1 h,用电致化学发光ECL显影剂曝光,获得条带。

**2.2.8 Real-time PCR检测胃组织中PI3K、Akt、PTEN mRNA表达水平** 取以溃疡中心直径为1 cm的胃组织,使用TRIzol试剂提取胃组织的总RNA,测定RNA浓度,参照逆转录试剂盒说明书使用反转录试剂盒转录cDNA(条件:25℃,10 min;55℃,15 min;85℃,5 min),加样SYBR后置于PCR仪进行实时荧光定量扩增[反应条件为95℃预变性60 s(循环1次);95℃变性15 s,60℃退火15 s,72℃延伸45 s(循环40次)],计算PCR反应过程中的 $C_t$ 值,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示mRNA相对表达水平,引物序列见表1。

**2.2.9 统计学方法** 采用SPSS 23.0软件进行统计

表1 引物序列

Table1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
PI3K	上游 CACCTCCGCAACCAATCCTGAC	130
	下游 AGCTCGAACTCTGTCTCCTTCTGG	
Akt	上游 CACAGGTCGCTACTATGCCATGAAG	95
	下游 GCAGGACACGGTTCTCAGTAAGC	
PTEN	上游 TTTGAAGACCATAACCCACCACAGC	135
	下游 CATTACACCAGTCCGTCCTTTCCC	
$\beta$ -actin	上游 CCCATCTATGAGGGTTACGC	150
	下游 TTTAATGTACACGCACGATTTTC	

分析,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组独立数据的比较采用单因素方差分析,多组之间的配对比较采用最小显著性差异法(LSD)-*t*检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 网络药理学分析结果

##### 3.1.1 霍山石斛中主要活性化合物及其靶点筛选

从TCMSP等数据库和文献中,共筛选出63种霍山石斛有效成分,包括生物碱、黄酮类、酚酸类、多糖等。这些化合物均具有较好的生物活性,其中石斛酚具有抗肿瘤<sup>[19]</sup>、抗氧化<sup>[20]</sup>、抗白内障<sup>[21]</sup>、抗炎<sup>[22]</sup>等药理作用;毛兰素作为被大量文献报道可以通过诱导癌细胞凋亡发挥抗肿瘤作用<sup>[23]</sup>,还具有良好的抗菌<sup>[24]</sup>、抗炎<sup>[25]</sup>、抗血管<sup>[26]</sup>生成作用,并保护细胞免受高血糖诱导的氧化损伤<sup>[27]</sup>。生物碱也是石斛的另一主要活性成分,具有抗肿瘤<sup>[28]</sup>、抗病毒<sup>[29]</sup>等作用。通过查询数据库,得到霍山石斛203个潜在作用靶点,霍山石斛主要活性化合物与作用靶点网络(见增强出版附件材料),绿色为中药名称,红色为主要活性化合物,紫色为活性成分作用靶点,图中节点的大小与该活性成分在网络中的度值成正相关,度值越大节点越大,代表该化合物在网络中具有重要的作用。

**3.1.2 构建霍山石斛-化合物-靶点-疾病网络** 在GeneCards、OMIM、DisGeNET数据库中输入关键词GU,去除重复靶点,共得到673个疾病基因,与上述化合物靶点取交集后功能共得到34个霍山石斛治疗GU的靶基因。在霍山石斛-化合物-靶点-疾病网络中,共有53个节点和113条边,其中,有17种治疗GU的潜在活性成分,34个潜在靶基因,网络拓扑分析显示,度值较高的成分节点有霍山石斛多糖(DHP)、二氢芹菜素、棕榈酸和芦丁,度值较高的靶

基因节点有环加氧酶2(PTGS2)、环加氧酶1(PTGS1)、TNF、IL-10等,这些节点可能是霍山石斛在治疗GU方面的关键活性成分和靶基因(见增强出版附件材料)。

**3.1.3 PPI网络构建及分析** 通过String数据库构建PPI网络,探索34个靶基因间的相互作用。该数据库不仅可以通过其他数据库和实验结果显示靶点之间的已知相互作用,还可以通过基因邻接、基因融合和基因共现来预测靶点相互作用。将String得到的结果导入Cytoscape 3.8.0进一步网络可视化,进行网络拓扑分析,并根据度值和靶标间联系的密切程度进行个性化修饰,见增强出版附件材料,节点越大的靶基因在PPI网络中越重要,节点之间的连接线越粗,节点间的连接紧密度越强。

**3.1.4 GO分析** GO分析结果显示,霍山石斛治疗GU涉及多个生物过程、细胞组成和分子功能,选择GO分析各部分绘制柱状图(见增强出版附件材料)。其中黄色柱状图表示富集于GO通路上的靶基因数,绿色柱状图部分代表P值大小。根据富集结果,这些基因与一氧化氮生物合成过程的正向调节、凋亡过程的负向调节、炎症反应和核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)转录因子活性的正向调节等生物进程高度相关。与分子功能相关的项目有:酶结合、相同蛋白结合、细胞因子活性、蛋白酶结合、一氧化氮合成酶调节剂活性;与细胞组成相关的项目有细胞外空间、细胞外区域、细胞膜、顶端浆膜和浆膜。

**3.1.5 KEGG通路分析** 为从通路层面进一步了解霍山石斛治疗GU的可能机制,将David 6.8.0数据库中的KEGG通路富集结果于cytoscape 3.8.0中构建了一个化合物-靶点-通路网络(见增强出版附件材料),节点大小与其在网络中的度值成正比,节点越大,说明其在网络中可能有重要的作用。结果显示,这些潜在的治疗靶点与下列途径密切相关。癌症途径、PI3K/Akt信号通路、HIF-1信号通路、FoxO信号通路、TNF信号通路、凋亡、Toll样受体信号通路、NF- $\kappa$ B信号通路等,这些通路都与GU密切相关。为进一步验证网络药理学结果,选择度值最高即富集靶点最多的PI3K/Akt信号通路进行验证,该通路在调控细胞凋亡、增殖、迁移、分化和代谢中起着重要的作用,可能为霍山石斛治疗GU的重要机制通路之一。

#### 3.2 体内实验结果

**3.2.1 实验大鼠一般状态** 正常组大鼠毛色光亮,爪、尾、耳朵均正常,大小便正常,反应敏捷且体质

量平稳增长。造模后,大鼠均无感染,模型组大鼠枯黄无光泽,活动减少,喜蜷缩,反应迟钝,出现稀便,体质量增长幅度小甚至减少;部分大鼠出现胃胀气,至灌胃给药结束,模型组共出现2只大鼠死亡,奥美拉唑组、霍山石斛低剂量组各有一只死亡,解剖发现死亡大鼠均有脏器黏粘,胃胀气严重等现象,且模型组死亡大鼠出现胃穿孔情况。

**3.2.2 霍山石斛对GU大鼠溃疡面积、溃疡抑制率及溃疡边缘GBF的影响** 乙酸诱导溃疡形成后,各组大鼠胃组织形态、溃疡面积、溃疡边缘GBF的变化。结果显示,正常组大鼠的胃黏膜表面光滑完整,颜色红润,胃黏膜褶皱纹理清晰可见;模型组大鼠胃窦处可见清晰的圆形或椭圆形的溃疡凹陷缺口,溃疡边缘由周围黏膜呈现不同程度的充血和水肿;与模型组比较,各给药组大鼠的胃组织溃疡面积显著缩小( $P<0.01$ ),溃疡边缘隆起减少,胃组织充血水肿减轻,奥美拉唑、霍山石斛高、中剂量组的溃疡边缘GBF显著增加( $P<0.01$ )。其中,霍山石斛高剂量组大鼠胃组织形态改善明显,溃疡抑制率最高。见图1和表2。

**3.2.3 霍山石斛对GU大鼠胃组织病理学变化的影响** 正常组大鼠胃黏膜结构完整,胃黏膜细胞排列整齐,黏膜肌层清晰,无炎症细胞浸润等现象。与正常组比较,模型组大鼠的胃黏膜受损严重,黏膜肌层坏死病变,炎症细胞浸润明显;与模型组比较,奥美拉唑组和霍山石斛组均不同程度地促进了溃疡组织的修复和愈合,胃黏膜水肿,减少了白细胞的浸润。见图2。

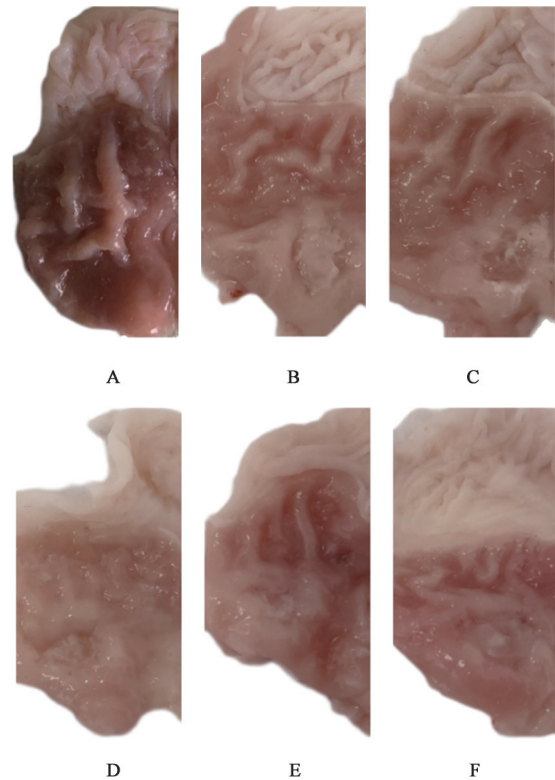
**3.2.4 霍山石斛对GU大鼠胃组织EGF,EGFR蛋白表达的影响** 溃疡愈合涉及多种生长因子,如EGF和EGFR<sup>[30]</sup>。与正常组比较,模型组EGF和EGFR表达显著下降( $P<0.01$ );与模型组比较,霍山石斛各剂量组和奥美拉唑组EGF和EGFR表达均显著增加( $P<0.01$ )。见图3和表3。

表2 霍山石斛对GU大鼠溃疡面积及溃疡抑制率的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of *Dendrobium huoshanense* on ulcer area and ulcer inhibition rate in GU rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	溃疡面积/mm <sup>2</sup>	溃疡抑制率/%	胃血流量/pU
正常组	-	-	100.00	122.60±7.04
模型组	-	32.96±7.32	-	45.98±2.94 <sup>1)</sup>
奥美拉唑组	0.04	16.03±6.98 <sup>4)</sup>	44.99	93.68±4.42 <sup>3)</sup>
霍山石斛高剂量组	2.8	12.17±5.08 <sup>4)</sup>	41.41	113.52±3.87 <sup>3)</sup>
霍山石斛中剂量组	1.4	12.36±5.77 <sup>4)</sup>	59.31	78.35±7.82 <sup>3)</sup>
霍山石斛低剂量组	0.7	18.35±9.61 <sup>4)</sup>	61.44	56.63±3.15 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P<0.05$ ,<sup>3)</sup> $P<0.01$ (表3-表6同)



注:A. 正常组;B. 模型组;C. 奥美拉唑组;D. 霍山石斛高剂量组;E. 霍山石斛中剂量组;F. 霍山石斛低剂量组(图2-图4同)

图1 各组大鼠胃黏膜形态学观察

Fig. 1 Morphological observation of gastric mucosa of rats in all groups

**3.2.5 霍山石斛对GU大鼠血清中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10含量的影响** 与正常组比较,模型组血清中促炎因子TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 水平显著升高,IL-10的水平则显著下降( $P<0.01$ );与模型组比较,霍山石斛高、中剂量组和奥美拉唑组的TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 水平明显下降( $P<0.05, P<0.01$ ),而各治疗组的IL-10水平显著上升( $P<0.01$ )。这些结果表明,乙酸诱导GU后,胃组织的炎症反应加重,而霍山石斛可以改善胃组织炎症,促进溃疡组织修复。见表4。

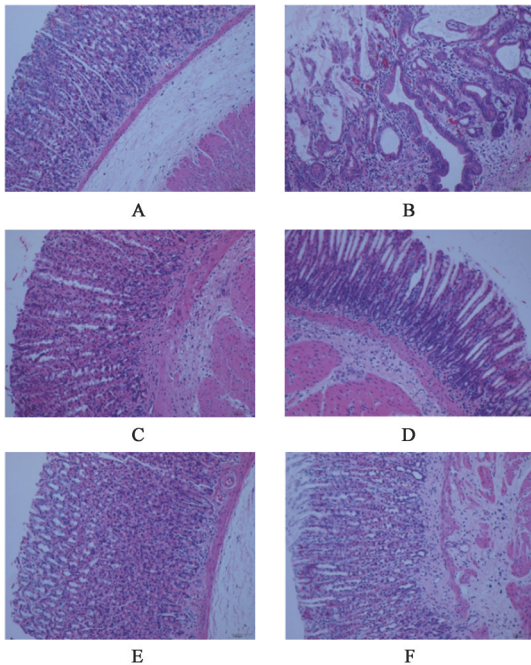


图2 霍山石斛对GU大鼠胃组织病理学变化的影响(HE, ×200)  
Fig. 2 Effect of *D. huoshanense* on histopathological changes in gastric tissues of GU rats (HE, ×200)

**3.2.6 霍山石斛对GU大鼠胃组织PI3K、Akt1和PTEN蛋白表达的影响** 与正常组比较,模型组PI3K和Akt1的蛋白表达显著增加,PTEN的蛋白表达显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,霍山石斛高、

表3 霍山石斛对GU大鼠胃组织EGF、EGFR蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of *D. huoshanense* on expression of EGF and EGFR proteins in gastric tissues of GU rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	EGF	EGFR
正常组		6.31±0.54	13.65±0.58
模型组		4.31±0.85 <sup>1)</sup>	11.23±0.49 <sup>1)</sup>
奥美拉唑组	0.04	9.15±0.98 <sup>3)</sup>	19.91±0.89 <sup>3)</sup>
霍山石斛高剂量组	2.8	11.52±0.88 <sup>3)</sup>	23.03±0.80 <sup>3)</sup>
霍山石斛中剂量组	1.4	7.43±0.48 <sup>3)</sup>	15.86±0.46 <sup>3)</sup>
霍山石斛低剂量组	0.7	6.51±0.46 <sup>3)</sup>	13.51±0.73 <sup>3)</sup>

中剂量组和奥美拉唑组的PI3K和Akt蛋白表达量明显降低( $P<0.05, P<0.01$ );霍山石斛高、中剂量组和奥美拉唑组的PTEN蛋白表达量显著升高( $P<0.01$ )。见图4和表5。

**3.2.7 霍山石斛对GU大鼠胃组织PI3K、Akt和PTEN mRNA表达的影响** 与正常组比较,模型组大鼠胃组织中PI3K和Akt mRNA表达显著升高,PTEN mRNA表达显著降低( $P<0.01$ )。与模型组比较,霍山石斛组和奥美拉唑组的PI3K和Akt mRNA表达显著降低( $P<0.01$ );霍山石斛组和奥美拉唑组的PTEN mRNA表达显著升高,差异有显著统计学意义( $P<0.01$ )。见表6。

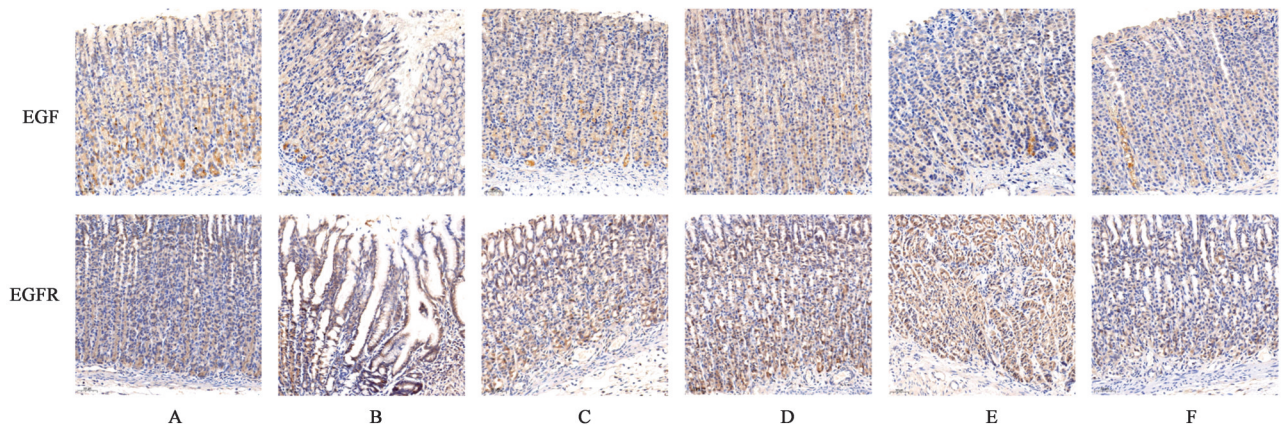


图3 霍山石斛对GU大鼠胃组织EGF、EGFR表达的影响(免疫组化, ×200)  
Fig. 3 Effect of *D. huoshanense* on EGF and EGFR expression in gastric tissue of GU rats (IHC, ×200)

#### 4 讨论

GU是一种穿透胃黏膜和黏膜肌肉组织并导致胃黏膜深层缺陷的疾病<sup>[31]</sup>。溃疡形成过程中发生的组织坏死由血管和微血管损伤引发并导致黏膜缺血、缺氧,形成氧自由基<sup>[32]</sup>。因此,GU难以愈合和易复发的主要机制是胃黏膜防御和修复功能的损害,这一过程需要多种细胞因子和生长及转录因子的参与<sup>[31]</sup>。现代研究发现霍山石斛具有广泛的

药理活性,可作用于多个靶点,但其潜在的作用机制尚不清楚。因此,利用源自系统生物学和生物信息学的网络药理学方法研究中药的潜在作用机制具有重要的意义<sup>[33]</sup>。本研究中,采用网络药理学方法预测了DHS对GU的作用机制,并通过体内实验方法进行了验证。

本研究通过构建中药-成分-靶点、中药-活性成分-疾病-靶点、活性成分-靶点-通路、GO分析和PPI

表4 霍山石斛对GU大鼠血清中IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10含量的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$	IL-10
正常组		4.86±0.91	16.06±0.35	52.11±2.39	69.02±1.81
模型组		5.29±0.24 <sup>1)</sup>	18.90±0.50 <sup>1)</sup>	74.00±1.30 <sup>1)</sup>	39.34±1.52 <sup>1)</sup>
奥美拉唑组	0.04	4.91±0.15 <sup>3)</sup>	17.05±0.88 <sup>3)</sup>	55.62±0.43 <sup>3)</sup>	59.25±1.76 <sup>3)</sup>
霍山石斛高剂量组	2.8	4.79±0.16 <sup>3)</sup>	16.76±0.66 <sup>3)</sup>	53.49±1.70 <sup>3)</sup>	64.48±0.90 <sup>3)</sup>
霍山石斛中剂量组	1.4	4.96±0.17 <sup>2)</sup>	17.10±0.50 <sup>3)</sup>	60.03±1.19 <sup>3)</sup>	53.46±1.98 <sup>3)</sup>
霍山石斛低剂量组	0.7	5.11±0.16	18.17±0.39 <sup>3)</sup>	67.58±1.68 <sup>3)</sup>	50.11±1.84 <sup>3)</sup>

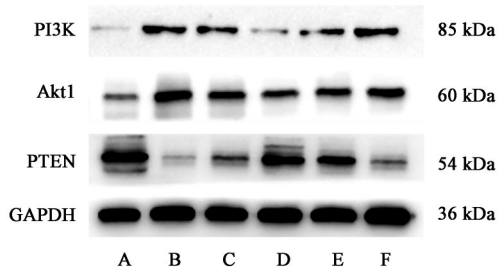


图4 各组大鼠PI3K、Akt1和PTEN蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of PI3K, Akt1 and PTEN protein expression level of each rats

网络,论证了中药多成分、多靶点和多通路的协同治疗作用。以口服生物利用度和药物相似性指数为标准,筛选出63种具有良好吸收性和类药性的化学成分,包括黄酮类、生物碱类、酚酸类、多糖类等。在这些活性成分中,有许多化合物被报道具有抗溃疡作用。其中,柚皮苷是一种天然黄酮苷,据报道,

其对各种动物模型的GU有预防和治疗作用<sup>[34]</sup>;绿原酸可以抑制中性粒细胞的迁移,抑制TNF- $\alpha$ 等炎症因子的释放,并对各种病因引起的胃黏膜病变进行干预<sup>[35]</sup>。其中,霍山石斛多糖可以抑制NF- $\kappa$ B信号通路,降低溃疡性结肠炎模型大鼠血清中IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-17等细胞因子的表达水平<sup>[36]</sup>,且预给药石斛多糖可减轻乙醇引起的GU组织损伤,增加EGF表达,并调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)信号通路<sup>[37]</sup>;芦丁作为一种具有多种药理活性(抗氧化、细胞保护、抗癌等)的黄酮醇,其可通过调节PI3K/Akt/糖原合成酶激酶3 $\beta$ (GSK3 $\beta$ )/NF- $\kappa$ B通路,修复肠道和调节细胞因子比例来治疗慢性结肠炎<sup>[38]</sup>。此外,芦丁还可通过抗脂质过氧化和增强抗氧化酶<sup>[39]</sup>来保护乙醇损伤引发的GU,抑制中性粒细胞浸润和氧化应激来减少吡啶美辛引起的胃黏膜损伤<sup>[40]</sup>。这些文献和实验结果都与网络药理学

表5 霍山石斛对GU大鼠胃组织PI3K、Akt1和PTEN蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	PI3K/GAPDH	Akt1/GAPDH	PTEN/GAPDH
正常组		0.15±0.05	0.38±0.12	1.16±0.08
模型组		1.01±0.16 <sup>1)</sup>	1.10±0.18 <sup>1)</sup>	0.16±0.02 <sup>1)</sup>
奥美拉唑组	0.04	0.70±0.11 <sup>3)</sup>	0.79±0.15 <sup>2)</sup>	0.37±0.08 <sup>3)</sup>
霍山石斛高剂量组	2.8	0.24±0.09 <sup>3)</sup>	0.51±0.07 <sup>3)</sup>	0.96±0.19 <sup>3)</sup>
霍山石斛中剂量组	1.4	0.71±0.12 <sup>3)</sup>	0.69±0.16 <sup>3)</sup>	0.68±0.08 <sup>3)</sup>
霍山石斛低剂量组	0.7	0.90±0.13	0.79±0.21 <sup>2)</sup>	0.28±0.04

表6 霍山石斛对GU大鼠胃组织PI3K、Akt和PTEN mRNA表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	PI3K	Akt	PTEN
模型组		3.74±0.05 <sup>1)</sup>	1.66±0.04 <sup>1)</sup>	0.46±0.03 <sup>1)</sup>
奥美拉唑组	0.04	1.35±0.03 <sup>3)</sup>	1.11±0.02 <sup>3)</sup>	0.82±0.03 <sup>3)</sup>
霍山石斛高剂量组	2.8	1.33±0.03 <sup>3)</sup>	0.89±0.02 <sup>3)</sup>	0.89±0.05 <sup>3)</sup>
霍山石斛中剂量组	1.4	1.43±0.06 <sup>3)</sup>	1.43±0.03 <sup>3)</sup>	0.66±0.09 <sup>3)</sup>
霍山石斛低剂量组	0.7	1.55±0.04 <sup>3)</sup>	1.55±0.03 <sup>3)</sup>	0.61±0.02 <sup>3)</sup>

注:设正常组各指标mRNA相对表达量为1

预测的结果相吻合。

综合网络药理学分析结果,DHS可能通过促进溃疡修复和抑制炎症来发挥抗GU的作用。PPI分析的结果表明,霍山石斛可能主要通过Akt1、IL-6、EGFR、TNF、IL-1 $\beta$ 、IL-10等靶点治疗GU。同时,体内实验结果表明,霍山石斛明显降低了模型大鼠血清中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 的水平,促进了抗炎因子IL-10的释放,抑制了组织炎症,促进了溃疡修复。且霍山石斛能显著提高损伤后胃组织中EGF、EGFR蛋白的表达水平,抑制PI3K/Akt信号通路的异常激活。EGF是一类内源性保护物质,能促进上皮细胞的增殖、分化和迁移,是修复和保护胃黏膜维持其完整性的重要媒介<sup>[41]</sup>。EGFR是一种重要的跨膜受体,具有酪氨酸活性,是细胞表面表皮生长因子受体家族的成员,与EGF一起参与调节胃黏膜上皮的更新和修复。有研究表明,EGF和EGFR在胃黏膜组织中表达同步,且与GU的愈合程度一致,EGF和EGFR的有效结合增加了胃黏膜的血流量,对促进受损黏膜的修复起重要作用<sup>[42]</sup>。因此可知,霍山石斛促进EGF、EGFR在GU边缘组织的表达,增加了溃疡边缘GBF,有助于溃疡的修复和愈合。

KEGG富集分析表明,霍山石斛可能主要通过调节PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B、TNF等信号通路来发挥其治疗GU的作用。其中,PI3K/Akt信号通路是一条重要的细胞内信号通路,参与调节细胞凋亡、增殖、迁移、分化和代谢<sup>[43-44]</sup>。PI3K是一种具有丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)激酶活性的细胞内磷脂酰肌醇激酶;Akt是PI3K的下游目标,也是连接多种途径信号网络的一个关键激酶,在细胞增殖和凋亡中发挥重要作用<sup>[45]</sup>。PTEN是PI3K/Akt信号通路中的一个重要的负向调节因子,可以通过去磷酸化PIP3产生PIP2以维持低水平的PIP3来抑制PI3K/Akt信号通路的激活<sup>[465-47]</sup>。此外,据报道,PI3K/Akt途径参与调节GU的抗炎作用,减少胃黏膜损伤<sup>[48]</sup>。通过实验验证了PI3K/Akt信号通路在胃组织受到损伤后被激活,促进炎症因子的表达。霍山石斛干预后,霍山石斛高、低剂量组大鼠溃疡面积明显缩小,GBF显著增加,大鼠胃组织中PI3K、Akt mRNA和蛋白的表达水平降低,而PTEN mRNA和蛋白的表达水平提高。上述结果提示,霍山石斛可以通过抑制PI3K/Akt信号通路,下调PI3K和Akt mRNA和蛋白的表达,抑制胃黏膜细胞的凋亡,抑制炎症因子的异常分泌,减轻炎症反应,保护胃黏膜组织及其功能。

本研究将网络药理学与实验验证相结合,探索霍山石斛治疗GU的潜在机制。结果显示,霍山石斛可通过调节EGFR/PI3K/Akt信号通路,抑制组织炎症,增加溃疡边缘的胃部微循环血流,促进受损胃黏膜细胞的增殖和修复,减少细胞凋亡。本研究结果为GU的治疗提供了一个方向,也为霍山石斛的产品开发提供了一个可行的策略。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] GRAHAM D Y. History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(18): 5191-5204.
- [2] LI Z, ZOU D, MA X, et al. Epidemiology of peptic ulcer disease: endoscopic results of the systematic investigation of gastrointestinal disease in China [J]. Am J Gastroenterol, 2010, 105(12): 2570-2577.
- [3] KO J K, CHO C H. Alcohol drinking and cigarette smoking: a "partner" for gastric ulceration [J]. Chin Med J, 2000, 63(12): 845-854.
- [4] GARCÍA RODRÍGUEZ L A, HERNÁNDEZ-DÍAZ S. Risk of uncomplicated peptic ulcer among users of aspirin and nonaspirin nonsteroidal antiinflammatory drugs [J]. Am J Epidemiol, 2004, 159(1): 23-31.
- [5] SAHOO S K, SAHOO H B, PRIYADARSHINI D, et al. Antiulcer activity of ethanolic extract of *Salvadora indica* (W.) leaves on albino rats [J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(9): FF07-FF10.
- [6] 林力森,李国政,符月敏. 养胃温脾汤辅助治疗脾胃虚弱型消化性溃疡患者的疗效[J]. 世界中医药, 2020, 15(21): 3323-3326.
- [7] ZHA X Q, ZHAO H W, BANSAL V, et al. Immunoregulatory activities of *Dendrobium huoshanense* polysaccharides in mouse intestine, spleen and liver [J]. Int J Biol Macromol, 2014, 64: 377-382.
- [8] 汪蒙蒙,季兆洁,甘江华,等. 霍山石斛的抗炎作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(20): 76-81.
- [9] 甘江华,黄琦璠,彭代银,等. 3种石斛对脾阴虚型大鼠便秘的治疗作用及其机制初步研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2600-2606.
- [10] 世界中医药学会联合会. 网络药理学评价方法指南 [J]. 世界中医药, 2021, 16(4): 527-532.
- [11] 王子怡,王鑫,张岱岩,等. 中医药网络药理学:《指南》引领下的新时代发展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 7-17.
- [12] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of

- systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [13] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42717.
- [14] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (W1) : W357-W364.
- [15] 姚亮, 彭代银, 俞年军, 等. 正交试验优化霍山米斛总多糖提取工艺[J]. *安徽中医药大学学报*, 2016, 35 (4): 83-87.
- [16] 杜念龙. 九味益胃合剂对胃溃疡模型大鼠胃黏膜修复及 MEK/ERK 信号通路影响的实验研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [17] TAKAGI K, OKABE S, SAZIKI R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1969, 19(3): 418-426.
- [18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 97.
- [19] YU S, WANG Z, SU Z, et al. Gigantol inhibits Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and exhibits anticancer activity in breast cancer cells[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 59.
- [20] FANG H, HU X, WANG M, et al. Anti-osmotic and antioxidant activities of gigantol from *Dendrobium aurantiacum* var. *denneanum* against cataractogenesis in galactosemic rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 172: 238-246.
- [21] WU J, LI X, WAN W, et al. Gigantol from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. binds and inhibits aldose reductase gene to exert its anti-cataract activity: an *in vitro* mechanistic study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 198: 255-261.
- [22] XUE Y R, YAO S, LIU Q, et al. Dihydro-stilbene gigantol relieves CCl<sub>4</sub>-induced hepatic oxidative stress and inflammation in mice via inhibiting C5b-9 formation in the liver[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41 (11): 1433-1445.
- [23] ZHANG Y, ZHANG Q, WEI F, et al. Progressive study of effects of erianin on anticancer activity [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 5457-5465.
- [24] OUYANG P, HE X, YUAN Z W, et al. Erianin against *Staphylococcus aureus* infection via inhibiting sortase A[J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(10): 385.
- [25] DOU B, HU W, SONG M, et al. Anti-inflammation of Erianin in dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis mice model via collaborative regulation of TLR4 and STAT3 [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 324: 109089.
- [26] GONG Y Q, FAN Y, WU D Z, et al. *In vivo* and *in vitro* evaluation of erianin, A novel anti-angiogenic agent [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10): 1554-1565.
- [27] CHEN M F, LIOU S S, KAO S T, et al. Erianin protects against high glucose-induced oxidative injury in renal tubular epithelial cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 126: 97-105.
- [28] SONG T H, CHEN X X, LEE C K, et al. Dendrobine targeting JNK stress signaling to sensitize chemotoxicity of cisplatin against non-small cell lung cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytomedicine*, 2019, 53: 18-27.
- [29] LI R, LIU T, LIU M, et al. Anti-influenza a virus activity of dendrobine and its mechanism of action [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(18): 3665-3674.
- [30] BRZOZOWSKI T, KONTUREK P C, KONTUREK S J, et al. Effect of local application of growth factors on gastric ulcer healing and mucosal expression of cyclooxygenase-1 and -2 [J]. *Digestion*, 2001, 64(1) : 15-29.
- [31] TARNAWSKI A S, AHLUWALIA A. The critical role of growth factors in gastric ulcer healing: the cellular and molecular mechanisms and potential clinical implications [J]. *Cells*, 2021, 10(8): 1964.
- [32] TARNAWSKI A, HOLLANDER D, STACHURA J, et al. Vascular and microvascular changes-key factors in the development of acetic acid-induced gastric ulcers in rats [J]. *J Clin Gastroenterol*, 1990, 12 (Suppl 1) : S148-S157.
- [33] ZHANG W, HUAI Y, MIAO Z, et al. Systems pharmacology for investigation of the mechanisms of action of traditional Chinese medicine in drug discovery [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 743.
- [34] MARTÍN M J, MARHUENDA E, PÉREZ-GUERRERO C, et al. Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats [J]. *Pharmacology*, 1994, 49(3) : 144-150.
- [35] SHIMOYAMA A T, SANTIN J R, MACHADO I D, et al. Antiulcerogenic activity of chlorogenic acid in different models of gastric ulcer [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2013, 386(1): 5-14.
- [36] GU F L, HUANG R S, HE X M, et al. Dendrobium huoshanense Polysaccharides prevent inflammatory

- response of ulcerative colitis rat through inhibiting the NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. Chem Biodivers, 2021, 18(7):e2100130.
- [37] ZHANG Y, WANG H, MEI N, et al. Protective effects of polysaccharide from *Dendrobium nobile* against ethanol-induced gastric damage in rats [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 107(Pt A):230-235.
- [38] SHARMA A, TIRPUDE N V, KUMARI M, et al. Rutin prevents inflammation-associated colon damage via inhibiting the p38/MAPKAPK2 and PI3K/Akt/GSK3 $\beta$ /NF- $\kappa$ B signalling axes and enhancing splenic Tregs in DSS-induced murine chronic colitis[J]. Food Funct, 2021, 12(18):8492-8506.
- [39] LA CASA C, VILLEGAS I, ALARCÓN DE LA LASTRA C, et al. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions [J]. J Ethnopharmacol, 2000, 71(1/2):45-53.
- [40] ABDEL-RAHEEM I T. Gastroprotective effect of rutin against indomethacin-induced ulcers in rats[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2010, 107(3):742-750.
- [41] YI S X, YANG R D, YAN J, et al. Effect of electroacupuncture at Foot-yangming Meridian on somatostatin and expression of somatostatin receptor genes in rabbits with gastric ulcer [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(11):1761-1765.
- [42] ABE S, SASANO H, KATOH K, et al. Immunohistochemical studies on EGF family growth factors in normal and ulcerated human gastric mucosa [J]. Dig Dis Sci, 1997, 42(6):1199-1209.
- [43] QIU W, LEIBOWITZ B, ZHANG L, et al. Growth factors protect intestinal stem cells from radiation-induced apoptosis by suppressing PUMA through the PI3K/Akt/p53 axis[J]. Oncogene, 2010, 29(11):1622-1632.
- [44] 赵革, 张丹, 杨小会, 等. 丁香活性组分抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路诱导人结肠癌 HCT116 细胞凋亡的研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5):1197-1204.
- [45] ZHANG H X, YANG J J, ZHANG S A, et al. HIF-1 $\alpha$  promotes inflammatory response of chronic obstructive pulmonary disease by activating EGFR/PI3K/Akt pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(18):6077-6084.
- [46] LI H, SCHMID-BINDERT G, WANG D, et al. Blocking the PI3K/Akt and MEK/ERK signaling pathways can overcome gefitinib-resistance in non-small cell lung cancer cell lines [J]. Adv Med Sci, 2011, 56(2):275-284.
- [47] MARSIT C J, ZHENG S, ALDAPE K, et al. PTEN expression in non-small-cell lung cancer: Evaluating its relation to tumor characteristics, allelic loss, and epigenetic alteration [J]. Hum Pathol, 2005, 36(7):768-776.
- [48] SHEN Y, SUN J, NIU C, et al. Mechanistic evaluation of gastroprotective effects of Kangfuxin on ethanol-induced gastric ulcer in mice[J]. Chem Biol Interact, 2017, 273:115-124.

[责任编辑 周冰冰]