

基于网络药理学探讨昆明山海棠-益母草药对 治疗类风湿关节炎的机制

曾丽盈¹, 王强¹, 韩隆胤¹, 钱凯¹, 杜彦仪¹, 黄文广¹, 郭文杰¹,
史周薇¹, 刘敏莹², 林昌松^{2*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006;

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

[摘要] **目的:**运用计算机网络药理学技术筛选昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的主要活性成分,预测活性成分的作用靶点,建立药物成分-活性成分-作用靶点网络,进一步探讨昆明山海棠-益母草药对治疗类风湿关节炎(RA)的潜在作用机制。**方法:**通过 DisGeNET,TTD,Drugbank 数据库收集 RA 疾病作用靶点;从中药系统药理学分析平台(TCMSP)获得昆明山海棠、益母草的潜在活性成分及其对应的靶点;使用 ImageGP 平台筛选药物与疾病共有靶点;使用 String 数据库构建共有靶点互作(PPI)网络模型;采用 Cytoscape 软件建立“药物-活性成分-关键作用靶点”网络;采用 String 数据库构建蛋白质相互作用网络;利用 ClueGO 插件对靶点进行基因功能(GO)分析和基于京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。**结果:**通过筛选得到 9 个药物活性成分,共涉及 235 个作用靶点,与疾病靶点有关的活性成分为 7 个,得到昆明山海棠-益母草药对-疾病共同靶点 24 个,共同靶点主要富集于 278 个生物过程和 141 条信号通路上发挥治疗 RA 的作用。**结论:**昆明山海棠-益母草药对对 RA 的治疗作用体现了中药多成分-多靶点-多途径的特点,为阐释其治疗 RA 的作用机制与临床应用提供了科学依据。

[关键词] 昆明山海棠; 益母草; 类风湿关节炎; 网络药理学; 靶点; 信号通路

[中图分类号] R2-0;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)19-0170-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191941

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190617.1343.022.html>

[网络出版时间] 2019-06-19 13:28

Mechanism of *Tripterygium hypoglaucum* Radix-*Leonurus japonicus* Herba for Treating Rheumatoid Arthritis Based on Network Pharmacology

ZENG Li-ying¹, WANG Qiang¹, HAN Long-yin¹, QIAN Kai¹, DU Yan-yi¹, HUANG Wen-guang¹,
GUO Wen-jie¹, SHI Zhou-wei¹, LIU Min-ying², LIN Chang-song^{2*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** Computer network pharmacology technology was used to screen the main active ingredients of *Tripterygium hypoglaucum* radix-*Leonurus japonicus* herba for the treatment of rheumatoid arthritis (RA), predict the targets of the active ingredients, establish a pharmaceutical ingredient-active ingredient-target network, and further explore the potential mechanism of *Tripterygium hypoglaucum* radix-*Leonurus japonicus* herba for the treatment of RA. **Method:** RA disease targets were collected through DisGeNET, TTD, and Drugbank databases, the potential active components of *Tripterygium hypoglaucum* radix and *Leonurus japonicus* herba and their corresponding targets were obtained from the Chinese Medicine System Pharmacology Analysis Platform

[收稿日期] 20190418(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573930,81774262);广东省自然科学基金项目(2017A030311009)

[第一作者] 曾丽盈,在读硕士,从事中医临床基础及风湿病研究,E-mail:645190497@qq.com

[通信作者] *林昌松,硕士,主任医师,从事风湿病中医药研究,E-mail:1617213793@qq.com

(TCMSP); common targets for drugs and diseases were screened by using the ImageGP platform; a common target interaction (PPI) network model was constructed by using the String database, a "drug-active ingredient-key target" network was constructed by using Cytoscape software, a protein interaction network was constructed by using the String database, gene function (GO) analysis and pathway enrichment analysis based on the Kyoto Gene and Genomic Encyclopedia (KEGG) were performed by using the ClueGO plug-in. **Result:** Through screening, 9 active pharmaceutical ingredients were obtained, involving a total of 235 targets, and 7 active ingredients were related to the disease targets. 24 common targets for *Tripterygium hypoglaucum* radix *Leonurus japonicus* herba-disease were obtained. The common targets were mainly enriched in 278 biological processes and 141 signaling pathways to play a role in the treatment of RA. **Conclusion:** The therapeutic effect of *Tripterygium hypoglaucum* radix *Leonurus japonicus* herba on RA reflects the characteristics of multi-component-multi-target-multi-channel of traditional Chinese medicine, and provides a scientific basis for explaining its mechanism and clinical application of RA.

[Key words] *Tripterygium hypoglaucum* radix; *Leonurus japonicus* herba; rheumatoid arthritis; network pharmacology; target; signaling pathway

类风湿关节炎(RA)是以炎性滑膜炎为主的慢性系统性免疫疾病,其特征是可导致运动障碍,甚至残疾。潜在的疾病机制仍不清楚,但通常由感染和炎症介质引发。RA的发病率随着年龄的增长而增加,全世界约有0.3%~1%的人受到影响^[1]。其病理表现为滑膜炎、血管翳、血管炎,继而出现关节软骨和骨破坏,最终导致关节畸形及功能障碍^[2],也可致使关节外器官受累,如间质性肺疾病和干燥综合征(Sjögrens综合征)^[3]。西医治疗RA的主要常用手段为传统合成的改善病情的抗风湿药物(DMARDs)(如甲氨喋呤)、靶向合成DMARDs(如JAK-3抑制剂(托法替尼))。丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)和生物制剂DMARDs(如依那西普、英夫利昔)^[4-6],但治疗费用较高,毒副作用较大。中医学历史悠久,源远流长,RA属于中医“痹症”范畴,“风寒湿三气杂至,合而为痹也。”是《黄帝内经·素问·痹论》对其病因的归纳,在辨证论治的指导下,对RA的治疗有独到的见解。中医药治疗RA具有毒副作用小、简、廉、验等特色 and 优势,疗效显著^[7]。

广州中医药大学林昌松教授在继承陈纪藩名老中医学术经验基础上,在长期临床实践中探索出昆母汤^[8]、断藤益母汤^[9]治疗RA疗效显著,具有增效减毒作用。中药昆明山海棠和益母草均为其组成药物之一,临床广泛运用于治疗RA实践中。昆明山海棠又名火把花,始载于《本草纲目》,具有祛风除湿、活血舒筋的功效,临床主要用于治疗类风湿关节炎、银屑病、慢性荨麻疹、肾炎蛋白尿、甲状腺功能亢进等^[10]。益母草被收载于《神农本草经》和《本草纲目》,具有活血调经、利尿消肿、清热解毒的功效,

用于治疗月经不调、痛经经闭、恶露不尽、功能性子宫出血、产后子宫复旧、药物流产、水肿尿少、疮疡肿毒等,近年研究发现在保护心脏等方面也有作用^[11]。本课题组在此之前对昆明山海棠和益母草这2味中药治疗RA的增效减毒作用开展了相关的临床研究和基础研究,如昆母汤/断藤益母汤对RA滑膜细胞增殖及凋亡、破骨细胞RANKL信号通路和Wnt信号通路,白细胞介素-1 β (IL-1 β),半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达有不同的影响^[12-17]等,其中的活性成分益母草碱通过核转录因子- κ B(NF- κ B)和丝裂原活化蛋白激酶途径减少RA中的滑膜炎和关节破坏^[18],活性成分山奈酚通过阻断MAPK途径活化而不影响肿瘤坏死因子- α (TNF- α)受体的表达来抑制RA中成纤维细胞样滑膜细胞(FLS)的迁移和侵袭^[19],这表明昆明山海棠-益母草药对在RA治疗中对调节患者机体免疫功能,缓解患者症状,改善患者预后方面有着显著的作用。但其治疗RA的具体分子机制仍有待挖掘,由于中药治疗疾病具有成分复杂、靶点多样、相互作用、综合调治的特点,传统的单纯研究单一药物治疗疾病的作用机制的方法难以确切地阐明中药治疗疾病的机制。

网络药理学是一种药物设计方法,包括系统生物学,网络分析,连通性,冗余和多效性,以“多基因-多靶点-复杂疾病”的模式研究药理,提供了一种思考药物发现的方法^[20]。此研究采用系统性网络药理学的方法,把昆明山海棠-益母草药对所含的活性成分通过相关数据库筛选出来,并将其活性成分所对应的靶点与RA的疾病靶点进行匹配,从而检索

出潜在的昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的关键作用靶点,利用生物信息学方法对关键靶点进行分析,中药-成分-靶点网络和关键靶点蛋白网络也以此被分别构建。此研究旨在与目前的相关研究相互验证,为系统性了解昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的机制提供全面认识,为未来的深入研究开拓思路和途径并提供精准有效的研究方向,为广泛地应用于临床中提供更多的依据。

1 材料及方法

1.1 获取及收集疾病靶点 DisGeNET (<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/search>) 是一个多功能的平台,可调查特定人类疾病及其合并症的分子基础,疾病基因特性的分析,药物治疗作用假设的产生和药物不良反应,验证计算预测的疾病基因和评估文本挖掘方法的性能^[21]。TTD 疾病靶点筛选数据库 (<https://db.idrblab.org/ttd/>) 旨在提供关于文献中描述的已知治疗性蛋白质和核酸靶标的信息,靶向疾病状况,途径信息和针对这些靶标中的每一个的相应药物/配体^[22]。Drugbank 疾病靶点筛选数据库 (<https://www.drugbank.ca/>) 是一个全面的、免费提供的网络资源,包含有关 FDA 批准的药物以及经过 FDA 批准程序的实验药物的详细药物,药物靶标,药物作用和药物相互作用信息^[23]。使用这 3 个数据库通过输入关键词“rheumatoid arthritis”获取与 RA 相关的化学成分及其靶点,合并 3 个数据库所获得的数据,删除重复且无效的基因,将最后筛选出的靶点基因全称输入 DrugBank 获取基因简称和 Uniprot ID。

1.2 获取及收集 昆明山海棠与益母草化学成分和成分靶点信息 使用中药系统药理学数据库与分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology, TC MSP) (version 2.3, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 收集昆明山海棠、益母草这两种中药的化学成分及其靶点。基于草药系统药理学框架建立的 TC MSP 平台,由中国药典中注册的 499 种中草药组成,包括 29 384 种成分,3 311 种靶标和 837 种相关疾病,12 种与 ADME 相关的重要特性,如人类口服生物利用度,半衰期,类药性, Caco-2 渗透性和血脑屏障等,可用于药物筛选和评估,还提供每种活性化合物的药物靶点和疾病,可以自动建立化合物-靶标和靶疾病网络,让用户查看和分析药物作用机制^[24]。借助 TC MSP 平台的药物药代动力学信息检索过滤器,将药物成分口服生物利用度 (OB),类药性 (DL) 和药物半衰期 (HL) 分别设

定为 $\geq 30\%$, ≥ 0.18 和 ≥ 4 , 分析检索出昆明山海棠、益母草中具有良好 OB, DL 和 HL 的化合物及其靶点。将 TC MSP 筛选出的成分靶点全称输入 DrugBank 获取基因简称和 Uniprot ID。

1.3 筛选共有靶点 将药物化学成分相关的靶点和疾病靶点在易汉博生物信息在线作图平台 (ImageGP, <http://www.ehbio.com/ImageGP/>) 进行匹配,并绘制韦恩图获得潜在的昆明山海棠-益母草药对的活性成分治疗 RA 的作用靶点。

1.4 构建 RA 与昆明山海棠共有靶点, RA 与益母草共有靶点 PPI 网络 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>) 旨在利用整合出来的已知和预测的大量生物的蛋白质-蛋白质关联数据来收集和整合表达蛋白质之间的所有功能相互作用以全系统地理解细胞功能^[25]。将筛选得到的共有靶点在 STRING 平台构建靶点互作 (PPI) 网络,把物种设定为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设置为“medium confidence”,其他参数保持默认设置进行操作,并根据分析结果统计靶点关联频次获取靶点互作信息,从而得到关键靶点。

1.5 构建中药-活性成分-关键靶点网络 匹配昆明山海棠-益母草的活性成分所对应的靶点基因和 RA 相关的靶点基因,获得昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的共同基因即为关键靶点。通过 Cytoscape 软件^[26] (Version 3.6.2, <http://www.cytoscape.org>) 构建出“中药-活性成分-关键靶点”关系网络图。该网络图表明中药-活性成分-关键靶点之间的联系,在此基础上挖掘昆明山海棠-益母草治疗 RA 的分子作用机制。

1.6 构建关键靶点蛋白相关作用网络 将昆明山海棠-益母草药对的关键靶点导入 String 数据库,获得蛋白质相互作用关系网络模型,以 TSV 格式将结果导出。利用 Cytoscape 软件对所得模型进行可视化操作,绘制蛋白相互作用网络图。将网络中节点的大小和颜色设置不一以反映度值的大小,边的粗细反映结合度的大小。

1.7 关键靶点通路分析及可视化 通过 Cytoscape 软件 (Version 3.6.2, <http://www.cytoscape.org>) 的 GO 富集分析,对关键靶点进行生物过程 (biological process), 分子功能 (molecular function) 和细胞组成 (cellular component) 3 个模块的分析,选择京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 并设定 $P < 0.05$ 对关键靶点进行通路分析以确定关键靶点富集通路。使用 ImageGP 平台以气泡图的形式呈现图富集结果。

2 结果

2.1 RA 疾病靶点的收集 基于 DisGeNET, TTD, Drugbank 数据库共收集 RA 相关靶点基因共 2 109 个, 挖掘并删除重复靶点, 共收集到 RA 疾病作用靶点 1 957 个, 得到的靶点信息进行基因名和 Uniprot

ID 的标准化。

2.2 昆明山海棠-益母草活性成分的筛选 通过 TCMSp 数据库以 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 和 $HL \geq 4$ 为条件检索出符合条件的昆明山海棠有效活性成分 6 个, 益母草有效活性成分 3 个, 见表 1。

表 1 昆明山海棠-益母草中潜在活性成分及其 OB, DL 和 HL 值

Table 1 Potential active compounds in *Tripterygium hypoglaucum* radix-*Leonurus japonicus* herba (THLJ), as well as OB, DL and HL parameters

药材归属	Molecule name	中文名	OB/%	DL	HL
昆明山海棠	(+)-catechin	(+)-儿茶素	54.83	0.24	0.61
昆明山海棠	hypodiolide A	山海棠二萜内酯 A	76.13	0.49	0.06
昆明山海棠	triptiolonide	雷公藤内酯二萜醇酮	56.4	0.67	4.91
昆明山海棠	triptonoditerpenic acid	雷藤二萜酸	42.56	0.39	1.88
昆明山海棠	triptonolide	雷酚酮内酯	49.51	0.49	17.9
昆明山海棠	triptolide	雷公藤甲素	51.29	0.68	4.14
益母草	quercetin	槲皮素	46.43	0.28	14.4
益母草	isorhamnetin	异鼠李素	49.6	0.31	14.34
益母草	kaempferol	山奈酚	41.88	0.24	14.74

2.3 昆明山海棠-益母草成分治疗 RA 的潜在作用靶点预测 通过 TCMSp 数据库检索根据上述昆明山海棠-益母草符合条件的有效活性成分, 得到昆明山海棠活性成分的作用靶点 80 个, 益母草活性成分的作用靶点 242 个, 删除重复靶点后, 得到昆明山海棠活性成分的作用靶点 64 个, 益母草活性成分的作用靶点 171 个。使用 ImageGP 平台将上述筛选出来的中药中具有潜在作用的靶点基因同疾病靶点基因进行匹配映射并绘制韦恩图(图 1), 获得共同靶点基因 129 个, 其中属于昆明山海棠的有 16 个, 属于益母草的有 89 个, 分别将属于昆明山海棠的靶点和属于益母草的靶点在 STRING 平台构建靶点互作(PPI)网络模型, 见图 2, 3。图 2 包含 15 个节点, 39 条边, 平均自由度(Degree)为 5.2(节点表示靶点, 边表示靶点间互作关系), 根据节点的 Degree 得到度值最高的 6 个关键靶点, 见表 2。图 3 包含 36 个节点, 156 条边, 平均 Degree 为 8.67, 根据节点的 Degree 得到度值最高的 15 个关键靶点, 见表 3。两者间共同靶点为 24 个, 见表 4。这表明昆明山海棠与益母草在治疗 RA 过程中既有自己的关键作用靶点可单独发挥作用, 又有共同的关键作用靶点协同发挥作用, 两药可相须相使治疗 RA。

2.4 构建与分析中药-活性成分-关键作用靶点网络 通过 Cytoscape 软件对昆明山海棠、益母草 2

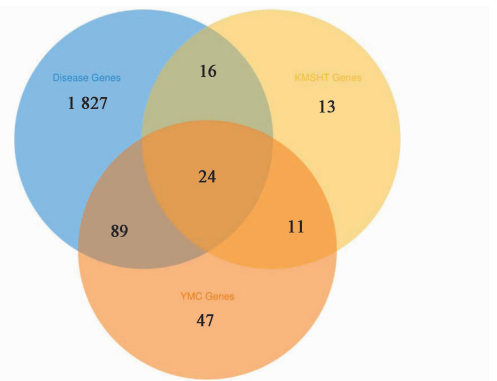
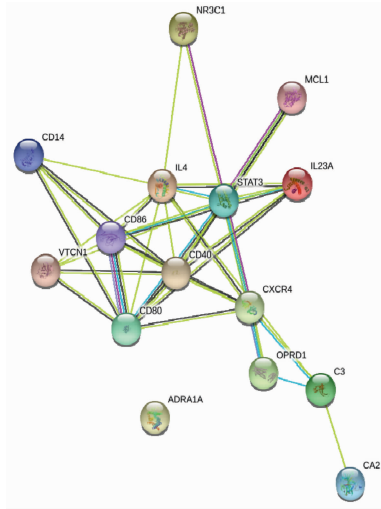


图 1 疾病靶点基因与昆明山海棠-益母草靶点基因的匹配
Fig.1 Matching of target genes between disease and THLJ

味中药及其 9 个活性成分, 24 个关键靶点基因进行网络构建及可视化处理(图 4)。结果显示, 昆明山海棠-益母草 9 个活性成分, 直接与关键靶点基因相连的有 7 个。其中山奈酚(kaempferol), 雷公藤甲素(triptolide), 槲皮素(quercetin)这 3 个活性成分能相连 10 个或以上的关键靶点基因。其中相连接度前 4 的关键靶点基因为前列腺素 G/H 合成酶 2 (PTGS2), 前列腺素 G/H 合成酶 1 (PTGS1), DNA 拓扑异构酶 2-β (TOP2B) 及 RELA, 表明经过筛选的上述成分及基因是昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的重要活性成分及重要靶点基因, 在昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 中有重要意义。



圆形表示疾病靶点;线表示靶点间的联系(图 3 同)。

图 2 RA 与昆明山海棠共有靶点 PPI 网络

Fig.2 Common targets PPI network between RA and *Tripterygium hypoglaucum radix*

表 2 RA 与昆明山海棠共有靶点分析

Table 2 Analysis of common targets between RA and *Tripterygium hypoglaucum radix*

关键靶点简称	全称	Uniprot ID	中文名	Degree
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	P40763	信号转导和转录激活因子 3	10
IL-4	interleukin-4	P05112	白细胞介素-4	10
CD40	tumor necrosis factor receptor superfamily member 5	P25942	肿瘤坏死因子受体超家族成员 5	9
CD86	T-lymphocyte activation antigen CD86	P42081	T 淋巴细胞活化抗原 CD86	8
CD80	T-lymphocyte activation antigen CD80	P33681	T 淋巴细胞活化抗原 CD80	8
CXCR4	C-X-C chemokine receptor type 4	P61073	C-X-C 趋化因子受体 4 型	7

2.6 关键靶点基因的生物功能及通路分析 GO 分析结果表明,昆明山海棠-益母草的 24 个潜在关键靶点基因富集的前 10 个生物学功能分别为对皮质类固醇的反应(response to corticosteroid, 8 个靶点),对糖皮质激素的反应(response to glucocorticoid, 8 个靶点),活性氧代谢过程的调节(regulation of reactive oxygen species metabolic process, 8 个靶点),活性氧代谢过程的积极调节(positive regulation of reactive oxygen species metabolic process, 7 个靶点),成纤维细胞增殖的调节(regulation of fibroblast proliferation, 6 个靶点),肽基丝氨酸磷酸化的正调节(positive regulation of peptidyl-serine phosphorylation, 6 个靶点),腺体形态发生(gland morphogenesis, 6 个靶点),白细胞分化的正调节(positive regulation of leukocyte differentiation, 6 个靶点),上皮细胞迁移的正调节

2.5 关键靶点基因的蛋白质相互作用网络分析 通过 String 数据库获得昆明山海棠-益母草治疗 RA 的 24 个潜在的关键靶点基因的蛋白质相互作用关系,再通过 Cytoscape 软件将获取的数据绘制成蛋白质关系网络见图 5。该网络图包含 24 个节点,156 个边。图 5 中以节点的大小反映 Degree 数值,节点越大,节点的 Degree 数值越大,反之亦然。以连接节点的边的粗细反映 Combine score。边越粗,Combine score 越大。其中节点最大的前 8 名的靶点基因为细胞肿瘤抗原 p53 (TP53),原癌基因 c-Fos (FOS),丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8),肿瘤坏死因子 (TNF),血管内皮生长因子 A (VEGFA),RELA,雌激素受体(ESR1),前列腺素 G/H 合成酶 2 (PTGS2),提示所列基因在关系网络中具有重要地位,并且在昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 中具有非凡作用,可作为研究昆明山海棠-益母草药对有效活性成分治疗 RA 的重要靶点基因。

(positive regulation of epithelial cell migration, 5 个靶点),核心启动子序列特异性 DNA 结合(core promoter sequence-specific DNA binding, 5 个靶点),见图 6,提示昆明山海棠-益母草药对在治疗 RA 中是可以通过参与调控多种生物学过程而发挥作用的。

KEGG 通路富集分析表明,昆明山海棠-益母草的关键基因靶点富集的主要通路为 Th17 细胞分化,IL-17 信号通路、细胞凋亡、破骨细胞分化,NOD 样受体信号通路,Toll 样受体信号通路,TNF 信号通路,Th1 和 Th2 细胞分化、类风湿关节炎,NF-κB 信号通路,T 细胞受体信号通路、神经营养因子信号通路、鞘脂信号通路,催乳素信号通路,HIF-1 信号通路等,与 RA 关系密切,显示昆明山海棠-益母草的有效活性成分靶点存在于不同的通路,能以此协同发挥治疗 RA 作用,见图 7,同时昆明山海棠-益母草

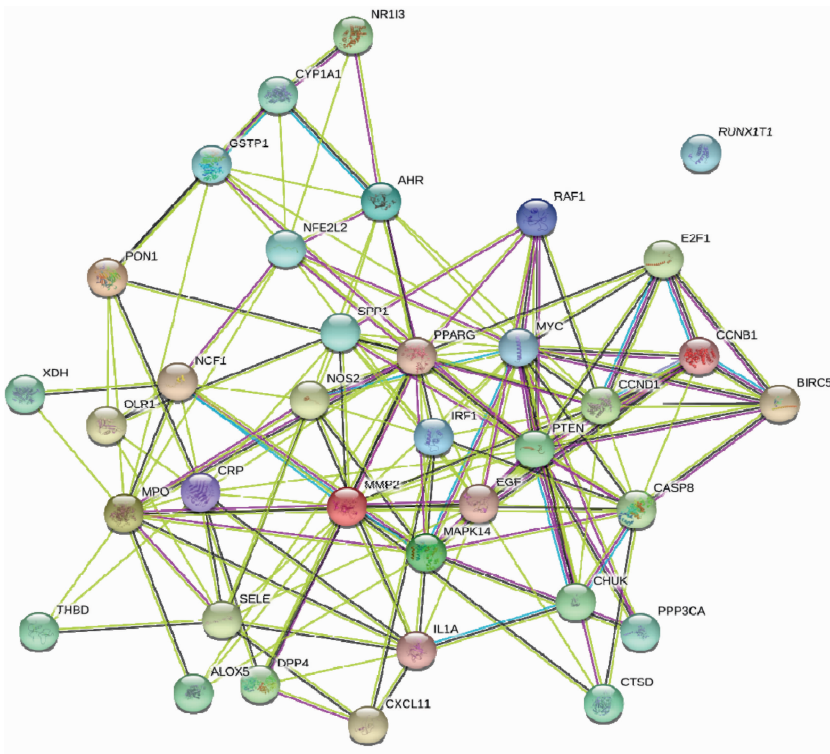


图 3 RA 与益母草共有靶点 PPI 网络
Fig.3 Common targets PPI network between RA and *Leonurus japonicus* herba

表 3 RA 与益母草共有靶点分析
Table 3 Analysis of common targets between RA and *Leonurus japonicus* herba

关键靶点简称	全称	Uniprot ID	中文名	Degree
MYC	myc proto-oncogene protein	P01106	Myc 原癌基因蛋白	20
MMP2	72 kDa type IV collagenase	P08253	72kDa IV 型胶原酶	17
PPARG	peroxisome proliferator activated receptor gamma	P37231	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ	17
PTEN	phosphatidylinositol-3, 4, 5-trisphosphate 3-phosphatase and dual-specificity protein phosphatase PTEN	P60484	磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸 3-磷酸酶和双特异性蛋白磷酸酶 PTEN	16
MPO	myeloperoxidase	P05164	髓过氧化物酶	15
CCND1	G1/S-specific cyclin-D1	P24385	G1/S 特异性细胞周期蛋白-D1	15
EGF	pro-epidermal growth factor	P01133	表皮生长因子	15
MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	Q16539	丝裂原活化蛋白激酶 14	13
CASP8	Caspase-8	Q14790	胱天蛋白酶 8	12
CRP	C-reactive protein	P02741	C-反应蛋白	12
SPP1	osteopontin	P10451	骨桥蛋白	12
SELE	E-selectin	P16581	E-选择	10
AHR	aryl hydrocarbon receptor	P35869	芳烃受体	10
NFE2L2	nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Q16236	核因子红细胞 2 相关因子 2	10
IL-1 α	Interleukin-1 alpha	P01583	白细胞介素-1 α	10

药的关键靶点基因分布于不同的 RA 通路上,表示这些富集的 RA 通路可作为未来研究昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 疗效的重要方向。

3 讨论

中医学认为 RA 属于“痹证”“筋痹”“骨痹”“历节病”等范畴。《黄帝内经》曰：“病存阳曰风，病在

表 4 RA 与昆明山海棠、益母草共有靶点

Table 4 Common targets between RA and *Tripterygium hypoglaucum radix*, *Leonurus japonicus herba*

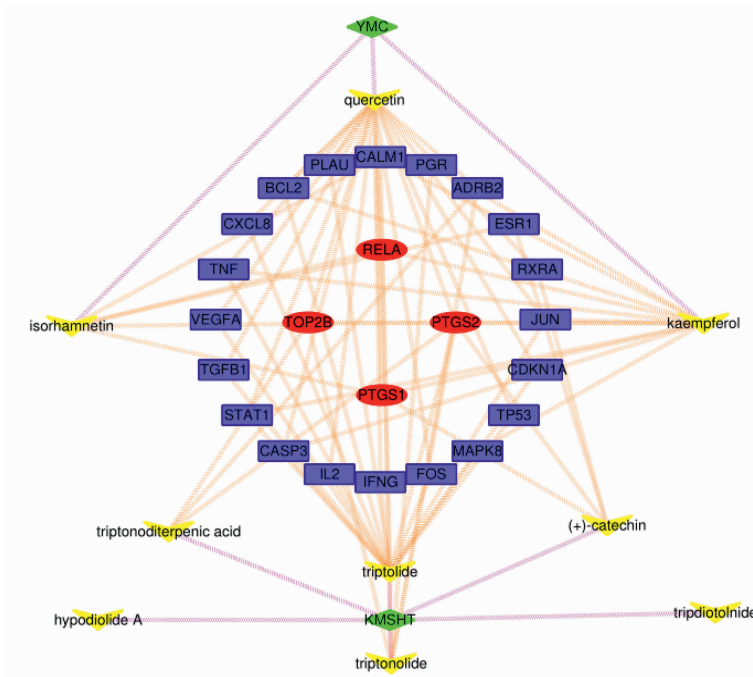
关键靶点简称	全称	Uniprot ID	中文名
PLAU	urokinase-type plasminogen activator	P00749	尿激酶型纤溶酶原激活剂
RXRA	retinoic acid receptor RXR-alpha	P19793	视黄酸受体 RXR- α
BCL2	apoptosis regulator Bcl-2	P10415	凋亡调节因子 Bcl-2
CXCL8	interleukin-8	P10145	白细胞介素 8
TNF	tumor necrosis factor	P01375	肿瘤坏死因子
PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2	P35354	前列腺素 G/H 合成酶 2
ESR1	estrogen receptor	P03372	雌激素受体
ADRB2	beta-2 adrenergic receptor	P07550	β -2 肾上腺素能受体
VEGFA	vascular endothelial growth factor A	P15692	血管内皮生长因子 A
TGFB1	transforming growth factor beta-1	P01137	转化生长因子 β -1
STAT1	signal transducer and activator of transcription 1- α/β	P42224	信号转导和转录激活因子 1- α/β
CASP3	Caspase-3	P42574	Caspase-3 蛋白酶
IL-2	interleukin-2	P60568	白细胞介素-2
γ -IFN	interferon gamma	P01579	干扰素 γ
FOS	proto-oncogene c-Fos	P01100	原癌基因 c-Fos
MAPK8	mitogen-activated protein kinase 8	P45983	丝裂原活化蛋白激酶 8
RELA	transcription factor p65	Q04206	转录因子 p65
PGR	progesterone receptor	P06401	孕激素受体
TP53	cellular tumor antigen p53	P04637	细胞肿瘤抗原 p53
CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1	P38936	细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1
TOP2B	DNA topoisomerase 2-beta	Q02880	DNA 拓扑异构酶 2- β
PTGS1	prostaglandin G/H synthase 1	P23219	前列腺素 G/H 合成酶 1
JUN	transcription factor AP-1	P05412	转录因子 AP-1
CALM1	calmodulin	P0DP23	钙调蛋白

阴曰痹。故痹也，风寒湿杂至，犯其经络之阴，合而为痹。痹者闭也，三气杂至，壅闭经络，血气不行。故名为痹。”痹症的形成与预后和外邪的侵袭、正气的渐虚密切相关，祛邪扶正法在 RA 治疗中具有重要的指导意义。昆明山海棠、益母草作为两味常用祛风湿活血中药，共用可增效减毒，在中医防治 RA 的临床实践中有广泛的运用。本课题组对昆母汤、断藤益母汤开展的相关研究，均表明昆明山海棠-益母草药对可抑制 RA 中 FLS 的迁移和侵袭从而减少 RA 中的滑膜炎和关节破坏，抑制破骨细胞的分化和增殖从而起到骨保护作用，在 RA 治疗中疗效显著且确有应用依据。

此研究的中药-活性成分-关键靶点网络显示，昆明山海棠主要活性成分雷公藤甲素 (triptolide)，益母草的主要活性成分山柰酚 (kaempferol) 及槲皮素 (quercetin) 在网络中具有重要地位，表示它们在

昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 中发挥着重要作用，有重要的潜在研究价值，符合目前的相关研究结果，也为此研究预测结果的可靠性提供了有力的证据。研究表明雷公藤甲素可通过阻断 JNK MAPK 途径的活化和调节 TREM-1 信号通路来抑制类风湿性成纤维细胞样滑膜细胞的迁移和侵袭以及抑制 RA 的炎症反应^[27]，可通过调节性 T 细胞增强 IL-10 和 TGF- β 1 的产生和调节 RANKL/RANK/OPG 信号通路，阻止骨质破坏，抑制破骨细胞分化和体外骨吸收来部分减轻 RA^[28-29]。

益母草活性成分山柰酚通过抑制成纤维细胞生长因子受体 3-核糖体 S6 激酶 2 信号轴的传导和阻断 MAPK 途径的活化抑制 RA 成纤维细胞样滑膜细胞的增殖和迁移以及活化的 T 细胞介导的炎性细胞因子如 IL-17, IL-21 和 TNF- α 的释放，从而预防类风湿性关节炎的发展^[30-32]。槲皮素对关节炎炎症



KMSHT. 昆明山海棠; YMC. 益母草; 绿色节点代表药物; 黄色节点代表药物成分; 蓝色节点代表关键作用靶点; 红色节点代表连接度最大的关键作用靶点

图 4 昆明山海棠-益母草药物、活性成分与关键作用靶点网络
Fig. 4 Drug-component-target network of THLJ

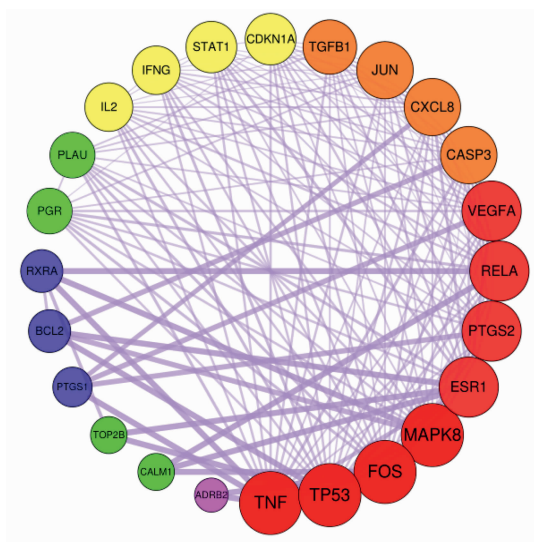


图 5 昆明山海棠-益母草的蛋白质相互作用网络
Fig. 5 Protein interaction network of THLJ

反应有强效抑制作用,减少 Th17 分化,显著降低在 RA 发展中起关键作用的 NLRP3, Caspase-1 和 IL-1 β 的蛋白表达,显著降低 RA 的代表性特征,如软骨内关节损伤,炎性细胞浸润和血管形成^[33-36],通过上调 lncRNA MALAT1 促进 RA 中成纤维细胞样滑膜细胞的凋亡^[37]。以上结果表明昆明山海棠-益母草药对在 RA 治疗中可通过多成分、多靶点、多通路的协同作用而充分发挥作用,提供了更多的研发中药

单体治疗 RA 药物的新线索。此外,异鼠李素 (isorhamnetin), 雷酚酮内酯 (triptonolide), 雷藤二萜酸 (triptonolide), 雷公藤内酯二醇酮 (triptonolide), 山海棠二萜内酯 A (hypodiolide A) 的治疗 RA 的作用目前还少有研究和鲜有报道,这都可作为未来深入研究的方向。

此研究通过匹配中药靶点与疾病靶点及构建网络,获得 129 个昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的关键靶点基因,其中昆明山海棠 16 个,根据节点的 Degree 得到度值最高的 6 个关键靶点,益母草 89 个,根据节点的 Degree 得到度值最高的 15 个关键靶点,两者共有的关键靶点有 24 个。

进一步的蛋白质相互作用网络分析显示细胞 TP53, FOS, MAPK8, TNF, VEGFA, RELA, ESR1, PTGS2 这 8 个关键靶点尤为重要,提示昆明山海棠-益母草药对治疗 RA 的重要靶点非此莫属。KEGG 通路富集分析显示,RA 发生机制与关键靶点及其所分布的通路有密切关联,这与目前对上述中药活性成分及其关键靶点的研究结果和其与 RA 间关系的相关研究基本一致。

TP53 基因可显著降低滑膜炎以及 IL-6 水平,通过上调 miR-22 抑制 RA 成纤维细胞样滑膜细胞中 Cyr61 的表达,控制细胞周期阻滞和增殖,损害 Treg

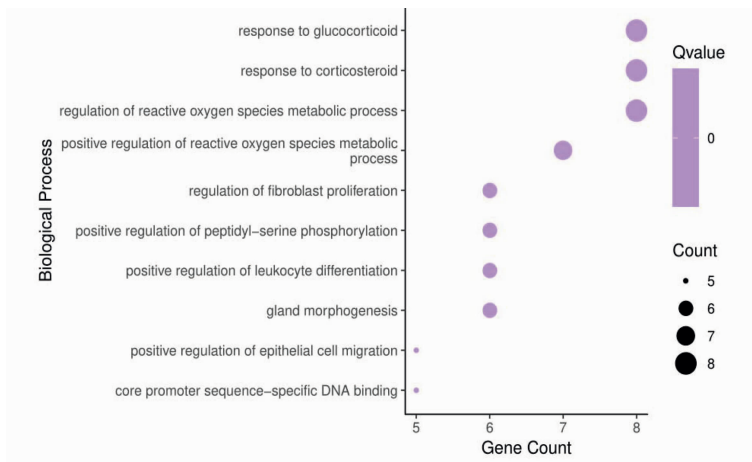


图 6 昆明山海棠-益母草活性成分治疗 RA 关键靶点的 GO 生物学过程富集分析

Fig. 6 Enrichment analysis on GO biological processes of key targets from active ingredients of THLJ

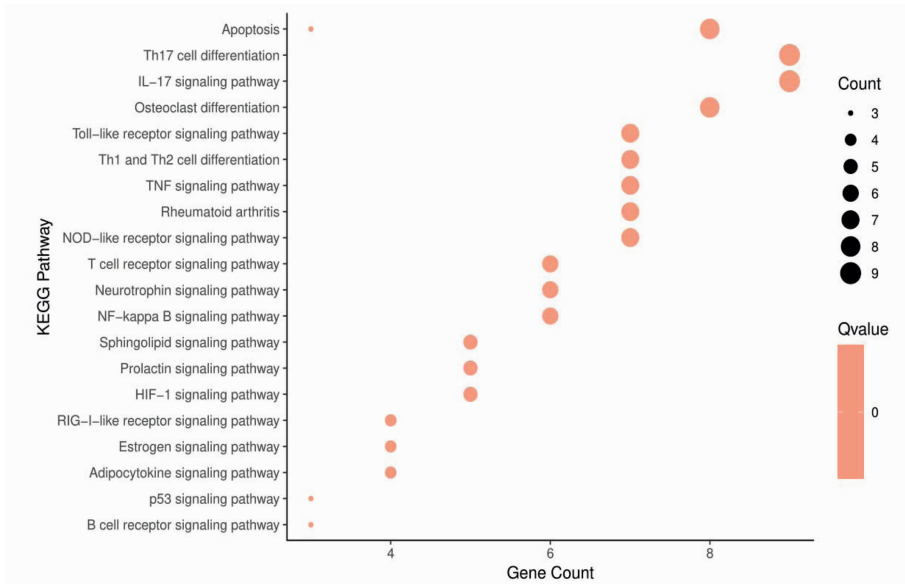


图 7 昆明山海棠-益母草活性成分治疗 RA 关键靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

Fig. 7 Enrichment analysis on KEGG pathways of key targets from main active ingredients of THLJ

细胞分化,抑制 Th17 细胞分化,从而抑制成纤维细胞样滑膜细胞增殖^[38-40],在槲皮素通过线粒体途径诱导的 RA 成纤维细胞样滑膜细胞凋亡中起重要作用^[41]。FOS 基因的下调与 RANKL 介导的破骨细胞生成抑制、外周血单个核细胞(PBMCs)的破骨细胞形成能力抑制有关^[42-45]。MAPK8 基因属于 MAPK 信号传导通路,该通路的活化可促进 RA/FLS 炎性反应,参与滑膜细胞过度增殖及凋亡抑制,参与并调控关节软骨中软骨细胞的增殖、分化和凋亡,与参与 RA 滑膜炎的主要信号传导通路存在密切的交叉联系^[46]。TNF 基因与 NF-κB 信号通路有关,参与炎症、抗凋亡和免疫反应,细胞因子和趋化因子的级联反应,调控破骨细胞的生成,抑制成骨细胞的分

化^[47],其中 TNF-α 是 RA 治疗的活跃靶标,由此研发出了全人单抗、人源化单抗、嵌合单抗等一系列 RA 治疗生物制剂占据绝对优势,恩利、修美乐等明星药物发挥着重要的治疗效果^[48]。VEGFA 基因参与血管生成过程和 NF-κB 信号通路,抑制 RA 中人成纤维样滑膜细胞(HFLS)增殖,凋亡和血管生成^[49-50]。RELA 基因在哺乳动物中是 NF-κB/Rel 家族的一员,而转录因子 NF-κB 是免疫和炎症反应的关键调节因子,NF-κB p65 介导的反式激活在多种慢性炎症性疾病的发病机制中的关键作用,如类风湿性关节炎中的 NF-κB p65 途径与成纤维细胞样滑膜细胞的侵袭、迁移和增殖有关,NF-κB p65 信号通路一直是强烈的药物发现和发展的关键点^[51-52]。

ESR1 基因介导并与其他激素相互作用影响雌激素调节免疫反应以及自身免疫性疾病的风险和进展,并被炎症细胞因子改变其表达水平,与各种自身免疫性疾病有关^[53]。PTGS2 基因在滑膜炎中起关键作用,与 RA FLS 的增殖有关,在控制 RA 中的慢性炎症和可能的其他 Th17 介导的自身免疫疾病中将是重要的^[54-55]。

GO 结果显示,关键靶点涉及的生物学过程主要为对皮质类固醇的反应,对糖皮质激素的反应,活性氧代谢过程的调节,活性氧代谢过程的积极调节,成纤维细胞增殖的调节,肽基丝氨酸磷酸化的正调节,腺体形态发生,白细胞分化的正调节等。这些生物学过程都体现在中药活性成分及其靶点所涉及的通路治疗 RA 的机制中。此外,此研究中中药活性成分关键靶点富集的主要通路为 Th17 细胞分化,IL-17 信号通路,细胞凋亡,破骨细胞分化,NOD 样受体信号通路^[56],Toll 样受体信号通路^[57],TNF 信号通路,Th1 和 Th2 细胞分化、类风湿关节炎,NF- κ B 信号通路,T 细胞受体信号通路,神经营养因子信号通路^[58],鞘脂信号通路^[59],催乳素信号通路^[60-61],HIF-1 信号通路^[62]等。RA 的形成与发展与这些通路有密切关联,通路富集的结果表明不同的通路中有昆明山海棠-益母草药对的活性成分作用的关键靶点的存在,各通路在 RA 治疗中发挥着协调作用,提示未来的进一步研究的方向可以这些通路为基础进行。

综上所述,此研究对昆明山海棠-益母草药对的多成分、多靶点、多通路与 RA 疾病的复杂网状关系进行了系统性网络药理学研究。此研究初步清晰地阐述了昆明山海棠-益母草药对的主要潜在活性成分及其作用靶点和相关通路在 RA 治疗中具有重要的研究价值,不仅与当前的相关研究相互验证,还为更多的基础研究及临床研究提供了能更加深入地探讨其作用机制的新思路和潜在有效的研究方向以验证具体结果。

[参考文献]

[1] Chaudhari K, Rizvi S, Syed B A. Rheumatoid arthritis: current and future trends [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(5):305-306.
[2] Meinnes I B, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *N Engl J Me*, 2011, 365(23):2205-2219.
[3] Harnden K, Pease C, Jackson A. Rheumatoid arthritis [J]. *BMJ*, 2016, 352:i387.
[4] Aletaha D, Smolen J S. Diagnosis and management of

rheumatoid arthritis: a review [J]. *JAMA*, 2018, 320(13):1360-1372.
[5] Burmester G R, Pope J E. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis [J]. *Lancet*, 2017, 389(10086):2338-2348.
[6] Miossec I P. Drug treatments for rheumatoid arthritis: looking backwards to move forwards [J]. *BMJ*, 2015, 350:h1192.
[7] 徐佳琦,周寅敏. 类风湿性关节炎的中医药治疗效果研究进展 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(A2):121-125.
[8] 林昌松,陈秀敏,林云斌. 昆母汤佐治活动性类风湿关节炎的临床效果 [J]. *广东医学*, 2013, 34(16):2580-2582.
[9] 林昌松,梁江,刘凤震,等. 断藤益母汤治疗类风湿关节炎的临床疗效观察 [J]. *广州中医药大学学报*, 2012, 29(6):632-637.
[10] 谢晨琼,周萍,李祥,等. 昆明山海棠化学成分及药理作用和临床应用研究进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(13):1996-2010.
[11] 叶林虎,贺梅,赵欣黔,等. 益母草及其制剂的研究进展 [J]. *中国民族民间医药*, 2019, 28(2):56-60.
[12] 陈秀敏,林昌松,刘清平,等. 昆母汤对类风湿关节炎滑膜细胞增殖及凋亡的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(17):2793-2796.
[13] 林昌松,林云斌,陈秀敏,等. 昆母汤醇提取物对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖及 IL-1 β 和 MMP-3 表达的影响 [J]. *广东医学*, 2015, 36(14):2136-2138.
[14] 林昌松,陈秀敏,林云斌,等. 昆母汤醇提液对人类类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞凋亡及 caspase-3 表达的影响 [J]. *广东医学*, 2015, 36(3):339-341.
[15] 蔡叙东,林昌松,潘东梅,等. 断藤益母汤对破骨细胞 RANKL 信号通路及 MMP-9 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(12):68-73.
[16] 蔡叙东,林昌松,潘东梅,等. 断藤益母汤对破骨细胞活性及 Wnt 信号通路的影响研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(10):2332-2335.
[17] 潘东梅,王强,蔡叙东,等. 断藤益母汤抑制 PI3K/AKT 通路诱导类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞凋亡 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5):2051-2055.
[18] LI N, XU Q, LIU Q, et al. Leonurine attenuates fibroblast-like synovocyte-mediated synovial inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2017, 56(8):1417-1427.
[19] PAN D, LI N, LIU Y, et al. Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by blocking activation of the MAPK

- pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 55: 174-182.
- [20] Hopkins A L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery [J]. Nat Chem Biol, 2008, 4 (11): 682-690.
- [21] Pinero J, Bravo à, Queralt-Rosinach N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45 (D1): D833-D839.
- [22] CHEN X, JI Z L, CHEN Y Z. TTD: therapeutic target database [J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30 (1): 412-415.
- [23] Wishart D S, Feunang Y D, GUO A C, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46 (D1): D1074-D1082.
- [24] RU J, LI P, WANG J, et al. TC MSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [25] Szklarzyk D, Morris J H, Cook H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45 (D1): D362-D368.
- [26] Cline M S, Smoot M, Cerami E, et al. Integration of biological networks and gene expression data using Cytoscape [J]. Nat Protoc, 2007, 2 (10): 2366-2382.
- [27] YANG Y, YE Y, QIU Q, et al. Triptolide inhibits the migration and invasion of rheumatoid fibroblast-like synoviocytes by blocking the activation of the JNK MAPK pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2016, 41: 8-16.
- [28] XU H, ZHAO H, LU C, et al. Triptolide inhibits osteoclast differentiation and bone resorption *in vitro* via enhancing the production of IL-10 and TGF- β_1 by regulatory T cells [J]. Mediators Inflamm, 2016, doi: 10.1155/2016/8048170.
- [29] LIU C, ZHANG Y, KONG X, et al. Triptolide prevents bone destruction in the collagen-induced arthritis model of rheumatoid arthritis by targeting RANKL/RANK/OPG signal pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, doi:10.1155/2013/626038.
- [30] Lee C J, Moon S J, Jeong J H, et al. Kaempferol targeting on the fibroblast growth factor receptor 3-ribosomal S6 kinase 2 signaling axis prevents the development of rheumatoid arthritis [J]. Cell Death Dis, 2018, 9 (3): 401.
- [31] PAN D, LI N, LIU Y, et al. Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by blocking activation of the MAPK pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 55: 174-182.
- [32] Yoon H Y, Lee E G, Lee H, et al. Kaempferol inhibits IL-1 β -induced proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and the production of COX-2, PGE2 and MMPs [J]. Int J Mol Med, 2013, 32 (4): 971-977.
- [33] Choi E J, Bae S C, YU R, et al. Dietary vitamin E and quercetin modulate inflammatory responses of collagen-induced arthritis in mice [J]. J Med Food, 2009, 12 (4): 770-775.
- [34] Kim H R, Kim B M, Won J Y, et al. Quercetin, a plant polyphenol, Has potential for the prevention of bone destruction in rheumatoid arthritis [J]. J Med Food, 2019, 22 (2): 152-161.
- [35] YANG Y, ZHANG X, XU M, et al. Quercetin attenuates collagen-induced arthritis by restoration of Th17/Treg balance and activation of Heme Oxygenase 1-mediated anti-inflammatory effect [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 54: 153-162.
- [36] JI J J, LIN Y, HUANG S S, et al. Quercetin: a potential natural drug for adjuvant treatment of rheumatoid arthritis [J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2013, 10 (3): 418-421.
- [37] PAN F, ZHU L, LV H, et al. Quercetin promotes the apoptosis of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis by upregulating lncRNA MALAT1 [J]. Int J Mol Med, 2016, 38 (5): 1507-1514.
- [38] LIN J, HUO R, XIAO L, et al. A novel p53/microRNA-22/Cyr61 axis in synovial cells regulates inflammation in rheumatoid arthritis [J]. 2014, 66 (1): 49-59.
- [39] ZHANG T, LI H, SHI J, et al. p53 predominantly regulates IL-6 production and suppresses synovial inflammation in fibroblast-like synoviocytes and adjuvant-induced arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18 (1): 271.
- [40] Park J S, Lim M A, Cho M L, et al. p53 controls autoimmune arthritis via STAT-mediated regulation of the Th17 cell/Treg cell balance in mice [J]. Arthritis Rheum, 2013, 65 (4): 949-959.
- [41] XIAO P, HAO Y, ZHU X, et al. p53 contributes to quercetin-induced apoptosis in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. Inflammation, 2013, 36 (2): 272-278.
- [42] Park K H, GU D R, JIN S H, et al. Pueraria lobate inhibits RANKL-mediated osteoclastogenesis via

- downregulation of CREB/PGC1 β /c-Fos/NFATc1 signaling [J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45 (8): 1725-1744.
- [43] Choi B Y, Park C H, NA Y H, et al. Inhibition of RANKL-induced osteoclast differentiation through the downregulation of c-Fos and NFATc1 by eremochloa ophiuroides (centipedegrass) extract [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(5):4014-4022.
- [44] SHANG W, ZHAO L J, DONG X L, et al. Curcumin inhibits osteoclastogenic potential in PBMCs from rheumatoid arthritis patients via the suppression of MAPK/RANK/c-Fos/NFATc1 signaling pathways [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4):3620-3626.
- [45] Kim H J, Yoon K A, Lee M K, et al. A novel small molecule, NecroX-7, inhibits osteoclast differentiation by suppressing NF- κ B activity and c-Fos expression [J]. *Life Sci*, 2012, 91 (19/20):928-934.
- [46] 唐敏,何成松. 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路与类风湿关节炎关系的研究 [J]. *现代医药卫生*, 2014, 30(8):1203-1206.
- [47] 王洁,卞莹莹,张川,等. 肿瘤坏死因子及其受体在类风湿性关节炎中的研究进展 [J]. *药学实践杂志*, 2017, 35(4):289-293.
- [48] 刘丽丽,毛艳艳,高柳滨. 类风湿关节炎全球药物研发状况分析 [J]. *科技导报*, 2016, 34(24):44-55.
- [49] Macdonald I J, LIU S C, SU C M, et al. Implications of angiogenesis involvement in arthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7):2012.
- [50] XIA Z B, MENG F R, FANG Y X, et al. Inhibition of NF- κ B signaling pathway induces apoptosis and suppresses proliferation and angiogenesis of human fibroblast-like synovial cells in rheumatoid arthritis [J]. *Medicine*, 2018, 97(23):e10920.
- [51] Girdharan S, Srinivasan M. Mechanisms of NF- κ B p65 and strategies for therapeutic manipulation [J]. *J Inflamm Res*, 2018, 11:407-419.
- [52] SUN W, QIN R, WANG R, et al. Sam68 promotes invasion, migration, and proliferation of fibroblast-like synoviocytes by enhancing the NF- κ B/P65 Pathway in rheumatoid arthritis [J]. *Inflammation*, 2018, 41 (5): 1661-1670.
- [53] Vasarhel B, Meszaros K, Karvaly G, et al. Focusing on tissue biomarkers. Estrogens as key players in the immune response and autoimmunity [J]. *Orv Hetil*, 2015, 156(51):2070-2076.
- [54] Paulissen S M, van Hamburg J P, Davelaar N, et al. Synovial fibroblasts directly induce Th17 pathogenicity via the cyclooxygenase/prostaglandin E2 pathway, independent of IL-23 [J]. *J Immunol*, 2013, 191 (3): 1364-1372.
- [55] YAN Y, Singh G K, ZHANG F, et al. Comparative study of normal and rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes proliferation under cyclic mechanical stretch; role of prostaglandin E2 [J]. *Connect Tissue Res*, 2012, 53(3):246-254.
- [56] Kim Y K, Shin J S, Nahm M H. NOD-like receptors in infection, immunity, and diseases [J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(1):5-14.
- [57] Lim K H, Staudt L M. Toll-like receptor signaling [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(1):a11247.
- [58] LIN Y, LUO Z. Aberrant methylation patterns affect the molecular pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 46:141-145.
- [59] Molino S, Tate E, Mckillop W M, et al. Sphingolipid pathway enzymes modulate cell fate and immune responses [J]. *Immunotherapy*, 2017, 9 (14): 1185-1198.
- [60] Redelman D, Welniak L A, Taub D, et al. Neuroendocrine hormones such as growth hormone and prolactin are integral members of the immunological cytokine network [J]. *Cell Immunol*, 252 (1/2): 111-121.
- [61] TANG C, LI Y, LIN X, et al. Prolactin increases tumor necrosis factor alpha expression in peripheral CD14 monocytes of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Cell Immunol*, 2014, 290(1):164-168.
- [62] Taylor C T, Colgan S P. Regulation of immunity and inflammation by hypoxia in immunological niches [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(12):774-785.

[责任编辑 孙丛丛]