

• 论 著 •

基于网络药理学和分子对接预测身痛逐瘀汤
治疗神经病理性疼痛的作用机制研究 *张媛婧¹ 刘春华¹ 胡慧敏¹ 李 晨¹ 赵浩成¹ 张家禧¹ 樊碧发^{2△}(¹北京中医药大学研究生院, 北京 100029; ²中日友好医院疼痛科, 北京 100029)

摘 要 **目的:** 通过网络药理学和分子对接研究身痛逐瘀汤治疗神经病理性疼痛的作用机制。**方法:** 通过 TCMSP 和 HERB 数据库获取身痛逐瘀汤活性成分及对应靶点, 在 GeneCards、OMIM 数据库搜索神经病理性疼痛相关靶点, 对药物靶点和疾病靶点取交集, 获取交集靶点。通过 Cytoscape 3.8.0 构建“中药-活性成分-靶点”网络; 借助 STRING 11.0 数据库构建蛋白互作网络, 同时借助 Cytoscape 3.8.0 软件中 Analyze Network 插件计算网络中节点的拓扑参数, 筛选出网络中起重要作用的核心靶点。将交集靶点投射到 GO 和 KEGG 富集分析。最后, 借助 AutoDock Vina 1.1.2 平台进行分子对接, 预测身痛逐瘀汤主要活性成分与核心靶点的结合度。**结果:** 通过筛选得到身痛逐瘀汤活性成分 199 个, 靶点 478 个; 神经病理性疼痛相关靶点 1902 个; 药物与疾病的交集靶点 122 个。其中 STAT3、IL-6、MAPK1、MAPK3、TNF 等靶点在身痛逐瘀汤干预神经病理性疼痛的生物网络中起到重要作用, 主要涉及 MAPK、cAMP、IL-17 等信号通路。分子对接结果显示身痛逐瘀汤活性化合物与 MAPK3、FOS、IFNG 等关键靶点具有较高结合能力。**结论:** 身痛逐瘀汤可通过多靶点、多途径对神经病理性疼痛产生镇痛作用, 为其治疗神经病理性疼痛的作用机制提供新思路。

关键词 身痛逐瘀汤; 神经病理性疼痛; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

Prediction of the mechanism of Shentong Zhuyu decoction in treating neuropathic pain based on network pharmacology and molecular docking *ZHANG Yuan-jing¹, LIU Chun-hua¹, HU Hui-min¹, LI Chen², ZHAO Hao-cheng¹, ZHANG Jia-xi¹, FAN Bi-fa^{2△}(¹ Department of Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; ² Department of Pain Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

Abstract **Objective:** To explore the mechanism of Shentong Zhuyu decoction in the treatment of neuropathic pain by network pharmacology and molecular docking. **Methods:** The principal components and corresponding protein targets of Shentong Zhuyu decoction were searched on TCMSP and HERB, the targets related to neuropathic pain were searched in GeneCards and OMIM databases, and the intersection of drug targets and disease targets were obtained. The "TCM-Active ingredients-Target" network was constructed by Cytoscape 3.8.0. The coincidence target was imported into STRING database to construct a protein-protein interaction (PPI) network. At the same time, the Analyze Network plugin in Cytoscape 3.8.0 software was used to calculate the topology parameters of nodes in the network and filter out the core targets that play an important role in the network. We further performed GO and KEGG enrichment analysis on these targets. Finally, molecular docking study was performed using the AutoDock Vina 1.1.2 platform to predict the binding degree between these core targets and active compounds. **Results:** One hundred ninety-nine active ingredients and 478 targets of Shentong Zhuyu decoction were obtained. There were 1902 targets related to neuropathic pain and 122 intersection targets between drugs and diseases. Among them, STAT3, IL-6, MAPK1, MAPK3, TNF and other targets play an important role in the bi-

* 基金项目: 国家重点研发计划 (2022YFC3602201)

△ 通信作者 樊碧发 fb1616@yeah.net



ological network of Shentong Zhuyu decoction that interfere with neuropathic pain, mainly involving MAPK, cAMP, IL-17 and other signaling pathways. Molecular docking results showed that the active compounds of Shentong Zhuyu decoction had high binding ability with MAPK3, FOS, IFNG and other key targets. **Conclusion:** Shentong Zhuyu decoction can produce an analgesic effect on neuropathic pain through multi-target and multi-pathway, which provide a new idea for the mechanism of action of Shentong Zhuyu decoction in the treatment of neuropathic pain.

Keywords Shentong Zhuyu decoction; neuropathic pain; network pharmacology; molecular docking; mechanism

国际疼痛学会 (International Association for the Study of Pain, IASP) 最新修订的疼痛定义, 疼痛被认为是一种与实际或潜在的组织损伤相关的不愉快的感觉和情绪情感体验, 或与此相似的经历^[1]。世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 于 2018 年重新修订了国际疾病分类 (International Classification of Diseases, ICD-11), 慢性疼痛首次作为独立的疾病被列入分类目录, 其中就包括慢性神经病理性疼痛。IASP 将神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 定义为由躯体感觉系统的损伤或者疾病而导致的疼痛^[2]。这种神经病理性疼痛通常是慢性的, 表现为持续或反复发作^[2]。慢性疼痛造成巨大的个人和经济负担, 有研究表明, 其影响了全球 30% 以上的人^[3]。而慢性 NP 更是造成全球疾病负担的主要因素^[4], 其患病率在一般人群的 6.9%~10% 之间^[5]。NP 被认为是最难治疗的疼痛状况之一^[6], 与之发展相关的心理因素包括抑郁、焦虑、创伤后压力、应对能力差和灾难化思维等。目前临床上常用的西药治疗有抗抑郁药、抗惊厥药、钙离子通道调节剂、钠离子通道阻滞剂、阿片类药物等, 但与西药治疗伴随而来的如头晕、嗜睡、恶心、呕吐等药物不良反应使病人依从性变差, 以及长期服用易产生病人对药物的依赖性, 停药后疼痛症状易复发, 药物的安全性存在争议^[7]。因此, 寻找更易被病人接受且能够降低 NP 复发率的高效、安全治疗方案尤为重要。随着中医临床研究的进展, 具有多成分、多靶点优势的中药天然产物及其化合物为治疗 NP 提供了研究方向^[8]。

身痛逐瘀汤出自清代医学大家王清任的《医林改错》, 为“五逐瘀汤”之一, 为治疗血瘀证的代表方剂之一。全方具有活血祛瘀, 祛风除湿, 通痹止痛之功, 用于治疗瘀血痹阻经络所致的肢体痹痛或周身疼痛。现代药理学研究发现, 该方具有活血化瘀、镇痛、抗炎作用^[9], 但其具体作用机制仍不清楚。因此, 本研究借助网络药理学对身痛逐瘀汤治疗 NP 的有效成分及靶点进行预测, 探讨其产生作用的信号通路, 为身痛逐瘀汤治疗 NP 的作用机制研究提供新思路。

方 法

1. 身痛逐瘀汤靶点收集及筛选

使用中药系统药理学数据库与分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <http://tcmsp.com>) 对各中药的活性成分进行搜索, 以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (drug likeness, DL) ≥ 0.18 为筛选条件, 对于 TCMSP 数据库未收录的药物, 选用 HERB 数据库 (<http://herb.ac.cn/>) 进行检索, 获取化合物 SMILE 式, 上传至 Swiss ADME 平台 (<http://www.swissadme.ch/index.php>) 筛选 (化合物保留标准: GI absorption = yes, Drug-likeness 中 yes 数 ≥ 3), 对筛选后的化合物上传至 Swiss Target Prediction 平台预测靶点 (靶点保留标准: Probability > 0)。检索出秦艽、川芎、桃仁、红花、甘草、羌活、没药、当归、灵脂、香附、牛膝、地龙等药物的活性成分和对应靶点。使用 Perl 计算机程序语言编写的脚本对活性成分和靶点进行对应筛选并去重, 显示出药物靶标的名称和序号; 在此基础上把药物成分名称通过 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org>) 转化成基因标签。

2. 疾病相关基因的筛选

使用生物信息综合数据库 (GeneCard, <https://www.genecards.org/>)、人类在线孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM 数据库, <https://www.omim.org/>) 对疾病靶点进行搜索并下载数据, 进行整理和汇总, 检索关键词为: Neuropathic Pain。

3. 药物-疾病靶点的筛选

从药物靶点文件中将标签信息分离出来备用, 从 GeneCard、OMIM 数据中将疾病对应的标签信息分离出来备用; 使用 R 语言 VennDiagram 程序包对数据进行处理并作出 Venn 图, 得到药物-疾病对应的数据。

4. “中药-活性成分-靶点”网络的绘制

将中药、活性成分、交集靶点信息整理至 Excel

表格, 利用 Cytoscape 3.8.0 软件绘制“中药-活性成分-靶点”网络, 使用其内置工具 Network Analyzer 计算度值 (degree), 筛选主要活性化合物。

5. 数据可视化及 PPI 网络的构建

在 String PPI 蛋白互作网络 (protein-protein interaction, PPI) 分析数据库中导入疾病-药物互作蛋白, 选择人类数据库, 通过调整, 设置评分值 (置信度) > 0.9 后, 隐藏游离节点, 生成 PPI 蛋白互作网络节点图。随后将靶点导入 Cytoscape 3.8.0 进行可视化, 利用 Analyze Network 插件计算网络中节点的拓扑参数, 并以此筛选网络中的重要化合物及方剂的主要作用靶点。

6. 功能富集分析

使用 R 语言 BiocManager 数据包对疾病药物靶点的数据进行转化, 展示出其基因 ID, 便于后期数据富集分析; 对治疗靶点进行基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 限定 $P < 0.05$, 物种为人类。

7. 分子对接

将“中药-活性成分-靶点”网络图中度值最高的 10 个活性成分与 PPI 网络中度值最高的 10 个核心蛋白进行分子对接。蛋白质获取使用蛋白质结构数据库 (RCSB Protein Data Bank, RCSB PDB, <https://www.rcsb.org>), 蛋白受体预处理通过 AutoDockTools 1.5.6, 小分子获取使用有机小分子生物活性数据 (PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), 小分子能量最小化通过 OpenBabel 2.4.1 (MMFF94 力场), 小分子配体处理使用 OpenBabel 2.4.1。通过软件 Autodock Vina 1.1.2 进行分子对接, 设置对接构象为 10 个, 通过分子对接结果分析各小分子配体与受体蛋白的结合能力强弱。

结 果

1. 身痛逐瘀汤靶点整合

通过 TCMSP 以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件, 对于 TCMSP 未收录的药物 (灵脂、地龙) 选用 HERB 进行检索, 共收集到活性成分 199 个, 其中秦艽 2 个、川芎 6 个、桃仁 18 个、红花 16 个、甘草 88 个、羌活 13 个、没药 31 个、当归 2 个、灵脂 16 个、香附 16 个、牛膝 16 个、地龙 1 个, 删除重复项, 最终共收集到靶点 494 个。利用 Uniprot 数据库对靶点进行基因名称转化, 共获得 478 个药物靶点基因。

2. 神经病理性疼痛靶点整合

以“Neuropathic Pain”为检索词进行检索, 收集 NP 相关靶点, 将 2 个疾病数据库结果进行归纳, 其中 GeneCards 数据库 1758 个, OMIM 数据库 391 个, 删除重复基因, 得到 1902 个疾病基因 (见图 1)。将疾病靶点与活性成分靶点取交集, 得到交集靶点 122 个 (见图 2)。

3.“中药-活性成分-靶点”网络

使用 Cytoscape 对 122 个交集靶点进行“中药-活性成分-靶点调控”网络图的绘制 (见图 3)。Network Analyzer 计算分析得到 333 个节点, 1261 条边, 平均度值为 7.57, 对节点拓扑参数进行分析以筛选网络中关键的节点, 前 10 的化合物节点拓扑参数见表 1, 前 10 的基因靶点节点拓扑参数见表 2。由表 1 可知, 排名前 10 的化合物槲皮素、4'-二氢基汉黄芩素、五灵脂酸、7-羟基-5-甲氧基香豆素、委陵菜酸、三羟基基异甾族胆烯酸、熊果酸、 β -谷甾醇、豆甾醇、木犀草素的度值均显著大于 7.57, 表明其能对多个靶点具有作用, 可能是身痛逐瘀汤治疗 NP 的关键化合物。由表 2 可知, 靶点信号传导

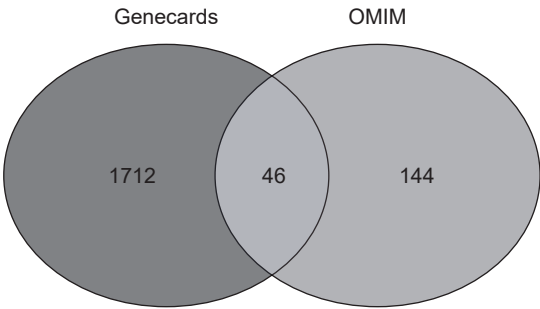


图 1 不同疾病数据库疾病靶点 Venn 图
Fig. 1 Venn diagram of disease targets in different disease databases

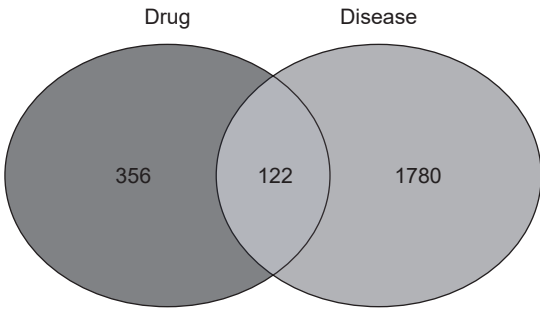


图 2 药物-疾病交集靶点 Venn 图
Fig. 2 Venn diagram of drug-disease intersection targets

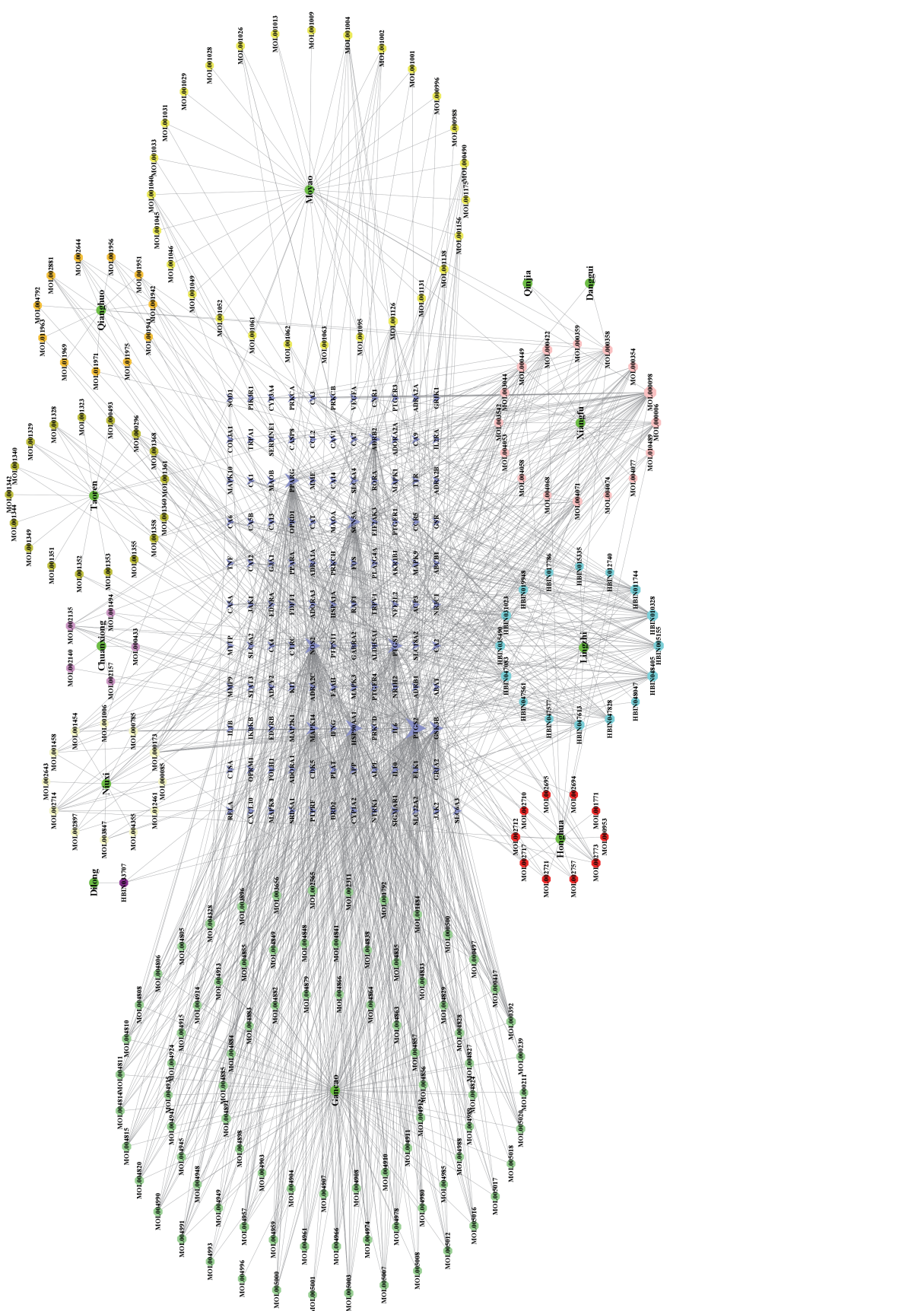


图3 “中药-活性成分-靶点”网络
Fig. 3 The "TCM-Active Ingredients-Target" network



及转录激活蛋白 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase, MAPK1)、MAPK3、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、RelA 原癌基因 (RelA proto-oncogene, RELA)、干扰素- γ (interferon- γ , IFNG)、IL-1 β 、Raf-1 原癌基因 (Raf-1 proto-oncogene, RAF1)、c-Fos 原癌基因 (Fos proto-oncogene, FOS) 的度值均显著大于 7.57, 表示其能被多种化合物进行调节, 可能是治疗 NP 的主要靶点。

4. PPI 网络

将在 STRING 构建的 PPI 网络导入 Cytoscape 进行可视化 (见图 4)。图中 122 个治疗靶点存在 374 条蛋白相互作用连线。Network Analyzer 计算分析得到 82 个节点, 374 条边, 平均度值 9.12, 其中 STAT3、IL-6、MAPK1、MAPK3、TNF、RELA、IFNG、IL-1 β 、RAF1、FOS (排名前 10) 度值均大于 9.12 (见表 2), 说明与其他蛋白互作用力强。

5. GO 富集分析

由 GO 富集分析结果可知 ($P < 0.05$), 身痛逐瘀

汤干预 NP 的作用靶点涉及的生物过程有 2100 条, 主要为对脂多糖的反应、信号释放、对细菌源分子的反应、对肽激素的反应、对外来刺激的反应等; 涉及的细胞组分有 98 条, 主要为膜筏、膜微区、神经元胞体、突触前膜、突触后膜等; 涉及的分子功能有 152 条, 主要为碳酸盐脱水酶活性、水解酶活性、碳氧裂解酶活性、裂合酶活性、儿茶酚胺整合等 (见图 5)。

6. KEGG 通路富集分析

为了明确身痛逐瘀汤干预 NP 主要涉及的信号通路对治疗靶点进行 KEGG 通路富集, 最终共得到 176 条信号通路, 以 P 值为标准选取与疼痛密切相关的 20 条信号通路进行可视化分析 (见图 6), 主要包括神经活性配体-受体相互作用、MAPK 信号通路、cAMP 信号通路、IL-17 信号通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、TNF 信号通路、Th17 细胞分化、T 细胞受体信号通路、toll 样受体信号通路、胰岛素抵抗、破骨细胞分化、TRP 通道的炎症调节介质、cGMP-PKG 信号通路、GnRH 信号通路、神经营养因子信号通路、Th1 和 Th2 细胞

表 1 身痛逐瘀汤活性成分节点拓扑参数

Table 1 Topological parameters of Shentong Zhuyu decoction active ingredient nodes

化合物 Compound	中文名 Chinese name	度值 Degree	紧密中心性 Closeness	中介中心性 Betweenness
Quercetin	槲皮素	43	167.53333	14820.0111
4'-dihydroxy wogonin	4'-二羟基汉黄芩素	28	152.05	10613.67685
Wulingzhic acid	五灵脂酸	23	150.21667	9102.9876
5-methoxy-7-hydroxycoumarin	7-羟基-5-甲氧基香豆素	21	116.48333	3129.61338
2 α , 19 α -dihydroxyursolic acid	委陵菜酸	20	147.6	5129.33346
Trihydroxy isostercholenic acid	三羟基基异甾族胆烯酸	20	147.21667	4243.12844
Ursolic acid	熊果酸	19	146.93333	3994.12398
Beta-sitosterol	β -谷甾醇	18	150.96667	4164.52236
Stigmasterol	豆甾醇	17	148.2	2956.7338
Luteolin	木犀草素	17	143.16667	2474.54421

表 2 治疗靶点节点拓扑参数

Table 2 Therapeutic target node topology parameters

靶点 Target	度值 Degree	紧密中心性 Closeness	中介中心性 Betweenness
STAT3	34	35.26071	552.49185
IL-6	32	34.21071	518.51969
MAPK1	30	34.17619	478.73391
MAPK3	28	33.67619	519.82323
TNF	26	32.84405	381.08198
RELA	22	31.51071	482.22264
IFNG	22	28.6373	93.13822
IL-1 β	22	29.8873	99.20715
RAF1	20	30.67619	340.33237
FOS	20	30.07619	173.93703

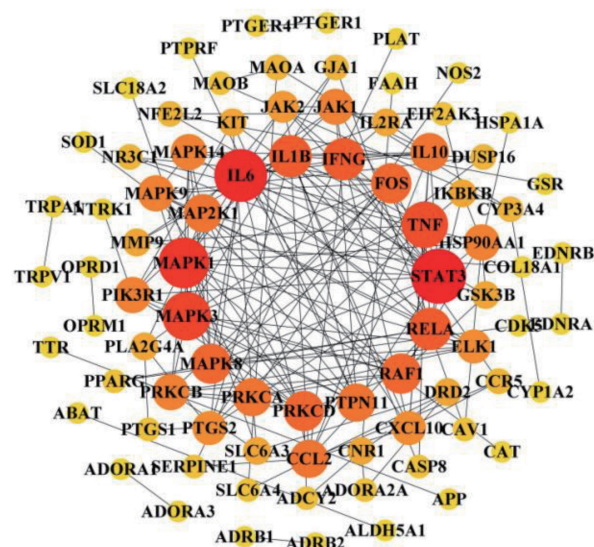


图 4 PPI 网络图

节点越大, 颜色越接近红色, 节点度值越高

Fig. 4 PPI network

The larger the node, the closer the color is to red and the higher the node degree value.

分化、氮代谢、VEGF 信号通路、细胞凋亡、ErbB 信号通路等。

7. 分子对接验证

将关键化合物槲皮素、4'-二氢基汉黄芩素、五灵脂酸、7-羟基-5-甲氧基香豆素、委陵菜酸、三羟基基异黄酮胆烯酸、熊果酸、 β -谷甾醇、豆甾醇、木犀草素与核心靶点 STAT3、IL-6、MAPK1、MAPK3、TNF、RELA、IFNG、IL-1 β 、RAF1、FOS 进行分子对接（见图 7）。结果表明 10 个化合物与 10 个核心靶点均具有较好的结合力，其中对接最稳定的是 4'-二氢基汉黄芩素、委陵菜酸与 MAPK3 的结合 ($-9.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)。取结合能较强的结果（排名前 6）进行可视化，分别为委陵菜酸与 MAPK3 ($-9.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)、4'-二氢基汉黄芩素与 MAPK3 ($-9.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)、委陵菜酸和 IFNG ($-9.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)、木犀草素与 MAPK3 ($-9.3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)、槲皮素与 MAPK3 ($-9.3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)、委陵菜酸与 FOS ($-9.3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)，见图 8。

讨 论

NP 基于损伤或者疾病的解剖位置可分为周围 NP 和中枢 NP, 多种累及外周或中枢神经系统的疾病都有可能诱发 NP, 其所覆盖疾病范围甚广, 包括三叉神经痛、痛性糖尿病周围神经病变、带状疱疹后神经痛、化疗诱发的周围神经病变、术后慢性

疼痛（截肢、开胸术和冠状动脉旁路术、腰椎内固定术后等）等周围神经病变以及脊髓损伤、脑损伤、慢性卒中、多发性硬化等中枢神经病变。NP 一旦出现，通常会给病人带来极大痛苦并造成功能障碍。NP 在中医学并无其病名，而是根据其症状，将其归属于“痛证”“痹症”等范畴。身痛逐瘀汤出自清代王清任的《医林改错》卷下，源于《丹溪心法》的趁痛散，全方由秦艽、川芎、桃仁、红花、甘草、羌活、没药、当归、灵脂、香附、牛膝、地龙组成。全方以桃仁、红花作为君药，活血化瘀，畅通气血；当归、川芎、五灵脂、牛膝、没药、香附、地龙为臣，行气活血、舒络通痹止痛；秦艽、羌活为佐药，祛风除湿；甘草为使药，调和诸药。诸药相合共奏活血祛瘀、祛风除湿、蠲痹镇痛之功，用于治疗瘀血痹阻经络所致的肢体痹痛或周身疼痛。现代临床研究已证实身痛逐瘀汤治疗 NP 的有效性^[10-12]及安全性。

本研究从身痛逐瘀汤中筛选出槲皮素、4'-二氢基汉黄芩素、五灵脂酸、7-羟基-5-甲氧基香豆素、委陵菜酸、三羟基基异甾族胆烯酸、熊果酸、 β -谷甾醇、豆甾醇、木犀草素等关键活性成分，其靶点主要影响 STAT3、IL-6、MAPK1、MAPK3、TNF、RELA、IFNG、IL-1 β 、RAF1、FOS 等与疼痛相关靶点，主要涉及对脂多糖、细菌源分子、肽激素、外来刺激的反应、信号释放等生物过程；涉及膜筏、膜微区、神经元胞体、突触前膜、突触后膜等细胞组分；包括碳酸盐脱水酶活性、水解酶活性、碳氧裂解酶活性、裂合酶活性、儿茶酚胺整合等分子功能。与疼痛密切相关的 20 条信号通路主要包括神经活性配体-受体相互作用、MAPK 信号通路、环磷酸腺苷信号通路 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、IL-17 信号通路等。分子对接发现以槲皮素、4'-二氢基汉黄芩素、委陵菜酸等为配体小分子与 MAPK1、MAPK3、MAPK8、IFNG、FOS 等受体蛋白进行分子对接的氢键、碳氢键、烷基、 π - π 相互作用、 π -烷基、 π - σ 等结合能稳定，初步验证了身痛逐瘀汤治疗 NP 可能的分子机制。

大量的研究表明, 槲皮素可以通过减少氧化应激、干扰肾素-血管紧张素-醛固酮系统和下调活性氧介导的下游信号通路等方式, 发挥抗氧化、抗肿瘤、抗炎症、抗菌和保护心血管等药理作用, 尤其抗炎是槲皮素最核心最显著的作用之一^[13]。4'-二氢基汉黄芩素、木犀草素等黄酮类化合物具有抗炎抗菌、抗氧化、抗肿瘤、增强免疫调节等作用, 通过对 STAT3、核转录因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 等转录因子的调节, 改变炎症中涉及的各种

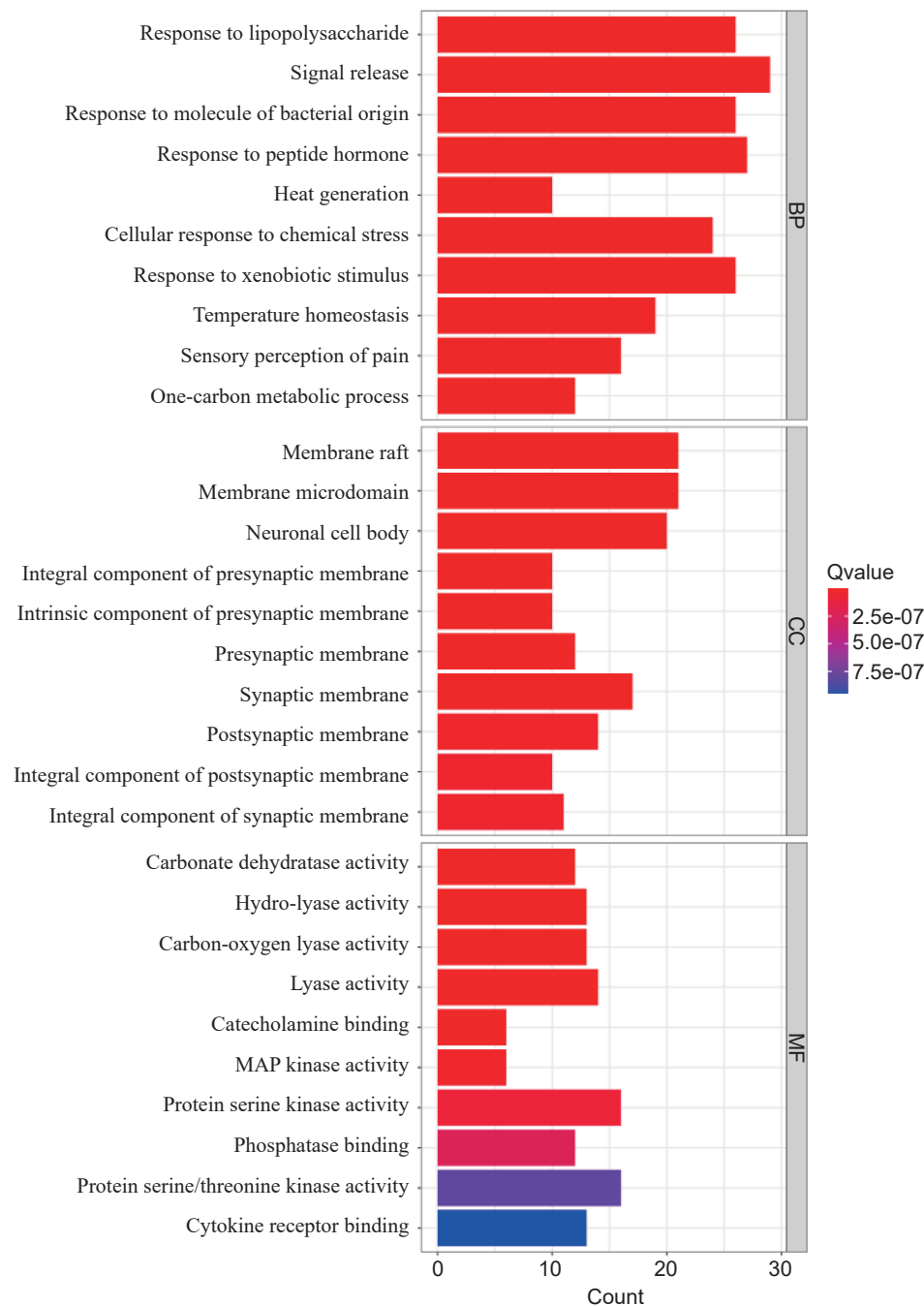


图5 GO 富集分析
Fig. 5 GO enrichment analysis

信号通路来产生抗炎镇痛作用^[14]。7-羟基-5-甲氧基香豆素属于香豆素类化合物，具有抗病毒、抗氧化、抗炎镇痛、抗肿瘤等作用^[15]。委陵菜酸具有抗炎镇痛、抗衰老、抗肿瘤、降血糖、降血脂等作用，通过抑制 NF- κ B 活化而产生抗炎镇痛作用^[16]。熊果酸具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、降脂、降糖、保肝等作用，可通过激活核因子-红细胞 2 相关因子 2 信号通路改善脑缺血中的炎症反应^[17]。 β -谷甾醇

具有抗炎、调节机体免疫系统的作用，可激活过氧化物酶体增殖物激活受体 α (recombinant peroxisome proliferator activated receptor alpha, PPAR α) 通路产生抗炎镇痛作用^[18]。活性成分均有着抗炎作用，提示上述活性成分可能通过抗炎等作用产生镇痛，参与 NP 的发展。

PPI 网络分析可知，身痛逐瘀汤治疗 NP 的主要靶点有 STAT3、IL-6、MAPK1、MAPK3、TNF、

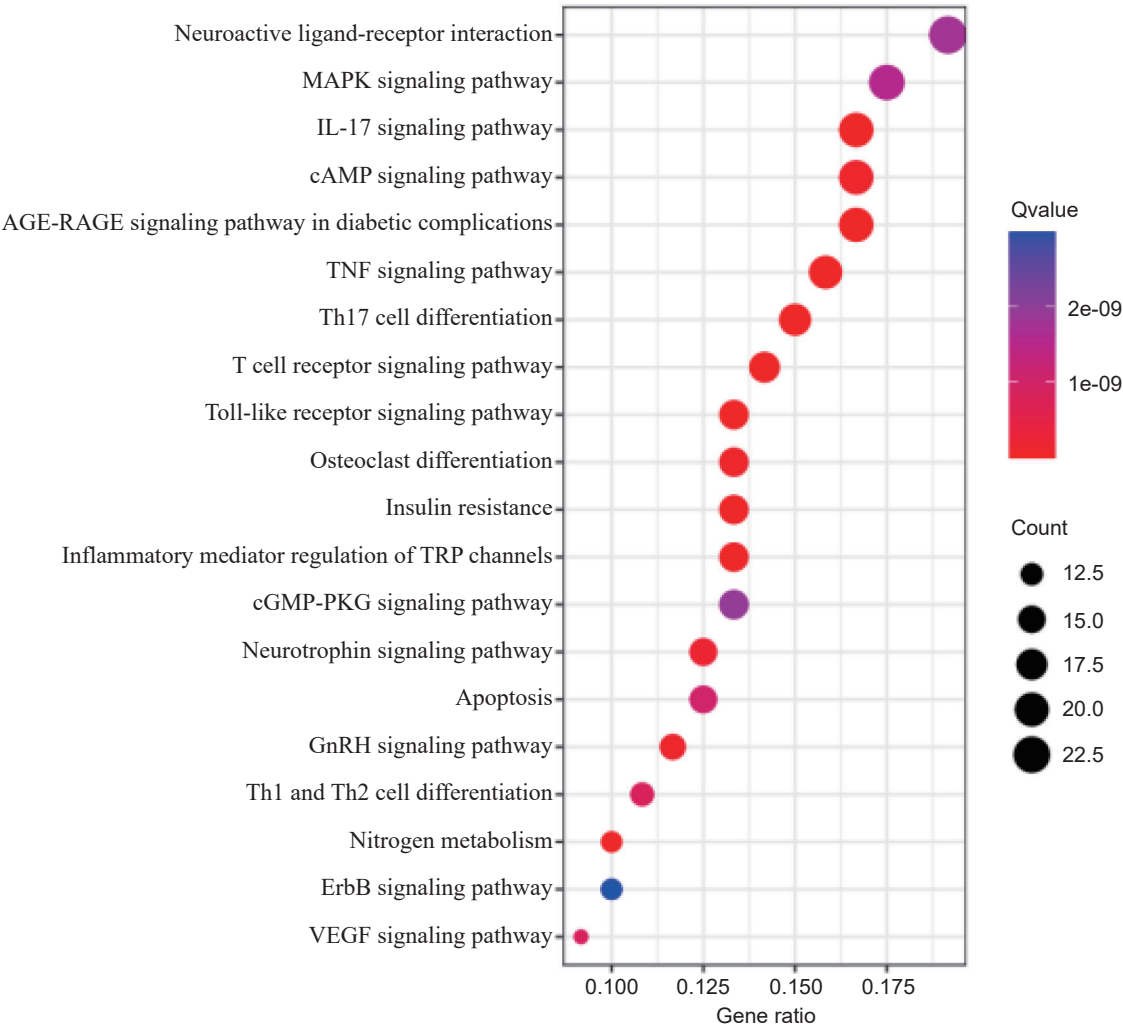


图6 KEGG 富集分析
Fig. 6 KEGG enrichment analysis

RELA、IFNG、IL-1 β 、RAF1、FOS 等。IL-6、IL-1 β 、TNF、IFNG 均为促炎细胞因子，大量研究表明^[19-21]，IL-6 参与了坐骨神经慢性压迫损伤模型 (chronic constriction injury of the sciatic nerve, CCI) 和部分坐骨神经结扎模型 (partial sciatic nerve ligation, PSNL) 神经性疼痛的机制，在这两种模型中，机械痛敏与损伤部位 IL-6 免疫反应性升高之间存在相关性；IL-1 β 亦在 NP 中起作用，在 CCI 模型小鼠中，针对 IL-1 型受体的中和抗体减少了小鼠的疼痛相关行为；TNF 启动了几种细胞因子和生长因子的级联激活，被证明直接参与几种神经损伤模型的疼痛产生，在神经痛模型小鼠中观察到损伤诱导的 TNF- α mRNA 和蛋白表达的增加与痛觉超敏/痛觉过敏的发展相关；IFN- γ 与 NP 的病因有关，在正常条件下刺激脊髓小胶质细胞中的 IFN- γ 受体可诱导小胶质细胞的激活和持久的异常性疼痛。STAT3 为转录因子，可作为刺激免疫反应的中枢调节因子，通过响

应各种细胞因子和生长因子的磷酸化而被激活介导多种基因的表达，研究发现 STAT3 的激活在慢性疼痛发展中起重要作用^[22]。MAPK1、MAPK3 均属于 MAPK 家族，其中 MAPK3 即 ERK1，MAPK1 即 ERK2，细胞外信号调节激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 是信号转导激活的激酶之一，参与维持中枢敏化。大量研究表明，ERK 被选择性磷酸化并根据有害刺激的强度表达直接抑制磷酸化 ERK (p-ERK) 表达可减轻 NP^[23]。ERK 激活的主要途径是 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路，它是 MAPK 信号级联反应通路的原型，Raf1 是该途径中的关键分子，研究发现鞘内注射 Raf1 siRNA 可有效抑制 Raf1 表达，缓解奥沙利铂诱导的大鼠机械痛敏和冷痛敏，降低 p-ERK 表达^[24]。RELA 即 NF- κ B p65，在细胞的炎症反应、免疫应答等过程中起着关键性作用，NF- κ B 在神经性疼痛的进展中起着至关重要的作用，可通过抑制 NF- κ B 的表达缓解 NP^[25]。Fos

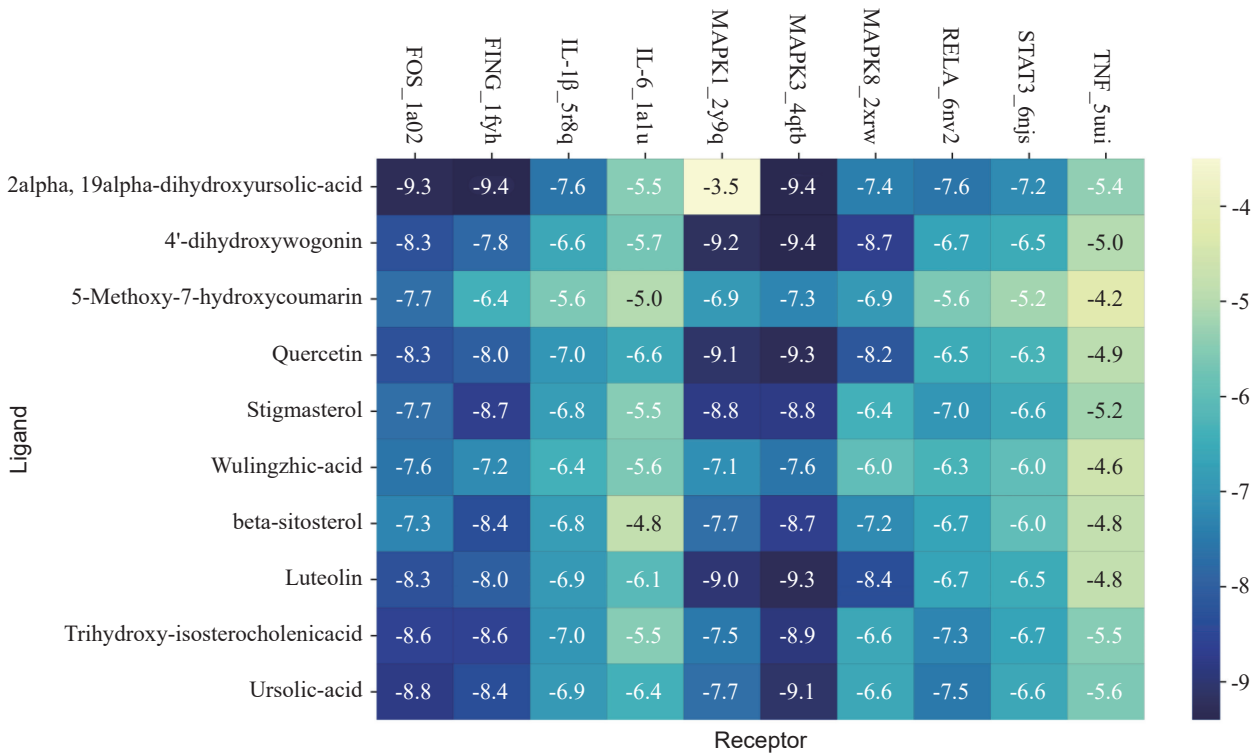


图 7 关键成分与作用靶点分子对接信息
Fig. 7 Molecular docking information of key components and targets

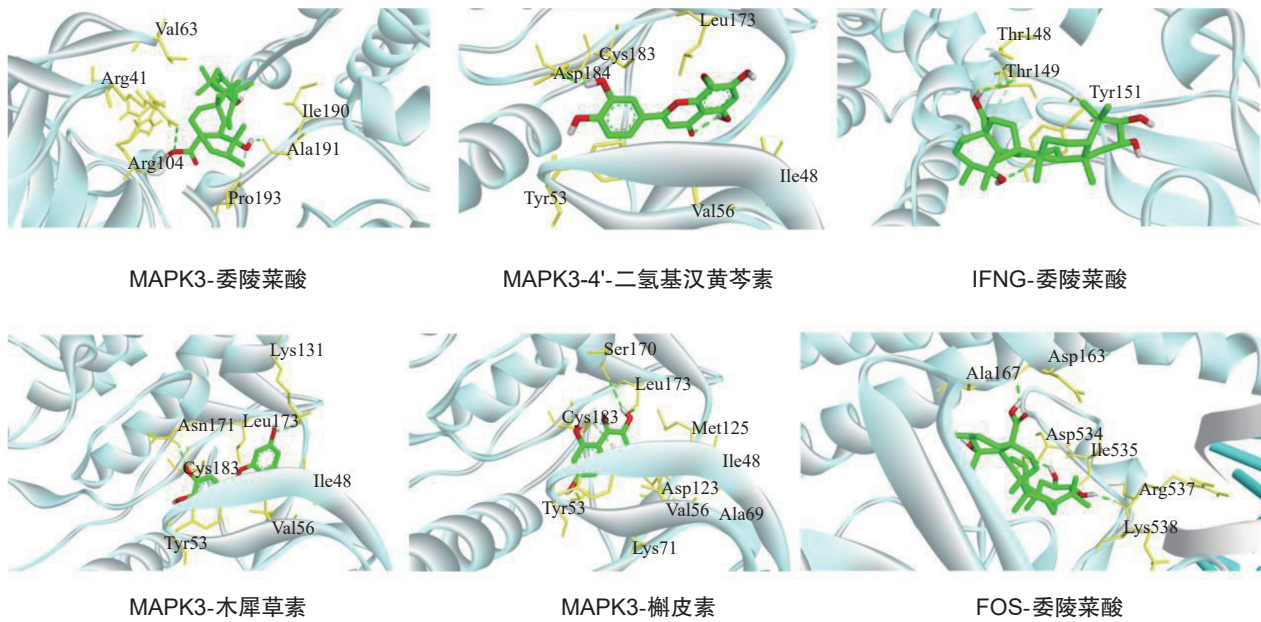
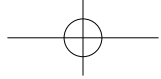


图 8 分子对接可视化图
Fig. 8 Molecular docking visualization

作为最常见的原癌基因之一，参与多个基因的转录调控，能够调控细胞的生长、分化及传递细胞内信号，在多种生物活动中发挥重要作用，有研究表明直接抑制 c-Fos 在 NP 的早期和维持阶段均有效^[26]。以上均表明上述靶点蛋白参与 NP 的发生，在 NP

中有着重要作用。
根据 KEGG 通路富集分析发现 MAPK 信号通路、cAMP 信号通路、IL-17 信号通路等为与疼痛相关的主要通路。MAPK 通路是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要路径，是一种三级级联传递信



号通路, 是一个级联磷酸化的过程, 核心成员包括 MAPK 激酶激酶 (MAP kinase kinase, MKKK)、MAPK 激酶 (MAP kinase kinase, MKK) 和 MAPK 这 3 种激酶。MAPK 属于丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶家族, 包括 ERK1/2、p38、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和 ERK5。ERK、p38 和 JNK 代表 3 种不同的信号级联, 它们通过转录和非转录调节将广泛的细胞外刺激转导为不同的细胞内反应。ERK 在成人的神经元可塑性中起着重要作用; p38 和 JNK 被促炎细胞因子和细胞应激激活, 在调节炎症反应、神经变性和细胞死亡中起重要作用; MAPK 通路参与促炎细胞因子和 NP 的上调。已有大量的研究表明在炎症和神经性疼痛模型中, MAPK 抑制剂已被证明可以缓解痛觉过敏和痛觉超敏, 这表明 MAPK 在组织和神经损伤后疼痛超敏反应的发展中具有特定作用。同时鞘内注射 MAPK 途径的选择性抑制剂可在炎症、神经性疼痛和癌痛的啮齿动物模型中产生镇痛活性^[23,24,27]。cAMP 信号通路又称 PKA 系统 (protein kinase A system, PKA), 是细胞外信号与相应受体结合, 通过调节细胞内第二信使 cAMP 的水平而引起反应的信号通路。cAMP-PKA 通路的持续激活可以维持感觉神经元过度兴奋和行为痛觉过敏。cAMP-PKA 通路的作用已在其他几种疼痛模型中进行了研究, 包括 PSLN、糖尿病性神经病理性疼痛 (diabetic neuropathic pain, DNP)、脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI)、炎性痛等, 研究表明 cAMP-PKA 的激活参与了 NP 相关的几种上游或下游途径。在上游信号传导中, 背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中的前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 以 cAMP-PKA 依赖性方式促进伤害性介质脑源性神经营养因子和 IL-6 的表达和释放, G 蛋白偶联受体 3 (G protein-coupled receptor 3, GPR3)、大麻素受体 (human cannabinoid receptor, CB)、甲状旁腺激素 2 (parathyroidhormone 2, PTH2) 受体也通过 cAMP-PKA 信号通路参与 NP 的发展。在下游信号传导中, cAMP 敏感的内向电流 I (h) 和 cAMP 相关动作电位的激活对超极化激活环核苷酸 (hyperpolarization-activated cyclic nucleotide, HCN) 调节离子通道介导的神经病理性疼痛至关重要^[28]。IL-17 由辅助性 T 淋巴细胞亚型 17 (T helper 17, Th17) 和其他先天免疫细胞产生, 诱导产生细胞因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α , 趋化因子 CXCL1 和 CCL20 和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)。在多种神经性疼痛模型中, IL-17 受体 (IL-17R) 在 DRG 切片的大多数神经元以及培养的 DRG 神经元中检

测到, 且 IL-17 均有高表达, 提示其主要在神经损伤的后期起重要作用, 并参与 NP 的炎症反应和发展^[29]。有研究表明, IL-17/IL-17R 信号传导可以通过中枢神经系统和周围神经系统中的神经元-胶质相互作用促进中枢敏化和外周敏化^[30]。

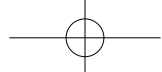
一般认为, 结合能绝对值越高, 结合亲和力越高。对接亲和力-4.6 kcal·mol⁻¹ 左右表明能基本结合, 小于-5 kcal·mol⁻¹ 表明配体和所选蛋白受体具有良好的结合效果, 小于-7 kcal·mol⁻¹ 表明结合很好^[31]。本研究通过分子对接可以看到配体和受体的平均结合能为-7.1 kcal·mol⁻¹, 结合位点均有稳定的氢键、 π - π 相互作用等, 对接最稳定的是 4'-二氢基汉黄芩素、委陵菜酸与 MAPK3 的结合 (-9.4 kcal·mol⁻¹)。本研究分子对接结果表明身痛逐瘀汤活性成分与受体蛋白稳定结合, 可能起到治疗 NP 的作用。

综上所述, 身痛逐瘀汤通过 12 味药物中的槲皮素、4'-二氢基汉黄芩素、委陵菜酸等活性成分, 在 MAPK、cAMP、IL-17 等通路下, 作用于 MAPK1、MAPK3、STAT3、IFNG、FOS 等主要靶点蛋白, 通过多靶点、多途径、多通道可能对 NP 产生治疗作用, 这些发现有望指导身痛逐瘀汤在 NP 治疗中的应用和进一步发展, 为后续实验研究提供指导意义。由于本研究未进行动物实验验证, 存在一定的局限性, 因此下一步需进行动物实验验证, 进一步阐述身痛逐瘀汤治疗 NP 的作用机制。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 宋学军, 樊碧发, 万有, 等. 国际疼痛学会新版疼痛定义修订简析 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(9): 641-644.
- [2] Scholz J, Finnerup NB, Attal N, *et al*. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain[J]. Pain, 2019, 160(1):53-59.
- [3] Cohen SP, Vase L, Hooten WM. Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances[J]. Lancet, 2021, 397(10289):2082-2097.
- [4] Rice ASC, Smith BH, Blyth FM. Pain and the global burden of disease[J]. Pain, 2016, 157(4):791-796.
- [5] van Hecke O, Austin SK, Khan RA, *et al*. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies[J]. Pain, 155(4):654-662.
- [6] Donegan T, Ryan BE, Sanchez-Vives MV, *et al*. Altered bodily perceptions in chronic neuropathic pain conditions and implications for treatment using immersive virtual reality[J]. Front Hum Neurosci, 2022, 16:1024910.



- [7] 喻信人, 张婷婷, 陈沛, 等. 神经病理性疼痛治疗的研究进展 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2023, 44(2):271-277.
- [8] 廖越, 张羽, 吴宝贤, 等. 神经病理性疼痛中医治疗的研究进展 [J]. 医学综述, 2021, 27(12):2457-2461.
- [9] 柴军红, 于新, 孔祥文, 等. 经典名方身痛逐瘀汤的基础与应用研究进展 [J]. 中医药学报, 2022, 50(10):101-108.
- [10] 谢宝全, 陆艳红, 钟叙春. 身痛逐瘀汤联合赵氏雷火灸治疗神经根型颈椎病临床观察 [J]. 光明中医, 2023, 38(14):2727-2730.
- [11] 倪国勇, 钮雪松, 张凤霞, 等. 身痛逐瘀汤治疗气滞血瘀型带状疱疹后遗神经痛临床观察 [J]. 光明中医, 2023, 38(13):2562-2565.
- [12] 裴忠霞. 身痛逐瘀汤联合针刺对膝关节置换术后患者疼痛的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(3):108-110.
- [13] 杨颖, 王芸芸, 蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展 [J]. 特种经济动植物, 2020, 23(5):24-28.
- [14] 沈喆安, 侯英泽, 赵耀焜, 等. 中草药中黄酮类化合物的提取工艺及药理作用研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2023, 40(6):66-68.
- [15] 叶称连, 陈进聪, 吴龙火, 等. 香豆素抗炎活性的研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2022, 38(23):4063-4065, 4069.
- [16] 张晶, 刘洋, 李灵芝. 委陵菜酸药理活性研究现状 [J]. 武警后勤学院学报 (医学版), 2016, 25(1):68-71.
- [17] 田春风, 郭宇帆, 商佳琪, 等. 熊果酸的生物活性研究进展 [J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(6):1361-1365.
- [18] 谷慧敏, 孟庆良, 左瑞庭, 等. β -谷甾醇对类风湿性关节炎滑膜成纤维细胞功能的影响及机制 [J]. 中国药房, 2023, 34(15):1847-1852.
- [19] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment [J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(1):259-301.
- [20] Jin MY, Everett ES, Abd-Elsayed A. Microbiological and physiological effects of pain [J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2023, 27(6):165-173.
- [21] Boakye PA, Tang SJ, Smith PA. Mediators of neuropathic pain; Focus on spinal microglia, CSF-1, BDNF, CCL21, TNF- α , Wnt ligands, and interleukin 1 β [J]. *Front Pain Res (Lausanne)*, 2021, 2:698157.
- [22] Sun M, Sun Y, Ma J, *et al.* YY1 promotes SOCS3 expression to inhibit STAT3 mediated neuroinflammation and neuropathic pain [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(2):103.
- [23] Kim K, Nan G, Kim L, *et al.* Insular cortex stimulation alleviates neuropathic pain via ERK phosphorylation in neurons [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(6):1636-1648.
- [24] Shao J, Yu W, Wei W, *et al.* MAPK-ERK-CREB signaling pathway upregulates Nav1.6 in oxaliplatin-induced neuropathic pain in the rat [J]. *Toxicol Lett*, 2023, 384:149-160.
- [25] Miao J, Zhou X, Ji T, *et al.* NF- κ B p65-dependent transcriptional regulation of histone deacetylase 2 contributes to the chronic constriction injury-induced neuropathic pain via the microRNA-183/TXNIP/NLRP3 axis [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):225.
- [26] Marvaldi L, Panayotis N, Alber S, *et al.* Importin α 3 regulates chronic pain pathways in peripheral sensory neurons [J]. *Science*, 2020, 369(6505):842-846.
- [27] Kong F, Sun K, Zhu J, *et al.* PD-L1 improves motor function and alleviates neuropathic pain in male mice after spinal cord injury by inhibiting mapk pathway [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:670646.
- [28] Li ZH, Cui D, Qiu CJ, *et al.* Cyclic nucleotide signaling in sensory neuron hyperexcitability and chronic pain after nerve injury [J]. *Neurobiol Pain*, 2019, 6:100028.
- [29] Jiang X, Zhou R, Zhang Y, *et al.* Interleukin-17 as a potential therapeutic target for chronic pain [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:999407.
- [30] Luo H, Liu HZ, Zhang WW, *et al.* Interleukin-17 regulates neuron-glia communications, synaptic transmission, and neuropathic pain after chemotherapy [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(8):2384-2397.e5.
- [31] Istyastono EP, Radifar M, Yuniarti N, *et al.* PyPLIF HIPPOS: a molecular interaction fingerprinting tool for docking results of autodock vina and plants [J]. *J Chem Inf Model*, 2020, 60(8):3697-3702.