

芪银三两三验方治疗靶向药相关性皮疹的分子机制研究*

潘彦君¹ 于航¹ 李萌菲¹ 翟昌明² 姜苗^{2△}

(1.北京中医药大学东直门医院,北京 100700;2.北京中医药大学,北京 100029)

中图分类号:R758.25 文献标志码:A 文章编号:1004-745X(2024)09-1519-05

doi:10.3969/j.issn.1004-745X.2024.09.004

【摘要】目的 探寻芪银三两三验方核心用药组成的分子作用机制,通过网络药理学分析,构建“芪银三两三-药物有效成分-关键性作用靶点-靶向药相关性皮疹对应靶点”的可视化网络关系。**方法** 基于中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)、中药作用机制在线分析系统(BATMAN-TCM),对芪银三两三验方核心用药的作用成分和有效靶点进行筛选,通过核心复方靶点垂钓,提取复方中的生物学活性成分及有效靶点。通过药物不良反应靶点分类系统(ADReCS-Target)得到靶向药相关性皮疹对应靶点。通过STRING数据库构建蛋白质相互作用可视化网络图(PPI),并应用Cytoscape3.8.2软件进行网络拓扑分析,筛选关键性作用靶点。采用DAVID v6.8数据库对关键性靶点进行通路富集,预测芪银三两三验方中核心用药组成可能的分子生物学机制。**结果** 经检索得到核心处方中有效生物学活性成分118种,潜在预测靶点328个,靶向药相关性皮疹对应靶点214个,将二者相互匹配得到核心处方有效成分-靶向药相关性皮疹共同作用靶点86个,其中包括8个关键性靶点;复方对210个生物学过程及81条信号通路能产生重要影响。**结论** 芪银三两三验方治疗靶向药相关性皮疹的潜在作用机制,可能是通过PI3K-Akt信号通路及细胞因子-细胞因子受体相互作用等信号转导,调节角质层细胞增殖与分化,修复EGFR-TKI引起的皮肤损伤,这为今后的药物研发及相关临床研究提供了参考方向。

【关键词】 靶向药相关性皮疹 芪银三两三 网络药理学 中医药

Study on the Molecular Mechanism of Qiyin Sanliangsan in the Treatment of Targeted Drug-related Rash Pan Yanjun, Yu Hang, Li Mengfei, Zhai Changming, Jiang Miao. Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China.

【Abstract】Objective: To explore the molecular mechanism of the core drug composition of Qiyin Sanliangsan, and to construct the visual network relationship of “Qiyin Sanliangsan-active ingredients of drugs-key action targets-corresponding targets of targeted drug-related rash” through network pharmacology analysis. **Methods:** Based on TCMSP and BATMAN-TCM, the active ingredients and effective targets of Qiyin Sanliangsan core drugs were screened, and the bioactive ingredients and effective targets in the compound were extracted by fishing for the core compound target. The corresponding targets of targeted drug-related rash were obtained by ADReCS-Target. Protein-protein interaction(PPI) was constructed by STRING database, and Cytoscape 3.8.2 software was used to analyze the network topology and screen the key targets. DAVID v6.8 database was used to enrich the key targets and predict the possible molecular biological mechanism of the core drug composition in Qiyin Sanliangsan. **Results:** Totally 118 kinds of effective bioactive ingredients in the core prescription were retrieved, including 328 potential predicted targets, 214 corresponding targets of targeted drug-related rash, and 86 common targets of active ingredients in the core prescription targeted drug-related rash were obtained by matching the two, including 8 key targets; the compound had important effects on 210 biological processes and 81 signaling pathways. **Conclusion:** The potential mechanism of Qiyin Sanliangsan in the treatment of targeted drug-related rash may be through signal transduction such as PI3K-Akt signaling pathway and cytokine-cytokine receptor interaction, regulating the proliferation and differentiation of stratum corneum cells, and repairing skin lesions caused by EGFR-TKI, which provides a reference direction for future drug research and development and related clinical research.

【Key words】 Targeted drug-related rash; Qiyin Sanliangsan; Network pharmacology; Traditional Chinese medicine

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81973667)

△通信作者

临床治疗中,靶向药[尤以表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)为代表]以其高效低毒的作用特点为具有EGFR基因突变的非小细胞肺癌(NSCLC)患者开辟了新的治疗途径^[1]。但其临床应用常伴有不同程度的不良反应发生,如皮疹、腹泻、手足综合征、甲沟炎、间质性肺炎及肝肾损伤等,其中以皮肤不良症状最为常见,且表现为抗癌疗效越好,上述不良反应的症状越严重,严重者甚至被迫中断靶向用药^[2],因此对靶向治疗不良反应的干预迫在眉睫。本团队从临床实践出发,基于疾病核心病机,采用益气和血解毒法治疗靶向药相关性皮疹,方选芪银三两三验方临证化裁,疗效斐然。

网络药理学可以系统且整体地研究药物对疾病的干预机制^[3],近年来已广泛应用于中医药研究。现代医学多借助网络药理学预测复方的生物学活性成分及潜在作用靶点,构建“中药复方-靶点-基因-疾病”可视化网络关系,以阐释复方治疗疾病的作用机制。基于此,笔者在临床疗效确切的基础上^[4],通过网络药理学研究探索芪银三两三验方核心用药治疗靶向药相关性皮疹的潜在作用机制,希冀为今后的药物研发及相关临床研究提供新的参考方向。

1 资料与方法

1.1 核心处方靶点垂钓

芪银三两三验方核心药物组成:生黄芪、金银花、蒲公英、生甘草、当归、防风、荆芥、柴胡及黄芩共9味中药。从中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)中获得9味药物的活性成分,并根据成分毒物动力学(ADME)相关参数,设置 $OB \geq 30\%$ ^[5]、 $DL \geq 0.18$ ^[6-7]作为筛选标准(OB 是指达到全身循环的口服不变剂量药物的百分比, OB 值是药物活性分子筛选的关键指标^[5]; DL 是利用化合物的理化性质如溶解度、化学稳定性等评估其药代动力学及类药物质^[6-7],且认为 $DL \geq 0.18$ 时分子具有较好的类药性),从TCMSP数据库及BATMAN-TCM数据库中提取相应药物靶点,以得到核心药物组成中有效活性成分的潜在作用靶点。

1.2 靶向药相关性皮疹靶点数据库建立

基于药物不良反应靶点分类系统(ADReCS-Target),构建靶向药相关性皮疹靶点数据库。

1.3 “核心处方-靶向药相关性皮疹”靶点匹配

本课题将筛选得到的核心用药中有效活性成分的作用靶点与靶向药相关性皮疹靶点数据库进行匹配,取二者交集得到“核心处方-靶向药相关性皮疹”的共同作用靶点。

1.4 靶点蛋白质相互作用网络构建

基于STRING数据库,输入上述操作匹配所得的“核心处方-靶向药相关性皮疹”共同作用靶点,构建

蛋白质相互作用网络(PPI),运用Cytoscape 3.8.2系统进行网络拓扑分析,得到关键性作用靶点,最后将蛋白靶点通过UniProt数据库转换为基因靶点。

1.5 通路富集分析

将拓扑分析得到的“核心处方-靶向药相关性皮疹”的关键性基因靶点,通过DAVID v6.8数据库进行基因本体论(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析,并基于基因靶点探索芪银三两三验方可能的作用机制和药物作用相关通路。

2 结果

2.1 芪银三两三验方靶点垂钓结果

设置参数 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为药物有效成分筛选标准,在TCMSP及BATMAN-TCM数据库中共筛选得到芪银三两三验方中9味药物的有效活性成分共计118种,提取药物潜在作用靶点328个。见表1。

表1 核心处方药物有效成分及靶点

药物名称	有效成分数量	靶点数量	药物名称	有效成分数量	靶点数量
生黄芪	22	38	荆芥	11	31
金银花	15	32	当归	10	14
蒲公英	8	82	柴胡	11	37
生甘草	17	45	黄芩	11	23
防风	13	26			

2.2 靶向药相关性皮疹靶点数据库建立

本课题中靶向药相关性皮疹靶点数据库来源于ADReCS-Target,以“acne”“pruritus”为检索词,检索与靶向药物相关联的作用靶点,构建靶向药相关性皮疹靶点数据库,共检索得到皮疹相关性靶点214个。

2.3 芪银三两三验方-靶向药相关性皮疹靶点匹配结果

将提取得到的核心用药靶点与靶向药相关性皮疹靶点数据库进行匹配,取二者交集得到“芪银三两三-靶向药相关性皮疹”共同作用靶点,并绘制Venn图,见图1。统计结果显示:核心处方靶点共计328个,靶向药相关性皮疹靶点共计214个,二者共同作用靶点共计86个。

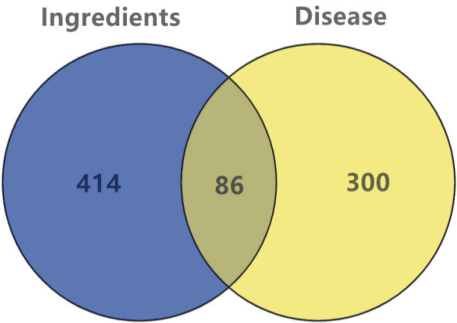


图1 “核心处方-靶向药相关性皮疹”靶点交集 Venn 图

2.4 靶点蛋白质相互作用网络构建

将匹配后所得的核心复方与靶向药相关性皮疹的共同作用靶点录入STRING数据库,构建得到可视化的蛋白质相互作用网络图,见图2。将STRING数据库中的蛋白质相互作用网络图导入至Cytoscape 3.8.2软件中进行拓扑分析,基于拓扑参数Degree值进行网络筛选,取排名前8的关键靶点,包括:表皮生长因子受体(EGFR)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、角质细胞生长因子受体(KGFR)、转化生长因子- α (TGF- α)、角质细胞生长因子(KGF)、趋化因子配体-2(CCL-2)、人类表皮生长因子受体-2(HER-2)。推测以上关键性靶点在核心复方治疗靶向药相关性皮疹中起到重要作用。根据关键靶点筛选得到相应的药物有效活性成分,见表2。在Cytoscape 3.8.2软件中绘制“核心有效成分-关键性靶点”网络图,见图3。

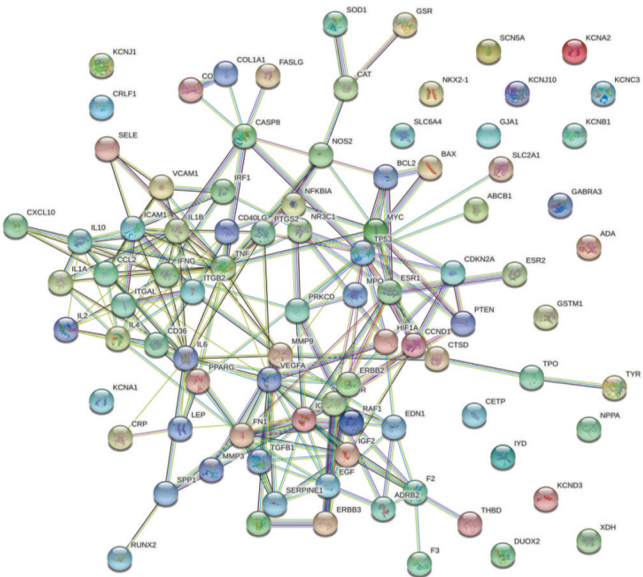


图2 “核心处方-靶向药相关性皮疹”PPI网络图

表2 核心有效成分及关键性靶点		
编号	核心有效成分	关键性靶点
MOL000112	quercetin	EGFR、TGF、KGFR、KGF
MOL000030	lutuoelin	TNF、IL-6
MOL000197	hupogonin	EGFR、TGF、KGFR、KGF、IL-6
MOL000456	Mutigmasterol	CCL2、HER-2
MOL000277	Huanqtamic gacid	IL-6
MOL000324	kaempferol	TNF
MOL001824	Muxicetin	TGF
MOL003128	oroxylin a	HER-2
MOL001824	paeoniflorin	TNF
MOL002729	balancialein	KGFR、KGF
MOL004324	Sapinasteroler	EGFR、KGFR、KGF
MOL000428	Kscatechin	EGFR、TGF

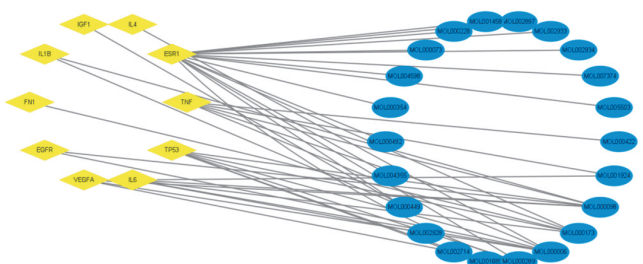


图3 “核心有效成分-关键性靶点”网络图

2.5 通路富集分析结果

2.5.1 GO-BP富集分析结果 基于DAVID v6.8数据库,对核心复方治疗靶向药相关性皮疹中的86个共同作用靶点进行GO-BP富集分析,共得到210条GO-BP条目,表示核心复方治疗皮疹所涉及的生物学过程。根据作用过程中包含的靶点数目进行排序,其中前20的条目见图4。

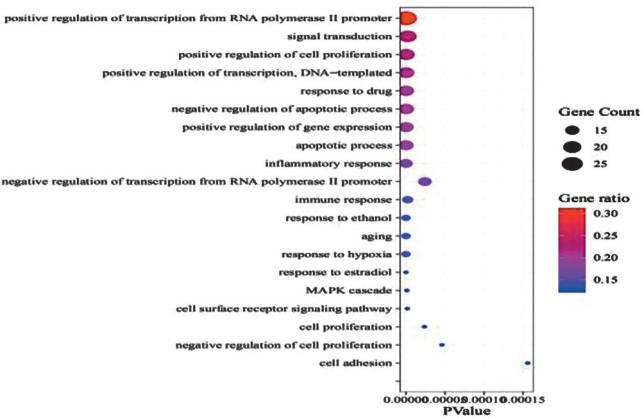


图4 “核心处方-靶向药相关性皮疹”GO-BP富集分析(前20)

2.5.2 KEGG富集分析结果 基于DAVID v6.8数据库,对核心复方治疗靶向药相关性皮疹中的86个共同作用靶点进行KEGG通路富集分析,共计得到81条信号通路。根据作用通路中包含的靶点数目进行排序,其中前10条信号通路见表3。

表3 “核心处方-靶向药相关性皮疹”KEGG富集分析(前10)			
KEGG ID	Term	PValue	Gene Count
hsa05224	Pathways in cancer	6.19E-13	28
hsa04175	PI3K-Akt	5.32E-08	21
hsa05229	Cytokine-cytokine receptor interaction	7.29E-11	18
hsa05168	KGF-KGFR pathway	1.02E-16	16
hsa05287	CCXL-2 infection	7.24E-07	16
hsa05324	EGFR-TGF pathway	3.64E-06	16
hsa04765	Influenza response	4.08E-11	15
hsa04756	Proteoglycans in cancer	1.88E-10	14
hsa00824	Immune response	6.78E-09	13
hsa00729	MAPK cascade	9.34E-08	13

3 讨论

中医学认为,靶向药相关性皮疹的发病机制究其根本可分为两部分,一为外邪侵袭,即靶向药等变应原的入侵为其发病必不可少的要素;二为禀赋不耐,营卫失和,即肿瘤患者的体质状态是皮疹的发病基础。若患者禀赋有异,加之卫外不固,在生理情况下卫阳尚能相对静谧,营卫相随,气血和合;若外毒侵袭,卫气被郁,携营阴一起奋起抗邪,正邪交争,营卫皆浮盛于外,浮则外发,故斑疹迭起。故此类疾病的发生多责之于患者久病体虚,复感药毒之邪,血热内起,兼加风、湿、热毒郁于皮肤腠理;又因热毒内蕴,久则化火,灼伤营血,累及脏腑,致使阴液亏耗,阳气浮越于外,继而发疹,属中医学“药毒”范畴。

本文通信作者姜苗主任医师曾以芪银三两三验方(生黄芪30g,金银花30g,全当归30g,生甘草9g,川蜈蚣0.1~1.5g)对10例EGFR^{T790M}治疗后出现中重度皮疹的患者进行治疗,每日1剂,早晚2次,共14~28d。结果10例患者中9例有效,1例无效^[3],可见其治法选择得当,临床疗效可观。

本团队于临床治疗中多以生黄芪、金银花、蒲公英、生甘草、当归、防风、荆芥、柴胡及黄芩为芪银三两三基础方,临证加减用药。其中生黄芪、金银花、生甘草相伍,合于民间验方芪银三两三(原方称“疮疡三两三”),主要用于治疗素体正虚、久治不愈的皮肤病。生黄芪与金银花相配,契合外科名方“顾步汤”组方思路,可益气清热解毒,促进受损皮肤痊愈,既可补虚又可透邪,补泻兼施,清解卫分气分之邪,合以当归兼顾营血。防风、荆芥、柴胡解表,可疏风胜湿止痒,凭借其味轻透泄之性,通行上下表里,鼓舞人体在表卫气;解表也是对营卫状态的调整,通过宣透卫表以开通门户,使营分之邪有外达之机;同时现代药理学证实,解表药不但可以抗感染,且有抗过敏、调节免疫状态的作用,可用于免疫相关性皮肤不良反应。柴胡与黄芩策应,使在表之邪外宣,在里之邪内彻;且大量药理研究证明,柴胡、黄芩也具备极强的抗感染、抗过敏作用,亦可用于治疗各种原因导致的炎性皮肤反应。

本研究基于网络药理学对芪银三两三验方核心用药治疗靶向药相关性皮疹的作用机制进行探究,共得到8个关键性靶点,即:EGFR、TNF- α 、IL-6、KGF、TGF- α 、KGF、CCL2、HER-2;分析核心复方中最主要的生物活性成分,包括黄芪糖苷、槲皮素及木犀草素等。

相关动物研究表明,黄芪中的黄芪多糖可通过上调创面组织中的细胞因子KGF-2、TGF- β 1等促进大鼠皮肤创面的愈合,并能改善由吉非替尼诱导的大鼠皮肤毛发脱落及瘙痒症状,改善大鼠的皮肤屏障功能并减少皮肤炎性细胞的聚集和浸润^[8]。多项体内外实

验证实槲皮素具有抗肿瘤、抗炎及免疫调节作用^[9]。有研究证实,槲皮素可抑制白细胞浸润、减少炎症因子产生,发挥抗炎作用^[10]。槲皮素可诱导肿瘤细胞凋亡,从而起到抗肿瘤的作用,有体内实验发现槲皮素可诱导肝癌细胞凋亡,抑制癌细胞的增殖与代谢^[11]。又有研究表明木犀草素具有抑制角质层增厚的作用,可修复由细胞因子IL-6及TNF- α 诱导的皮肤角质层异常增厚^[12]。综上所述,三者作用机制主要集中在减少炎症浸润、抑制角质层异常增厚和改善皮肤异常脱屑等,一方面减轻了受损皮肤的炎性反应,缓解皮肤的炎性丘疹样变;另一方面改善了角质形成细胞的异常增殖及分化状态,缓解角质层的异常增厚,从而修复由靶向药引起的皮肤损害。

通路富集结果显示,PI3K-Akt信号通路排序第2位,作为关键信号通路之一,PI3K-Akt信号通路在EGFR酪氨酸激酶信号转导途径中扮演着重要角色,能够调节细胞的增殖、分化与凋亡。既往研究发现,激活PI3K-Akt信号通路可促进角质形成细胞的分化和迁移^[13-14],而角质形成细胞正常的增殖、分化及迁移对表皮再生以及维持皮肤正常屏障功能至关重要。这提示了核心复方修复皮肤损害的潜在作用机制,可能是通过PI3K-Akt信号通路调节角质形成细胞的增殖与分化从而促进皮肤损伤的修复过程^[15]。此外,细胞因子-细胞因子受体相互作用等其他信号通路也可能参与了皮肤损伤的修复过程。

除此之外,核心复方的有效活性成分还作用于KGF/KGFR信号通路。该通路在本次网络药理学研究结果中虽不属于核心药物治疗皮疹的主要途径,但相关文献证实,在特定环境下,该通路的激活可通过细胞信号转导,有助于维持上皮细胞的分化,抑制肿瘤生长和肿瘤的增殖或迁移,从而抑制肿瘤的侵袭^[16-17]。由此推测,核心复方可通过多条信号通路共同作用,在改善皮疹的同时又不影响肿瘤发生,甚至可能有一定的抑癌作用。

4 结语

综上所述,本团队基于多年临床经验积累,认为靶向药相关性皮疹属本虚标实、虚实夹杂之证,其治疗以益气 and 血解毒为大法,方用芪银三两三临证化裁,在补益肺脾、扶助正气的基础上,兼以清热解毒退疹的治疗原则,既可益气养血扶正气,又能清热解毒扫残邪,做到明辨缓急,标本兼顾,有别于中医典籍中单纯以攻伐之法治疗皮疹的固有理论,为临床诊治疾病拓展了新的诊疗思路。

在临床应用芪银三两三验方治疗靶向药相关性皮疹疗效确切的基础上,本文通过网络药理学对芪银三

志, 2020, 36(3):468-474.

- [10] HARUWAKA K, IKEGAMI A, TACHIBANA Y, et al. Dual microglia effects on blood brain barrier permeability induced by systemic inflammation [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5816.
- [11] YAN X, YANG K, XIAO Q, et al. Central role of microglia in sepsis-associated encephalopathy: From mechanism to therapy [J]. *Front Immunol*, 2022(13):929316.
- [12] NWAFOR DC, BRICHACEK AL, MOHAMMAD AS, et al. Targeting the Blood-Brain barrier to prevent Sepsis-Associated cognitive impairment [J]. *J Cent Nerv Syst Dis*, 2019(11): 1179573519840652.

- [13] ZHAO LN, GAO YX, GUO SG, et al. Sepsis-Associated encephalopathy: insight into injury and pathogenesis [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2021, 20(2):112-124.
- [14] GONG YT, FAN ZY, LUO GP, et al. The role of necroptosis in cancer biology and therapy [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 100.
- [15] QU MD, WANG YHH, QIU ZY, et al. Necroptosis, pyroptosis, ferroptosis in sepsis and treatment [J]. *Shock*, 2022, 57(6):161-171.
- [16] YAN J, WAN PX, CHOKSI S, et al. Necroptosis and tumor progression [J]. *Trends Cancer*, 2022, 8(1):21-27.

(收稿日期 2024-03-02)

(上接第 1522 页)

两三验方核心用药治疗靶向药相关性皮疹的作用机制进行了探索,分析处方核心用药中最主要的生物活性成分,包括黄芪糖苷、槲皮素及木犀草素等;通过通路富集得到复方治疗靶向药相关性皮疹的潜在作用机制,可能是通过 PI3K-Akt 信号通路及细胞因子-细胞因子受体相互作用等信号转导,调节角质层细胞的增殖与分化,修复靶向药引起的皮肤损伤。这提示了芪银三两三验方可能通过多种途径对靶向药相关性皮疹起到治疗作用,各途径间相互联系,进一步体现了中药复方治疗疾病具有多层次、多环节药效、多靶点调控机制的协同作用特点,以期为今后的药物研发及相关临床研究提供参考方向。

参 考 文 献

- [1] YI LL, FAN JS, QIAN RL, et al. Efficacy and safety of osimertinib in treating EGFR-mutated advanced NSCLC: A meta-analysis [J]. *International Journal of Cancer, Journal International du Cancer*, 2019, 145(1):284-294.
- [2] WO H. The efficacy and toxicity of gefitinib in treating non-small cell lung cancer: a meta-analysis of 19 randomized clinical trials [J]. *Journal of Cancer*, 2018, 9(8):1455-1465.
- [3] 姜苗, 刘鹏. “三两三”治疗 EGFR 相关皮疹 10 例临床分析 [J]. *中国当代医药*, 2009, 16(21):66-68.
- [4] HOPKINS AL. Network pharmacology [J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(10):1110-1111.
- [5] 冀艳艳, 韩国华, 朱澄云. 改善口服难溶性药物生物利用度的方法 [J]. *中国药理学杂志: 网络版*, 2012, 10(5):86-92.
- [6] SUGIYAMA Y. Druggability: selecting optimized drug candidates [J]. *Drug Discovery Today*, 2005, 10(23/24):1577-1579.
- [7] SIROIS S, HATZAKIS G, WEI D, et al. Assessment of chemical libraries for their druggability [J]. *Computational Biology & Chemistry*, 2005, 29(1):55-67.
- [8] ZHAO BJ, ZHANG XF, HAN W, et al. Wound healing effect of an Astragalus membranaceus polysaccharide and its mechanism [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 15(6):4077-4083.

- [9] BISCHOFF SC. Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease [J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2008, 11(6):733-740.
- [10] KIM YJ, PARK W. Anti-Inflammatory effect of quercetin on RAW 264.7 mouse macrophages induced with Polyinosinic-Polycytidylic acid [J]. *Molecules*, 2016, 21(4):450.
- [11] BRITO AF, RIBEIRO M, ABRANTES AM, et al. New approach for treatment of primary liver tumors: the role of quercetin [J]. *Nutrition and Cancer- An International Journal*, 2016, 68(2):250-266.
- [12] DOMITROVIĆ R, JAKOVAC H, TOMAC J, et al. Liver fibrosis in mice induced by Carbon tetrachloride and its reversion by luteolin [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2009, 241(3):311-321.
- [13] CHAMCHEU JC, ADHAMI VM, ESNAULT S, et al. Dual inhibition of PI3K/Akt and mTOR by the dietary antioxidant, delphinidin, ameliorates psoriatic features in vitro and in an Imiquimod-Induced Psoriasis-Like disease in mice [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2017, 26(2):49-69.
- [14] CHAMCHEU JC, ESNAULT S, ADHAMI VM, et al. Fisetin, a 3, 7, 3', 4'-Tetrahydroxyflavone inhibits the PI3K/Akt/mTOR and MAPK pathways and ameliorates psoriasis pathology in 2D and 3D organotypic human inflammatory skin models [J]. *Cells (Basel, Switzerland)*, 2019, 8(9):1089.
- [15] SONG X. Targeting of both PI3K/Akt/mTOR pathway and mutant EGFR to overcome resistance to tyrosine kinase inhibitors in mutant EGFR-mediated lung cancer [J]. 2013, 6(8): 876-877.
- [16] NAKAMURA T, MOCHIZUKI Y, KANETAKE H, et al. Signals via FGF receptor 2 regulate migration of endothelial cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 289(4):801-806.
- [17] FINCH PW, RUBIN JS. Keratinocyte growth factor expression and activity in cancer: implications for use in patients with solid tumors [J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2006, 98(12):812-824.

(收稿日期 2024-01-08)