DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250529.002
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.r.20250529.1921.006

基于网络药理学与实验验证探讨健脾解毒汤治疗银屑病的作用机制

许孟月[1],刘学伟[2],姚文汇[3],左永杰[3],贾皇超[1],刘红霞[4]✉
(1.河南中医药大学第一附属医院皮肤科,河南 郑州 450000;2.河南中医药大学,河南 郑州 450000;3.新疆医科大学第四临床医学院,新疆 乌鲁木齐 830000;4.新疆维吾尔自治区中医医院,新疆 乌鲁木齐 830000)

[**摘要**] **目的**:基于网络药理学与动物实验探讨健脾解毒汤治疗银屑病的作用机制。**方法**:通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)检索健脾解毒汤药材活性成分靶点,人类基因数据库(Gene Cards)和人类在线孟德尔遗传数据库(OMIM)预测银屑病疾病靶点,获取健脾解毒汤与银屑病的交集靶点,构建中药-活性成分-核心靶点网络。构建蛋白相互作用网络(PPI),并筛选核心靶点和Hub靶点。应用DAVID数据库进行基因本体(GO)富集分析与京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,应用SYBYL软件对质谱-网络药理学关键交集成分和重要靶点进行分子对接验证。将48只SD雄性大鼠随机分为空白对照组、模型组、甲氨蝶呤组、健脾解毒汤低剂量组、健脾解毒汤中剂量组及健脾解毒汤高剂量组,H&E染色观察皮肤组织病理改变,ELISA法检测血清IL-1β、TNF-α的含量,Western blot法检测皮肤组织PI3K、AKT、ERK、P38MAPK蛋白的表达。**结果**:共筛选到223种活性成分,299个靶点,疾病与药物交集靶点153个。PPI网络筛选获得31个健脾解毒汤治疗银屑病的核心靶点。KEGG分析结果表明健脾解毒汤可能通过PI3K/AKT、IL-17等与炎症、细胞增殖相关的信号通路而发挥治疗银屑病的作用。质谱-网络药理学关键交集成分与核心靶点有较好的结合活性。动物实验结果表明,与空白对照组相比,模型组表皮角化过度伴角化不全,表皮突向下延伸,炎症细胞浸润,真皮浅层内血管扩张,IL-1β、TNF-α水平升高,p-PI3K、p-AKT、p-ERK1/2和p-P38MAPK蛋白表达升高($P<0.05$),与模型组相比,健脾解毒汤各剂量组均能降低PASI评分($P<0.01$)及IL-1β、TNF-α水平($P<0.01$),p-ERK1/2和p-P38MAPK蛋白表达降低($P<0.05$),健脾解毒汤中、高剂量组p-PI3K、p-AKT降低($P<0.05$)。**结论**:健脾解毒汤在治疗银屑病方面展现出多成分、多靶点和多途径协同作用的特点,其机制可能通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路、MAPK通路,发挥抗炎作用,从而治疗银屑病。

[**关键词**] 健脾解毒汤;银屑病;网络药理学;PI3K/AKT/mTOR信号通路;MAPK信号通路
[**中图分类号**] R275 [**文献标志码**] A [**文章编号**] 2097-5953(2026)21-1651-11

Exploring the mechanisms of Jianpi Jiedu Decoction in the treatment of psoriasis based on network pharmacology and experimental validation

XU Mengyue[1], LIU Xuewei[2], YAO Wenhui[3], ZUO Yongjie[3], JIA Huangchao[1], LIU Hongxia[4]✉
(1. *Department of Dermatology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou* 450000, *China*; 2. *Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou* 450000, *China*; 3. *The Fourth Clinical Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi* 830000, *China*; 4. *Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi* 830000, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (81960871); *Key Research and Development Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region* (2021B03001-2)
[*Author*]: *XU Mengyue, Ph.D., E-mail*: 937151548@qq.com.
[*Correspondence to*]: *LIU Hongxia, Chief Physician, Doctoral Supervisor, E-mail*: 1877538293@qq.com.
Received: 2025-02-17 *Revised*: 2025-05-23 *JHMU*, 2026;32(21):1651-1661

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[基金项目]国家自然科学基金(81960871);新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2021B03001-2)
[作者简介]许孟月,博士,E-mail:937151548@qq.com。
[通讯作者]刘红霞,主任医师,博士研究生导师,E-mail:1877538293@qq.com。
[收稿日期]2025-02-17 [修回日期]2025-05-23 网络出版时间:2025-05-30 11:03:15

[Abstract] Objective: To explore the mechanisms of Jianpi Jiedu Decoction in the treatment of psoriasis based on network pharmacology and animal experiments. Methods: The active ingredients and targets of Jianpi Jiedu Decoction were identified through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). The disease targets for psoriasis were predicted using the GeneCards and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) databases. The intersecting targets of Jianpi Jiedu Decoction and psoriasis were obtained to construct a network of Traditional Chinese Medicine-active ingredients-core targets. A protein-protein interaction (PPI) network was built, and core and hub targets were screened. Gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using the DAVID database. Molecular docking of key intersecting ingredients and important targets was verified using SYBYL software. A total of 48 SD male rats were randomly divided into the blank control group, the model group, the methotrexate group, the low-dose Jianpi Jiedu Decoction group, the medium-dose Jianpi Jiedu Decoction group, and the high-dose Jianpi Jiedu Decoction group. The skin tissue pathological changes were observed by H&E staining. The levels of IL-1β and TNF-α in serum were measured by ELISA, and the expression of PI3K, AKT, ERK, and P38MAPK proteins in skin tissues was detected by Western blot. Results: A total of 223 active ingredients and 299 targets were identified, with 153 intersecting targets between the disease and the drug. The PPI network identified 31 core targets for the treatment of psoriasis by Jianpi Jiedu Decoction. KEGG analysis suggested that Jianpi Jiedu Decoction may exert its therapeutic effects on psoriasis through pathways related to inflammation and cell proliferation, such as PI3K/AKT and IL-17 pathways. The key intersecting ingredients and core targets showed good binding activity in molecular docking. Animal experiments showed that compared to the blank control group, the model group exhibited hyperkeratosis with incomplete cornification, downward extension of the epidermal ridges, infiltration of inflammatory cells, vascular dilation in the superficial dermis, elevated levels of IL-1β and TNF-α, and increased expression of p-PI3K, p-AKT, p-ERK1/2, and p-P38MAPK proteins ($P<0.05$). Compared to the model group, each dose group of Jianpi Jiedu Decoction significantly reduced PASI scores ($P<0.01$), IL-1β and TNF-α levels ($P<0.01$), and the expression of p-ERK1/2 and p-P38MAPK proteins ($P<0.05$), with the medium- and high-dose groups showing reduced p-PI3K and p-AKT expression ($P<0.05$). Conclusion: Jianpi Jiedu Decoction demonstrates a multi-component, multi-target, and multi-pathway synergistic effect in the treatment of psoriasis. Its mechanism may involve the inhibition of the PI3K/AKT/mTOR and MAPK signaling pathways to exert anti-inflammatory effects in the treatment of psoriasis.

[Key words] Jianpi Jiedu Decoction; Psoriasis; Network pharmacology; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway; MAPK signaling pathway

银屑病是一种慢性炎症性皮肤病，主要表现为红斑和鳞屑。世界卫生组织发布的调查报告指出全球患者数量超过1亿[1]。我国2012年流行病学数据显示，银屑病患病率为0.47%[2]。银屑病不仅对患者的身体造成负面影响，还常伴随焦虑、抑郁情绪，使患者面临着心理和生理的双重挑战。岐黄学者刘红霞教授结合新疆地区特点，提出“正虚伏毒”是本病的病机，主张以健脾祛湿、解毒为治疗核心，并自拟健脾解毒汤，临床应用效果较好[3]。前期基础实验研究已初步证实了健脾解毒汤的部分作用机制，包括降低大鼠血清中IL-22、IL-17A及MDA的含量，提高皮损处AQP3蛋白的表达，减轻炎症反应，抑制氧化应激，并恢复皮肤屏障功能等[4,5]。然而，该方在治疗银屑病的作用机制方面有待深入研究。网络药理学通过整合大量信息来发现新的药物靶点和分子机制，有助于更全面地理解药物的作用机制[6]。因此，本研究利用网络药理学方法探索健脾解毒汤治疗银屑病的活性成分、靶点、通路等，并通过动物实验对关键信号通路进行验证，以期为该方治疗银屑病提供实验基础和理论依据。

1 资料与方法

1.1 网络药理学研究

1.1.1 健脾解毒汤制备 将中药饮片按比例混合，适度研磨，纯水浸泡10 h，水浴加热回流提取，通过旋转蒸发仪进行浓缩，浓缩后的浸膏用烘箱烘干即得，提取率为16.12%。

1.1.2 UPLC-MS检测 样本制备：称量100 μg样本粉末装入1.5 mL离心管，注入含4 μg/mL混合内标的甲醇-水混合溶剂（V∶V=7∶3）进行溶解。样品经涡旋混合1 min后，冰浴超声处理60 min，随后置于-40 ℃低温环境中30 min。在4 ℃条件下以12 000 r/min转速离心10 min，收集全部滤过液经0.22 μm有机膜过滤后，用同浓度内标溶液进行2倍体积稀释待测；色谱分析条件：选用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），柱温恒定45 ℃。流动相由含0.1%甲酸的水溶液（A）和乙腈（B）组成，梯度洗脱（0～2 min，95% A；2～12 min，95% A线性递减至0% A；12～13 min，维持0% A；13～14 min，0% A线性递增至95% A；14～16 min，维持95% A平衡色谱柱）。流速设定为0.35 mL/min，进样量5 μL。

1.1.3 健脾解毒汤活性成分及靶点的筛选 基于TCMSP数据库检索黄柏、苦参、连翘、薏苡仁、甘草等九味中药化学成分，设定口服生物利用度（OB）≥30%和类药性（DL）≥0.18为筛选阈值，获取活性化合物及其潜在作用靶点。

1.1.4 健脾解毒汤对银屑病作用靶点筛选 通过Gene Cards、OMIM、TTD疾病数据库获取银屑病相关靶点，经UniProt数据库进行基因标准化处理。将药物活性成分靶点与疾病靶点通过Venny 2.1平台进行交集分析，构建可视化韦恩图以确定共同作用靶标。

1.1.5 PPI网络构建及核心靶点筛选 基于STRING数据库构建PPI网络后，采用Cytoscape 3.9.1软件进行拓扑学分析。基于节点自由度（Degree）、紧密中心性（CC）、中介中心性（BC）三重拓扑参数进行核心靶点筛选，逐步剔除低于中位数的节点，直至网络规模优化至60个核心靶点。

1.1.6 中药-活性成分-核心靶点网络构建 基于筛选的核心靶点，系统关联健脾解毒汤活性成分与对应中药材信息，通过Cytoscape 3.9.1将“中药-活性成分-银屑病核心靶点”可视化。

1.1.7 GO功能富集与KEGG通路富集 运用DAVID数据库对健脾解毒汤治疗银屑病的交集靶点进行GO功能和KEGG通路富集分析，获得交集靶点所涉及的生物学过程、细胞组分、分子功能及KEGG通路富集条目，并结合国内外文献筛选与银屑病相关的通路进行分析。

利用DAVID数据库对交集靶点进行富集分析：GO注释涵盖生物学过程、细胞组分及分子功能3大类；KEGG通路富集重点识别银屑病相关信号转导途径。通过文献循证筛选与银屑病病理进程明显关联的通路进行分析。

1.1.8 分子对接验证 选择质谱-网络药理学交集成分与“中药-活性成分-核心靶点”网络中的重要节点分析并进行验证。从PDB数据库优选人源蛋白晶体（分辨率≤2.5Å，结晶环境近似生理pH，含原始配体），同步建立PubChem来源的中药小分子3D结构库；采用SYBYL-X 2.0的分子对接模块执行去溶剂化、氢原子补充及电荷优化；通过柔性对接计算获得结合能参数，筛选Total Score＞6的高亲和力组合；运用PyMOL软件对优选复合物进行三维结合模式解析。

1.2 动物实验验证

1.2.1 药物与试剂 健脾解毒汤（土茯苓30 g、绵萆薢10 g、黄柏10 g、苦参10 g、连翘30 g、生薏仁30 g、茯苓10 g、炒白术10 g、白花蛇舌草30 g、丹参10 g、炙甘草6 g），经新疆维吾尔自治区中医医院王萍教授鉴定为正品。称取中药材加冷水浸渍60 min，采用回流提取法分次处理：首次武火煮沸后转文火维持微沸30 min，经双层纱布初滤；二次提取加8倍量水同法煎煮20 min，合并两次滤液。提取液经95 ℃恒温水浴减压浓缩至适宜体积，4 ℃低温贮藏备用。大黄配方颗粒剂（江阴天江，批号：2108042301）2 g/袋；5%咪喹莫特乳膏（四川明欣药业，批号：211013）；甲氨蝶呤片（湖南正清制药，批号：210905）2.5 mg/片。BCA试剂盒（北京全式金，货号：DQ111-01）、TNF-α试剂盒、IL-1β试剂盒（杭州联科生物，货号：EK182、EK101B）、AKT（pan）（C67E7）Rabbit mAb抗体（美国CST公司，货号：4691S）、Anti-PI3 Kinase p85 alpha抗体、Anti-PI3 Kinase p85 alpha（phospho Y607）抗体、重组Anti-mTOR抗体、重组Anti-mTOR（phospho S2448）抗体、Phospho-AKT（Ser473）抗体、Anti-ERK1＋ERK2抗体、Anti-ERK1（phospho T202）＋ERK2（phospho T185）抗体、Anti-P38 alpha/MAPK14抗体、Anti-P38（phospho T180＋Y182）抗体（英国abcam公司，货号：ab191606、ab182651、ab134903、ab109268、ab81283、ab184699、ab201015、ab170099、ab4822）、苏木素染液（福州迈新生物技术，货号：CTS-1097）、伊红染液（北京中杉金桥生物，货号：ZLI-9613）。

1.2.2 动物与分组 健康雄性SD大鼠由新疆医科大学动物饲养中心提供，6～8周龄，体重180～200 g，SPF级，饲养温度（23±2）℃，湿度（60±10）%，期间大鼠可自由摄食饮水，动物生产许可证号[SYXK（新）2018-0002]，动物使用许可证号[SYXK（新）2018-0003]，实验经新疆医科大学实验动物伦理委员会批准（批准号：20210822-08）。采用随机数字表法将48只SD大鼠采用随机数字表法分为6组（n=8）：空白对照组、模型组、甲氨蝶呤组（0.97 mg/kg）及健脾解毒汤低、中、高剂量组（2.32、4.64、9.26 g/kg）。基于文献[4,7]建立脾虚湿盛型银屑病复合模型：除空白对照组外，其他实验组均于背部涂抹5%咪喹莫特乳膏（62.5 mg/次，bid）联合大黄水煎液（10 mL·kg^{-1}·d^{-1}）灌胃，持续10 d建立证候模型。随后，空白对照组、模型组生理盐水灌胃，甲氨蝶呤组予甲氨蝶呤灌胃，中药各剂量组对应梯度给药，每天1次，连续14 d。

1.2.3 仪器 xMarkTM型酶标仪（美国Bio-Rad公司）、DYCZ-24DN型电泳仪（北京六一生物科技）、Chemiscope 3000型化学发光成像仪系统（上海勤翔科学仪器）。

1.2.4 大鼠皮肤形态学特征与病理学变化 观察记录皮损红斑、鳞屑及浸润程度，从皮损区域取皮肤样本。4%多聚甲醛固定48 h后常规脱水石蜡包埋，H&E染色观察组织病理学改变。

1.2.5 ELISA法检测大鼠血清TNF-α、IL-1β的含量 根据酶联免疫试剂盒的说明书步骤，对血清样本中的TNF-α、IL-1β含量进行测定。

1.2.6 Western blot法检测大鼠皮肤组织PI3K、AKT、ERK、P38MAPK蛋白表达 取液氮冻存皮肤样本100 mg，加入预冷RIPA裂解液（组织∶裂解液=1∶4）于4 ℃裂解60 min，4 ℃ 12 000 r/min离心15 min获取蛋白上清。采用BCA法测定总蛋白浓度，取等量蛋白进行SDS-PAGE电泳分离并转印至PVDF膜。经5%脱脂牛奶封闭2 h后，TBST漂洗3次（5 min/次），依次加入PI3K/AKT/mTOR及MAPK通路相关一抗（β-actin 1∶1 000，磷酸化抗体1∶600～1∶1 000），4 ℃孵育过夜。TBST清洗后孵育HRP标记二抗（1∶5 000）1 h，ECL化学发光法显影，ImageJ软件定量分析目标蛋白条带灰度值。

1.2.7 统计学处理 统计分析采用SPSS 26.0软件，计量资料用$\bar{x}\pm s$表示。采用单因素方差分析，方差齐时以LSD法分析，方差不齐时以Dunnett′s T3法分析，$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学结果分析

2.1.1 健脾解毒汤成分分析 通过UPLC-Q-Exactive MS/MS检测健脾解毒汤化学成分的保留时间及其二级碎片化得分，通过对比对照品、相关文献及数据库确认其中的化学成分，最终鉴定出87个化学成分，其中苯丙素类37个、黄酮类25个、糖及糖苷类21个、醌类4个，部分结果见表1[8]。

表1 健脾解毒汤部分化学成分鉴定

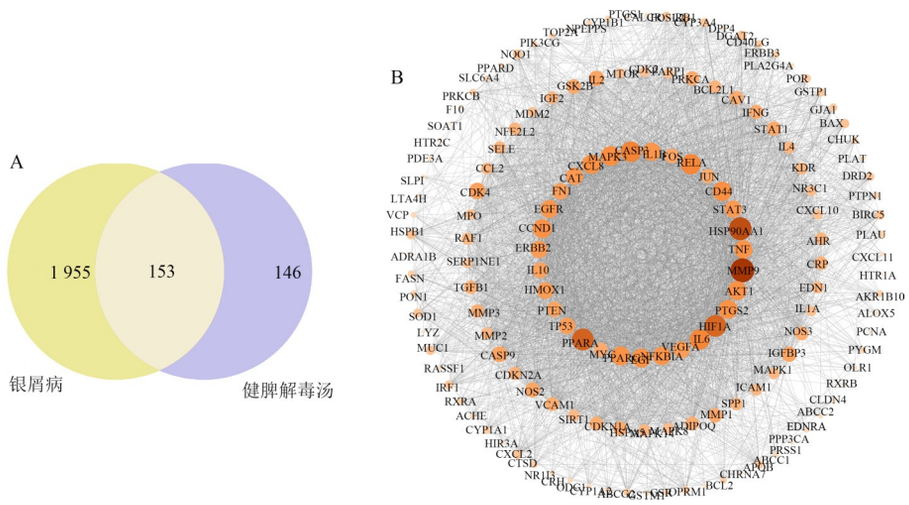
Tab 1 Identification of some chemical components of Jianpi Jiedu Decoction

序号	ID	分子式	二级碎片化得分	误差(ppm)	代谢物名称	m/z	保留时间(min)	CAS	中文名
1	5.19_447	$C_{11}H_{12}O_5$	0	−1.15	Sinapinic acid	447.129 2	5.19	7 362-37-0	芥子酸
2	4.12_707	$C_{16}H_{18}O_9$	72.4	−0.33	Chloroge nic acid	707.182 7	4.12	20 265-08-2	绿原酸
3	4.02_385	$C_{15}H_{16}O_9$	0.042	−1.03	Daphnin	385.077 3	4.02	486-55-5	祖师麻
4	5.28_131	$C_9H_8O_2$	1.87	−0.39	Dihydroc oumarin	131.049 1	5.28	119-84-6	氢化肉桂
5	6.28_117	$C_9H_{10}O$	58.2	0.83	Cinnamyl Alcohol	117.070 0	6.28	104-54-1	肉醇
6	5.40_161	$C_{10}H_{10}O_3$	51.3	−0.73	Coniferal dehyde	161.059 6	5.40	20 649-42-7	松柏醛
7	5.70_229	$C_{14}H_{12}O_3$	64.8	−1.53	Reservart ol	229.085 6	5.70	501-36-0	白藜芦醇
8	3.57_181	$C_9H_{10}O_4$	74.4	−4.51	Hydroxyp henyllacti c acid	181.049 8	3.57	306-23-0	羟苯基乳酸
9	6.05_285.040 1	$C_{15}H_{10}O_6$	33.5	−1.28	Luteolin	285.040 1	6.05	491-70-3	木犀草素
10	5.04_303.050 6	$C_{15}H_{12}O_7$	92.1	−1.46	Taxifolin	303.050 6	5.04	480-18-2	花旗松素
11	6.85_303.085 9	$C_{16}H_{14}O_6$	19	−1.41	Hesperetin	303.085 9	6.85	520-33-2	橙皮素
12	4.47_303.049 3	$C_{15}H_{12}O_8$	11.6	−1.94	Dihydromyricetin	303.049 3	4.47	27 200-12-0	二氢杨梅素
13	4.91_449.107 3	$C_{21}H_{20}O_{11}$	0	−1.18	Cynaroside	449.107 3	4.91	5 373-11-5	木犀草苷
14	6.66_273.075 4	$C_{15}H_{12}O_5$	31.9	−1.46	Naringenin	273.075 4	6.66	5 071-40-9	柚皮素查耳酮
15	4.10_289.071 4	$C_{15}H_{14}O_6$	0	−1.38	Catechin	289.071 4	4.10	154-23-4	儿茶素
16	7.39_257.080 4	$C_{15}H_{12}O_4$	51	−1.52	Isoliquiritigenin	257.080 4	7.39	961-29-5	异甘草素
17	3.98_387.129 0	$C_{16}H_{22}O_8$	7.67	−1.99	Coniferin	387.129 0	3.98	12 415	松苷
18	0.84_181.070 9	$C_6H_{14}O_6$	63	−4.62	Allitol	181.070 9	0.84	50-70-4	蒜醇
19	0.98_177.039 7	$C_6H_{10}O_6$	41.7	−4.54	1,4-D-Gulonolactone	177.039 7	0.98	3 327-64-8	D-谷酸
20	3.66_309.094 1	$C_{13}H_{18}O_7$	0	−1.31	Salicin	309.094 1	3.66	138-52-3	水杨苷
21	0.79_711.219 9	$C_{24}H_{42}O_{21}$	84.8	−0.28	Stachyose	711.219 9	0.79	470-55-3	水苏糖
22	3.98_387.129 0	$C_{16}H_{22}O_8$	7.67	−1.99	Coniferin	387.129 0	3.98	12 415	松苷
23	0.84_181.070 9	$C_6H_{14}O_6$	63	−4.62	Allitol	181.070 9	0.84	50-70-4	蒜醇
24	0.98_177.039 7	$C_6H_{10}O_6$	41.7	−4.54	1,4-D-Gulonolactone	177.039 7	0.98	3 327-64-8	D-谷酸

2.1.2 健脾解毒汤活性成分靶点及银屑病靶点筛选 通过TCMSP数据库筛选得到健脾解毒汤223种活性成分，靶点299个。

检索Gene Cards数据库，获得靶点2 563个，经过Relevance score≥0.49为条件筛选后得到2 055个靶点，OMIM数据库62个靶点，TTD数据库101个靶点，合并去重后共得到银屑病相关靶点2 108个。两者取交集共获得153个交集靶点，见图1A。

2.1.3 PPI网络构建及核心靶点筛选 基于STRING平台构建蛋白互作网络，初始网络包含153个节点及3 352条相互作用关系。通过Cytoscape 3.9.1进行拓扑学分析，以节点自由度（De-



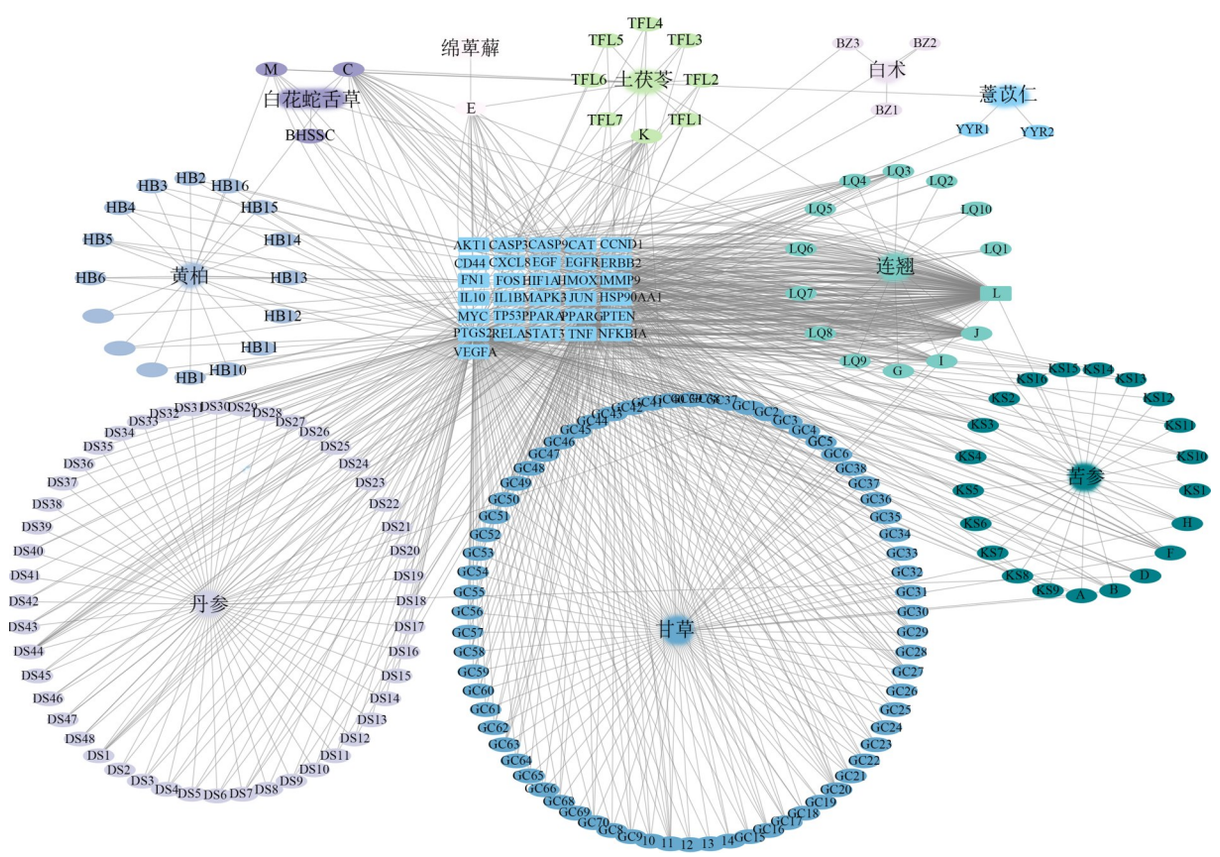
A：健脾解毒汤治疗银屑病的潜在靶点韦恩图，B：核心靶点筛选图，颜色越深 Betweenness centrality 值越大，圆圈越大，Degree 值越大

图 1　PPI 网络图及核心靶点图

Fig 1　PPI network and core target diagram

gree）≥39、中介中心性（BC）≥0.001 8、紧密中心性（CC）≥0.56（均为拓扑参数中位数）为筛选阈值优化网络规模，获得 64 个核心靶点，进一步以中位数（Degree≥64、BC≥0.005 4、CC≥0.63）为筛选条件，得出 31 个核心节点，见图 1B。

2.1.4　中药-活性成分-核心靶点网络构建　将中药活性成分进行编号，共有的活性成分为 A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K、L、M 表示，将中药、活性成分与银屑病核心靶点数据导入 Cytoscape 3.9.1，网络包含 227 个节点、922 条边，见图 2。

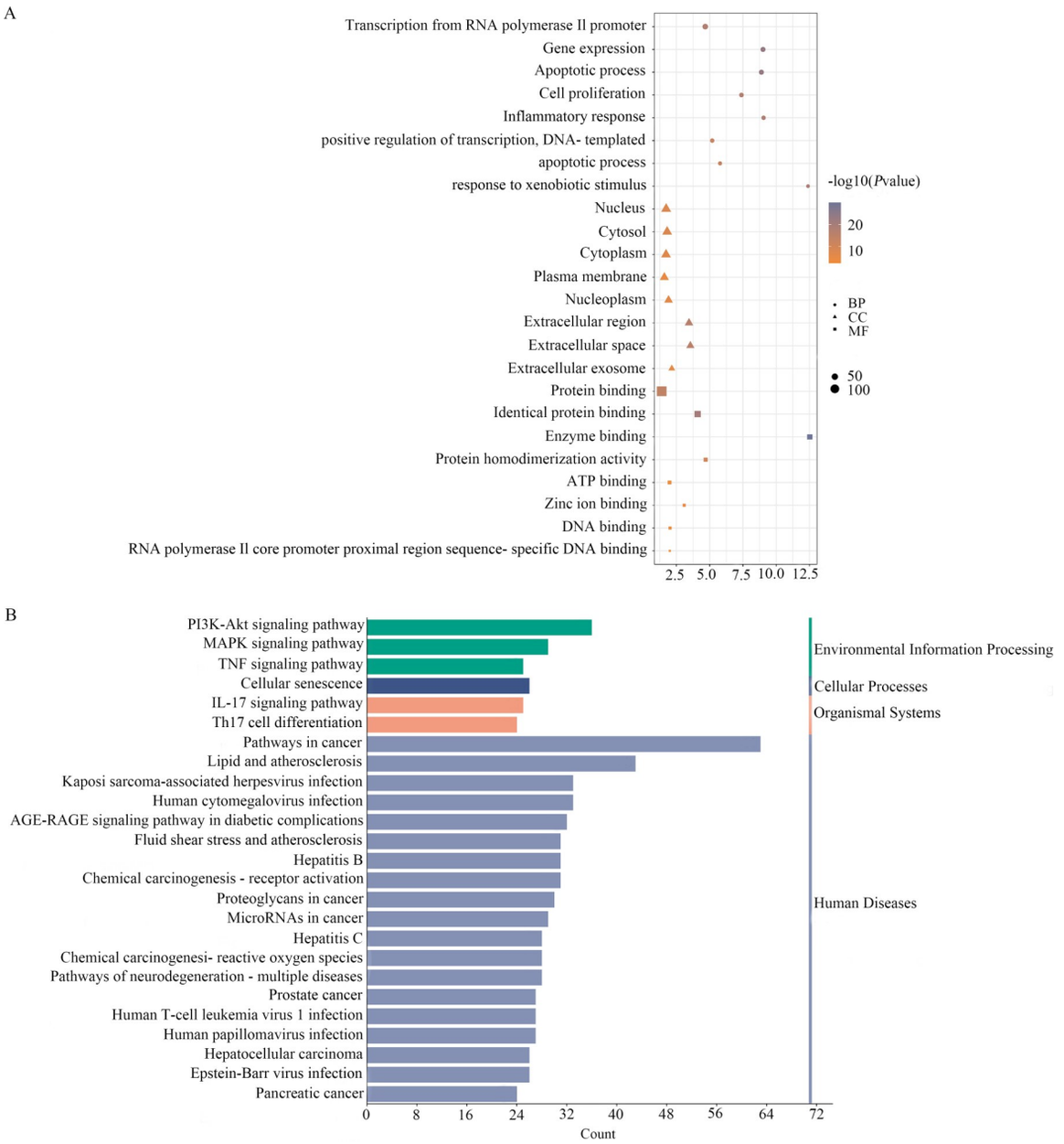


圆形：中药；椭圆：共有活性成分；长方形：作用靶点

图 2　中药-活性成分-核心靶点网络图

Fig 2　Active ingredient-target-disease network diagram

2.1.5　GO功能富集及KEGG通路富集分析　GO分析提示健脾解毒汤-银屑病交集靶点明显富集877条生物学过程(BP),主要涉及炎症-免疫调节、病理微环境重塑及应激反应通路。细胞组分(CC)富集87项,集中于分泌颗粒腔隙及胞内囊泡微环境;分子功能(MF)147项,涉及氧化还原酶、受体配体结合、细胞因子互作等,见图3A。KEGG通路富集显示PI3K-AKT、MAPK等25条核心信号通路,选择富集显著性前25的通路进行可视化及PI3K/AKT信号通路图,见图3B。



A:GO功能富集分析;B:KEGG通路富集分析

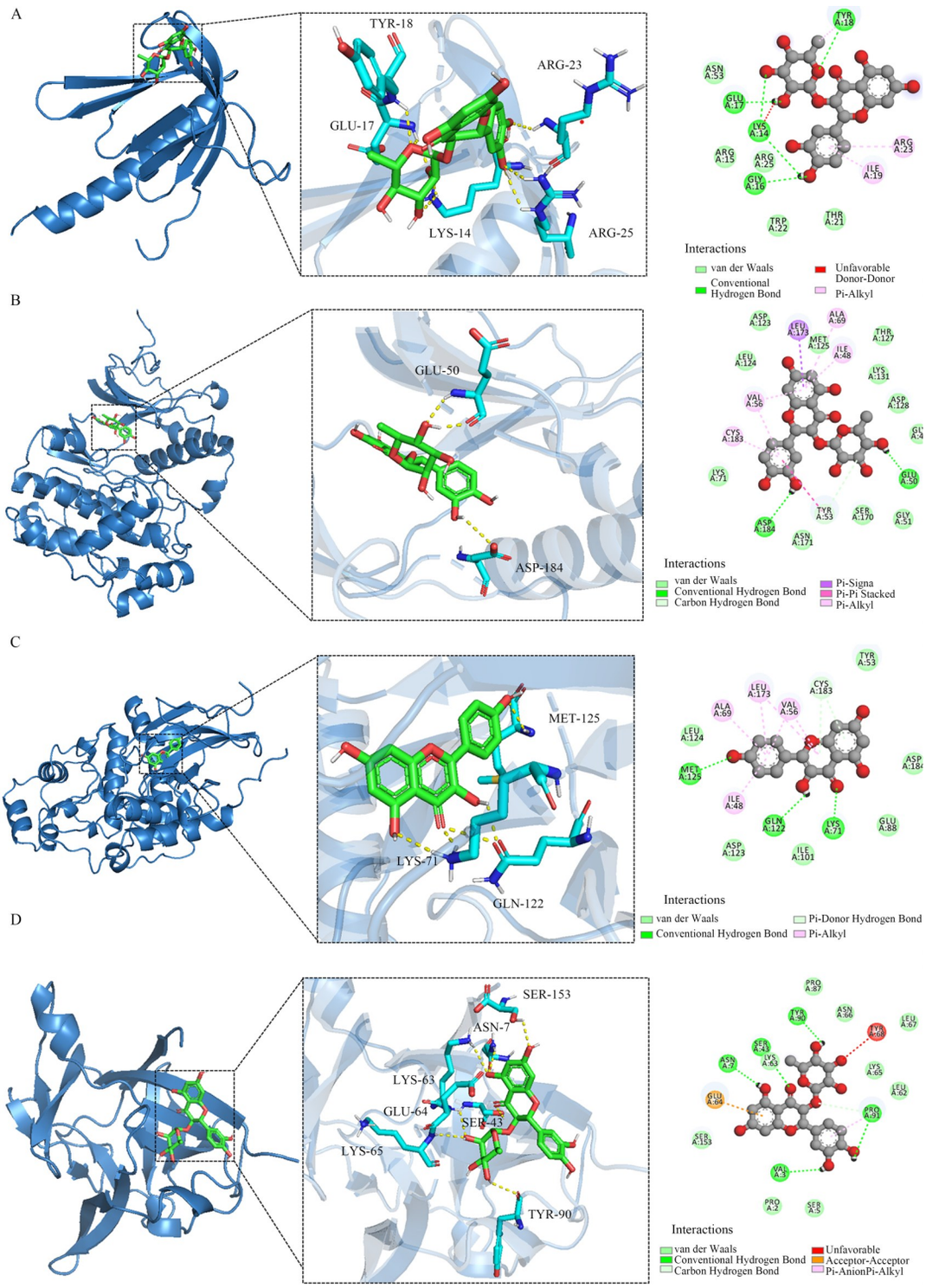
图3　富集分析图

Fig 3　Enrichment analysis diagram

2.1.6　活性成分与重要靶点的分子对接　通过TCMSP数据库收集到的活性成分与UPLC-MS检测的成分取交集,获得28种活性成分。将28种活性成分与健脾解毒汤治疗银屑病"中药-活性成分-核心靶点"网络中的重要节点进行对比筛选,最终选取木樨草素(luteolin)、落新妇苷(astilbin)、槲皮素(quercetin)、山柰酚(kaempferol)和AKT1、MAPK3、IL1B、TNF进行分子对接。使用Application中的Docking模块进行分子对接,重要成分与靶点具有较强的结合力,得出分子对接分析表,见表2,对接结合力较强的见图4。

2.2　动物实验结果分析

2.2.1　各组大鼠形态学特征　与空白对照组比较,模型组大鼠皮肤红斑、鳞屑、表皮增厚,与模型组比



A:AKT1_astilbin对接点位图;B:MAPK3_astilbin对接点位图;C:MAPK3_kaempferol对接点位图;D:IL1B__astilbin对接点位图

图4　活性成分与重要靶点的分子对接图

Fig 4　Molecular docking diagram of active ingredients and important targets

较,甲氨蝶呤组、健脾解毒汤各剂量组大鼠皮肤红斑面积减小,鳞屑变薄,浸润减轻。

2.2.2　健脾解毒汤对咪喹莫特诱导的银屑病大鼠皮肤组织病理形态的影响　空白对照组表皮无明显增生,真皮层结构紧密。模型组表皮层角化过度伴角化不全,表皮突明显延长,真皮层可见中性粒细胞浸润及毛细血管扩张。健脾解毒汤各剂量组表皮厚度减轻,角化不全改善,真皮浅层慢性炎症细胞浸润减少,血管扩张减弱,高剂量组效果最为明显,见图5。

表2　活性成分与重要靶点结合信息及参数

Tab 1　Information and parameters of active ingredient binding with key targets

化合物	结合能(kcal/mol)			
	AKT1	MAPK3	IL1B	TNF
astilbin	−7.3	−10.1	−7.8	−7.6
luteolin	−6.6	−7.3	−6.7	−7.4
kaempferol	−6.6	−8.9	−7.0	−7.4
quercetin	−6.9	−8.6	−7.3	−7.2

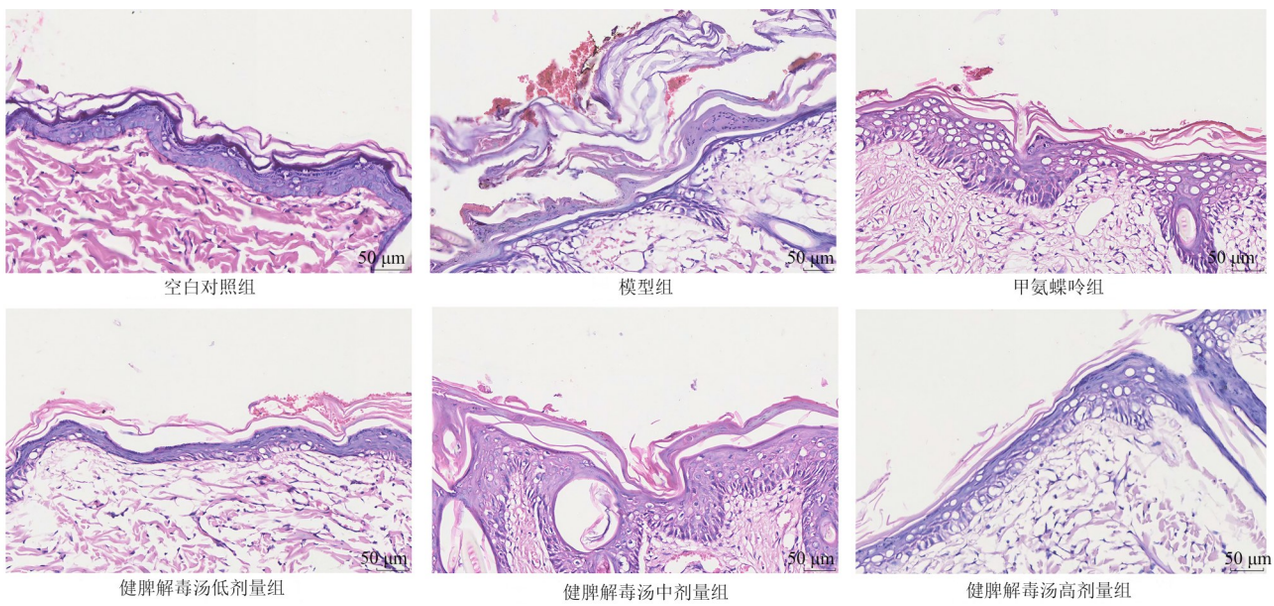


图5　各组大鼠皮肤组织病理形态(H&E，×200)

Fig 5　Histopathological morphology of skin tissue in each group of rats(H&E，×200)

2.2.3　ELISA法检测大鼠血清TNF-α、IL-1β的含量　与空白对照组比较，模型组大鼠血清TNF-α、IL-1β明显升高($P<0.01$)；与模型组比较，甲氨蝶呤组、健脾解毒汤各剂量组大鼠血清TNF-α、IL-1β水平降低($P<0.01$)，见表3。

表3　各组大鼠TNF-α、IL-1β的含量(n=6，$\bar{x}\pm s$)

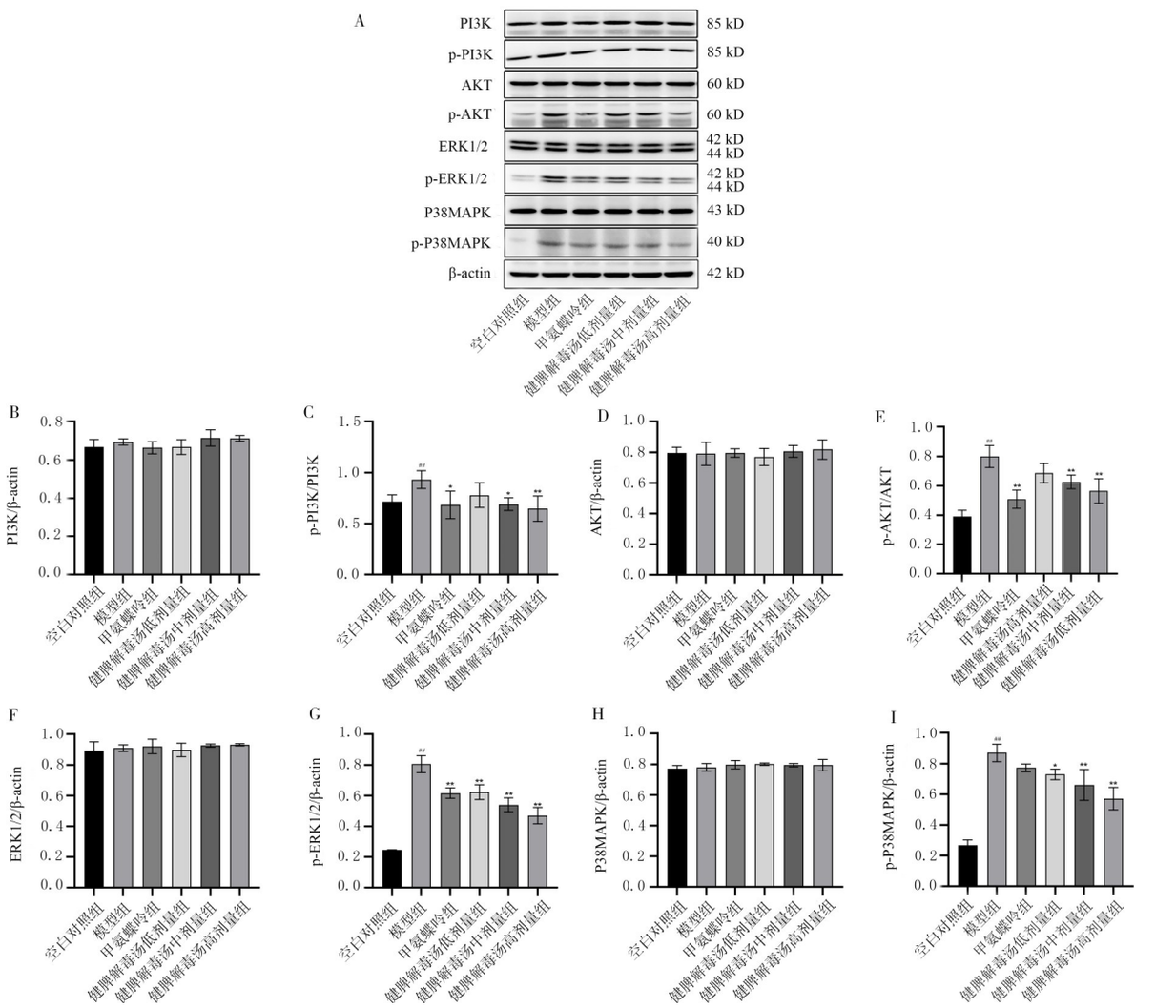
Tab 3　Levels of TNF-α and IL-1β in rats of each group(n=6，$\bar{x}\pm s$)

组别	TNF-α(nmol/mL)	IL-1β(μmol/L)
空白对照组	23.54±1.15	12.63±0.73
模型组	108.04±2.72$^{\#\#}$	79.40±1.31$^{\#\#}$
甲氨蝶呤组	46.89±3.69**	43.00±1.26**
健脾解毒汤低剂量组	86.39±4.00**	63.18±1.23**
健脾解毒汤中剂量组	74.16±2.62**	55.10±2.00**
健脾解毒汤高剂量组	60.66±1.23**	49.94±0.96**
F	913.09	1 364.74
P	<0.01	<0.01

注：与空白对照组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{**}P<0.01$。

2.2.4　PI3K/AKT通路、MAPK通路蛋白表达　与空白对照组相比，模型组大鼠皮肤组织中p-PI3K、p-AKT、p-ERK1/2和p-P38MAPK蛋白表达升高($P<0.05$)，与模型组相比，甲氨蝶呤组及健脾解毒

汤低、中、高剂量组大鼠皮肤组织中p-ERK1/2和p-P38MAPK的表达明显降低($P<0.05$),甲氨蝶呤组及健脾解毒汤中、高剂量组p-PI3K、p-AKT降低($P<0.05$),见图6。



A:大鼠皮肤中相关蛋白表达水平;B:PI3K/β-actin统计图;C:p-PI3K/PI3K统计图;D:AKT/β-actin统计图;E:p-AKT/AKT统计图;F:ERK1/2/β-actin统计图;G:p-ERK1/2/β-actin统计图;H:P38MAPK/β-actin统计图;I:p-P38MAPK/β-actin统计图;与空白对照组比较,$^{\#\#}P<0.01$;与模型组比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$

图6 各组大鼠皮肤组织PI3K/AKT、MAPK通路的蛋白表达

Fig 6 Protein expressions of the PI3K/AKT and MAPK pathways in the skin tissues of rrats in each group

3 讨论

中医称银屑病为“白疕”“松皮癣”等。历代医家根据银屑病的临床表现、季节及地域差异等因素,提出了多种诊疗思路[9],其中“血分辨证”理论最为推崇。刘红霞教授认为,新疆地区的难治性银屑病多为“本虚”体质,燥、湿、瘀邪积聚成毒,其核心病机为“本虚伏毒”,并提出了“脾虚湿盛证”证型,自拟方健脾解毒汤疗效显著,并可降低患者血清TNF-α水平[3,10]。健脾解毒汤以土茯苓、绵萆薢为君药,二者解毒除湿、健脾胃,茯苓、白术、薏苡仁益脾逐水,连翘、白花蛇舌草清热解毒,消肿散结,黄柏、苦参清热燥湿,解毒疗疮,丹参活血化瘀,凉血消痈,甘草调和诸药。全方复运脾胃枢轴,散收同施,健脾益气不伤津,解毒除湿不伤正。

本研究首先利用UPLC-MS法检测到健脾解毒汤中成分包括87个化学成分,网络药理学数据库筛选出健脾解毒汤中的223种活性成分和153个交集靶点,其中包括AKT1、IL-1β、TNF、MAPK3等31个核心靶点。通过构建中药-活性成分-核心靶点网络,进一步揭示了槲皮素、山柰酚、木樨草素、落新妇苷等为关键活性成分,AKT1、IL-1β、TNF等为主要作用靶点。槲皮素可通过抑制PI3K/AKT信号

通路的激活，调控细胞增殖和凋亡，以及诱导细胞自噬，从而发挥其治疗银屑病的作用[11]。山奈酚可明显缓解咪喹莫特诱导的银屑病模型小鼠皮肤红斑及角质异常增生，其作用机制与抑制JAK-STAT通路介导的促炎因子释放相关[12]，并能通过阻断mTOR信号转导抑制表皮细胞过度增殖[13]。木犀草素则表现出多靶点调控特性，除抑制肿瘤细胞增殖转移及活性氧代谢紊乱外[14]，还可通过干预PI3K/AKT/mTOR信号轴降低IL-4、IL-13等Th2型细胞因子的表达水平[15]。AKT信号分子在疾病进程中既参与细胞周期调控，又能通过激活NF-κB通路增强抗凋亡基因转录活性，同时抑制BAD、caspase-9等凋亡执行蛋白功能，并对Fox家族转录因子的表达产生调控作用[16]。从炎症机制角度分析，TNF-α作为银屑病病理网络的核心介质，主要由活化的巨噬细胞和角质形成细胞分泌，协同IL-6等炎症因子共同驱动皮肤炎性微环境的形成[17]。IL-1β通过激活MAPK信号通路，促进角质形成细胞的增殖和炎症因子的释放，从而加剧皮肤的炎症反应和病理变化[18]。IL-1β还可与其他细胞因子协同作用，增强免疫反应，推动银屑病的慢性炎症进程。

GO富集分析结果显示，生物过程主要集中于表皮增殖调控、炎性应答及氧化应激反应等病理环节；分子功能主要与酶结合、细胞因子活性等有关。KEGG富集分析，健脾解毒汤的治疗效应可能通过协同调控PI3K/AKT、TNF、MAPK等信号转导系统实现，其中PI3K/AKT通路在KEGG分析中显示出最明显的富集特征。分子对接模拟验证提示，该复方的活性成分与核心靶点蛋白间存在稳定的结合构象。针对网络药理学与分子对接结果，围绕PI3K/AKT信号通路与MAPK信号通路进行动物实验验证。根据前期研究结果，建立脾虚湿盛证银屑病模型[4]，通过对大鼠的PASI评分、生化指标、皮肤组织病理、PI3K/AKT信号通路与MAPK信号通路的影响实验，证实健脾解毒汤能降低大鼠PASI评分，改善皮肤组织病理形态，抑制皮肤组织中PI3K、AKT、ERK、MAPK蛋白的表达，降低血清TNF-α、IL-1β水平，且健脾解毒汤的效果呈现剂量依赖性。这进一步验证了网络药理学的预测结果。银屑病皮损中PTEN的蛋白水平降低，PI3K和AKT蛋白水平高于正常皮肤[19]。PTEN表达降低引起的AKT过度激活可能通过促进角质形成细胞的异常增殖和凋亡而参与银屑病皮损的形成[20]。MAPK通路的过度激活能够促进角质形成细胞的增殖和分化，导致银屑病特征性斑块的形成[21]。此外，MAPK通路还参与了细胞因子如IL-6、TNF-α的合成和释放，这些细胞因子进一步增强了局部的炎症反应[22]。本研究的结果来看健脾解毒汤治疗银屑病的机制与抑制PI3K/AKT、MAPK信号通路激活，降低炎症因子表达密切相关。

综上所述，本研究结合网络药理学与动物实验，系统探讨了健脾解毒汤治疗银屑病的潜在机制。健脾解毒汤通过其多种成分与多个靶点的协同作用，可能通过调节PI3K/AKT及MAPK信号通路来改善银屑病的病理过程。本研究的局限性在于，尽管通过网络药理学与分子对接预测了健脾解毒汤的潜在靶点和作用通路，但目前的实验验证主要集中于PI3K/AKT和MAPK通路，其他预测的靶点和通路的作用仍需进一步通过实验进行验证。

作者贡献度说明：

许孟月：设计、完成实验，实验数据进行统计，并撰写论文；刘红霞，刘学伟：设计及指导；姚文汇，左永杰，贾皇超：完成实验。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 李慧贤，胡丽，郑焱，等. 基于全球疾病负担(GBD)大数据的中国银屑病流行病学负担分析[J]. 中国皮肤性病学杂志，2021，35(4)：386-392.
Li HX，Hu L，Zheng Y，et al. Analysis of the epidemiological burden psoriasis in China Based on the big data of global burden of disease study(GBD) [J]. Chin J Dermatol，2021，35(4)：386-392.

2 Ding XL，Wang TL，Shen YW，et al. Prevalence of psoriasis in China：A population-based study in six cities [J]. Eur J Dermatol，2012，22(5)：663-667.

3 姚尚萍，张成会，郭菲，等. 健脾解毒汤联合阿维A治疗斑块状银屑病安全性和有效性的临床研究[J]. 中华中医药杂志，2013，28(9)：2798-2800.
Yao SP，Zhang CH，Guo F，et al. Clinical study on plaque psoriasis treated by Spleen‐strengthening and Detoxification Decoction combined with Avi A[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm，2013，28(9)：2798-2800.

4 左永杰，许孟月，李斌，等. 健脾解毒汤对脾虚湿盛证银屑病样大鼠皮肤屏障功能调控机制研究[J]. 现代中西医结合杂志，2023，32(19)：2643-2650.
Zuo YJ，Xu MY，Li B，et al. Mechanism of Jianpi Jiedu Decoction in the regulation of skin barrier function of rats with psoriasis vulgaris of syndrome of spleen deficiency and excess dampness[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med，2023，32(19)：2643-2650.

5 许孟月，姚文汇，左永杰，等. 基于氧化应激和炎症探

讨健脾解毒汤治疗银屑病脾虚湿盛证大鼠的作用机制[J].中国医药导报,2024,21(5):6-10,23.
Xu MY, Yao WH, Zuo YJ, et al. Study on the mechanism of Jianpi Jiedu Decoction in the treatment of psoriasis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency based on oxidative stress and inflammation[J]. Chin Med Herald, 2024, 21(5): 6-10,23.

6 解晶,李丰,石彬彬,等.系统药理学:TCMSP解析中医基础理论研究进展[J].世界中医药,2019,14(10):2627-2635.
Xie J, Li F, Shi BB, et al. Systematic pharmacology 1: TCMSP analyzes the research progress of basic theories of traditional Chinese medicine[J]. World Chin Med, 2019, 14(10): 2627-2635.

7 刘朝霞,郭菲,李斌,等.健脾解毒汤对脾虚湿盛型寻常型银屑病小鼠白细胞介素-17及其相关炎症因子的影响[J].中华中医药杂志,2022,37(8):4680-4683.
Liu ZX, Guo F, Li B, et al. Effects of Jianpi Jiedu Decoction on interleukin-17 in mice with psoriasis vulgaris of spleen deficiency and dampness excess type and its related inflammation factors[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(8): 4680-4683.

8 姚文汇,左永杰,许孟月,等.基于UPLC-Q-Exactive MS/MS技术分析健脾解毒汤的入血成分及其代谢产物[J].中药材,2024,(10):2520-2526.
Yao WH, Zuo YJ, Xu MY, et al. The blood components and metabolites of Jianpi Jidu Decoction were analyzed based on UPLC-Q-Exactive MS/MS technique[J]. J Chin Med Mater, 2024, (10): 2520-2526.

9 谢晓林,蒙琴,张展源,等.寻常型银屑病的中医诊治进展[J].陕西中医药大学学报,2023,46(6):124-128.
Xie XL, Meng Q, Zhang ZY, et al. Progress in TCM diagnosis and treatment of psoriasis vulgaris[J]. J Shanxi Univ Chin Med, 2023, 46(6): 124-128.

10 郭菲,刘朝霞,张成会,等.健脾解毒汤治疗脾虚湿盛证银屑病的临床研究[J].新疆医科大学学报,2012,35(4):411-415.
Guo F, Liu ZX, Zhang CH, et al. Clinical study on Jianpijiedu decoction in treatment of psoriasis vulgaris with spleen deficiency type[J]. J Xinjiang Med Univ, 2012, 35(4): 411-415.

11 Chen H, Lu C, Liu H, et al. Quercetin ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice *via* the NF-κB pathway[J]. Int immunopharmacol, 2017, 48: 110-117.

12 Li Y, Cui H, Li S, et al. Kaempferol modulates IFN-γ induced JAK-STAT signaling pathway and ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin lesions[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 114: 109585.

13 Liu C, Liu H, Lu C, et al. Kaempferol attenuates imiquimod-induced psoriatic skin inflammation in a mouse model[J]. Clin Exp Immunol, 2019, 198(3): 403-415.

14 Gendrisch F, Esser PR, Schempp CM, et al. Luteolin as a modulator of skin aging and inflammation[J]. Biofactors, 2021, 47(2): 170-180.

15 Wang S, Wuniqiemu T, Tang W, et al. Luteolin inhibits autophagy in allergic asthma by activating PI3K/Akt/mTOR signaling and inhibiting Beclin-1-PI3KC3 complex[J]. Int immunopharmacol, 2021, 94: 107460.

16 Coto-segura P, Coto E, Mas-vidal A, et al. Influence of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms in psoriasis risk[J]. Arch Dermatol Res, 2011, 303(6): 445-449.

17 Furue K, Ito T, Tsuji G, et al. Psoriasis and the TNF/IL23/IL17 axis[J]. G Ital Dermatol Venereol, 2019, 154(4): 418-424.

18 An Y, Zhang Q, Ren Y, et al. BML-111 Modulates and alleviates p38/MAPK signaling pathway and Th1/Th2/Th17 cytokine response in murine psoriasis-like dermatitis[J]. Discov Med, 2024, 36(189): 2026-2036.

19 Mercurio L, Albanesi C, Madonna S. Recent updates on the involvement of PI3K/AKT/mTOR molecular cascade in the pathogenesis of hyperproliferative skin disorders[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8: 665647.

20 Chamcheu JC, Chaves-rodriquez MI, Adhami VM, et al. Upregulation of PI3K/AKT/mTOR, FABP5 and PPARβ/δ in human psoriasis and imiquimod-induced murine psoriasiform dermatitis model[J]. Acta Derm Venereol, 2016, 96(6): 854.

21 Xu L, Leng H, Shi X, et al. MiR-155 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis by PTEN signaling pathway in the psoriasis[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 90: 524-530.

22 Guo H, Li M, Liu H. Selenium-rich yeast peptide fraction ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis in mice by inhibiting inflammation *via* MAPK and NF-κB signaling pathways[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(4): 2112.

[本文编辑] 朱金月