

DOI:10.12174/j.issn.2096-9600.2025.07.18

# 黄芪和三七配伍治疗外伤性视神经病变的分子作用机制\*

史随随<sup>1</sup>, 巢国俊<sup>2</sup>, 李朝研<sup>1</sup>, 杨国辉<sup>1</sup>, 闫晓玲<sup>3</sup>, 周 剑<sup>3Δ</sup>

1 北京中医药大学, 北京 100029; 2 中国中医科学院眼科医院, 北京 100040;

3 北京中医药大学东方医院, 北京 100078

**[摘要]** 目的:基于网络药理学及分子对接探讨黄芪和三七配伍治疗外伤性视神经病变(tramatic optic neuropathy, TON)的分子作用机制。方法:借助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),同时查阅近期文献进一步补充,以获取黄芪、三七的化学成分及靶点;借用GeneCards、Disgenet等多个数据库获取TON疾病靶点,并将药物成分靶点与TON疾病靶点进行映射;利用STRING数据库、Cytoscape3.8.2软件构建黄芪、三七-活性成分-TON-靶蛋白”互作网络,筛选出核心靶基因,对核心靶点进行基因本体(gene ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析。通过分子对接软件sybyl-x2.0对本次筛选的成分与关键靶点进行验证。结果:得到29种黄芪、三七的活性化合物,共有相关蛋白233种。TON的疾病靶点有4791个,其中188个是黄芪、三七治疗TON的潜在靶点。从“药物活性成分-靶蛋白”相互作用网络中,筛选出16个核心靶点;通过GO及KEGG富集分析,筛选出参与TON的主要生物学过程15种,相关信号通路38条。黄芪、三七治疗TON与凋亡过程负调节、炎症反应等生物学过程相关,关键信号通路包括细胞凋亡、趋化因子信号通路等。分子对接结果提示,黄芪、三七主要活性成分槲皮素、山柰酚等化合物与髓细胞瘤病毒癌基因同源物(myelocytomatosis viral oncogene homolog, MYC)、低氧诱导因子1亚基α(hypoxia inducible factor 1 subunit alpha, HIF1A)等有较好的结合活性。结论:黄芪、三七的多种成分参与了细胞凋亡、炎症反应等多个生物学过程,通过细胞凋亡等多条信号通路,以多个作用位点、多条反应通路、多种效应结果发挥治疗TON的作用,而MYC、丝裂原活化蛋白激酶14(mitogen activated protein kinase 14, MAPK14)、HIF1A等可能是潜在作用靶点。

**[关键词]** 黄芪;三七;外伤性视神经病变;网络药理学;分子机制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)07-0088-09

## Molecular Mechanism of Compatibility of *Huangqi* and *Sanqi* in the Treatment of Traumatic Optic Neuropathy

SHI Suisui<sup>1</sup>, CHAO Guojun<sup>2</sup>, LI Zhaoyan<sup>1</sup>, YANG Guohui<sup>1</sup>, YAN Xiaoling<sup>3</sup>, ZHOU Jian<sup>3Δ</sup>

1 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2 Eye Hospital, China Academy of Chinese Medicine Sciences, Beijing 100040, China;

3 Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

**Abstract** Objective: To discuss the molecular mechanism of the compatibility of *Huangqi* (*Astragali radix*) and *Sanqi* (*Notoginseng Radix ET Rhizoma*) in the treatment of traumatic optic neuropathy (TON) based on network pharmacology and molecular mechanism. Methods: The recent literature was looked up via TCMSP for further supplementation, in order to obtain chemical ingredients and targets of *Huangqi* and *Sanqi*; TON-related targets were gained via GeneCards and Disgenet, and the drug component targets were mapped to TON-related targets; STRING and Cytoscape 3.8.2 software were utilized to construct "*Huangqi*, *Sanqi*-active ingredients-TON-target protein" interaction network, GO and KEGG of the core targets were performed after screening the core targets. The ingredients and key targets were validated using molecular docking software sybyl-x2.0. Results: The study has yielded 29 active compounds of *Huangqi* and *Sanqi*, altogether 233 related proteins, involving 4791 TON-related targets, among them, there were 188 potential targets for the treatment of TON with *Huangqi* and *Sanqi*. 16 core targets were screened from "active ingredients of the medicine-target protein" interaction network; GO and KEGG analysis displayed 15 main biological processes and 38 related signaling pathways which participated in TON. The treatment of TON with *Huangqi* and *Sanqi* was associated with negative regulation of apoptosis and inflammatory response, and key signaling pathways contained cellular apoptosis, and chemotactic factor signaling pathway. Molecular docking results suggested that the main active components of *Huangqi* and *Sanqi* such as quercetin, kaempferol had better binding activity with MYC and HIF1A. Conclusion: Many ingredients of *Huangqi* and *Sanqi* participate in cellular apoptosis, inflammatory response and other biological

processes, the combination of both drugs could treat TON from multiple action sites, multiple reaction pathways and multiple effects, while MYC, MAPK14 and HIF1A might be the potential targets.

**Keywords** Huangqi; Sangqi; traumatic optic neuropathy; network pharmacology; molecular mechanism

外伤性视神经病变(traumatic optic neuropathy, TON)多是由外力击打、交通事故、高处坠落等外因引起视神经的直接穿透性损伤或间接损伤<sup>[1]</sup>,常常伴有创伤性脑损伤<sup>[2]</sup>。调查显示,TON的总发病率为0.7%~2.5%<sup>[3]</sup>。TON能够引起患者视神经变性、视网膜细胞死亡及不可逆视力受损,常伴有水肿、炎症或颅内压升高<sup>[4]</sup>。糖皮质激素可以抗氧化、改善水肿、促进局部血液微循环<sup>[5-6]</sup>,是治疗TON的首选药物,但激素的副作用常常使人担忧恐惧。

中医药是治疗TON的不错选择。韦氏眼科学术继承人周剑教授在中药治疗TON方面积累了丰富的经验,主持多项国家级TON方向课题,前期临床及基础研究也证实中药治疗TON确有疗效。周剑教授认为中医辨证TON多为气滞血瘀证,黄芪和三七是治疗TON的有效中药,黄芪补气,三七活血消瘀,两种药是治疗外伤的常用药对,组成简单而配伍合理,互调偏性,互增药性,能将作用发挥到极致,是临床经验的结晶<sup>[7]</sup>。药理研究表明,黄芪含有常春藤苷、黄芪甲苷、毛蕊花素等化学成分<sup>[8]</sup>,具有调节免疫、保护内皮细胞、调节血脂、改善物质代谢等作用<sup>[9]</sup>。三七中的皂苷类、黄酮类、多糖等化学成分<sup>[10]</sup>,可对人体神经、心脑血管和免疫调节等系统产生一定影响<sup>[11-13]</sup>。为进一步揭示黄芪和三七配伍协同治疗TON的深层作用机制,本研究借助网络药理学,从分子角度探讨黄芪和三七配伍治疗TON多靶点及多通路的药理机制。

## 1 资料与方法

**1.1 收集黄芪和三七活性成分及潜在治疗靶点** 在中药相关数据库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)(<https://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.phd>)中筛选黄芪和三七的活性成分。设置口服利用度(oral bioavailability, OB)≥30%、类药性(druglikeness, DL)≥0.18两个条件选取有效成分。因TCMSp数据库更新于2014年,故查阅2014年至今关于黄芪、三七化学成分文献并补充,在小分子活性数据库 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)中查找化合物分子式及2D结构sdf格式,在生物活性小分子预测平台 Swiss Target Prediction([\[www.swisstargetprediction.ch\]\(http://www.swisstargetprediction.ch\)\)中筛选补充的成分,并导入所有符合要求的化合物2D结构sdf格式,收集黄芪、三七活性成分对应的作用靶点。最后将获得化合物作用的蛋白质靶点在蛋白质数据库 Uniprot\(<https://www.uniprot.org>\)中规范基因名。以上数据的整理均借助R4.1.0软件处理。](http://</a></p></div><div data-bbox=)

**1.2 收集疾病靶点** 进入人类生物基因数据库 GeneCards 官网(<https://www.genecards.org>)、人类基因和遗传病数据库 OMIM 官网(<https://data.omim.org>)、疾病相关基因与突变位点数据库 Disgenet 官网(<https://www.disgenet.org>)、药物疗效靶点数据库 TTD 官网(<https://www.bidd.nus.edu.sg/group/cjttd>)、遗传药理学与药物基因组学数据库 PharmGkb 官网(<https://www.pharmgkb.org>),使用检索词为“optic nerve injury”或“optic nerve crush”或“optic nerve crush injury”或“optic nerve damage”或“optic nerve injuries”或“traumatic optic neuropathy”,检索并获得TON相关的疾病靶点。进入药物数据库 DrugBank 官网(<https://www.drugbank.ca>)寻找治疗TON的临床一线西药作用靶点进一步补充。将各个数据库靶点合并,重复靶点去重,得到疾病靶点。

**1.3 网络构建与核心基因筛选** 为明确药物靶点与疾病靶点间的相互作用,用微生信在线解析工具软件(<http://www.bioinformatics.com.cn>)将二者靶点取交集并绘制韦恩图,进而将交集靶点导入 STRING 数据库(<https://stringdb.org>)建立黄芪、三七活性成分和TON疾病的蛋白质与蛋白相互作用PPI网络图,选择生物物种为“Homo sapiens”,选最小阈值“highest confidence”>0.9,进入可视化作图工具 Cytoscape 3.8.2 软件(<http://www.cytoscape.org>)构建“黄芪、三七活性成分-作用靶蛋白”可视化网络图。充分利用 Cytoscape 的插件 CytoNCA,根据计算参数,对网络图进行集中评估,以数值度中心性(degree centrality, DC)来评价和筛选核心靶点,DC是评价网络节点的核心参数,该节点在网络中越接近中心位置,其DC值越大。

**1.4 靶点的生物过程和通路富集分析** 此过程利用微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn>)

cn)在线解析工具软件和生物信息在线分析数据库 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov>)对黄芪、三七治疗 TON 潜在靶点进行生物过程基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因、基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 路富集分析。设定人种 “homo sapiens” 为条件, 再选择  $P(P\text{-value}) < 0.05$  且校正的  $P(P\text{-adjust}) < 0.05$  为阈值进行选取, 最终将符合条件的关键基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。

**1.5 活性成分与靶点的分子对接验证** 在黄芪、三七-TON 靶点网络图中, 依据度值排名, 将排名靠前的 4 个靶基因进行分子模拟对接。从 TCMS 数据库获取黄芪、三七化学成分的分子结构 mol2 格式; 从结构生信研究合作组织 (research collaboration laboratory for structural bioinformatics, RCSB) 管理的蛋白质数据库 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/pdb>) 获取对应靶点基因的 3D 分子结构 pdb 格式。利用 sybyl-x2.0 软件 (Tripos 公司开发) 对黄芪、三七主要活性成分与对应关键靶

点进行三维药效团分子对接验证。利用打分函数进行评价。初始筛选采用标准模式进行对接, 修饰后的小分子与靶标蛋白进行半柔性对接, 获取最后验证结果。

2 结果

**2.1 收集到的疾病靶点** 在 GeneCards、TTD、Disgenet、OMIM、PharmGkb、Drugbank 疾病数据库进行检索后获取 TON 的疾病靶点 4791 个, 将获取的 TON 疾病靶点与黄芪、三七成分相关靶点通过软件取交集后过滤出共同靶蛋白 188 个。见图 1—2。



图 1 黄芪、三七与 TON 疾病靶点的韦恩图

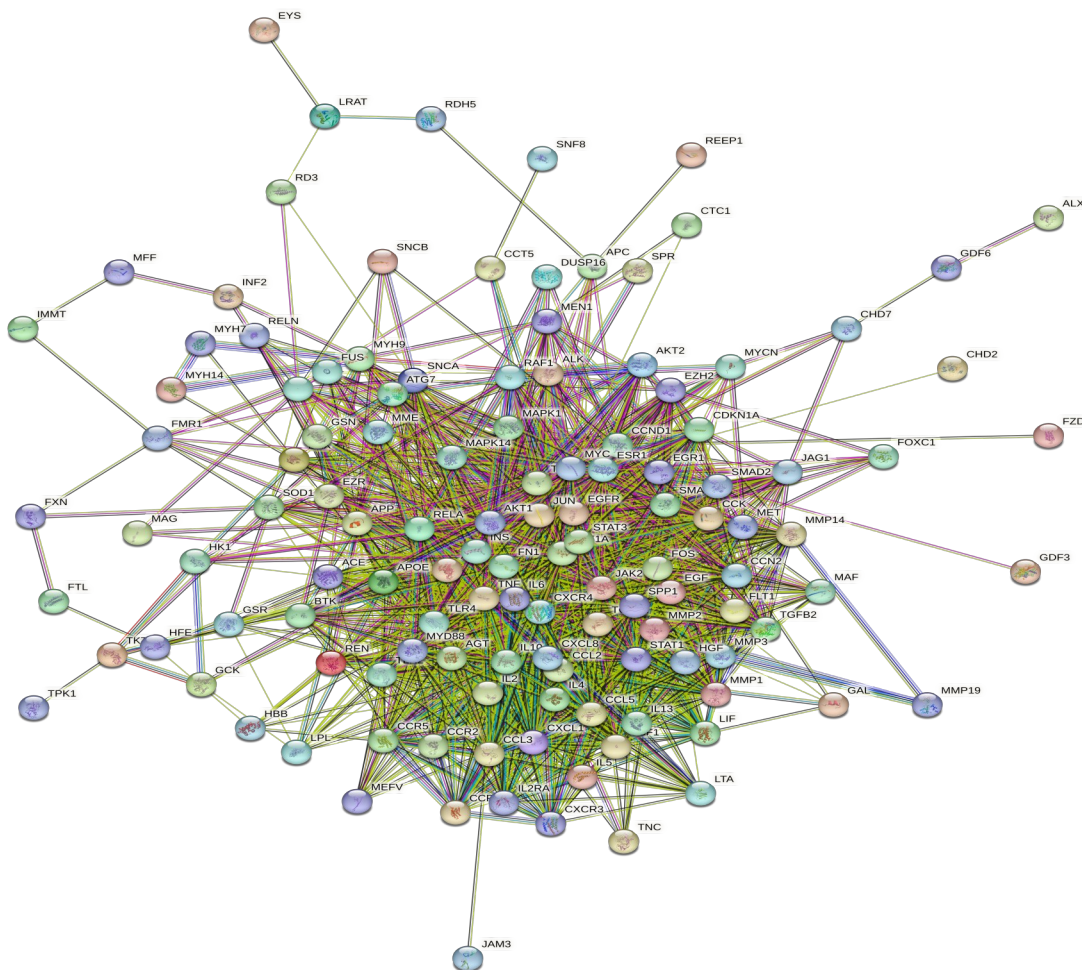


图 2 黄芪、三七与 TON 疾病靶点的 PPI 图

2.2 化合物靶点预测与收集 通过 TCMS 数据库获取黄芪、三七有效成分靶点,经 OB 及 DL 条件进行过滤,最终得到黄芪中 18 种、三七中 8 种有效

活性成分,其中黄芪、三七共有有效活性成分 1 种——槲皮素(queracetin)。见表 1。

表 1 黄芪、三七有效成分筛选结果

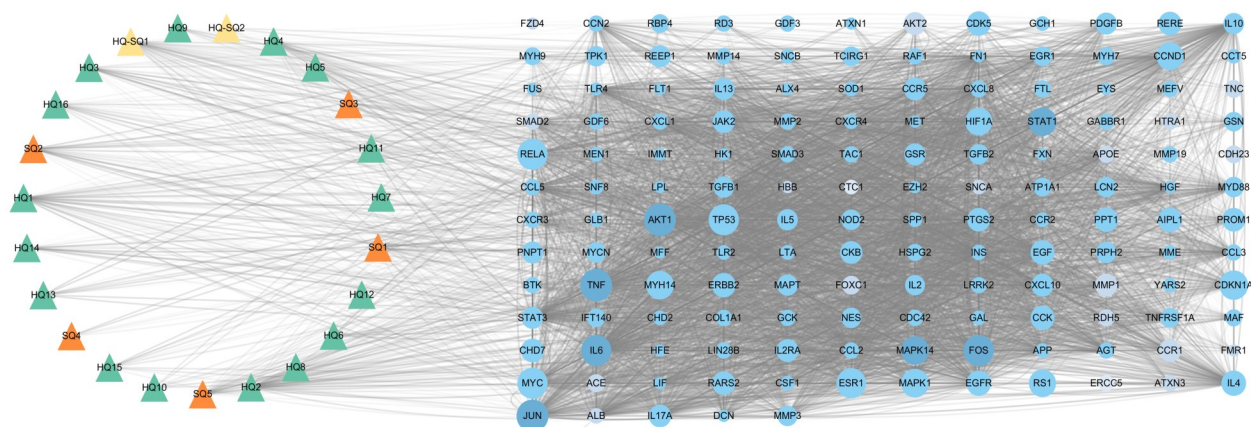
分子编号	化学名称	OB(%)	DL
MOL000211	白桦脂酸(mairin)	55.38	0.78
MOL000239	华良姜素(jaranol)	50.83	0.29
MOL000296	常春藤皂苷元(hederagenin)	36.91	0.75
MOL000354	山柰素(isorhamnetin)	49.60	0.31
MOL000371	黄芪紫檀烷(3,9-di-O-methylnissolin)	53.74	0.48
MOL000439	黄芪异黄烷苷(isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole)	49.28	0.62
MOL000387	联苯双酯(bifendate)	31.10	0.67
MOL000392	刺芒柄花素(formononetin)	69.67	0.21
MOL000398	异黄烷酮(isoflavanone)	109.99	0.3
MOL000417	毛异黄酮(calycosin)	47.75	0.24
MOL000422	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
MOL000433	富马酸(FA)	68.96	0.71
MOL000098	槲皮素(queracetin)	46.43	0.28
MOL000358	$\beta$ -谷固醇(beta-sitosterol)	36.91	0.75
MOL000374	5'-羟基异-2',5'-O-双葡萄糖苷(5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside)	41.72	0.69
MOL000379	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(9,10-dimethoxypterocarpan-3-O- $\beta$ -D-glucoside)	36.74	0.92
MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯(1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxypterocarpene)	39.05	0.48
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷((6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol)	64.26	0.42
MOL007472	(9Z,12E)-十八-9,12-二烯酸甲酯((9Z,12E)-octadeca-9,12-dienoic acid methyl ester)	41.93	0.17
MOL001494	亚油酸乙酯(mandenol)	42.00	0.19
MOL001792	食脂素(DFV)	32.76	0.18
MOL002879	邻苯二甲酸二异辛酯(diop)	43.59	0.39
MOL000449	豆甾醇(stigmasterol)	43.83	0.76
MOL005344	人参皂苷 rh2(ginsenoside rh2)	36.32	0.56
MOL007475	人参皂苷 f2(ginsenoside f2)	36.43	0.25

查阅文献补充黄芪化学成分 12 种<sup>[8]</sup>:黄芪皂苷 I (astragaloside I)、黄芪皂苷 II (astragaloside II)、黄芪皂苷 III (astragaloside III)、黄芪皂苷 IV (astragaloside IV)、 $\beta$ -谷固醇( $\beta$ -sitosterol)、芒柄花苷(ononin)、维生素 C(vitamin C)、葡萄糖(glucose)、L-鼠李糖(L-rhamnose)、L-阿拉伯糖(L-arabinose)、半乳糖(galactose)、 $\beta$ -葡聚糖( $\beta$ -glucan)。其中符合 OB、DL 的有效活性成分 1 种: $\beta$ -谷固醇。三七化学成分 8 种<sup>[10-12]</sup>:人参皂苷 rh1(ginsenoside rh1)、人参皂苷 rgl(ginsenoside rgl)、月桂酸甘油酯(monolaurin)、 $\beta$ -胡萝卜苷( $\beta$ -daucosterol)、人参环氧炔醇(panaxydol)、三七皂苷 r1(notoginsenoside r1)、人参皂苷 rb1(ginsenoside rb1)、人参皂苷 rd(ginsenoside rd),其中符合 OB、DL 的有效活性成分 2 种:月桂酸甘油酯(monolaurin)、人参环氧炔醇(panaxydol)。最终得到黄芪有效

活性成分 19 种,三七有效活性成分 10 种,其中黄芪、三七共有有效活性成分 2 种:槲皮素(queracetin)、 $\beta$ -谷固醇。与黄芪、三七活性成分相关蛋白 233 种。

2.3 构建 PPI 网络与筛选核心靶点 将蛋白靶点导入 Cytoscape 3.8.2 绘图软件,绘制筛选主要靶点的 PPI 网络图。见图 3。

188 个成分疾病共同靶点生成的 PPI 网络包含 149 个节点、639 条边。采用 CytoNCA 计算网络的 DC 值并进行 2 次筛选。第一次以 DC>11(2 倍中位数)作为筛选指标,得到的初筛网络包含 43 个节点、252 条边,见图 4-a 黄色靶点。以 DC>20(2 倍中位数)作为筛选指标,进行第二次筛选,得到的核心网络包含 16 个节点、141 条边,16 个靶点,见图 4-b 红色靶点。此 16 个靶点即为黄芪和三七主要有效成分配伍抗 TON 的核心靶点,见图 4-c。



注: 左边△代表药物活性成分, 绿色为黄芪有效活性成分, 橘色为三七有效活性成分, 黄色为二者共有有效活性成分; 右边○代表药物疾病作用的靶点蛋白, 颜色越深; 表示发挥的作用越关键, 连线越深; 表明相互作用越密切

图3 黄芪、三七治疗 TON 的“药物-活性成分-疾病-靶蛋白”网络图

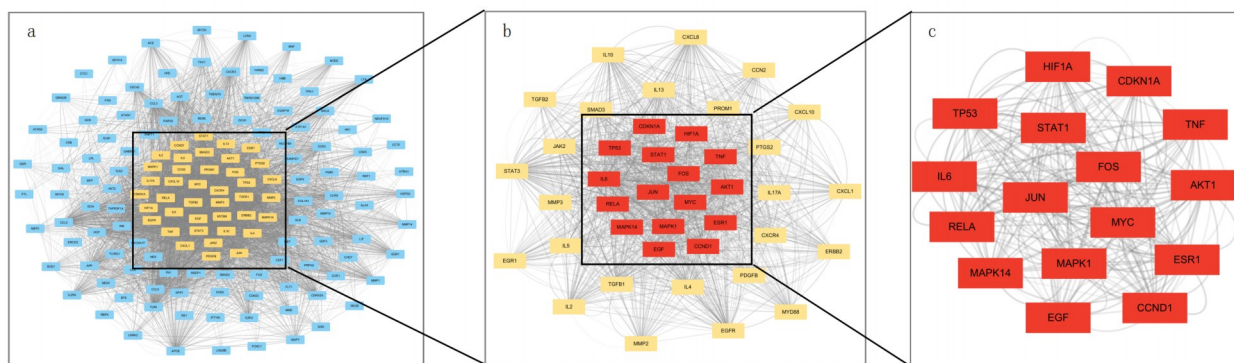


图4 黄芪、三七与 TON 的 PPI 网络和核心靶基因筛选图

2.4 靶点生物过程和通路富集分析 选取核心靶基因的 GO 分析细胞定位 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 前 10 项, 生物学过程 (biological process, BP) 前 15 项, 见图 5—7。其中横坐标 enrichment 代表基因富集程度, 圆圈的大小代表基因的数量, 圆圈的颜色代表校正的 P 值。

结果发现核心靶基因参与的生物过程中, 主要有趋化因子生成正调控、活性氧代谢过程途径正调控、一氧化氮合酶活化正调控、细胞因子反应、细胞对白细胞介素 1 通路反应、糖代谢过程、纤维干细胞增生正向调节、凋亡过程负调节、炎症反应等 ( $P < 0.05$ ); 基因主要定位于转录因子复合体、核染色质、蛋白复合体、激活细胞周期蛋白依赖性激酶的全酶复合物、转录抑制复合物、细胞质、线粒体、核仁 ( $P < 0.05$ ); 分子功能主要包括转录调控区 DNA 结合、泛素蛋白连接酶结合、组蛋白去乙酰化酶结合、蛋白复合物结合、染色质结合、序列特异性 DNA 结合等 ( $P < 0.05$ )。

本过程筛选出的信号途径共 38 条, 主要富集的通路包括有 B 细胞受体、细胞凋亡、FcεRI、细胞

周期、表皮生长因子受体 (ErbB)、雌激素、Jak-STAT、催产素、趋化因子、转化生长因子等信号通路, 见图 8。

2.5 分子对接验证结果 运用 sybyl-x2.0 软件将黄芪、三七主要活性成分槲皮素、山柰酚、人参皂苷 rh2、β-谷甾醇等化合物与骨髓细胞瘤病毒癌基因细胞同源物 (myelocytomatosis virus oncogene cellular homolog, MYC)、缺氧诱导因子亚基 1α (hypoxia-inducible factor subunit 1-alpha, HIF1A)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、信号转导与转录激活因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 等关键靶点分别进行分子对接。基于 sybyl-x2.0 分子对接验证黄芪、三七 4 个化学成分与相应 4 个关键靶点的结合情况, 对接结果以打分函数 T-score ≥ 5 为阈值, T-score ≥ 7 表示活性成分与靶标蛋白有极好的结合。本次对接结果打分函数范围表示活性成分与靶标蛋白有较好的结合。分子对接结果提示, 槲皮素、山柰酚、人参皂苷 rh2、β-谷甾醇等化合物与 MYC、HIF1A、ESR1、STAT1 等有较好的结合活性。选取

槲皮素与 MYC (PDB ID: 5I4Z)、山柰酚与 HIF1A (PDB 数据库 ID: 6GFX)、人参皂苷 rh2 与 ESR1 (PDB 数据库 ID: 3CBP)、 $\beta$ -谷甾醇与 STAT1 (PDB 数据库 ID: 1YVL), 借助 sybyl-x 2.0 软件分别进行分子对接验证。

从分子对接结果可知, 4 种化合物稳定对接于靶点蛋白上: 槲皮素与活性位点附近的 A/GLU9、A/ARGL41 这 2 个氨基酸形成氢键结合到 MYC

(T-score=6 分); 山柰酚与活性位点附近的 A/GLU157、A/GLU268、A/GLU353、B/TYR1356 这 4 个氨基酸形成氢键结合到 HIF1A (T-score=6.5 分); 人参皂苷 rh2 与活性位点附近的 C/CSN193、C/ASP197、C/GLY127 这 3 个氨基酸形成氢键结合到 ESR1 (T-score=5 分);  $\beta$ -谷甾醇与活性位点附近的 A/HIS310、A/GLU163、A/ASP161 这 3 氨基酸形成氢键结合到 STAT1 (T-score=5.5 分)。见图 9。

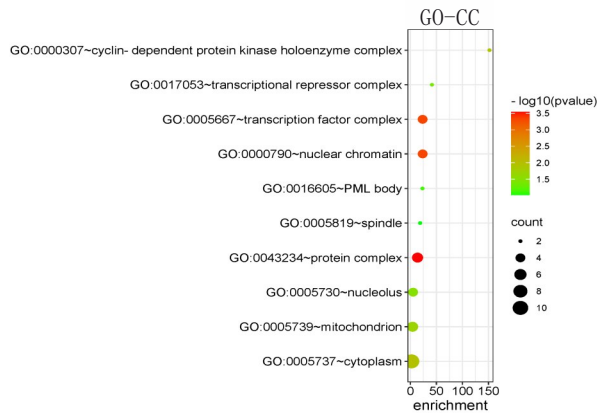


图 5 黄芪、三七与 TON 的 GO 细胞定位富集分析

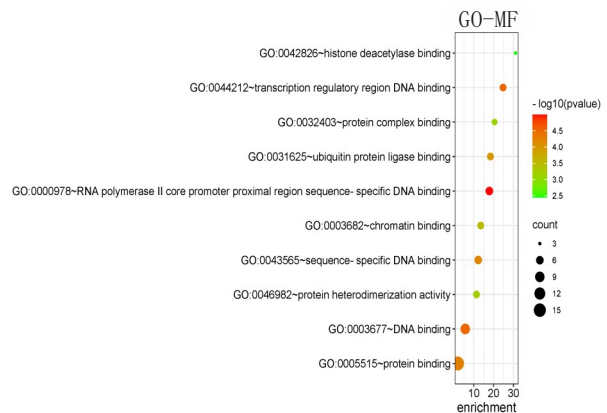


图 6 黄芪、三七与 TON 的 GO 分子功能富集分析

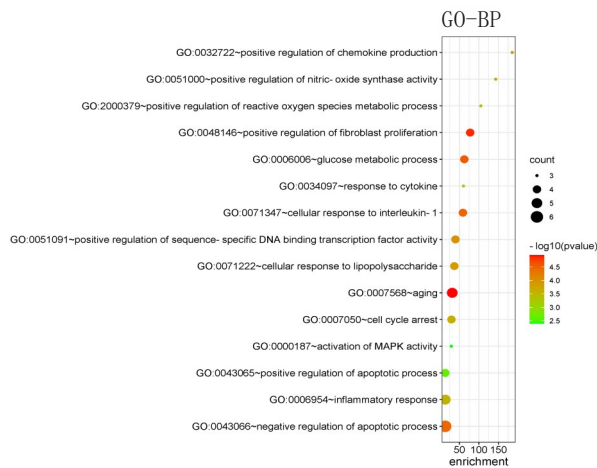


图 7 黄芪、三七与 TON 的 GO 生物学过程富集分析

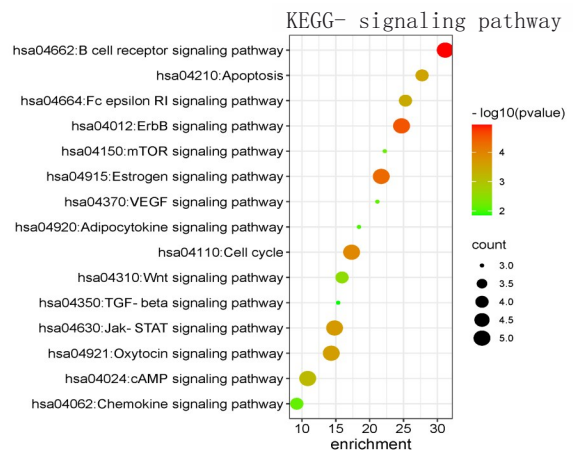


图 8 黄芪、三七与 TON 的 KEGG 信号通路富集分析

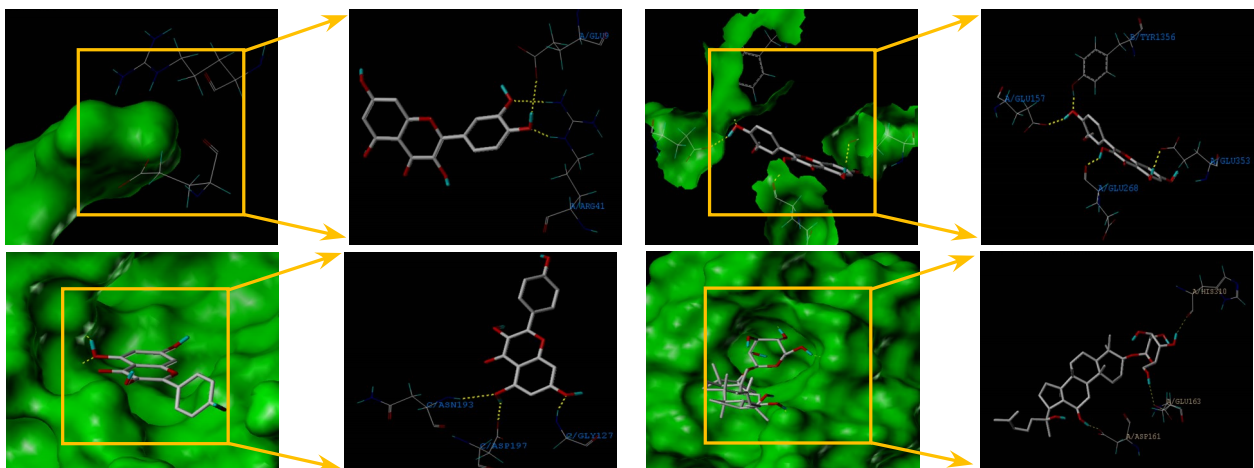


图 9 黄芪、三七主要活性成分与对应作用靶点的分子对接

### 3 讨论

本研究发现黄芪、三七治疗 TON 的主要药物成分是槲皮素、山柰酚、人参皂苷 rh2、 $\beta$ -谷甾醇等 23 种化合物。丝裂原活化蛋白激酶 14 (mitogen activated protein kinase, MAPK14)、STAT1、HIF1A、ESR1、MYC 等 16 个核心靶点可能是黄芪、三七治疗 TON 的潜在活性成分。药理学研究表明,黄酮类的主要代表槲皮素有显著的抗炎、抗氧化应激等作用<sup>[14]</sup>;山柰酚属于黄酮醇类,研究证实其可对抗炎症、保护神经、抗癌等<sup>[15]</sup>;人参皂苷 rh2 从红参、三七等中药中被发现<sup>[16]</sup>,其对免疫系统、中枢神经系统、心血管系统等均有调节作用,还可抑制炎症反应,起到抗炎的作用<sup>[17-18]</sup>; $\beta$ -谷甾醇有广泛的药理活性,包括:抗菌、抗氧化、抗高血脂、免疫调节等<sup>[19]</sup>。对于本次研究得到的核心靶点,笔者进一步查阅相关文献发现这些核心靶点主要在炎症、缺氧时多有表达。MAPK14 参与多条信号通路,在炎症反应信号通路中,则是向下游方向传导的核心分子。邢译文等<sup>[20]</sup>研究发现 miR-638 通过调控 MAPK14 的表达,影响 p38/MAPK 通路下游肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 6 的表达,参与炎症反应。STAT1 在信号转导和转录活化中发挥重要作用,当有干扰素 $\gamma$ 等细胞因子诱导时,STAT1 便被激活进入细胞核,促使相关靶点基因的转录活化及表达<sup>[21]</sup>。干扰素 $\gamma$ 也可促进小胶质细胞中 STAT1 的活化,使得大量炎症介质:一氧化氮、白细胞介素 1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子 $\alpha$  等被表达,参与炎症反应<sup>[22-23]</sup>。不同于以上靶点,HIF1A 是一种调节细胞稳态的蛋白,机体在缺氧情况下的表达便会增多,是细胞应对缺氧环境的关键蛋白。

GO 富集结果发现核心靶基因参与的生物过程有细胞对白细胞介素 1 通路反应、凋亡过程负调节、趋化因子生成正调控、炎症反应、激活 MAPK 活性途径等。KEGG 富集分析结果表明,B 细胞受体信号通路、细胞凋亡、趋化因子信号通路等是黄芪、三七有效化学成分发挥主要作用的主要通路。

有关研究发现,视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)随着外伤的发生而持续凋亡<sup>[24]</sup>,氧化应激则被认为是引起 RGCs 凋亡的关键节点,而视网膜发生缺血、缺氧时均会出现氧化应激反应。因为神经信号传递的能量大部分依靠线粒体的氧化呼吸供能,而轴突是 RGCs 大量线粒体的聚集处,可知外伤时,缺血、缺氧,发生氧化应激反应轴突损伤更敏感<sup>[25]</sup>。同时,缺血缺氧也会使线粒体氧化磷酸化受到抑制,引起活性氧自由基的过量堆积,破坏线粒体膜电位稳定性,半胱氨酸

释放,激活下游的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 Caspase 的凋亡路径,引起 RGCs 凋亡<sup>[26]</sup>。当 RGCs 处于氧化应激状态时,活性氧自由基浓度增高,自噬相关基因 4 失活,同时 AMPK 被激活发生诱导性自噬过程,吞噬并降解异常细胞器,清除受损的 RGCs<sup>[27-29]</sup>。黄芪甲苷与三七总皂苷可减轻小鼠缺血再灌注损伤后骨髓间充质干细胞的损伤,可能与促进其干细胞向损伤部分迁移,诱导其向神经元和星形胶质细胞定向分化有关<sup>[30]</sup>。在体研究表明,黄芪甲苷能够降低原代黑质多巴胺能神经细胞 6-羟多巴胺(一种神经元化学损毁剂)诱导的神经凋亡,进而发挥保护神经作用<sup>[31-32]</sup>。

视神经损伤的进展与炎症反应也有关。细胞因子被大体归为促炎性和抗炎性两种,在创伤、感染等应激情况下,机体对抗外界反应时会合成及分泌促炎性因子,IL-1、IL-6、TNF 为临床中常见的促炎因子。炎症因子在炎症反应中起着关键作用,可以诱导一氧化氮合酶的升高而间接激活炎症信号通路,招募炎性细胞(如小胶质细胞、巨噬细胞)到已经损伤轴突处<sup>[33-34]</sup>。在炎症反应中,趋化因子同样不可或缺,趋化因子属于促炎肽家族,炎症发生时在组织中产生,能引导白细胞聚集到机体损伤组织,促进炎症反应的进行<sup>[35]</sup>。比如趋化因子受体 3 可以与特定配体如趋化因子配体 9 结合,引导 T 细胞、巨噬细胞等免疫细胞的募集,为炎症反应发生提供条件<sup>[36]</sup>。作为神经胶质细胞之一的小胶质细胞,是天然免疫细胞,能够修复受损的神经、分泌调节性的免疫分子,发挥其神经保护作用<sup>[37]</sup>。但是,在过度而持续激活情况下,小胶质细胞产生炎症因子,诱发炎症反应,参与神经损伤过程<sup>[38]</sup>。MERCKEN 等<sup>[39]</sup>发现,抑制趋化因子受体 3 可降低视神经损伤后 RGCs 的死亡,通过减少视神经损伤后白细胞在视网膜聚集,在一定程度上缩小炎症反应的范围,减少 RGCs 在视神经损伤后的死亡。而本研究预测了黄芪、三七有效成分参与趋化因子生成正调控生物学过程及趋化因子信号通路,极有可能通过作用于趋化因子抑制炎症反应来保护视神经。另外,黄芪、三七参与激活 MAPK 活性途径等生物过程,可能通过抑制 MAPK 信号通路来调控炎症反应,从而保护受损神经<sup>[40-41]</sup>。

总之,本研究得出中药黄芪和三七配伍治疗 TON 的机制主要为以下两种:第一,黄芪和三七的有效活性成分影响 STAT1、HIF1A、ESR1、MYC 等核心靶点的表达,抑制促炎性细胞因子,通过炎症反应、细胞因子、趋化因子生成正调控、激活 MAPK 活性途径及趋化因子信号通路,实现免疫调节、降

低机体受伤视神经炎症反应的目的。第二,视神经损伤后视网膜发生缺血、缺氧时,会发生氧化应激反应,而黄芪和三七有效成分很可能抑制HIF1A等核心靶基因的表达,通过凋亡过程负调节信号通路,降低氧化应激引起的视神经节细胞凋亡。所以,黄芪和三七是治疗TON的有效药对。

#### 参考文献

- [1] BASTAKIS G G,KTENA N,KARAGOGEOS D,et al. Models and treatments for traumatic optic neuropathy and demyelinating optic neuritis[J]. *Dev Neurobiol*, 2019,79(8):819-836.
- [2] SINGMAN E L,DAPHALAPURKAR N,WHITE H,et al. Indirect traumatic optic neuropathy[J]. *Mil Med Res*, 2016,3:2.
- [3] PIROUZMAND F. Epidemiological trends of traumatic optic nerve injuries in the largest Canadian adult trauma center[J]. *J Craniofac Surg*, 2012,23(2):516-520.
- [4] BURKE E G,CANSLER S M,EVANSON N K. Indirect traumatic optic neuropathy: modeling optic nerve injury in the context of closed head trauma [J]. *Neural Regen Res*, 2019,14(4):593-594.
- [5] KUMARAN A M,SUNDAR G,CHYE L T. Traumatic optic neuropathy: a review [J]. *Craniofac Trauma Reconstr*, 2015,8(1):31-41.
- [6] OSBORNE N N,CHIDLOW G,LAYTON C J,et al. Optic nerve and neuroprotection strategies[J]. *Eye(Lond)*, 2004,18(11):1075-1084.
- [7] 叶晓滨. 黄芪配伍益气活血补血药对研究进展[J]. *河南中医*, 2021,41(8):1285-1290.
- [8] 高云峰,高娜. 黄芪生理活性成分及其药理作用研究进展[J]. *新农业*, 2017,32(1):20-21.
- [9] 黄小平,刘晓丹,邓常清. 黄芪和三七主要有效成分配伍对氧化损伤所致的PC12细胞凋亡及其活性氧、线粒体膜电位的影响[J]. *中西医结合学报*, 2012,10(10):1127-1134.
- [10] 卢汝梅,黄志其,李兵,等. 三七化学成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016,22(7):62-64.
- [11] WANG T,GUO R,ZHOU G,et al. Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen: a review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016,188:234-258.
- [12] 庞会婷,罗荣生,郭姣. 三七化学成分分析及其抗炎机制的网络药理学探讨[J]. *中草药*, 2020,51(21):5538-5547.
- [13] 陈奕玮,王君,赵坤,等. 基于网络药理学探讨三七治疗动脉粥样硬化的作用机制[J]. *中医杂志*, 2019,60(19):1684-1691.
- [14] LI Y, YAO J, HAN C, et al. Quercetin, inflammation and immunity[J]. *Nutrients*, 2016,8(3):167-171.
- [15] YANG E J, KIM G S, JUN M, et al. Kaempferol attenuates the glutamate-induced oxidative stress in mouse-derived hippocampal neuronal HT22 cells[J]. *Food Funct*, 2014,5(7):1395-1402.
- [16] YAYEH T, YUN K, JANG S, et al. Morphine dependence is attenuated by red ginseng extract and ginsenosides Rh2, Rg3, and compound K [J]. *J Ginseng Res*, 2016,40(4):445-452.
- [17] YANG Y, REN C, ZHANG Y, et al. Ginseng: a nonnegligible natural remedy for healthy aging [J]. *Aging Dis*, 2017,8(6):708-720.
- [18] KIM J H, YI S, KIM M Y, et al. Role of ginsenosides, the main active components of *Panax ginseng*, in inflammatory responses and diseases [J]. *J Ginseng Res*, 2017,41(4):435-443.
- [19] 肖志彬,贾韩学,刘小雷.  $\beta$ -谷甾醇药理活性的研究现状[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015,15(8):66-68.
- [20] 邢译文. MiR-638靶向抑制MAPK14表达调控BCG与巨噬细胞免疫应答反应[D]. 银川:宁夏医科大学, 2014.
- [21] GAMBIN A, CHARZYŃSKA A, ELLERT MIKLASZEWSKA A, et al. Computational models of the JAK1/2-STAT1 signaling [J]. *JAKSTAT*, 2013,2(3):e24672.
- [22] KAO T K, OU Y C, LIN S Y, et al. Luteolin inhibits cytokine expression in endotoxin/cytokine-stimulated microglia [J]. *J Nutr Biochem*, 2011,22(7):612-624.
- [23] 王奇钰,吴晗,唐立焯,等. 黄芪多糖对VEGF-C表达的抑制与结直肠癌细胞内淋巴管生成的相关性研究[J]. *西部中医药*, 2023,36(3):47-51.
- [24] 王瑞嘉. 视神经损伤后视网膜神经节细胞中肿瘤坏死因子在视神经管减压术后和药物干预的免疫活性研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2012.
- [25] OSBORNE N N, NÚÑEZ-ÁLVAREZ C, JOGLAR B, et al. Glaucoma: focus on mitochondria in relation to pathogenesis and neuroprotection [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016,78(7):127-133.
- [26] 韩茜,余玲. 氧化应激-线粒体功能异常与视网膜神经节细胞凋亡的关系[J]. *国际眼科杂志*, 2015,15(2):238-241.
- [27] ZHOU T, PRATHER E R, GARRISON D E, et al. Interplay between ROS and antioxidants during ischemia-reperfusion injuries in cardiac and skeletal muscle [J]. *Int J Mol Sci*, 2018,19(2):417-421.
- [28] 梁幼玲,石晶明,贾松柏. 自噬在青光眼和视网膜退行性病变中的研究进展(英文)[J]. *国际眼科杂志*, 2016,2(10):1800-1804.
- [29] LIN W J, KUANG H Y. Oxidative stress induces autophagy in response to multiple noxious stimuli in retinal ganglion cells [J]. *Autophagy*, 2014,10(10):1692-1701.
- [30] 刘晓丹,丁焯,邓常清. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对OGD/R大鼠骨髓间充质干细胞增殖、凋亡、迁移及神经分化的影响[J]. *中草药*, 2019,50(23):5795-5801.
- [31] CHAN W S, DURAIRAJAN S S K, LU J H, et al. Neuroprotective effects of Astragaloside IV in 6-hydroxydopamine-treated primary nigral cell culture [J]. *Neurochem Int*, 2009,55(6):414-422.
- [32] 钱忆家,王强,姚娟,等. 平肝止痛复方联合卡马西平对难治性癫痫大鼠神经元凋亡的影响[J]. *西部中医药*, 2023,36(3):19-23.
- [33] TONARI M, KURIMOTO T, HORIE T, et al. Blocking endothelin-B receptors rescues retinal ganglion cells