·临床研究·

基于网络药理学及分子对接探究槲皮素治疗类风湿关节炎的作用机制

戴小娜，林进

【摘要】目的 通过整合网络药理学和分子对接探究槲皮素治疗类风湿关节炎（RA）的分子机制。**方法** 从TCMSP和Swiss Target Prediction数据库获得槲皮素相关靶点，NCBI、OMIM等数据库收集RA相关靶点，Venn分析筛选出槲皮素治疗RA的潜在作用靶点。首先基于STRING数据库分析潜在靶点蛋白相互作用关系，使用Cytoscape 3.9.2软件构建蛋白相互作用和“药物-靶点-疾病”网络，再结合MCODE插件识别关键核心靶点。其次将潜在靶点导入DAVID数据库进行基因本体（GO）和京都基因与基因组百科全书（KEGG）富集分析。最后通过分子对接验证槲皮素与核心靶点之间的亲和力。**结果** 共收集到223个槲皮素相关靶点和6 708个RA相关靶点，Venn分析筛选出157个槲皮素治疗RA的潜在作用靶点。蛋白相互作用分析显示肿瘤坏死因子（TNF）、白介素-6（IL-6）、基质金属蛋白酶9（MMP9）、半胱氨酸蛋白酶3（CASP3）、B细胞淋巴瘤/白血病-2（BCL2）、丝氨酸/苏氨酸激酶1（AKT1）、JUN原癌基因（JUN）、低氧诱导因子1α（HIF1A）和肿瘤蛋白53（TP53）等靶点处于网络中的核心位置，参与关键信号通路包括PI3K/Akt等，并且槲皮素与核心靶点有较好的结合能力。**结论** 槲皮素可能通过作用于TNF、IL-6、MMP、HIF1A和AKT1等核心靶点，参与调控PI3K/Akt等信号通路从而治疗RA。

【关键词】 网络药理学；分子对接；槲皮素；类风湿关节炎
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.11.009
【中图分类号】 R593.22 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2025)11-1135-05

类风湿关节炎（rheumatoid arthritis，RA）是一种常见的慢性自身免疫性疾病，主要病理表现为滑膜炎。据统计RA的全球发病率为0.5%～1.0%[1]，我国RA确诊患者数量已超500万，且呈上升趋势[2]。RA致残率高，随着病程延长，如不及时干预易导致关节功能丧失[3]。RA一经确诊应给予规范治疗，然而长期、联合用药易出现诸多不良反应，如胃肠道损伤、心血管风险、感染等[4]，而且生物制剂治疗经济负担较大[5]。越来越多的RA患者开始寻求中医药联合治疗，中药因在提高RA临床疗效的同时可减少不良事件的发生而日益受重视[6]。

RA属于中医“痹证”范畴，中医学诊断为“尪痹”，病因是由于风寒湿热等外邪侵袭机体，日久痹阻经络气血，不通则痛[7]。多项药理学研究证实中药有效成分治疗RA具有多途径、多靶点的优势，不仅能改善症状，还能减轻炎症反应、抑制骨破坏等作用[8-9]。槲皮素属于植物源性黄酮类化合物，可抗炎、抗氧化、抑制血管生成等[10-11]。临床研究发现，槲皮素可显著降低RA患者细胞因子水平和疾病活动度[12]。动物实验结果表明，槲皮素能改善胶原诱导性关节炎小鼠模型的炎症细胞浸润、关节炎指数评分[13]，但具体作用机制尚不明确。网络药理学因其多层次和多靶点优势，在中医药研究中发挥重要作用，常用于分析中药或中药单体成分的靶点和潜在机制[14]。本研究拟整合网络药理学与分子对接分析槲皮素干预RA的潜在作用机制，以期为应用槲皮素防治RA提供依据，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 获取槲皮素作用靶点 以“槲皮素”或“quercetin”为关键词，从TCMSP数据库获取药物靶点；此外，以“probability ＞ 0”为条件从Swiss Target-Prediction数据库筛选药物靶点。将以上结果汇总并删除重复项，得到槲皮素相关靶点。

1.2 筛选RA疾病相关靶点 以“类风湿关节炎”或

基金项目： 国家重点研发计划（2022YFC3602003）
作者单位： 310003 杭州，浙江医院（戴小娜）；浙江大学医学院附属第一医院（林进）
通信作者： 林进，Email：linjinzju@zju.edu.cn

Modern Practical Medicine, November 2025, Vol.37, No.11

“rheumatoid arthritis”为关键词，在OMIM、NCBI、GeneCards等数据库中收集疾病靶点，汇总并剔除重复后得到RA相关靶点。

1.3 潜在作用靶点筛选 通过Venn分析槲皮素相关靶点与RA相关靶点的交集，这些交集靶点即为槲皮素治疗RA的潜在作用靶点。并使用Venny 2.1.0（https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/）平台绘制韦恩图。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络构建及核心靶点筛选 将槲皮素治疗RA潜在作用靶点导入STRING数据库预测这些靶点的蛋白相互作用信息，置信度设定为大于0.4，去除离散节点，筛选后导出结果。将结果导入Cytoscape 3.9.2软件中，以Degree值排序建立PPI网络，使用MCODE插件筛选核心靶点。

1.5 “药物-靶点-疾病”网络分析 为了更加直观揭示槲皮素治疗RA的分子靶标，将得到的潜在作用靶点、疾病及槲皮素的相关性进行归类整理，采用Cytoscape 3.9.2可视化，建立“药物-靶点-疾病”网络图。

1.6 基因本体（gene oncology，GO）和京都基因与基因组百科全书（kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）富集分析 将潜在作用靶标导入DAVID数据库做富集分析，根据*P*值进行排序，选取GO富集中各模块的前10条目、KEGG富集中前20条通路进行可视化，可视化由ggplot2程序包完成，结果以气泡图和柱状图展示。

1.7 分子对接 从Pubchem数据库获取槲皮素的化学结构，登录PDB数据库获取9个核心靶点的蛋白质晶体结构，采用AutodockTools 1.5.7进行蛋白预处理，AutoDock Vina插件计算槲皮素与核心靶点的结合能力。

2 结果

2.1 槲皮素治疗RA的潜在作用靶点筛选 通过检索共得到223个槲皮素相关靶点和6 708个RA相关靶点。将槲皮素与RA靶点取交集并绘制韦恩图，得到157个槲皮素治疗RA的潜在作用靶点，见图1。

2.2 PPI网络构建及核心基因筛选 将157个潜在靶点输入STRING数据库进行蛋白相互作用分析，产生的PPI网络见图2。通过MCODE插件筛选出网络中核心模块最高评分为49.803分，该模块包括62个节点和1 519条边（图3）。其中肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）、白介素-6（interleukin-6，IL-6）、基质金属蛋白酶9（matrix metal loproteinases 9，MMP9）、半胱氨酸蛋白酶3（CASP3）、B细胞淋巴瘤/白血病-2（B-cell lymphoma 2，BCL2）、丝氨酸/苏氨酸激酶1（serine/threonine kinase1，AKT1）、JUN原癌基因（JUN proto-oncogene，JUN）、低氧诱导因子1α（hypoxia-inducible factor 1 alpha，HIF1A）和肿瘤蛋白53（tumor protein，TP53）度值较大（均为28），提示这些靶点发挥了关键作用。

2.3 “药物-靶点-疾病”网络 将157个潜在作用靶点绘制“药物-靶点-疾病”相互作用的网络图，见图4。图中可以看出，槲皮素通过多靶点作用于RA。

2.4 GO和KEGG富集分析 GO富集分析显示槲皮素干预RA主要在抑制细胞凋亡，促进RNA聚合酶II介导的转录以及正向调控基因表达等生物工过程中发挥重要作用，见图5。KEGG通路富集分析揭示，这些潜在靶点主要富集于PI3K/Akt信号转导途径和TNF信号通路等，见图6。

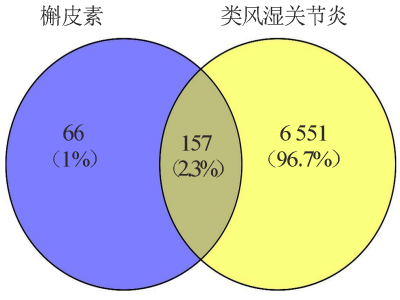


图1 槲皮素与类风湿关节炎交集靶点韦恩图

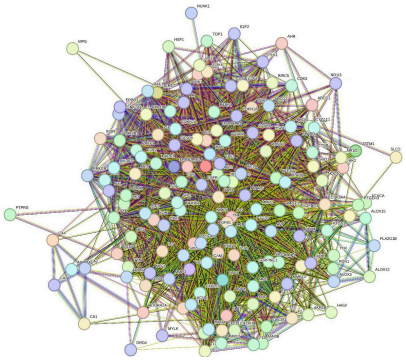


图2 槲皮素治疗类风湿关节炎潜在靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络图

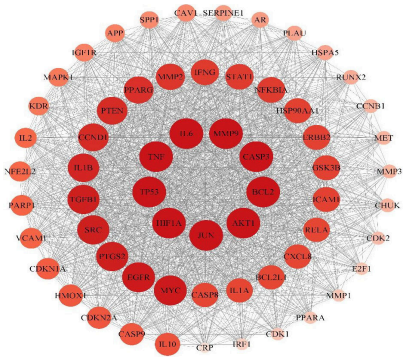
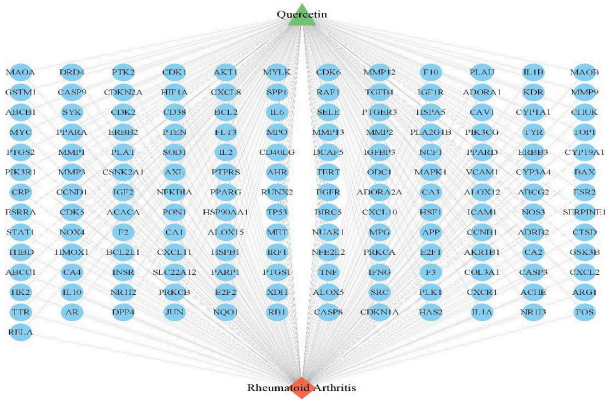


图3 槲皮素治疗类风湿关节炎核心靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络图

2.5　分子对接结果　以 9 个核心靶点作为受体，槲皮素作为配体进行分子对接，对接结合能均＜−5 kJ/mol，表明槲皮素与核心靶点之间均具有良好的亲和力。其中槲皮素与 AKT1 的结合能最大，主要通过与 ASP-274、LYS-276 和 ASP-292 等氨基酸位点处形成氢键连接，见表 1，图 7。

3　讨论

槲皮素作为一种天然活性成分，其抗炎、抗氧化应激和免疫调节等特性已被广泛验证。槲皮素在炎症性肠病、多发性硬化症和系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病的临床治疗中展现出良好效果[15]。尽管已有研究证实槲皮素治疗 RA 有效，但其分子层面的药理学作用机制仍有待深入解析。



注：绿色节点为槲皮素，红色节点为类风湿关节炎，蓝色节点为交集靶点

图 4　“药物-靶点-疾病”网络图

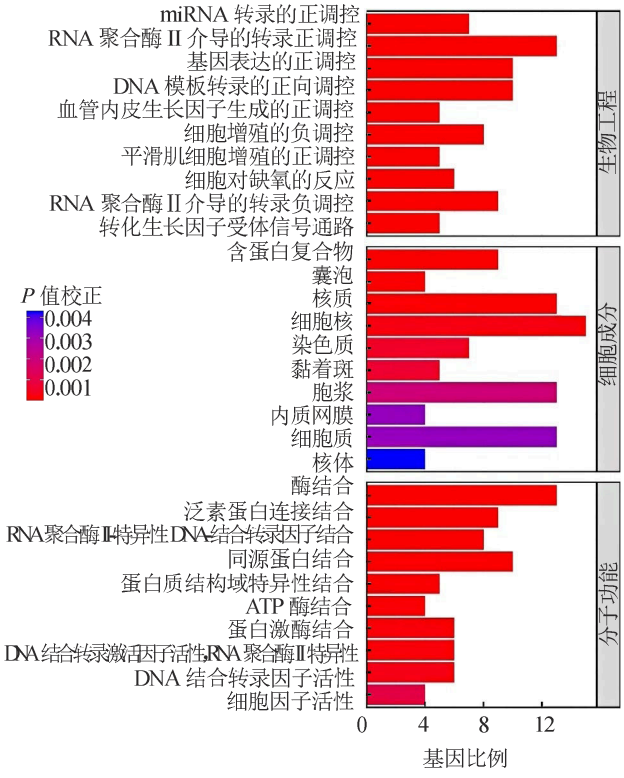


图 5　GO 富集分析

本研究通过构建“药物-靶点-疾病”网络得到槲皮素与 RA 关系密切的靶点，并利用分子对接验证药物和靶点的结合能力，得到 TNF、IL-6、MMP9、CASP3、BCL2、AKT1、JUN、HIF1A、TP53 等核心靶点。TNF、IL-6 是在 RA 发生发展中起关键作用的促炎细胞因子。荟萃分析结果显示，槲皮素可降低 RA 动物模型外周血 IL-6 和 TNF-α的表达，从而发挥抗炎作用[16]。MMP9 在 RA 滑膜组织和滑液中显著上调，可降解细胞外基质，调节 RA 滑膜成纤维细胞（fibroblast-like synoviocytes，RA-FLS）的增殖、迁移和侵袭，导致软骨和骨破坏[17-18]。JUN 是激活剂蛋白 1 转录因子家族的核心成员，通过与 NF-κB 协同作用激活促炎细胞因子，参与调控 RA 炎症反应[19-20]。

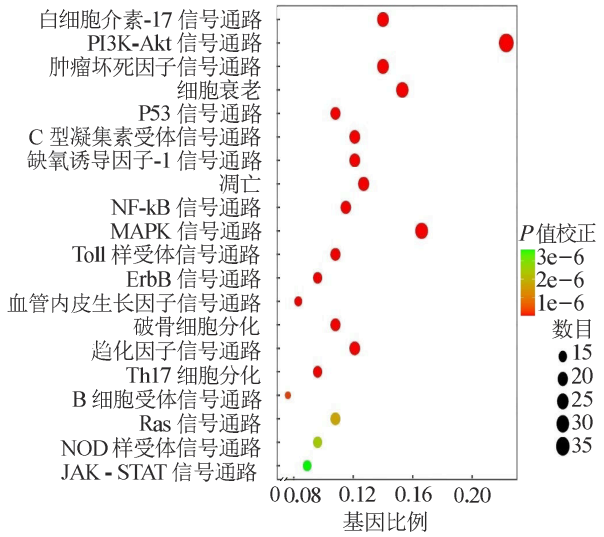
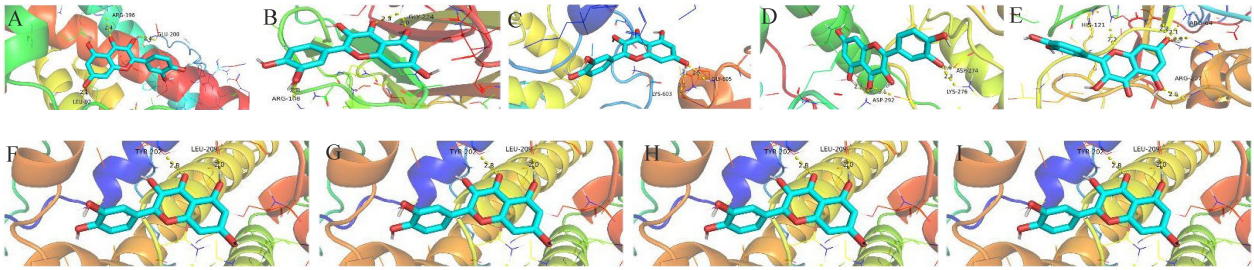


图 6　KEGG 通路分析

表 1　槲皮素与核心靶点的结合能

核心靶点	结合能（kJ/mol）
IL-6	−7.9
TNF	−7.5
MMP9	−8.0
H1F1A	−7.9
BCL2	−6.9
CASP3	−6.7
AKT1	−8.2
TP53	−7.2
JUN	−5.7

注：IL-6 为白介素 6，TNF 为肿瘤坏死因子，MMP9 为机制金属蛋白酶 9，H1F1A 为低氧诱导因子 1α，BCL2 为 B 细胞淋巴瘤/白血病-2，CASP3 为半胱氨酸蛋白酶 3，AKT1 为丝氨酸/苏氨酸激酶 1，TP53 为肿瘤蛋白 53，JUN 为 JUN 原癌基因



注：A 为白介素 6，B 为肿瘤坏死因子，C 为机制金属蛋白酶 9，D 为丝氨酸/苏氨酸激酶 1，E 为半胱氨酸蛋白酶 3，F 为 B 细胞淋巴瘤/白血病-2，G 为肿瘤蛋白 53，H 为低氧诱导因子 1α，I 为原癌基因

图 7 槲皮素与核心靶点分子对接示意图

此外，JUN 可直接调控环氧合酶 2，上调前列腺素 E2，参与促炎巨噬细胞活化而促进关节炎发生发展[21]。RA 患者血清和滑膜组织中 HIF1A 表达增加，可诱导血管内皮生长因子的产生，促进滑膜血管生成从而加剧关节炎症[22]。Yang 等[23]发现，缺氧条件下，HIF1A 经 STAT3/HIF-1a/fascin-1 信号轴促进 RA-FLS 迁移和侵袭。*TP53* 基因编码的 p53 蛋白在炎症抑制中发挥重要作用，可促进细胞凋亡，介导细胞周期阻滞，负向调控肿瘤血管生成等[24]。RA 患者中可检测到 *TP53* 基因突变[25]，*p53* 基因缺陷通过激活 NF-κB 和 MAPK 等信号通路增强炎症反应[26]。CASP3 是调控细胞凋亡的核心分子。体外研究证实，白藜芦醇可通过激活 CASP3 诱导细胞凋亡，抑制 RA-FLS 增生[27]。*BCL2* 基因亦是细胞凋亡的关键调控因子之一，然而 *BCL2* 基因在 RA 中作用存在争议。芬兰学者的研究显示 BCL2 在 RA 患者滑液淋巴细胞和滑膜组织中表达降低[28]；而韩国一项研究发现，IL-17 上调 RA-FLS 中 BCL2 表达，从而抑制了 RA-FLS 细胞凋亡并促进增殖[29]。作为 PI3K 下游的重要信号分子，AKT1 激酶通过其丝氨酸/苏氨酸磷酸化活性调节多种生物学过程包括代谢、增殖和血管生成等，与 RA-FLS 细胞异常增殖和滑膜炎相关[30]。

富集分析结果显示，槲皮素可能通过 P13K/Akt 等多条信号通路发挥治疗 RA 的作用。PI3K/Akt 通路在细胞增殖、血管生成等生物学过程中起关键调控作用[31]。PI3K/Akt 通过刺激 IL-1β、IL-17 和 IL-21 等炎症因子的表达，调节 FLS 细胞异常增殖和滑膜炎症，参与 RA 病理改变[32-33]。该信号通路异常激活也会上调血管内皮生长因子和 HIF1A 表达，促进血管生成并增加多种炎症介质的释放[34]。PI3K/Akt 还可作用于 mTOR，诱导 FLS 细胞自噬并持续增殖，加重 RA 病情[35]。

综上所述，槲皮素可能通过多靶点、多通路发挥作用，为进一步探索槲皮素治疗 RA 作用机制提供了新的理论基础，未来仍需要通过深入的基础研究加以验证。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 戴小娜：数据分析、论文写作；林进：研究指导、论文修改

参 考 文 献

[1] SMOLEN J S, ALETAHA D, BARTON A, et al. Rheumatoid arthritis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4: 18001.

[2] 曾小峰,朱松林,谭爱春,等.我国类风湿关节炎疾病负担和生存质量研究的系统评价[J].中国循证医学杂志,2013,13(3):300-307.

[3] 海峡两岸医药卫生交流协会风湿免疫病学专业委员会慢病管理学组,刘毅.类风湿关节炎慢病管理专家指导建议[J].中华内科杂志,2023,62(11):1256-1265.

[4] ALETAHA D, SMOLEN J S. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: A review[J]. JAMA, 2018, 320(13): 1360-1372.

[5] WATANABE R, HASHIMOTO M, MURATA K, et al. Prevalence and predictive factors of difficult-to-treat rheumatoid arthritis: The KURAMA cohort[J]. Immunol Med, 2022, 45(1): 35-44.

[6] LI W H, YU L, LI W M, et al. Prevention and treatment of inflammatory arthritis with traditional Chinese medicine: Underlying mechanisms based on cell and molecular targets[J]. Ageing Res Rev, 2023, 89: 101981.

[7] 吴玉娜,刘淑清.中西医治疗类风湿关节炎的研究进展[J].实用中医内科杂志,2022,36(3):72-75.

[8] WANG Y, CHEN S J, DU K Z, et al. Traditional herbal medicine: Therapeutic potential in rheumatoid arthritis[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 279: 114368.

[9] JAKOBSSON P J, ROBERTSON L, WELZEL J, et al. Where traditional Chinese medicine meets Western medicine in the prevention of rheumatoid arthritis[J]. J Intern Med, 2022, 292(5): 745-763.

[10] XU D, HU M J, WANG Y Q, et al. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application[J]. Molecules,

2019, 24(6): 1123.
[11] GOYAL A, AGRAWAL N. Quercetin: A potential candidate for the treatment of arthritis[J]. Curr Mol Med, 2022, 22(4): 325-335.
[12] JAVADI F, AHMADZADEH A, EGHTESADI S, et al. The effect of quercetin on inflammatory factors and clinical symptoms in women with rheumatoid arthritis: A double-blind, randomized controlled trial[J]. J Am Coll Nutr, 2017, 36(1): 9-15.
[13] KAWAGUCHI K, KANEKO M, MIYAKE R, et al. Potent inhibitory effects of quercetin on inflammatory responses of collagen-induced arthritis in mice[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2019, 19(3): 308-315.
[14] ZHANG P, ZHANG D F, ZHOU W A, et al. Network pharmacology: Towards the artificial intelligence-based precision traditional Chinese medicine[J]. Brief Bioinform, 2023, 25(1): bbad518.
[15] SHEN P, LIN W J, DENG X, et al. Potential implications of quercetin in autoimmune diseases[J]. Front Immunol, 2021, 12: 689044.
[16] LIU X R, TAO T, YAO H, et al. Mechanism of action of quercetin in rheumatoid arthritis models: Meta-analysis and systematic review of animal studies[J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(4): 1629-1645.
[17] XUE M L, MCKELVEY K, SHEN K, et al. Endogenous MMP-9 and not MMP-2 promotes rheumatoid synovial fibroblast survival, inflammation and cartilage degradation[J]. Rheumatology, 2014, 53(12): 2270-2279.
[18] PAN D M, LI N, LIU Y 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.
[19] ZENZ R, EFERL R, SCHEINECKER C, et al. Activator protein 1 (Fos/Jun) functions in inflammatory bone and skin disease[J]. Arthritis Res Ther, 2008, 10(1): 201.
[20] KIM D S, HAN J H, KWON H J. NF-kappaB and c-Jun-dependent regulation of macrophage inflammatory protein-2 gene expression in response to lipopolysaccharide in RAW 264.7 cells[J]. Mol Immunol, 2003, 40(9): 633-643.
[21] HANNEMANN N, JORDAN J, PAUL S, et al. The AP-1 transcription factor c-Jun promotes arthritis by regulating cyclooxygenase-2 and arginase-1 expression in macrophages[J]. J Immunol, 2017, 198(9): 3605-3614.
[22] WESTRA J, BROUWER E, BOUWMAN E, et al. Role for CaMKII inhibition in rheumatoid arthritis: Effects on HIF-1-induced VEGF production by rheumatoid synovial fibroblasts[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1173: 706-711.
[23] YANG W, WEI X Y, JIAO Y C, et al. STAT3/HIF-1α/fascin-1 axis promotes RA FLSs migration and invasion ability under hypoxia[J]. Mol Immunol, 2022, 142: 83-94.
[24] WANG H W, WANG X R, XU L P, et al. TP53 and TP53-associated genes are correlated with the prognosis of paediatric neuroblastoma[J]. BMC Genom Data, 2022, 23(1): 41.
[25] GANSMO L B, LIE B A, MAHLEN M T, et al. Polymorphisms in the TP53-MDM2-MDM4-axis in patients with rheumatoid arthritis[J]. Gene, 2021, 793: 145747.
[26] ZHAO L M, LIU M L, ZHENG K, et al. Fufang Duzheng tablet attenuates adjuvant rheumatoid arthritis by inhibiting arthritis inflammation and gut microbiota disturbance in rats[J]. Heliyon, 2024, 10(12): e32705.
[27] NAKAYAMA H, YAGUCHI T, YOSHIYA S, et al. Resveratrol induces apoptosis MH7A human rheumatoid arthritis synovial cells in a sirtuin 1-dependent manner[J]. Rheumatol Int, 2012, 32(1): 151-157.
[28] ISOMÄKI P, SÖDERSTRÖM K O, PUNNONEN J, et al. Expression of bcl-2 in rheumatoid arthritis[J]. Br J Rheumatol, 1996, 35(7): 611-619.
[29] LEE S Y, KWOK S K, SON H J, et al. IL-17-mediated Bcl-2 expression regulates survival of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis through STAT3 activation[J]. Arthritis Res Ther, 2013, 15(1): R31.
[30] GONG X, ZHANG H T, GUO Y L, et al. Chromosome-level genome assembly of Iodes seguinii and its metabonomic implications for rheumatoid arthritis treatment[J]. Plant Genome, 2025, 18(1): e20534.
[31] GLAVIANO A, FOO A S C, LAM H Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 138.
[32] TSAI C H, LIU S C, WANG Y H, et al. Osteopontin inhibition of miR-129-3p enhances IL-17 expression and monocyte migration in rheumatoid arthritis[J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2017, 1861(2): 15-22.
[33] SHODA H, NAGAFUCHI Y, TSUCHIDA Y, et al. Increased serum concentrations of IL-1 beta, IL-21 and Th17 cells in overweight patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19 (1): 111.
[34] ZOU L, ZHANG G C, LIU L F, et al. Relationship between PI3K pathway and angiogenesis in CIA rat synovium[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(7): 3141-3147.
[35] DING Q, HU W, WANG R, et al. Signaling pathways in rheumatoid arthritis: Implications for targeted therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 68.

收稿日期：2025-06-09
（本文编辑：孙海儿）