

本文引文格式:殷康,金莉,唐敏,等.墨旱莲对痛风的治疗作用及其机制研究[J].
右江民族医学院学报,2026,48(2):222-230.

【论著与临床报道】

墨旱莲对痛风的治疗作用及其机制研究

殷康¹,金莉²,唐敏¹,陶金辉³

1. 安徽理工大学第一附属医院,安徽 淮南 230022;
2. 中国科学技术大学附属第一医院风湿免疫科,安徽 合肥 230041;
3. 中国科学技术大学附属第一医院变态反应与临床免疫科,安徽 合肥 230041)

摘要:目的 为了观察墨旱莲(*Ecliptae Herba*, EHE)对 THP-1 巨噬细胞炎症反应的影响及其治疗痛风性关节炎(Gouty Arthritis, GA)的潜在机制,为临床用药提供科学依据。方法 采用网络药理学和分子对接预测 EHE 有效成分、作用靶点及核心通路;构建尿酸盐晶体(MSU)诱导的 THP-1 巨噬细胞体外 GA 模型。MTT 法检测细胞活力并计算半数抑制浓度(IC₅₀),确定安全给药浓度范围。实验设对照组、模型组、秋水仙碱 0.5 μM 组及 EHE 低、中、高浓度组(25 μg/mL, 50 μg/mL, 100 μg/mL),每组 3 个复孔。ELISA 检测细胞上清 IL-1β 水平;RT-qPCR 检测 PI3K、AKT、mTOR、IL-1β、TNF-α 及 NLRP3 的 mRNA 表达;Western Blot 检测 PI3K/AKT/mTOR 通路磷酸化水平及 NLRP3、p62 蛋白表达。结果 网络药理学分析显示,EHE 含 10 个有效成分,作用于 160 个靶点,与 GA 相关靶点交集 86 个,核心通路涉及 PI3K/AKT/mTOR 信号通路。细胞实验表明,与模型组比较,EHE 各浓度组均能显著抑制 IL-1β 分泌($P < 0.001$),下调 PI3K、AKT、mTOR、IL-1β、TNF-α 及 NLRP3 的 mRNA 表达($P < 0.05$),p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR、NLRP3 及自噬底物 p62 蛋白表达均降低($P < 0.05$),其中高浓度组(100 μg/mL)效果最显著($P < 0.01$)。结论 墨旱莲通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路激活自噬,促进 NLRP3 炎症小体降解,从而减少 IL-1β 成熟与释放,发挥抗痛风炎症作用。

关键词:墨旱莲;PI3K/AKT/mTOR 信号通路;痛风;网络药理学

中图分类号:R589.7 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2026)02-0222-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2026.02.011

Study on the therapeutic effects and mechanisms of *Ecliptae Herba* on gout

YIN Kang¹, JIN Li², TANG Min¹, TAO Jinhui³

1. The First Hospital of Anhui University of Science and Technology, Huainan 230022, Anhui, China;
2. Department of Rheumatology and Immunology, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China, Hefei 230041, Anhui, China;
3. Department of Allergy and Clinical Immunology, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China, Hefei 230041, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of *Ecliptae Herba* (EHE) on the inflammatory response in THP-1 macrophages and explore its potential mechanisms in treating gouty arthritis (GA), thereby providing a scientific basis for clinical medication. **Methods** Network pharmacology and molecular docking were employed to predict the active ingredients, targets, and core pathways of EHE. An in vitro GA model was established using THP-1-derived macrophages stimulated with monosodium urate (MSU) crystals. The MTT assay was utilized to assess cell viability and calculated the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) to determine the safe dosage range. The experiment was divided into control, model, colchicine 0.5 μM, and low-,

第一作者:殷康,在读硕士研究生,研究方向:风湿免疫系统疾病发病机制及治疗研究,E-mail:13033089730@163.com

通讯作者:陶金辉,博士,主任医师,研究方向:痛风的发病机制研究,E-mail:taojinhui@ustc.edu.cn

medium-, and high-concentration EHE groups (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), with three replicate wells per group. The level of IL-1 β in the cell supernatant was measured by ELISA. The mRNA expressions of PI3K, AKT, mTOR, IL-1 β , TNF- α , and NLRP3 were detected by RT-qPCR. The phosphorylation levels of the PI3K/AKT/mTOR pathway and the protein expressions of NLRP3 and p62 were examined by Western Blot. **Results** Network pharmacology analysis revealed that EHE contained 10 active ingredients, acted on 160 target sites, and had an intersection of 86 target sites with those related to GA. The core pathway involved the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Cellular experiments demonstrated that, compared with the model group, all EHE concentration groups significantly inhibited IL-1 β secretion ($P < 0.001$) and downregulated the mRNA expressions of PI3K, AKT, mTOR, IL-1 β , TNF- α , and NLRP3 ($P < 0.05$). The protein expressions of p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR, NLRP3, and the autophagy substrate p62 were also decreased ($P < 0.05$), with the most pronounced effect observed in the high-concentration group (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($P < 0.01$). **Conclusion** EHE exerts anti-gout inflammatory effects by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway to activate autophagy, promoting the degradation of NLRP3 inflammasomes, and thereby reducing the maturation and release of IL-1 β .

Key words: *Ecliptae Herba*; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway; gout; network pharmacology

痛风是一种嘌呤代谢紊乱及尿酸排泄减少导致体内尿酸盐晶体沉积关节处,进而导致的代谢性疾病,其发病被认为是与高尿酸血症和炎症反应密切相关^[1]。我国痛风的发病率自 1990 年到 2021 年间由 100.51/10 万人口上升至 216.47/10 万人口,患者数量呈现增加趋势^[2]。当尿酸盐晶体(MSU)被巨噬细胞识别并摄取后,可激活多种信号通路,如 Toll 样受体(TRL)信号通路、NOD 受体(NLRP3)信号通路、嘌呤受体(ATP-P2X7R)信号通路等,促使 NLRP3 炎症小体的活化^[3],成熟并释放 IL-1 β 炎症因子,介导细胞焦亡,最终扩大炎症级联反应。

目前常见的痛风药物均有不同程度的不良反应,严重的可导致人体黄疸^[4]、肠梗阻^[5]、急性肾衰竭^[6-7]等功能损害。现代医学利用对中药的研究,发现中药不仅可以缓解炎症、疼痛及调节免疫等功效,还能大大降低传统西药所带来的不良反应^[8-9]。中药墨旱莲(*Ecliptae Herba*, EHE)为菊科鳢肠属植物鳢肠的干燥地上部分,目前已被证实具有抑菌、护肝、调节免疫功能、抗炎等作用^[10],有研究发现墨旱莲可以缓解关节炎的炎症反应,但具体机制尚未明确^[11]。自噬作为近年来研究的热点,其在痛风发病中起到一定作用,通过下调自噬可以抑制 MSU 对 IL-1 β 的刺激作用,缓解痛风炎症反应^[12-13]。磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路作为影响自噬的经典途径,可以调控激活自噬体的形成^[14-15],并能有效地改善 NLRP3 炎症小体介导的痛风,抑制炎症的级联反应^[16]。本研究基于网络药理学的方法,预测药物治疗痛风的可能机制,并结合实验验证,为痛风的新药研发提供新的思路。

1 材料与试剂

1.1 材料 THP-1 细胞(编号:BNCC 337680),购自北京北纳创联生物技术研究院。

1.2 药物及试剂 墨旱莲(上海源叶生物科技有限公司,货号 B26054);秋水仙碱(北京索莱宝科技有限公司,货号 IC7670)。墨旱莲乙醇提取物的制备:20 g 墨旱莲用 70%乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,干燥后最终得到 473 mg 墨旱莲粉剂提取物,并溶于二甲基亚砜(DMSO)中配置母液,并于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 分装冷冻保存。尿酸盐晶体(上海美迪西生物医药股份有限公司,货号 HY-B2130A),称取 200 mg 粉末溶于磷酸盐缓冲盐溶液(PBS),配置成 20 mg/ml 浓度,并分装于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。RPMI 1640 培养液(海星生物,货号 GUSA-R117);PMA(上海美迪西生物医药股份有限公司,货号 HY-18739);DMSO(北京普西唐生物科技有限公司,货号 D10043);MTT 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号 M1020);IL-1 β 试剂盒(上海雅酶生物科技有限公司,货号 HJ060);高灵敏 cDNA 第一链合成试剂盒(北京华新康信,货号 BSB40M1);通用型实时荧光定量 PCR 预混试剂(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号 MH101);PI3K、AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR、NLRP3、GAPDH 兔单克隆抗体、辣根过氧化物酶 HRP 标记二抗山羊抗小鼠/兔 IgG(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号 R013028、R011234、R011470、M900010、R010732、P104959、LF211S、LF102);p-PI3K 抗体(Immunoway 公司,货号 YP0224);p62/SQSTM1 抗体(proteintech 公司,货号 18420-1-AP)。

1.3 仪器 实时聚合酶链式反应仪(广州如期生物技术有限公司);酶标检测仪(安捷伦公司);化学发光成像仪(苏州阿尔法生物实验器材有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 墨早莲的有效成分及靶点预测 通过在 TC-MSP(<https://tcmsp-e.com/>)检索墨早莲的有效活性成分及对应靶点^[17],药物口服生物利用度 OB 作为药代动力学中重要的参数之一,当 $OB \geq 30\%$ 时是被认定药物具有足够的口服吸收能力^[18],类药性 DL 则是通过 Tanimoto 系数计算并量化已知药物的结构相似性,计算得出 0.18 作为阈值可以有效筛选出药物发挥作用的潜力分子^[19],故后续对药物有效成分的筛选以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 当作检索条件。检索数据时间截止 2025 年 9 月 1 日。

2.1.2 痛风性关节炎疾病基因靶点获取及药物-疾病作用靶点网络构建 在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)数据库查找疾病基因靶点,利用“gouty arthritis”、“gout”等关键词检索疾病基因靶点,并剔除重复的靶点。将药物对应的靶点与疾病靶点取交集,绘制韦恩图展示药物-疾病之间的共同的靶点。最后再利用 Cytoscape v3.10.2 软件绘制成分-靶点-疾病网络图。

2.1.3 蛋白质互作(PPI)网络分析及其关键核心靶点获取 在 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>)中,将之前得到的药物-疾病共同靶点构建为 PPI 网络图,选择“Homo sapiens”物种,设定置信度阈值为 0.9。并用 Cytoscape v3.10.2 分析结果,计算度值(Degree)并以节点大小和颜色反映,最终获得核心靶点。

2.1.4 GO 和 KEGG 富集分析 将药物活性成分-疾病共同靶点导入 R Studio4.2.3 软件,并利用 R 语言进行 GO 和 KEGG 富集分析。

2.1.5 分子对接 将核心成分和核心靶点进行分子对接。从 TCMSp 数据库获得核心成分的 mol2 文件,从 RCSB-PDB 数据库中获得靶点的 pdb 文件,利用 AutoDock Tool 软件进行对接模拟,最后通过 Py-MOL 软件进行可视化展示。

2.2 细胞实验

2.2.1 造模、分组及给药 将对数生长的 THP-1 接种于 6 孔板中, 1×10^6 /孔,并加入 PMA,使终浓度为 100 ng/mL。待 24 h 细胞完全贴壁后,分为对照组、模型组、秋水仙碱 0.5 μ M 组、墨早莲低浓度组 25 μ g/mL、墨早莲中浓度组 50 μ g/mL 和墨早莲高浓度 100 μ g/mL 组。随后弃去上清,并加入等量培养液,除对照组其余组均加入 MSU 晶体悬浊液(终浓度 100 μ g/mL),构建体外痛风(GA)组。待 MSU 刺激 24 h 后,墨早莲药物组在模型组的基础上添加不同浓度的墨早莲,秋水仙碱组在模型组的基础上添加终浓度 0.5 μ M

秋水仙碱。

2.2.2 MTT 法检测墨早莲对 THP-1 巨噬细胞的毒性作用 按 2.2.1 中的细胞模型接种于 96 孔板,并设置不同浓度梯度(25 μ g/mL、50 μ g/mL、100 μ g/mL、200 μ g/mL、400 μ g/mL、800 μ g/mL、1 000 μ g/mL)墨早莲添加对应浓度的墨早莲溶液。药物加入 24 h 后吸出,并按 10 μ L MTT 和 90 μ L PRIM 1640 的比例加入每孔,于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱孵育 4 h,最后吸出 MTT 溶液,加入甲臞溶解液,于室温摇床 15 min,最后置于酶标仪 570 nm 波长检测每孔 OD 值,计算细胞存活率。

2.2.3 ELISA 实验检测细胞上清 IL-1 β 浓度 待细胞给药 24 h 后收集细胞液,500 g 离心,5 min 后去上清液,严格按照 ELISA IL-1 β 试剂盒说明书进行 IL-1 β 浓度测定。

2.2.4 RT-PCR 检测 PI3K/AKT/mTOR 通路相关基因及炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 以及 NLRP3 的 mRNA 表达 利用 Trizol 法提取细胞 RNA,并按照 cDNA 逆转录试剂盒逆转 cDNA,根据 PCR 试剂盒配置体系进行 PCR 扩增。RT-PCR 法检测 PI3K、AKT、mTOR、IL-1 β 、TNF- α 、NLRP3 mRNA 的相对表达情况,以 β actin 作为内参基因,利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各个基因 mRNA 的相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列(5'→3')
<i>βactin</i>	F: TGGCACCCAGCACAATGAA R: CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA
<i>PI3K</i>	F: TCCGCTGCTTTATCAGGTCG R: CGGCAGTTGTCTCTCTCAG
<i>AKT</i>	F: TGGACTACTGCACTCGGAGAA R: GTGCCGAAAAGGTCTTTCATGG
<i>mTOR</i>	F: GGCCAATGACCCAACATCTC R: CATGATGCGATGCTCGATGT
<i>NLRP3</i>	F: GCTGCCTGTTCTCATGGATTG R: AGAACTGAAAAGAGGCCCCCG
<i>IL-1β</i>	F: CGAATCTCCGACCACCACTA R: AGGGAAAGAAGGTGCTCAGG
<i>TNF-α</i>	F: CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG R: GAGGACCTGGGAGTAGATGAG

2.2.5 Western Blot 法检测细胞组织 PI3K、P-PI3K、AKT、P-AKT、mTOR、p-mTOR、p62、NLRP3 蛋白的表达 收取细胞组织,冰上裂解,加入蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂,测定蛋白浓度。预制电凝胶,于电泳液中进行蛋白上样,完成电泳、转膜、封闭,分割 PVDF 膜,分别加入一抗 [(GAPDH (1 : 10000); PI3K (1 : 1000); p-PI3K (1 : 1000); AKT (1 : 2000); p-AKT (1 : 2000); mTOR (1 : 1500); p-mTOR

(1 : 1500);NLRP3(1 : 1500);p62(1 : 2000)、二抗抗体(1 : 20000)],4 ℃ 过夜孵育。最后利用 ECL 试剂显影,获取图片后于 ImageJ 软件中进行蛋白质丰度分析。

2.3 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8 软件进行数据分析,正态分布计量资料数据均以($\bar{x} \pm s$)的形式表示。3 组及以上的多组间比较,若满足方差齐性检验,则采用单因素方差分析,并进一步使用 Tukey 事后检验进行组间两两比较。若方差不齐,则采用 Brown-Forstythe and Welch 方差分析,并进一步使用 Games-Howell 事后检验进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学分析结果

3.1.1 墨早莲的作用靶点 通过在 TCMSP 数据库检索,得到墨早莲有效活性成分 10 个,即蒙花苷、槲皮素、木犀草素、金合欢素、紫柳素、去甲蟛蜞菊内酯、红车轴草素、3'-O-甲基香豌豆苷元、蟛蜞菊内酯、1,3,8,9-四羟基苯并呋喃并[3,2-c]色烯-6-酮及 160 个作用靶点,见表 2。

表 2 墨早莲有效成分

化合物标识号	化合物化学名	分子量
MOL001790	蒙花苷	592.6
MOL001689	金合欢素	284.28
MOL002975	紫柳素	272.27
MOL003378	1,3,8,9-四羟基苯并呋喃并[3,2-c]色烯-6-酮	300.23
MOL003389	3'-O-甲基香豌豆苷元	300.28
MOL003398	红车轴草素	299.27
MOL003402	去甲蟛蜞菊内酯	302.25
MOL003404	蟛蜞菊内酯	314.26
MOL000006	木犀草素	286.25
MOL000098	槲皮素	302.25

3.1.2 痛风的作用靶点及药物-靶点-疾病作用靶点网络图 在 GeneCards 数据库中检索并剔除重复项,得到 3 388 个痛风相关靶点。将 1.2.1 与 1.2.2 中获得的药物作用靶点与疾病相关靶点取交集,利用韦恩图线上平台绘制韦恩图,共得到 86 个共同靶点,见图 1。并将药物活性成分及药物-疾病共同 86 个靶点基因以文件格式导入 Cytoscape 3.10.2 软件中,绘制药物-靶点-疾病网络图,见图 2。

3.1.3 PPI 网络及其关键核心靶点 将 3.1.2 中交集获得的靶点导入 STRING 数据库中,并借助 Cytoscape 3.10.2 软件绘制并美化 PPI 网络图。Degree 数值排名前 9 位的基因分别是 HSP90AA1、AKT1、MAPK1、TP53、TNF、CCL2、IL-1 β 、IL-6、RELA,这些可能是墨早莲治疗痛风的关键靶点,见图 3。

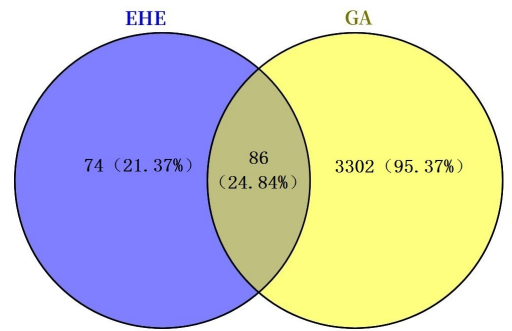


图 1 墨早莲-痛风靶点基因交集韦恩图

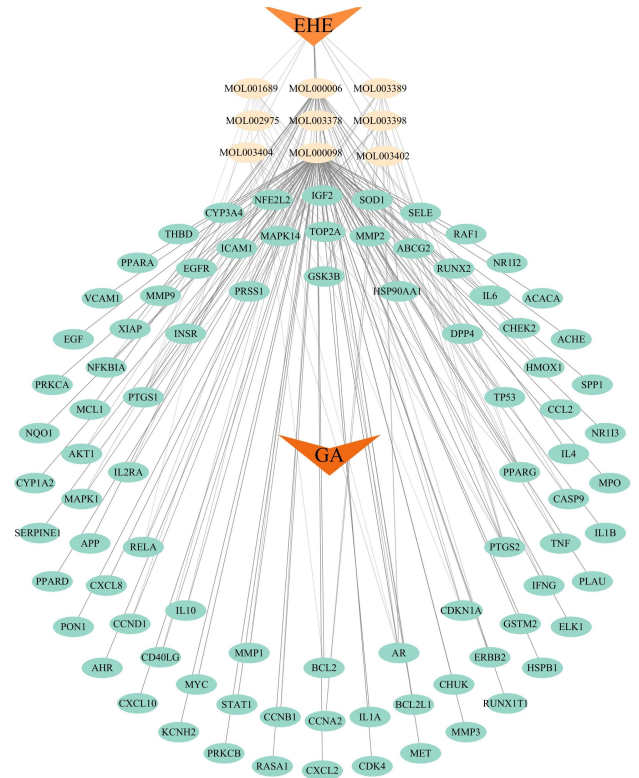
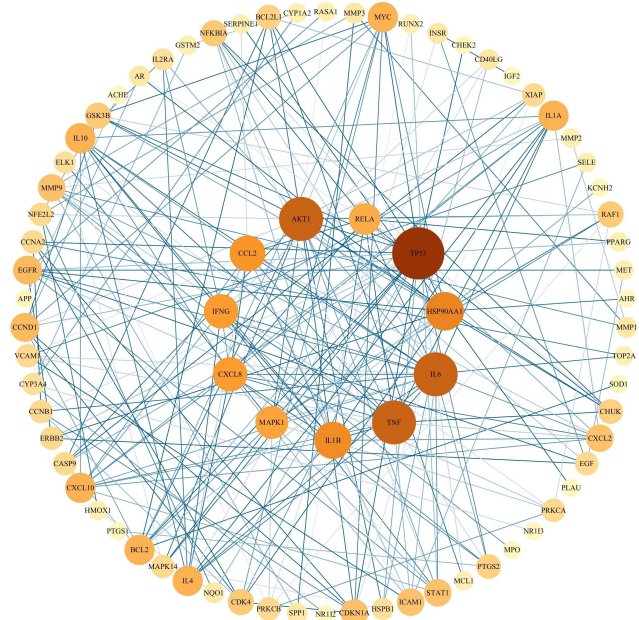


图 2 药物-靶点-疾病网络图



注:Degree 值越大,节点颜色越深越大

图 3 PPI 网络

3.1.4 KEGG 富集分析 将上述 86 个交集基因进行 KEGG 可视化分析, KEGG 结果提示主要涉及 PI3K/AKT 信号通路、糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路、NF- κ B 信号通路和 MAPK 信号通路等, 说明药物作用方式与炎症、细胞凋亡等通路有关, 见图 4。

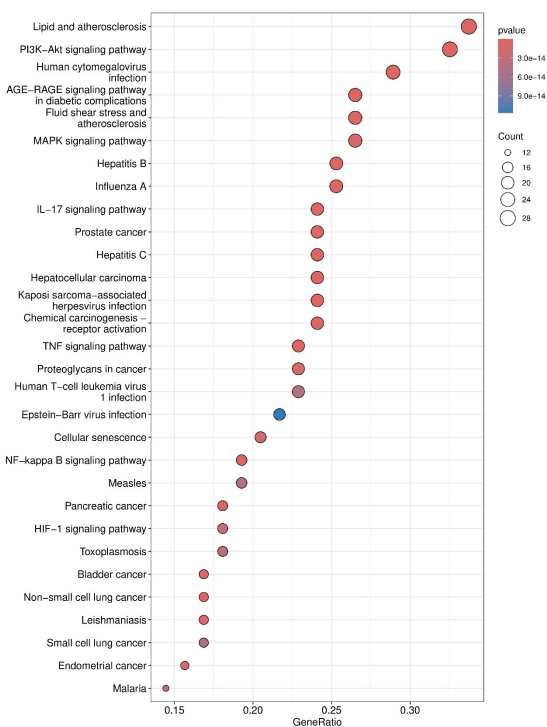


图 4 墨旱莲 KEGG 分析图

3.1.5 分子对接 根据 3.1.4 中 KEGG 结果提示, 药物作用最可能的通路与 PI3K/AKT 信号通路有关, 将 3.1.3 中分析得出的核心基因 TP53、AKT1、TNF、IL-6、IL-1 β 、RELA、CCL2、MAPK1、HSP90AA1 与 3.1.1 中药物活性成分进行分子对接。最终结果提示墨旱莲活性成分(金合欢素、木犀草素和槲皮素)与疾病核心基因的结合能均小于 -5 kJ/mol, 提示结合力良好。将上述疾病的关键基因再次筛选得到与墨旱莲活性成分更为密切的 4 个靶点: TP53、AKT1、TNF、IL-6, 见表 3。并进行可视化处理, 见图 5。

表 3 分子对接结果

靶点	活性成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
TP53	金合欢素	-6.2
	木犀草素	-6.2
AKT1	槲皮素	-6.3
	木犀草素	-6.3
TNF	槲皮素	-8.8
	木犀草素	-8.6
IL-6	槲皮素	-6.9
	木犀草素	-7.2

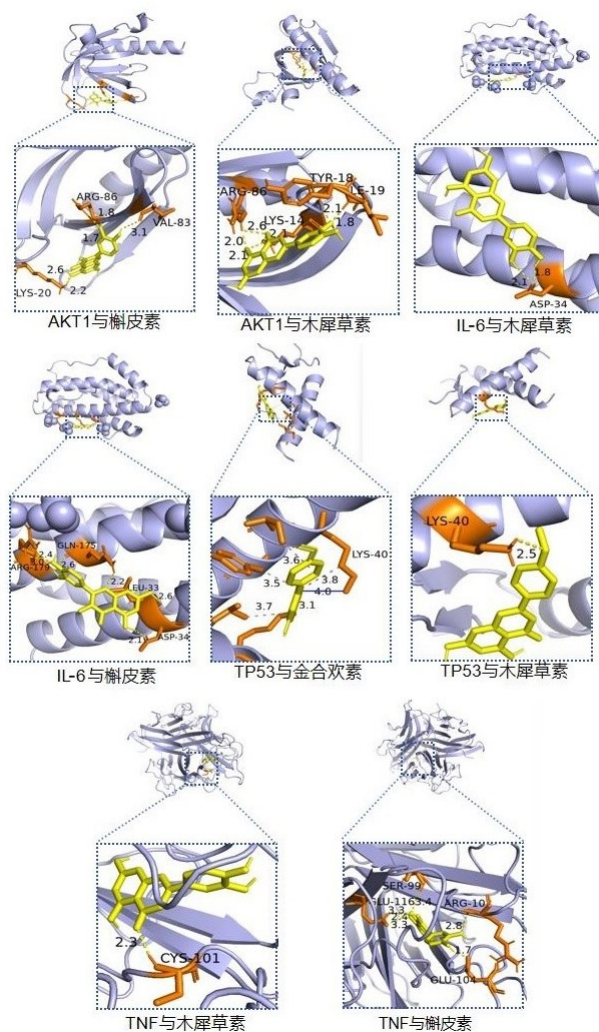
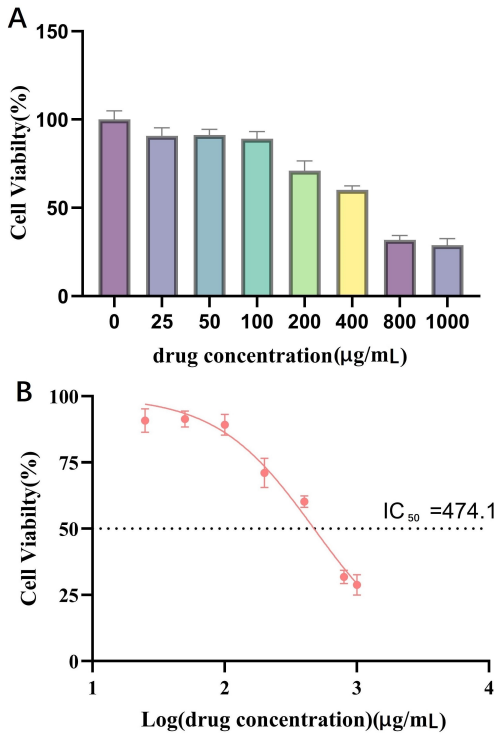


图 5 分子对接可视化结果

3.2 细胞实验结果

3.2.1 墨旱莲对 THP-1 巨噬细胞的毒性作用 如图 6A 所示, 随着药物浓度升高, 细胞存活率逐渐降低。利用拟合曲线公式计算药物半数抑制浓度(IC₅₀)值约为 474.1 μ g/mL(见图 6B)。IC₅₀ 值越高, 表明药物对细胞的安全性越高。这有利于后续细胞实验的开展。按照国际标准化组织 ISO 10993 所公认的体外毒性判定标准, 当细胞存活率低于 70% 时, 可认为样本具有细胞毒性^[20]。为确保后续实验过程中无细胞毒性, 并预留充足的安全余量, 本研究将细胞存活率 $\geq 80\%$ 的药物浓度设定为安全浓度。结果显示, 墨旱莲在 100 μ g/mL 及以下浓度时细胞存活率 $\geq 80\%$, 因此后续实验将药物浓度控制在 100 μ g/mL 及以下。

3.2.2 墨旱莲对 THP-1 源 GA 模型中 IL-1 β 炎症因子分泌的影响 与空白组比, 模型组的 IL-1 β 分泌显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比, 各药物治疗组能明显降低细胞 IL-1 β 的分泌 ($P < 0.01$), 见表 4。



注:A为不同墨早莲浓度(25~800 µg/mL)对巨噬细胞刺激24h后的细胞存活率图;B为拟合曲线及半数抑制浓度图。

图6 THP-1巨噬细胞细胞存活率及IC₅₀值

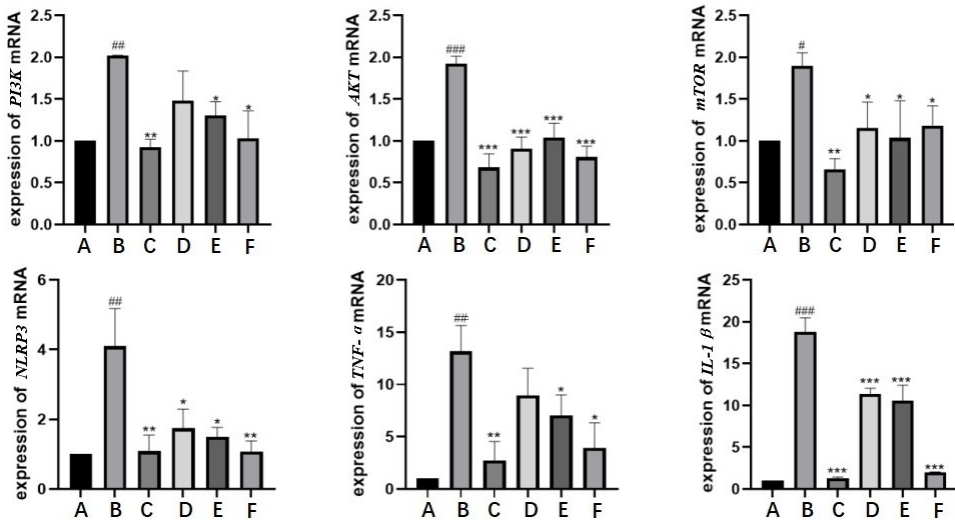
表4 墨早莲对THP-1源GA模型IL-1β分泌的影响

组别	n	IL-1β/(pg · mL ⁻¹)
对照组	3	26.43 ± 0.91
模型组	3	309.41 ± 8.30 ^a
秋水仙碱组	3	73.20 ± 1.41 ^b
墨早莲组/(µg · mL ⁻¹)		
25	3	156.08 ± 3.11 ^b
50	3	134.64 ± 1.40 ^b
100	3	139.78 ± 0.55 ^b

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。②与对照组比较, a: $P < 0.01$;与模型组比较, b: $P < 0.01$ 。

3.2.3 墨早莲对THP-1源GA模型中PI3K/AKT/mTOR信号通路及相关炎症因子mRNA表达的影响

图7显示,与对照组相比,模型组PI3K、AKT及mTOR的mRNA表达上调,IL-1β、TNF-α及NLRP3的mRNA表达升高($P < 0.05$)。秋水仙碱组及墨早莲各浓度组不仅可下调PI3K/AKT/mTOR通路关键基因的mRNA表达,还能降低IL-1β、TNF-α及NLRP3的mRNA表达,其中墨早莲高浓度组(EHE 100 µg/mL)对抑制炎症因子及炎症小体表达的效果最为显著($P < 0.05$)。



注:A为对照组;B为模型组;C为秋水仙碱0.5 µM组;D为墨早莲组25 µg/mL;E为墨早莲组50 µg/mL;

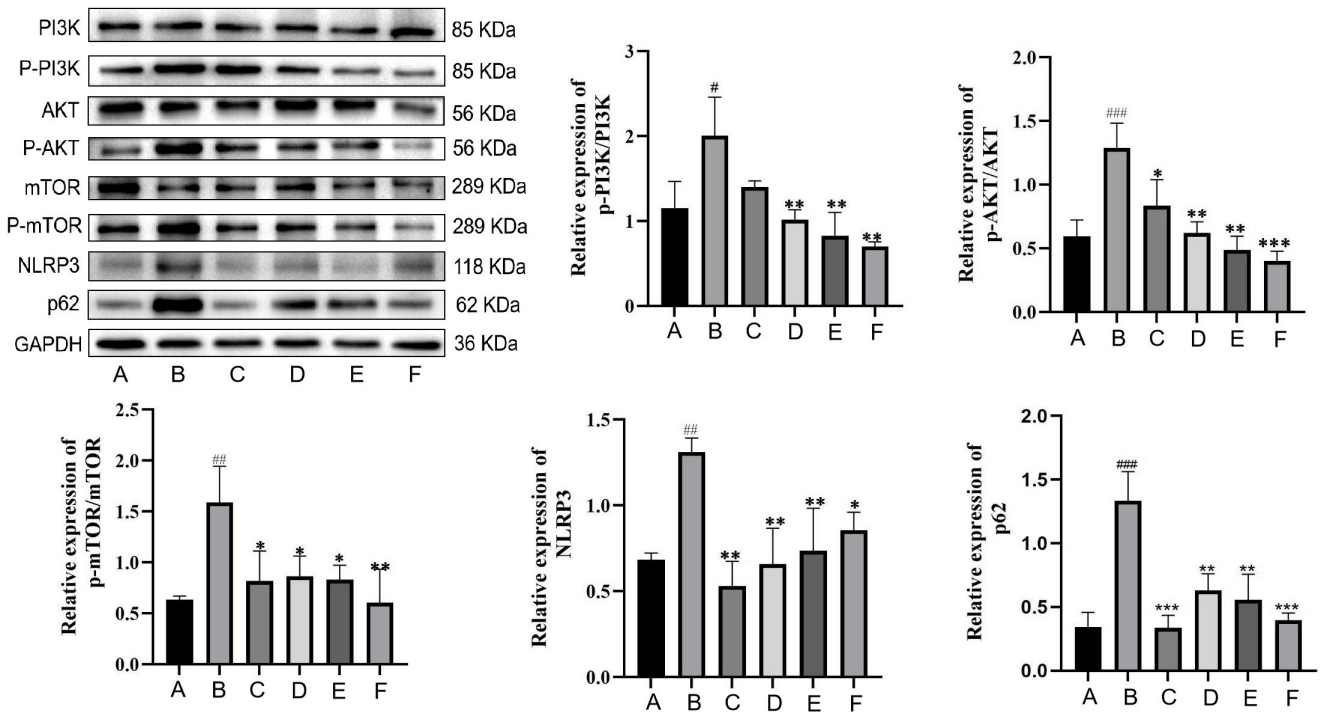
F为墨早莲组100 µg/mL。与对照组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$;

与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图7 各组PI3K、AKT、mTOR、NLRP3、TNF-α、IL-1β的mRNA表达

3.2.4 墨早莲对蛋白表达的影响 如图8所示,GA模型组中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR的比值、NLRP3蛋白及自噬底物p62蛋白的表达较对照组整体呈上升趋势($P < 0.05$);与模型组比较,秋水仙碱组及墨早莲各浓度组p-PI3K/PI3K、p-

AKT/AKT、p-mTOR/mTOR的比值、NLRP3蛋白及自噬底物p62蛋白表达均呈现降低趋势,其中墨早莲高浓度组(100 µg/mL)抑制通路磷酸化活化效果最明显($P < 0.01$),秋水仙碱对NLRP3蛋白表达抑制效果较墨早莲各治疗组更为显著($P < 0.05$)。



注: A 为对照组; B 为模型组; C 为秋水仙碱 0.5 μM 组; D 为墨早莲组 25 μg/mL; E 为墨早莲组 50 μg/mL;

F 为墨早莲组 100 μg/mL。与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$;

与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ 。

图 8 墨早莲干预 GA 模型细胞中 PI3K/AKT/mTOR 通路的蛋白表达情况

4 讨论

目前痛风的发病机制多与炎症反应密切相关, 当体内 MSU 晶体沉积时, 将会募集白细胞、巨噬细胞等, 诱导胞内的线粒体损伤并进一步导致活性氧堆积, 其中异常堆积的活性氧使硫氧还蛋白相互作用蛋白从氧化的硫氧还蛋白-1 解离并与 NLRP3 结合、激活, 导致大量炎症因子及趋化因子的释放^[21-22], 这些促炎信号再次被细胞识别, 通过 NLRP3 通路、NF-κB 通路、Toll 样受体通路等诱导细胞再次大量释放 IL-1β 等促炎因子, 最终扩大级联反应^[23]。

墨早莲作为一种常见的中药材, 包含了多种有效成分, 随着近年来现代医学对中药活性成分的不断研究, 槲皮素、木犀草素、蟛蜞菊内酯等均可有效缓解 GA 的炎症症状。相关研究表明, 槲皮素可以抑制 NLRP3/NF-κB 信号通路, 缓解关节炎的症状^[24]。在 GA 大鼠模型中, 木犀草素治疗组不仅可以减轻大鼠滑膜组织的炎性浸润, 还能通过抑制 Toll 受体表达影响炎症的扩大^[25]。在 NLRP3 炎症小体激活过程中, 蟛蜞菊内酯还能有效地干扰 ASC 蛋白的聚集, 从而抑制炎症小体的活化, 减轻 GA 炎症反应^[26]。PI3K/AKT/mTOR 作为经典的自噬通路, 调控细胞的存活、代谢、增殖和生长等正常生理过程。mTOR 作为此通路的下游效应分子, 其活化的 mTOR 复合体 1 (mTORC1) 可以磷酸化自噬相关的蛋白 ULK1 和

ATG13, 并抑制自噬体的形成^[27-28]。作为“清道夫”的自噬体, 可以清除受损的线粒体、ROS, 降解 NLRP3 和 ASC 等炎症小体组件^[29-30], 还能直接吞噬细胞内形成的 MSU 晶体, 减轻 MSU 对细胞的刺激, 并抑制 GA 发病中炎症小体的激活及炎症因子的释放, 从而达到调控疾病的进展。近年来, 随着自噬-炎症-痛风的关联受到越来越多的关注, 通过抑制自噬相关通路, 可以促进自噬流的激活, 继而影响自噬体对 NLRP3 介导的炎症反应^[31-32]。p62 作为自噬的特异性底物, 参与自噬过程的调控, 通过 UBA 结构域识别并结合被泛素化的“货物”(包括异常蛋白质、受损细胞器等), 再通过 LIR 结构域与自噬小体表面的 LC3“对接”, 确保这些底物被准确地运抵自噬小体并完成降解^[33]。当自噬正常的情况下, 细胞内的 p62 维持于较低的稳定水平, 当自噬受阻后, p62 的降解途径受阻, 会导致细胞内的大量堆积^[34]。

通过本实验结果表明, 墨早莲显著抑制了 PI3K/AKT/mTOR 通路的活化, p-PI3K、p-AKT 及关键节点 p-mTOR 蛋白表达的显著下调。mTOR 作为细胞能量和影响状态的核心调控因子, 同时也是自噬的关键负向调控枢纽, 当 p-mTOR/mTOR 比值的显著降低提示了 mTOR 的活性被有效抑制, 其失活会解除其对自噬启动复合物 ULK1 的抑制, 从而启动自噬的过程。此外, 自噬底物 p62 的蛋白水平明显下降, 其两者

变化都提示了药物成功激活了细胞的自噬流。另外,本实验发现了自噬激活与炎症抑制之间的关联。一方面,自噬被证实能够吞噬并降解活化的 NLRP3 炎症小体组件;另一方面,RT-qPCR 及 ELISA 结果显示,关键的炎症因子 IL-1 β 的转录水平及分泌水平均显著降低,这与 NLRP3 炎症小体活性的抑制相一致。结合以上结果,药物墨旱莲通过 PI3K/AKT/mTOR 信号轴,解除 mTOR 对自噬的抑制,同时增强的自噬活性通过对 NLRP3 炎症小体的降解,最终抑制下游 IL-1 β 的成熟与释放。

以上的网络药理学分析及实验结果初步探讨了墨旱莲对痛风的作用机制及治疗效果,也提示了自噬与炎症的交叉关系,但本研究仍存在一定局限性。虽基于 THP-1 细胞构建的体外模型,但无法完全复现体内复杂的免疫微环境之间的相互作用,另外药物在体内的循环代谢、药物口服利用度及对整个机体的效应性均无法在细胞层面上得以证实,后续仍需通过动物实验进一步验证,以便更深层次地理解墨旱莲在体内环境治疗痛风的疗效及作用机制。

参考文献:

- [1] TIAN X C, ZENG G X, WEI J P. Systemic inflammation response index association with gout in hyperuricemic adults; NHANES 2007 – 2018 [J]. *Front Med*, 2025, 11: 1490655.
- [2] 魏建全,李旭伟,钱治,等. 1990—2021 年全球、中国及不同社会人口学指数地区痛风的疾病负担分析及预测研究 [J]. *疾病监测*, 2025, 40(6): 795-800.
- [3] LIU J, LIU G, CHU T, et al. The progress of immune cells-induced inflammatory response in gout [J]. *Curr Pharm Des*, 2025, 31(31): 2465-2480.
- [4] LIN J, BRAXTON D, FONG T L. Febuxostat-induced hepatocellular injury [J]. *BMJ Case Rep*, 2025, 18(8): e266332.
- [5] FINKELSTEIN Y, AKS S E, HUTSON J R, et al. Colchicine poisoning: the dark side of an ancient drug [J]. *Clin Toxicol (Phila)*, 2010, 48(5): 407-414.
- [6] KHAN B, NEWTON L. E029 Allopurinol-induced drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) syndrome complicated by acute renal failure [J]. *Rheumatology*, 2019, 58 (Supplement_3): kez110, 028.
- [7] 赵春艳,郭彦聪. 超剂量苯溴马隆致急性肾衰竭一例报告 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2020, 20(6): 524-526.
- [8] 章晓云,曾浩,李华南,等. 痛风性关节炎的发病机制及中医药治疗研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(11): 256-267.
- [9] 尤元梅,袁松,高学宇,等. 痛风康联合中药外敷治疗湿热蕴结型痛风性关节炎 [J]. *右江民族医学院学报*, 2024, 46(6): 977-981.
- [10] 焦广洋,李澍坤,邓易,等. 墨旱莲及其化学成分的药理作用、体内代谢及质量控制研究进展 [J]. *药学研究*, 2021, 40(10): 673-677, 683.
- [11] KAMBOJ A, MALHOTRA H, MUKHIJA H, et al. Evaluation of the potential anti-arthritic effects and evaluation of acute oral toxicity of the active fraction of *Eclipta prostrata* leaves in rat model [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2025, 27(4): 591-614.
- [12] CHEN Z L, GUO Q, ZHANG Y Z, et al. A systems immunology perspective on gout pathogenesis and its precision-targeted treatment strategies [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1615914.
- [13] CHEN Y H, CHEN W Y, YU C L, et al. Gouty arthritis involves impairment of autophagic degradation via cathepsin D inactivation-mediated lysosomal dysfunction that promotes apoptosis in macrophages [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2023, 1869(6): 166703.
- [14] NAVANEETHAN R D, PACKIA LEKSHMI N C J, RAMAIAH M, et al. *Caralluma pauciflora* based Ag-NPs activate ROS-induced apoptosis through down-regulation of AKT, mTOR and p13K signaling in human gastric cancer (AGS) cells [J]. *Nanotechnology*, 2024, 35(19). DOI: 10.1088/1361-6528/ad26d9.
- [15] LIU J F, SU G, CHEN L X, et al. Irisin attenuates apoptosis following ischemia-reperfusion injury through improved mitochondria dynamics and ROS suppression mediated through the PI3K/Akt/mTOR axis [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60(8): 4261-4272.
- [16] LOU D X, ZHANG X G, JIANG C H, et al. 3 β , 23-dihydroxy-12-ene-28-ursolic acid isolated from *Cyclocarya paliurus* alleviates NLRP3 inflammasome-mediated gout via PI3K-AKT-mTOR-dependent autophagy [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 5541232.
- [17] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [18] VEBER D F, JOHNSON S R, CHENG H Y, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(12): 2615-2623.
- [19] BENDER A, GLEN R C. Molecular similarity: a key technique in molecular informatics [J]. *Org Biomol Chem*, 2004, 2(22): 3204-3218.
- [20] KANĎÁROVÁ H, PŮBIŠ P. The “Big Three” in biocompatibility testing of medical devices: implementation of alternatives to animal experimentation—are we there yet? [J]. *Front Toxicol*, 2023, 5: 1337468.
- [21] ABDERRAZAK A, SYROVETS T, COUCHIE D, et al. NLRP3 inflammasome: from a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases [J]. *Redox Biol*, 2015, 4: 296-307.

- [22] HOLLEY C L, SCHRODER K. The rOX-stars of inflammation: links between the inflammasome and mitochondrial meltdown[J]. *Clin Transl Immunology*, 2020, 9(2): e01109.
- [23] GALOZZI P, BINDOLI S, DORIA A, et al. Autoinflammatory features in gouty arthritis[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(9): 1880.
- [24] MENG Q L, SONG C Y, MA J F, et al. Quercetin prevents hyperuricemia associated with gouty arthritis by inactivating the NLRP3/NF- κ B signaling pathway[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2025, 105(4): e70103.
- [25] 沈瑞明, 马丽辉, 郑颜萍. 木犀草素通过 TLR/MyD88/NF- κ B 通路参与急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2020, 45(2): 115-122.
- [26] 林雨晴. 螞蟥菊内酯抑制 NLRP3 炎症小体活化和细胞焦亡发挥抗炎作用的机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [27] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(8): 560-575.
- [28] WANG J, ZHANG Y, CAO J, et al. The role of autophagy in bone metabolism and clinical significance[J]. *Autophagy*, 2023, 19(9): 2409-2427.
- [29] YUAN W, LIU T, WANG Y Y, et al. Autophagy induced by PP121 alleviates MSU crystal-induced acute gouty arthritis via inhibition of the NLRP3 inflammasome[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 123: 110756.
- [30] TAKAHAMA M, AKIRA S, SAITOH T. Autophagy limits activation of the inflammasomes[J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1): 62-73.
- [31] ZHANG C, SONG Y Y, CHEN L, et al. Urolithin A attenuates hyperuricemic nephropathy in fructose-fed mice by impairing STING-NLRP3 axis-mediated inflammatory response via restoration of parkin-dependent mitophagy[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 907209.
- [32] ZHOU J B, WANG C X, ZHANG X M, et al. Shizhifang ameliorates pyroptosis of renal tubular epithelial cells in hyperuricemia through inhibiting NLRP3 inflammasome[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116777.
- [33] YOU Z Y, JIANG W X, QIN L Y, et al. Requirement for p62 acetylation in the aggregation of ubiquitylated proteins under nutrient stress[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5792.
- [34] XIAO S, YU Y P, LIAO M, et al. Post-translational modification of p62: roles and regulations in autophagy[J]. *Cells*, 2025, 14(13): 1016.

收稿日期: 2025-10-30; 修回日期: 2025-12-08

(本文编辑 钟琳)

(上接第 200 页)

- [15] OBEAGU E I. Stress, neutrophils, and immunity: a dynamic interplay[J]. *Ann Med Surg*, 2025, 87(6): 3573-3585.
- [16] STRAUB R H, HERFARTH H, FALK W, et al. Uncoupling of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in inflammatory bowel disease? [J]. *J Neuroimmunol*, 2002, 126(1/2): 116-125.
- [17] NALEPA I F, NIELSEN V, WOLF T E, et al. Sex differences in the murine HPA axis after acute and repeated restraint stress [J]. *Stress*, 2025, 28(1): 2447079.
- [18] SÖDERHOLM J D, YANG P C, CEPONIS P, et al. Chronic stress induces mast cell-dependent bacterial adherence and initiates mucosal inflammation in rat intestine[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(4): 1099-1108.
- [19] MOSTAFA A F, ELALFY M M, SHATA A, et al. Prophylactic effect of aquatic extract of Stevia on acetic acid induced-ulcerative colitis in male rats: a possible role of Nrf2 and PPAR γ [J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2020, 32(6): 1093-1104.
- [20] BARITAKI S, DE BREE E, CHATZAKI E, et al. Chronic stress, inflammation, and colon cancer: a CRH system-driven molecular crosstalk[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(10): 1669.
- [21] LIU Z H, CHEN S, YU J H, et al. "Golden Cicada-escape" style colon-targeted pellets for ulcerative colitis by balancing oxidative stress and repairing colonic barrier[J]. *Mater Today Bio*, 2025, 35: 102608.
- [22] FRANCHIN M, SALIBA ASMC, DOS SANTOS RAMOS A, et al. Alginate-based microcapsules loaded with Brazilian green propolis decrease reactive oxygen species production, reduce inflammatory cytokines, and mitigate intestinal inflammation[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 310(Pt 4): 143357.
- [23] ALOTIBY A. Immunology of stress: a review article [J]. *J Clin Med*, 2024, 13(21): 6394.
- [24] FENG B C, LIN L, LI L X, et al. Glucocorticoid induced group 2 innate lymphoid cell overactivation exacerbates experimental colitis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 863034.
- [25] RENNER V, SCHELLONG J, BORNSTEIN S, et al. Stress-induced pro- and anti-inflammatory cytokine concentrations in female PTSD and depressive patients[J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1): 158.

收稿日期: 2025-11-15; 修回日期: 2026-01-10

(本文编辑 钟琳)