



基于网络药理学和试验验证分析小檗碱 抗金黄色葡萄球菌感染的分子机制

温馨^{1,2,3,4}, 李永帅^{1,2,3,4}, 汪陆宇¹, 赵研^{1,2,3,4}, 孙静文^{1,2,3,4}, 史慧君^{1,2,3,4},
付强^{1,2,3,4}, 杨莉^{1,2,3,4*}

(1. 新疆农业大学动物医学学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 农业农村部动物疫病乌鲁木齐野外科学观测研究站, 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆草食动物新药研究与创制重点实验室, 乌鲁木齐 830052;
4. 新疆动物临床医学研究重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘要: 本研究旨在探究小檗碱(berberine, BBR)抗金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)感染的作用靶点及分子机制。首先基于网络药理学筛选 BBR 与 *S. aureus* 感染的共同靶点; 构建 PPI 网络并进行 GO/KEGG 富集分析; 通过分子对接验证 BBR 与核心靶点的结合活性; 通过构建小鼠感染模型, 利用组织切片观察肝脏和脾脏的病理变化, 并通过 qPCR 验证筛选靶标基因的 mRNA 的表达量。结果表明: 1) 成功筛选出 BBR 与 *S. aureus* 之间共有 109 个交集靶点, 通过网络药理学的分析最终获得了 251 个 GO 条目和 62 个 KEGG 条目, 主要富集在 MAPK、PI3K-Akt、GnRH 等通路上, 分子对接结果显示, BBR 与交集靶点中 Casp3 和 Jun 等 6 个蛋白具有较好的结合能; 2) BBR 可缓解 *S. aureus* 的感染引起的肝脏组织病变; 同时可显著上调小鼠肝脏中 Casp3 mRNA 的转录量, Jun mRNA 的转录量。综上所述, 本研究初步筛选出 BBR 发挥抗 *S. aureus* 的潜在靶点为 Casp3 和 Jun, 同时构建 *S. aureus* 感染小鼠模型, 进一步证实 BBR 可通过调控 Casp3 和 Jun 的 mRNA 转录, 缓解肝和脾的病变, 本研究结果为 BBR 抗 *S. aureus* 感染药物的开发和应用提供理论依据。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 小檗碱; 网络药理学; 分子对接; 动物试验

中图分类号: S853.74

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)01-0513-13

To Analyze the Mechanism of Berberine against *Staphylococcus aureus* Infection Based on Network Pharmacology and Experimental Verification

WEN Xin^{1,2,3,4}, LI Yongshuai^{1,2,3,4}, WANG Luyu¹, ZHAO Yan^{1,2,3,4}, SUN Jingwen^{1,2,3,4},
SHI Huijun^{1,2,3,4}, FU Qiang^{1,2,3,4}, YANG Li^{1,2,3,4*}

(1. College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;
2. Urumqi Field Scientific Observation and Research Station for Animal Diseases, Ministry of
Agriculture and Rural Affairs, Urumqi 830052, China; 3. Xinjiang Key Laboratory of New Drug
Research and Development for Herbivorous, Urumqi 830052, China; 4. Xinjiang Regional Key
Laboratory of Clinical Veterinary Medicine Research, Urumqi 830052, China)

收稿日期: 2024-12-23

基金项目: 国家自然科学基金(32560875; 32260902); 自治区天山创新团队计划项目(2025D14006); 新疆维吾尔自治区天山人才青年拔尖工程项目(2023TSYCQNTJ0022); 自治区重大科技专项项目(2023A02007-2); 自治区重点研发项目(2024B02011); 中央政府引导地方科技发展专项基金项目(ZYYD2024CG01)

作者简介: 温馨, 硕士生, 主要从事兽医药理学研究, E-mail: 1090798346@qq.com; 李永帅, 硕士生, 主要从事兽医药理学研究, E-mail: 1485447034@qq.com; 温馨和李永帅为同等贡献作者

* 通信作者: 杨莉, 主要从事兽医药理学研究, E-mail: 563289492@qq.com

Abstract: The aim of this study was to investigate the target and molecular mechanism of action of berberine (BBR) against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) infection. This experiment first screened common targets of BBR and *S. aureus* infection based on network pharmacology, constructed a PPI network, and performed GO/KEGG enrichment analysis. The binding activity of BBR and core targets was verified through molecular docking. Finally, a mouse infection model was constructed to observe pathological changes in the liver and spleen using tissue sections, and qPCR was used to validate the expression levels of the selected target genes' mRNA. The results showed that: 1) A total of 109 common target points between BBR and *S. aureus* were successfully screened. Through network pharmacology analysis, 251 GO entries and 62 KEGG entries were ultimately obtained, mainly enriched in the MAPK, PI3K-Akt, and GnRH pathways. Molecular docking results showed that BBR had good binding energy with six proteins, including Casp3 and Jun, among the intersection targets. 2) BBR can alleviate liver tissue lesions caused by *S. aureus* infection; at the same time, it can significantly upregulate the expression of *Casp3* mRNA and *Jun* mRNA in mouse liver. In summary, this study preliminarily identified Casp3 and Jun as potential targets for BBR's anti-*S. aureus* activity. Additionally, a mouse model of *S. aureus* infection was established to further confirm that BBR can alleviate liver and spleen lesions by regulating the mRNA expression of *Casp3* and *Jun*. The findings of this study provide a theoretical basis for the development and application of BBR as an anti-*S. aureus* infection drug.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; berberine; network pharmacology; molecular docking; animal testing

* **Corresponding author:** YANG Li, E-mail: 563289492@qq.com

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 是一种革兰阳性菌, 该菌可通过皮肤、呼吸道、血液和伤口等途径感染宿主, 引发乳房炎、心肌炎、脓疮等多种疾病^[1], 是危害较为严重的人兽共患病之一^[2]。

目前, 针对 *S. aureus* 感染的临床治疗仍以抗生素为主^[3]。然而随着抗生素的滥用, 多重耐药 *S. aureus* (multi-drug resistant *S. aureus*, MDRSA) 的出现愈加频繁, 致使该病原菌的临床防控面临严峻挑战^[4]。小檗碱 (berberine, BBR), 俗称黄连素, 是从中药黄连中提炼出的异喹啉型生物碱, 具有广泛的药理活性^[5], 有研究表明 BBR 对 *S. aureus* 具有显著的体外抑菌效果^[6], 并能缓解 *S. aureus* 引发的炎症反应^[7], 但其在机体中抗炎的确切靶点及抗炎机制尚不明确。

基于此, 本研究以网络药理学、分子对接技术结合生物信息学, 系统解析 BBR 抗 *S. aureus* 感染的潜在生物过程和关键信号通路, 再经动物试验进一步验证 BBR 的作用靶点和分子机制。不仅阐明 BBR 抗 *S. aureus* 感染的药理机制提供理论依据, 也

为开发新型抗 *S. aureus* 感染药物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 BBR 作用靶点的获取与收集 通过中药系统药理学数据库 (TCMSP, <https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>), 输入关键词“Berberine”, 检索生物利用度 (OB) ≥ 0.3 且类药性 (DL) ≥ 0.18 的有效成分及其相关靶点, 利用 PubChem 数据库“3D Conformer”模块获取 BBR 三维结构, 导入 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 预测潜在靶点。

1.1.2 *S. aureus* 靶点的获取与收集 利用 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>), 以“*Staphylococcus aureus*”“*S. aureus* drug targets”“*S. aureus* toxin genes”为关键词搜索, 得到 *S. aureus* 潜在核心靶点, 筛除重复靶点, 构建 *S. aureus* 靶点的数据库。

1.1.3 BBR 与 *S. aureus* 共同靶点的获取与收集 将预测出来的 BBR 的潜在靶点与预测出的 *S.*

aureus 的靶点导入在线工具 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 进行对比分析,获取出 BBR 与 *S. aureus* 之间的交集靶点,其被视为后续研究重要的潜在靶点。

1.1.4 PPI网络的构建及核心靶点的筛选 导入 BBR 与 *S. aureus* 交集的靶点,利用 STRING 数据库进行蛋白相互作用网络的分析,构建相关靶蛋白 PPI网络^[8]。

1.1.5 GO和KEGG富集分析 使用 DAVID 数据库将 BBR 和 *S. aureus* 的交集靶点导入,设定 $P < 0.05$ 为阈值,以 Count 值中作为标准进行排序,以得出 GO 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析的结果^[8]。

1.1.6 分子对接 通过 PubChem 数据库获取 BBR 分子结构,经 PyMol 软件预处理受体和配体,用 Autodock(4.2.6)软件进行分子对接分析,计算出 BBR 与目标蛋白之间的最低结合能,同时对数据可视化处理以展示 BBR 与 *S. aureus* 的相互作用模式。

1.2 动物试验

1.2.1 材料与仪器 小檗碱(编号 110713),购自中国食品药品检定研究院;羊源 *S. aureus* XJ-2023-S3 由新疆农业大学动物医学学院药学实验室分离;脑心浸液培养基(BHI),购自青岛海博生物技术有限公司;RT EasyTM[®] 反转录试剂盒、SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒均购自成都福际生物技术有限公司;6~8 周龄雄性 SPF 级昆明小鼠购自新疆医科大学动物实验中心。

荧光定量 PCR 仪 (ForeAmp-SN695), 购自 Molecular 公司;4℃ 高速离心机 (Micro 12R), 购自 Eppendorf 公司。

1.2.2 菌液的制备 *S. aureus* 活化,按 MOI=1:100 将菌液接种在 BHI 培养基中,将菌液置于 37℃、180 r·min⁻¹ 的摇床中过夜培养。活化后以 3% 的比例接种至 1.5 mL 的 BHI 培养基中,继续培养 5~8 h^[9]。菌液以 11 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,生理盐水洗涤混匀,重复三次,加 1.5 mL 生理盐水使浓度约为 10⁹ cfu·mL⁻¹。依实验室前期半数致死量设攻毒剂量为 10⁷ cfu·mL⁻¹,并用平板计数法确定浓度。

1.2.3 BBR 的制备 根据前期试验结果和文献报道,攻毒组和治疗组的 BBR 灌胃剂量为 50 mg·kg⁻¹^[10]。称取足量 BBR 于无菌牛津瓶,加入生理盐水,65℃

磁力搅拌融化,并分装到无菌 EP 管备用。

1.2.4 动物分组及处理 12 只 SPF 级雄性昆明小鼠,体重 21 g±2 g,于新疆农业大学实验动物管理中心饲养,环境温度 22℃±2℃、湿度 40%~60%,所有动物处理和试验程序均经新疆农业大学伦理委员会批准。适应性饲养 3 d 后,随机分为 3 组,每组 4 只,空白组(NC)、攻毒组(MC)、治疗组(BBR-MC)。因前期预试验显示给药组与对照组的产性能、脏器指数无显著差异,故未设单独给药组。前 7 d,BBR-MC 组灌胃 BBR,NC 和 MC 组灌胃生理盐水;第 8~10 天,MC 组和 BBR-MC 组腹腔注射 0.5 mL 浓度 10⁷ cfu·mL⁻¹ 的菌液,NC 组注射等量生理盐水。第 11 天记录小鼠终体重后安乐死,采集脏器称重并计算脏器指数(器官质量/体质量×100%),取肝脏、脾脏制作病理切片。

1.2.5 荧光定量 PCR 采集小鼠肝脏和脾脏,分别提取组织 RNA 进行荧光定量 PCR 检测相关基因的表达水平。引物由新疆有康生物科技有限公司合成,见表 1。

1.2.6 数据统计与分析 用 GraphPad Prism 9.0.2 软件分析数据,采用单因素方差分析及 Tukey 事后检验。结果以“平均值±标准误($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)”表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结 果

2.1 网络药理学分析

2.1.1 获取交集靶点 如图 1,预测得到 BBR 靶点 302 个,并获取到 *S. aureus* 靶点 3 124 个。通过使用 Venny 2.1.0 工具分析,获得 BBR 与 *S. aureus* 共有 109 个交集靶点。

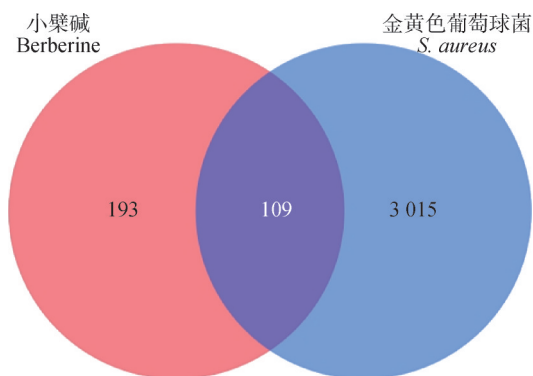
2.1.2 GO 与 KEGG 富集分析 如图 2 所示,GO 富集分析结果得出生物过程(BP)方面涵盖了 171 条条目,主要涉及 pri-miRNA 转录的正调控、蛋白质水解以及胶原蛋白的分解、代谢等关键生物活动;在细胞组分(CC)方面,发现 26 条条目,主要与染色质、RNA 聚合酶 II 转录因子复合物和核质等细胞结构相关;在分子功能(MF)方面,获得 54 条条目,主要涉及细胞周期蛋白结合、酶结合以及丝氨酸型内肽酶活性等分子层面的功能。

如图 3 所示,KEGG 富集分析结果筛选出 62 条信号通路。BBR 可能的作用靶点与 MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、GnRH 信号通路、HIF-1 信号通路等紧密相关。

表1 引物序列

Table1 Primer sequence

基因 Gene	登录号 GenBank ID	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物长度/bp Product length
<i>Jun</i> -F	NM_010591.2	GCACATCACCCTACACCGA	127
<i>Jun</i> -R		GGGAAGCGTGTCTGGCTAT	
<i>Cdkn1a</i> -F	NM_007669.5	AGTGTGCCGTTGTCTCTTCG	147
<i>Cdkn1a</i> -R		CAGACGAAGTTGCCCTCCAG	
<i>Esr1</i> -F	NM_001302531.1	GGTGCCCTACTACCTGGAGA	188
<i>Esr1</i> -R		CATTGCACACGGCACAGTAG	
<i>Src</i> -F	NM_001025395.3	CGGTTACATCCCCAGCAACT	198
<i>Src</i> -R		TTGGCATTGTCTGAAGTCGGA	
<i>Trp53</i> -F	NM_001127233.1	TGGAGGAGTCACAGTCGGAT	117
<i>Trp53</i> -R		CGTCCATGCAGTGAGGTGAT	
<i>Casp3</i> -F	NM_001284409.1	CTTCCATAAGAGCACTGGAATGT	183
<i>Casp3</i> -R		ACAAAGCTGCTCCTTTTGCTATG	
<i>GAPDH</i> -F	NM_002046	GAAGGTCGGTGTGAACGGAT	233
<i>GAPDH</i> -R		CTCGCTCCTGGAAGATGGTG	

图1 小檗碱和 *S. aureus* 共同靶点的韦恩图Fig.1 Venny diagram of the common target of berberine and *S. aureus*

2.1.3 构建 PPI 网络及其可视化分析 使用 STRING 数据库获取 BBR 与 *S. aureus* 的共同靶点共 109 个。通过 Cytoscape 分析器,计算出网络中每个节点的拓扑特性,筛选出 *Cdk4*、*Trp53*、*Jun*、*Esr1*、*Src*、*Cdkn1a*、*Cdk1*、*Anxa5*、*Ccna2* 及 *Casp3* 共 10 个关键基因,见图 4。药物与疾病靶点的 PPI 网络图,见图 5。

2.1.4 BBR 核心靶点与 *S. aureus* 的分子对接结果显示,BBR 与 *Trp53*、*Casp3*、*Cdkn1a*、*Esr1*、*Jun* 和 *Src* 这 6 个核心靶点之间存在显著且紧密的结合关系。当结合能均低于 $-5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$,可充分验证相互作用的可靠性,分子对接数据均有效验证了 BBR 的活性成分与 *S. aureus* 核心靶点之间相互作

用的可靠性,见表 2。

分子对接结果见图 6,显示 BBR 分子与不同蛋白的特定氨基酸残基之间展现了显著的疏水相互作用。结果表明 6 种核心靶点与 BBR 均具有较好的结合活性且具有较强的结构稳定性。

2.2 *S. aureus* 感染小鼠模型的建立

2.2.1 BBR 对小鼠体质量和脏器指数的影响

试验过程中 NC 组小鼠数量一直 4 只保持不变;MC 组小鼠在前 7 d 预防处理时数量不变,3 d 攻毒后死亡 3 只,存活 1 只;MC-BBR 组小鼠在前 7 d 预防处理时数量不变,3 d 攻毒后死亡 1 只,存活 3 只。

由表 3 可知,在小鼠攻毒模型建立 10 d 后,NC 组小鼠的体重增加了 3.98 g;MC 组小鼠体重较攻毒前减轻了 1.59 g;接受 7 d 预防处理的 BBR-MC 组中,小鼠的体重基本保持稳定。随后 3 d,MC 组小鼠的体重下降 1.59 g,结果表明 *S. aureus* 可对小鼠的体重产生负面影响。

MC 组小鼠的肝指数和脾指数与 NC 组相比均有升高。动物感染 *S. aureus* 后,多个脏器会出现显著的病理变化,其中肝和脾的病理变化最为明显。研究发现 *S. aureus* 感染小鼠后肝脏和脾脏均有明显的炎症浸润、坏死和脓肿形成,其病理变化提示严重的病理损伤^[11-13]。

2.2.2 BBR 减轻肝脏病理损伤 结果见图 7,3 组小鼠肝脏组织内均有淤血,可能是由于处死时

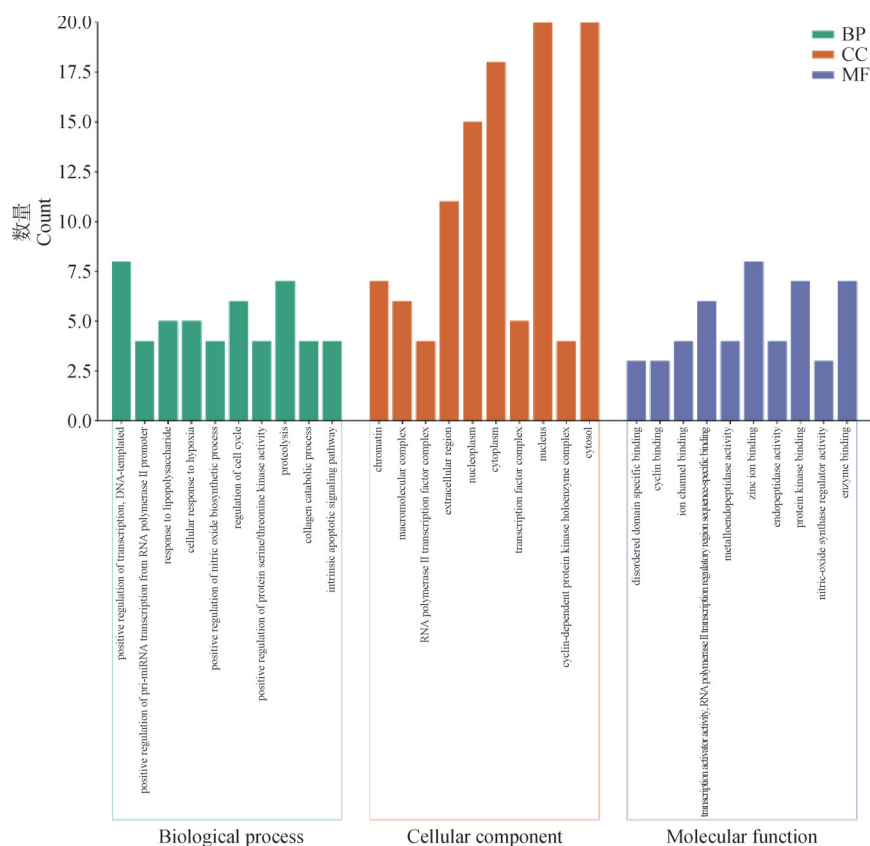


图2 核心靶点 GO 功能富集分析

Fig. 2 GO functional enrichment analysis of core targets

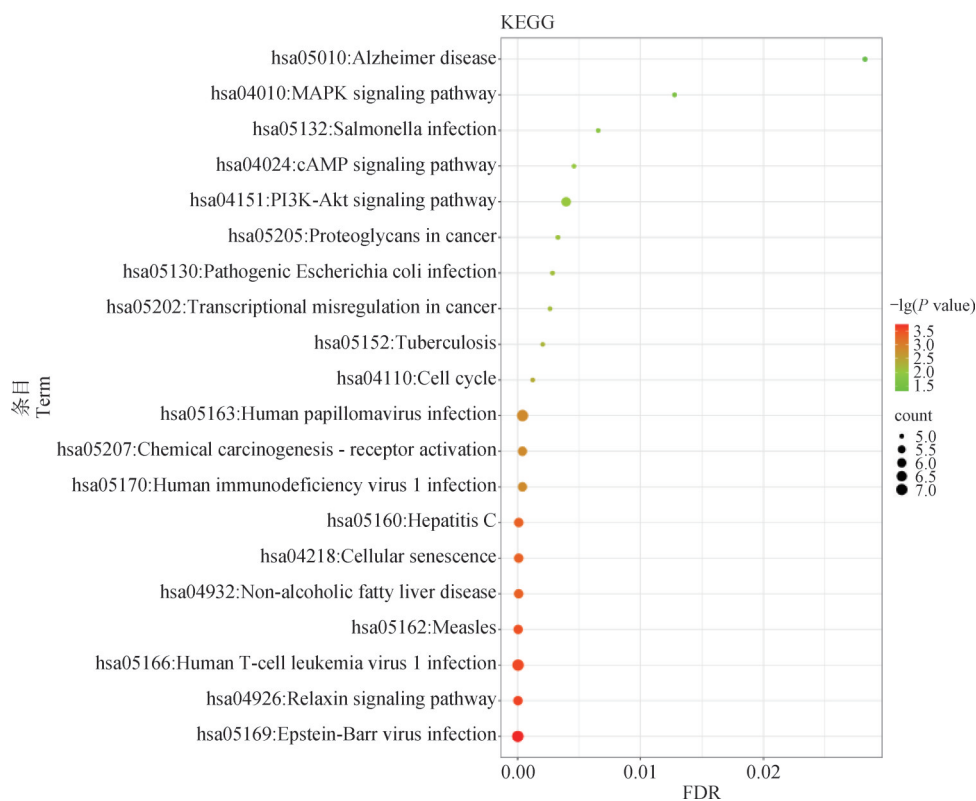


图3 核心靶点 KEGG 通路富集分析气泡图

Fig. 3 Bubble diagram of KEGG pathway enrichment analysis for core target

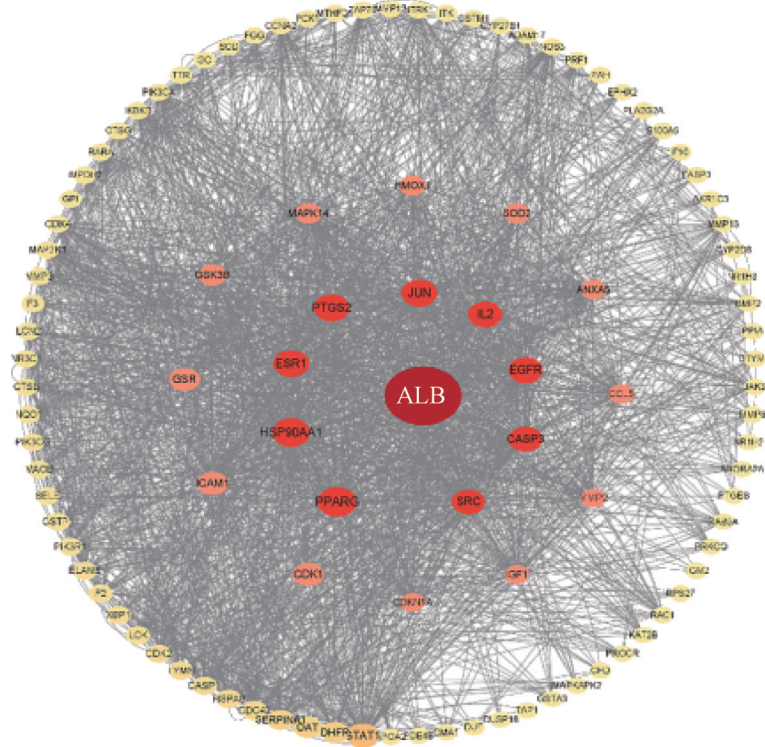
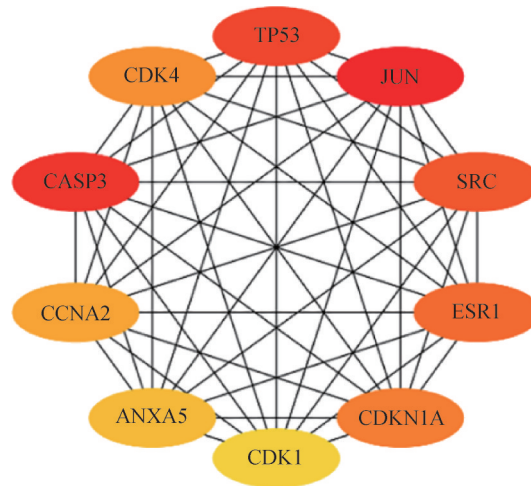


图4 小檗碱与金黄色葡萄球菌靶点的PPI网络图

Fig. 4 PPI network of berberine and *Staphylococcus aureus* targets



红色节点. 可能关键的调控蛋白,或是在疾病发生发展中起核心作用的分子。在图中红色节点包括 JUN、CASP3、SRC 和 ESR1。橙色节点. 代表与红色节点直接相连的靶点,它们在网络中的重要性可能略低于红色节点,但仍然是重要的交互伙伴。在图中,橙色节点包括 TP53、CDK4、CCNA2 和 CDKN1A。黄色节点. 可能代表网络中的其他重要靶点,它们可能在特定的生物学过程中发挥作用,或者与红色和橙色节点有间接的相互作用。在图中,黄色节点包括 ANXA5、CDK1 和 CDKN1A

Red nodes. Potentially key regulatory proteins or molecules that play a central role in the onset and progression of disease. Red nodes in the figure include JUN, CASP3, SRC, and ESR1. Orange nodes. These nodes represent targets directly connected to red nodes. They may be slightly less important than red nodes in the network, but they are still important interaction partners. In the figure, orange nodes include TP53, CDK4, CCNA2, and CDKN1A. Yellow nodes. These nodes may represent other important targets in the network, potentially playing roles in specific biological processes or having indirect interactions with red and orange nodes. In the figure, yellow nodes include ANXA5, CDK1, and CDKN1A

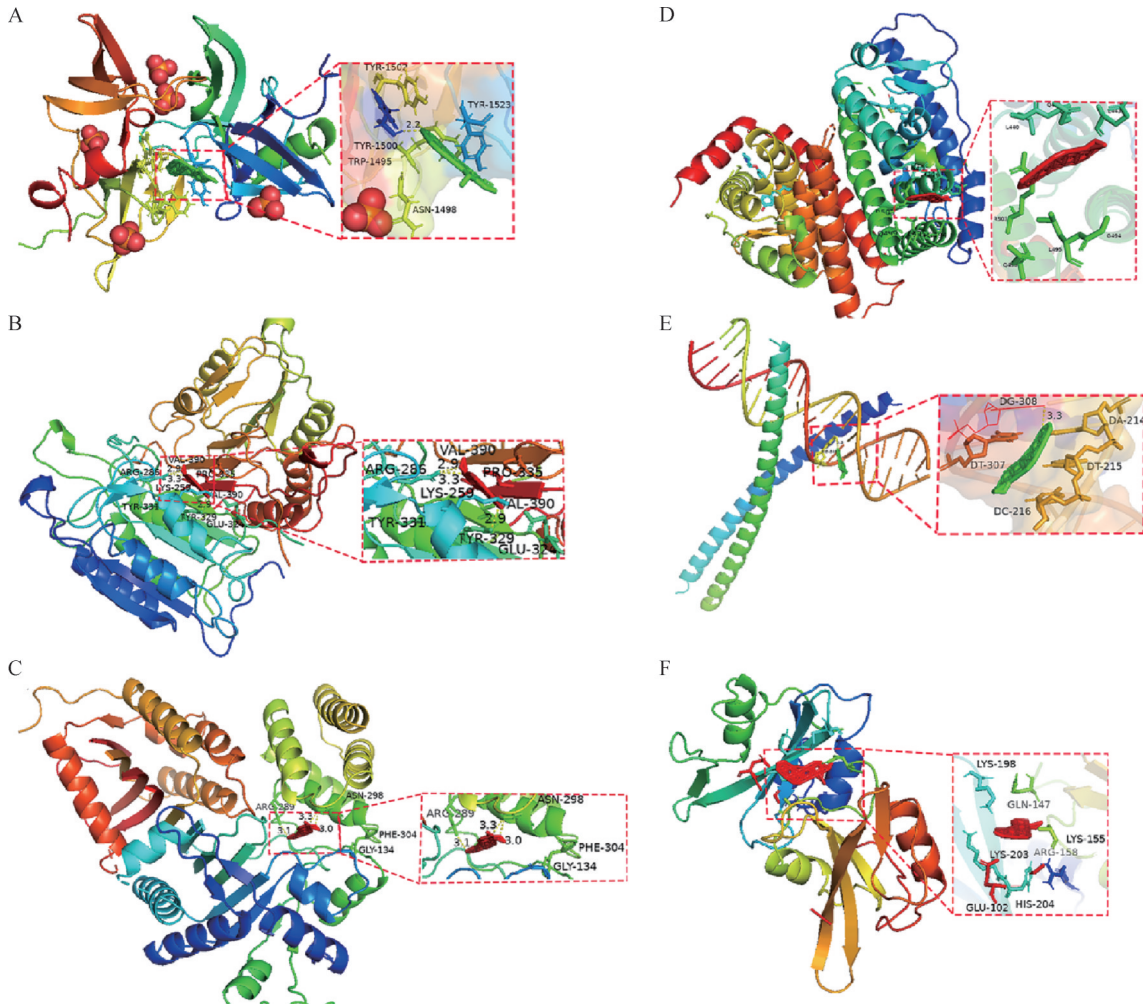
图5 PPI核心靶点网络图

Fig. 5 PPI core target network diagram

表 2 分子对接信息

Table 2 Molecular docking information

项目 Item	核心靶点 Core targets	结合自由能/(kJ·mol ⁻¹) Binding free energy	结合方式 Combination mode
小檗碱 Berberine	Tp53	-8.0	核心靶点 Tp53、Jun、Scr 如图 A、E 和 F 分子间主要是氢键的相互作用 核心靶点 Casp3 和 Esr1 如图 B 和 D 分子间主要是疏水作用 核心靶点 Cdkn1a 如图 C 显示分子间存在多种结合方式,包括氢键和疏水相互作用
	Casp3	-8.2	
	Cdkn1a	-8.2	
	Esr1	-8.8	
	Jun	-9.3	
	Scr	-9.1	



A. BBR 分子与 Tp53 蛋白的疏水相互作用;B. BBR 分子与 Casp3 蛋白的疏水相互作用;C. BBR 分子与 Cdkn1a 蛋白的疏水相互作用;D. BBR 分子与 Esr1 蛋白的疏水相互作用;E. BBR 分子与 Jun 蛋白的疏水相互作用;F. BBR 分子与 Src 蛋白的疏水相互作用。

A. Hydrophobic interactions between BBR molecules and Tp53 protein. B. Hydrophobic interactions between BBR molecules and Casp3 protein. C. Hydrophobic interactions between BBR molecules and Cdkn1a protein. D. Hydrophobic interactions between BBR molecules and Esr1 protein. E. Hydrophobic interactions between BBR molecules and Jun protein. F. Hydrophobic interactions between BBR molecules and Src protein.

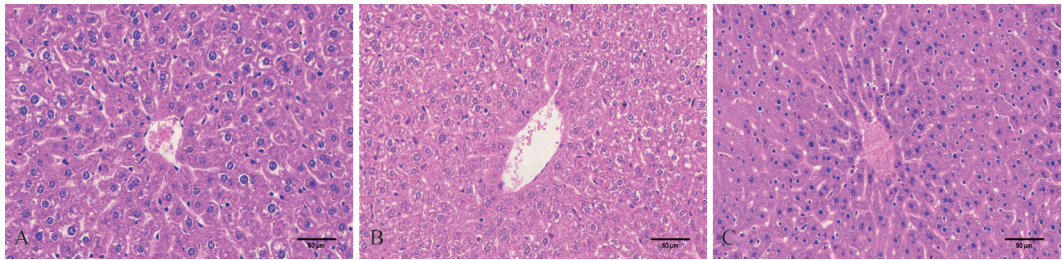
图 6 分子对接结果图

Fig. 6 Molecular docking results

表 3 小鼠体质量和脏器指数($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Body mass and organ index of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别 Group	初始体重/g Initial weight	攻毒前体重/g Weight before challenge	最终体重/g Final weight	肝指数/% Hepatic index	脾指数/% Spleen index	肾指数/% Renal index
NC	19.22±0.16	20.52±1.16	23.20±1.99	6.12±0.39	0.29±0.03	1.22±0.07
MC	20.60±0.22	21.49±1.16	19.90±1.59	6.52±0.45	0.33±0.11	1.23±0.04
BBR-MC	21.06±1.10	21.32±0.70	19.96±1.28	6.28±0.79	0.24±0.03	1.21±0.09



A. NC组;B. MC组;C. BBR-MC组

A. Control group (NC); B. Model control group (MC); C. BBR-treated model control group (BBR-MC)

图 7 小鼠肝脏病理切片(标尺=50 μm)

Fig. 7 Pathological section of mouse liver (Bar=50 μm)

引起急性静脉回流受阻或取材时挤压肝脏组织造成血管内有淤血。NC组小鼠肝脏细胞围绕中央静脉有规则的紧密排列,细胞核、细胞膜边缘清晰,而MC组小鼠肝索排列紊乱,细胞膜之间无明显界限,肝细胞肿胀且细胞质浑浊,细胞质疏松,表明*S. aureus*可导致小鼠肝脏发生明显病变。BBR-MC组小鼠同MC组比,肝索排列较规则,肝细胞结构清晰,胞浆分布较MC组较为均匀,表明BBR对*S. aureus*有一定的预防治疗效果。

2.2.3 BBR对小鼠肝脏*Casp3*、*Jun*、*Trp53*、*Esr1*、*Src*、*Cdkn1a* mRNA转录的影响 结果见图8,与NC组相比,MC组肝脏组织*Casp3*、*Trp53*、*Esr1*、*Cdkn1a*转录水平极显著下调,*Src*转录水平显著下调,*Jun*转录水平极显著上调。表明*S. aureus*可导致筛选出的6个核心靶点的表达量异常。与MC组相比,BBR-MC组小鼠肝脏中*Casp3*转录水平显著上调,*Jun*转录水平极显著下调。

以上结果表明BBR可通过上调*Casp3*和下调*Jun*基因的转录,使*S. aureus*感染造成的肝脏损伤恢复到正常表达水平。

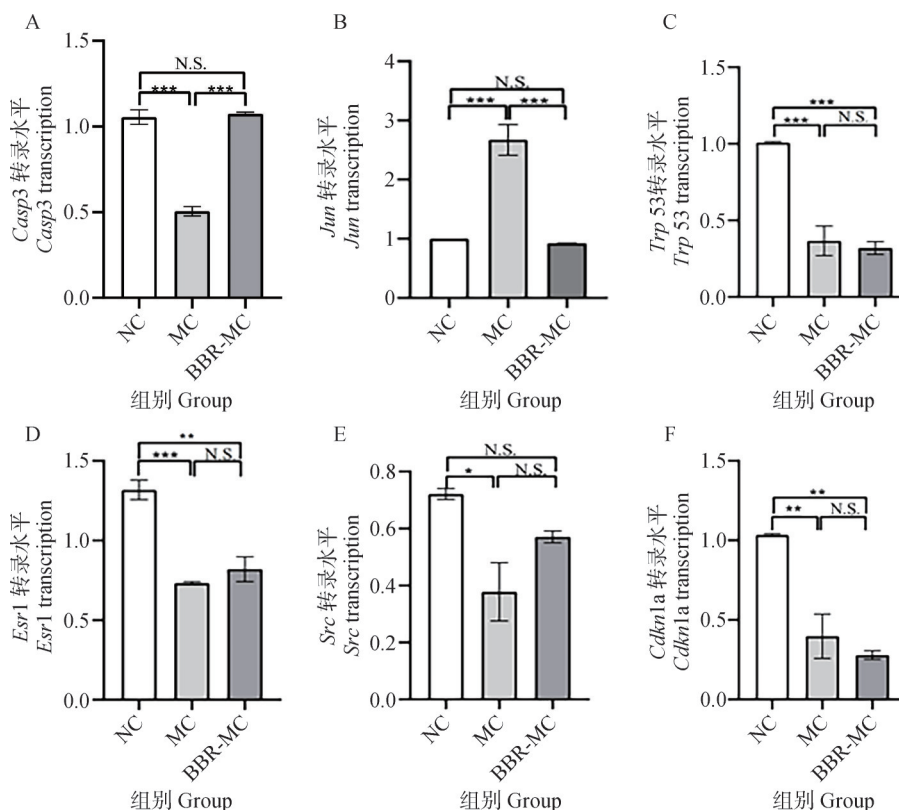
2.2.4 BBR减轻脾脏病理损伤 结果见图9,NC组小鼠脾脏组织红髓、白髓界限分明,形状呈圆形或椭圆形;MC组小鼠红、白髓界限明显,但白髓

面积较NC组小且脾小结有明显减少,NC组的淋巴细胞分布表相较于MC组更加紧密。说明*S. aureus*感染可导致淋巴滤泡和淋巴细胞受损。BBR-MC组红、白髓界限明显,白髓形状各异,白髓面积较MC组大,虽然脾小结较MC组有所恢复但仍比NC组小。BBR-MC组中有明显的炎性细胞。结果表明BBR可以促使受损的淋巴滤泡恢复。

2.2.5 BBR对小鼠脾脏*Casp3*、*Jun*、*Trp53*、*Esr1*、*Src*、*Cdkn1a* mRNA转录的影响 结果见图10。与NC组相比,MC组脾脏组织*Casp3*、*Esr1* mRNA转录水平极显著上调,*Jun*、*Trp53*、*Cdkn1a* mRNA转录水平显著下调。与MC组相比,BBR-MC组小鼠脾脏组织*Casp3* mRNA转录水平极显著下调,*Jun*、*Esr1*、*Cdkn1a* mRNA转录水平显著下调。BBR-MC组与NC组比,*Jun*、*Cdkn1a* mRNA的转录量显著下调,*Casp3*、*Esr1* mRNA转录量下调较为显著。

4 讨 论

*S. aureus*经常导致皮肤、组织及器官的化脓性炎症。截至目前,*S. aureus*仍然是国内外医院中引发获得性感染疾病的主要细菌之一^[14]。近期研究发现,黄连中富含的异喹啉生物碱,其已被证明具有抗*S. aureus*感染的作用^[15]。其中BBR主要通过

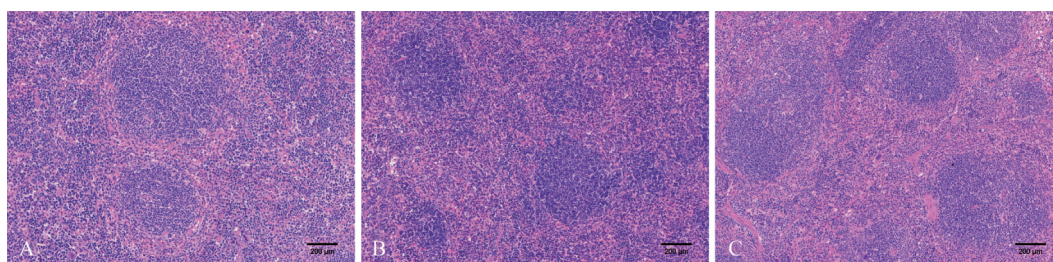


*, $P < 0.05$, 有统计学差异; **, $P < 0.01$, 差异较显著; ***, $P < 0.001$, 差异显著; ****, $P < 0.001$, 差异极显著; NS. 非统计显著性。下同

*, $P < 0.05$, indicates a statistically significant difference; **, $P < 0.01$, indicates a more pronounced difference; ***, $P < 0.001$, indicates a significant difference; ****, $P < 0.001$, indicates a highly significant difference; NS. Denotes non-significant. The same as below

图8 核心靶点基因在小鼠肝脏的转录量

Fig. 8 Transcription quantity of core target genes in mice liver



A. NC组; B. MC组; C. BBR-MC组

A. Control group (NC); B. Model control group (MC); C. BBR-treated model control group (BBR-MC)

图9 小鼠脾脏病理切片(200 μm)

Fig. 9 Pathological section of mouse spleen (200 μm)

抑制细胞中组氨酸的生物合成、影响细菌感染的代谢过程等方式对细菌引起的疾病及炎症产生抑制作用^[16]。BBR能有效破坏细菌细胞膜完整性,并显著抑制胞外聚合物的合成,从而削弱 *S. aureus* 的生物膜形成能力,增强抗菌效果^[17]。Qiu等^[18]的研究发现,BBR可以通过增强机体免疫应答促进抗炎因

子分泌抑制致病菌生长,从而发挥免疫调控介导的抗菌作用。

为了进一步探究BBR抗 *S. aureus* 作用靶点及机制,本研究采用网络药理学发现多个核心靶点富集于MAPK和PI3K-Akt等信号通路。PI3K-Akt能传导细胞内和细胞外的信号,并激活下游效应因

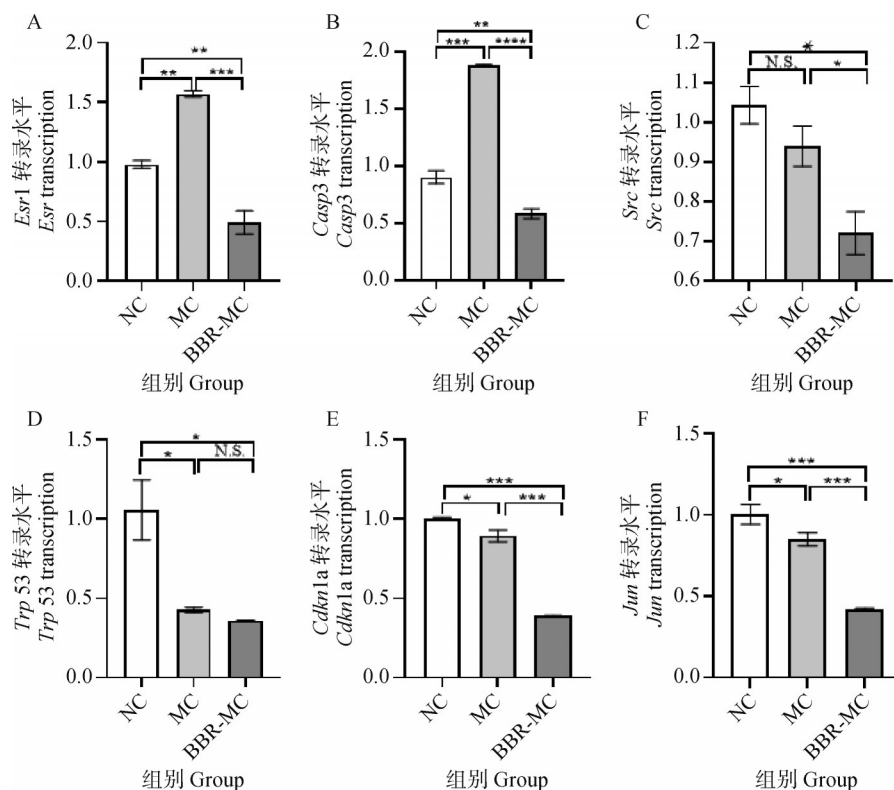


图10 核心靶点基因在小鼠脾脏的转录量

Fig. 10 Transcription quantity of core target gene in mice spleen

子Casp3,从而调节促炎和抗炎细胞因子的产生,以及机体的免疫应答和炎症反应^[19]。MAPK信号通路可以通过调控其下游效应因子Jun,从而减轻机体的炎症反应^[20]。研究证实,*S. aureus*能够通过诱导巨噬细胞活化,从而触发细胞发生自噬和炎症反应,进而激活PI3K信号通路,最终增强机体的整体炎症反应^[21]。王文佳^[22]研究发现BBR干预可显著降低*S. aureus*感染引起的牛乳腺上皮细胞凋亡,降低细胞中与AKT通路相关的蛋白磷酸化水平。以上发现为阐明BBR抗*S. aureus*的多靶点作用机制提供了重要的理论依据。

此外,本研究利用Cytoscape软件识别出BBR对抗*S. aureus*感染的关键靶点,筛选出了Casp3、Jun、Trp53、Esr1、Src、Cdkn1a等核心靶点。qPCR结果表明,其中Casp3和Jun在两种组织中的表达水平均具有显著差异。Casp3作为一种细胞凋亡关键酶,主要涉及凋亡、坏死以及炎症的信号传递^[23]。当Casp3的表达减少时将会抑制细胞凋亡^[24]。同时,机体可以通过上调Casp3来激活级联反应,触发细胞内的炎症程序^[25]。裴德翠等^[26]研究发现,BBR预处理2 h的ECV-304细胞,进行*S. aureus*处理

后,抗凋亡蛋白Bcl-2的表达水平有所上升,而促凋亡因子Bax和Casp3的mRNA和蛋白表达量则呈现下降趋势,与本研究结果一致。Jun蛋白质不仅在触发细胞凋亡或分化中扮演关键角色,还深度参与了细胞的增殖、生存以及多种其他细胞活动^[27]。朱铁梁等^[28]的研究表明,*c-Jun*基因对细胞的增殖、分化具有促进作用,并且能够诱导细胞启动凋亡程序。本研究发现与NC组相比,MC组肝脏组织Casp3转录水平显著下调,Jun转录水平显著上调;而脾脏组织Casp3转录水平显著上调,Jun转录水平显著下调,说明*S. aureus*主要侵害肝脏,使肝细胞发生凋亡,造成组织病变。以上结果与病理切片结果一致。

在细菌感染过程中,导致宿主死亡的主要原因是全身性或局部严重炎症损伤。肝脏和脾脏作为机体的核心免疫器官,发挥着关键的病原体清除和免疫调控作用。张子昂等^[29]的研究发现,BBR能够减轻低氧环境对肝脏造成的炎性损伤,有效降低肝脏的炎症反应,并通过抑制肝脏细胞的凋亡程序,最终可以对肝脏起到保护作用。BBR对肝脏的保护机制可能与其抑制TNF- α 、Casp8、Casp3信号通

路有关^[30]。吴晓艳等^[31]的研究显示,给非酒精性脂肪性肝病大鼠经过4周的盐酸小檗碱治疗的肝组织病理变化得到显著的改善,肝细胞脂肪变性程度明显减轻。本研究组织切片结果显示 BBR 对 *S. aureus* 引起的肝脏病变治疗效果明显。本研究中与 MC 组相比,BBR-MC 组小鼠肝脏中 *Casp3* 转录显著上调,*Jun* 转录显著下调。说明 BBR 可通过 *Casp3* 和 *Jun* 基因转录量抑制肝脏细胞凋亡,缓解 *S. aureus* 引起的肝脏炎症病变。

综上,本文结合网络药理学和分子对接技术,对 BBR 治疗 *S. aureus* 感染的分子机制进行了深入探索,筛选出 BBR 作用的核心靶点并构建其蛋白质互作(PPI)网络。通过拓扑分析及 *S. aureus* 感染小鼠模型验证,发现 BBR 通过调控 *Casp3* 和 *Jun* 基因的转录量来缓解 *S. aureus* 对肝脏的损伤。研究揭示了 BBR 在治疗 *S. aureus* 感染时可能涉及的生物学过程和信号通路,为 BBR 防治 *S. aureus* 感染的分子作用机制奠定了基础,同时也为未来开发更有效的抗菌药物提供了重要的理论依据。但本研究只对少量核心靶点进行了试验验证,更深入的分子作用机制还需进行进一步研究。

5 结 论

本研究通过网络药理学和分子对接分析,揭示了 BBR 通过多个不同的分子靶点和生物通路,协同发挥对 *S. aureus* 感染的抵抗作用。这种多靶点、多通路的策略不仅增强了 BBR 的抗感染效果,还提高了其治疗的全面性和稳定性。此外,通过建立 *S. aureus* 感染模型,进一步验证了 BBR 可通过上调 *Casp3* 和下调 *Jun* 来治疗 *S. aureus* 造成组织损伤,进而使机体抵抗 *S. aureus* 的感染。

参考文献(References):

- [1] 陈 云,杨 峰,李新圃,等. 牛源耐甲氧西林金黄色葡萄球菌研究进展[J]. 动物医学进展,2019,40(11): 104-109.
CHEN Y, YANG F, LI X P, et al. Research progress on bovine-derived methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2019, 40 (11): 104-109. (in Chinese)
- [2] HEINZINGER L R, PUGH A R, WAGNER J A, et al. Evaluating the translational potential of bacteriocins as an alternative treatment for *Staphylococcus aureus* infections in animals and humans [J]. *Antibiotics* (Basel), 2023, 12(8): 1256.
- [3] 戚颖欣. 五味子酮抑制金黄色葡萄球菌 α -溶血素的表达及作用机制研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2023.
QI Y X. Study on the inhibitory effect and mechanism of schisandrin on α -hemolysin expression in *Staphylococcus aureus* [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2023. (in Chinese)
- [4] GUO Y, SONG G, SUN M, et al. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 107.
- [5] 屈 欢,黄 雪,王军节. 黄连中盐酸小檗碱的提取纯化及抑菌活性研究[J]. 植物保护, 2020, 46(02): 96-100.
QU H, HUANG X, WANG J J. Extraction, purification, and antibacterial activity of berberine hydrochloride from *Coptis chinensis* [J]. *Plant Protection*, 2020, 46(02): 96-100. (in Chinese)
- [6] QI Y, ZHANG Q, ZHU H. Huang-Lian Jie-Du decoction: a review on phytochemical, pharmacological and pharmacokinetic investigations [J]. *Chin Med*, 2019, 14: 57.
- [7] 孟治平. 盐酸小檗碱吸入制剂的制备及其治疗呼吸道金黄色葡萄球菌感染的研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
MENG Z P. Preparation of berberine hydrochloride inhalation formulation and its therapeutic effect on respiratory tract infection caused by *Staphylococcus aureus* [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021. (in Chinese)
- [8] 张旭梅,魏玉荣,许丞惠,等. 基于网络药理学和试验验证分析小檗碱治疗鸡沙门菌感染的作用机制[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(8): 3557-3570.
ZHANG X M, WEI Y R, XU C H, et al. Network pharmacology and experimental validation of berberine in treating *Salmonella* infection in chickens [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2023, 54 (08): 3557-3570. (in Chinese)
- [9] 曹启航. 单核细胞增生李斯特菌生物被膜形成过程的转录组学分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2021.
CAO Q H. Transcriptomic analysis of biofilm formation in *Listeria monocytogenes* [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2021. (in Chinese)

- [10] 邓礼娟,黄洁瑶,胡彦君,等. 小檗碱对糖尿病肾病小鼠肾脏中 FXR 和 SHP 表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2024, 40 (12): 2269-2276.
- DENG L J, HUANG J Y, HU Y J, et al. Berberine affects the expression of FXR and SHP in the kidneys of mice with diabetic nephropathy [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2024, 40(12): 2269-2276. (in Chinese)
- [11] KRISHNAMOORTHY P, SATYANARAYANA M L, SHOME B R, et al. Pathological changes in experimental intramammary infection with different *Staphylococcus* species in mice[J]. *J Microsc Ultrastruct*, 2018, 6(2): 93-98.
- [12] BARTSCH P, KILIAN C, HELLMIG M, et al. Th17 cell plasticity towards a T-bet-dependent Th1 phenotype is required for bacterial control in *Staphylococcus aureus* infection [J]. *PLoS Pathog*, 2022, 18 (4): e1010430.
- [13] TILAHUN A Y, HOLZ M, WU T T, et al. Interferon gamma-dependent intestinal pathology contributes to the lethality in bacterial superantigen-induced toxic shock syndrome[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16764.
- [14] 罗 阳, 田唯佳, 何 芳, 等. 奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌 nuc 基因 LAMP 检测方法的建立[J]. 动物医学进展. 2023, 44(8): 34-38.
- LUO Y, TIAN W J, HE F, et al. Establishment of LAMP method for detecting nuc gene in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2023, 44(08): 34-38. (in Chinese)
- [15] 唐东涛, 王添昊, 毕聪慧, 等. 羟丙基甲基纤维素基涂膜的制备及香蕉保鲜效果[J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 268-275.
- TANG D T, WANG T H, MI C H, et al. Preparation of hydroxypropyl methylcellulose-based coating and its preservation effect on bananas [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(12): 268-275. (in Chinese)
- [16] 王 礼. 小檗碱抗金黄色葡萄球菌的机制研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2018.
- WANG L. Mechanism of berberine against *Staphylococcus aureus* [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2018. (in Chinese)
- [17] WU S, YANG K, HONG Y, et al. A new perspective on the antimicrobial mechanism of berberine hydrochloride against *Staphylococcus aureus* revealed by untargeted metabolomic studies [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 917414.
- [18] QIU F, LU W, YE S, et al. Berberine promotes induction of immunological tolerance to an allograft via downregulating memory CD8+ T-cells through altering the gut microbiota [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 646831.
- [19] 黄启发. 肿瘤内痤疮丙酸杆菌通过调节 Hh 信号通路促进卵巢癌进展[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- HUANG Q F. Intratumoral *Propionibacterium acnes* promotes ovarian cancer progression via Hedgehog signaling pathway [D]. Nanchang: Nanchang University, 2023. (in Chinese)
- [20] 武明云, 虞坚尔, 薛 征, 等. 基于 MAPK 信号通路的中药治疗支气管哮喘的实验研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2019, 33(2): 86-91.
- WU M Y, YU J E, XUE Z, et al. Research progress on experimental study of traditional Chinese medicine treating bronchial asthma based on MAPK signaling pathway [J]. *Acta Universitatis Traditionis Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai*, 2019, 33(2): 86-91. (in Chinese)
- [21] 李 帅. 金黄色葡萄球菌通过 TLR2/PI3K 信号通路诱导巨噬细胞自噬和炎症反应的分子机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2018.
- LI S. Molecular mechanism of *Staphylococcus aureus*-induced macrophage autophagy and inflammation via TLR2/PI3K signaling pathway [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2018. (in Chinese)
- [22] 王文佳. 小檗碱的抗奶牛乳房炎机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- WANG W J. Mechanism of berberine against bovine mastitis [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [23] ARMAN K, ERGÜN S, TEMİZ E, et al. The interrelationship between HER2 and Casp3/8 with apoptosis in different cancer cell lines [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(12): 8031-8036
- [24] LV Z, ZHANG J, PING J, et al. Salvianolic acid B inhibits ERK and p38 MAPK signaling in TGF- β 1-stimulated human hepatic stellate cell line (LX-2) via distinct pathways [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012: 960128.

- [25] 梁瀚云,唐 燕,司马玲,等. 基于 MAPK 信号通路的荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠作用机制的研究[J]. 中药材,2023,46(11):2856-2860.
- LIANG J Y, TANG Y, SIMA L, et al. Study on the mechanism of total flavonoids from Litchi chinensis seeds on hepatic fibrosis in rats based on MAPK signaling pathway[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2023, 46(11):2856-2860. (in Chinese)
- [26] 裴德翠,熊传银,毕爱芬,等. 小檗碱通过调节凋亡相关基因的表达抑制金黄色葡萄球菌诱导的 ECV-304 细胞凋亡[J]. 辽宁中医杂志,2015,42(1):35-37.
- PEI D C, XIONG C Y, BI A F, et al. Berberine inhibits *Staphylococcus aureus*-induced apoptosis of ECV-304 cells by regulating the expression of apoptosis-related genes[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 42(1):35-37. (in Chinese)
- [27] MEIXNER A, KARRETH F, KENNER L, et al. Jun and JunD-dependent functions in cell proliferation and stress response[J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(9):1409-19.
- [28] 朱铁梁,张 莉,齐 刚,等. 绞股蓝总皂苷对全脑缺血再灌注大鼠海马区 c-Jun 蛋白表达的抑制作用[J]. 武警医学,2007(5):347-351.
- ZHU T L, ZHANG L, QI G, et al. Inhibitory effect of gypenosides on c-Jun protein expression in hippocampus of rats with global cerebral ischemia-reperfusion[J]. *Medical Journal of the Chinese People's Armed Police Forces*, 2007(5):347-351. (in Chinese)
- [29] 张子昂,董 倩,官瑞丽,等. 盐酸小檗碱通过抑制 TNF- α /caspase-8/caspase-3 信号通路减轻急性低氧暴露引起的肝损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2022,38(1):48-53.
- ZHANG Z A, DONG Q, GUAN R L, et al. Berberine hydrochloride alleviates acute hypoxic liver injury by inhibiting TNF- α /caspase-8/caspase-3 signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2022, 38(1):48-53. (in Chinese)
- [30] MUKAI M, KUSAMA T, HAMANAKA Y, et al. Cross talk between apoptosis and invasion signaling in cancer cells through caspase-3 activation[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(20):9121-9125.
- [31] 吴晓艳,李珏宏,李昌平,等. 小檗碱对非酒精性脂肪性肝病大鼠的作用[J]. 广东医学,2015,36(10):1492-1496.
- WU X Y, LI J H, LI C P, et al. Effect of berberine on non-alcoholic fatty liver disease in rats[J]. *Guangdong Medical Journal*, 2015, 36(10):1492-1496. (in Chinese)

(编辑 白永平)