

# 基於網絡藥理學探討靈芝治療特應性皮炎的分子作用機制及有效成分

Study on the molecular mechanisms and bioactive compounds of *Ganoderma lucidum* in the treatment of atopic dermatitis based on network pharmacology

丁卓然 吳瑩 符秀瓊 禹志領 *DING Zhuoran, WU Ying, FU Xiuqiong, et al.*

(香港浸會大學中醫藥學院)

**[摘要]** 目的：應用網絡藥理學方法，研究靈芝治療特應性皮炎(濕疹)的分子機制及有效成分。方法：用TCMSP數據庫篩選靈芝成分；用Swiss Target Prediction網站預測每個成分的作用靶點；在OMIM、GeneCards和TTD疾病基因數據庫中收集濕疹有關的基因；確定藥物-疾病共同靶點後，用STRING數據庫建立「蛋白質互作網絡」(PPI網絡)，用Cytoscape3.8.2軟件及R軟件分析網絡并作圖。結果：篩選出61種靈芝活性成分。從成分的靶點和濕疹有關的基因中得到101個共同的基因，作為靈芝治療濕疹的潛在靶點。通過分析「藥物-成分-靶點-疾病」網絡，找到靈芝酸DM和(+)-靈芝酸甲酯A可能是靈芝治療濕疹的主要活性成分。對PPI網絡的分析發現：腫瘤壞死因子(TNF)、白介素6(IL6)、白介素1B(IL1B)、雙特異性絲裂原活化蛋白激酶1(MAP2K1)、基質金屬蛋白酶3(MMP3)為靈芝治療濕疹的核心靶點。KEGG通路分析結果表明：靈芝治療濕疹主要與Th17細胞分化、腫瘤壞死因子(TNF)通路有關。結論：靈芝治療濕疹的核心成分是靈芝酸DM和(+)-靈芝酸甲酯A；核心靶點為TNF、IL6、IL1B、MAP2K1和MMP3；核心通路為Th17細胞分化和TNF通路。本研究為發現靈芝抗濕疹的分子機制及有效成分奠定了基礎。

**[關鍵詞]** 靈芝；特應性皮炎；濕疹；網絡藥理學；作用機制；有效成分

特應性皮炎(atopic dermatitis, AD)，即濕疹，是一種反覆發作的慢性炎性皮膚疾病<sup>[1][2]</sup>。皮膚乾燥及搔癢為其主要臨床表現。近十年來濕疹發病率逐漸升高，全球的患病人數高達2.3億<sup>[3][4]</sup>。相關研究結果表明，遺傳、心理因素以及作息不規律都可導致濕疹發病<sup>[5][6]</sup>；免疫平衡破壞、皮膚屏障功能失常及皮膚表面菌群平衡破壞等因素是濕疹發病的重要誘因<sup>[7]</sup>。臨床治療濕疹常以外用糖皮質激素藥物、口服抗組胺類藥物與口服免疫抑制類藥物為主<sup>[1]</sup>。但口服抗組胺類藥物或免疫抑制類藥物常引起患者嗜睡或免疫力下降；長期外用糖皮質激素藥物會使患處皮膚出現萎縮、色素沉着等不良反應，並且容易導致患者耐藥<sup>[8]</sup>。由於中藥多成分、多靶點的特性，其在治療濕疹等複雜性疾病方面有優勢。Meta分析<sup>[9,10]</sup>表明，中醫藥對濕疹的治療有效，且具有較高的安全性。

靈芝(*Ganoderma*)具備安神益氣、補虛勞、增強體質等藥效<sup>[11]</sup>，可用於治療濕疹，如：飲用靈芝茶(30g/天，8周)可緩解病人的濕疹症狀(ClinicalTrials.gov identifier: NCT02533635)<sup>[12]</sup>。靈芝藥用部位為多孔菌科真菌赤芝、紫芝的乾燥子實體<sup>[13]</sup>，主要藥效成分為甾醇類、靈芝多醣、三萜類等化合物<sup>[14]</sup>。當代藥理研究表明：靈芝具有調節免疫、抗腫瘤、抗炎、抗氧化等作用<sup>[15,16]</sup>。然而，靈芝治療濕疹的作用機理及有效成分尚不完全清楚。網絡藥理學是以藥物成份、靶點及疾病之間的相互作用關係網為基礎，運用網絡分析的方法研究藥物作用機理的一門學科，常應用於中藥藥效動力學研究。因此，本研究採用網絡藥理學的方法，對靈芝抗濕疹的藥效成分、作用靶點及信號通路進行了預測，為將來研究靈芝治療濕疹的作用機理及物質基礎奠定了基礎。

## 1 材料與方法

### 1.1 數據庫、網站及分析軟件

數據庫：TCMSP (<http://tcmospw.com/tcmosp.php>)、OMIM (<https://omim.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)、STRING (<https://string-db.org/>)。

成分靶點預測網站：Swiss Target Prediction ( <http://www.swisstargetprediction.ch/> ) 。

分析及製圖網站：Venny 2.1 ( <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/> ) 。

分析及製圖軟件：Cytoscape 3.8.2、R 4.0.5。

## 1.2 靈芝中的有效成份與藥效靶點的預測

在TCMSP<sup>[17]</sup>設置「Ganoderma」為關鍵字，以生物利用率不低於30%與類藥性不低於0.18為基礎，對靈芝的成分進行篩選<sup>[18]</sup>。然後將所得成分的结构導入到Swiss Target Prediction 網站<sup>[19]</sup>中，選擇預測分值大於0的靶點作為藥物作用靶點。

## 1.3 濕疹有關基因的篩選

分別在OMIM<sup>[20]</sup>、GeneCards<sup>[21]</sup>、TTD資料庫<sup>[22]</sup>中以「atopic dermatitis」為關鍵詞進行檢索，其中在GeneCards資料庫設置「relevance score」 $\geq 2.5$ 作為該資料庫的篩選條件<sup>[23]</sup>。將三個數據庫的檢索結果經過整合去除相同的基因後，獲得濕疹有關基因。

## 1.4 藥物-疾病共同靶點的篩選

將篩選出來的靈芝作用靶點和濕疹有關基因錄入Venny2.1在線軟件，得到韋恩圖，其交集基因為藥物-疾病共同靶點。

## 1.5 「藥物-成分-靶點-疾病」網絡圖構建

通過Cytoscape軟件建立「藥物-成分-靶點-疾病」網絡圖，然後通過對該網絡的拓撲分析獲得每個靈芝成分所作用的濕疹有關基因的個數。據此確定核心成分。

## 1.6 蛋白相互作用網絡構建

在STRING<sup>[24]</sup>中錄入靈芝和濕疹共同靶點，選擇「Homo sapiens」的蛋白種類和0.4的交互閾值為參數<sup>[25]</sup>，生成靈芝治療濕疹的蛋白質互作網絡 ( PPI )。使用Cytoscape中「Network Analyzer」功能對PPI數據進行拓撲分析，以「Average Shortest Path Length、Betweenness Centrality、Closeness Centrality、Degree」數據為參考標準，通過對Degree排序後確定靈芝治療濕疹的核心靶點<sup>[26]</sup>。接着以「Degree Cutoff: 2、Node Score Cutoff: 0.2、Haircut: true、Fluff: false、K-Core: 2、Max. Depth from Seed: 100」為分析參數，使用Cytoscape中「MCODE」插件對PPI數據進行蛋白複合體聚類分析，獲得基因簇和各個基因簇的「Seed」基因，據此確定靈芝治療濕疹所作用的蛋白質複合體的核心靶點<sup>[27]</sup>。

## 1.7 功能和通路富集分析

以 $P < 0.05$ 、 $Q < 0.05$ 為閾值，運用R軟件進行基因本體 ( Gene Ontology, GO )<sup>[28]</sup>、京都基因和基因組百科全書 ( Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG ) 富集分析<sup>[29]</sup>，獲得靈芝治療濕疹的靶點所涉及的主要生物過程、分子功能、細胞成分與KEGG通路。利用R軟件將GO與KEGG分析數據生成氣泡圖。

## 1.8 「藥物-成分-靶點-信號通路」網絡建立

將靈芝活性成分、KEGG分析結果中富集靶點數為前20的信號通路及其所富集的靶點數據輸入 Cytoscape，最終構建「藥物-成分-靶點-信號通路」的網絡模型。

# 2 結果

## 2.1 靈芝活性成分及作用靶點

在TCMSP資料庫中共獲得候選化合物61個，主要有三萜類羊毛甾烷衍生物，如：(+)-靈芝酸Mf、(+)-靈芝酸甲酯A；有機酸類，如過氧麥角甾醇；多糖類，如靈芝多醣B等。在Swiss Target Prediction靶點預測網站中去除無效與重複的靶點後，累計篩選出554個靈芝靶點。

## 2.2 與濕疹有關的基因

從GeneCards、OMIM、TTD中分別搜集到640、23、50個與濕疹有關的基因；通過整合上述三個功能基因資料庫的搜索結果，刪去重複的基因後共得到濕疹有關基因672個。

## 2.3 藥物-疾病共同靶點

在Venny2.1線上作圖網站上錄入經上述篩選後獲得的554個靈芝靶點和672個濕疹有關基因，得出相應的韋恩圖(圖1)，進而得到101個靈芝作用靶點與濕疹有關基因之間的重疊分子，作為靈芝治療濕疹的潛在靶點。

#### 2.4 「藥物-成分-靶點-疾病」網絡構建及核心成分分析

通過Cytoscape 處理上述篩選得出的61個靈芝活性成分以及101個靈芝治療濕疹的潛在靶點，刪除4個與靶點無關聯的靈芝成分後得到了「藥物-成分-靶點-疾病」的網絡結構(圖2)。本網絡中共有160個結點和740條邊，其中包含了靈芝(粉色方形)、靈芝中的57種活性成分(綠色菱形)、101個靈芝治療濕疹的潛在靶點(藍色橢圓形)、特應性皮炎(紅色正六邊形)。對該網絡進行拓撲分析，得到成分與靶點的關聯數，其中靈芝酸DM(Ganoderic acid DM, MOL011189)所關聯的靶點數最多，共有28個靶點與其相連；其次是(+)-靈芝酸甲酯A【(+)-Methyl ganolucidate A, MOL011127】，共有27個相關靶點連接，提示靈芝酸DM和(+)-靈芝酸甲酯A可能為靈芝發揮抗濕疹作用的關鍵成分。

#### 2.5 PPI網絡構建及核心靶點分析

**2.5.1 PPI網絡構建** 將101個靈芝治療濕疹的潛在靶點數據導入到 STRING中，構建PPI網絡(圖3)。該PPI網絡中共計101個節點，828條邊。

**2.5.2 PPI 網絡的拓撲分析及核心靶點預測** 通過Cytoscape對上述 PPI網絡進行拓撲分析，得到靈芝治療濕疹的靶標之間的關聯數據，並在此基礎上，通過R軟件繪製了排名前30的核心靶點排序圖(圖4)。如圖所示，白介素1B(IL1B)、白介素6(IL6)和腫瘤壞死因子(TNF)所關聯的靶點數最多，分別為61、66、67，因此可能是靈芝治療濕疹的關鍵靶點。

**2.5.3 PPI網絡的蛋白複合體聚類分析及核心靶點預測** 運用Cytoscape軟件中的「MCODE」插件對PPI網絡中的蛋白複合體展開預測，得到3個MCODE聚類基因簇(圖5)以及基因簇的2個Seed基因，基質金屬蛋白酶3(MMP3)和雙特異性絲裂原活化蛋白激酶1(MAP2K1)。

#### 2.6 GO和KEGG富集分析

**2.6.1 GO分析** 運用R軟件對101個靈芝治療濕疹的潛在靶點進行GO分析，發現這些靶點涉及1645條生物學過程、33條細胞組分和122個分子功能。分別將各部分富集基因數排名前20的條目以氣泡圖的形式展現，見圖6。根據GO分析結果可知：靶點涉及的生物過程排名前三的條目為：對細菌來源的反應(response to molecule of bacterial origin)、炎症反應的調節(regulation of inflammatory response)、對脂多糖的反應(response to lipopolysaccharide)，分別富集29、28、28個基因，提示靈芝治療濕疹主要影響炎症、感染相關的生物過程。在細胞組分中，膜筏(membrane raft)、膜微區(membrane microdomain)所富集的基因數最多，均富集15個基因，提示靈芝治療濕疹主要影響這兩種細胞組分。在分子功能中，G蛋白偶聯受體活性(G protein-coupled peptide receptor activity)、肽受體活性(peptide receptor activity)所富集的基因數最多，均富集16個基因。提示靈芝可能主要通過影響兩者活性治療濕疹。

**2.6.2 KEGG分析** KEGG分析結果顯示，101個靈芝治療濕疹的潛在靶點共富集在151條KEGG通路中。選取富集基因數最多的20條通路構建氣泡圖(圖7)。其中，Th17細胞分化、腫瘤壞死因子通路與濕疹發病的關係最為密切(表1)。因此，靈芝最可能通過影響Th17細胞的分化及調節腫瘤壞死因子通路來治療濕疹。

#### 2.7 構建「藥物-成分-靶點-信號通路」網絡

運用Cytoscape軟件，將已篩出的61個靈芝藥效成分、富集基因數最多的20條KEGG通路，及富集到這些通路的靶點構建靈芝治療濕疹的「藥物-成分-靶點-信號通路」網絡圖(圖8)。該圖中共有151個節點，918條邊。這些節點包括靈芝(粉色方形)、57個與富集靶點有關聯的靈芝有效成分(綠色菱形)、靈芝治療濕疹靶點富集數排名前20的信號通路(紅色V形)和該20條KEGG通路中所富集到的73個靈芝治療濕疹的靶標(藍色橢圓形)。如圖8所示，靈芝的57個活性成分和73個作用靶點存在一對多和多對一的複雜的關係，且不同信號通路可基於共有靶點連接起來，體現了靈芝治療濕疹的作用機制及物質基礎複雜，有多成分、多靶點、多通路

的特徵。

ID	Description	GeneRatio	Pvalue	Qvalue	geneID	Count
hsa04659	Th17 cell differentiation	14/99	3.45E-11	2.41E-10	MTOR/MAPK3/JAK3/JAK1/RORC/STAT5B/IL6ST/MAPK1/IL6/ZAP70/JAK2/IL1B/STAT1/STAT3	14
hsa04668	TNF signaling pathway	14/99	5.69E-11	3.37E-10	IL1B/PIK3CD/MAP2K1/MMP9/MAPK3/CASP3/CASP8/MMP3/TNF/MAPK1/PTGS2/PIK3CA/IL6/ICAM1	14

表1 靈芝治療濕疹的核心通路

### 3 討論

濕疹的發病機制複雜。目前治療濕疹的藥物有一定的毒副作用，且容易引起耐藥。靈芝可用於治療濕疹，且無明顯毒副作用。但是靈芝治療濕疹的機制及物質基礎尚不明確。

本研究通過對靈芝治療濕疹的「藥物-成分-靶點-疾病」網絡的拓撲分析得出，靈芝酸DM和 (+)-靈芝酸甲酯A可能為靈芝治療濕疹的主要活性成份。濕疹是慢性炎症性皮膚病。Sliva D等人在對靈芝提取物活性評估中發現靈芝酸DM具有抗菌、抗炎的作用<sup>[30]</sup>。因此，靈芝酸DM可能有抗濕疹的作用。濕疹皮損處存在着基質金屬蛋白酶 (MMPs) 的表達<sup>[31]</sup>。據報導，MMP3可降解表皮中絕大多數細胞外基質成分，有破壞皮膚屏障的功能<sup>[32]</sup>，可能與濕疹的發病和進展有關。我們的網絡藥理學分析結果指出，MMP3是靈芝治療濕疹的核心靶點之一。有學者通過計算機輔助方法模擬分子對接模型的預測研究發現，靈芝三萜類化合物對包括了MMP3在內的MMPs具有廣泛的抑制作用<sup>[33]</sup>。靈芝酸DM和 (+)-靈芝酸甲酯A同為三萜類化合物。但它們是否能抑制MMP3、修復皮膚屏障和抗濕疹，需要進一步的實驗研究以證實。

PPI網絡分析的結果表明，靈芝治療濕疹的核心靶點除了上述MMP3外，還有TNF、IL6、IL1B和MAP2K1。濕疹的發病與輔助性T細胞Th1/Th2比例失衡所導致的細胞因子分泌紊亂有關。急性期濕疹皮損處以Th2細胞浸潤為主，Th2細胞分泌大量IL4、IL6等細胞因子，促進炎症反應的發生；慢性期皮損處以Th1、Th17和Th22細胞混合浸潤為主，分泌TNF、IL2等細胞因子，促進炎症反應發生<sup>[33-36]</sup>。有研究報道，靈芝三萜類化合物和靈芝甾醇可抑制巨噬細胞分泌TNF和IL6而抗炎<sup>[37][38]</sup>。因此，靈芝可能通過抑制Th細胞分泌TNF和IL6發揮抗濕疹作用。濕疹患者常因皮膚瘙癢難忍而抓撓患處，導致皮損。機械性皮損會促進皮膚角質細胞釋放IL1a和IL1b<sup>[39]</sup>。IL1a和IL1b均屬於IL-1家族，是在濕疹發病機制中起重要作用的促炎症因子<sup>[40]</sup>。據報道，濕疹患者患處皮膚IL1b的表達顯著高於健康皮膚，且與疾病的嚴重度呈正相關<sup>[41][42]</sup>。靈芝甾醇可抑制炎症細胞中IL1b的表達<sup>[38]</sup>；靈芝三萜類化合物可抑制炎症細胞分泌IL1b<sup>[43]</sup>。因此，靈芝抗濕疹的作用也可能與其抑制IL1b有關。有研究指出，MEK1 (由MAP2K1基因編碼) 信號通路的持續激活可促進皮膚炎症<sup>[44]</sup>；外用MEK抑制劑能有效減輕濕疹小鼠的皮膚炎症<sup>[45]</sup>。據報道，不同的靈芝成分對不同細胞MEK1的作用不同，如一些靈芝三萜類化合物可抑制腎上

皮細胞的MEK1激活<sup>[46]</sup>；一些靈芝多醣可激活巨噬細胞中的MEK1<sup>[47]</sup>。至於MEK1在靈芝治療濕疹中的作用，需要通過實驗研究來具體探討。

靈芝成分所影響的KEGG信號通路中Th17細胞分化及TNF信號通路與濕疹最相關。前面提到TNF是靈芝治療濕疹的核心靶點之一，也是濕疹慢性期主要的促炎症因子。靈芝治療濕疹很可能與影響TNF信號通路有關。Th17細胞為T細胞家族亞群的一種，通過表達IL-17參與機體免疫反應和炎症反應<sup>[48]</sup>，是濕疹慢性期的重要效應細胞之一。相關臨床研究表明，Th17在濕疹病人外周血中的表達水平顯著升高，且與病情嚴重程度呈正相關<sup>[49]</sup>。一些靈芝三萜類化合物和靈芝多醣有下調Th17細胞比例及IL-17細胞因子水平的作用<sup>[50,51]</sup>。因此，靈芝還可能通過影響Th17細胞的分化及功能而發揮抗濕疹作用。

綜上所述，靈芝治療濕疹的核心成分可能是靈芝酸DM和(+) -靈芝酸甲酯A；核心靶點為TNF、IL6、IL1B、MAP2K1和MMP3；核心通路為Th17細胞分化及TNF信號通路。這些結果為進一步研究靈芝治療濕疹的作用機制及有效成分奠定了基礎。

本研究得到香港靈芝培植中心有限公司的支持，特此致謝。

---

#### 參考文獻：

- [1] 中華醫學會皮膚性病學分會免疫學組·特應性皮炎協作研究中心. 中國特應性皮炎診療指南(2020版). 中華皮膚科雜誌, 2020(2): 81-88.
- [2] 王建琴. 中國特應性皮炎診療指南(2020版)解讀[J]. 皮膚性病診療學雜誌, 2020, 27(05): 359-361.
- [3] Vakharia P P, Chopra R, Silverberg J I. Systematic review of diagnostic criteria used in atopic dermatitis randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Dermatology*, 2018, 19(1): 15-22.
- [4] Bylund S, Kobyletzki L B, Svalstedt M, et al. Prevalence and incidence of atopic dermatitis: A systematic review. *Acta Dermato-Venereologica*, 2020, 100: 320-329.
- [5] Brown S, Reynolds N J. Atopic and non-atopic eczema. *BMJ*, 2006, 332(7541): 584-588.
- [6] Bin L, Leung D Y M. Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 2016, 12(1): 52.
- [7] Leung D Y M. Pathogenesis of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1999, 104(Suppl 3): S99-S108.
- [8] 楊曉宇·李如意. 長期局部外用高濃度糖皮質激素製劑的不良反應調查. 中國藥物濫用防治雜誌, 2021, 27(04): 524-527.
- [9] 王欣欣·劉季平·李思佳·等. 中藥治療特應性皮炎療效和安全性的系統評價. 中國免疫學雜誌, 2019, 35(24): 3054-3059.
- [10] Lin J F, Liu P H, Huang T P, et al. Characteristics and prescription patterns of traditional Chinese medicine in atopic dermatitis patients: ten-year experiences at a medical center in Taiwan. *Complementary Therapies in Medicine*, 2014, 22(1): 141-147.
- [11] 查良平·黃璐琦. 古代靈芝臨床效用考. 第十八屆全國藥學史暨本草學術研討會學術論文集, 2015: 212-214.
- [12] Hsu K D, Cheng K C. From nutraceutical to clinical trial: frontiers in Ganoderma development. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(21): 9037-9051.
- [13] 楊玉. 靈芝中三萜類成分及 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性研究[D]. 大連醫科大學, 2015.
- [14] Boh B, Berovic M, Zhang J S, et al. Ganoderma lucidum and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnology Annual Review*, 2007, 13(7): 265-301.
- [15] Bishop K S, Kao C H J, Xu Y, et al. From 2000 years of Ganoderma lucidum to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, 2015, 114: 56-65.
- [16] Yin Z, Yang B, Ren H. Preventive and therapeutic effect of Ganoderma (Lingzhi) on skin diseases and care. *Ganoderma and Health*, 2019, 1: 311-321.
- [17] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 6: 13.
- [18] Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13(6): 6964-6982.
- [19] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, Daina A, et al. Swiss Target Prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(W1): W32-W38.
- [20] Amberger J S, Bocchini C A, Scott A F, et al. OMIM. org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): D1038-D1043.
- [21] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2016, 54(1): 1.30. 1-1.30. 33.
- [22] Zhou Y, Zhang Y, Lian X, et al. Therapeutic target database update 2022: facilitating drug discovery with enriched comparative data of targeted agents. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D1398-D1407.
- [23] Song X, Bao S, et al. The pharmacological mechanisms of Sophoraflavescens in the treatment of atopic dermatitis based on pharmacology network strategy [J]. 2022.
- [24] Szklarczyk D, Morris J H, Cook H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1): D362.

- [25] 曹春浩,陳成順,趙紫華,鄒麗雲,秦紅波,榮曉鳳,李景怡.基於網絡藥理及分子對接預測靈芝酚對慢性腎臟病作用機制[J].免疫學雜誌,2021,37(10):910-916.
- [26] 覃君良,蘇志恒.基於網絡藥理學及分子對接探討靈芝的免疫調節機制[J].中國臨床新醫學,2022,15(06):522-527.
- [27] Tao, Yan-gu, et al. Exploring molecular mechanism of Huangqi in treating heart failure using network pharmacology.Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2020 (2020).
- [28] The Consortium Gene Ontology. Expansion of the gene ontology knowledgebase and resources. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1): D331-D338.
- [29] Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, et al. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(D1):D353-D361.
- [30] Sliva D, Loganathan J, et al. Biological activities of triterpenes isolated from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*[J]. *Planta Medica*, 2015, 81(11).
- [31] Basaiygo M, Śliwińska J, Żbikowska-Gotz M, et al. Assessment of serum concentrations of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 2 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in atopic dermatitis in correlation with disease severity and epidermal barrier parameters. *Postepy Dermatol Alergol*. 2021;38(5):773-779.
- [32] 王醒荷,羅賽,徐鴻鑫,等.紫外線對皮膚基質金屬蛋白酶及相關通路影響的研究進展[J].中國美容整形外科雜誌,2018,29(05):316-318.
- [33] Bharadwaj, Shiv, et al. Density functional theory and molecular dynamics simulation support *Ganoderma lucidum* triterpenoids as broad range antagonist of matrix metalloproteinases.*Journal of Molecular Liquids* 311 (2020): 113322.
- [34] Parnia S, Frew A J. Chemokines and atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2000, 105: 892-894.
- [35] Gittler JK, Shemer A, Suárez-Fariñas M, et al. Progressive activation of T(H)2/T(H)22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(6):1344-1354.
- [36] Dainichi T, Kitoh A, Otsuka A, et al. The epithelial immune microenvironment (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis. *Nature Immunology*, 2018, 19(12): 1286-1298.
- [37] Dudhgaonkar S, Thyagarajan A, Sliva D. Suppression of the inflammatory response by triterpenes isolated from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(11):1272-1280.
- [38] Xu J, Xiao C, Xu H, et al. Anti-inflammatory effects of *Ganoderma lucidum* sterols via attenuation of the p38 MAPK and NF-κB pathways in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol*. 2021;150:112073.
- [39] Kezic S, O'Regan GM, Lutter R, et al. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with enhanced expression of IL-1 cytokines in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis and in a murine model of filaggrin deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(4):1031-9.e1.
- [40] Abramovits W, Rivas Bejarano JJ, Valdecantos WC. Role of interleukin 1 in atopic dermatitis. *Dermatol Clin*. 2013;31(3):437-444.
- [41] Clausen M L, Kezic S, Olesen C M, et al. Cytokine concentration across the stratum corneum in atopic dermatitis and healthy controls[J]. *Scientific reports*, 2020, 10(1): 1-8.
- [42] Lyubchenko T, Collins HK, Goleva E, et al. Skin tape sampling technique identifies proinflammatory cytokines in atopic dermatitis skin. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2021;126(1):46-53.e2.
- [43] Wu YL, Han F, Luan SS, et al. Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and Their Potential Anti-inflammatory Effects. *J Agric Food Chem*. 2019;67(18):5147-5158.
- [44] Hobbs RM, Silva-Vargas V, Groves R, Watt FM. Expression of activated MEK1 in differentiating epidermal cells is sufficient to generate hyperproliferative and inflammatory skin lesions. *J Invest Dermatol*. 2004;123(3):503-515.
- [45] Zhang YY, Cardones ARG, Jin YG, et al. Topical administration of mek inhibiting agents for the treatment of skin disorders. US patent. US11395823B2. 2022;7.
- [46] Su L, Liu L, Jia Y, et al. *Ganoderma* triterpenes retard renal cyst development by downregulating Ras/MAPK signaling and promoting cell differentiation. *Kidney Int*. 2017;92(6):1404-1418.
- [47] Sohretoglu D, Huang S. *Ganoderma lucidum* Polysaccharides as An Anti-cancer Agent. *Anticancer Agents Med Chem*. 2018;18(5):667-674.
- [48] Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 Cells. *Annual Review of Immunology*, 2009, 27: 485-517.
- [49] Koga C, Kabashima K, Shiraiishi N, et al. Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*, 2008, 128(11): 2625-2630.
- [50] Wei B, Zhang R, Zhai J, et al. Suppression of Th17 Cell Response in the Alleviation of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis by *Ganoderma lucidum* Polysaccharides. *J Immunol Res*. 2018;2018:2906494.
- [51] Zhang Y, Wang X, Yang X, Yang X, Xue J, Yang Y. Ganoderic Acid A To Alleviate Neuroinflammation of Alzheimer's Disease in Mice by Regulating the Imbalance of the Th17/Tregs Axis. *J Agric Food Chem*. 2021;69(47):14204-14214.

**Abstract:** Objective: This study aims to explore the molecular mechanisms and bioactive compounds of ganoderma in treating atopic dermatitis (eczema) by network pharmacology analysis. Methods: The components of ganoderma and their corresponding targets were collected from the TCMSP database and Swiss Target Prediction online website, respectively. Eczema-related genes were collected from OMIM, GeneCards and TTD databases. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed using a STRING database after obtaining the common molecules of ganoderma targets and eczema-related genes. The Cytoscape3.8.2 software and R programming language were

used to analyze and visualize the networks. Results: A total of 61 active ingredients of ganoderma were collected, and 101 common genes of Ganoderma targets and eczema-related genes were identified. By analyzing the "herb-bioactive compound-target-disease" network, we found that ganoderma acid DM and (+) methyl ganolucidate A may be the main bioactive compounds of ganoderma in treating eczema. PPI network analysis shows that tumor necrosis factor (TNF), interleukin 6 (IL6), interleukin 1B (IL1B), mitogen-activated protein kinase Kinase 1 (MAP2K1) and matrix metalloproteinase 3 (MMP3) are the core anti-eczema targets of ganoderma. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis showed that Th17 cell differentiation and TNF signaling pathway may be involved in the anti-eczema effects of ganoderma. Conclusion: The core components of Ganoderma in treating eczema are ganoderma acid DM and (+) methyl ganolucidate A. The core targets involved in the anti-eczema effects of ganoderma are TNF, interleukin (IL)-6, IL1B, MAP2K1, and MMP3, while the involved core pathways are Th17 cell differentiation and the TNF signaling pathway. This study lays a foundation for investigating the anti-eczema mechanisms and bioactive compounds of ganoderma.

Keywords: Ganoderma; Atopic Dermatitis; Eczema; Network pharmacology; Mechanisms of actions; Bioactive compounds

( 編委：嚴新傑審校2022.12.21 )

香港註冊中醫學會

Copyright HKRCMP All Rights Reserved