

刘雪松, 江波涛, 张艳, 等. 基于数据挖掘、网络药理学和动物试验筛选抗猪源产肠毒素大肠杆菌中药单体 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (8): 63-73.

LIU X S, JIANG B T, ZHANG Y, et al. Screening of anti-porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* monomers from traditional Chinese medicine based on data mining, network pharmacology, and animal experimentation [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (8): 63-73.

基于数据挖掘、网络药理学和动物试验筛选抗猪源产肠毒素大肠杆菌中药单体

刘雪松^{1,2}, 江波涛^{1,2*}, 张艳^{1,2}, 孟维珊^{1,2}, 薛沾枚^{1,2}, 李莉¹,
王爽^{1,2}, 徐婷婷¹, 吴宪¹, 陈曦^{1,2}

(1. 黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161005;

2. 黑龙江省兽药重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘要: 旨在通过数据挖掘、网络药理学筛选出抗猪源产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) 的中药单体物质。采用数据挖掘技术对中国知网等数据库中文章进行检索, 基于 SPSS 软件进行中药关联规则分析与聚类分析, 综合筛选出核心中药; 通过网络药理学筛选出抗猪源 ETEC 的中药单体物质和靶点; 将核心单体物质和核心靶点进行分子对接验证; 选取 60 只 SPF 级雌性 ICR 小鼠随机分为空白对照组 (无菌 PBS 灌胃)、ETEC 模型组 (ETEC 菌液灌胃)、槲皮素组、黄芩苷组和黄连素组, ETEC 菌液均上午灌胃, 下午灌胃 100 mg/kg 相应中药单体; 采用实时荧光定量 PCR 检测空肠组织白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 和 B 细胞淋巴瘤-2 (BCL-2) 的 mRNA 表达量, 并通过 Western blot 分析靶蛋白水平。结果: 共获得 48 个中药处方和 90 味中药, 基于数据挖掘技术筛选出甘草、茯苓、白术、黄连和黄芩为抗猪源 ETEC 的核心中药; 搜集得到 5 味中药的 137 个单体和 262 个靶点, 与 240 个 ETEC 疾病靶点进行交集映射, 获得 14 个交集靶点, 经蛋白互作网络分析, 确定 IL-6、TNF 和 BCL-2 为核心靶点; 通过网络药理学筛选出槲皮素、黄芩苷和黄连素为潜在活性单体; 分子对接显示 3 种单体物质与靶点结合活性良好; 动物试验表明, 与 ETEC 模型组相比, 各中药单体组均显著抑制 IL-6、TNF- α 的 mRNA 表达量, 并上调 BCL-2 mRNA 的表达量, 蛋白水平变化趋势与基因趋势一致。综上, 本研究系统筛选出槲皮素、黄芩苷和黄连素 3 种具有潜在抗猪源 ETEC 活性的中药单体物质, 并初步揭示了其多靶点、多通路的抗菌作用机制, 为中药单体的现代化研究提供了理论依据。

关键词: 产肠毒素大肠杆菌; 中药单体物质; 数据挖掘; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: S853.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2026)08-0063-11

Screening of anti-porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* monomers from traditional Chinese medicine based on data mining, network pharmacology, and animal experimentation

LIU Xuesong^{1,2}, JIANG Botao^{1,2*}, ZHANG Yan^{1,2}, MENG Weishan^{1,2}, XUE Zhanmei^{1,2}, LI Li¹,
WANG Shuang^{1,2}, XU Tingting¹, WU Xian¹, CHEN Xi^{1,2}

(1. Branch of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161005, China;

2. Heilongjiang Key Laboratory of Veterinary Drugs, Qiqihar 161005, China)

Abstract: This study aimed to screen active monomers from traditional Chinese medicine with anti-porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* effects, using data mining and network pharmacology techniques. The experiment involved retrieving articles from databases such as China National Knowledge Infrastructure using data mining techniques, followed by association rule analysis and cluster analysis using SPSS software to identify core herbal medicines. Network pharmacology was employed to screen potential traditional Chinese medicine monomer compounds and their targets against porcine ETEC. Molecular docking was performed to validate the interactions between core monomer compounds and core targets. Then, sixty SPF female ICR mice were randomly allocated into five experimental groups: the blank control group

收稿日期: 2025-07-02; 修回日期: 2026-06-05

基金项目: 黑龙江省省属科研院所科研业务费项目 (CZKYF2025-1-B011)

第一作者: 刘雪松, 男, 硕士, 助理研究员

* 通信作者: 江波涛, 硕士, 研究员, 研究方向为畜禽健康养殖研究, E-mail: jbt999@126.com。

(administered with sterile PBS via gavage), the ETEC model group (administered with ETEC bacterial suspension via gavage), the quercetin treatment group, the baicalin treatment group, and the berberine treatment group. The treatment groups received ETEC suspension in the morning followed by their respective herbal monomers (100 mg/kg body weight) in the afternoon. Finally, real-time quantitative PCR was used to measure the mRNA expression of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF)- α , and b-cell lymphoma-2 (BCL-2) in jejunal tissues; and western blot was performed to analyze target protein levels. The results showed that 48 traditional Chinese medicine prescriptions and 90 herbs were obtained through data mining which identified *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Poria cocos*, *Atractylodes macrocephala*, *Coptis chinensis*, and *Scutellaria baicalensis* as core anti-porcine ETEC herbs. A total of 137 monomeric compounds and 262 targets from these five herbs were collected, and intersection mapping with 240 ETEC-related disease targets yielded 14 intersection targets. The protein-protein interaction network analysis identified IL-6, TNF, and BCL-2 as the core targets. Network pharmacology screening revealed quercetin, baicalin, and berberine as potential active monomers. Molecular docking showed strong binding activity between these 3 monomers and their respective targets. The animal experiments showed that, compared with the ETEC model group, all monomer treatment groups significantly suppressed the mRNA expression of IL-6 and TNF- α while upregulating BCL-2 expression. Protein-level changes were consistent with gene expression trends. In summary, this study systematically identified quercetin, baicalin, and berberine as 3 monomeric compounds with potential anti-porcine ETEC activity, and preliminarily elucidated their multi-target, multi-pathway antibacterial mechanisms; which provided a theoretical support for modern research on traditional Chinese medicine monomers.

Keywords: enterotoxigenic *Escherichia coli*; traditional Chinese medicine monomers; data mining; network pharmacology; molecular docking

产肠毒素性大肠杆菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC) 是导致人类和幼畜腹泻的主要病原体之一, 其致病机制依赖于黏附素和肠毒素的协同作用。ETEC 通过其特异性黏附素与宿主肠道上皮细胞表面的受体结合, 从而在肠道内成功定殖。定殖后, ETEC 大量增殖并分泌肠毒素。这些肠毒素通过作用于肠道上皮细胞及其紧密连接, 干扰肠道内水盐离子的正常代谢平衡, 最终引发腹泻症状。ETEC 常引起仔猪的黄痢和白痢, 对生猪养殖行业影响较大^[1]。目前, 疫苗接种及抗生素治疗是防控猪源 ETEC 的主要手段。然而, 疫苗只能涵盖部分黏附素及肠毒素, 免疫效果不全面。耐药菌株的快速涌现使得抗生素治疗临床疗效急剧下降, 亟需开发新型抗猪源 ETEC 药物^[2]。

中草药中含有多种单体物质, 能通过多种途径发挥抗菌作用, 可直接作用于细菌细胞, 通过破坏细胞膜结构或干扰细菌的糖代谢、抑制核酸合成等机制抑制细菌生长。还可增强机体免疫功能, 从而间接产生抗菌效应^[3]。中药单体作为抗生素的潜在替代品, 在畜牧养殖和兽医临床中展现出广阔的应用前景。相较于传统抗生素, 中药单体具有天然低毒、残留风险小、耐药性发展缓慢等优势, 同时能够通过多靶点调控、多系统协同的作用机制, 在抑菌抗感染的同时增强动物机体的免疫功能^[4]。

多项研究表明, 中药单体对猪源 ETEC 具有良好的抗菌活性, 但其具体作用靶点与分子机制尚未完全阐明, 限制了中药单体在抗猪源 ETEC 领域的深入开发和临床应用。近年来, 随着数据挖掘、网络药理学和分子对接等现代研究方法的兴起, 为系统解析中药

单体抗猪源 ETEC 的作用机制提供了新的研究思路和技术支撑。本研究通过数据挖掘技术探究抗猪源 ETEC 常用中药单体, 并通过网络药理学和动物试验探究中药单体抗猪源 ETEC 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 数据挖掘

1.1.1 文献来源和检索策略

通过检索中国知网 (CNKI)、中国学术期刊数据库 (万方) 和中文期刊数据库 (维普) 获得抗 ETEC 相关文献, 检索时限设定为建库至 2025 年 4 月 2 日。以“产肠毒素性大肠杆菌”、“ETEC”、“仔猪黄痢”、“仔猪白痢”、“细菌性腹泻”、“中医”、“中药”、“中医药”、“抗菌”、“抗感染”为检索词进行篇名、关键词、摘要检索, 模糊匹配。将检索结果导入 NoteExpress 软件进行去重。

1.1.2 文献纳排标准

纳入标准: ① 研究类型为试验研究、中药治疗猪源 ETEC 临床研究、综述 (仅限系统性综述和荟萃分析); ② 研究对象为明确研究猪源 ETEC 的文献; ③ 干预措施为治疗方法明确提出为中药治疗。

排除标准: ① 数据不完整, 无法提取有效信息的文献; ② 诊断与用药依据不明确的文献; ③ 疗效评价不明确的文献。

1.1.3 数据规范

对搜集文献中的中药方剂进行整理, 经过两轮审核后录入以建立数据库。根据《中国药典》、《中兽医学》和《中华草本》对收录的药物进行规范化处理。

1.1.4 数据分析

应用 Excel 软件进行中药使用频次分析。应用 SPSS Modeler 软件中的 Apriori 算法对中药进行关联规则分析, 设置最低支持度 5%, 最小置信度 80%。增益>1 表示二者有很强的关联, 增益=1 表示二者没有关联, 增益<1 表示二者为无效的强关联。应用 SPSS Statistics 软件进行聚类分析。对频次 ≥ 5 的中药进行聚类分析, 设置距离类型为欧氏距离, 聚类方法为最长距离法。

1.2 网络药理学

1.2.1 中药单体物质筛选及作用靶点筛选

利用中药系统药理学数据库 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com>), 输入数据挖掘得到的组方中药名称, 检索单体物质。以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (drug like, DL) $\geq 30\%$ 为条件筛选中药单体, 并收集中药单体作用靶点。

1.2.2 疾病靶点筛选

以 “enterotoxigenic *Escherichia coli*” 为关键词通过 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://omim.org/>) 查询疾病基因靶点。

1.2.3 交集靶点的筛选及网络的建立

通过 Venny 2.1 操作平台 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 将中药单体靶点与疾病靶点进行交集映射, 获得交集靶点。通过 Cytoscape 绘制中药-单体物质-交集靶点网络。

1.2.4 蛋白互作网络的建立及核心靶点的筛选

将交集靶点导入到 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 设置 “Multiple proteins”, 物种选择 “*Sus scrofa*”, 设置相互作用评分为 0.7, 隐藏未连接蛋白, 获得蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络。将 PPI 网络导入到 Cytoscape 软件中进行拓扑学分析, 根据节点度值筛选核心靶点。

1.2.5 基因功能注释富集分析

将核心靶点导入到 DAVID 数据库 (<https://david-bioinformatics.nih.gov/>), 进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 信号通路富集分析和基因本体 (gene ontology, GO) 功能分析。在 GO 功能分析中, 基于基因数目, 选取生物学过程 (biological process, BP), 细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 三大类目中显著富集的前 5 个条目进行可视化展示。同时, 在 KEGG 信号通路富集分析环节, 对显著性最高的前 10 条信号转导

通路进行图形化呈现。

1.2.6 中药单体-交集靶点-信号通路网络的建立

应用 Cytoscape 软件将中药单体、交集靶点和信号通路进行网络连接并进行拓扑分析, 根据节点度值筛选出核心中药单体物质。

1.3 分子对接

从 PDB 蛋白质数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 获取核心靶点的三维晶体结构, 并通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载候选中药单体的 2D 结构。利用 AutoDockTools 进行蛋白前处理包括去除水分子、加氢和计算电荷等, 并将配体分子转换为 PDBQT 格式。采用 Autodock Vina 1.12 进行分子对接, 设置对接参数, 定义结合口袋, 计算对接能。借助 Pymol 2.5.4 对结构进行可视化分析。

1.4 动物试验

1.4.1 试验材料

ETEC K88 菌株由黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院从腹泻仔猪中分离得到, 并由黑龙江省兽用药物重点实验室保存。槲皮素 (含量 $\geq 98\%$)、黄芩苷 (含量 $\geq 90\%$)、黄连素 (含量 $\geq 97\%$), 均购自陕西泰芝康生物科技有限公司。RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒和实时荧光定量 PCR 试剂盒, 均购自北京宝日生物技术有限公司。B 细胞淋巴瘤-2 (BCL-2) 抗体、白介素-6 (IL-6) 抗体、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 抗体, 均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。NP-40 裂解液、蛋白电泳凝胶制备试剂盒, 均购自陕西中晖赫彩生物医药科技有限公司。

1.4.2 实验动物

选取 60 只 SPF 级 6 周龄雌性 ICR 小鼠作为试验对象, 购自齐齐哈尔市医学院实验动物中心。饲养温度维持在 22~23℃, 湿度维持在 50%~55%, 自由采食和饮水, 适应性饲养 2 周, 待小鼠达到 8 周龄后进行试验。

1.4.3 试验设计

按照文献 [5] 的方法进行 ETEC 菌液的制备。将 60 只达到 8 周龄的小鼠随机分为 5 组, 每组 12 只。5 个组别分别为空白对照组、ETEC 模型组、槲皮素组、黄芩苷组和黄连素组。空白对照组小鼠在试验期间上午和下午均进行 0.2 mL 无菌 PBS 溶液灌胃处理; ETEC 模型组小鼠在试验期间上午和下午均进行 0.2 mL 1×10^9 CFU/mL ETEC 菌液灌胃处理; 槲皮素组、黄芩苷组和黄连素组小鼠均在上午灌胃 0.2 mL 1×10^9 CFU/mL ETEC 菌液, 下午灌胃中药单体溶液。中药单体灌胃剂量为 100 mg/kg, 该剂量参考了前期文献报道中槲皮素、黄芩苷和黄连素在抗炎、抗菌及调节肠道功能研究中显示有效且安全的剂

量范围^[6-8]，并结合本实验室预试验结果确定。试验共进行 2 周。

1.4.4 实时荧光定量 PCR 检测

在试验的最后 1 d，应用 RNA 提取试剂盒提取小鼠空肠的总 RNA，按照反转录试剂盒说明书，对空肠 RNA 进行反转录合成 cDNA。采用实时荧光定量 PCR 检测各个试验组小鼠空肠中 IL-6、TNF-α 和 BCL-2 的 mRNA 的表达量。参考文献 [9-10] 合成引物序列，引物序列如表 1 所示。PCR 反应体系：cDNA 模版 2 μL，上下游引物各 1 μL，TB Green Premix Ex Taq 12.5 μL，灭菌双蒸水补充至 25 μL。PCR 反应程序为 95 ℃ 30 s；95 ℃ 5 s，60 ℃ 34 s，共 40 个循环。以熔解曲线确定引物特异性。以 β-actin 为内参基因，采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 mRNA 相对表达量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	引物序列 (5'→3')	参考文献
IL-6	F: TGGGACTGATGCTGCTGACA	[9]
	R: ACAGGTCTGTTGGGACTGCT	
TNF-α	F: CTGTAGCCCACGTCGTAGCA	[10]
	R: AGGTACAACCCATCGGCTGG	
BCL-2	F: ACGGTGGTGGAGAACTCTTCAG	[10]
	R: GGTGTGCAGATGCCGTTTCAG	
β-actin	F: CTACCTCATGAAGATCCTGACC	[10]
	R: CACAGCTTCTCTTTGATGTCAC	

1.4.5 空肠组织中靶点蛋白相对表达水平测定

将空肠组织进行研磨处理，并应用裂解液进行裂解处理后，以 12 000 r/min 的条件离心 30 min，获取上清液。应用二喹啉甲酸（BCA）蛋白浓度测定试剂盒对空肠组织上清液进行蛋白浓度测定，并根据测定结果使各样品浓度相同。将提取的空肠蛋白和上样缓冲液按照 4：1 的比例混合，100 ℃ 条件下加热变性 10 min。应用 SDS-PAGE 方法检测各组空肠组织中 IL-6、TNF-α 和 BCL-2 蛋白的表达水平。

1.5 数据统计与分析

应用 SPSS 20.0 软件分析数据，组间比较采用单因素方差分析，当 $P<0.05$ 表示差异显著。数据采用“平均数±标准差”记录。

2 结果与分析

2.1 文献搜索

共检索到 2 263 篇文献，去重后根据纳排标准对文献进行筛选，共纳入文献 54 篇，包含处方 48 个，中药 90 味，中药总使用频次为 247 次。

2.2 中药频次分析

将 90 味中药进行频次统计，根据频次高低进行

排序，结果如表 2 所示。排名前 10 的中药分别是甘草、黄连、黄芩、白术、茯苓、白头翁、金银花、秦皮、葛根和诃子。

表 2 中药使用频次分析（排名前 10）

中药	频次	频率/%
甘草	19	7.69
黄连	17	6.88
黄芩	13	5.26
白术	10	4.05
茯苓	9	3.64
白头翁	8	3.23
金银花	7	2.83
秦皮	7	2.83
葛根	6	2.42
诃子	6	2.42

2.3 药物关联规则分析

将 90 个处方进行中药关联规则分析，共得到 127 条关联规则，将关联规则可视化如图 1 所示。根据支持度和置信度进行排序，结果如表 3 所示。结果发现，葛根→黄连、葛根→甘草、葛根+黄芩→黄连、葛根+黄芩→甘草、葛根+黄连→甘草排名靠前。

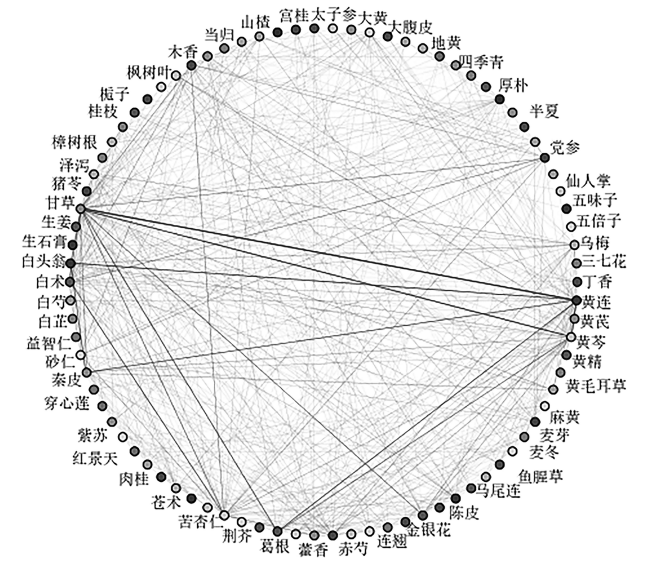


图 1 药物关联规则网络

2.4 中药聚类分析和因子分析

将频次排名前 10 的药物进行聚类分析，结果如图 2 所示。通过聚类分析可将中药分为三类；第一类，包括甘草、茯苓、白术、黄连和黄芩；第二类，包括葛根和金银花；第三类，包括白头翁、秦皮和诃子。

表 3 中药组合关联规则

编号	前项	后项	支持度/%	置信度/%	增益值
1	葛根	黄连	12.50	100	2.82
2	葛根	甘草	12.50	100	2.53
3	葛根、黄芩	黄连	10.42	100	2.82
4	葛根、黄芩	甘草	10.42	100	2.53
5	葛根、黄连	甘草	12.50	100	2.53
6	秦皮、黄芩	白头翁	6.25	100	6.00
7	黄柏、黄连	秦皮	6.25	100	5.86
8	砂仁、党参	茯苓	6.25	100	5.33
9	砂仁、白术	茯苓	6.25	100	5.33
10	砂仁、甘草	茯苓	6.25	100	5.33

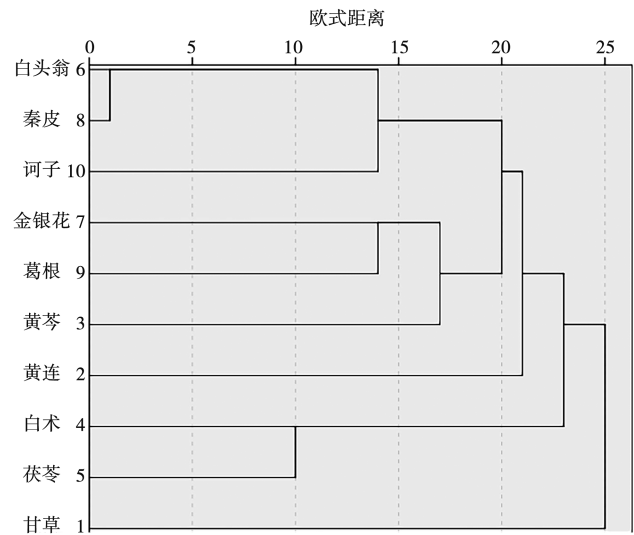


图 2 基于平均联接的聚类谱系

2.5 核心中药筛选

基于数据挖掘结果，选定甘草、茯苓、白术、黄连和黄芩为防治猪源 ETEC 的核心中药进行下一步的网络药理学分析。

2.6 网络药理学分析

2.6.1 中药单体及交集靶点的获取

通过 TCMSP 网站对中药单体进行筛选，共筛选出非重复中药单体 137 个，其中白术 3 个，茯苓 6 个，甘草 87 个，黄连 8 个，黄芩 30 个，甘草和黄连共有 1 个，黄芩和黄连共有 2 个。通过靶点搜集共获得非重复中药单体靶点 262 个。通过 GeneCards 和 OMIM 数据库搜集到非重复 ETEC 靶点 240 个。通过韦恩图将中药单体靶点和 ETEC 靶点进行交集映射，结果如图 3 所示，共获得交集靶点 14 个。交集靶点具体情况如表 4 所示。

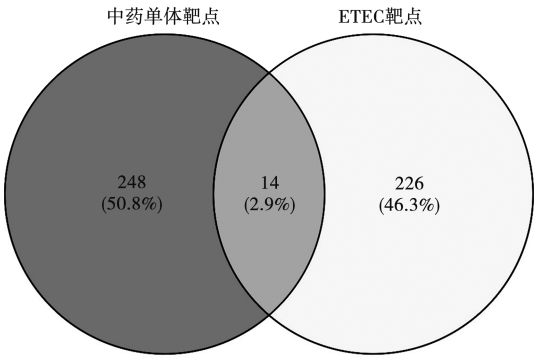


图 3 交集靶点韦恩图分析

表 4 交集靶点基因信息

序号	中文名称	英文全称（缩写）
1	B 细胞淋巴瘤-2	B-cell lymphoma-2（BCL-2）
2	肿瘤坏死因子	tumor necrosis factor（TNF）
3	谷胱甘肽 S-转移酶 P1	glutathione S-transferase P1（GSTP1）
4	白介素-6	interleukin-6（IL-6）
5	C-C 基序趋化因子配体 2	C-C motif chemokine 2（CCL2）
6	白介素-2	interleukin-2（IL-2）
7	干扰素-γ	interferon-γ（IFN-γ）
8	对氧磷酶 1	paraoxonase 1（PON1）
9	白介素-10	interleukin-10（IL-10）
10	白介素-8	interleukin-8（IL-8）
11	聚 ADP-核糖聚合酶 1	poly [ADP-ribose] polymerase 1（PARP1）
12	核因子 κB 抑制蛋白激酶 α 亚基	inhibitor of nuclear factor κ-B kinase subunit α（IKKα）
13	白介素-4	interleukin-4（IL-4）
14	β-分泌酶 1	β-secretase 1（BACE1）

2.6.2 PPI 网络的建立及分析

将 14 个交集靶点导入到 String 数据库中进行 PPI 网络分析，结果如图 4 所示。根据节点度值将靶点进

行排序，发现排名前 3 的靶点分别为 IL-6、TNF 和 BCL-2。

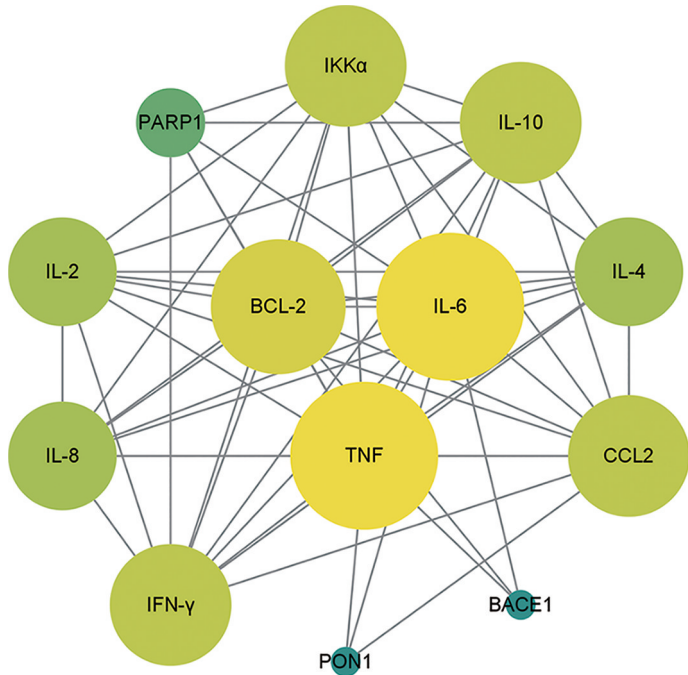


图 4 PPI 网络分析结果

2.6.3 GO 功能和 KEGG 信号通路富集分析

将交集靶点进行 GO 功能分析，发现获得生物学过程（BP）条目 139 个、细胞组分（CC）条目 7 个和分子功能（MF）条目 4 个。将排名前 5 的 BP、CC 条目以及 MF 条目进行可视化处理，结果如图 5 所示。BP 条目包括基因表达的正调控、DNA 模版转录的正调控、RNA 聚合酶 II 介导的转录正调控和细胞对脂多糖的反应；CC 条目包括细胞膜筏、神经元胞体、质膜外侧面、胞外区域和细胞外间隙；MF 条

目包括趋化因子作用、生长因子作用、蛋白结合和细胞因子作用。

通过 KEGG 信号通路富集分析共获得 60 条信号通路。对富集程度最高的前 10 条通路进行气泡图可视化分析，结果如图 6 所示。排名前 10 的信号通路包括细胞因子-细胞因子受体相互作用、TNF、耶尔森菌感染、Th1 和 Th2 细胞分化、细胞受体、细胞凋亡、IL-17、疟疾、肠道 IgA 免疫网络和炎症性肠病信号通路。

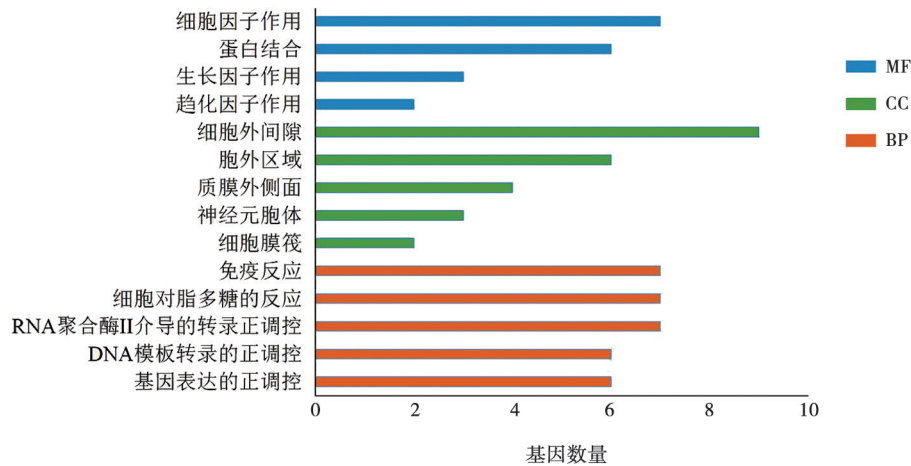


图 5 GO 功能富集分析

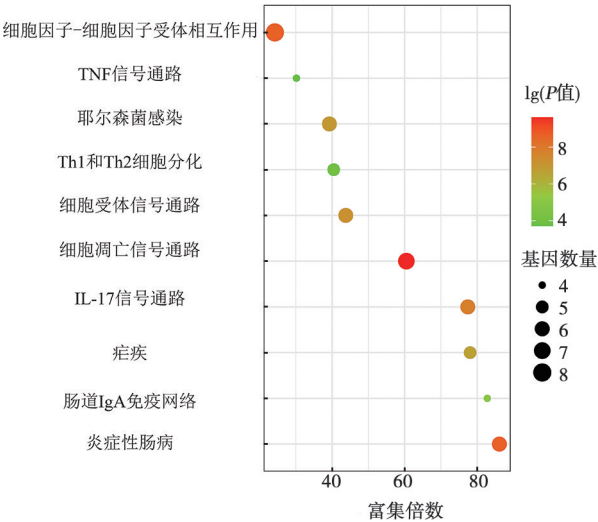


图 6 KEGG 信号通路富集

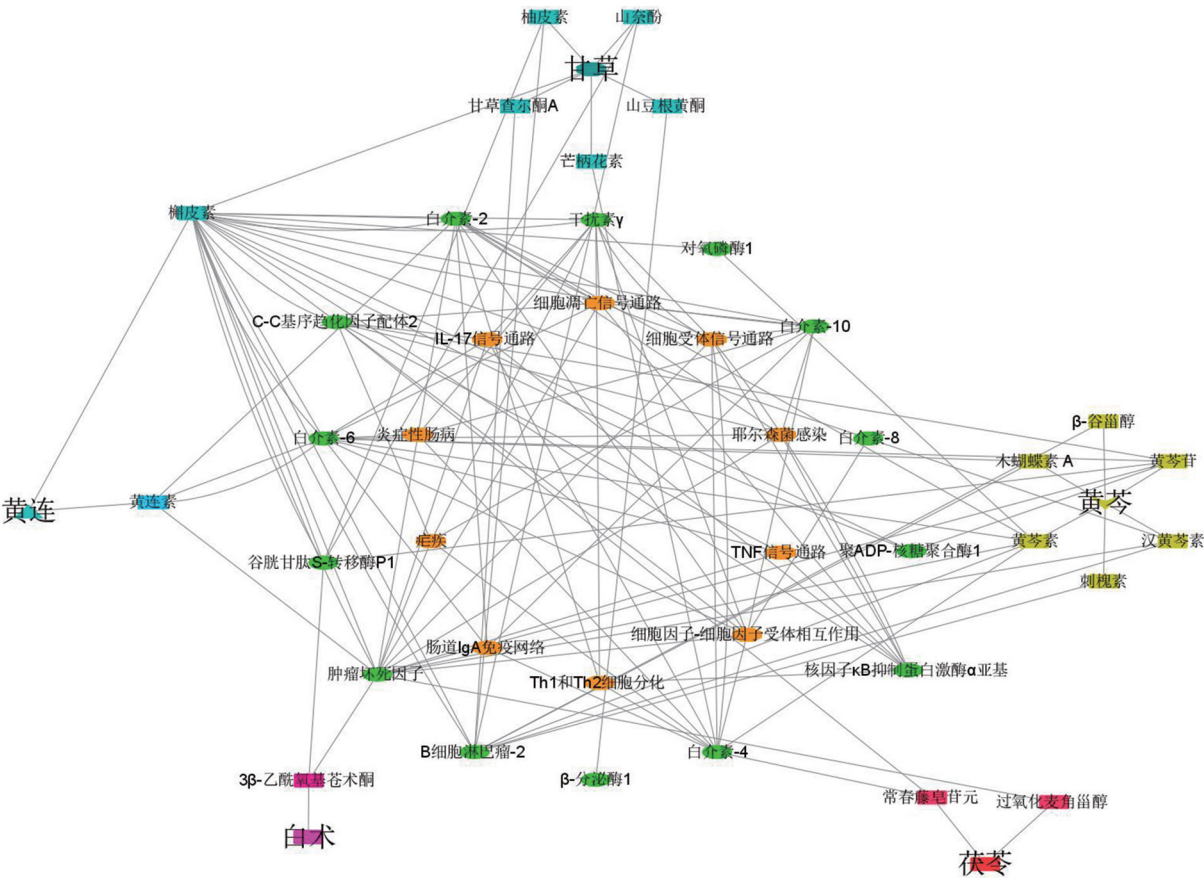


图 7 中药单体-交集靶点-信号通路网络

2.7 分子对接

将PPI网络中排名前3的核心靶点（IL-6、TNF、BCL-2）和中药单体-交集靶点-信号通路中排名前3的中药单体（槲皮素、黄芩苷、黄连素）进行分子对接。如表5所示，中药单体与靶点的分子对接能均小于-20.9 kJ/mol，表明中药单体物质和靶点结合良好。槲皮素、黄芩苷和黄连素与各靶点间的分子对接3D图像如图8所示。

2.6.4 中药单体-交集靶点-信号通路网络

将筛选的5种中药、137个中药单体、14个交集靶点和前10的信号通路进行网络连接，并进行拓扑学分析。获得的中药单体-交集靶点-信号通路网络共有45个节点和128条边（图7）。根据节点度值进行排序，发现排名前3的中药单体物质分别为甘草和黄连共有的槲皮素（MOL000098）、黄芩的黄芩苷（MOL002776）和黄连的黄连素（MOL001454）。

表 5 中药单体物质和靶点分子对接结合能

靶点	分子对接结合能/ (kJ·mol ⁻¹)		
	槲皮素	黄芩苷	黄连素
IL-6	-33.9	-35.6	-36.0
TNF	-33.5	-33.9	-32.2
BCL-2	-33.9	-38.1	-30.5

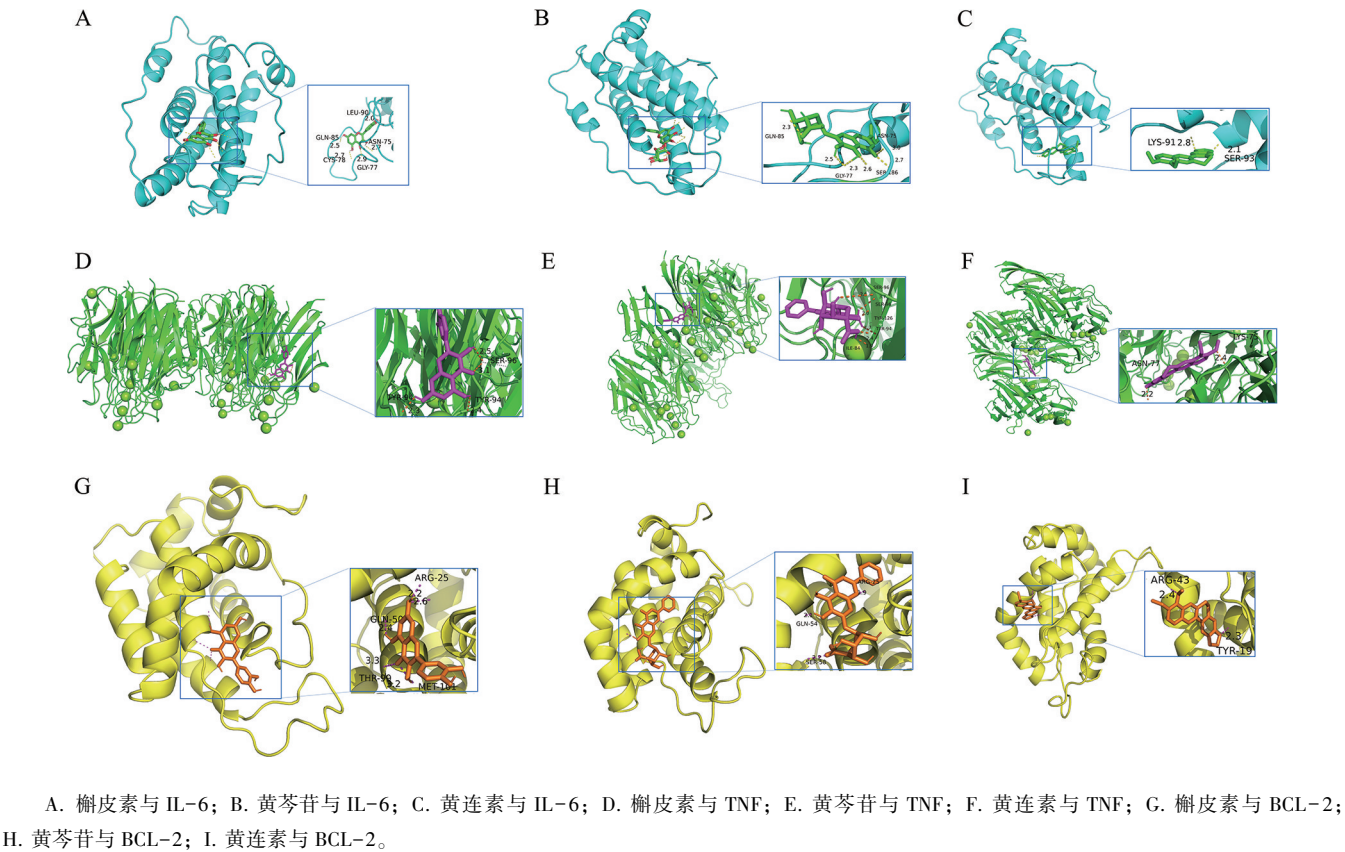


图 8 分子对接结果

2.8 动物试验

2.8.1 实时荧光定量 PCR 检测

实时荧光定量 PCR 检测结果如图 9 所示。与空白对照组相比，ETEC 模型组小鼠空肠组织中 IL-6、TNF-α 的 mRNA 表达量显著提高 ($P<0.05$)，BCL-

2 的 mRNA 表达量显著降低 ($P<0.05$)。与 ETEC 模型组相比，槲皮素组、黄芩苷组和黄连素组小鼠经过中药单体干预后，空肠组织中 IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达量显著下调 ($P<0.05$)，而 BCL-2 的 mRNA 表达量极显著上调 ($P<0.01$)。

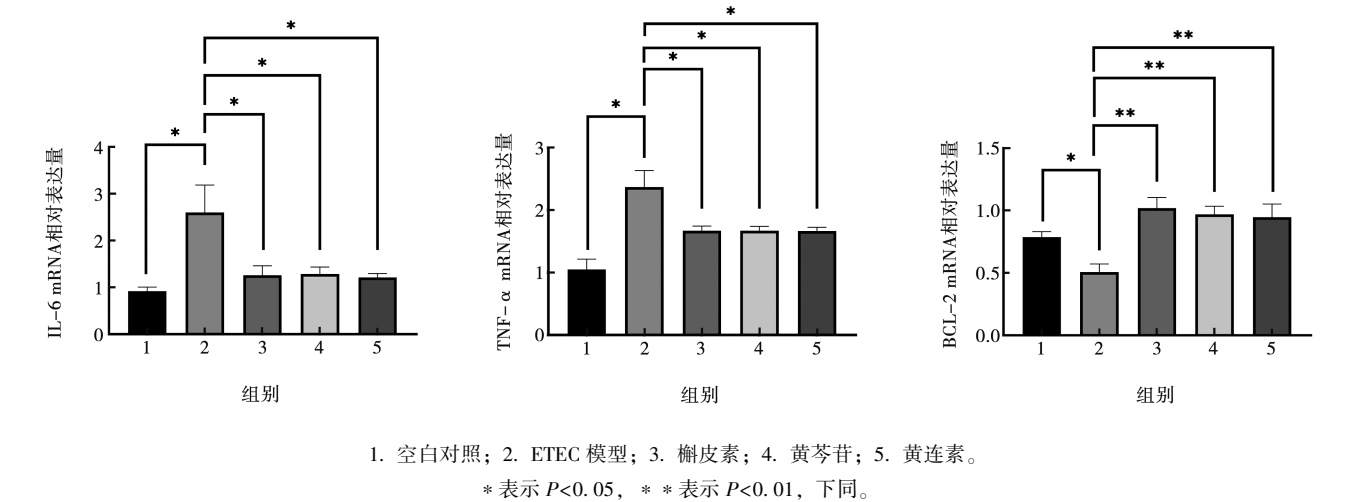
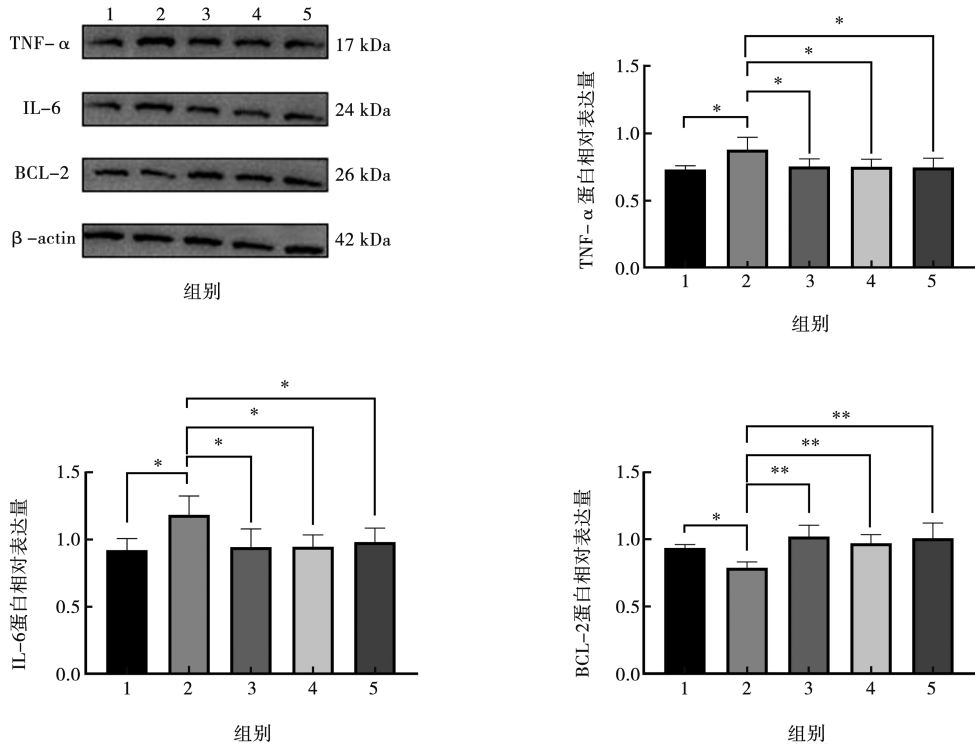


图 9 空肠组织中不同基因相对表达量比较

2.8.2 空肠组织中靶点蛋白含量检测

空肠组织中靶点蛋白含量结果如图 10 所示。与空白对照组相比,ETEC 模型组小鼠空肠组织中 IL-6、TNF- α 蛋白含量显著增加 ($P<0.05$),BCL-2 含

量显著下降 ($P<0.05$)。与 ETEC 模型组小鼠相比,槲皮素组、黄芩苷组和黄连素组小鼠空肠组织中 IL-6、TNF- α 蛋白含量显著下调 ($P<0.05$),BCL-2 蛋白含量极显著上调 ($P<0.01$)。



1. 空白对照; 2. ETEC 模型; 3. 槲皮素; 4. 黄芩苷; 5. 黄连素。

图 10 空肠组织中不同蛋白相对表达量比较

3 讨论

ETEC 的致病机制可分为定殖和释放毒素两个关键阶段。首先,ETEC 通过其特异性黏附素菌毛与宿主肠道上皮细胞表面的特定受体发生高亲和性结合,实现肠道定殖。随后,定殖成功的菌体开始大量分泌耐热肠毒素 (heat-stable enterotoxin, ST) 或不耐热肠毒素 (heat-labile enterotoxin, LT),这些毒素通过激活细胞内信号通路,导致电解质紊乱和大量水分分泌,最终引发腹泻^[11]。临床上治疗大肠杆菌病的方法主要还是使用抗生素,但是抗生素带来的严重耐药性问题,迫使人们不得不拓展治疗方法^[12]。中药中含有多种具有生物活性的单体物质,这些物质在防治 ETEC 感染方面展现出显著潜力。中药中的单体物质具有多靶点、多通路防治细菌疾病的优势,且不易诱导细菌产生多重耐药性。中药单体物质不仅可以直接抑制 ETEC 的生长和毒力因子表达,还能调节宿主的免疫反应,减少炎症损伤,促进肠道屏障功能的修复^[4]。因此,中药单体在细菌性疾病防治方面具有

广阔的应用前景。

根据数据挖掘结构,本次研究确定甘草、茯苓、白术、黄连和黄芩为防治 ETEC 核心中药。甘草、茯苓和白术为补益药,黄连和黄芩为清热药。甘草和茯苓归心、肺经,白术归脾、胃经,黄连归心、肝、胃、大肠经,黄芩归肺、胆、大肠经^[13]。传统中兽医认为,仔猪腹泻是因为寒热虚实错杂之候,病机关键在于脾胃虚弱,运化失职,以致湿热内生,壅滞中焦,气机不畅,浊邪不降。中焦气滞则心下痞满或胀痛,脾虚气弱则神疲乏力、倦怠懒言,胃失和降、气逆于上则恶心呕吐,脾失健运、湿浊下注则肠鸣辘辘或腹泻,腹泻主要是因为湿邪和脾胃虚弱造成的,治疗时应补虚泄热,除湿消痞^[14]。甘草可有效补脾益气,清热解毒。茯苓有沉降的特性,促进机体水分渗下,可健脾祛湿^[15]。白术味甘性温,具有补脾和胃,燥湿利水的功效。传统医书《本草通玄》中记载:“白术,补脾胃之药,更无出其右者”^[16]。黄连的主要功能为清热燥湿,主治湿热泻痢,心火亢盛,常单用或与黄芩、诃子等中药同用,治疗湿热痢疾^[17]。

黄芩具有清热燥湿、泻火解毒的功效，主治湿热泻痢、咳嗽、疮黄、黄疸和胎动不安^[18]。

本次研究通过网络药理学共筛选出中药单体物质 137 个，交集靶点 14 个，其中槲皮素、黄芩苷、黄连素和 IL-6、TNF、BCL-2 分别为防治 ETEC 的核心中药单体和关键靶点。槲皮素是一种广泛存在于中药中的具有多种生物活性的黄酮醇类化合物。槲皮素具有抗炎、抗菌和保护心血管等作用^[19]。徐晓叶等^[20]的研究表明，槲皮素可抑制携带 K88 毒力因子 ETEC 导致的细胞凋亡和细胞焦亡信号的激活，从而缓解细胞损伤和细胞炎症反应。李井贺等^[12]的研究发现，槲皮素可有效调控 ETEC 的致病力和细菌代谢过程，从而调节 ETEC 的毒力因子。黄芩苷为中药黄芩的单体物质，为黄酮类化合物。众多研究发现，黄芩苷具有减少炎症因子释放，调节机体免疫反应、抗菌和抗癌等功效^[21-22]。刘晓曦等^[23]研究发现，黄芩苷对 ETEC 具有一定的抗菌效果，并且黄芩苷可显著抑制 ETEC 分泌毒力因子，从而有效减少 ETEC 的毒性。黄芩苷还可通过降低炎症反应和下调相关通路表达促进空肠的损伤修复^[24]。黄连素又称为小檗碱，为一种季铵生物碱，是中药黄连中的重要单体物质^[25]。Du 等^[26]研究发现，黄连素可通过改善肠道菌群稳态增强仔猪物理、化学及免疫屏障功能，有效缓解 ETEC 导致的断奶仔猪肠道黏膜损伤。Nie 等^[27]研究发现，黄连素可有效缓解 ETEC 导致的仔猪肠道紧密蛋白表达下降，维持仔猪肠道稳态。

IL-6 是一种多功能细胞因子，在免疫调节、炎症反应、造血及代谢过程中发挥关键作用。IL-6 主要由 T 细胞分泌，可通过结合膜结合型 IL-6 受体或可溶性 IL-6 受体激活下游 JAK/STAT3 信号通路，增加肠道上皮的通透性从而引起 T 细胞蓄积增强炎症反应^[28]。TNF 是一种重要的促炎细胞因子，在 ETEC 感染过程中发挥关键作用。ETEC 侵入肠道后，TNF 可由活化的巨噬细胞、T 细胞等免疫细胞大量分泌，通过激活 NF- κ B 等信号通路，进一步促进 IL-6 等炎症因子的释放，形成炎症级联反应。同时，TNF 还可通过上调肠上皮细胞凋亡相关蛋白来加剧肠道屏障损伤^[29]。BCL-2 是抗凋亡蛋白家族的重要成员，当细胞表达 BCL-2 蛋白时，以半胱天冬蛋白酶介导的细胞凋亡就会受阻^[30]。线粒体释放细胞色素 C 到细胞质中通常视为细胞死亡过程中不可逆的一个过程，因此对于细胞色素 C 的调控至关重要。BCL-2 蛋白可调控线粒体外膜通透性 (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP)，继而调控细胞色素 C 的释放，从而发挥抗凋亡作用^[31]。本研究通过动物试验证实，槲皮素、黄芩苷和黄连素能显著抑

制因 ETEC 感染引起的 IL-6 和 TNF- α 的表达上调和 BCL-2 的表达下调，从而减轻炎症反应和细胞凋亡。

通过 KEGG 富集分析显示，筛选出的中药单体物质主要参与调节炎症性肠病信号通路、IL-17 信号通路和细胞凋亡信号通路来发挥抗 ETEC 作用。炎症性肠病信号通路可能调控 NF- κ B、TNF- α 等关键炎症因子，抑制 ETEC 感染引起的肠道过度炎症反应，维持肠道屏障完整性，减少肠黏膜损伤。IL-17 信号通路在 ETEC 感染中促进中性粒细胞募集和促炎因子释放，筛选出的中药单体通过调控靶点，继而抑制 IL-17 信号通路，从而缓解 ETEC 引起的肠道损伤^[32]。细胞凋亡通路通过调节 BCL-2 等凋亡相关蛋白的表达，抑制 ETEC 诱导的肠上皮细胞过度凋亡，从而维持肠道上皮结构的完整性，增强宿主对病原体的防御能力^[33]。中药单体通过多通路交叉互作，从炎症抑制、免疫调节、凋亡干预等多维度协同拮抗 ETEC 致病过程。研究表明，当配体与受体的分子对节能低于 -20.9 kJ/mol 时，配体与受体可自主对接，对接情况良好^[34]。本研究筛选出的中药单体物质与靶点的分子对接能均小于 -29.3 kJ/mol，表明均可主动结合，从而调控相关通路发挥抗 ETEC 作用。

本研究通过动物试验证实槲皮素、黄芩苷和黄连素有调控炎症反应和细胞凋亡通路缓解 ETEC 感染的作用。然而，本研究也存在一定的局限性。首先，试验仅采用了单一剂量进行干预，虽然该剂量基于前期文献和预试验选定，但完整的剂量-效应关系仍需进一步探究。其次，评估指标主要集中于炎症和凋亡相关的基因和蛋白，未能涵盖肠道菌群结构变化、肠道组织病理学损伤与修复和紧密连接蛋白表达等反映肠道屏障功能和免疫状态的关键指标。此外，网络药理学本质上是一种基于计算和数据库信息的预测性研究方法，其结果存在数据库依赖、靶点预测的间接性和静态预测与动态生物复杂环境的偏差等固有的局限性。未来研究应系统考察不同剂量的效果，结合组学研究、组织病理学及透射电镜等技术，更全面地评估这些单体物质对 ETEC 感染仔猪肠道菌群稳态、黏膜屏障完整性和免疫平衡等影响，并通过试验分析这些单体物质对 ETEC 黏附效率、毒力基因表达的影响，从而更全面地阐明其多靶点抗菌机制。

4 结论

本研究通过数据挖掘、网络药理学和动物试验，系统揭示了槲皮素、黄芩苷和黄连素防治猪源 ETEC 感染的多靶点、多通路作用机制，发现槲皮素、黄芩苷和黄连素可调控炎症反应和细胞凋亡等通路，从而减轻 ETEC 感染导致的损伤。本研究为中药单体物质

在抗 ETEC 方面的应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] ZHANG Y, TAN P, ZHAO Y, et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota [J]. Gut Microbes, 2022, 14 (1): 2055943.
- [2] 赵浩飞, 赵红, 徐永平, 等. 猪源产肠毒素大肠杆菌疫苗的研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2021, 53 (11): 141-144.
- [3] 王德志, 文鹏, 杨海峰, 等. 中草药防治犊牛腹泻的研究现状 [J]. 动物医学进展, 2025, 46 (1): 113-117.
- [4] 杨蒙, 莫家豪, 张丽芳, 等. 中药单体组合物的筛选优化及对大肠杆菌的抑菌作用 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (8): 112-120.
- [5] 王森, 李春佳, 段礼泉, 等. 植物乳杆菌对产肠毒素性大肠杆菌感染小鼠肠道损伤保护作用 [J]. 动物营养学报, 2025, 37 (5): 3442-3454.
- [6] 张年洁, 甄明哲, 王巧玉, 等. 槲皮素对产肠毒素大肠杆菌感染小鼠的抗炎作用及肠道菌群的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2024 (24): 94-100.
- [7] FU Y J, XU B, HUANG S W, et al. Baicalin prevents LPS-induced activation of TLR4/NF- κ B p65 pathway and inflammation in mice via inhibiting the expression of CD14 [J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42 (1): 88-96.
- [8] QIN Z, SHI D D, LI W, et al. Berberine ameliorates depression-like behaviors in mice via inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation and preventing neuroplasticity disruption [J]. J Neuroinflammation, 2023, 20 (1): 54.
- [9] 官小凤, 钟晓霞, 韩凯, 等. 植物乳杆菌 cqf-43 胞外多糖对小鼠生长和肠道健康的影响 [J]. 动物营养学报, 2025, 37 (5): 3425-3441.
- [10] 董家瑞, 彭邦旺, 杨孝鹏, 等. 姜黄素对玉米赤霉烯酮致小鼠肾脏毒性的缓解作用 [J]. 动物营养学报, 2025, 37 (3): 2019-2031.
- [11] DUBREUIL J D, ISAACSON R E, SCHIFFERLI D M. Animal enterotoxigenic *Escherichia coli* [J]. EcoSal Plus, 2016, 7 (1): 10. 1128/ecosalplus. ESP-0006-2016.
- [12] 李井贺, 李森, 石海涛, 等. 槲皮素对产肠毒素大肠杆菌转录组的影响 [J]. 中国兽医学报, 2022, 42 (5): 913-919.
- [13] 武自伟. 基于数据挖掘技术的吕文亮教授治疗脾胃病证临床医案研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2023.
- [14] 朱家朝. 哺乳仔猪腹泻的中医解析及防控 [J]. 中兽医学杂志, 2024 (3): 55-57.
- [15] 胡元亮. 兽医中药学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [16] 李中梓. 本草通玄 [M]. 吕凌, 校注. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [17] 张莹, 杨艳芳, 吴和珍. 黄连的本草考证 [J]. 中国药房, 2021, 32 (13): 1634-1638.
- [18] 范颢奎, 李彪, 邹润, 等. 黄芩药理作用及其常用配伍药对研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2025, 39 (1): 91-96.
- [19] DI PETRILLO A, ORRÙ G, FAIS A, et al. Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: a comprehensive review [J]. Phytother Res, 2022, 36 (1): 266-278.
- [20] 徐晓叶, 龚哈秋, 张敏芳, 等. 槲皮素对产肠毒素大肠杆菌 K88 诱导的猪肠上皮细胞凋亡和焦亡信号通路的影响 [J]. 动物营养学报, 2024, 36 (10): 6723-6731.
- [21] ALI HOSSEINI S. The therapeutic effect of baicalin in the treatment of bladder cancer: a mini-review [J]. Nat Prod Res, 2025, 39 (6): 1653-1657.
- [22] 陆琦, 王婧斯, 都暖, 等. 黄芩苷药理作用及应用研究进展 [J]. 临床合理用药, 2025, 18 (10): 176-180.
- [23] 刘晓曦, 张继东, 马云飞, 等. 葛根素、黄芩苷和盐酸小檗碱对肠毒素大肠杆菌 (ETEC) 生长及毒力相关基因 mRNA 表达的影响 [J]. 中国兽医杂志, 2019, 55 (8): 46-48, 52.
- [24] 刘晓曦, 董杰, 李敏霞, 等. 黄芩水提液对肠炎模型小鼠空肠损伤修复的作用 [J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51 (2): 392-398.
- [25] GARCÍA-MUÑOZ A M, VICTORIA-MONTESINOS D, BALLESTER P, et al. A descriptive review of the antioxidant effects and mechanisms of action of berberine and silymarin [J]. Molecules, 2024, 29 (19): 4576.
- [26] DU M, LIU X, JI X, et al. Berberine alleviates enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced intestinal mucosal barrier function damage in a piglet model by modulation of the intestinal microbiome [J]. Front Nutr, 2025, 11: 1494348.
- [27] NIE X, LU Q, YIN Y, et al. Microbiome and metabolome analyses reveal significant alterations of gut microbiota and bile acid metabolism in ETEC-challenged weaned piglets by dietary berberine supplementation [J]. Front Microbiol, 2024, 15: 1428287.
- [28] 王文峰, 黄亮, 魏嫦. 溃疡性结肠炎患者血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平的变化及临床意义 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2025, 17 (3): 499-502.
- [29] 肖乐. 基于网络药理学和肠道微生物组学揭示香砂六君子汤对 ETEC 致断奶腹泻仔猪小肠炎性损伤的调控机制 [D]. 重庆: 西南大学, 2023.
- [30] ZHONG Y, GU L, YE Y, et al. JAK2/STAT3 axis intermediates microglia/macrophage polarization during cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Neuroscience, 2022, 496: 119-128.
- [31] VOGLER M, BRAUN Y, SMITH V M, et al. The BCL2 family: from apoptosis mechanisms to new advances in targeted therapy [J]. Sig Transduct Target Ther, 2025, 10: 91.
- [32] XU X, ZHANG H, MENG K, et al. *Limosilactobacillus reuteri* ZY15 alleviates intestinal inflammation and barrier dysfunction via AKT/mTOR/HIF-1 α /ROR γ t/IL-17 signaling and the gut microbiota in ETEC K88-challenged Mice [J]. Antioxidants, 2025, 14 (1): 58.
- [33] WU Z, ZHANG L, LI H, et al. Ningxiang pig-derived *Parabacteroides distasonis* HNAU0205 alleviates ETEC-induced intestinal apoptosis, oxidative damage, and inflammation in piglets [J]. Animals, 2024, 14 (15): 2156.
- [34] ISTYASTONO E P, RADIFAR M, YUNIARTI N, et al. PyPLIF HIPPOS: a molecular interaction fingerprinting tool for docking results of AutoDock vina and PLANTS [J]. J Chem Inf Model, 2020, 60 (8): 3697-3702.