

基于网络药理学及分子对接技术探讨 运脾泻肺化痰汤治疗支气管哮喘的作用机制*

许欢¹, 陈竹^{2△}, 陈华², 陈娜², 张芷瑞²

1 抚州市中医院, 江西 抚州 344001; 2 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550001

[摘要] 目的:运用网络药理学和分子对接技术分析运脾泻肺化痰汤治疗支气管哮喘(简称哮喘)的作用机制。方法:通过中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)、Swiss Target Prediction数据库,检索运脾泻肺化痰汤各中药的有效活性成分及潜在靶点。通过人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)、Drugbank、药物靶标数据库(therapeutic target database, TTD)、PharmGKB数据库检索“Bronchial asthma”和“Bronchial asthma in children”关键词,获得哮喘的相关靶基因,并与药物有效成分的靶点相映射得到共同靶点。利用Cytoscape 3.8.2构建运脾泻肺化痰汤-活性有效成分-作用靶点-生物学功能网络图,借助STRING数据库构建蛋白互作网络(protein-protein interactions, PPI)。通过Metascape数据库对靶点进行京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。结果:运脾泻肺化痰汤与哮喘相关基因取交集后得到288个共同靶点。通过STRING数据库分析得出288个靶点可以发生相互作用,产生了1803条代表蛋白之间相互作用的边,平均自由度为12.5,平均介数为 $<1.0 \times 10^{-16}$ 。推测出运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的核心靶点是STAT3、MAPK1、MAPK3、SRC。KEGG通路富集分析结果表明显著富集的通路有176条,其中PI3K/Akt、MAPK、Th17/IL17、TNF、JAK/STAT信号通路等11条可能是运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的核心信号通路。分子对接结果表明,运脾泻肺化痰汤中的活性成分与关键靶点具有较高的结合能力。结论:运脾泻肺化痰汤最有可能通过调控PI3K/Akt信号通路治疗哮喘。

[关键词] 支气管哮喘;运脾泻肺化痰汤;网络药理学;分子对接;信号通路**[中图分类号]** R256.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)01-0080-08

Effects of Spleen-invigorating Lung-purging Phlegm-resolving Decoction on Bronchial Asthma Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

XU Huan¹, CHEN Zhu^{2△}, CHEN Hua², CHEN Na², ZHANG Zhirui²

1 Fuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344001, China;

2 Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China

Abstract Objective: To analyze the mechanism of spleen-invigorating lung-purging phlegm-resolving decoction (Yunpi Xiefei Huatan Tang) in the treatment of bronchial asthma based on network pharmacology and molecular docking technology. Methods: The active ingredients of different herbs in the decoction and the potential targets were searched from TCMSP and Swiss Target Prediction database. "Bronchial asthma" and "bronchial asthma in children" as the keywords were retrieved from GeneCards, OMIM, TTD and PharmGKB database to obtain the related target genes for asthma, and map them to the targets of the active ingredients of the drug to obtain the common targets. Cytoscape 3.8.2 was applied to construct the network of spleen-invigorating lung-purging phlegm-resolving decoction-active ingredients-the targets of action-biological function, and to build PPI via String database. KEGG pathway enrichment analysis of the targets was performed via Metascape database. Results: All 288 common targets were obtained from the intersection of the decoction with asthma-related genes by analysis. The analysis of the STRING database yielded 288 targets that could interact, generating 1,803 edges representing interactions between proteins with an average degree of freedom of 12.5 and an average median of $<1.0 \times 10^{-16}$. It was concluded that the core targets for the treatment of asthma with the decoction contained STAT3, MAPK1, MAPK3 and SRC. The results of KEGG pathway enrichment analysis demonstrated that 176 pathways were significantly enriched, among them, 11 pathways including PI3K/Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway Th17/IL17, TNF signaling pathway, JAK/STAT signaling pathway and others might be the core pathways for the treatment of asthma with the decoction. The results of molecular docking showed that the active ingredients of the decoction presented higher binding ability with the key targets. Conclusion: The decoction could treat asthma possibly through regulating PI3K/Akt signaling pathway.

Keywords bronchial asthma; spleen-invigorating lung-purging phlegm-resolving decoction; network pharmacology; molecular docking; signaling pathway

支气管哮喘简称哮喘,临床以反复发作的喘息、咳嗽、气促、胸闷为主要表现,常在夜间和(或)凌晨发作或加剧,具有可逆性呼气气流受限和阻塞性通气功能障碍^[1]。全球哮喘患者至少3亿人^[2],而在我国成年人群(≥ 20 岁)高达4570万例^[3],患病率为4.2%;其中0~14岁儿童哮喘患病率为2.6%,近年来我国中西部患病率呈上升趋势,需加强儿童哮喘的早期防控^[4]。因此,研究哮喘药物的作用机制,对防治本病具有积极作用。

运脾泻肺化痰汤是贵州中医药大学第二附属医院国家级名老中医黄建业教授根据《医方考》中“清气化痰丸”化裁而来的经验方。本方结合儿童的病理生理特点,在“清气化痰丸”的基础上去姜汁,将枳实易为枳壳,用全瓜蒌代瓜蒌仁,加浙贝母、焦山楂、槟榔、甘草。方中胆南星、全瓜蒌、黄芩、浙贝母清热宣肺,化痰止咳;法半夏、茯苓、苦杏仁、槟榔、焦山楂、枳壳、陈皮健脾燥湿、化痰。诸药共用有健脾清肺化痰之功,用于治疗痰热壅肺所致的咳嗽、喘息、喉间痰鸣等诸症,治疗哮喘疗效确切^[5],但其具体作用机制尚未阐明。

为了探讨运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的作用机制,现通过网络药理学方法对其作用靶点进行分析,探究该方多成分、多靶点和多通道的复杂关系,揭示本方治疗哮喘的作用机制,为其基础研究和临床应用奠定理论基础。

1 研究方法

1.1 运脾泻肺化痰汤的活性化学成分及靶点挖掘 在中药系统药理学数据库分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)^[6](<https://tcmsp-e.com/>)检索运脾泻肺化痰汤(胆南星、全瓜蒌、法半夏、枳壳、茯苓、苦杏仁等12味中药)的化学成分。筛选口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug like, DL) ≥ 0.18 ,下载其结构式,以MDL SDFfile(*.sdf)格式保存(检索日期:2021年6月27日)。同时,搜索已发表的文献报道补充未预测活性化合物的已知靶点。通过Swiss ADME数据库(www.swissadme.ch)筛选结束后,在Swiss Target Prediction数据库(<http://www.swiss-targetprediction.ch/>)导入这些活性成分的MDL SDFfile(*.sdf)格式结构式,最终检索符合Probability ≥ 0.1 的活性成分靶点蛋白(检索日期:2021年6月28日)。

1.2 哮喘相关靶点筛选 利用人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)([www.](http://www.genecards.org)

[genecards.org](http://www.genecards.org))、OMIM(<https://omim.org>)、Drugbank(<https://go.drugbank.com>)、药物靶标数据库(therapeutic targetdatabase, TTD)(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd>)以入PharmGKB数据库(<https://www.pharmgkb.org>),以“Bronchial asthma”为关键词,获得哮喘的疾病靶点基因(检索日期:2021年6月28日)。在Genecards数据库中,当靶点基因和疾病联系越密切,则Score值越高。根据经验^[7],若靶点过多,则设定Score大于中位数的目标靶点为哮喘的潜在靶点。最终,合并5个疾病数据库靶点后,删除重复值得到哮喘靶点。

1.3 运脾泻肺化痰汤-有效成分-靶点及蛋白互作网络(protein-protein interactions, PPI)构建 利用R语言将运脾泻肺化痰汤相关有效成分与哮喘取交集靶点蛋白,并绘制韦恩图(Venny)。根据Degree值,利用Cytoscape 3.8.2构建运脾泻肺化痰汤-有效成分-靶点网络关系图。将共同靶点导入STRING 11.0数据库(<https://string-db.org>)构建PPI网络模型,并设定生物种类为“Homo sapiens”,置信度“highest confidence”为0.900,其余均为默认值,获得PPI网络。通过Cytoscape 3.8.2中的插件NCA,对PPI网络进一步筛选,得到潜在核心靶点。

1.4 交集靶点通路及生物学功能富集分析 将交集靶点蛋白复制至Metascape数据库^[8-9](<https://metascape.org>)的列表中,以official_gene_symbol为选择标示符,以Homo sapiens为物种注释,设置 $P < 0.01$,进行京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。

1.5 分子对接验证 通过SYBYL-X 2.1.1对接软件对化学分配体分子Mol2格式和靶点蛋白PDB格式进行分子对接分析。评价活性化合物和靶点的结合强度与活性总分值(total score)的高低呈正相关。

2 结果

2.1 运脾泻肺化痰汤活性成分及其靶点 通过TCMSP数据库检索到运脾泻肺化痰汤各药味中符合OB $\geq 30\%$ 、DL ≥ 0.18 的活性成分,同时文献补充最终提取各药物化学成分,其中胆南星27种、全瓜蒌11种、黄芩36种、陈皮5种、法半夏13种、茯苓15种、杏仁19种、浙贝母7种、枳壳5种、槟榔8种、焦山楂25种、甘草92种,合并各药味中相同的活性成分后,得到263个潜在活性成分。将上述活性成分以SDF格式的结构式导入Swiss Tar-

get Prediction 数据库,筛选活性成分靶点信息,获得864个有效靶点。文献补充活性成分(Probability≥0.1),得到12434条有效成分靶点化合物。见表1。

表1 运脾泻肺化痰汤文献补充的活性成分化合物

ID	中文化学名	化合物种类	英文化学名	主要来源	参考文献
DNX1	胆酸	胆汁酸类	3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-ic acid	牛、羊胆汁	[10-12]
DNX2	去氧胆酸	胆汁酸类	3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-ic acid	牛、羊胆汁	[10,12]
DNX3	鹅去氧胆酸	胆汁酸类	3 α ,7 α -trihydroxy-5 β -cholan-ic acid	牛、羊、猪胆汁	[10-15]
DNX4	猪胆酸	胆汁酸类	3 α ,6 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-ic acid	猪胆汁	[10,13-15]
DNX5	猪去氧胆酸	胆汁酸类	3 α ,6 α -dihydroxy-5 β -cholan-ic acid	猪胆汁	[10-15]
DNX6	甘氨酸鹅去氧胆酸	胆汁酸类	N-(3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)glycine	牛、羊、猪胆汁	[10,15]
DNX7	甘氨酸猪去氧胆酸	胆汁酸类	N-(3 α ,6 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)glycine	猪胆汁	[10-11]
DNX8	牛磺鹅去氧胆酸	胆汁酸类	N-(3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)taurine	牛、羊、猪胆汁	[10-11,15]
DNX9	芹菜素	黄酮类	4,5,7-trihydroxyflavone	天南星	[10]
DNX10	夏佛托苷	黄酮类	Apigenin-6-glucoside-8-arabinoside	天南星	[10]
DNX11	异夏佛托苷	黄酮类	Apigenin-6-arabinoside-8-glucoside	天南星	[10]
DNX12	D-葡萄糖	糖类	D(+)-glucose	天南星	[10]
DNX13	尿嘧啶	核苷类	2,4-dihydroxypyrimidine	天南星	[10]
DNX14	黄嘌呤	核苷类	2,6-dihydroxypurine	天南星	[10]
DNX15	尿苷	核苷类	1- β -D-ribofuranosyluracil	天南星	[10]
DNX16	胆甾醇	脂类	3 β -hydroxy-5-cholestene	胆汁、天南星	[10]
DNX17	胆固醇	脂类	Cholesterol	胆汁	[11]
DNX18	鹅去氧胆酸甲酯	胆汁酸类	3 α ,7 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-oic Acid Methyl ester	胆汁	[11]
DNX19	猪去氧胆酸甲酯	胆汁酸类	3 α ,6 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid methyl ester	胆汁	[11]
DNX20	胆红素	胆汁酸类	Bilirubin	胆汁	[16]
SZ1	槲皮素-3-O-芸香糖苷	黄酮类	Rutin	焦山楂	[17]
SZ2	槲皮素-3-O-半乳糖苷	黄酮类	Hyperoside	焦山楂	[17]
SZ3	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	黄酮类	Isoquercitrin	焦山楂	[17]
SZ4	牡荆素鼠李糖苷	黄酮类	vitexin 2''-O- α -L-rhamnoside	焦山楂	[17]
SZ5	牡荆素葡萄糖苷	黄酮类	glucosylvitexin	焦山楂	[17]
SZ6	山柰酚-3-O-葡萄糖苷	黄酮类	Astragalin	焦山楂	[17]
SZ7	矢车菊素-3-O-半乳糖苷	黄酮类	Cyanidin 3-O-galactoside chloride	焦山楂	[17]
SZ8	矢车菊素-3-O-芸香糖苷	黄酮类	Keracyanin chloride	焦山楂	[17]
SZ9	天竺葵素-3-O-葡萄糖苷	黄酮类	Pelargonidin-3-glucoside	焦山楂	[17]
SZ10	芍药素-3-O-葡萄糖苷	黄酮类	Peonidin 3-monoglucoside	焦山楂	[17]
SZ11	原花青素 B2	原花青素类	Procyanidin B2	焦山楂	[17]
SZ12	原儿茶酸	酚酸类	protocatechuic acid	焦山楂	[17]
SZ13	绿原酸	酚酸类	Chlorogenic acid	焦山楂	[17]
SZ14	咖啡酸	酚酸类	caffeic acid	焦山楂	[17]
SZ15	1,3-二咖啡酰奎宁酸	酚酸类	1,3-Dicaffeoylquinic acid	焦山楂	[17]
SZ16	新绿原酸	酚酸类	Neochlorogenic acid	焦山楂	[17]
SZ17	对香豆酸	酚酸类	4-Hydroxycinnamic acid	焦山楂	[17]
SZ18	隐绿原酸	酚酸类	Cryptochlorogenic acid	焦山楂	[17]
SZ19	酒石酸	有机酸类	L-tartaric acid	焦山楂	[18]
SZ20	苹果酸	有机酸类	malic acid	焦山楂	[18]
SZ21	齐墩果酸	有机酸类	Oleanic acid	焦山楂	[19]
SZ22	枸橼酸	有机酸类	Citric acid monohydrate	焦山楂	[19]
SZ23	矢车菊素	黄烷类	Cyanidin chloride	焦山楂	[19]
SZ24	(+)-儿茶精	黄烷类	(+)-catechin	焦山楂	[19]
SZ25	原花青素二聚体己糖苷	原花青素类	Procyanidin dimer hexoside	焦山楂	[17]

2.2 哮喘靶点的获取 在GeneCards数据库获得哮喘靶点2369个,其中Score值范围为0.18~85.90,中位数为1.51,故设定Score>1.51的靶点为本病潜在靶点。结合OMIM、Drugbank、TTD和PharmGKB数据库补充相关疾病靶点,合并后去除重复值,最终得到1237个哮喘相关疾病靶点。

2.3 运脾泻肺化痰汤-有效成分-靶点及PPI网络构建 将筛选的运脾泻肺化痰汤活性成分靶点和哮喘疾病靶点取交集,且通过R语言绘制Venny图(见图1),得到运脾泻肺化痰汤成分-哮喘共同靶点288个。制作运脾泻肺化痰汤有效化合物-靶点网络图(见图2)。利用STRING11.0数据库,获得运脾泻肺化痰汤-哮喘靶点蛋白PPI网络(见图3)。网络中有288个靶点可以发生相互作用,产生了1803条代表蛋白之间相互作用的边,平均自由度为12.5,平均介数为<1.0e-16,自由度、介数均超过平均值的靶点有信号转导及转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)、丝裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase1,MAPK1)、MAPK3、SRC(见图4),可能是运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的核心靶点。

2.4 运脾泻肺化痰汤成分-哮喘靶点KEGG信号通路分析 通路富集分析共得到KEGG信号通路176条,其中11条通路与哮喘相关(见表2),包含

磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt,PI3K/Akt)、辅助T细胞17/白细胞介素17(helper T cell 17/interleukin-17,Th17/IL-17)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)、Toll、Janus激酶/信号转导及转录激活因子(janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)、FcεRI、核转录因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)和转化生长因子(transforming growth factor,TGF)信号通路,提示运脾泻肺化痰汤可通过调控气道慢性炎症、气道重塑和气道高反应等方面治疗哮喘。显著富集的通路有20条,以气泡图直观表示显著富集的通路(见图5)。图中相关联基因的数量和P值决定节点的颜色与大小;当P值从大到小时,颜色从蓝色到红色反应;相关联基因的数量从少到多时,节点从小到大反应。

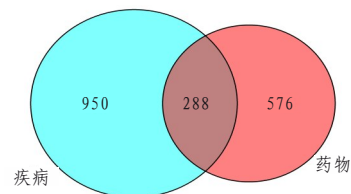


图1 运脾泻肺化痰汤-哮喘 Venny 图

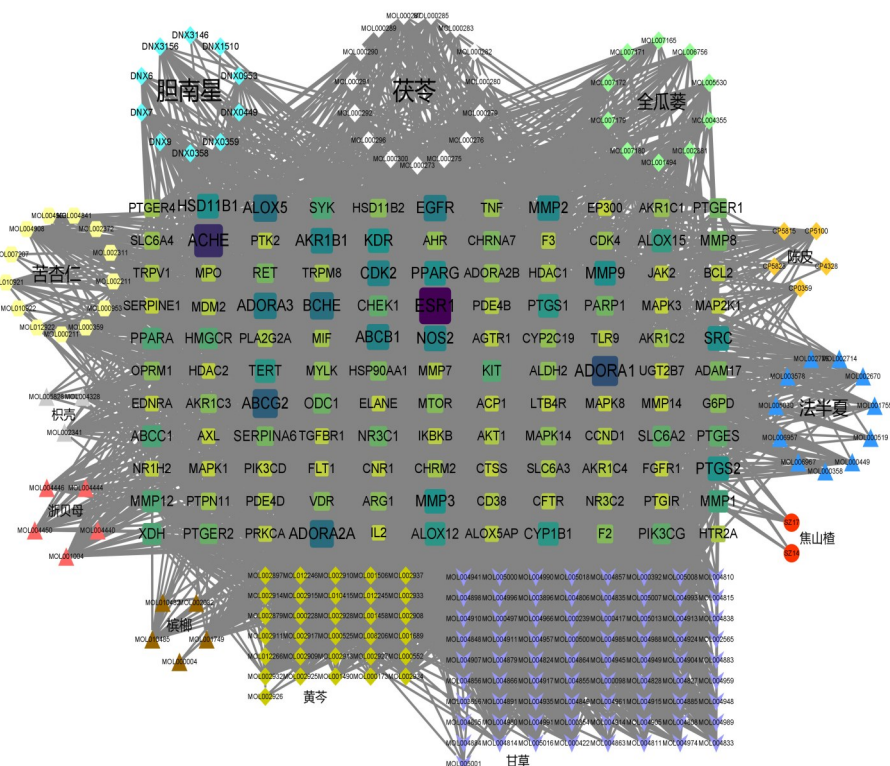


图2 运脾泻肺化痰汤有效化合物-靶点网络图

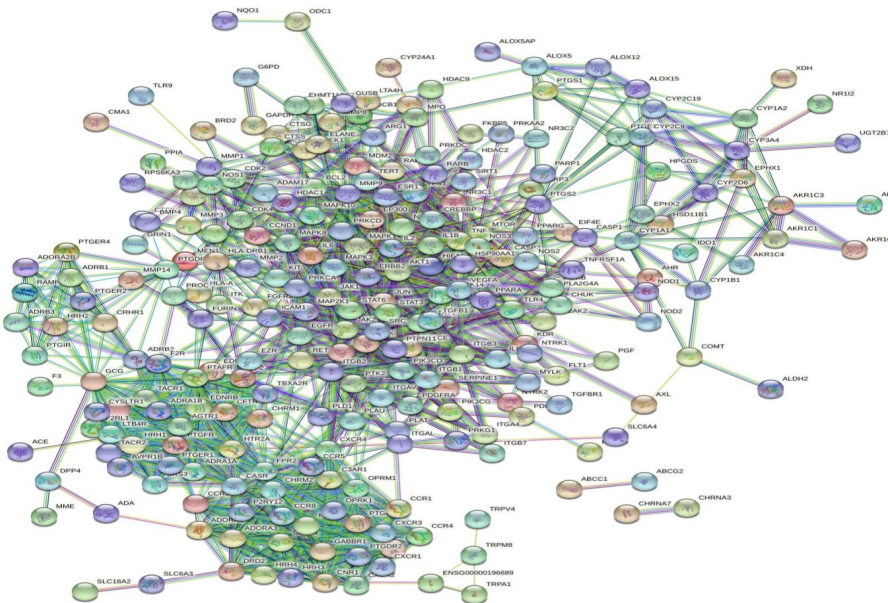


图 3 运脾泻肺化痰汤-哮喘靶点 PPI 网络

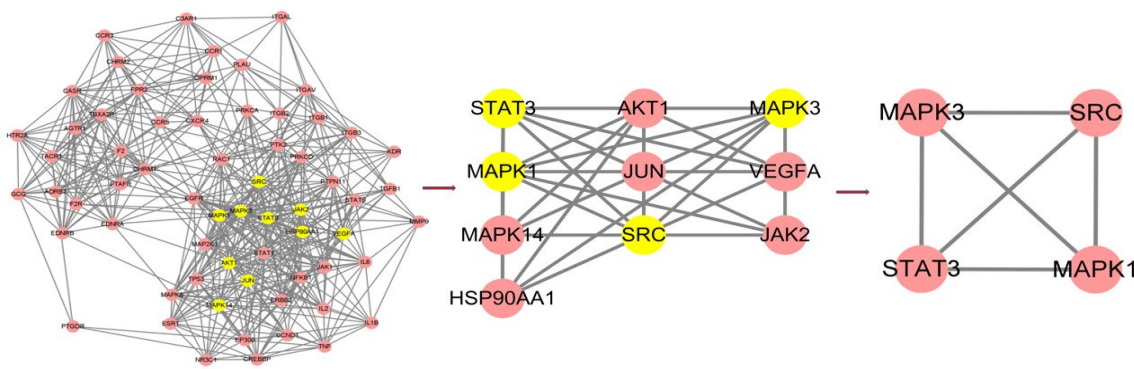


图 4 运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的核心靶点

表 2 运脾泻肺化痰汤与哮喘相关KEGG 信号通路

信号通路	P	相关基因
PI3K/Akt	6.14E-18	CHRM2/IL6/TLR4/IL2/ITGA4/F2R/JAK2/MAPK3/SYK/PIK3CG/EIF4E/JAK1/VEGFA/EGFR/FGFR1/NOS3/KIT/TP53/MAPK1/MTOR/PDGFR/NFKB1/CCND1/BCL2/ITGB3/ERBB2/FLT1/PRKCA/CHUK/MDM2/ITGB1/HSP90AA1/CHRM1/RAC1/CDK2/AKT1/NTRK1/IKKBK/PRKAA2/ITGAV/KDR/FGFR2/NTRK2/PIK3CD/MAP2K1/CDK4/PTK2/ITGB7/PGF
MAPK	1.91E-10	TNF/TGFB1/IL1B/JUN/MAPK14/MAPK3/VEGFA/EGFR/FGFR1/TGFB1/KIT/TP53/MAPK1/PDGFR/MAPK8/NFKB1/PLA2G4A/ERBB2/FLT1/PRKCA/CHUK/CASP3/TNFRSF1A/MAPK10/RAC1/AKT1/NTRK1/IKKBK/KDR/FGFR2/NTRK2/MAP2K1/RPS6KA3/PGF
Th17	7.21E-16	TGFB1/IL6/IL1B/STAT6/IL2/STAT1/HLA-DRB1/JUN/MAPK14/JAK2/MAPK3/JAK1/STAT3/TGFB1/MAPK1/MTOR/MAPK8/NFKB1/HIF1A/CHUK/IL6ST/HSP90AA1/AHR/MAPK10/IKKBK/RARA
TNF	1.68E-12	TNF/IL6/IL1B/ICAM1/MMP9/NOD2/JUN/MAPK14/MAPK3/PTGS2/MAPK1/MAPK8/NFKB1/MMP3/CHUK/CASP3/TNFRSF1A/MAPK10/AKT1/MMP14/IKKBK/PIK3CD/MAP2K1
EGFR	7.10E-14	IL6/JAK2/MAPK3/EIF4E/JAK1/VEGFA/EGFR/STAT3/MAPK1/MTOR/PDGFR/BCL2/ERBB2/PRKCA/AKT1/SRC/AXL/KDR/FGFR2/PIK3CD/MAP2K1
To11	1.76E-10	TNF/IL6/IL1B/TLR4/STAT1/TLR9/JUN/MAPK14/MAPK3/MAPK1/MAPK8/NFKB1/CHUK/MAPK10/RAC1/AKT1/IKKBK/PIK3CD/MAP2K1/CTSK
IL-17	1.60E-09	TNF/IL6/IL1B/MMP9/JUN/MAPK14/MMP1/MAPK3/PTGS2/MAPK1/MAPK8/NFKB1/MMP3/CHUK/CASP3/HSP90AA1/MAPK10/IKKBK
JAK/STAT	7.78E-06	IL6/STAT6/IL2/STAT1/JAK2/JAK1/EGFR/CREBBP/STAT3/EP300/MTOR/PDGFR/CCND1/BCL2/IL6ST/AKT1/PIK3CD/PTPN11
FcεRI	4.93E-09	TNF/ALOX5/ALOX5AP/MAPK14/MAPK3/SYK/MAPK1/MAPK8/PLA2G4A/PRKCA/MAPK10/RAC1/AKT1/PIK3CD/MAP2K1
NF-κB	4.23E-05	TNF/IL1B/TLR4/ICAM1/PLAU/SYK/PTGS2/NFKB1/BCL2/PARP1/CHUK/TNFRSF1A/IKKBK
TGF-beta	0.0136251711784793	BMP4/TNF/TGFB1/MAPK3/CREBBP/TGFB1/EP300/MAPK1

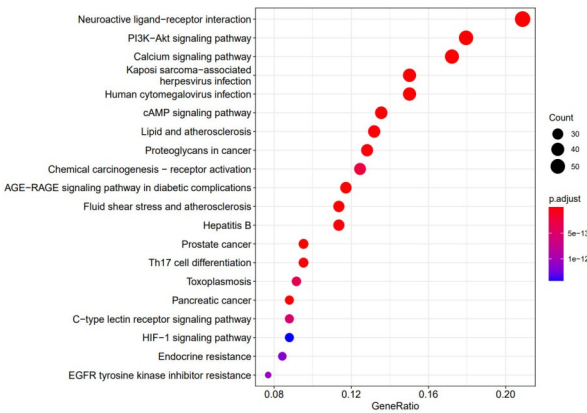


图 5 运脾泻肺化痰汤治疗哮喘预测靶点的 KEGG 通路富集图

2.5 分子对接 通过 SYBYL-X 2.1.1 软件分子对接结果表明甘氨酸猪去氧胆酸、黄芩素(baicalin)、松柏苷(coniferin)、菠菜甾醇(Spinasterol)、Eicosapentaenoic acid 等对 STAT3、MAPK1、MAPK3、SRC 具有较高的对接活性(见表 3), 表明运脾泻肺化痰汤活性成分与靶蛋白结合稳定, 以此发挥治疗哮喘的作用。其中, 总分 ≥ 7.0 , 代表该蛋白配体具有极高活性(见图 6)。

表 3 运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的核心靶点分子对接结果(总分 >6)

ID	分子 ID	有效成分	基因名	总分
BX	MOL000519	coniferin	STAT3	8.9207
BL	MOL010485	Eicosapentaenoic acid	MAPK1	8.7481
ZB	MOL004446	6-Methoxyl-2-acetyl-3-methyl-1,4-naphthoquinone-8-0-beta-D-glucopyranoside	MAPK1	8.5360
FL	MOL000279	Cerevisterol	SRC	7.8468
BX	MOL006957	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone	MAPK1	6.9106
CP	MOL005100	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-4-one	MAPK1	6.8883
BX/HQ	MOL002714	baicalin	MAPK3	6.7673
XR	MOL004355	Spinasterol	MAPK3	6.7059
XR	MOL012922	1-Stepholidine	SRC	6.7350
HQ	MOL002934	Neobaicalin	SRC	6.1105
DNX	DNX7	甘氨酸猪去氧胆酸	SRC	6.1876

注: Total_Score >7 代表具有极高活性, 3-7 代表中等活性

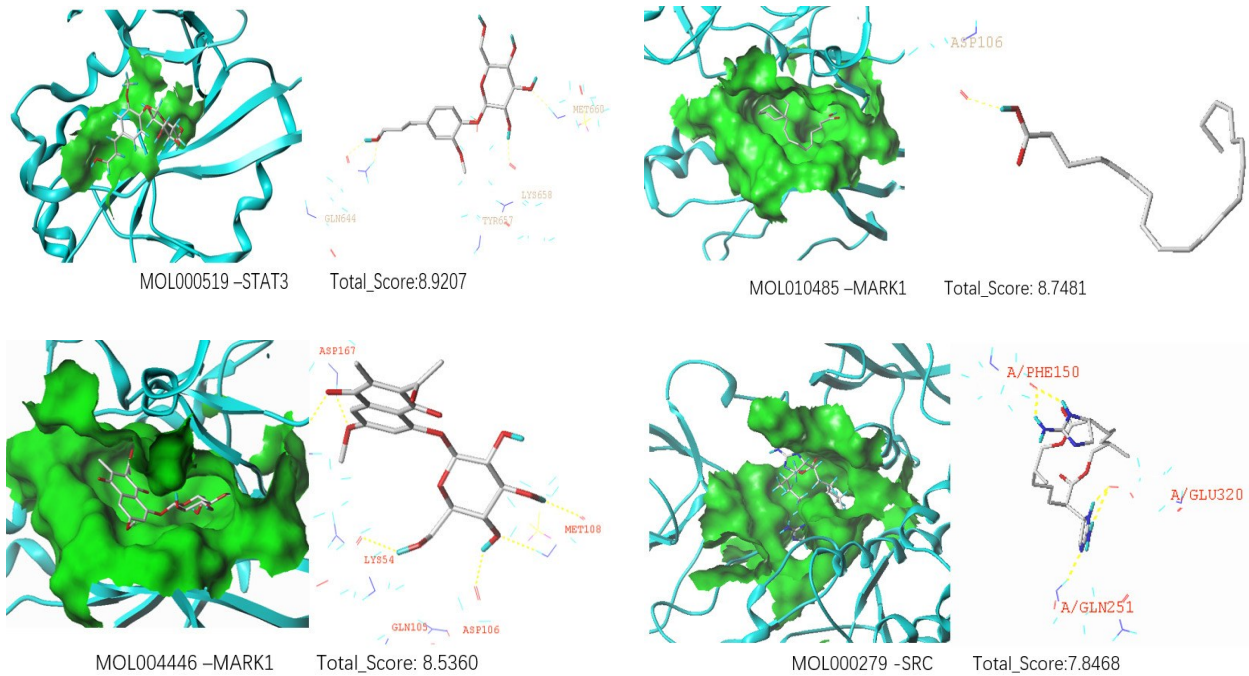


图 6 代表性核心活性成分与靶点蛋白分子对接

3 讨论

通过网络药理学分析,筛选运脾泻肺化痰汤共得到263个潜在活性成分和864个潜在靶点,与1237个哮喘相关基因取交集后得到288个共同靶点。基于网络拓扑分析筛选得到4个核心基因,分别是STAT3、MAPK3、MAPK1、SRC。相对应治疗哮喘的关键有效成分是甘氨酸猪去氧胆酸、黄芩素、松柏苷、菠菜甾醇、光果甘草定、柑桔素、橘皮素、山扁豆素、栓菌酸、黄芩新素、黄芩黄酮I、黄芩黄酮II、二氢黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、廿烷五烯酸、天竺葵甙元等。

STAT3是STAT蛋白家族成员之一。STAT3可被TGF- β_1 、IL-6和IL-23等细胞因子激活,增加Th17细胞特异性转录因子的表达^[20]。TGF- β_1 使呼吸系统气管中平滑肌细胞增殖并发生表型转化,气道成纤维细胞发生分裂增殖,与气道重塑有关^[21]。STAT3驱动Th17细胞的发育,Th2和Th17细胞产生细胞因子,从而导致哮喘^[22]。STAT3还参与哮喘小鼠呼吸道Th2炎症及气道重塑并发现STAT3可通过直接激活VEGF信号传导,介导气道ASMCs的促血管生成能力,作用于气道重塑^[23-24]。

MAPK在增殖、分化、凋亡、炎症和先天免疫等复杂细胞程序中发挥着重要作用^[25]。通过调控细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、p38 MAPK和c-Jun氨基端激酶(c-Jun NH2-terminal kinase, JNK)等因子,作用于免疫/炎症细胞和气道结构细胞b致使气道高反应和气道重塑,使Th1/Th2免疫应答失衡,最终导致哮喘^[26]。研究还发现,抑制MAPK3/MAPK1(又称ERK1/ERK2)激活可阻止严重哮喘患者的ASMCs募集中性粒细胞,减少气道慢性炎症的发生^[27]。

SRC是酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinase, PTK)在炎性刺激后首选被激活的激酶之一,其介导的信号通路在哮喘气道炎性反应中起重要作用。SRC被证明是体外人气道平滑肌细胞(human aortic smooth muscle cells, HASMC)和体内过敏性哮喘小鼠模型中丝裂原诱导的信号传导所必需的因子^[28]。在小鼠哮喘模型中, SRC-激酶介导EGFR的反式激活,进而刺激ERK1/2、PI3K和转录因子NF- κ B等多个下游信号通路,最后调节过敏性肺损伤,而且在治疗哮喘方面,阻断SRC或EGFR,比抑制ERK1/2、PI3K和NF- κ B信号通路的潜在因子更加有效^[29]。

从KEGG通路富集分析发现运脾泻肺化痰汤治疗哮喘的信号通路是PI3K/Akt、MAPK、Th17/IL-17、TNF、EGFR、Toll、JAK/STAT、Fc ϵ RI、NF- κ B

和TGF信号通路,主要作用于气道重塑、气道慢性炎症和气道高反应。其中,前20条与哮喘相关的信号通路中排名第一的PI3K/Akt信号通路主要对哮喘气道重塑有关。相关研究^[30-31]发现,PI3K/Akt信号通路广泛存在于细胞生长、分化、增殖、转移、凋亡和炎性介质的形成过程中,并且产生重要的作用。CORRIGAN等^[32]对哮喘小鼠模型的研究表明,当阻断PI3K/Akt信号转导时,可缓解血管内皮细胞增殖和生长因子表达,故可抑制气道血管的过度增殖,从而可缓解哮喘症状。PI3K/Akt信号通路参与在Toll样受体2(Toll like receptor 2, TLR2)识别并递呈抗原、ROS激活NF- κ B的过程中多个调控环节,从而影响哮喘炎症反应;并且该通路可调节自噬,参与哮喘疾病中气道上皮修复过程,从而起到气道重塑作用^[33-34]。

综上所述,利用网络药理学研究表明,运脾泻肺化痰汤通过甘氨酸猪去氧胆酸、黄芩素、松柏苷、菠菜甾醇、Eicosapentaenoic acid等有效成分,作用于STAT3、MAPK1、MAPK3、SRC等主要靶点蛋白,推测最有可能作用于PI3K/Akt信号通路,对治疗哮喘的气道重塑方面具有积极作用。前期研究表明,运脾泻肺化痰汤能抑制PI3K/Akt通路的信号转导,抑制了PI3K、Akt蛋白活化,降低哮喘大鼠肺泡灌洗液中炎性因子水平,进一步减少了哮喘发生^[35]。本方可下调TNF- α 、IL-4、IL-5、IL-13因子的表达或含量,减轻哮喘小鼠的气道炎症反应^[36]。运脾泻肺化痰汤还可通过调控减少MUC5AC,抑制气道炎症,缓解气道黏液高分泌状态,调节NF- κ B信号通路^[37]。本研究认为运脾泻肺化痰汤通过PI3K/Akt信号通路治疗哮喘,该方治疗哮喘的其他信号通路,本课题组后续将开展进一步的研究和验证。

参考文献

- [1] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181.
- [2] BATEMAN E D, HURD S S, BARNES P J, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary[J]. Eur Respir J, 2008, 31(1): 143-147.
- [3] Huang K, Yang T, Xu J, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study[J]. Lancet, 2019, 394(10196): 407-418.
- [4] 书文, 李梦龙, 李子昂, 等. 中国哮喘监测城市0~14岁儿童哮喘患病率Meta分析[J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(8): 875-883.
- [5] 陈竹, 彭玉, 杨见辉, 等. 清气化痰汤治疗小儿痰热壅肺型哮喘30例疗效观察[J]. 中医儿科杂志, 2014, 10(4): 18-21.
- [6] RU J L G, PENG L, WANG J N, et al. TCMSPP: a database

- of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *Cheminformatics*, 2014, 6(1):13.
- [7] 但文超,何庆勇,曲艺,等. 基于网络药理学的枳术丸调治血脂异常的分子机制研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(11):2396-2405.
- [8] TRIPATHI S, POHL M O, ZHOU Y, et al. Meta-and orthogonal integration of influenza "OMICs" data defines a role for UBR4 in virus budding [J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18:723-735.
- [9] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1523.
- [10] 唐照琦,李彪,王秋红,等. 胆南星的化学成分、药理作用及相关复方临床应用的研究进展[J]. *中国药房*, 2020, 31(12):1523-1527.
- [11] 刘晓月,陶鑫,潘多,等. 胆南星化学成分的研究[J]. *中成药*, 2018, 40(9):1991-1995.
- [12] 陈江宁,单国顺,刘晓瑜,等. 胆南星辅料成分分析及其清热作用[J]. *中国现代中药*, 2016, 18(7):837-840.
- [13] 刘晓峰,崔亚晨,单国顺,等. 胆南星中胆酸类成分含量测定及发酵前后含量比较[J]. *中国现代中药*, 2019, 21(3):375-379.
- [14] 陈云,郁红礼,吴皓,等. 发酵对胆南星中胆汁酸类成分的影响及胆南星中3种游离胆汁酸含量测定研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(22):4457-4461.
- [15] 李泽煜,潘多,单国顺,等. 原料配比对胆南星成分及药效影响[J]. *中成药*, 2020, 42(2):386-391.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:261.
- [17] 陈希苗. 炮制山楂酚类物质及新生成分的分析鉴定与功能评价[D]. 广州:华南农业大学, 2018.
- [18] 董嘉琪,陈金鹏,龚苏晓,等. 山楂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-Marker)预测[J]. *中草药*, 2021, 52(9):2801-2818.
- [19] 张良,姜思凡,万军,等. 炮制对山楂主要化学成分的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2014, 30(1):31-34.
- [20] KASEMBELI M M, BHARADWAJ U, ROBINSON P, et al. Contribution of STAT3 to Inflammatory and Fibrotic Diseases and Prospects for its Targeting for Treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8):2299.
- [21] 张智博,赵克明. 基于TGF- β_1 /Smads信号通路的中药防治支气管哮喘研究进展[J]. *西部中医药*, 2024, 37(1):95-99.
- [22] GAVINO A C, NAHMOD K, BHARADWAJ U, et al. STAT3 inhibition prevents lung inflammation, remodeling, and accumulation of Th2 and Th17 cells in a murine asthma model[J]. *Allergy*, 2016, 71(12):1684-1692.
- [23] 刘艳明,农光民,吴娇华,等. 抑制肺组织信号转导和转录激活因子-3磷酸化对支气管哮喘小鼠呼吸道炎症及呼吸道重塑的影响[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29(4):265-269.
- [24] LV J, SUN B, MAI Z, et al. STAT3 potentiates the ability of airway smooth muscle cells to promote angiogenesis by regulating VEGF signalling [J]. *Exp Physiol*, 2017, 102(5):598-606.
- [25] KIM E K, CHOI E J. Compromised MAPK signaling in human diseases:an update[J]. *Archives of toxicology*, 2015, 89(6):867-882.
- [26] 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.
- [27] TUNDWAL K, ALAM R. JAK and Src tyrosine kinase signaling in asthma[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012, 17:2107-2121.
- [28] EL-HASHIM A Z, KHAJAH M A, RENNO W M, et al. Src-dependent EGFR transactivation regulates lung inflammation via downstream signaling involving ERK1/2, PI3K δ /Akt and NF κ B induction in a murine asthma model[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):9919.
- [29] ROBINS S, ROUSSEL L, SCHACHTER A, et al. Steroid-insensitive ERK1/2 activity drives CXCL8 synthesis and neutrophilia by airway smooth muscle[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(5):984-990.
- [30] YANG N, ZHANG H, CAI X, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits inflammation and epithelial-mesenchymal transition through the PI3K/AKT pathway via upregulation of PTEN in asthma[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 41(2):818-828.
- [31] 李明明. 平喘宁调节PI3K-Akt/PKB信号通路相关蛋白p110、PTEN、PIP3、GSK3、PDK1干预哮喘大鼠气道重塑机制的研究[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2020.
- [32] CORRIGAN C J, WANG W, MENG Q, et al. T-helper cell type 2 (Th2) memory T cell-potentiating cytokine IL-25 has the potential to promote angiogenesis in asthma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(4):1579-1584.
- [33] 段萌萌,张葆青. 基于网络药理学和分子对接技术探讨过敏煎治疗儿童哮喘的作用机制[J]. *西部中医药*, 2024, 37(8):73-81.
- [34] 庞亚蓉,席建宏,王志旺,等. 磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路参与哮喘气道炎症反应的研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(14):1897-1901.
- [35] 陈娜,陈竹,郑芝,等. 运脾泻肺化痰汤减轻哮喘大鼠气道黏液高分泌作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(19):3049-3052.
- [36] 陈竹,彭玉,陶琼,等. 清气化痰汤对哮喘小鼠肺组织TLR4和MUC5AC表达影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(8):1203-1209.
- [37] 陈娜,刘志伟,阳和平,等. 运脾泻肺化痰汤抑制NF- κ B信号通路和改善幼龄哮喘大鼠气道黏液高分泌的作用[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(5):1076-1079.

收稿日期:2024-09-25

*基金项目:国家自然科学基金(81860868);贵州省中医儿科诊疗中心建设项目(黔中医药函[2021]58号)。

作者简介:许欢(1991—),女,硕士学位,主治医师。研究方向:中医药防治小儿肺脾系统疾病。

△通讯作者:陈竹(1976—),女,博士研究生导师,教授,主任医师。研究方向:中医药防治小儿肺脾系统疾病。Email:918236355@qq.com。