

基于网络药理学和分子对接技术研究升陷汤“异病同治”特发性肺纤维化和哮喘的作用机制

王佳^{1*}, 曹中雨^{1*}, 李清燕², 蔡玲¹, 陈宇非¹, 周珊珊³, 王冬梅⁴, 吕美红^{1#}, 木本荣^{1#}

¹成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都

²成都中医药大学药学院, 四川 成都

³成都中医药大学医学与生命科学学院, 四川 成都

⁴成都中医药大学基础医学院, 四川 成都

收稿日期: 2023年3月14日; 录用日期: 2023年4月19日; 发布日期: 2023年4月29日

摘要

背景: 由于IPF和asthma临床上尚无有显著效果的药物, 且预后差, 迫切需要确定更安全、更有效的药物。而随着中医药的不断发展, 中药治疗IPF和asthma的研究也在不断开展, 升陷汤作为一个经典名方, 主治“大气下陷”之症, 因此可以研究“异病同治”IPF和asthma的机理。**目的:** 采用网络药理学和分子对接技术来探究升陷汤“异病同治”IPF和asthma的作用机制。**方法:** 利用TCMSP数据库及Batman-TCM数据库筛选升陷汤方中黄芪、知母、柴胡、桔梗、升麻的成分和对应的靶点; 从GeneCards、DrugBank、Disgenet、OMIM以及TTD五个疾病数据库分别筛选IPF和asthma的相关靶点; 在venny平台获取药物和疾病的交集靶点; 通过STRING数据库和Cytospace 3.7.2软件, 建立蛋白相互作用网络。将交集靶点导入DAVID数据库进行GO功能富集和KEGG信号通路分析, 并绘制“成分-靶点-通路”网络图; 利用Cytoscape 3.7.2, 构建“化学成分-共同靶点-疾病”的相互作用网络; 筛选出具有较高药效的有效化学成分与该病的关键靶点进行分子对接。结果升陷汤中含有158个化学成分, 1754个靶点; IPF靶点1937个, asthma靶点2034个; 升陷汤与IPF以及asthma的交集靶点共有247个; 蛋白质相互作用网络中排名靠前的靶点有STAT3、SRC、JUN、EP300、PIK3CA、MAPK3、MAPK1、TP53、AKT1和HSP90AA1等; 其中重要的信号通路主要有AGE-RAGE信号通路、癌症信号通路、TNF信号通路等; 升陷汤中的关键活性成分有槲皮素、山奈酚、豆甾醇等; 分子对接分析表明, 槲皮素-JUN、豆甾醇-MAPK1、木犀草素-MAPK1、豆甾醇-MAPK3等多组数据结合能均小于-7, 结合效果良好, 对接构象稳定。**结论:** 升陷汤治疗IPF和asthma可能主要涉及到STAT3、SRC、JUN、EP300、PIK3CA等核心靶点, 通过药物的关键活性成分来调节多个靶点、多条通路、多个生物过程达到“异病同治”IPF和asthma的作用。

关键词

升陷汤, 特发性肺纤维化, 哮喘, 异病同治

*共一作者。

#通讯作者

Network Pharmacology and Molecular Docking Techniques to Research the Mechanism of Action of Sheng Xian Tang in Treating Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Asthma by “Treating Different Diseases Together”

Jia Wang^{1*}, Zhongyu Cao^{1*}, Qingyan Li², Ling Cai¹, Yufei Chen¹, Shanshan Zhou³, Dongmei Wang⁴, Meihong Lv^{1#}, Benrong Mu^{1#}

¹College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

²School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

³College of Medicine and Life Science, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

⁴School of Basic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: Mar. 14th, 2023; accepted: Apr. 19th, 2023; published: Apr. 29th, 2023

Abstract

Background: due to the lack of clinically effective drugs for IPF and asthma and the poor prognosis, there is a pressing need to identify safer and more effective drugs. With the continuous development of conventional Chinese medicine research on the treatment of IPF and asthma with traditional Chinese medicine are also being carried out. Sheng Xian Tang, as a classic prescription, is used to treat the disease of “atmospheric subsidence”, so the mechanism of treating IPF and asthma with different diseases can be studied. **Objective:** To explore the mechanism of action of Sheng Xian Tang “treating different diseases together” IPF and asthma by adopting network pharmacology and molecular docking techniques. **Methods:** TCMSP database and Batmand-TCM database were utilized to filter out the constituents and corresponding targets of Huang Qi, Zhi Mu, Chai Hu, Jie Geng and Sheng Ma in Sheng Xian Tang recipe. Targets related to IPF and asthma were screened from GeneCards, DrugBank, Disgenet, OMIM and TTD. The intersection targets between drugs and disease was acquired on venny platform. The protein interaction network was constructed through STRING database and Cytoscape 3.7.2 software. The intersection targets were imported into DAVID database for GO function enrichment and KEGG signal pathway analysis, and the “component-target-pathway” network map was drawn. The interaction network of chemical composition, common target and disease was constructed using Cytoscape 3.7.2. The effective chemical components with high values were screened for molecular docking with the key targets of the disease. **Results** There were 158 chemical constituents and 1754 targets in Sheng Xian Tang. There were 1937 IPF targets and 2034 asthma targets; there are 247 intersection targets of Sheng Xian Tang, IPF and asthma. The top targets in the protein interaction network were STAT3, SRC, JUN, EP300, PIK3CA, MAPK3, MAPK1, TP53, AKT1 and HSP90AA1. The important signaling pathways include AGE-RAGE signaling pathway, cancer signaling pathway, TNF signaling pathway, *etc.* The key active ingredients in Sheng Xian Tang were quercetin, kaempferol, stigmasterol, *etc.* Molecular docking analysis showed that the binding energy of quercetin-Jun, stigmasterol-MAPK1, luteolin-MAPK1, stigmasterol-MAPK3 was lower than -7, and the binding effect was good and the docking conformation was stable. **Conclusions:** Sheng Xian Tang in the treatment of IPF and asthma may mainly involve core targets such as STAT3, SRC, JUN, EP300, PIK3CA, *etc.* Through the key active ingredients of drugs to regulate multiple targets, multiple pathways, multiple biological

processes to achieve the effect of “treating different diseases together” IPF and asthma.

Keywords

Sheng Xian Tang, Idiopathic Pulmonary Fibrosis, Asthma, Different Diseases Treated Together

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

特发性肺纤维化(Idiopathic Pulmonary Fibrosis, IPF)是一种持续发展、纤维化性、预后不良的肺部疾病,近年来其发病率和患病率也在不断上升[1]。其发病机制尚不清晰,可能是细胞机制和遗传改变等内部因素,也可能是来自环境的外部因素[2]。IPF好发于中老年人群,已有研究显示IPF在亚太、欧洲、北美等地区的发病率和患病率分别在每10,000人0.09~1.30和0.33~4.51的范围内[3],但由于外界因素的变化,未来IPF的患病率可能会有更大的波动。目前,西药在使用吡非尼酮,抗酸药物,N-乙酰半胱氨酸等已被批准用于IPF的药物,但迄今为止尚无显著有效的药物,多数西药药效作用时间短,且长期服用会引发胃肠道反应、降低肺功能等不良反应,无法根治疾病。不同部位,不同作用靶点的抗肺纤维化药亟待开发[4]。哮喘(Asthma)是一种慢性气道疾病,受到遗传和环境因素共同影响,其主要病理生理过程以气道过敏性炎症及气道高反应为特点,有周期性的喘息,呼吸急促,胸闷,咳嗽等[5]。据调查显示,预计到2025年,世界范围内的Asthma患者人数将超过4亿[6]。Asthma反复发作会导致肺功能受到严重的损伤,临床上治疗Asthma常用到支气管扩张剂和免疫抑制药物等,但是它们只能起到暂时的缓解效果,并不能根治疾病[7]。

晚清张锡纯所著《医学衷中参西录》中的升陷汤,由黄芪、知母、柴胡、桔梗、升麻等配伍而成,具有补中益气,升阳升陷之功效,为中医治疗“气虚”的代表方剂[8]。升陷汤在临床上应用广泛,目前已有研究表明升陷汤能用于治疗IPF和Asthma[9][10]。IPF和Asthma均属于慢性呼吸系统的疾病,在中医学看来,这两种疾病都属于本虚标实之病,即肺,脾,肾三脏气虚下陷是本,痰浊,瘀血,阻塞脉络是标[9][11]。基于此病机,临床当注重标本兼治,从益气、活血、祛瘀、祛痰止痛、通窍活血等角度入手,二者发病病机属于升陷汤的治疗范畴。

本文将采用网络药理学来构建升陷汤和特发性肺纤维化、哮喘之间的药物-成分-靶点-通路网络,分析升陷汤治疗IPF和Asthma可能的作用机制,最后通过分子对接进行验证,并在分子水平上阐释了升陷方“异病同治”治疗IPF和Asthma的潜在网络靶点及机理,为进一步探讨其治疗IPF、Asthma的新方法提供了新的思路。

2. 材料与方法

2.1. 数据库及软件具体信息见表1

Table 1. Database and software information table

表1. 数据库及软件信息表

数据库及软件名称	网址
中药系统药理学数据库和分析平台 TCMSP	https://tcmsp-e.com/

Continued

Batman-TCM	http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/
Uniprot 数据库	https://www.uniprot.org/
GeneCards 数据库	https://www.genecards.org/
DrugBank 数据库	https://go.drugbank.com/
Disgenet 数据库	https://www.disgenet.org/
OMIM 数据库	http://omim.org/
TTD 数据库	http://db.idrblab.net/ttd/
David 数据库	https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp
CNKI 数据库	https://www.cnki.net/
Cytoscape 3.7.2 软件	
STRING 数据库	https://www.string-db.org/
Venny2.1 网页	https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html
微生信网站	http://www.bioinformatics.com.cn/
RCSB-PDB 数据库	https://www.rcsb.org/
pubchem 数据库	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
AutoDock Tools 1.5.7 软件	
Pymol 软件	

2.2. 药物活性成分及作用靶点的筛选

升陷汤是以黄芪、知母、柴胡、桔梗、升麻等为主药的传统名方，是中医“气虚”理论的代表。在 TCMSP 和 Batman-TCM 中搜索五味单药的化学成分及对应靶点。TCMSP 的筛选标准设置为生物口服利用度($OB \geq 30\%$)以及类药性($DL \geq 0.18$)，Batman-TCM 设置评分 ≥ 20 分， P 值 < 0.05 ；整理得到升陷汤的活性成分和对应靶点。在 TCMSP 数据库检索得到的化学成分和靶点，还需要通过 UniProt 数据库，选择物种为“human”，对得到的靶点进行筛选和进一步的校正，构建靶点均为标准化命名的数据列表。

2.3. IPF 和 Asthma 疾病靶点的获取

在 GeneCards、DrugBank、Disgenet、OMIM 和 TTD 五个疾病数据库中分别输入“Idiopathic Pulmonary Fibrosis”和“Asthma”进行检索，将数据合并，去除重复基因，得到 IPF 和 Asthma 的疾病靶点数据。

2.4. 升陷汤“异病同治”IPF 和 Asthma 的共有靶点

将 2 种疾病的靶点与升陷汤中活性成分所对应的靶点取交集，导入 Venny 2.1 软件绘制 venny 图，从而得到升陷汤“异病同治”IPF 和 Asthma 的共同作用靶点。

2.5. PPI 网络构建及筛选核心靶点

将 2.4 中得到的共有靶点导入到 String 数据中，物种选择人类，将最高置信度设置为 0.9 构建 PPI 网络图，导入 Cytoscape 3.7.2，进一步优化蛋白互作网络。利用 Cytoscape 中的分析工具对网络数据进行拓扑分析，以度值、中介中心性、紧密度为主要筛选指标，计算其平均值，得到数值均大于三者平均值的

靶点,即为核心作用靶点,同时绘制核心靶点互作网络图。再利用 Cytoscape 3.7.2 软件的 MCODE 插件对该网络进行模块分析,将每个模块的基因进行单独的 KEGG 通路分析,得出关键靶点与作用通路。

2.6. GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

导入升陷汤“异病同治”IPF 和 asthma 的共同作用靶点到 DAVID 数据库,设置相应参数,依次选择官方基因符号、人类和基因列表,提交数据进行富集分析。下载并处理相关数据(按数字大小筛选 $P < 0.05$,按 count 值的大小降序排列),选择出最优的生物学途径,并在微生信平台上进行分析并绘制柱状图。其中,GO 富集包括生物过程、分子功能和细胞组分,KEGG 分析主要涉及一些重要的生化代谢通路。

2.7. “成分 - 靶点 - 通路”网络的构建

选取前 20 个 KEGG 信号通路所对应的靶点信息,将处理好的数据导入到 Cytoscape 3.7.2 软件中,构建升陷汤“异病同治”的“成分 - 靶点 - 通路”相互作用网络图。

2.8. “化学成分 - 靶点 - 疾病”网络的构建

利用 Cytoscape 3.7.2 软件构建升陷汤治疗 IPF 和 asthma 的“化学成分 - 靶点 - 疾病网络”可视化网络。以 Degree 值作为筛选参数, Degree 值越大,对应的成分越可能是升陷汤“异病同治”的关键活性成分。

2.9. 分子对接

筛选 PPI 网络中节点度值最高的 10 个核心蛋白,在 PDB 数据库中下载目标蛋白的三维结构作为受体,选取 2.8 网络中度值排名前 10 的关键化学成分,在 pubchem 数据库下载其 SDF 文件,再利用 OpenBabal 2.4.1 软件转换为 mol2 格式文件下载相应配体的结构,利用 AutoDock Tools 软件,将活性成分与关键靶点分别进行对接,对输出结果进行分析,绘制相应的热图,最后选取 8 组对接结合能低的组合,利用 Pymol 进行可视化。

3. 结果

3.1. 药物活性成分及预测靶点

TCMSP 和 Batman-TCM 这 2 个数据库中整理去重后得到升陷汤中活性成分 158 个,药物靶点 1754 个,每味药分别对应的活性成分及靶点详见表 2。

Table 2. Component target information table of Sheng Xian Tang

表 2. 升陷汤成分靶点信息表

药物名称	化学成分数目	靶点数目
黄芪	40	593
桔梗	20	447
升麻	13	262
柴胡	52	1203
知母	33	492

3.2. IPF 和 asthma 的靶点

通过在 GeneCards、DrugBank、Disgenet、OMIM 和 TTD 五个疾病数据库检索并删除重复靶点后,获得特发性肺纤维化 1937 个靶点、哮喘 2094 个靶点。

3.3. 升陷汤“异病同治” IPF 和 Asthma 靶点获取

将升陷汤的 1754 个潜在作用靶点、特发性肺纤维化的 1937 个靶点以及哮喘的 2094 个靶点导入 venny 2.1 在线分析工具，获得升陷汤与特发性肺纤维化及哮喘的交集靶点共 247 个，利用微生信绘制 venny 图 (见图 1)。

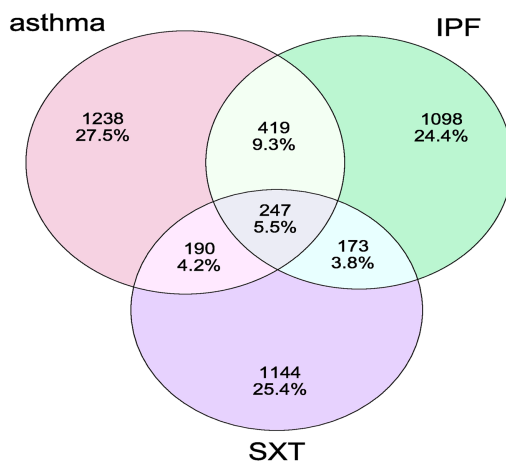


Figure 1. Venny diagram of intersection targets of Sheng Xian Tang, IPF and Asthma

图 1. 升陷汤与 IPF、Asthma 交集靶点韦恩图

3.4. 构建升陷汤干预 IPF 及 Asthma PPI、筛选核心靶点、进行模块分析

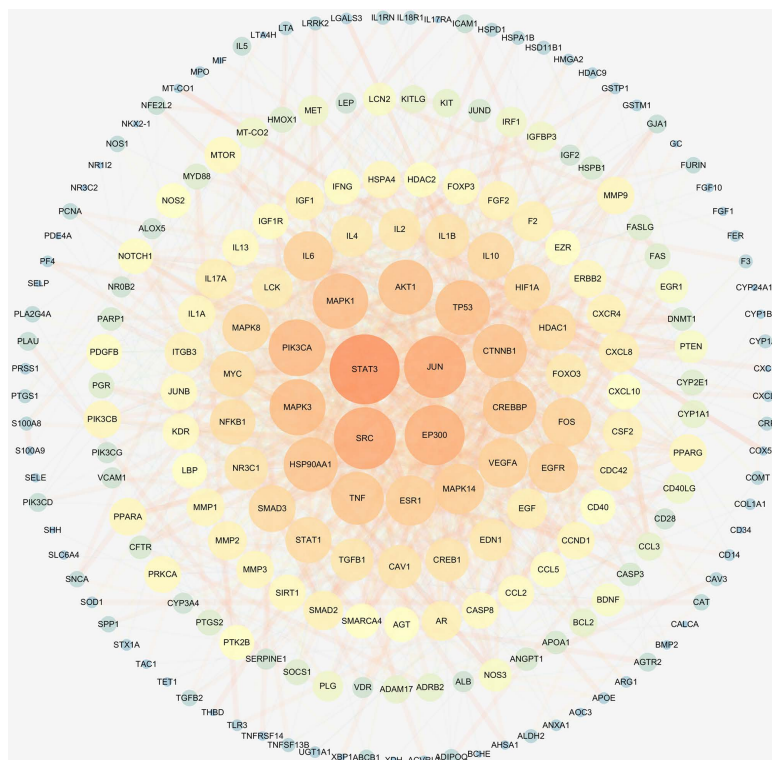


Figure 2. Protein interaction network diagram of intervention of Sheng Xian Tang with IPF and Asthma

图 2. 升陷汤干预 IPF 及 Asthma 的蛋白互作网络图

在 STRING 数据库中导入药物 - 疾病的 247 个交集靶点,物种设置为“Homo sapiens”,置信度 > 0.9,隐藏游离节点,下载 tsv 格式,导入 Cytoscape 3.7.2 构建升陷汤“异病同治”IPF 和 Asthma 的蛋白互作网络,见图 2。此网络中包含 213 个节点和 1368 条边,图中靶点颜色越红、尺寸越大代表 degree 值越高,其在网络中的作用越关键。对网络中的数据进行拓扑分析,按 degree 值的大小排序,排名前十的靶点分别为 STAT3、SRC、JUN、EP300、PIK3CA、MAPK3、MAPK1、AKT1、TP53 和 HSP90AA1,这提示着这些靶点可能成为升陷汤“异病同治”IPF 和 asthma 的关键靶点;以度值、中介中心性、紧密度为参数,筛选出了 46 个三者均大于平均值的靶点作为核心靶点,在 Cytoscape 中绘制了核心 PPI(见图 3),整理了核心靶点的拓扑分析信息(见表 3)。

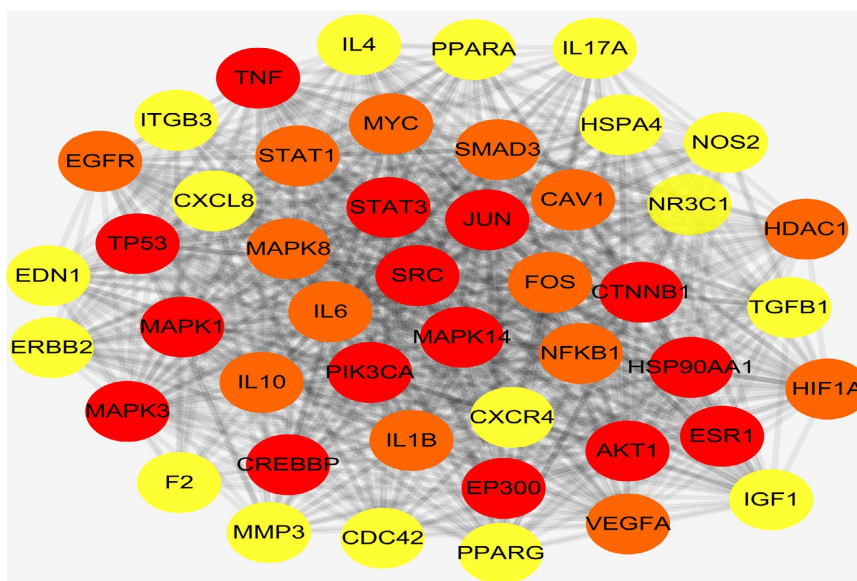


Figure 3. Core target PPI
图 3. 核心靶点 PPI

Table 3. Topological analysis information of core targets
表 3. 核心靶点的拓扑分析信息

序号	名称	度值	中介中心性	紧密度
1	STAT3	66	0.09569408	0.54498715
2	SRC	54	0.07583348	0.5047619
3	JUN	54	0.05509198	0.51581509
4	EP300	51	0.04876072	0.50118203
5	PIK3CA	46	0.0371838	0.48401826
6	MAPK3	45	0.03045135	0.4953271
7	MAPK1	44	0.02917338	0.49187935
8	TP53	43	0.03431733	0.48072562
9	AKT1	43	0.04016909	0.48623853
10	HSP90AA1	42	0.05110483	0.4785553
11	CTNNB1	42	0.03766941	0.4785553

Continued

12	CREBBP	41	0.05825378	0.49648712
13	TNF	40	0.05404355	0.47216036
14	MAPK14	36	0.01920508	0.47640449
15	ESR1	36	0.01470486	0.47321429
16	EGFR	35	0.02542975	0.47006652
17	VEGFA	35	0.02635122	0.4785553
18	IL6	35	0.01873888	0.45202559
19	FOS	34	0.01232331	0.46491228
20	MAPK8	32	0.02092889	0.4628821
21	SMAD3	31	0.02244928	0.45788337
22	IL10	31	0.01770326	0.43089431
23	STAT1	30	0.01329354	0.46902655
24	HIF1A	30	0.02157212	0.45788337
25	NFKB1	29	0.01763047	0.46491228
26	MYC	29	0.0092089	0.4628821
27	HDAC1	29	0.00860295	0.44074844
28	IL1B	27	0.0199588	0.45202559
29	CAV1	26	0.02673021	0.46187364
30	NR3C1	26	0.01104703	0.45010616
31	TGFB1	25	0.0170884	0.44074844
32	EDN1	24	0.01325386	0.45788337
33	IL4	23	0.01467218	0.42741935
34	F2	21	0.02656931	0.41005803
35	CDC42	21	0.00894099	0.43265306
36	CXCL8	21	0.01445085	0.4371134
37	IL17A	21	0.01401219	0.4140625
38	CXCR4	20	0.02496743	0.42315369
39	ITGB3	20	0.01041279	0.41165049
40	IGF1	19	0.02182469	0.41814596
41	ERBB2	17	0.00841397	0.43983402
42	PPARG	17	0.01415831	0.42741935
43	PPARA	17	0.0209533	0.44166667
44	HSPA4	17	0.00972611	0.40535373
45	MMP3	17	0.00923932	0.40769231
46	NOS2	13	0.01101143	0.43353783

在此基础上, 通过 MCODE 插件对该网络进行模块化分析, 将 k-Core 设置为 3, 最终得到 5 个打分大于 3 (如图 4) 的基因群组, 并对各模块进行 KEGG 路径分析。设置 P 值 < 0.05 , 筛选出升陷汤“异病同治”的基本途径。KEGG 富集结果显示模块一筛选获得了 91 条通路, 主要与癌症、炎症因子、细胞因子等通路高度相关; 模块二筛选得到 88 条通路, 主要涉及到癌症、诱导因子和信号转导通路等; 模块三获得了 95 条通路, 与癌症、病毒感染、信号转导等通路有关系; 模块四一共有 36 条通路, 主要与细胞分化、免疫因子及病毒感染等通路有关; 模块五筛选后得到 4 条通路, 主要与信号转导、病毒感染、癌症等通路相关。同时对比分析 5 个模块的数据, 发现 5 个模块有一个相同的信号通路: 癌症信号通路 (Pathways in Cancer), 提示这条信号通路可能是升陷汤治疗 IPF 和 Asthma 的关键通路。

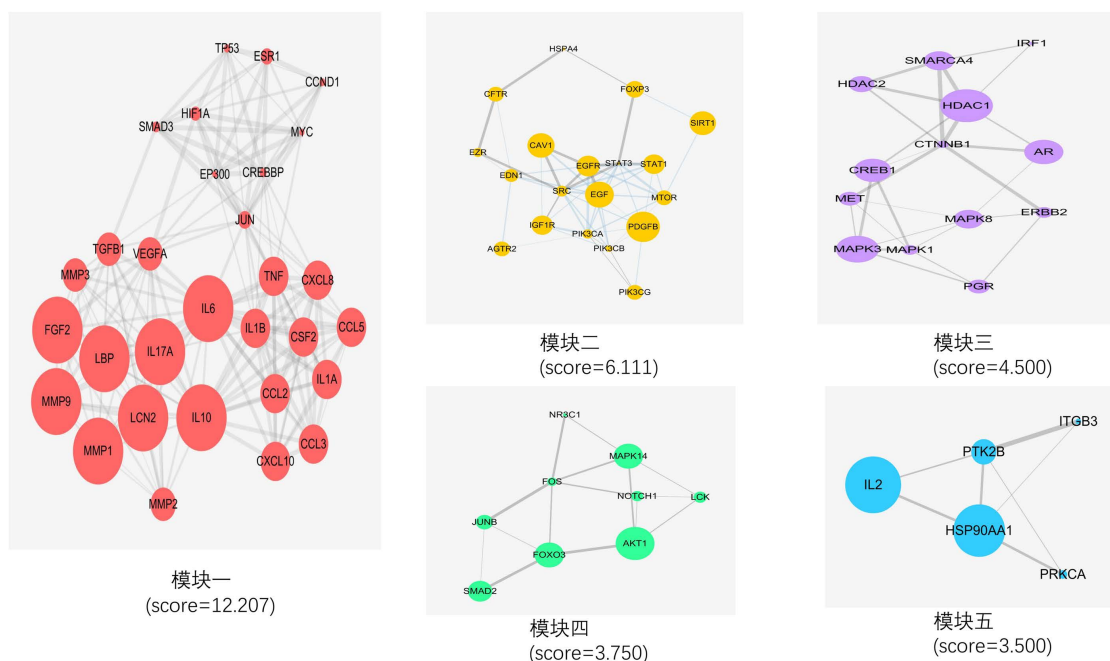


Figure 4. Module analysis diagram
图 4. 模块分析图

3.5. GO 富集和 KEGG 通路分析结果

为了更好的探究升陷汤治疗 IPF 和 Asthma 复杂的作用机制以及潜在的信号通路, DAVID 数据库对药物与疾病的共同靶点进行 GO 和 KEGG 富集通路分析, 参数设置 P value < 0.05 , GO 富集共获得 1087 条结果, 结果显示升陷汤治疗 IPF 和 Asthma 的靶点主要与基因表达的正向调控等 (Positive Regulation of Gene Expression)、炎症反应 (Inflammatory Response) 和药物反应 (Response to Drug) 等生物过程有关; 升陷汤可能作用于细胞外空间 (Extracellular Space)、细胞外区域 (Extracellular Region) 和等离子体膜 (Plasma Membrane) 等细胞组分来发挥治疗的作用; 分子功能主要涉及酶结合 (Enzyme Binding)、相同的蛋白质结合 (Identical Protein Binding) 和蛋白质结合 (Protein Binding) 等, KEGG 分析结果共获得 176 个条目, 与升陷汤“异病同治”机制相关性大的通路主要有 AGE-RAGE 信号通路 (AGE-RAGE Signaling Pathway in Diabetic Complications)、癌症信号通路 (Pathways in Cancer)、脂质与动脉粥样硬化 (Lipid and Atherosclerosis)、流体剪切应力和动脉粥样硬化 (Fluid Shear Stress and Atherosclerosis)、TNF 信号通路 (TNF Signaling Pathway) 等。按照 count 值的大小排序, GO 富集分析中 BP、CC、MF 的前 10 位数据如图 5 所示, KEGG 通路分析中的前 20 位数据如图 6 所示。

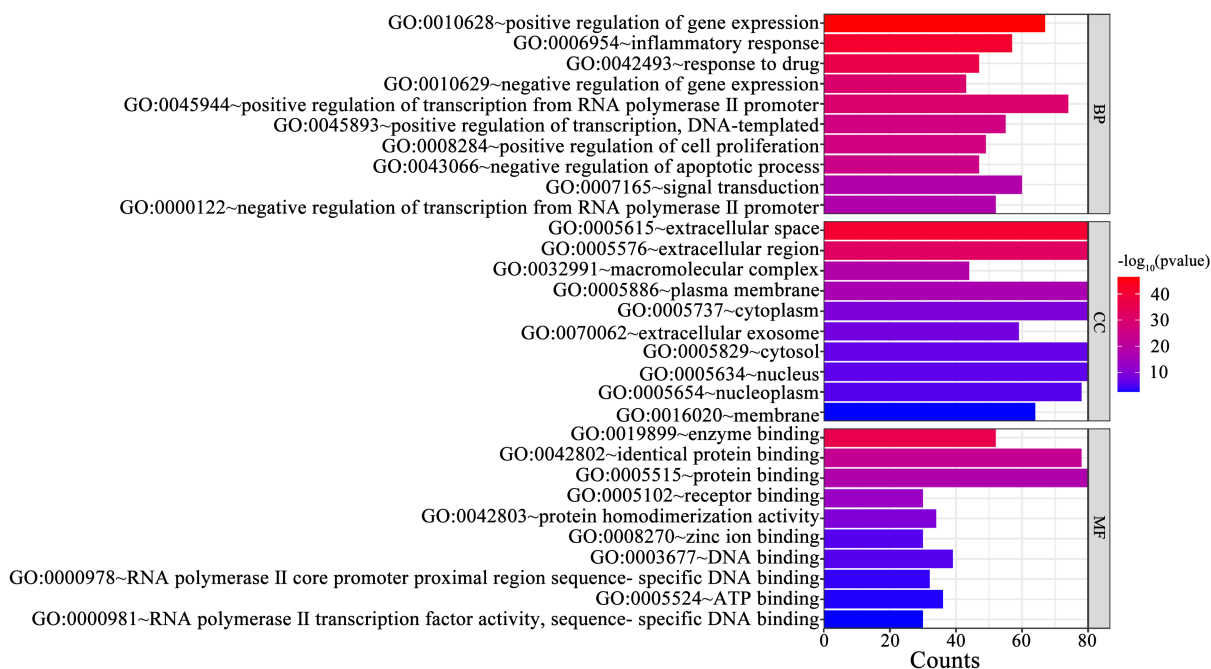


Figure 5. GO enrichment analysis of the target of “simultaneous treatment of different diseases” in Sheng Xian Tang
图 5. 升陷汤 “异病同治” 靶点 GO 富集分析

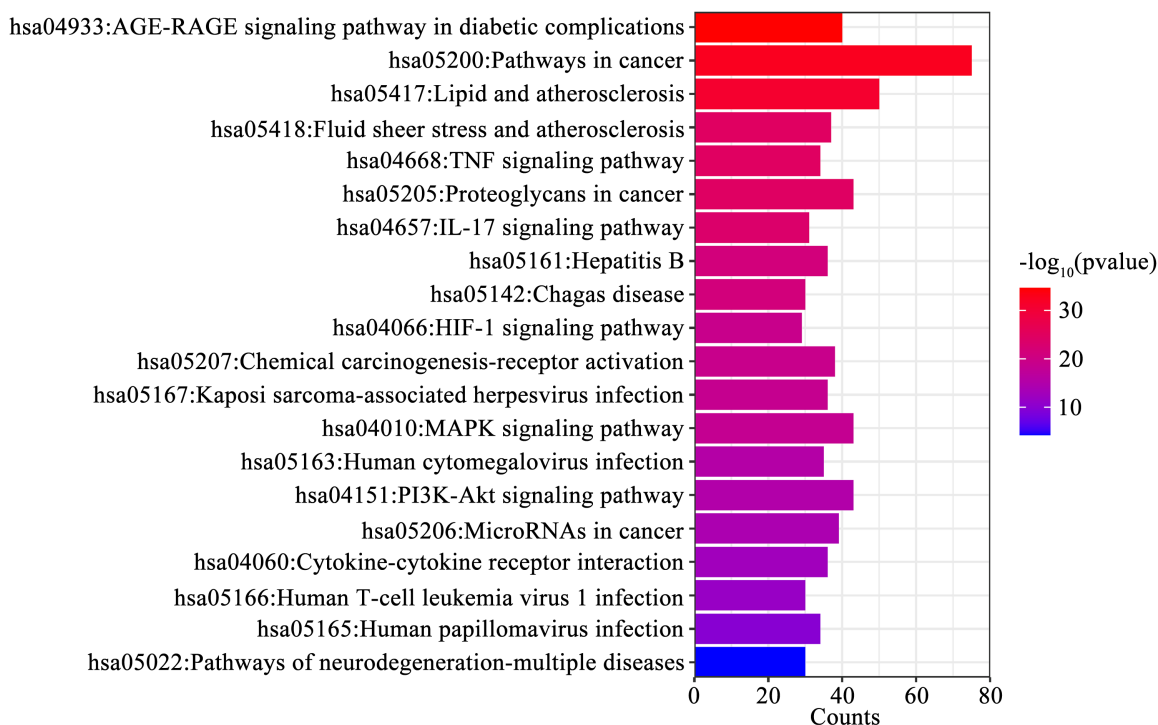


Figure 6. KEGG enrichment analysis of the target of “simultaneous treatment of different diseases” in Sheng Xian Tang
图 6. 升陷汤 “异病同治” 靶点 KEGG 富集分析

3.6. 成分 - 靶点 - 通路网络 PPI 及拓扑分析

筛选整理好成分、靶点与通路三者之间的相关数据后，在 Cytoscape 3.7.2 中绘制 “成分 - 靶点 - 通

路”网络(见图 7), 该网络中共有 413 个节点, 1934 条边; 其中紫色的正方形代表信号通路, 浅蓝色的菱形代表作用靶点, 橙色的圆形代表药物有效成分, 连线的密集程度显示各节点之间的相互作用的强弱, 结果显示筛选的前 20 条信号通路共富集到了 172 个基因, 度值排名前 10 的靶点依次为 PTGS2、AR、ESR1、PGR、TNF、NFKB1、IL1B、AKT1、IL6、NOS2; 度值排名靠前的化学成分包括 quercetin、8-Nonenoic Acid、kaempferol、Polygalacin D2 和 Pulegone 等; 度值高的信号通路主要涉及 Pathways in Cancer、Lipid and Atherosclerosis、Proteoglycans in Cancer、MAPK Signaling Pathway、PI3K-Akt Signaling Pathway 等。结果说明了关键靶点与潜在化学成分能多次重复的作用于多条信号通路, 因此可以认为升陷汤的 quercetin、kaempferol 等成分可以通过多靶点来调节癌症信号通路、细胞分化、细胞信号转导等来发挥“异病同治” IPF 和 Asthma 的作用。

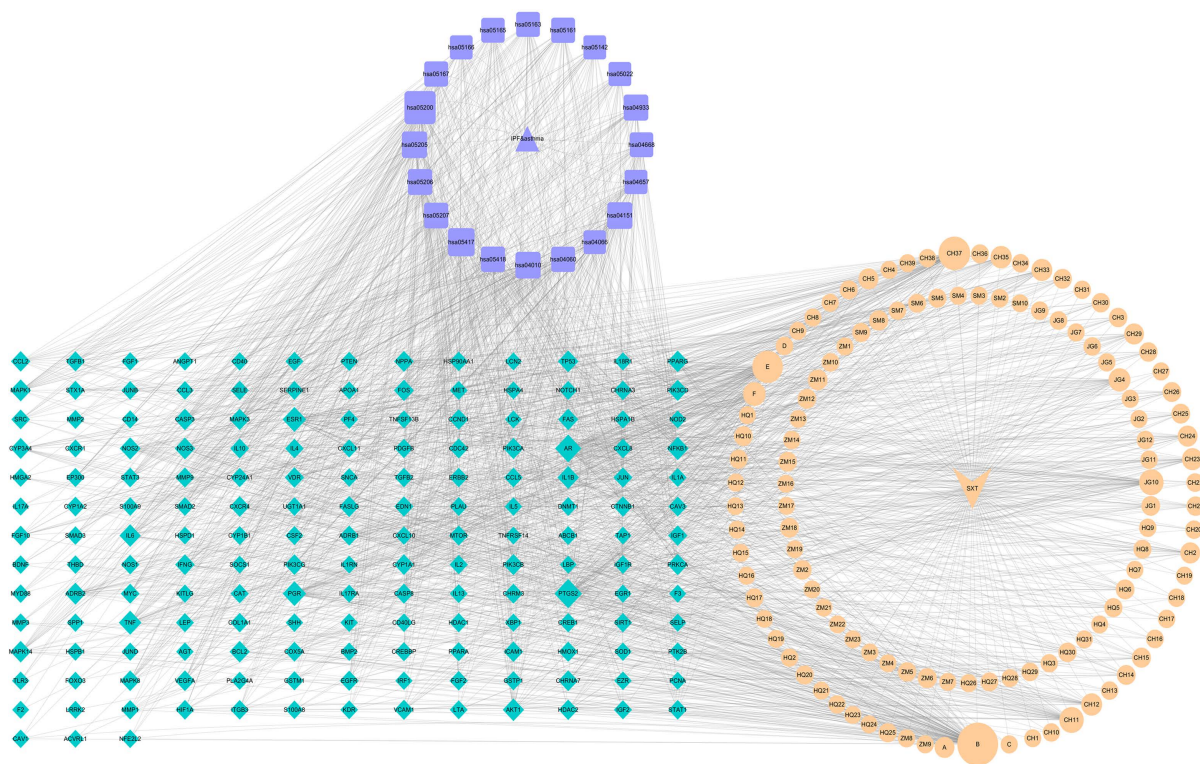


Figure 7. “Composition-target-pathway” interaction network diagram

图 7. “成分 - 靶点 - 通路” 互作网络图

3.7. “化学成分 - 靶点 - 疾病” 网络的构建与分析

利用 Cytoscape 3.7.2 构建一个“化学成分 - 靶点 - 疾病”网络图(见图 8), 结果包括 393 个节点(包括 254 个靶点, 132 个化学成分), 2097 条边, 其中蓝色的菱形代表升陷汤异病同治 IPF 和 Asthma 的作用靶点, 靶点外侧对应的 5 个不同颜色的椭圆形的圈代表升陷汤五味药特有的化学成分, 紫色的正八边形的圈代表升陷汤中药物共有的化学成分。对网络数据进行进一步分析, degree 值越高, 说明该活性成分所涉及的目标靶点就越多, 以度值为筛选指标, 选出排名前 20 的化学成分(见表 4), 这提示着其为该网络的关键活性成分, 在升陷汤“异病同治” IPF 及 Asthma 中起重要作用。度值排名靠前的 PTGS2、PTGS1、PGR、ESR1、NR3C1 和 PRSS1 等靶点, 也进一步说了升陷汤的多成分治疗 IPF 和 Asthma 是通过作用于多靶点来进行的。

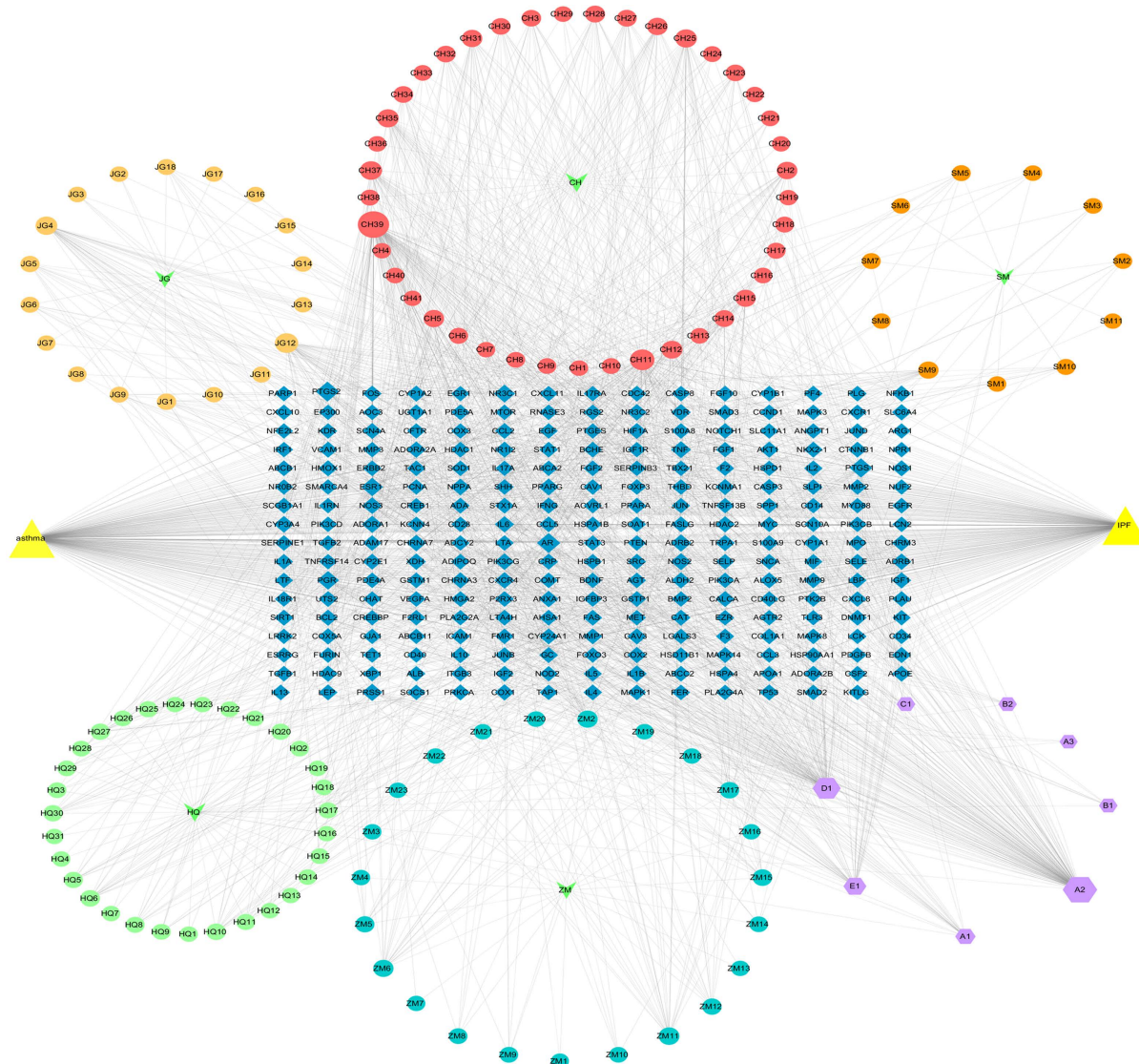


Figure 8. Network diagram of “chemical composition-target-disease” interaction

图 8. “化学成分 - 靶点 - 疾病” 互作网络图

Table 4. Top 20 chemical components in degree value

表 4. 度值排名前 20 的化学成分

序号	化合物名称	度值	来源
1	Quercetin (A2)	151	黄芪、柴胡
2	3-Methylcyclotridecan-1-One (CH39)	122	柴胡
3	Kaempferol (D1)	94	知母、黄芪、柴胡
4	Pulegone (CH11)	59	柴胡
5	Betulin (JG12)	48	桔梗
6	Stigmasterol (E1)	46	知母、升麻、柴胡
7	8-Nonenoic Acid (CH37)	36	柴胡

Continued

8	Luteolin (JG4)	34	桔梗
9	Linolenic Acid (CH25)	32	柴胡
10	Alpha-Linolenic Acid (CH35)	31	柴胡
11	Phenylacetic Acid (CH12))	28	柴胡
12	Ginkgolic Acid (ZM11)	25	知母
13	Tridecanoic Acid (CH2)	24	柴胡
14	Caprylic Acid (CH31)	23	柴胡
15	D-Limonene (CH26)	23	柴胡
16	Stearic Acid (CH5)	23	柴胡
17	Isorhamnetin (A1)	23	黄芪、柴胡
18	Nicotine (ZM6)	21	知母
19	Tingenone (ZM2)	21	知母
20	N-Nonanol (CH15)	21	柴胡

3.8. 分子对接结果

为进一步验证升陷汤治疗 IPF 和 Asthma 的分子机制, 以结合能 ≤ -7.0 kJ/mol 为标准, 对有效活性成分和关键靶点进行分子对接, 对接结果见图 9, 结果显示对接结合能远小于 -7.0 kJ/mol 的对接组合, 则表明该活性成分与该靶点间具有良好的结合能力, 也证明了该研究结论的可信度。选取 8 组亲和力 < -7 的配体和受体在 Pymol 中进行可视化, 见图 10。

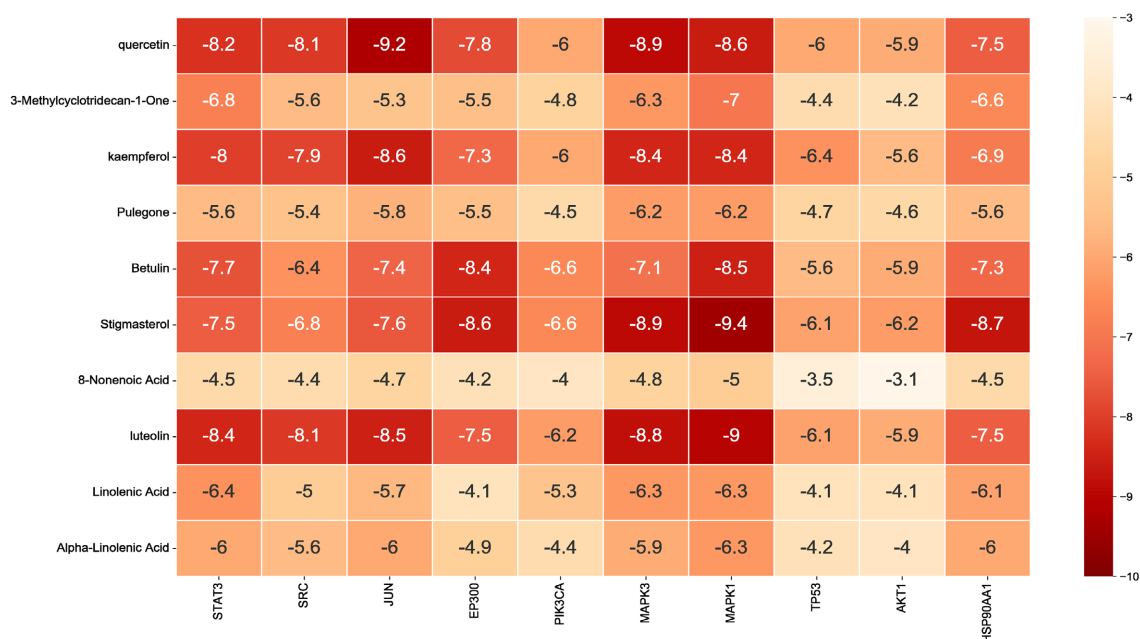


Figure 9. Molecular docking data analysis heat map
图 9. 分子对接数据分析热图

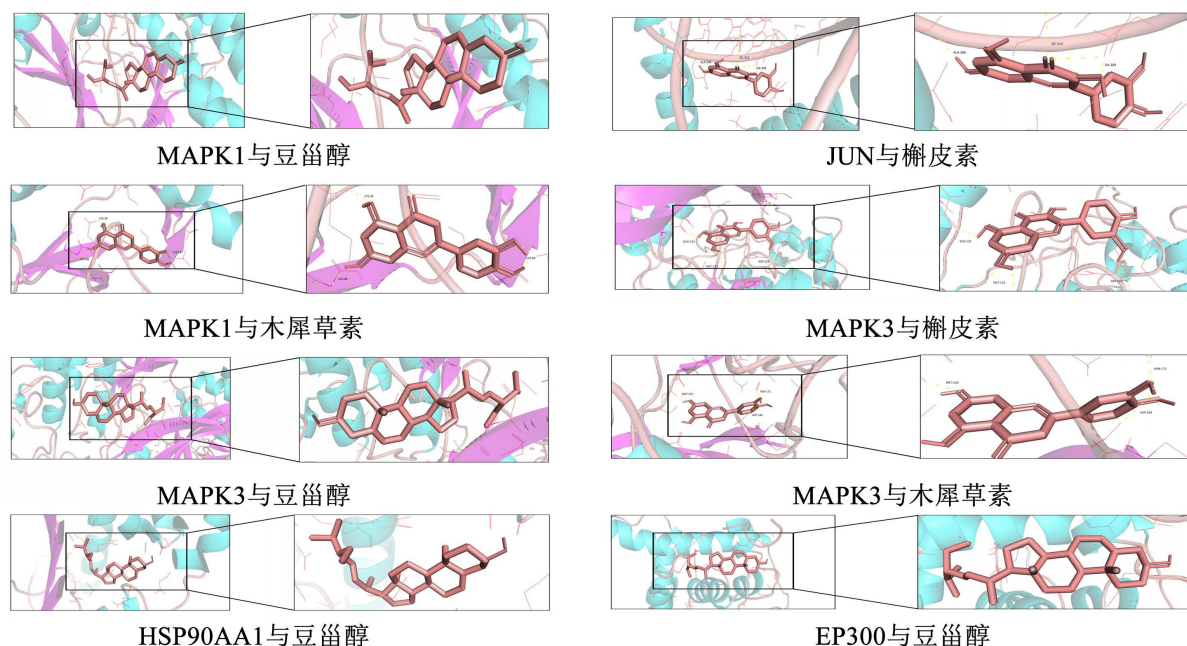


Figure 10. Schematic diagram of connection between core components and target points

图 10. 核心成分与靶点对接示意图

4. 讨论

IPF 和 asthma 均属于慢性的呼吸系统的疾病，其致病机制较为复杂，目前尚无准确定论，且随着其不断发展到急性期，会威胁到人类的生命健康安全。二者在中医病机上均为本虚标实，升陷汤作为“大气下陷”的经典名方，能起到益气活血祛瘀的功效。目前虽然已有升陷汤治疗 IPF 和 Asthma 相关研究，但分子层面的机制研究还较少，且目前还未有人从“异病同治”的角度展开研究，因此本研究采用网络药理学和分子对接的方法对升陷汤“异病同治”IPF 和 Asthma 的作用机制进行探讨。

文章通过对升陷汤进行网络药理学分析可知其活性成分有 158 个，其中槲皮素、豆甾醇、木犀草素、山奈酚可能是升陷汤异病同治的关键成分。槲皮素是一种基于黄酮结构的生物活性天然化合物，具有抗氧化机制和光合作用能诱导植物正常生长和发育等[12]。槲皮素含有广泛的药理作用，具有抗氧化、清除自由基、抗炎抗菌、抗肿瘤、免疫抑制、促进细胞凋亡等功效[13] [14]。目前已有研究通过对比吡非尼酮与槲皮素干预 S1P/SPHK 信号通路的作用，结果显示二者在调节 S1P/SPHK 信号通路方面作用相当，验证了槲皮素类药物特发性肺纤维化的临床可行性[15]。槲皮素可以对免疫系统进行激发，对病毒的活性进行抑制，抑制组胺释放，降低促炎细胞因子和白三烯的产生，抑制白介素 IL-4 的产生，改善 Th1/Th2 平衡，抑制抗原特异性 IgE 抗体的形成[16]，这种机制可以对晚期支气管哮喘反应以及其他过敏性疾病进行有效的治疗。山奈酚和木犀草素也属黄酮类化合物，具有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化和抗病毒等多种药理作用[17] [18]。且已有研究发现木犀草素能通过抑制 IL-36 γ 分泌介导的 MAPK 通路来缓解中性粒细胞性哮喘[19]。豆甾醇是一种天然存在的甾醇类物质，具有抗炎、免疫抑制、抗病毒等多重作用[20] [21]。进一步说明了升陷汤发挥“异病同治”的作用功效主要依靠多种化学成分的抗炎、抗病毒、抗肿瘤以及免疫抑制等药理作用。

通过 PPI 网络拓扑分析显示发现升陷汤“异病同治”主要是以 STAT3、SRC、JUN、EP300、PIK3CA、MAPK3、MAPK1、AKT1、TP53 和 HSP90AA1 等核心靶点来调控。STAT3 近几年作为治疗靶点受到广泛关注，其在介导肿瘤进展、炎症、心血管疾病和其他病理过程中发挥着重要作用[22]，有研究证明抑制

JAK2/STAT3 信号通路可以改善哮喘发病机制中的气道炎症和气道重塑[23]。Src 家族激酶(SFKs)是一种非受体酪氨酸激酶,在调节信号转导、细胞分化以及其他生物过程中起关键作用[24]。Jun 在转录调控中的作用已被广泛研究,主要通过由不同类转录因子调节的基因的转录,如类固醇激素受体[25]。EP300 能编码腺病毒 E1A 相关的细胞 EP300 转录共激活蛋白,具有调节细胞增殖生长、细胞分化的作用,同时还能抑制肿瘤的发生发展[26]。PIK3CA 存在于脑、肺、胃肠、乳腺、宫颈、卵巢等部位,它还可以对体细胞的增殖与分化进行调节[27]。MAPK3 和 MAPK1 都属于丝裂原激活蛋白激酶,能够调节多种生物进程,如转录和翻译,还可以调控细胞的增殖、分化与凋亡等[28]。TP53 基因是研究癌症发生发展的“明星基因”,其具有调节细胞周期、修复 DNA 结构、调控细胞凋亡、参与信号传导、转录和代谢基因的转录等作用[29]。HSP90AA1 主要与肿瘤的过表达以及预后不良等相关,可以调节细胞的增殖分化与凋亡等[30]。因此这提示着升陷汤是通过以上核心靶点的相关作用,多个靶点作用调节细胞的增殖分化、调控基因的表达与转录来干预 IPF 和 Asthma。

由 GO 富集和 KEGG 通路分析可知,升陷汤“异病同治”参与的生物过程主要涉及基因表达的正向调控、炎症反应和药物反应等,其主要通过多种信号通路来干预 IPF 和 Asthma,包括 AGE-RAGE 信号通路、癌症信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化、TNF 信号通路等。AGE-RAGE 信号通路的作用机制是使 NF- κ B 激活、刺激 VEGF、TGF- β 1 的产生、促进单核细胞趋化蛋白-1 的表达、激活 NADPH 氧化酶引发氧化应激活性氧[31]。目前癌症途径的相关通路已经被广泛的研究,其对于其他疾病也发挥着关键作用。已有大量研究显示,流体剪切应力的机械力学刺激在生物体内转化为生物化学信号,调节单核-巨噬细胞的表型和功能能够参与动脉粥样硬化斑块的发生、易损斑块的形成及斑块破裂等过程[32]。早期受到外界刺激,血液内的单核细胞开启免疫反应,外界刺激冲破免疫屏障,使单核细胞成功转化为巨噬细胞,巨噬细胞会诱发炎症反应,进而就会导致 IPF 的发生[33]。TNF 是细胞凋亡、免疫和炎症的主要中介因子,TNF 的错误产生或持续激活 TNF 信号涉及到了大多数人类疾病的发病机制,例如癌症、骨质疏松症、败血症和自身免疫性疾病等[34]。TNF- α 诱导的下游信号通路,参与炎症反应、免疫应答以及肿瘤的发生及进展等[35],且临床上已有研究证实 TNF 信号通路的表达情况与 IPF 以及 asthma 的治疗具有高度相关作用[33] [36]。由此可见,升陷汤主要是通过以上的几种通路通过调控炎症反应、免疫抑制以及信号转导等多种途径来达到治疗 IPF 和 asthma 的作用。

通过对分子对接结果进行分析,发现槲皮素-JUN、豆甾醇-MAPK1、木犀草素-MAPK1、豆甾醇-MAPK3 等组合的对接效果良好,多数结合位点有氢键的连接,这也初步验证了升陷汤治疗 IPF 和 Asthma 的关键作用与化学成分-靶点的结合有关联。但本研究还存在一些局限性,由于仅通过网络药理学预测得到的靶点的准确性较低,且预测得到的药物化学成分也与临床上使用的中药成分的复杂程度不一致,因此更加准确的药理作用需要进一步的动物实验、细胞实验以及临床试验来证实。

综上所述,预测升陷汤中的有效成分可通过多靶点、多种信号通路来发挥调控细胞分化以及基因表达、抑制炎症反应、细胞凋亡等作用,实现 IPF 和 Asthma “异病同治”的作用。本研究在微观上证明了异病同治理论的可行性,丰富了其内涵。

参考文献

- [1] Saito, S., Alkhatib, A., Kolls, J.K., Kondoh, Y. and Lasky, J.A. (2019) Pharmacotherapy and Adjunctive Treatment for Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF). *Journal of Thoracic Disease*, **11**, S1740-S1754. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.04.62>
- [2] Suri, G.S., Kaur, G., Jha, C.K. and Tiwari, M. (2021) Understanding Idiopathic Pulmonary Fibrosis—Clinical Features, Molecular Mechanism and Therapies. *Experimental Gerontology*, **153**, Article ID: 111473. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111473>

- [3] Maher, T.M., Bendstrup, E., Dron, L., Langley, J., Smith, G., Khalid, J.M., Patel, H. and Kreuter, M. (2021) Global Incidence and Prevalence of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Respiratory Research*, **22**, 197. <https://doi.org/10.1186/s12931-021-01791-z>
- [4] 陈建中. IPF 西医治疗现状[J]. 工企医刊, 2012, 25(4): 38-40.
- [5] 李增清, 杨东新, 周真, 赵小琴, 赵慧, 谢丹宇, 郭素华, 胡兢晶, 王波. 白介素 6 受体基因 rs4129267 位点多态性与汉族儿童 asthma 易患性及血清 IgE 水平的关联研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(36): 4474-4477.
- [6] Global Initiative for Asthma (GINA) (2020) Global Strategy for Asthma Management and Prevention. <http://www.ginasthma.org>
- [7] 黄帅阳, 候丹, 黄贵锐, 吕明圣, 弓雪峰, 张诗瑜, 张志杰, 崔红生. 基于网络药理学探讨 asthma 宁颗粒治疗支气管哮喘的作用机制及 PI3K/Akt 信号通路验证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(9): 150-157.
- [8] 刘明旺, 谢蓓莉, 宋博策, 别玉龙, 赵福海. 基于“瘀毒”理论探讨加味升陷汤治疗冠心病介入术后中心绞痛效果[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(12): 66-69.
- [9] 李红梅, 张旭辉, 李世霞, 漆哲宁. 基于“肺虚络瘀”理论探讨升陷汤治疗特发性肺纤维化[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(7): 1191-1194.
- [10] 章关根. 升陷汤加减治疗支气管哮喘 59 例[J]. 四川中医, 1997(5): 35.
- [11] 张合雷, 蔡萱, 靳培培, 申晓华, 苏奎国. 中医药治疗支气管哮喘的研究进展[J]. 西部中医药, 2021, 34(12): 155-158.
- [12] Singh, P., Arif, Y., Bajguz, A. and Hayat, S. (2021) The Role of Quercetin in Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **166**, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>
- [13] 杨颖, 王芸芸, 蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展[J]. 特种经济动植物, 2020, 23(5): 24-28.
- [14] 马纳, 李亚静, 范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8): 221-224.
- [15] 张兴彩, 蔡余力, 张伟, 陈宪海. 吡非尼酮与槲皮素通过 S1P/SPHK 信号通路抗小鼠肺纤维化比较研究[J]. 中医药学报, 2019, 47(5): 4-8. <https://doi.org/10.19664/j.cnki.1002-2392.190132>
- [16] Mlcek, J., Jurikova, T., Skrovankova, S. and Sochor, J. (2016) Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. *Molecules*, **21**, 623. <https://doi.org/10.3390/molecules21050623>
- [17] 王琪, 李坤伟, 周长征. 木犀草素的药理作用及制剂研究进展[J]. 北京联合大学学报, 2022, 36(1): 59-63.
- [18] 张蕾, 王璐瑶, 付学奇, 赵婉竹, 郝婧玮, 王新颖, 纪秋研. 山柰酚的优化提取及生化性质[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2022, 60(1): 175-181.
- [19] Qiao, X.R., Feng, T., Zhang, D., et al. (2023) Luteolin Alleviated Neutrophilic Asthma by Inhibiting IL-36 γ Secretion-Mediated MAPK Pathways. *Pharmaceutical Biology*, **61**, 165-176. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2160770>
- [20] Antwi, A.O., et al. (2017) Stigmasterol Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Innate Immune Responses in Murine Models. *International Immunopharmacology*, **53**, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.10.018>
- [21] 吴力超, 李俊峰, 张婷婷, 陶方方, 刘文洪. 基于网络药理学和细胞实验探讨豆甾醇抗炎作用[J]. 中成药, 2022, 44(2): 609-615.
- [22] Zhang, W.R., Li, D.S., Li, B., Chu, X.M. and Kong, B. (2023) STAT3 as a Therapeutic Target in the Metformin-Related Treatment. *International Immunopharmacology*, **116**, Article ID: 109770. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109770>
- [23] Meng, J., Zou, Y., Hou, L., et al. (2022) MiR-140-3p Ameliorates The Inflammatory Response of Airway Smooth Muscle Cells by Targeting HMGB1 to Regulate the JAK2/STAT3 Signaling Pathway. *Cell Journal*, **24**, 673-680.
- [24] Li, N., Lin, G., Zhang, H., et al. (2022) Src Family Kinases: A Potential Therapeutic Target for Acute Kidney Injury. *Biomolecules*, **12**, 984. <https://doi.org/10.3390/biom12070984>
- [25] Rahmsdorf, H.J. (1996) Jun: Transcription Factor and Oncoprotein. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*, **74**, 725-747. <https://doi.org/10.1007/s001090050077>
- [26] 张才, 朱仲玲, 阎昭. EP300/CBP 在肿瘤中的研究现状和进展[J]. 天津医科大学学报, 2020, 26(5): 502-505.
- [27] Broderick, D.K., Di, C., Parrett, T.J., et al. (2004) Mutations of PIK3CA in Anaplastic Oligodendrogliomas, High-Grade Astrocytomas, and Medulloblastomas. *Cancer Research*, **64**, 5048-5050. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1170>
- [28] 张芬, 余建琴, 张怀念. KRAS 基因沉默介导 MAPK1/MAPK3 信号通路对乳头状甲状腺癌上皮间质转化的分子机制研究[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2020, 12(5): 473-479.

-
- [29] Xu-Monette, Z., *et al.* (2012) Dysfunction of the TP53 Tumor Suppressor Gene in Lymphoid Malignancies. *Blood*, **119**, 3668-3683. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-366062>
- [30] Wang, J., Cui, S., Zhang, X., Wu, Y. and Tang, H. (2013) High Expression of Heat Shock Protein 90 Is Associated with Tumor Aggressiveness and Poor Prognosis in Patients with Advanced Gastric Cancer. *PLOS ONE*, **8**, e62876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062876>
- [31] 杨超茅, 杨志新, 马晓玲. AGEs-RAGE 信号通路在糖尿病肾病中的作用机制及中医药研究进展[J]. 中医学报, 2019, 34(9): 1864-1868.
- [32] 张苏慧, 张颖倩, 惠辉, 王威, 佟伟, 陈韵岱. 流体剪切力作用于单核-巨噬细胞对动脉粥样硬化的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2022, 38(5): 412-417.
- [33] 王丽娜, 罗竹, 黄小朵, 徐昌君, 严春兰, 罗进程, 杨长福. 基于 TNF- α /NF- κ B 信号通路对 IPF 炎症与焦亡的探讨[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7(46): 190-191.
- [34] Ihnatko, R. and Kubes, M. (2007) TNF Signaling: Early Events and Phosphorylation. *General Physiology and Biophysics*, **26**, 159-167.
- [35] 李承宗. RIP1 与 TNF- α 诱导信号通路关系的研究进展[J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(19): 66-69.
- [36] 姚楠, 韦凌霞, 王志旺, 丁茂鹏, 付晓艳, 庞亚蓉, 程小丽, 蔺兴遥, 邵晶. 当归对阴虚哮喘小鼠气道黏液高分泌及 TNF- α /NF- κ B 信号通路的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2020, 36(2): 97-100+142.