

基于转录组学与网络药理学探讨补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病的机制

谢铨子¹, 纪树亮¹, 庄轰发², 吴鹏¹, 詹少锋², 黄佳佳¹, 黄慧婷², 杨柳柳², 刘小虹²(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 探索补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的分子机制。方法 在TCMSP中获取补中益气丸活性成分及靶点;以GEO数据库为主,OMIM数据库为辅获取疾病靶点,使用R软件映射出药物-疾病共同靶点。通过Cytoscape 3.7.2绘制药物-成分-共同靶点-疾病网络图,以及基于共同靶点的PPI网络拓扑分析图。使用R软件对共同靶点进行GO功能富集分析、KEGG通路富集分析,并利用KEGG通路富集分析结果构建通路-靶点网络图。最后对活性成分及靶点进行分子对接验证。结果 共获得163个补中益气丸活性成分及225个可用于后续分析的靶点,1313个COPD靶点,映射得出药物-疾病共同靶点20个。分析得出补中益气丸治疗COPD主要有槲皮素、山柰酚、豆甾醇等活性成分;涉及 δ -阿片受体1(OPRD1)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素10(IL-10)、表皮生长因子受体(EGFR)、窖蛋白1(CAV1)、热休克蛋白B1(HSPB1)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶8(CASP8)等作用靶点。GO分析提示主要与氧化应激反应相关;KEGG分析提示主要与肿瘤坏死因子、Toll样受体、低氧诱导因子-1、叉头盒O、Janus激酶-转录激活因子等信号通路有关。最后,分子对接结果证实了活性成分与靶点具有较好的结合能力。结论 补中益气丸治疗COPD的分子机制可能是以抗炎与抗氧化应激为核心,兼顾调节免疫、低氧耐受、气道黏液高分泌与保护血管内皮细胞多方面。

关键词: 补中益气丸;慢性阻塞性肺疾病;网络药理学;转录组学;分子对接

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)02-0182-09

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.02.005

Based on Transcriptomics and Network Pharmacology to Explore the Mechanism of *Buzhong Yiqi* Pills Treating in Chronic Obstructive Pulmonary Disease

XIE Yizi¹, JI Shuliang¹, ZHUANG Hongfa², WU Peng¹, ZHAN Shaofeng², HUANG Jiajia¹, HUANG Huiting², YANG Liuliu², LIU Xiaohong² (1. The First Clinical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. The First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of *Buzhong Yiqi* pills in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** The active ingredients and targets of *Buzhong Yiqi* pills were screened from TCMSP. The targets of COPD were predicted by the combination of GEO and OMIM databases. And R software was used to map out common drug-disease targets. Cytoscape 3.7.2 was utilized to draw a drug-ingredient-common target-disease network diagram and the PPI network topology analysis diagram based on the common targets. GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis on common targets were performed by R software. And pathway-target network diagram was constructed based on the results of KEGG pathway enrichment

收稿日期: 2020-08-28

作者简介: 谢铨子, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医药防治呼吸系统疾病。Email: eazer1@163.com。通信作者: 黄慧婷, 主治医师, 研究方向: 中医药防治呼吸系统疾病。Email: 348619123@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81904132); 广东省中医药管理局面上项目(20201092); 广东省教育厅科研项目(2017KQNCX042); 刘小虹广东省名中医传承工作室建设项目(粤中医办函[2018]5号); 广东省省级科技计划项目(华南中医药协同创新中心)(2014B090902002); B3-9 国家临床医学研究中心建设项目(呼吸科)(2110200309); 广州中医药大学学科提升计划: 中医内科学肺病方向。

analysis. Finally, the molecular docking verification of the active ingredients and the targets was carried out. **Results** A total of 163 active ingredients and 225 targets of *Buzhong Yiqi* pills, 1313 COPD targets were obtained. 20 common drug-disease targets were mapped out. The analysis showed that the active ingredients in *Buzhong Yiqi* pills for the treatment of COPD were quercetin, kaempferol, stigmasterol, etc. It was also involved OPRD1, IL-6, IL-10, EGFR, CAV1, HSPB1, CASP8 and so on. GO analysis suggested that it was mainly related to oxidative stress. By KEGG enrichment analysis, TNF signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, FoxO signaling pathway and JAK-STAT signaling pathway were found. Finally, the molecular docking results confirmed that the active ingredients had good binding ability with the targets. **Conclusion** The molecular mechanism of *Buzhong Yiqi* pills in the treatment of COPD may be based on anti-inflammatory and anti-oxidative stress, and taken into account the regulation of immunity, hypoxia tolerance, airway mucus hypersecretion and the protection of vascular endothelial cells.

Keywords: *Buzhong Yiqi* pills; chronic obstructive pulmonary disease; network pharmacology; transcriptomics; molecular docking

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种由于有害气体或颗粒入侵气道、肺而导致肺部异常炎症反应的疾病,表现为可进展性发展的不完全可逆的气流受限,临床以咳嗽咳痰、气喘气促为主要症状,严重时会导致呼吸衰竭^[1]。数据^[2]显示,我国 20 岁以上患 COPD 的人口约占全国人口的 8.6%。中医学认为其属于“肺胀”“喘证”等范畴,具体的辨证论治因人而异,若肺胀日久不愈,肺脏虚损,子盗母气,脾脏受累,可运用培土生金法治之^[3]。

补中益气丸在李东垣的《脾胃论》中有记载,由黄芪、升麻、白术、陈皮等多味药物组成,可补脾益气,使脾气运化以充肺,起到治疗 COPD 的作用。临床上,刘宗伟等^[4]运用补中益气丸联合脾多肽治疗 COPD 患者,可有效控制其病情发展,并预防复发;此外,予补中益气丸同类的汤剂内服治疗 COPD 患者也可减少其复发、改善生活质量^[5-7]。目前补中益气丸治疗 COPD 的药理机制仍不清楚,故本研究利用转录组学、网络药理学及分子对接技术探讨补中益气丸治疗 COPD 的分子作用机制,以期临床补中益气丸的推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件 (1)中药系统药理学数据库与分析平台 TCMS (http://tcmspw.com/index.php); (2)UniProt 数据库(https://www.uniprot.org/); (3)高通量基因表达数据库 GEO(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/); (4)在线《人类孟德尔遗传》数据库 OMIM

(https://omim.org/); (5)PDB 蛋白数据库(http://www.rcsb.org/); (6)PubChem 数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/); (7)R 软件。(8)Cytoscape3.7.2 软件; (9)Pymol 软件; (10)AutoDock vina 1.5.6 软件。

1.2 补中益气丸活性成分及药物靶点的获取 在 TCMS 上逐个搜索补中益气丸的药物(黄芪、党参、白术、甘草、陈皮、当归、升麻、柴胡),以口服生物利用度(OB)大于 30%、类药性(DL)大于 0.18 为筛选条件,获得补中益气丸各药物的活性成分。再通过活性成分获取其对应的药物靶点。将所得药物靶点输入到 UniProt 数据库中寻找其对应的基因简称,方便后续分析。

1.3 COPD 疾病靶点获取 转录组数据来源于 GEO 数据库,在数据库中以“chronic obstructive pulmonary disease”为关键词作检索,得到编号为 GSE8545 的芯片以及编号为 GPL570 的基因注释文件。该芯片数据中含有 54 个样本,其中 18 个样本为 COPD 患者,36 个样本为健康对照者。使用 R 软件的“limma”包进行数据分析,设置 logFC 绝对值 > 1,校正后 P 值 < 0.05,筛选出芯片数据中具有差异表达的基因,并以火山图及热图的形式进行可视化展示。此外,在 OMIM 数据库中,以“chronic obstructive pulmonary disease”为关键词进行检索,检索所得的结果作为疾病靶点的补充数据。

1.4 映射补中益气丸和 COPD 的共同靶点 运用 R 软件将“1.2”项获取的药物靶点和“1.3”项中取得的疾病靶点进行映射,得到药物-疾病共同靶点。

1.5 构建药物-成分-共同靶点-疾病网络图 选取共

同靶点及其对应的药物活性成分、中药名称、疾病名称等信息, 导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 建立药物-成分-共同靶点-疾病网络图, 使各成分、靶点之间的联系更加清晰直观。

1.6 蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI)

网络拓扑分析 通过 Cytoscape 3.7.2 软件对共同靶点进行 PPI 网络拓扑分析, 提炼出主要共同靶点。

1.7 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 使用 R 软件及其后台数据库 “org.Hs.eg.db” 找出共同靶点对应的基因 ID, 再通过 “clusterProfiler” 程序包对其进行基因本体 (Gene Ontology, GO) 功能富集分析以及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。设置阈值为 $P < 0.05$, 将所得结果进行可视化处理。

1.8 绘制通路-靶点网络图 将 KEGG 通路富集分析结果按照显著性进行排列, 搜集显著性排名前 20 位的通路及靶点, 利用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制通路-靶点网络图。

1.9 分子对接 通过检索 PDB 蛋白数据库, 查找下载作用靶点的蛋白结构, 使用 Pymol 软件去除结构中

的水分子, 加氢, 并进行蛋白质的电荷计算。再通过检索 PubChem 数据库, 获得补中益气丸中药物活性成分的 3D 结构。通过 AutoDock vina 1.5.6 软件将蛋白和活性成分转化为 pdbqt 格式, 将蛋白中自身配体所在的位置坐标定义为活性口袋, 即对接位点。设置系数 Spacing=0.375, 最后运行软件进行分子对接。当结合能 < 0 时可认为分子与蛋白可自发进行结合。

2 结果

2.1 补中益气丸活性成分及药物靶点的获取 补中益气丸中 8 味中药共有活性成分 181 个, 其中黄芪 20 个、党参 21 个、白术 7 个、陈皮 5 个、升麻 17 个、柴胡 17 个、当归 2 个、甘草 92 个, 去除重复后剩 163 个。通过活性成分获得药物靶点 2 300 个, 其中, 能成功找到基因简称的药物靶点有 1 631 个, 去除重复后剩 225 个。着重选取了对药物-疾病共同靶点有作用, 且口服生物利用度和类药性较高的部分活性成分进行了展示, 详见表 1。

表 1 补中益气丸部分活性成分信息表

Table 1 Information on some active ingredients of *Buzhong Yiqi* pills

序号	所属中药	ID	活性成分英文名称	活性成分中文名称	口服生物利用度(OB)/%	类药性(DL)	靶点数/个
1	黄芪、甘草、柴胡	MOL000098	quercetin	槲皮素	46.43	0.28	154
2	黄芪、甘草、柴胡	MOL000422	kaempferol	山柰酚	41.88	0.24	63
3	党参、升麻、柴胡、当归	MOL000449	Stigmasterol	豆甾醇	43.83	0.76	31
4	黄芪、甘草、柴胡	MOL000354	isorhamnetin	异鼠李素	49.60	0.31	37
5	党参	MOL000006	luteolin	木犀草素	36.16	0.25	57
6	当归	MOL000358	beta-sitosterol	β -谷固醇	36.91	0.75	38
7	黄芪	MOL000296	hederagenin	常春藤皂苷元	36.91	0.75	24
8	黄芪	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	7-O-甲基异丁香酚	74.69	0.30	45
9	甘草	MOL002565	Medicarpin	美迪紫檀素	49.22	0.34	34
10	甘草	MOL004891	shinpterocarpin	胫骨青霉素	80.30	0.73	30
11	党参	MOL007059	3-beta-Hydroxymethylenetanshiquinone	3- β -羟甲基莲心酮	32.16	0.41	17
12	升麻	MOL001924	paeoniflorin	芍药苷	53.87	0.79	4
13	陈皮	MOL005828	nobiletin	川陈皮素	61.67	0.52	35
14	白术	MOL000028	α -Amyrin	α -香树脂醇	39.51	0.76	0

2.2 COPD 疾病靶点与共同靶点的获取 对芯片 GSE8545 的数据进行分析后, 得到 786 个对 COPD 发生发展有显著影响的基因, 其中上调基因 296 个, 下调基因 490 个, 详见图 1。同时, 在 OMIM 数据库中获得 COPD 相关基因 1 374 个, 并剔除与芯片 GSE8545 所得基因重复的基因, 将剩下的基因作为

补充, 即可得到 COPD 的疾病靶点共 1 313 个。最后, 通过 R 软件映射出补中益气丸靶点与 COPD 靶点的共同靶点 20 个, 详见图 2。

2.3 药物-成分-共同靶点-疾病网络图的构建 补中益气丸治疗 COPD 的药物-成分-共同靶点-疾病网络图见图 3。图中涉及 39 个节点, 74 条边, 粉红色六

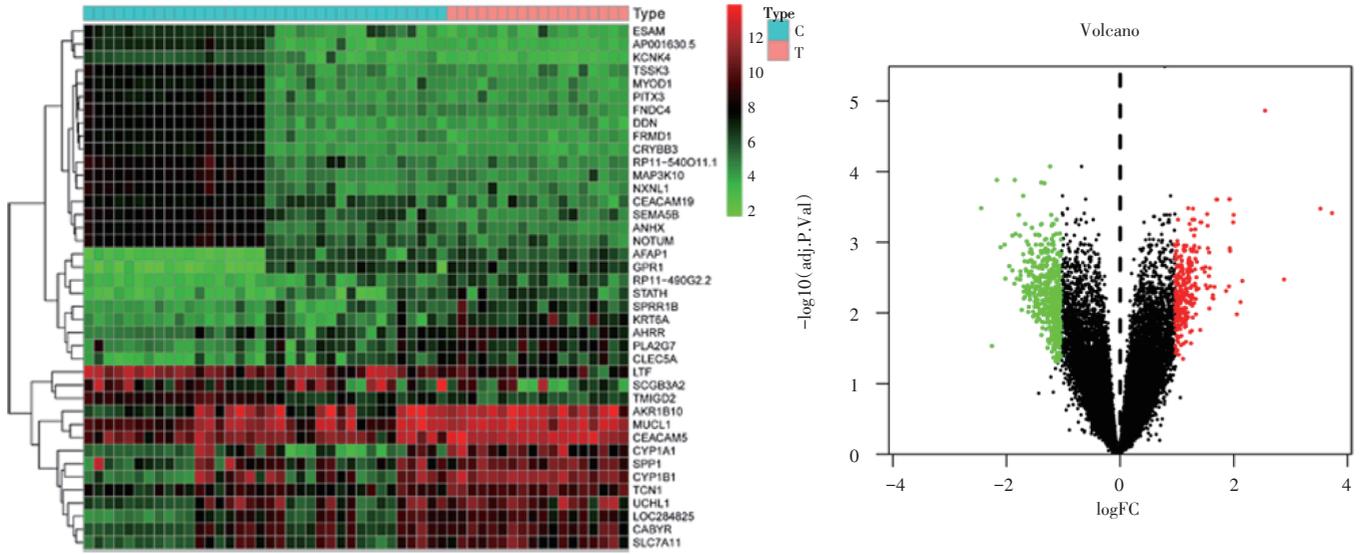


图 1 慢性阻塞性肺疾病(COPD)疾病靶点热图及火山图
Figure 1 Heat map and volcano map of COPD targets

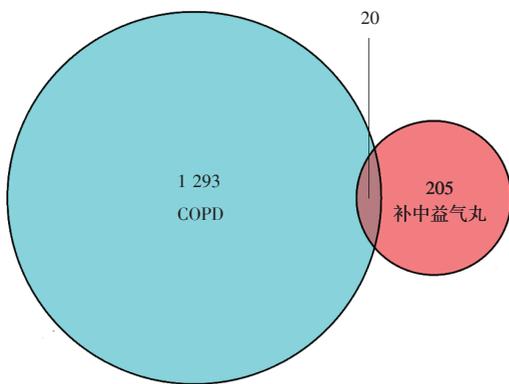


图 2 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的药物-疾病共同靶点韦恩图
Figure 2 Venn diagram of drug-disease common target of *Buzhong Yiqi* pills for COPD

边形节点代表药物, 绿色椭圆形节点代表药物成分, 橙色菱形节点代表共同靶点, 红色长方形节点代表疾病, 节点与节点之间的连线代表二者之间有直接联系。计算图中各节点的自由度(degree)值并进行排序, 得出排名靠前的有 quercetin(槲皮素)、kaempferol(山柰酚)、Stigmasterol(豆甾醇)、isorhamnetin(异鼠李素)、luteolin(木犀草素)等成分; OPRD1(δ -阿片受体 1)、IL-6(白细胞介素 6)等靶点。由此推测上述列举成分、靶点可能与补中益气丸治疗 COPD 相关。

2.4 PPI 网络拓扑分析 对共同靶点进行 PPI 网络拓扑分析, 得到一个具有 1 976 个节点、32 606 条边的

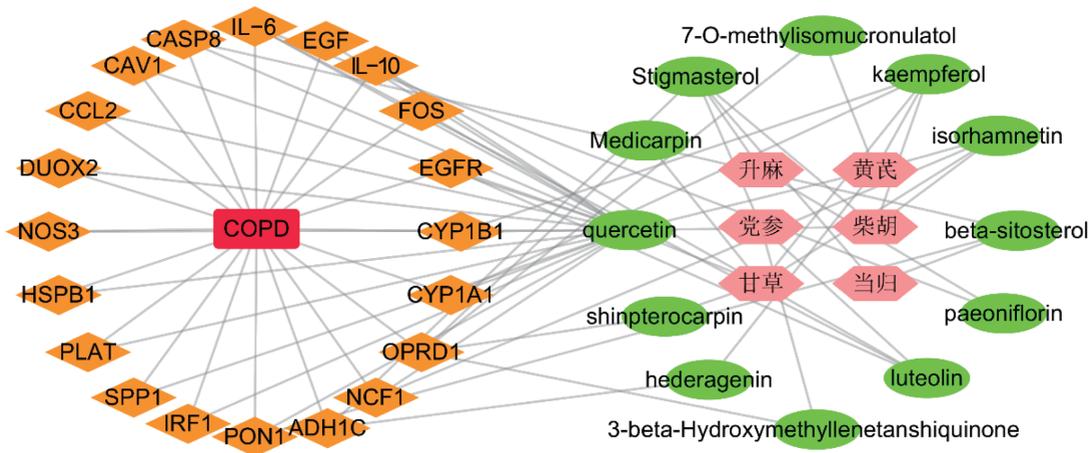


图 3 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的药物-成分-共同靶点-疾病网络图
Figure 3 Drug-ingredient-common target-disease network diagram of *Buzhong Yiqi* pills for COPD

网络，再以网络中各节点的度值 (degree) 或介数 (betweenness) 值的中位数的 2 倍为阈值提取子网络。首先将 degree 值大于 38 的节点提取出来，构成一个具有 532 个节点、14 825 条边的子网络。再将此网络中 betweenness 值大于 392 的节点提取出来，构成具有 155 个节点，3 463 条边的子网络。由图 4 可

知，PPI 拓扑分析提炼出的主要共同靶点有 EGFR(表皮生长因子受体)、CAV1(窖蛋白 1)、HSPB1(热休克蛋白 B1)、CASP8(半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 8) 等，这些靶点可能在补中益气丸治疗 COPD 的过程中发挥关键作用。

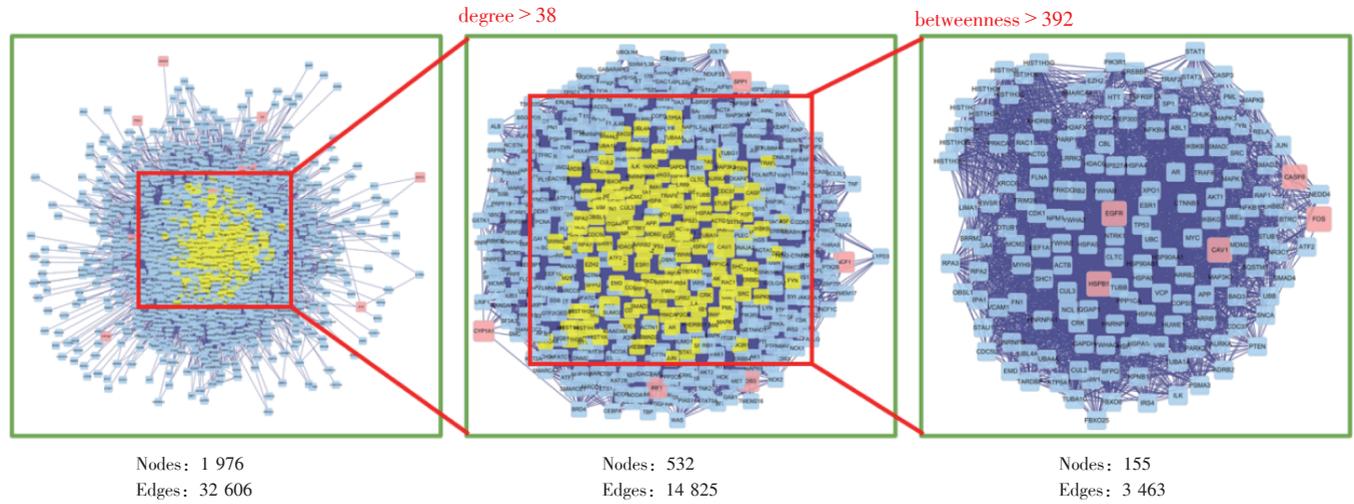


图 4 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的 PPI 网络拓扑分析图

Figure 4 PPI network topology analysis diagram of Buzhong Yiqi pills for COPD

2.5 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析 对共同靶点进行 GO 功能富集分析，共获得 677 个条目，其中生物学过程(Biological Process, BP)分析 655 个、细胞组成(Cellular Component, CC)分析 5 个、分子功能(Molecular Function, MF)分析 17 个。根据所得条目的显著性进行排列，对 BP 分析、CC 分析、MF 分析中排名靠前的条目进行展示，得到柱状图如图 5 所示。图中纵坐标代表具体的条目；横坐标代表富集在条目的基因个数；颜色代表显著性，颜色越红，代表显著性越大，反之显著性越小。GO 功能富集分析中排名较前的条目主要有：①BP 分析：活性氧代谢过程、对氧化应激的反应、活性氧生物合成过程、对活性氧的反应、JAK-STAT (Janus 激酶-转录激活因子)级联等；②CC 分析：膜筏、膜微区、NADPH(还原烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸)氧化酶复合物等；③MF 分析：受体配体活性、细胞因子活性、细胞因子受体结合、生长因子受体结合等。这提示补中益气丸可能通过上述生物过程的调节达到治疗 COPD 的目的。

同样地，进行 KEGG 通路富集分析，获得 63 条通路，得到柱状图如图 6 所示。图中纵坐标代表条目名称；横坐标代表富集在条目上的基因数；颜色代表显著性，颜色越红则显著性越大。由图 6 可

知，KEGG 通路富集分析为补中益气丸治疗 COPD 的过程可能与 TNF(肿瘤坏死因子)信号通路、Toll 样受体信号通路、C 型凝集素受体信号通路、HIF-1(低氧诱导因子-1)信号通路、FoxO(叉头盒 O)信号通路、JAK-STAT 信号通路等有关。

2.6 绘制通路-靶点网络图 将 KEGG 通路富集结果排名前 20 位的通路及其靶点关系展示如图 7。图中涉及 36 个节点，78 条边，橙色圆形代表靶点，红色六边形代表通路，靶点与通路之间有直线连接代表该靶点位于对应连线的通路上；图中橙色圆形面积大小不等，面积越大，代表该靶点涉及的通路越多，在网络中越重要。由图可知，通路中涉及较为关键的靶点有 IL-6、IL-10、EGFR、CCL2(C-C 基序趋化因子配体 2)、CASP8 等，提示其可能在补中益气丸治疗 COPD 中发挥关键作用。

2.7 分子对接结果 选取 degree 值前 3 位的活性成分(槲皮素、山柰酚、大豆甾醇)与预测得到的主要靶点进行分子对接。分子对接的靶点为：EGFR(PDB ID: 4RJ8)，对接位点设置 center x=-52.481, center y=-0.405, center z=-23.398, size x=15, size y=15, size z=15; OPRD1(PDB ID: 6PT3)，对接位点设置 center x=4.055, center y=-42.549, center z=-46.713, size x=15, size y=15, size z=16.5; IL-6(PDB ID:

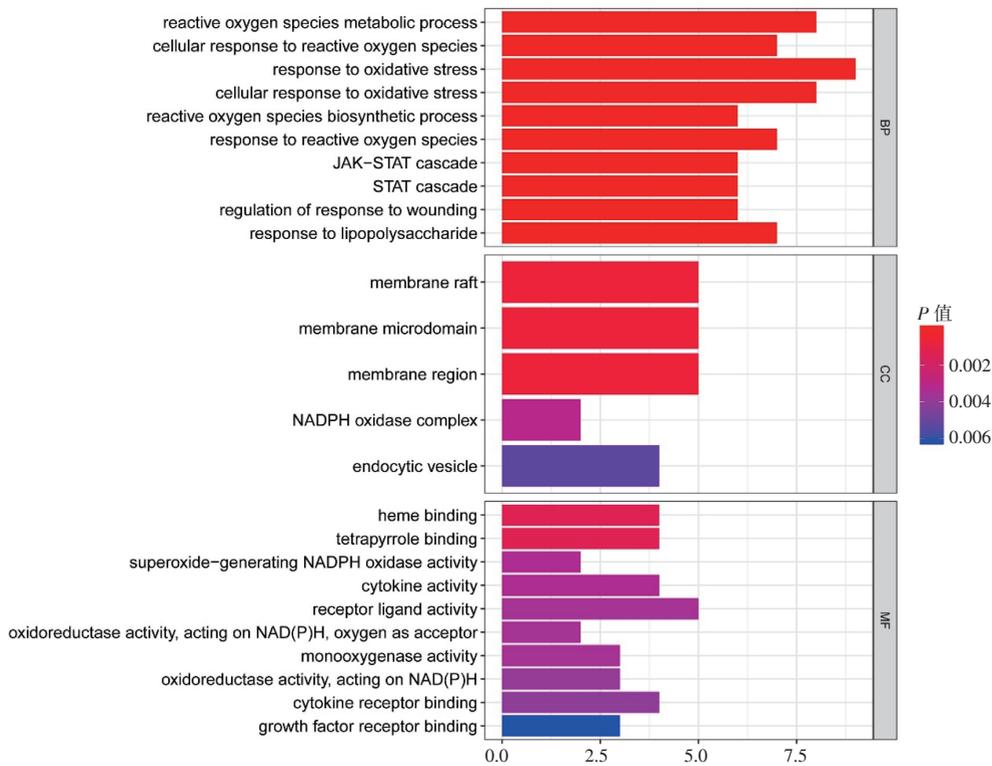


图 5 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的 GO 功能富集分析图

Figure 5 GO function enrichment analysis of *Buzhong Yiqi* pills for COPD

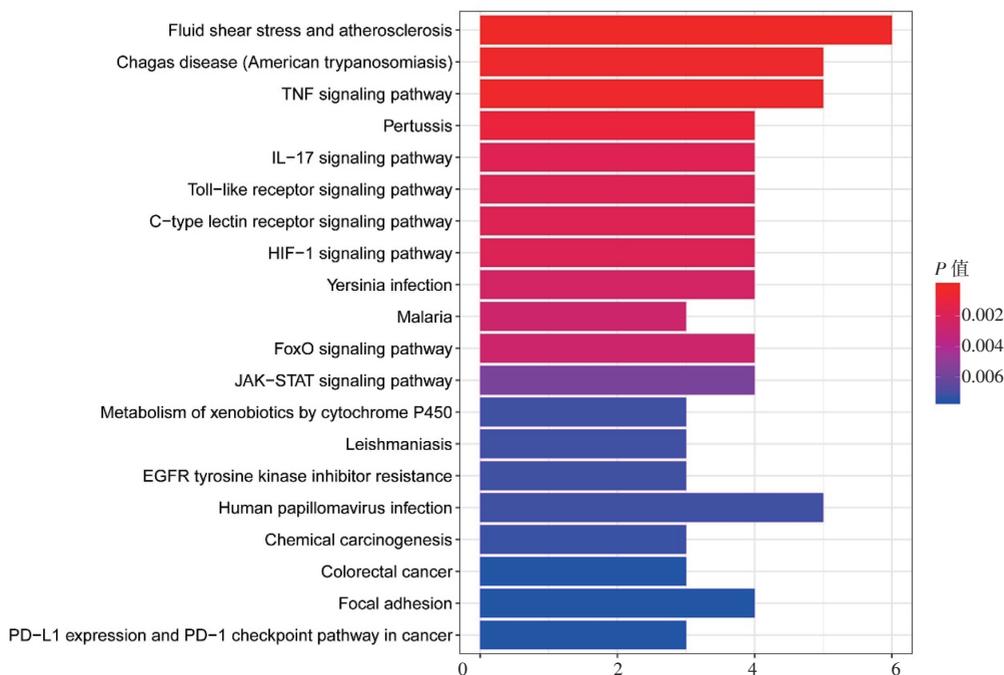


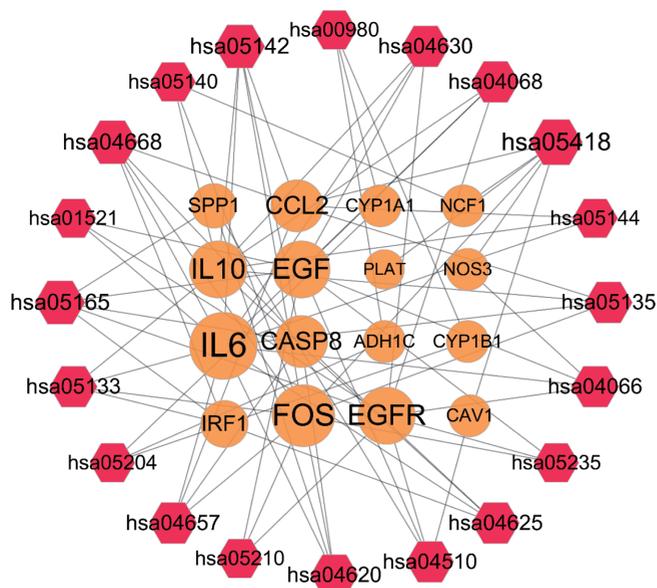
图 6 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的 KEGG 通路富集分析图

Figure 6 KEGG pathway enrichment analysis of *Buzhong Yiqi* pills for COPD

4CNI), 对接位点设置 center $x=68.868$, center $y=-49.769$, center $z=-6.123$, size $x=15$, size $y=15$, size $z=15$ 。

挑选部分结合能较低的构象进行展示, 结果见表 2 和图 8。分子对接结果提示, 槲皮素、山柰酚、

豆甾醇与 EGFR、OPRD1、IL-6 之间均具有较好的结合能力。其中结合能越小, 结合能力越高。结合能力由高到低分别是豆甾醇与 OPRD1、槲皮素与 EGFR、山柰酚与 EGFR、山柰酚与 OPRD1、豆甾醇与 EGFR。



注： hsa05418: Fluid shear stress and atherosclerosis; hsa05142: Chagas disease (American trypanosomiasis); hsa04668: TNF signaling pathway; hsa05133: Pertussis; hsa04657: IL-17 signaling pathway; hsa04620: Toll-like receptor signaling pathway; hsa04625: C-type lectin receptor signaling pathway; hsa04066: HIF-1 signaling pathway; hsa05135: Yersinia infection; hsa05144: Malaria; hsa04068: FoxO signaling pathway; hsa04630: JAK-STAT signaling pathway; hsa00980: Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450; hsa05140: Leishmaniasis; hsa01521: EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance; hsa05165: Human papillomavirus infection; hsa05204: Chemical carcinogenesis; hsa05210: Colorectal cancer; hsa04510: Focal adhesion; hsa05235: PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer

图 7 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的通路-靶点网络图

Figure 7 Pathway-target network diagram of Buzhong Yiqi pills for COPD

表 2 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的主要活性成分与主要靶点的结合能

Table 2 The binding energy of active ingredients and targets in Buzhong Yiqi Pill for COPD

主要活性成分	结合能/(kcal·mol ⁻¹)		
	EGFR	OPRD1	IL-6
槲皮素	-8.3	-7.1	-6.4
山柰酚	-7.8	-7.8	-6.4
豆甾醇	-7.8	-8.4	-7.7

3 讨论

本次网络药理学研究发现，补中益气丸的主要活性成分包括槲皮素、山柰酚、木犀草素、豆甾醇等。研究显示，槲皮素可抑制 TNF-α 等因子而减少 COPD 大鼠肺部炎症及纤维化损伤^[8]。另外，槲皮素

有抗氧化、保护血管、调节免疫等作用^[9]。山柰酚可降低炎症因子 TNF-α 等的表达，减少炎性细胞聚集，抑制炎症反应发展^[10]。木犀草素可控制稳定期 COPD 患者的炎性细胞因子水平，并有助于肺功能的恢复^[11]。豆甾醇同样具有抗炎、抗氧化等作用^[12]。而炎症机制、氧化应激机制均被认为是 COPD 发病的关键机制^[13]。因此，补中益气丸可能是通过上述主要活性成分，抑制肺部炎症、抗氧化应激，改善肺功能，起到治疗 COPD 的作用。

通过 PPI 网络拓扑分析图、药物-成分-共同靶点-疾病网络图、通路-靶点网络图等的靶点筛选，认为补中益气丸治疗 COPD 可能与 OPRD1、IL-6、IL-10、EGFR、CAV1、HSPB1、CASP8 等靶点关系密切。OPRD1 是阿片受体常见亚型之一，研究显示，δ-阿片受体激动剂能缓解肺部水肿；减少 IL-6、TNF-α 等炎症因子表达，抑制肺部炎症，减少损伤；降低脂质过氧化程度^[14]。IL-6 在 COPD 的炎症反应中发挥重要作用，它可增多 COPD 局部炎性细胞，加重炎症反应，破坏小气道、肺泡的结构，损伤肺功能^[15]。IL-6 还可促使 T 细胞增殖、B 细胞产生免疫球蛋白、参与内皮细胞损伤^[16]。而 IL-10 是抑炎因子，与 COPD 的发病相关，可抑制 IL-6、TNF-α 等多种促炎因子的生成、释放，抑制炎症反应^[17]。故补中益气丸可能通过调节炎症、氧化应激、免疫等方面，影响 COPD 的发生发展。此外，COPD 患者机体缺氧会导致血管内皮细胞的损伤^[18]。而 CASP8 是调节细胞死亡的重要蛋白酶，与血管内皮黏蛋白的稳定性相关，可影响血管内皮细胞的增殖、迁移及病理改变^[19]。CAV1 是胞膜窖的重要组成部分，涉及胞膜窖生成、信号转导、血管形成等生理环节，有研究对 COPD 急性发作期患者采用了西医基础治疗结合中药离子导入后，患者血清 CAV1 水平显著上升，改善了患者血管内皮细胞的水平衡^[20]。由此推测，补中益气丸可能通过 CASP8、CAV1 靶点的调节，减少 COPD 患者的血管内皮细胞损害。COPD 还有气道黏液高分泌的特征。而本次研究挖掘出的 EGFR 靶点与 COPD 气道黏液高分泌密切相关，EGFR 介导的信号通路被认为是最常见的气道黏液高分泌方式^[21]，补中益气丸也可能通过作用于 EGFR 靶点，从而影响其介导的通路，改善气道黏液高分泌的状况。综上，在作用靶点方面，补中益气丸治疗 COPD 可能与炎症反应、免疫反应、氧化应激、血管内皮细胞损害、气道黏液高分泌等有关。

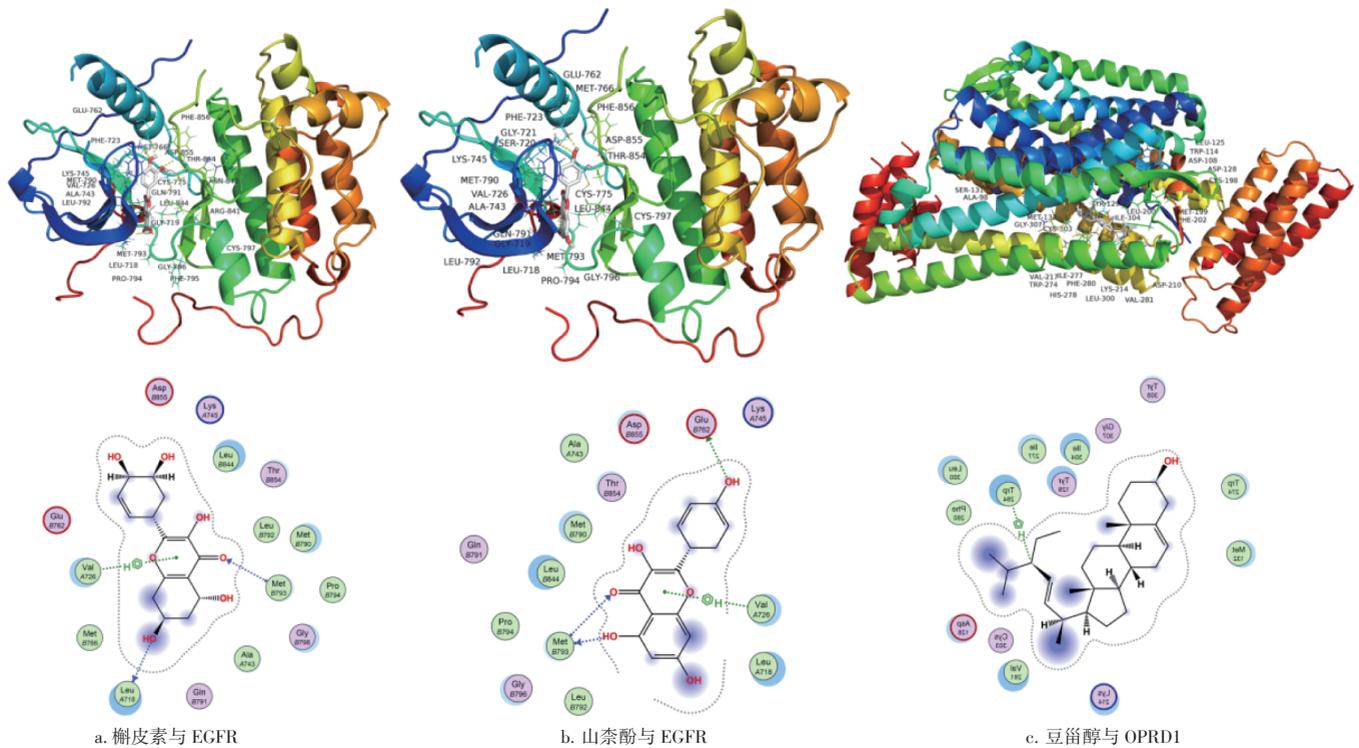


图 8 补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的活性成分与靶点的分子对接 2D、3D 模式图(部分)

Figure 8 2D and 3D schematic diagrams of molecular docking between active ingredients and targets of *Buzhong Yiqi* pills for COPD(part)

而分子对接也验证了补中益气丸治疗 COPD 的主要活性成分与靶点均具有较好的结合能力, 进一步提高了本次网络药理学研究结果的可信度。

GO 功能富集分析结果排名靠前的条目提示补中益气丸治疗 COPD 主要与氧化应激反应相关。氧化应激是 COPD 的主要发病机制之一, 它指的是因氧化受损累积导致分子、细胞、组织水平发生的各类变化, 可能是抗氧化反应和(或)活性氧簇缺失的结局。氧化应激导致肺实质细胞的凋亡增多, 进而损害肺组织, 形成气流受限, 进展为 COPD; COPD 患者体内的脂质过氧化代谢产物显著多于正常人, 且其量越多, 气道阻塞则越严重^[22]。由此推测补中益气丸可能通过减轻氧化应激, 减少相关过氧化产物的生成以保护肺部组织, 达到治疗 COPD 的目的。

KEGG 通路富集分析发现, 补中益气丸治疗 COPD 的过程主要涉及 TNF 信号通路、Toll 样受体信号通路、HIF-1 信号通路、JAK-STAT 信号通路等。其中 TNF 信号通路及 JAK-STAT 信号通路与调节炎症反应相关。TNF 信号通路中, TNF 是由 T 细胞、活化单核巨噬细胞等合成、释放的炎症细胞因子^[23], TNF- α 可能和 COPD 患者的气道炎性反应发生、肺部炎症加重相关^[24]。JAK-STAT 信号通路是炎症反应发生发展的重要参与者, 细胞内很多炎症介质、炎

性细胞都通过其进行信息传导^[25]。研究^[26]表明, 阻断 JAK-STAT 信号通路有助于 COPD 大鼠肺泡上皮细胞的增殖, 缓解炎症反应, 保护肺部组织。此外, Toll 样受体信号通路是指由 Toll 样受体介导的信号通路, 它能激活快速反应基因, 生成效应分子, 协助人体防御反应^[27]。其中, Toll 样受体作为免疫系统的一种病原膜识别受体^[28], 可识别入侵人体的细菌、病毒, 影响 COPD 的复发, 与 COPD 的发作次数、患者的免疫系统功能息息相关^[27]。补中益气丸可能通过 Toll 样受体信号通路调节免疫反应, 影响 COPD 的发生发展。而 HIF-1 信号通路在机体代谢、损伤修复等环节中发挥重要作用, HIF-1 可感知机体低氧并调节靶基因表达, 以适应低氧环境^[29]。研究^[30]表明, 在低氧的 COPD 患者体内, HIF-1 α 基因呈高表达状态。补中益气丸可能通过 HIF-1 信号通路的调节, 提高机体对低氧环境耐受能力, 稳定 COPD 病情。综上, 补中益气丸可能通过炎症、免疫、低氧耐受等通路的调节, 发挥 COPD 治疗作用。

然而, 网络药理学分析存在一定的局限性。网络药理学研究思路是基于已发现的成分、靶点, 取药物靶点与疾病靶点的交集, 将所得的共同靶点作为后续 PPI、通路研究的基础, 故在分析时会剔除与疾病靶点无交集的药物靶点, 进而导致其对应的活

性成分、甚至中药也被剔除。本次研究搜集到7个白术活性成分、5个陈皮活性成分，而这些活性成分对应的靶点与疾病靶点不存在交集，导致在药物-成分-共同靶点-疾病网络图中白术、陈皮及其对应的活性成分、靶点未能被纳入分析。但这只是基于目前已知的活性成分及靶点而得出的结果，并不代表在补中益气丸中可去除白术、陈皮这两味药。陈皮、白术中可能存在一些可以作用于COPD患者却未被发现的成分及靶点。此外，从中医角度讲，白术能益气健脾，助气血生化；陈皮可理气和胃，使诸药补而不滞，在补中益气丸的组成中不可或缺。

本次网络药理学研究从成分、靶点、通路全面分析，结合现有研究文献，总结出补中益气丸治疗COPD的分子机制可能是以抗炎与抗氧化应激为核心，兼顾调节免疫、低氧耐受、气道黏液高分泌与保护血管内皮细胞多方面。这说明补中益气丸治疗COPD并非单一作用机制，而是涉及多种机制的网络性调节，体现了中医药治疗疾病“多种成分、多个靶点、多条通路”的特点。本研究具有一定的借鉴及参考意义，但网络药理学仅为计算机虚拟预测所得，实际作用情况及更准确的结论仍有待后续的实验研究加以验证。

参考文献：

- [1] 李建生, 李素云, 余学庆. 慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011版)[J]. 中医杂志, 2012, 53(1): 80-84.
- [2] WANG C, XU J, YANG L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study[J]. Lancet, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [3] 虎继红. COPD稳定期的中医干预治疗[J]. 实用中西医结合临床, 2014, 14(1): 14-15.
- [4] 刘宗伟, 石岫岩. 脾多肽联合补中益气丸对慢性阻塞性肺疾病急性加重期的控制效果研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(12): 3034-3037.
- [5] 黄明儒, 许忠波, 何帆, 等. 补中益气汤加味联合缩唇呼吸法对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者血清TNF- α , IL-8, IL-6, IL-1 β , Cys-C的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22): 60-65.
- [6] 陈平, 许光兰, 罗清, 等. 加味补中益气汤治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期临床研究[J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(12): 2104-2106.
- [7] 李静. 补中益气汤联合西医常规疗法治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病临床观察[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(50): 35-36.
- [8] 魏萍, 陈志斌, 王春娥, 等. 槲皮素对慢性阻塞性肺疾病大鼠的保护作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(21): 2570-2575.
- [9] 李聪, 胡强, 张燕翔, 等. 槲皮素的药理学活性研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2018, 40(6): 63-66.
- [10] 李秀英. 丹皮酚和山奈酚抑制巨噬细胞泡沫化机制的比较研究[D]. 重庆: 重庆医科大学附属第一医院, 2014.
- [11] 朱荣辉. 木犀草素对稳定期COPD患者血清炎症细胞因子及肺功能的影响评价[J]. 北方药学, 2015, 12(2): 96-97.
- [12] 周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.
- [13] 葛均波, 徐永健, 王辰. 内科学[M]. 9版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 21-22.
- [14] 唐成武, 鲍鹰, 朱鸣, 等. δ 阿片受体激动剂对脓毒症大鼠肺功能的保护作用[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2009, 38(6): 796-799.
- [15] 龙仕居, 陈忠仁. 慢性阻塞性肺疾病患者急性加重期与缓解期痰液及血清IL-6、IL-8、TNF- α 表达水平的差异及其临床意义[J]. 重庆医学, 2012, 41(19): 1970-1972.
- [16] 李力. 慢性阻塞性肺疾病患者血清PCT、CRP、IL-6、TNF- α 的表达水平及临床意义[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(3): 40-42.
- [17] 郝璐, 崔丽英. 白介素10与支气管哮喘和慢性阻塞性肺疾病[J]. 内蒙古医学杂志, 2010, 42(8): 949-951.
- [18] 李文, 周金阁, 胡豆豆, 等. 阿托伐他汀联合补肺益肾方对慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压患者血清炎症因子、血管内皮功能及右心室重塑的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(18): 1977-1982.
- [19] TISCH N, FREIRE-VALLS A, YERBES R, et al. Caspase-8 modulates physiological and pathological angiogenesis during retina development[J]. J Clin Invest, 2019, 129(12): 5092-5107.
- [20] 杨艳, 吴成明. 中药经皮离子导入联合西医治疗对AECOPD患者CAV1、CAV2、AQP1及AQP5表达的影响[J]. 北京中医药, 2019, 38(3): 280-283.
- [21] 陈炜, 张念志, 韩明向. 温肺化痰方对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者外周血中性粒细胞弹性蛋白酶、表皮生长因子受体表达的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2016, 35(2): 24-27.
- [22] 王羽嘉, 刘亚倩, 吴巧敏, 等. 老年慢性阻塞性肺疾病基于氧化应激机制的中医病机及治疗[J]. 北京中医药, 2020, 39(4): 354-357.
- [23] 周盈, 曹磊, 平芬. 慢性阻塞性肺疾病相关炎症细胞因子的研究进展[J]. 临床荟萃, 2020, 35(3): 273-276.
- [24] 张朝杰, 尚会娜, 孙广信. 慢性阻塞性肺疾病患者血清TNF- α 、IL-8及VEGF水平变化及其与呼吸功能的相关性[J]. 临床医学, 2020, 40(7): 4-6.
- [25] 王国全, 李莎, 余林中, 等. 基于JAK2/STAT3和IKK α /NF- κ B信号通路探讨清瘟败毒饮对脓毒症急性肺损伤大鼠的保护作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(3): 2-5.
- [26] 史秋香, 王成阳, 吴艳峰. siRNA沉默JAK/STAT相关基因对COPD大鼠肺泡上皮细胞的影响[J]. 贵州医科大学学报, 2016, 41(10): 1148-1152.
- [27] 高娴, 李素云, 王海峰. Toll样受体与慢性阻塞性肺疾病发病机制的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(9): 1978-1981.
- [28] 李婷, 邓树豪, 董昭兴. Toll样受体4与肺纤维化相关的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(17): 3371-3375.
- [29] 赵名, 范明, 朱玲玲. HIF-1通路在低氧调控神经干细胞发育中的作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2019, 46(11): 1050-1054.
- [30] 潘坤, 戴爱国, 张泽明, 等. OS-9、HIF1 α 在慢性阻塞性肺疾病患者中的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(19): 4830-4831.

(编辑: 修春)