

# 基于网络药理学探索射麻止喘液治疗哮喘的作用机制

黄秀芳<sup>1</sup>, 高运吉<sup>2</sup>, 廖钢<sup>2</sup>, 黄慧婷<sup>3</sup>, 詹少锋<sup>3</sup>, 赖艳妮<sup>1</sup>, 刘小虹<sup>3\*</sup>

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405;

2. 广州中医药大学深圳医院, 广东深圳 518000;

3. 广州中医药大学第一附属医院 刘小虹广东省名中医传承工作室, 广州 510405)

**[摘要]** **目的:**运用网络药理学探讨射麻止喘液治疗哮喘的潜在机制。**方法:**利用中药分子机制的生物信息学分析工具、中药系统药理学数据库和分析平台查找射麻止喘液的成分及其靶点,从比较毒理基因组学数据库(CTD)获取与哮喘相关的基因;将射麻止喘液-基因和哮喘-基因的数据集导入 Draw Venn Diagram 进行交集分析,得出射麻止喘液-哮喘-基因数据集;使用 String 11.0 进行射麻止喘液-哮喘-基因数据集的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析,运用 Cytoscape 3.6.1 进行可视化,用其插件 MCODE 分析重要模块;采用 DAVID 6.8 分析射麻止喘液-哮喘-基因的通路富集和生物学过程。**结果:**获得射麻止喘液 399 个化合物与 2 099 个潜在的靶点;同时检索出 98 个与哮喘相关靶点;应用交集和 PPI 分析筛选出 45 个共同基因和关键基因 16 个,包括转化生长因子- $\beta_1$ , 血红素氧合酶-1, 白细胞介素-4 等;富集分析显示射麻止喘液和哮喘的共同生物学过程与炎症反应、气道的收缩与重塑、细胞增殖与凋亡等相关,共同生物学通路包括肿瘤坏死因子信号通路、免疫球蛋白 E(IgE)的高亲和力受体信号通路、核转录因子- $\kappa B$  信号通路、核苷酸结合寡聚化结构域样受体信号通路等。**结论:**射麻止喘液是通过多靶点、多通路治疗哮喘,可为其深入研究和临床应用提供参考。

**[关键词]** 网络药理学;射麻止喘液;哮喘;生物信息学;基因本体;通路富集;蛋白质-蛋白质相互作用

**[中图分类号]** R22;R256.12;R28;R318.04;R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)23-0187-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191461

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190403.0929.002.html>

**[网络出版时间]** 2019-04-04 15:53

## Analysis on Mechanism of Shema Zhichuan Liquid in Treating Asthma Based on Network Pharmacology

HUANG Xiu-fang<sup>1</sup>, GAO Yun-ji<sup>2</sup>, LIAO Gang<sup>2</sup>, HUANG Hui-ting<sup>3</sup>, ZHAN Shao-feng<sup>3</sup>,  
LAI Yan-ni<sup>1</sup>, LIU Xiao-hong<sup>3\*</sup>

(1. The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Shenzhen Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518000, China;

3. Guangdong Provincial Inheritance Studio of Famous Traditional Chinese Medicine of LIU Xiao-hong,  
The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the potential mechanism of Shema Zhichuan liquid in treatment of asthma by network pharmacology. **Method:** Bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine (TCM), systematic pharmacological database and analysis platform of TCM were employed to find the components in Shema Zhichuan liquid and their targets, and asthma-related genes were obtained from the comparative toxicogenomics database (CTD). The data set of Shema Zhichuan liquid-gene and asthma-gene were imported into the Draw Venn Diagram for intersection analysis. The obtained data set of Shema Zhichuan liquid-

**[收稿日期]** 20181220(011)

**[基金项目]** 广东省自然科学基金项目(2018A030310520);广州市科技计划项目(201904010235);广东省中医药局名优中成药二次开发项目(20174007)

**[第一作者]** 黄秀芳,在读博士,从事中医防治呼吸系统疾病研究,E-mail:879172531@qq.com

**[通信作者]** \*刘小虹,主任医师,教授,博士生导师,从事中医防治呼吸系统疾病研究,E-mail:rsclxh@gzucm.edu.cn

asthma-gene was imported into String 11.0 for protein-protein interaction (PPI) analysis, and was visualized by Cytoscape 3.6.1, and further important modules were analyzed with MCODE. DAVID 6.8 was used to analyze pathway enrichment and biological process of Shema Zhichuan liquid-asthma-gene. **Result:** A total of 399 components and 2 099 potential targets were obtained from Shema Zhichuan liquid, 98 asthma-related targets were retrieved, 45 common genes and 16 hub genes were screened, including transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), heme oxygenase-1 (HMOX1), interleukin-4 (IL-4), etc. Enrichment analysis showed that the common biological processes of Shema Zhichuan liquid and asthma were related to inflammation, contraction and remodeling of airway, cell proliferation and apoptosis, etc. The common biological pathways mainly included tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway, receptor with high affinity for immunoglobulin E (Fc epsilon RI) signaling pathway, nuclear transcription factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway, nucleotide binding oligomerization domain (NOD) -like receptor signaling pathway and so on. **Conclusion:** Shema Zhichuan liquid serves as a multi-target, multi-pathway treatment for asthma, which can provide a reference for the further research and clinical application of this preparation.

**[Key words]** network pharmacology; Shema Zhichuan liquid; asthma; bioinformatics; gene ontology; pathway enrichment; protein-protein interaction

哮喘是一种以慢性气道炎症为特点的呼吸道疾病,以反复的气流阻塞、喘息和气道高反应为主要特征。哮喘不仅威胁人类健康,而且带来了沉重经济负担,据统计,每年因哮喘死亡的人数多达 20 万<sup>[1]</sup>。目前治疗哮喘主要以激素和  $\beta_2$  受体激动剂为主,激素通过与细胞膜的糖皮质激素受体结合或直接与呼吸道系统直接相互作用而起到抗炎、抗过敏和迅速控制哮喘症状的作用; $\beta_2$  受体激动剂通过激活支气管和肥大细胞膜的  $\beta_2$  受体,从而舒张支气管,降低微血管的通透性,常用于控制哮喘患者的急性症状;其中激素在长期维持治疗哮喘中更是具有重要的作用<sup>[2]</sup>。但部分患者会出现对激素耐药,或者当激素撤退后,哮喘复发率仍旧处于较高的水平,而且长期使用激素会导致免疫和肾上腺功能抑制等副作用<sup>[3]</sup>。

中医药在治疗哮喘方面呈现出明显的特色和优势,中医药与传统的治疗哮喘的激素或  $\beta_2$  受体激动剂相比,不仅可对急性期症状进行控制,还可在缓解期起到整体调整的作用,减少哮喘急性发作的次数与提高哮喘患者的生活质量,并且规避了长期使用激素或  $\beta_2$  受体激动剂所带来的副作用<sup>[4]</sup>。中医认为哮喘发作期主要由风邪引动内痰,导致痰阻气道,肺失宣降所致。射麻止喘液由《金匱要略》记载的射干麻黄汤化裁而来,方中麻黄、射干为君药,具有发散风寒、宣肺平喘、化痰的作用;地龙可息风、解痉定喘,椒目可平喘,共为臣药;杏仁可降气平喘,半夏可化痰散结,细辛发散风寒,又可宣通鼻窍,桔梗宣肺祛痰,共为使药;甘草缓和药性,使诸药相配,全方

具有疏风化痰、解痉平喘的功效<sup>[5]</sup>。经多年来的研究表明,射麻止喘液能降低患者血浆黏度和血浆内皮素的水平,抑制白细胞介素(IL)-5 和 IL-8 的表达,还可抑制平滑肌细胞的增殖,从而改善哮喘的症状、肺功能和气道反应性;此外,还可抑制哮喘动物模型肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 白细胞三烯 D4 (LTD4) 以及神经生长因子(NGF) 等多种炎症介质及细胞因子的表达<sup>[5-8]</sup>。哮喘的发病机制与病理因素较为复杂,射麻止喘液成分复杂、靶点众多,如何更加全面地诠释射麻止喘液治疗哮喘的机制是亟待解决的问题,但单成分-单靶标-单疾病并不适合中药复方的研究。网络药理学建立在多种药物靶点网络、人类疾病基因网络及蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络基础上,即药物-疾病-基因多层次网络,通过网络药理学可以更加直观地理解射麻止喘液和哮喘的相互作用,从整体水平理解并探索该复方治疗哮喘的潜在作用机制。因此,本研究基于网络药理学的理念,拟构建射麻止喘液-哮喘-基因的网络,诠释其治疗哮喘的潜在作用机制,为推动其临床应用提供研究基础。

## 1 方法

**1.1 建立射麻止喘液的生物信息数据集**  
BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)是在线生物信息学分析工具,主要用于中药成分的目标预测和潜在目标的网络药理学分析。BATMAN-TCM 输入类型支持单味中药,或复方的君臣佐使组合,还可输入中药的活性成分,原始成分的代谢物等。设定君药输入麻黄、射干,臣药输入

地龙、椒目,佐使药输入北杏仁、法半夏、细辛、桔梗、甘草总共 3 个集群,检索条件设置为调整后的  $P \leq 0.05$ , score cutoff  $\geq 20$ <sup>[9]</sup>。并将所得射麻止喘液的各化合物输入 TCMSP (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), 通过口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) 和类药性 (drug-likeness, DL) 筛选出  $OB \geq 30\%$  和  $DL \geq 0.1$  的化合物, 得出射麻止喘液的生物信息集<sup>[10]</sup>。

**1.2 获取哮喘的生物信息数据集** 在 CTD (<http://ctdbase.org/>) 寻找哮喘的相关基因, 检索限定为 disease, 检索词输入 asthma, 限定 curated genes 获得哮喘对应的基因靶点集<sup>[10]</sup>。

**1.3 获取射麻止喘液-哮喘-基因数据集** 通过 Draw Venn Diagram (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 分析射麻止喘液-哮喘-基因数据集。将射麻止喘液-哮喘-基因数据集输入 String 11.0 数据库 (<https://string-db.org/>), 综合分数 (combined score)  $> 0.4$  为筛查标准<sup>[11]</sup>。将得出的数据导入 Cytoscape 3.6.1 软件对 PPI 进行可视化展示, 并使用 Cytoscape 3.6.1 的插件 MCODE 筛选重要的 PPI 网络的模块, 筛选标准为 degree cutoff = 2, node score cutoff = 0.2, K-score = 2, max depth = 100,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义<sup>[11]</sup>。

**1.4 基因本体 (GO) 分析射麻止喘液-哮喘-基因的生物学过程**<sup>[11]</sup> 将射麻止喘液-哮喘-基因数据集导入 DAVID 6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行 GO 分析, 从而得到基因的功能水平分析结果,  $P < 0.05$  表示具有统计学意义<sup>[11]</sup>。

**1.5 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 探讨射麻止喘液-哮喘-基因的生物学通路** KEGG 是基因功能系统分析的知识库, 将基因组信息与高阶功能信息联系起来, 可以得到显著富集的生物学通路。将射麻止喘液-哮喘-基因数据集导入 DAVID 6.8 数据库进行 KEGG 分析,  $P < 0.05$  表示具有统计学意义<sup>[11]</sup>。

## 2 结果

**2.1 射麻止喘液生物信息集** 经 BATMAN-TCM 检索和 TCMSP 筛选后, 共纳入 399 个化合物。因化合物较多, 按照 OB 的排序, 只展示前 10 个活性化合物, 见表 1。

射麻止喘液生物通路主要富集在环磷酸腺苷信号通路, 钙信号通路, 代谢途径, 环磷酸腺苷依赖蛋白激酶信号通路, 瞬时受体电位通道炎症调控通路, 过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路, 哺乳动物雷

表 1 射麻止喘液中具有较好口服生物利用度和类药性的化合物  
Table 1 Compounds with good oral bioavailability and drug-likeness in Shema Zhichuan liquid

化合物	OB /%	Caco-2 通透性	DL	半衰期 (HL)
甘草醇 (glycyrol)	90.78	0.71	0.67	9.85
左旋千金藤啶碱 (L-SPD)	87.35	0.76	0.54	1.68
甘草吡喃香豆素 (licopyranocoumarin)	80.36	0.13	0.65	0.08
shimpterocarpin	80.30	1.1	0.73	6.5
machiline	79.64	0.78	0.24	3.7
phaseol	78.77	0.76	0.58	9.64
隐蕈酮 (cryptopin)	78.74	0.79	0.72	21.25
甘草查尔酮 B (licochalcone B)	76.76	0.43	0.19	17.02
粗毛甘草素 F (glyasperin F)	75.84	0.89	0.54	15.64
inermine	75.18	0.43	0.54	11.72

帕霉素靶点信号通路, TNF 信号通路, 一磷酸腺苷依赖的蛋白激酶信号通路, B 细胞受体信号通路, 免疫球蛋白 E 的高亲和力受体信号通路, Toll 样受体信号通路, 细胞凋亡, 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路等。分子功能 (molecular function, MF) 富集在细胞外配体门控离子通道活性, 磷酸吡哆醛结合, 乙酰胆碱激活阳离子选择性通道活性, 3', 5'-环-一磷酸腺苷磷酸二酯酶活性, 氨基丁酸-A 受体活性等; 细胞组分 (cell component, CC) 富集在突触后膜、质膜的组成部分、内质网、线粒体、线粒体基质、细胞质、外泌体等; 生物过程 (biological process, BP) 主要富集在氧化还原过程、脂多糖介导的反应、环磷酸腺苷分解过程、对糖皮质激素的反应、信号转导、炎症反应、细胞凋亡、一氧化氮生物合成过程以及 IL-8 生物合成过程等。网络展示与化合物相互作用  $> 15$  次的靶点网络图, 见图 1。

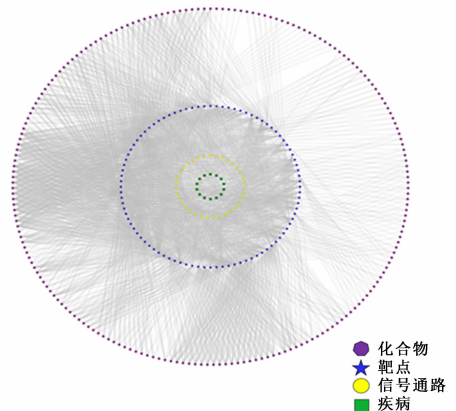
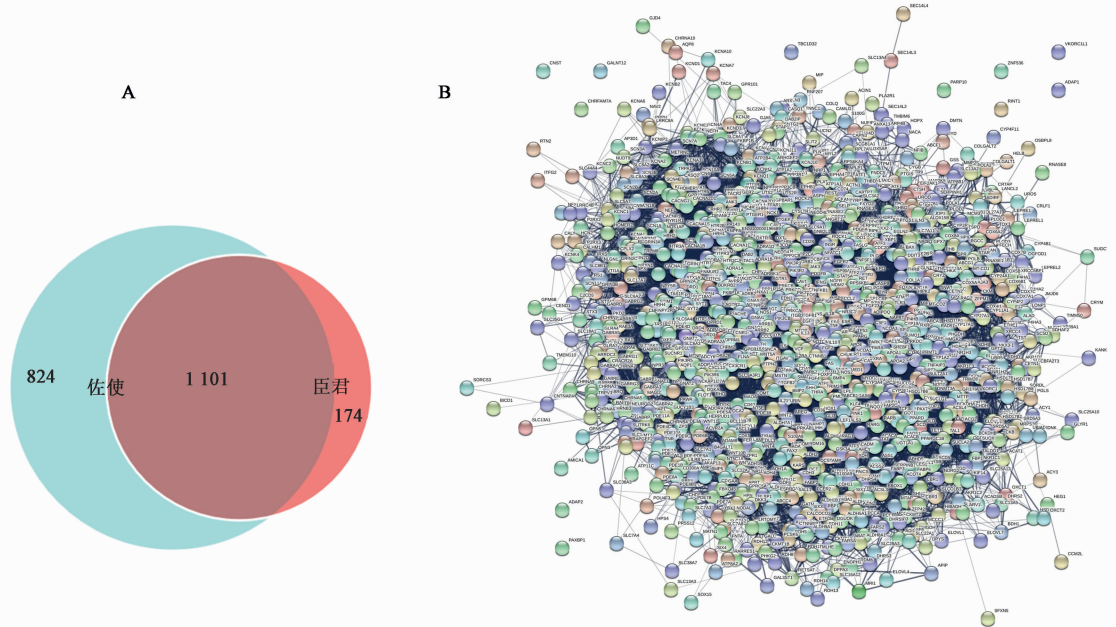


图 1 射麻止喘液的生物信息集  
Fig. 1 Biological information set of Shema Zhichuan liquid

BATMAN-TCM 通过输入君、臣、佐使 3 个集群后,输出麻黄、射干、地龙、椒目、北杏仁、法半夏、细辛、桔梗、甘草全部靶点共有 2 099 个,其中君、臣、佐使共有的靶点有 1 101 个,见图 2(A),靶点包括  $\gamma$ -氨

基丁酸转氨酶抗体,氨基酰化酶 1,腺苷脱氨酶,人力酒精脱氢酶等,见图 2(B)。射麻止喘液的君、臣、佐使具有较多的共同靶点,这进一步说明了中药复方可能是通过协同作用发挥治疗疾病的作用。



A. 射麻止喘液君、臣、佐使的总基因靶点数;B. 射麻止喘液君、臣、佐使的共同基因靶点集

图 2 射麻止喘液的基因靶点集

Fig. 2 Genes target set of Shema Zhichuan liquid

**2.2 哮喘的生物信息集** 通过 CTD 共筛选出 98 个与哮喘有关的基因,见图 3。生物信号通路主要富集在介导免疫球蛋白 A 生成的肠道免疫网络(intestinal immune network for IgA production),免疫球蛋白 E 的高亲和力受体信号通路(Fc epsilon RI signaling pathway),TNF 信号通路,核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路,瞬时受体电位通道炎症调控通路(inflammatory mediator regulation of TRP channels),花生四烯酸代谢,环磷腺苷信号通路,核苷酸结合寡聚化结构域样受体信号通路(NOD-like receptor signaling pathway),血管内皮生长因子信号通路等。分子功能富集在细胞因子活性,主要组织相容性复合体 II 类受体活性,细胞增殖调节,半胱氨酰白三烯受体活性等;细胞组分主要富集在细胞外空间、内质网到高尔基体运输囊泡膜、主要组织相容性复合体 II 类蛋白质复合物、细胞膜、质膜外侧等;生物过程主要富集在炎症反应、免疫反应、调节细胞外调节蛋白激酶 1(ERK1)和 ERK2 级联反应、脂多糖介导的信号通路、蛋白激

酶 B 信号传导、平滑肌细胞增殖的正调节,细胞对 TNF- $\alpha$  的反应、调节细胞增殖、调节 NF- $\kappa$ B 转录因子活性等。

**2.3 射麻止喘液-哮喘-基因数据集** 将射麻止喘液 2 099 个靶点与哮喘相关的 98 个基因靶点列表导入 Draw Venn Diagram 后,得出药物-疾病相互关联的基因,共有 45 个,分别为内皮素 1(EDN1),诱导型一氧化氮合酶(NOS2),组胺 N-甲基转移酶(HNMT),跨膜结构域 4 亚家族成员 2(AMS4A2),乙醛脱氢酶 2(ALDH2),B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),IL-5,TNF,瞬时受体电位通道 A1(TRPA1),前列腺素内过氧化物合成酶 2(PTGS2),磷酸二酯酶 4D(PDE4D),重组人双调蛋白(AREG),转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ ),环前列腺素受体(PTGIR),IL-13,血红素氧合酶-1(HMOX1)等,见图 4。其中橙色的节点代表射麻止喘液-哮喘共同的基因靶标,而边代表基因间相互作用的关系,射麻止喘液-哮喘-基因的 PPI 网络共含有 45 个节点和 228 个相互作用的关系。在网络中,1 个节点的度(degree)表示网络

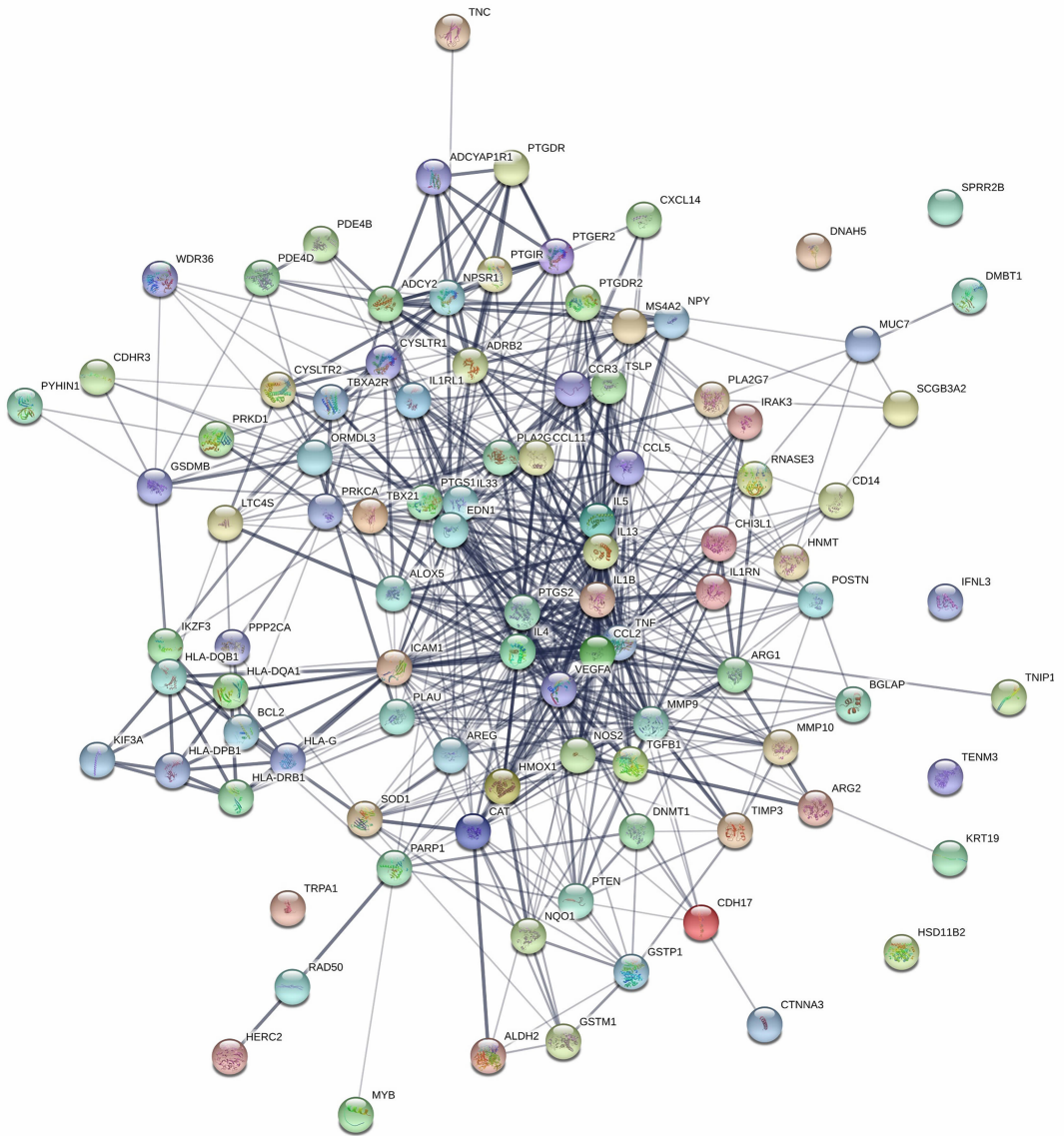


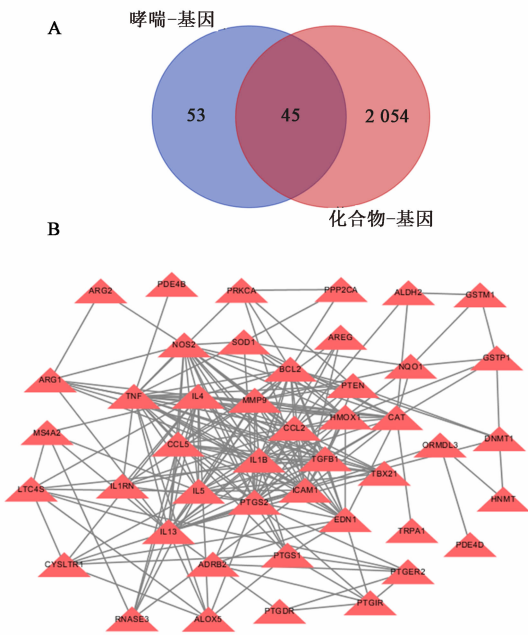
图 3 哮喘的基因靶点集  
Fig.3 Gene target set of asthma

中和节点相连的路线的条数, degree 越高, 说明在 PPI 中起着更为关键的作用, 见图 4(B)。为了得出 degree 较高的基因靶点, 使用 Cytoscape 3.6.1 的插件 MCODE 分析了显著性较强的模块, 获得 16 个关键的基因节点, 包括 TGF- $\beta_1$ , HMOX1, 趋化因子(C-C 基序)配体 2 (CCL2), 细胞间黏附分子-1 (ICAM1), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9), IL-4, IL-13, IL-18 等, 见图 5。

**2.4 射麻止喘液-哮喘-基因的生物学过程** 按照显著性程度排列部分展示, GO 分析提示射麻止喘液-哮喘-基因的生物过程显著富集在炎症反应, 调节 NF- $\kappa$ B 转录因子活性, 细胞对 IL-1 的反应, MAPK 级联反应, 蛋白激酶 B 信号传导, 平滑肌细胞增殖

的正调节, 脂多糖介导的信号通路, ERK1 和 ERK2 级联的正调节, 免疫反应等; 分子功能主要富集在细胞因子活性, 酶结合, 蛋白质同源二聚化活性, 血红素结合, 谷胱甘肽转移酶活性, 前列腺素内过氧化物合酶活性等。细胞组分主要富集在细胞外空间、细胞外区域、细胞溶质等, 见表 2。

**2.5 射麻止喘液-哮喘-基因的生物学通路** 按照显著性程度排列部分展示, KEGG 结果提示射麻止喘液-哮喘-基因的信号通路主要富集在 TNF 信号通路, Fc epsilon RI 信号通路, 细胞因子-细胞因子受体相互作用, NF- $\kappa$ B 信号通路, NOD 样受体信号通路, TRP 通道炎症调控通路, 介导 IgA 生成的肠道免疫网络等, 见表 3。



A. 射麻止喘液-哮喘相互关联的基因靶点数; B. 射麻止喘液-哮喘相互关联的基因靶点 PPI 网络

图 4 射麻止喘液-哮喘-基因的数据集分析

Fig. 4 Data set analysis of Shema Zhichuan liquid-asthma-gene

### 3 讨论

哮喘是一种临床表现高度可变的疾病,轻度哮喘的患者也可能在无症状间出现危及生命的恶化,且哮喘反复发作可引起肺功能下降。大多数哮喘患者可以通过常规治疗来控制哮喘,然而长期使用激素会引起不可忽视的副作用<sup>[12]</sup>。哮喘属于中医哮证、喘证的范畴。哮喘多由宿痰内伏于肺,复感外邪以致引动伏痰,使痰阻气道、肺气上逆而发病。宿痰为哮喘的主要病理因素,发作期多由风寒或风热引动宿痰。故治疗发作期的哮喘,从风论治痰为关键,射麻止喘液全方共奏祛风化痰、解痉平喘之效。本文通过 BATMAN-TCM 检索获得射麻止喘液 399 个化合物成分与 2 099 个靶点, BATMAN-TCM 结果提示射麻止喘液可能与调节炎症反应、氧化反应、代谢过程、免疫反应、细胞凋亡与增殖等有关,说明射麻止喘液中成分发挥了协同调控哮喘的作用。

**3.1 射麻止喘液具有调节关键靶点的潜在作用**  
本研究通过 PPI 和 MCODE 分析得出了其中显著性较强的模块,得出了 16 个关键靶点。TGF- $\beta_1$  是

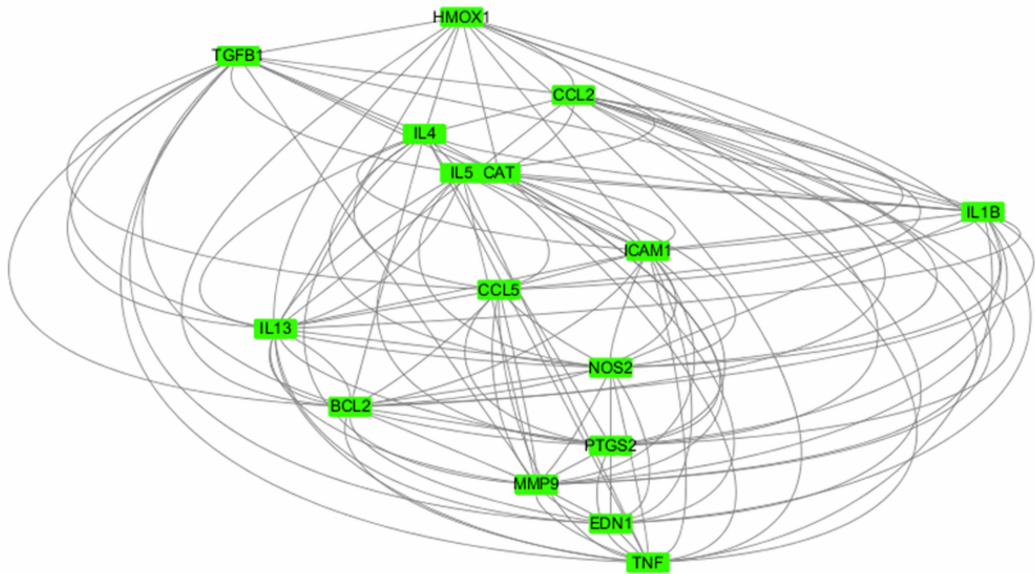


图 5 基于 MCODE 的射麻止喘液-哮喘-基因互作模块

Fig. 5 Interaction module of Shema Zhichuan liquid-asthma-gene based on MCODE

一种关键的肺细胞因子,哮喘患者在接触过敏原后, TGF- $\beta_1$  的水平随之升高,并伴随着气道阻塞程度加重,说明 TGF- $\beta_1$  的高表达可能与哮喘的气道痉挛状态有关<sup>[13]</sup>。HMOX1 是热休克蛋白质家族的成员,具有保护气道上皮和抗炎功能,缺乏 HMOX1 的小鼠会发展为严重的炎症性疾病,说明 HMOX1 的低表达可能会导致哮喘的炎症损伤加重<sup>[14]</sup>。IL-4 和

IL-13 是过敏性哮喘的驱动因子,研究表明哮喘患者气道中 IL-4 和 IL-13 水平明显增加<sup>[15]</sup>,哮喘的发病机制与 IL-5, NOS2, TNF 等细胞因子的释放有关<sup>[16-17]</sup>, IL-18 是 Th2 细胞发育和 IgE 产生的辅助因子,在 Th1 细胞的分化中起着重要作用,哮喘患者血清中的 IL-18 表达增加<sup>[18]</sup>。研究表明哮喘模型小鼠的肺组织中 CCL2 水平明显上升,予鼻内滴注 Toll

表 2 射麻止喘液-哮喘-基因的生物学过程

Table 2 Biological processes of Shema Zhichuan liquid-asthma-gene

类别	基因功能	数目/个	P
BP	炎症反应 (inflammatory response)	13	$1.62 \times 10^{-10}$
BP	细胞对脂多糖的反应 (cellular response to lipopolysaccharide)	8	$1.62 \times 10^{-8}$
BP	蛋白激酶 B 信号传导 (protein kinase B signaling)	5	$2.20 \times 10^{-8}$
BP	平滑肌细胞增殖的正调节 (positive regulation of smooth muscle cell proliferation)	6	$4.80 \times 10^{-7}$
BP	脂多糖介导的信号通路 (lipopolysaccharide-mediated signaling pathway)	5	$1.40 \times 10^{-6}$
BP	ERK1 和 ERK2 级联的正调节 (positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade)	7	$5.98 \times 10^{-6}$
BP	免疫反应 (immune response)	9	$1.17 \times 10^{-5}$
BP	NF- $\kappa$ B 转录因子活性的正调节 (positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity)	5	$3.99 \times 10^{-4}$
BP	MAPK 级联 (MAPK cascade)	6	$5.88 \times 10^{-4}$
BP	细胞对白细胞介素-1 的反应 (cellular response to interleukin-1)	4	$8.47 \times 10^{-4}$
CC	细胞外空间 (extracellular space)	20	$6.68 \times 10^{-11}$
CC	细胞外区域 (extracellular region)	13	$3.15 \times 10^{-4}$
CC	细胞溶质 (cytosol)	18	$1.15 \times 10^{-3}$
CC	细胞外分泌体 (extracellular exosome)	15	$4.95 \times 10^{-3}$
CC	神经细胞体 (neuronal cell body)	5	$6.90 \times 10^{-3}$
CC	质膜 (plasma membrane)	18	$1.21 \times 10^{-2}$
MF	细胞因子活性 (cytokine activity)	9	$1.53 \times 10^{-8}$
MF	酶结合 (enzyme binding)	8	$2.23 \times 10^{-5}$
MF	蛋白质同源二聚化活性 (protein homodimerization activity)	10	$9.14 \times 10^{-5}$
MF	血红素结合 (heme binding)	5	$4.38 \times 10^{-4}$
MF	谷胱甘肽转移酶活性 (glutathione transferase activity)	3	$3.74 \times 10^{-3}$
MF	前列腺素内过氧化物合酶活性 (prostaglandin-endoperoxide synthase activity)	2	$5.21 \times 10^{-3}$

表 3 射麻止喘液-哮喘-基因的生物学通路

Table 3 Biological pathways of Shema Zhichuan liquid-asthma-gene

通路	P	基因
TNF signaling pathway	$3.12 \times 10^{-6}$	ICAM1, TNF, CCL2, PTGS2, MMP-9, EDN1, IL-1 $\beta$ , CCL5
Fc epsilon RI signaling pathway	$5.21 \times 10^{-5}$	PRKCA, IL-4, TNF, IL-5, MS4A2, IL-13
细胞因子-细胞因子受体相互作用 (cytokine-cytokine receptor interaction)	$5.89 \times 10^{-4}$	IL-4, TNF, IL-5, CCL2, IL-1 $\beta$ , IL-13, CCL5, TGF $\beta$ <sub>1</sub>
NF- $\kappa$ B signaling pathway	$1.85 \times 10^{-3}$	ICAM1, TNF, PTGS2, Bcl-2, IL-1 $\beta$
NOD-like receptor signaling pathway	$4.69 \times 10^{-3}$	TNF, CCL2, IL-1 $\beta$ , CCL5
inflammatory mediator regulation of TRP channels	$2.15 \times 10^{-2}$	PRKCA, PTGER2, TRPA1, IL-1 $\beta$
intestinal immune network for IgA production	$3.31 \times 10^{-2}$	IL-4, IL-5, TGF- $\beta$ <sub>1</sub>

样受体 2 (TLR2) 拮抗剂后 CCL2 水平明显降低, 并伴随着肺组织中嗜碱性粒细胞和树突状细胞数量减少, 表明 CCL2 在哮喘中介导着趋化性<sup>[19]</sup>。研究表明 IL-4, IL-13 和 CCL5 的水平越高, 哮喘患者用力肺活量则越低, 呈负相关<sup>[15]</sup>, 说明这三者过表达可能会引起哮喘患者肺功能的下降。ICAM1 是病原

体流感嗜血杆菌的受体, 哮喘患者的气道中 ICAM1 的水平明显增加, ICAM1 可能在慢性细菌定植和急性病毒感染之间提供正反馈<sup>[20]</sup>。Bcl-2 为抗凋亡蛋白, 研究提示细胞凋亡缺陷导致慢性组织嗜酸性粒细胞增多, Bcl-2 水平降低后, 嗜酸性粒细胞凋亡增加, 导致哮喘气道的炎症明显减轻<sup>[2]</sup>。MMP-9 是由

上皮细胞和炎症细胞产生的蛋白水解酶,通过基底膜和细胞外基质诱导炎症细胞的浸润,加速气道重塑的进展,与健康者相比,MMP-9 在哮喘患者中水平较高,说明 MMP-9 可能是引起哮喘气道重塑的重要因子之一<sup>[21]</sup>。PTGS2 在促炎性细胞因子和其他介质刺激下,水平明显升高,且哮喘患者支气管肺泡灌洗液中的 PTGS2 含量较多,说明 PTGS2 与哮喘的炎症相关<sup>[22]</sup>。EDN1 是一种有效的支气管收缩剂,在哮喘气道重塑的发病机制中发挥重要作用,研究表明 EDN1 在正常气道上皮微弱表达,而在轻度和中度哮喘的上皮中出现轻度和中度的上调<sup>[23]</sup>。综上所述,射麻止喘液可能通过调节射麻止喘液-哮喘-基因表达,减轻由这些靶点引发的气道重塑、免疫反应、气道阻塞和炎症反应,从而减轻哮喘症状。

**3.2 射麻止喘液具有调控 TNF 和 Fc epsilon RI 信号通路的潜在作用** 哮喘是一种复杂的炎症性疾病,哮喘患者的气道被嗜酸性粒细胞、脱颗粒肥大细胞和淋巴细胞浸润,杯状细胞出现增生和改变,上皮细胞紧密连接<sup>[24]</sup>。TNF 参与细胞生长和增殖、炎性和免疫反应等过程,还与细胞凋亡、细胞坏死有关,TNF 信号通路激活后,使 NF- $\kappa$ B 入核,导致 IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  和趋化因子的过度表达,加重炎症与免疫反应<sup>[25]</sup>。肥大细胞在过敏性和非过敏性疾病的发病机制中发挥重要作用,通过 Fc epsilon RI 信号通路引发肥大细胞的活化,嗜碱性粒细胞与 Fc epsilon RI 信号通路交联后产生 IL-4,并且肥大细胞还可充当抗原呈递细胞引发 Th2 细胞分化,在调节 2 型反应中发挥作用<sup>[21]</sup>。此外,本研究发现 TNF 信号通路中具有射麻止喘液和哮喘的共同靶点 TNF, IL-4。因此,推测射麻止喘液可能通过调节 TNF 和 Fc epsilon RI 信号通路来缓解哮喘病理过程中的炎症反应、细胞增殖、免疫反应、趋化反应,从而发挥治疗哮喘的潜在作用。

**3.3 射麻止喘液具有调控 NF- $\kappa$ B 信号通路, MAPK 以及 ERK1/ERK2 级联反应的潜在作用** NF- $\kappa$ B 在哮喘发病机制和炎症反应机制中起重要作用,与细胞生长、分化、炎症、发育和凋亡的基因的表达有关。NF- $\kappa$ B 在其抑制蛋白 I $\kappa$ B 蛋白磷酸化后被激活,激活后从细胞质转移到细胞核中,并与特定启动子区域结合后激活特异性基因转录,从而分泌 IL-1, IL-6, IL-8 和 TNF- $\alpha$  等细胞因子引起炎症反应,炎症反应造成慢性损伤,导致气道重塑<sup>[26]</sup>。ERK1/ERK2 来自 MAPK 家族,MAPK 是许多信号传导途径的会聚点,参与调节细胞生长和增殖、趋化性和其他遗传

过程。MAPK 激活后又可导致 NF- $\kappa$ B 激活,是驱动促炎途径的关键信号分子<sup>[26]</sup>。说明射麻止喘液可能通过调控 NF- $\kappa$ B 信号通路, MAPK 和 ERK1/ERK2 级联反应,减少气道的炎症浸润,抑制平滑肌细胞的增殖,减轻气道的重塑,从而发挥治疗哮喘的潜在作用。

**3.4 射麻止喘液具有调控 NOD 受体信号通路, TRP 通道炎症调控通路的潜在作用** NOD 蛋白质是重要的细胞内模式识别受体,与 TLR 配合调节炎症反应和 2 型免疫应答,其中 NOD 样受体蛋白 (NLRP) 可形成炎性体的复合物,激活 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等炎性细胞因子。此外,炎性体能够刺激活性氧的产生,加重氧化应激,加重对哮喘气道的损伤<sup>[19]</sup>。在哺乳动物中已经确定大约有 28 个 TRP 通道,与健康者相比,哮喘患者的支气管活检标本和支气管刷状物检测到了较高的 TRP 表达<sup>[27]</sup>。说明射麻止喘液可能通过调控 NOD 受体和 TRP 通道信号通路来抑制 IL-1 $\beta$ , IL-18 等炎性因子的产生。

**3.5 射麻止喘液具有调控介导 IgA 生成的肠道免疫网络的潜在作用** 过敏反应与哮喘有着密切的关系,介导 IgA 生成的肠道免疫网络介导着过敏反应,过敏反应包括从肥大细胞释放炎症介质、抗原-抗体反应,并且过敏反应可导致随后的气道炎症和重塑以及哮喘患者的气道阻塞<sup>[28]</sup>。说明射麻止喘液可能通过调控介导 IgA 生成的肠道免疫网络来缓解免疫反应引起的趋化反应与炎症因子的浸润。

总之,射麻止喘液具有多靶点、多途径治疗哮喘的潜力,符合哮喘复杂的病理机制。射麻止喘液可能通过调控 TGF- $\beta_1$  和 HMOX1 等多个靶点,可能通过调控 TNF 信号通路, Fc epsilon RI 信号通路, NF- $\kappa$ B 信号通路等多个途径治疗哮喘。网络药理学分析可以从整体水平理解并探索射麻止喘液的潜在功效,并为其深入研究和临床应用提供参考。

[参考文献]

[1] Masoli M, Fabian D, Holt S, et al. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report[J]. Allergy, 2004, 59(5): 469-478.  
[2] HU X, WANG J, XIA Y, et al. Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in human eosinophils from asthmatic individuals[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(6): 5231-5236.  
[3] Hetherington K J, Heaney L G. Drug therapies in severe asthma-the era of stratified medicine[J]. Clin Med (Lond), 2015, 15(5): 452-456.

- [ 4 ] 徐顺富,南淑玲,周涛. 中医治疗哮喘临床进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,18(8):150-153.
- [ 5 ] 刘琼. 射麻止喘液对支气管哮喘患者肺功能的影响[J]. 河北中医,2005,27(10):731-732.
- [ 6 ] 陈芝喜,梁直英,周名璐,等. 射麻止喘液对哮喘豚鼠血浆环核苷酸和 TxB<sub>2</sub>、6-K-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  水平的影 响[J]. 放射免疫学杂志,2000,13(2):77-78.
- [ 7 ] 钟亮环. 射麻止喘液治疗哮喘发作期的临床疗效观察及其对外周血 IL-5、IL-8 的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2005.
- [ 8 ] 周宇,刘建博,张玉芳,等. 射麻止喘液对哮喘大鼠气道平滑肌细胞作用研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2011,13(1):76-78.
- [ 9 ] 汤化琪,梁瑞敏,陈宇,等. BATMAN-TCM 在线分析工具预测玄胡索散治疗骨关节炎作用及初步验证研究[J]. 中华中医药学刊,2018,36(1):142-145.
- [ 10 ] 赖艳妮,严一文,徐培平. 基于系统药理学探索莪术有效成分的药理作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(14):177-182.
- [ 11 ] LIANG B, LI C, ZHAO J. Identification of key pathways and genes in colorectal cancer using bioinformatics analysis[J]. Med Oncol,2016,33(10):111-119.
- [ 12 ] Ohta K, Nagase H, Suzukawa M, et al. Antibody therapy for the management of severe asthma with eosinophilic inflammation[J]. Int Immunol,2017,29(7):337-343.
- [ 13 ] Thomas B J, Kan O K, Loveland K L, et al. In the shadow of fibrosis: innate immune suppression mediated by transforming growth factor-beta[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2016,55(6):759-766.
- [ 14 ] LYU J, SU W, YU Q, et al. Heme oxygenase-1 protects airway epithelium against apoptosis by targeting the proinflammatory NLRP3-RXR axis in asthma[J]. J Biol Chem,2018,293(48):18454-18465.
- [ 15 ] Lewis T C, Metitiri E E, Mentz G B, et al. Influence of viral infection on the relationships between airway cytokines and lung function in asthmatic children[J]. Respir Res,2018,19(1):228-241.
- [ 16 ] WU W, LI Y, JIAO Z, et al. Phyllanthin and hypophyllanthin from *Phyllanthus amarus* ameliorates immune-inflammatory response in ovalbumin-induced asthma; role of IgE, Nrf2, iNOs, TNF- $\alpha$ , and IL's [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol,2018,19(12):1-13.
- [ 17 ] LI Y, WANG H, YANG X. Effects of catalpol on bronchial asthma and its relationship with cytokines[J]. J Cell Biochem,2018,12(9):1-7.
- [ 18 ] XU M H, YUAN F L, WANG S J, et al. Association of interleukin-18 and asthma [J]. Inflammation, 2017, 40 (1): 324-327.
- [ 19 ] LV J, YU Q, LV J, et al. Airway epithelial TSLP production of TLR2 drives type 2 immunity in allergic airway inflammation[J]. Eur J Immunol,2018,48(11):1838-1850.
- [ 20 ] ZHANG Y, Willis-Owen S A G, Spiegel S, et al. The ORM DL3 asthma gene regulates ICAM1 and has multiple effects on cellular inflammation [J]. Am J Respir Crit Care Med,2019,199(4):478-488.
- [ 21 ] WU X L, LI R, ZHANG H W, et al. Methylation status of ORM DL3 regulates cytokine production and p-ERK/ MMP9 pathway expression[J]. Exp Cell Res,2018,372(1):43-51.
- [ 22 ] Shin D, Park S H, Choi Y J, et al. Dietary compound kaempferol inhibits airway thickening induced by allergic reaction in a bovine serum albumin-induced model of asthma[J]. Int J Mol Sci,2015,16(12):29980-29995.
- [ 23 ] Pegorier S, Arouche N, Dombret M C, et al. Augmented epithelial endothelin-1 expression in refractory asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 120 (6): 1301-1307.
- [ 24 ] Curtis J L. Cell-mediated adaptive immune defense of the lungs[J]. Proc Am Thorac Soc,2005,2(5):412-416.
- [ 25 ] Takahashi H, Hashimoto Y, Ishida-Yamamoto A, et al. Roxithromycin suppresses involucrin expression by modulation of activator protein-1 and nuclear factor-kappaB activities of keratinocytes [J]. J Dermatol Sci, 2005,39(3):175-182.
- [ 26 ] Mishra V, Banga J, Silveyra P. Oxidative stress and cellular pathways of asthma and inflammation; Therapeutic strategies and pharmacological targets [J]. Pharmacol Ther,2018,181(8):169-182.
- [ 27 ] De Logu F, Patacchini R, Fontana G, et al. TRP functions in the broncho-pulmonary system [J]. Semin Immunopathol,2016,38(3):321-329.
- [ 28 ] Arizmendi N, Kulka M. Adenosine activates Galphas proteins and inhibits C3a-induced activation of human mast cells [J]. Biochem Pharmacol, 2018, 156 (8): 157-167.

[责任编辑 刘德文]