

基于网络药理学探讨参蛤益肺胶囊治疗 COPD 的作用机制

陈 辉¹ 杨廷富¹ 罗 钢^{1*}

(西南医科大学附属中医医院 四川 泸州 646000)

Exploring the Mechanism of Action of ShenGe YiFei Capsule in Treating COPD Based on Network Pharmacology

CHEN Hui¹, YANG Tingfu¹, LUO Gang^{1*}

Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Southwest Medical University, Luzhou Sichuan, 646000, China

【摘 要】目的：通过网络药理学探讨参蛤益肺胶囊治疗 COPD 的作用机制。方法：通过 TCMSp、Genecards、String、Uniprot、DAVID 等数据库做网络药理学分析。结果：筛选出参蛤益肺胶囊 118 种成分和 929 个靶点，COPD 靶点 467 个，得到疾病和药物的交集靶点 150 个，GO 和 KEGG 富集分析得到 134 和 103 个条目。参蛤益肺胶囊治疗 COPD 主要通过 IL1B、IL4、IL2、MYC、IL10、CCL2 等核心靶点和 JAK-STAT 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、T 细胞受体信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路起作用。结论：本研究预测了参蛤益肺胶囊治疗 COPD 可能的作用机制，为深入研究提供理论依据。

【关键词】网络药理学；参蛤益肺胶囊；COPD；中药治疗

【Abstract】Objective: To explore the mechanism of action of ShenGe YiFei capsule in treating COPD by network pharmacology. Methods: Network pharmacology analysis was performed through tcmsp, genecards, string, UniProt, David and other databases. Results: 118 components and 929 targets of ShenGe YiFei capsule were screened out, 467 targets of COPD were obtained, 150 intersection targets of diseases and drugs were obtained, and 134 and 103 entries were obtained by GO and KEGG enrichment analysis. Treatment of COPD by ShenGe YiFei capsule mainly works through core targets such as IL1B, IL4, IL2, Myc, IL10, and CCL2 and JAK-STAT signaling pathway, cytokine cytokine receptor interaction, T cell receptor signaling pathway, PI3K Akt signaling pathway, and IL-17 signaling pathway. Conclusion: In this study, the possible mechanism of action of ShenGe YiFei capsule in treating COPD was predicted, which may provide a theoretical basis for scientific research.

【Key words】network pharmacology; ShenGe YiFei Capsule; myocardial fibrosis

慢性阻塞性肺疾病 (Chronic obstructive pulmonary diseases, COPD) 是一种可防可治的疾病，主要表现为持续的呼吸道症状和气流受限^[1]。全球发病率在 4%-10%，WHO 预计到 2030 年，COPD 排在世界第三死亡占比^[2]。在中国各省市，报告的 COPD 患病率在 1.20%至 8.87%之间，男性 (7.76%) 的 COPD 患病率高于女性 (4.07%)，该疾病在农村地区 (7.62%) 比城市地区 (6.09%) 更普遍^[3]。参蛤益肺胶囊是西南医科大学附属中医医院内制剂，其防治 COPD 临床上具有好的效果^[4-8]。故本研究旨在运用网络药理学探讨参蛤益肺胶囊防治 COPD 可能的作用机制，为临床应用及后续研究提供理论支持。

1 资料与方法

1.1 参蛤益肺胶囊有效成分和靶点的筛选

通过中药计算系统生物实验分析数据库 (TCMSp) 检索出参蛤益肺胶囊中川贝母、川芎、甘草、蛤蚧、红参、地龙、三七的有效成分。设定药物口服利用率 (OB) $\geq 30\%$ ，类药性指数 (DL) ≥ 0.18 为筛选条件，获得相应靶点。再通过 Uniprot 数据库对以上靶点名称标准化。

1.2 疾病靶点的获取

以“Chronic obstructive pulmonary disease”进行检索，通过人类基因数据库 Genecards 获得相关靶点，筛选相关性得分 (Relevance score) ≥ 50 的靶点。

1.3 参蛤益肺胶囊治疗 COPD 的网络构建及分析

以 1.1 项获得的药物靶点与 1.2 项获得的疾病靶点，通

过 Venn 图取交集靶点，将交集靶点导入 String 数据库，设置种类为“homo sapiens”，置信度蛋白参数评分 (minimum required interaction score) ≥ 0.9 ，隐藏孤立靶点后，下载 TSV 格式蛋白互作关系文件导入 Cytoscape3.7.2 软件，进一步筛选核心靶点。

1.4 核心靶点 KEGG 富集分析

通过 DAVID 做 GO 富集分析，通过 R4.0.2 软件，安装 Bioconductor (<http://bioconductor.org/biocLite.R>) 的“RSQLite”、“org.Hs.eg.db”、“clusterProfiler”、“enrichplot”、“pathview”等集成包，以 p value Cutoff = 0.05, q value Cutoff = 0.05 为标准，在 JAVA 运行环境中，做 KEGG 富集分析。

2 结果

2.1 参蛤益肺胶囊有效成分和预测靶点

通过 TCMSp 数据库，筛选得到参蛤益肺胶囊有效成分共 118 个，其中川贝母 13 个，川芎 7 个，甘草 92 个，蛤蚧 4 个，红参 4 个，地龙 7 个，三七 8 个。通过 Uniprot 数据库将靶点名称标准化后共得到 929 个靶点，其中川贝母 37 个，川芎 29 个，甘草 191 个，蛤蚧 575 个，红参 44 个，地龙 286 个，三七 49 个。

2.2 COPD 疾病靶点搜集

通过 Genecards 数据库获得病 COPD 相关疾病靶点分别为 6843 个，其中相关性评分 ≥ 50 的靶点 467 个。

2.3 参蛤益肺胶囊治疗 COPD 的潜在靶点筛选

将上述 2.1 项得到的药物靶点和 2.2 项相关性评分 ≥ 50

的疾病靶点通过 Venn 图进行映射得到交集靶点共 150 个，即为参蛤益肺胶囊治疗 COPD 的潜在作用靶点，见图 1。

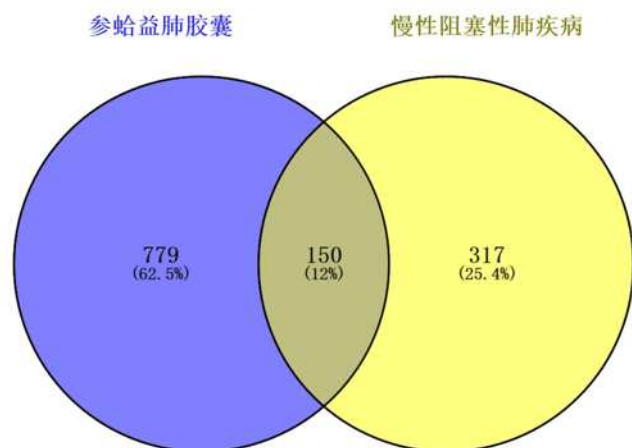


图 1 参蛤益肺胶囊与 COPD 交集靶点韦恩图

2.4 蛋白质互作网络 (PPI) 构建和核心成分及靶点筛选

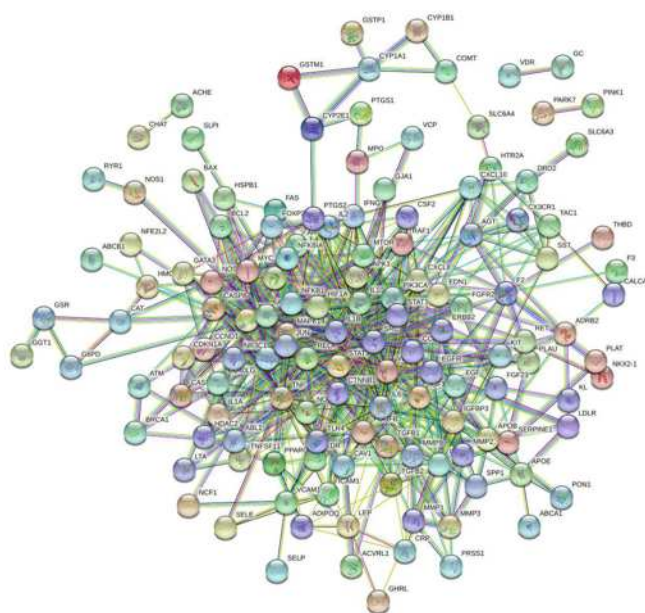


图 2 交集靶点蛋白互作关系图 (PPI)

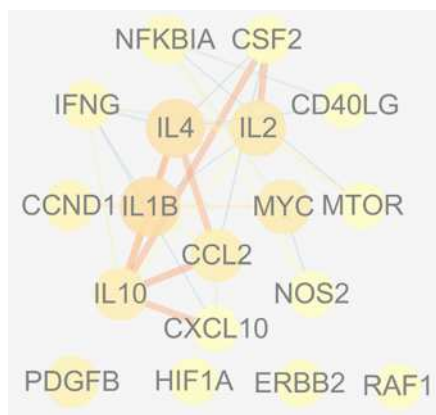


图 3 核心靶点图

注: Dgree 越高则靶点越大越鲜艳; Combined score 越强则连线越粗越鲜艳

将上述 150 个潜在作用靶点上传至 String 数据平台行蛋白互作分析，隐藏 13 个孤立蛋白靶点 XDH、UCHL1、HMGR、BMP2、CHRNA3、PDE5A、NPPA、PDE4A、SCN5A、POLG、SCGB1A1、LAMP2、ADA 后，可见 PPI，见图 2，下载 TSV 格式蛋白互作关系文件导入 Cytoscape3.7.2 软件，进一步筛选 Dgree、ClusteringCoefficient 均值以上的为核心靶点，如图 3，核心靶点的拓扑分析参数见表 1。

表 1 核心靶点参数

排名	基因靶点	Degree
1	IL1B	20
2	IL4	19
3	IL2	17
4	MYC	16
5	IL10	15
6	CCL2	15
7	PDGFB	14
8	CCND1	13
9	IFNG	12
10	NFKBIA	12
11	CSF2	11
12	HIF1A	11
13	ERBB2	11
14	CXCL10	10
15	NOS2	10
16	MTOR	10
17	CD40LG	10
18	RAF1	10

2.5 核心靶点富集分析

表 2 KEGG 通路富集分析前 20 条参数

ID	Description	p.adjust	Count
hsa04630	JAK-STAT 信号通路	4.86E-11	10
hsa04060	细胞因子 - 细胞因子受体相互作用	8.54E-08	9
hsa04660	T 细胞受体信号通路	1.82E-09	8
hsa05167	卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染	8.54E-08	8
hsa04151	PI3K-Akt 信号通路	3.77E-06	8
hsa04657	IL-17 信号通路	3.55E-08	7
hsa05142	恰加斯病	4.76E-08	7
hsa04659	Th17 细胞分化	5.35E-08	7
hsa05163	人巨细胞病毒感染	3.35E-06	7
hsa05140	利什曼病	2.11E-07	6
hsa05215	前列腺癌	6.86E-07	6
hsa05160	丙型肝炎	7.14E-06	6
hsa05164	甲型流感	1.09E-05	6
hsa05205	癌症中的蛋白多糖	2.14E-05	6
hsa05171	冠状病毒病	3.82E-05	6
hsa05206	肿瘤中的 microRNA	0.000147	6
hsa05330	同种异体移植排斥反应	2.59E-07	5
hsa05144	疟疾	8.81E-07	5
hsa05321	炎症性肠病	3.09E-06	5
hsa05221	急性髓细胞白血病	3.32E-06	5

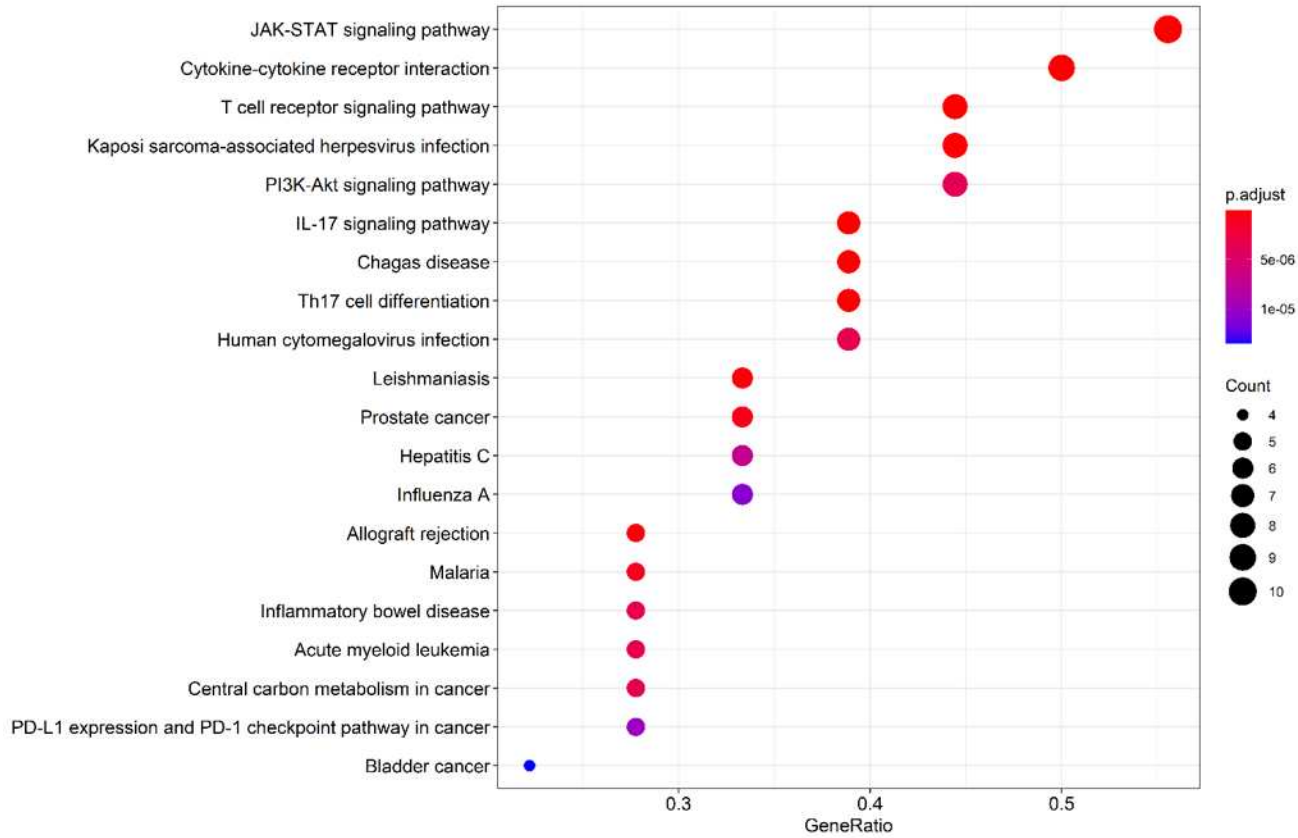


图4 点 KEGG 通路富集分析

核心靶点通过 R 语言软件, 共得到 74 条 ($P < 0.05$) KEGG 富集通路, 按富集基因数目排序取前 20 条信号通路展示, 见表 2 和图 4。分析可知依次是 JAK-STAT 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、T 细胞受体信号通路、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路、恰加斯病、Th17 细胞分化、人巨细胞病毒感染、利什曼病、前列腺癌、丙型肝炎、甲型流感、癌症中的蛋白多糖、冠状病毒病、肿瘤中的 microRNA、同种异体移植排斥反应、疟疾、炎症性肠病、急性髓细胞白血病。

3 讨论

COPD 患者防御机制受损, 慢性炎症, 机体免疫功能降低, 导致反复呼吸系统感染。廖冬梅等人实验证实参蛤益肺胶囊可随剂量增加而提升 COPD 稳定期大鼠血清中 IgG、IgM 的表达水平, 提高机体免疫而延缓 COPD 的病程的进展^[9]。古远云等人在 COPD 稳定期患者临床实验中, 发现常规治疗加用参蛤益肺胶囊可以明显降低 LTB₄、IL-8、TNF- α 等炎症因子水平^[10]。雷章恒等人在肺气虚大鼠模型实验中发现参蛤益肺胶囊可降低大鼠肺组织中 TNF- α 的表达, 减少炎症细胞趋化、聚集, 高剂量组更加显著^[11]。可见参蛤益肺胶囊治疗 COPD, 现有研究主要集中在调节免疫和炎症方面。

本研究筛选出 18 个核心靶点, 根据 Dgree 排名前五位分别为 IL1B、IL4、IL2、MYC、IL10。COPD 其特征是进行性气流

受限并伴有炎症和肺气肿。Gao Yi 等人一项大型的队列研究表明 IL1B 在 COPD 小气道上皮细胞中明显上调, IL1B 是 COPD 气道炎症的新参与者^[12]。Sho Shibata 等人动物实验发现嗜碱性粒细胞来源的 IL-4 / 单核细胞来源的 IM / MMP-12 轴在肺气肿的形成中起着至关重要的作用^[13]。刘玉春等人临床检测发现 COPD 患者 IL2 水平明显低于健康者, sIL-2R 水平明显升高, 提示 COPD 患者 IL-2 水平降低可能增强, sIL-2R 活性, 导致 T 细胞免疫功能低下, 杀伤细胞的杀伤功能和辅助抗体生成作用降低^[14]。Shenghua Jiang 等人临床研究发现 IL10 在 COPD 稳定期较急性期中水平下降, 并且与肺功能呈正相关性表明它可以作为评估 COPD 进展的指标^[15]。

根据 KEGG 富集分析前 20 项结果和现代研究报道筛选 JAK-STAT 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、T 细胞受体信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路、甲型流感、冠状病毒病-COVID-19, 它们与参蛤益肺胶囊治疗 COPD 密切相关。吸烟是 COPD 常见的诱因, Kaishun Zhao 等人在临床实验和体外细胞实验中证实 CCR1 通过 JAK / STAT / NF- κ B 途径介导的香烟烟雾诱导的 COPD 肺部炎症^[16]。Bruzzaniti S 等人发现 COPD 进展的免疫代谢机制以瘦素过量产生, FoxP3 剪接形式的表达下降以及 T reg 细胞的生成和功能受损为特征, 自身免疫越严重, 肺功能预后越差^[17]。陈忠仁等人大鼠实验证实阻断 PI3K 信号通路可以改善 COPD 大鼠的炎症反应, 提示其可能

参与了大鼠 COPD 及并发症的发生及发展^[18]。Yong Zou 等人临床研究发现升高的血清 IL-1 β 和 IL-17 水平可以用作指示持续嗜中性气道炎症和可能持续加重 COPD 的生物标志物^[19]。流感与急性 COPD 发病率具有显著正相关性, Bouneb R 等人研究发现患有 COPD 的老年患者重型流感患病率较高^[20]。Leung JM 等人综述提示当 COPD 患者感染 COVID-19 时, 其发生严重肺炎的风险增加且预后不良, 这可能与潜在的肺部储备不足或小气道中 ACE-2 受体表达增加有关^[21]。

由上讨论可见, 筛选参蛤益肺胶囊治疗 COPD 良好的临床效果, 可能源于以 IL1B、IL4、IL2、MYC、IL10 为代表的 18 个核心靶点, 以 JAK-STAT 信号通路、T 细胞受体信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路等为代表的多通路, 多方面起到协同的治疗作用。本研究为后续的实验深入研究提供一定的指导作用。

参考文献:

- [1] 陈亚红. 2019 年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗及预防全球策略解读 [J]. 中国医学前沿杂志 (电子版), 2019, 11(01): 1-15.
- [2] 章潜, 严萍. 健脾益气方对不同分级慢性阻塞性肺疾病稳定期患者的影响 [J]. 中国中医药科技, 2017, 24(04): 495-496.
- [3] Zhu B, Wang Y, Ming J, Chen W, Zhang L. Disease burden of COPD in China: a systematic review. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2018;13:1353-1364.
- [4] 陈辉, 古远云, 罗钢, 钟红卫. 参蛤益肺胶囊治疗肺心病急性发作期 40 例临床观察 [J]. 影像研究与医学应用, 2018, 2(18): 211-212.
- [5] 郝英, 雷章恒, 钟红卫, 古远云. 参蛤益肺胶囊联合沙美特罗替卡松治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期临床研究 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(01): 142-144.
- [6] 古远云, 钟洪卫, 陈辉, 许志刚, 欧雪梅. 参蛤益肺胶囊对 COPD 稳定期老年患者 LTB₄、IL-8、TNF- α 影响的研究 [J]. 世界中医药, 2016, 11(09): 1697-1699.
- [7] 孙钢, 何焕荣, 吕志坚, 浦明之, 陈宇, 周运海. 参蛤益肺胶囊对 COPD 稳定期患者运动耐力和生活质量影响的临床研究 [J]. 江苏中医药, 2007(11): 23-24.
- [8] 郝英, 雷章恒, 钟红卫, 古远云. 参蛤益肺胶囊联合沙美特罗替卡松治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期临床研究 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(01): 142-144.
- [9] 廖冬梅, 钟红卫, 古远云, 陈辉. 参蛤益肺胶囊调节 COPD 大鼠稳定期 IgG IgM 的实验研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2019, 40(07): 65-66.
- [10] 古远云, 钟洪卫, 陈辉, 许志刚, 欧雪梅. 参蛤益肺胶囊对 COPD 稳定期老年患者 LTB₄、IL-8、TNF- α 影响的研究 [J]. 世界中医药, 2016, 11(09): 1697-1699.
- [11] 雷章恒, 雷国燕, 钟红卫, 陈远霞, 刘杰. 参蛤益肺胶囊对慢性阻塞性肺疾病肺气虚证大鼠肺组织肿瘤坏死因子- α 表达的影响 [J]. 河南中医, 2014, 34(05): 822-825.
- [12] Yi G, Liang M, Li M, Fang X, Liu J, Lai Y, Chen J, Yao W, Feng X, Hu L, Lin C, Zhou X, Liu Z. A large lung gene expression study identifying IL1B as a novel player in airway inflammation in COPD airway epithelial cells. *Inflamm Res*. 2018 Jun;67(6):539-551.
- [13] Shibata S, Miyake K, Tateishi T, et al. Basophils trigger emphysema development in a murine model of COPD through IL-4-mediated generation of MMP-12-producing macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(51):13057-13062.
- [14] 刘玉春, 刘永翠, 林士军, 叶建华, 刘美描, 陈雄, 张静. 慢性阻塞性肺疾病患者白细胞介素-2 与可溶性白细胞介素-2 受体表达及意义 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(09): 886-887.
- [15] Jiang S, Shan F, Zhang Y, Jiang L, Cheng Z. Increased serum IL-17 and decreased serum IL-10 and IL-35 levels correlate with the progression of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2018;13:2483-2494.
- [16] Zhao K, Dong R, Yu Y, et al. Cigarette smoke-induced lung inflammation in COPD mediated via CCR1/JAK/STAT / NF- κ B pathway. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(10):9125-9138.
- [17] Bruzzaniti S, Bocchino M, Santopaolo M, Calì G, Stanziola AA, D'Amato M, Esposito A, Barra E, Garziano F, Micillo T, Zuchegna C, Romano A, De Simone S, Zuccarelli B, Mottola M, De Rosa V, Porcellini A, Perna F, Matarese G, Galgani M. An immunometabolic pathomechanism for chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Jul 30;116(31):15625-15634.
- [18] 陈忠仁, 欧宗兴, 王蕾, 沈彬, 梁海梅, 杨绪莉, 黄实仁. PI3K 信号通路在慢性阻塞性肺疾病大鼠气道及系统性炎症中的作用 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(23): 5032-5035.
- [19] Zou Y, Chen X, Liu J, et al. Serum IL-1 β and IL-17 levels in patients with COPD: associations with clinical parameters. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:1247-1254.
- [20] Bouneb R, Mellouli M, Bensoltane H, Baroudi J, Chouchene I, Boussarsar M. Characteristics and outcome of ill critical patients with influenza A infection. *Pan Afr Med J*. 2018 Mar 26;29:174.
- [21] Leung JM, Niikura M, Yang CWT, Sin DD. COVID-19 and COPD. *Eur Respir J*. 2020;56(2):2002108. Published 2020 Aug 13.