

文章编号 1006-8147(2021)05-0446-08

论著

基于网络药理学探讨三七抗急性肺损伤相关分子机制

查玉杰¹, 曹丽睿¹, 何庆^{1,2}

(1.西南交通大学医学院, 成都 610031; 2.西南交通大学附属医院呼吸与危重症医学科, 成都 610031)

摘要 目的:利用网络药理学的方法研究三七抗急性肺损伤的相关分子机制。方法:利用 TCMSP 数据库获取三七的活性成分,再通过药物动力学参数筛选出主要活性成分,并通过文献予以补充;通过 Swiss Target Prediction 数据库获取各活性成分靶点;通过 Gene Cards、OMIM、DisGeNET 数据库获取急性肺损伤靶点;利用 STRING 数据库进行蛋白质相互作用分析,采用 Cytoscape3.7.2 构建 PPI 网络并挖掘出其潜在蛋白质功能模块;采用 Metascape 平台对三七抗急性肺损伤靶点进行 GO 分类富集分析和 KEGG 通路富集分析。结果:共筛选出 9 个活性成分,槲皮素、人参皂苷 Rh2 和人参皂苷 Rg1 等可能为三七抗急性肺损伤作用的主要活性成分,核心靶点有 PIK3CA、AKT1、PIK3R1、VEGFA、EGFR 等。三七抗急性肺损伤作用可能涉及的通路有磷脂酰肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路、血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路、Ras 信号通路、Rap1 信号通路等。结论:本研究初步揭示了三七抗急性肺损伤的多成分、多靶点、多通路的作用机制。

关键词 三七;急性肺损伤;网络药理学;分子机制

中图分类号 R285

文献标志码 A

Molecular mechanism of *Panax notoginseng* against acute lung injury based on network pharmacologyZHA Yu-jie¹, CAO Li-rui¹, HE Qing^{1,2}

(1.Southwest Jiaotong University College of Medicine, Chengdu 610031, China; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, The Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract **Objective:** To study the relevant molecular mechanism of *Panax notoginseng* against acute lung injury by network pharmacology. **Methods:** The active ingredients of *Panax notoginseng* were obtained by the TCMSP database, then the main active ingredients were screened through pharmacokinetic parameters and supplemented by literature. The targets of active ingredients were obtained by the Swiss Target Prediction database. The acute lung injury targets were acquired through Gene Cards, OMIM, and DisGeNET databases. The protein interaction analysis was employed by STRING database, and the Cytoscape 3.7.2 was used to construct PPI network and dig out its potential protein functional modules. The Metascape platform was used to perform GO classification enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis for the anti-acute lung injury targets of *Panax notoginseng*. **Results:** A total of 9 active ingredients were screened. Quercetin, ginsenoside Rh2 and ginsenoside Rg1 may be the main active ingredients of *Panax notoginseng* against acute lung injury, and the core targets are PIK3CA, AKT1, PIK3R1, VEGFA, EGFR, etc. The anti-acute lung injury effect of *Panax notoginseng* may involve the phosphatidylinositol-3-kinase-protein kinase B (PI3K-Akt) signaling pathway, vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway, Ras signaling pathway, Rap1 signaling pathway, etc. **Conclusion:** This study initially reveals the multi-component, multi-target, and multi-pathway mechanism of *Panax notoginseng* against acute lung injury.

Key words *Panax notoginseng*; acute lung injury; network pharmacology; molecular mechanism

急性肺损伤是由各种肺内外致病因素导致的急性、弥漫性炎症肺损伤,进而引起急性呼吸衰竭的临床综合征,以肺血管通透性增高、肺泡腔渗出富含蛋白质的液体、肺水肿以及透明膜的形成为主要病理特征。急性肺损伤是常见的呼吸危重症之一,在重症监护病房病死率高达 40%~50%^[1-2]。目前,急性肺损伤的治疗尚无特效药,常规治疗方法和药物主要包括原发病治疗、机械通气疗法、舒血管药(一氧化氮、前列腺素)、表面活性剂、抗氧化

剂、糖皮质激素和抗炎药等^[3],但不能达到理想的治疗效果,病死率依然很高。近年来,人们对中医药治疗急性肺损伤进行了深入研究,显示出中医药治疗急性肺损伤的巨大优势^[4]。

三七是五加科人参属植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F.H.Chen 的干燥根,其主要化学成分为皂苷类,化学结构复杂,同时含有黄酮类、甾醇类、糖、挥发油、聚炔醇类、氨基酸和有机酸等化学成分,药用价值极高^[5]。三七的药理作用主要体现活血止血,熟三七还具有补血益气以及抗疲劳、抗肿瘤、免疫调节等作用^[6]。有研究表明,三七总皂苷可以降低血浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量,缓解

基金项目 四川省科技计划项目(2017FZ0058)

作者简介 查玉杰(1995-),女,硕士在读,研究方向:高原急性缺氧肺损伤;通信作者:何庆, E-mail: 123hq@163.com。

中性粒细胞浸润和肺水肿程度,清除体内氧自由基,有效地保护急性肺损伤^[7]。

网络药理学是一门运用网络方法分析药物与疾病和靶点之间“多成分、多靶点、多途径”协同作用关系的药理学分支学科^[8]。中药具有多成分、多作用靶点和多作用途径的特点,而网络药理学的整体性、系统性和注重药物间相互作用的特点与中医药学的基本特点相吻合,其作为一门新兴学科为研究传统中药与现代药理学之间的相互关系搭建了桥梁^[9]。本研究采用网络药理学方法,从三七的物质基础出发,着眼于整体角度分析三七抗急性肺损伤的分子机制,同时为后续研究提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 三七活性成分与相关靶点筛选 在 TCMSP 数据库^[10]以“三七”为关键词进行检索,获取三七的活性成分,再以药物动力学参数(药物口服生物利用度 $OB \geq 30\%$,药物相似性 $DL \geq 0.18$)为筛选条件,以筛选后的结果作为三七的主要活性成分。再根据已发表的文献^[11]补充三七总皂苷成分。在 Pub Chem 数据库中检索筛选出的各个成分的 2D 结构,保存其 sdf 格式文件,然后将每个 sdf 格式文件分别上传至 Swiss Target Prediction 数据库^[12],获得每个活性成分的预测靶点,并以 Probability>0 作为纳入标准。最后统一在 Uni Prot 蛋白质资源数据库将各成分作用的蛋白质靶点进行规范。

1.2 急性肺损伤相关靶点筛选 在 Gene Cards 数据库以“Acute Lung Injury”为关键词进行检索,挖掘急性肺损伤相关的潜在靶点。在此数据库中 Score 值越高则代表该靶点与疾病联系密切,因此本次筛选设定大于 20 分的目标靶点作为急性肺损伤的潜在靶点。同样的,再分别在 OMIM 数据库和 DisGe NET 数据库中进行检索,获取与急性肺损伤相关的靶点。最后,对 3 个数据库获得的靶点进行合并,删除重复值后得到急性肺损伤的相关靶点。

1.3 三七成分-急性肺损伤靶点 PPI 网络构建 为明确三七与急性肺损伤之间的相互作用关系,通过 Venny2.1.0 绘制韦恩图,获得三七活性成分和急性肺损伤预测基因靶点的交集。将交集基因上传至 STRING 数据库^[13],限定物种为“Homo sapiens”,最小互相作用阈值设为大于 highest confidence(0.900),隐藏游离的节点,获得交集基因的蛋白质相互作用(PPI)网络,并保存 tsv 格式文件。将结果导入 Cytoscape3.7.2,得到 PPI 网络后再利用 MCODE 插件对 PPI 网络进一步分析。

1.4 三七成分-急性肺损伤靶点功能与通路富集分析 Metascape 平台^[14-15]拥有全面的注释功能并且每月更新基因注释的数据资料。将交集基因导入该平台,物种和物种分析均选择“H. sapiens(68)”,设置 $P < 0.01$,分 4 次分别对其主要生物学过程和代谢通路进行富集分析,保存结果并采用图像处理与分析在线平台对结果进行可视化。另外,再针对 P 值从小到大进行排序,筛选出 P 值最小的前 20 条 KEGG 通路,并绘制气泡图。

1.5 三七成分-急性肺损伤靶点-通路网络构建 根据筛选出的 20 条通路,利用 Cytoscape3.7.2 构建三七成分-急性肺损伤-通路网络,并采用其内置工具 Network Analyzer 分析网络图的网络拓扑参数,根据参数判断三七抗急性肺损伤的主要活性成分和关键靶点。

2 结果

2.1 三七活性成分与相关靶点 在 TCMSP 数据库进行初步筛选后共得到 119 种成分,以 $OB \geq 30\%$ 且 $DL \geq 0.18$ 筛选后获得 8 种活性成分,分别为十八碳二烯(mandenol)、食脂素(DFV)、邻苯二甲酸二异辛酯(diop)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol)、豆甾醇(stigmasterol)、人参皂苷 Rh2(ginsenoside rh2)、人参皂苷 f2(ginsenoside f2)、槲皮素(quercetin)。经文献查阅得到三七总皂苷的 5 种成分,分别为人参皂苷 Rg1(ginsenoside Rg1)、人参皂苷 rd_qt(ginsenoside rd_qt)、三七皂苷 1(notoginsenoside 1)、人参皂苷 Rb1(ginsenoside rb1)、人参皂苷 Re(ginsenoside Re)。由于人参皂苷 rd_qt、三七皂苷 1、人参皂苷 rb1 在 Pub Chem 数据库未检索到 2D 结构的 sdf 文件,因此将这 3 个成分排除,而在后面的交集基因中未出现邻苯二甲酸二异辛酯的任何预测基因靶点,因此也将其排除。最终一共获得 9 种主要活性成分(见表1)。这 9 种活性成分从 Swiss Target Prediction 数据库获取预测基因靶点删除重复值后共有 260 个。

表1 三七主要成分及靶点数目

Tab 1 The main components of *Panax notoginseng* and the number of targets

MOLID	活性成分	OB(%)	DL	靶点数目
MOL001494	十八碳二烯	42.00	0.19	72
MOL001792	食脂素	32.76	0.18	102
MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75	41
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	41
MOL005344	人参皂苷 rh2	36.32	0.56	26
MOL007475	人参皂苷 f2	36.43	0.25	18
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	104
MOL005341	人参皂苷 Rg1	10.04	0.28	22
MOL005338	人参皂苷 Re	4.27	0.12	20

2.2 急性肺损伤相关靶点 从 Gene Cards 数据库共获得 6 400 个靶点,由于得到的靶点数目较多,因此以条件 Score 值大于 20 分筛选后获得 607 个靶点;从 OMIM 数据库共获得 275 个靶点;从 Dis Ge NET 数据库一共获得 93 个靶点;合并 3 个数据库靶点再删除重复值后,最终得到 917 个基因靶点。

2.3 三七成分-急性肺损伤靶点 PPI 网络 利用 Venny2.1.0 绘制三七活性成分基因靶点与疾病基因靶点交集的韦恩图(见图 1),从图中可以看到二者共有交集靶点 68 个(见表 2)。将这 68 个基因上传至 STRING 数据库后得到其相互作用关系,将结果导入 Cytoscape3.7.2 后得到 PPI 网络图(见图 2),网络图一共包含 57 个节点,168 条边,图中节点颜色和大小代表每个靶点的 Degree 值,颜色越深,节点越大代表其 Degree 值越大,意味着这个靶点可能与三七抗急性肺损伤作用的关系越密切。通过比较,笔者推测 Degree 值最大的前 5 个靶点,即 PIK3CA、PIK3R1、SRC、STAT3 和 VEGFA 可能与三七抗急性肺损伤作用具有较大的相关性。

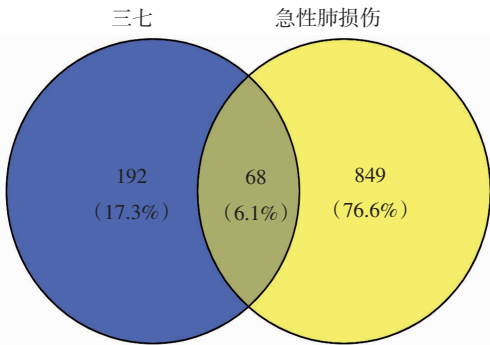


图 1 三七成分-急性肺损伤靶点
Fig 1 *Panax Notoginseng* components-acute lung injury targets

此外,利用 Cytoscape 的插件 MCODE 对 PPI 网络进行了进一步分析,得到了两个 PPI 网络的潜在子网络(见图 3),Cluster1 包括 12 个节点、32 条边,Cluster2 包括 8 个节点、15 条边。这两个子网络中的 20 个基因(MET、PIK3R1、F2、PIK3CA、ESR1、VEGFA、MMP9、APP、NR3C1、KIT、AGTR1、SRC、KDR、AKT1、HSP90AA1、PTK2、EGFR、STAT3、FGF2、IL2)可能是三七抗急性肺损伤作用的关键靶点。

2.4 靶点功能与通路富集分析结果 可视化基因本体(Gene Ontology,GO)富集分析将基因的功能分为 3 个部分,分别是生物过程(biological process, BP)(图 4A)、细胞组分(cellular component, CC)(图 4B)以及分子功能(molecular function, MF)(图

表 2 三七成分-急性肺损伤靶点

Tab 2 <i>Panax Notoginseng</i> components-acute lung injury targets					
序号	基因	Uniprot ID	序号	基因	Uniprot ID
1	<i>ESR1</i>	P03372	35	<i>ABCC1</i>	P33527
2	<i>ESR2</i>	Q92731	36	<i>PTGS1</i>	P23219
3	<i>G6PD</i>	P11413	37	<i>ABCG2</i>	Q9UNQ0
4	<i>SLC6A4</i>	P31645	38	<i>MMP12</i>	P39900
5	<i>NOS2</i>	P35228	39	<i>SERPINE1</i>	P05121
6	<i>PPARG</i>	P37231	40	<i>KIT</i>	P10721
7	<i>SRC</i>	P12931	41	<i>KDR</i>	P35968
8	<i>FGFR1</i>	P11362	42	<i>MET</i>	P08581
9	<i>F3</i>	P13726	43	<i>PLA2G2A</i>	P14555
10	<i>BCL2L1</i>	Q07817	44	<i>MMP2</i>	P08253
11	<i>IGF1R</i>	P08069	45	<i>MMP3</i>	P08254
12	<i>CYP3A4</i>	P08684	46	<i>PIK3CA</i>	P42336
13	<i>VEGFA</i>	P15692	47	<i>CDK2</i>	P24941
14	<i>MMP9</i>	P14780	48	<i>HDAC9</i>	Q9UKV0
15	<i>IL2</i>	P60568	49	<i>STAT3</i>	P40763
16	<i>FGF2</i>	P09038	50	<i>TOP1</i>	P11387
17	<i>TYMS</i>	P04818	51	<i>HSP90AA1</i>	P07900
18	<i>PTGS2</i>	P35354	52	<i>PLAU</i>	P00749
19	<i>ALOX5</i>	P09917	53	<i>NR3C1</i>	P04150
20	<i>EPHX1</i>	P07099	54	<i>PARP1</i>	P09874
21	<i>ABL1</i>	P00519	55	<i>MAPK14</i>	Q16539
22	<i>NLRP3</i>	Q96P20	56	<i>AGTR1</i>	P30556
23	<i>F2</i>	P00734	57	<i>CHEK2</i>	O96017
24	<i>XDH</i>	P47989	58	<i>FLT3</i>	P36888
25	<i>EGFR</i>	P00533	59	<i>MPO</i>	P05164
26	<i>PIK3R1</i>	P27986	60	<i>DAPK1</i>	P53355
27	<i>PTK2</i>	Q05397	61	<i>CDK1</i>	P06493
28	<i>ALK</i>	Q9UM73	62	<i>AKT1</i>	P31749
29	<i>ABCB1</i>	P08183	63	<i>AXL</i>	P30530
30	<i>MAPT</i>	P10636	64	<i>TOP2A</i>	P11388
31	<i>MYLK</i>	Q15746	65	<i>CDK6</i>	Q00534
32	<i>PIK3CG</i>	P48736	66	<i>APP</i>	P05067
33	<i>APEX1</i>	P27695	67	<i>TTR</i>	P02766
34	<i>SLC22A12</i>	Q96S37	68	<i>TERT</i>	O14746

4C)。经过 Metascape 平台分析后,选取了具有代表性的富集表达集群(每个集群选一个)的前 20 或 16 的功能绘制了条形图。从图 4A 中可以看到,三七抗急性肺损伤参与的生物过程主要有氧化应激反应(response to oxidative stress)、炎症反应的调节(regulation of inflammatory response)、活性氧簇代谢过程(reactive oxygen species metabolic process)、对有毒物质的反应(response to toxic substance)、细胞因子介导的信号通路(cytokine-mediated signaling pathway)以及跨膜受体蛋白酪氨酸激酶信号通路(transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway)等。通过 KEGG 分析(图 4D),可以看到三七抗急性肺损伤可能参与的通路有肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway)、p53 信号通路(p53 signaling pathway)、核因子(NF)-κB 信号通路(NF-kappa B signaling pathway)等。

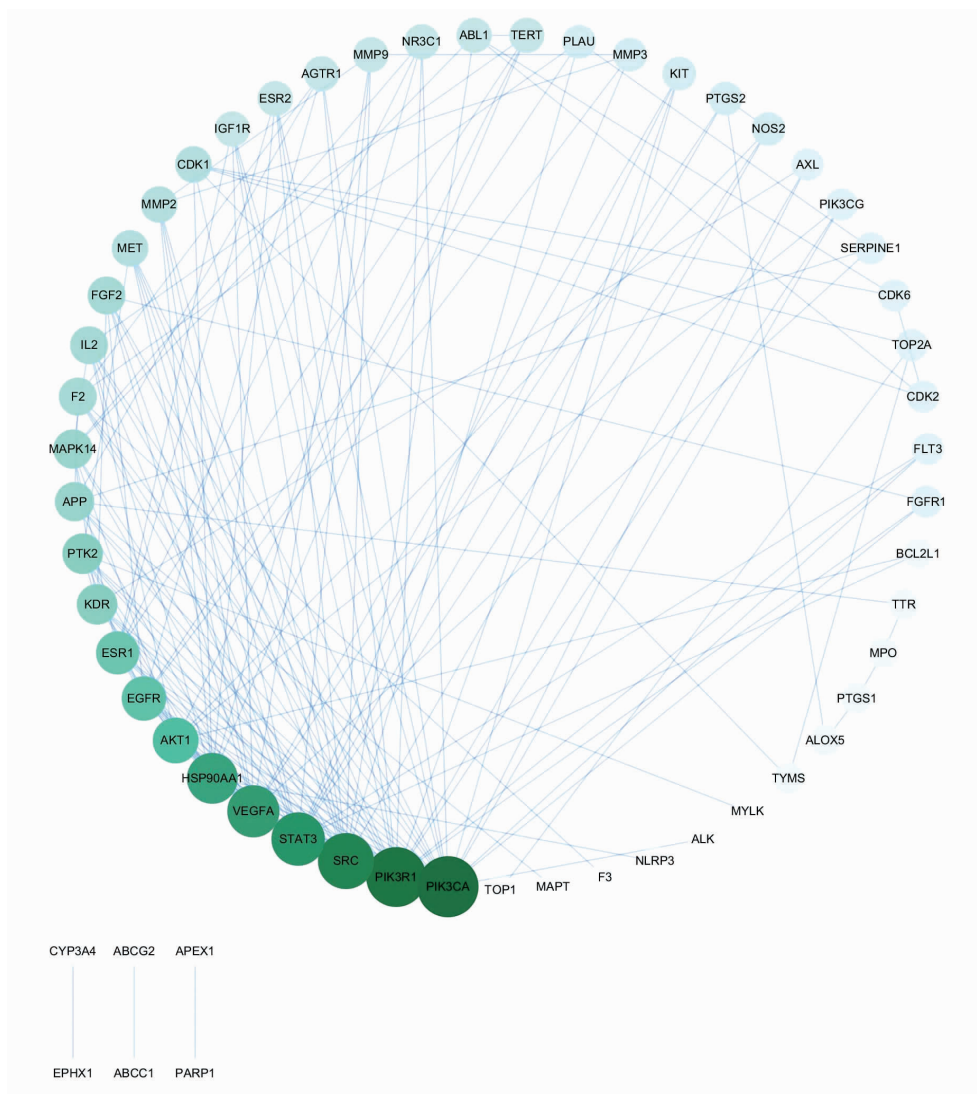


图2 三七成分-急性肺损伤靶点 PPI 网络

Fig 2 PPI network of *Panax notoginseng* component–acute lung injury targets

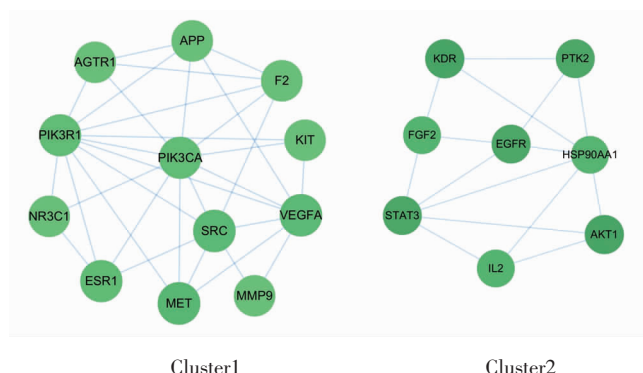


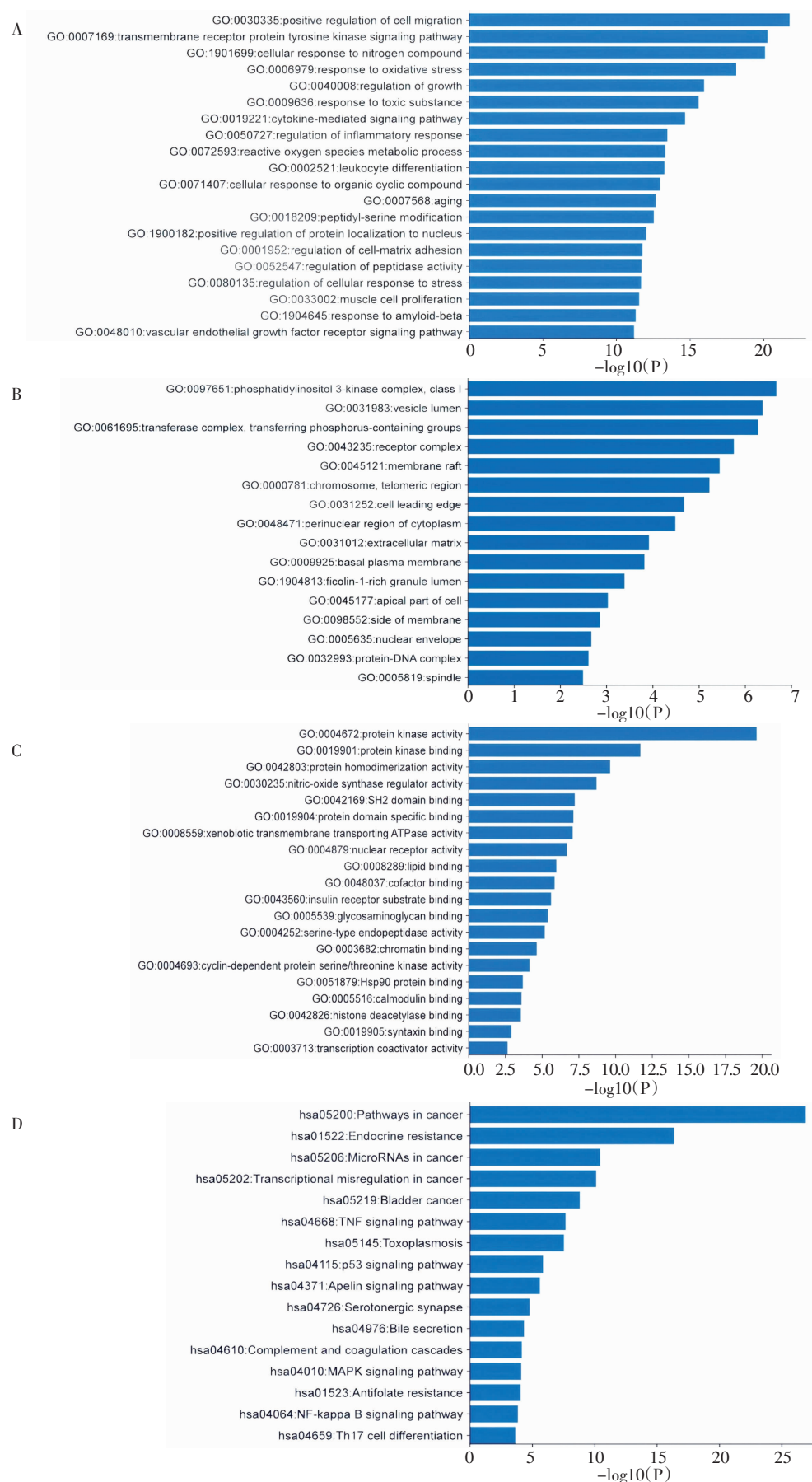
图3 PPI网络中的子网络

Fig 3 Sub-network in PPI network

另外, 还选出了 P 值最小的前 20 条 KEGG 通路(表 3), 并绘制了气泡图(图 5), 可以看到富集基因较多的通路有磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K-Akt) 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、Ras 信号通路(ras signaling pathway)、Rap1 信号通路(rap1 signalin

g pathway) 以及血管内皮生长因子信号通路(VEGF signaling pathway)等。

2.5 三七成分-急性肺损伤靶点-通路网络 根据上述 20 条通路绘制出了三七成分-急性肺损伤-通路网络(图 6),图中节点颜色的深浅,形状的大小都代表其 Degree 值的大小。再运用 Cytoscape3.7.2 的工具 Network Analyzer 分析网络拓扑参数,其中以槲皮素的 Degree 值最大为 38,Betweenness Centrality 为 0.37,Closeness Centrality 为 0.52,因此预测槲皮素为三七抗急性肺损伤的主要活性成分,其次为食脂素、十八碳二烯、人参皂苷 Rh2 和人参皂苷 Rg1。其中基因 Degree 值排名最高的前 5 个基因分别为 PIK3CA、AKT1、PIK3R1、VEGFA、EGFR,因此预测 PIK3CA 是三七抗急性肺损伤的主要靶点,其余如 IGF1R、FGF2、MET、STAT3、KDR 等亦是相对比较重要的靶点。



注:A:生物过程;B:细胞成分;C:分子功能;D:KEGG

图 4 三七成分-急性肺损伤靶点富集分析

Fig 4 Enrichment analysis of *Panax notoginseng* component-acute lung injury targets

表 3 三七成分-急性肺损伤靶点通路富集结果

Tab 3 Pathway enrichment results of *Panax Notoginseng* components-acute lung injury targets

GO	Description	Count	Log10(P)	Hits
hsa05200	Pathways in cancer	25	-26.94	ABL1 AGTR1 AKT1 BCL2L1 CDK2 CDK6 DAPK1 EGFR FGF2 FGFR1 FLT3 HSP90AA1 IGF1 IKIT MET MMP2 MMP9 NOS2 PIK3CA PIK3R1 PPARG PTGS2 PTK2 STAT3 VEGFA
hsa05205	Proteoglycans in cancer	18	-21.81	AKT1 MAPK14 EGFR ESR1 FGF2 FGFR1 IGF1 IKDR MET MMP2 MMP9 PIK3CA PIK3R1 PLAU PTK2 SRC STAT3 VEGFA
hsa01521	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	13	-19.38	AKT1 AXL BCL2L1 EGFR FGF2 IGF1 IKDR MET PIK3CA PIK3R1 SRC STAT3 VEGFA
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	18	-17.72	AKT1 BCL2L1 CDK2 CDK6 EGFR FGF2 FGFR1 HSP90AA1 IGF1 IKL2 IKDR KIT MET PIK3CA PIK3CG PIK3R1 PTK2 VEGFA
hsa01522	Endocrine resistance	12	-16.38	AKT1 MAPK14 EGFR ESR1 ESR2 IGF1R MMP2 MMP9 PIK3CA PIK3R1 PTK2 SRC
hsa04014	Ras signaling pathway	14	-14.71	ABL1 AKT1 BCL2L1 EGFR FGF2 FGFR1 IGF1R IKDR KIT MET PIK3CA PIK3R1 PLA2G2A VEGFA
hsa04015	Rap1 signaling pathway	13	-13.69	AKT1 MAPK14 EGFR FGF2 FGFR1 IGF1R IKDR KIT MET PIK3CA PIK3R1 SRC VEGFA
hsa04370	VEGF signaling pathway	9	-13.18	AKT1 MAPK14 IKDR PIK3CA PIK3R1 PTGS2 PTK2 SRC VEGFA
hsa04915	Estrogen signaling pathway	10	-12.78	AKT1 EGFR ESR1 ESR2 HSP90AA1 MMP2 MMP9 PIK3CA PIK3R1 SRC
hsa05230	Central carbon metabolism in cancer	9	-12.78	AKT1 EGFR FGFR1 FLT3 G6PD KIT MET PIK3CA PIK3R1
hsa04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	10	-12.74	AGTR1 AKT1 MAPK14 F3 MMP2 SERPINE1 PIK3CA PIK3R1 STAT3 VEGFA
hsa05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	11	-12.69	AKT1 MAPK14 HSP90AA1 IKDR MMP2 MMP9 PIK3CA PIK3R1 PTK2 SRC VEGFA
hsa05224	Breast cancer	11	-12.62	AKT1 CDK6 EGFR ESR1 ESR2 FGF2 FGFR1 IGF1R KIT PIK3CA PIK3R1
hsa05218	Melanoma	9	-12.53	AKT1 CDK6 EGFR FGF2 FGFR1 IGF1R MET PIK3CA PIK3R1
hsa05222	Small cell lung cancer	9	-11.73	AKT1 BCL2L1 CDK2 CDK6 NOS2 PIK3CA PIK3R1 PTGS2 PTK2
hsa04510	Focal adhesion	11	-11.08	AKT1 EGFR IGF1R IKDR MET MYLK PIK3CA PIK3R1 PTK2 SRC VEGFA
hsa05212	Pancreatic cancer	8	-11.03	AKT1 BCL2L1 CDK6 EGFR PIK3CA PIK3R1 STAT3 VEGFA
hsa04066	HIF-1 signaling pathway	9	-10.00	AKT1 EGFR IGF1R NOS2 SERPINE1 PIK3CA PIK3R1 STAT3 VEGFA
hsa04917	Prolactin signaling pathway	8	-10.70	AKT1 MAPK14 ESR1 ESR2 PIK3CA PIK3R1 SRC STAT3
hsa05206	MicroRNAs in cancer	12	-10.43	ABL1 CDK6 EGFR MET MMP9 ABCC1 ABCB1 PIK3CA PLAU PTGS2 STAT3 VEGFA

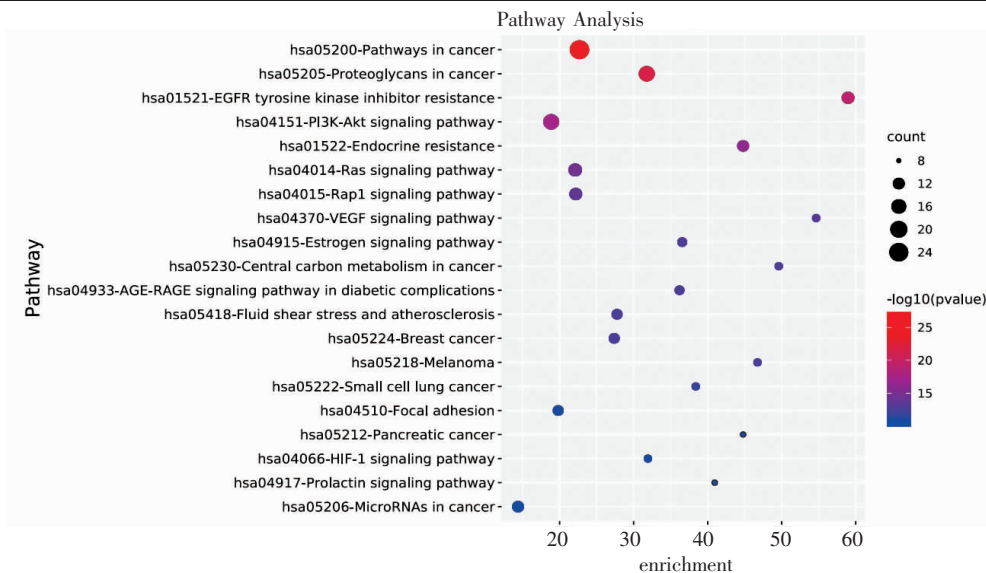
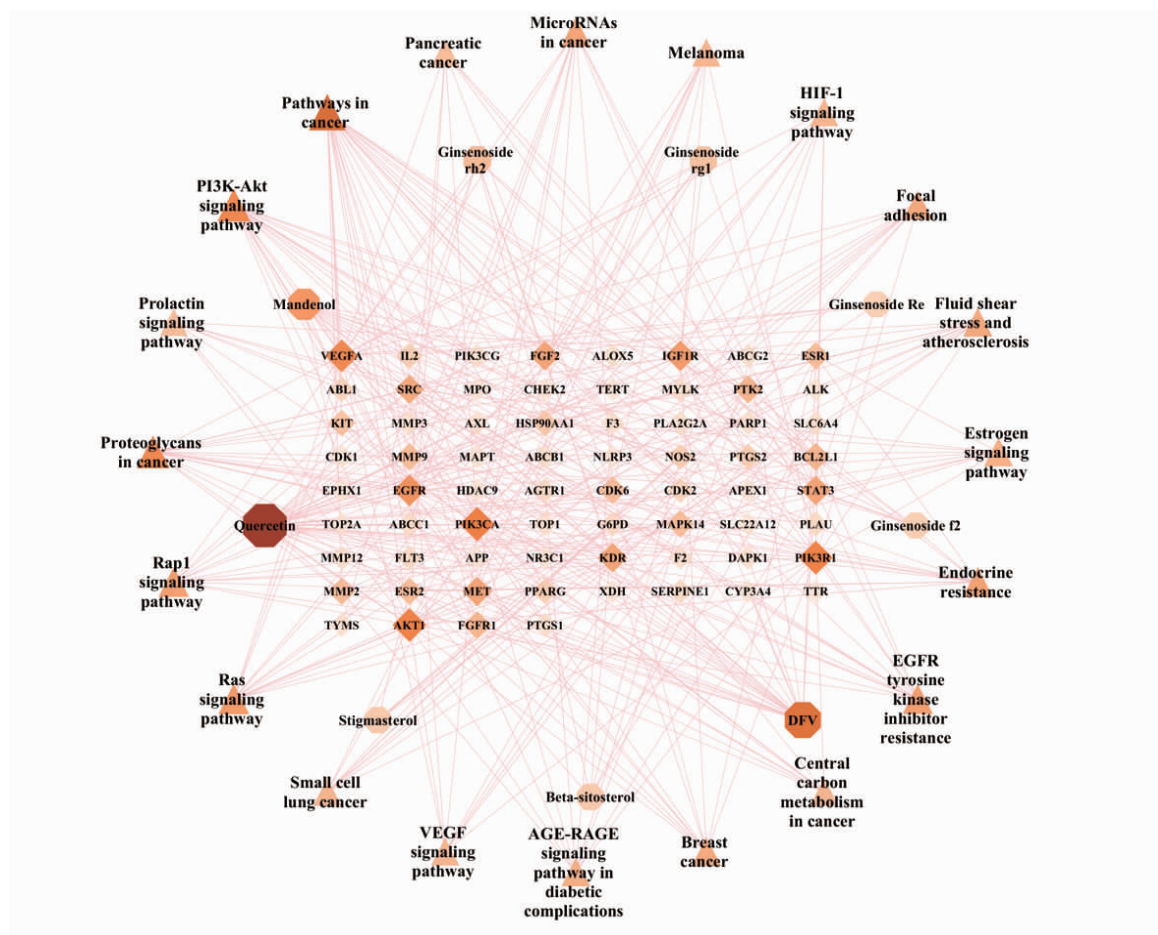


图 5 KEGG 气泡图

Fig 5 KEGG bubble diagram



注:三角形:通路;八边形:成分;菱形:基因靶点

图 6 三七成分-急性肺损伤-通路网络

Fig 6 *Panax Notoginseng* components—acute lung injury—pathway network

3 讨论

在中医学中未出现过“急性肺损伤”的病名,但在中医古籍中对其临床症状却有论述,在《素问·咳论篇》中:“肺咳之状,咳而喘息有音,甚则唾血”就是对其临床症状的描述。根据其临床症状,咳嗽、呼吸困难、喘息鼻张等,可归为“喘脱”“结胸”“暴喘”等范畴^[16]。中医药的治疗策略有祛邪扶正、清热解毒、活血化瘀、通里攻下、宣肺利水。多种中药具有抗炎、抗氧化作用,因此中药制剂和提取物对急性肺损伤的治疗亦是一大突破点^[3],如姜黄素、丁香提取物丁香酚等都具有一定的抗炎抗氧化作用,都有对急性肺损伤实验对象的肺功能的改善作用。

近年来,三七活性成分如槲皮素、三七总皂苷等对急性肺损伤的治疗研究有很多,表明三七对急性肺损伤有一定的改善作用。本研究通过网络药理学的方法初步筛选出了三七抗急性肺损伤的活性成分有槲皮素、食脂素、十八碳二烯、人参皂苷 Rh2 和人参皂苷 Rg1 等。研究表明,经槲皮素预处理后,可以通过抑制 Janus 激酶 2/信号转导与转录激活因子 3(JAK2/STAT3)信号通路的激活而改善气体交

换功能,抑制炎性介质的释放,从而减轻内毒素诱导的急性肺损伤症状^[17]。还有研究显示,槲皮素处理可以明显减轻海水吸入诱导的急性肺损伤小鼠的肺间质及肺泡腔出血、水肿,以及肺脏组织结构改变,减轻海水吸入诱发的 M1 型巨噬细胞极化,下调 M1 型巨噬细胞介导的促炎性免疫并上调抑炎性因子的表达,提示槲皮素可通过抑制肺 M1 型巨噬细胞极化及其介导的促炎免疫,减轻海水吸入诱导的急性肺损伤^[18]。HSICH 等^[19]研究发现,人参皂苷 Rh2 可以通过调节小鼠的 Toll 样受体 4 (TLR4)/PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、Raf-1/丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)/细胞外信号调节激酶(ERK)和 Keap1/Nrf2/HO-1 信号通路,减轻脂多糖诱导的急性肺损伤。人参皂苷 Rg1 单用和联用抗生素亚胺培南均能够抑制脓毒症小鼠的急性肺损伤^[20],而且之前的一项研究表明,人参皂苷 Rg1 还可以通过改善炎症反应,调节 M2 型巨噬细胞的浸润和抑制肺细胞凋亡而对脂多糖诱导的急性肺损伤起到保护作用^[21]。

本研究发现,三七抗急性肺损伤作用涉及的靶点主

要集中在 PIK3CA、AKT1、PIK3R1、VEGFA、EGFR 等,涉及的主要通路有 PI3K-Akt 信号通路、VEGF 信号通路等。PI3K-Akt 信号通路是由酶联受体介导的能够调节细胞生命活动的信号通路,该通路参与多种生长因子、细胞因子、细胞外基质等的信号转导,同时还参与促进细胞增殖、抑制凋亡、调控组织炎症、肿瘤生长侵袭等过程^[2]。SUI 等^[23]研究表明,CFTR 蛋白可以通过增强 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,从而起到对脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠的保护作用,并抑制细胞自噬。Visfatin 可参与人体的炎症和免疫反应,WU 等^[24]发现采用 visfatin 干预后,PI3K 和 p-Akt 的表达上调,Akt 的表达下调,PI3K/Akt 信号通路被激活,因此认为 visfatin 可以通过调节自噬因子的表达来激活 PI3K/Akt 信号通路,从而降低急性肺损伤中的自噬水平。此外,还有研究表明对急性肺损伤的治疗,mTOR/HIF-1 α /VEGF 信号通路同样起着重要作用^[25]。

综上,本研究结果表明,三七抗急性肺损伤作用可能是通过槲皮素、人参皂苷 Rh2 和人参皂苷 Rg1 等活性成分发挥主要作用的,涉及的主要作用靶点有 PIK3CA、AKT1、PIK3R1、VEGFA、EGFR 等。推测三七可能是通过 PI3K-Akt 信号通路、VEGF 信号通路等发挥对急性肺损伤的治疗作用。根据分析结果,本研究从三七的物质基础出发,着眼于整体角度分析三七抗急性肺损伤的分子机制,为后续研究提供一定的理论基础。但是,本研究主要是以生物信息学与海量数据计算的结果为基础,要明确三七的主要调控靶点还需要后续在此基础上进一步筛选并进行动物或细胞实验进行验证。

参考文献:

- [1] 孙健,沈巨信.炎症及细胞自噬与急性肺损伤关系的研究进展[J].中国免疫学杂志,2019,35(17):2163
- [2] 伍冬冬,潘频华,覃庆武.急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征发病机制研究进展[J].中华结核和呼吸杂志,2015,38(7):524
- [3] 陈艳.急性肺损伤治疗措施的研究进展[J].临床与病理杂志,2020,40(1):157
- [4] 苏景深,刘恩顺,赵鑫民.急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中医药治疗研究进展[J].吉林中医药,2019,39(5):696
- [5] 武琦,林娟,刘耀晨,等.基于网络药理学的三七传统功效作用机制研究[J].中草药,2020,51(14):3717
- [6] 邢娜,彭东辉,张志宏,等.炮制对三七化学成分及药理作用影响的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(16):210
- [7] 高风英,王星海,伏春明,等.三七总皂苷对急性肺损伤相关炎症因子及抗氧化因子的调控及保护作用[J].临床肺科杂志,2013,18(8):1368
- [8] HOPKINS A L. Network pharmacology[J]. Nat Biotechnol,2007,25(10):1110
- [9] 解静,高杉,李琳,等.网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J].中草药,2019,50(10):2257
- [10] RU J,LI P,WANG J,et al. TCMSPP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform,2014,6(1):13
- [11] 王钢,陈琼芳,李钊飞,等.三七总皂苷及其主要成分对脑细胞保护作用机制研究进展[J].中华中医药学刊,2017,35(7):1743
- [12] DAINA A,MICHIELIN O,ZOETE V. Swiss Target Prediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Res,2019,47(W1):W357
- [13] SZKLARCZYK D,GABLE A L,LYON D,et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage,supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. Nucleic Acids Res,2019,47(D1):D607
- [14] TRIPATHI S,POHL M,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(6):723
- [15] 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
- [16] 卢悦,张平平,王东强,等.急性肺损伤中医因病机的探讨[J].中国中医急症,2020,29(2):280
- [17] 汤海波,杨萍.槲皮素对内毒素诱导急性肺损伤大鼠的作用机制[J].实用医学杂志,2016,32(4):531
- [18] 王保健,毛旭.槲皮素通过抑制肺巨噬细胞的 M1 极化减轻海水吸入诱导的小鼠急性肺损伤 [J]. 细胞与分子免疫学杂志,2017,33(6):751
- [19] HSIEH Y H,DENG J S,CHANG Y S,et al. Ginsenoside Rh2 ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by regulating the TLR4/PI3K/Akt/mTOR,Raf-1/MEK/ERK,and Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathways in mice[J]. Nutrients,2018,10(9):1208
- [20] 张振波,徐秋萍.人参皂苷 Rg1 联合抗生素治疗小鼠脓毒症急性肺损伤[J].四川大学学报:医学版,2020,51(3):371
- [21] BAO S,ZOU Y,WANG B,et al. Ginsenoside Rg1 improves lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting inflammatory responses and modulating infiltration of M2 macrophages[J]. Int Immunopharmacol,2015,28(1):429
- [22] 史东梅,董明,陆颖,等. PI3K/Akt 信号通路与骨破坏:问题与机制[J].中国组织工程研究,2020,24(23):3716
- [23] SUI H,LUO M,MIAO Y,et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting autophagy through PI3K/AKT/mTOR pathway in mice[J]. Respir Physiol Neurobiol,2020,273:103338
- [24] WU X T,ANSARI A R,PANG X X,et al. Visfatin plays a significant role in alleviating lipopolysaccharide-induced apoptosis and autophagy through PI3K/AKT signaling pathway during acute lung injury in mice[J]. Arch Immunol Ther Exp(Warsz),2019,67(4):249
- [25] LI X,SHAN C,WU Z,et al. Emodin alleviated pulmonary inflammation in rats with LPS-induced acute lung injury through inhibiting the mTOR/HIF-1 α /VEGF signaling pathway [J]. Inflamm Res,2020,69(4):365