黄海林, 陆丽仪, 刘士佳, 等. 基于网络药理学探究人参沙棘复合物调节免疫作用机制 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(18): 515−524. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080296
HUANG Hailin, LU Liyi, LIU Shijia, et al. Exploring the Immune-regulating Mechanisms of Ginseng Sea Buckthorn Complex Based on Network Pharmacology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(18): 515−524. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080296

· 食品营养与健康功效 ·

基于网络药理学探究人参沙棘复合物调节免疫作用机制

黄海林[1], 陆丽仪[2], 刘士佳[2], 陈君龙[2], 彭法铭[1], 丰时运[2], 高业成[2,*], 谢　果[1,2,3,*]
（1.广州中医药大学中药学院, 广东广州 510000;
2.完美（广东）日用品有限公司, 广东中山 528451;
3.电子科技大学中山学院, 广东中山 528402）

摘　要: 本研究拟选择人参沙棘复合物（ginseng sea buckthorn complex，GSC）作为研究对象，借助网络药理学、分子对接及细胞和动物实验探究其调节免疫的作用机制。利用网络药理学预测 GSC 调节免疫潜在作用通路及关键靶点；通过分子对接评估 GSC 成分与关键靶点的结合性能；设计细胞、动物实验验证 GSC 调节免疫作用。结果表明，网络药理学预测 GSC 可能通过作用于脂质及动脉粥样硬化、MAPK 等信号通路、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）等关键靶点进一步调节免疫功能。分子对接结果显示 GSC 中成分与关键靶点 TNF 结合特性较好，结合能均低于−6.00 kcal/mol。细胞实验表明，GSC 提高了巨噬细胞 RAW264.7 的 TNF-α 分泌量，低、中、高剂量分别将 TNF-α 分泌量由 1201.96 pg/mL 提高至 1908.63 pg/mL（P<0.001）、1859.04 pg/mL（P<0.001）、1737.38 pg/mL（P<0.001），在动物实验中，GSC 显示出较好增强免疫作用，脾脏指数提高至 0.3273%（P<0.05），光密度差值增加至 0.06（P<0.001）、足趾厚度差值增加至 0.58 mm（P<0.001）、半数溶血值增加至 106.10（P<0.01）。综上，GSC 可能通过调节脂质与动脉粥样硬化、MAPK 等信号通路影响免疫细胞活性，同时调节 TNF-α 浓度发挥调节免疫作用。

关键词: 人参沙棘复合物, 免疫调节, 肿瘤坏死因子, 网络药理学, 分子对接
中图分类号: R285　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)18−0515−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080296
本文网刊:

Exploring the Immune-regulating Mechanisms of Ginseng Sea Buckthorn Complex Based on Network Pharmacology

HUANG Hailin[1], LU Liyi[2], LIU Shijia[2], CHEN Junlong[2], PENG Faming[1], FENG Shiyun[2], GAO Yecheng[2,*], XIE Guo[1,2,3,*]
（1.College of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China;
2.Perfect (Guangdong) Commodity Co., Ltd., Zhongshan 528451, China;
3.Zhongshan Institute, University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan 528402, China）

Abstract: This study aimed to investigate the immune-regulating mechanism of the ginseng sea buckthorn complex (GSC) using network pharmacology, molecular docking, cellular experiments, and animal experiments. Network pharmacology was applied to predict potential immune-regulating pathways and key targets of GSC. Molecular docking was performed to assess the binding properties between GSC components and these key targets. Cellular and animal experiments were designed to verify the immune-regulating effect of GSC. Results showed that network pharmacology predicted GSC might

收稿日期: 2025−08−27
基金项目: 中山市中医药传承创新发展科研专项（2024B3065）; 电子科技大学中山学院科研团队培育项目（424YT02）。
作者简介: 黄海林（2000−）, 男, 硕士, 研究方向: 天然产物活性与功能开发, E-mail: 20231120283@stu.gzucm.edu.com。
*** 通信作者:** 高业成（1985−）, 男, 博士, 中级食品工程师, 研究方向: 药理药效和安全性评价, E-mail: gaoyc@perfect99.com。
谢果（1979−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物新产品新技术研发, E-mail: xieguo@zsc.edu.cn。

regulate immune function by acting on signaling pathways such as lipid and atherosclerosis and MAPK signaling pathway, as well as key targets including tumor necrosis factor (TNF). Molecular docking results indicated that GSC components exhibited good binding properties with the key target TNF, with all binding energies below −6.00 kcal/mol. Cellular experiments demonstrated that GSC increased TNF-α secretion in RAW264.7 macrophages: Low, medium, and high doses elevated TNF-α secretion from 1201.96 pg/mL to 1908.63 pg/mL (P<0.001), 1859.04 pg/mL (P<0.001), and 1737.38 pg/mL (P<0.001), respectively. In animal experiments, GSC showed a significant immune-enhancing effect: The spleen index was increased to 0.3273% (P<0.05), the optical density difference was raised to 0.06 (P<0.001), the toe thickness difference was increased to 0.58 mm (P<0.001), and the half-hemolysis value was enhanced to 106.10 (P<0.01). In conclusion, GSC may exert immune-regulating effects by modulating signaling pathways such as lipid and atherosclerosis, MAPK signaling pathway to affect immune cell activity, while regulating TNF-α concentration.

Key words: ginseng sea buckthorn complex (GSC); immune regulation; tumor necrosis factor (TNF); network pharmacology; molecular docking

免疫功能是机体识别并清除外来病原体与异常细胞, 进而维持内环境稳定的关键生理功能。在日常生理过程中, 罹患疾病、环境毒素暴露及年龄增长等因素可通过多种途径诱发免疫抑制[1−3], 具体机制包括免疫效应细胞异常凋亡、免疫抑制细胞过度增殖、抗炎细胞因子过量释放、免疫检查点异常表达及线粒体功能障碍等[4−5]。免疫抑制状态会进一步加剧恶性肿瘤患病风险, 并引发免疫系统紊乱等不良后果, 因此, 精准调控免疫功能对维持机体稳态、抵御疾病侵袭具有不可替代的重要意义。

中医理论强调, 疾病的发生、发展、转归与正气盛衰密切相关: 当正气充沛且运行如常时, 既能有效抵御外邪侵袭, 又可促进自身功能修复, 这一认知与现代医学中免疫调节的核心机制高度契合。作为药食同源的代表性中药, 人参具有显著的补气功效。现有研究证实, 部分稀有皂苷如人参皂苷 Rh_2(ginsenoside Rh_2, Rh_2)、人参皂苷 Rg_3(ginsenoside Rg_3, Rg_3)具备优异的免疫调节活性[6], 但此类成分在天然人参中的含量极低。为解决这一问题, 物理、化学及生物转化等技术手段被广泛应用于提高稀有皂苷的富集效率。本研究团队前期通过沙棘果酸转化人参提取物, 成功制备得到人参沙棘复合物, 该工艺已被证实可显著提升产物中稀有皂苷的含量, 且相关皂苷的种类及相对含量已通过前期研究明确[7]。然而, 该复合物发挥免疫调节作用的具体分子机制仍有待深入阐明。

近年来, 网络药理学在中药复杂成分的药效研究中应用日益广泛。该技术通过构建药物成分与疾病靶点的关联网络, 不仅能清晰揭示成分间的协同作用机制, 还可基于交集靶点信息进一步挖掘药物成分可能涉及的潜在信号通路及关键作用靶点, 在阐明中药复方的整体疗效及作用机制方面展现出独特优势。李石飞等[8] 通过网络药理学研究发现, 参芪扶正注射液调节免疫功能可能与脂质及动脉粥样硬化等信号通路相关, 并推测 TNF 等靶点为其核心作用靶点。岳珠珠等[9] 的研究则表明, 黄精可能通过 AMPK 等信号通路参与免疫调节过程, 该研究进一步利用脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型证实, 黄精可通过显著调节一氧化氮的释放, 进而发挥免疫调节作用。基于上述研究基础, 本研究拟结合前期已报道的人参沙棘复合物成分, 采用网络药理学与分子对接技术探究其潜在的免疫调节作用机制, 并通过设计相关细胞实验及动物实验, 进一步验证该复合物的免疫调节活性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

RAW.264.7 细胞　武汉普诺赛生命科技有限公司, 编号: CL-0190; SPF 级 C57BL/6 小鼠　8 周龄, 24 只, 雌性, 体重(20±2)g, 广东省医学实验动物中心(生产许可证号: SCXK(粤)2022-0002)。饲养于完美(广东)日用品有限公司, 温度 22±2 ℃, 湿度 50%±10%, 24 h 内进行昼夜更替; 人参水提物干粉(GE)　广东青云山药业有限公司制备, 经人参水提、浓缩、喷雾干燥工艺制得; 人参沙棘复合物干粉(GSC)　完美(广东)日用品有限公司生命健康科技研究院制备, 由上述人参水提物干粉加入沙棘果汁, 经加热转化人参皂苷后喷雾干燥制得; 百令胶囊(BL)　杭州中美华东制药有限公司; 增健口服液(Y)　已上市某品牌口服液, 具有调节免疫保健功能; DMEM 培养基、胎牛血清　美国 Gibco 公司; PBS 缓冲溶液　美国 HyClone 公司; 噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)、绵羊红细胞(sheep red blood cell, SRBC)、SA 缓冲溶液　上海源叶生物科技有限公司; 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)　分析纯, 天津大茂化学试剂厂; TNF-α 试剂盒　欣博盛生物科技有限公司; RPMI1640 完全培养液　上海盈湾生物科技有限公司; 刀豆蛋白 A(concanavalin A, ConA)　北京索莱宝科技有限公司; Hank's 平衡液　上海碧云天生物技术有限公司; 都氏试剂　析标生物科技(福建省)有限公司。

CCL-170B-8 型 CO_2 细胞培养箱、AC2-4S1 型生物安全柜　新加坡 ESCO 公司; MS1003S 型电子天平　瑞士 Mettler Toled 公司、AxioVert A1 型倒置显微镜　德国 Zeiss 公司; Countess Ⅱ型全自动细

胞计数仪　美国 Thermo 公司；SYNERGY H1 型荧光酶标仪　美国 BioTek 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　基于网络药理学和分子对接的 GSC 免疫调节机制预测

1.2.1.1　GSC 药效成分收集　收集既往发表文献 [7] 中 GSC 相关的所有人参皂苷类型，为 GSC 后续的网络药理学研究及分子对接研究奠定基础。

1.2.1.2　网络药理学与分子对接数据库与软件　在运用网络药理学及分子对接技术预测 GSC 调节免疫机制的过程中，所使用的数据库及软件详见表 1。

表 1　网络药理学及分子对接研究所用数据库与软件

Table 1　Databases and software used in network pharmacology and molecular docking research

数据库与软件	网址或版本号
TCMSP	https://www.tcmsp-e.com/
Uniprot	https://www.uniprot.org/
Pubchem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
Swiss Target Prediction	http://www.swisstargetprediction.ch/
PharmMapper	https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/
Genecard	https://www.genecards.org/
OMIM	https://www.omim.org/
Venny 2.1.0	https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/
STRING	https://cn.string-db.org/
PDB	https://www.rcsb.org/
cytoscape	3.10.3
R	4.5.1
Pymol	3.1.6.1
Autodock vina	1.5.7

1.2.1.3　GSC 潜在活性靶点收集　在 TCMSP 数据库中检索已收集的 GSC 人参皂苷，借助 Mol ID 获取其对应的蛋白质靶点信息，随后在 Uniprot 数据库中转换基因名。之后在 Pubchem 数据库中获取上述所收集人参皂苷的 SMILES 号，将其导入 Swiss Target Prediction 数据库以预测潜在活性靶点，筛选条件设定为 Probability>0；与此同时，依据 Pubchem 数据库中人参皂苷的 2D 结构数据，在 PharmMapper 数据库中预测其作用靶点，筛选条件为 Norm Fit>0.3。汇总上述各数据库的预测结果并剔除重复值，最终得到 GSC 的潜在活性靶点。

1.2.1.4　免疫调节相关靶点收集　以“immunity”为关键词，在 Genecard 与 OMIM 数据库中进行检索以获取相关靶点。从 Genecard 数据库中筛选出相关性分数≥10 的靶点，随后将 OMIM 与 Genecard 数据库的靶点结果进行合并，去除重复项，最终确定免疫调节相关靶点。

1.2.1.5　GSC-Immunity 交集靶点筛选　将 GSC 的潜在活性靶点与免疫调节相关靶点导入 Venny 网站，得到二者的交集靶点。

1.2.1.6　GSC-成分-靶点网络图的构建及关键活性成分筛选　整理 GSC 的成分、作用靶点及免疫调节靶点相关信息后，将这些数据导入 Cytoscape 软件进行可视化操作，以此构建 GSC-成分-靶点网络图。利用 Cytoscape 软件中的 Cytohubba 插件开展网络分析工作，从中筛选出评分位列前五的关键活性成分。

1.2.1.7　交集靶点 PPI 网络图的构建及关键靶点筛选　将 GSC 调节免疫潜在活性靶点与免疫调节靶点的共有靶点输入 STRING 网站，限定物种为人类，设置相互作用阈值为 0.4，获取蛋白质相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络数据。借助 Cytoscape 软件的 Cytohubba 插件选取富集得分最高的前 5 个靶点作为核心靶点。

1.2.1.8　交集靶点 GO、KEGG 富集分析　利用 R 中的“clusterProfiler、DOSE、topGO、pathview、org.Hs.eg.db、ggplot2、dplyr”工具包，对 GSC-Immunity 交集靶点开展基因本体（gene ontology，GO）及京都基因与基因组百科全书（kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）富集分析。将筛选标准设定为 $P<0.05$，通过 R 完成结果的输出及可视化呈现。

1.2.2　GE、GSC 对 RAW264.7 细胞活性影响　选取处于对数生长期的小鼠巨噬细胞 RAW264.7，用 PBS 缓冲液润洗 2 次后，加入 3 mL DMEM 完全培养液，将细胞收集至离心管中。调整细胞浓度到 8×10^4 个/mL，接种于 96 孔板，设置 4 个复孔，每孔加入 100 μL 细胞液，于 37 ℃、5% CO_2 孵育过夜。设置空白组（Con）、百令胶囊阳性药组（BL）、人参提取物组（GE）、人参沙棘复合物组（GSC）。Con 组加入 100 μL 细胞培养液，BL、GE、GSC 组加入 100 μL 相应浓度受试物（浓度均为 15.625、31.25、62.5、125、250、500、1000 μg/mL）的培养液，调零孔不接种细胞，仅加入 100 μL PBS 缓冲液，继续培养 24 h。结束后，每孔加入 10 μL MTT（5 mg/mL）溶液，37 ℃ 避光孵育 3 h，弃去上清液，每孔加入 150 μL DMSO，振荡 5 min 使结晶物充分溶解，随后在酶标仪 570 nm 波长处测定各孔 OD 值，计算细胞存活率：

$$C=\frac{OD_1-OD_2}{OD_3-OD_2}\times100$$

式中：C 表示细胞存活率，%；OD_1 表示样品孔 OD 值；OD_2 表示调零孔 OD 值；OD_3 表示空白孔 OD 值。

1.2.3　GE、GSC 对 RAW264.7 细胞 TNF-α 分泌的影响　将细胞以 5×10^5 个/mL 的密度接种于 24 孔板，设置 3 个复孔，每孔加入 800 μL 细胞悬浮液，于 37 ℃、5% CO_2 孵育过夜。设置空白组（Con）、百令胶囊阳性药低（10 ng/mL）、中（100 ng/mL）、高（1 μg/mL）剂量组（BL）、人参提取物低（100 ng/mL）、中（1 μg/mL）、高（10 μg/mL）剂量组（GE）、人参沙棘复合物低（1 μg/mL）、中（10 μg/mL）、高（100 μg/mL）

剂量组(GSC)。每孔给药体积为 800 μL, 每组设置 3 个复孔, 继续培养 24 h, 收集细胞培养上清液至 EP 管中, 依据 TNF-α 试剂盒说明书测定 TNF-α 含量。

1.2.4 GE、GSC 对小鼠免疫功能影响

1.2.4.1 实验分组及给药 适应性喂养一周后, 将 24 只 C57BL/6 小鼠分为空白对照组(Con)、人参沙棘复合物组(GSC)、阳性组(Y), 每组 8 只, GSC 组按 0.9 g/kg 给药灌胃人参沙棘复合物; Y 组按 5 mL/kg 给药灌胃某品牌增健口服液; Con 组给予同体积生理盐水, 每天定时定量给药 1 次, 每次灌胃 0.1 mL/10 g, 连续给药 30 d。本研究经完美(广东)日用品有限公司动物伦理委员会批准(伦理编号: WM-GD-DW030)。

1.2.4.2 器官指数测定 第 30 d 将小鼠处死后测定体重、脾脏和胸腺重量后, 计算器官指数:

$$H = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

式中: H 表示器官指数, %; m_1 表示器官重量, g; m_2 表示体重, g。

1.2.4.3 迟发型变态反应实验(足趾增厚法) 利用 SRBC 刺激诱导 T 淋巴细胞增殖成致敏淋巴细胞, 具体方法为第 26 d 通过腹腔注射 0.2 mL 2% SRBC 对动物进行免疫。免疫 4 d 后测量小鼠左后足跖部厚度, 再于该部位皮下注射 20 μL 20% SRBC, 注射 24 h 后再次测量厚度, 记录增厚厚度。

1.2.4.4 脾淋巴细胞转化实验 利用 ConA 刺激诱导 T 细胞发生增殖反应, 具体方法为收集第 30 d 无菌脾组织, 在 Hank's 平衡液进行研磨制成单细胞悬浮液, 经过滤后用 Hank's 平衡液进行洗涤, 离心, 重新悬浮细胞并调整细胞浓度到 3×10^6 个/mL。将细胞分两孔加入 24 孔板中, 每孔 1 mL, 其中一孔再加入 75 μL ConA(100 μg/mL)进行诱导, 另一孔作为对照。培养 68 h 后, 吸取 700 μL 上清液, 加入 700 μL 不含胎牛血清 RPMI1640 培养液和 50 μL MTT(5 mg/mL), 培养 4 h 后加入 1 mL DMSO 溶解, 转移至 96 孔板中测定 570 nm 处吸光度。

1.2.4.5 血清溶血素实验 取第 30 d 将收集到的血液分离得到血清, 血清用 SA 缓冲溶液稀释 200 倍后取 1 mL 加入至试管中, 加入 10% SRBC 0.5 mL、补体 1 mL(SA 缓冲溶液 1:8 稀释), 另外设置 SA 缓冲溶液作为对照, 置于 37 ℃ 恒温水浴中 20 min, 冰浴终止反应后 2000 r/min 离心 10 min, 取上清液加入 3 mL 都氏试剂, 同时半数溶血孔加入一半体积 0.25 mL SRBC、4 mL 都氏试剂, 混匀反应 10 min, 测定 540 nm 下吸光度, 计算半数溶血值:

$$HC_{50} = \frac{OD_4}{OD_5} \times k$$

式中: HC_{50} 表示半数溶血值; OD_4 表示样品光密度值; OD_5 表示半数溶血时光密度值; k 表示样品稀释倍数。

1.3 数据处理

采用 GraphPad Prism 9.4.0 软件进行统计处理, 结果表述为 $\bar{x}\pm s$, 多组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 视为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 GSC 人参皂苷种类的收集结果

根据前期已发表的文献 [7], GSC 包含 17 种人参皂苷(表 2)。本研究以这些人参皂苷作为 GSC 的药效成分基础, 进行网络药理学及分子对接研究。

表 2 GSC 中含有的人参皂苷种类

Table 2 Types of ginsenosides contained in GSC

编号	皂苷名称	分子式	来源
1	人参皂苷Rg_1	$C_{42}H_{72}O_{14}$	人参
2	人参皂苷Rf	$C_{42}H_{72}O_{14}$	人参
3	人参皂苷Ro	$C_{48}H_{76}O_{19}$	人参
4	20(R)-人参皂苷Rg_2	$C_{42}H_{72}O_{13}$	人参
5	20(S)-人参皂苷Rg_2	$C_{42}H_{72}O_{13}$	人参
6	人参皂苷F_3	$C_{41}H_{70}O_{13}$	人参
7	20(S)-人参皂苷Rh_1	$C_{36}H_{62}O_9$	人参
8	人参皂苷Rd	$C_{48}H_{82}O_{18}$	人参
9	人参皂苷F_1	$C_{36}H_{62}O_9$	人参
10	人参皂苷Rg_6	$C_{42}H_{70}O_{12}$	人参
11	20(S)-人参皂苷Rg_3	$C_{42}H_{72}O_{13}$	人参
12	20(R)-人参皂苷Rg_3	$C_{42}H_{72}O_{13}$	人参
13	20(S)-原人参三醇	$C_{30}H_{52}O_4$	人参
14	人参皂苷Rg_5	$C_{42}H_{70}O_{12}$	人参
15	人参皂苷Rk_1	$C_{42}H_{70}O_{12}$	人参
16	人参皂苷C-K	$C_{36}H_{62}O_8$	人参
17	人参皂苷Rh_2	$C_{36}H_{62}O_8$	人参

2.2 GSC 活性靶点的分析结果

以 GSC 中所收集的 17 种人参皂苷成分为基础, 通过 TCMSP 数据库得到 8 个活性靶点; 利用 PharmMapper 预测出 383 个活性靶点, 通过 Swiss TargetPrediction 预测出 101 个潜在靶点。对上述各类靶点进行去重与汇总处理后, 共获得 451 个潜在活性靶点。

2.3 GSC 潜在调节免疫活性靶点的筛选及结果

在 GeneCards、OMIM 数据库中得到了 550 个与免疫调节相关的靶点。运用 Venny 工具对 GSC 的活性靶点和免疫调节靶点展开交集运算, 最终得到 51 个共同靶点, 结果如图 1 所示。

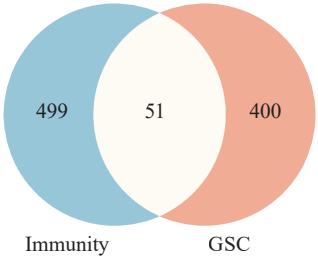


图 1 GSC-Immunity 交集靶点图

Fig.1 GSC-Immunity intersection target map

2.4　GSC 成分-靶点网络图及核心成分分析结果

收集 GSC 和免疫调节的共同靶点，以及这些靶点所对应的人参皂苷成分信息。使用 Cytoscape 软件绘制 GSC 的成分-靶点网络图，如图 2 所示，该图显示出 GSC 中的人参皂苷成分和免疫调节相关靶点有着密切的关联。利用 CytoHubba 插件对核心成分进行筛选，按照评分高低排序后，排名前 5 的核心成分如表 3 所示，分别为人参皂苷 Rf（ginsenoside Rf，Rf）、20（S）-人参皂苷 Rh_1（20（S）-ginsenoside Rh_1，20（S）-Rh_1）、人参皂苷 Rg_1（ginsenoside Rg_1，Rg_1）、人参皂苷 Rd（ginsenoside Rd，Rd）、人参皂苷 Rg_5（ginsenoside Rg_5，Rg_5）、人参皂苷 F_1（ginsenoside F_1，F_1）、Rh_2 及 Rg_3。

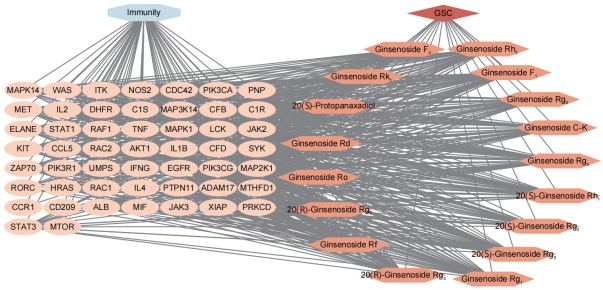


图 2　GSC 成分-靶点网络图

Fig.2　GSC component-target network diagram

表 3　核心成分评分

Table 3　Core component scorecard

排名	名称	评分
1	Rf	40
2	Rh_1	39
3	Rg_1	38
3	Rd	38
5	Rh_2	37
5	Rg_5	37
5	F_1	37
5	Rg_3	37

2.5　PPI 网络分析及关键靶点筛选结果

将 GSC 与免疫调节的共同靶点导入 STRING 网站数据库后，生成了共同靶点的 PPI 网络图数据，利用 Cytoscape 软件适当编辑得到 PPI 网络图，如图 3 所示。在此过程中，还获取了蛋白互作信息，涉及 51 个靶点的 498 项互作信息，这些信息被导入 Cytoscape 软件进行分析结果见图 4 和表 4，从中筛选出评分前 5 的关键靶点，依次为 TNF、EGFR、STAT3、AKT1、IL1B。

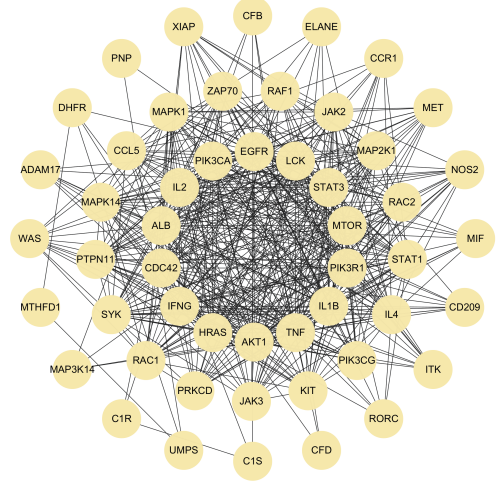


图 3　交集靶点 PPI 网络图

Fig.3　Intersection target PPI network diagram

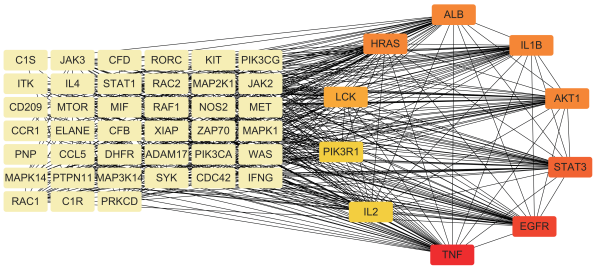


图 4　GSC 调节免疫核心靶点图

Fig.4　GSC regulates immune core target map

注：颜色越深代表评分越高。

表 4　核心靶点评分结果

Table 4　Results of core target scoring

排名	名称	评分
1	TNF	38
2	EGFR	37
3	STAT3	35
4	AKT1	33
5	IL1B	33

2.6　GO、KEGG 富集分析结果

采用 R 语言对 GSC 与免疫调节的共同靶点进行 GO、KEGG 富集分析。其中，GO 富集分析中细胞组分富集出 338 个条目；分子功能富集出 865 个条目和生物过程富集出 5494 个条目，将得分前 10 结果进行可视化，如图 5A~图 5C 所示。生物学过程涉及对肽激素的应答、白细胞细胞间黏附、磷代谢过程的正向调控。分子功能主要涉及组蛋白激酶活性、组蛋白 H3 激酶活性、组蛋白 H2AX 激酶活性。细胞组分主要涉及囊泡腔、分泌颗粒腔、胞质囊泡腔。对共同靶点进行 KEGG 通路富集，得到 279 条信号通路，将得分前 15 结果进行可视化，如图 5D 所示。GSC 调节免疫主要通路富集在脂质与动脉粥样硬化、MAPK、Ras 等信号通路。

2.7　GSC 关键成分与关键靶点分子对接

进一步研究 GSC 关键成分与关键靶点结合情况，选取 GSC 调节免疫得分前 5 的 8 种核心成分 Rf、20（S）-Rh_1、Rg_1、Rd、Rh_2、Rg_5、F_1 及 Rg_3 与 5 个核心靶点 TNF、EGFR、STAT3、AKT1 和 IL1B 利用 Autodock Vina 分别进行分子对接，得出 40 组对接结果，如图 6 所示，关键成分与关键靶点分子对接结合能均小于−6.00 kcal/mol，普遍观点认为，结合能若低于−5.00 kcal/mol，其结合活性被视作较佳；当结合能降至−7.00 kcal/mol 以下时，则说明两者存在较强的对接活性。由此可进一步推测 GSC 具有良

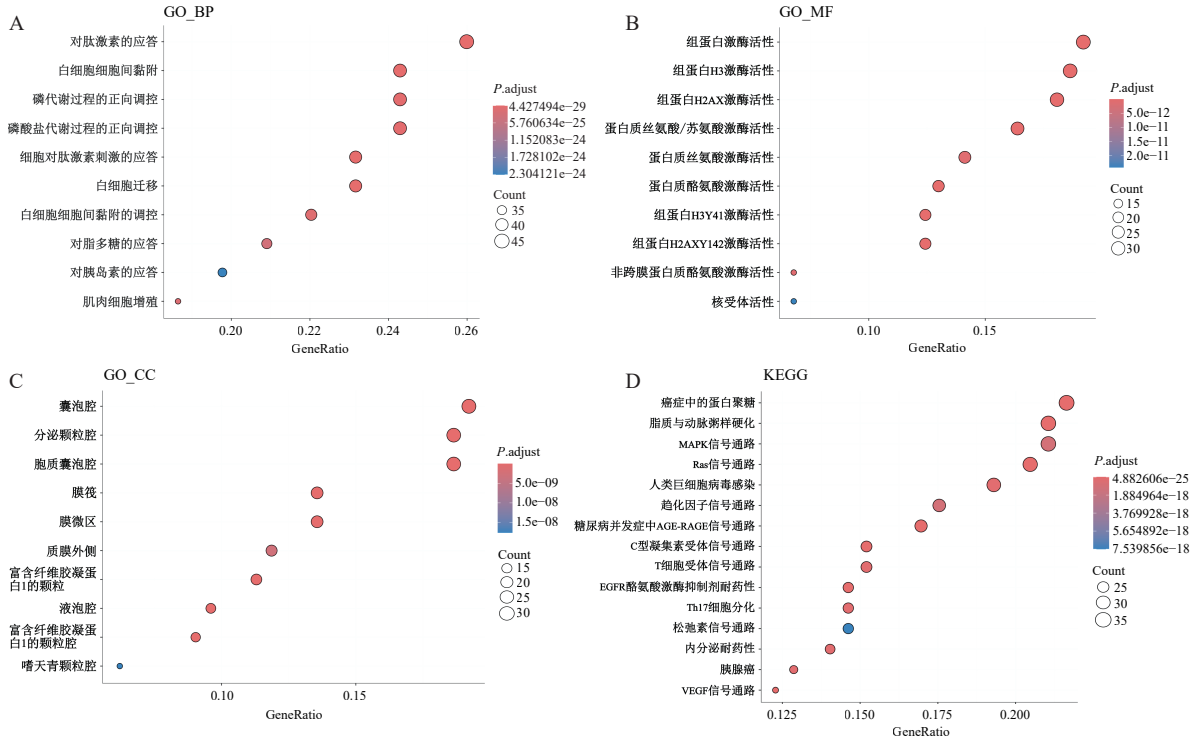


图 5 GSC-Immunity 交集靶点富集分析

Fig.5 GSC-Immunity intersection target enrichment analysis

注: A. GO 生物过程; B. GO 分子功能; C. GO 细胞组分; D. KEGG 通路。

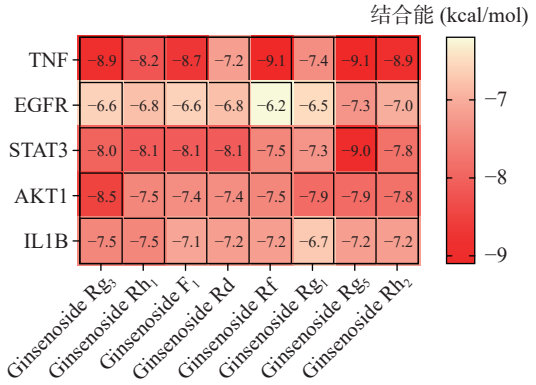


图 6 分子对接结合能热图

Fig.6 Molecular docking binding energy heat map

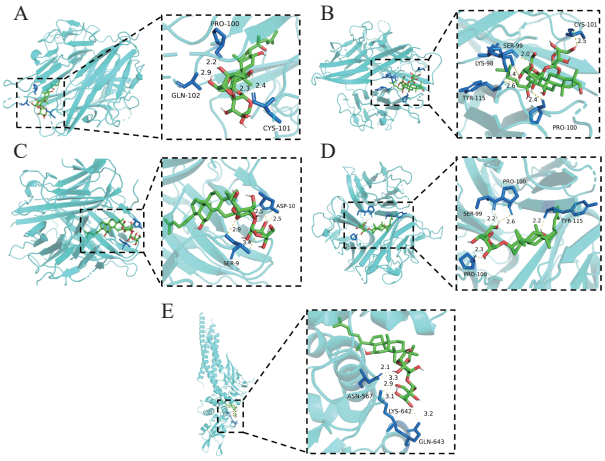


图 7 分子对接结果

Fig.7 Results of molecular docking

注: A. Rg_3-TNF; B. Rf-TNF; C. Rg_5-TNF; D. Rh_2-TNF; E. Rg_5-STAT3, 对接重复次数为 20 次。

好的免疫调节作用。其中 GSC 中所含关键皂苷与 TNF 靶点结合能较低, 说明 GSC 关键成分可能有较好调节 TNF 靶点及相应特性。将对接结合能最小的 5 个对接模型进行可视化展示, 如图 7 所示。关键成分与关键靶点在结合过程中形成了多个氢键, 其中 Rg_3 与 TNF 结合形成 4 个氢键; Rf 与 TNF 结合形成 5 个氢键; Rg_5 与 TNF 结合形成 4 个氢键; Rh_2 与 TNF 结合形成 4 个氢键; Rg_5 与 STAT3 结合形成 5 个氢键; 表明 GSC 中核心成分与免疫调节核心靶点之间具有良好的结合性能。

2.8 GE、GSC 对 RAW264.7 细胞活力影响

利用 MTT 实验进一步探究 GSC 对 RAW264.7 细胞活力影响及 GSC 给药浓度。结果如图 8 所示, GSC 在 0~15.625 μg/mL 浓度范围内, 细胞活力呈现下降趋势(P=0.49), 在 15.625~125 μg/mL 浓度范围内, 细胞活力呈现上升趋势, 0~125 μg/mL 浓度范围内, 细胞存活率均大于 90%, 在此范围内选择 1、10、100 μg/mL 给药浓度进行进一步实验。GE 在 0~15.625 μg/mL 浓度范围内, 细胞活力呈现下降趋势(P=0.11), 细胞存活率大于 90%, 在此范围内选择 100、1000、10000 ng/mL 给药浓度进行进一步实验。当 BL 作用浓度为 15.625 μg/mL 时, 可观察到较小细胞毒性(P<0.01), 为规避毒性影响, 后续实验选用低于该浓度的 10、100、1000 ng/mL 作为给药浓度。

2.9 GSC 对 RAW264.7 细胞分泌 TNF-α 影响

为了进一步探究 GSC 是否通过网络药理学所预测的 TNF 靶点发挥作用以调节免疫, 利用 RAW264.7 细胞测定细胞外分泌 TNF-α 浓度以探

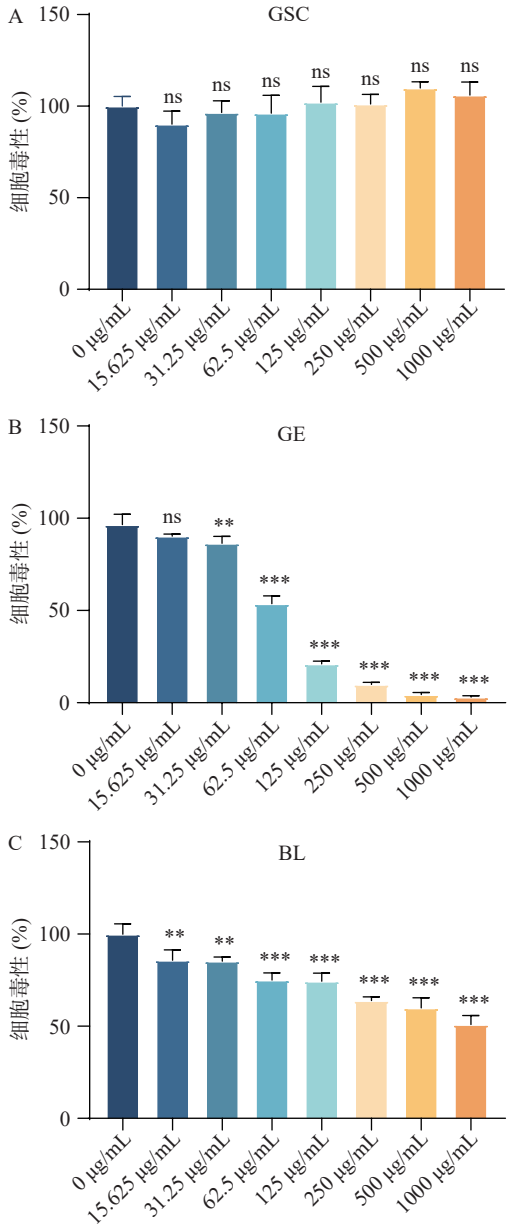


图 8　GSC、GE、BL 对 RAW264.7 细胞活力影响

Fig.8　Effect of GSC, GE and BL on RAW264.7 cell viability

注：**、***分别代表与 0 μg/mL 组相比，该组统计学差异为 P<0.01，P<0.001，n=4。

究 GSC 对免疫作用影响，如图 9 所示，结果显示，与 Con 组相比，阳性对照 BL 组（10 ng/mL、100 ng/mL、1 μg/mL）均能极显著上调 TNF-α 含量（P<0.001）；GSC 低、中、高剂量（1、10、100 μg/mL）可将 TNF-α 分泌量分别提升至 1908.63、1859.04、1737.38 pg/mL，GE 组（100 ng/mL、1 μg/mL、10 μg/mL）各浓度也均能极显著上调 TNF-α 含量（P<0.001）。

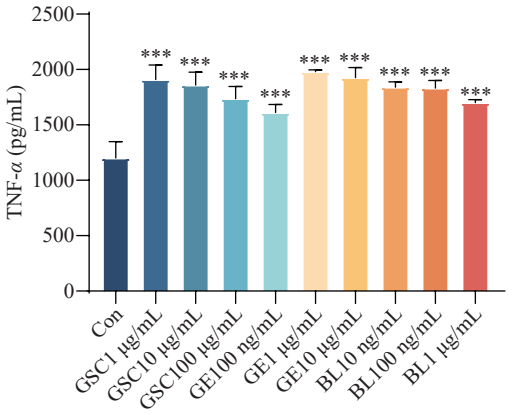


图 9　GSC 对 RAW264.7 细胞分泌 TNF-α 影响

Fig.9　Effects of GSC on TNF-α secretion in RAW264.7 cells

注：***代表与 Con 组相比，该组统计学差异为 P<0.001，n=3。

2.10　GSC 对小鼠免疫功能影响

为了探究 GSC 对小鼠免疫功能产生影响，选择脾脏指数、胸腺指数、迟发性免疫反应足跖厚度差值、脾淋巴细胞增殖系数和半数溶血值指标评价 GSC 免疫调节作用。结果如图 10 所示，与 Con 组相比，GSC 组和 Y 组均能显著升高脾脏指数，其中 GSC 组脾脏指数提升至 0.3273%（P<0.05），极显著增加迟发性免疫反应足跖厚度差值，GSC 组足趾厚度差值达 0.58 mm（P<0.001），同时 GSC 组淋巴细胞转化相关光密度差值增加至 0.06（P<0.001），体液免疫相关半数溶血值提升至 106.10（P<0.01），Y 组对应指标同步显著改善，以上结果均表明 GSC 增强了小鼠免疫功能。

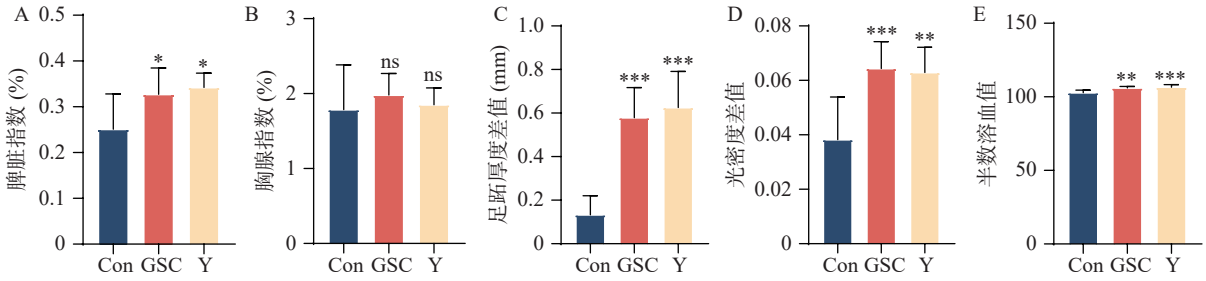


图 10　GSC 对小鼠免疫功能影响

Fig.10　Effects of GSC on immune function in mice

注：*、**、***分别代表与 Con 组相比，该组统计学差异为 P<0.05、P<0.01、P<0.001，n=8。

3　讨论与结论

人参作为传统“四大仙草”之一，在功能性食品领域应用历史悠久且备受青睐，同时，因其显著的药理活性，在中医药研究领域的关注度亦持续攀升。现有研究证实，人参中的稀有人参皂苷具有明确的免疫调节作用[10]，然而此类稀有皂苷在人参天然生长过

程中积累速率缓慢且含量极低，极大限制了其应用潜力。近年来，通过物理、化学、生物等转化技术将常规皂苷转化为稀有人参皂苷的方法已日趋成熟。本研究所采用的人参沙棘复合物为前期人参提取物与沙棘果汁的物理转化工艺制备而成，利用果汁中的天然有机酸实现温和转化，不仅具有环保优势，且转化产物可直接应用于功能性食品开发。因此，深入探究该复合物的免疫调节机制，可为其产业化应用提供重要理论支撑。在本研究中，首先系统收集了人参沙棘复合物中 17 种人参皂苷的成分信息，以此为基础开展网络药理学与分子对接研究。网络分析结果初步推断，该复合物中的核心皂苷包括 Rf、20(S)-Rh_1、Rg_1、Rd、Rh_2、Rg_5、F_1、Rg_3 等，其中 20(S)-Rh_1、Rh_2、Rg_5、Rg_3 为稀有人参皂苷，且其含量在转化过程中得到显著提升。进一步分子对接结果显示，Rh_2、Rg_5、Rg_3 与免疫调节核心靶点的对接结合能较低，提示上述三种稀有皂苷可能是人参沙棘复合物发挥免疫调节作用的关键活性成分。

TNF 作为关键的促炎细胞因子，在免疫应答与炎症反应中发挥核心调控作用[11]。其通过调控免疫及炎症相关信号通路参与类风湿关节炎、阿尔茨海默病等多种疾病的病理过程[12−13]。TNF 可通过磷酸化激活信号转导与转录激活 STAT3，并上调 STAT3 靶基因的表达水平[14]；同时，TNF 可与 IL-6、CD4、EGFR 及 IL1B 等靶点协同作用，共同参与 PI3K-Akt 及 MAPK 信号通路的调控，进而影响细胞凋亡、T 细胞激活及氧化应激等重要生物学过程[15]。EGFR 作为一种受体酪氨酸激酶，主要参与细胞增殖、存活及迁移的调控[16]。研究表明，EGFR 可通过激活 EGFR-STAT3 信号轴，促进 IL-6、TNF-α 等炎症标志物的表达[17]；此外，EGFR 还可与 STAT3、AKT1 等靶点协同调控 PI3K-Akt 及 MAPK 信号通路，在细胞凋亡抑制及 T 细胞激活过程中发挥重要作用[18]。STAT3 作为重要的转录因子，广泛参与细胞增殖、存活及免疫调节过程[19]。在炎症反应中，STAT3 的激活可促进 *IL-6*、*TNF-α*、*BCL2* 等靶基因的转录，从而影响细胞存活状态[20]。AKT1 作为 PI3K-Akt 信号通路的核心分子，其功能涉及细胞存活、增殖及代谢的调控[21−22]。IL1B 属于促炎细胞因子家族，主要参与炎症反应与免疫调节，其异常表达与类风湿性关节炎等炎症性疾病密切相关，是多种疾病进程中的共享炎症调控靶点[23]。

GO 富集分析的生物过程结果显示，GSC 调节免疫功能涉及的生物学过程包括对肽激素的应答、白细胞间黏附、磷代谢过程的正向调控等，这些过程均与体内免疫细胞功能的精准调控密切相关。其中，对肽激素的应答与免疫调节存在紧密关联，该过程可与炎症反应调控、细胞迁移/黏附的正向调控、活性氧代谢调控等免疫相关通路协同作用，共同参与免疫网络的调节[24]。在 Th17 细胞分化信号通路中，肽激素可通过影响炎症介质对 TRP 通道的调控参与免疫应答过程[25]。白细胞间黏附作为免疫调节的核心环节，直接参与 T 细胞活化、淋巴细胞活化调控等适应性免疫应答反应[26]。此外，蛋白磷酸化的正向调控与免疫调节存在密切联系，该过程可与细胞黏附、迁移的调控共同参与炎症反应[24]，并通过影响 T 细胞受体信号通路等途径参与免疫细胞的活化[27]。上述生物学过程与 KEGG 富集结果高度吻合。KEGG 分析显示，GSC 参与的免疫调节信号通路包括脂质与动脉粥样硬化、MAPK 信号通路、Ras 信号通路等。其中，脂质与动脉粥样硬化与脂质代谢异常及炎症反应密切相关[28]。MAPK/ERK 通路作为 T 细胞受体信号下游的关键通路，其抑制会显著降低 T 细胞的增殖、活化及细胞毒活性[29]，而抑制 Cbl-b 可增强 MAPK/ERK 通路的激活，从而维持 T 细胞的活化状态[30]，Xu 等[31]的研究亦证实，蝉花多糖可通过 MAPK-NF-κB 信号通路发挥免疫调节作用。Ras 作为 MAPK 通路的上游调控因子，其通路突变可激活 MAPK-ERK 级联反应，在 B 细胞和 T 细胞白血病中已证实该机制与免疫细胞的异常增殖相关[32]。综合上述结果推测，GSC 可能通过调控脂质与动脉粥样硬化通路、MAPK 信号通路等关键途径，影响体内 T 细胞的增殖与活化过程，进而实现对机体免疫功能的调节作用。

网络药理学与分子对接结果显示，TNF 靶点在网络筛选中评分较高，且在分子对接实验中与核心皂苷的对接结合能较低，提示其可能是 GSC 发挥免疫调节作用的关键候选靶点。为进一步验证 GSC 的免疫调节功能，本研究在 RAW.264.7 巨噬细胞模型中考察其对 TNF-α 分泌的调控效应。实验结果表明，与空白对照组相比，1、10 及 100 μg/mL 浓度的 GSC 干预均能显著促进细胞 TNF-α 分泌，这一发现与网络药理学的预测结果高度一致。同时，针对网络药理学中预测结果，GSC 可能通过调控 T 细胞增殖与活化发挥免疫调节作用，本研究在小鼠模型中开展了脾淋巴细胞转化实验，并以足趾增厚程度作为评估迟发性超敏反应的量化指标。结果显示，GSC 处理组的脾淋巴细胞增殖系数及足趾增厚差值均显著升高，同时，用于衡量体液免疫的半数溶血值也在 GSC 处理后显著上升。上述实验结果共同证实，GSC 可通过调控免疫细胞功能，进而实现对机体免疫功能的增强作用。

然而，不可忽略的是，相比于对脾脏指数的影响，GSC 对胸腺指数的影响更小。这可能是因为 GSC 对 T 细胞增殖的影响有限，而对脾脏中 T 细胞活化的影响程度更大[33]。相似研究也表明，人参总皂苷可通过影响脾脏 TLR/NF-κB 信号通路改善免疫功能，这暗示脾脏可能是 GSC 调节免疫的关键靶器官[34]。因此，针对 GSC 调节免疫的分子机制，可从脾脏组织入手开展进一步探究。

综上所述，本研究整合网络药理学、分子对接技术及细胞与动物实验手段，探究了 GSC 的免疫调节活性及其潜在作用机制。通过网络药理学预测发现，GSC 可能通过其关键皂苷成分 Rf、Rg_3、Rh_2、Rg_5 与核心靶点 TNF、EGFR、STAT3、AKT1、IL1B 的特异性结合，进而调控脂质与动脉粥样硬化通路及 MAPK 信号通路影响免疫细胞活性，最终发挥免疫调节效应。在后续的细胞与动物实验中，网络药理学预测的 GSC 对 TNF 靶点的调控作用及对免疫细胞功能的影响得到验证，GSC 可促进 RAW.264.7 细胞中 TNF-α 的分泌并增强淋巴细胞功能，体现出明确的免疫增强活性。综上，GSC 作为一种具有天然免疫增强作用的复合物具有广阔的开发前景，本研究对其免疫调节机制的初步揭示，为 GSC 在功能性食品及相关健康领域的深入开发与应用提供了重要的实验依据和理论支撑。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

［1］ YU W, YU Y, SUN S, et al. Immune alterations with aging: mechanisms and intervention strategies[J]. Nutrients, 2024, 16(22): 3830.

［2］ AYYADURAI V A S, DEONIKAR P. Attenuation of aging-related oxidative stress pathways by phytonutrients: A computational systems biology analysis[J]. Nutrients, 2023, 15(17): 3762.

［3］ NISHIDA A, ANDOH A. The role of inflammation in cancer: Mechanisms of tumor initiation, progression, and metastasis[J]. Cells, 2025, 14(7): 488.

［4］ LIU D, HUANG S Y, SUN J H, et al. Sepsis-induced immunosuppression: Mechanisms, diagnosis and current treatment options [J]. Military Medical Research, 2022, 9(1): 56.

［5］ WANG Q, YIN X, HUANG X, et al. Impact of mitochondrial dysfunction on the antitumor effects of immune cells[J]. Frontiers in Immunology, 2024, 15: 1428596.

［6］ YOU L, CHA S, KIM M Y, et al. Ginsenosides are active ingredients in Panax ginseng with immunomodulatory properties from cellular to organismal levels[J]. Journal of Ginseng Research, 2022, 46(6): 711−721.

［7］ 黄海林, 喻勤, 刘文利, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱技术、网络药理学和动物实验探究人参沙棘复合物抗疲劳作用机制[J]. 食品与发酵工业, 2026, 52(2)145−155. ［HUANG H L, YU Q, LIU W L, et al. Exploring the anti-fatigue mechanisms of ginseng sea buckthorn complex based on UPLC-OTOF-MS, network pharmacology, and animal experiments[J]. Food and Fermentation Industries, 2026, 52(2)145−155.］

［8］ 李石飞, 李欣萍, 刘文倩, 等. 基于网络药理学研究参芪扶正注射液调节免疫的作用机制[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2025, 48(2): 238−251. ［LI S F, LI X P, LIU W Q, et al. The mechanism of shenqi fuzheng injection in regulating immunity based on network pharmacology[J]. Journal of Shanxi University (Natural Science Edition), 2025, 48(2): 238−251.］

［9］ 岳珠珠, 石双慧, 张婧秋, 等. 基于网络药理学和实验验证探究黄精增强免疫功能的作用机制[J]. 世界中医药, 2024, 19(12): 1730−1736. ［YUE Z Z, SHI S H, ZHANG J Q, et al. Network pharmacology and experimental verification reveal the mechanism of immunity enhancement by *Polygonati rhizoma*[J]. World Chinese Medicine, 2024, 19(12): 1730−1736.］

［10］ PAIK S, SONG G Y, JO E K. Ginsenosides for therapeutically targeting inflammation through modulation of oxidative stress[J]. International Immunopharmacology, 2023, 121: 110461.

［11］ CHÉDOTAL H, NARAYANAN D, POVLSEN K, et al. Small-molecule modulators of tumor necrosis factor signaling[J]. Drug Discovery Today, 2023, 28(6): 103575.

［12］ PERIK-ZAVODSKII R, PERIK-ZAVODSKAIA O, ALRHMOUN S, et al. Single-cell multi-omics reveals the TNF-α activation threshold for classical monocytes by studying healthy donors and rheumatoid arthritis patients[J]. Frontiers in Immunology, 2025, 16: 1572823.

［13］ ORTÍ-CASAÑ N, ZUHORN I S, NAUDÉ P J W, et al. A TNF receptor 2 agonist ameliorates neuropathology and improves cognition in an Alzheimer's disease mouse model[J]. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 2022, 119(37): e2201137119.

［14］ WEI W, WANG J, HUANG P, et al. Tumor necrosis factor-α induces proliferation and reduces apoptosis of colorectal cancer cells through STAT3 activation[J]. Immunogenetics, 2023, 75(2): 161−169.

［15］ MA H, WANG G, GUO X, et al. Network pharmacology and molecular docking analysis explores the mechanisms of cordyceps sinensis in the treatment of oral lichen planus[J]. Journal of Oncology, 2022, 2022: 3156785.

［16］ MAITY P, CHATTERJEE J, PATIL K T, et al. Targeting the epidermal growth factor receptor with molecular degraders: State-of-the-Art and future opportunities[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2023, 66(5): 3135−3172.

［17］ CHEN X, NIE X, LIN X, et al. Regulation of keratinocyte barrier function and inflammatory response by the EGFR-STAT3 pathway: Potential therapeutic implications of osimertinib and afatinib[J]. Cytokine, 2025, 185: 156802.

［18］ MA Z, CHEN X, XIONG M, et al. Cyberpharmacology uncover the mechanism of the total *Rhizoma coptidis* extracts ameliorate chronic atrophic gastritis[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 335: 118644.

［19］ DONG J, CHENG X D, ZHANG W D, et al. Recent update on development of small-molecule STAT3 inhibitors for cancer therapy: From phosphorylation inhibition to protein degradation[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 64(13): 8884−8915.

［20］ VAGELI D P, DOUKAS P G, SIAMETIS A, et al. Targeting STAT3 prevents bile reflux-induced oncogenic molecular events linked to hypopharyngeal carcinogenesis[J]. Journal of Cellular And Molecular Medicine, 2022, 26(1): 75−87.

［21］ FREDERICK M I, SIDDIKA T, ZHANG P, et al. MiRNA-dependent regulation of AKT1 phosphorylation[J]. Cells, 2022, 11(5): 821.

［22］ PERVANIDIS K A, D'ANGELO G D, WEISNER J, et al. Akt inhibitor advancements: From capivasertib approval to covalent-allosteric promises[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2024, 67(8): 6052−6063.

［23］ WU Y, YUE S. Network pharmacology unveils the active components and potential mechanism of traditional efficacy of Mugua[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(51): e41028.

［24］ DING W, HUANG C, CHEN J, et al. Exploring the molec-

ular mechanism by which kaempferol attenuates sepsis-related acute respiratory distress syndrome based on network pharmacology and experimental verification[J]. Current Computer-aided Drug Design, 2025, 21(2): 166−178.

[25] MA Z, WU Y, ZHANG Y, et al. Morphologic, cytometric, quantitative transcriptomic and functional characterisation provide insights into the haemocyte immune responses of Pacific abalone (*Haliotis discus* hannai)[J]. Frontiers in Immunology, 2024, 15: 1376911.

[26] TAN S, SONG X, ZHANG C, et al. Hsa-miR-9-5p-mediated TSPAN9 downregulation is positively related to both poor hepatocellular carcinoma prognosis and the tumor immune infiltration[J]. Journal of Immunology Research, 2022, 2022: 9051229.

[27] ZHANG Z, RAN Y, XU L, et al. High-dose dexamethasone injection disordered metabolism and multiple protein kinases expression in the mouse kidney[J]. Bioscience Reports, 2021, 41(11): BSR20211847.

[28] KONG P, CUI Z Y, HUANG X F, et al. Inflammation and atherosclerosis: Signaling pathways and therapeutic intervention[J]. Signal Transduction And Targeted Therapy, 2022, 7(1): 131.

[29] DONG L, CHOI H, BUDHU S, et al. Intermittent MEK inhibition with GITR costimulation rescues T-cell function for increased efficacy with CTLA-4 blockade in solid tumor models[J]. Cancer Immunology Research, 2024, 12(10): 1392−1408.

[30] ZHU W, LU S, JIA L, et al. Cbl-b inhibitor NX-1607 activates MAPK/ERK signaling pathway and enhances T-cell activation[J]. Journal For Immunotherapy of Cancer, 2025, 13(5): e011180.

[31] XU Z, LIN R, X, et al. Immunomodulatory mechanism of a purified polysaccharide isolated from *Isaria cicadae* Miquel on RAW264.7 cells via activating TLR4-MAPK-NF-*κ*B signaling pathway[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 4329−4338.

[32] KOŚMIDER K, KARSKA K, KOZAKIEWICZ A, et al. Overcoming steroid resistance in pediatric acute lymphoblastic leukemia-the state-of-the-art knowledge and future prospects[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(7): 3795.

[33] SONG B, TANG D, YAN S, et al. Effects of age on immune function in broiler chickens[J]. Journal of Animal Science And Biotechnology, 2021, 12(1): 42.

[34] LI Y, ZHANG M, ZHANG K, et al. Ginsenosides modulate immunity via TLR4/MyD88/NF-*κ*B pathway and gut microbiota[J]. Phytomedicine, 2025, 142: 156763.