基于网络药理学与动物实验探讨肺宁 1 号方治疗支气管哮喘的作用机制*

王依婷[1]，马志恒[1]，王珠强[1]，黄振炎[2]，董子青[2]，彭伟文[1]

1. 广州中医药大学附属中山中医院药学部，广东 中山 528400；2. 广州中医药大学附属中山中医院呼吸内科，广东 中山 528400

摘要：目的：通过网络药理学和动物实验探索肺宁 1 号方（FN－1）治疗哮喘的作用机制。方法：利用 TCMSP、UniProt 数据库，获取 FN－1 的活性成分与靶点。通过 OMIM、TTD、GeneCards 及 DrugBank 数据库检索哮喘靶点，并获取其与 FN－1 的交集靶点。采用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“中药－活性成分－交集靶点”网络和蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络，筛选关键成分和核心靶点。运用 Metascape 数据库进行京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）富集分析，AutoDock Vina 软件进行分子对接。将 24 只小鼠随机分为对照组（C 组）、模型组（M 组）、FN－1 低剂量组（FN－L 组，13 g·kg^{-1}）及 FN－1 高剂量组（FN－H 组，26 g·kg^{-1}），每组 6 只。除 C 组外，其余小鼠建立哮喘模型。灌胃 11 d 后，收集肺泡灌洗液，采用 ELISA 检测免疫球蛋白 E（immunoglobulin E，IgE）、白细胞介素（interleukin，IL）－13、肿瘤坏死因子－α（tumor necrosis factor－α，TNF－α）、IL－6 含量。采用 Western blot 法检测小鼠肺脏肿瘤坏死因子受体 2（tumor necrosis factor receptor 2，TNFR2）、核因子－κB（nuclear factor kappa－B，NF－κB）、Bcl－2 相关 X 蛋白（Bcl－2 associated X protein，Bax）、肿瘤蛋白 p53（tumor protein 53，TP53）、信号转导和转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3，STAT3）、p－STAT3 蛋白表达水平。结果：FN－1 活性成分 256 个，靶点 267 个；哮喘靶点 2 873 个，与 FN－1 有 154 个交集靶点。关键成分包括槲皮素、山柰酚、木犀草素等，核心靶点包括 STAT3、TP53、TNF、IL－6 等。KEGG 通路包括 TNF 信号通路、IL－17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路等。分子对接显示，结合能均小于 －5.0 kcal·mol^{-1}。动物实验显示，与 C 组比较，M 组小鼠 BALF 中 IgE、IL－13、TNF－α、IL－6 含量升高（$P<0.05$）；与 M 组比较，FN－L 与 FN－H 组小鼠 BALF 中 IgE、IL－13、TNF－α、IL－6 含量降低（$P<0.05$）。与 C 组比较，M 组小鼠肺脏 NF－κB、TNFR2、Bax、TP53、p－STAT3、STAT3 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与 M 组比较，FN－L 与 FN－H 组小鼠肺脏 NF－κB、TNFR2、Bax、TP53、p－STAT3、STAT3 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。结论：FN－1 可能通过槲皮素、山柰酚等活性成分，作用于 STAT3、TP53、TNF、IL－6 等靶点，调控炎症相关信号通路，减少 Th2 型细胞因子分泌，从而发挥治疗哮喘的作用。

关键词：肺宁 1 号方；支气管哮喘；网络药理学；分子对接；TNF 信号通路；炎症反应；小鼠
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.04.126
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999（2026）04－0850－09

Action Mechanism of Feining No. 1 Formula in Treating Bronchial Asthma Based on Network Pharmacology and Animal Experiment

WANG Yiting[1]，MA Zhiheng[1]，WANG Zhuqiang[1]，HUANG Zhenyan[2]，DONG Ziqing[2]，PENG Weiwen[1]

1. Department of Pharmacy，Zhongshan Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine，Zhongshan Guangdong China 528400；2. Department of Respiratory Medicine，Zhongshan Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine，Zhongshan Guangdong China 528400

Abstract：Objective：To explore the mechanism of Feining No. 1 Formula（FN－1）in treating asthma through network pharmacology and animal experiments. Methods：The active components and targets of FN－1 were obtained using the TCMSP and Uniprot databases.

* **基金项目**：广东省中山市科技计划项目（2020B3007）；2023 年中山市第一批社会公益与基础研究项目（2023B1080）

Asthma targets were retrieved from the OMIM, TTD, GeneCards, and DrugBank databases, and the intersecting targets with FN－1 were identified. Cytoscape 3.8.0 software was used to construct the "Traditional Chinese Medicine－Active Components－Intersecting Targets" network and the protein－protein interaction (PPI) network to screen key components and core targets. KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) enrichment analysis was conducted using the Metascape database, and molecular docking was performed with AutoDock Vina software. A total of 24 mice were randomly divided into a control group (C), model group (M), FN－1 low dose group (FN－L, 13 g·kg^{-1}) and FN－1 high dose group (FN－H, 26 g·kg^{-1}), with 6 mice in each group. Except for the C group, asthma models were established in the remaining mice. After 11 days of gavage, bronchoalveolar lavage fluid was collected, and ELISA was used to detect levels of immunoglobulin E (IgE), interleukin (IL)－13, tumor necrosis factor－α (TNF－α), and IL－6. Western blot was used to detect the expression levels of tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2), nuclear factor kappa－B (NF－κB), Bcl－2 associated X protein (Bax), tumor protein 53 (TP53), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), and p－STAT3 in mouse lung tissue. Results: FN－1 has 256 active components and 267 targets; asthma has 2,873 targets, with 154 overlapping targets with FN－1. Key components include quercetin, kaempferol, luteolin, etc., and core targets include STAT3, TP53, TNF, IL－6, etc. KEGG pathways include TNF signaling pathway, IL－17 signaling pathway, PI3K/AKT signaling pathway, etc. Molecular docking showed that the binding energies were all less than －5.0 kcal·mol^{-1}. Animal experiments showed that compared with the C group, the M group mice had increased levels of IgE, IL－13, TNF－α, and IL－6 in BALF ($P<0.05$); compared with the M group, the FN－L and FN－H groups had decreased levels of IgE, IL－13, TNF－α, and IL－6 in BALF ($P<0.05$). Compared with the C group, the M group showed increased expression levels of NF－κB, TNFR2, Bax, TP53, p－STAT3, and STAT proteins in the lungs ($P<0.05$); compared with the M group, the FN－L and FN－H groups showed decreased expression levels of NF－κB, TNFR2, Bax, TP53, p－STAT3, and STAT proteins in the lungs ($P<0.05$). Conclusion: FN－1 may exert therapeutic effects on asthma through active components such as quercetin and kaempferol, acting on targets like STAT3, TP53, TNF, and IL－6, regulating inflammation－related signaling pathways, and reducing the secretion of Th2－type cytokines.

Key words: Feining No. 1 Formula; bronchial asthma; network pharmacology; molecular docking; TNF signaling pathway; inflammatory response; mouse

支气管哮喘(简称哮喘),是一种慢性反复发作的呼吸道疾病,其特征是患者呼吸急促和胸闷,在严重的情况下,哮喘发作甚至可能导致死亡。哮喘是由反复接触过敏原的致敏过程引起的,过敏原会增加气道反应性。哮喘的发病率在全球范围内呈上升趋势,我国 20 岁及以上人群的哮喘发病率为 4.2%,其中,20～39 岁人群的发病率为 2.5%,40 岁及以上人群的发病率上升至 5.4%,由此可见,哮喘发病率随年龄增长而增加[1]。目前,临床上主要使用吸入类固醇、支气管扩张剂和抗白细胞介素等药物对哮喘进行干预治疗。但这些药物的不良反应较大,长期使用可能会导致耐药性和依赖性[2]。因此,寻找治疗哮喘的新方法至关重要。

哮喘属于中医“哮病”“喘证”“痰饮”等范畴,中医治疗哮喘经验丰富,其方药临床疗效确切,不良反应少,故而患者认可度较高。收载于《太平惠民和剂局方》的经典方剂三拗汤具有宣肺平喘、止咳化痰的作用,历年来被中医名家广泛应用于治疗各种呼吸系统疾病[3]。我院呼吸内科黄振炎教授结合多年临床经验对三拗汤进行加减化裁,拟定了肺宁 1 号方(FN－1),将其应用于哮喘等呼吸系统疾病稳定期的治疗。FN－1 由蜜麻黄、甘草、紫菀、浙贝母、五指毛桃、淫羊藿、盐巴戟天、丹参等中药组成,具有疏风宣肺、温阳补肾、平喘止咳之功,是治疗哮喘肺肾两虚证的良方。本研究旨在利用网络药理学及分子对接技术,初步探索 FN－1 治疗哮喘的分子机制,并设计动物实验进行验证,以期为哮喘的新药开发提供理论依据。

1　材料

1.1　动物　6～8 周龄雌性 BALB/C 小鼠,体质量 18～22 g,购自广东省医学实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2022－0002,实验动物使用许可证号:SYXK(粤)2020－0109。动物饲养于中山市中医院中药药理实验室动物房(屏障环境),12 h/12 h 明暗交替光照,温度 22～24 ℃,自由进食和饮水。本研究经中山市中医院动物伦理委员会审批通过,伦理审查批准编号:AEWC－2023068。

1.2　药物与试剂　FN－1 由蜜麻黄 10 g,甘草 5 g,紫菀 10 g,浙贝母 10 g,五指毛桃 30 g,淫羊藿 10 g,盐巴戟天 10 g,丹参 15 g 组成,以上药材由广州中医药大学附属中山中医院中药房提供,经彭伟文主任中药师鉴定为正品。卵清蛋白(ovalbumin,OVA,美国 Sigma 公司,货号:A5503);氢氧化铝佐剂(法

国 Invivogen 公司，批号：vac－phos－250）；GAPDH、β－Actin、核因子－κB（nuclear factor kappa－B，NF－κB）、肿瘤蛋白 p53（tumor protein 53，TP53）、Bcl－2 相关 X 蛋白（Bcl－2 associated X protein，Bax）抗体（美国 Affinity 公司，货号：AF7021、AF7018、AF5006、AF0865、AF0120）；信号转导和转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3，STAT3）、p－STAT3 抗体（美国 Cell Signaling Technology 公司，货号：D3Z2G、D3A7）；肿瘤坏死因子受体 2（tumor necrosis factor receptor 2，TNFR2）抗体（杭州华安生物技术有限公司，货号：ET1703－63）；免疫球蛋白 E（immunoglobulin E，IgE）、肿瘤坏死因子－α（tumor necrosis factor－α，TNF－α）、白细胞介素（interleukin，IL）－6 ELISA 试剂盒（上海江莱生物科技有限公司，货号：JL12885、JL10484、JL20268）；IL－13 ELISA 试剂盒（江苏酶标生物科技有限公司，货号：MB－2909B）。

1.3　仪器　多功能酶标仪（美国赛默飞世尔科技公司，型号：Multiskan FC）；冷冻研磨仪（广州露卡测序仪器公司，型号：LUKYM－1）；低温高速离心机（湖南恒诺仪器设备有限公司，型号：2－16R）；－80 ℃超低温冰箱（日本三洋公司，型号：MDF－382E）；HC 转膜仪、ChemiDoc MP 化学发光成像系统（美国伯乐公司）。

2　方法

2.1　网络药理学研究

2.1.1　FN－1 活性成分及作用靶点筛选　通过 TCMSP[4] 数据库检索 FN－1 中甘草、紫菀、浙贝母、淫羊藿、丹参的化学成分，并根据口服生物利用度（oral bioavailability，OB）≥30%、类药性（drug likeness，DL）≥0.18 进行 ADME 筛选。蜜麻黄、盐巴戟天、五指毛桃采用文献检索方式获得化学成分，结合 TCMSP 数据库中收录的化学成分，按以下条件进行筛选：（1）有明确药理活性的化合物；（2）有明确结构的化合物；（3）OB≥30%，DL≥0.18，同时得到活性成分对应的靶点。最后，通过 Uniprot[5] 数据库（http://www.uniprot.org/）将上述蛋白质靶点转化为基因。

2.1.2　FN－1 治疗哮喘的潜在靶点筛选　以“Asthma”为检索词，检索 OMIM[6]（https://omim.org/）、TTD[7]（https://db.idrblab.net/ttd/）、GeneCards[8]（https://www.genecards.org/）、DrugBank[9]（https://go.drugbank.com/drugs）数据库，获取哮喘的潜在靶点，整合数据库所得靶点后，删除重复数据。通过 Venny 2.1[10] 平台绘制韦恩图，得到 FN－1 与哮喘的交集靶点，即 FN－1 治疗哮喘的潜在靶点。

2.1.3　关键成分与核心靶点筛选　将交集靶点及其所属活性成分信息导入 Cytoscape 3.8.0 软件，构建“中药－活性成分－交集靶点”网络，预测 FN－1 治疗哮喘的关键成分。将交集靶点上传至 STRING 11.0[11] 数据库（https://string－db.org/），物种设定为“homo sapiens”，最小相互作用阈值设定为 0.9，并隐藏游离节点，得到蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络图，将结果以.TSV 格式导出。将.TSV 文件导入 Cytoscape 3.8.0 软件，采用 CytoNCA 插件根据 Degree 值≥2 倍中位数筛选核心靶点。

2.1.4　基因本体（Gene Ontology，GO）功能富集分析和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　运用 Metascape[12] 数据库（https://metascape.org/）对交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析，GO 功能包括分子功能（molecular function，MF）、生物学过程（biological process，BP）及细胞组分（cellular component，CC）。所得结果利用微生信平台（https://www.bioinformatics.com.cn）进行绘图。

2.1.5　分子对接验证　在 PDB[13] 数据库（http://www.rcsb.org/）、PubChem 数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov）中下载核心靶点的 3D 结构、活性成分的 2D 结构，再使用 PyMOL 软件对蛋白进行去水、去磷酸根等处理，AutoDock 1.5.6 软件将核心靶点与活性成分 pdb 格式转换为 pdbqt 格式并寻找活性口袋，最后通过 AutoDock Vina 软件进行分子对接。

2.2　动物实验验证

2.2.1　分组、造模及给药　将 24 只小鼠随机分为对照组（C 组）、模型组（M 组）、FN－1 低剂量组（FN－L 组，13 g·kg^{-1}）及 FN－1 高剂量组（FN－H 组，26 g·kg^{-1}），每组 6 只。除 C 组外，其余小鼠参考文献[14]建立哮喘模型。按 1 mg OVA、10 mL 氢氧化铝佐剂、10 mL 生理盐水的比例配制 0.05 g·L^{-1}的 OVA 致敏液；1 g OVA 溶解到 20 mL 生理盐水中配制 5% OVA 激发液。在第 0、7、14 天，小鼠腹腔注射 200 μL OVA 致敏液致敏；第 21—25 天，将小鼠麻醉后滴鼻 50 μL 5% OVA 激发液进

行激发，对照组小鼠用等量生理盐水代替进行相同操作。若小鼠出现炸毛、呼吸急促、节律性收腹样的喘促及反应迟钝等症状为哮喘造模成功。从第 15 天开始，各组小鼠每天灌胃 1 次，连续 11 d，对照组与模型组小鼠灌胃相应体积的蒸馏水。

2.2.2　支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）收集　麻醉小鼠后，将其仰卧固定于泡沫板上，眼科剪将小鼠颈部皮肤剪开后剥离颈部周围组织，充分暴露气管，将手术线沿小鼠气管下方穿过，用套有软管的注射器插入气管，手术线在扎口下方 5 mm 位置打结系紧，500 μL 预冷 PBS 注入双肺，重复灌洗 3 次，每只小鼠回收约 1.2 mL BALF，4 ℃、1 500 r·min^{-1}离心 15 min，收集上清保存于 -80 ℃ 冰箱。

2.2.3　ELISA 法检测小鼠 BALF 中 IgE、IL-13、TNF-α、IL-6 含量　取小鼠 BALF，按照 ELISA 试剂盒说明书的步骤进行操作，在 450 nm 波长处测定样品光密度值，通过建立标准曲线，代入相应公式计算出 BALF 中 IgE、IL-13、TNF-α、IL-6 含量。

2.2.4　Western blot 法检测小鼠肺脏 TNFR2、NF-κB、Bax、TP53、p-STAT3、STAT3 蛋白表达水平　取 -80 ℃冻存的肺组织 20 mg，加入 RIPA 裂解液，冰上裂解 20 min，4 ℃、12 000 r·min^{-1}离心 15 min，提取总蛋白，根据 BCA 蛋白浓度检测试剂盒说明书测定各样品总蛋白浓度。随后，制胶、上样、电泳、转膜，用快速封闭液室温封闭 15 min，按 1∶1 000 比例将一抗稀释，4 ℃孵育过夜。按 1∶10 000 比例稀释二抗，室温孵育 1 h。ECL 显影法曝光显色并进行灰度值测定，以目的蛋白灰度值/内参蛋白灰度值比值作为目的蛋白的相对表达量。

2.2.5　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。符合正态分布的数据，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 *Dunnett' T3* 检验；不符合正态分布的数据，采用非参数检验。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　网络药理学研究结果

3.1.1　FN-1 活性成分及治疗哮喘的潜在靶点　FN-1 活性成分 256 个，其中蜜麻黄 23 个、甘草 92 个、紫菀 19 个、浙贝母 7 个、淫羊藿 23 个、盐巴戟天 23 个、丹参 65 个、五指毛桃 7 个。蜜麻黄靶点 218 个、甘草靶点 221 个、紫菀靶点 194 个、浙贝母靶点 45 个、淫羊藿靶点 213 个、盐巴戟天靶点 50 个、丹参靶点 130 个、五指毛桃靶点 199 个，去除重复靶点后，共得到 FN-1 靶点 267 个。基于 OMIM、TTD、DrugBank、GeneCards 数据库，分别得到哮喘靶点 155 个、149 个、111 个、2 681 个，合并数据并去除重复值后得到 2 873 个靶点。FN-1 与哮喘的靶点取交集，得到 154 个交集靶点，见图 1。

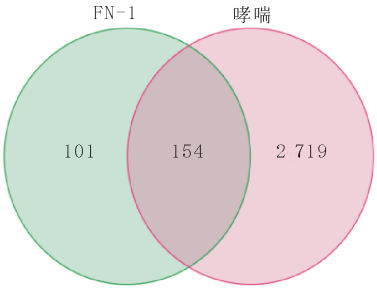


图 1　FN-1 与哮喘交集靶点韦恩图

3.1.2　FN-1 治疗哮喘的关键成分　采用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“中药-活性成分-交集靶点”网络，该网络由 367 个节点和 2 127 条边组成，见图 2。对应靶点数较多的前 6 种活性成分是槲皮素、山柰酚、木犀草素、7-甲氧基-2-甲基-异黄酮、丹参酮ⅡA、β-谷甾醇，可能是 FN-1 治疗哮喘的关键成分，见表 1。

3.1.3　FN-1 治疗哮喘的核心靶点　将 154 个交集靶点提交至 STRING 11.0 平台，得到 PPI 网络图，其中 136 个靶点可发生蛋白互作，蛋白间的互作关系为 944 条，见图 3。将 PPI 网络图导入 Cytoscape 3.8.0 软件，计算 Degree 值[15]，STAT3、TP53、TNF、IL-6 等可能是 FN-1 治疗哮喘的核心靶点，见表 2。

表 1　FN-1 治疗哮喘的关键成分信息

MOL ID	活性成分	靶点数/个	来源中药
MOL000098	槲皮素	99	蜜麻黄、甘草、紫菀、淫羊藿、五指毛桃
MOL000422	山柰酚	45	蜜麻黄、甘草、紫菀、淫羊藿、五指毛桃
MOL000006	木犀草素	40	蜜麻黄、紫菀、淫羊藿、丹参、五指毛桃
MOL003896	7-甲氧基-2-甲基-异黄酮	29	甘草
MOL007154	丹参酮ⅡA	28	丹参
MOL000358	β-谷甾醇	25	麻黄、紫菀、浙贝母、盐巴戟天

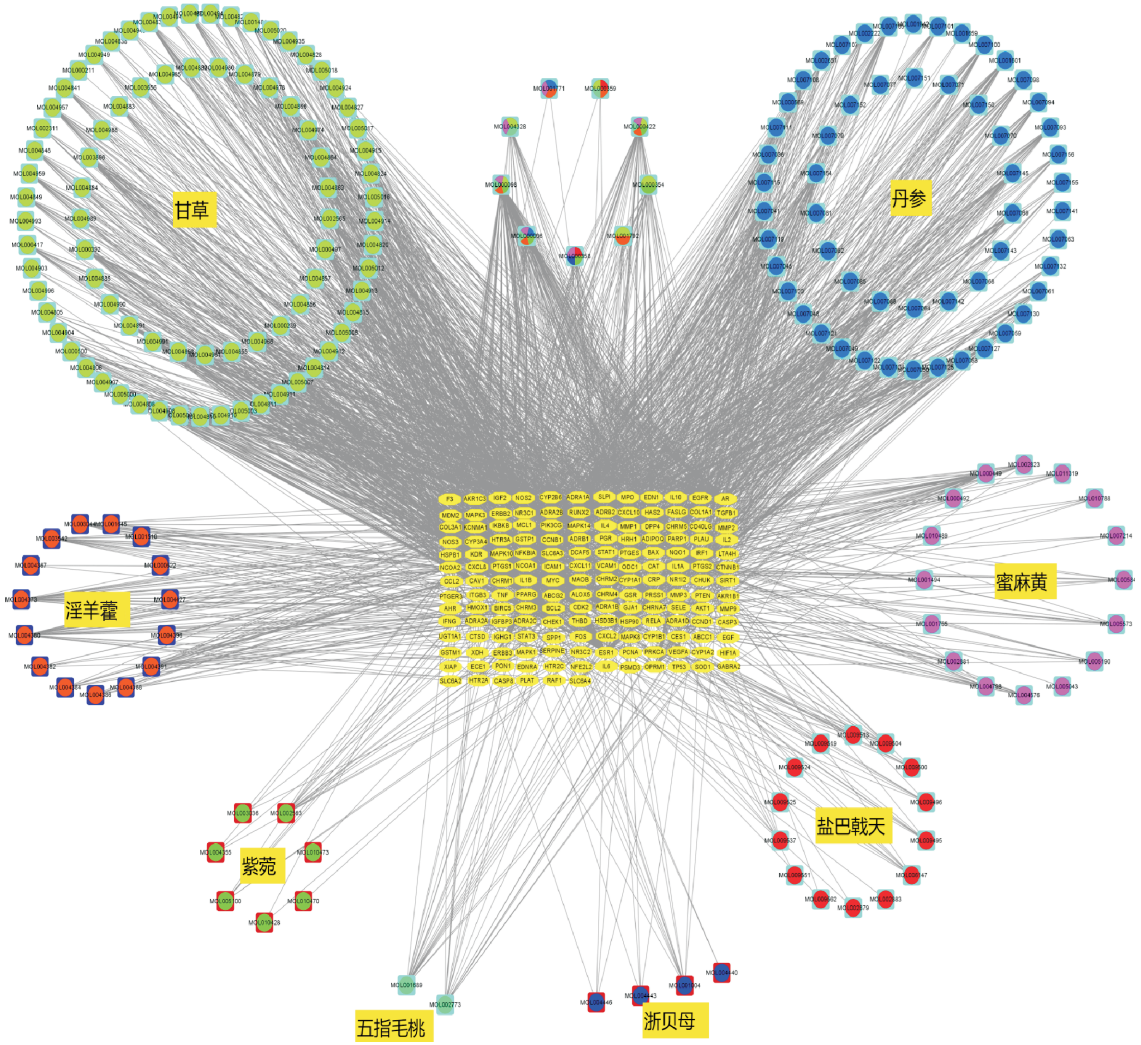
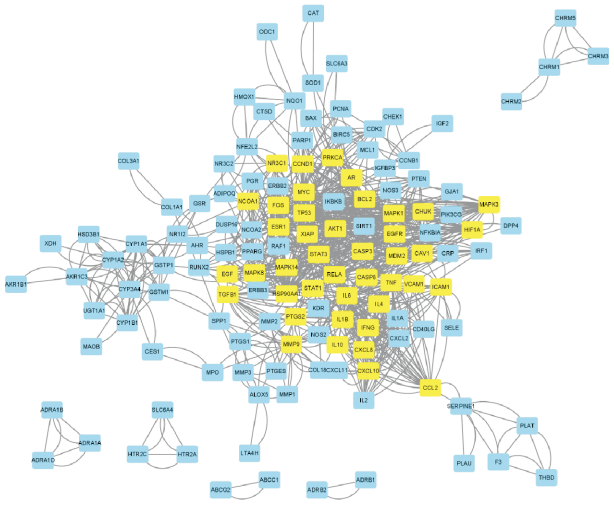


图 2　“中药 – 活性成分 – 交集靶点”网络图

表 2　FN – 1 治疗哮喘的核心靶点信息

靶点名称	Degree	Betweenness	Closeness
STAT3	48	262.355 633 2	0.706 896 552
TP53	44	111.440 247 8	0.640 625 000
TNF	42	204.518 608 8	0.661 290 323
IL – 6	40	153.474 209 8	0.640 625 000
ESR1	38	90.159 237 1	0.630 769 231
AKT1	38	102.623 705 7	0.650 793 651
IL – 1β	30	45.156 702 6	0.577 464 789
MAPK1	30	38.190 748 0	0.611 940 299
FOS	28	51.588 518 9	0.561 643 836
HSP90AA1	28	32.652 212 0	0.561 643 836
BCL2	28	24.180 966 4	0.539 473 684
MAPK3	28	46.313 122 2	0.602 941 176



注：黄色为 Degree 值 > 16 的靶点。

图 3　交集靶点 PPI 网络图

3.1.4　GO 功能与 KEGG 通路　GO 分析得到 179 个 MF、1 818 个 BP 及 92 个 CC。MF 主要有 G 蛋白偶联胺受体活性、细胞因子活性等；BP 主要有炎症反应、对外源性刺激的反应等；CC 主要有突触后膜、突触膜、细胞质囊泡腔等，见图 4。

KEGG 通路 196 条，其中与哮喘关系密切的通

路有 AGE－RAGE 信号通路、TNF 信号通路、IL－17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路等，见图 5。

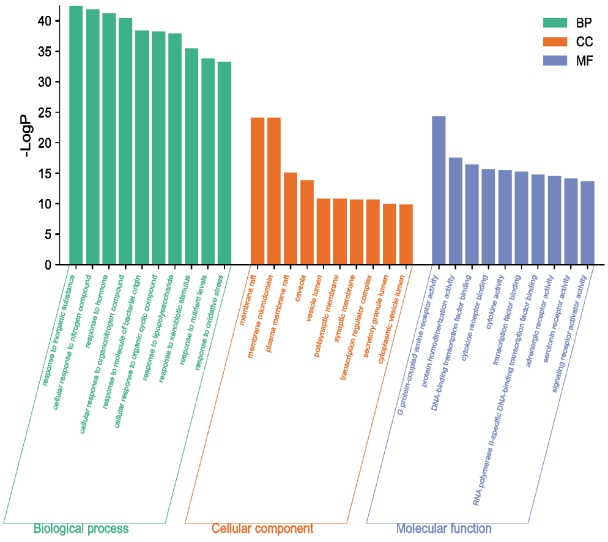


图 4　GO 功能富集分析柱状图

3.1.5　分子对接　将 Degree 值排名前 4 位的核心靶点与其对应的活性成分进行分子对接，结合能小于 －4.25 kcal · mol^{-1} 提示配体与受体有一定的结合活性，小于 －5.0 kcal · mol^{-1} 提示有较好的结合活性，小于 －7.0 kcal · mol^{-1} 提示有强烈的结合活性[16]。由表 3 可知，核心靶点与相应活性成分的结合能均小于 －5.0 kcal · mol^{-1}，提示有较好的结合活性。将结合能小于 －9.0 kcal · mol^{-1} 的对接结果进行可视化展示，见图 6。

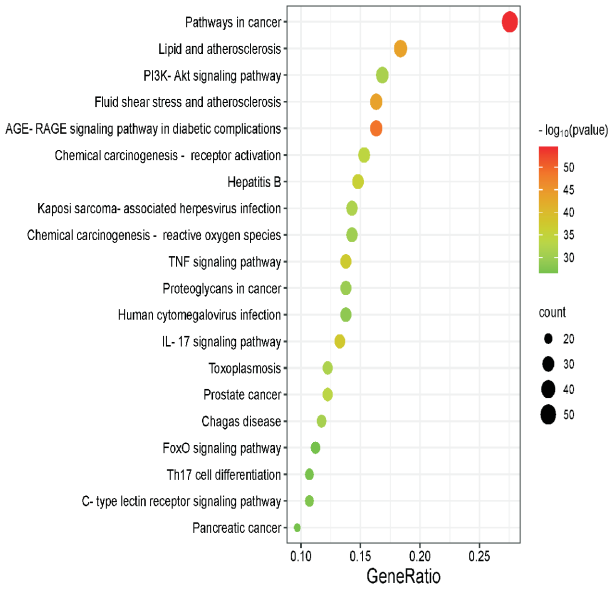
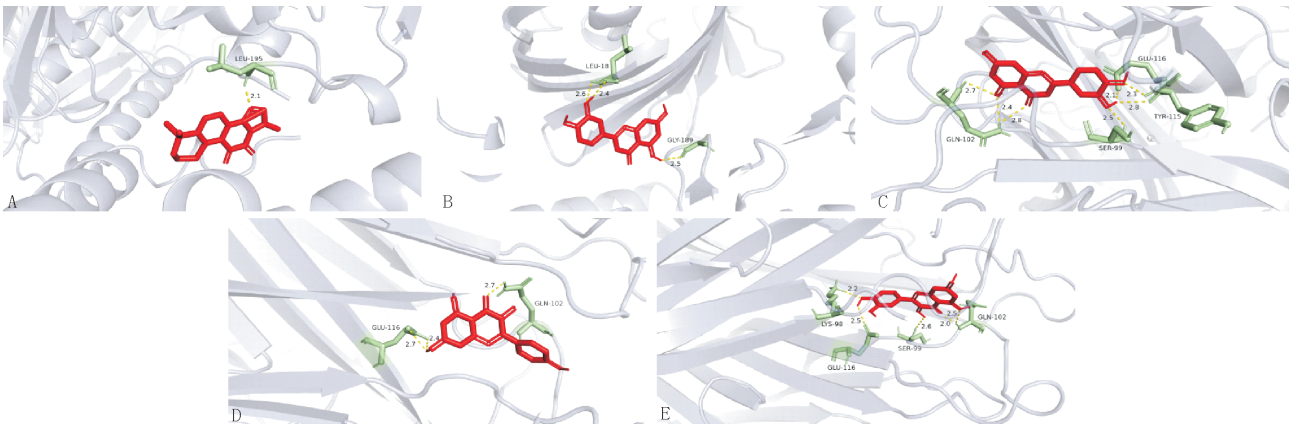


图 5　KEGG 通路富集分析气泡图

表 3　分子对接结合能

靶点	活性成分	来源中药	结合能/kcal · mol^{-1}
STAT3	甘草查尔酮 A	甘草	－6.6
	隐丹参酮	丹参	－8.3
TP53	槲皮素	甘草、紫菀、淫羊藿、五指毛桃、麻黄	－8.9
	木犀草素	淫羊藿、丹参、五指毛桃、麻黄、紫菀	－9.1
	丹参酮ⅡA	丹参	－9.6
	金合欢素	五指毛桃	－8.6
TNF	山柰酚	五指毛桃、麻黄、甘草、紫菀、淫羊藿	－9.2
	槲皮素	甘草、紫菀、淫羊藿、五指毛桃、麻黄	－9.2
	木犀草素	淫羊藿、丹参、五指毛桃、麻黄、紫菀	－9.3
	隐丹参酮	丹参	－8.6
IL－6	槲皮素	甘草、紫菀、淫羊藿、五指毛桃、麻黄	－7.0
	木犀草素	淫羊藿、丹参、五指毛桃、麻黄、紫菀	－7.1

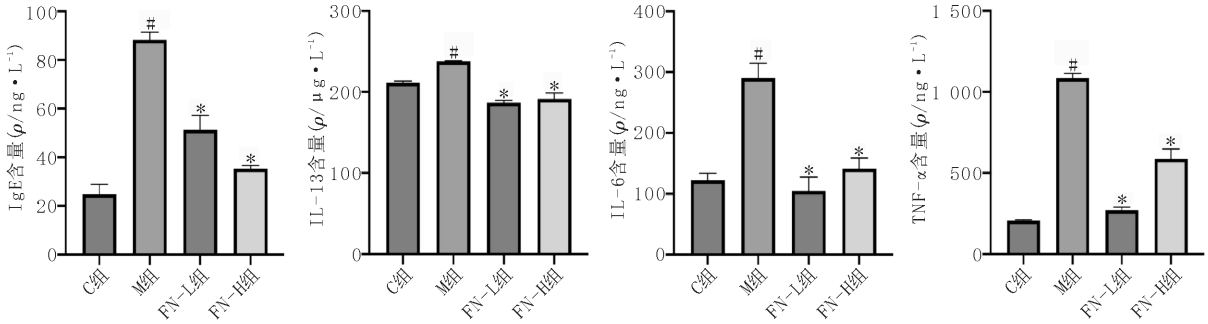


注：A：TP53 － 丹参酮ⅡA；B：TP53 － 木犀草素；C：TNF － 木犀草素；D：TNF － 山柰酚；E：TNF － 槲皮素。

图 6　分子对接示意图

3.2　动物实验结果

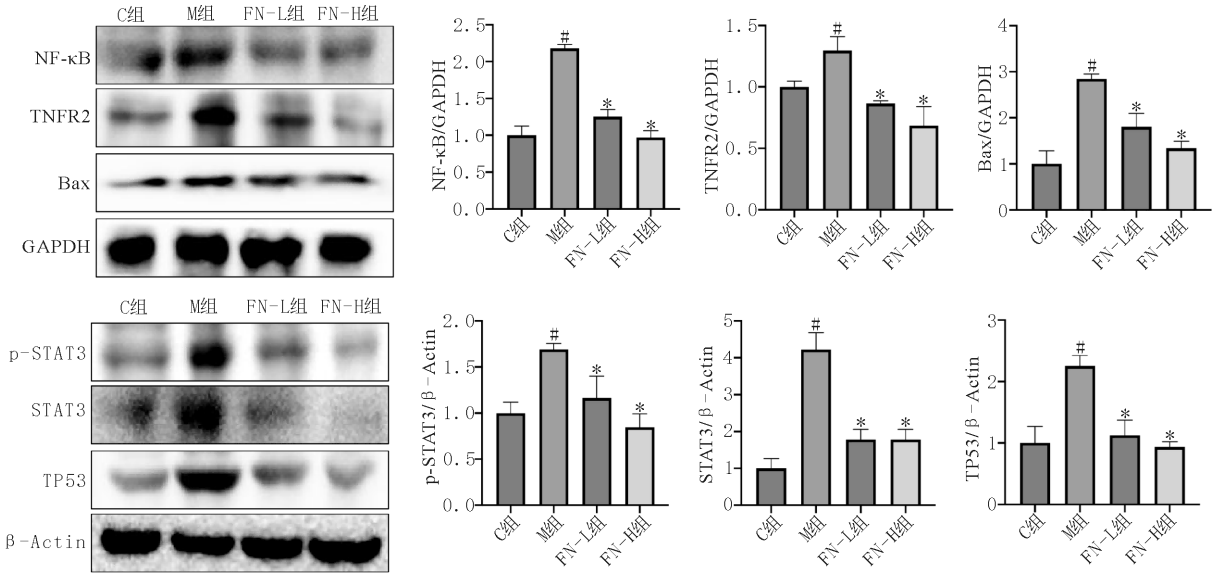
3.2.1　FN－1 对小鼠 BALF 中 IgE、IL－13、TNF－α、IL－6 含量的影响　ELISA 显示，与 C 组比较，M 组小鼠 BALF 中 IgE、IL－13、TNF－α、IL－6 含量升高（$P<0.05$）；与 M 组比较，FN－L 与 FN－H 组小鼠 BALF 中 IgE、IL－13、TNF－α、IL－6 含量降低（$P<0.05$），见图 7。



注：$n=6$，与 C 组比较，#$P<0.05$；与 M 组比较，*$P<0.05$。

图 7　各组小鼠 BALF 中 IgE、IL－13、IL－6、TNF－α 含量比较

3.2.2　FN－1 对小鼠肺脏 NF－κB、TNFR2、Bax、TP53、p－STAT3、STAT3 蛋白表达水平的影响　Western blot 显示，与 C 组比较，M 组小鼠肺脏 NF－κB、TNFR2、Bax、TP53、p－STAT3、STAT3 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与 M 组比较，FN－L 与 FN－H 组小鼠肺脏 NF－κB、TNFR2、Bax、TP53、p－STAT3、STAT3 蛋白表达水平降低（$P<0.05$），见图 8。



注：$n=3$，与 C 组比较，#$P<0.05$；与 M 组比较，*$P<0.05$。

图 8　各组小鼠肺脏 NF－κB、TNFR2、Bax、TP53、p－STAT3、STAT3 蛋白表达水平比较

4　讨论

在中医学中，哮喘被称为“哮病”，其发病机理与“肺肾两虚”紧密相关。肺主气，肾藏精，肺气不足则气逆上冲，肾精亏虚则纳气无力，导致喘息不断。治疗之道遵循“急则治标，缓则治本”的原则，发作期以祛邪为主，缓解期则扶正固本，调养肺脾肾三脏，以恢复肺之宣发肃降，肾之摄纳精气，从而缓解哮喘之苦。肺宁 1 号方以蜜麻黄为君药，宣肺平喘，针对哮喘之主症；紫菀和浙贝母为臣药，辅助化痰止咳，增强君药之力；五指毛桃和淫羊藿作为佐药，健脾温肾，调理身体根本；丹参作为使药，活血化瘀，引领诸药直达病所；甘草调和诸药；盐巴戟天辅助补肾。全方共奏疏解风邪、宣通肺气、温煦阳气及平定喘咳之功，综合施治以缓解哮喘症状。

FN－1 的主要活性成分、作用靶点及作用通路，仍有待深入探讨。本研究基于网络药理学方法，构建了 FN－1 的“中药－活性成分－交集靶点”网络，挖掘了 FN－1 的核心靶点及其治疗哮喘的潜在分子机制，并通过动物实验对部分结果进行验证。“中药－活性成分－交集靶点”网络显示，槲皮素、山柰酚、木犀草素、7－甲氧基－2－甲基－异黄酮、

丹参酮ⅡA、β－谷甾醇匹配到较多靶点，可能为 FN－1 治疗哮喘的关键成分。研究发现，槲皮素可降低 OVA－IgE、IL－5、IL－13 和单核细胞趋化蛋白－1 的表达，减少炎症细胞浸润，进而减少气道纤维化，改善哮喘[17]。山柰酚可通过下调 NOX4 介导的自噬，减轻 OVA 诱导的小鼠气道重塑[18]。木犀草素不仅可以减轻过敏性哮喘小鼠的气道炎症，减少气道黏液分泌和胶原沉积，还可以抑制哮喘小鼠肺组织的自噬反应[19]。丹参酮ⅡA 通过促进 Nrf2、抗氧化酶的表达，减轻气道炎症和高反应性[20]。β－谷甾醇可能通过靶向作用于糖皮质激素受体，抑制 Th2 驱动的炎症和气道重塑，具有显著的平喘作用[21]。由此说明，FN－1 治疗哮喘是通过多成分、多靶点、多通路发挥作用的，其机制与调控炎症反应、氧化应激、自噬等有关。

PPI 网络分析可知，FN－1 治疗哮喘的核心靶点包括 STAT3、TP53、TNF、IL－6 等。研究表明，STAT3 是参与 M2 巨噬细胞极化的重要蛋白之一，能够促进过敏性炎症和胶原沉积导致的呼吸道重塑，最终诱发哮喘[22]。TP53 是促凋亡蛋白，哮喘患者支气管上皮细胞凋亡增加，因此抑制上皮细胞凋亡可能是改善哮喘的有效途径[23]。哮喘的发病机制与 TNF 等炎症因子的释放有关，TNF 能够促进 Th2 细胞释放 IL－4 和 IL－6，导致嗜酸性粒细胞浸润、黏液过度产生和气道高反应性，最终诱导哮喘[24]。本研究显示，FN－1 可有效降低 BALF 中 TNF－α、IL－6 含量，同时降低 p－STAT3、STAT3 和 TP53 的蛋白表达水平，提示 FN－1 可能通过抗炎、抗凋亡，从而发挥治疗作用。

GO 和 KEGG 富集分析显示，FN－1 主要调控炎症反应、对外源性刺激的反应等过程，以及 AGE－RAGE 信号通路、TNF 信号通路、IL－17 信号通路、PI3K/AKT 信号通路等。AGE－RAGE 信号通路与炎症过程相关，AGEs 可激活 RAGE 受体，导致炎症反应，增加气道黏液的产生，并可能影响气道的收缩[25]。TNF 信号通路参与多种信号传导，主要通过上调 MAPK、NF－κB 来促进炎症反应，同时增加黏液的分泌、激活免疫细胞，推动哮喘发生发展[26]。IL－17 是 Th17 细胞分泌的主要促炎因子，IL－17 在面对多种病原体侵袭时，触发一连串的免疫反应，并与 TNF－α 共同作用，引发包括 IL－6 在内的多种促炎介质的生成，进而激活 NF－κB 信号通路，诱导气道炎症、黏液高分泌、杯状细胞增生、肌成纤维细胞分化和气道平滑肌收缩等，因此 IL－17 信号通路在哮喘的发生发展中亦起到重要作用[27－28]。PI3K/AKT 信号通路可被多种刺激因素激活，如细胞因子、炎症介质和氧化应激等，这可能导致多重效应，包括气道炎症、黏液过度分泌及气道平滑肌收缩等，且为 NF－κB 信号通路的上游激活因子，能够促进细胞因子的释放和各类免疫细胞的活化[29]。研究表明，在哮喘的病理过程中，NF－κB 通路激活对炎症细胞因子和趋化因子的表达进行调控，影响 Th2 细胞的分化，导致免疫系统对气道中的刺激产生过度反应。这种过度反应导致气道炎症、黏液分泌过多和气道平滑肌收缩，进而引发哮喘[30]。Th2 细胞可分泌 IL－13 细胞因子，其分泌增加可促使 B 细胞生成 IgE，进而结合到肺部的肥大细胞上，影响黏液分泌[31]。动物实验结果表明，FN－1 可有效降低哮喘小鼠 BALF 中 IL－13 和 IgE 含量，同时降低小鼠肺组织中 Bax、TNFR2、NF－κB 蛋白表达水平，提示 FN－1 能够通过 TNF 信号通路抑制 Th2 型细胞因子介导的炎症反应及黏液分泌，进而发挥改善哮喘的作用。

综上所述，FN－1 可能通过槲皮素、山柰酚等活性成分，作用于 STAT3、TP53、TNF、IL－6 等靶点，调控 TNF、IL－17 等炎症相关信号通路，减少 Th2 型细胞因子分泌，从而发挥治疗哮喘的作用。本研究为 FN－1 治疗哮喘的基础与临床研究提供参考，后续将着重研究主要活性成分和信号通路，为揭示中药复方多成分、多靶点、多通路的调控机制提供思路。

参考文献：

[1] HUANG K W, YANG T, XU J Y, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross－sectional study[J]. Lancet, 2019, 394(10196): 407－418.

[2] MILLER R L, GRAYSON M H, STROTHMAN K. Advances in asthma: New understandings of asthma′s natural history, risk factors, underlying mechanisms, and clinical management[J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 148(6): 1430－1441.

[3] 章晶晶，李梦雯，范欣生，等. 三拗汤对 OVA 诱导哮喘小鼠模型的效应及 TRPV2 表达的影响[J]. 中国中药杂志，2020，45(11)：2619－2625.

[4] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6(1): 13.

[5] COUDERT E, GEHANT S, DE CASTRO E, et al. Annotation of biologically relevant ligands in UniProtKB using ChEBI[J]. Bioinformatics, 2023, 39(1): btac793.

[6] AMBERGER J S, BOCCHINI C A, SCHIETTECATTE F, et al. OMIM. org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(Database issue): D789－D798.

[7]ZHOU Y,ZHANG Y T,ZHAO D H,et al. TTD:Therapeutic Target Database describing target druggability information[J]. Nucleic Acids Res,2024,52(D1):D1465 - D1477.
[8]STELZER G,ROSEN N,PLASCHKES I,et al. The GeneCards suite:from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. Curr Protoc Bioinformatics,2016,54:1.30.1 - 1.30.33.
[9]WISHART D S,FEUNANG Y D,GUO A C,et al. DrugBank 5.0:a major update to the DrugBank database for 2018[J]. Nucleic Acids Res,2018,46(D1):D1074 - D1082.
[10]HEBERLE H,MEIRELLES G V,DA SILVA F R,et al. InteractiVenn:a web - based tool for the analysis of sets through Venn diagrams[J]. BMC Bioinformatics,2015,16(1):169.
[11]SZKLARCZYK D,KIRSCH R,KOUTROULI M,et al. The STRING database in 2023:protein - protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J]. Nucleic Acids Res,2023,51(D1):D638 - D646.
[12]ZHOU Y 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.
[13]ROSE A S,BRADLEY A R,VALASATAVA Y,et al. Web - based molecular graphics for large complexes[C]//Proceedings of the 21st International Conference on Web3D Technology. Anaheim California. ACM,2016:185 - 186.
[14]LERTNIMITPHUN P,ZHANG W H,FU W W,et al. Safranal alleviated OVA - induced asthma model and inhibits mast cell activation[J]. Front Immunol,2021,12:585595.
[15]赵子樟,李佳晌,宿树兰,等. 基于网络药理学及细胞实验的乳香 - 没药功效成分抗炎机制研究[J]. 中国中药杂志,2021,46(21):5674 - 5682.
[16]周昊言,孙若岚,季千惠,等. 基于网络药理 - 分子对接解析川芎 - 赤芍药对干预脑缺血的作用机制[J]. 中国中药杂志,2021,46(12):3007 - 3015.
[17]FANG Y N,JIN W W,GUO Z,et al. Quercetin alleviates asthma - induced airway inflammation and remodeling through downregulating periostin via blocking TGF - β1/smad pathway[J]. Pharmacology,2023,108(5):432 - 443.
[18]XU J F,YU Z Y,LI W. Kaempferol inhibits airway inflammation induced by allergic asthma through NOX4 - Mediated autophagy[J]. Hum Exp Toxicol,2023,42:9603271231154227.
[19]WANG S Y,WUNIQIEMU T,TANG W F,et al. Luteolin inhibits autophagy in allergic asthma by activating PI3K/Akt/mTOR signaling and inhibiting Beclin - 1 - PI3KC3 complex[J]. Int Immunopharmacol,2021,94:107460.
[20]WANG S B,GUO X F,WENG B,et al. Tanshinone ⅡA attenuates ovalbumin - induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma[J]. Iran J Basic Med Sci,2019,22(2):160 - 165.
[21]XU J F,YANG L,LIN T T. β - sitosterol targets glucocorticoid receptor to reduce airway inflammation and remodeling in allergic asthma[J]. Pulm Pharmacol Ther,2023,78:102183.
[22]NIKOLSKII A A,SHILOVSKIY I P,BARVINSKAIA E D,et al. Role of STAT3 transcription factor in pathogenesis of bronchial asthma[J]. Biochemistry,2021,86(11):1489 - 1501.
[23]GENG G,DU Y,DAI J H,et al. KIF3A knockdown sensitizes bronchial epithelia to apoptosis and aggravates airway inflammation in asthma[J]. Biomed Pharmacother,2018,97:1349 - 1355.
[24]SARKATE A P,MURUMKAR P R,LOKWANI D K,et al. Design of selective TACE inhibitors using molecular docking studies:Synthesis and preliminary evaluation of anti - inflammatory and TACE inhibitory activity[J]. SAR QSAR Environ Res,2015,26(11):905 - 923.
[25]SHARMA A,KAUR S,SARKAR M,et al. The AGE - RAGE axis and RAGE genetics in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Clin Rev Allergy Immunol,2021,60(2):244 - 258.
[26]齐玲,王玮瑶,张艳春,等. 肿瘤坏死因子 α 信号传导通路在儿童哮喘发病机制中的作用[J]. 吉林大学学报:医学版,2015,41(2):379 - 382.
[27]RAMAKRISHNAN R K,AL HEIALY S,HAMID Q. Role of IL - 17 in asthma pathogenesis and its implications for the clinic[J]. Expert Rev Respir Med,2019,13(11):1057 - 1068.
[28]NAVARRO - COMPAN V,PUIG L,VIDAL S,et al. The paradigm of IL - 23 - independent production of IL - 17F and IL - 17A and their role in chronic inflammatory diseases[J]. Frontiers in Immunology,2023,14:1 - 14.
[29]MA B W,ATHARI S S,MEHRABI N E,et al. PI3K/AKT/mTOR and TLR4/MyD88/NF - κB signaling inhibitors attenuate pathological mechanisms of allergic asthma[J]. Inflammation,2021,44(5):1895 - 1907.
[30]WAN Y Y. Multi - tasking of helper T cells[J]. Immunology,2010,130(2):166 - 171.
[31]EL - HASHIM A Z,KHAJAH M A,RENNO W M,et al. Src - dependent EGFR transactivation regulates lung inflammation via downstream signaling involving ERK1/2,PI3Kδ/Akt and NFκB induction in a murine asthma model[J]. Sci Rep,2017,7(1):9919.

收稿日期:2025 - 11 - 15
作者简介:王依婷(2000 -),女,广东揭阳人,硕士研究生,主要从事中药制剂开发与研究。
通信作者:彭伟文(1967 -),男,湖南娄底人,硕士研究生导师,主要从事中药制剂开发与研究。E - mail:pww200688@21cn.com

编辑:刘凯歌