

引用本文: 曹文婷, 冯亮, 李莉, 等. 白芍总苷通过白细胞介素-6/信号转导及转录激活蛋白3信号通路对脂多糖诱导的急性肺炎小鼠炎症反应的影响[J]. 安徽医药, 2022, 26(1): 12-16. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.01.003.

◇ 药学研究 ◇



白芍总苷通过白细胞介素-6/信号转导及转录激活蛋白3信号通路对脂多糖诱导的急性肺炎小鼠炎症反应的影响

曹文婷¹, 冯亮², 李莉², 仁青措毛², 李广庭², 王海荣³

作者单位:¹青海省交通医院药剂科, 青海 西宁 810001; ²青海省心脑血管病专科医院药剂科, 青海 西宁 810001; ³内蒙古自治区国际蒙医医院创新蒙医药工程研究中心, 内蒙古自治区 呼和浩特 010065

摘要: **目的** 探讨白芍总苷(TGP)通过白细胞介素-6/信号转导及转录激活蛋白3(IL-6/STAT3)信号通路对脂多糖诱导的急性肺炎小鼠炎症反应的影响。**方法** 本研究起止时间为2019年10月至2020年2月。选择SPF级雄性小鼠50只, 采用随机数字表法将小鼠随机分为五组, 对照组、急性肺炎模型组、TGP低剂量组、TGP中剂量组和TGP高剂量组。采用苏木精-伊红(HE)染色观察各组小鼠肺组织病理形态学; 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测各组小鼠肺组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 含量; 采用蛋白质印迹(Western blotting)检测各组小鼠肺组织IL-6、STAT3、磷酸化信号转导及转录激活蛋白3(p-STAT3)的蛋白表达水平; 采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测各组小鼠肺组织IL-6、STAT3 mRNA表达水平。**结果** 模型组小鼠肺组织结构被破坏, 肺泡间隔增厚, 大量炎性细胞浸润; TGP药物组病理改变较模型组均存在不同程度改善, 白芍总苷高剂量组肺组织仅存在少量炎性细胞浸润。与对照组(45.12 $\pm$ 9.73) ng/L、(21.38 $\pm$ 2.13) ng/L相比, 模型组及TGP各剂量组小鼠肺组织TNF- α (89.30 $\pm$ 9.26) ng/L, (84.32 $\pm$ 5.08) ng/L, (75.36 $\pm$ 4.67) ng/L, (64.06 $\pm$ 5.90) ng/L、IL-1 β 含量(59.69 $\pm$ 3.60) ng/L, (56.87 $\pm$ 5.26) ng/L, (42.48 $\pm$ 4.57) ng/L, (32.39 $\pm$ 2.86) ng/L均升高(均 P <0.05), IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达及IL-6、STAT3 mRNA表达水平均显著升高(均 P <0.05)。与模型组相比, TGP中剂量组和TGP高剂量组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量、IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达及IL-6、STAT3 mRNA表达水平均显著降低(均 P <0.05), 而TGP低剂量组与模型组相比, 小鼠肺组织各指标虽降低但差异无统计学意义(P >0.05)。**结论** TGP可有效降低LPS诱导的急性肺炎小鼠肺组织炎症水平, 并抑制IL-6/STAT3信号通路的活化, 进而改善肺组织损伤。

关键词: 芍药属; 白芍总苷; 白细胞介素6/信号转导及转录激活蛋白3信号通路; 脂多糖; 肺炎; 炎症; 急性肺损伤

Effects of TGP on the inflammatory responses of LPS-induced acute pneumonia in mice via interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway

CAO Wenting¹, FENG Liang², LI Li², Renqingcuomao², LI Guangting², WANG Hairong³

Author Affiliations:¹Pharmaceutical Preparation Section, Traffic Hospital of Qing Hai, Xining, Qinghai 810001, China; ²Pharmaceutical Preparation Section, Qinghai Cardio-Cerebrovascular Disease Specialist Hospital, Xining, Qinghai 810001, China; ³Research Center for Innovative Mongolian Medicine Engineering, Inner Mongolia Autonomous Region International Mongolian Medical Hospital, Inner Mongolia, Hohhot, Inner Mongolia Autonomous Region 010065, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of total glucosides of paeony (TGP) on the inflammatory responses of LPS-induced acute pneumonia in mice through interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 (IL-6/STAT3) signaling pathway. **Methods** The experimental study started and ended from October 2019 to February 2020. 50 SPF male mice were randomly assigned into 5 groups by random number table method: control group, acute pneumonia model group, TGP low dose group, TGP middle dose group and TGP high dose group. Hematoxylin Eosin (HE) staining was used to observe the pathomorphology of lung tissue of mice in each group. The levels of tumor necrosis factor α (TNF- α) and Interleukin (IL)-1 β in lung tissue of mice in each group were detected by Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA). Western blotting was used to detect the protein expression level of IL-6, STAT3 and signal transducer and activator of transcription 3 phosphorylation (p-STAT3) in lung tissue of mice in each group. Quantitative Real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of IL-6 and STAT3 mRNA. **Results** In the model group, the lung tissue structure was destroyed, the alveolar septum was thickened, and a large number of inflammatory cells infiltrated; the pathological changes of TGP group were improved in different degrees compared with model group, and only a small amount of inflammatory cells infiltrated in the high dose group of TGP.

Compared with the control group, the levels of TNF- α [(89.30 $\pm$ 9.26) ng/L, (84.32 $\pm$ 5.08) ng/L, (75.36 $\pm$ 4.67) ng/L, (64.06 $\pm$ 5.90) ng/L vs. (45.12 $\pm$ 9.73) ng/L], IL-1 β [(59.69 $\pm$ 3.60) ng/L, (56.87 $\pm$ 5.26) ng/L, (42.48 $\pm$ 4.57) ng/L, (32.39 $\pm$ 2.86) ng/L vs. (21.38 $\pm$ 2.13) ng/L] in the lung tissues of the model group and the TGP groups were increased (all $P < 0.05$), and IL-6, STAT3, p-STAT3 protein expression and IL-6, STAT3 mRNA expression were significantly increased (all $P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, STAT3, p-STAT3 protein expression and IL-6, STAT3 mRNA expression in the lung tissue of mice in the middle dose group and the high dose group of TGP were significantly reduced (all $P < 0.05$), and the indexes of mouse lung tissue in the low dose TGP group decreased, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** TGP can effectively reduce the inflammatory level of lung tissue in LPS induced acute pneumonia mice, inhibit the activation of IL-6/STAT3 signaling pathway, and improve lung tissue damage.

Key words: Paeonia; TGP; Interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway; LPS; Pneumonia; Inflammatory; Acute lung injury

急性肺炎(acute pneumonia)是肺部的一个炎症过程,它通常是由细菌和病毒等微生物感染引起的,但真菌和寄生虫也可能引起疾病。脂多糖(LPS)目前被认为是诱导急性肺炎的主要药物^[1-2]。白细胞介素-6(IL-6)是一种多向性细胞因子,具有广泛的生物学活性;信号转导与转录激活蛋白3(STAT3)主要由IL-6特异性激活,磷酸化后的STAT3可入核调节下游靶基因^[3]。有研究发现,下调IL-6/STAT3信号通路可缓解溃疡性结肠炎大鼠肠组织的炎症状态^[4]。目前临床上治疗急性肺炎使用的镇痛抗炎药物持续大量使用后会引发不良反应,而天然中药品种多,毒副作用小,大多安全有效^[5]。白芍总苷(total glucosides of paeony, TGP)是白芍中提取的苷类的总称,包括芍药苷、羟基芍药苷、芍药苷、白芍苷、苯甲酰芍药苷等,具有抗炎、镇痛、抗炎、免疫调节和抗氧化等多种药理作用^[6]。然而目前关于白芍总苷对LPS诱导急性肺炎小鼠的保护作用研究较少,因此本研究通过探讨白芍总苷对急性肺炎小鼠肺组织的保护作用及IL-6/STAT3信号通路的调控,为临床治疗急性肺炎提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选择SPF级雄性ICR小鼠50只,年龄范围6~8周,体质量范围20~28 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物生产许可证证号为SCXK(沪)2017-0005。实验研究起止时间为2019年10月至2020年2月,符合一般动物实验伦理学原则。

1.1.2 实验主要试剂 LPS购自美国Sigma公司;白芍总苷购自宁波立华制药有限公司;DAB显色试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司;逆转录试剂盒购自中国赛默飞世尔科技公司;Trizol购自美国Invitrogen公司;IL-6、STAT3、 β -肌动蛋白(β -actin) qRT-PCR上下游引物购自上海生工公司;IL-6兔多克隆抗体(ab208113)、STAT3兔单克隆抗体(ab68153)、磷酸化信号转导与转录激活蛋白3(p-STAT3)兔单克隆抗体(ab76315)均购自美国Abcam

公司;山羊抗兔二抗购自美国LI-COR公司;小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)ELISA试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 建立动物模型、分组 随机数字表法取40只小鼠,将小鼠麻醉后固定,用移液枪吸取5 mg/mL LPS溶液80 μ L,分3次滴鼻建立急性肺炎小鼠模型^[5],剩余10只为对照组滴鼻等量的生理盐水。模型建立后采用随机数字表法分为四组:TGP低剂量组灌胃给药白芍总苷60 mg/kg, TGP中剂量组:灌胃给药白芍总苷120 mg/kg, TGP高剂量组:灌胃给药白芍总苷240 mg/kg,模型组:灌胃等量的生理盐水,每天1次,共治疗2周。

1.3 观察指标

1.3.1 HE染色观察 各组小鼠肺组织病理形态学小鼠麻醉处死后取肺组织并用0.9%生理盐水漂洗、滤纸、吸干,用10%中性福尔马林溶液固定48 h,然后进行常规石蜡包埋、切片。病理切片厚度为4 μ m,苏木素、酒精-伊红染色,中性树脂封片后镜下观察肺组织形态及病理改变。

1.3.2 ELISA检测 各组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量 将肺组织匀浆并离心后提取上清液,分别用TNF- α 、IL-1 β ELISA试剂盒检测肺组织中TNF- α 、IL-1 β 含量。

1.3.3 Western blotting检测 肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达水平 取肺组织加入RIPA裂解液裂解后提取肺组织中总蛋白,采用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。每组按50 μ g蛋白上样量经10% SDS-PAGE凝胶进行电泳分离,用200 mA恒流转膜2 h至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1 h, TBST洗膜后加入一抗(1:1 000稀释),4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST洗膜后再加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:1 500稀释),室温孵育1 h后TBST洗膜。随后使用ECL化学发光法检测,于暗室成像拍照,以 β -actin为内参,使用Image J分析软件进行分析计算。

1.3.4 qRT-PCR法检测 肺组织IL-6、STAT3表达水平 Trizol法提取肺组织总RNA,酶标仪检测其浓

度后将总RNA逆转录成cDNA,以cDNA为模版采用SYBR Green I实时荧光定量PCR方法检测各组肺组织IL-6、STAT3基因的表达式。引物由上海生工公司设计合成,引物设计如下:IL-6上游引物5'-GAGAGCATTGCAAGTTGGGC-3',下游引物5'-CTTCCAGCCAGTTGCCTTCT-3';STAT3上游引物5'-TTGCCAGTTGTGGTGATC-3',下游引物5'-AGACCCAGAAGGAGCCGC-3'; β -actin上游引物5'-CTGGGACGACATGGAGAAAA-3',下游引物5'-AAGGAAGGCTGGAAGAGTGC-3'。反应条件:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,57℃退火30 s,72℃延伸30 s,共40个循环,最后72℃延伸10 min。每组IL-6、STAT3基因的相对表达量按公式($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法)计算。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行数据分析,所有实验数据均呈正态分布,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。以 $\alpha=0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE染色观察各组小鼠肺组织病理形态学 光镜下观察结果发现,对照组肺组织结构完整、形态正常,没有炎性细胞浸润;模型组肺组织结构被破坏,肺泡间隔增厚,大量炎性细胞浸润;TGP药物组病理改变较模型组均存在不同程度改善,白芍总苷高剂量组肺组织仅存在少量炎性细胞浸润。见图1。

2.2 各组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量 与对照组相比,模型组与TGP各剂量组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量均显著升高($P<0.05$)。与模型组相比,TGP中剂量组和TGP高剂量组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量均显著降低($P<0.05$),而TGP低剂量组与模型组相比,小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量虽降低但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.3 各组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达水平 Western blotting结果显示,与对照组相比,模型组及TGP各剂量组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组相比,TGP中剂量组和TGP高剂量组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$),而TGP低剂量组与模型组相比,小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达水平

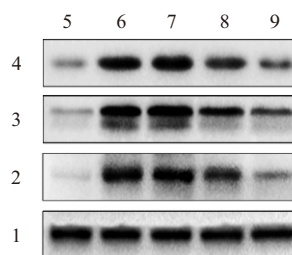
差异无统计学意义($P>0.05$)。见图2、表2。

2.4 各组小鼠肺组织IL-6、STAT3 mRNA表达水平 qRT-PCR结果发现,与对照组相比,模型组及TGP各剂量组小鼠肺组织IL-6、STAT3 mRNA均显

表1 各组小鼠肺组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)含量/(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TNF- α	IL-1 β
对照组	10	45.12 $\pm$ 9.73	21.38 $\pm$ 2.13
模型组	10	89.30 $\pm$ 9.26 ^①	59.69 $\pm$ 3.60 ^①
TGP低剂量组	10	84.32 $\pm$ 5.08 ^①	56.87 $\pm$ 5.26 ^①
TGP中剂量组	10	75.36 $\pm$ 4.67 ^{①②}	42.48 $\pm$ 4.57 ^{①②}
TGP高剂量组	10	64.06 $\pm$ 5.90 ^{①②}	32.39 $\pm$ 2.86 ^{①②}
F值		59.303	176.895
P值		<0.001	<0.001

注:①与对照组相比, $P<0.05$ 。②与模型组相比, $P<0.05$ 。



注:1— β -肌动蛋白(β -actin);2—磷酸化信号转导及转录激活蛋白3(p-STAT3);3—信号转导与转录激活蛋白3(STAT3);4—白细胞介素-6(IL-6);5—对照组;6—模型组;7—TGP低剂量组;8—TGP中剂量组;9—TGP高剂量组。

图2 各组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达电泳图

表2 各组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	IL-6	STAT3	p-STAT3
对照组	3	4.49 $\pm$ 0.65	5.36 $\pm$ 0.81	2.95 $\pm$ 0.43
模型组	3	11.50 $\pm$ 1.14 ^①	16.57 $\pm$ 1.31 ^①	9.64 $\pm$ 1.05 ^①
TGP低剂量组	3	12.83 $\pm$ 1.25 ^①	17.47 $\pm$ 0.86 ^①	8.71 $\pm$ 0.86 ^①
TGP中剂量组	3	9.27 $\pm$ 0.72 ^{①②}	14.10 $\pm$ 0.92 ^{①②}	7.49 $\pm$ 0.83 ^{①②}
TGP高剂量组	3	6.37 $\pm$ 1.14 ^{①②}	10.39 $\pm$ 0.99 ^{①②}	4.53 $\pm$ 0.45 ^{①②}
F值		35.142	74.557	41.256
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:IL-6为白细胞介素-6,STAT3为信号转导与转录激活蛋白3,p-STAT3为磷酸化信号转导与转录激活蛋白3。

①与对照组相比, $P<0.05$ 。②与模型组相比, $P<0.05$ 。

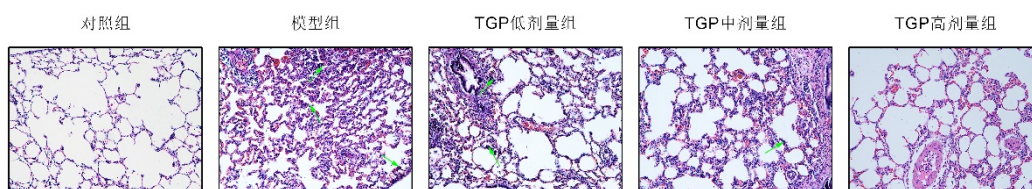


图1 各组小鼠肺组织病理形态学改变(HE染色 $\times 200$)

著升高($P<0.05$)。与模型组相比, TGP中剂量组和TGP高剂量组小鼠肺组织 IL-6、STAT3 mRNA 均显著降低($P<0.05$), 而TGP低剂量组与模型组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 各组小鼠肺组织IL-6、STAT3 mRNA表达水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	IL-6	STAT3
对照组	10	17.17±1.67	1.16±0.09
模型组	10	48.29±4.92 ^①	5.84±0.26 ^①
TGP低剂量组	10	45.83±4.08 ^①	5.62±0.23 ^①
TGP中剂量组	10	33.24±3.45 ^{①②}	3.60±0.21 ^{①②}
TGP高剂量组	10	27.92±1.46 ^{①②}	3.20±0.39 ^{①②}
F值		143.865	574.446
P值		<0.001	<0.001

注: IL-6为白细胞介素-6, STAT3为信号转导与转录激活蛋白3。

①与对照组相比, $P<0.05$ 。②与模型组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

肺炎是一种炎症性疾病, 其特征是下呼吸道感染包括细菌、病毒和真菌在内的病原体。作为一种有效的内毒素, LPS是革兰阴性菌细胞壁的主要生物活性成分, 可引起机体支气管炎、肺炎、肝炎等, 对炎症反应起着关键作用^[7]。目前有学者研究传统中药抗炎作用机制, 探究中药单体对内毒素引起的急性肺损伤的保护作用及机制^[8]。有研究发现, 龙利叶作为天然抗氧化剂可降低LPS所致急性肺损伤(ALI)的炎症水平及体外氧化作用^[9]。另有研究发现, 莲心碱可通过抗炎抗氧化作用保护LPS诱导的小鼠急性肺损伤^[10]。药理学研究证明, 白芍总苷具有抗炎免疫调节和护肝等作用, 能有效缓解自身免疫性肝炎患者肝脏组织损伤, 维持机体免疫平衡^[11]。本研究采用LPS诱导急性肺炎小鼠模型, 结果发现, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织结构被破坏, 肺泡间隔增厚, 大量炎性细胞浸润; 采用TGP药物治疗2周后, 结果发现, 各TGP药物组病理改变较模型组均存在不同程度改善, TGP高剂量组肺组织仅存在少量炎性细胞浸润, 提示TGP可有效改善LPS诱导的急性肺组织损伤, 且TGP高剂量治疗效果最好。

TNF- α 由激活的肺泡巨噬细胞产生和分泌, 可刺激肺成纤维细胞的增殖和胶原蛋白的合成, 并诱导炎症细胞的聚集, 其作为重要的炎症介质调节肺泡上皮细胞的炎症级联反应^[12]。TNF- α 已被证明是炎症反应和肿瘤或免疫疾病进展的中心^[13]。有研究发现, 甘草黄酮显著降低小鼠血清IL-1、IL-6和TNF- α 水平, 对LPS诱导的急性肺损伤小鼠具有保护作用^[14]。Naveed等^[15]研究发现白芍总苷通过降低炎症细胞因子(TGF- β 1、IL-1 β)和抑制MMP-2的表达, 改善心脏的形态学和生理学, 减轻心肌重塑。

本研究结果发现, 与对照组相比, 模型组各组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量均显著升高; 与模型组相比, TGP中剂量组和TGP高剂量组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 含量均显著降低, 呈一定的剂量关系。提示高剂量TGP可有效抑制急性肺炎小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 等炎症细胞因子的含量。

STAT3作为重要的转录因子, 在调控炎症因子的表达中发挥重要作用, STAT3磷酸化水平升高可放大脂多糖诱导的小鼠炎症反应^[16]。IL-6是一种参与多种生理和病理过程的促炎细胞因子, 可触发STAT信号传导途径, STAT3是IL-6下游的主要信号传导因子^[17]。IL-6/STAT3信号通路是参与肿瘤形成的经典炎症通路, Deng等^[18]研究发现, 黄芪白术汤可以通过抑制IL-6/STAT3信号通路显著降低小鼠的死亡率, 并控制结肠肿瘤的发生和大小, 抑制结肠炎相关癌炎症的发展。王倩等^[4]研究表明, 蒲公英多糖能降低溃疡性结肠炎大鼠的IL-6水平, 调节IL-6/STAT3途径中sIL-6R α 和gp130蛋白的表达, 进而下调STAT3和IL-6 mRNA的表达; 在大鼠肠组织中, 减轻结肠炎症状态, 保护和修复黏膜组织。本研究通过检测各组小鼠肺组织STAT3和IL-6表达水平, 结果发现, 与对照组相比, 模型组及TGP各剂量组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达及IL-6、STAT3 mRNA表达水平均显著升高。与模型组相比, TGP中剂量组和TGP高剂量组小鼠肺组织IL-6、STAT3、p-STAT3蛋白表达及IL-6、STAT3 mRNA表达水平均显著降低。提示TGP可通过抑制IL-6/STAT3信号通路的激活改善肺组织损伤。

综上, TGP可有效降低LPS诱导的急性肺炎小鼠肺组织炎症水平, 并抑制IL-6/STAT3信号通路的活化, 进而改善肺组织损伤。然而TGP抑制IL-6/STAT3信号通路的具体作用机制有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] ARSHAD H, FASANYA A, CHEEMA T, et al. Acute pneumonia[J]. Crit Care Nurs Q, 2016, 39(2): 148-160.
- [2] 张亚平, 张广平, 苏萍, 等. 不同途径吸入脂多糖致大鼠急性肺炎模型的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 82-88.
- [3] 谭悦, 关雅迪, 郑长清. 山姜素对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠溃疡性结肠炎的保护作用及其作用机制研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(6): 1303-1311.
- [4] 王倩, 别玉龙, 王豆, 等. 蒲公英多糖对溃疡性结肠炎大鼠IL-6/STAT3信号通路的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2017, 33(5): 422-425.
- [5] 唐洁, 吕云瑶, 龙之浩, 等. 筋骨草水煎液对急性肺炎的保护作用研究[J]. 川北医学院学报, 2017, 32(3): 329-331.

- [6] LI QL, SHAN QY, SANG XN, et al. Total glycosides of peony protects against inflammatory bowel disease by regulating IL-23/IL-17 axis and Th17/Treg balance[J]. Am J Chin Med, 2019, 47(1):177-201.
- [7] ZHANG YE, ZHU YY, GAO GS, et al. Knockdown XIST alleviates LPS-induced WI-38 cell apoptosis and inflammation injury via targeting miR-370-3p/TLR4 in acute pneumonia[J]. Cell Biochem Funct, 2019, 37(5):348-358.
- [8] 李开瑞, 宋岚, 刘洁. 中药防治急性肺损伤实验研究进展[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(6):175-177.
- [9] WEI X, LI Y, LI M, et al. The protective effects of *Sauropus spatulifolius* on acute lung injury induced by lipopolysaccharide[J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(12): 4420-4426.
- [10] 陈朝阳, 姚茹, 王璐, 等. 莲心碱对LPS诱导小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(3):343-348.
- [11] 严鸣光, 钟芳芳, 郭建军, 等. 白芍总苷对自身免疫性肝炎大鼠免疫调节机制的研究[J]. 中华生物医学工程杂志, 2018, 24(5):324-327.
- [12] 刘瑞韬, 徐晓玲, 陶金辉, 等. 炎症肌病患者血清中细胞因子水平与间质性肺疾病的相关研究[J]. 安徽医药, 2017, 21(9):1608-1612.
- [13] LING T, XIE J, SHEN YS, et al. Trichostatin A exerts anti-inflammation functions in LPS-induced acute lung injury model through inhibiting TNF- α and upregulating micorRNA-146a expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(7):3935-3942.
- [14] 温换芳, 苗杰. 甘草黄酮对脓毒症急性肺损伤大鼠的保护作用[J]. 安徽医药, 2016, 20(8):1440-1442.
- [15] NAVEED M, HAN L, HASNAT M, et al. Suppression of TGP on myocardial remodeling by regulating the NF- κ B pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108:1460-1468.
- [16] 王凌峰, 卢尧, 孙桂香, 等. 血红素上调STAT3磷酸化放大脂多糖诱导的小鼠炎症反应[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(12):1354-1357.
- [17] LATOURTE A, CHERIFI C, MAILLET J, et al. Systemic inhibition of IL-6/Stat3 signalling protects against experimental osteoarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(4):748-755.
- [18] DENG S, WANG A, CHEN X, et al. HBD Inhibits the development of colitis-associated cancer in mice via the IL-6R/STAT3 signaling pathway[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5): 20051069.DOI: 10.3390/ijms20051069.

(收稿日期:2020-06-22,修回日期:2020-07-04)

引用本文:蒙毅,吴月霞,龚纯,等.基于网络药理学研究半夏治疗功能性消化不良的作用机制[J].安徽医药,2022, 26(1):16-20.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.01.004.

◇ 药学研究 ◇



基于网络药理学研究半夏治疗功能性消化不良的作用机制

蒙毅¹, 吴月霞¹, 龚纯¹, 周瑞东¹, 徐杉¹, 朱永苹²

作者单位:¹广西中医药大学研究生院, 广西壮族自治区 南宁 530001; ²广西中医药大学附属瑞康医院消化内科, 广西壮族自治区 南宁 530011

通信作者:朱永苹,女,主任医师,教授,硕士生导师,研究方向为脾胃病的中西医结合诊治研究,Email:529090217@qq.com

基金项目:广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA281063)

摘要: **目的** 探讨半夏治疗功能性消化不良的作用机制。**方法** 本研究起止2020年1—2月。通过TCMSP数据库检索得到半夏的活性成分和作用靶点,同时借助UniProt、HCBI和PubMed等数据库,得到药物活性成分靶点对应的基因名。利用Gene Cards和OMIM数据库得到功能性消化不良的相关治疗靶点,将其与半夏活性成分靶点取交集后得到药效靶点。将交集靶点通过STRING 11.0数据库进行蛋白质-蛋白质的相互作用网络分析得到潜在的治疗核心蛋白。最后采用KOBAS 3.0平台和DAVID 6.8数据库进行GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析,研究半夏治疗功能性消化不良靶点的作用机制。**结果** 筛选得出半夏的13个活性成分和74个活性成分靶点基因以及35个交集基因。通过蛋白质-蛋白质相互作用网络分析,半夏治疗功能性消化不良可能与B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、RAC α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3)、半胱氨酸蛋白酶-9(CASP9)等靶点蛋白相关。GO功能富集分析得到66个GO条目($P < 0.05$),通过分析我们可以知道半夏治疗功能性消化不良主要与儿茶酚胺结合、内肽酶活性、核受体活性、转录因子活性、凋亡过程中的半胱氨酸型内肽酶活性等功能相关。KEGG信号通路分析得到97条信号通路($P < 0.05$),通过筛选主要与凋亡-多物种、凋亡-乙型肝炎、大肠癌、肿瘤坏死因子等信号通路相关,我们发现这些通路中均含有B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、半胱氨酸蛋白酶(Caspase)、凋亡基因(Bax)等凋亡因子。**结论** 半夏可以通过多成分、多靶点、多途径共同发挥对功能性消化不良的治疗作用,其中在对凋亡通路上的其因子表达抑制或者增强,最终达到抑制组织细胞的凋亡将可能是半夏治疗功能性消化不良的重要机制之一。

关键词: 半夏属; 消化不良; 基因, bcl-2; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶; 细胞凋亡; 网络药理学; 靶点; 信号通路; 京都基因和基因组百科全书(KEGG)