

基于网络药理学及分子对接技术探究冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病作用机制

刘盈盈^{1,2,3}, 高雅琪^{1,2,3}, 豆改杰⁴, 魏立新^{1,2*}, 周文斌^{1,2,5*}

1. 中国科学院西北高原生物研究所 中国科学院藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001
2. 中国科学院西北高原生物研究所 青海省藏药药理学与安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810001
3. 中国科学院大学, 北京 100049
4. 青海大学 藏医学院, 青海 西宁 810016
5. 藏药新药开发国家重点实验室, 青海 西宁 810016

摘要: **目的** 运用网络药理学和分子对接技术探讨冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的物质基础及作用机制。**方法** 通过 TCMSP 等数据库筛选冬虫夏草活性成分并预测其作用靶点。采用 GeneCards、OMIM 数据库筛选慢性阻塞性肺疾病靶点, 合并后去重, 与活性成分靶点取交集。运用 String 数据库构建交集靶点的蛋白质相互作用 (PPI) 网络图, 利用 Cytoscape 3.8.2 软件进行拓扑分析和可视化处理。采用 Metascape 数据库对核心靶点进行基因本体 (GO) 功能富集分析和与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。运用 SwissDock、Pymol 软件进行分子对接验证。**结果** 筛选得到冬虫夏草 14 个主要活性成分, 包括花生四烯酸、啤酒甾醇、 β -谷甾醇、麦角醇、黄豆黄素、棕榈酸胆固醇酯、胆固醇、乙酸亚油酯、豆甾醇、过氧麦角甾醇、菜油甾醇、腺苷、D-甘露醇和麦角甾醇。冬虫夏草活性成分与慢性阻塞性肺疾病相关的交集靶点有 91 个, 核心靶点为肿瘤坏死因子 (TNF)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (CASP3)、表皮生长因子受体 (EGFR)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、非受体蛋白酪氨酸激酶 (SRC) 等。GO 和 KEGG 分析结果显示, 冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的作用机制主要涉及癌症通路、癌症相关蛋白聚糖、脂质和动脉粥样硬化通路、 Ca^{2+} 信号通路、VEGF 信号通路、TRP 通道的炎症介质调节通路等。分子对接结果显示, 冬虫夏草活性成分啤酒甾醇与核心靶点 MMP9 具有较高亲和力。**结论** 本研究发现冬虫夏草可能通过其有效成分花生四烯酸、啤酒甾醇、 β -谷甾醇、棕榈酸胆固醇酯、乙酸亚油酯、腺苷、麦角甾醇等作用于 TNF、TP53、CASP3、EGFR、MMP9、SRC 等慢性阻塞性肺疾病相关靶点, 通过调控癌症通路、癌症相关蛋白聚糖等发挥干预慢性阻塞性肺疾病的作用。

关键词: 冬虫夏草; 慢性阻塞性肺疾病; 网络药理学; 分子对接; 花生四烯酸; 啤酒甾醇; β -谷甾醇; 麦角醇

中图分类号: R285; R286.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)06-1398-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.06.005

Mechanism of *Cordyceps sinensis* intervention in chronic obstructive pulmonary disease based on network pharmacology and molecular docking

LIU Yingying^{1,2,3}, GAO Yaqi^{1,2,3}, DOU Gaijie⁴, WEI Lixin^{1,2}, ZHOU Wenbin^{1,2,5}

1. CAS Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China
2. Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810001, China
3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
4. College of Tibetan Medicine, Qinghai University, Xining 810016, China
5. State Key Laboratory of Tibetan Medicine Research and Development, Xining 810016, China

收稿日期: 2024-03-06

基金项目: 青海省科技计划项目 (2021-SF-A4); 青海省人民政府三江源国家公园联合专项 (LHZX-2022-01); 青海省“中青年人才托举工程”项目 (2022QHSKXRCTJ35)

作者简介: 刘盈盈, 女, 博士, 研究方向为藏药药理与毒理学研究。E-mail: 17863252860@163.com

***通信作者:** 魏立新, 研究员, 研究方向为藏药药理与毒理学研究。E-mail: lxwei@nwipb.cas.cn

周文斌, 副研究员, 研究方向为藏药药理与毒理学研究。E-mail: zhouwenbin@nwipb.cas.cn

Abstract: Objective To explore the material basis and mechanism of *Cordyceps sinensis* in treatment of chronic obstructive pulmonary disease based on network pharmacology and molecular docking techniques. **Methods** TCMSP and other databases were used to screen the active ingredients of *Cordyceps sinensis* and predict their targets. GeneCards and OMIM databases were used to screen chronic obstructive pulmonary disease targets. After merging and deduplicating, the intersection with the active ingredient targets was taken. PPI network of intersection targets was constructed using String database, and the topology analysis and visualization were performed using Cytoscape 3.8.2 software. The Metascape database was used to perform GO functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis of the core targets. Finally, Molecular docking verification was performed using SwissDock and Pymol software. **Results** 14 Active components were selected from *Cordyceps sinensis*, including arachidonic acid, cerevisterol, beta-sitosterol, lysergol, glycitein, cholesteryl palmitate, cholesterol, linoleyl acetate, stigmasterol, peroxyergosterol, campesterol, adenosine, *D*-mannitol, and ergosterol. There were 91 intersecting targets of *Cordyceps sinensis* ingredients associated with chronic obstructive pulmonary disease, involving TNF, TP53, CASP3, EGFR, MMP9, and SRC. GO and KEGG analysis results showed that the mechanism of *Cordyceps sinensis* intervention in chronic obstructive pulmonary disease mainly involved pathways in cancer, proteoglycans in cancer, lipid and atherosclerosis, calcium signaling pathway, VEGF signaling pathway, inflammatory mediator regulation of TRP channels. Molecular docking results demonstrated that cerevisterol, the core active components of *Cordyceps sinensis*, has a highest affinity with MMP9. **Conclusion** In this study, it was found that *Cordyceps sinensis* may act on the disease related targets of TNF, TP53, CASP3, EGFR, MMP9, and SRC through its active components, such as arachidonic acid, brewer sterol, β -sitosterol, cholesterol palmitate, linoleate acetate, adenosine and ergosterol. By regulating cancer pathways, cancer-related proteoglycans play a role in the intervention of chronic obstructive pulmonary disease.

Key words: *Cordyceps sinensis*; chronic obstructive pulmonary disease; network pharmacology; molecular docking; arachidonic acid; cerevisterol; beta-Sitosterol; lysergol

慢性阻塞性肺疾病是一种常见的呼吸系统疾病，以进行性、不完全可逆的气流受限和气道重塑为特征^[1]。我国慢性阻塞性肺疾病患者约 1 亿，已经成为与高血压、糖尿病“等量齐观”的慢性疾病，构成重大疾病负担^[2]。2019 年，世界卫生组织发布，慢性阻塞性肺疾病是全球第三大死亡原因，每年约有 300 万人死于慢性阻塞性肺疾病^[3]。目前临床上用于治疗慢性阻塞性肺疾病的药物主要包括 4 类：支气管扩张剂、糖皮质激素、磷酸二酯酶抑制剂及抗氧化剂^[4]。以上药物对慢性阻塞性肺疾病的治疗仅限于对症治疗和治标阶段，不能有效改善肺功能的衰退，同时存在一定的不良反应，如恶心呕吐、手抖、心慌、心律失常等^[5-7]。传统中藏药具有多成分、多靶点的特点，近年来，从传统中藏药中寻找疗效佳、不良反应低的有效治疗药物受到越来越多研究人员的青睐。

冬虫夏草是麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc. 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体^[8]。《中国药典》记载冬虫夏草甘，平，归肺、肾经；能够补肾益肺，止血化痰；用于肾虚精亏、阳痿遗精、腰膝酸痛、久咳虚喘、劳嗽咯血^[9]。冬虫夏草含有多种化学成分，其中核苷、多糖、虫草酸（甘露醇）、甾醇和脂肪酸等被认为与其活性密切相关，是冬虫夏

草众多生理功效的物质基础^[10]。现代药理学研究也表明，冬虫夏草具有抗炎、抗氧化、抗衰老、抗癌和免疫调节等作用^[11-12]，并且，越来越多的文献报道冬虫夏草具有改善肺功能、缓解慢性阻塞性肺疾病相关症状的功效^[13-14]。

在大数据和人工智能时代，网络药理学结合分子对接技术对于中医药复杂体系研究具有重要的实践指导意义^[15]。本研究应用网络药理学和分子对接技术，对冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的活性成分、潜在靶点和信号通路进行了预测，并探究了其可能的作用机制，为临床冬虫夏草治疗慢性阻塞性肺疾病及深入研究提供一定的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 冬虫夏草有效成分-靶点筛选及网络构建

通过 TCMSP 数据库 (<https://old.tcmisp-e.com/tcmisp.php>)、ETCM 数据库^[16] (<http://www.tcmip.cn/ETCM2/front/#/>) 等检索冬虫夏草化学成分，根据口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ ，类药性 (DL) ≥ 0.18 进行筛选，获得冬虫夏草有效成分。此外，参考文献报道的化合物。从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中获取成分的化学结构或 SMILES 编号。基于 TCMSP 数据库和 SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 进一步鉴定与活性成分相关的靶点，并从 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)

org/) 数据库获得靶点的 Gene name 和 Gene ID。通过 Excel 建立数据文件, 导入 Cytoscape3.8.2 软件构建活性成分-靶点网络。

1.2 慢性阻塞性肺疾病靶点筛选及冬虫夏草-慢性阻塞性肺疾病交集靶点筛选

以“chronic obstructive pulmonary disease”为关键词, 在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库^[17] (<http://www.omim.org/>) 检索慢性阻塞性肺疾病相关靶点, 合并去重后得到潜在靶点。将数据库预测的冬虫夏草的作用靶点和慢性阻塞性肺疾病相关的疾病靶点上传至 Jvenn (<http://jvenn.toulouse.inra.fr/>) 平台, 得到冬虫夏草和慢性阻塞性肺疾病的交集靶点, 并绘制交集靶点韦恩图。

1.3 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建

将筛选出的冬虫夏草和慢性阻塞性肺疾病的交集靶点导入 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 生物种类设定为“Homo sapiens”, 最低置信度为 0.400, 得到蛋白相互作用的核心网络关系图。将其结果导出为 TSV 格式, 并导入 Cytoscape 3.8.2 软件, 进一步绘制药物和疾病靶蛋白的 PPI 图。通过网络拓扑分析, 根据靶点的 degree 值筛选得到排名前 10%的靶标蛋白为核心靶点。

1.4 基因本体 (GO) 与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析

使用 Metascape 数据库 (<http://metascape.org/>) 对交集靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, 筛选阈值为 $P<0.01$, 最小计数为 3, 富集因子 >1.5 。并利用微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 绘制高级气泡图和直方图, 结果按照 P 值从小到大排序, 对 GO 和 KEGG 富集结果可视化。

1.5 分子对接验证

在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 及 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 分别获取配体的 mol2 格式文件, 受体的 pdb 格式文件。在 SwissDock 软件中对受体和配体进行去水、加氢、分配电荷、设置可旋转键等处理, 将 degree 值前 10%的核心靶点分别与冬虫夏草有效成分进行分子对接, 将结果导入 Pymol 软件中进行可视化。

2 结果

2.1 冬虫夏草有效成分-靶点筛选及网络构建

通过 TCMSP 及 ETCM 数据库, 根据 $OB\geq 30\%$ 和 $DL\geq 0.18$, 共检索并筛选得到冬虫夏草 11 个活

性成分, 包括花生四烯酸、啤酒甾醇、 β -谷甾醇、麦角醇、黄豆黄素、棕榈酸胆固醇酯、胆固醇、乙酸亚油酯、豆甾醇、过氧麦角甾醇、菜油甾醇。另研究记载腺苷、 D -甘露醇、麦角甾醇 3 种活性成分是冬虫夏草重要的质量控制成分^[18-19], 也被选择用于进一步的研究。通过 TCMSP 和 SwissTarget Prediction 数据库得到冬虫夏草相关作用靶点 404 个, 见表 1。采用 Cytoscape 3.8.2 软件, 创建活性成分-靶点网络图 (图 1)。该网络由 419 个节点和 745 条边组成。

表 1 冬虫夏草有效活性成分及作用靶点
Table 1 Active ingredients and targets of *Cordyceps sinensis*

TCMSP ID	有效成分	OB/%	DL	靶点数
MOL001439	arachidonic acid	45.57	0.20	122
MOL008998	cervisterol	39.52	0.77	98
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	79
MOL005261	lysergol	48.11	0.27	62
MOL008400	glycitein	50.48	0.24	56
MOL008999	cholesteryl palmitate	31.05	0.45	52
MOL000953	cholesterol	37.87	0.68	50
MOL001645	linoleyl acetate	42.10	0.20	42
MOL000449	stigmaterol	43.83	0.76	41
MOL011169	peroxyergosterol	44.39	0.82	30
MOL012254	campesterol	37.58	0.71	18
MOL001787	adenosine	15.98	0.18	71
MOL000003	<i>D</i> -mannitol	17.73	0.03	8
MOL000298	ergosterol	14.29	0.72	4

2.2 慢性阻塞性肺疾病靶点筛选及冬虫夏草-慢性阻塞性肺疾病交集靶点筛选

以“chronic obstructive pulmonary disease”为关键词在 GeneCards、OMMI 数据库搜索有关慢性阻塞性肺疾病靶点, 剔除重复靶点后共得到靶点 801 个。将冬虫夏草活性成分靶点与慢性阻塞性肺疾病靶点取交集并绘制韦恩图, 得到交集靶点 92 个, 见图 2。

2.3 PPI 网络分析及核心靶点筛选

将获取的交集靶点导入 String 平台进行 PPI 网络构建, 各节点平均 degree 值为 20.4, PPI 富集 P 值为 1.0×10^{-16} 。将 String 数据库得到的 PPI 网络文件导入 Cytoscape 3.8.2 软件, 利用 CytoNCA 进行拓扑分析和可视化处理, 如图 3 所示, 网络共包含

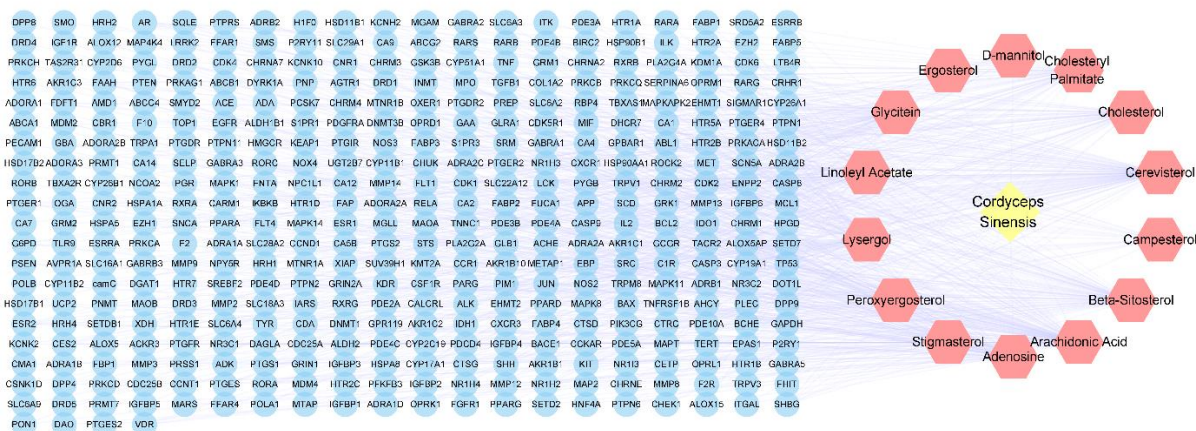


图 1 “冬虫夏草活性成分 - 靶点” 网络图

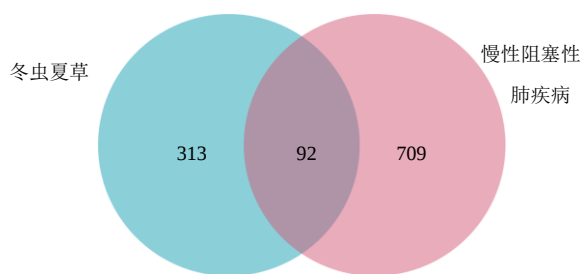
Fig. 1 Network of “active ingredients of *Cordyceps sinensis* - targets”

图 2 “冬虫夏草 - 慢性阻塞性肺疾病” 交集靶点韦恩图

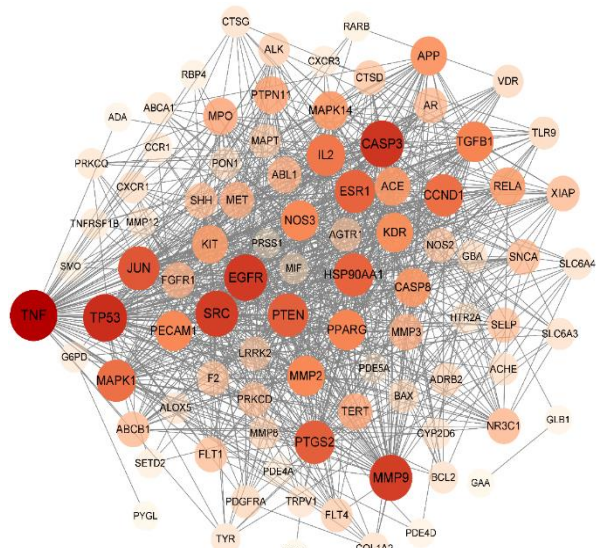
Fig. 2 Targets Venn diagram of “*Cordyceps sinensis*– chronic obstructive pulmonary disease”

图 3 “冬虫夏草 - 慢性阻塞性肺疾病” 交集靶点 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network of “*Cordyceps sinensis* – chronic obstructive pulmonary disease”

91 个节点和 937 条边, 节点越大, 颜色越深, degree 值越高, 提示这些蛋白越重要。冬虫夏草活性成分与慢性阻塞性肺疾病的交集靶点信息见表 2。取 degree 前 10% 的靶点为核心靶点, 依次为肿瘤坏死因子 (TNF)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (CASP3)、表皮生长因子受体 (EGFR)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、非受体蛋白酪氨酸激酶 (SRC), 提示这些靶点是冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的关键靶点。

表 2 冬虫夏草活性成分与慢性阻塞性肺疾病的共同核心靶点

Table 2 Common core targets of *Cordyceps sinensis* active ingredients and chronic obstructive pulmonary disease

有效成分	核心靶点
arachidonic acid	TP53、CASP3、MMP9、PTGS2、PTEN、ESR1、CCND1、MAPK1、PPARG、NOS3、MMP2、PECAM1、MAPK14、ACE、RELA、PTPN11、TERT、MMP3、NR3C1
linoleyl acetate	SRC、PTGS2、KDR、APP、FGFR1、SNCA、AR
beta-sitosterol	CASP3、JUN、PTGS2、HSP90AA1、ESR1、PPARG、TGFB1、CASP8、AR
cholesterol	ESR1、PPARG、AR
peroxyergosterol	MAPK14
cerevisterol	EGFR、MMP9、ESR1、CCND1、MMP2、KDR、MAPK14、KIT、MET、ABL1、MMP3、NR3C1、AR
cholesteryl palmitate	TNF、PTGS2、NR3C1、ABCB1、AR
campesterol	ESR1、AR
stigmasterol	ESR1、NR3C1、AR
lysergol	MPO、ABCB1、XIAP
glycitein	EGFR、HSP90AA1、ESR1、IL-2、SNCA、ABCB1
adenosine	EGFR、SRC、MAPK1
ergosterol	AR

2.4 GO 和 KEGG 富集分析

交集靶点导入 Metascape 数据库进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。按照 P 值大小升序排列, 分别选取生物过程 (BP)、细胞组成 (CC) 和分子功能 (MF) 最显著的前 10 名条目进行可视化分析, 见图 4。BP 涉及转移酶活性的正向调节 (positive regulation of transferase activity)、对无机物质的响应 (response to inorganic substance)、生殖结构发育 (reproductive structure development) 等; CC 主要涉及膜筏 (membrane raft)、囊泡腔 (vesicle lumen)、膜侧 (side of membrane)、细胞质核周区 (perinuclear region of cytoplasm) 等; MF 主要包括蛋白质酪氨酸激酶活性 (protein tyrosine kinase activity)、蛋白质同源二聚体活性 (protein homodimerization activity)、蛋白酶结合 (protease binding)、激酶结合 (kinase binding) 等。对交集靶点进行 KEGG 通路富集分析, 使用 $P < 0.05$ 的阈值, 选取显著富集的前 20 个通路进行可视化分析,

见图 5。冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的主要信号通路包括癌症通路 (pathways in cancer)、癌症相关蛋白聚糖 (cancer-associated proteoglycans)、脂质和动脉粥样硬化通路 (lipid and atherosclerosis)、前列腺癌 (prostate cancer) 等。

2.5 核心靶点分子对接验证

对筛选 6 个核心靶点 TNF、TP53、CASP3、EGFR、MMP9、SRC 及 7 个核心成分棕榈酸胆固醇酯、花生四烯酸、 β -谷甾醇、啤酒甾醇、黄豆黄素、腺苷、乙酸亚油酯进行分子对接, 见表 3。对接结合能小于 0 表明配体与靶点可自发结合, 结合能 ≤ -5.0 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$) 时表明配体与靶点对接较好, ≤ -7.0 kcal/mol 表示结合的非常稳固^[20]。结果显示, 啤酒甾醇与 MMP9 和 EGFR 靶点表现出较强的对接活性, β -谷甾醇和黄豆黄素分别对 CASP-3 和 EGFR 靶点表现出良好的结合作用, 花生四烯酸与 TP53 靶点表现出较好的对接活性。将对接结果导入 Pymol 中, 进行可视化, 结果如图 6 所示。

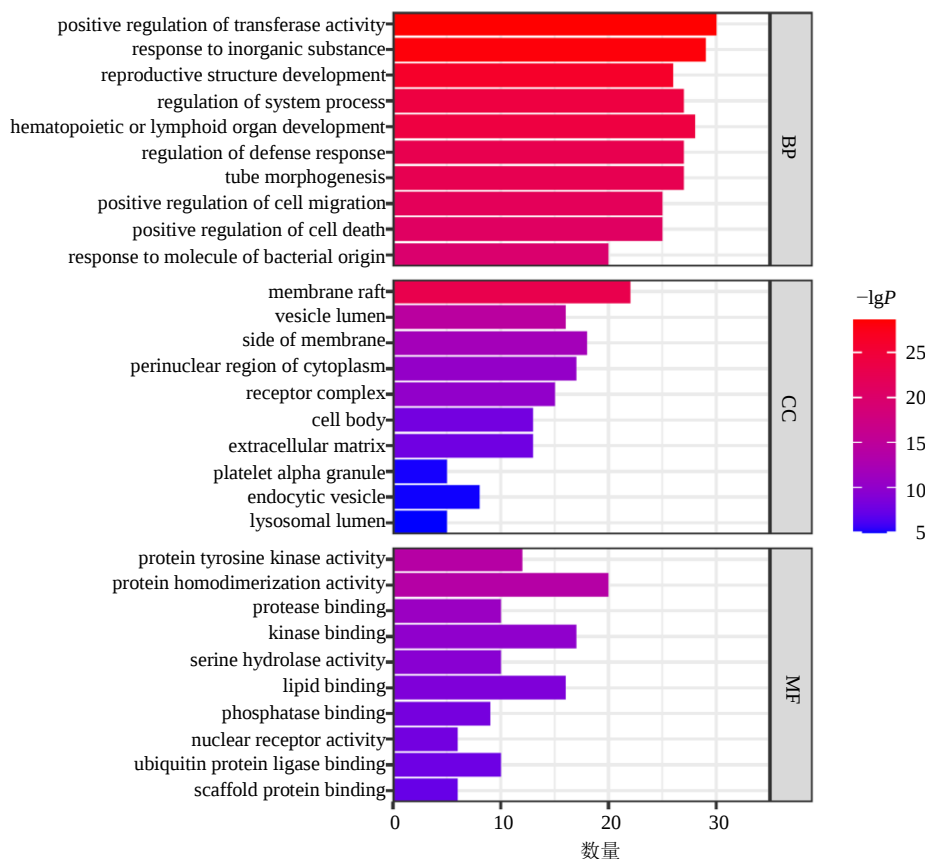


图 4 GO 功能富集分析
Fig. 4 GO enrichment analysis

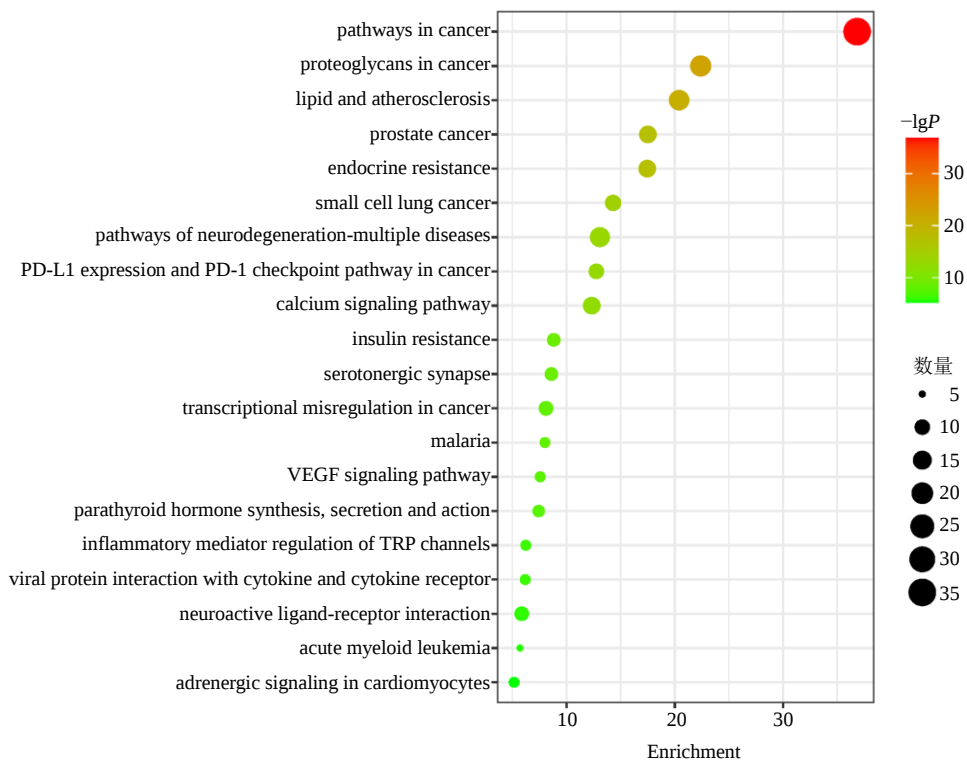


图 5 KEGG 通路富集分析
Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

表 3 冬虫夏草核心成分与核心靶点的结合能
Table 3 Binding energy of *Cordyceps sinensis* core components and core targets

有效成分	靶点	PDB ID	结合能/(kcal mol ⁻¹)
cholesteryl palmitate	TNF	2E7A	-4.97
arachidonic acid	TP53	1TUP	-5.17
arachidonic acid	CASP3	2DKO	-3.68
beta-sitosterol	CASP3	2DKO	-7.67
cervisterol	EGFR	2GS2	-8.13
glycitein	EGFR	2GS2	-7.24
adenosine	EGFR	2GS2	-4.91
arachidonic acid	MMP9	1L6J	-4.13
cervisterol	MMP9	1L6J	-8.23
linoleyl acetate	SRC	2SRC	-4.09
adenosine	SRC	2SRC	-4.86

3 讨论

3.1 冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的活性成分

本研究基于网络药理学和分析对接研究冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的潜在作用机制，完成了药物及疾病的靶点筛选、PPI 分析、GO、KEGG 功能及通路富集分析、分子对接模型的构建。利用生物信息学数据库及研究文献，筛选了冬虫夏草有效活性成分 14 个，包括花生四烯酸、啤酒甾醇、β-谷甾醇、麦角醇、黄豆黄素、棕榈酸胆固醇酯、胆固

醇、乙酸亚油酯、豆甾醇、过氧麦角甾醇、菜油甾醇、腺苷、D-甘露醇、麦角甾醇。预测了 91 个冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的潜在靶点，表明冬虫夏草对慢性阻塞性肺疾病可能的干预作用具有多成分、多靶点的特点。以往研究表明冬虫夏草含有丰富的生物活性成分，其中多糖、虫草素、虫草酸、腺苷、麦角甾醇、啤酒甾醇等已被证实具有显著的抗炎、抗氧化、免疫调节和抗肿瘤功能^[21-22]。Zheng 等^[23]研究发现，冬虫夏草多糖能够通过调节 TGF-β1/Smad 信号通路，有效改善卵清蛋白诱导的哮喘小鼠的气道炎症。Lei 等^[24]研究指出，虫草素可显著减轻脂多糖诱导的急性肺部损伤，其机制可能与抑制炎症和氧化应激反应有关。Sun 等^[25]研究表明，麦角甾醇可通过抑制 NF-κB/p65 信号通路，发挥抗炎、抗氧化以及调控细胞凋亡的作用，从而减轻香烟烟雾提取物诱导的慢性阻塞性肺疾病。此外，临床前和细胞实验表明，腺苷在急性肺损伤中发挥重要的抗炎作用^[26]。既往研究表明，甘露醇可能通过影响炎症损伤级联反应的多个环节，抑制外周血循环内皮细胞，以及 IL-8 的表达，从而对急性肺损伤发挥防治作用^[27]。啤酒甾醇是冬虫夏草发挥抗缺氧活性的主要成分之一，其作用机制可能是通过调节

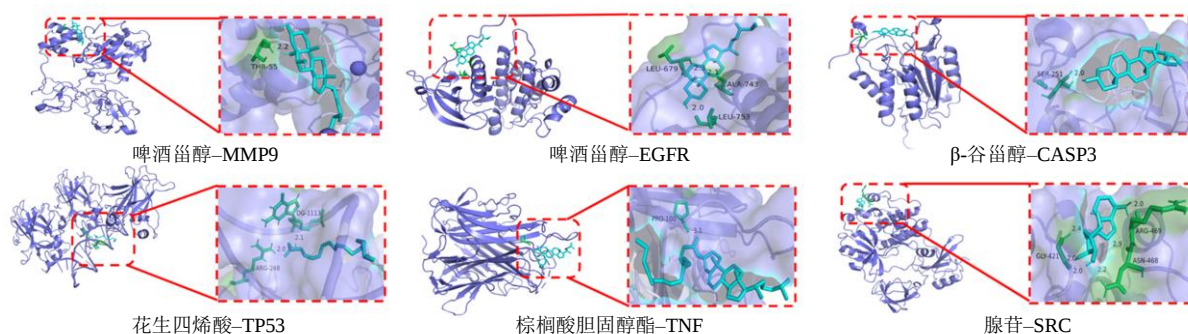


图 6 核心成分与核心靶点的分子对接

Fig. 6 Core components interconnected with molecules of core targets

VEGF 信号通路促进血管生成^[27]。花生四烯酸可通过抑制电压依赖性 Ca^{2+} 内流, 缓解肺血管平滑肌细胞收缩, 防止肺动脉高压的形成, 避免进一步发展为慢性阻塞性肺疾病^[28-29]。

3.2 冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病潜在靶点

根据 PPI 网络及分子对接验证的结果可知, 冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病所涉及到的关键靶点包括 TNF、TP53、CASP3、EGFR、MMP9、SRC。研究表明, 抑制 TNF- α 水平可以有效减轻慢性阻塞性肺疾病患者的气道炎症, 抑制黏液高分泌, 改善气流限制^[30]。1 项对慢性阻塞性肺疾病患者肺组织的 RNA 测序研究证实了 p53/缺氧通路的富集^[31]。研究发现, CASP3 通过调控细胞凋亡机制参与慢性阻塞性肺疾病的发生。慢性阻塞性肺疾病中增加的 p53 可以刺激 CASP8 的诱导, 导致支气管上皮细胞的凋亡, 此外, 研究指出慢性阻塞性肺疾病患者血浆中死亡受体(FAS)显著升高, FAS 招募 pro CASP8 并导致 CASP8 的自溶活化, 最后利用 CASP3 启动细胞凋亡^[32]。研究表明, EGFR 被异常激活后, 能够增加 PI3K/Akt 信号通路介导的 FoxO3A 磷酸化, 并增加慢性阻塞性肺疾病气道上皮细胞中 IL-8 的表达^[33]。另一项研究表明, 抑制 EGFR 信号通路, 可能对香烟烟雾暴露合并细菌感染导致慢性阻塞性肺疾病大鼠的气道黏液高分泌和炎症有较好的抑制作用^[34]。研究发现香烟烟雾能够激活原癌基因 c-SRC, 加剧气道炎症, 破坏肺组织。采用化学抑制剂 AZD 0530 抑制 c-SRC 的活性, 可以有效防止慢性阻塞性肺疾病小鼠肺部发生炎症和损伤^[35]。MMP9 是一种含锌离子并被钙离子激活的内肽酶, 能降解细胞外基质(ECM)导致气道破坏和重塑^[36]。在慢性阻塞性肺疾病的炎症发生过程中, 支气管上皮细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、

肺泡巨噬细胞等产生 MMP9, MMP9 降解弹性蛋白的同时, 又促进肺泡巨噬细胞和中性粒细胞的进一步分泌炎症因子, 从而促进炎症的发生发展^[37]。本研究结果显示, 啤酒甾醇与 MMP9 的结合能最低, 表明啤酒甾醇可能是冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的主要活性成分, 并且这种干预可能是通过调节 MMP9 实现的。

3.3 冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的潜在分子机制

GO 功能富集分析发现, 交集靶点主要参与的 BP 包括转移酶活性的正向调节、对无机物质的响应、生殖结构发育等; 参与的 MF 主要包括蛋白质酪氨酸激酶活性、蛋白质同源二聚体活性、蛋白酶结合等; CC 主要涉及膜筏、囊泡腔、膜侧、细胞质核周区、受体复合体等。KEGG 通路富集分析显示, 冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的主要信号通路包括癌症通路、癌症相关蛋白聚糖、脂质和动脉粥样硬化、 Ca^{2+} 信号通路, VEGF 信号通路, TRP 通道的炎症介质调节等。

3.3.1 癌症相关通路 有证据表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活可以抑制肺泡过度膨大、降低胶原蛋白的表达水平从而减轻慢性阻塞性肺疾病症状^[38]。Nrf2/Keap-1 及其靶基因可防止香烟烟雾引起的炎症和氧化应激^[39]。此外, Bewley 等^[40]发现 Nrf2 激动剂可增强慢性阻塞性肺疾病患者巨噬细胞中的细菌吞噬作用和杀伤作用。TGF- β 可以调节多种细胞过程, 如上皮细胞的生长抑制、肺泡上皮细胞分化、成纤维细胞的激活和细胞外基质的组织构建^[41]。通过抑制 TGF- β 1/Smad 通路, 可有效减轻香烟烟雾诱导的肺上皮细胞-间充质转化过程^[42]。PI3K/Akt 信号通路在慢性阻塞性肺疾病发病机制中起着关键作用, 主要与调节细胞自噬、促进气道重塑、加速细

胞衰老等相关^[43]。研究发现,将敲除支气管杯状细胞 p53 基因的小鼠和野生型小鼠反复吸入脂多糖后,野生型小鼠表现出更严重的慢性支气管炎和气道衰老,表明 p53 在支气管杯状细胞中加速细胞衰老,从而促进慢性肺部炎症的发生^[44]。

3.3.2 癌症中的蛋白聚糖 Takahashi 等^[45]研究发现,在用弹性蛋白酶处理的小鼠肺气肿模型中,蛋白聚糖在细胞外基质沉积能够减缓肺气肿的发展。多配体蛋白聚糖 (SDCs) 是硫酸肝素蛋白聚糖 (HSPGs) 家族的一员,研究证明,体内循环系统中 SDC-1 水平降低,与慢性阻塞性肺疾病患者肺功能下降显著正相关,与 C 反应蛋白水平呈负相关,有可能成为一种新的炎症生物标志物,有助于识别慢性阻塞性肺疾病恶化的风险^[46]。

3.3.3 脂质和动脉粥样硬化通路 研究证明,脂质代谢紊乱与慢性阻塞性肺疾病的发病机制有关^[47-48]。 $\omega 6$ 和 $\omega 3$ 型多不饱和脂肪酸 (PUFA) 是 2 类典型的 PUFA。Matsuyama 等^[49]研究发现,食用富含 $\omega 3$ 型 PUFA 的慢性阻塞性肺疾病患者,血清和痰液中炎症因子 TNF- α 和 IL-8 水平显著降低,而在接受 $\omega 6$ 型 PUFA 饮食补充的慢性阻塞性肺疾病患者中没有显著变化。临床研究表明,慢性阻塞性肺疾病患者外周血胆固醇水平升高,并与疾病严重程度呈正相关^[50-51]。此外,研究发现,慢性阻塞性肺疾病患者肺泡灌洗液 (BALF) 中磷脂水平的降低与其肺功能的下降密切相关^[52]。已有研究证明,中性粒细胞是动脉粥样硬化和慢性阻塞性肺疾病潜在的共同靶点^[53]。Tuleta 等^[54]研究发现,在动脉粥样硬化患者群体中,慢性阻塞性肺疾病患病率显著升高。

3.3.4 其他通路 Ca^{2+} 作为最常见的第二信使,其信号通路在许多细胞过程中发挥着重要作用,并且在维持细胞内稳态中起关键作用。慢性或间歇性缺氧、气道收缩、平滑肌细胞过度增殖都会导致细胞内 Ca^{2+} 升高,造成气道和肺血管重塑、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、肺动脉高压疾病的发展^[55]。研究证明, $\beta 2$ -肾上腺素能受体激动剂与毒蕈碱受体拮抗剂联用可协同抑制气道平滑肌的毒蕈碱收缩,G 蛋白/KCa 通道/VDC (L-型电压依赖性 Ca^{2+}) 通道连接是这种协同作用的关键分子,有可能为治疗哮喘、慢性阻塞性肺疾病等疾病的新靶点^[56]。

研究表明,VEGF 在慢性阻塞性肺疾病患者的痰中表达水平降低,与患者肺泡破坏和气流受限有关^[57]。此外,肺气肿患者肺组织中 VEGF 的表达减

少导致内皮细胞凋亡^[58]。研究发现,HIF-1 α 、VEGF 和 VEGFR-2 的高水平表达可能与慢性阻塞性肺疾病患者肺功能下降、生活质量下降相关,从而促进慢性阻塞性肺疾病的进展^[59-60]。

瞬时感受器电位 (TRP) 通道的同系体广泛分布于众多哺乳动物组织细胞内,目前对 TRP 通道在炎症反应中作用的研究主要集中在 TRPV1、TRPM、TRPA1 3 个亚型。Wang 等^[61]研究证明 TRPA1 和 TRPV1 在介导气道组织损伤和气道炎症中起重要作用,主要通过调节氧化应激、炎症、线粒体损伤介导香烟烟雾提取物诱导的气道和肺泡上皮细胞损伤,靶向 TPRA1 和 TRPV1 通路抑制剂有可能成为治疗慢性阻塞性肺疾病的新方法。

综上,通过网络药理学和分子对接技术,初步探究了冬虫夏草干预慢性阻塞性肺疾病的药效物质基础和作用机制。冬虫夏草可能通过其有效成分花生四烯酸、啤酒甾醇、 β -谷甾醇、棕榈酸胆固醇酯、乙酸亚油酯、腺苷、麦角甾醇等作用于 TNF、TP53、CASP3、EGFR、MMP9、SRC 等慢性阻塞性肺疾病相关靶点,通过调控癌症通路、癌症相关蛋白聚糖、脂质和动脉粥样硬化通路、 Ca^{2+} 信号通路,VEGF 信号通路,TRP 通道介导的炎症介质等,影响慢性阻塞性肺疾病氧化应激、炎症反应、细胞凋亡、蛋白酶-抗蛋白酶失衡等诸多机制,从而发挥干预慢性阻塞性肺疾病的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王晓娟,方向阳.慢性阻塞性肺疾病全球倡议 2019:慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗与预防全球策略解读 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(18): 2141-2149.
- [2] Wang C, Xu J Y, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): A national cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [3] World Health Organization. The top 10 causes of death [EB/OL]. [2024-03-06]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- [4] Babu K S, Morjaria J B. Emerging therapeutic strategies in COPD [J]. *Drug Discov Today*, 2015, 20(3): 371-379.
- [5] 高玮.吸入糖皮质激素治疗 COPD 研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2004(2): 151-153.
- [6] Tashkin D P, Fabbri L M. Long-acting beta-agonists in the

- management of chronic obstructive pulmonary disease: current and future agents [J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 149.
- [7] 董滢. 中医治疗 COPD 稳定期的优势评析 [J]. 中医药学刊, 2004(1): 155-156.
- [8] 冯影, 孟令丰, 吴大勇, 等. 冬虫夏草国内研究概况 [J]. 中医药信息, 2004(2): 24-26.
- [9] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 236-238.
- [10] 孙娜, 崔建美, 李继安, 等. 冬虫夏草的化学成分与药理作用分析研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(4): 65-67.
- [11] 肖瑛, 胡雪峰, 陶盛昌, 等. 鲜冬虫夏草药理作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2018, 14(4): 80-85.
- [12] Dong Z H, Sun X. Chemical components in cultivated *Cordyceps sinensis* and their effects on fibrosis [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(1): 162-167.
- [13] 刘玉, 谢伟, 祝庆华, 等. 冬虫夏草调控 PERK-eIF2 α 信号通路抑制香烟烟雾提取物刺激下的人支气管上皮细胞凋亡研究 [J]. 中国中医急症, 2021, 30(10): 1696-1700.
- [14] Yang L, Jiao X A, Wu J X, *et al.* *Cordyceps sinensis* inhibits airway remodeling in rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(3): 2731-2738.
- [15] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [16] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, *et al.* ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [17] Amberger J S, Hamosh A. Searching online mendelian inheritance in man (OMIM): A knowledgebase of human genes and genetic phenotypes [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2017, 58: 1.2.1-1.2.12.
- [18] Yu X H, Mao Y Q, Shergis J L, *et al.* Effectiveness and safety of oral cordyceps sinensis on stable COPD of GOLD stages 2-3: Systematic review and meta-analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 4903671.
- [19] 王敦. 冬虫夏草活性成分研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(4): 779-787.
- [20] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [21] Liu Y, Wang J H, Wang W, *et al.* The chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 575063.
- [22] Liu Y, Guo Z J, Zhou X W. Chinese cordyceps: Bioactive components, antitumor effects and underlying mechanism-a review [J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6576.
- [23] Zheng Y, Li L, Cai T. Cordyceps polysaccharide ameliorates airway inflammation in an ovalbumin-induced mouse model of asthma via TGF- β 1/Smad signaling pathway [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2020, 276: 103412.
- [24] Lei J J, Wei Y L, Song P C, *et al.* Cordycepin inhibits LPS-induced acute lung injury by inhibiting inflammation and oxidative stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 818: 110-114.
- [25] Sun X, Feng X L, Zheng D D, *et al.* Ergosterol attenuates cigarette smoke extract-induced COPD by modulating inflammation, oxidative stress and apoptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Clin Sci*, 2019, 133(13): 1523-1536.
- [26] Zhou Y, Schneider D J, Blackburn M R. Adenosine signaling and the regulation of chronic lung disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2009, 123(1): 105-116.
- [27] 蒋幼凡, 周向东, 李敏超. 甘露醇对急性肺损伤兔外周血循环内皮细胞、IL-8 表达的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2006(22): 3374-3376.
- [28] Long H L, Qiu X H, Cao L, *et al.* Discovery of the signal pathways and major bioactive compounds responsible for the anti-hypoxia effect of Chinese cordyceps [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 277: 114215.
- [29] 李勇, 张健. 花生四烯酸及其衍生物在肺动脉高压发生发展中的作用 [J]. 自然杂志, 2022, 44(5): 357-368.
- [30] 杨晓敏, 赵娜妹, 刘娟, 等. 健脾益肺化痰方通过抑制 TNF- α 信号通路改善 COPD 大鼠气道黏液高分泌的实验研究 [J]. 天津中医药, 2016, 33(5): 295-298.
- [31] Hu W P, Zeng Y Y, Zuo Y H, *et al.* Identification of novel candidate genes involved in the progression of emphysema by bioinformatic methods [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 13: 3733-3747.
- [32] Pandey K C, De S, Mishra P K. Role of proteases in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 512.
- [33] Ganesan S, Unger B L, Comstock A T, *et al.* Aberrantly activated EGFR contributes to enhanced IL-8 expression in COPD airways epithelial cells via regulation of nuclear FoxO3A [J]. *Thorax*, 2013, 68(2): 131-141.
- [34] Ma J D, Liu X F, Wei Y M, *et al.* Effective component

- compatibility of Bufe Yishen Formula III which regulates the mucus hypersecretion of COPD rats via the miR-146a-5p/EGFR/MEK/ERK pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 9423435.
- [35] Geraghty P, Hardigan A, Foronjy R F. Cigarette smoke activates the proto-oncogene c-src to promote airway inflammation and lung tissue destruction [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50(3): 559-570.
- [36] 张艺, 黄奋飞, 徐旭燕. 慢性阻塞性肺病患者血清基质金属蛋白酶-9 和金属蛋白酶抑制剂-1 的表达及其对肺血管重塑的预测价值 [J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(7): 849-854.
- [37] Abd El-Fatah M F, Ghazy M A, Mostafa M S, *et al.* Identification of MMP-9 as a biomarker for detecting progression of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Biochem Cell Biol*, 2015, 93(6): 541-547.
- [38] Kneidinger N, Yildirim A Ö, Callegari J, *et al.* Activation of the WNT/ β -catenin pathway attenuates experimental emphysema [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(6): 723-733.
- [39] Boutten A, Goven D, Artaud-Macari E, *et al.* NRF2 targeting: A promising therapeutic strategy in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Trends Mol Med*, 2011, 17(7): 363-371.
- [40] Bewley M A, Budd R C, Ryan E, *et al.* Opsonic phagocytosis in chronic obstructive pulmonary disease is enhanced by Nrf2 agonists [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(6): 739-750.
- [41] Saito A, Horie M, Nagase T. TGF- β signaling in lung health and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2460.
- [42] Guan S B, Xu W G, Han F F, *et al.* Ginsenoside Rg1 attenuates cigarette smoke-induced pulmonary epithelial-mesenchymal transition via inhibition of the TGF- β 1/Smad pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 7171404.
- [43] 冯惠, 赵卉. PI3K/Akt/mTOR 信号通路在慢阻肺中的研究进展 [J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(8): 1278-1281.
- [44] Sagiv A, Bar-Shai A, Levi N, *et al.* p53 in bronchial club cells facilitates chronic lung inflammation by promoting senescence [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(13): 3468-3479.
- [45] Takahashi A, Majumdar A, Parameswaran H, *et al.* Proteoglycans maintain lung stability in an elastase-treated mouse model of emphysema [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 51(1): 26-33.
- [46] Li D D, Wu Y Q, Guo S J, *et al.* Circulating syndecan-1 as a novel biomarker relates to lung function, systemic inflammation, and exacerbation in COPD [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2019, 14: 1933-1941.
- [47] Halper-Stromberg E, Gillenwater L, Cruickshank-Quinn C, *et al.* Bronchoalveolar lavage fluid from COPD patients reveals more compounds associated with disease than matched plasma [J]. *Metabolites*, 2019, 9(8): 157.
- [48] Telenga E D, Hoffmann R F, t'Kindt R, *et al.* Untargeted lipidomic analysis in chronic obstructive pulmonary disease. Uncovering sphingolipids [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190(2): 155-164.
- [49] Matsuyama W, Mitsuyama H, Watanabe M, *et al.* Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on inflammatory markers in COPD [J]. *Chest*, 2005, 128(6): 3817-3827.
- [50] Zafirova-Ivanovska B, Stojkovikj J, Dokikj D, *et al.* The level of cholesterol in COPD patients with severe and very severe stage of the disease [J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2016, 4(2): 277-282.
- [51] Liu D, Meister M, Zhang S, *et al.* Identification of lipid biomarker from serum in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 242.
- [52] Agudelo C W, Kumley B K, Area-Gomez E, *et al.* Decreased surfactant lipids correlate with lung function in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): e0228279.
- [53] Hughes M J, McGettrick H M, Sapey E. Shared mechanisms of multimorbidity in COPD, atherosclerosis and type-2 diabetes: The neutrophil as a potential inflammatory target [J]. *Eur Respir Rev*, 2020, 29(155): 190102.
- [54] Tuleta I, Farrag T, Busse L, *et al.* High prevalence of COPD in atherosclerosis patients [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12: 3047-3053.
- [55] Truong L, Zheng Y M, Kandhi S, *et al.* Overview on interactive role of inflammation, reactive oxygen species, and calcium signaling in asthma, COPD, and pulmonary hypertension [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1304: 147-164.
- [56] Kume H, Nishiyama O, Isoya T, *et al.* Involvement of allosteric effect and K_{Ca} channels in crosstalk between β_2 -adrenergic and muscarinic M_2 receptors in airway smooth muscle [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 1999.
- [57] Kanazawa H, Asai K, Hirata K, *et al.* Possible effects of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of

- chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Med*, 2003, 114(5): 354-358.
- [58] Kasahara Y, Tudor R M, Cool C D, *et al*. Endothelial cell death and decreased expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 2 in emphysema [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(3 Pt 1): 737-744.
- [59] Fu X, Zhang F L. Role of the HIF-1 signaling pathway in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4553-4561.
- [60] Lee S H, Lee S H, Kim C H, *et al*. Increased expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1 α in lung tissue of patients with chronic bronchitis [J]. *Clin Biochem*, 2014, 47(7-8): 552-559.
- [61] Wang M Y, Zhang Y B, Xu M M, *et al*. Roles of TRPA1 and TRPV1 in cigarette smoke -induced airway epithelial cell injury model [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 134: 229-238.

[责任编辑 高源]