

基于网络药理学和生物信息学探讨小檗胺治疗特发性肺纤维化的作用机制

张丽雯, 李优优, 姜东华, 于 迪*

广西中医药大学, 广西 南宁 530200

摘 要: **目的** 利用网络药理学和生物信息学探讨小檗胺治疗特发性肺纤维化的作用机制。 **方法** 利用 PharmMapper 和 Super-PRED 数据库检索小檗胺的作用靶点, 利用 GeneCards 数据库检索特发性肺纤维化疾病靶点, 并利用 GEO 数据库下载 GSE110147 数据集, 进行差异分析, 获得特发性肺纤维化差异表达基因 (DEGs)。上述靶点取交集获得小檗胺治疗特发性肺纤维化的潜在作用靶点。使用 String 数据库和 Cytoscape 软件进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析, 筛选出核心靶点。利用 Metascape 数据库进行富集分析, 构建“成分-靶点-通路-疾病”网络图。利用 Autodock Vina 和 Discovery Studio 等软件进行分子对接和可视化。利用 GeneMANIA 数据库的功能关联 (GMFA) 网络分析进一步丰富网络药理学研究内容。 **结果** 共获得 32 个小檗胺治疗特发性肺纤维化的潜在作用靶点, 基因本体 (GO) 功能主要与细胞迁移、伤口愈合以及激酶调节相关, 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路主要富集在表皮生长因子受体 (EGFR) 酪氨酸激酶抑制剂耐药、磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路、叉头盒转录因子 (FoxO) 信号通路等。核心靶点为半胱天冬蛋白酶-3 (CASP3)、胰岛素样生长因子 1 (IGF1)、缺氧诱导因子 1 亚基 α (HIF1A)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA), 均与小檗胺具有良好结合能力。 **结论** 通过网络药理学结合生物信息学, 辅以 GMFA 网络分析和分子对接验证, 揭示小檗胺可能通过多靶点和多通路发挥治疗特发性肺纤维化的作用。

关键词: 小檗胺; 肺纤维化; 网络药理学; 生物信息学; 作用机制; 分子对接

中图分类号: R286.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)04-0878-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.04.008

Mechanism of berbamine in treatment of idiopathic pulmonary fibrosis based on network pharmacology and bioinformatics

ZHANG Liwen, LI Youyou, JIANG Donghua, YU Di

Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism of berbamine in treatment of idiopathic pulmonary fibrosis by network pharmacology and bioinformatics. **Methods** The related targets of berbamine were retrieved by PharmMapper and Super-PRED databases, and the related targets of idiopathic pulmonary fibrosis were retrieved by GeneCards database. The GSE110147 dataset was download by GEO database, and the differential expression genes (DEGs) of idiopathic pulmonary fibrosis were obtained by differential analysis. The potential target genes of berbamine against idiopathic pulmonary fibrosis were obtained by intersection. Protein-protein interaction (PPI) network analysis was performed using String database and Cytoscape software to identify the core targets. Metascape was used for enrichment analysis, and construct a “component-target-pathway-disease” network diagram. Molecular docking was performed using Autodock Vina and Discovery Studio software. The GeneMANIA-based functional association (GMFA) was used to further enrich the results of network pharmacology research. **Results** A total of 32 potential targets of berbamine against idiopathic pulmonary fibrosis were obtained. GO function were mainly related to cell migration, wound healing and regulation of kinase activity, and KEGG pathway were mainly enriched in EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance, PI3K/Akt signaling pathway, FoxO signaling pathway and so on. The core targets CASP3, IGF1, HIF1A, and PIK3CA have good binding ability with berbamine. **Conclusion** Through network pharmacology combined with bioinformatics, supplemented by GMFA network analysis and molecular docking, it is revealed that berbamine may play a role against idiopathic pulmonary fibrosis through multiple targets and multiple

收稿日期: 2025-02-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32060576); 广西中医药大学“桂派杏林青年英才”项目 (2022C026)

作者简介: 张丽雯, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学。E-mail: 1434899047@qq.com

*通信作者: 于 迪, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药化学及食品质量与安全。E-mail: yudi1982@126.com

pathways.

Key words: berbamine; pulmonary fibrosis; network pharmacology; bioinformatics; action mechanism; molecular docking

特发性肺纤维化是特发性间质性肺炎中最常见的形式,是一种原因不明的慢性、进行性、不可逆性且通常致命的肺部疾病^[1]。特发性肺纤维化患者通常表现为进行性的呼吸困难,伴随限制性通气功能障碍和气体交换障碍,进而导致呼吸能力下降、生活质量受损,最终因呼吸衰竭死亡^[1-2]。流行病学显示,全球大约有 300 万特发性肺纤维化患者,且特发性肺纤维化发病率和患病率正逐年上升^[3],主要发生于 60 岁及以上的人群,尤其是男性。特发性肺纤维化预后不佳,确诊后平均预期寿命仅为 3~5 年。小檗胺是从小檗科植物中提取的一种天然的双苄基异喹啉生物碱。药理研究表明,小檗胺在体内体外具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗纤维化和抗病毒等药理作用^[4-7]。目前在临床上被批准用于治疗各种原因引起的白细胞减少症,也可用于预防癌症化疗和放疗引起的白细胞减少,其临床制剂不良反应低,长期毒性低^[8]。近年来发现小檗胺在多种器官纤维化疾病中都发挥了重要作用,但其治疗特发性肺纤维化的作用机制尚未完全阐明。因此,本研究采用网络药理学和生物信息学,结合分子对接和 GeneMANIA 方法初步探索小檗胺治疗特发性肺纤维化的分子机制,以期小檗胺的研究提供新思路,为治疗特发性肺纤维化疾病提供参考。

1 材料与方法

1.1 小檗胺作用靶点获取

以“berbamine”为检索词,通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取小檗胺 SMILES 号和 2D 结构文件,并通过 PharmMapper^[9]和 Super-PRED 数据库^[10] (<http://targetnet.scbdd.com/>) 预测小檗胺作用靶点,设置条件“zscore>0”和物种选择“human”,最后将各靶点上传至 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 中进行标准化并转换为基因简称,合并删去重复项。

1.2 特发性肺纤维化疾病靶点获取

以“idiopathic pulmonary fibrosis”为检索词,通过 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 获得特发性肺纤维化疾病靶点,用 Uniprot 数据库转换为基因简称,设置条件“Relevance score>中位数”和“protein coding”。

1.3 特发性肺纤维化差异表达基因获取

在 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 筛选并下载特发性肺纤维化数据集,按以下标准进行筛选:(1)样本来源为人类;(2)数据类型为芯片数据;(3)样本类型为组织;(4)样本数>20。借助 GEO2R 在线工具分析数据并获得差异表达基因 (DEGs),设置条件 $P_{adj}<0.05$ 和 $|\log_2FC|>1$,采用微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 绘制火山图和聚类热图。并与上述药物和疾病靶点取交集,获得小檗胺治疗特发性肺纤维化潜在作用靶点,绘制韦恩图。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建和核心靶点筛选

将交集靶点上传至 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>),物种选择“Homo sapiens”、置信度选择“medium confidence (≥ 0.40)”,获得初始 PPI 网络图。将输出的 tsv 结果文件导入 Cytoscape 3.10.2 软件可视化,绘制 PPI 网络图。最后利用 Cytohubba 和 CytoNCA 插件对网络进行拓扑分析,CytoHubba 以节点的最大集团中心性 (MCC) 值排名前 5 为条件,获得关键子网络;CytoNCA 以同时大于介度中心性 (BC)、接近中心性 (CC)、度中心性 (DC)、特征向量中心性 (EC)、网络中心性 (NC) 和局部平均连通性 (LAC) 的中位数为筛选条件进行 2 次筛选,获得关键子网络,两者中取共有基因作为核心靶点。

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

将交集靶点上传至 Metascape 数据库 (<https://metascape.org/>),进行 GO 和 KEGG 富集分析,物种选择“Homo sapiens”,根据 P 值排序选择生物过程 (BP)、细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 各前 10 条和 KEGG 通路前 30 条,绘制条形图和桑基图。

1.6 药物-靶点-通路-疾病网络构建

将交集靶点和 KEGG 富集通路结果制作网络文件,导入 Cytoscape 软件,构建“小檗胺-靶点-通路-特发性肺纤维化”网络图。连线数越多的通路及靶点,在网络中越重要。颜色深浅代表通路度值大小。

1.7 分子对接

在 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心靶点对应的蛋白质 3D 结构, 利用 Pymol 2.6.0 软件对蛋白进行去除水分子、配体和其他链, 小分子配体进行最小能量优化。利用 AutoDock Tools 1.5.7 软件对受体蛋白和小分子配体进行加氢、计算电荷、分配电荷、设置可旋转键和指定原子类型后并转换为 pdbqt 格式, 设置对接盒子, 确保对接盒子完全覆盖蛋白。利用 AutoDock Vina 进行分子对接, 对接结果用 Discovery Studio 软件可视化。通过两者结合能来判断结合强度, 结合能小于 -5.0 kcal/mol ($1 \text{ cal}=4.2 \text{ J}$) 说明配体和受体蛋白之间具有良好的结合活性, 结合能小于 -7.0 kcal/mol 说明具有较强结合活性。

1.8 核心靶点 GeneMANIA 功能关联 (GMFA) 网络分析

为扩增与核心靶点功能关联的基因列表, 寻找其他具有治疗潜力的基因。参考 Rajadnya 等^[11]基于 GeneMANIA 数据库 (<https://genemania.org/>) 基因-基因功能相互作用分析方法, 给每个核心靶点识别 10 个额外基因, 优先考虑在基因-基因网络中关联性最强的基因。同时为提高识别治疗靶点精确度和捕获与疾病过程相关的各种基因, 选择共表达、遗传相互作用和物理相互作用 3 个参数。通过综合考虑这些参数, 对基因功能有更详细的了解, 有助于确定在疾病过程中发挥多方面作用的强效治疗靶点。随后, 整合 4 个核心靶点与所有新发现的基因, 删去重复值, 创建基于 GMFA 网络分析的基因扩展数据库 (GMFA-ED)。

1.9 GMFA-ED 和小檗胺治疗特发性肺纤维化的 GO 和 KEGG 富集分析

对 GMFA-ED 进行 GO 和 KEGG 富集分析。根据 P 值排序选择 BP、CC 和 MF 各前 10 条和 KEGG 通路前 30 条, 绘制条形图和桑基图, 构建“药物-靶点-通路”网络图, 并对 GMFA-ED 与小檗胺治疗特发性肺纤维化的富集结果进行比较。

1.10 小檗胺与叉头盒转录因子 (FoxO) 信号通路中靶点分子对接

从 GMFA-ED 的 KEGG 富集分析中明确 FoxO 信号通路的靶点。从 RCSB PDB 数据库下载该通路靶点对应的蛋白质 3D 结构, 进行分子对接, 预测小檗胺与 FoxO 信号通路相关靶蛋白之间结合活性。

2 结果

2.1 小檗胺作用靶点的获取

PharmMapper 和 Super-PRED 数据库分别获得

小檗胺的作用靶点 125、108 个, 合并删除重复项后共获得 227 个小檗胺的作用靶点。

2.2 特发性肺纤维化疾病靶点和差异表达基因获取

GeneCards 数据库检索到 5 765 个靶点, 筛选 Relevance score $> 6.039 0$ 和“protein coding”的数据, 共获得 2 531 个特发性肺纤维化疾病靶点。GEO 数据库下载 GSE110147 数据集, 共 33 例样本, 包括 22 例特发性肺纤维化肺组织和 11 例正常肺组织。通过对数据集挖掘和分析, 得到 3 466 个特发性肺纤维化差异表达基因 (上调基因 2 015 个, 下调基因 1 451 个)。绘制火山图和聚类热图 (图 1A、B)。将药物靶点、疾病靶点和疾病差异表达基因三者取交集得到 32 个小檗胺治疗特发性肺纤维化的潜在作用靶点, 绘制韦恩图 (图 1C)。

2.3 PPI 网络构建与核心靶点筛选

将 32 个潜在作用靶点上传至 STRING 数据库, 获得 PPI 网络关系 (图 2A)。将结果文件导入 Cytoscape 软件绘制 PPI 网络图, 该网络包含 31 个节点, 116 条边 (图 2B)。利用 CytoHubba 和 CytoNCA 和插件对网络进行拓扑分析, 首先利用 CytoHubba 插件中 MCC 算法计算出排名前 5 的节点, 绘制子网络 (图 2C); 其次利用 CytoNCA 计算各节点的网络特征参数, 选择参数 $BC > 7.682 3$ 、 $CC > 0.5$ 、 $DC > 7$ 、 $EC > 0.144 2$ 、 $LAC > 3.666 7$ 和 $NC > 4.507 1$ 为条件, 筛选出二级网络图 (包含 10 个节点, 38 条边)。同样, 以二级网络 6 个参数中位数为筛选条件, 即 $BC > 0.876 2$ 、 $CC > 0.818 2$ 、 $DC > 7$ 、 $EC > 0.299 3$ 、 $LAC > 5.714 3$ 和 $NC > 6.666 7$, 得到三级网络图 (包含 4 个节点, 6 条边), 见图 2D; 最后将 2 种方法得到关键靶点取交集获得 4 个核心靶点, 即半胱天冬蛋白酶-3 (CASP3)、胰岛素样生长因子 1 (IGF1)、缺氧诱导因子 1 亚基 α (HIF1A)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA)。

2.4 GO 和 KEGG 富集分析

使用 Metascape 数据库对 32 个靶点进行富集分析和可视化 (图 3A、B)。GO 功能富集分析获得 412 个条目, 其中生物过程 (BP)、细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 分别为 344、28、40 个条目。KEGG 通路富集获得 71 个条目。

GO 富集结果显示, BP 主要涉及细胞迁移的正调控、对创伤的反应、细胞对含氮化合物的反应、伤口愈合及细胞活化等; CC 主要涉及质膜外侧、质膜蛋白复合物、细胞-细胞连接、受体复合物、

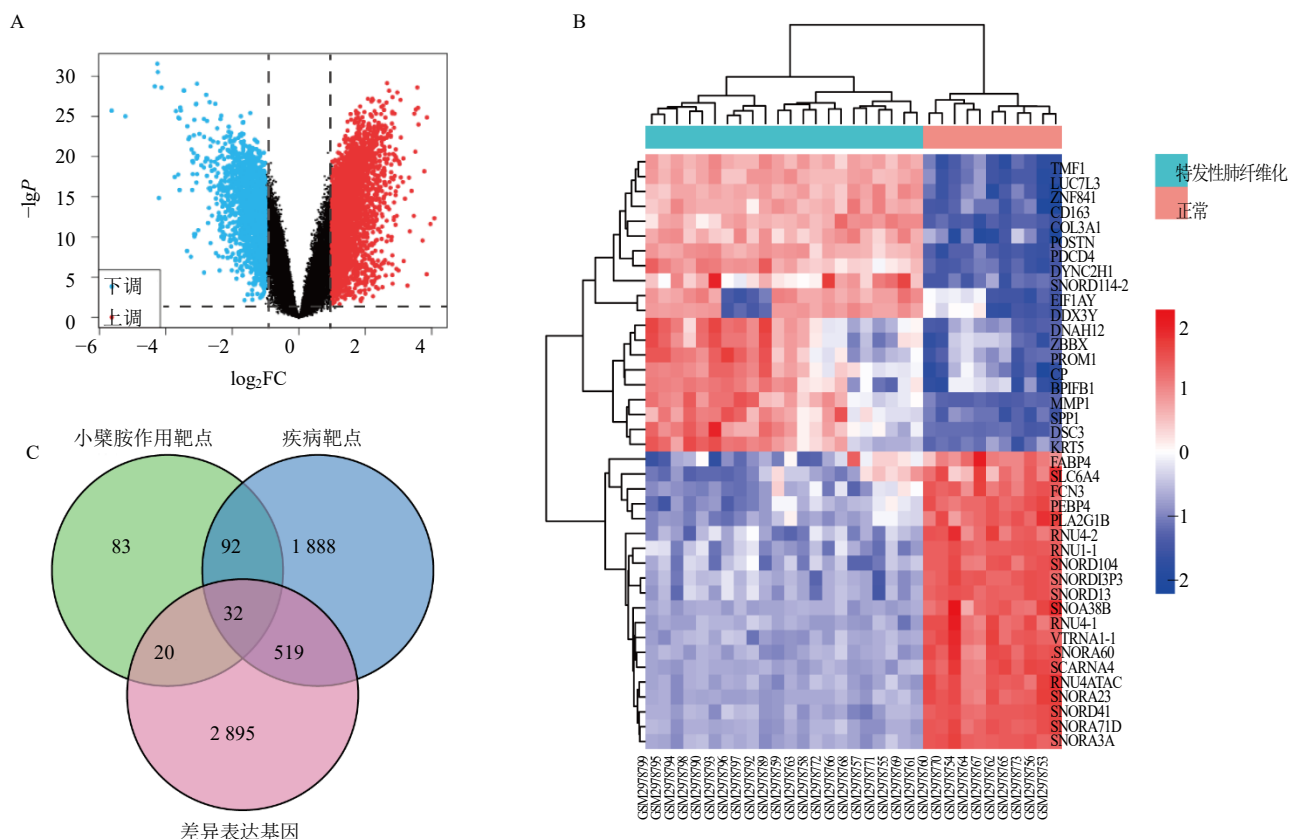


图 1 差异表达基因火山图 (A)、差异表达基因聚类热图 (B) 和小檗碱与特发性肺纤维化交集靶点韦恩图 (C)

Fig. 1 Volcano map of differential expression genes (A), cluster heatmap of differential expression genes (B), Venn diagram of the intersection target of berbamine and idiopathic pulmonary fibrosis (C)

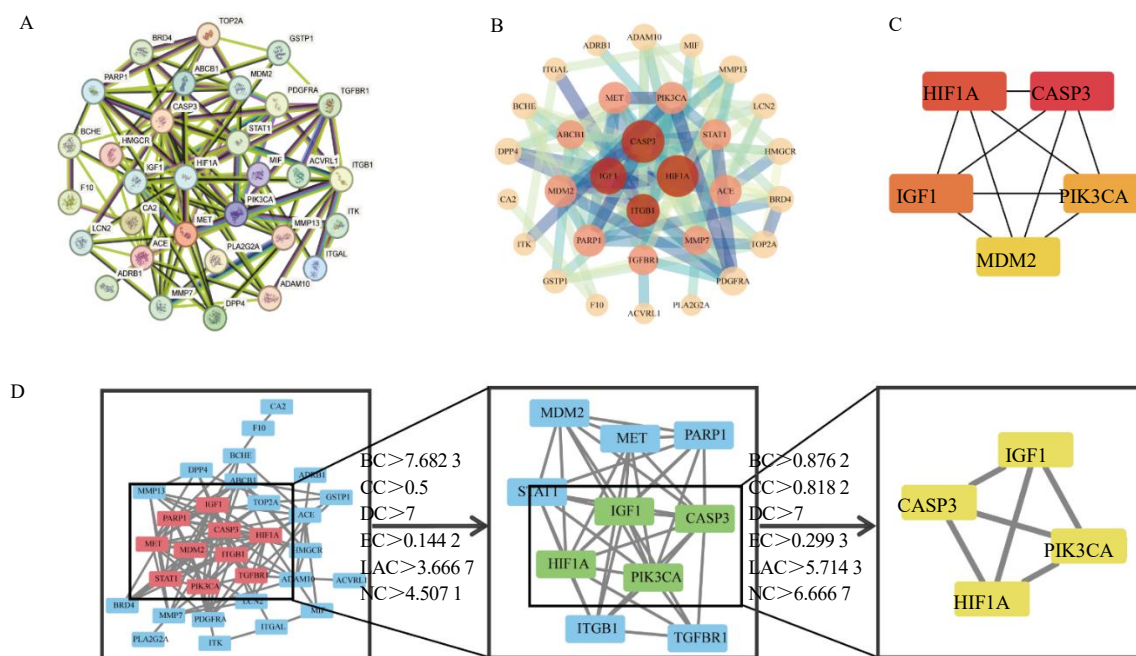


图 2 初始 PPI 网络图 (A)、PPI 网络图 (B)、CytoHubba 筛选核心靶点 (C) 和 CytoNCA 筛选核心靶点流程图 (D)

Fig. 2 Primary PPI network diagram(A), PPI network diagram (B), CytoHubba screening core targets (C), and flow chart of CytoNCA screening core targets (D)

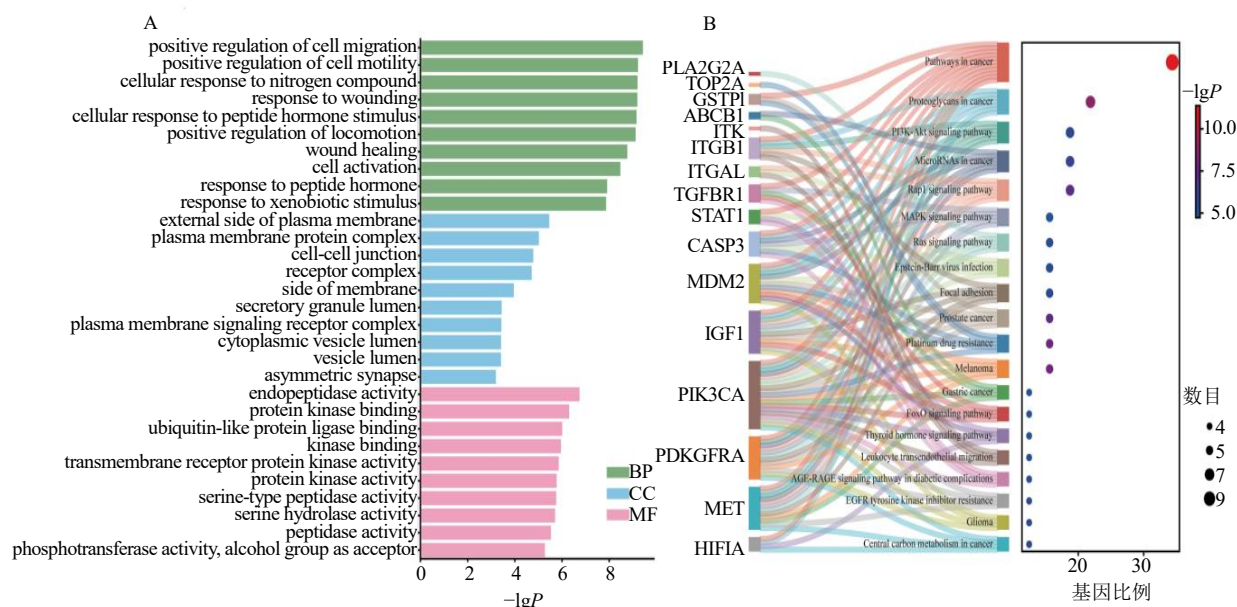


图 3 GO 功能分析条形图 (A) 和 KEGG 通路分析桑基图 (B)

Fig. 3 Bar chart of GO functional analysis (A) and sankey map of KEGG pathway analysis (B)

及分泌颗粒腔等；MF 主要涉及内肽酶活性、蛋白酶结合、泛素样蛋白连接酶结合、激酶结合、跨膜受体蛋白激酶活性等。KEGG 富集结果主要涉及小 G 蛋白相关蛋白 1 (Rap1) 信号通路、表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂耐药、磷脂酰肌醇激酶-蛋白酶 B (PI3K/Akt) 信号通路及 FoxO 信号通路等。

2.5 药物 - 靶点 - 通路 - 疾病网络构建

将药物与疾病共同靶点和通路构建“小檗胺 - 共同靶点 - 通路 - 特发性肺纤维化”网络图 (图 4)。结果直观显示药物、靶点、通路和疾病之间错综的交织关系，反应药物在体内发挥作用的复杂生物机制，颜色深浅代表各通路度值大小，排名前 5 的癌症通路、癌症蛋白聚糖、Rap1 信号通路、癌症中的微小 RNA 和 PI3K-Akt 信号通路的度值分别为 12、8、7、7、7。

2.6 分子对接

对接结果显示，核心靶点 CASP3、IGF1、HIF1A 和 PIK3CA 与小檗胺的结合能分别为 -6.5、-6.5、-7.0、-10.1 kcal/mol，均小于 -5.0 kcal/mol，说明小檗胺与核心靶点具有良好的结合活性，与网络药理学预测的结果相符，进一步说明小檗胺可能依靠以上靶点来发挥作用 (图 5)。

2.7 GeneMANIA 功能关联网络分析

基于 GMFA 网络分析，找到 4 个核心靶点的 10 个额外功能关联基因，获得 4 个网络，39 个新基

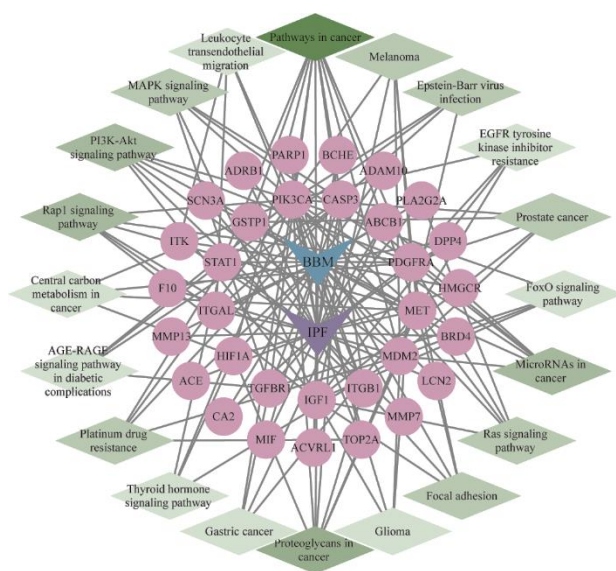


图 4 “小檗胺 - 共同靶点 - 通路 - 特发性肺纤维化”网络
Fig. 4 “Berberine-target-pathway-idiopathic pulmonary fibrosis” network

因 (图 6A)。GMFA 方法整合共表达、遗传相互作用和物理相互作用 3 个参数，可以捕获与疾病过程相关的不同基因。随后合并新基因与核心靶点，最终得到 43 个基因，即 GMFA-ED。将 GMFA-ED 基因上传至 GeneMANIA 数据库进行分析，生成一个由 43 个基因组成的扩展基因网络，展示了基因之间的相互联系和功能关系 (图 6B)。网络中边的厚度和节点大小代表基因相互作用的强度。

使用富集前 20 个信号通路构建小檗胺-靶点-通路网络图, 展示重要的相互作用, 其中癌症通路、

HIF-1 信号通路、肾细胞癌、FoxO 信号通路和癌症蛋白聚糖的度值分别为 22、16、13、11 和 11 (图 7)。

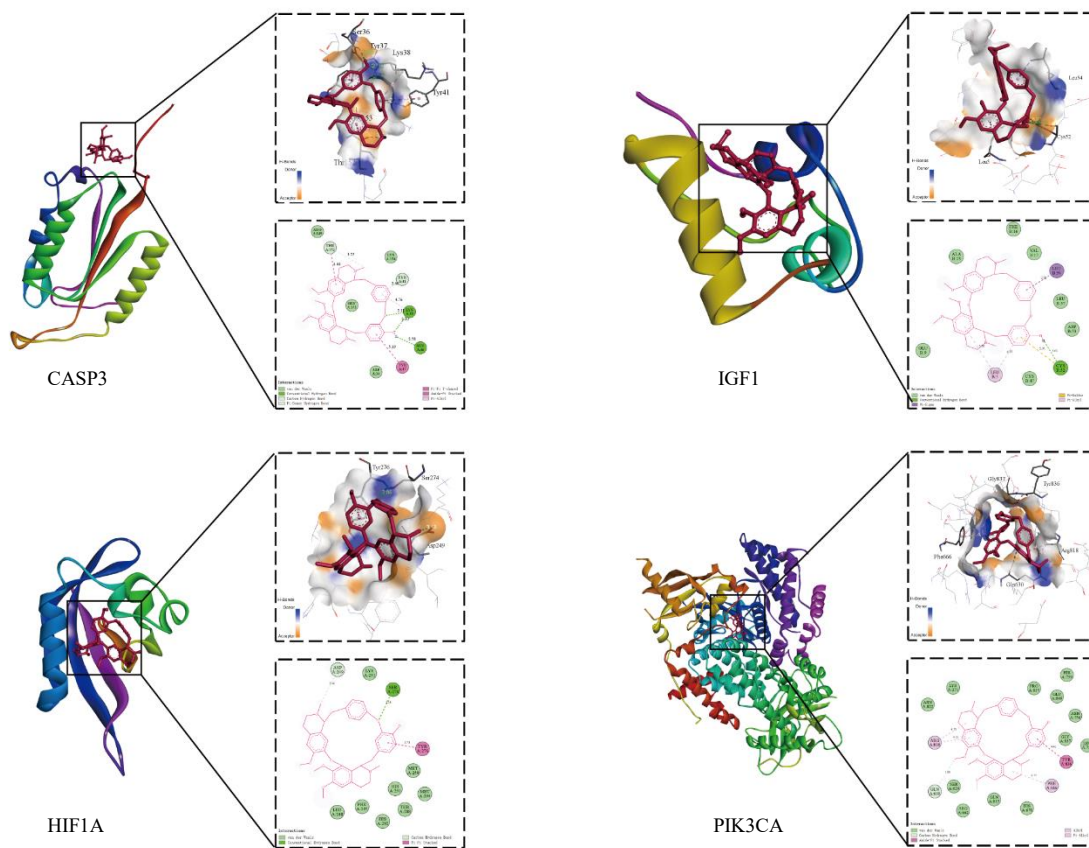


图 5 核心靶点 CASP3、IGF1、HIF1A 和 PIK3CA 与小檗胺分子对接结果可视化

Fig. 5 Visualization of molecular docking results of core targets CASP3, IGF1, HIF1A and PIK3CA with berbamine

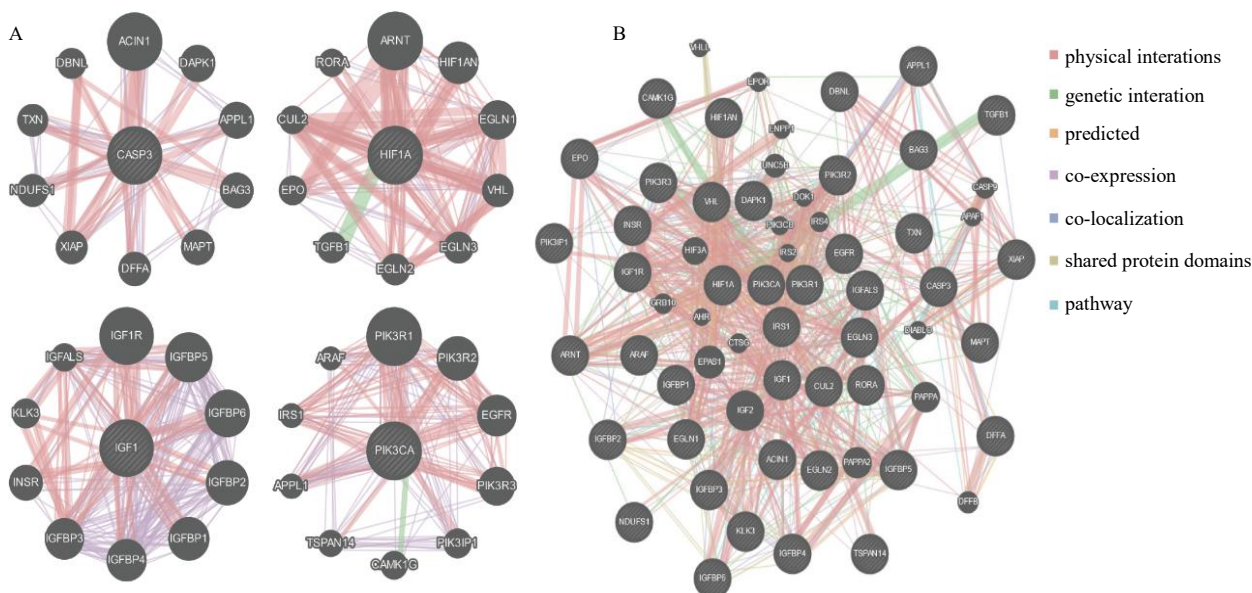


图 6 GMFA 网络分析 (A) 和 GMFA-ED 网络图 (B)

Fig. 6 GMFA network analysis (A) and network diagram of GMFA-ED (B)

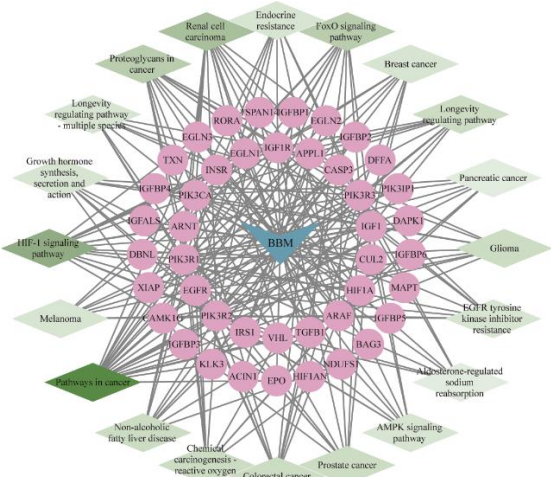


图 7 GMFA-ED 的小檗胺 - 靶点 - 通路网络图

Fig. 7 Berbamine-target-pathway network diagram of GMFA-ED

2.8 GMFA-ED 和小檗胺治疗特发性肺纤维化的 GO 和 KEGG 富集分析

GO 分析结果揭示 BP 富集于对特发性肺纤维化进展至关重要的途径，如胰岛素受体信号通路、胰岛素样生长因子受体信号通路的调控、细胞表面受体蛋白酪氨酸激酶等；CC 富集于胰岛素样生长因子结合蛋白复合物、磷脂酰肌醇 3-激酶复合物、胞体和细胞前缘等，与细胞迁移相关；MF 则富集于胰岛素样生长因子结合、生长因子结合、激酶调

节活性、磷脂酰肌醇 3-激酶结合和缺氧诱导因子脯胺酸羟化酶活性等（图 8A）。KEGG 通路分析显示富集在 HIF-1 信号通路、FoxO 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、腺苷酸活化蛋白激酶信号通路等（图 8B）。

GMFA-ED 的 GO 富集分析揭示了小檗胺治疗特发性肺纤维化的潜在靶点相关的富集 BP、CC、MF 的综合前景。KEGG 通路分析提示了特发性肺纤维化相关通路的富集，突出了 HIF-1、FoxO 信号通路。与初始富集相比，这些富集与特发性肺纤维化更相关。GMFA-ED 和小檗胺治疗特发性肺纤维化均涉及到 FoxO 信号通路，且 GMFA-ED 中有较多基因被富集到 FoxO 信号通路，包括 *IGF1*、胰岛素样生长因子 1 受体(*IGF1R*)、胰岛素受体(*INSR*)、胰岛素受体底物 (*IRS*)、*PIK3CA*、*EGFR*、丝裂原活化蛋白激酶激酶 (*Raf*)，其中 *IGF1*、*PIK3CA* 已在小檗胺治疗特发性肺纤维化中富集，说明通过 GMFA 分析的富集能够获得增强且更具体的信息，以揭示 FoxO 信号通路在小檗胺治疗特发性肺纤维化中的调控作用（图 9）。

2.9 小檗胺与 FoxO 信号通路中靶点分子对接

小檗胺与 EGFR、IGF1R、INSR 和 IRS1 的结合能分别是-7.8、-7.9、-7.9、-7.7 kcal/mol，均小于-7.0 kcal/mol，表现出较强的结合活性，见图 10。

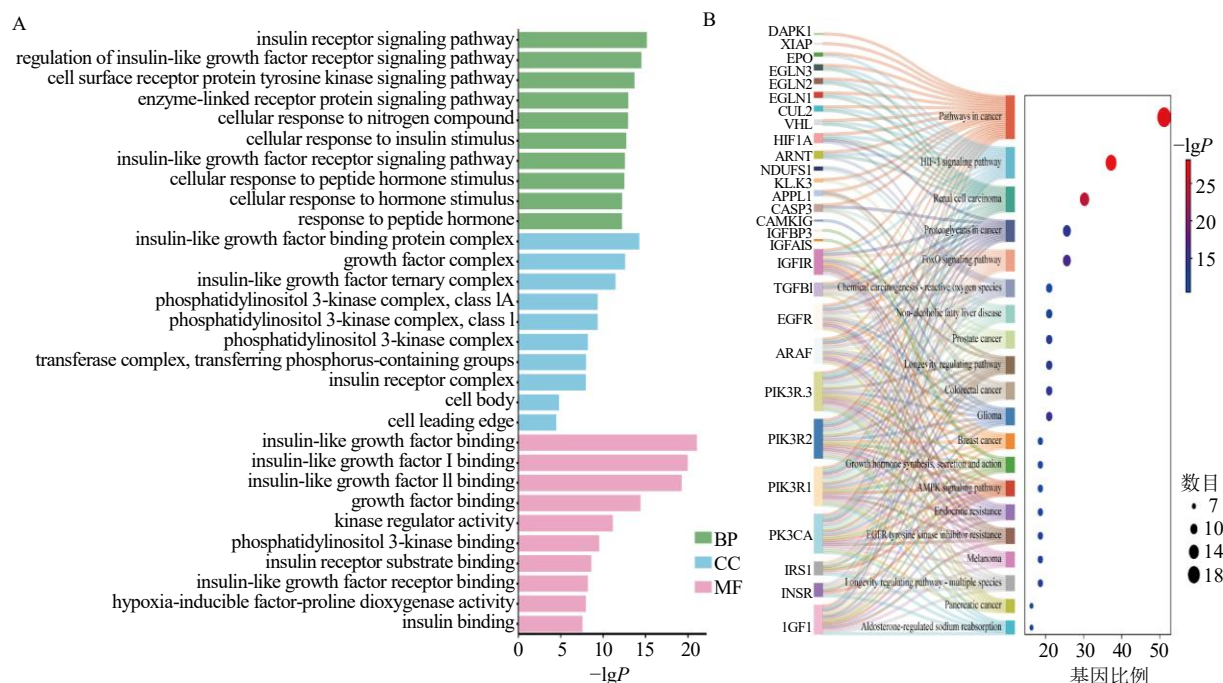


图 8 GMFA-ED 的 GO 富集分析 (A) 和 GMFA-ED 的 KEGG 富集分析 (B)

Fig. 8 Bar chart of GO enrichment analysis in GMFA-ED (A) and sankey map of KEGG enrichment analysis in GMFA-ED (B)

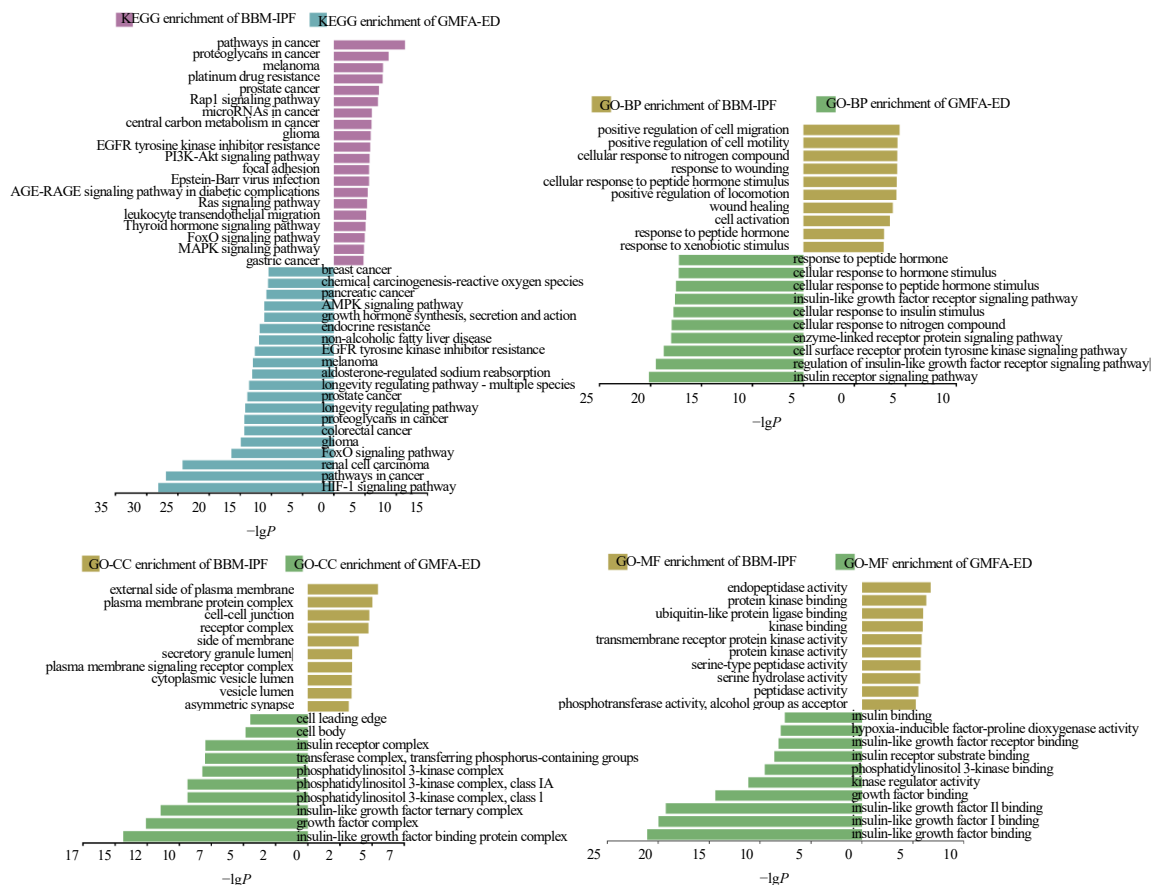


图 9 BBM-IPF 和 GMFA-ED 富集结果比较

Fig. 9 Comparison of BBM-IPF and GMFA-ED enrichment results

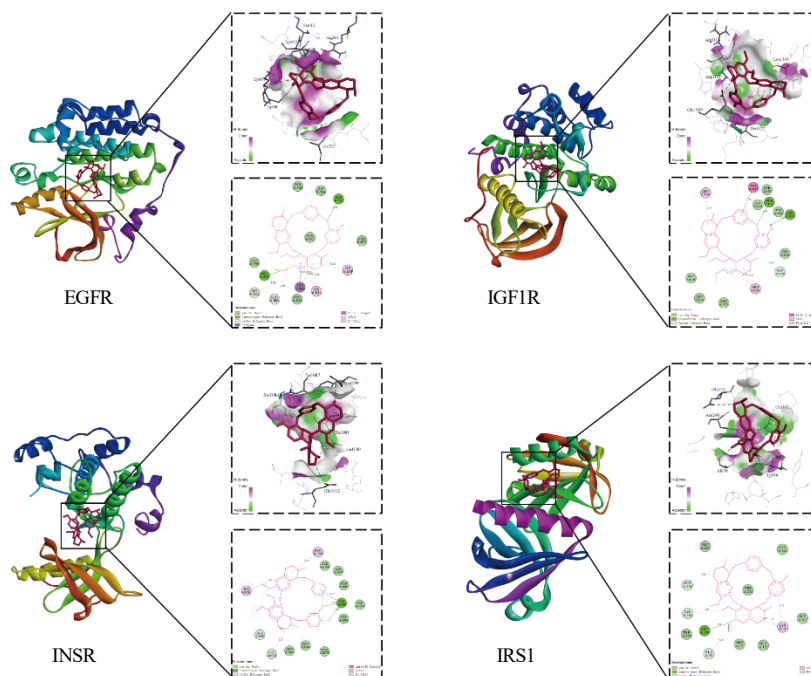


图 10 核心靶点 EGFR、IGF1R、INSR 和 IRS1 与小檗胺分子对接结果可视化 (GMFA-ED)

Fig. 10 Visualization of molecular docking results of core targets EGFR, IGF1R, INSR and IRS1 with berbamine (GMFA-ED)

3 讨论

特发性肺纤维化是一种常见于老年群体的慢性、进行性、纤维化性的间质性肺疾病，病因尚不明确。目前，仅有尼达尼布和吡非尼酮被获批用于治疗特发性肺纤维化，可以减缓疾病进程，却无法逆转进行性肺纤维化且伴随显著的不良反应^[12]。肺移植是唯一治愈的方法。因此，探索新的治疗药物至关重要。小檗胺作为中药的有效成分，临床上用于治疗白细胞减少症。此外，关于小檗胺的抗纤维化和抗炎作用的研究已有许多文献报道^[13-14]，但在治疗特发性肺纤维化的疗效和机制尚不明确。因此采用网络药理学结合生物信息学^[15]，辅以 GMFA 网络分析和分子对接，探究小檗胺抗纤维化的潜在治疗靶点和途径，为小檗胺的开发利用和治疗纤维化提供一些参考信息。

网络药理学结合生物信息学共挖掘出 32 个小檗胺治疗特发性肺纤维化潜在作用靶点，说明小檗胺可能通过多靶点发挥抗纤维化作用。综合网络拓扑分析进一步筛选出 CASP3、IGF1、HIF1A、PIK3CA 共 4 个核心靶点，均在特发性肺纤维化发生和发展中发挥重要作用。CASP3 在受损的 II 型肺泡上皮细胞 (ACE II) 中大量表达，引发细胞衰老；抑制 CASP3 的活化，可恢复线粒体功能障碍诱导的 ACE II 氧化应激和炎症反应，逆转纤维化^[16]。IGF1 已被证明在软基质环境中可刺激成纤维细胞分化为肌成纤维细胞，促进胶原蛋白生成^[17]。HIF1A 是特发性肺纤维化糖酵解重编程和缺氧的关键转录调节因子。研究发现，乳酸在促进肺纤维化的进展中起着重要作用，促进 HIF1A 泛素依赖性降解，可抑制细胞乳酸和脂质水平，减缓肺纤维化^[18]。PIK3CA 是 PI3K/Akt 信号通路重要成员，参与调节细胞增殖、分化凋亡和迁移等。研究发现白细胞介素 17A 通过激活 PIK3CA，阻止 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2，一种抗凋亡蛋白) 磷酸化，抑制肺上皮细胞自噬，从而促进肺纤维化^[19]。以上研究证实了这些核心靶点在肺纤维化进展和治疗中具有重要作用，也说明它们可能是小檗胺治疗特发性肺纤维化的关键作用靶点。分子对接结果表明小檗胺与 CASP3、IGF1、HIF1A、PIK3CA 具有良好的结合能力，为预测其作用机制提供一定的理论支持。

GO 和 KEGG 富集分析结果说明了小檗胺主要涉及的信号通路与生物功能均与特发性肺纤维化的损伤修复、胶原沉积以及细胞迁移相关。Rap1 是一

种小 G 蛋白，参与许多重要的细胞过程，如细胞黏附、细胞连接的信息和调控、细胞迁移、极化等。Luo 等^[20]发现积雪草苷通过激活 Rap1 信号通路减轻博来霉素诱导小鼠肺纤维化。EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药主要是非小细胞肺癌靶向治疗的难题，未来也可能成为肺纤维化治疗的一大挑战 (如尼达尼布)。PI3K/Akt 信号通路被认为是特发性肺纤维化的主要调节通路，可直接参与特发性肺纤维化形成或与其他途径协同促进纤维化发展。现有证据表明，肺纤维化中 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的过度表达与 PI3K/Akt 的激活有关，TGF- β 与 PI3K/Akt 的相互作用促进了肺纤维化的形成。此外，PI3K/Akt 的激活可通过调节其下游，如哺乳动物雷帕霉素靶标 (mTOR)、HIF1A 和 Fox 家族，参与肺纤维化^[21]。FoxO 信号通路能够调节细胞凋亡相关基因的表达，如 Bcl-2、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 等。Al-Tamari 等^[22]体内外研究发现正常人肺成纤维细胞中 FoxO3 可再现转分化和过度增殖表型，全敲或成纤维细胞选择性敲除 FoxO3 的小鼠表现出对博来霉素的敏感性增强、纤维化加剧、肺功能丧失和死亡率增加，给药激活 FoxO3 可治疗肺纤维化，表明 FoxO3 是肺纤维化中促纤维化信号传导的关键整合者。小檗胺作用于多个与特发性肺纤维化相关信号通路，间接验证其可能通过多种途径发挥抗纤维化作用。

对 4 个核心靶点进行 GMFA 网络分析，主要为了丰富小檗胺治疗特发性肺纤维化的潜在治疗靶点的研究。整合共表达、物理相互作用和遗传相互作用。共表达分析揭示了具有相似表达模式的基因，表明了潜在的功能关系；物理相互作用表明参与相同蛋白质复合物，有助于确定潜在的治疗靶点；遗传相互作用，如合成致死或抑制，为与类似途径错综复杂联系的基因提供有价值的见解，提供了有希望的治疗机会。GMFA-ED 的 GO 和 KEGG 富集结果显示，GO 富集显示出与特发性肺纤维化进展相关的细胞迁移、细胞衰老、细胞凋亡以及信号转导的 BP、CC 和 MF。KEGG 通路富集主要涉及 HIF-1 信号通路、FoxO 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、AMPK 信号通路等。Brereton 等^[23]研究发现在特发性肺纤维化中，HIF 通路通过氧依赖和氧独立机制被激活，促进胶原蛋白的过量交联，导致特发性肺纤维化组织机械性能失调，说明 HIF 通路活性失调是特发性肺纤维化胶原蛋白结构功能失

调的关键调控因子。此外,促进 β -catenin/FoxO1 信号传导可改善肾间质纤维化^[24]。AMPK 信号通路参与肺部炎症的调控,AMPK 激活后可通过下游 FoxO3、P53 等直接或间接调节核因子- κ B (NF- κ B) 活性,从而抑制炎症因子达到抗炎及抗纤维化作用^[25]。用 AMPK 激活剂二甲双胍处理,可激活纤维化内皮细胞 AMPK,减缓博来霉素诱导的小鼠肺纤维化^[26]。通过比较 GMFA 分析前后的富集结果,为进一步分析指明方向,发现除了癌症相关通路外,大量 GMFA-ED 基因被显著富集到与特发性肺纤维化更相关的 HIF-1 信号通路和 FoxO 信号通路中,同时 FoxO 信号通路在 BBM-IPF 和 GMFA-ED 中均有富集,因此选择该通路富集到基因进行下一步分析,找到 EGFR、IGF1R、INSR 和 IRS1 4 个基因,并有可能成为新的治疗靶点。Zhang 等^[27]发现抑制 IGF1/IGF1R 信号转导可抑制 ROS 驱动的 NF- κ B/NLRP3 通路来缓解煤尘纳米颗粒诱导的炎症及上皮间质转化。EGFR 是一种酪氨酸激酶受体,在肺纤维化中高表达,抑制 EGFR 可以阻断纤维化信号传导,减少成纤维细胞活化,目前,已获批药物尼布尼达也是一种酪氨酸激酶抑制剂。INSR 是受体酪氨酸激酶家族成员,与各自配体结合后,可以激活胞内酪氨酸激酶,参与信号转导。IRS1 是恶性细胞内 PI3K 的关键调节因子,随着中性粒细胞弹性蛋白酶降解 IRS1,PI3K 和有效的促分裂原血小板衍生生长因子受体(PDGFR)之间相互作用增加,从而使 PI3K 轴偏向肺肿瘤细胞增殖^[28]。分子对接结果显示小檗胺与这些靶点具有较强的结合活性,说明了小檗胺靶向 FoxO 信号通路治疗特发性肺纤维化的潜力。

综上所述,本研究探讨了小檗胺可能通过多靶点和多途径发挥抗纤维化作用,为小檗胺治疗特发性肺纤维化的基础研究提供一定参考意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] King T E, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Lancet*, 2011, 378(9807): 1949-1961.
- [2] Ley B, Collard H R. Epidemiology of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Clin Epidemiol*, 2013, 5: 483-492.
- [3] Maher T M, Bendstrup E, Dron L, et al. Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 197.
- [4] 王巨存, 冯亦颖, 胡永成, 等. 小檗胺及其衍生物抗肿瘤作用及机制研究进展 [J]. *天津医药*, 2012, 40(12): 1273-1275.
- [5] Muhammad G, Hussain M A, Shafiq Z, et al. Pharmacological and therapeutic potential of berbamine: A potent alkaloid from genus *Berberis* [J]. *Curr Top Med Chem*, 2024.
- [6] Yi D R, Li Q J, Wang H, et al. Repurposing of berbamine hydrochloride to inhibit Ebola virus by targeting viral glycoprotein [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(12): 4378-4389.
- [7] 王浩嘉, 李森, 连瑞, 等. 小檗胺的体外抗病毒作用及基于 I 型干扰素通路的机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2023, 46(6): 1185-1192.
- [8] Song X Y, Kong L L, Chen N H. Berbamine [M]//*Natural Small Molecule Drugs from Plants*. Singapore: Springer Singapore, 2018: 485-489.
- [9] Wang X, Shen Y H, Wang S W, et al. PharmMapper 2017 update: A web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W356-W360.
- [10] Gallo K, Goede A, Preissner R, et al. SuperPred 3.0: Drug classification and target prediction-a machine learning approach [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1): W726-W731.
- [11] Rajadnya R, Sharma N, Mahajan A, et al. Novel systems biology experimental pipeline reveals matairesinol's antimetastatic potential in prostate cancer: An integrated approach of network pharmacology, bioinformatics, and experimental validation [J]. *Brief Bioinform*, 2024, 25(5): bbac466.
- [12] Somogyi V, Chaudhuri N, Torrisi S E, et al. The therapy of idiopathic pulmonary fibrosis: What is next? [J]. *Eur Respir Rev*, 2019, 28(153): 190021.
- [13] Liang Y, Xu R Z, Zhang L, et al. Berbamine, a novel nuclear factor kappaB inhibitor, inhibits growth and induces apoptosis in human myeloma cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(12): 1659-1665.
- [14] Wu X J, Zhang D Q, Qiao X J, et al. Regulating the cell shift of endothelial cell-like myofibroblasts in pulmonary fibrosis [J]. *Eur Respir J*, 2023, 61(6): 2201799.
- [15] 鲍宁, 陈子超, 刘名玉, 等. 整合生物信息学与实验验证解析黄芪-莪术药对抗肝癌配伍机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(1): 114-126.
- [16] Li Q L, Chang X, Han Y M, et al. Consumption of endogenous caspase-3 activates molecular theranostic nanoplatfrom against inflammation-induced profibrotic positive feedback in pulmonary fibrosis [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(6): e2412303.

- [17] Hung C F, Rohani M G, Lee S S, *et al.* Role of IGF-1 pathway in lung fibroblast activation [J]. *Respir Res*, 2013, 14(1): 102.
- [18] Yan P S, Yang K, Xu M W, *et al.* CCT6A alleviates pulmonary fibrosis by inhibiting HIF-1 α -mediated lactate production [J]. *J Mol Cell Biol*, 2024, 16(5): mjae021.
- [19] Liu H, Mi S, Li Z, *et al.* Interleukin 17A inhibits autophagy through activation of PIK3CA to interrupt the GSK3B-mediated degradation of BCL2 in lung epithelial cells [J]. *Autophagy*, 2013, 9(5): 730-742.
- [20] Luo J, Zhang T, Zhu C W, *et al.* Asiaticoside might attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis by activating cAMP and Rap1 signalling pathway assisted by A2AR [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(14): 8248-8261.
- [21] Wang J C, Hu K L, Cai X Y, *et al.* Targeting PI3K/Akt signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 18-32.
- [22] Al-Tamari H M, Dabral S, Schmall A, *et al.* FoxO3 an important player in fibrogenesis and therapeutic target for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *EMBO Mol Med*, 2018, 10(2): 276-293.
- [23] Brereton C J, Yao L D, Davies E R, *et al.* Pseudohypoxic HIF pathway activation dysregulates collagen structure- function in human lung fibrosis [J]. *eLife*, 2022, 11: e69348.
- [24] Rao P, Pang M, Qiao X, *et al.* Promotion of β -catenin/Foxo1 signaling ameliorates renal interstitial fibrosis [J]. *Lab Invest*, 2019, 99(11): 1689-1701.
- [25] 简悦, 赵勇. AMPK-NF- κ B 在肺部炎症通路的研究进展 [J]. *临床肺科杂志*, 2016, 21(12): 2291-2293.
- [26] Chen X Q, Wang H, Wu C, *et al.* Endothelial H₂S-AMPK dysfunction upregulates the angiocrine factor PAI-1 and contributes to lung fibrosis [J]. *Redox Biol*, 2024, 70: 103038.
- [27] Zhang Y C, Liang J J, Cao N D, *et al.* Coal dust nanoparticles induced pulmonary fibrosis by promoting inflammation and epithelial-mesenchymal transition via the NF- κ B/NLRP3 pathway driven by IGF1/ROS-mediated AKT/GSK3 β signals [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 500.
- [28] McGarry Houghton A, Rzymkiewicz D M, Ji H B, *et al.* Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth [J]. *Nat Med*, 2010, 16(2): 219-223.

[责任编辑 金玉洁]