

基于网络药理学和实验验证的麻黄细辛附子汤治疗变应性鼻炎的作用机制探讨

倪钰莹¹, 范淑月¹, 高婧¹, 崔颖¹, 罗再奕¹, 姜皓², 许洛溪², 刘敏^{1*}

1. 北京中医药大学中医学院, 北京 100029

2. 北京中医药大学岐黄学院, 北京 100029

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探讨麻黄细辛附子汤治疗变应性鼻炎(AR)的作用机制,并结合体外细胞实验进行验证。**方法** 运用TCMSP平台获取麻黄细辛附子汤的活性成分及作用靶点,通过GeneCards、OMIM、PharmGKB、TTD和DrugBank数据库检索AR疾病靶点。利用STRING平台构建蛋白质相互作用(PPI)网络。通过R语言进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。利用AutoDock对关键化合物与核心靶基因进行对接验证。体外培养人鼻黏膜上皮细胞(HNEpC),使用酶联免疫吸附(ELISA)、流式细胞术、实时荧光定量PCR(qRT-PCR)的方法验证麻黄细辛附子汤对炎症因子、细胞凋亡、部分关键靶点表达的影响。**结果** 经筛选得到麻黄细辛附子汤活性成分62个,治疗AR靶点99个。PPI核心靶点包括前列腺素G/H合成酶2(PTGS2)、丝裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等。KEGG富集分析涉及与免疫炎症相关信号通路,与细胞增殖、凋亡相关信号通路,GO富集分析涉及对脂多糖反应等生物过程,细胞因子受体结合、细胞因子活性等分子功能。分子对接结果表明,活性成分与靶基因紧密结合。细胞实验结果显示,与模型组比较,麻黄细辛附子汤可以减少炎症因子白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)分泌($P<0.05$ 、 0.01),抑制细胞凋亡($P<0.01$),降低PTGS2、MAPK3 mRNA表达、升高MMP-9 mRNA表达($P<0.05$ 、 0.01)。**结论** 麻黄细辛附子汤可以通过多种活性成分作用于多靶点、多通路,调控炎症反应、免疫功能、细胞凋亡等途径发挥治疗AR的作用。

关键词: 变应性鼻炎; 麻黄细辛附子汤; 网络药理学; 分子对接; 鼻黏膜上皮细胞; 炎症因子

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)03-0510-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.03.006

Exploring mechanism of action of Mahuang Xixin Fuzi Decoction in treatment of allergic rhinitis based on network pharmacology and experimental verification

NI Yuying¹, FAN Shuyue¹, GAO Jing¹, CUI Ying¹, LUO Zaiyi¹, JIANG Hao², XU Luoxi², LIU Min¹

1. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. Qi-Huang Chinese Medicine School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of action of Mahuang Xixin Fuzi Decoction in treatment of allergic rhinitis (AR) based on network pharmacology and molecular docking techniques, and to validate it in combination with *in vitro* cellular experiments. **Methods** The TCMSP platform was used to obtain the active ingredients and action targets of Mahuang Xixin Fuzi Decoction, and the AR disease targets were searched by GeneCards, OMIM, PharmGKB, TTD and DrugBank databases. The protein-protein interaction (PPI) network was established by STRING platform. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis were performed by R language. AutoDock was used to verify the docking of key compounds with core target genes. Human nasal epithelial cells (HNEpC) were cultured *in vitro*, and the effects of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on inflammatory factors, apoptosis, and expression of some key targets were verified using ELISA, flow cytometry,

收稿日期: 2022-11-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81774375)

第一作者: 倪钰莹,女,硕士,研究方向为经方治疗常见病、疑难病。E-mail: 494156522@qq.com

*通信作者: 刘敏,女,教授,研究方向为经方治疗常见病、疑难病。E-mail: liumin78@126.com

and qRT-PCR. **Results** A total of 62 active components of Mahuang Xixin Fuzi Decoction and 99 therapeutic AR targets were obtained. The core targets of PPI included PTGS2, MAPK3, MMP-9, etc. KEGG enrichment analysis involved signaling pathways related to immune inflammation, cell proliferation and apoptosis, GO enrichment analysis involved biological processes such as response to lipopolysaccharide, cytokine receptor binding, cytokine activity. The molecular docking results showed that the active ingredients were tightly bound to the target genes. The results of cellular experiment showed that compared with the model group, Mahuang Xixin Fuzi Decoction could reduce the secretion of inflammatory factors IL-6, IL-8 and TNF- α ($P < 0.05, 0.01$), inhibit apoptosis ($P < 0.01$), reduce *PTGS2* and *MAPK3* mRNA expression and elevate *MMP-9* mRNA expression ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Mahuang Xixin Fuzi Decoction can act on multiple targets and pathways through multiple active ingredients to regulate inflammatory response, immune function, and apoptosis to exert therapeutic effects on AR.

Key words: allergic rhinitis; Mahuang Xixin Fuzi Decoction; network pharmacology; molecular docking; human nasal epithelial cells (HNEpC); inflammatory factors

变应性鼻炎(AR)是全球最常见的慢性疾病之一,是由过敏原刺激、免疫球蛋白E(IgE)介导的I型变态反应,临床表现为鼻塞、鼻痒、喷嚏、流涕、嗅觉减退等^[1]。流行病学调查显示,全世界约有20%的人口患有AR,发展中国家的发病率正逐渐上升^[2]。AR虽不至威胁患者生命,但它是许多并发症的基础,是哮喘控制不佳的主要危险因素,并严重影响工作、生活,降低社会生产力,造成巨大的经济损失^[3]。

AR属中医学“鼻鼽”“鼽嚏”“鼽水”等范畴^[4],中医理论多认为本病表寒外束为标,而少阴阳虚为本,症似外感,却正气已虚,临床常用麻黄细辛附子汤发散风寒、温阳扶正^[5-6]。麻黄细辛附子汤出自《伤寒论》,由麻黄、细辛、附子组成,方中麻黄发汗散寒以解太阳之表,附子温里助阳以扶少阴之虚,细辛通窍利肺,散寒破阴,以助麻附之用。大量临床和实验研究均证实麻黄细辛附子汤对防治AR优势显著、效果突出^[7-9]。药理学研究表明,麻黄细辛附子汤具有抗炎、抗过敏、免疫调节等作用^[10],但其治疗AR的主要活性成分及分子机制尚未完全阐明。

网络药理学以疾病-基因-靶点-药物之间的相互作用为基础,从生物系统的角度构建相关网络,从而全面评估中药对疾病的潜在治疗作用^[11-13]。本研究拟采用网络药理学方法结合实验研究探讨麻黄细辛附子汤治疗AR的潜在作用机制。

1 材料与方法

1.1 网络药理学和分子对接研究

1.1.1 麻黄细辛附子汤成分及靶点的获取 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://tcmbspw.com/tcmbsp.php>)对麻黄细辛附子汤(麻黄、细辛、附子)各药活性成分进行检索,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为

条件进行筛选,同时参考文献报道,补充了11个未达到筛选标准,但含量高及生物学效能强的活性成分。在TCMSP平台对活性成分进行靶点预测,并通过UniProt(<https://www.uniprot.org/>)数据库将靶点蛋白名称转化为对应的基因名称。

1.1.2 AR靶点筛选及中药-活性成分-靶点网络的绘制 在GeneCards数据库(<http://www.genecards.org/>) (relevance score ≥ 1)、OMIM数据库(<http://www.omim.org/>)、PharmGKB数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)和DrugBank数据库(<https://go.drugbank.com/>)中以“allergic rhinitis”为关键词进行检索,将5个数据库的结果取并集并删除重复值,即为AR相关靶点。使用Venny(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)工具,将麻黄细辛附子汤成分相关靶点与AR靶点取交集并绘制韦恩图。交集靶点导入Cytoscape 3.7.1软件,绘制中药-活性成分-靶点网络。

1.1.3 蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 利用STRING平台(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)对交集靶点进行PPI网络构建,设置物种为“Homo sapiens”,蛋白相互作用阈值设定为“Medium confidence”(0.400),所得结果由Cytoscape进行可视化处理,使用Cytoscape-CytoNCA插件进行分析,筛选出核心靶点。

1.1.4 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析 利用R语言对交集靶点进行GO和KEGG富集分析,限定 $P < 0.05$,物种为人类。将GO中排名前10的细胞组分(CC)、分子功能(MF)、生物过程(BP)及KEGG排名前30的通路按 P 值升序排序制作气泡图。

1.1.5 分子对接 分子对接验证关键活性成分槲皮素、山柰酚、芹菜素、木犀草素、伪麻黄碱、麻黄碱、

豆甾醇与核心靶点前列腺素 G/H 合成酶 2 (PTGS2)、转录因子 AP-1 (JUN)、丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (CASP3)、蛋白激酶 B1 (AKT1)、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 的结合活性。通过 PubChem 平台获取主要活性成分的 2D SDF 结构,利用 ChemBio3D 对其能量最小化处理,通过 RSCB PDB (<http://www.rcsb.org/>) 数据库获取关键靶点的蛋白质结构,利用 PyMol 去除水和小分子配体,经 AutoDockTools 加氢原子后转换成 PDBQT 格式用于对接,使用 AutoDock Vina 对接并评估其结合能力,用 Pymol 软件可视化处理。

1.2 体外细胞实验验证

1.2.1 材料 (1) 细胞: 人鼻黏膜上皮细胞 (HNEpC) 购于北纳创联生物科技有限公司 (货号: 356247)。(2) 组方药材及水煎液制备: 麻黄、细辛、附子 3 味中药均购自北京仟草中药饮片有限公司,批号分别为 190220004、190424006、190314002,经北京中医药大学中药学院杨瑶珺教授鉴定: 麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎,细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 的干燥根及根茎,附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根的加工品,均符合《中国药典》2020 年版标准,质量良好。称取麻黄 6 g、细辛 3 g、附子 9 g,常规方法煎煮,浓缩,制成 1 g·mL⁻¹ 水煎液,4 °C、12 000 r·min⁻¹ 离心 30 min,收集上清液,0.22 μm 细菌滤器滤过后置于 -20 °C 备用。(3) 试剂与仪器: EMEM 培养基购自上海道鹏生物有限公司;胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;脂多糖 (LPS) 购自美国 Sigma 公司;CCK-8 试剂盒、Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自北京兰博利德商贸有限公司;白细胞介素-8 (IL-8) ELISA 试剂盒购自江苏科特生物科技有限公司;白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子-α (TNF-α) ELISA 试剂盒购自江苏酶标生物科技有限公司;RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、SYBR Green 预混型 qPCR 试剂盒购自湖南艾科瑞生物工程有限公司;所用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 引物由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成,见表 1。多功能酶标仪,美国 Thermo 公司;流式细胞仪,美国

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列 (5'→3')
PTGS2	F: ATCTACGGTTTGCTGTGGGG R: GCCTGCTTGTCTGGAACAAC
MAPK3	F: TGAAGGCCCGAACTACCTAC R: CTTAGGTAGGTCATCCAGCTCC
MMP-9	F: TCTATGGTCCTCGCCCTGAA R: CATCGTCCACCGGACTCAAA
GAPDH	F: AGAAGGCTGGGGCTCATTTG R: AGGGGCCATCCACAGTCTTC

BD Biosciences 公司; qRT-PCR 仪, 美国 Bio-Rad 公司。

1.2.2 细胞培养 HNEpC 以 EMEM 完全培养基 (含 10% 胎牛血清及 1% 双抗), 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养, 取对数生长期细胞进行实验。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞存活率 将 HNEpC 以每孔 5×10⁴ 个接种于 96 孔板中, 培养箱内培养 24 h, 空白组 (不含细胞)、对照组内加入培养基, 麻黄细辛附子汤组依次加入 1、5、10、20、50 mg·mL⁻¹ 不同质量浓度的麻黄细辛附子汤水煎液, 24 h 后加入 10 μL CCK-8 溶液, 培养箱内避光孵育 30 min, 450 nm 处测定各孔吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.2.4 麻黄细辛附子汤对 LPS 诱导 HNEpC 细胞炎症因子、细胞凋亡及核心靶点 mRNA 表达的影响 将 HNEpC 以每孔 5×10⁵ 个接种于 6 孔板中, 培养箱内培养 24 h 后进行干预给药。分为对照组、模型组 (5 μg·mL⁻¹ LPS) 及低、中、高质量浓度麻黄细辛附子汤组 (5 μg·mL⁻¹ LPS + 5、10、20 mg·mL⁻¹ 麻黄细辛附子汤水煎液), 继续培养 24 h 后, 收集细胞和上清用于后续实验研究。

(1) ELISA 法检测各组细胞上清 IL-6、IL-8、TNF-α 水平 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤分别检测各组细胞上清液中 IL-6、IL-8、TNF-α 水平。

(2) 流式细胞仪检测各组细胞凋亡 使用不含 EDTA 的胰蛋白酶消化细胞, 1 500 r·min⁻¹ 离心 5 min, PBS 洗 2 次后, 用 100 μL 结合缓冲液重悬细胞, 加入 5 μL Annexin V-FITC, 室温避光孵育 10 min, 上机前 5 min 加入 10 μL PI, 并在流式管中补加 400 μL PBS, 流式细胞仪检测, Flowjo 软件分析结果。

(3) qRT-PCR 检测核心靶点 PTGS2、MAPK3、MMP-9 mRNA 表达 提取细胞总 RNA, 检测 RNA 浓

度,反转录为cDNA,进行荧光定量PCR反应,反应条件:95℃,10 min;95℃,5 s;60℃,30 s;40次循环。以GAPDH作为内参,数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行分析。

1.3 统计学方法

数据采用SPSS 20.0统计软件进行分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组样本间比较采用单因素方差分析,方差齐时,用LSD法进行多重比较,方差不齐则采用非参数检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学及分子对接研究结果

2.1.1 麻黄细辛附子汤治疗AR的作用靶点预测 通过检索得到麻黄细辛附子汤活性成分62个,见表2,作用靶点247个,AR靶点2 029个。将麻黄细辛附子汤成分靶点与AR疾病靶点取交集后得到99个共同靶点,见图1。用Cytoscape软件构建中药-活性成分-靶点网络,见图2。对节点拓扑参数进行分析,其中槲皮素、山柰酚、芹菜素、木犀草素、伪麻黄碱、麻黄

表2 麻黄细辛附子汤的活性成分

Table 2 Active ingredients of Mahuang Xixin Fuzi Decoction

MOL ID	化合物名称	OB/%	DL	药材来源
MOL005190	eriodictyol(圣草酚)	71.79	0.24	麻黄
MOL011319	truflex obp(邻苯二甲酸正丁异辛酯)	43.74	0.24	麻黄
MOL010788	leucopelargonidin(天竺葵素)	57.97	0.24	麻黄
MOL010785	(-)- <i>n</i> -methylephedrine(甲基麻黄碱)	63.64	0.04	麻黄
MOL010489	resivit(白西尼多)	30.84	0.27	麻黄
MOL009191	cathine(去甲伪麻黄碱)	68.94	0.03	麻黄
MOL009190	usaf cs-6(去甲麻黄碱)	66.05	0.03	麻黄
MOL007214	(+)-leucocyanidin[(+)-白矢车菊苷元]	37.61	0.27	麻黄
MOL006637	psi-ephedrin(伪麻黄碱)	52.25	0.03	麻黄
MOL006594	eciphin(麻黄碱)	43.35	0.03	麻黄
MOL005842	pectolarigenin(柳穿鱼黄素)	41.17	0.30	麻黄
MOL005573	genkwanin(芫花素)	37.13	0.24	麻黄
MOL005043	campest-5-en-3 β -ol(菜油甾醇)	37.58	0.71	麻黄
MOL004798	delphinidin(氯化花翠素)	40.63	0.28	麻黄
MOL004576	taxifolin(花旗松素)	57.84	0.27	麻黄
MOL004328	naringenin(柚皮素)	59.29	0.21	麻黄
MOL002881	diosmetin(香叶木素)	31.14	0.27	麻黄
MOL002823	herbacetin(草质素)	36.07	0.27	麻黄
MOL001771	poriferast-5-en-3 β -ol(多孔甾-5-烯-3 β -醇)	36.91	0.75	麻黄
MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one(24-胆甾乙烯-4-烯-3-酮)	36.08	0.76	麻黄
MOL001506	supraene(反式角鲨烯)	33.55	0.42	麻黄
MOL001494	mandenol(亚油酸乙酯)	42.00	0.19	麻黄
MOL000492	(+)-catechin[(+)-儿茶素]	54.83	0.24	麻黄
MOL000449	stigmasterol(豆甾醇)	43.83	0.76	麻黄
MOL000422	kaempferol(山柰酚)	41.88	0.24	麻黄、细辛
MOL000358	β -sitosterol(β -谷甾醇)	36.91	0.75	麻黄
MOL000105	protocatechuic acid(原儿茶酸)	25.37	0.04	麻黄
MOL000098	quercetin(槲皮素)	46.43	0.28	麻黄
MOL000008	apigenin(芹菜素)	23.06	0.21	麻黄

续表2

MOL ID	化合物名称	OB/%	DL	药材来源
MOL000006	luteolin(木犀草素)	36.16	0.25	麻黄
MOL009849	zinc05223929[(-)-细辛脂素]	31.57	0.83	细辛
MOL001558	sesamin(芝麻素)	56.55	0.83	细辛
MOL000986	1-asarinine[(+)-异芝麻素]	4.09	0.83	细辛
MOL012141	caribine(水鬼蕉宾碱)	37.06	0.83	细辛
MOL001460	cryptopin(隐品碱)	78.74	0.72	细辛
MOL012143	acon1_002321(山奈酚3-O-龙胆二糖苷)	5.16	0.68	细辛
MOL002962	(3S)-7-hydroxy-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl) chroman-4-one(3'-O-甲基紫黄檀素)	48.23	0.33	细辛
MOL002501	[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl]-(1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate(瓜菊酯)	62.52	0.31	细辛
MOL012140	4,9-dimethoxy-1-vinyl-β-carboline(4,9-二甲氧基-1-乙烯基β-咔啉)	65.30	0.19	细辛
MOL000207	methyleugenol(甲基丁香酚)	73.36	0.04	细辛
MOL002401	neokadsuranic acid B(新南五味子酸B)	43.10	0.85	附子
MOL002434	carnosifloside i_qt(肉质雪胆皂苷I)	38.16	0.80	附子
MOL000359	sitosterol(谷甾醇)	36.91	0.75	附子
MOL002397	karakoline(多根乌头碱)	51.73	0.73	附子
MOL002422	isotalatizidine(异塔拉定)	50.82	0.73	附子
MOL002415	6-demethyldesoline(6-去甲基地索林)	51.87	0.66	附子
MOL002410	benzoylnapelline(苯甲酰萘啉)	34.06	0.53	附子
MOL002406	2,7-dideacetyl-2,7-dibenzoyl-taxayunnanin F(2,7-二去乙酰基-2,7-二苯酰-云南紫杉宁F)	39.43	0.38	附子
MOL002392	deltoin(德尔妥因)	46.69	0.37	附子
MOL002398	karanjin(水黄皮素)	69.56	0.34	附子
MOL002395	deoxyandrographolide(去氧穿心莲内酯)	56.30	0.31	附子
MOL002409	benzoylhypaconine(苯甲酰次乌头原碱)	8.70	0.29	附子
MOL002388	delphin_qt(花翠素-3,5-二糖苷)	57.76	0.28	附子
MOL000538	hypaconitine(次乌头碱)	31.39	0.26	附子
MOL002421	ignavine(惰碱)	84.08	0.25	附子
MOL002416	deoxyaconitine(脱氧乌头碱)	30.96	0.24	附子
MOL002433	(3R,8S,9R,10R,13R,14S,17R)-3-hydroxy-4,4,9,13,14-pentamethyl-17-[(E,2R)-6-methyl-7-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxyhept-5-en-2-yl]-1,2,3,7,8,10,12,15,16,17-decahydr	41.52	0.22	附子
MOL002419	(R)-norcoclaurine(去甲乌药碱)	82.54	0.21	附子
MOL002211	11,14-eicosadienoic acid(11,14-二十碳二烯酸)	39.99	0.20	附子
MOL002423	jesaconitine(结乌头根碱)	33.41	0.19	附子
MOL002393	demethyldejavaine A(去甲基梭砂贝母碱A)	34.52	0.18	附子
MOL002394	demethyldejavaine B(去甲基梭砂贝母碱B)	34.52	0.18	附子

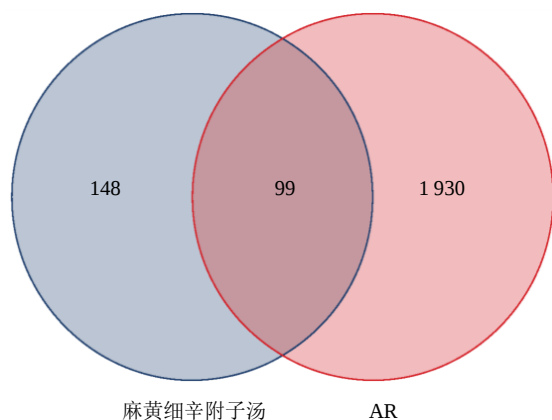


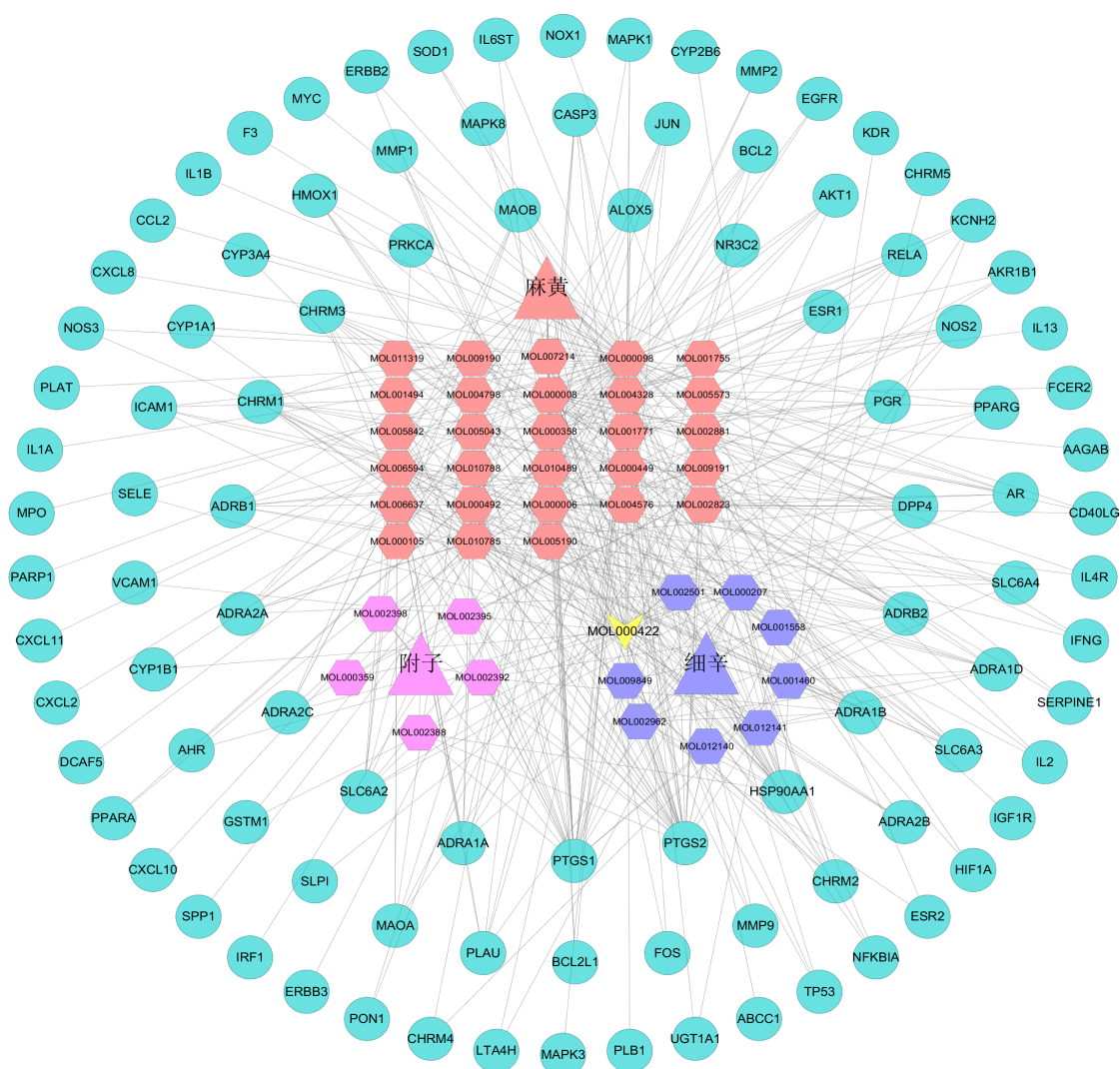
图1 药物靶点和疾病靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of drug targets and disease targets

碱、豆甾醇度值均 ≥ 20 ,可能是麻黄细辛附子汤治疗AR的主要活性成分。

2.1.2 PPI网络与核心靶点分析 利用STRING平台将99个交集靶点进行PPI网络构建,见图3。使用Cytoscape-CytoNCA插件对度中心性(DC)、中介中心性(BC)、紧密中心性(CC)、特征向量中心性(EC)、网络中心性(NC)和局部平均连通性(LAC)值进行计算,以中位数为标准进行2次筛选,获得33个关键靶点,其中包括PTGS2、MAPK3、MMP-9、JUN、CASP3、AKT1等14个核心靶点,见图4。

2.1.3 GO和KEGG富集分析 GO分析结果表明,靶点主要涉及对脂多糖的反应、对细菌来源分子的



黄色箭头代表麻黄、细辛共有成分

yellow arrow represents common components of *Ephedra sinica* and *Asarum heterotropoides*

图2 中药-活性成分-靶点网络

Fig. 2 Network of Chinese medicinal materials-active components-targets

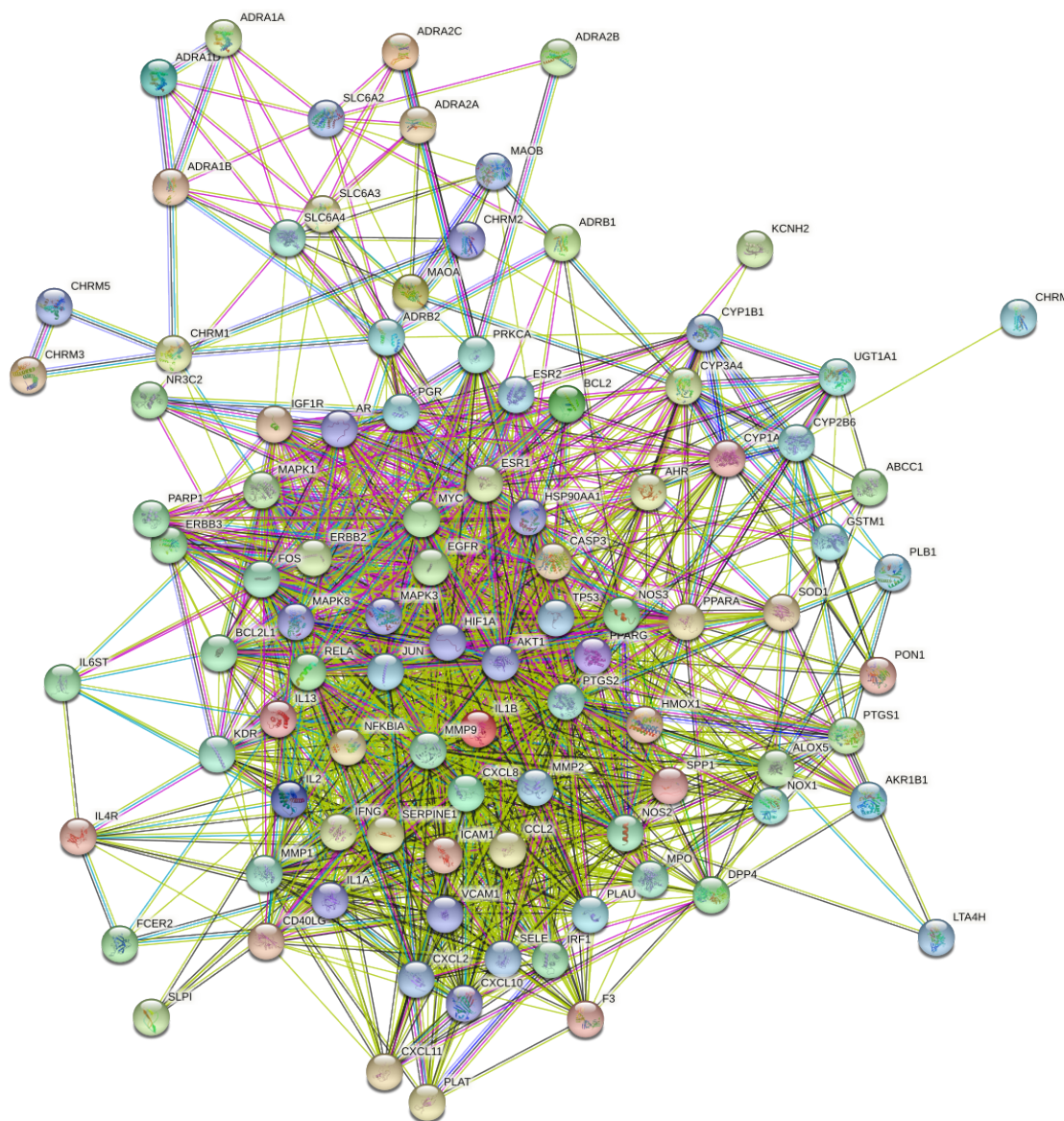


图3 PPI网络
Fig. 3 PPI network

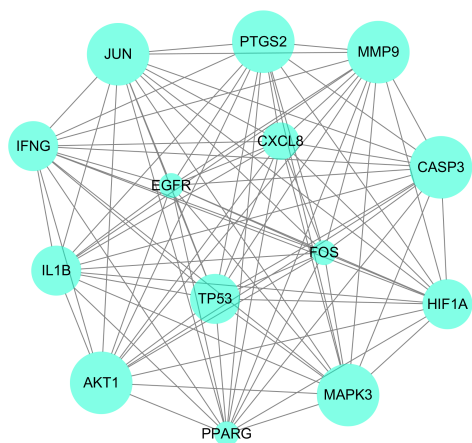


图4 PPI网络的核心靶点
Fig. 4 Core targets of PPI network

反应等BP;参与调节G蛋白偶联受体活性、细胞因子受体结合、细胞因子活性等MF;富集于膜筏、微膜区等CC,见图5。KEGG分析结果表明,基因主要富集于白细胞介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子(TNF)、辅助性T细胞(Th)17分化、核因子- κ B(NF- κ B)等免疫炎症相关通路;磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K-Akt)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、细胞凋亡等细胞存活、分化、增殖、凋亡相关通路,见图6。

2.1.4 分子对接结果 利用 Autodock 软件将中药-活性成分-靶点网络中度值最高的7个活性成分与PPI网络中6个核心靶点进行分子对接,获得结合能,见表3。一般认为结合能越小代表靶基因与活

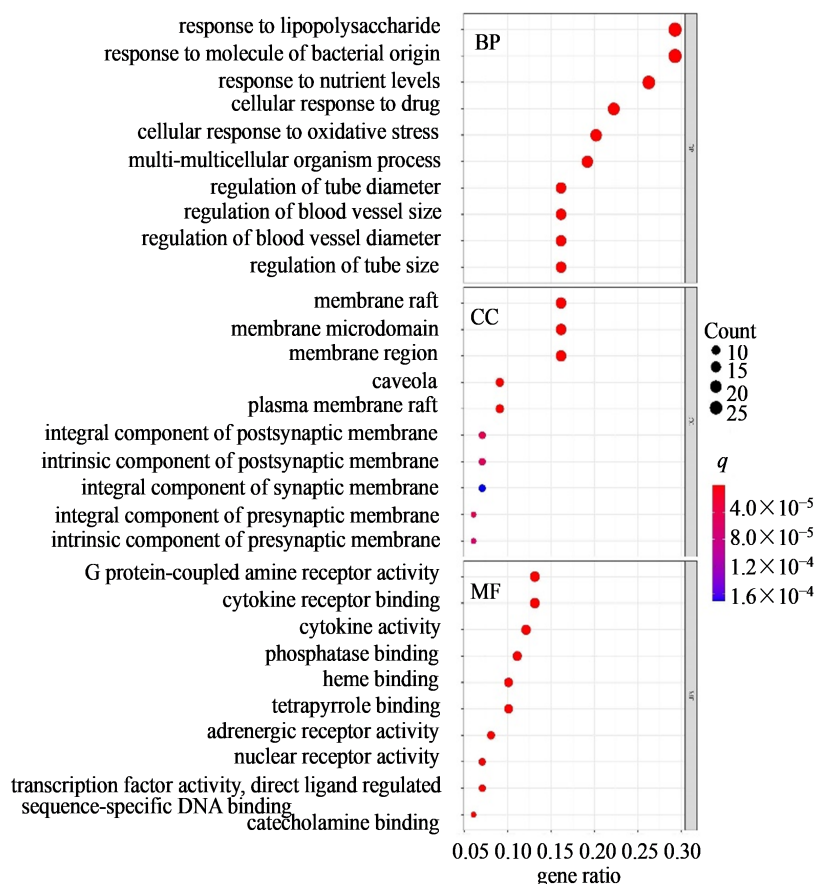


图 5 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis

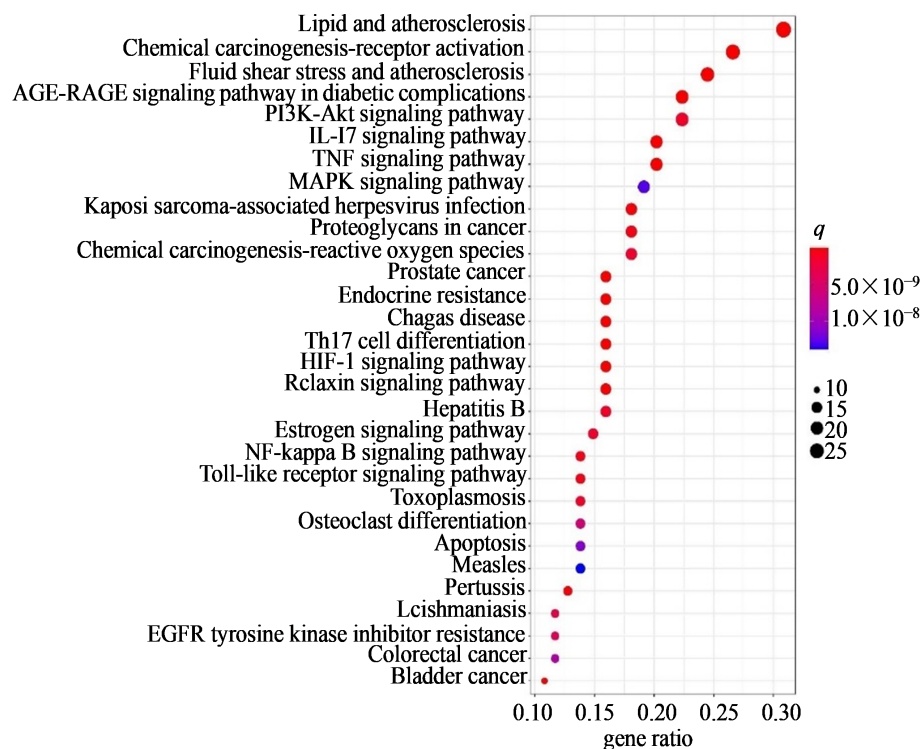


图 6 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis

性成分结合越紧密,结合能小于 $-17.78\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 表示配体与受体有一定的结合活性,小于 $-20.92\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 有较好的结合活性,小于 $-29.29\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 有强烈的结合活性^[14]。结果显示,除了麻黄碱、伪麻黄碱与JUN、CASP3有一定的结合活性,其余活性成分与靶点之间具有较好或强烈的结合活性。根据结合能大小,将PTGS2、MAPK3、MMP-9与槲皮素、山柰酚、芹菜素、木犀草素对接结果进行可视化,见图7,后续实验选择此3个靶点进行验证。

2.2 体外实验验证结果

2.2.1 麻黄细辛附子汤对细胞活性的影响 CCK8检测结果显示,与对照组比较,麻黄细辛附子汤质量浓度低于 $20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对细胞存活率影响不显著,而麻黄细辛附子汤质量浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞存活率显著降低($P<0.01$),见表4,因此选择5、10、 $20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的给药质量浓度进行后续实验。

2.2.2 麻黄细辛附子汤对LPS诱导的HNEpC细胞上清液中IL-6、IL-8、TNF- α 水平的影响 与对照组

表3 药物活性成分-核心靶点分子对接结合能

Table 3 Molecular docking binding energy of drug active ingredients-core targets

活性成分	结合能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)					
	PTGS2	JUN	MAPK3	CASP3	AKT1	MMP-9
槲皮素(quercetin)	-40.17	-27.61	-38.91	-28.45	-26.78	-44.77
山柰酚(kaempferol)	-38.49	-26.78	-38.91	-28.87	-25.94	-43.10
芹菜素(apigenin)	-39.75	-27.20	-39.33	-28.45	-26.78	-43.51
木犀草素(luteolin)	-41.42	-28.03	-39.75	-29.71	-26.36	-45.19
伪麻黄碱(pseudoephedrine)	-25.52	-20.92	-26.36	-20.50	-26.78	-29.71
麻黄碱(ephedrine)	-27.61	-20.08	-27.20	-20.08	-22.18	-28.03
豆甾醇(stigmasterol)	-31.38	-27.61	-36.82	-26.78	-28.87	-37.24

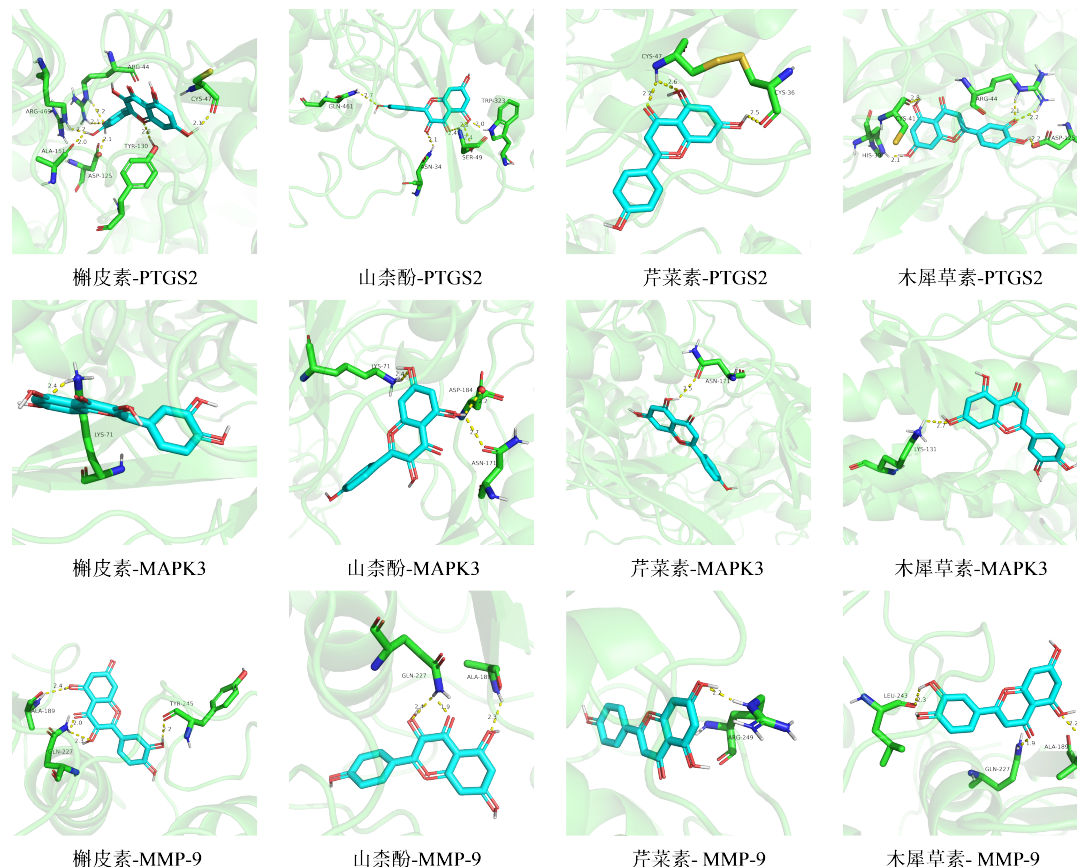


图7 核心成分与靶点对接示意图

Fig. 7 Schematic diagram of docking between core components and targets

表4 麻黄细辛附子汤对HNEpC细胞活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=4$)Table 4 Effects of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on viability of HNEpC cells ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

组别	质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	细胞存活率/%
对照	—	100.00 $\pm$ 5.96
麻黄细辛附子汤	1	102.25 $\pm$ 5.93
	5	108.72 $\pm$ 3.32
	10	102.69 $\pm$ 5.49
	20	98.20 $\pm$ 6.30
	50	71.64 $\pm$ 8.17**

与对照组比较:** $P<0.01$ ** $P<0.01$ vs control group表5 麻黄细辛附子汤对LPS诱导的HNEpC细胞上清液中IL-6、IL-8、TNF- α 水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=4$)Table 5 Effect of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in supernatant of HNEpC cells induced by LPS ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

组别	质量浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	IL-6/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	IL-8/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TNF- α /($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
对照	—	34.56 $\pm$ 1.01	123.36 $\pm$ 7.21	60.15 $\pm$ 1.62
模型	—	44.68 $\pm$ 2.11**	146.89 $\pm$ 3.26**	72.54 $\pm$ 3.41**
麻黄细辛附子汤	5	39.82 $\pm$ 2.95##	134.48 $\pm$ 11.25#	64.40 $\pm$ 1.59##
	10	38.95 $\pm$ 0.97##	132.45 $\pm$ 8.89#	57.67 $\pm$ 4.88##
	20	38.94 $\pm$ 2.07##	116.38 $\pm$ 6.72##	41.71 $\pm$ 2.67##

与对照组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:# $P<0.05$ ## $P<0.01$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group表6 麻黄细辛附子汤对LPS诱导的HNEpC细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)Table 6 Effect of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on apoptosis of HNEpC cells induced by LPS ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	细胞凋亡率/%
对照	—	8.57 $\pm$ 0.42
模型	—	13.57 $\pm$ 0.43**
麻黄细辛附子汤	5	11.95 $\pm$ 0.35##
	10	10.21 $\pm$ 0.54##
	20	9.76 $\pm$ 0.50##

与对照组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:## $P<0.01$ ** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group

较,麻黄细辛附子汤各给药组干预后细胞中 *PTGS2*、*MAPK3* mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01), *MMP-9* mRNA 表达水平显著增加 ($P<0.05$ 、 0.01),见表7。

3 讨论

AR 是多种免疫细胞、细胞因子和炎症介质等

比较,模型组上清液中 IL-6、IL-8、TNF- α 水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,麻黄细辛附子汤各给药组上清液中 IL-6、IL-8、TNF- α 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01),见表5。

2.2.3 麻黄细辛附子汤对 LPS 诱导的 HNEpC 细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测结果表明,与对照组比较,模型组细胞凋亡率显著增加 ($P<0.01$);与模型组比较,麻黄细辛附子汤各给药组细胞凋亡率显著降低 ($P<0.01$),见表6和图8。

2.2.4 麻黄细辛附子汤对 LPS 诱导的 HNEpC 细胞 *PTGS2*、*MAPK3*、*MMP-9* mRNA 表达的影响 与对照组比较,模型组细胞中 *PTGS2*、*MAPK3*、*MMP-9* mRNA 表达水平显著增加 ($P<0.01$);与模型组比

参与的鼻黏膜非感染性炎症疾病,常反复发作,迁延不愈^[15]。目前 AR 的常见治疗方法有减少过敏原暴露、药物治疗、过敏原特异性免疫治疗,但相关副作用较多,所需周期较长,缺乏远期疗效,相比之下,中医药治疗 AR 有明显优势^[16-18]。AR 多属风寒外束,气虚阳衰病症,而麻黄细辛附子汤有散寒温阳、兼顾表里之效,是 AR 的对症之方。研究表明,本方可通过干预多细胞-多靶点、调节免疫炎症反应、干涉凋亡、代谢等过程治疗 AR,但其确切药理学机制远未阐明^[19]。

本研究通过中药-活性成分-靶点网络筛选出槲皮素、山柰酚、芹菜素、木犀草素等重要活性成分。槲皮素具有抗炎及调节免疫功能作用,能够抑制组胺和促炎介质分泌,调节 Th1/Th2 平衡,减少 IgE 产生^[20]。山柰酚可以减轻 AR 小鼠过敏反应症状,下调白细胞介素-32 (IL-32)、胸腺基质淋巴生成素 (TSLP)、环氧合酶-2 (COX-2) 等多种炎症标志物的表达^[21]。芹菜素、木犀草素通过抑制 Th2 反应,如白细胞介素-4 (IL-4)、转录因子 GATA 结合蛋白

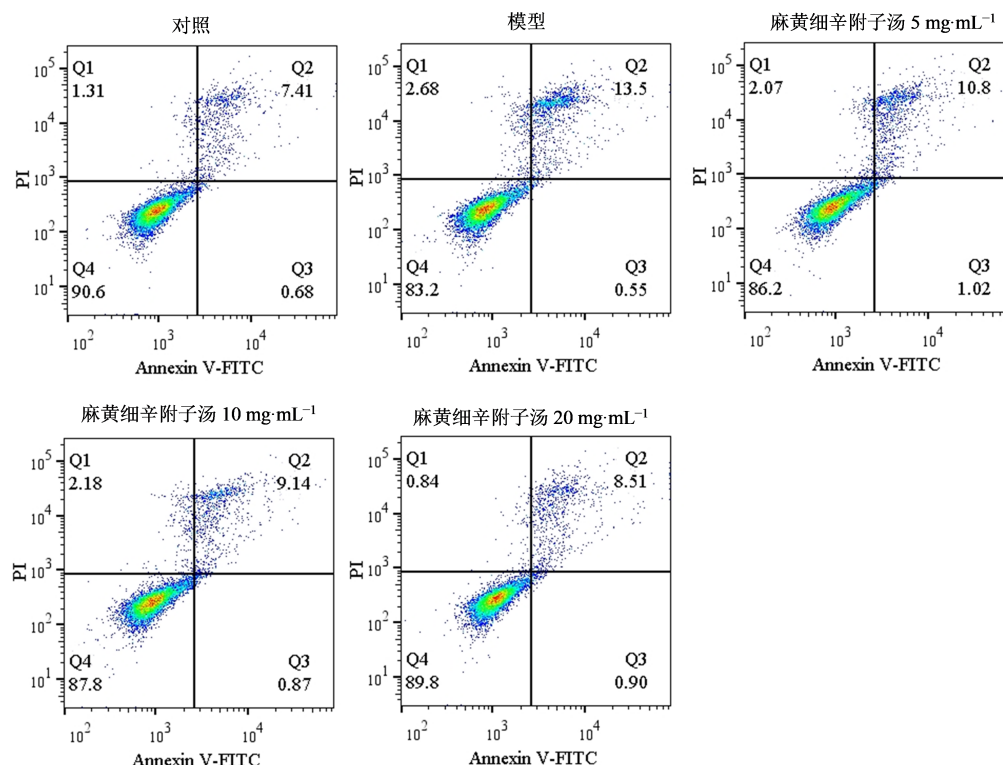


图8 麻黄细辛附子汤对LPS诱导的HNEpC细胞凋亡的影响

Fig. 8 Effect of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on apoptosis of HNEpC cells induced by LPS

表7 麻黄细辛附子汤对LPS诱导的HNEpC细胞PTGS2、MAPK3、MMP-9 mRNA表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 7 Effect of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on expression levels of PTGS2, MAPK3, MMP-9 mRNA in HNEpC cells induced by LPS ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	mRNA 相对表达量		
		PTGS2	MAPK3	MMP-9
对照	—	1.00±0.08	1.00±0.02	1.00±0.10
模型	—	1.29±0.05**	1.23±0.04**	4.70±0.41**
麻黄细辛附子汤	5	1.11±0.05 [#]	1.03±0.07 ^{##}	6.57±0.41 [#]
	10	1.06±0.12 ^{##}	1.01±0.08 ^{##}	6.72±0.31 ^{##}
	20	0.96±0.03 ^{##}	0.97±0.08 ^{##}	6.98±0.55 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

3(GATA-3)、信号传导及转录激活因子6(STAT6)等表达,激活Th1反应,如 γ -干扰素(IFN- γ)、转录因子T-bet结合蛋白(T-bet)等表达从而调节AR中Th1/Th2的平衡^[22-23]。本课题组前期研究已经证明麻黄细辛附子汤可以调控IL-4/STAT6通路,促进IFN- γ 分泌,抑制IL-4分泌,升高T-bet/GATA-3值,干预适应性免疫过程^[24-26],本研究结果提示芹菜素、木犀草素很有可能是麻黄细辛附子汤治疗AR的关键物质基础。

PPI网络分析筛选出了PTGS2、MAPK3、MMP-9、

AKT1、CASP3等核心靶点,主要涉及PI3K-Akt、MAPK、IL-17信号通路。AR的发病过程中,肥大细胞脱颗粒释放组胺、前列腺素等多种介质,激活效应细胞,介导炎症反应^[27]。PTGS2可以催化前列腺素的合成,抑制PTGS2表达能够增强抗过敏活性、减轻AR气道炎症^[28]。MMP-9可以降解、重塑形成细胞外基质的蛋白质^[29],与维持正常组织结构、创伤愈合、炎症反应等多种生理病理过程密切相关^[30]。MMP-9表达上调会加剧呼吸道炎症,增加嗜酸性粒细胞数量和炎性细胞因子水平^[31]。然而,与

本实验结果一致,另外一些研究认为,MMP-9表达增加可以促进呼吸道上皮组织愈合,对于变应性疾病的发生、发展起到保护性作用^[32]。CASP3是细胞凋亡途径中最下游的酶之一,激活CASP3会导致DNA降解和细胞凋亡^[33]。AKT1和MAPK3分别通过PI3K/Akt和MAPK信号通路参与AR的调节。

PI3K/Akt和MAPK信号通路对AR多种效应细胞均有干预作用,PI3K/Akt信号通路参与调节Th1/Th2免疫失衡^[34],调节性T细胞(Treg)细胞分化^[35],2型固有淋巴细胞(ILC2)转录因子、细胞因子表达^[36],肥大细胞脱颗粒等^[37]。MAPK信号通路激活可以促进Th2细胞分化,B细胞合成IgE^[38],嗜酸性粒细胞迁移^[39],杯状细胞增殖、黏液高分泌^[40],上皮细胞屏障破坏^[41]等。抑制PI3K/Akt、MAPK通路可减轻AR反应^[42-43]。IL-17主要由Th17细胞产生,对AR有着双向的调控作用,不仅可以募集多种免疫细胞促进AR发生,还能抑制肥大细胞脱颗粒,下调促炎细胞因子表达控制AR发病^[44]。

研究表明,IL-6、IL-8、TNF- α 等炎性细胞因子、趋化因子在AR患者鼻黏膜中高表达,能够启动AR并加剧呼吸道炎症损伤^[45-46]。本实验采用LPS干预HNEpC细胞构建AR体外模型,麻黄细辛附子汤各给药组干预后可以降低IL-6、IL-8、TNF- α 分泌水平,且能够抑制细胞凋亡,对HNEpC细胞起到保护作用。进一步采用qRT-PCR技术对核心靶点进行验证,结果显示,麻黄细辛附子汤各给药组可以降低PTGS2、MAPK3 mRNA表达,升高MMP-9 mRNA表达。体外实验中麻黄细辛附子汤作用呈一定的剂量相关性。以上结果表明,麻黄细辛附子汤可能通过调控PTGS2、MAPK3、MMP-9等核心靶点,调节免疫、炎症、细胞凋亡等途径发挥治疗AR的作用。本研究通过生物信息学技术^[47]进一步阐述了麻黄细辛附子汤治疗AR的微观分子机制,并对后续相关研究有一定的启示作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bousquet J, Anto J M, Bachert C, et al. Allergic rhinitis [J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 95.
- [2] Zhang Y, Zhang L. Increasing prevalence of allergic rhinitis in China [J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2019, 11(2): 156-169.
- [3] Greiner A N, Hellings P W, Rotiroti G, et al. Allergic rhinitis [J]. Lancet, 2011, 378(9809): 2112-2122.
- [4] 王德鉴,王士贞. 中医耳鼻喉科学 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [5] Wang D J, Wang S Z. Otolaryngology of Chinese Medicine [M]. 2nd Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007.
- [6] 王瑞瑞,李姝娟,杨星,等. 高建忠运用麻黄细辛附子汤治疗过敏性鼻炎经验探析 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(4): 1857-1860.
- [7] Wang R R, Li S J, Yang X, et al. Analysis of GAO Jian-Zhong's experience in treating allergic rhinitis with Mahuang Xixin Fuzi Decoction [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(4): 1857-1860.
- [8] 周峻,赵凡莹,郭雨晴. 过敏性鼻炎的中医治疗 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(1): 138-140.
- [9] Zhou J, Zhao F Y, Guo Y Q. Traditional Chinese medicine in the treatment of allergic rhinitis [J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2019, 17(1): 138-140.
- [10] 孙彤彤,闫军堂,倪钰莹,等. 王庆国教授辨治过敏性鼻炎经验探析 [J]. 浙江中医药大学学报, 2022, 46(6): 633-636.
- [11] Sun T T, Yan J T, Ni Y Y, et al. Professor WANG Qingguo's experience in treating allergic rhinitis [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2022, 46(6): 633-636.
- [12] 刘男男,于雪,张艺,等. 麻黄细辛附子汤对变应性鼻炎小鼠线粒体氧化应激损伤 AMPK-PGC-1 α 通路的影响 [J]. 环球中医药, 2021, 14(11): 1926-1931.
- [13] Liu N N, Yu X, Zhang Y, et al. Effects of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on mitochondrial oxidative stress injury of AMPK-PGC-1 α pathway in mice with allergic rhinitis [J]. Glob Tradit Chin Med, 2021, 14(11): 1926-1931.
- [14] 杨阳,王树鹏. 基于NF- κ B信号通路探讨麻黄细辛附子汤对变应性鼻炎大鼠NF- κ Bp65、p-CREB和AQP5表达的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(12): 2662-2665.
- [15] Yang Y, Wang S P. Exploring effect of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on expressions of NF- κ Bp65, p-CREB and AQP5 in rats with allergic rhinitis based on NF- κ B signaling pathway [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2019, 46(12): 2662-2665.
- [16] 刘春红,裴云芳,侯媛媛. 麻黄附子细辛汤研究进展 [J]. 山东中医杂志, 2016, 35(3): 270-273.
- [17] Liu C H, Pei Y F, Hou Y Y. A review on Mahuang Fuzi Xixin Decoction [J]. Shandong J Tradit Chin Med, 2016, 35(3): 270-273.
- [18] Hu K X, Duan X, Han L Z, et al. Exploring pharmacological mechanisms of Xiang ju tablets in the treatment of allergic rhinitis via a network pharmacology approach [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 6272073.
- [19] Guo B D, Dong W T, Huo J H, et al. Integrated metabolomics and network pharmacology analysis

- immunomodulatory mechanisms of qifenggubiao granules [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 828175.
- [13] Qi L J, Wang R Z, Gao S, et al. Molecular mechanisms underlying the effects of bimin Kang mixture on allergic rhinitis: Network pharmacology and RNA sequencing analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 7034078.
- [14] 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.
- [15] 袁安蕾, 明雨, 张欣怡, 等. 基于网络药理学及分子对接技术探讨紫辛鼻鼈颗粒治疗变应性鼻炎的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(19): 5344-5352.
Yuan A L, Ming Y, Zhang X Y, et al. Mechanism of Zixin Biqu Granules in treatment of allergic rhinitis based on network pharmacology and molecular docking technology [J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(19): 5344-5352.
- [16] Meng Y F, Wang C S, Zhang L. Recent developments and highlights in allergic rhinitis [J]. *Allergy*, 2019, 74(12): 2320-2328.
- [17] 马春, 李淑玲, 郝如彬, 等. 中医药治疗变应性鼻炎的作用机制及研究进展 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(10): 1473-1476.
Ma C, Li S L, Hao R B, et al. Study on the mechanism and research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of allergic rhinitis [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2019, 25(10): 1473-1476.
- [18] 杨懿, 吴威, 李楠, 等. 应用经典名方治疗变应性鼻炎的方药统计及用药规律分析 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(9): 1998-2006.
Yang Y, Wu W, Li N, et al. Statistics of syndrome differentiation and analysis of application rule of prescription in treating allergic rhinitis by clinicians [J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(9): 1998-2006.
- [19] 潘佳创, 刘男男, 张艺, 等. 麻黄细辛附子汤治疗变应性鼻炎的中药复方科研思路 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(18): 2784-2787.
Pan J C, Liu N N, Zhang Y, et al. Thoughts on scientific research of compound Chinese materia medica prescription of Mahuang Xixin Fuzi Decoction in allergic rhinitis [J]. *World Chin Med*, 2021, 16(18): 2784-2787.
- [20] Jafarinia M, Sadat Hosseini M, Kasiri N, et al. Quercetin with the potential effect on allergic diseases [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2020, 16: 36.
- [21] Oh H A, Han N R, Kim M J, et al. Evaluation of the effect of kaempferol in a murine allergic rhinitis model [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 718(1/2/3): 48-56.
- [22] Chen F, He D Y, Yan B L. Apigenin attenuates allergic responses of ovalbumin-induced allergic rhinitis through modulation of Th1/Th2 responses in experimental mice [J]. *Dose Response*, 2020, 18(1): 1559325820904799.
- [23] Liang K L, Yu S J, Huang W C, et al. Luteolin attenuates allergic nasal inflammation via inhibition of interleukin-4 in an allergic rhinitis mouse model and peripheral blood from human subjects with allergic rhinitis [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 291.
- [24] Liu M, Ji W T, Pan L Y, et al. Effects of ephedra asarum aconite decoction on Th1/Th2 balance in two animal models of allergic rhinitis [J]. *J Tradit Chin Med Sci*, 2017, 4(3): 261-271.
- [25] 纪雯婷, 胡京红, 于雪, 等. 麻黄细辛附子汤干预树突状细胞 IL-4/STAT6 的研究 [J]. *世界中医药*, 2018, 13(9): 2272-2275, 2280.
Ji W T, Hu J H, Yu X, et al. Study on the interference of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on IL-4/STAT6 of dendritic cells [J]. *World Chin Med*, 2018, 13(9): 2272-2275, 2280.
- [26] 任虹, 纪雯婷, 刘敏. 麻黄细辛附子汤纠正 TSLP 刺激树突状细胞后 Th1/Th2 偏移研究 [J]. *环球中医药*, 2018, 11(4): 508-512.
Ren H, Ji W T, Liu M. The study on the correction of Mahuang Xixin Fuzi Decoction on the migration of Th1/Th2 about dendritic cells stimulated by TSLP [J]. *Glob Tradit Chin Med*, 2018, 11(4): 508-512.
- [27] Bernstein D I, Schwartz G, Bernstein J A. Allergic rhinitis: Mechanisms and treatment [J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2016, 36(2): 261-278.
- [28] Tang F, Chen F L, Ling X, et al. Inhibitory effect of methyleugenol on IgE-mediated allergic inflammation in RBL-2H3 cells [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 463530.
- [29] Kapoor C, Vaidya S, Wadhwan V, et al. Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs) [J]. *J Cancer Res Ther*, 2016, 12(1): 28-35.
- [30] Cabral-Pacheco G A, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9739.
- [31] Zou F F, Zhang J P, Xiang G A, et al. Association of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) polymorphisms with asthma risk: A meta-analysis [J]. *Can Respir J*, 2019, 2019: 9260495.
- [32] Druilhe A, Zahm J M, Benayoun L, et al. Epithelium expression and function of retinoid receptors in asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38(3): 276-282.
- [33] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted

- regulators of cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 85-100.
- [34] Zeng Q X, Luo X, Han M M, et al. Leptin/osteopontin axis regulated type 2T helper cell response in allergic rhinitis with obesity [J]. *EBio Med*, 2018, 32: 43-49.
- [35] Zeng Q X, Liu W L, Luo R Z, et al. microRNA-181a and microRNA-155 are involved in the regulation of the differentiation and function of regulatory T cells in allergic rhinitis children [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2019, 30(4): 434-442.
- [36] Zeng Q X, Luo X, Tang Y Q, et al. Leptin regulated ILC2 cell through the PI3K/AKT pathway in allergic rhinitis [J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 4176082.
- [37] Lin H, Zheng C Q, Li J, et al. Lentiviral shRNA against KCa_{3.1} inhibits allergic response in allergic rhinitis and suppresses mast cell activity via PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13127.
- [38] Xiang J, Yang Z, Zhou Q. Lidocaine relieves murine allergic rhinitis by regulating the NF- κ B and p38 MAPK pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(3): 193.
- [39] Zeng Q X, Zeng Y H, Tang Y Q, et al. Effect of IL-35 on apoptosis, adhesion, migration, and activation of eosinophils in allergic rhinitis [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2022, 33(2): e13717.
- [40] Wang B T, Gao Y, Zheng G X, et al. Platycodin D inhibits interleukin-13-induced the expression of inflammatory cytokines and mucus in nasal epithelial cells [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2016, 84: 1108-1112.
- [41] Zhao C, Wang Y, Su Z L, et al. Respiratory exposure to PM_{2.5} soluble extract disrupts mucosal barrier function and promotes the development of experimental asthma [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 730: 139145.
- [42] Yuan J S, Liu Y H, Yu J, et al. Gene knockdown of CCR3 reduces eosinophilic inflammation and the Th2 immune response by inhibiting the PI3K/AKT pathway in allergic rhinitis mice [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5411.
- [43] Shi Q Y, Shen X L, Long C, et al. Zinc supplement reduces allergic responses through modulating the p38 MAPK pathway activation in an allergic rhinitis mouse model [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2023, 75: 127094.
- [44] Gupta R K, Gupta K, Dwivedi P D. Pathophysiology of IL-33 and IL-17 in allergic disorders [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 38: 22-36.
- [45] Iwasaki M, Saito K, Takemura M, et al. TNF- α contributes to the development of allergic rhinitis in mice [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 112(1): 134-140.
- [46] Klemens C, Rasp G, Jund F, et al. Mediators and cytokines in allergic and viral-triggered rhinitis [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2007, 28(4): 434-441.
- [47] 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.
- Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. *Chin Tradit Herb Drug*, 2021, 52(14): 4119-4129.

[责任编辑 刘东博]