基于 GEO 芯片结合网络药理学及分子对接探究炙甘草汤治疗肺纤维化的作用机制

陈立炜[1]，任天一[1]，邱玺瑞[2]，李沁劼[3]，凌 云[4]，武 琦[5]，徐 泳[4*]

1. 南京中医药大学 第一临床医学院，江苏 南京 210023
2. 南京中医药大学附属医院，江苏 南京 210029
3. 南京中医药大学 中西医结合学院，江苏 南京 210023
4. 南京中医药大学 中医学院，江苏 南京 210023
5. 徐州医科大学 生理学教研室，江苏 徐州 221004

摘 要：目的 运用 GEO 芯片、网络药理学及分子对接技术探究炙甘草汤治疗肺纤维化的作用靶点及其潜在机制。**方法** 通过中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）、BATMAN-TCM、ETCM 数据库获取炙甘草汤的化学成分靶点并利用 Uniprot 校正靶点；通过 GEO 数据库筛选以及 GeneCards、OMIM、TTD、disgenet 数据库检索获取肺纤维化疾病靶点；完成药物成分靶点与疾病靶点的交集分析，借助 Cytoscape 软件结合 STRING 数据库，建立“药物-疾病-化合物-靶点”关联网络，进一步进行蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络构建与拓扑分析。将筛选出的共有靶点导入 Metascape 数据库，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，以筛选关键信号通路。最后，通过分子对接方法验证网络药理学的预测结果，以确保其可靠性。**结果** 共获得 171 种炙甘草汤活性成分，与肺纤维化相关的交集靶点有 417 个。经过 PPI 网络的筛选，确定了 19 个核心靶点，其中排名前 5 的是磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）、蛋白激酶 B（Akt1）、肿瘤坏死因子（TNF）、白蛋白（ALB）和白细胞介素 6（IL6）。GO 富集分析结果显示，炙甘草汤主要调节细胞对外界刺激的反应、氧化应激以及基因转录等关键生物学过程。KEGG 通路富集分析揭示了包括癌症信号通路、脂质代谢与动脉粥样硬化、TNF、IL-17、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）、AGE-RAGE 和低氧诱导因子-1（HIF-1）在内的多条信号通路。分子对接结果验证了炙甘草汤的前 5 种活性成分与 5 个关键蛋白的结合能均不高于−25 kJ·mol^{-1}，表明结合稳定且有显著潜力。**结论** 炙甘草汤中的多种活性成分可以通过多靶点、多信号通路针对肺纤维化发挥治疗作用，为后续实验和临床研究提供参考依据。

关键词：肺纤维化；炙甘草汤；GEO 数据库；网络药理学；分子对接

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 6376(2025)07 - 1828 - 12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.07.013

Study on mechanism of Zhigancao Decoction in treatment of pulmonary fibrosis based on GEO chip combined with network pharmacology and molecular docking

CHEN Liwei[1], REN Tianyi[1], QIU Xirui[2], LI Qinjie[3], LING Yun[4], WU Qi[5], XU Yong[4]

1. The First Clinical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. The Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China
3. School of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
4. School of Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
5. Department of Physiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China

Abstract: Objective To investigate the key therapeutic targets and potential mechanisms of action of Zhigancao Decoction in the treatment of pulmonary fibrosis by using GEO chip, network pharmacology and molecular docking techniques. **Methods** After

收稿日期：2024-12-10

基金项目：国家自然科学基金青年项目（82104624）；江苏省自然科学基金青年项目（BK20240731）；国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目资助（国中医药人教函[2023]85 号）；大学生创新创业训练国家级项目（202410315058Z）

作者简介：陈立炜，在读本科生。E-mail: chenlw1002@163.com

***通信作者：**徐 泳，博士，讲师。E-mail: njzyyxuyong@163.com

performing an intersection analysis between the drug component targets and the disease targets, the Cytoscape software, in conjunction with the STRING database, was employed to construct a "disease-drug-compound-target" association network. Further, a protein-protein interaction (PPI) network was constructed, and topological analysis was conducted. The screened common targets were inputted into the metascape database for GO and KEGG enrichment analysis, and the key signaling pathways were screened out. Finally, the network pharmacology results were validated using molecular docking technology. **Results** A total of 171 active ingredients were obtained. There were 417 targets intersecting with pulmonary fibrosis, and through PPI screening, 19 core targets were finally obtained, and the top 5 were GAPDH, Akt1, TNF, ALB, and IL6. The results of GO enrichment analysis showed that Zhigancao Decoction was mainly involved in the regulation of cellular responses to external stimuli, oxidative stress, transcriptional regulation, and other biological processes. KEGG pathway enrichment analysis revealed several signaling pathways, including cancer signaling pathways, lipid metabolism and atherosclerosis, TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, PI3K/Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, AGE-RAGE signaling pathway, and HIF-1 signaling pathway. Furthermore, molecular docking results demonstrated that the binding energies of top five active components of Zhigancao Decoction with the five major targets were all below −25 kJ·mol^{-1}, indicating stable binding and significant potential for therapeutic application. **Conclusion** The various active components in Zhigancao Decoction can exert therapeutic effects on pulmonary fibrosis through multiple targets and signaling pathways, providing a reference for subsequent experiments and clinical research.

Key words: pulmonary fibrosis; Zhigancao Decoction; GEO database; network pharmacology; molecular docking

肺纤维化（PF）属于慢性肺间质病变，主要特征是肺功能进行性衰退及呼吸困难，预后不良[1]。病理学层面表现为细胞外基质的过度沉积，进而损害肺间质、气管和肺泡的正常结构。其发病机制则与巨噬细胞异常极化、氧化应激、上皮-间质转化（EMT）、细胞自噬等过程密切相关[2-4]。在当前的医学临床实践中，吡非尼酮与尼达尼布常被用作 PF 治疗药物，能够显著减缓轻至中度 PF 患者肺功能减退的速度[5]。然而，显著的胃肠道不良反应降低了患者的依从性。

PF 在祖国医学中可归属于“肺痹”“肺痿”的范畴。古人云，“久病入络”，PF 作为慢性进行性疾病，可侵及肺络，导致其结构和功能受损，营卫失和，气血津液失调，络脉失于濡养[6]。肺络有气、血之分。初起，毒邪聚集于气络，患者主要表现为气虚；病久，毒邪由气入血，血络受损，津液亏虚，阴虚症状逐渐加重。肺络损伤则使肺气化无权，宣发肃降功能失常，导致五脏六腑缺乏气血津液的滋养，从而使肺病传变至脾肾，甚至损及肝血，最终形成气血阴阳俱虚的病理改变[7]。因此，PF 的治疗应以调补气血阴阳虚损为原则。深入发掘中医药的精髓，探索安全有效的中药复方治疗 PF 是当前研究的重要方向。

炙甘草汤出自《伤寒杂病论》，原方共 9 味：“甘草四两（炙）、生姜三两（切）、人参二两、生地黄一斤、桂枝三两（去皮）、阿胶二两、麦门冬半升（去心）、麻仁半升、大枣三十枚（擘）。上九味，以清酒七升，水八升，先煮八味取三升，去滓，内胶烊消尽，温服一升，日三服。一名复脉汤。”张仲景以炙甘草冠以方名，甘草为“国老”，炙后清热效果减弱，补益效果增强。重用炙甘草补中益气，滋气血生化之根。合人参、大枣补中气，滋化源。配以生地黄、麦冬、阿胶、火麻仁养阴生津，润泽血脉；桂枝、生姜宣发阳气，化生阴液。且桂枝与炙甘草相合，辛甘化阳，增强阳气生化。诸药相伍，通阳化气，养阴生津，共奏“益气养血、阴阳并补”之功。

古代医家本就有用炙甘草汤治疗肺痿，如《外台秘要》云“疗肺痿涎唾多，心中温温液液者，炙甘草汤方”。现代也多有传承发展，临床案例和基础研究均证实炙甘草汤对 PF 患者具有良好的疗效。李壮花[8]通过回顾性研究统计 24 例 PF 患者的临床资料，发现炙甘草汤可以明显改善 PF 后期气阴两虚所致的虚劳、干咳。刘勇[9]将炙甘草汤与激素联合用于间质性肺疾病，发现能明显缓解患者的临床症状、肺功能和影像学表现，并观察到炙甘草汤或有减轻激素不良反应的潜力。熊兴江[10]在重症监护病房中运用炙甘草汤，对于慢性阻塞性肺病、肺间质纤维化、肺癌、肺癌切除术后等基础肺部疾病导致的咳、痰、喘均有良好治疗效果。韩明向通过长期临床实践证实运用炙甘草汤化裁治疗间质性肺疾病具有明确疗效[11]。孙雪松等[12]临床运用炙甘草汤治疗肺叶焦枯、萎废不用的结构性肺病，如支气管扩张合并咯血、特发性肺间质纤维化、重度慢性阻塞性肺疾病，取得较好疗效。宗晨钟[13]发现炙甘草汤可以显著降低葡萄籽提取物致 PF 小鼠模型的转化生长因子-β1（*TGF-β1*）、环氧化酶-2（*COX-2*）的基因表达水平，表明炙甘草汤对 PF 有一定的治

疗效果。陈以文[14]研究发现，相对于麦门冬汤治疗组，炙甘草汤可以显著降低 PF 小鼠肺组织中羟脯氨酸含量从而减轻胶原增生，降低支气管肺泡灌洗液（BALF）中的淋巴细胞数量和肺组织中白细胞介素-13（IL-13）的表达水平从而减少炎症发生，以抑制 PF 进程。盛春瑞等[15]研究表明炙甘草汤可能通过参与氧化应激，从而抑制成纤维细胞活化，以减少细胞质基质沉积，抑制 PF 进程。

尽管如此，其确切的作用机制仍有待更为深入的研究。因此，本研究运用 GEO 芯片数据，并结合网络药理学与分子对接技术[16]，对炙甘草汤在治疗 PF 过程中的作用靶点及其相关的信号传导通路进行系统性分析，旨在为后续的研究工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 炙甘草汤化学成分及潜在靶点筛选

首先，利用中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP，http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php）数据库筛选炙甘草汤的关键活性成分及其对应的作用靶点。筛选标准设置为口服生物利用度（OB）≥30%，同时类药性（DL）≤0.18。检索关键词包括甘草、生姜、桂枝、麦冬、地黄、火麻仁、阿胶、大枣、人参。若 TCMSP 中未提供相关信息，则采用 BATMAN-TCM（batman-tcm/index.php）数据库和 ETCM（http://www.tcmip.cn/ETCM/）数据库进行补充检索，此时筛选标准为 SCORE＞20。最后，使用 Uniprot（https://www.uniprot.org/）将所得药物靶点名称标准化为官方名称（Gene Symbol）。

1.2 PF 疾病靶基因筛选

从 GEO（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo）数据库中提取 GSE24206 数据集，包括特发性肺纤维化（IPF）患者样本与对照组样本。通过 R 软件进行差异基因分析，筛选条件设定为 P＜0.05 且|$\log_2$FC|≥0.5，并绘制火山图和热图以可视化分析结果、更直观地展示差异基因表达情况。以“pulmonary fibrosis”作为关键词，分别在 GeneCards（https://www.genecards.org/）、disgenet（https://www.disgenet.org）、OMIM（https://omim.org/）和 TTD（https://db.idrblab.net/ttd/）数据库中检索 PF 潜在靶点，合并去除重复数据以获取最终靶基因集合。

1.3 获取药物和疾病交集靶基因数据库

将炙甘草汤靶点和 PF 靶点导入微生信软件（http://www.bioinformatics.com.cn），获取药物和疾病共同靶点，并绘制韦恩图。

1.4 构建“药物-疾病-化合物-靶点”网络图

使用 Cytoscape（http://www.cytoscape.org/）软件将以上所获取信息可视化，构建出“药物-疾病-化合物-靶点”网络，并利用 Cytoscape 软件的分析版块对该网络图开展更深入的探究。

1.5 构建蛋白质-蛋白质互相作用（PPI）网络图

首先，将炙甘草汤与 PF 的共有靶点输入 STRING（https://string-db.org/）数据库，获取靶点 PPI 关系的网络文件。然后，将其导入 Cytoscape 软件，利用软件内置的分析版块筛选出度值和介数中心性（BC）均超过其均值的靶点，定义为核心靶点。最后，重新构建炙甘草汤治疗 PF 的 PPI 网络图。

1.6 通路和功能富集分析

将筛选出的共有靶点导入 Metascape（https://metascape.org/gp/index.html）数据库进行基因本体（GO）注释及京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析，指定物种为人类（*H.sapiens*），并将阈值设定为 P=0.01，GO 富集分析选择生物过程（BP）、细胞学组分（CC）和分子功能（MF）3 个类别。根据 P 值大小对 GO 和 KEGG 的结果排序，筛选出炙甘草汤在治疗 PF 过程中的主要生物学过程和关键信号通路，并通过微生信软件进行可视化分析，以预测其分子作用机制。

1.7 分子对接

在 PDB（https://www.rcsb.org/）数据库下载 PPI 网络中度值位居前 5 的蛋白结构。从 PubChem（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov）数据库获取“1.4”项中度值最高的 5 种活性成分的 3D 结构，并利用 Chem Office 软件对其进行能量最小化处理。然后使用 AutoDock 软件将蛋白靶点与活性成分对接。最后用 Pymol 软件将对接结果可视化。

2 结果

2.1 炙甘草汤的活性成分和潜在靶点

通过检索各个数据库，合并删除重复成分，共获得符合条件的活性成分 171 个，其中大枣 19 个、桂枝 6 个、火麻仁 6 个、人参 17 个、生姜 4 个、甘草 89 个，阿胶 3 个、地黄 11 个、麦冬 44 个。根据 OB、DL 排名并结合相关文献构建炙甘草汤主要活性成分库（表 1），其中部分活性成分来源于多味中药。检索出潜在作用靶点 1 144 个，其中大枣 434 个、甘草 1 768 个、桂枝 74 个、火麻仁 138 个、人参 256 个、生姜 75 个、阿胶 418 个、地黄 491 个、麦冬 885 个。

表 1　炙甘草汤主要活性成分

Table 1　Basic information of main active ingredients of Zhigancao Decoction

中药	化合物	OB/%	DL
甘草、人参	山柰酚（kaempferol）	41.88	0.24
甘草、大枣	丁子香蓓（mairin）	55.38	0.78
甘草、大枣	槲皮素（quercetin）	46.43	0.28
甘草、桂枝、火麻仁	谷甾醇（sitosterol）	36.91	0.75
生姜、桂枝、大枣、人参	β-谷甾醇（β-sitosterol）	33.94	0.70
生姜、麦冬、火麻仁、大枣、人参	豆甾醇（stigmasterol）	43.83	0.76
桂枝、大枣	儿茶素[(+)-catechin]	54.83	0.24
大枣、人参	蓝堇碱（fumarine）	59.26	0.83
麦冬、地黄	腺苷（adenosine）	—	—
麦冬、地黄	胡萝卜苷（alexandrin）	20.63	0.63
甘草	柚皮素（naringenin）	59.29	0.21
甘草	甘草酚（glycyrol）	90.78	0.67
甘草	芒柄花素（formononetin）	69.67	0.21
甘草	甘草查尔酮 A（licochalcone A）	40.79	0.29
麦冬	麦冬皂苷（ophiopogonin D）	—	—
人参	人参皂苷 Rh_2（ginsenoside Rh_2）	36.32	0.56
人参	人参皂苷 Rh_4（ginsenoside Rh_4_qt）	31.11	0.78
人参	邻苯二甲酸二异辛酯（diop）	43.59	0.39
火麻仁	木犀草素（luteolin）	36.16	0.25
地黄	梓醇（catalpol）	—	—

2.2　PF 相关靶点

GEO 数据库 GSE24206 数据集中包含 11 名 IPF 患者的 17 个样本和 6 个对照样本，共获得上调基因 1 114 个，下调基因 948 个，并绘制差异基因火山图（图 1）和热图（图 2）。通过检索 GeneCard、OMIM、TTD、disgenet 数据库，筛选、合并、去重后共获得 1 919 个疾病靶点。将 GEO 数据库中获得的 2 062 个疾病靶点、其他数据库中获得的 1 919 个疾病靶点和 1 144 个药物靶点输入到微生信软件，最终获得 417 个共有靶点（图 3）。

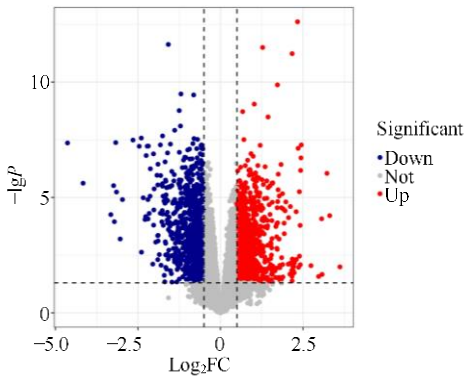


图 1　差异基因火山图

Fig. 1　Volcano plot for result of differential gene

2.3　炙甘草汤抗 PF“药物-疾病-化合物-靶点”网络图

网络图构建了包含 439 个节点的复杂网络（见图 4），以展示活性成分、共有靶点、疾病以及药物之间的相互关系。在这些节点中，包含了 20 个活性成分节点、417 个共有靶点节点、以及疾病和药物节点各 1 个，充分体现了核心化合物与其潜在作用靶点之间的广泛联结。该网络共计存在 901 条相互作用线，反映了炙甘草汤治疗 PF 可能的药理作用路径。为了深入分析网络中的关键活性成分，使用软件的分析版块对节点的网络参数进行计算，将度值作为衡量节点重要性的指标。通过度值分析，可以识别出在网络中连接数最多的节点，表明这些节点在调控通路中发挥了重要作用。度值排名前 5 的活性成分依次为槲皮素（quercetin）、腺苷（adenosine）、豆甾醇（stigmasterol）、木犀草素（luteolin）和山柰酚（kaempferol）（表 2）。这些成分均具有丰富的靶点连接，说明它们可能在不同的生物过程和信号通路中起到了重要的药理学作用，为后续的药物研究和靶点验证提供了重要参考。

2.4　炙甘草汤抗 PF PPI 网络构建及拓扑分析

为了深入探究疾病和药物共有靶点蛋白之间的相互作用，将“2.2”项中获得的 417 个共有靶点

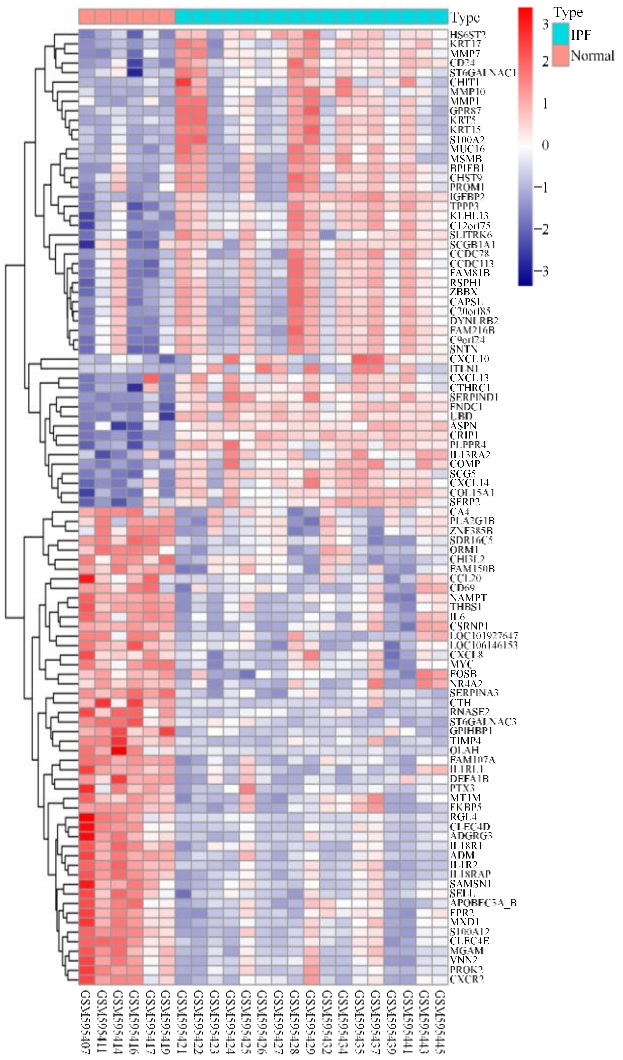


图 2 差异基因热图

Fig. 2 Heat map of differential gene expression

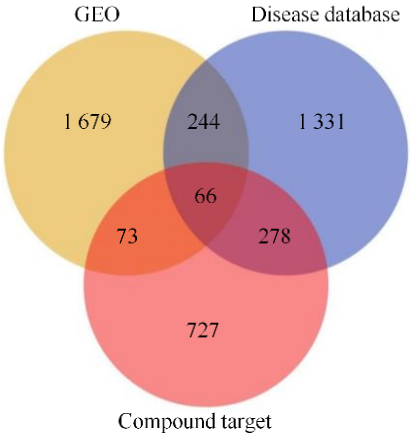


图 3 炙甘草汤抗 PF 共有靶点韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of common targets of Zhigancao Decoction anti-PF

输入 STRING 数据库，以获取靶点蛋白之间的相互作用关系，并导出对应的网络文件。随后，将其导入 Cytoscape 软件进行可视化和进一步分析，生成包含 413 个节点和 10 060 条相互作用连线的网络图，其中每个节点代表 1 个靶点蛋白，每条连线则反映了 2 个蛋白质之间的相互作用关系。通过这一庞大的网络图可以筛选出在炙甘草汤发挥治疗 PF 作用中起关键作用的蛋白质节点。故运用 Cytoscape 的分析版块对该网络图深入分析，筛选出 BC 和度值均高于平均值的节点，整个过程共筛选 3 次：第 1 次筛选标准为 BC＞0.000 85，度值＞34；第 2 次筛选标准为 BC＞0.003 88，度值＞85；第 3 次筛选标准为 BC＞0.007 44，度值＞134。最终获得 19 个核心靶点和 171 条连接线（图 5），其中，磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）、蛋白激酶 B（Akt1）、肿瘤坏死因子（TNF）、白蛋白（ALB）和白细胞介素 6（IL6）排名前 5（表 3）。

2.5 GO 富集分析

GO 富集分析共获得了 3 471 个符合条件的 GO 条目，其中 2 908 个属于 BP，186 个属于 CC，377 个属于 MF。为可视化分析结果，分别选取前 20 个条目作图（图 6）。BP 主要涉及对异生物质刺激的反应、对无机物的反应、细胞对氮化合物的反应、氧化应激等；CC 主要包括膜筏、膜微区、囊泡等；MF 主要包括氧化还原酶活性、血红素结合、四吡咯结合、DNA 结合转录激活因子活性等。这表明炙甘草汤可能是通过影响细胞对外来刺激的反应、氧化应激、转录调控等发挥抗 PF 作用。

2.6 KEGG 富集分析

KEGG 富集分析结果显示，共筛选出 247 条符合条件的信号通路，这些通路涉及多种生物过程和疾病调控过程，揭示了炙甘草汤在治疗 PF 过程中的多靶点机制。其中主要的信号通路包括癌症信号、脂质代谢与动脉粥样硬化、AGE-RAGE、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B（PI3K-Akt）、TNF、MAPK、IL-17 和 HIF-1 等（图 7），表明炙甘草汤可能通过这些关键的信号通路发挥其抗 PF 的作用，反映了中药复方可以通过多重信号通路联合调控的方式在治疗疾病时发挥潜在作用。

2.7 分子对接结果

分别选取排名前 5 的核心化合物（槲皮素、腺苷、豆甾醇、木犀草素、山柰酚）和关键靶点（GAPDH、Akt1、TNF、ALB、和 IL6）进行进一

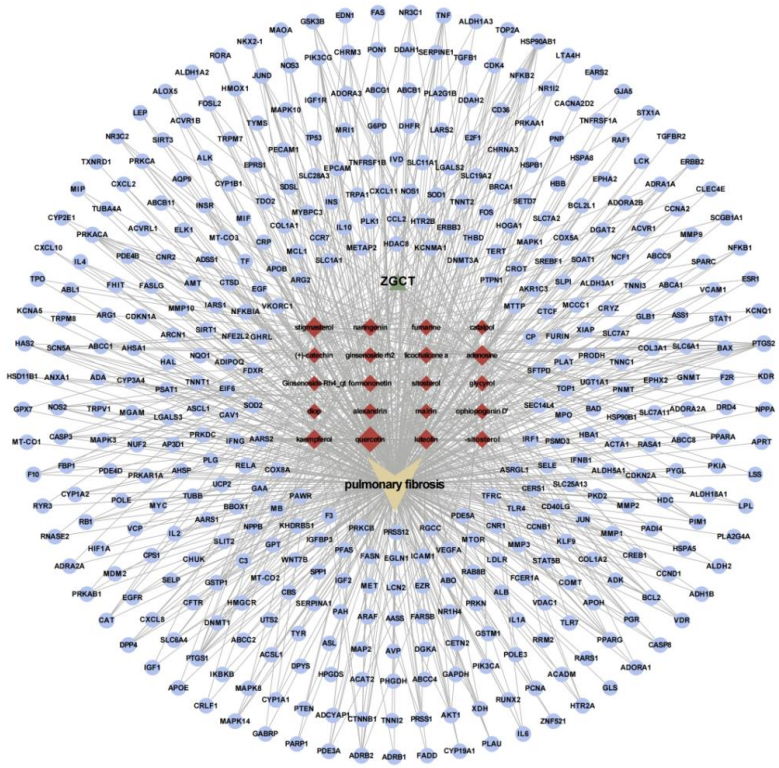


图 4　炙甘草汤抗 PF“药物-疾病-化合物-靶点”图

Fig. 4　Disease-drug-ingredients-targets network diagram of Zhigancao Decoction anti-PF

表 2　活性成分基本信息

Table 2　Basic information on active ingredients

化合物	度值
槲皮素（quercetin）	110
腺苷（adenosine）	59
豆甾醇（stigmasterol）	55
木犀草素（luteolin）	49
山柰酚（kaempferol）	45
柚皮素（naringenin）	29
芒柄花素（formononetin）	23
β-谷甾醇（β-sitosterol）	23
甘草查尔酮 A（licochalcone A）	21
蓝堇碱（fumarine）	14
麦冬皂苷（ophiopogonin D）	11
甘草酚（glycyrol）	10
人参皂苷 Rh_2（ginsenoside Rh_2）	8
胡萝卜苷（alexandrin）	8
儿茶素[(+)-catechin]	7
邻苯二甲酸二异辛酯（diop）	4
谷甾醇（sitosterol）	3
人参皂苷 Rh_4（ginsenoside-Rh_4）	2
丁子香蓞（mairin）	2
梓醇（catalpol）	1

步的分子对接结合能分析（图 8）。根据对接结果，前 5 名核心化合物与 5 个关键蛋白靶点的结合能均不高于−25 $kJ·mol^{-1}$，表明这 5 种化合物在蛋白靶点作用位点上具备较高的结合亲和力。表明化合物在与靶点的作用中形成了稳定的结合构象，有利于进行对靶点的调控。该结果初步验证了这些核心化合物作为潜在的靶点调控分子的可行性，为进一步的实验验证提供了方向。

3　讨论

PF 作为一类普遍的间质性肺疾病，其特征性病理表现包括成纤维细胞异常增生及细胞外基质合成与分解代谢失衡，最终导致肺组织结构损坏。在临床上通常表现为病因不明、高致死率和致残率、慢性进行性以及不可逆性。在中医理论中，PF 的基本病机是肺络虚损，气血津液大伤，失于濡养，肺叶弱而不用。故调补气血阴阳虚损为主要治法。炙甘草汤具有益气养血、阴阳并补的功效，与 PF 的基本病机相符，但其具体机制仍有待探索和完善。本研究通过 GEO 芯片结合网络药理学和分子对接技术，全面分析了炙甘草汤治疗 PF 的潜在作用机制。

网络药理学显示炙甘草汤的主要活性成分包括

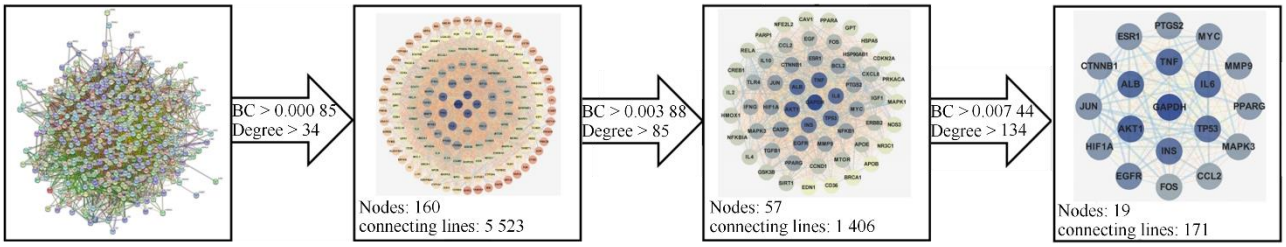


图 5 炙甘草汤抗 PF 核心靶点的筛选过程

Fig. 5 Screening process of Zhigancao Decoction for anti-pulmonary fibrosis core targets

表 3 核心靶点基本信息

Table 3 Basic information on core targets

靶点	度值	BC
GAPDH	248	0.070 444 954
Akt1	225	0.040 038 562
TNF	217	0.038 761 734
ALB	217	0.033 822 476
IL6	215	0.027 842 998
TP53	207	0.029 540 867
INS	206	0.035 045 522
EGFR	183	0.025 863 884
HIF1A	167	0.013 835 654
JUN	166	0.009 973 464
ESR1	163	0.019 090 456
CTNNB1	163	0.017 077 173
PTGS2	160	0.011 424 105
MYC	159	0.012 930 082
PPARG	157	0.011 507 003
MMP9	157	0.010 919 458
MAPK3	151	0.009 283 248
CCL2	139	0.007 656 488
FOS	137	0.009 485 476

槲皮素、腺苷、豆甾醇、木犀草素和山柰酚等，它们主要来源于甘草、生姜、桂枝、大枣、人参、火麻仁、麦冬等中药。其中生姜、火麻仁、麦冬、大枣、人参均含有豆甾醇，甘草、大枣均含有槲皮素，麦冬、地黄均含有腺苷，甘草、人参均含有山柰酚，可见中药具有多成分、多靶点、相互配伍、协同起效的特点。槲皮素通过抑制 SphK1/S1P 信号传导改善 PF。同时，SphK1 的异位表达会消除槲皮素对纤维化的作用[17-18]。腺苷能通过促进基质细胞结构恢复减轻 PF 病变[19]，但也有研究表明，在慢性损伤情况下产生过多的腺苷会促进肺组织的过度重塑和纤维化[20]。木犀草素具有抑制羟脯氨酸水平上升和减缓 PF 发展进程的作用，对博莱霉素引起的 PF 有较好的治疗效果[21-22]。山柰酚能够改善 PF 小鼠肺组织细胞外基质的过度沉积或表达，并且能够预防博来霉素诱导小鼠 PF[23]。

历代医家对炙甘草汤中孰为君药众说纷纭，部分医家认为生地黄用量最大，当属为君，亦有如清代吕震名等医家认为炙甘草为君。观察表 1、2 可发现，9 味中药的核心化合物中出自甘草的占比 40%，炙甘草汤治疗 PF 排名前 10 的核心化合物中有 6 种出自甘草，可见炙甘草汤以甘草冠以方名的意义，也是炙甘草作为君药的又一依据。基于对中药治疗 PF 相关文献进行数据挖掘显示甘草使用频次仅次于黄芪[24]。且甘草能够抑制巨噬细胞极化，减少博来霉素引起的 PF 相关因子血小板衍生因子（PDGF）及 TNF-α 的表达，从而延缓纤维化进程[25]。甘草内含有多种化学成分，主要包括三萜类和黄酮类，例如甘草甜素、甘草素、甘草查尔酮 A、异甘草素等，此外还包含多糖类、香豆素类、生物碱类、挥发油类及多种微量元素[26]。现代药理学研究显示，炙甘草具有抗炎、镇痛、抗菌、抗氧化、调节免疫等多重广泛的药理作用[27]。其中，甘草甜素作为其重要成分，能通过调节 TGF-β1 和 IL-4 表达来减轻 PF[28]。甘草查尔酮 A 则通过抑制 TGF-β/大鼠磷酸化信号转导分子（Smad）信号通路从而抑制成纤维细胞活化[29]。而异甘草素通过抑制 TGF-β1 激活的 MAPK 信号通路来对抗肺泡II型上皮细胞的 EMT[30]。

PPI 结果显示，GAPDH、Akt1、TNF、ALB 和 IL6 等 16 个靶点是该网络的核心靶点，通过软件的分析板块得到排名前 5 的靶点分别为 GAPDH、Akt1、TNF、ALB 和 IL6。Akt1 通过上调巨噬细胞中促纤维化细胞因子 IL-13 的产生来调节 PF[31]。ALB 的作用通路可能与导致肝纤维化的促炎介质 IL-10 有关[32]。IPF-HLF 以旁分泌的方式分泌 IL-6，激活正常人肺成纤维细胞中的 IL-6/STAT3 和 TGF-β 信号通路，这种成纤维细胞的自主激活是疾病后

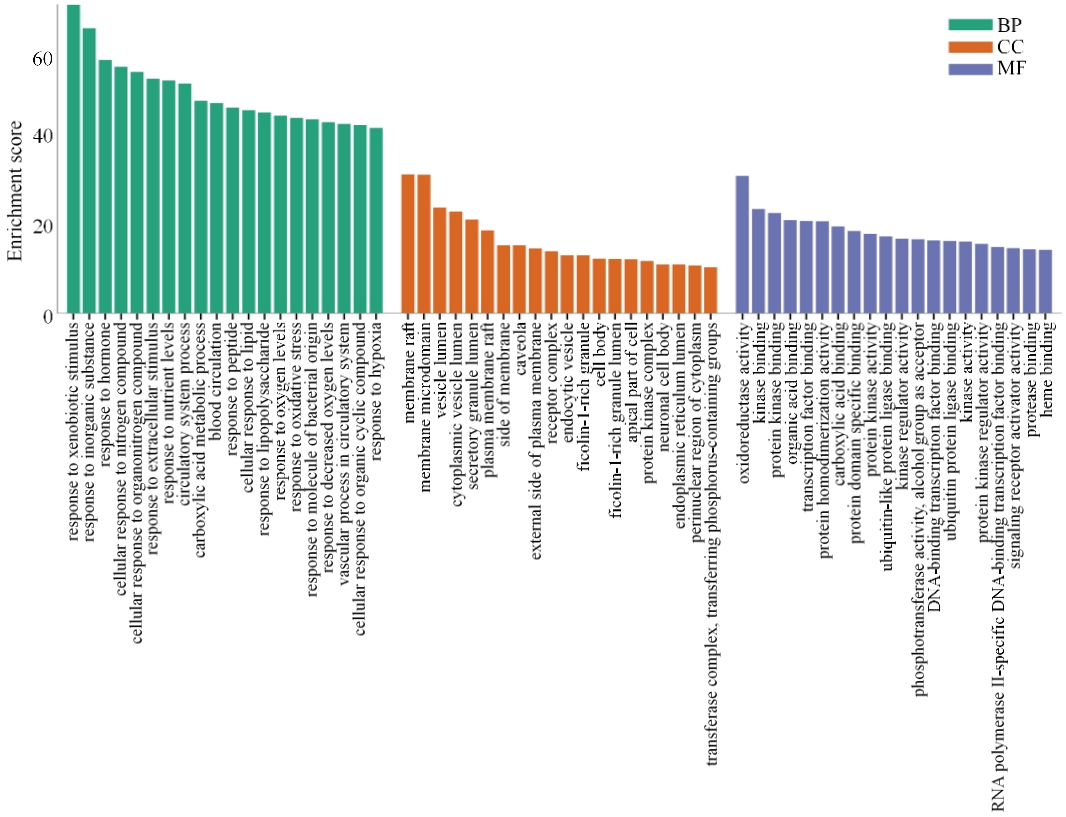


图 6　GO 富集分析结果

Fig. 6　GO enrichment analysis results of Zhigancao Decoction anti-pulmonary fibrosis

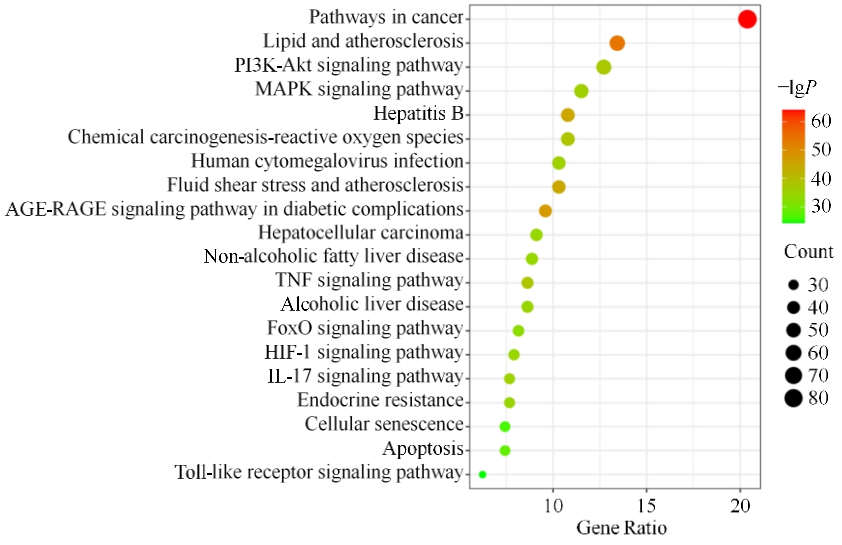
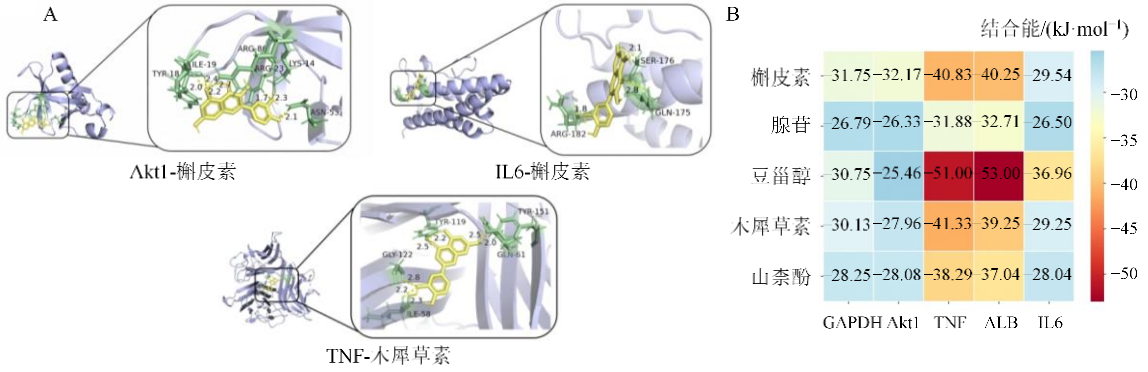


图 7　KEGG 富集分析结果

Fig. 7　KEGG enrichment analysis results

期纤维化进展的介导因素[33-35]。此外，肺巨噬细胞中 p38 MAPK 信号通路的激活通过分泌 IL-6 和 TNF-α 促进 PF[36]。IL-6 在体内可增加肺中的肌成纤维细胞、纤维连接蛋白和胶原含量导致 PF[37]。TNF-α 可以通过诱导 IL-5 介导的嗜酸性粒细胞募集和纤维化细胞因子的产生来介导 PF[38]。进一步对共有靶点



A-蛋白和活性成分结合能最低的分子对接模式图；B-结合能热图。

A-diagram of molecular docking patterns with the lowest binding energies of proteins and active ingredients; B-binding energy thermograms.

图 8 炙甘草汤抗 PF 核心成分与关键靶点分子对接图及热图

Fig. 8 Molecular docking pattern diagram and heat map of core ingredients and key targets of Zhigancao Decoction anti-PF

进行 GO 富集分析，在 BP 方面，富集分析结果显示了炙甘草汤作用的多个关键过程，主要涉及对外来物质刺激的反应（如病原体或有害化学物质的刺激）、对无机物的反应、细胞对氮化合物的反应以及氧化应激等生物学过程。这些过程与机体对环境压力的应答机制密切相关，表明炙甘草汤可能通过增强细胞对氧化应激的应答能力、改善细胞在有害环境中的存活，从而抑制 PF 的病理进程。在 CC 方面，炙甘草汤治疗 PF 主要涉及细胞的膜筏、膜微区和囊泡等结构。膜筏和膜微区是细胞膜中富含胆固醇和鞘脂的微域，在细胞信号转导和物质运输中起着重要作用，有助于细胞对环境信号的识别和传导[39]。而囊泡作为重要的细胞器，对蛋白质的分选、转运和代谢具有重要作用[40]。这些细胞学组分的富集分析提示了炙甘草汤可能通过调控膜微区的信号转导过程、影响囊泡功能进而调节细胞活动，实现抗纤维化的作用。在 MF 方面，筛选出的条目主要涉及氧化还原酶活性、血红素结合、四吡咯结合以及 DNA 结合转录激活因子活性等。这些分子功能说明炙甘草汤中的活性成分可能通过增强氧化还原酶的活性，调控机体的氧化还原平衡，从而对抗氧化应激。此外，富集到的血红素结合和四吡咯结合功能均与氧代谢过程密切相关，提示其可能参与氧运输或相关酶的活性调控[41-42]。DNA 结合转录激活因子的富集则表明炙甘草汤可能通过影响基因转录调控途径来调节细胞增殖和应答反应。

对共有靶点进行 KEGG 富集分析，共筛选出 233 条信号通路。其中，癌症信号通路、AGE-RAGE 通路、PI3K/Akt 通路、MAPK 通路、IL-17 通路和 HIF-1 通路等的差异性较为显著，表明炙甘草汤的有效成分可能通过调节这些通路来治疗 PF。AGE-RAGE 信号通路的激活会刺激大量促纤维化生长因子的分泌，从而增加 RAGE 的表达，并促进胶原沉积，最终导致组织纤维化的发生[43]。PI3K/Akt 信号通路与细胞生长、增殖和代谢的调节有关[44-45]，激活 PI3K/Akt 信号通路能够增加其下游因子 HIF-1 蛋白表达量，从而促进纤维化相关基因的表达、加速肺纤维的进程[46]。MAPK 通路的激活会导致成纤维细胞分泌的细胞外基质增加,直接促进 PF[47]。IL-17 是博来霉素诱导纤维化的关键介质，不仅通过增加 TGF-β1 的释放来刺激胶原蛋白的表达，而且还会减弱自噬以抑制纤维化肺组织中的胶原蛋白降解，参与 PF[48-49]，因此 IL-17 信号通路也是有效的治疗靶点。分子对接结果表明，炙甘草汤的前 5 位活性成分与前 5 个关键蛋白的结合能均≤−25 kJ·mol^{-1}，表明它们结合稳定，使结果得到验证。

综上所述，本研究通过结合 GEO 芯片、网络药理学和分子对接技术，从多个维度系统探讨了炙甘草汤在治疗 PF 中的作用机制，揭示了其可能涉及的信号通路及潜在靶点。这一发现不仅为 PF 的治疗提供了新的思路，还为后续的研究奠定了重要的理论基础。后期有待在临床试验和基础研究中进一步验证结果。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Martinez F J, Chisholm A, Collard H R, et al. The diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis: Current and future approaches [J]. Lancet Respir Med, 2017, 5(1): 61-71.

[2] 吴亚娜, 刘东玲, 宋忠阳, 等. 特发性肺纤维化中上皮-间质转化的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(23): 3499-3503.
Wu Y N, Liu D L, Song Z Y, et al. Research status of epithelial-mesenchymal transition in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2023, 39(23): 3499-3503.

[3] Martinez F J, Collard H R, Pardo A, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17074.

[4] Richeldi L, Collard H R, Jones M G. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Lancet, 2017, 389(10082): 1941-1952.

[5] Spagnolo P, Kropski J A, Jones M G, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: Disease mechanisms and drug development [J]. Pharmacol Ther, 2021, 222: 107798.

[6] 梁元钰, 袁佺, 吕晓东, 等. 肺络构效与肺气血屏障论 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(5): 2330-2334.
Liang Y Y, Yuan Q, Lyu X D, et al. Study on the structures and functions of lung collaterals and lung blood-air barrier [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(5): 2330-2334.

[7] 任延毅. 基于文献分析和病例回顾的特发性肺纤维化病机、证候与方药规律研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2017.
Ren Y Y. Study on pathogenesis, syndrome and prescription law of idiopathic pulmonary fibrosis based on literature analysis and case review [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2017.

[8] 李壮花. 养阴通络法治疗肺纤维化 24 例的临床分析 [J]. 中医临床研究, 2017, 9(16): 78-79.
Li Z H. A clinical analysis of treating 24 cases of pulmonary fibrosis by the Yangyin Tongluo therapy [J]. Clin J Chin Med, 2017, 9(16): 78-79.

[9] 刘勇. 炙甘草汤联合激素治疗结缔组织病所致间质性肺疾病疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(21): 2323-2325.
Liu Y. Observation on therapeutic effect of Zhigancao decoction combined with hormone on interstitial lung disease caused by connective tissue disease [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2017, 26(21): 2323-2325.

[10] 熊兴江. 基于现代病理生理及 CCU 急危重症病例的炙甘草汤方证溯源及其复律、转窦、止血、升血小板、补虚临床运用 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(18): 3842-3860.
Xiong X J. Based on modern pathophysiology and acute and critical cases in CCU, the origin of Zhigancao Decoction and its clinical application in cardioversion, sinus conversion, hemostasis, platelet elevation and tonic [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(18): 3842-3860.

[11] 何娟, 陈炜. 韩明向运用炙甘草汤加减从虚、瘀论治肺痿病经验拾隅 [J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(1): 63-65.
He J, Chen W. Professor Han Mingxiang's experience in treating interstitial lung disease from deficiency and blood stasis by using modified prepared Zhi Gancao Decoction [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2019, 31(1): 63-65.

[12] 孙雪松, 刘克新. 炙甘草汤治疗肺系疾病应用心得 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(1): 118-120.
Sun X S, Liu K X. Experience in applying Zhigancao Decoction in treatment of respiratory diseases [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2018, 25(1): 118-120.

[13] 宗晨钟. 真武汤与炙甘草汤对肺纤维化新模型的疗效对比实验 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
Zong C Z. Comparative experiment of Zhenwu Decoction and Zhigancao Decoction on new model of pulmonary fibrosis [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2019.

[14] 陈以文. 基于“方证相应” 思想对两个小鼠肺纤维化模型的比较研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
Chen Y W. Comparative study on two models of pulmonary fibrosis in mice based on the idea of “prescription corresponding to syndrome” [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2020.

[15] 盛春瑞, 刘珊珊, 陈以文, 等. 炙甘草汤通过抗氧化抑制博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化 [J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(21): 4014-4019.
Sheng C R, Liu S S, Chen Y W, et al. Zhigancao decoction inhibits bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice through antioxidation [J]. Prog Mod Biomed, 2022, 22(21): 4014-4019.

[16] 崔晓燕, 郑晓明, 郭树垚, 等. 基于网络药理学、分子对接与实验验证探究钩藤治疗热性惊厥的作用机制 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5154-5165.
Cui X Y, Zheng X M, Guo S Y, et al. Mechanism of *Uncaria rhynchophylla* in treatment of febrile seizures based on network pharmacology, molecular docking and experimental verification [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(15): 5154-5165.

[17] Geng F, Xu M Y, Zhao L, et al. Quercetin alleviates pulmonary fibrosis in mice exposed to silica by inhibiting macrophage senescence [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 912029.

[18] Zhang X C, Cai Y L, Zhang W, et al. Quercetin ameliorates pulmonary fibrosis by inhibiting SphK1/S1P signaling [J]. Biochem Cell Biol, 2018, 96(6): 742-751.

[19] Effendi W I, Nagano T. A2B adenosine receptor in idiopathic pulmonary fibrosis: Pursuing proper pit stop to interfere with disease progression [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(5): 4428.

[20] 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.

[21] 龚国清, 钱之玉, 周曙. 木犀草素对实验性肺纤维化大鼠组织中 TGF-β1 mRNA 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21(12): 1466-1469.
Gong G Q, Qian Z Y, Zhou S. Effect of luteolin on TGF-β1 mRNA expression in experimental pulmonary fibrosis rats [J]. Chin Pharmacol Bull, 2005, 21(12): 1466-1469.

[22] Ji L, Su S S, Xin M Y, et al. Luteolin ameliorates hypoxia-induced pulmonary hypertension via regulating HIF-2α-Arg-NO axis and PI3K-Akt-ENOS-NO signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154329.

[23] 王远敏, 罗敏, 苏穆, 等. 山柰酚对博来霉素诱导小鼠肺纤维化、MRC-5 细胞胶原蛋白生成的影响 [J]. 中成药, 2023, 45(10): 3425-3428.
Wang Y M, Luo M, Su M, et al. Effects of kaempferol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis and collagen production in MRC-5 cells in mice [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(10): 3425-3428.

[24] 程钰, 曹芳, 吴志松, 等. 肺纤维化“病-证-方-药”证治规律的多维频繁模式挖掘分析 [J]. 中医学报, 2025, 40(4): 716-722.
Cheng Y, Cao F, Wu Z S, et al. Multi-dimensional frequent pattern mining on “disease-syndrome-prescription-medicine” treatment rules of pulmonary fibrosis [J]. Acta Chin Med, 2025, 40(4): 716-722.

[25] 刘新民, 黄晶, 刘晓刚, 等. 甘草对大鼠肺纤维化 PDGF 和 TNF-α 影响的研究 [J]. 光明中医, 2020, 35(16): 2467-2469.
Liu X M, Huang J, Liu X G, et al. Study on the effects of licorice on PDGF and TNF-α in rat pulmonary fibrosis [J]. Guangming J Chin Med, 2020, 35(16): 2467-2469.

[26] 李娜, 张晨, 钟赣生, 等. 不同品种甘草化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物（Q-Marker）预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7680-7692.
Li N, Zhang C, Zhong G S, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of different varieties of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma* and predictive analysis of quality markers [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(24): 7680-7692.

[27] 宋雪, 刘思佳, 樊建, 等. 基于炙甘草与生甘草化学成分、药理作用差异的临床应用探讨 [J]. 中国医药科学, 2022, 12(19): 114-117-159.
Song X, Liu S J, Fan J, et al. Discussion on clinical application based on the differences of chemical composition and pharmacological action between *Radix Glycyrrhizae Preparata* and raw *Radix Glycyrrhizae* [J]. China Med Pharm, 2022, 12(19): 114-117-159.

[28] 殷宗宝, 李英, 邓超, 等. 甘草甜素减轻博莱霉素致大鼠肺纤维化 [J]. 基础医学与临床, 2011, 31(8): 905-908.
Yin Z B, Li Y, Deng C, et al. Glycyrrhizin relieves pulmonary fibrosis by Bleomycin in rats [J]. Basic Clin Med, 2011, 31(8): 905-908.

[29] 付钰, 吴瑕, 陈随清. 甘草查尔酮 A 通过调节 TGF-β/Smad 信号通路抑制小鼠肺纤维化 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 94-100.
Fu Y, Wu X, Chen S Q. Licochalcone A in inhibiting bleomycin-induced pulmonary fibrosis through TGF-β/Smad pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25(4): 94-100.

[30] 蔡风林, 王梅芳, 程雪琴, 等. 异甘草素对体外肺纤维化模型的作用及其机制 [J]. 医药导报, 2022, 41(2): 167-174.
Cai F L, Wang M F, Cheng X Q, et al. Effect and mechanism of isoliquiritin on pulmonary fibrosis model *in vitro* [J]. Herald Med, 2022, 41(2): 167-174.

[31] Nie Y J, Hu Y D, Yu K K, et al. Akt1 regulates pulmonary fibrosis via modulating IL-13 expression in macrophages [J]. Innate Immun, 2019, 25(7): 451-461.

[32] Choi J S, Jeong I S, Park Y J, et al. HGF and IL-10 expressing ALB: GFP reporter cells generated from iPSCs show robust anti-fibrotic property in acute fibrotic liver model [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 332.

[33] Epstein Shochet G, Brook E, Bardenstein-Wald B, et al. TGF-β pathway activation by idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) fibroblast derived soluble factors is mediated by IL-6 trans-signaling [J]. Respir Res, 2020, 21(1): 56.

[34] Papiris S A, Tomos I P, Karakatsani A, et al. High levels of IL-6 and IL-8 characterize early-on idiopathic pulmonary fibrosis acute exacerbations [J]. Cytokine, 2018, 102: 168-172.

[35] Han D, Gong H Y, Wei Y, et al. Hesperidin inhibits lung fibroblast senescence via IL-6/STAT3 signaling pathway to suppress pulmonary fibrosis [J]. Phytomedicine, 2023, 112: 154680.

[36] Vittal R, Fisher A, Gu H M, et al. Peptide-mediated inhibition of mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase-2 ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 49(1): 47-57.

[37] Le T T, Karmouty-Quintana H, Melicoff E, et al. Blockade of IL-6 Trans signaling attenuates pulmonary fibrosis [J]. J Immunol, 2014, 193(7): 3755-3768.

[38] Zhang K, Gharaee-Kermani M, McGarry B, et al. TNF-alpha-mediated lung cytokine networking and eosinophil recruitment in pulmonary fibrosis [J]. J Immunol, 1997, 158(2): 954-959.

[39] Roy A, Patra S K. Lipid raft facilitated receptor organization and signaling: A functional rheostat in embryonic development, stem cell biology and cancer [J]. Stem Cell Rev Rep, 2023, 19(1): 2-25.

[40] Wittig S, Ganzella M, Barth M, et al. Cross-linking mass spectrometry uncovers protein interactions and functional assemblies in synaptic vesicle membranes [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 858.

[41] Fleischhacker A S, Sarkar A, Liu L, et al. Regulation of protein function and degradation by heme, heme responsive motifs, and CO [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2022, 57(1): 16-47.

[42] Wu K, El Zowalaty A E, Sayin V I, et al. The pleiotropic functions of reactive oxygen species in cancer [J]. Nat Cancer, 2024, 5(3): 384-399.

[43] Yamaguchi K, Iwamoto H, Mazur W, et al. Reduced endogenous secretory RAGE in blood and bronchoalveolar lavage fluid is associated with poor prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Respir Res, 2020, 21(1): 145.

[44] Zhao H, Li C D, Li L N, et al. Baicalin alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and fibroblast proliferation in rats via the PI3K/Akt signaling pathway [J]. Mol Med Rep, 2020, 21(6): 2321-2334.

[45] Li J, Wei Q, Song K, et al. Tangeretin attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting epithelial-mesenchymal transition via the PI3K/Akt pathway [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1247800.

[46] A. Ma, Y. Gao, W. Lan, et al. The role of PI3K/Akt/HIF-1α signaling pathway in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2016, 15: 34-38.

[47] Gu L L, Larson Casey J L, Andrabi S A, et al. Mitochondrial calcium uniporter regulates PGC-1α expression to mediate metabolic reprogramming in pulmonary fibrosis [J]. Redox Biol, 2019, 26: 101307.

[48] Gu S T, Liang J J, Zhang J W, et al. Baricitinib attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by inhibiting TGF-β1 signaling pathway [J]. Molecules, 2023, 28(5): 2195.

[49] Washimkar K R, Tomar M S, Kulkarni C, et al. Longitudinal assessment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by evaluating TGF-β1/Smad2, Nrf2 signaling and metabolomic analysis in mice [J]. Life Sci, 2023, 331: 122064.

[责任编辑　齐静雯]