

• 数据挖掘与循证医学 •

基于“肠-肺轴”探讨肠道菌群与特发性肺纤维化的遗传因果关联及干预中药预测

吴宣谕, 肖 祥, 陈嘉靖, 于晓敏, 王 飞*, 杨 晗*

成都中医药大学附属医院, 临床医学院, 成都中医药大学, 四川 成都 610072

摘要:目的 采用两样本、双向孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)探索与特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)存在因果关联的肠道菌群及潜在机制,并预测对其具有调控作用的中药,探析“肠-肺轴”生物学基础并提供 IPF 中医药治疗方案。方法 利用 MiBioGen 和芬兰数据库获取肠道菌群和 IPF 的全基因组关联研究数据。以逆方差加权法为主要方法揭示肠道菌群与 IPF 的双向因果关联。采用 Cochrane's *Q* 检验、留一法、MR-Egger-intercept 和 MR 多效性残差及异质性检测法(mendelian randomization pleiotropy RESidual sum and outlier, MR-PRESSO)进行异质性检验、敏感性分析、水平多效性和离群值检验等质量控制。对单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)临近基因进行蛋白质-蛋白质互作(protein-protein interaction, PPI)分析以筛选核心基因,对核心基因进行功能富集分析以探索肠道菌群介导 IPF 发生的潜在机制。使用比较毒理基因组学数据库(the comparative toxicogenomics database, CTD)和 Coremine 数据库预测对核心基因具有潜在调控作用的化学成分与中药。统计预测中药的四气、五味、归经及功效。采用分子复合物检测模块(molecular complex detection, MCODE)对预测中药进行聚类分析,并筛选核心中药,分子对接验证核心基因与中药成分的结合能力。结果 正向 MR 分析发现芽孢杆菌纲(Bacilli)、厚壁菌纲(Negativicutes)、伯克霍尔德氏菌目(Burkholderiales)、Family XIII、活泼瘤胃球菌 *Ruminococcus gnavus*、甲烷短杆菌属 *Methanobrevibacter* 和芬氏另枝菌 *Alistipes finegoldii* 肠道菌群与 IPF 呈正相关,艾森伯格氏菌属 *Eisenbergiella* 与 IPF 呈负相关。SNPs 间无异质性、水平多效性和离群值,且敏感性良好。反向 MR 分析提示上述菌群与 IPF 不存在双向因果关联。获得了 156 个 SNPs 临近基因,通过 PPI 筛选前 50 个基因作为核心基因。核心基因主要富集在细胞衰老、鼠肉瘤(rat sarcoma, Ras)、磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)等通路。通过 CTD 数据库获取到以槲皮素、山柰酚和脂多糖为代表的 236 个化学成分,基于化学成分使用 Coremine 数据库预测得到 566 味中药,四气以寒、温、平为主,五味以苦、甘、辛为主,归经以肝、肺经为主,脾、胃、肾经次之,功效以清热、补虚为主,兼以理气、活血、化痰止咳平喘等。MCODE 将人参、生姜、姜黄、郁金确定为关键中药,分子对接显示上述中药成分与核心基因具有良好结合效能。结论 基于 MR 发现 8 种肠道菌群与 IPF 存在因果关联,其机制可能与细胞衰老、Ras、PI3K/Akt 等通路异常相关。预测中药主要体现益气、理气、化痰、活血及解毒等治法。丰富了“肠-肺轴”生物学基础,深化了 IPF 的病因学认识,并为中医药调控肠道菌群防治 IPF 提供了新的方向。

关键词: 肠道菌群; 特发性肺纤维化; 孟德尔随机化; 生物信息学; 人参; 生姜; 姜黄; 郁金

中图分类号: R285; TP18; Q811.4 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)17-5921-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.17.019

Exploring genetic causal association between intestinal flora and idiopathic pulmonary fibrosis based on “gut-lung axis” and predicting intervention with traditional Chinese medicine

WU Xuanyu, XIAO Xiang, CHEN Jiajing, YU Xiaomin, WANG Fei, YANG Han

收稿日期: 2024-04-10

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82374403); 四川省中医药管理局面上项目(2023MS363); 成都中医药大学 2023 年度“杏林学者”学科人才青基进阶人才专项(QJJ2023006); 成都中医药大学临床医学院研究生科研创新实践项目重点课题(23ZS048)

作者简介: 吴宣谕, 硕士研究生。Tel: 13076054175 E-mail: w_xuanyu@stu.cdutcm.edu.cn

*通信作者: 王 飞, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药防治呼吸病与老年病的临床与基础研究。E-mail: wangfei896@163.com

杨 晗, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中医药防治呼吸病与老年病的临床与基础研究。E-mail: 15882458490@163.com

Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, School of Clinical Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China

Abstract: Objective To explore the intestinal flora causally associated with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) and its potential mechanism, and predict the traditional Chinese medicine (TCM) that have regulatory effects on it. By analyzing the biological basis of the “gut-lung axis” to provide the TCM regimen for IPF. **Methods** MiBioGen and Finggen databases were used to obtain the genome-wide association studies data of intestinal flora and IPF. Inverse variance weighting was used as the main method to reveal the bidirectional causal effect of intestinal flora and IPF. Cochrane’s Q test, leave-one-out method, MR-Egger-intercept and mendelian randomization pleiotropy RESidual sum and outlier (MR-PRESSO) were used for quality control of heterogeneity, sensitivity, level pleiotropy and outliers. Protein-protein interaction (PPI) analysis was performed on the nearest genes of single nucleotide polymorphisms (SNPs) to screen core genes. Functional enrichment analysis of core genes was performed to explore the potential mechanism of intestinal flora mediating IPF. Chemical components and Chinese herbs with potential regulatory effects on core genes were predicted using the CTD and Coremine databases. The four *qi*, five flavors, meridians and functions of the Chinese herbs were predicted. Molecular complex detection (MCODE) was to perform cluster analysis and screen the core traditional Chinese medicines TCMs. Molecular docking was to verify the binding energy between the core genes and the representative compounds in the key TCMs. **Results** MR analysis revealed Bacilli, Negativicutes, Burkholderiales, Family XIII, *Ruminococcus gnavus*, *Methanobrevibacter* and *Alistipes finegoldii* were positively correlated with IPF. *Eisenbergiella* was negatively correlated with IPF. Quality control suggested no heterogeneity, horizontal pleiotropy, and outliers among SNPs, and the sensitivity was good. Reverse MR analysis suggested that there was no bidirectional causal association between the above bacteria and IPF. A total of 156 SNPs-related genes were obtained, and the top 50 genes were selected as core genes by PPI. The core genes were mainly enriched in cellular senescence, rat sarcoma (Ras), phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) and other pathways. A total of 236 chemical components represented by quercetin, kaempferol, and lipopolysaccharide were obtained through the CTD database. A total of 566 herbs were obtained through the Coremine database. The four *qi* were mainly cold, warm and smooth, the five flavours were mainly bitter, sweet and spicy, the meridians were mainly liver and lung, followed by spleen, stomach and kidney, and their functions were mainly clearing heat and tonifying deficiency, regulate *qi*, promote blood circulation, resolve phlegm and relieve cough and asthma. MCODE identified Renshen (*Ginseng Radix et Rhizoma*), Shengjiang (*Zingiberis Rhizoma Recens*), Jianghuang (*Curcumae Longae Rhizoma*), Yujin (*Curcumae Radix*) as the key TCMs, and molecular docking showed that the above compounds in the key TCMs had good combination efficiency with the core genes. **Conclusion** Based on MR analysis, the eight kinds of intestinal flora had causal association with IPF, and the mechanisms were related to cellular senescence, Ras and PI3K/Akt pathway. The predicted TCMs mainly embodied the treatment of benefiting *qi*, regulating *qi*, resolving phlegm, promoting blood circulation and detoxifying. Our findings enrich the biological basis of the “gut-lung axis”, deepen the understanding of the etiology of IPF, and provide a new direction for the prevention and treatment of IPF by regulating intestinal flora with TCMs.

Key words: intestinal flora; idiopathic pulmonary fibrosis; Mendelian randomization; bioinformatics; *Ginseng Radix et Rhizoma*; *Zingiberis Rhizoma Recens*; *Curcumae Longae Rhizoma*; *Curcumae Radix*

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种病因不明的慢性、进行性、年龄相关性肺间质疾病^[1]。近年 IPF 患病人数逐年攀升^[2], 而目前却无有效治疗手段。尽管在现有治疗格局下, 吡非尼酮^[3]和尼达尼布^[4]可在一定程度上延缓疾病进展, 却无法逆转肺部既有病理改变。而以磷酸二酯酶 4B 选择性抑制剂^[5]和结缔组织生长因子拮抗剂^[6]等为代表的分子靶向治疗亦尚未取得突破性进展。目前 IPF 确诊后中位生存期 3~3.5 年^[7], 预后差于很多恶性肿瘤。究其原因, 主要在于对 IPF 病因及机制知之甚少, 导致了治疗手段的局

限性。单纯聚焦分子层面取得的研究成果尚无法满足迫切的临床需求, 促使研究从新的维度深入挖掘 IPF 病因及机制, 探索新的治疗途径。

既往研究发现机体内部因素 (遗传易感性、微生物共生失衡等) 和外界环境暴露 (吸烟、大气污染等) 所致的肺稳态失衡在 IPF 发生发展中扮演着关键角色^[8-11]。“肠-肺轴”作为近年来科学界的研究热点, 强调肠道与肺在生理、病理层面的交互串扰^[12]。宏观而言, 二者在临床上常呈共病状态^[13], 有肺病治肠、肠病治肺、肺肠同治等治疗手段^[14-16]; 微观而言, 二者在组胚层面具有同源

异构的特征^[17],提示二者间的关联起源于生命伊始。由此可见,“肠-肺轴”在维持肺稳态中必然发挥着重要作用,诸多研究亦证实了这一观点^[18-20]。鉴于微生物共生失衡是 IPF 发生的潜在因素,而肠道是人体微生物定殖最广泛、种类最繁多的部位,其构建的全身复合网络参与调控机体免疫应答、能量代谢、物质交换等生命活动^[21],也在肺稳态中发挥双向调节作用^[22]。大量研究暗示肠道菌群失衡可能与 IPF 发生发展密切相关。临床研究表明,肠道菌群改变可能导致肺纤维化发生及加重^[23];动物实验证实,肺纤维化会改变动物模型的肠道菌群多样性与丰度^[24]。据此推测,聚焦肠道菌群视角或将有助于深化 IPF 病因学与发病机制认识^[25-27]。

“肠-肺轴”研究已确定了肠道菌群与 IPF 间的相关性,然而目前仍缺乏直接证据表明二者间的因果关系。孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)使用遗传变异作为工具变量(instrumental variables, IVs),依赖均等、随机、独立分布的规则,有效规避了混杂因素和反向因果关系的影响,可探索临床研究中难以或无法进一步调控的暴露因素,已成为一种推断因果关系的前沿研究方法^[28-30]。一

项 MR 研究探索了肠道菌群与慢性呼吸系统疾病的因果关系,发现经黏液真杆菌属 *Blautia* 和艾森伯格氏菌属 *Eisenbergiella* 可增加 IPF 发生风险^[31]。然而该研究样本量小、缺乏双向验证,且未进一步探索二者关联机制及潜在干预策略。基于此,本研究采用大样本全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)数据,运用两样本、双向 MR 分析方法,以单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)为 IVs,探索肠道菌群与 IPF 间的双向因果关联,进一步展开生物信息学分析,探索二者间的病理机制。此外,中医药在 IPF 防治中展示出独特优势^[32-34],然而其调控肠道菌群干预 IPF 领域仍存在较大空白,故本研究在 MR 结合生物信息学研究基础上进行干预中药预测,初探可调控肠道菌群干预 IPF 的潜在中药,为 IPF 治疗提供新策略与思路。

1 资料和方法

1.1 研究设计

如图 1 所示,MR 研究需满足以下 3 个核心假设:

- (1) 最终用于因果分析的 IVs 必须与暴露因素密切相关;
- (2) IVs 与影响暴露因素、结局的混杂因素没有

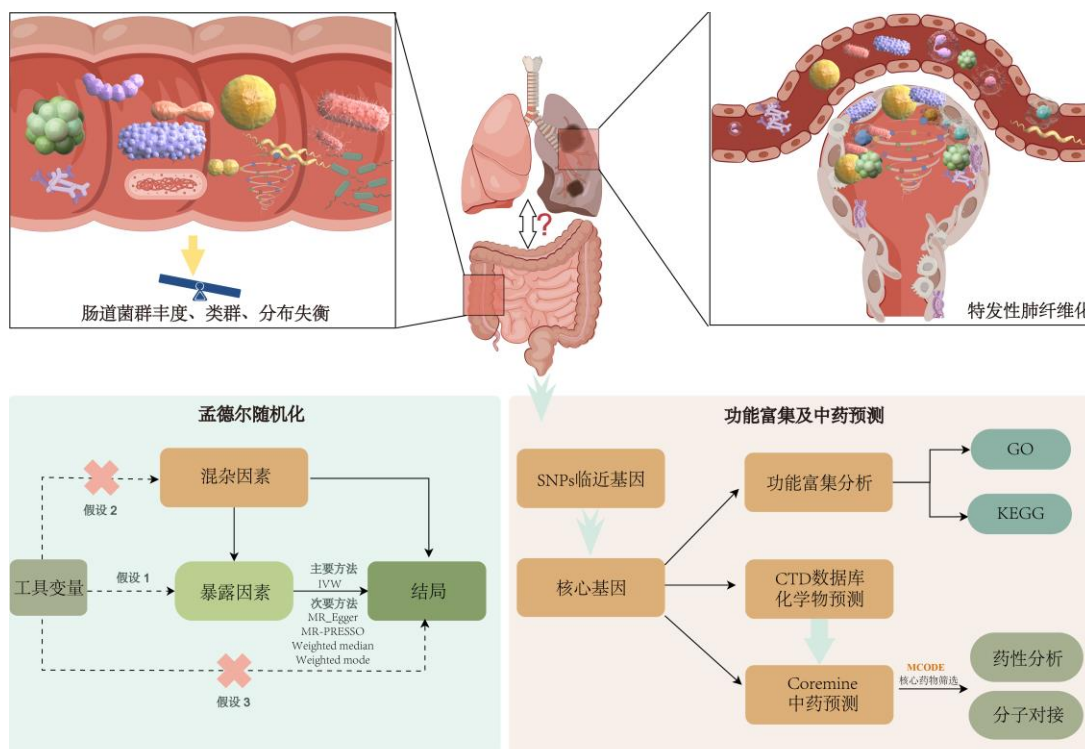


图 1 研究思路

Fig. 1 Research approach

直接关系；(3) IVs 仅通过暴露因素影响结局，而不直接对结局产生作用。本研究首先以肠道菌群 5 个水平（门、类、目、科和属）为暴露因素、IPF 为结局进行双样本 MR 分析，研究肠道菌群对 IPF 的致病作用。随后，为进一步确认肠道菌群与 IPF 之间的双向因果关系，进行反向分析^[35]，以 IPF 为暴露因素，肠道菌群为结局进行 MR 分析。获取 SNPs 临近基因，通过蛋白质-蛋白质互作（protein-protein interaction, PPI）及功能富集分析探索肠道菌群介导 IPF 发生的

关键生物学机制，并预测相关化学成分及中药。

1.2 数据来源

肠道菌群遗传信息来自目前全球最大规模的肠道微生物群 GWAS 中 MiBioGen 数据库（共 211 个分类群：9 门、16 纲、20 目、35 科和 131 属），其中包括 492 803 个样本的肠道微生物组数据。IPF 的遗传信息使用芬兰数据库第 9 代（Finnngen-R9-IPF）数据，其中包括 392 423 位参与者，20 170 176 个 SNP 位点（表 1）。

表 1 两样本孟德尔随机化研究纳入的信息

Table 1 Information included in two-sample Mendelian randomization study

样本	数据来源	样本量	种族	性别	年份
肠道菌群	MiBioGen	492 803	欧洲人	男性和女性	2021
特发性肺纤维化	Finnngen-R9-IPF	392 423	欧洲人	男性和女性	2022

1.3 IVs 筛选与去除

以 $P < 1 \times 10^{-5}$ 为筛选条件，从暴露因素中选择具有显著统计学意义的 SNPs 作为初步筛选的 IVs。设置连锁不平衡系数 $r^2 = 0.001$ ，区域宽度 kb = 10 000，以消除连锁不平衡关系，保证 SNPs 相互独立，避免偏倚。使用 PhenoScanner V2（<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk/>）去除混杂因素。IPF 的危险因素为遗传、自身免疫缺陷、环境暴露（吸烟、糖尿病、胃食管反流）、病毒感染等^[36-37]，肠道菌群的影响因素众多，遗传、宿主特征（精神、代谢、免疫特征以及饮食偏好等）^[38]。混杂因素对暴露和结局同时产生影响^[39]，因此认定遗传、吸烟、宿主特征为本研究的混杂因素，设置 $P = 5 \times 10^{-8}$ 、None Proxies、 $r^2 = 0.8$ 、Build = 37，以筛选与混杂因素有关的 SNPs。计算统计值 F 以筛选弱 IVs： $F = (N-2) \times \frac{R^2}{(1-R^2)}$ ，其中 $R^2 = 2 \times (1-EAF) \times EAF \times (\frac{\beta}{SE \times \sqrt{N}})^2$ ，其中 N 为样本量，EAF 为效应等位基因频率，SE 为标准误差， β 为效应值。若 $F < 10$ 提示该 SNPs 为弱 IVs，对其进行剔除。最后在协调暴露和结局数据时，删除具有中间等位基因频率的回文 SNPs。

1.4 统计学处理

1.4.1 MR 分析 MR 分析前去除 SNPs 个数少于 3 个的肠道菌群。逆方差加权法（inverse variance weighted, IVW）为主要的 MR 分析方法。同时，采

用加权中位数法（weighted median, WM）、简单众数法（simple mode, SM）、MR-Egger 回归、加权众数法（weighted mode, WME）进行 MR 分析以评估 IVW 结果的稳健性。计算结果以比值比（odds ratio, OR）和 95% 置信区间（95% confidence interval, 95% CI）表示， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4.2 质量控制 Cochrane's Q 检验用于计算个体遗传变异估计值。使用孟德尔随机多态性残差和离群值（Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO）法对 SNPs 个数 ≥ 4 的菌群进行离群值检验，若 SNPs 个数 < 4 ，则默认不存在离群值。使用 MR-Egger 进行水平多效性测试。使用留一法（leave-one-out sensitivity test, LOO）逐一剔除 SNPs 后计算合并效应量，检验研究结果的敏感性。Cochrane's Q 检验中 $P > 0.05$ 表示 SNPs 间无异质性；LOO 中 $P > 0.05$ 表示研究结果敏感性良好；MR-PRESSO 中 $P > 0.05$ 表示没有观察到离群值；MR-Egger 中 $P > 0.05$ 表示不存在水平多效性。所有数据分析与可视化均使用 R studio（V4.3.2）TwoSampleMR 和 MR-PRESSO 等软件包进行。

1.5 肠道菌群介导 IPF 发生的核心基因筛选

利用 GWAS Catalog 数据库（<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>）通过 SNPs 染色体序列及位点确定其临近基因。随后，通过 STRING 数据库（<https://string-db.org/>）将上述基因以最小交互置信度 > 0.300 为筛选条件进行 PPI 分析，将 PPI 网络导入 Cytoscape 软件（V3.9.1），利用 CytoHubba 插件中的 Degree 算

法筛选排名前 50 的基因,作为肠道菌群介导 IPF 发生的核心基因。

1.6 功能富集分析

使用 Metascape (<https://metascape.org/gp/index.html>) 对核心基因进行基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析。

1.7 化学成分及潜在干预中药预测

比较毒理基因组学数据库 (the comparative toxicogenomics database, CTD, <https://ctdbase.org/>) 用于查找对核心基因具有调控作用的化学成分,以文献支持数为筛选依据。Coremine 数据库 (<https://coremine.com/medical/>) 用于获取与化学成分相关的中药,筛选阈值为 $P < 0.05$ 。根据《中国药典》《中药大辞典》统计中药四气、五味、归经及功效,剔除缺失完整信息的中药。使用 CytoHubba 插件分别计算 Degree 值排名前 50 的基因、化学成分和中药并进行可视化。使用分子复合物检测模块 (molecular complex detection, MCODE) 插件对网络进行 K 均值聚类分析,以进一步筛选核心中药,设置参数: Degree=3, Nodescore=0.2, K-core=2。

1.8 核心中药活性成分与核心基因的分子对接验证

通过 TCMSp 数据库 (<https://test.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 获取核心中药的药物活性成分,以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 为条件筛选药物活性

成分,并参考相对分子量 (molecule weight, M_w)、Caco-2 细胞渗透性 (Caco-2 permeability, Caco-2)、负表面积 (fractional absorption surface area, FASA⁻) 筛选确定关键成分。将排名前 2 的关键成分作为配体,从 PubChem 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>) 下载配体 mol2 格式的 3D 结构。将度值 (Degree) 排名前 4 的核心基因 (蛋白质) 作为受体。从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载蛋白质 PDB 格式的 3D 晶体结构。使用 CB-Dock2 进行分子对接, Vina Score 计算受体-配体分子之间的结合能。结合能越低,表示结合效果越好,若分子结合能 < 0 kcal/mol (1 kcal=4.2 kJ),说明配体与受体可以自发结合,结合能 < -5 kcal/mol 表示二者可形成稳定对接。

2 结果

2.1 肠道菌群与 IPF 的因果关联

2.1.1 IVs 筛选及 MR 分析结果 通过去除连锁不平衡、混杂因素,计算 F 值,剩余 3 590 个 SNPs。所有 SNPs 的 F 值在 16.912~85.376,表明不存在弱 IVs 偏倚。协调暴露和结局数据,最终剩余 2 829 个 SNPs 作为 IVs。IVW 分析结果显示,8 种肠道菌群与 IPF 存在关联: 芽孢杆菌纲 (Bacilli)、厚壁菌纲 (Negativicutes)、伯克霍尔德氏菌目 (Burkholderiales)、Family XIII、活泼瘤胃球菌 *Ruminococcus gnavus*、艾森伯格氏菌属 *Eisenbergiella*、甲烷短杆菌属 *Methanobrevibacter* 和芬氏另枝菌 *Alistipes finegoldii*, 相关 SNPs 信息见表 2。

表 2 MR 分析纳入工具变量信息

Table 2 Information of included instrumental variables in MR analysis

ID	肠道菌群	SNPs	EA	OA	CHR	EAF	肠道菌群			IPF		
							β	SE	P	β	SE	P
ebi-a-GCST90027653	Bacilli	rs10761245	T	C	9	0.523	-0.098	0.022	8.43×10^{-6}	-0.043	0.032	0.179
		rs1206113	T	C	6	0.133	-0.167	0.036	3.45×10^{-6}	0.016	0.054	0.768
		rs1249137	T	C	10	0.353	0.100	0.022	8.59×10^{-6}	0.012	0.033	0.719
		rs4903903	C	T	14	0.319	0.105	0.023	6.85×10^{-6}	0.068	0.036	0.059
		rs7245563	T	C	19	0.160	0.134	0.028	2.49×10^{-6}	0.037	0.052	0.470
		rs74520302	G	A	8	0.056	-0.221	0.050	9.99×10^{-6}	-0.091	0.069	0.184
ebi-a-GCST90016922	Negativicutes	rs1135612	G	A	7	0.245	0.053	0.012	9.26×10^{-6}	0.046	0.039	0.243
		rs13086907	G	A	3	0.200	0.063	0.013	1.95×10^{-6}	-0.010	0.038	0.785
		rs1643968	T	C	5	0.280	-0.057	0.011	4.15×10^{-7}	-0.014	0.033	0.679
		rs1649999	A	G	10	0.097	0.075	0.017	7.58×10^{-6}	-0.021	0.054	0.695
		rs2834062	A	G	21	0.365	0.049	0.011	8.44×10^{-6}	0.003	0.035	0.930
		rs4463806	C	T	10	0.796	0.054	0.013	7.81×10^{-6}	-0.035	0.040	0.380
		rs4722181	T	G	7	0.476	0.050	0.011	2.00×10^{-6}	0.012	0.032	0.700
		rs60274479	T	C	16	0.223	-0.066	0.013	1.16×10^{-6}	-0.025	0.040	0.528
		rs61249479	A	C	9	0.087	0.078	0.017	2.95×10^{-6}	0.040	0.044	0.356
		rs71405394	G	A	15	0.052	-0.114	0.024	2.17×10^{-6}	-0.092	0.063	0.147

表 2 (续)

ID	肠道菌群	SNPs	EA	OA	CHR	EAF	肠道菌群			IPF		
							β	SE	P	β	SE	P
ebi-a-GCST90016922	Negativicutes	rs73232831	G	A	4	0.064	-0.152	0.031	1.87×10^{-6}	-0.081	0.087	0.353
		rs9423647	G	A	10	0.515	0.048	0.011	6.06×10^{-6}	0.064	0.032	0.045
ebi-a-GCST90027743	Burkholderiales	rs11626416	A	G	14	0.109	-0.118	0.024	1.34×10^{-6}	-0.033	0.057	0.568
		rs12646537	G	A	4	0.069	0.145	0.033	8.07×10^{-6}	0.167	0.075	0.027
		rs12734494	A	G	1	0.492	0.079	0.016	1.47×10^{-6}	0.023	0.032	0.477
		rs4895929	T	C	6	0.366	-0.075	0.017	8.40×10^{-6}	-0.028	0.033	0.403
		rs62351959	T	C	4	0.170	0.097	0.022	7.21×10^{-6}	0.054	0.047	0.248
		rs713716	A	G	22	0.245	-0.084	0.019	6.25×10^{-6}	-0.013	0.041	0.753
		rs79598028	T	C	16	0.169	0.125	0.026	1.77×10^{-6}	0.056	0.039	0.154
		rs9428844	C	T	1	0.706	-0.089	0.020	9.25×10^{-6}	-0.076	0.035	0.028
ebi-a-GCST90016939	Family XIII	rs10404377	A	C	19	0.578	0.050	0.011	6.99×10^{-6}	-0.008	0.033	0.817
		rs118170811	A	G	10	0.040	0.152	0.032	1.80×10^{-6}	0.149	0.092	0.107
		rs482905	G	T	1	0.250	0.060	0.013	3.72×10^{-6}	0.009	0.037	0.812
		rs6501525	A	G	17	0.386	0.056	0.012	1.24×10^{-6}	0.080	0.034	0.018
		rs66753613	G	A	1	0.205	0.065	0.014	8.08×10^{-6}	-0.015	0.041	0.707
		rs6797051	C	T	3	0.117	-0.081	0.017	4.89×10^{-6}	-0.024	0.054	0.663
		rs7514702	T	C	1	0.177	-0.066	0.014	3.92×10^{-6}	-0.064	0.045	0.151
		rs11597105	A	G	10	0.112	0.115	0.025	6.95×10^{-6}	0.035	0.040	0.383
ebi-a-GCST90017065	<i>Ruminococcus gnavus</i>	rs11864644	T	C	16	0.071	-0.140	0.032	5.01×10^{-6}	-0.107	0.050	0.032
		rs12136548	C	T	1	0.291	0.090	0.020	3.10×10^{-6}	0.007	0.035	0.843
		rs12989336	G	A	2	0.305	-0.085	0.019	7.12×10^{-6}	-0.013	0.036	0.705
		rs13163520	G	A	5	0.181	-0.127	0.023	5.61×10^{-8}	-0.048	0.041	0.244
		rs2909242	A	C	8	0.614	0.091	0.018	7.41×10^{-7}	0.022	0.034	0.515
		rs3124783	G	A	9	0.880	0.116	0.025	2.67×10^{-6}	0.009	0.047	0.849
		rs4388134	T	C	4	0.755	0.090	0.020	9.12×10^{-6}	0.050	0.036	0.164
		rs62167033	T	C	2	0.071	0.185	0.040	3.50×10^{-6}	-0.011	0.081	0.892
		rs78399089	T	C	3	0.083	0.144	0.033	6.63×10^{-6}	0.096	0.050	0.056
		rs934940	A	C	2	0.185	-0.105	0.023	2.74×10^{-6}	0.028	0.047	0.547
		rs11027642	C	T	11	0.124	0.129	0.028	4.92×10^{-6}	-0.001	0.046	0.987
		rs11079158	T	C	17	0.220	0.101	0.023	7.35×10^{-6}	-0.058	0.039	0.135
		rs11938607	C	T	4	0.737	-0.098	0.022	8.22×10^{-6}	-0.008	0.036	0.836
		rs12257723	A	C	10	0.339	-0.095	0.021	8.85×10^{-6}	0.031	0.034	0.365
ebi-a-GCST90016991	<i>Eisenbergiella</i>	rs12710729	C	A	2	0.371	0.089	0.020	9.84×10^{-6}	-0.001	0.034	0.977
		rs13258851	A	G	8	0.085	0.137	0.030	7.75×10^{-6}	0.034	0.045	0.446
		rs1508033	A	C	15	0.350	0.092	0.020	3.23×10^{-6}	0.000	0.035	0.990
		rs1553971	T	G	3	0.161	0.121	0.026	5.27×10^{-6}	-0.017	0.038	0.657
		rs2683098	T	C	15	0.776	-0.107	0.023	2.24×10^{-6}	0.099	0.038	0.009
		rs3812426	A	G	8	0.792	-0.106	0.022	2.72×10^{-6}	0.030	0.044	0.500
		rs4462860	G	A	21	0.344	0.094	0.020	4.16×10^{-6}	-0.058	0.033	0.075
		rs1334944	T	C	10	0.285	0.115	0.026	7.61×10^{-6}	0.020	0.036	0.565
		rs4802933	G	A	19	0.822	0.136	0.031	9.74×10^{-6}	0.039	0.038	0.299
		rs76029318	T	C	13	0.065	0.223	0.045	1.08×10^{-6}	0.124	0.066	0.062
		rs10829629	T	C	10	0.402	0.081	0.017	1.96×10^{-6}	0.011	0.032	0.723
		rs111585182	T	G	22	0.072	-0.160	0.036	7.37×10^{-6}	-0.007	0.065	0.921
		rs12028677	T	C	1	0.126	-0.109	0.024	3.94×10^{-6}	-0.014	0.044	0.744
		rs12192901	A	G	6	0.156	0.112	0.024	2.33×10^{-6}	0.041	0.044	0.359
ebi-a-GCST90017033	<i>Methanobrevibacter</i>	rs13381124	G	A	18	0.103	0.143	0.032	9.33×10^{-6}	0.070	0.052	0.178
		rs57119184	T	C	3	0.257	0.088	0.020	8.84×10^{-6}	0.015	0.037	0.696
		rs60475061	A	G	6	0.125	-0.117	0.026	6.98×10^{-6}	-0.102	0.054	0.062
		rs67032605	G	A	9	0.168	0.119	0.026	5.36×10^{-6}	0.011	0.039	0.779
		rs7962165	G	T	12	0.786	-0.096	0.021	3.43×10^{-6}	-0.082	0.037	0.025

EA-效应等位基因; OA-其他等位基因; CHR-染色体编号。

EA-effect allele; OA-other allele; CHR-chromosome numbering.

MR 分析结果见图 2, IVW 分析结果显示, Bacilli (OR=1.34, 95% CI: 1.03~1.76, $P=0.030$)、Negativicutes (OR=1.43, 95% CI: 1.00~2.05, $P=0.049$)、Burkholderiales (OR=1.65, 95% CI: 1.23~2.22, $P=0.001$)、Family XIII (OR=1.66, 95% CI: 1.03~2.68, $P=0.039$)、*Ruminococcus gnavus* (OR=1.36, 95% CI: 1.08~1.70, $P=0.008$)、*Methanobrevibacter* (OR=1.41, 95% CI: 1.01~1.96, $P=0.044$) 和 *Alistipes finegoldii* (OR=1.40, 95% CI: 1.08~1.80, $P=0.010$) 与 IPF 发病呈正相关; *Eisenbergiella* (OR=0.80, 95% CI: 0.64~0.99, $P=0.037$) 与 IPF 发病呈负相关。此外, 其余 4 种方法中, Bacilli、Burkholderiales 的 WM 计算结果显著, 其余均不显著。除 *Methanobrevibacter* 的 MR-Egger 结果以外, 其余菌群的 5 种方法结果总效应值方向一致, 说明 IVW 结果具有良好的稳健性。

2.1.2 质量控制 MR 分析质量控制结果见表 3 和图 3。Cochrane's Q 检验显示, Q 值在 0.834~10.044, $P>0.05$, 表明 SNPs 间不存在异质性; 除 *Methanobrevibacter* 的 SNP 个数小于 4 外, 其余菌群 MR-PRESSO 检验 $P>0.05$, 表明未检测到离群 SNP; MR-Egger-intercept 测试结果显示 $P>0.05$, 表明 MR 分析结果不存在水平多效性; LOO 检验结果显示, 因果效应不存在受到某个 SNP 影响的可能。

2.2 IPF 与肠道菌群的因果关联

2.2.1 IVs 筛选及 MR 分析结果 IPF 作为暴露因素, 通过去除连锁不平衡、混杂因素, 计算 F 值, 剩余 47 个 SNPs。所有 SNPs 的 F 值在 19.550~714.918, 表明不存在弱 IVs 偏倚。分别以“2.1”项中肠道菌群作为结局因素, 协调暴露和结局数据, 去除位点数量小

于 3 个的 SNPs。反向 MR 分析结果如图 4 所示, IPF 与 8 种肠道菌群不存在反向因果关系 ($P>0.05$)。

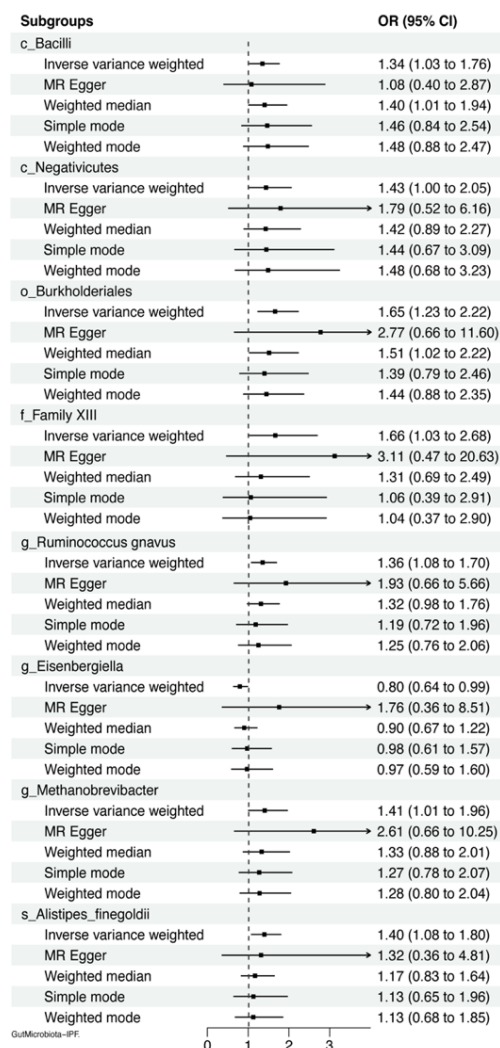


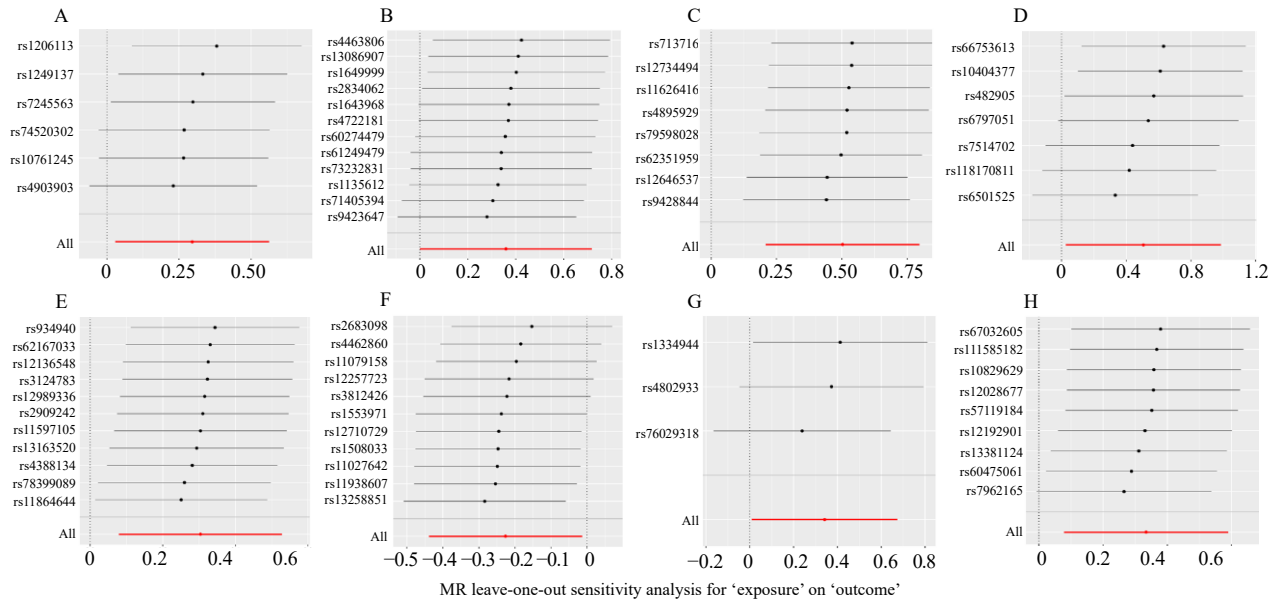
图 2 肠道菌群对 IPF 的 MR 分析结果

Fig. 2 MR analysis results of intestinal flora to IPF

表 3 MR 分析质量控制检验结果

Table 3 Results of quality control of MR analysis

肠道菌群	SNP 个数	异质性检验		离群值检验	水平多效性
		Cochrane's Q	P	MR-PRESSO	MR-Egger intercept
c_Bacilli	6	3.140	0.678	0.392	0.668
c_Negativicutes	12	7.051	0.795	0.394	0.722
o_Burkholderiales	8	3.538	0.831	0.374	0.499
f_Family XIII	7	6.267	0.394	0.422	0.529
g_Ruminococcus gnavus	11	6.319	0.788	0.418	0.528
g_Eisenbergiella	11	10.044	0.437	0.436	0.346
g_Methanobrevibacter	3	0.834	0.659		0.529
s_Alistipes finegoldii	9	5.080	0.749	0.442	0.931



A-芽孢杆菌纲对 IPF; B-厚壁菌纲对 IPF; C-伯克霍尔德氏菌目对 IPF; D-Family XIII 对 IPF; E-活泼瘤胃球菌对 IPF; F-艾森伯格氏菌属对 IPF; G-甲烷短杆菌属对 IPF; H-芬氏另枝菌对 IPF。

A-c_Bacilli to IPF; B-c_Negativicutes to IPF; C-o_Burkholderiales to IPF; D-f_Family XIII to IPF; E-g_Ruminococcus gnavus to IPF; F-g_Eisenbergiella to IPF; G-g_Methanobrevibacter to IPF; H-s_Alistipes finegoldii to IPF.

图 3 MR 分析 LOO 检验结果

Fig. 3 Results of LOO test in MR analysis

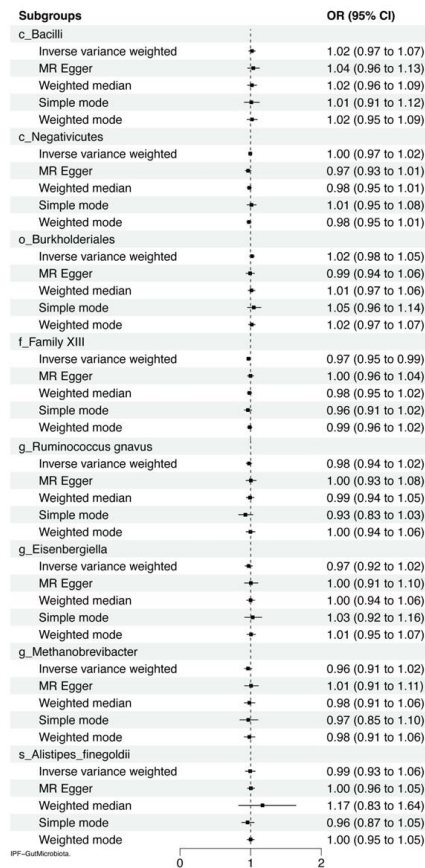


图 4 IPF 对肠道菌群的 MR 分析结果

Fig. 4 MR analysis results of IPF to intestinal flora

2.2.2 质量控制 反向 MR 分析质量控制结果见表 4 和图 5。Cochrane's Q 检验显示, Q 值在 6.442~22.582, $P>0.05$, 表明不存在异质性; MR-PRESSO 结果显示 $P>0.05$, 未检测到离群 SNPs。MR-Egger-intercept 检验 $P>0.05$, 表明 MR 分析结果不存在水平多效性; LOO 检验结果显示, 因果效应不存在受到某个 SNP 影响的可能。

2.3 肠道菌群介导 IPF 发生的核心基因筛选

根据 SNP 编号及其所处的染色体序列与位点, 确定了 156 个 SNPs 临近基因。如图 6 所示, 将上述基因导入 STRING 数据库, 删除游离节点后获得由 96 个节点, 176 条边构成的 PPI 网络, 根据 Degree 值选出前 50 个基因作为肠道菌群介导 IPF 发生的核心基因。

2.4 核心基因功能富集分析

如图 7 所示, 对 50 个核心基因进行了功能富集分析, KEGG 分析结果显示, 核心基因主要富集在细胞衰老、鼠肉瘤 (rat sarcoma, Ras) 和磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 等信号通路。GO 富集结果显示, 核心基因主要富集在细胞外基质组织的正向调节、肝胆系统发育和细胞命运定型等生物过程; 线粒体内膜、浓缩核染色体、

表 4 反向 MR 分析质量控制结果

Table 4 Results of quality control of reversed MR analysis

肠道菌群	nSNP	异质性检验		离群值检验	水平多效性
		Cochrane's <i>Q</i>	<i>P</i>	MR-PRESSO	MR-Egger-intercept
c_Bacilli	6	10.085	0.900	0.924	0.599
c_Negativicutes	12	9.619	0.919	0.840	0.102
o_Burkholderiales	8	14.682	0.618	0.840	0.340
f_Family XIII	7	10.187	0.857	0.726	0.140
g_Ruminococcus gnavus	11	10.760	0.769	0.778	0.379
g_Eisenbergiella	11	22.582	0.093	0.126	0.444
g_Methanobrevibacter	3	6.442	0.954		0.318
s_Alistipes finegoldii	9	19.166	0.319	0.436	0.885

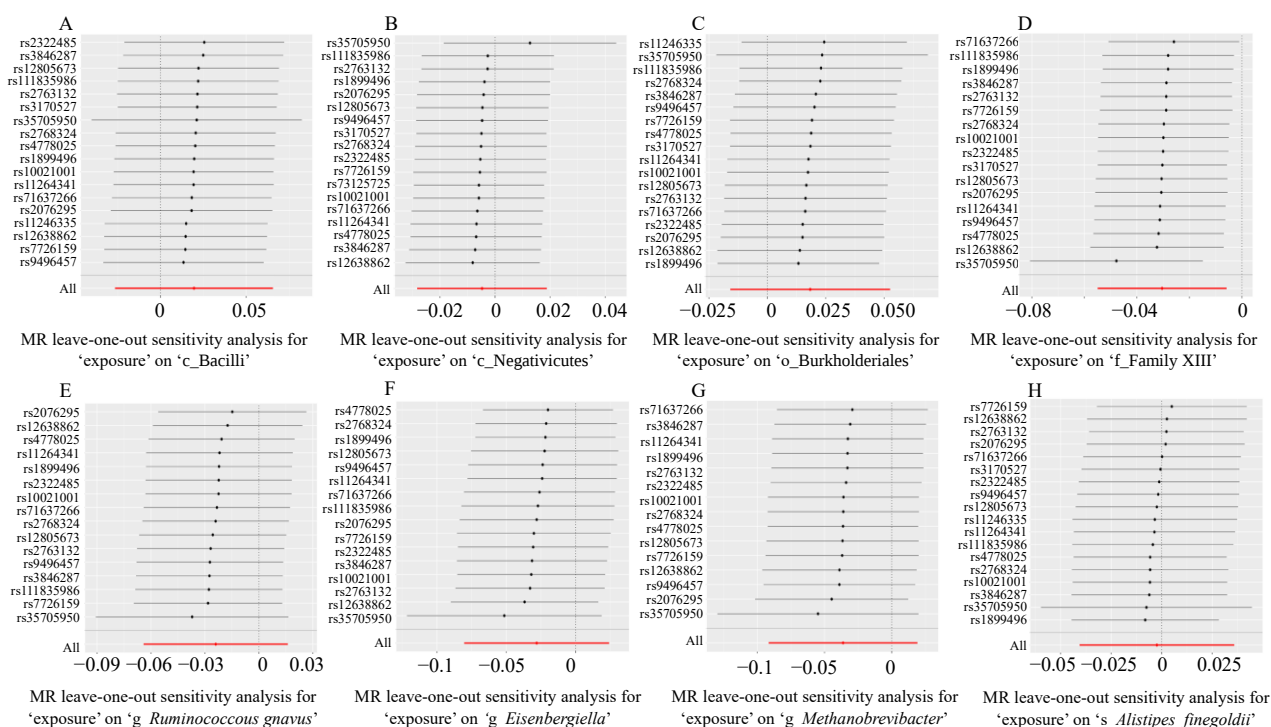


图 5 反向 MR 分析 LOO 检验结果

Fig. 5 Results of LOO test in reversed MR analysis

线粒体蛋白复合物等细胞成分； β -连环蛋白结合、结合蛋白质、核苷二磷酸激酶活性等分子功能。

2.5 化学成分及潜在中药预测

将上述 50 个基因导入 CTD 数据库，得到以槲皮素、山柰酚、脂多糖为代表的 297 个化学成分，排除以博莱霉素、雷尼替丁为代表的化学药物及葡萄糖、香烟、三磷酸腺苷等非特异性物质，最终剩

余 236 个化学成分。将上述化学成分导入 Coremine 数据库，得到以茶树根、人参、姜黄、生姜等为代表的 566 味中药。如图 8 所示，使用 Cytoscape 软件分别计算 Degree 值排名前 50 的基因、化学成分及中药并构建“核心基因-化学物-中药”网络图。

2.6 潜在干预中药特征分析及核心中药筛选

对 566 味预测的潜在干预中药的四气、五味、

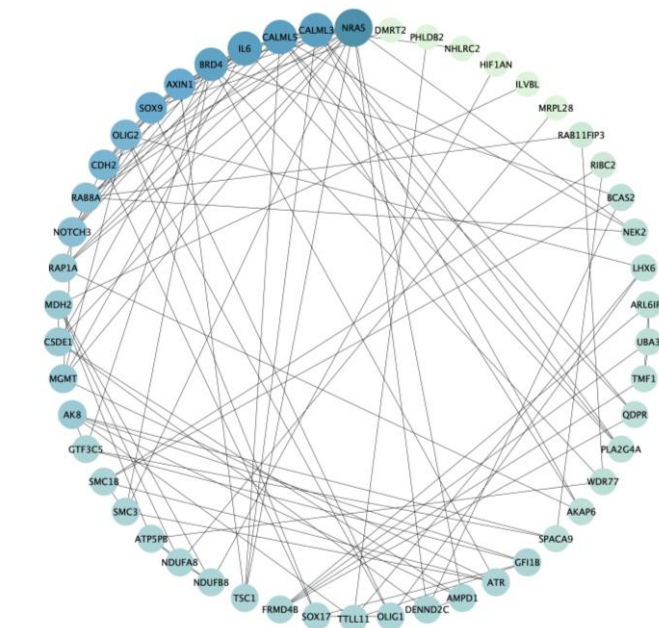


图 6 肠道菌群介导 IPF 发生的核心基因

Fig. 6 Core genes of intestinal flora mediating IPF

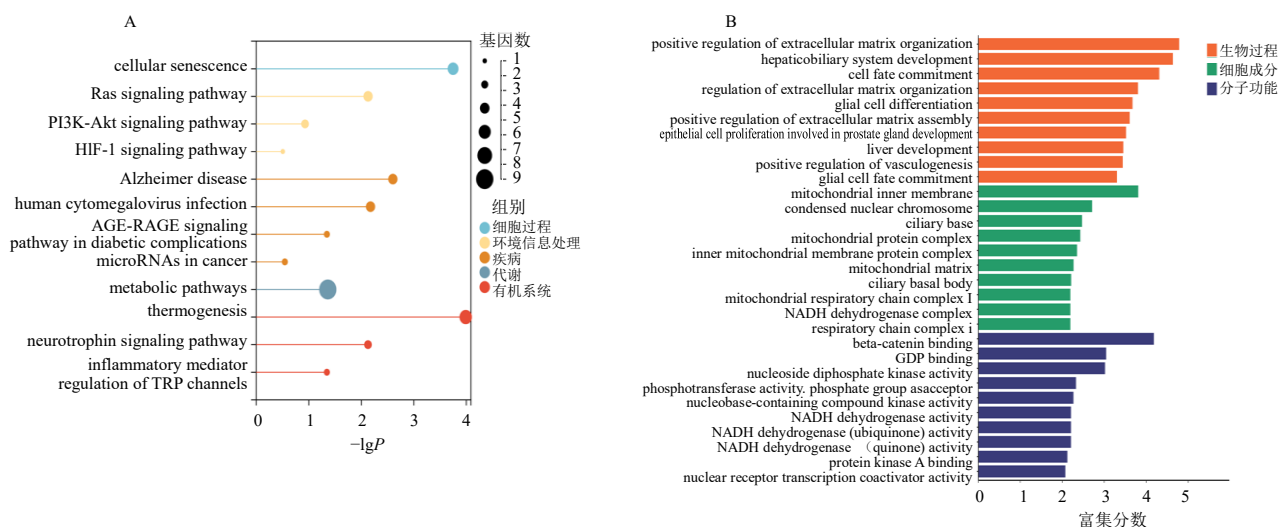


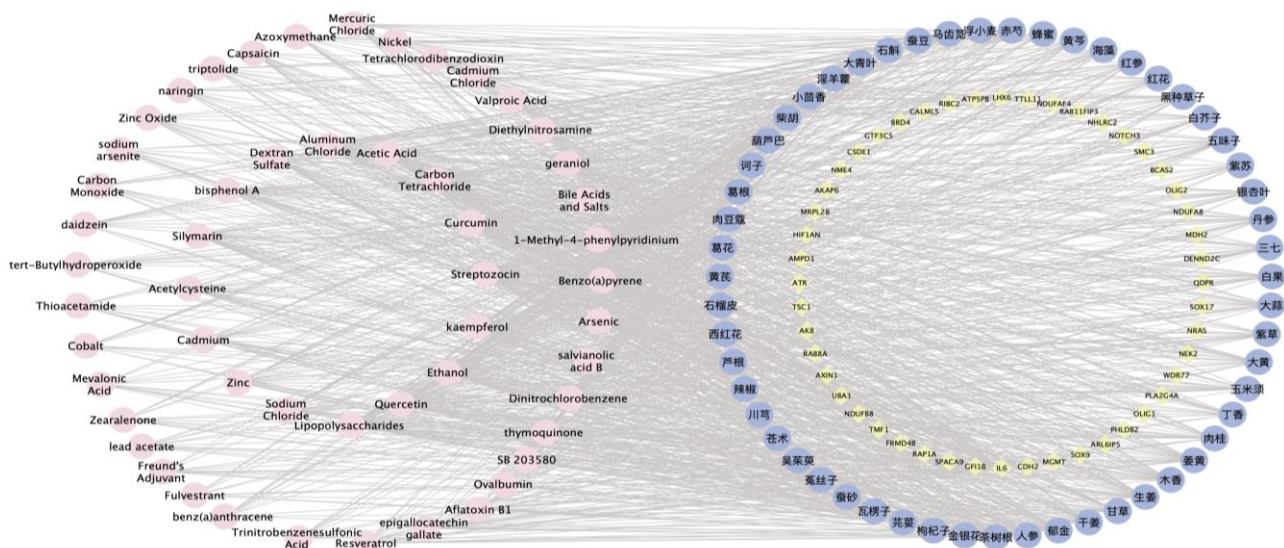
图 7 核心基因 GO 功能 (A) 和 KEGG 通路 (B) 富集分析

Fig.7 Enrichment analysis of GO functional (A) and KEGG pathway (B) of core genes

归经及功效进行统计分析,如图 9 所示,中药(出现频次)的四气以寒(182 次)、温(182 次)、平(148 次)为主,五味以苦(272 次)、甘(242 次)、辛(206 次)为主,归经以肝(263 次)、肺(215 次)为主,脾(178 次)、胃(165 次)、肾(149 次)次之,功效以清热(127 次)、补虚(82 次)为主,兼以化痰止咳平喘(47 次)、活血(43 次)、理气(36 次)等。使用 MCODE 插件进行聚类分析,筛选出 4 个核心中药-化合物子网络,在此基础上进一步聚类得到关键中药人参、生姜、郁金和姜黄,见表 5。

2.7 分子对接

使用 TCMSP 筛选出 4 味关键中药的关键活性化学成分,见表 6。将 PPI 分析中前 4 名核心基因(蛋白质):白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(O6-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)、神经钙黏蛋白(N-cadherin, CDH2)、性别决定区域 Y 相关的高迁移率族框 9(SRY-Box transcription factor 9, SOX9)与关键成分进行分子对接以验证结合效能。如图 10 所示,所有成分与蛋白质的分子对接结合能均<-5

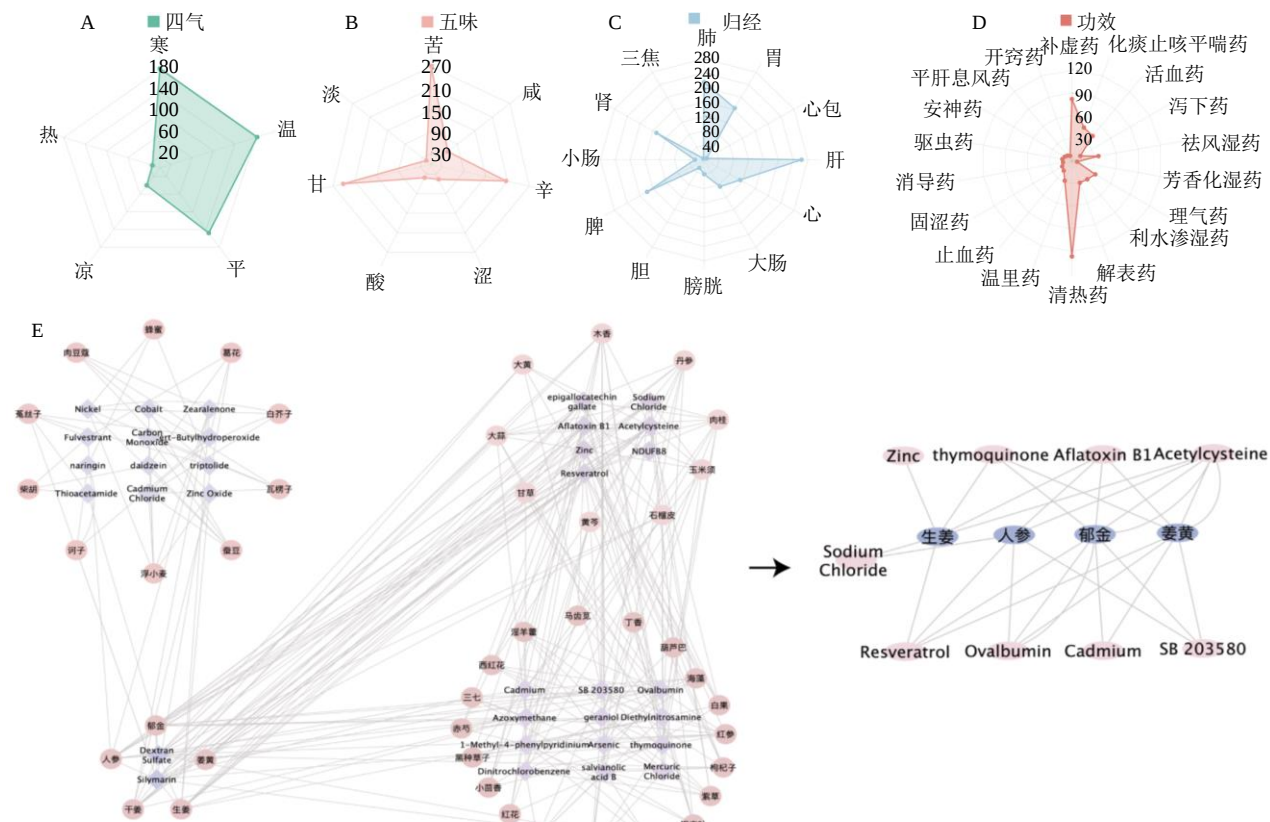


粉色圆形代表化学成分，紫色圆形代表中药，黄色菱形代表基因。

Pink circles represent chemical components, purple circles represent traditional Chinese medicines, and yellow diamonds represent genes.

图 8 “核心基因-化学成分-中药”网络图

Fig. 8 Network diagram of “core genes-chemical components-traditional Chinese medicines”



A-四气；B-五味；C-归经；D-功效；E-MCODE 筛选中药。

A-four qi; B-five flavours; C-meridian tropism; D-efficacy; E-traditional Chinese medicines screened by MCODE.

图 9 预测中药特征雷达图及核心中药筛选

Fig. 9 Radar maps for characteristics of predicting traditional Chinese medicine and screening of core traditional Chinese medicines

表 5 关键中药拓扑参数
Table 5 Topological parameters of key traditional Chinese medicines

中药	Degree	介数中心性	接近中心性
人参	32	385.767 97	0.137 777 78
生姜	29	307.589 26	0.137 046 86
郁金	38	531.216 10	0.137 777 78
姜黄	30	306.497 56	0.137 046 86

kcal/mol，平均结合能为-7.919 kcal/mol，表示所预测的关键中药与核心基因（蛋白质）亲和力较好，结合稳定。

3 讨论

作为“肠-肺轴”研究的明星成员，肠道菌群及其代谢产物所参与的免疫、炎症和代谢等多种生物途径被认为是影响疾病发生、加重及预后的“微生物印记”，亦可能参与 IPF 发病^[40]。肠道菌群失调

表 6 关键中药成分
Table 6 Key ingredients in traditional Chinese medicines

中药	成分	Mol ID	Mw	AlogP	Hdon	Hacc	OB/%	Caco-2	DL	FASA ⁻
人参	苯代南蛇碱 (celabenzine)	MOL005314	379.55	2.29	2	5	101.90	0.77	0.49	0.35
	阿朴天仙子碱 (aposiopolamine)	MOL005308	271.34	1.39	1	4	66.65	0.66	0.22	0.35
生姜	β-谷甾醇 (β-sitosterol)	MOL000358	414.79	8.08	1	1	36.91	1.32	0.75	0.23
	孔珊瑚醇 (poriferast-5-en-3β-ol)	MOL001771	414.79	8.08	1	1	36.91	1.45	0.75	0.00
姜黄	菜油甾醇 (stigmasterol)	MOL000449	412.77	7.64	1	1	43.83	1.44	0.76	0.22
	豆甾醇 (campesterol)	MOL000493	400.76	7.63	1	1	37.58	1.31	0.71	0.00
郁金	1,7-二苯基-3-羟基-1-庚烯-5-酮 [(E)-1,7-diphenyl-3-hydroxy-1-hepten-5-one]	MOL004260	280.39	3.57	1	2	64.66	0.93	0.18	0.41
	莪术烯醇 (oxycurcumenol)	MOL004291	250.37	1.8	1	3	67.06	0.83	0.18	0.28

AlogP-拓扑极性指数; Hdon-氢键供体; Hacc-氢键受体。
AlogP-aliphatic and aromatic log P; Hdon-hydrogen bond donor; Hacc-hydrogen bond acceptor.

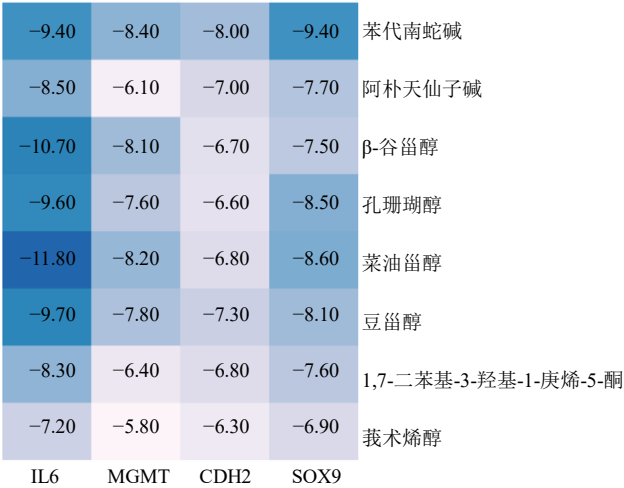


图 10 关键中药活性成分与核心基因（蛋白质）的分子对接结果

Fig. 10 Molecular docking results between key traditional Chinese medicines and core genes (proteins)

所致的免疫串扰可作用于呼吸道和肺血管，损伤肺部结构与功能^[41-42]。此外，肠道菌群失衡引起的炎症反应与代谢紊乱亦是 IPF 发生的潜在推手^[43-45]。本研究发现 Bacilli、Negativicutes、Burkholderiales、Family XIII、Ruminococcus gnavus、Methanobrevibacter 和 Alistipes finegoldii 与 IPF 发

生风险增加相关，Eisenbergiella 与 IPF 发生风险降低相关，而 IPF 并不对上述菌群产生反向作用。

Family XIII 在多种纤维化疾病中丰度增加^[46]，可通过合成吲哚加剧细胞毒性、促进细胞凋亡^[47-49]，产生促肺纤维化作用。此外，Family XIII 可能通过产生、释放同型半胱氨酸介导肺上皮细胞和内皮细胞

胞凋亡、细胞-细胞外基质脱离和神经错位等途径参与肺纤维化^[50-51]。*Ruminococcus gnavus* 被认为是“肠-肺轴”微生物串扰的代表菌群，在肺炎、急性肺损伤、哮喘等多种肺部疾病中丰度异常，且其丰度和多样性随年龄增长而升高^[52-55]。值得注意的是，其丰度在肺纤维化动物模型中亦显著异常^[56]，且研究表明其可通过 Toll 样受体 4 诱导树突状细胞产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)，从而参与机体炎症反应，加剧 IPF 发生风险^[57-58]。*Eisenbergiella* 是前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 的重要负向调节剂，具有炎症抑制作用^[59]，可通过刺激丁酸产生^[60]，调节跨上皮物质转运、减轻黏膜炎症与氧化应激、增强上皮防御屏障，实现抗炎作用。Negativicutes 在肺部慢性炎症中丰度显著增加，并可能通过介导炎症反应引起患者气道功能障碍进而促进肺纤维化^[61-62]。*Methanobrevibacter* 丰度受烟雾暴露影响，破坏黏膜屏障，进而加剧肺部炎症^[63-64]。厚壁菌门（包括 Bacilli、*Ruminococcus gnavus*、*Eisenbergiella* 和 Negativicutes）和变形菌门（包括 Burkholderiales）是诱发慢性疾病的标志菌群^[65]，与拟杆菌门（包括 *Alistipes finegoldii* 和 Family XIII）广泛存在于间质性肺病患者的支气管肺泡灌洗液中^[66]。此外，厚壁菌门失衡是 IPF 进展的危险因素，也是影响宿主免疫的主要菌群，可通过白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 介导炎症，甚至器官损伤和恶病质^[67]。

鉴于肠道菌群如何介导 IPF 发生仍是一个悬而未决的难题，本研究针对核心基因开展功能富集分析，发现细胞衰老、Ras 和 PI3K/Akt 等通路可能是肠道菌群参与 IPF 发生的重要途径。既往研究表明，肠道菌群紊乱与上述通路密切相关，而上述通路在 IPF 发生中又至关重要。*Ruminococcus*^[68]、*Alistipes*^[69]和 *Eisenbergiella*^[70]等肠道菌群丰度、类群与分布随年龄的增长而变化，可影响局部与全身能量代谢、炎症与氧化应激，导致 II 型肺泡上皮、基底细胞、肺成纤维细胞等的衰老及细胞周期异常，进一步诱发和加重氧化应激、基质重塑、增殖能力受损，导致 IPF 发生^[71-73]。Ras 信号传导激活转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 驱动的上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT)、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 沉积进程^[74]，介导肺纤维化，而 Ras 通路的异常激活与较低的 *Ruminococcus* 丰度有关^[75]。

PI3K/Akt 是介导 IPF 发生发展的关键信号通路，可直接或间接参与上皮细胞损伤、EMT、细胞衰老与凋亡、免疫应答、肌成纤维细胞分化及 ECM 重塑等多种表型，与肺纤维化中的 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 和 TGF- β 有着明确的相互作用^[76]。*Ruminococcus* 和 *Alistipes* 被证明与 PI3K/Akt 通路激活密切相关^[77-80]，且 PI3K/Akt 信号传导能够干预肠道菌群平衡，影响肺泡上皮细胞衰老进程^[81]。综上所述，细胞衰老、Ras、PI3K/Akt 等信号通路是肠道菌群介导 IPF 发生的可能途径，值得进一步探索。

研究表明，中医药无论是在 IPF 的防治中，还是在肠道菌群稳态维持中均发挥着重要作用。为探索对肠道菌群介导 IPF 发生过程具有潜在调控作用的中药，本研究使用 CTD 和 Coremine 数据库获得 236 种化学成分与 566 味中药。获得的化学成分包括槲皮素、山柰酚、脂多糖等。众所周知，山柰酚、槲皮素作为重要的中药单体成分，已被证实具有良好的抗肺纤维化作用^[82]。脂多糖具有突出的致肺部炎症及纤维化作用，在 IPF 的动物模型中十分重要^[83]。

中医学对本病并无特定命名，将其归属于“肺痹”“肺痿”等范畴，气虚血瘀为其核心病机，肺络因气虚气滞而痹，因痹而痿，继而痰瘀毒郁为其基本病理过程，“虚、滞、痰、瘀、毒”为核心病理因素。故认为本病应当主要采用益气、理气、化痰、活血及解毒等治法，本课题组在前期研究中采用益气活血法治疗肺纤维化患者亦取得确切疗效^[84]。本研究筛选得到补虚药（人参、五味子、黄芪）、理气药（姜黄、木香、柴胡）、化痰药（白芥子、白果、厚朴）、活血药（红花、赤芍、川芎、当归）和清热（解毒）药（大黄、黄连、黄芩）等可能成为治疗 IPF 的潜在中药。预测中药四气以寒、温、平为主，一是符合虚寒、虚热肺痿的辨证论治思路，二是符合肺痹、肺痿虚实夹杂、寒热错杂之病机，以温药化痰行饮、活血化痰，以寒药清热解毒，发散郁热，寒温并行，相互制约。预测中药五味以苦、甘、辛为主，苦以燥湿化痰清热，辛以散气行血，注重去除气血津液蓄积而成的病理产物；甘以滋养阴液，和中健脾，以甘药滋养肺阴。预测药物归经以肝、肺为主，脾、胃、肾次之，本病起于气机升降失常，且肺气亏虚，金虚木侮，故调理肝肺；脾胃为气机升降之枢纽，后天水谷之海，又为生痰之源，肾为一身之根本，气之根，又为生痰

之本，故重视脾胃与肾。

预测的关键中药人参、姜黄、生姜、郁金均是临床治疗 IPF 的常用药物，能通过多种途径干预 IPF。人参皂苷可通过诱导自噬相关蛋白 12 抑制自噬，降低衰老和衰老相关表型，逆转肺泡上皮细胞因衰老驱动的纤维化进程^[85]；通过腺苷酸活化蛋白激酶（adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK）/干扰素基因刺激蛋白（stimulator of interferon genes, STING）通路调节线粒体氧化应激，抑制活性氧累积，减弱肺纤维化^[86]；抑制 Smad（small mothers against decapentaplegic）2/3 介导的内皮向间充质转化进而缓解纤维化^[87]；抑制 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）介导的炎症及纤维化进程^[88]。此外，人参多种成分均与 Ras 蛋白具有良好的亲和力^[89]。姜黄可通过减弱辐射诱导的炎症和细胞凋亡，改善纤维化结局^[90]；调控 PI3K/Akt 通路，抑制氧化应激和自噬介导的 EMT 进程，进而改善纤维化^[91]；激活 AMPK/mTOR 诱导的自噬，减轻细胞衰老^[92]；抑制 α -SMA 和 TGF- β 表达，阻断成纤维细胞增殖分化，产生抗肺纤维化作用^[93]；选择性抑制 Ras 蛋白表达，影响细胞周期，发挥抗氧化作用^[94]。生姜可通过抑制氧化应激、活性氧和炎症标志物的产生，减少促纤维化因子 TGF- β 和 α -SMA 表达，逆转细胞凋亡，进而产生抗肺纤维作用^[95]。郁金可通过抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路，降低丝裂原活化蛋白激酶 1（mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1）和信号转导和转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3, STAT3）蛋白磷酸化水平，抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞分化，改善肺部纤维化病理改变^[96]。上述证据表明预测中药对 IPF 治疗有效，进一步的分子对接结果表明预测关键中药与核心基因（蛋白质）具有良好的结合效能，说明预测结果具有较好的可信度，可为 IPF 中药新药研发提供研究思路。

4 结论

本研究以“肠-肺轴”为切入点，采用两样本、双向 MR 方法，发现了 8 种与 IPF 存在因果关联的肠道菌群，这些菌群可能通过细胞衰老、Ras 和 PI3K/Akt 等通路介导 IPF 发生，以益气、理气、化痰、活血及解毒为代表治法的预测中药可能对肠道菌群介导的 IPF 发生具有潜在调控作用。为从肠道菌群视角阐述 IPF 发病机制提供了更多依据，同时

为探索中药干预 IPF 策略提供了新的研究思路。但本研究仍存在一定局限性：（1）目前公开可用的 GWAS 数据大多以欧洲人群为主，考虑到人口分层因素，本研究结果尚不能完全避免偏倚，期待未来公开更多东亚人群高质量 GWAS 数据，以便为中医药研究提供参考；（2）GWAS 数据较笼统，缺少受试者个人信息，如基础疾病、饮食偏好等，可能引入不可控制的潜在非线性关系，且无法通过亚组分析纠正；（3）肠道菌群通过相关信号通路介导 IPF 发生的机制有待进一步实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Spagnolo P, Kropski J A, Jones M G, *et al.* Idiopathic pulmonary fibrosis: Disease mechanisms and drug development [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 222: 107798.
- [2] Cottin V, Hirani N A, Hotchkiss D L, *et al.* Presentation, diagnosis and clinical course of the spectrum of progressive-fibrosing interstitial lung diseases [J]. *Eur Respir Rev*, 2018, 27(150): 180076.
- [3] Nathan S D, Albera C, Bradford W Z, *et al.* Effect of pirfenidone on mortality: Pooled analyses and meta-analyses of clinical trials in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5(1): 33-41.
- [4] Maher T M, Stowasser S, Nishioka Y, *et al.* Biomarkers of extracellular matrix turnover in patients with idiopathic pulmonary fibrosis given nintedanib (INMARK study): A randomised, placebo-controlled study [J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(9): 771-779.
- [5] Richeldi L, Azuma A, Cottin V, *et al.* Trial of a preferential phosphodiesterase 4B inhibitor for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(23): 2178-2187.
- [6] Richeldi L, Fernández Pérez E R, Costabel U, *et al.* Pamrevlumab, an anti-connective tissue growth factor therapy, for idiopathic pulmonary fibrosis (PRAISE): A phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(1): 25-33.
- [7] Cottin V, Annesi-Maesano I, Günther A, *et al.* The Ariane-IPF ERS Clinical Research Collaboration: Seeking collaboration through launch of a federation of European registries on idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Eur Respir J*, 2019, 53(5): 1900539.
- [8] Sgalla G, Kulkarni T, Antin-Ozerkis D, *et al.* Update in pulmonary fibrosis 2018 [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(3): 292-300.
- [9] Vaz M, Hwang S Y, Kagiampakis I, *et al.* Chronic cigarette smoke-induced epigenomic changes precede sensitization of bronchial epithelial cells to single-step transformation by KRAS mutations [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(3): 360-376.e6.
- [10] Moore B B, Moore T A. Viruses in idiopathic pulmonary fibrosis. etiology and exacerbation [J]. *Ann Am Thorac*

- Soc, 2015, 12(Suppl 2): S186-S192.
- [11] Sack C, Raghu G. Idiopathic pulmonary fibrosis: Unmasking cryptogenic environmental factors [J]. *Eur Respir J*, 2019, 53(2): 1801699.
- [12] Zhou A, Lei Y Y, Tang L, *et al.* Gut microbiota: The emerging link to lung homeostasis and disease [J]. *J Bacteriol*, 2021, 203(4): e00454-e00420.
- [13] 张文杰, 戴岳. “肺-肠轴”的研究进展 [J]. *药学研究*, 2022, 41(1): 53-56.
- [14] 肖祥, 吴宣谕, 韩洁榕, 等. “肺与大肠相表里”视角下探索肠道菌群与肺癌因果关联及潜在干预中药预测 [J]. *中草药*, 2024, 55(12): 4108-4120.
- [15] 包晟川, 闫曙光, 陈婷, 等. 肺肠合治法治疗肺系疾病的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(8): 116-122.
- [16] 罗瑞娟, 柳越冬, 陶弘武, 等. 基于“肺-肠轴”理论探讨溃疡性结肠炎的发病机制 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(8): 32-36.
- [17] 刘声, 刘晓燕, 郭霞珍. 从肺肠上皮组织细胞变化分析肺与大肠相表里的内涵 [J]. *世界中医药*, 2014, 9(8): 1051-1054.
- [18] Zhou X, Liao Y X. Gut-lung crosstalk in sepsis-induced acute lung injury [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 779620.
- [19] 牛胜男, 王丹, 陈红旭, 等. 五味子安五脂素对大鼠肠缺血再灌注致肺损伤的保护作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(1): 192-195.
- [20] 陈会敏, 胡艾悦, 张麟, 等. 补脾益气法基于肠-肺轴途径治疗哮喘的机理探讨 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(10): 2458-2460.
- [21] Yang L, Sakandar H A, Sun Z H, *et al.* Recent advances of intestinal microbiota transmission from mother to infant [J]. *J Funct Foods*, 2021, 87: 104719.
- [22] 师晓栋, 赵晗, 刘东山. 肠道菌群在肺纤维化疾病中的调节作用 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2023, 50(2): 252-264.
- [23] 武文娟, 吴纪珍, 黄改荣, 等. 老年肠道菌群失调与特发性肺纤维化患者心力衰竭的相关性研究 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2022, 24(1): 14-16.
- [24] Gong G C, Song S R, Su J. Pulmonary fibrosis alters gut microbiota and associated metabolites in mice: An integrated 16S and metabolomics analysis [J]. *Life Sci*, 2021, 264: 118616.
- [25] Ren Y, Zhang Y, Cheng Y, *et al.* Genetic liability of gut microbiota for idiopathic pulmonary fibrosis and lung function: A two-sample Mendelian randomization study [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2024, 14: 1348685.
- [26] Budden K F, Gellatly S L, Wood D L, *et al.* Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(1): 55-63.
- [27] Bird L. Intestinal flora influences liver disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12: 153.
- [28] Smith G D, Ebrahim S. 'Mendelian randomization: Can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease?' [J]. *Int J Epidemiol*, 2003, 32(1): 1-22.
- [29] Lawlor D A, Harbord R M, Sterne J A, *et al.* Mendelian randomization: Using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology [J]. *Stat Med*, 2008, 27(8): 1133-1163.
- [30] Weith M, Beyer A. The next step in Mendelian randomization [J]. *Elife*, 2023, 12: e86416.
- [31] Shi H Y, Zhao T, Geng R H, *et al.* The associations between gut microbiota and chronic respiratory diseases: A Mendelian randomization study [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1200937.
- [32] 陈秋仪, 郭玉洁, 崔红生, 等. 保肺康治疗慢性阻塞性肺疾病合并肺间质纤维化临床疗效评价 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(3): 484-488.
- [33] 张海龙, 王露, 郭雯, 等. 抗纤缓急方治疗特发性肺纤维化急性加重患者多中心随机对照研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2024, 44(2): 163-168.
- [34] 卫博凯, 胡静. 基于中医传承辅助平台与网络药理学探析中药干预新型冠状病毒感染后遗症肺纤维化的作用机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(1): 190-204.
- [35] 马玮玮, 陈虹谷, 李彤彤, 等. 基于孟德尔随机化分析肠道菌群与骨密度的因果关系 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(12): 1780-1785.
- [36] Reynolds C J, Del Greco M F, Allen R J, *et al.* The causal relationship between gastro-oesophageal reflux disease and idiopathic pulmonary fibrosis: A bidirectional two-sample Mendelian randomisation study [J]. *Eur Respir J*, 2023, 61(5): 2201585.
- [37] Zhao W M, Wang L, Wang Y X, *et al.* Injured endothelial cell: A risk factor for pulmonary fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8749.
- [38] Kurilshikov A, Medina-Gomez C, Bacigalupe R, *et al.* Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition [J]. *Nat Genet*, 2021, 53(2): 156-165.
- [39] 周城城, 庞英, 何毅, 等. 抑郁和乳腺癌发病风险相关的孟德尔随机化分析 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2023, 37(6): 471-478.
- [40] Feng Q Q, Chen W D, Wang Y D. Gut microbiota: An integral moderator in health and disease [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 151.
- [41] Zuo T, Ng S C. The intestinal flora in the pathogenesis and therapeutics of inflammatory bowel disease [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2247.
- [42] Cozzi D, Moroni C, Addeo G, *et al.* Radiological patterns of lung involvement in inflammatory bowel disease [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2018, 2018: 5697846.
- [43] Anand S, Mande S S. Diet, microbiota and gut-lung connection [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2147.
- [44] Wang Z, Chen W H, Li S X, *et al.* Gut microbiota modulates the inflammatory response and cognitive impairment induced by sleep deprivation [J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26(11): 6277-6292.
- [45] Schoeler M, Caesar R. Dietary lipids, gut microbiota and

- lipid metabolism [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2019, 20(4): 461-472.
- [46] Chen Z W, Wu S B, Zeng Y, *et al.* Fuzheng Huayu Jiangzhu Tongluo Fang prescription modulates gut microbiota and gut-derived metabolites in UUO rats [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 837205.
- [47] Shi J, Zhao D, Song S X, *et al.* High-meat-protein high-fat diet induced dysbiosis of gut microbiota and tryptophan metabolism in wistar rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(23): 6333-6346.
- [48] Lei H R, Guo M, Li X P, *et al.* Discovery of novel indole-based allosteric highly potent ATX inhibitors with great *in vivo* efficacy in a mouse lung fibrosis model [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(13): 7326-7346.
- [49] Grandi A, Ferrini E, Mecozzi L, *et al.* Indocyanine-enhanced mouse model of bleomycin-induced lung fibrosis with hallmarks of progressive emphysema [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2023, 324(2): L211-L227.
- [50] Rosario D, Bidkhor G, Lee S, *et al.* Systematic analysis of gut microbiome reveals the role of bacterial folate and homocysteine metabolism in Parkinson's disease [J]. *Cell Rep*, 2021, 34(9): 108807.
- [51] Lu Q, Harrington E O, Rounds S. Apoptosis and lung injury [J]. *Keio J Med*, 2005, 54(4): 184-189.
- [52] Aishwarya S, Gunasekaran K. Meta-analysis of the microbial biomarkers in the gut-lung crosstalk in COVID-19, community-acquired pneumonia and *Clostridium difficile* infections [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2022, 75(5): 1293-1306.
- [53] Liu J X, Yuan H Y, Li Y N, *et al.* *Ephedra sinica* polysaccharide alleviates airway inflammations of mouse asthma-like induced by PM_{2.5} and ovalbumin via the regulation of gut microbiota and short chain fatty acid [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2022, 74(12): 1784-1796.
- [54] Wan Y D, Wang S Y, Niu Y F, *et al.* Effect of metformin on sepsis-associated acute lung injury and gut microbiota in aged rats with sepsis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1139436.
- [55] Wu Y F, Chen Y Q, Li Q, *et al.* Tetrahydrocurcumin alleviates allergic airway inflammation in asthmatic mice by modulating the gut microbiota [J]. *Food Funct*, 2021, 12(15): 6830-6840.
- [56] Sun M D, Zhang F Y, Lu F, *et al.* Integrating fecal metabolomics and intestinal microbiota to study the mechanism of cannabidiol in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1358626.
- [57] 李博文, 刘宁宁, 王慧. 肠道微生物组在炎症性肠病发病机制和治疗中的作用研究进展 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2022, 42(3): 364-368.
- [58] Hooper L V, Littman D R, MacPherson A J. Interactions between the microbiota and the immune system [J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1268-1273.
- [59] Xu M, Shao Q, Zhou Y L, *et al.* Potential effects of specific gut microbiota on periodontal disease: A two-sample bidirectional Mendelian randomization study [J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1322947.
- [60] Kelly C J, Zheng L, Campbell E L, *et al.* Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function [J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(5): 662-671.
- [61] Poppleton D I, Duchateau M, Hourdel V, *et al.* Outer membrane proteome of *Veillonella parvula*: A diderm firmicute of the human microbiome [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1215.
- [62] Segal L N, Alekseyenko A V, Clemente J C, *et al.* Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation [J]. *Microbiome*, 2013, 1(1): 19.
- [63] Xin X F, Dai W, Wu J, *et al.* Mechanism of intestinal mucosal barrier dysfunction in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease: An observational study [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(3): 1331-1336.
- [64] Grine G, Terrer E, Boualam M A, *et al.* Tobacco-smoking-related prevalence of methanogens in the oral fluid microbiota [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9197.
- [65] Gilbert J A. Our unique microbial identity [J]. *Genome Biol*, 2015, 16(1): 97.
- [66] Man M A, Ungur R A, Motoc N S, *et al.* Lung microbiota in idiopathic pulmonary fibrosis, hypersensitivity pneumonitis, and unclassified interstitial lung diseases: A preliminary pilot study [J]. *Diagnostics*, 2023, 13(19): 3157.
- [67] Jordan C K I, Brown R L, Larkinson M L Y, *et al.* Symbiotic Firmicutes establish mutualism with the host via innate tolerance and resistance to control systemic immunity [J]. *Cell Host Microbe*, 2023, 31(9): 1433-1449.e9.
- [68] Shintouo C M, Mets T, Beckwee D, *et al.* Is inflammaging influenced by the microbiota in the aged gut? A systematic review [J]. *Exp Gerontol*, 2020, 141: 111079.
- [69] Sheng K L, Yang J, Xu Y F, *et al.* Alleviation effects of grape seed proanthocyanidin extract on inflammation and oxidative stress in a *D*-galactose-induced aging mouse model by modulating the gut microbiota [J]. *Food Funct*, 2022, 13(3): 1348-1359.
- [70] Han L L, Sun R R, Wang Y, *et al.* Soybean diacylglycerol regulates lipid metabolism in *D*-galactose-induced aging rats by altering gut microbiota and gene expression of colonic epithelial cells [J]. *Food Funct*, 2022, 13(3): 1437-1446.
- [71] Sharma R. Emerging interrelationship between the gut microbiome and cellular senescence in the context of aging and disease: Perspectives and therapeutic opportunities [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2022, 14(4): 648-663.
- [72] Parimon T, Hohmann M S, Yao C F. Cellular senescence: Pathogenic mechanisms in lung fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*,

- 2021, 22(12): 6214.
- [73] Yao C F, Guan X R, Carraro G, *et al.* Senescence of alveolar type 2 cells drives progressive pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(6): 707-717.
- [74] Yao L D, Conforti F, Hill C, *et al.* Paracrine signalling during ZEB1-mediated epithelial-mesenchymal transition augments local myofibroblast differentiation in lung fibrosis [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(5): 943-957.
- [75] Hsu C N, Chan J Y H, Wu K L H, *et al.* Altered gut microbiota and its metabolites in hypertension of developmental origins: Exploring differences between fructose and antibiotics exposure [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2674.
- [76] 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.
- [77] Xia W R, Khan I, Li X A, *et al.* Adaptogenic flower buds exert cancer preventive effects by enhancing the SCFA-producers, strengthening the epithelial tight junction complex and immune responses [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 159: 104809.
- [78] Wang N N, Sheng Z J, Zhou S M, *et al.* Chronic lead exposure exacerbates hepatic glucolipid metabolism disorder and gut microbiota dysbiosis in high-fat-diet mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2022, 170: 113451.
- [79] Hao M Q, Ding C B, Peng X J, *et al.* Ginseng under forest exerts stronger anti-aging effects compared to garden ginseng probably via regulating PI3K/AKT/mTOR pathway, SIRT1/NF- κ B pathway and intestinal flora [J]. *Phytomedicine*, 2022, 105: 154365.
- [80] Chen S N, Wu F H, Yang C C, *et al.* Alternative to sugar, honey does not provoke insulin resistance in rats based on lipid profiles, inflammation, and IRS/PI3K/AKT signaling pathways modulation [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(33): 10194-10208.
- [81] Wu W J, Wu X H, Qiu L X, *et al.* Quercetin influences intestinal dysbacteriosis and delays alveolar epithelial cell senescence by regulating PTEN/PI3K/AKT signaling in pulmonary fibrosis [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2024, 397(7): 4809-4822.
- [82] Wang J, Wu Q B, Ding L, *et al.* Therapeutic effects and molecular mechanisms of bioactive compounds against respiratory diseases: Traditional Chinese medicine theory and high-frequency use [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 734450.
- [83] Li X, Ma L, Wei Y, *et al.* Cabozantinib ameliorates lipopolysaccharide-induced lung inflammation and bleomycin--induced early pulmonary fibrosis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101(Pt B): 108327.
- [84] 蒋桓宇, 杨晗, 代倩, 等. 补阳还五汤治疗气虚血瘀证型结缔组织病相关性肺纤维化的临床疗效 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(21): 104-112.
- [85] Huang C B, Xue X, Gong N K, *et al.* Ginsenoside Rg₁ suppresses paraquat-induced epithelial cell senescence by enhancing autophagy in an ATG12-dependent manner [J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(9): 2302-2313.
- [86] Ren G Q, Lv W C, Ding Y, *et al.* Ginseng saponin metabolite 20(S)-protopanaxadiol relieves pulmonary fibrosis by multiple-targets signaling pathways [J]. *J Ginseng Res*, 2023, 47(4): 543-551.
- [87] Yun E, Kwon B S, Kim J, *et al.* Ginsenoside Rg₃ attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting endothelial to mesenchymal transition [J]. *Anim Cells Syst*, 2023, 27(1): 159-170.
- [88] Ding L, Qi H Y, Wang Y S, *et al.* Recent advances in ginsenosides against respiratory diseases: Therapeutic targets and potential mechanisms [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2023, 158: 114096.
- [89] Wang Z H, Kim U, Jiao Y T, *et al.* Quantitative proteomics combined with affinity MS revealed the molecular mechanism of ginsenoside antitumor effects [J]. *J Proteome Res*, 2019, 18(5): 2100-2108.
- [90] Johnson S, Shaikh S B, Muneesa F, *et al.* Radiation induced apoptosis and pulmonary fibrosis: Curcumin an effective intervention? [J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(6): 709-717.
- [91] Kong D S, Zhang Z L, Chen L P, *et al.* Curcumin blunts epithelial-mesenchymal transition of hepatocytes to alleviate hepatic fibrosis through regulating oxidative stress and autophagy [J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101600.
- [92] Yang L, Shi J, Wang X W, *et al.* Curcumin alleviates D-galactose-induced cardiomyocyte senescence by promoting autophagy via the SIRT1/AMPK/mTOR pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 2990843.
- [93] Fang H Y, Hong Z, Wang J Q, *et al.* Protective effects and mechanism of curcumin in animal models of pulmonary fibrosis: A preclinical systematic review and meta-analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1258885.
- [94] Calaf G M, Echiburú-Chau C, Wen G Y, *et al.* Effect of curcumin on irradiated and estrogen-transformed human breast cell lines [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(2): 436-442.
- [95] Ramírez-Hernández A A, Reyes-Jiménez E, Velázquez-Enríquez J M, *et al.* Zingiber officinale-derived extracellular vesicles attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis through antioxidant, anti-inflammatory and protease activity in a mouse model [J]. *Cells*, 2023, 12(14): 1852.
- [96] 王路. 基于网络药理学的郁金治疗肺纤维化体内外机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.

[责任编辑 潘明佳]