



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：基于网络药理学和动物实验初探芫菁治疗肺纤维化的作用机制
作者：孙铭雨，刘桂花，郭君婷，程爱斌，辛婧，苗庆芳，高瑞娟，门秀丽
网络首发日期：2025-11-13
引用格式：孙铭雨，刘桂花，郭君婷，程爱斌，辛婧，苗庆芳，高瑞娟，门秀丽. 基于网络药理学和动物实验初探芫菁治疗肺纤维化的作用机制[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20251112.1606.006>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于网络药理学和动物实验初探芫菁治疗肺纤维化的作用机制

孙铭雨^{1,2}, 刘桂花³, 郭君婷³, 程爱斌⁴, 辛婧^{1,2}, 苗庆芳², 高瑞娟², 门秀丽¹

(¹华北理工大学基础医学院慢性病重点实验室, 唐山 063210; ²中国医学科学院医药生物技术研究国家卫生健康委微生物药物生物技术重点实验室, 北京 100050; ³新疆维吾尔自治区药物研究所食品检测研究室, 乌鲁木齐 830000; ⁴华北理工大学附属医院重症医学科, 唐山 063210)

摘要 目的 基于网络药理学及动物实验探讨芫菁改善肺纤维化(PF)的活性成分、关键靶点及作用机制。

方法 通过中药系统药理数据库与分析平台数据库筛选芫菁活性成分及作用靶点, 联合在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、药物数据库(DrugBank)等疾病数据库获取 PF 相关靶点, 取交集后构建蛋白-蛋白互作(PPI)网络筛选核心靶点, 并开展基因本体论(GO)/京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。动物实验采用博来霉素诱导 PF 小鼠模型, 通过 HE 和 Masson 染色评估肺组织病理变化, qRT-PCR 检测肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1) mRNA 表达, 免疫荧光染色检测 TNF- α 、PI3K、AKT1 蛋白表达。**结果** 芫菁中鉴定出的 68 种活性成分可能通过作用于 TNF- α 、AKT1 等 89 个潜在靶点, 调控 PI3K-Akt 等信号通路。动物实验结果显示, 芫菁多糖(BRPs)可显著减轻博来霉素诱导的小鼠肺纤维化程度; 肺组织 HE 和 Masson 染色表明, 与 BLM 组相比, BLM+BRPs 组肺泡结构破坏减轻, 炎症细胞浸润明显减少, 胶原纤维沉积显著下降。进一步机制研究表明, BRPs 能够显著下调肺纤维化小鼠肺组织中 TNF- α 、PI3K、AKT1 的 mRNA 和蛋白表达水平。**结论** 芫菁通过“多成分-多靶点-多通路”的方式协同改善 PF; BRPs 是其主要活性成分之一, 并通过抑制 TNF- α /PI3K-Akt 信号通路发挥抗纤维化作用。

关键词 芫菁; 芫菁多糖; 肺纤维化; 网络药理学; 肿瘤坏死因子- α ; PI3K-Akt 信号通路; TGF- β 1 信号通路。

中图分类号 R961

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(编号: 2024D01A120)

作者简介: 孙铭雨, 女, 硕士研究生;

门秀丽, 女, 教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: xiulimen@126.com;

高瑞娟, 女, 研究员, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: gaoruijuan@imb.cams.cn;

苗庆芳, 女, 研究员, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: miaoqf@imb.pumc.edu.cn

Preliminary exploration of the mechanism of action of *Brassica rapa* L. in treating pulmonary fibrosis based on network pharmacology and animal experiments

Sun Mingyu^{1,2}, Liu Guihua³, Guo Juntao³, Cheng Aibin⁴, Xin Jing^{1,2}, Miao Qingfang², Gao Ruijuan², Men Xiuli¹

(¹Key Laboratory of Chronic Diseases, School of Basic Medical Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210; ²NHC Key Laboratory of Biotechnology for Microbial Drugs, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050; ³Food Testing Research Laboratory, Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Materia Medica, Urumqi 830000; ⁴Intensive Care Unit, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan 063210)

Abstract **Objective** To explore the active components, key targets, and mechanism of action of turnip in alleviating pulmonary fibrosis (PF) based on network pharmacology and animal experiments. **Methods** The active components and targets of *Brassica rapa* L. were screened using the traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform database, and PF-related targets were obtained from disease databases such as online mendelian inheritance of man (OMIM) and DrugBank. The intersection targets were used to construct a protein-protein interaction (PPI) network to identify core targets, followed by gene ontology (GO)/Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. In the animal experiments, a bleomycin-induced PF mouse model was established. Pathological changes in lung tissue were evaluated using HE and Masson staining. qRT-PCR was used to detect the mRNA expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), and akt strain transforming 1 (AKT1), and immunofluorescence staining was used to measure the protein expression of TNF- α , PI3K, and AKT1. **Results** The 68 active components identified in *Brassica rapa* L. may regulate PI3K- Akt signaling pathway by acting on 89 potential targets such as TNF - α and AKT1. The results of animal experiments showed that polysaccharide of *Brassica rapa* L. (BRPs) could significantly reduce the degree of bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice; HE and Masson staining of lung tissue showed that compared with the model group, the damage of alveolar structure, the infiltration of inflammatory cells and the deposition of collagen fibers in the BRPs treatment group were significantly reduced. Further mechanism studies showed that BRPs could significantly down-regulate the mRNA and protein expression levels of TNF- α , PI3K and AKT1 in lung tissue of pulmonary fibrosis mice. **Conclusion** *Brassica rapa* L. can synergistically alleviate pulmonary fibrosis through "multi-component, multi-target and multi-channel" approach; BRPs is one of the main active components, and plays an anti-fibrosis role by inhibiting TNF- α /PI3K Akt

signaling pathway.

Key words *Brassica rapa* L.; polysaccharide of *Brassica rapa* L.; pulmonary fibrosis; network pharmacology; tumor necrosis factor- α ; PI3K-Akt signaling pathway; TGF- β 1 signaling pathway.

Fund program Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (No. 2024D01A120)

Corresponding authors Men Xiuli, E-mail: xiulimen@126.com; Gao Ruijuan, E-mail: gaoruijuan@imb.cams.cn; Miao Qingfang, E-mail: miaoqf@imb.pumc.edu.cn

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是一种慢性、进行性、致死性肺疾病, 以成纤维细胞异常活化、细胞外基质过度沉积和肺结构破坏为特征^[1-3]。临床表现为进行性呼吸困难、通气功能障碍和气体交换障碍, 可进展为呼吸衰竭。流行病学显示其患病率逐年上升^[4], 发病机制涉及炎症、氧化应激及纤维化因子释放等^[1, 5-6], 目前缺乏根治手段。吡非尼酮 (pirfenidone, PFD) 和尼达尼布是仅有的获批药物, 虽可延缓疾病, 但存在副作用且无法治愈^[7]。近年, 天然产物因其多靶点、低毒性成为研究热点。芜菁具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤及免疫调节活性^[8-10], 传统维医视为安全养肺药材。研究^[10]表明其提取物可抑制大鼠肺纤维化, 但成分及机制不明。该研究拟整合网络药理学与动物实验, 探讨芜菁抗 PF 的活性成分、靶点及机制, 为药物开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 芜菁活性成分检索、筛选及相关作用靶点的获取

在中药系统药理数据库与分析平台 (<https://tcmispw.com/tcmisp.php>) 中, 以口服利用度 > 30%, 类药性 > 0.18 为筛选条件, 检索芜菁活性成分, 并结合相关文献补充其它活性成分。在 PubChem 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 中检索所得化合物的 SMILES 信息, 并输入 Swiss Target Prediction 平台 (<https://www.swisstargetprediction.ch/>), 获得芜菁活性成分的作用靶点。

1.2 PF 相关靶点的获取

以 PF 和 IPF 为关键词, 分别于在线人类孟德尔遗传数据库 (<https://omim.org/>)、药物数据库 (<https://go.drugbank.com/>)、疗效药靶数据库 (<https://db.idrblab.net/ttd/>)、基因卡数据库 (<https://www.genecards.org/>)、疾病基因网络数据库 (<https://disgenet.com/>) 对 PF 和 IPF 对应的疾病靶基因进行筛选并删除重复项, 获得 PF 相关靶点。

1.3 芜菁与 PF 交集靶点的蛋白-蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络图构建及拓扑分析

将芜菁相关作用靶点与 IPF、PF 相关疾病靶点通过 Venny2.1.0 平台 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 绘制韦恩图, 获得芜菁-PF 交集靶点。再将这些交集靶点导入 STRING 平台 (<https://string-db.org>), 以人 (*Homo sapiens*) 为研究物种, 绘制芜菁-PF 交集靶点的 PPI 网络图。将获得的 PPI 文件在 Cytoscape 3.9.1 软件中可视化, 分析拓扑参数, 并根据节点度值筛选出排名前 10 的蛋白, 作为芜菁治疗 PF 的关键蛋白。

1.4 基因本体论 (gene ontology, GO) 生物功能及京都基因和基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析

利用微生信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 对 STRING 处理后的交集靶点进行 GO 和 KEGG 通路富集分析, 以预测交集靶点的潜在功能。其中, GO 分析可以从生物过程、细胞成分和分子功能 3 个方面来注释基因, 用于寻找基因功能的改变, 而 KEGG 则用于分析与不同生物学过程相关的基因集合或信号通路。

1.5 动物实验

32 只 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 体质量 (20 ± 3) g, 合格证号: SYXK(京)2022-0023, 饲养于中国医学科学院医药生物技术研究所有实验动物中心, 每天给予 12 h 光照和 12 h 黑暗, 食水自由。本实验方案已通过中国医学科学院医药生物技术研究所有实验动物伦理委员会批准 (批准号: IMB-20230825D₁02)。

1.6 主要试剂与仪器

注射用盐酸博来霉素 (bleomycin, BLM) (批号: 330810) 购自日本化药株式会社, 芜菁多糖 (polysaccharide of *Brassica rapa* L, BRPs) 由新疆维吾尔自治区药物研究所提供, PFD (批号: 150603) 购自北京康蒂尼药业股份有限公司, 总 RNA 提取试剂盒 (货号: CW3145S) 购自北京康为世纪生物科技有限公司, 反转录试剂盒、SYBR 扩增试剂盒 (货号: R302-01、Q712-02) 购自南京诺唯赞生物科技有限公司, 异氟烷 (货号: 100767015) 购自江苏中牧倍康药业有限公司。小动物麻醉机 (型号: VMR-PAK) 购自英国 MSS 公司, 全自动切片扫描系统 (型号: P250-03) 购自匈牙利丹吉尔公司, BioDrop 超微量蛋白核酸分析仪 (型号: BD-DUO-01) 购自德国 Analytik Jena AG 公司, Applied Biosystems PCR 仪 (型号: A34322) 购自美国赛默飞公司。

1.7 实验动物分组、造模及给药

SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠适应性饲养 1 周后，随机分为 4 组：正常对照组、BLM 组、BLM+BRPs 组、BLM+PFD 组。造模时，先通过小动物麻醉机释放异氟烷麻醉小鼠，然后对正常对照组小鼠进行单次气管内滴注 0.9%氯化钠溶液，其余各组小鼠均单次气管滴注 BLM（2 U/kg）。造模次日，正常对照组和 BLM 组小鼠灌胃等体积 0.9%氯化钠溶液，BLM+BRPs 组与 BLM+PFD 组小鼠分别灌胃 BRPs（5 g/kg）、PFD（200 mg/kg），每天 1 次，连续给药 21 d。

1.8 肺组织病理学检测

小鼠左肺组织经固定、乙醇梯度脱水、透明、石蜡包埋、切片后，分别进行 HE 和 Masson 染色并封片。全自动切片扫描系统扫片后，观察肺组织炎症病变及纤维化程度。

1.9 qRT-PCR 测定通路相关基因 mRNA 水平

为了在基因转录层面提供更全面的证据，本研究进一步通过实时 qRT-PCR 技术检测了肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、磷脂酰肌醇 3 激酶（phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K）、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (akstrain transforming 1,AKT1)等关键分子 mRNA 表达情况。采用 RNA 试剂盒提取小鼠右胸腔后叶总 RNA，BioDrop 测定 260 nm 和 280 nm 波长下的吸光度值，评估 RNA 纯度并计算其浓度。根据反转录试剂盒说明书，取 1 μ g RNA 进行逆转录制备 cDNA，使用 SYBR 试剂盒按说明在 Applied Biosystems PCR 仪上进行 PCR，并以 GAPDH 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 mRNA 相对表达水平。所用小鼠物种的引物信息见表 1。

表 1 使用的小鼠引物序列

Tab. 1 Primer sequence from mouse species

Primer Name	Primer sequence (5'-3')
PI3K	F: TGTGGCTGACGCAGAAAGGT
	R:GTGGGGCAAATCCTCATCATC
AKT1	F: CAGTTTGTTGCTGTGTCCCAT
	R: GGCTCTCCTGTCACCAAGATTA
TNF- α	F: GGTGCCTATGTCTCAGCCTCTT
	R: GCCATAGAACTGATGAGAGGGAG
GAPDH	F: ATGGGAAGCTGGTCATCAAC
	R: GTGGTTCACACCCATCACAA

1.10 统计学处理

采用 GraphPad Prism 9.4.0 软件对所有实验数据进行统计学分析，实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 茺菁活性成分及相关靶点筛选 筛选得到茺菁 68 种活性成分，主要包括多糖、黄酮类、酚类等物质。剔除信度为 0 及重复靶点后，得到茺菁活性成分的潜在靶点 390 个（图 1）。通过水提醇沉法提取得到茺菁多糖，其中单糖苷类及其对应的靶点见表 2。

表 2 单糖苷类及其对应的靶点

Tab.2 Monoglycosides and their corresponding targets

Glycoside active ingredient	Corresponding target
Kaempferol-3-O-glucoside	AKR1B1, CA2, CA7, CA12, CA4, ACHE, NOX4, ADRA2C, NQO2, RPS6KA3, NMUR2, ADRA2A, CD38, PDE5A, PTGS2, ADORA1, TNF, IL2, XDH, ALOX5, SLC29A1
Isorhamnetin-3-O-glucoside	AKR1B1, CA2, CA7, CA12, CA4, NOX4, ADRA2C, ACHE, NQO2, RPS6KA3, NMUR2, ADRA2A, PTGS2, CD38, XDH, TNF, IL2, ADORA1, PDE5A, ALOX5, SLC29A1, TERT
Quercetin-3-O-glucoside	AKR1B1, RPS6KA3, CA2, CA7, CA12, CA4, NMUR2, ADRA2A, ADRA2C, ACHE, NOX4, NQO2, CD38, PTGS2, XDH, PDE5A, TNF, IL2, ADORA1, ALOX5, SLC29A1, TERT
Sinapoyl glucoside	PRKCA, MMP2, MMP12, ADORA3, SLC28A2, IMPDH1, AKR1B1, SLC29A1, HSP90AA1
Syringin	TYR, CA2, CA7, CA1, CA3, CA12, CA14, CA9, CA4, CA5A, CA6, ADK, ADA, ADORA2A, AKR1C3, ADORA3, PNP
p-Coumaric acid-β-D-glucoside	Nrf2/ARE, NADPH, NF-κB, COX-2/PGE2, ERβ

2.2 PF 靶点的筛选 依次检索在线人类孟德尔遗传数据库、药物数据库、疗效药靶数据库、基因卡数据库、疾病基因网络数据库，得到 PF 疾病对应的靶点分别 294、85、32、710 和 212 个，删除重复靶点后得到 PF 靶点 1 013 个（图 1）。

2.3 茺菁干预 PF 的 PPI 网络 通过 Venny2.1.0 网站，将茺菁与 IPF、PF 靶点相互对照，获得茺菁-PF 交集

靶点 89 个（图 1）。将这些交集靶点输入至 String 平台中的 Multiple Proteins 中，获得芜菁与 PF 交集靶点的 PPI 网络（图 2）。通过 Cytoscape3.9.1 软件对 PPI 网络中的靶点信息进行拓扑分析，得到节点度值排序前 10 位的关键靶点（图 3）。其中，TNF- α 节点度值最高，AKT1 次之，提示芜菁治疗 PF 可能涉及多个靶点，其中 TNF- α 和 AKT1 可能在此过程中发挥关键作用。

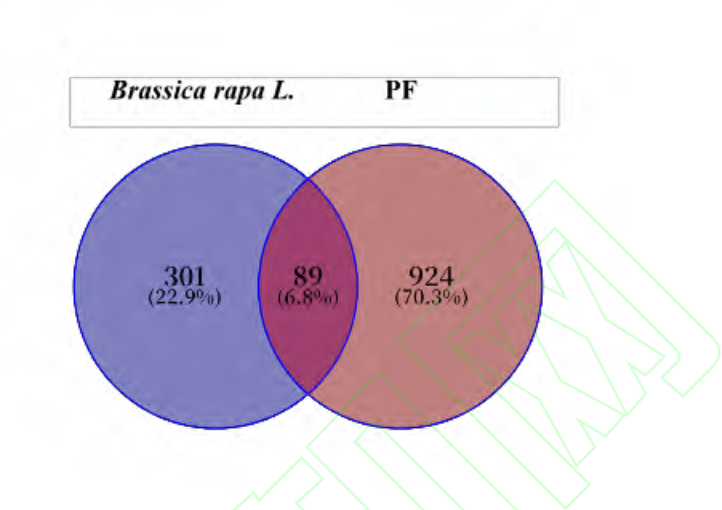


图 1 芜菁和 PF 靶点的韦恩图

Fig.1 Venn diagram of the targets from *Brassica rapa L.* and PF

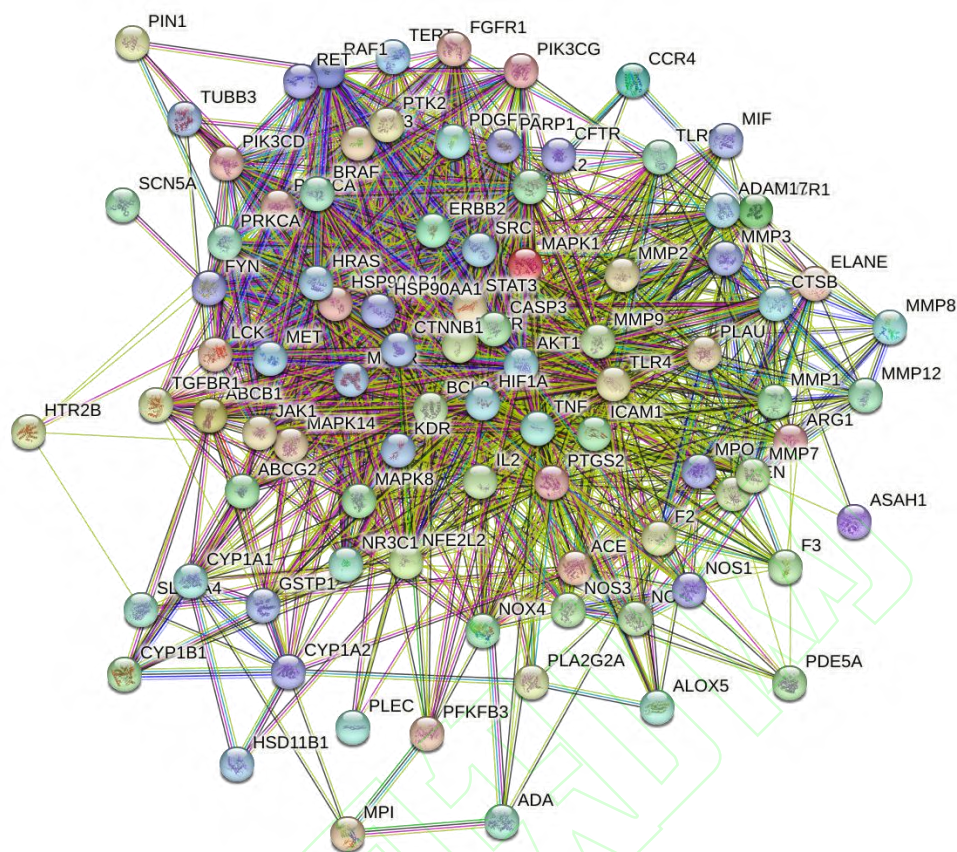


图 2 芜菁与 PF 交集靶点的 PPI 网络

Fig.2 PPI network of the intersection targets between *Brassica rapa* L. and PF

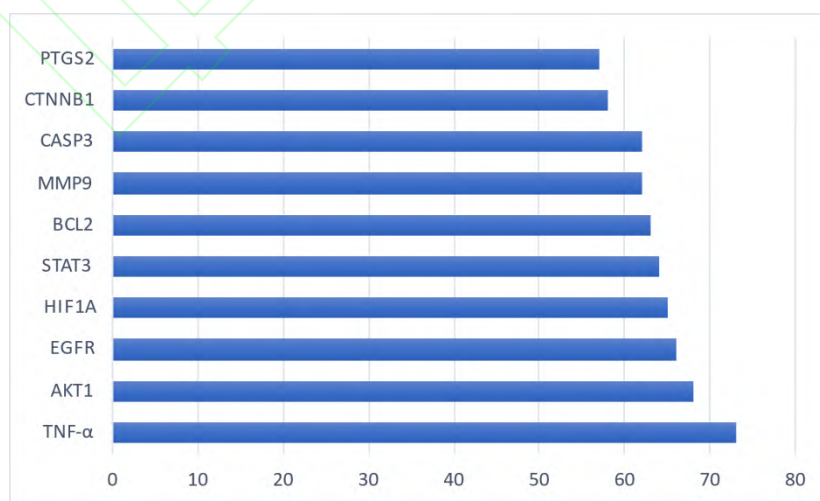


图 3 Cytoscape 软件预测茺菁治疗 PF 的前 10 位关键靶点

Fig.3 The top 10 key targets for *Brassica rapa L.* in the treatment of PF calculated by Cytoscape software

2.4 GO 生物功能和 KEGG 通路富集分析 通过微生信平台对芜菁-PF 交集靶点进行 GO 生物功能分析，结果发现，芜菁治疗 PF 的生物过程主要涉及活性氧（reactive oxygen species, ROS）代谢与生物合成、细胞对氧化应激的应答以及丝/苏氨酸激酶如 MAPK、AKT1 等调节；细胞组分主要涉及膜筏、囊泡腔、细胞基质结等结构；分子功能主要涉及蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白磷酸酶结合、丝氨酸肽酶、水解酶活性等（图 4）。KEGG 分析结果显示，芜菁治疗 PF 的途径主要涉及 PI3K-Akt、VEGF、ErbB 等多条信号通路（图 5）。

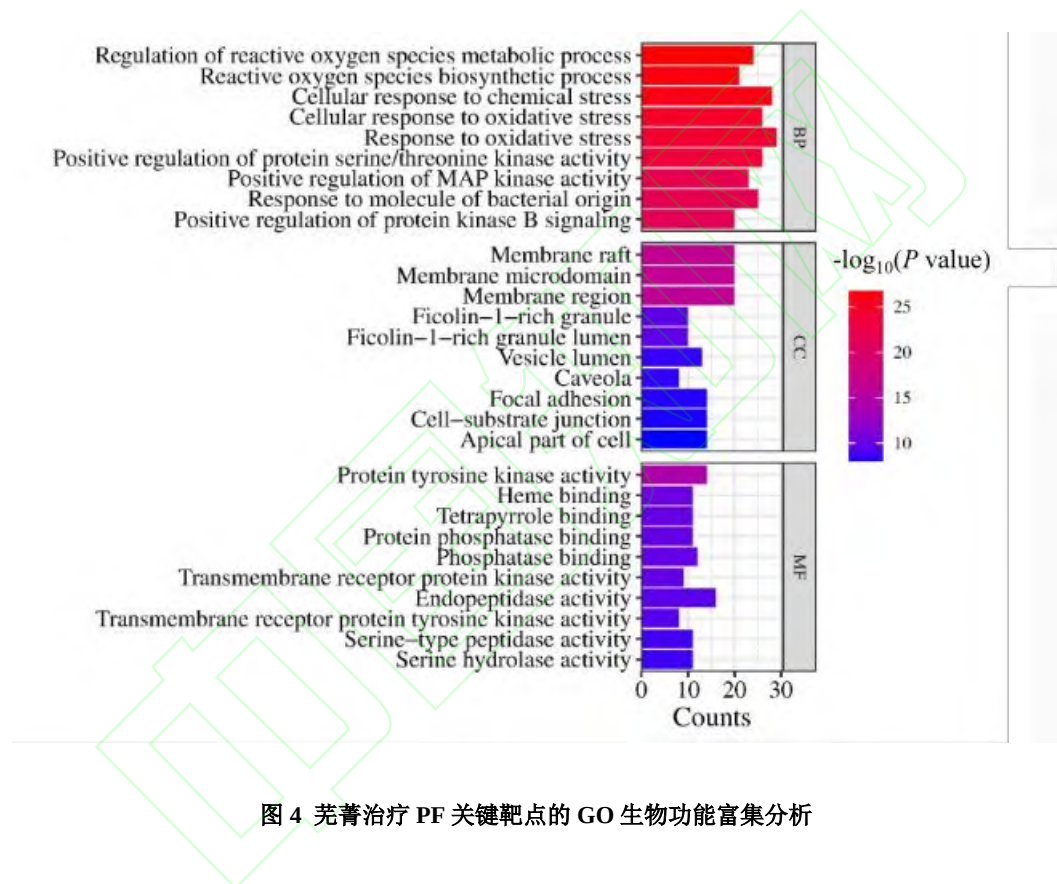


图 4 芜菁治疗 PF 关键靶点的 GO 生物功能富集分析

Fig.4 GO function enrichment analysis on key targets of *Brassica rapa L.* in the treatment of PF

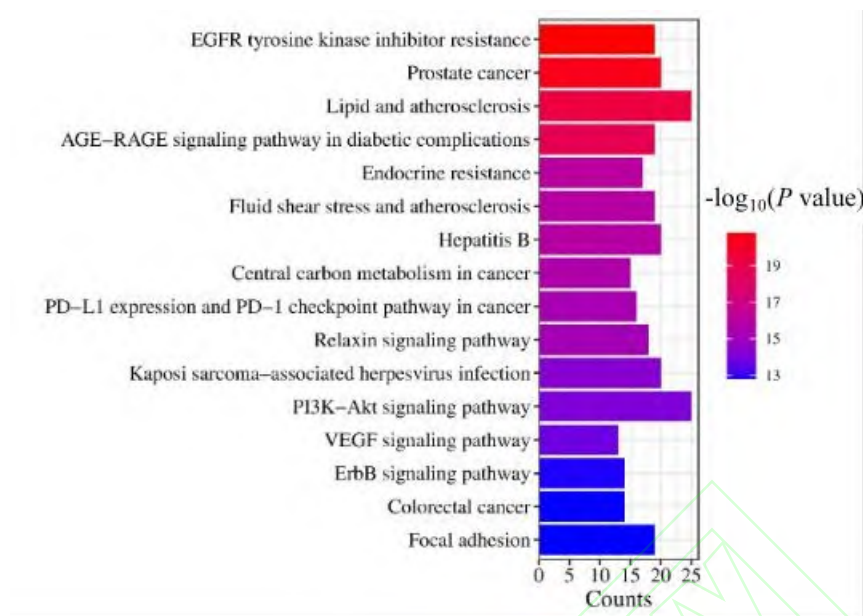


图 5 芜菁治疗 PF 关键靶点的 KEGG 通路富集分析

Fig.5 KEGG pathway enrichment analysis on key targets of *Brassica rapa L.* in the treatment of PF

2.5 BRPs 对 BLM 致 PF 小鼠肺组织的影响 HE 染色结果显示，正常对照组小鼠肺泡结构完整，未见炎性细胞浸润；与正常对照组相比，BLM 组小鼠肺泡结构紊乱，肺间隔增厚，并伴有炎性细胞浸润；而与 BLM 组相比，BRPs 和 PFD 可抑制 BLM 诱导的小鼠肺泡隔增厚，减轻炎症细胞浸润（图 6）。Masson 染色结果显示，正常对照组小鼠肺组织仅现少量胶原纤维，无纤维化现象；与正常对照组相比，BLM 组小鼠肺间质呈现大量胶原纤维沉积；与 BLM 组相比，BRPs 和 PFD 可明显减轻 BLM 刺激小鼠肺组织的胶原纤维沉积（图 6）。这些结果提示，BRPs 可改善 BLM 刺激小鼠肺组织病理损伤。

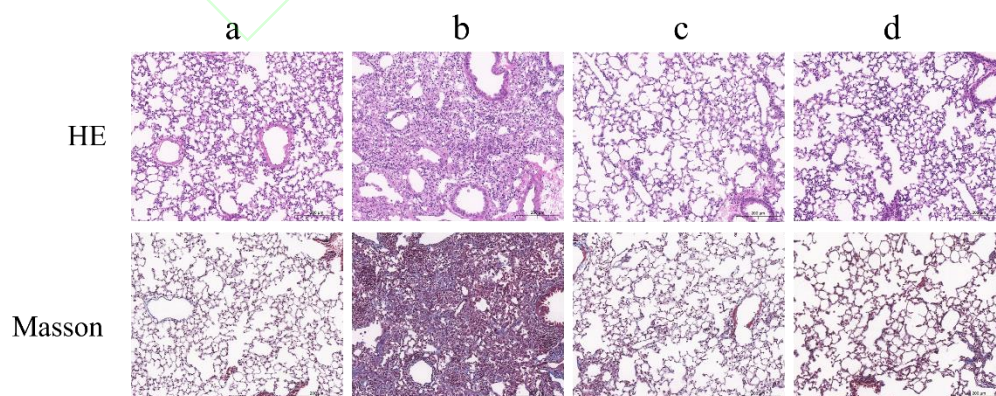


图 6 BRPs 对 BLM 刺激小鼠肺组织病理学的影响 ×200

Fig.6 The effects of BRPs on lung histopathology in BLM-challenged mice ×200

a: Control group; b: BLM group; c: BLM+BRPs group; d: BLM+PFD group.

2.6 BRPs 对 BLM 致 PF 小鼠肺组织 TNF- α 、PI3K、AKT1 mRNA 水平的影响 与正常对照组比较，BLM 组小鼠肺组织 TNF- α 、PI3K、AKT1 mRNA 水平升高 ($P<0.05$)；与 BLM 组比较，BRPs 可下调 BLM 致 PF 小鼠肺组织中上述 3 种基因的 mRNA 水平 ($P<0.05$)，PFD 能下调 PI3K 和 AKT1 mRNA 水平 ($P<0.05$)，此外，TNF- α mRNA 水平呈下降趋势（图 7）。

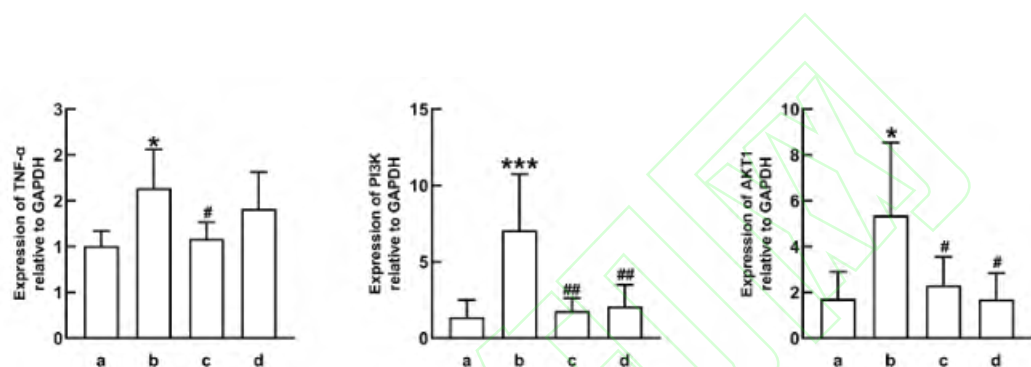
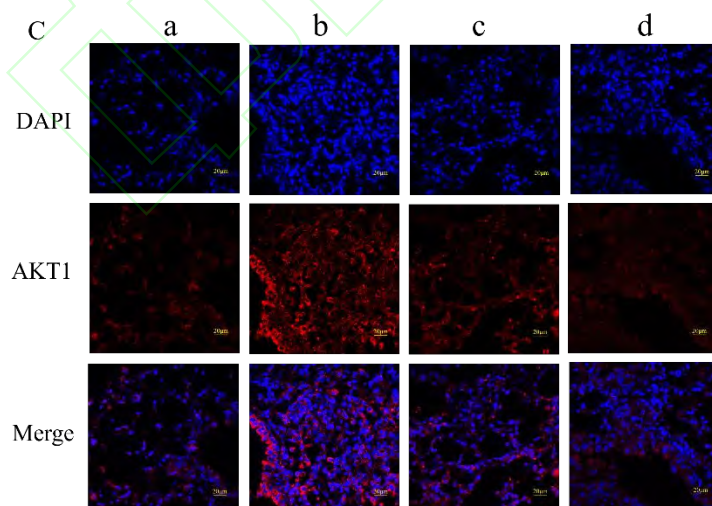
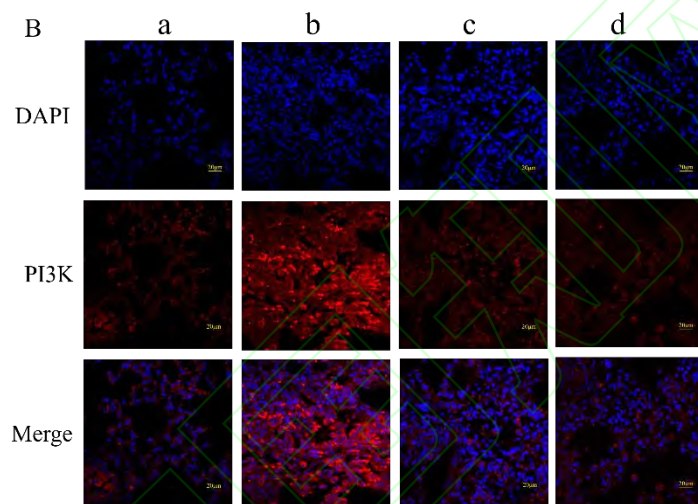
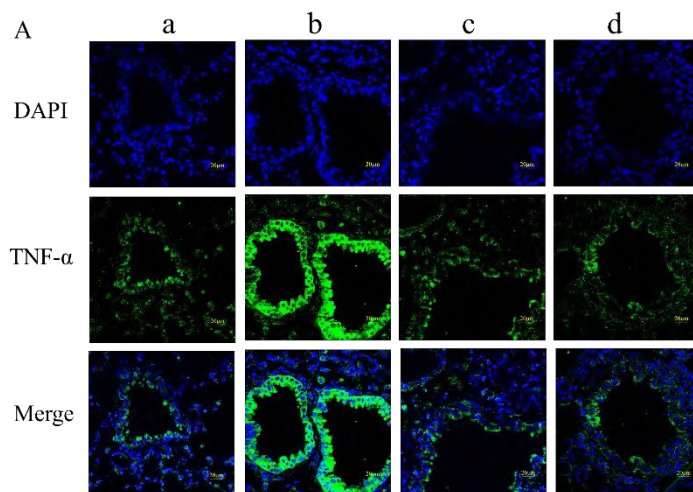


图 7 qRT-PCR 测定 TNF- α 、PI3K 和 AKT1 mRNA 水平

Fig.7 mRNA levels of TNF- α , PI3K and AKT1 measured by qRT-PCR

a: Control group; b: BLM group; c: BLM+BRPs group; d: BLM+PFD group; * $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs Ctrl group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs BLM group.

2.7 BRPs 对 BLM 致 PF 小鼠肺组织 TNF- α 、PI3K、AKT1 蛋白水平的影响 与正常对照组相比，BLM 组小鼠肺组织中 TNF- α 、PI3K 和 AKT1 的免疫荧光强度明显增强，蛋白表达水平也升高 ($P<0.01$)。经 BRPs 和 PFD 干预后，两种处理均能有效抑制 BLM 诱导的上述三种蛋白的过度表达。其中，BRPs 处理组的 TNF- α 、PI3K 和 AKT1 蛋白表达均降低 ($P<0.01$)；PFD 处理组也表现出类似的抑制作用，免疫荧光强度较 BLM 组减弱，三种蛋白表达均显著下调 ($P<0.05$)（图 8）。



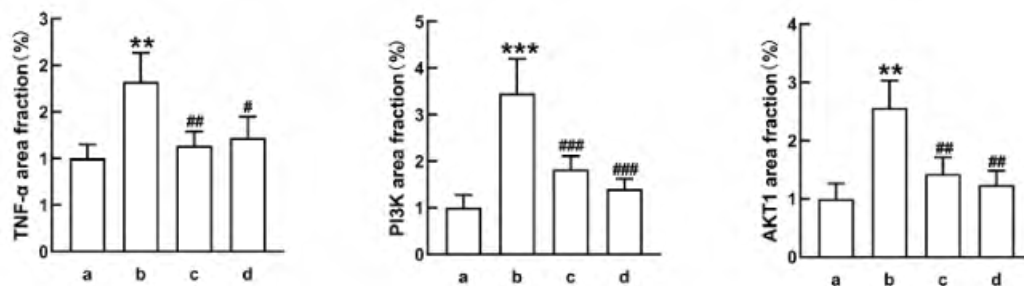


图 8 免疫荧光测定 TNF- α 、PI3K 和 AKT1 蛋白水平

Fig.8 Protein levels of TNF- α , PI3K and AKT1 measured by immunofluorescence

a: Control group; b: BLM group; c: BLM+BRPs group; d: BLM+PFD group; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Ctrl group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.01$ vs BLM group.

3 讨论

PF 发病机制复杂，临床缺乏高效低毒的治疗药物，已成为呼吸领域一项严峻挑战。目前，已批准上市的 2 种 PF 治疗药物 PFD 和尼达尼布均疗效有限且耐受性差，PF 治疗药物存在大量需求。在这一背景下，具有多靶点调节潜力的天然产物逐渐受到重视。新疆芫菁作为药食两用的传统植物，虽在民间长期用于咳嗽和哮喘的调理，但其抗 PF 的机制一直不明确。

本研究试图通过网络药理学结合文献检索探究芫菁抗 PF 活性，结果发现，多糖、酮类和带有糖苷的酚类化合物是芫菁治疗 PF 的主要活性成分。因此，后续动物实验验证使用 BRPs 为研究对象。笔者借助网络药理学方法，从芫菁中筛选出多糖、酮类及酚苷类成分为其潜在活性物质，并预测 TNF- α 和 AKT1 是其中两个关键靶点。值得注意的是，TNF- α 作为炎症反应的上游启动因子，可募集炎症细胞并促进成纤维细胞表达骨膜蛋白，加速 PF 进程^[11]；而 AKT1 则通过调控巨噬细胞线粒体自噬功能，影响炎症与纤维化过程^[12-14]。这些发现提示，芫菁可能通过协同调控炎症和细胞应激等多条通路发挥治疗作用。进一步的通路富集分析强化了这一设想：ROS 代谢、氧化应激反应及 PI3K-AKT 信号通路均被显著富集，ROS 作为关键信号分子，可诱导炎症反应并促进 PF 进展^[15]，PI3K/AKT 通路更是 PF 的核心调控轴，其激活后可促进 PIP3 生成，进而招募 PDK1 和 AKT 至细胞膜，通过磷酸化级联反应激活下游 NF- κ B 等炎症通路，推动纤维化发展^[16]，这为后续实验机制的验证提供了明确方向。

在动物模型中，观察到 BLM 组小鼠肺泡结构紊乱、炎细胞浸润、胶原沉积严重，提示小鼠 PF 模型

构建成功^[17]。而 BRPs 能够显著缓解上述现象, 治疗效果与阳性药物 PFD 相当, 初步印证了其抗纤维化潜力。此外, 在分子层面, BRPs 可显著抑制 TNF- α 、PI3K 和 AKT1 的转录水平, 提示其作用机制与抑制炎症信号通路及 PI3K-AKT 激活有关。这一点与 PFD 可能主要通过翻译后机制发挥作用^[18]有所不同, 突显了 BRPs 的独特调控模式。

参考文献

- [1] Savin I A, Zenkova M A, Sen'kova A V. Pulmonary fibrosis as a result of acute lung inflammation: molecular mechanisms, relevant *in vivo* models, prognostic and therapeutic approaches[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 14959. doi: 10.3390/ijms232314959.
- [2] Hou J, Ji J, Chen X, et al. Alveolar epithelial cell-derived Sonic hedgehog promotes pulmonary fibrosis through OPN-dependent alternative macrophage activation[J]. *FEBS J*, 2021, 288(11): 3530-46. doi: 10.1111/febs.15669.
- [3] Koudstaal T, Wijssenbeek M S. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *La Presse Médicale*, 2023, 52(3): 104166. doi: 10.1016/j.lpm.2023.104166.
- [4] Maher T M, Bendstrup E, Dron L, et al. Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 197. doi: 10.1186/s12931-021-01791-z.
- [5] Otoupalova E, Smith S, Cheng G, et al. Oxidative stress in pulmonary fibrosis[J]. *Compr Physiol*, 2020, 10(2): 509-47. doi: 10.1002/cphy.c190017.
- [6] Kishore A, Petrek M. Roles of macrophage polarization and macrophage-derived miRNAs in pulmonary fibrosis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 678457. doi: 10.3389/fimmu.2021.678457.
- [7] Finnerty J P, Ponnuswamy A, Dutta P, et al. Efficacy of antifibrotic drugs, nintedanib and pirfenidone, in treatment of progressive pulmonary fibrosis in both idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) and non-IPF: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Pulm Med*, 2021, 21(1): 411. doi: 10.1186/s12890-021-01783-1.
- [8] Guo W, Zhang Q, Du Y, et al. Immunomodulatory activity of polysaccharides from *Brassica rapa* by activating Akt/NF- κ B signaling[J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(1): 90-6. doi: 10.1016/j.chmed.2021.10.003.
- [9] Guo W, Liu X, Guo J, et al. Polysaccharides of *Brassica rapa* L. attenuate tumor growth via shifting macrophages to M1-like phenotype[J]. *Phytother Res*, 2022, 36(10): 3957-68. doi: 10.1002/ptr.7545.
- [10] 袁志坚, 吴小瑜, 黄 寅, 等. 恰玛古乙醇提取物对博来霉素致肺纤维化大鼠的作用及其机制[J]. *环境与职业医学*, 2020, 37(10): 999-1004. doi: 10.13213/j.cnki.jeom.2020.20319.
- [10] Yuan Z J, Wu X Y, Huang Y, et al. Effect of *Brassica rapa* L. ethanol extract on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats and its mechanism[J]. *J Environ Occup Med*, 2020, 37(10): 999-1004.
- [11] Yap J M G, Ueda T, Takeda N, et al. An inflammatory stimulus sensitizes TRPA1 channel to increase cytokine release in human lung fibroblasts[J]. *Cytokine*, 2020, 129: 155027. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155027.

- [12] Larson-Casey J L, Deshane J S, Ryan A J, et al. Macrophage Akt1 kinase-mediated mitophagy modulates apoptosis resistance and pulmonary fibrosis[J]. Immunity, 2016, 44(3): 582-96. doi: 10.1016/j.immuni.2016.01.001.
- [13] Nie Y, Sun L, Wu Y, et al. AKT2 regulates pulmonary inflammation and fibrosis *via* modulating macrophage activation[J]. J Immunol, 2017, 198(11): 4470-80. doi: 10.4049/jimmunol.1601503.
- [14] Li P, Hao X, Liu J, et al. miR-29a-3p regulates autophagy by targeting Akt3-mediated mTOR in SiO₂-induced lung fibrosis[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(14): 11440. doi: 10.3390/ijms241411440.
- [15] Zhang Y, Liang J, Cao N, et al. Coal dust nanoparticles induced pulmonary fibrosis by promoting inflammation and epithelial-mesenchymal transition *via* the NF- κ B/NLRP3 pathway driven by IGF1/ROS-mediated AKT/GSK3 β signals[J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1): 500. doi: 10.1038/s41420-022-01291-z.
- [16] 萧 阳, 毕 虹, 金志贤, 等. PTEN 基因对肺癌作用及治疗的应用研究进展[J]. 中国医药导报, 2023, 20(31): 72-5. doi: 10.20047/j.issn1673-7210.2023.31.15.
- [16] Xiao Y, Bi H, Jin ZX, et al. Research progress on the role of PTEN gene in lung cancer and its therapeutic application[J]. China Med. Her, 2023, 20(31): 72-5. doi: 10.20047/j.issn1673-7210.2023.31.15.
- [17] 蒋怡芳, 范晓杰, 刘 晓, 等. 柚皮素对博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化的改善作用及其作用机制[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(2): 202-7. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.007.
- [17] Jiang, Y. F., Fan, X. J., Liu, X., et al. Naringenin attenuates bleomycin-Induced pulmonary fibrosis in mice *via* anti-inflammatory and antioxidant mechanisms[J]. Acta Univ Med Anhui, 2021, 56(2): 202-7. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.007.
- [18] Oku H, Nakazato H, Horikawa T, et al. Pirfenidone suppresses tumor necrosis factor-alpha, enhances interleukin-10 and protects mice from endotoxic shock[J]. Eur J Pharmacol, 2002, 446(1-3): 167-76. doi: 10.1016/s0014-2999(02)01757-0.