

[文章编号] 1671-587X(2024)02-0411-11

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240214

基于重症支气管哮喘差异表达基因及其治疗中药筛选的生物信息学分析

陈丽平^{1,2}, 韩立¹, 卞华¹, 庞立业¹

(1. 南阳理工学院 河南省张仲景方药与免疫调节重点实验室, 河南 南阳 473004; 2. 河南中医药大学
呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046)

[摘要] **目的:** 通过生物信息学方法探讨重症支气管哮喘 [简称重症哮喘 (SA)] 的差异表达基因, 分析其作用机制, 并筛选潜在具有治疗作用的中药及活性成分。**方法:** 在高通量基因表达 (GEO) 数据库中选取 GSE136587 和 GSE158752 数据集, 利用 R 软件对数据集进行差异分析获得差异表达基因, 并进行蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络分析, 筛选核心基因, 寻找关键通路和枢纽基因。最后将核心基因提交至 Coremine 数据库筛选具有潜在治疗作用的中药, 并通过《中华医典》检索相关中药方剂。**结果:** 共筛选出 466 个差异表达基因。通过 STRING 平台构建 PPI 网络共筛选包括 25 kDa 突触关联蛋白 (SNAP25)、谷氨酸离子型受体 2 (GRIA2)、轴突蛋白 1 (NRXN1)、钾电压门控通道亚家族 A 成员 1 (KCNA1)、突触囊泡蛋白 1 (SYT1) 和嗜铬蛋白 A (CHGA) 等核心靶点 25 个。基因本体 (GO) 功能富集显示 SA 的生物学过程与细胞趋化性和白细胞迁移等有重要关系, 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集的通路主要涉及骨髓白细胞迁移、白细胞趋化性、细胞趋化性、白细胞迁移、对外部刺激反应的正向调节和骨髓白细胞活化等信号通路。采用网络药理学方法基于核心靶点筛选得到具有潜在治疗 SA 作用的中药 367 种, 其中人参、水牛角、全蝎和黄芪等中药涉及多个核心靶点, 与 SA 具有高度相关性, 在《中华医典》中检索具有高度相关性的中药, 共得到 17 个潜在具有治疗效果的中药方剂。**结论:** 通过生物信息学筛选 SA 的潜在标志物和具有治疗作用的中药, 为 SA 早期诊断和发病机制研究提供新的靶点, 为其治疗的中药方剂研发提供思路。

[关键词] 重症哮喘; 差异表达基因; 生物信息学; 中药筛选

[中图分类号] R256.12 **[文献标志码]** A

Bioinformatics analysis based on differentially expressed genes and screening of traditional Chinese medicine for treatment of severe bronchial asthma

CHEN Liping^{1,2}, HAN Li¹, BIAN Hua¹, PANG Liye¹

(1. Henan Provincial Key Laboratory of Zhang Zhongjing Formulae and Herbs for Immuoregulation, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China; 2. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co-constructed by Henan Province and Education Ministry of China, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[收稿日期] 2023-06-09

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81704200); 第五批全国中医临床优秀人才研修项目 (国中医药人教函 [2022] 239 号); 河南省科技厅科技攻关项目 (222102310551); 河南省科技厅自然科学基金项目 (232300421192)

[作者简介] 陈丽平 (1984—), 女, 河南省南阳市人, 副教授, 中医学博士, 主要从事支气管哮喘中医证候和生物信息学相关性数据挖掘方面的研究。

[通信作者] 陈丽平, 副教授, 硕士研究生导师 (E-mail: 3152048@nyist.edu.cn)

ABSTRACT Objective: To discuss the differentially expressed genes in severe bronchial asthma [severe asthma (SA)] by bioinformatics methods and analyze their mechanisms, and to screen the traditional Chinese medicines and their active components with potential therapeutic effects. **Methods:** The GSE136587 and GSE158752 datasets were selected from the Gene Expression Omnibus (GEO) Database; R software was used for the differential analysis to obtain the differentially expressed gene; the protein-protein interaction (PPI) network analysis was used to screen the core genes, and the key pathways and hub genes were identified. The core genes were uploaded to the Coremine Database to screen for the traditional Chinese medicines with the potential therapeutic effects, and the relevant Chinese herbal prescriptions were searched in *Chinese Medical Dictionary*. **Results:** A total of 466 differentially expressed genes were screened. The PPI network constructed through the STRING platform led to the selection of synaptosomal associated protein 25 kDa (SNAP25), glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 2 (GRIA2), neurexin 1 (NRXN1), potassium voltage-gated channel subfamily a member 1 (KCNA1), synaptotagmin 1 (SYT1), and chromogranin A (CHGA). The Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis results showed that the biological processes of SA were significantly related to the cellular chemotaxis and leukocyte migration. The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling pathways enrichment mainly involve bone marrow leukocyte migration, leukocyte chemotaxis, cell chemotaxis, leukocyte migration, up-regulation of outside stimulus, and bone marrow leukocyte activation signaling pathways. Network pharmacology was applied to screen for 367 traditional Chinese medicines with potential therapeutic effects based on the core targets. Among them, ginseng, water buffalo horn, scorpio, and astragalus, which involve multiple core targets, were highly related to SA. A total of 17 potential Chinese herbal prescriptions with therapeutic effects were retrieved from *Chinese Medical Dictionary*. **Conclusion:** The bioinformatics screening of potential biomarkers and traditional Chinese medicines with therapeutic effects for SA provides the new targets for the early diagnosis and research on the pathogenesis of SA, and offers new insights into the development of herbal prescriptions for its treatment.

KEYWORDS Severe asthma; Differentially expressed gene; Bioinformatics; Screening of Chinese medicine

目前全球有超过3亿人患有支气管哮喘(简称哮喘),在我国有超过3000万人患有哮喘^[1-2]。尽管多数哮喘患者已经使用多年的药物治疗(吸入性皮质类固醇或支气管扩张剂)实现了良好的症状控制,但仍有5%~10%的患者按照全球哮喘防治倡议(Global Initiative for Asthma,GINA)推荐的第4-5级治疗才能够维持控制或即使在上述治疗下仍未控制,症状发生持续恶化,此类哮喘即为难治性支气管哮喘(severe therapy resistant asthma,STRA)或重症支气管哮喘[简称重症哮喘(severe asthma,SA)]^[3]。SA患者急性加重次数频繁,致残、致死率高,近年来随着空气污染加重等原因,SA患者发病率呈上升趋势,给社会和家庭带来沉重负担。但目前SA通常是由处方用药剂量和症状的控制状态来定义的,发病机制尚未明确,治疗方案主要是远离诱发因素、抗炎、降低气道高反应和舒张平滑肌,且不同类型SA患者的临床表现及对药物的反应存在较大的差异^[4-5]。因此加强对SA的

早期预测评估,更准确地了解其发生发展的分子机制,探讨发病过程中起到重要作用的关键基因,有助于开发新的治疗靶点和预防策略,及时阻断病情发展,改善患者预后。SA属于中医“哮证”或“喘证”范畴,目前有研究者结合临床实践与文献梳理对治疗SA的辨治经验和组方规律进行了初步探索。国医大师晁恩祥教授根据多年的临床症状学观察及反复验证,创制了具有祛风解痉、宣肺化痰平喘的黄龙疏喘汤,主要药物有麻黄、杏仁、地龙、白果、紫苏子、白芍、石菖蒲和五味子等,对治疗SA具有良好的效果^[6];马欢欢^[7]探讨了八味沉香散治疗SA患者的疗效,在常规使用八味沉香散的基础上,对患者采取集束化护理,可有效改善肺功能,降低并发症的发生率,提升患者生活质量;秦欣欣等^[8]基于“肾阳虚、肺络热”的诊治思路采用二仙汤和青蒿鳖甲汤合生脉饮等中药治疗SA患者,使患者避免糖皮质激素依赖,提高了治疗效果。上述研究总结了一些中医辨证治疗SA的

经验, 但这些研究受个人知识体系及临床经验的影响, 归纳的内容和适用的范围都不尽相同, 使得治疗经验较难单独理解和应用, 限制了中医诊疗优势作用的发挥。网络药理学依托大数据技术集合了药理学、分子生物学和系统生物学与各类网络计算平台, 由多靶点、多分子和多通路分子机制, 结合中医遗传表型疾病的多层次信息, 筛选并构建多层网络, 直观地剖析中药方剂与疾病的关联性可用于揭示基于复杂生物系统的中药方剂作用机制和科学依据^[9]。本研究通过生物信息学数据库研究SA关键基因, 结合网络药理学探索针对靶点的中药及方剂, 为后续更深层次的研究及临床治疗提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 数据的获得及处理 基于高通量基因表达 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 以“asthma”为关键词, 检索哮喘相关数据集, 以样本量大于20, 同时包含正常人群样本和SA样本作为筛选条件, 并对数据集进行质量控制, 保证得到的数据集可用于差异分析。使用R软件 (4.3.1版本) 对筛选得到的数据集进行归一化处理及差异分析, 以差异倍数 (fold change, FC) 对数的绝对值 $|\log_2FC| \geq 1$, 统计差异显著性水平 $P < 0.05$ 为筛选标准得到差异表达基因, 正数代表上调, 负数代表下调, 获取上调和下调基因绘制热图, 同时绘制火山图。

1.2 核心基因筛选 将SA相关基因导入STRING数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 设置对比物种为“homosapines”, 选择置信度为0.4, 其余参数选择默认值, 绘制蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 并下载tsv格式文件, 将该文件通过Cytoscape软件中的

hubba插件, 基于Degree算法筛选出差异常表达基因PPI中的核心基因。

1.3 基因集合富集分析 采用R软件clusterProfiler和org.Hs.eg.db包, 通过基因本体 (Gene Ontology, GO) 数据库和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库进行基因集合富集分析 (Gene Set Enrichment Analysis, GSEA), 以 $P < 0.05$ 且基于 P 分布的伪发现率 (False Discovery Rate, FDR) 校正值 $q < 0.02$ 为筛选条件, 聚焦SA相关的生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF), 并通过R软件进行相关图形绘制。

1.4 对SA具有治疗作用的中药筛选 通过医学本体信息检索数据库 (Coremine Medical, <https://coremine.com/medical/#search>) 搜集核心基因对应的中药。将核心基因输入Coremine Medical数据库检索框, 以 $P < 0.05$ 筛选出具有潜在治疗作用的中药, 并统计频数。

1.5 中药方剂筛选 将“1.4”中筛选的对SA具有潜在治疗作用的中药通过《中华医典》(第5版)^[10]予以检索, 再以“哮”和“喘”为关键词, 选择在结果中检索, 寻找中医古籍中的记载, 探索其组方配伍。

2 结果

2.1 SA的差异基因获取 在GEO数据库中筛选得到GSE136587和GSE158752数据集, 仅保留SA患者和正常对照组人群的支气管上皮细胞样本以进一步分析。各基因芯片数据集包含样本例数和芯片平台等信息。见表1。

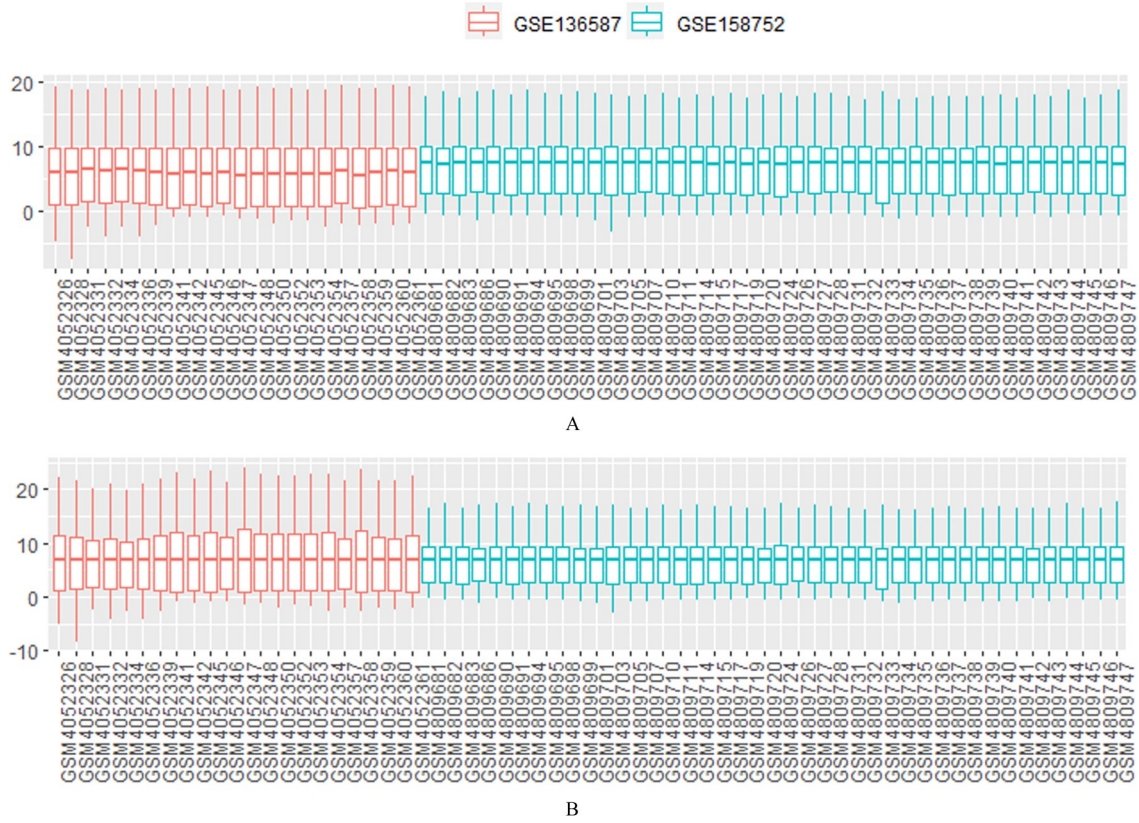
表1 GEO数据集基本情况

Tab. 1 Basic informations of GEO dataset

GEO ID	Cell type	Platform	Asthma degree (Healthy/moderate/severe)
GSE136587	Bronchial epithelial cells	GPL18573	6/17/16
GSE158752	Bronchial epithelial cells	GPL18573	17/25/25

采用R语言对GSE136587和GSE158752基因芯片数据集进行归一化处理, 去除各样本间批次效应, 使得芯片内的样本数据处于同一尺度 (图1),

减小奇异样本数据导致的不良影响。结果显示: GSE136587和GSE158752数据集芯片间具有良好的的一致性, 可用于差异表达基因的分析。



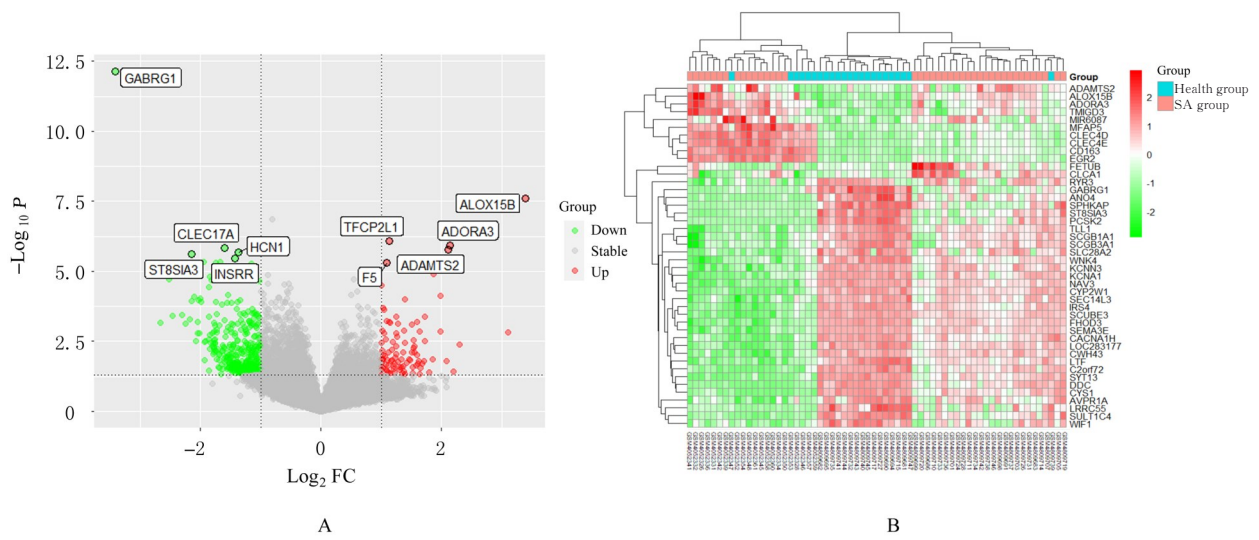
A: Before normalization processing; B: After normalization processing.

图1 GSE136587和GSE158752数据集质量控制箱线图

Fig. 1 Box diagrams of quality managements of GSE136587 and GSE158752 datasets

将2个数据集合并,并对健康组(H组)与SA组(S组)进行差异分析,共获得466个差异基

因,其中98个上调基因,368个下调基因,并绘制火山图和热图(图2)。



A: Volcano plot; B: Heat map.

图2 SA差异表达基因分析火山图(A)和热图(B)

Fig. 2 Volcano map (A) and heat map (B) of differentially expressed genes of SA

2.2 SA的PPI网络构建及核心靶点分析 将差异表达基因导入STRING平台构建PPI网络, 通过Cytoscape软件中的hubba插件“MCC”算法确定核心基因(图3), 共筛选包括25 kDa突触关联蛋白(synaptosomal associated protein 25 kDa, SNAP25)、谷氨酸离子型受体2(glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 2, GRIA2)、

轴突蛋白1(neurexin 1, NRXN1)、钾电压门控通道亚家族A成员1(potassium voltage-gated channel subfamily a member 1, KCNA1)、突触囊泡蛋白1(synaptotagmin 1, SYT1)和嗜铬蛋白A(chromogranin A, CHGA)等核心靶点25个。其中SNAP25的分值最高(表2)。

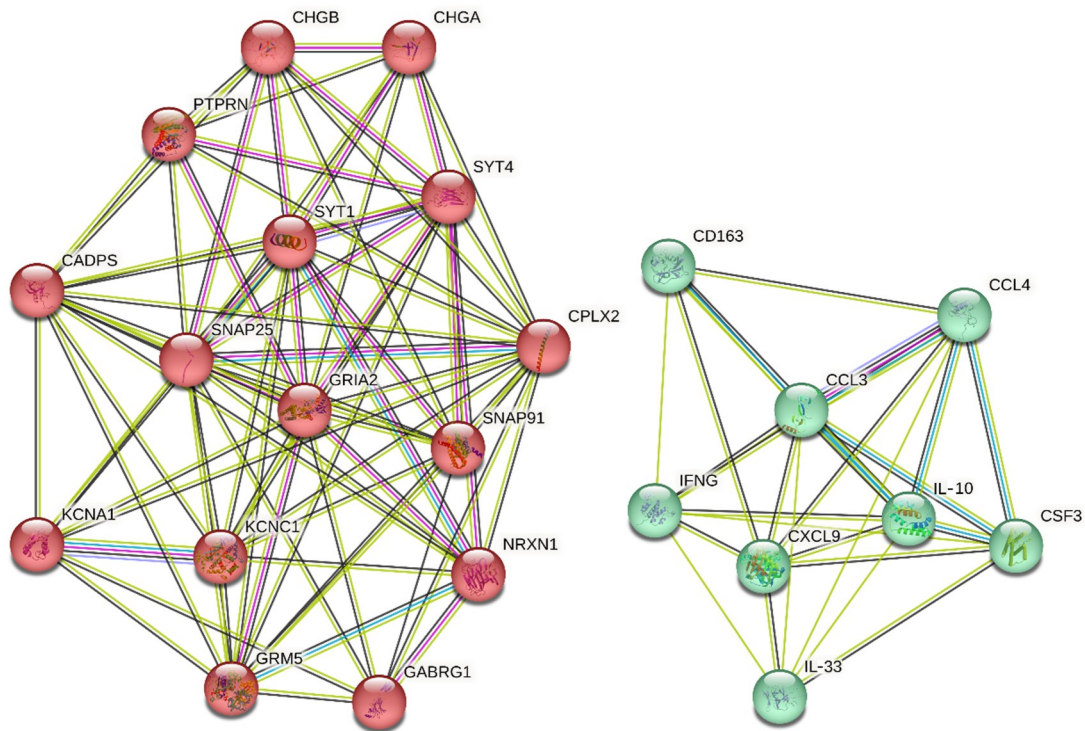


图3 SA 差异表达基因核心 PPI 网络图

Fig. 3 Core PPI network diagram of differentially expressed genes of SA

表2 PPI网络中差异表达基因度值大于10的基因

Tab. 2 Differentially expressed genes with degree values greater than 10 in PPI network

Gene	Degree	Log ₂ FC	Adjusted <i>P</i>	Gene	Degree	Log ₂ FC	Adjusted <i>P</i>
SNAP25	27	-1.249	1.75E-03	CHGB	15	-1.61	4.93E-03
GRIA2	23	-1.597	5.72E-04	CADPS	14	-1.31	8.24E-03
NRXN1	23	-1.549	1.12E-02	CCL3	13	1.56	7.80E-03
KCNA1	21	-2.458	3.74E-04	CD163	13	2.21	3.71E-02
KCNC1	21	-1.325	1.23E-03	IFNG	13	1.31	2.73E-02
SYT1	20	-1.392	1.94E-02	PTPRN	12	-1.38	1.20E-04
SYT4	20	-1.546	9.81E-04	CCL4	11	1.47	1.36E-02
CHGA	19	-1.775	7.70E-03	CSF3	11	-1.26	2.52E-02
CPLX2	19	-1.414	1.00E-02	CXCL9	11	1.40	4.72E-02
GRM5	18	-1.507	1.79E-02	GABRG1	11	-3.41	7.42E-13
IL-10	16	1.400	3.44E-03	IL-33	11	-1.37	3.91E-02
SNAP91	16	-1.339	1.04E-04				

2.3 GO功能和KEGG信号通路富集分析 通过DAVID数据库进行关键靶点的GO功能富集分析和KEGG信号通路富集分析。GO功能富集分析结果显示:与生物过程相关的条目主要富集在髓细胞白细胞迁移、白细胞趋化反应、细胞趋化性、白细胞迁移和对外部刺激反应的正向调节;与细胞组分相关的条目主要富集在三级颗粒、分泌颗粒膜、三级颗粒膜、分泌颗粒腔和细胞质囊泡腔;与分子功能相关的条目主要富集在模式识别受体活性、门控通道活动、被动跨膜转运蛋白活性和网络离子通道活性

(图4)。KEGG信号通路富集分析结果显示:核心基因高表达显著富集的通路有骨髓白细胞迁移、白细胞趋化性、细胞趋化性、白细胞迁移、对外部刺激反应的正向调节、骨髓白细胞活化、对脂多糖的反应、对细菌来源分子的反应、粒细胞迁移、细胞因子产生的正调控、粒细胞趋化性、中性粒细胞迁移、趋化因子介导的信号通路、中性粒细胞趋化性、对细菌的防御反应、单核细胞迁移、防御反应的正向调节、对趋化因子的反应、细胞对趋化因子的反应和肿瘤坏死因子的产生等相关通路(图5和6)。

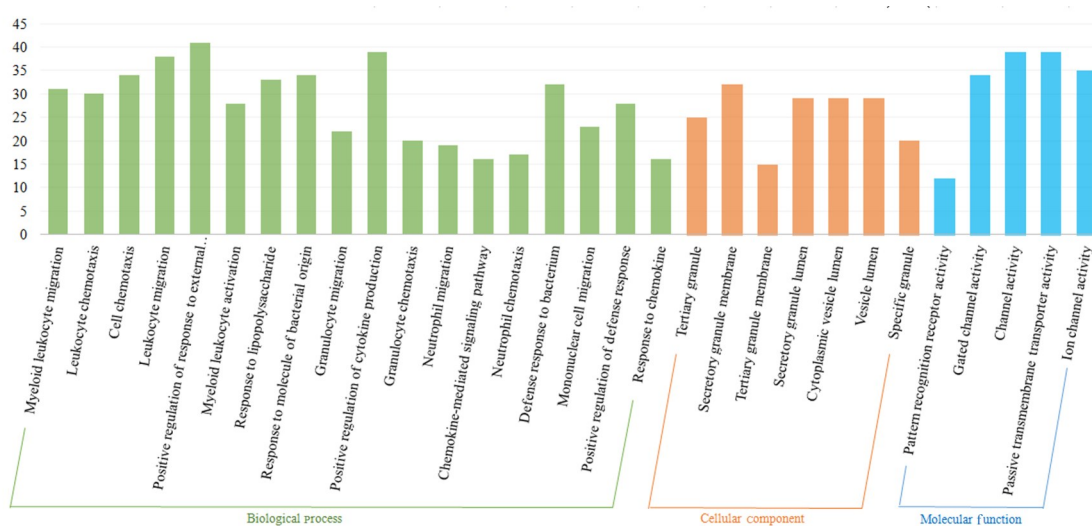


图4 SA的GO注释二级分类统计图

Fig. 4 GO annotation secondary classification statistical chart of SA

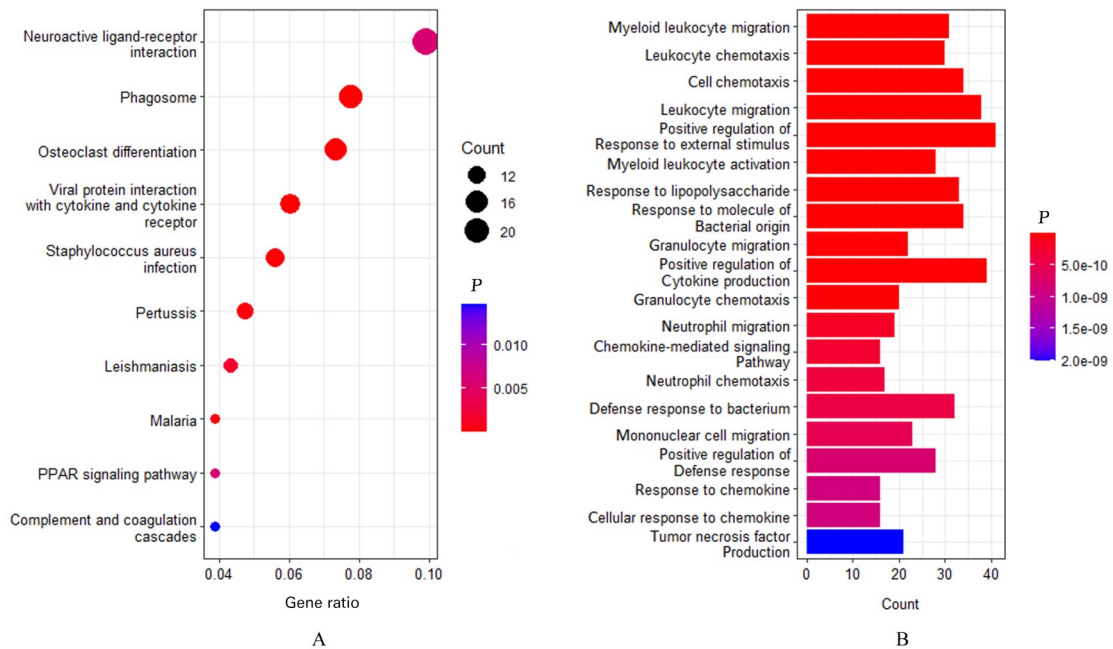
2.4 具有治疗作用的中药筛选 将核心基因靶点导入Coremine Medical数据库,查找相对应中药,以 $P < 0.05$ 作为筛选条件,规范中药名后进行整理,共得到367味中药,其中茶树根、人参、黄芪、水牛角、鱼脑石、鱼鳔胶、全蝎、蜂毒和黄连等涉及4个及4个以上基因靶点,具有高度相关性(表3)。

2.5 中药方剂筛选 通过第5版《中华医典》,分别将筛选出的具有潜在治疗作用的中药作为关键词进行检索,在检索结果中再以“哮”和“喘”为检索关键词进一步筛选,发现中医古籍中与这些中药相关且对哮喘有治疗作用的方剂共17种。其中,人参相关记载较多,《伤寒指掌》《伤寒捷诀》《重订通俗伤寒论》《伤寒论辩证广注》《伤寒大白》《伤寒总病论》中分别记载了参附汤、人参败毒散、人参泻肺汤、人参竹叶汤和人参白虎汤等8种含有人参的方剂;《伤寒指掌》《重订通俗伤寒论》分别

记载了含有黄芪的方剂黄芪建中汤和可保立苏汤;《伤寒解毒疗法》《寿世保元》《古今医统大全》分别记载了含有全蝎的方剂温补定惊丸、吐风散、千金散、尊重丸和再生丹;《伤寒指掌》中记载了含有黄连的方剂葛根黄芩黄连汤;《外科心法要诀》中记载了含有鱼脑石的方剂万氏润燥膏;茶树根、水牛角、鱼鳔胶和蜂毒未见相关记载。见表4。

3 讨论

SA患者发病机制复杂,症状严重,肺功能明显降低,且预后极差,病死率较高。其治疗原则为早期识别、及时干预和改善预后^[11]。因此,加强对SA的早期预测评估和及时发现并强化控制炎症反应能及时阻断病情发展,改善患者预后^[12]。临床上通常采用检测血清白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)水平和肺功能指标来评估哮喘患者病情,但将其作为判断SA患者气道炎症控制标准以及评估



A:Bubble diagram;B:Histogram.

图5 SA的KEGG信号通路富集图

Fig. 5 KEGG signaling pathway enrichment diagrams of SA

病情严重程度指标的灵敏度和特异度较差, 临床应用价值较低。本研究通过将SA患者与健康人支气管上皮细胞中的表达基因进行差异分析, 筛选出SA患者与健康人的466个差异表达基因, 其中98个上调基因, 368个下调基因; 并通过PPI分析筛选出了关键候选基因。PPI网络显示上述SA关键基因包含2个蛋离子型谷氨酸受体2白质相互作用群。其中1个PPI群包含SNAP25、GRIA2、NRXN1和CHGA等。CHGA被视为机体遭受致命打击后产生的重要的急性期蛋白, 与机体应激状态下的多种防御和自适应调节有关, 其能够影响血管和心肌紧张度、炎症免疫状态及内皮细胞通透性等重要机体生理功能以及反应交感神经系统紧张度水平^[13-14]。CHGA浓度与多种危重病评分呈正相关关系, 死亡患者CHGA浓度较生存患者的明显增高。在重症患者中, CHGA表达水平升高与非全身炎症反应引起的机体严重应激有关, 急性应激引起糖皮质激素的释放能在基因层面上上调CHGA的合成^[15]。这表明CHGA可能参与非全身炎症反应状态下的多脏器衰竭发生的病理过程^[16], CHGA可作为重症患者早期评估的生物标志物^[17]。SNAP25、GRIA2和NRXN1等靶点与哮喘相关性未见文献报道, 但其部分是神经传递作用相关蛋白或兴奋性神经递质受体^[18-20], 提示可能与神经源性

气道炎症有关。另一核心PPI网络包含白细胞介素10 (interleukin-10, IL-10)、白细胞介素33 (interleukin-33, IL-33)、CC趋化因子配体3 (chemokine ligand 3, CCL3)、CXC趋化因子9 (CXC chemokine ligand 9, CXCL9) 和干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ) 等, 这些靶点与哮喘密切相关^[21-22]。白细胞分化抗原 (cluster of differentiation 163, CD163) 是一种人体血红蛋白-触珠蛋白复合物的亲和力受体, 与肺间质密切相关, 其可溶性形式sCD163是活化的M2巨噬细胞 (alternatively activated macrophages, M2) 的标志物^[23]。CD163可以作为血红蛋白受体参与血红素亚基降解和清除, 发挥清道夫受体的功能, 避免了疾病的产生^[24], 也可以作为病原体的受体, 与病毒的吸附有关^[25]。CD163相关信号能够诱导巨噬细胞激活并产生血清IL-6和CXC趋化因子2 (CXC chemokine ligand 2, CXCL2) 等促肿瘤细胞因子, 其阳性表达可导致支气管鳞状细胞的病变恶化^[26]。IL-33主要由气道上皮细胞等产生的关键细胞因子, 可诱导各种细胞因子的产生, 包括白细胞介素4 (interleukin-4, IL-4) 和白细胞介素5 (interleukin-5, IL-5) 和白细胞介素13 (interleukin-13, IL-13)^[27]。IL-33通过增加Th2细胞介导的炎症反应和抑制抗病毒免疫力从而导致哮喘恶化^[28]。综上, CHGA、

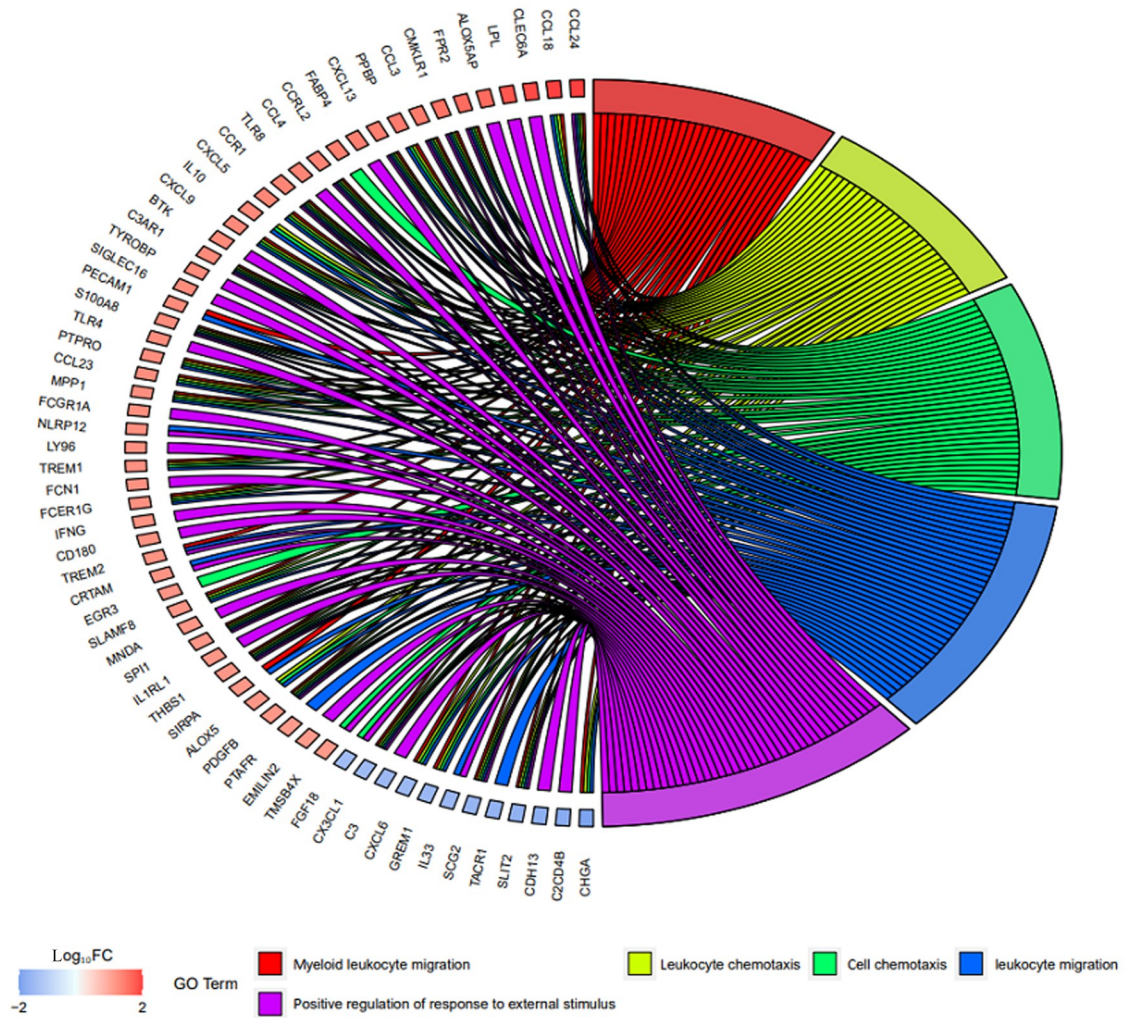


图6 SA的GO富集弦图
Fig. 6 GO enrichment chord of SA

表3 SA关键靶点相关中药

Tab. 3 Traditional Chinese medicine related to key targets of SA

Traditional Chinese medicine	Gene
Tea tree roots	KCNA1,KCNA4,KCNK3,KCNQ3,KCNN3,KCNMB2,CLCA1
Ginseng	GSTA2,SLITRK5,PCSK1,PHACTR3,GSTA3,CLCA1,CCDC8
Astragalus mongholicus	THSD7A,CLEC4E,IL2RA,KCNK3,ASCL1,CCL3,KCNA1
Buffalo horn	PHACTR3,FETUB,CCDC8,CHGB,LTF,NPR3
Yellow Croaker Ear-stone	CLEC4E,CLEC4D,FOXA2,CD36,F13A1,CCL3
Fish glue	CLEC4E,CLEC4D,FOXA2,CD36,F13A1,CCL3
Scorpion	KCNA1,SCN3A,KCNN3,KCNA4,CPA4
Bee venom	KCNN3,CYS1,IL2RA,SNAP25
Coptis chinensis	CYP1B1,EGR2,FOXA2,CD36

CD163和IL-33及其受体可作为SA药物干预的潜在生物标志物或靶点。

SA是以中性粒细胞为主的肺部炎症和广泛的

气道重塑,GO功能和KEGG信号通路富集分析结果显示:SA的生物学过程与细胞趋化性和白细胞迁移有重要关系。通路富集分析结果显示这些基因

表4 治疗SA的潜在中药方剂

Tab. 4 Potential traditional Chinese medicine prescriptions for treatment of SA

Poteintial traditional Chinese medicine	Traditional Chinese medicine compound	Chinese medical ancient book
Ginseng	Shenfu decoction	<i>Typhoid Finger Palm</i>
	Renshen Baidu San	<i>Febrile and Rapid Formula</i>
	Ginseng lung-draining decoction, Ginseng and bamboo leaf soup, Ginseng white tiger soup	<i>Revise Popular Treatise on Febrile Diseases</i>
	Qingzao decoction	<i>Typhoid Dabai</i>
	Schisandra soup	<i>On General Disease of Typhoid Fever</i>
	Ginseng Dingchuan decoction	<i>On Deleting and Supplementing Prescriptions of Famous Doctors</i>
Buffalo horn	Huangqi Jianzhong decoction	<i>Typhoid Finger Palm</i>
	Can bao Lisu soup	<i>Revise Popular Treatise on Febrile Diseases</i>
Scorpion	Wenbuding Jing pill	<i>Typhoid Detoxification Therapy</i>
	Spit wind powde, Qian jin powder	<i>Life Sebo Won</i>
	Respecting Pills, Revitalizing Pills	<i>Gujin Yitong Daquan</i>
Coptis chinensis	Gegen Huangqin Huanglian decoction	<i>Typhoid Finger and Palm</i>
Yellow Croaker Ear-stone	Wanshi Runzao ointment	<i>Key Points of Surgical Cardiology</i>

主要富集于趋化因子介导的信号通路。趋化因子是诱发哮喘的主要介质，其高水平表达与临床哮喘严重程度和进展呈正相关关系，其在许多肺部炎症和纤维化疾病的发生发展中发挥重要作用^[29]。在SA患者中，CXC趋化因子表达水平升高能够促进肺组织和支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage, BAL）中中性粒细胞数量增加，从而诱导产生肺损伤以及引发肺组织炎症和胶原沉积^[30]。而频繁的肺部感染引起的过敏原暴露增加了趋化因子的释放，并削弱气道上皮细胞的防御功能，导致上皮病毒负荷增加、Th2型炎症和气道重塑，影响气道上皮功能和细胞修复，是SA发病机制的核心环节^[31]。因此，阻断气道上皮损伤可为SA治疗提供新的切入点。

本研究通过Coremine Medical数据库分析得到SA治疗的潜在中药，其中茶树根、人参、黄芪、鱼脑石、鱼鳔胶、水牛角、全蝎和黄连等中药对应多个SA的核心标志物。现代药理学研究表明：人参制剂中的主要活性成分人参皂苷Rh1通过抑制IL-4和IL-5从而抑制Th2细胞在一定程度上逆转Th1/Th2功能失衡，达到抗炎并缓解哮喘的作用^[32]，人参皂苷Rh2能显著降低哮喘小鼠IL-4、IL-5、血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）和基质金属蛋白酶9（matrix metalloproteinase-9, MMP-9）mRNA及蛋白表达水平，从而抑制气道重塑的发生^[33]。全蝎

可以阻止气道口径缩小，缓解呼吸道痉挛，促进巨噬细胞吞噬功能，促进淋巴细胞转化成为淋巴母细胞等作用，从而缓解并改善支气管哮喘的症状^[34]；黄芪多糖（astragalus polysaccharides, APS）是中药黄芪的主要活性成分，具有免疫调节、抗炎和抗肿瘤等多种生物活性，其不仅能够减少哮喘患者嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的浸润、减轻气道管壁增厚及降低上皮细胞胶原沉积来减轻气道高反应性，还能显著减轻气道黏液分泌改善气道重塑^[35-36]。应用这些中药治疗支气管哮喘在中医古籍中具有相关记载，特别是近年来应用人参五味子汤治疗支气管哮喘具有较多相关研究^[37-39]，但未见与SA相关研究。

综上所述，这些药物及方剂为治疗SA的新药研发及中药方剂研发提供思路以及理论依据，为SA的临床治疗和后续试验研究提供新方向。本研究基于理论层面筛选SA可能治疗靶点、中药及方剂，具有一定局限性，后期将开展进一步的实验研究对结果进行验证。

利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：

陈丽平参与研究设计、论文构思和论文撰写，庞立业参与数据采集和数据分析，韩立参与论文审阅，卞华参与研究项目的监督和指导。

[参考文献]

- [1] 刘朝晖, 周海燕. miR-192-5p在支气管哮喘气道炎症中的作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(16): 4.
- [2] PIJNENBURG M W, FLEMING L. Advances in understanding and reducing the burden of severe asthma in children[J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(10): 1032-1044.
- [3] CHUNG K F, WENZEL S E, BROZEK J L, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of Severe Asthma [J]. *Eur Respir J*, 2014, 43(1): 343-373.
- [4] 吕秀云, 杨婷, 徐磊, 等. SA患者血清MIP-1 α 和IL-13水平动态变化及其预后评估价值[J]. 吉林大学学报(医学版), 2019, 45(6): 1401-1407.
- [5] 高雅宁, 李健, 陈亮, 等. SA患者支气管内膜差异表达基因的生物信息学[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2023, 17(1): 27-33.
- [6] 赖芳, 翁燕娜, 张燕等. 国医大师晁恩祥教授防治重症支气管哮喘经验总结[J]. 中国中医急症, 2015, 24(10): 1767-1768.
- [7] 马欢欢. 集束化护理在蒙药八味沉香散治疗重症支气管哮喘中的应用分析[J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(5): 67-68.
- [8] 秦欣欣, 吴华阳, 王建云等. 基于“肾阳虚-肺络热”探析SA的诊治思路[J]. 北京中医药, 2022, 41(2): 157-159.
- [9] ZHANG W, CHEN Y, JIANG H, et al. Integrated strategy for accurately screening biomarkers based on metabolomics coupled with network pharmacology [J]. *Talanta*, 2020, 211:120710.
- [10] 骆宾妃, 董佳威, 刘红宁, 等. 基于“病-药-量”探讨《中华医典》含竹沥中药方剂相应规律的数据挖掘[J]. 中草药, 2023, 54(8): 2536-2545.
- [11] MEDREK S K, PARULEKAR A D, HANANIA N A. Predictive Biomarkers for Asthma Therapy [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2017 17(10):69.
- [12] NTONTSI P, PAPANASSIOU E, LOUKIDES S, et al. Targeted anti-IL-13 therapies in asthma: current data and future perspectives [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(2):179-186.
- [13] TAUPENOT L, HARPER K L, O'CONNOR D T. The Chromogranin Secretogranin Family [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(12):1134-1149.
- [14] SHOOSHARIZADEH P, ZHANG D, CHICH J F, et al. The antimicrobial peptides derived from chromogranin/secretogranin family, new actors of innate immunity [J]. *Regul Pept*, 2010, 165(1):102-110.
- [15] 谢明, 陈晓迎, 刘景仑, 等. 入院时血清嗜铬粒蛋白A浓度和ICU患者病情严重程度的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(2): 157-160.
- [16] 陈晓迎, 张丹, 姜丽萍, 等. CHGA-415T/C和-462G/A基因多态性与重症患者预后的相关性研究[J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(12):1744-1748.
- [17] RØSJØ H, NYGÅRD S, KAUKONEN K M, et al. Prognostic value of chromogranin A in severe sepsis: data from the FINNSEPSIS study [J]. *Intensive Care Med*, 2012, 38(5):820-829.
- [18] BALKARLI A, SENGÜL C, TEPELI E, et al. Synaptosomal-associated protein 25 (Snap-25) gene polymorphism frequency in fibromyalgia syndrome and relationship with clinical symptoms [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15:191.
- [19] ZHAO Y, CHEN S, YOSHIOKA C, et al. Architecture of fully occupied GluA2 AMPA receptor-tarp complex elucidated by cryo-em [J]. *Nature*, 2016, 536(7614):108-111.
- [20] HARRISON V, CONNELL L, HAYESMOORE J, et al. Compound heterozygous deletion of NRXN1 causing severe developmental delay with early onset epilepsy in two sisters. [J]. *Am J Med Genet A*, 2011, 155(11):2826-2831.
- [21] WEI Y, LIU J, ZHANG H, et al. Ligustrazine attenuates inflammation and the associated chemokines and receptors in ovalbumine-induced mouse asthma model [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016, 46:55-61.
- [22] CHEN X Q, YANG J, HU S P, et al. Increased expression of CD86 and reduced production of IL-12 and IL-10 by monocyte-derived dendritic cells from allergic asthmatics and their effects on Th1- and Th2-type cytokine balance [J]. *Respiration*, 2006, 73(1):34-40.
- [23] ZHI Y, GAO P, XIN X, et al. Clinical significance of sCD163 and its possible role in asthma (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5):2931-2939.
- [24] NIELSEN M J, MADSEN M, MØLLER H J, et al. The macrophage scavenger receptor CD163 [J]. *J Leukoc Biol*, 2006, 79(4):837-845.
- [25] AKILA P, PRASHANT V, SUMA MN, et al. CD163 and its expanding functional repertoire [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(7/8):669-674.
- [26] MATSUBARA E, KOMOHARA Y, SHINCHI Y, et al. CD163-positive cancer cells are a predictor of a worse clinical course in lung adenocarcinoma [J]. *Pathol Int*, 2021, 71(10):666-673.
- [27] MITCHELL PD, O'BYRNE PM. Epithelial-Derived Cytokines in Asthma [J]. *Chest*, 2017, 151(6):1338-1344.

- [28] WERDER R B, ZHANG V, LYNCH J P, et al. Chronic IL-33 expression predisposes to virus-induced asthma exacerbations by increasing type 2 inflammation and dampening antiviral immunity [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(5):1607-1619.
- [29] HAMID Q. Inflammatory cells, cytokine and chemokine expression in asthma immunocytochemistry and in situ hybridization[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111(4): 902-903.
- [30] CHAPMAN R W, PHILLIPS J E, HIPKIN R W, et al. CXCR2 antagonists for the treatment of pulmonary disease[J]. *Pharmacol Ther*, 2009, 121(1):55-68.
- [31] 姚庆美, 陈 玥, 黎友伦, 等. SA气道上皮细胞损伤机制及潜在生物治疗靶点[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2022, 21(12): 899-903.
- [32] BLAISS M S. Pharmacoeconomics of asthma [J]. *Allerg Clin Immunol*, 2003, 15(6): 240-245.
- [33] 崔 勇, 李世明, 金 燕, 等. 人参皂苷 Rh2 通过 VEGF/MMP-9 信号通路抑制哮喘小鼠气道重塑的试验研究[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(8): 1932-1935.
- [34] 王鹏丽. 三拗汤加全蝎、僵蚕干预咳嗽变异性哮喘网络调控特点及配伍效应机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [35] 伍 爽, 李 微, 黎 达, 等. 黄芪皂苷 II 对哮喘幼年大鼠 IL-21/STAT3 通路及气道炎症反应的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(12): 53-59.
- [36] 商玉立, 郭彩霞, 石红梅, 等. 黄芪多糖对哮喘小鼠气道炎症启动因子 TSLP 和 DCs 表达的影响[J]. *中国抗生素杂志*, 2021, 46(7): 711-716.
- [37] 金 律, 陈 颖, 赵 艳等. 玉屏风散合人参五味子汤治疗肺脾气虚证咳嗽变异性哮喘患者的疗效及作用机制[J]. *世界中西医结合杂志*, 2023, 18(6): 1227-1232.
- [38] 李 华. 人参五味子汤联合布地奈德混悬液治疗小儿哮喘的效果观察[J]. *临床合理用药杂志*, 2021, 14(20): 129-130.
- [39] 周 立, 陈琦琦, 李 慧. 人参五味子汤对支气管哮喘患儿外周血白细胞介素-8、白细胞介素-17、瘦素水平和肺功能的影响[J]. *儿科药学杂志*, 2021, 27(2): 9-11.