

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250415.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250415.1638.002>

基于网络药理学和实验验证研究蒲公英颗粒保护小鼠急性肺损伤的作用机制

欧丽萍¹, 陈良琪², 顾若琪³, 周桂英¹, 张宝芳², 张 权²✉

(1. 贵州医科大学临床医学院, 贵州 贵阳 550000; 2. 贵州医科大学附属医院感染科, 贵州 贵阳 550000; 3. 贵州医科大学附属医院重症医学内科, 贵州 贵阳 550000)

[摘要] **目的:** 基于网络药理学、分子对接和体、内外实验探讨蒲公英颗粒(*Taraxacum mongolicum* granules, TMG)治疗急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的作用机制。**方法:** 采用网络药理学筛选TMG治疗ALI的关键靶点, 预测TMG治疗ALI相关通路, 构建“药物-活性成分-靶点”网络图, 通过分子对接预测核心成分与关键靶点的结合能力。通过体内、外实验验证网络药理学分析结果。体内实验采用腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)建立小鼠ALI模型, 分为Control组、LPS组、TMG低/中/高剂量组、盐酸地塞米松(dexamethasone, Dex)组, 每组10只。给药5 d后检测肺组织H&E、免疫组化等病理染色, ELISA检测小鼠BALF中IgM、IL-1 β 、IL-18、IL-6、TNF- α 表达, Western blot检测NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD-N、GSDMD蛋白表达, RT-qPCR检测NLRP3、Caspase-1、GSDMD mRNA表达。体外实验采用LPS+尼日利亚菌素钠盐建立MH-S细胞焦亡模型, 分为Control组、Model组、TMG低/中/高剂量组、Dex组, RT-qPCR检测IL-1 β 、IL-18、IL-6、TNF- α 、NLRP3、Caspase-1、GSDMD mRNA表达, Western blot检测NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD-N、GSDMD蛋白表达。**结果:** 网络药理学显示SRC、PIK3R1、HSP90AA1、AKT1、MAPK1、TNF、IL-1 β 、TLR4等是治疗ALI的关键靶点。分子对接表明TGM与TNF、IL-1 β 、TLR4、SRC、MAPK1具有较高的亲和力。KEGG富集在Toll样受体信号通路、NOD-like等炎症通路。体内实验表明TMG可以减轻肺组织病理损伤, 减少炎症因子释放, 抑制NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD-N、GSDMD的表达。体外实验表明TMG可以减少MH-S细胞炎症因子释放, 抑制NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD-N、GSDMD表达。**结论:** TMG可改善LPS诱导小鼠ALI炎症反应, 保护肺组织, 减少炎症因子释放, 其作用机制可能与抑制NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路介导的肺泡巨噬细胞焦亡有关。

[关键词] 急性肺损伤; 蒲公英颗粒; NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路; 细胞焦亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)16-1250-16

Mechanism of *Taraxacum mongolicum* granules intervening mice acute lung injury based on network pharmacology and experimental verification

OU Liping¹, CHEN Liangqi², GU Ruoyi³, ZHOU Guiying¹, ZHANG Baofang², ZHANG Quan²✉

(1. School of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China; 2. Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China; 3. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Eighth Batch of Talent Base Support Projects of Guizhou Province "Guizhou Province Infectious Disease Prevention and Control Talent Base" [Qian Ren Ling Fa (2020) No. 8]; Guizhou Medical University Key Laboratory of Infectious Diseases and Hepatology [(2024) No. fy006]

[Author]: OU Liping, E-mail: 1096306075@qq.com.

[Correspondence to]: ZHANG Quan, Professor, E-mail: loongyin@qq.com.

Received: 2025-01-16 **Revised:** 2025-03-24

JHMu, 2026;32(16):1250-1265

[基金项目] 贵州省第八批人才基地“贵州省感染病防控人才基地”支持项目[黔人领发(2020)8号]; 贵州医科大学感染性疾病与肝病重点实验室[(2024)fy006号]

[作者简介] 欧丽萍, E-mail: 1096306075@qq.com。

[通讯作者] 张权, 教授, E-mail: loongyin@qq.com。

[收稿日期] 2025-01-16 **[修回日期]** 2025-03-24 **网络出版时间:** 2025-04-16 09:35:54

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of *Taraxacum mongolicum* granules (TMG) treating acute lung injury (ALI) through an integrated approach combining network pharmacology, molecular docking, and comprehensive *in vivo* and *in vitro* experimental analyses. **Methods:** Key targets of TMG treating ALI were screened by network pharmacology, and the related pathways of TMG treating ALI were predicted. The "drug-active ingredient-target" network diagram was constructed, and the binding ability of the core components and the key targets was predicted by molecular docking. The results of network pharmacology analysis were verified by *in vivo* and *in vitro* experiments. *In vivo* experiments were conducted to establish a mouse ALI model by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS). The mice were divided into the Control group, the LPS group, the TMG low/medium/high-dose groups, and the dexamethasone (Dex) group, with 10 mice in each group. On day 5 of administration, pathological staining such as H&E and immunohistochemistry were performed on lung tissue, ELISA was used to detect the expressions of IgM, IL-1 β , IL-18, IL-6, and TNF- α in the BALF of mice. Western blot was used to detect the protein expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1, GSDMD-N, and GSDMD, and RT-qPCR was used to detect the mRNA expressions of *NLRP3*, *Caspase-1*, and *GSDMD*. *In vitro* experiments, LPS and nigericin were used to establish a pyroptosis model of MH-S cells, which were divided into the Control group, the Model group, the TMG low/medium/high-dose group, and the Dex group. RT-qPCR was used to detect the mRNA expression of *IL-1 β* , *IL-18*, *IL-6*, *TNF- α* , *NLRP3*, *Caspase-1*, and *GSDMD*. Western blot was used to detect the protein expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1, GSDMD-N, and GSDMD. **Results:** Network pharmacology showed that SRC, PIK3R1, HSP90AA1, AKT1, MAPK1, TNF, IL-1 β , and TLR4, *etc.* were key targets for the treatment of ALI. Molecular docking showed that TGM had a high affinity with TNF, IL-1 β , TLR4, SRC, and MAPK1. KEGG was enriched in the Toll-like receptor signaling pathway, NOD-like and other inflammatory pathways. *In vivo* experiments showed that TMG could reduce pathological damage of lung, reduce the release of inflammatory factors, and inhibit the expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1, GSDMD-N, and GSDMD. *In vitro* experiments showed that TMG could reduce the release of inflammatory factors in MH-S cells, and inhibit the expressions of NLRP3, ASC, Casase-1, GSDMD-N, and GSDMD. **Conclusion:** TMG can improve the LPS-induced ALI inflammatory response in mice, protect lung tissue, reduce the release of inflammatory factors, and its mechanism of may be related to the inhibition of NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway mediated alveolar macrophage pyroptosis.

[Key words] Acute lung injury; *Taraxacum mongolicum* granules; NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway; Pyroptosis

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由各种肺内、外致病因素导致的一种以呼吸窘迫和进行性低氧血症为特征的常见临床综合征^[1]。流行病学调查显示,全球ALI重症病例的发病率约为10%,病死率高达50%^[2,3]。目前ALI发病机制尚不完全清楚,剧烈炎症反应和氧化应激被认为是ALI的重要病理生理机制^[4,5]。肺巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)是促炎(M1)巨噬细胞,在ALI发病过程中产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)和炎症介质(IL-1 β 、iNOS、TNF- α 等),导致细胞因子风暴和严重的肺损伤^[6]。

研究发现NLRP3/Caspase-1介导巨噬细胞焦亡引起ALI^[7]。另有研究表明焦亡可引发细胞因子风暴,加重ALI^[8]。当ALI发生时,NLR家族含pyrin结构域NOD样受体家族3(NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)炎性小体与含有CARD的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)寡聚及Caspase-1连接,形成活跃的炎症小体(包含NLRP3、ASC和Caspase-1)^[9,10],被激活的Caspase-1裂解为裂解的Caspase-1,诱导GSDMD产生N端GSDMD片段(N-GSDMD),触发炎症细胞因子

(IL-1 β 、IL-18、TNF- α 等)的释放,诱发焦亡^[11,12]。目前糖皮质激素是治疗ALI的主要方法,但不良反应较多,包括耐药性、代谢紊乱和骨质疏松症等^[13,14]。Peleman等^[15]的一项研究中发现焦亡在影响患者预后方面发挥了关键作用,为治疗ALI提供了方向。

近年来,草药治疗炎症性疾病取得较大进展^[16],已有研究证实其在治疗ALI中有效^[17]。蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz., *T. mongolicum*)为菊科多年生草本植物,已被纳入《中国药典》^[18],具有“天然抗生素”之称。有研究表明蒲公英对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌等多种细菌有明显抑菌、杀菌作用^[19]。蒲公英颗粒(*Taraxacum mongolicum* granules, TMG)是由蒲公英和蔗糖调配而成的颗粒,已用于上呼吸道感染、急性扁桃体炎、疖肿等多种炎症性疾病的治疗。虽然TMG具有抗炎作用^[20],但对ALI的治疗作用及其机制尚不明确。

网络药理学可以通过宏观角度分析和预测药物干预疾病潜在的机制^[21]。本研究利用网络药理学,通过建立ALI小鼠模型和MH-S细胞焦亡模型,初步探讨TMG治疗ALI的机制,为ALI的临床治疗提供新的思路,为TMG的药用价值增加新的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与细胞 6~8周龄雄性C57BL/6J小鼠,重量22~25 g,无特异性病原体,由贵州医科大学动物房购于斯贝福生物技术有限公司(北京,中国)[动物生产许可证:SCXK(京)2019-0010,使用许可证号:SYXK(贵)2023-0002]。本研究所有动物实验经过贵州医科大学实验动物伦理委员会授权(批准号:2023-09-15,伦理审查号:22305087),对小鼠的处理遵循动物福利伦理原则。小鼠饲养于动物室控制条件下(12 h明暗循环,21~23 °C,45%~65%湿度)。小鼠肺泡巨噬细胞MH-S细胞系(批号:GC2403027)购于武汉塞维尔科技有限公司。

1.1.2 药物与试剂 TMG(成分为蒲公英和蔗糖,15 g/袋)由四川同人泰药业股份有限公司提供(批号:23010305);大肠杆菌O55:B5的脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)购于北京Solarbio公司(批号:IL2020);尼日利亚菌素钠盐(Nigericin,Nig)购于美国APEX BIO公司(批号:28643-80-3);盐酸地塞米松注射液(dexamethasone,Dex)购于成都倍特药业股份有限公司(批号:N2405112);胎牛血清、1640培养基购于武汉Pricella公司(批号:64210-50、PM150110);H&E试剂盒购于北京Solarbio公司(批号:G1120);IgM、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α ELISA试剂盒购于江苏晶美生物公司(批号:JM-02341M1、JM-02323M1、JM-02446M1、JM-02452M1、JM-02415M1);NLRP3抗体、ASC抗体购于美国Cell Signaling Technology公司(批号:D4D8T、D2W8U);Pro-Caspase-1抗体、GSDMD购于英国Abcam公司(批号:AB179515、AB219800)。 β -actin购于武汉Proteintech公司(批号:HRP-6609);山羊抗兔IgG二抗购于美国APEX BIO公司(批号:K1223);Trizol试剂盒、逆转录试剂盒、qPCR SYBR Green Master Mix试剂盒购于上海Yeasten公司(批号:10606ES60、11141ES60、1118-ES08)。

1.1.3 主要仪器 RM2245荧光显微镜、DM2500半自动石蜡切片机(德国莱卡公司);Synergy H4酶标仪(中国香港基因有限公司);化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司);电泳仪(美国Bio-Rad公司);高温灭菌型CO₂培养箱、NanoDrop 2000分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.2 方法

1.2.1 网络药理学分析

1.2.1.1 TMG成分筛选和ALI靶点预测 以“蒲公英”为关键词,通过HERB本草组鉴数据库(<http://herb.ac.cn/>)搜索化学成分。在PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)查询相关成分Canonical SMILES号。在中医药系统药理数据库和分析平台TCMSP^[22](<https://www.tcmsp-e.com/#/home>)及SwissADME^[23](<http://www.swissadme.ch/>)对化合物进行筛选。TCMSP设置OB($\geq 30\%$)和DL(≥ 0.18)为筛选条件,SwissADME设置类药性满足Lipinski、Ghose、Veber、Egan和Muegge中任意3种评价模型合格(Yes)且生物利用度评分(bioavailability score) ≥ 0.55 ^[24]。不满足上述条件,但已经证实可以入药的化合物也纳入其中。使用目标化合物的Canonical SMILES号在SwissTargetPrediction数据库^[25](<http://www.swisstargetprediction.ch/>)搜索,选择为“*Homo Sapiens*”和probability >0 的靶点作为目标靶点。

在GeneCards数据库^[26](<https://auth.lifemapsc.com/>)中以“acute lung injury”为关键词查询相关靶点,选择relevance score >1 的靶点作为潜在靶点。将*T. mongolicum*靶基因与ALI相关靶基因在微生物信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)取交集,绘制Venn图。

1.2.1.2 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction,PPI)网络构建将*T. mongolicum*治疗ALI潜在靶点导入STRING数据^[27](<https://cn.string-db.org/>),选择“Multiple proteins”,物种选为“*Homo Sapiens*”,设置“minimum required interaction score”为0.9,其余参数默认,构建PPI网络,并将数据导入Cytoscape 3.10.0进行可视化分析。

1.2.1.3 基因本体(Gene ontology,GO)功能富集和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)通路富集分析 为确定*T. mongolicum*在ALI中的潜在生物学功能和治疗机制,通过DAVID数据库^[28](<https://david.ncifcrf.gov/>)对*T. mongolicum*治疗ALI的交叉靶点的进行GO和KEGG富集分析并在微生物信平台绘制成气泡图。

1.2.1.4 “药物-活性成分-靶点”网络构建 基于*T. mongolicum*活性成分、治疗ALI潜在靶点,构建“药物-活性成分-靶点”图。使用Cytoscape 3.10.0软件进行可视化处理。

1.3 分子对接

选择鉴定出的主要基因与 *T. mongolicum* 前6位活性成分进行分子对接模拟。从 PubChem 数据库下载活性成分2D结构,用 OpenBabel 2.3.2 软件转化为3D结构,Avogadro1.2.0 进行结构优化。从 RCSB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)获得目标蛋白的结构,使用 Pymol-open-source 2.6.0 去除蛋白质中多余的配体和水分子,使用 Reduce 3.23 给蛋白质加氢。使用 ADFRsuite-1.0 和 Vina 1.2.5 进行分子对接。最后,使用 PyMol 2.5.5 可视化对接结果。

1.4 体、内外实验验证 TMG 治疗 ALI 的作用机制

1.4.1 动物造模 将60只C57BL/6J小鼠适应性喂养7d后随机分为Control组、LPS组、TMG低/中/高剂量(TMGL/M/H)组、Dex组。人与小鼠的剂量换算比为1:12.3^[29],TMGL/M/H组分别每日灌胃给药剂量4.5、9.0、18 g/kg。Control、LPS、Dex组分别灌胃等体积生理盐水。连续灌胃5d后,LPS、TMGL/M/H、Dex组腹腔注射LPS(15 mg/kg),Control组给予生理盐水,Dex组提前1h给予5 mg/kg Dex。24h后所有小鼠安乐处死,取支气管肺泡灌洗液(BALF)、肺组织保存。

1.4.2 细胞实验 小鼠肺泡巨噬细胞MH-S细胞系在含有10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的RPMI-1640中,置于37℃、5%CO₂的加湿培养箱中培养。结合文献[30]建立细胞焦亡模型。细胞分为Control组、Model(MOD)组、Dex组和TMGL低/中/高剂量(TMGL/M/H)组。MH-S细胞先用TMG(80、160、320 μg/mL)、Dex(2 μg/mL)预处理24h,然后用1000 ng/mL LPS处理4h,最后用10 μmol/L Nig 刺激2h。

1.4.3 H&E染色 将肺组织经固定、脱水、包埋、切片等操作后,用H&E染色,最后在光学显微镜下观察。根据肺组织损伤情况评分^[30],包括无损伤(1分)、肺泡充血(2分)、出血(3分)、中性粒细胞浸润到空气或血管壁(4分)、肺泡壁厚度增加/透明膜形成(5分)。

1.4.4 肺湿/干比 取小鼠右肺上叶称重,随后置于65℃恒温箱干燥72h,记录干重。利用肺湿/干重量比(W/D),评估肺水肿程度。

1.4.5 BALF细胞计数及蛋白浓度测定 将BALF以3000 r/min离心15 min收集细胞及上清液。加入红细胞裂解液沉淀细胞,用PBS洗涤细胞2次,用1 mL PBS重悬,并用自动细胞计数器计数。采用bicinchoninic acid(BCA)蛋白浓度测定试剂盒检测BALF蛋白浓度。

1.4.6 酶联免疫吸附实验(ELISA) 采用ELISA试剂盒按说明书检测细胞因子IgM、IL-1β、IL-6、IL-18、TNF-α表达情况。

1.4.7 免疫组织化学染色(IHC) IHC检测小鼠肺组织中NLRP3、Caspase-1、GSDMD、F4/80蛋白表达量。将3 μm肺切片去蜡化,然后进行抗原修复、内源性过氧化物酶的阻断及血清封闭,再用一抗在4℃下孵育过夜。PBS洗涤后,切片用相应的二抗检测试剂盒检测一抗结合。封片后在光学显微镜下观察小鼠肺组织中上述蛋白的表达情况。最后,采用ImageJ软件进行分析。

1.4.8 免疫荧光染色(IF) 将肺组织固定在4%多聚甲醛溶液中,随后将肺组织与抗TNF-α一抗在4℃加湿室中孵育过夜。次日用PBS洗涤,用荧光素标记的二抗避光孵育2h,用DAPI对细胞核染色,最后使用荧光显微镜拍照,ImageJ软件分析。

1.4.9 Western blot分析 从肺组织和MH-S细胞中提取总蛋白,使用BCA试剂盒测定蛋白浓度。然后用10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质,并转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。在5%脱脂牛奶中封闭2h,将膜与一抗在4℃下孵育过夜,包括ASC(1:1000)、pro-Caspase-1(1:1000)、GSDMD(1:1000)、NLRP3(1:1000)、β-actin(1:10000)。次日,用TBST缓冲液洗涤3次,将膜与二抗在室温下孵育2h,β-actin孵育二抗。最后,条带通过ECL试剂盒在化学发光成像系统下显影,使用ImageJ软件分析灰度值。

1.4.10 CCK-8细胞活力分析 将处于对数生长期的MH-S细胞接种至96孔板中,在培养箱中培养24h,分别使用浓度为0、40、80、160、360、640、1280、2650 μg/mL的TMG处理细胞,继续培养24h。孵育结束后,每孔加入20 μL CCK-8溶液,置于培养箱避光孵育1~4h,使用酶标仪在450 nm波长下对各孔的吸光度(A)进行检测。细胞存活率=(A_{实验组} - A_{空白组})/(A_{对照组} - A_{空白组})×100%。

1.4.11 实时定量PCR(RT-qPCR)分析 根据试剂说明书,使用Trizol试剂从肺组织、MH-S细胞中提取总RNA。使用NanoDrop 2000分光光度计检测提取的RNA纯度及浓度。使用逆转录试剂盒构建互补DNA(cDNA)。使用qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒检测mRNA的表达。采用β-actin作为内参基因,用2^{-ΔΔC_t}方法计算mRNA表达量的倍数变化。所有基因的引物序列来自Sangon Biotech,详细信息见表1。

表 1 引物序列
Tab 1 Primer sequences

引物	正向 (5'~3')	反向 (5'~3')
<i>NLRP3</i>	ATTACCCGCCCGAGAAAGA	CATGAGTGTGGCTAGATCCAAG
<i>GSDMD</i>	TTCAGGCCCTACTGCCTTCT	GTTGACACATGAATAACGGGGTT
<i>Caspase-1</i>	ACAAGGCACGGGACCTATG	TCCCAGTCAGTCCTGGAATG
<i>IL-1β</i>	GAAATGCCACCTTTTGACAGTG	TGGATGCTCTCATCAGGACAG
<i>IL-18</i>	GTGAACCCAGACCAGACTG	CCTGGAACACGTTTCTGAAAGA
<i>IL-6</i>	CTGCAAGAGACTTCCATCCAG	AGTGGTATAGACAGGTCTGTTGG
<i>TNF-α</i>	CAGGCGGTGCCTATGTCTC	CGATCACCCGAAGTTCAGTAG
<i>β-actin</i>	GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG	ATGCCACAGGATTCCATACC

1.5 统计学处理

使用 GraphPad Prism 10 软件进行统计学分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较用单因素方差分析 (ANOVA), 两组间比较采用 Student's *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学结果

2.1.1 *T. mongolicum* 和 ALI 交集基因 Venn 图 通过 HERB、TCMSP、SwissADME 网站获得 *T. mongolicum* 26 个化学成分 (表 2), SwissTargetPrediction 数据库预测到 521 个靶点。在 GeneCards 数据

库中检索到 8 833 个 ALI 靶点。将 *T. mongolicum* 和 ALI 靶点取交集, 得到 437 个交集靶点, 绘制 Venn 图 (图 1A)。

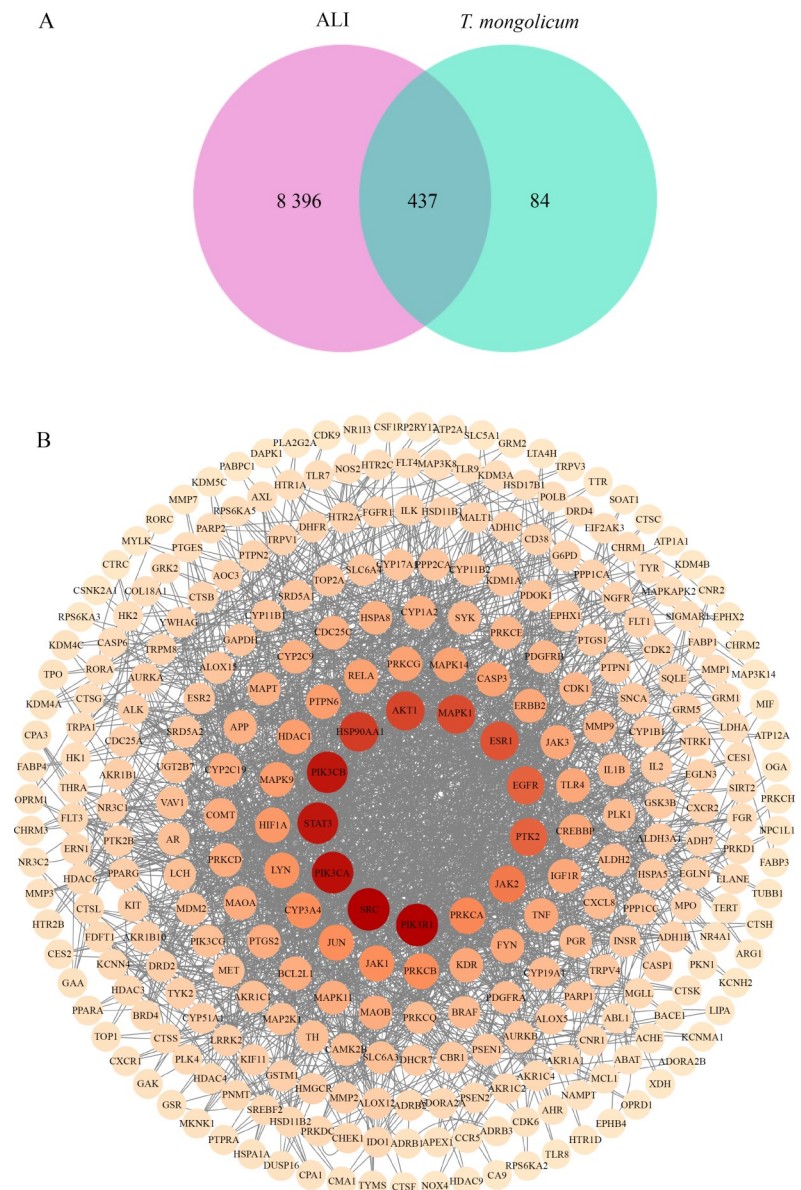
2.1.2 PPI 网络 由 437 个靶基因构建 PPI 网络, 包括 435 个节点和 1 022 条边, 使用 Cytoscape 3.10.0 进行可视化 (图 1B)。Degree 排名前 10 的靶点包括 SRC、PIK3R1、PIK3CA、STAT3、PIK3CB、HSP90-AA1、AKT1、MAPK1、ESR1、EGFR。此外, TNF、IL-1β、TLR4 是与炎症相关, degree 值排名较前且具有统计学意义的靶点。

表 2 蒲公英的化学成分
Tab 2 Active components of *T. mongolicum*

编号	成分编号	化合物名称	分类
1	HBIN000363	11β, 13-dihydrataraxinic acid β-glucopyranosyl ester	Terpene
2	HBIN001773	1,6,6-trimethyl-7-(3-oxobut-1-enyl)-3,8-dioxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octan-5-one	Terpene
3	HBIN006828	2- <i>t</i> -butyl-5-methyl-[1,3]dioxolane-4-carboxylic acid	Organic acid
4	HBIN010946	5,10-diethoxy-2,3,7,8-tetrahydro-1 <i>H</i> ,6 <i>H</i> -dipyrrolo[1,2- <i>A</i> .1',2'- <i>D</i>]pyrazine	Alkaloid
5	HBIN012161	6-acetyl-4,4,7-trimethylbicyclo[4.1.0]heptan-2-one	Terpene
6	HBIN016904	Arsanin	Terpene
7	HBIN016938	Artecalin	Terpene
8	HBIN018278	Beta-sitosterol	Sterol
9	HBIN020363	Chlorogenic acid	Phenolic acid
10	HBIN020427	Chrysanthemaxanthin	Terpene
11	HBIN026570	Flavoxanthin	Terpene
12	HBIN042670	Rutin	Flavonoid
13	HBIN045261	(+)-Syringaresinol	Lignin
14	HBIN023435	Desacetylmatricarin	Terpene
15	HBIN025796	Esculetin	Coumarins
16	HBIN025971	Ethyl <i>p</i> -hydroxyphenylacetate	Phenolic acid
17	HBIN039500	Phenylacetic acid	Organic acid
18	HBIN039673	<i>P</i> -hydroxybenzoate	Phenolic acid
19	HBIN039707	<i>P</i> -hydroxyphenylpropionic acid	Phenolic acid
20	HBIN041495	Quercetin	Flavonoid
21	HBIN045518	Taraxacerin	Flavonoid
22	HBIN045547	Taraxicin	Terpene
23	HBIN045548	Taraxinic acid	Terpene
24	HBIN045549	Taraxinic acid-1'- <i>o</i> -β-d-glucopyranoside	Terpene
25	HBIN046806	Trans- <i>p</i> -coumaryl alcohol	Terpene
26	HBIN046808	Trans- <i>p</i> -coumaryl aldehyde	Terpene

2.1.3 GO和KEGG 富集分析 将 *T. mongolicum* 与 ALI 相交集的 437 个靶基因提交到 DAVID 数据库,用微生信平台进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。鉴定出 GO 功能富集项 776 条和 157 条 KEGG 途径($P<0.01$)。GO 包括 540 个生物过程 (BP)、164 个分子功能 (MF) 和 72 个细胞成分 (CC)。对 BP、MF、CC 前 20 项富集分析 (图 2A~C)。BP 主要集中在磷酸化、凋亡过程的负调

控、炎症反应、对缺氧的反应等生物学过程。MF 包括 ATP 结合、蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白丝氨酸激酶活性。CC 主要涉及质膜、细胞外泌体、细胞质、细胞表面。KEGG 与炎症有关的前 15 条通路包括炎症介质对 TRP 通道的调节、PI3K-Akt 信号通路、Toll 样受体信号通路、NOD-like 通路等 (图 2D)。选择 NOD-like 通路有关指标进行后续实验。



A:蒲公英活性成分靶点与 ALI 靶点 Venn 图;B:Cytoscape 3.10.0 软件可视化 PPI 互作图

图 1 网络药理学靶点分析

Fig 1 Network pharmacology target analysis

2.1.4 “药物-活性成分-靶点”网络 使用 Cytoscape 3.10.0 软件将 *T. mongolicum* 26 个活性成分和 437 个 *T. mongolicum*-ALI 靶点构建“药物-活性成分-靶点”网络 (图 3)。

2.1.5 分子对接 用 *T. mongolicum* 8 个主要靶点 (SRC、PIK3R1、HSP90AA1、AKT1、MAPK1、TNF、IL-1 β 、TLR4) 和 6 个核心活性成分 (No. 4、1、6、20、8、16) 进行分子对接模拟。在 8 组蛋白-配体

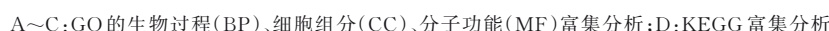
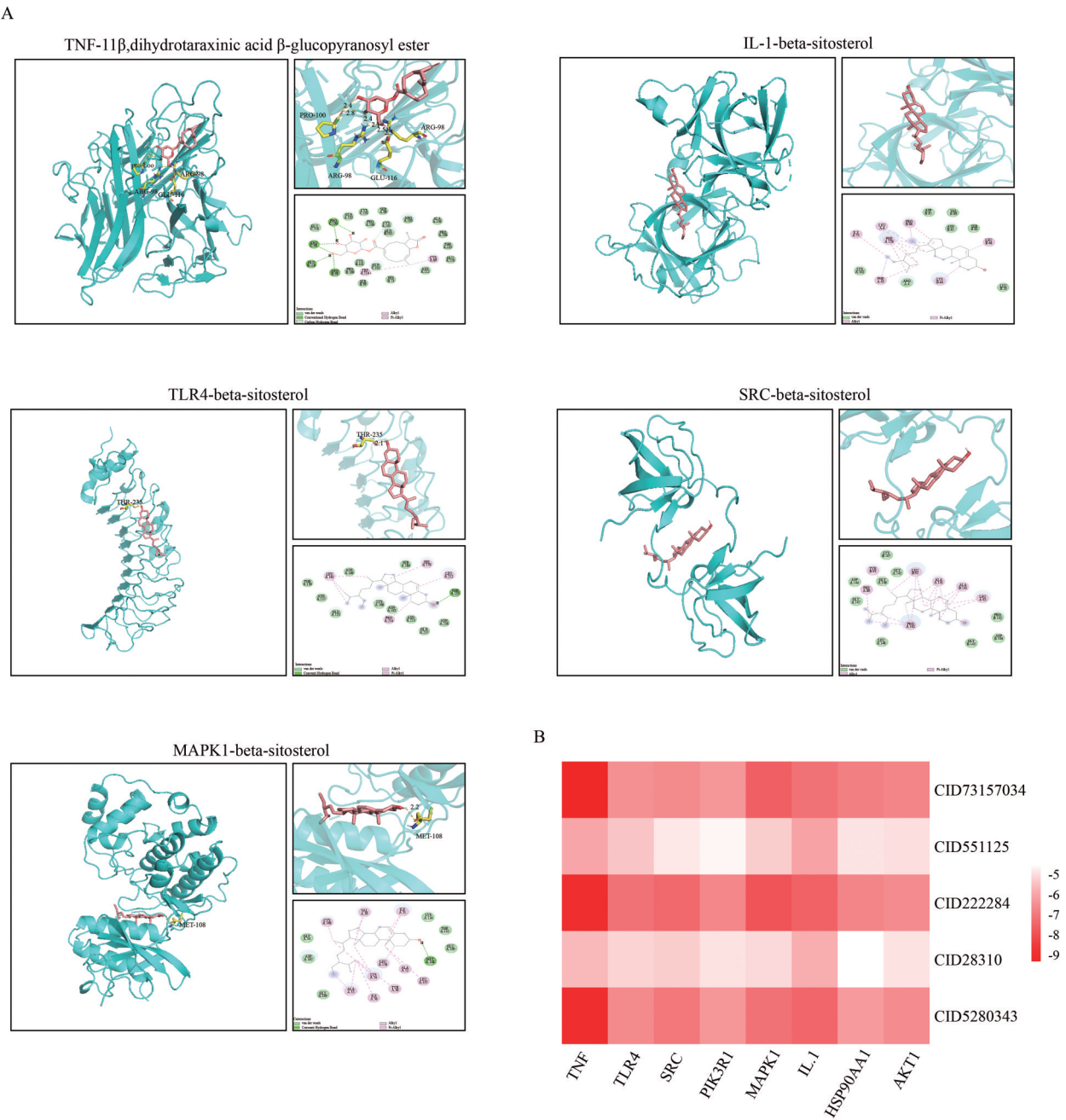


Fig 2 GO and KEGG analysis



Fig 3 Pathway network analysis of *T. mongolicum* drug targets

4A), 结合能依次为-9.471、-7.651、-7.276、-7.508、-7.983 kcal/mol。将8组分子对接复合物结合能绘成热图(图4B)。



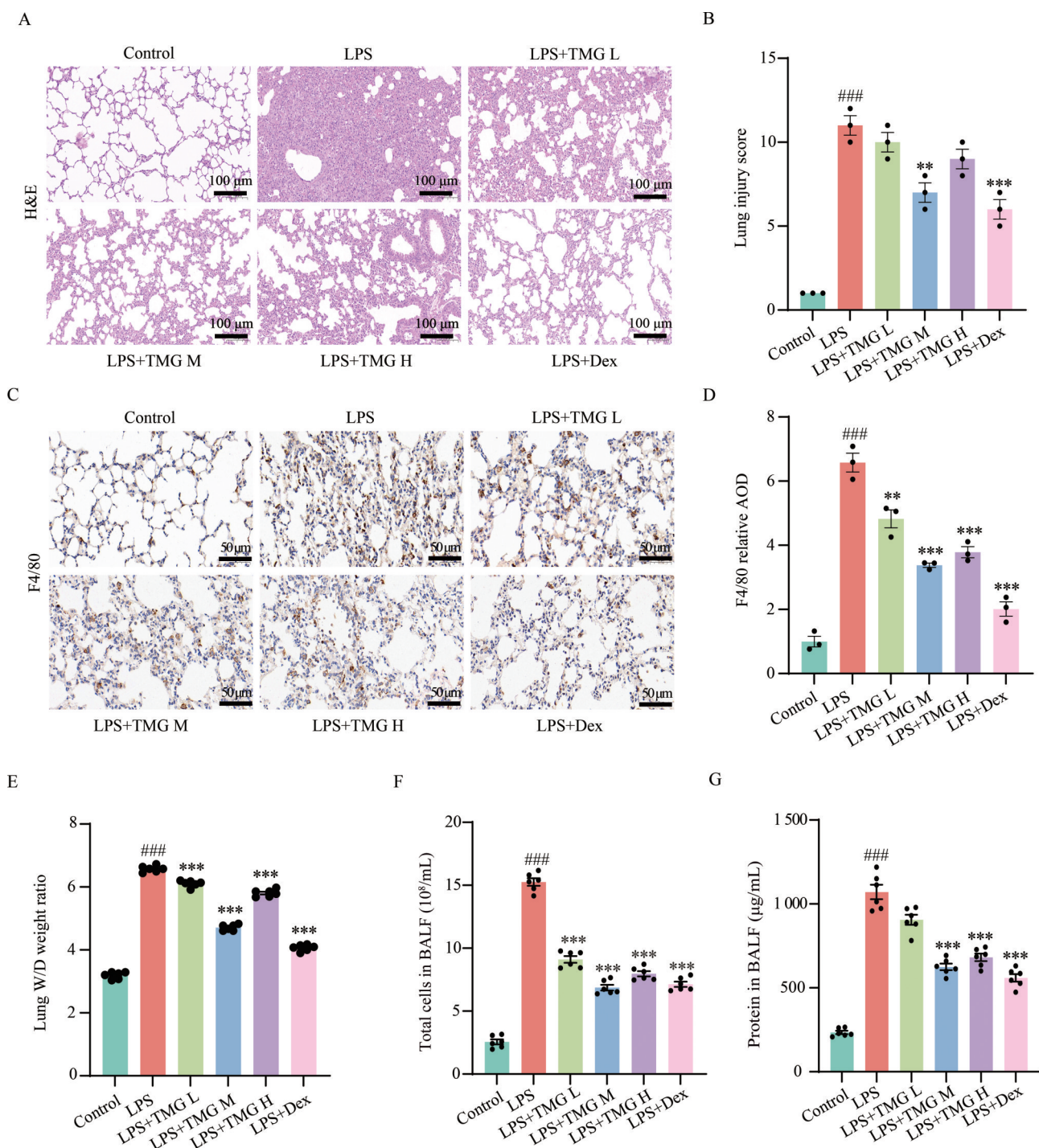
A: 结合能力最强前5组蛋白-配体复合物可视化; B: 蛋白-配体复合物结合能热图

图4 蒲公英核心活性成分和蛋白分子对接及结合能热图

Fig 4 Core active components of *T. mongolicum* and protein docking and binding energy heatmap

2.1.6 TMG预处理可以减轻LPS诱导小鼠ALI 与Control组相比,LPS组肺组织H&E染色结果显示肺泡间隔增厚、出血,大部分肺泡断裂融合成片,有明显的中性粒细胞及巨噬细胞浸润。与LPS组比, TMG和Dex组上述病理改变减轻。TMG中剂量组及Dex组肺损伤明显减轻,以Dex组最明显,见图5A。与LPS组相比, TMG及Dex组肺损伤评分明显降低($P<0.01$),见图5B。巨噬细胞标记物F4/80 IHC染色结果表明 TMG和Dex可减轻LPS诱导的

肺组织巨噬细胞浸润, TMG以中剂量组效果最好, Dex组改善最明显($P<0.01$),见图5C、D。LPS组肺W/D重量增加,提示肺水肿, TMG和Dex肺W/D重量比降低,肺水肿减轻($P<0.001$),见图5E。与Control相比, LPS组BALF总细胞及蛋白明显升高($P<0.001$),而 TMG和Dex组明显低于LPS组($P<0.001$),见图5F、G。结果表明 TMG预处理可以减轻LPS诱导的小鼠肺部炎症、改善病理改变和降低肺损伤评分。



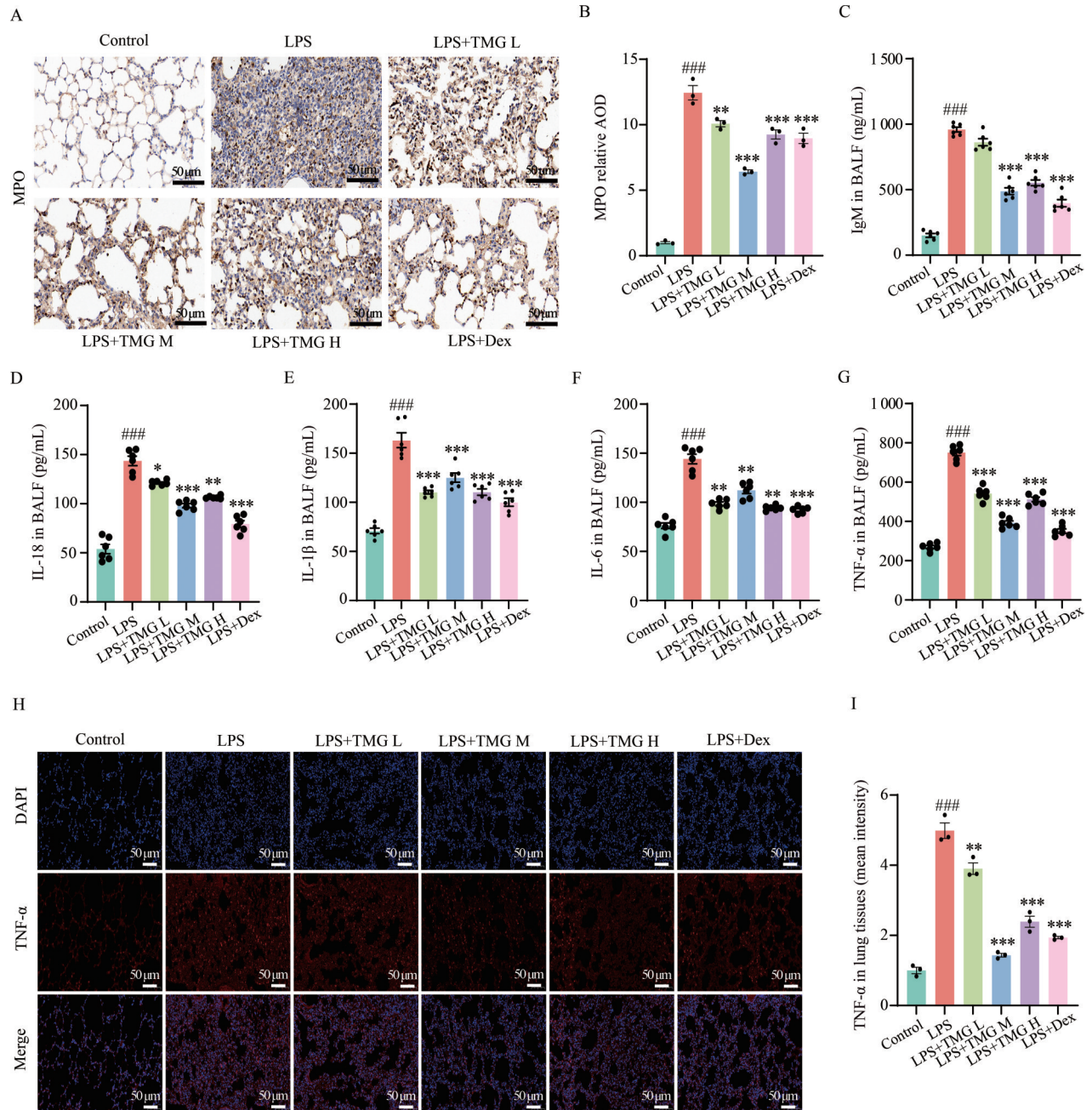
A: 肺组织 H&E 染色 ($\times 200$, 比例尺 = $100\ \mu\text{m}$); B: 肺损伤评分; C、D: IHC 分析肺组织中 F4/80 ($\times 400$, 比例尺 = $50\ \mu\text{m}$); E: 肺 D/W 重量比; F、G: 小鼠 BALF 中总蛋白和总细胞含量; 与 Control 组相比, ^{###} $P < 0.001$; 与 LPS 组相比, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$

图 5 TMG 减轻小鼠 ALI

Fig 5 TMG alleviates ALI in mice

2.1.7 TMG 减轻 LPS 诱导的小鼠 ALI 炎症反应 IHC 染色结果表明, 与 Control 组比, LPS 组肺组织中髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 表达明显升高 ($P < 0.001$), TMG 和 Dex 组表达量明显降低, 以 TMG 中剂量组减轻最明显 ($P < 0.01$), 见图 6A、B。ELISA 检测小鼠 BALF, 与 Control 组比, LPS 组

IgM、IL-1 β 、IL-18、IL-6、TNF- α 的表达量明显升高 ($P < 0.001$); 与 LPS 组比, TMG 和 Dex 组上述指标表达明显降低 ($P < 0.05$), 见图 6C~G。肺组织 IF 染色结果表明, 与 LPS 组相比, TMG 和 Dex 组肺组织 TNF- α 表达量明显降低 ($P < 0.01$), 见图 6H、I。综上所述, TMG 预处理可以减轻 ALI 炎症反应。



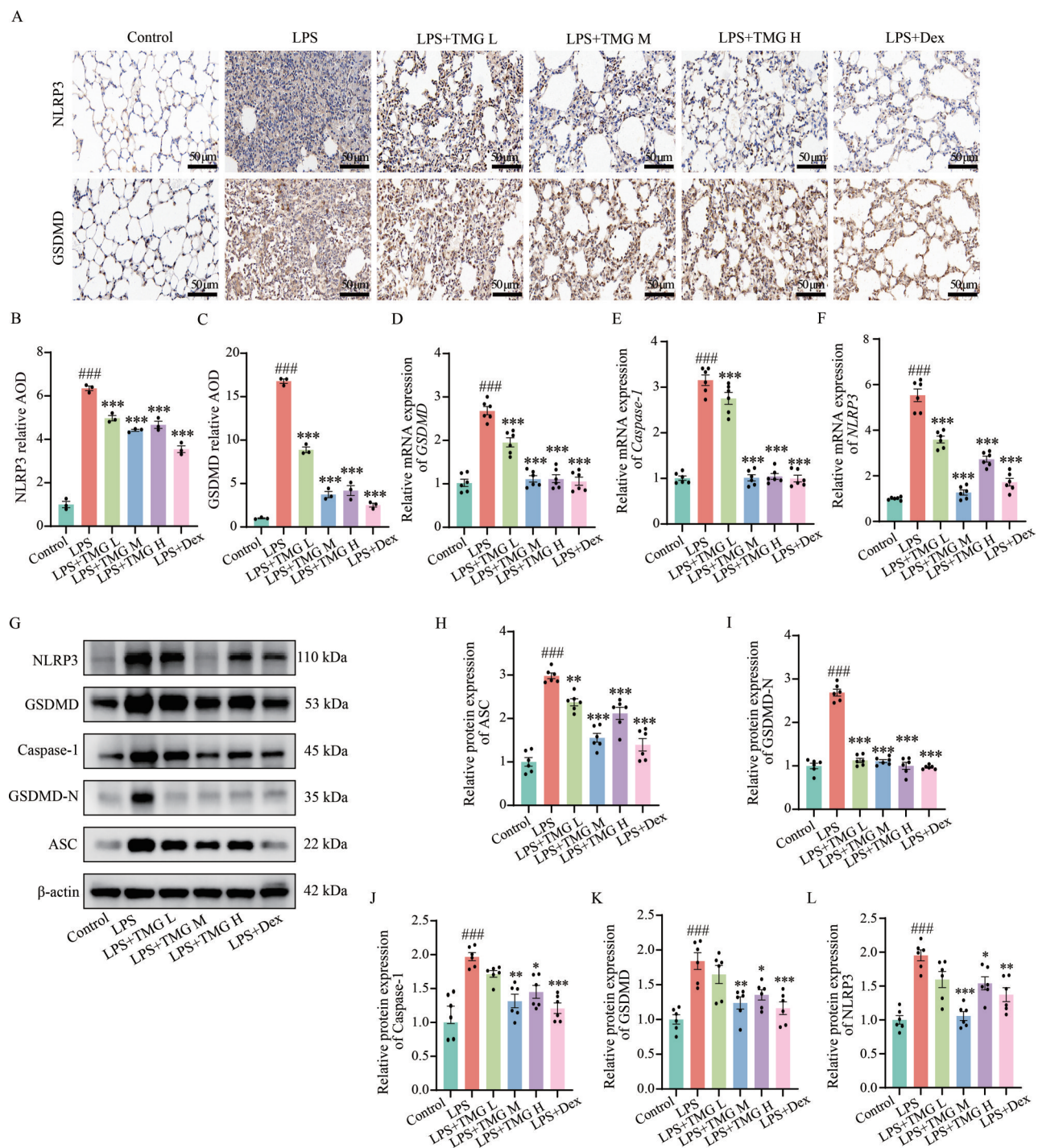
A, B: IHC 检测肺组织 MPO 表达 ($\times 400$, 比例尺 = 50 μm); C~G: ELISA 检测 BALF 中 IgM、IL-18、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平; H, I: IF 检测小鼠肺组织中 TNF- α 的表达; 肺组织用 TNF- α 染色 (红色), 细胞核用 DAPI 染色 (蓝色); 与 Control 组相比, ^{###} $P < 0.001$, 与 LPS 组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$

图 6 TMG 减轻 ALI 小鼠肺部炎症

Fig 6 TMG alleviates lung inflammation in mice with ALI

2.1.8 TMG 减轻 LPS 诱导 ALI 小鼠 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 介导的焦亡 IHC 染色结果显示, 与 Control 组相比, LPS 组肺组织 NLRP3、GSDMD 表达量明显升高 ($P < 0.001$); 与 LPS 组比, TMG 和 Dex 组表达降低 ($P < 0.001$), 见图 7A~C。RT-qPCR 结果表明, 与 Control 组相比, LPS 组肺组织中 *NLRP3*、*Caspase-1*、*GSDMD* mRNA 水平明显升高 ($P < 0.001$); 与 LPS 组比, TMG 和 Dex 组肺组织中

NLRP3、*Caspase-1*、*GSDMD* mRNA 表达量明显降低 ($P < 0.001$), 见图 7D~F。Western blot 结果表明, 与 Control 组比, LPS 组 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、GSDMD-N 蛋白表达量升高 ($P < 0.001$); 与 LPS 组比, TMG 和 Dex 组上述蛋白表达量明显降低 ($P < 0.05$), 见图 7G~L。说明 TMG 可能通过抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路介导的焦亡减轻 ALI 小鼠炎症反应。



A~C: IHC 染色检测肺组织中 NLRP3、GSDMD 表达 ($\times 400$, 比例尺=50 μm); D~F: RT-qPCR 检测肺组织中 GSDMD、Caspase-1、NLRP3 mRNA 表达水平; G~L: Western blot 检测肺组织中 ASC、GSDMD-N、Caspase-1、GSDMD、NLRP3 蛋白表达水平; 与 Control 组相比, $^{###}P < 0.001$, 与 LPS 组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$

图 7 TMG 抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路减轻小鼠 ALI

Fig 7 TMG inhibits the NLRP3/caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway to alleviate ALI in mice

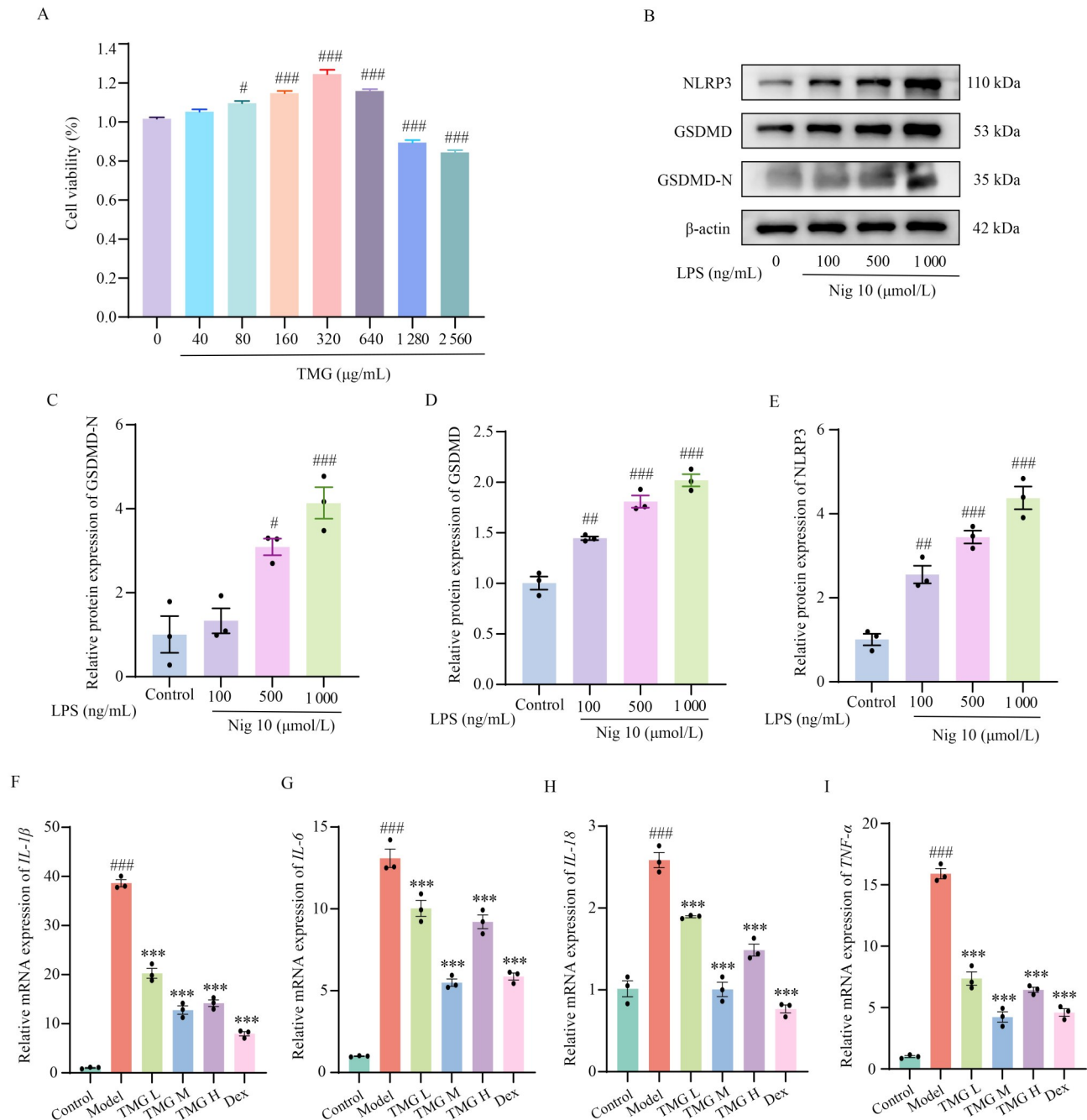
2.1.9 TMG 减轻 MH-S 细胞炎症反应 通过 CCK-8 实验筛选出 TMG 在 40~2 560 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内对 MH-S 细胞无明显细胞毒性, 在 640 $\mu\text{g/mL}$ 以后的浓度活性下降。因此, 选择 160、320、640 $\mu\text{g/mL}$ 3 个浓度进行后续实验(图 8A), 依次设为低(L)、中(M)、高(H)剂量组。Western blot 结果显示 LPS/Nig

造模时, 随着 LPS 浓度增加 NLRP3、GSDMD、GSDMD-N 蛋白表达量增加, 在 LPS 1 000 ng/mL 、Nig 10 $\mu\text{mol/L}$ 蛋白表达量最多($P < 0.001$), 故选择该条件建立 MH-S 细胞焦亡模型(Model 组), 见图 8B~E。在 MH-S 细胞焦亡模型中, RT-qPCR 结果显示, 与 Model 组相比, TMG 和 Dex 组 *IL-1 β* 、*IL-6*、

IL-18、*TNF- α* mRNA 表达量明显降低 ($P<0.001$), 见图 8F~I。说明 TMG 可以减少 MH-S 细胞焦亡炎症因子释放。

2.1.10 TMG 减轻 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 介导的 MH-S 细胞焦亡 Western blot 结果显示, 与 Control 组比, Model 组 MH-S 细胞中 ASC、Caspase-1、GSDMD-N、GSDMD、NLRP3 蛋白水平明

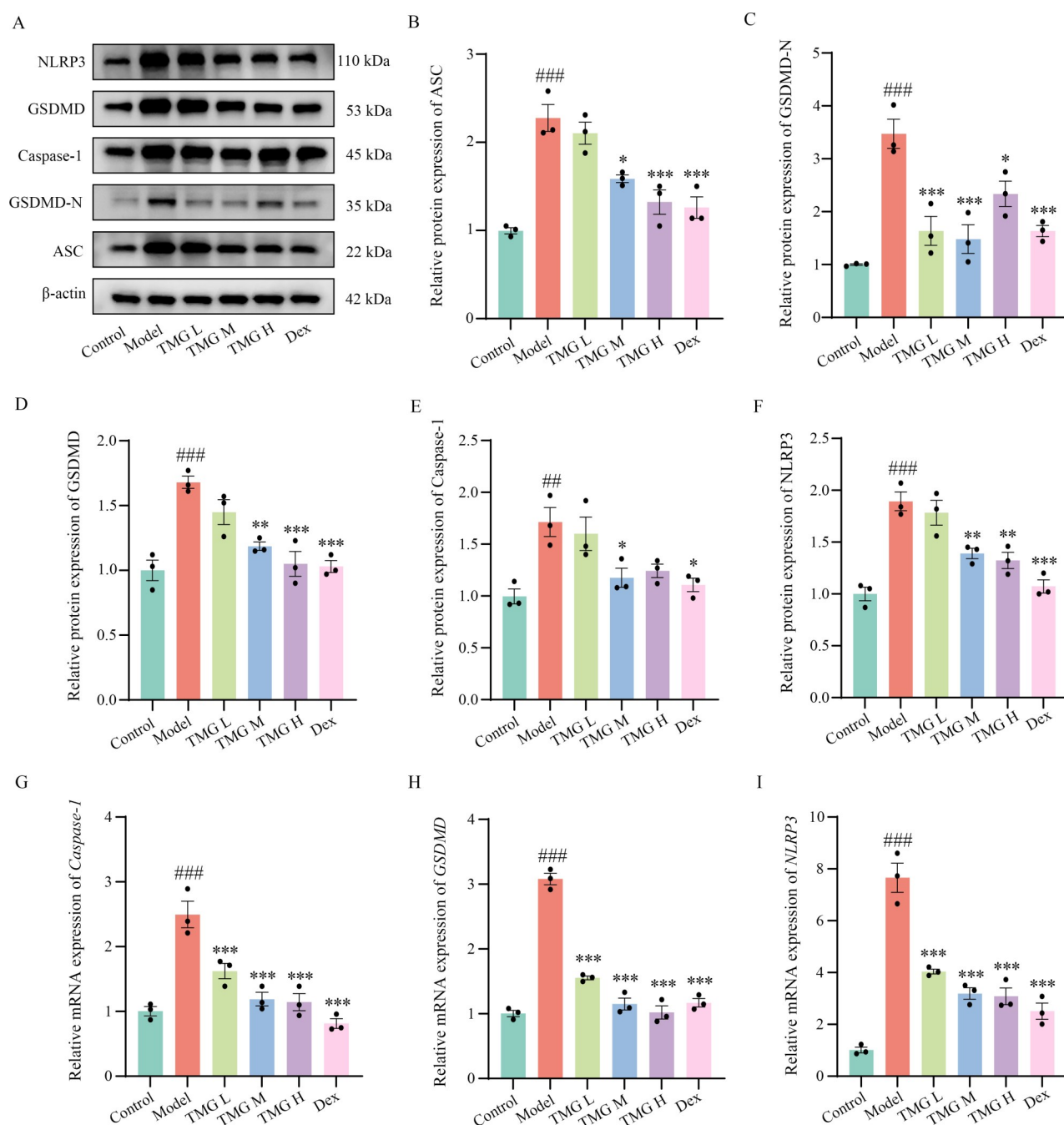
显升高 ($P<0.01$)。与 Model 组比, TMG 和 Dex 组上述蛋白表达量降低 ($P<0.05$), 见图 9A~F。RT-qPCR 结果表明, Model 组与 Control 组相比, *Caspase-1*、*GSDMD*、*NLRP3* mRNA 表达量升高 ($P<0.001$), 而 TMG 可以发挥与 Dex 相同的作用, 逆转了这一趋势 ($P<0.001$), 见图 9G~I。



A: CCK-8 检测 TMG (0、40、80、160、320、640、1280、2560 $\mu\text{g/mL}$) 处理后 MH-S 细胞的细胞活力; B~E: Western blot 检测不同浓度 LPS 联合 Nig (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理的 MHS 细胞 GSDMD-N、GSDMD、NLRP3 蛋白表达水平; F~I: RT-qPCR 检测 TMG 预处理焦亡模型 MH-S 细胞 *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-18* 和 *TNF- α* 的表达水平; 与 Control 组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; 与 Model 组相比, *** $P<0.001$

图 8 TMG 减轻 MH-S 细胞炎症反应

Fig 8 TMG alleviates inflammatory response in MH-S cells



A~F: Western blot 检测 MH-S 细胞中 ACS、GSDMD-N、GSDMD、Caspase-1、NLRP3 蛋白表达; G~I: RT-qPCR 检测 MH-S 细胞中 *Caspase-1*、*GSDMD*、*NLRP3* mRNA 表达水平; 与 Control 组相比, $^{##}P<0.01$, $^{###}P<0.001$; 与 Model 组相比, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$

图9 TMG 抑制 NLRP 3/Caspase-1/GSDMD 通路介导的 MH-S 细胞焦亡

Fig 9 TMG inhibits NLRP3/Caspase-1/GSDMD pathway-mediated pyroptosis in MH-S cells

3 讨论

ALI 发病机制复杂, 涉及多个靶点、途径和机制的跨网络相互作用, 其中肺部炎症是 ALI 的关键病理过程。ALI 初期, 活化的上皮及内皮细胞释放大量的炎症因子, 导致继发性炎症反应^[31]。随着病情进展, 炎症因子不断积累可引发严重的细胞因子风暴^[32]。细胞焦亡常常伴随炎症的发生, 它是一种涉及核 DNA 断裂的细胞死亡类型。当肺部发生炎症

时, NLRP3 被激活, Caspase-1 激活后裂解 GSDMD 为 GSDMD-N, 释放 IL-18、IL-1 β , 诱导细胞焦亡^[33,34]。AMs 可维持肺上皮的完整性^[35], 是肺泡中最丰富的免疫细胞, 保护肺免受致病性攻击, 维持免疫平衡和肺内稳态^[36]。AMs 中发生焦亡加重 ALI 患者的病情。遗憾的是, 单靶点药物对 ALI 的作用有限。中药活性成分多, 具有多药理活性、多靶点、多通路的特点, 为 ALI 治疗提供了新的前景。

蒲公英是“天然抗生素”,其抗炎效果已被广泛证实,TMG唯一入药成分就是蒲公英,但对ALI是否有抗炎作用尚不明确。本研究通过网络药理学结合体内、外实验阐明TMG治疗ALI的潜在机制。

网络药理学通过连接中药活性成分、相关靶点和相应疾病,可预测中药治疗疾病的作用靶点^[37]。研究表明槲皮素可以调节氧化应激、改善炎症,可以抑制NLRP3炎性囊泡的激活^[34],已被证实可以改善LPS诱导的ALI^[38]。本研究通过网络药理学分析发现萜类、 β -谷甾醇、槲皮素等是TMG治疗ALI的主要活性化合物,Src、PIK3R1、HSP90AA1、AKT1、MAPK1、TNF、IL-1 β 、TLR4是治疗ALI的度值较高靶点。KEGG通路分析 *T. mongolicum* 治疗ALI涉及多个信号通路,其中包括NOD-like信号通路。NLRP3/Caspase-1/GSDMD是经典的焦亡信号通路,在焦亡过程中产生大量的IL-1 β 和TNF,是ALI的重要发病机制之一。因此,本课题组假设TMG可以通过抑制焦亡来抑制炎症反应,从而减轻ALI。

本研究通过LPS诱导小鼠ALI和LPS/Nig诱导MH-S细胞焦亡模型来验证这一假设。首先,在体内验证了TMG对LPS诱导小鼠ALI是否有保护作用。在ALI小鼠模型中,H&E染色结果显示,LPS诱导小鼠出现肺泡断裂、融合成片、出血等严重的病理改变,肺损伤评分明显升高。F4/80是成熟小鼠巨噬细胞标志物,可以表达于肺的巨噬细胞,它是一种细胞表面糖蛋白。IHC染色结果表明,给予LPS后小鼠肺组织F40/80明显增加。此外,在LPS组BALF中细胞总数、总蛋白明显升高。给予TMG预处理后,小鼠肺组织病理损伤减轻,肺损伤评分下降,F40/80表达量减少,逆转了LPS引起的BALF中细胞总数和总蛋白升高,以TMG中剂量组效果最为明显,这些改变与Dex组效果无明显差异,表明TMG对ALI具有保护作用。

在ALI发展中全身炎症反应综合征是重要环节之一^[39],MPO被认为是中性粒细胞的特异性生物标志物,促炎细胞因子(IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α)会引发组织损伤及炎症^[40],因此抑制这些炎症细胞因子可以减弱LPS诱导的ALI。网络药理学表明MPO、IL-1 β 、TNF是TMG治疗ALI的靶点。分子对接进一步证实了TMG活性主要活性成分11 β ,13-dihydrotaraxinic acid β -glucopyranosyl ester 和 beta-sitosterole 分别对TNF、IL-1 β 具有良好的亲和

力。IHC染色结果表明TMG组较LPS组肺组织中MPO表达量降低。经TMG处理的ALI小鼠BALF中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IL-18表达量降低。在MH-S细胞焦亡模型中,经TMG处理后明显抑制IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IL-18 mRNA的表达。由此,证实了TMG可以减轻LPS所致肺组织急性炎症反应。

AM作为ALI的“开关”细胞^[41],在ALI早期,AM通过分泌促炎因子加重炎症级联反应^[42]。AM焦亡程度与ALI预后密切相关^[43]。研究表明,使用NLRP3抑制剂或靶向敲除AM中的NLRP3基因以减少AM焦亡也可有效减轻ALI的损伤程度^[7,44]。KEGG分析表明TMG治疗ALI与NOD-like通路有关。NLRP3是NOD-like受体中的一员,TMG中含有槲皮素具有抑制NLRP3炎症小体的作用。IHC及RT-qPCR结果表明TMG组ALI小鼠肺组织Caspase-1、GSDMD、NLRP3表达减少。Western blot结果表明TMG在体内和体外能抑制ASC、Caspase-1、NLRP3、GSDMD-N、GSDMD蛋白表达。在MH-S细胞焦亡模型中,经TMG处理后Caspase-1、GSDMD、NLRP3 mRNA的表达明显下降。这些结果表明TMG可能通过抑制NLRP3/Caspase-1/GSDMD介导的肺泡巨噬细胞焦亡减轻ALI。

综上所述,本研究结果表明LPS可以上调促炎因子,激活NLRP3引起小鼠ALI。TMG可以下调BALF细胞总数及总蛋白,减少IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IL-18炎症因子的产生,减轻ALI的病理过程。TMG对ALI的治疗未表现出剂量效应关系,可能与其作用成分、靶点、通路多有关。大部分结果表明,以临床剂量等效于小鼠中剂量效果最佳,甚至与Dex疗效媲美。TMG可能通过抑制NLRP3/Caspase1/GSDMD介导的肺泡巨噬细胞焦亡减轻ALI。遗憾的是,网络药理学分析提示 *T. mongolicum* 与其他多条信号通路相关,本研究暂未涉及其他信号通路的验证。这将是本课题组后续研究的重要任务。尽管本研究存在局限性,但揭示了TMG治疗肺部炎症潜在分子机制,对ALI治疗策略具有实践意义,为TMG治疗ALI的研究和应用提供了基础。通过KEGG分析表明, *T. mongolicum* 可能与癌症、糖尿病、乙型肝炎等多条信号通路有关,为TMG治疗这些疾病的研究提供了相关理论基础。

作者贡献度说明:

欧丽萍:数据管理、正式分析、方法论、验证、可视化、软件、初稿写作;陈良琪:调查、验证、软件;顾若琪:调查、方法论;周桂英:概念化、软件;张宝芳:资金获取、可视化;张权:稿件修改、监督、资金获取、项目管理、提供资源。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet*, 2021, 398 (10300): 622-637.
- Mazgaen L, Gurung P. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (2): 379.
- Sagui A, Fargo MV. Acute respiratory distress syndrome: Diagnosis and management[J]. *Am Fam Physician*, 2020, 101(12): 730-738.
- Kumar V. Pulmonary innate immune response determines the outcome of inflammation during pneumonia and sepsis-associated acute lung injury[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1722.
- Ornatowski W, Lu Q, Yegambaram M, et al. Complex interplay between autophagy and oxidative stress in the development of pulmonary disease [J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101679.
- Chen X, Tang J, Shuai W, et al. Macrophage polarization and its role in the pathogenesis of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(9): 883-895.
- Jiang R, Xu J, Zhang Y, et al. Ligustrazine alleviate acute lung injury through suppressing pyroptosis and apoptosis of alveolar macrophages[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 680512.
- Wei T, Zhang C, Song Y. Molecular mechanisms and roles of pyroptosis in acute lung injury [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2022, 135(20): 2417-2426.
- Zito G, Buscetta M, Cimino M, et al. Cellular models and assays to study NLRP3 inflammasome biology[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4294.
- Liu Y, Shang L, Zhou J, et al. Emodin attenuates LPS-induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *Inflammation*, 2022, 45 (2): 753-767.
- Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease[J]. *Immunity*, 2019, 50(6): 1352-1364.
- Jia C, Zhang J, Chen H, et al. Endothelial cell pyroptosis plays an important role in Kawasaki disease *via* HMGB1/RAGE/cathepsin B signaling pathway and NLRP3 inflammasome activation [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10): 778.
- Hadaya J, Benharash P. Prone positioning for acute respiratory distress syndrome (ARDS)[J]. *JAMA*, 2020, 324(13): 1361.
- Meduri GU, Rochweg B. POINT: Should corticosteroids be routine treatment in early ARDS? Yes [J]. *Chest*, 2021, 159(1): 25-29.
- Peleman C, Van Coillie S, Ligthart S, et al. Ferroptosis and pyroptosis signatures in critical COVID-19 patients [J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30(9): 2066-2077.
- Wang J, Wu Q, 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.
- Zhang C, Wang X, Wang C, et al. Qingwenzhike prescription alleviates acute lung injury induced by LPS *via* inhibiting TLR4/NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome activation[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 790072.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Part I [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- 谢晶, 许惠仙, 郭冬冬. 蒲公英根叶提取物通过调控炎症反应和氧化应激改善脓毒症大鼠急性肾损伤[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2020, 21(10): 901-904.
- Xie J, Xu HX, Guo DD. Dandelion root and leaf extract improves acute kidney injury in septic rats by regulating inflammation and oxidative stress [J]. *Chin J Integr Tradit West Nephrol*, 2020, 21(10): 901-904.
- 樊威, 蔡青, 邓金强. 蒲公英颗粒联合阿奇霉素治疗小儿肺炎支原体肺炎的疗效[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2021, 31(21): 55-57.
- Fan W, Cai Q, Deng JQ. Efficacy of dandelion granules combined with azithromycin in the treatment of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children [J]. *Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med*, 2021, 31 (21): 55-57.
- Xiao Q, Yu X, Yu X, et al. An integrated network pharmacology and cell metabolomics approach to reveal the role of rhein, a novel PPAR α agonist, against renal fibrosis by activating the PPAR α -CPT1A axis[J]. *Phytomedicine*, 2022, 102: 154147.
- He S, Wang T, Shi C, et al. Network pharmacology-based approach to understand the effect and mechanism of Danshen against anemia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 282: 114615.

- 23 Salaria P, Reddy MA. Network pharmacology approach to identify the calotropis phytoconstituents' potential epileptic targets and evaluation of molecular docking, MD simulation, and MM-PBSA performance[J]. Chem Biodivers, 2024, 21(5): e202400255.
- 24 Martin YC. A bioavailability score [J]. J Med Chem, 2005, 48(9): 3164-3170.
- 25 Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(W1): W357-W364.
- 26 Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. Curr Protoc Bioinform, 54: 1.30.1-1.30.33.
- 27 Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, et al. The STRING database in 2021: Customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets[J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(D1): D605-D612.
- 28 Xiang S, Li J, Shen J, et al. Identification of prognostic genes in the tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma[J]. Front Immunol, 2021, 12: 653836.
- 29 陈伟. 蒲公英及其单体对溃疡性结肠炎的作用机制 [D]. 上海: 上海交通大学, 2020.
Chen W. The effect and molecular mechanism of *Taraxacum officinale* and its monomer on ulcerative colitis [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2020.
- 30 Wu Q, Zhou M, Chen Y, et al. *Bletilla striata* polysaccharides protect against ARDS by modulating the NLRP3/caspase1/GSDMD and HMGB1/TLR4 signaling pathways to improve pulmonary alveolar macrophage pyroptosis[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 3): 117361.
- 31 Li N, Wang W, Jiang W, et al. Cytosolic DNA-STING-NLRP3 axis is involved in murine acute lung injury induced by lipopolysaccharide [J]. Clin Transl Med, 2020, 10(7): e228.
- 32 Liu B, Bao L, Wang L, et al. Anti-IFN- γ therapy alleviates acute lung injury induced by severe influenza A (H1N1) pdm09 infection in mice[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(3): 396-403.
- 33 Coll RC, Schroder K, Pelegrin P. NLRP3 and pyroptosis blockers for treating inflammatory diseases [J]. Trends Pharmacol Sci, 2022, 43(8): 653-668.
- 34 Fu J, Wu H. Structural mechanisms of NLRP3 inflammasome assembly and activation[J]. Annu Rev Immunol, 2023, 41: 301-316.
- 35 Chikina AS, Nadalin F, Maurin M, et al. Macrophages maintain epithelium integrity by limiting fungal product absorption[J]. Cell, 2020, 183(2): 411-428.e416.
- 36 Neupane AS, Willson M, Chojnacki AK, et al. Patrolling alveolar macrophages conceal bacteria from the immune system to maintain homeostasis [J]. Cell, 2020, 183(1): 110-125.e111.
- 37 黄美雯, 杨华杰, 周晓春, 等. 网络药理学在民族药研究中的应用与展望[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(15): 3187-3194.
Huang MW, Yang HJ, Zhou XC, et al. Advances on network pharmacology in ethnomedicine research [J]. Chin J Chin Mater Med, 2019, 44(15): 3187-3194.
- 38 Li X, Xiao C, Yuan J, et al. Rhein-attenuates LPS-induced acute lung injury *via* targeting NFATc1/Trem2 axis[J]. Inflamm Res, 2023, 72(6): 1237-1255.
- 39 Wang Z, Pu Q, Huang C, et al. Crosstalk between lung and extrapulmonary organs in infection and inflammation [J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1303: 333-350.
- 40 Karki R, Sharma BR, Tuladhar S, et al. Synergism of TNF- α and IFN- γ Triggers inflammatory cell death, tissue damage, and mortality in SARS-CoV-2 infection and cytokine shock syndromes[J]. Cell, 2021, 184(1): 149-168.e117.
- 41 聂志浩, 范青禄, 谢颂平. NLRP3炎症小体在急性肺损伤中的作用和机制[J]. 生命的化学, 2024, 44(4): 700-709.
Nie ZH, Fan QL, Xie SP. The role and mechanism of NLRP3 inflammasome in acute lung injury [J]. Chem Life, 2024, 44(4): 700-709.
- 42 Ye C, Li H, Bao M, et al. Alveolar macrophage-derived exosomes modulate severity and outcome of acute lung injury [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(7): 6120-6128.
- 43 Liu B, Li Y, Xiang J, et al. Significance of pyroptosis in immunoregulation and prognosis of patients with acute respiratory distress syndrome: Evidence from RNA-Seq of alveolar macrophages [J]. J Inflamm Res, 2023, 16: 3547-3562.
- 44 Liu B, Wang Z, He R, et al. Buformin alleviates sepsis-induced acute lung injury *via* inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis through an AMPK-dependent pathway[J]. Clin Sci (Lond), 2022, 136(4): 273-289.

[本文编辑] 陈思润