

基于网络药理学探讨鱼腥草在肺炎支原体感染中的作用机制及分子对接验证

马国立 王建波 樊家乙

河北省第一荣军优抚医院 河北 邢台 054000

摘要: 目的: 通过网络药理学与分子对接, 探究鱼腥草抗肺炎支原体感染的作用机制。方法: 通过筛选鱼腥草活性成分与靶点、构建网络、进行富集分析和分子对接等步骤进行研究。结果: 筛选出2个鱼腥草活性成分和43个潜在靶点, 并构建了“中药-活性成分-靶点-疾病”网络, 通过PPI蛋白互作网络筛选出分子对接的受体蛋白。靶点的富集分析显示, 主要参与炎症反应、免疫应答等生物学过程和信号通路。分子对接结果中, 槲皮素和山柰酚与TNF的结合能小于-5 KJ/mol, 提示其可能具有治疗肺炎支原体感染的作用。结论: 鱼腥草可能通过多种活性成分和靶点, 调节炎症反应和免疫应答等途径, 发挥治疗肺炎支原体感染的作用。

关键词: 鱼腥草; 肺炎支原体感染; 网络药理学

DOI:10.12417/2982-3838.25.01.001

肺炎支原体感染是引起人类呼吸道疾病的重要病原体之一, 尤其在儿童和青少年中具有较高的感染率。随着抗生素的滥用和病原体耐药性的增加, 寻找安全、有效的治疗方法已成为临床医学和药物研发领域的重要课题^[1]。传统中医药在治疗感染性疾病方面具有悠久的历史和丰富的经验, 其中鱼腥草作为一种常用的中药材, 其在抗炎、抗菌、抗病毒等方面的疗效已得到广泛认可^[2]。

网络药理学作为一种新兴的研究方法, 通过整合系统生物学、生物信息学、药物化学等多学科技术, 可以从整体水平探讨药物与疾病之间的相互作用关系^[3]。近年来, 网络药理学在揭示中药复杂成分与疾病靶点之间的联系方面取得了显著成果, 为中药现代化研究提供了新的思路和方法。

本文旨在利用网络药理学方法, 探讨鱼腥草对肺炎支原体感染的治疗机制。通过对鱼腥草活性成分的筛选、靶点识别、信号通路分析等方面进行研究, 旨在揭示鱼腥草治疗肺炎支原体感染的分子机制, 为鱼腥草的临床应用和新型药物研发提供理论依据。本研究不仅有助于深化对鱼腥草药效物质基础和作用机制的认识, 也为中医药现代化研究提供了有益的借鉴。

1 方法

1.1 数据的收集与处理

1.1.1 鱼腥草数据收集

通过中药系统药理学数据库和分析平台TCMSP, 以“鱼腥草”为关键词, 收集鱼腥草的化学成分, 根据其口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$, 药物相似性(DL) ≥ 0.18 为标准进行筛选^[4], 并获取化学成分的靶点。

1.1.2 肺炎支原体感染数据收集

以“Mycoplasma pneumoniae infection”、“Mycoplasma pneumoniae”等为关键词, 在Genecards数据库、NCBI数据库、OMIM数据库、DrugBank数据库中进行检索并分别收集与肺炎支原体感染相关的靶点。

1.1.3 获取鱼腥草与肺炎支原体感染交集靶点

将鱼腥草的活性成分所对应的靶点与肺炎支原体感染相关的靶点取交集, 获得鱼腥草抗肺炎支原体感染的潜在靶点, 最后通过微生信绘制Venn图。

1.2 网络构建与可视化

1.2.1 “中药-活性成分-靶点-疾病”网络

根据上述2.2得到的数据进行处理, 得到中药、活性成分、与疾病靶点的关联文件, 将此文件导入Cytoscape 3.10.3软件绘制网络图, 通过内置插件centiscape计算度值, 度值(Degree)越大, 代表在本网络中组分信息的交互关系越多, 是重要组分的可能性越大。

1.2.2 PPI蛋白互作网络

通过Cytoscape 3.9.1中的String插件, 生物选择为“智人”, 进行分析。在基本设置中, 调整网络最低互动要求分数为中等置信度(0.400), 获得PPI网络。通过MCODE插件对网络中各靶点进行排序, 获得的各靶点得分可以为后续分子对接研究提供了优先级排序。

1.3 富集分析

富集分析是一种生物信息学方法, 用于确定一组基因或

蛋白质在特定的生物过程、代谢路径或细胞组分中是否过度表示。通过 DAVID 数据库对上述所确定的关键靶点进行富集分析，其中物种选择为“Homo sapiens”。富集分析选项中的重点项目包括：基因本体论分类（Gene Ontology, GO）的功能注释富集分析、通路富集分析（Pathway enrichment analysis, KEGG）。

利用微信网站进行所得项目通路的可视化处理，GO 分析结果通过气泡图来展示，KEGG 分析结果通过条形图进行展示。

1.4 分子对接

根据 PPI 网络选取靶点，选取完成后在 PDB 数据库下载其对应的文件，活性成分选择完成后在 PubChem 在线网站下载其 3D 结构，完成对配体分子文件的准备。利用 Open Babel、Autodock4 对靶点受体、分子配体进行处理^[1]，如靶点去水分子、添加氢原子和计算电荷数等，分子文件后缀修改、确定其构象、优化其能量等。对接方式选择半柔性对接，利用 Autodock4 进行分子对接，对接完成后选择最优的结合方式利用 PyMOL 进行可视化。

2 结果与分析

2.1 数据结果

2.1.1 鱼腥草数据

经过 TCMSP 数据库挖掘、活性成分筛选、靶点收集等处理，后续可进行数据统计分析的 5 个活性成分，收集到鱼腥草的活性成分对用的靶点去重后共计个 165 个靶点。

2.1.2 肺炎支原体感染数据

在 GeneCards 数据库中收集到肺炎支原体感染相关靶点 330 个，在 OMIM 数据库中收集到 79 个，在 Drugbank 数据库中收集到 32 个，在 NCBI 数据库中收集到 54 个。将靶点进行去重，后续数据处理的靶点共有 431 个。

2.1.3 鱼腥草与肺炎支原体感染的交集靶点

将鱼腥草的 165 个靶点与肺炎支原体感染相关的 431 个靶点取交集，得到鱼腥草抗肺炎支原体感染的靶点共 43 个，见下图 3.1。利用得到鱼腥草抗肺炎支原体感染的靶点进行反向筛选，去除无抗肺炎支原体感染作用的活性成分，为后续构建网络进行准备。

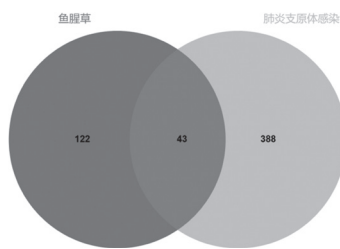


图 3.1 鱼腥草抗肺炎支原体感染作用靶点获取

2.2 网络与可视化

2.2.1 “中药 – 活性成分 – 靶点 – 疾病”网络

将“中药 – 活性成分 – 靶点 – 疾病”间的联系进行可视化，如下图 3.2 所示，网络组成成分包括：节点（Node）47 个，代表组分的信息；边（Edge）102 条，代表组分间的交互关系。其中，黄色圆形为鱼腥草，绿色八边形为活性成分，蓝色倒 V 形为靶点，红色三角形为肺炎支原体感染。

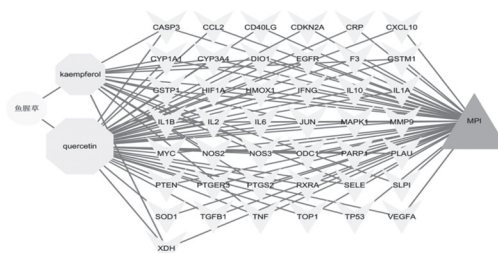


图 3.2 “中药 – 活性成分 – 靶点 – 疾病”网络

2.2.2 PPI 蛋白互作网络

将 43 个靶点通过 String 导入 Cytoscape 3.10.3 中，利用 MCODE 插件进行分析，可得出 PPI 网络。分析结果如下图 3.3 所示，为 43 个靶点的 PPI 网络，其中节点 43 个，边 494 条，后续使用此网络中的靶点进行富集分析。

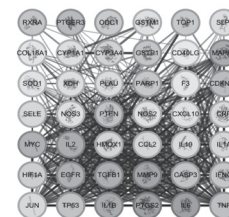


图 3.3 鱼腥草抗肺炎支原体感染作用潜在靶点的蛋白互作网络、子网络

2.3 富集分析结果

43 个靶点导入 David 平台进行富集分析后，由 $-\log_{10}$ (pvalue) 的倒序排列可了解相关项目通路在关键靶点中的显著性，越大的负对数表示越显著的结果，将各项目中数据显著的前 20 条通路在微信网站进行可视化处理。

2.3.1 GO 富集

此富集为根据已知基因的功能信息，将鱼腥草抗肺炎支原体感染研究得到的关键靶点与 GO 数据库中的基因功能进行比较，以发现在特定功能上显著富集的基因，主要包括生物学过程（Biological process）、细胞组分（Cell component）、分子功能（Molecular function）。分析结果显著的部分项目如 3.4、3.5、3.6 所示。生物学过程包含条目 284 条，细胞组分包含条目 26 条，分子功能包含条目 51 条。

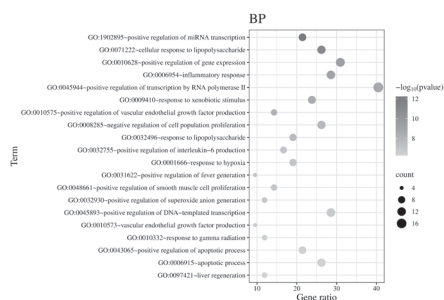


图 3.4 GO 富集 - 生物学过程

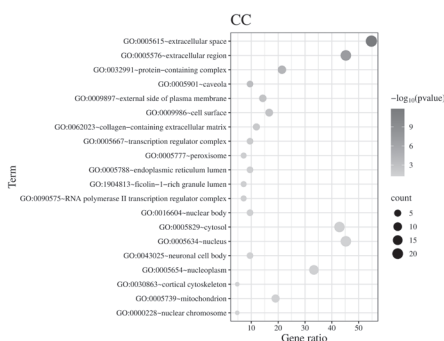


图 3.5 GO 富集 - 细胞组分

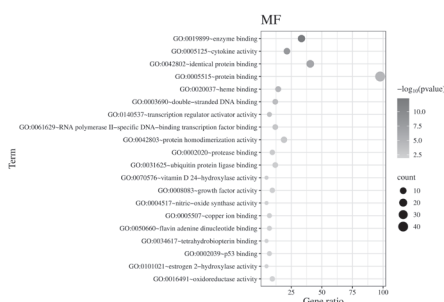


图 3.6 GO 富集 - 分子功能

2.3.2 KEGG 富集

KEGG 富集分析是将关键靶点通过通路数据和反应式进行注释,找出在特定代谢或信号途径上显著富集的基因。KEGG 分析结果包含 125 条,结果显著的前 20 条通路如图 3.7 所示,主要包括癌症的通路、IL-17 信号通路等通路。

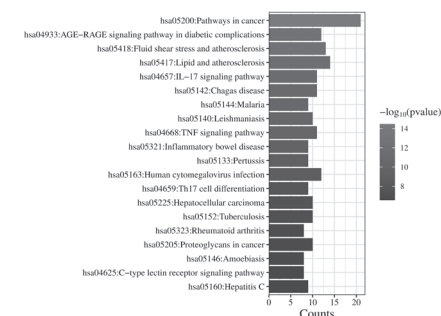


图 3.7 KEGG 富集分析

2.4 分子对接

将鱼腥草具有的靶点与活性成分进行筛选并结合网络分

析的度值,最终选择槲皮素、山柰酚进行分子对接。根据 PPI 蛋白互作网络的分析结果进行综合考虑,确定使用 TNF 进行分子对接。

结合能可以用来评估配体和受体之间的亲和力以及它们是否具有可能的生物活性,通常以结合能小于等于 -5KJ/mol 作为筛选标准。TNF 与槲皮素的结合能为 -6.5KJ/mol , TNF 山柰酚的结合能为 -6.1KJ/mol ,对接结果结合能均小于 -5KJ/mol ,表示对接复合物稳定性较高且可能有潜力成为有效的药物分子。分子对接最优结果模式如图 3.8 所示。

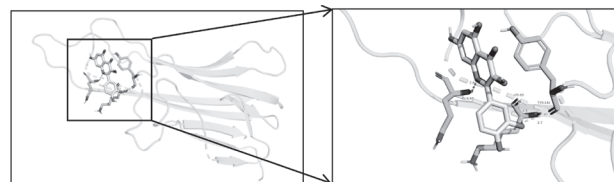


图 3.8 TNF 与槲皮素对接模式图

3 讨论

本研究通过网络药理学方法,结果显示:鱼腥草中的 2 个活性成分可以与肺炎支原体感染相关靶点相互作用,共有靶点包含 43 个,提示鱼腥草可能通过多成分、多靶点、多途径的方式发挥抗肺炎支原体感染作用。富集分析结果显示,关键靶点主要参与炎症反应、免疫应答等生物学过程和信号通路,这进一步支持了鱼腥草可能通过调节炎症反应和免疫应答等途径发挥抗肺炎支原体感染作用的假设。此外,分子对接结果显示,鱼腥草中的活性成分槲皮素和山柰酚可以与肺炎支原体感染相关靶点 TNF 结合,进一步支持了鱼腥草的抗炎作用机制。

本研究结果为鱼腥草治疗肺炎支原体感染提供了理论依据,并为开发新型抗肺炎支原体感染药物提供了新的思路。然而,本研究缺乏实验验证,后续计划进一步通过体外实验和体内实验验证鱼腥草在肺炎支原体感染中的作用机制。

参考文献:

- [1] 谈倩蕾,卜笃翰,韩馨怡.儿童肺炎支原体感染特征及危险因素分析[J].大医生,2025,10(01):13-15.
- [2] 王旭,韩耀巍,孙丹,等.基于 CiteSpace 的中医药治疗肺炎支原体感染的可视化研究[J].天津中医药大学学报,2024,43(01):50-57.
- [3] 王玉如,刘寨东.基于网络药理学探讨复方阿胶浆干预癌因性疲乏的作用机制研究[J].现代中西医结合杂志,2024,33(04):528-537.