

基于网络药理学与动物实验探索“消暗瘀方”调控哮喘的作用机制

张宇婧¹, 梁 磊¹, 安兰花¹, 韩 鹏¹, 闫永彬^{2*}

(1. 河南中医药大学儿科医学院, 河南 郑州 450000; 2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 基于“伏风暗瘀宿痰”哮喘病机新说对“搜风愈喘方”拆方“消暗瘀方”进行网络药理学分析并设计动物实验对结果进行验证, 探讨“消暗瘀方”治疗哮喘的潜在靶点及可能作用机制。**方法** 采用中药系统药理数据库和分析平台 (TCMSP) 筛选“消暗瘀方”的有效成分和靶点, 疾病数据库筛选哮喘疾病靶点, 两者取交集获得“有效成分-疾病”靶点; STRING 数据库分析关键靶点蛋白间的相互作用关系; DAVID 数据库进行 GO 分析、KEGG 富集分析。建立慢性哮喘大鼠模型, 对网络药理学得到的哮喘相关通路和靶点进行验证。**结果** STRING 数据库得到目标靶点 120 个, 包括 *STAT3*、*VEGF-A*、*TNF-α*、*IL-6* 等; KEGG 富集到与哮喘相关的通路 124 条, 包括 PI3K/Akt 通路、Toll 样受体通路等。动物实验表明, “消暗瘀方”可下调大鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达 ($P<0.05$), 抑制 PI3K-Akt 通路, 下调肺组织 *IL-6*、*TNF-α*、*VEGF-A* mRNA 表达 ($P<0.05$), 减轻哮喘大鼠肺组织炎症浸润, 抑制气道重塑进程。**结论** “搜风愈喘方”拆方“消暗瘀方”可抑制 PI3K-Akt 通路的激活, 降低肺组织 *IL-6*、*TNF-α*、*VEGF-A* mRNA 表达, 可能通过抑制机体炎症反应、血管生成等途径减轻哮喘的气道炎症, 延缓气道重塑的进程。

关键词: “消暗瘀方”; 哮喘; 网络药理学; 炎症反应; 血管生成; PI3K-Akt 通路

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)07-2403-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.052

哮喘是一种常见的慢性呼吸道疾病, 也是目前我国面临的一个巨大的公共卫生挑战^[1]。其特征是可变气流受限、黏液高分泌和支气管收缩, 是气道对外部刺激的高反应性、气道炎症和气道重塑的结果^[2]。糖皮质激素是治疗哮喘的一线药物^[3], 但激素的临床应用受到高剂量或长期使用导致不良副作用的限制, 对于严重哮喘的患者疗效欠佳^[4]。因此, 亟需开发更好的治疗哮喘的药物。

中医药治疗哮喘疗效确切, 课题组前期对哮喘理论进行研究, 提出“伏风暗瘀宿痰”的小儿哮喘病机新说^[5], 创立祛风、化痰、活血法并施的“搜风愈喘方”, 临床疗效佳^[6-7]。课题组认为壅塞致疾虽有三因, 但以“暗瘀”最为首要, 因血瘀为病, 证见多端, 且易变生它证^[5-6]。研究表明, 活血化瘀法可以通过调节血管新生, 改善气道重塑, 防止哮喘的发生与进展^[8]。前期课题成果初步证实了本方可通过调控 TGF-β1、VEGF 因子抑制哮喘气道重塑^[9]。本研究参照“伏风暗瘀宿痰”之哮喘病机, 利用中药功效分组研究法^[10]将“搜风愈喘方”中有化瘀消积功效的药物拆为“消暗瘀方”, 利用网络药理学技术, 探索“消暗瘀方”治疗哮喘的分子机制, 并设计动物实验进行验证, 为“搜风愈喘方”的新药开发提供理论依据。

1 材料

1.1 数据平台 中药系统药理学数据库及分析平台 (TCMSP); Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>); TTD 数据库; GeneCards 数据库 (<http://www.genecards.org/>); DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com/drugs>); 人类孟德尔遗传网 (OMIM); STRING11.0 数据库 (<https://string-db.org/>); DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>); Cytoscape 3.7.1 软件。

1.2 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 48 只, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 2019-0003, 在无病原菌条件下按标准饲料喂养, 动物实验方案由河南中医药大学第一附属医院伦理委员会批准。

1.3 药物 消暗瘀方由党参 10 g、甘草 6 g、山楂 10 g、莱菔子 10 g、红花 6 g 组成, 药材均从张仲景大药房购入, 经河南中医药大学陈随清教授鉴定为正品, 蒸馏水浸泡、煎煮、浓缩。醋酸地塞米松片 (天津力生制药股份有限公司, 批号 1508156)。

1.4 试剂 白蛋白 (OVA) (美国 Sigma 公司, 批号 A5503); 氢氧化铝凝胶 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 批号 77161); 4% 多聚甲醛 (合肥白鲨生物科技有限

收稿日期: 2022-03-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81574020, 81973903); 河南省中医药科学研究专项课题 (20-21ZY1002)

作者简介: 张宇婧 (1997—), 女, 硕士生, 研究方向为中医药治疗小儿感染系统疾病。Tel: 15738887360, E-mail: zyj15738887360@163.com

* 通信作者: 闫永彬 (1969—), 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, 研究方向为中医药治疗小儿消化、感染系统疾病。Tel: 15515730918, E-mail: yanyongbin827@sina.com

公司, 批号 BL539A); GAPDH 抗体、RNA 提取液 (武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号 GB12002、G3013); PI3K p85 alpha (Tyr07) 抗体 (美国 Affinity 公司, 批号 AF3241); Akt (phospho Ser473) 抗体 (美国 GeneTex 公司, 批号 GTX128414)。

2 方法

2.1 “消暗瘕方”相关靶点筛选 通过 TC MSP^[11] 平台检索“消暗瘕方”中党参、甘草、山楂、莱菔子、红花 5 味中药的化学成分, 并根据口服利用度 (OB) ≥ 30%、类药性 (DL) ≥ 0.18 进行 ADME 筛选, 得到主要活性成分所对应的蛋白质靶点, 在 Uniprot 蛋白质数据库将蛋白质靶点转化为基因靶点。

2.2 疾病靶点筛选 检索 OMIM、TTD、GeneCards、DrugBank^[12] 疾病靶点数据库, 以“Asthma”“Allergic Asthma”为检索词检索哮喘的潜在靶点, 合并疾病数据库所得靶点后, 删除重复。

2.3 蛋白质互作网络及核心靶点筛选 将“消暗瘕方”药物靶点与哮喘潜在靶点取交集, 绘制韦恩图。将交集靶点上传至 STRING 11.0 数据库^[13], 将生物种类设定为“人类”, 最小互相作用阈值设定为“highest confidence > 0.9”, 构建“消暗瘕方”药物靶点与哮喘疾病靶点蛋白互作 (PPI) 网络模型, 获得“消暗瘕方”与哮喘靶点的 PPI 网络。

2.4 GO 功能与 KEGG 通路富集分析 运用 DAVID^[14] 平台对交集靶点进行 KEGG、GO 富集分析, GO 分析包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)。筛选相关生物过程与通路, 分析与哮喘关系密切的靶点及信号通路。

2.5 动物分组 将 48 只 SPF 级大鼠随机分为对照组、哮喘组、地塞米松组、中药组, 每组 12 只。

2.6 慢性哮喘大鼠模型建立 大鼠适应性喂养 1 周后, 依照文献 [9] 报道方法建立慢性哮喘大鼠模型。对照组大鼠注射生理盐水 1 mL, 其余各组大鼠五点注射含 1 mg OVA 和 100 mg 氢氧化铝凝胶的混合致敏液 1 mL, 1 周后重复上述致敏过程。致敏完成后, 将大鼠置于自制密闭透明雾化箱中, 给予卵蛋白溶液 (1% OVA) 雾化吸入激发哮喘, 每天激发 20 min, 共 20 d, 每天观察并记录各组大鼠的呼吸情况和行为学变化。末次激发后, 各组随机挑选 2 只大鼠进行肺功能检测, 以其呼吸情况和行为学异常 (呼吸频率加快、点头呼吸、口周发绀、腹肌痉挛、烦躁不安、抓耳挠腮、易激惹好斗等)、肺功能异常及肺组织病理出现炎症浸润、气道壁增厚等改变标志哮喘造模成功。

2.7 药物干预 课题组前期药物剂量研究结果表明, 搜风愈喘方中剂量组疗效较好^[15-16], 故此次拆方选用中剂量换算消暗瘕方剂量为 4.4 g/kg。各组大鼠每天雾化激发前 30 min 灌胃给予相应药物, 连续 30 d, 中药组灌胃给予消暗瘕方煎煮液 4.4 g/kg, 地塞米松组灌胃给予地塞米松溶

液 0.25 mg/kg, 对照组、哮喘组均灌胃给予生理盐水 10 mL/kg。

2.8 病理学观察 各组大鼠末次给药后安乐死处理, 分离大鼠肺组织, 多聚甲醛固定 24 h 后包埋、切片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 于显微镜下随机选取 3 个完整的细支气管横断面观察肺组织病理变化。运用图像分析软件测量大鼠气道壁面积 (WAt)、大鼠气道基底膜周径 (Pbm)、大鼠气道平滑肌面积 (WAm), 计算 WAm/Pbm、WAt/Pbm 值, 分别代表大鼠平滑肌、气道壁厚度, 评估各组大鼠气道重塑的严重程度。

2.9 免疫组化 (IHC) 法检测肺组织 p-PI3K、p-Akt 表达 取肺组织石蜡切片, 脱蜡, 抗原修复, 孵育一抗 (p-PI3K、p-Akt)、二抗, DAB 显色, 复染细胞核, 脱水、封片后于显微镜下观察, 采用图像分析软件测定 p-PI3K、p-Akt 阳性表达平均光密度值。

2.10 RT-qPCR 法检测肺组织 VEGF-A、TNF-α、IL-6 mRNA 表达 提取肺组织总 RNA, 根据试剂盒说明操作反转录成 cDNA。采用 PCR 仪进行扩增, 反应程序为 95 ℃ 变性 15 s, 60 ℃ 退火 30 s, 共 40 个循环。根据 2^{-ΔΔCT} 法计算 VEGF-A、TNF-α、IL-6 mRNA 相对表达, 引物序列见表 1。

表 1 引物信息

基因	引物序列	长度/bp
TNF-α	正向 5'-GGTCCCAACAAGGAGGAGAAGT-3'	127
	反向 5'-GGTTTGCTACGACGTGGGCTA-3'	
IL-6	正向 5'-AAGAGACTTCCAGCCAGTTGCC-3'	107
	反向 5'-TGTGGGTGCTATCCTCTGTGAAG-3'	
VEGF-A	正向 5'-GCACCTGGACCCCTGGCTTTACT-3'	102
	反向 5'-AACTTCACCACTTCATGGGCTTT-3'	

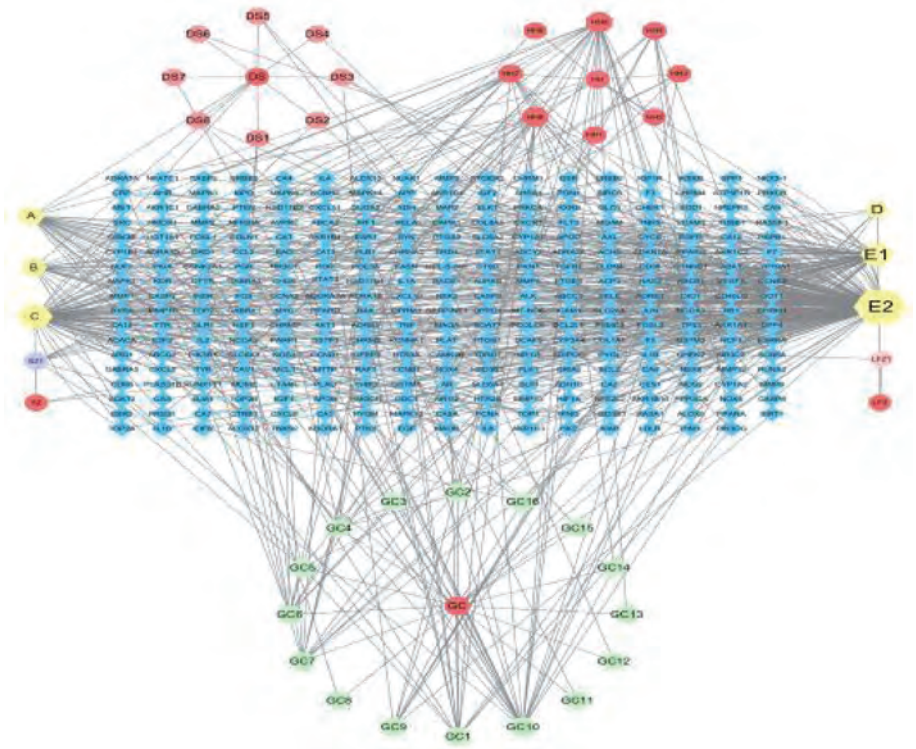
2.11 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 符合正态分布的数据, 组间比较采用单因素方差分析; 不符合正态分布的数据, 组间比较采用非参数检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 中药靶点分析 TC MSP 数据库检索到 229 种“消暗瘕方”活性成分, 经参数筛选及文献报道补充后^[17-19], 获得党参 11 种、红花 12 种、莱菔子 2 种、甘草 20 种、山楂 4 种。在 Uniprot 数据库中得到党参基因靶点 99 个、红花 200 个、山楂 91 个、莱菔子 4 个、甘草 215 个, 删除重复值后, 得到“消暗瘕方”基因靶点 307 个。“消暗瘕方”-活性成分-靶点图见图 1。

3.2 哮喘相关靶点筛选 检索 OMIM、TTD、Drugbank、Genecards 疾病数据库, 分别得到哮喘靶点数 43、137、103、1 053 个, 合并数据并去除重复值后得到 1 220 个靶点。“消暗瘕方”药物与哮喘疾病两者交集靶点共 120 个, 见图 2。

3.3 “消暗瘕方”成分-哮喘靶点 PPI 网络构建 将 120 个交集靶点提交至 STRING 11.0 平台, 得到“消暗瘕方-哮喘”的 PPI 网络, 将相关数据导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 计算 Degree 值。结果, 与哮喘作用密切的核心靶点有



注：蓝色表示靶点，DH 代表党参，HH 代表红花，SZ 代表山楂，LFZ 代表莱菔子，GC 代表甘草，正八形为药物活性成分。A 为党参、红花共有成分，B 为党参、甘草共有成分，C 为党参、红花、山楂共有成分，D 为莱菔子、甘草共有成分，E1、E2 为红花、甘草、山楂共有成分。

图 1 “消暗瘵方”-活性成分-靶点图

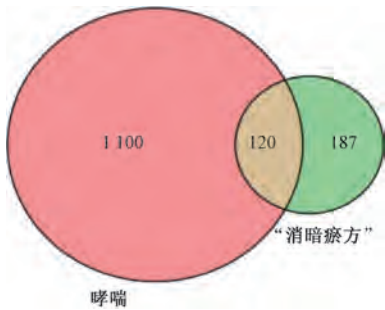


图 2 药物-疾病靶点交集 Venn 图

STAT3 (Degree 值为 36)、*TNF-α* (Degree 值为 30)、*IL-6* (Degree 值为 24)、*VEGF-A* (Degree 值为 17) 等，通过 Cytoscape 3.7.1 软件将核心靶点网络可视化，见图 3。

3.4 GO 功能与 KEGG 通路富集分析 运用 DAVID 平台对上述 120 个关键靶点进行富集分析。KEGG 结果显示“消暗瘵方”作用于哮喘的通路共涉及 124 条，与哮喘关系密切的主要通路有 *PI3K-Akt* 通路（富集基因数 21 个）、*Toll* 样受体通路（富集基因数 15 个）、*HIF-1α* 通路（富集基因数 15 个）等，绘制 KEGG 通路气泡图，见图 4A。GO 分析得到“消暗瘵方”作用于哮喘的分子功能（MF）87 个，



注：节点颜色由深变浅代表 Degree 值由大变小，黄色倒三角形为目标节点，圆形为目标节点相关的节点。

图 3 核心靶点网络图

生物学过程 (BP) 395 个，细胞组分 (CC) 46 个。分子功能主要有细胞基质改变、蛋白磷酸酶结合等，生物学进程主要有缺氧、细胞增殖、凋亡、血管生成等，细胞组分主要有细胞外区域、质膜、细胞表面等，绘制 GO 富集分析条形图 (图 4B~4D)、成分-靶点-通路网络图 (图 5)。

3.5 “消暗瘵方”对哮喘大鼠肺组织病理的影响 如图 6 所示，与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织气道结构严重破坏，气道平滑肌肥厚，肺泡壁严重增厚，部分肺泡融合、破裂、扩张成为肺大疱，支气管、血管周围大量炎症细胞浸润；与哮喘组比较，地塞米松组和中药组大鼠肺组织肺

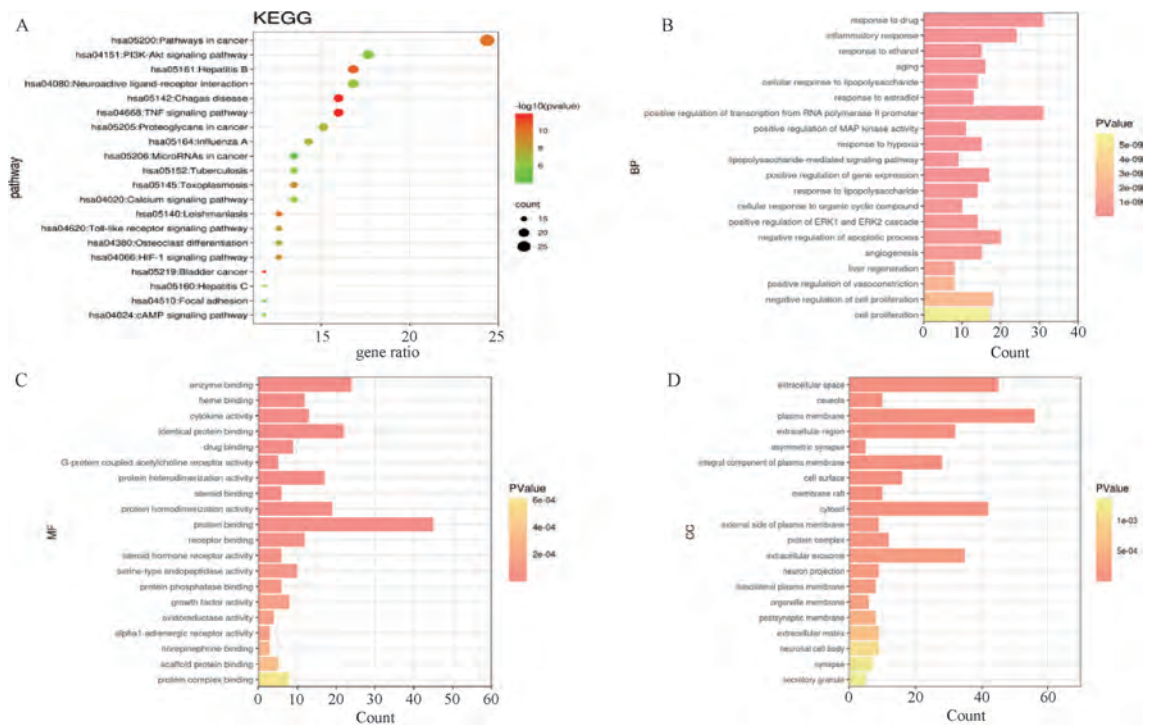


图 4 GO 功能、KEGG 通路富集分析

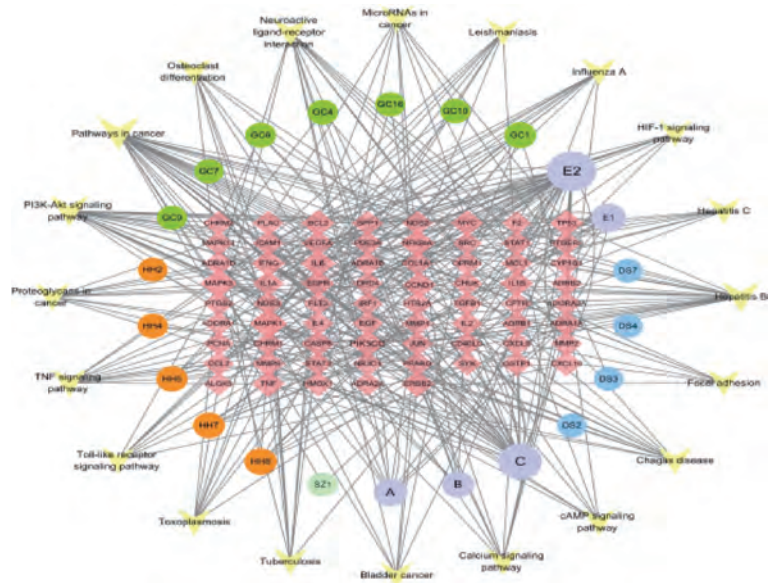


图 5 成分-哮喘靶点-通路网络图

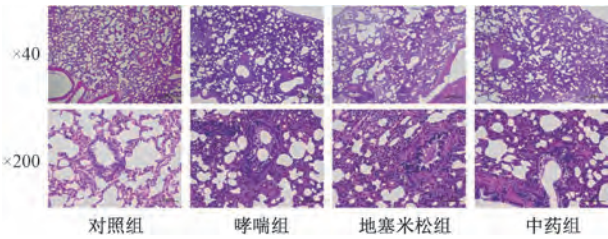


图 6 各组大鼠肺组织 HE 染色

泡腔轻度增大，肺泡壁增厚不明显，血管与支气管周围可见炎症细胞浸润分布，气道结构基本完整。

3.6 “消暗瘀方”对哮喘大鼠气道重塑的影响 如表 2 所示，与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织 WAt/Pbm、WAm/Pbm 值升高 ($P<0.05$)，表明哮喘组大鼠出现气道重塑的病理改变；与哮喘组比较，地塞米松组及中药组大鼠肺组织 WAt/Pbm、WAm/Pbm 值降低 ($P<0.05$)，表明经“消暗瘀方”干预后哮喘大鼠的气道重塑程度明显减轻。

3.7 “消暗瘀方”对哮喘大鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt 表达的影响 如图 7、表 3 所示，与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt 表达增加 ($P<0.05$)；与哮喘组比较，地塞米松组、中药组大鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt 表达减少

表 2 各组大鼠 WAt/Pbm、WAm/Pbm 值比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	WAt/Pbm	WAm/Pbm
对照组	29.40±1.05	6.47±0.67
哮喘组	38.50±1.62 [#]	12.09±1.59 [#]
地塞米松组	32.00±1.07 [*]	8.64±0.60 [*]
中药组	33.21±1.11 [*]	9.73±0.73 [*]

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与哮喘组比较，^{*} $P<0.05$ 。
($P<0.05$)，表明经“消暗瘵方”干预后哮喘大鼠肺组织 PI3K-Akt 通路受到抑制。

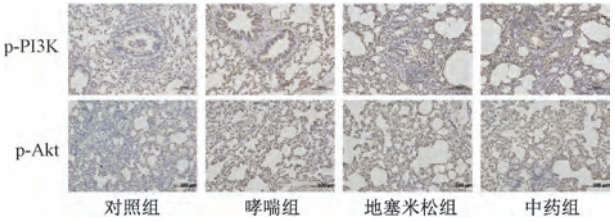


图 7 各组大鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt 免疫组化图 (×200)

表 3 各组大鼠肺组织 p-PI3K、p-Akt 平均光密度值比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	p-PI3K	p-Akt
对照组	0.21±0.03	0.12±0.05
哮喘组	0.38±0.04 [#]	0.33±0.04 [#]
地塞米松组	0.31±0.03 [*]	0.21±0.03 [*]
中药组	0.32±0.04 [*]	0.22±0.10 [*]

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与哮喘组比较，^{*} $P<0.05$ 。
3.8 “消暗瘵方”对哮喘大鼠肺组织 VEGF-A、TNF- α 、IL-6 mRNA 表达的影响 如表 4 所示，与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织 VEGF-A、IL-6、TNF- α mRNA 表达升高 ($P<0.05$)；与哮喘组比较，地塞米松组、中药组大鼠肺组织 VEGF-A、IL-6、TNF- α mRNA 表达均降低 ($P<0.05$)。

表 4 各组大鼠肺组织 IL-6、TNF- α 、VEGF-A mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	IL-6	TNF- α	VEGF-A
对照组	1.00±0.18	1.00±0.12	1.00±0.08
哮喘组	4.10±0.77 [#]	5.60±0.86 [#]	3.96±0.56 [#]
地塞米松组	1.41±0.55 [*]	2.53±0.33 [*]	2.02±0.40 [*]
中药组	2.01±0.50 [*]	3.07±0.45 [*]	2.27±0.30 [*]

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ；与哮喘组比较，^{*} $P<0.05$ 。

4 讨论

本研究基于网络药理学方法，构建了“搜风愈喘方”拆方“消暗瘵方”的“活性成分-靶点-疾病”网络，挖掘了“消暗瘵方”的关键靶点及其治疗哮喘的潜在分子机制。本研究发现“消暗瘵方”治疗哮喘的关键成分为槲皮素、山柰酚、木犀草素、柚皮素等。诸多药理学研究发现，槲皮素可以促进 Th1 型细胞因子的产生，并下调 Th2 型细胞因子^[20]，通过抑制肥大细胞和释放过敏性 (IgE 介导) 介质的抑制剂来控制哮喘^[21]。研究表明，山柰酚的抗炎活性可降低炎症细胞因子 (IL-5、IL-13、GM-CSF) 和嗜酸性粒

细胞水平，缓解哮喘气道狭窄，对哮喘气道高反应性的病理特征有保护作用^[22]。临床研究表明，木犀草素可抑制哮喘患儿外周血中单核细胞促炎性因子 IL-6、TNF- α 的分泌，可能通过调控 TLR4/NF- κ B 信号通路，发挥抗炎效应从而延缓哮喘的病程^[23]。柚皮素可以通过抑制肥大细胞释放组胺，抑制 CD4T 细胞 Th2 细胞因子来抑制 I 型变态反应，其机制尚不清楚^[24]。由此推测，拆方“消暗瘵方”可能通过以上有效成分发挥抗炎、调节 Th1/Th2 免疫平衡等作用，进而对哮喘的炎症浸润和气道重塑有良好的疗效。

网络药理学结果显示，“消暗瘵方”干预哮喘涉及 PI3K-Akt 通路、Toll 样受体通路、HIF-1 α 通路等，其中富集关系最密切的是 PI3K-Akt 通路。PI3K-Akt 信号通路有调节细胞生长、迁移、增殖和代谢，参与蛋白合成、逆转录和自噬的作用^[25]。其可通过激活氧化应激和炎症反应，造成哮喘炎症因子风暴和气道黏液高分泌状态，在哮喘的发展中起着主要推动作用^[26]，是当前哮喘研究的热点通路。另外，PI3K/Akt 通路还是 NF- κ B 级联反应的上游激活剂^[27]，抑制通路活化可能会下调 NF- κ B 的磷酸化水平，减少 Th2 型细胞分化，控制免疫失衡。课题组前期研究表明，“搜风愈喘方”可以抑制 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子发生漂移^[28]，与报道相一致。

PPI 分析得出 VEGF-A、TNF- α 、IL-6 为“消暗瘵方”治疗哮喘的关键靶点。VEGF 是血管内皮生长因子，在哮喘患者气道中表达增高，可增强微血管通透性，促进血管再生。PI3K/Akt 通路活化后可激活 VEGF 因子，促进支气管平滑肌增殖，增加内皮和血管平滑肌细胞的迁移，与哮喘气道重塑关系密切^[29]。TNF- α 可以激活巨噬细胞、间质细胞等，导致组织出现持续的炎症反应及免疫病理损伤，增加气道的高反应性，最终导致哮喘的发生^[30]。TNF- α 还是介导炎症因子表达的重要介质，能诱导 IL-6 等炎症因子的产生。而 IL-6 为多活性的细胞因子，对巨噬细胞的产生有抑制作用，可抑制 Th1、Treg 细胞的分化，促进 Th2、Th17 细胞的分化。研究表明，IL-6 可能为 Th17 介导的中性粒细胞性哮喘的启动因子，诱导 IL-17 产生，从而募集大量的中性粒细胞，引发急性哮喘的发作^[31]。气道炎症、气道高反应性、气道重塑被认为是支气管哮喘本质的病理机制，PI3K/Akt 通路的激活可促进 Th2 型细胞分化及 IL-6、TNF- α 等大量炎症因子的分泌，从而导致炎症浸润及免疫失衡，还可激活下游 VEGF 因子，致使气道重塑的发生。

通过动物实验对网络药理学结果进行验证，中药组大鼠肺组织气道结构完整度高，可见少量脱落，少数肺泡腔增大、融合，伴有少量炎症细胞浸润，与哮喘组比较有明显好转趋势；气道壁及气道平滑肌厚度较哮喘组减少；肺组织 VEGF-A、IL-6、TNF- α mRNA 表达和 p-PI3K 和 p-Akt 平均光密度值均降低，PI3K/Akt 通路受到抑制，与网络药理学结果相符合。

本研究利用网络药理学方法初步预测了“消暗瘵方”治疗哮喘的有效药物成分、核心靶点及可能的分子机制，

为进一步研究“搜风愈喘方”治疗儿童哮喘的作用机制奠定了基础。但是由于拆方理论和网络药理学自身的局限性和不足，仍需要进一步的药理实验佐证上述结论。

参考文献：

[1] Huang K, Yang T, Xu J, *et al.* Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2019, 394(10196): 407-418.

[2] Papi A, Brightling C, Pedersen S E, *et al.* Asthma [J]. *Lancet*, 2018, 391(10122): 783-800.

[3] Bateman E D, Hurd S S, Barnes P J, *et al.* Global strategy for asthma management and prevention; GINA executive summary [J]. *Eur Respir*, 2008, 31(1): 143-178.

[4] Ebmeier S, Thayabaran D, Braithwaite I, *et al.* Trends in international asthma mortality: analysis of data from the WHO Mortality Database from 46 countries (1993-2012) [J]. *Lancet*, 2017, 390(10098): 935-945.

[5] 闫永彬, 贾长虹, 杨明江, 等. 从伏风暗瘀宿痰辨治小儿哮喘[J]. 中医杂志, 2016, 57(21): 1877-1878; 1881.

[6] 闫永彬, 丁 樱. 从“伏风暗瘀”论治小儿咳嗽变异性哮喘探析[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(5): 606-608.

[7] 周宏鹤. 搜风愈喘方治疗儿童哮喘发作期的临床与实验研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.

[8] 黄丽娜, 张 伟. 从“肺为血脏”论瘀在支气管哮喘中的意义[J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(2): 74-75.

[9] Yan Y, Liu L, Dou Z, *et. al.* Soufeng Yuchuan decoction mitigates the ovalbumin-induced lung damage in a rat model of asthma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109933.

[10] 王丽静, 贾晓斌, 陈 彦, 等. 中药复方拆方研究的思路与方法[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1343-1346.

[11] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.

[12] Wishart D S, Feunang Y D, Guo A C, *et al.* DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1074-D1082.

[13] Szklarczyk D, Gable A L, Lyon D, *et al.* STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: D607-D613.

[14] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nature Protoc*, 2009, 4(1): 44-57.

[15] 张 勇, 闫永彬. 搜风愈喘方对哮喘大鼠血清和肺泡灌洗液中 VEGF 表达的影响 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(84): 160; 162.

[16] 张 勇. 儿童哮喘伏风暗瘀宿痰证候学研究及搜风愈喘方调控哮喘大鼠气道重塑 VEGF 的实验研究 [D]. 郑州:

河南中医药大学, 2017.

[17] 张祺嘉钰, 赵佩媛, 孙 静, 等. 山楂的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2021, 36 (3): 521-523.

[18] 王超群, 郭 敏, 易敏之, 等. 山楂化学成分及高效液相色谱分析方法研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(11): 93-95.

[19] 孙 波. 山楂的现代药理与临床应用分析 [J]. 中国医药指南, 2009, 7(12): 122-123.

[20] Jafarinia M, Sadat Hosseini M, Kasiri N, *et al.* Quercetin with the potential effect on allergic diseases [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2020, 16: 36.

[21] Mlcek J, Jurikova T, Skrovankova S, *et al.* Quercetin and its anti-allergic immune response [J]. *Molecules*, 2016, 21 (5): 623.

[22] Shin D, Park S H, Choi Y J, *et al.* Dietary compound kaempferol inhibits airway thickening induced by allergic reaction in a bovine serum albumin-induced model of asthma [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(12): 29980-29995.

[23] 余 洁, 彭 哲, 谢 婷, 等. 木犀草素对哮喘患儿外周血单核细胞 TNF- α 和 IL-6 分泌的影响及机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(13): 1580-1583; 1589.

[24] Wagh A D, Sharma M, Mahapatra J, *et al.* Investigation into the role of PI3K and JAK3 kinase inhibitors in murine models of asthma [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 82.

[25] Yang N, Zhang H, Cai X, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate inhibits inflammation and epithelial-mesenchymal transition through the PI3K/Akt pathway *via* upregulation of PTEN in asthma [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2): 818-828.

[26] Cheng C, Ho W E, Goh F Y, *et al.* Anti-malarial drug artesunate attenuates experimental allergic asthma *via* inhibition of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20932.

[27] Wu D, Li S, Liu X, *et al.* Alpinetin prevents inflammatory responses in OVA-induced allergic asthma through modulating PI3K/Akt/NF- κ B and HO-1 signaling pathways in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 89(Pt A): 107073.

[28] 闫永彬, 丁 樱, 刘 洁, 等. 搜风消暗瘀方治疗小儿咳嗽变异性哮喘临床研究 [J]. 中医学报, 2017, 32(4): 525-527.

[29] 牛晓婷. HIF-1 α 与 VEGF 对烟雾暴露哮喘大鼠气道重塑的影响及西罗莫司治疗作用的研究 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2014.

[30] 姚 俊, 赵 霞. 中医药治疗哮喘对 TNF- α 影响的研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(9): 2010-2012.

[31] Nasser M Z, Ezzat D A. Association of -308G/A polymorphism and serum level of TNF- α with bronchial asthma in children [J]. *Egypt J Immunol*, 2018, 25(2): 117-124.