

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.02.013

槲皮素抗急性加重慢性阻塞性肺疾病作用机制的网络药理学与细胞实验研究*

许夏燕, 李 智, 潘明月, 韩雨彤

(广东省深圳市罗湖区人民医院, 广东 深圳 518000)

摘要:目的 探讨槲皮素抗急性加重慢性阻塞性肺疾病(AECOPD)的分子作用机制。方法 将槲皮素相关作用靶点与 AECOPD 相关疾病靶点取交集, 获得槲皮素治疗 AECOPD 潜在作用靶点并导入 String 数据库, 利用 Cytoscape 软件构建蛋白相互作用(PPI)网络; 对潜在作用靶点进行基因本体论(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 借助 Autodock 软件对槲皮素和核心靶点进行分子对接验证。以含不同体积分数(0, 1%, 2%, 4%)香烟提取物(CSE)溶液的无血清培养基培养人支气管上皮 BEAS-2B 细胞 24 h, 检测白细胞介素(IL)-6 和 IL-8 水平, 确定最佳 CSE 体积分数; 另设模型组(等体积无血清培养基)及槲皮素低、中、高剂量(1, 3, 10 μmol/L)组, 分别予相应处理 12 h 后, 加入含 2% CSE 的无血清培养基继续孵育细胞 24 h, 检测磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)和 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)蛋白表达水平。结果 共获得槲皮素潜在靶点 854 个, AECOPD 相关疾病靶点 1 176 个, 槲皮素对 AECOPD 潜在作用靶点 196 个。槲皮素抗 AECOPD 机制可能与 TNF, MMP9, EGFR, CASP3, MAPK8, TRP53, MTOR, AKT1, SRC, PTGS2 等蛋白相关; 富集分析显示, 该作用可能涉及 PI3K/Akt 信号通路、趋化因子信号通路、细胞凋亡等信号通路。分子对接结果显示, 槲皮素与 Akt 蛋白结合能最高。与模型组比较, 槲皮素中、高剂量组 BEAS-2B 细胞中 PI3K 蛋白表达水平均显著降低, 槲皮素高剂量组 Akt 蛋白表达水平显著降低($P < 0.01$); 槲皮素高剂量组 Caspase-3 蛋白表达水平显著降低, 槲皮素中、高剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。结论 槲皮素抗 AECOPD 的作用机制可能与抑制 PI3K/Akt 信号通路、细胞凋亡等生物学过程有关。

关键词: 槲皮素; 急性加重慢性阻塞性肺疾病; 网络药理学; 分子对接; PI3K/Akt 信号通路; 细胞凋亡

中图分类号: R932; R285 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)02-0055-08

Mechanism of Quercetin in the Treatment of Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Based on the Network Pharmacology and Cell Experiments

XU Xiayan, LI Zhi, PAN Mingyue, HAN Yutong

(Luohu People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China 518000)

Abstract: Objective To investigate the molecular mechanism of quercetin in the treatment of acute exacerbation of chronic

* 基金项目: 广东省深圳市罗湖区软科学研究计划项目[LX20201101]。

第一作者: 许夏燕, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为临床药理学, (电子信箱)778027656@qq.com。

- et al. Intralesional epidermal growth factor therapy for diabetic foot ulcers: an evaluation of 15 cases [J]. Turk J Med Sci, 2017, 47(5): 1500-1504.
- [13] 徐娜, 李恺, 高鹏, 等. 没食子水提取物对人牙龈上皮角质形成细胞的体外影响[J]. 中国药业, 2022, 31(9): 60-64.
- [14] 王文成. 鞣花酸、尿石素 B 与血清白蛋白的相互作用及复合物对 HepG2 细胞毒性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.
- [15] ZHENG J, HEBER D, WANG MM, et al. Pomegranate juice and extract extended lifespan and reduced intestinal fat deposition in *Caenorhabditis elegans* [J]. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 2017, 87(3-4): 149-158.
- [16] ALLAM G, MAHDI EA, ALZHRANI AM, et al. Ellagic acid alleviates adjuvant induced arthritis by modulation of pro- and anti-inflammatory cytokines [J]. Central-European Journal of Immunology, 2016, 41(4): 339-349.
- [17] 郑雪花, 杨君, 杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 94-98.
- [18] 木艾塔尔·努尔麦麦提, 夏木西努尔·艾克拜尔, 吐尼沙汗·买提卡斯木. 维药中没食子酸的药理作用研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2015, 21(11): 53-54.
- [19] 王凌云, 金梦, 王丽双. 抑制糖尿病大鼠 PI3K/Akt 信号通路对其氧化应激水平及血管内皮生长因子的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(10): 1047-1050.
- [20] 韦积华, 周海东. 糖尿病足溃疡创面愈合相关机制的研究进展[J]. 右江医学, 2021, 49(8): 621-624.
- [21] 刘晓丽, 庞文帅, 黄朝康, 等. TP53 基因沉默介导 PI3K/PTEN/AKT 信号通路对肾透明细胞癌侵袭转移的调控机制[J]. 中国药业, 2020, 29(5): 70-74.
- [22] WEI F, WANG AX, WANG Q, et al. Plasma endothelial cells-derived extracellular vesicles promote wound healing in diabetes through YAP and the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. Aging, 2020, 12(12): 12002-12018.

(收稿日期: 2022-04-07; 修回日期: 2022-08-13)

obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** The quercetin-related targets intersected with the AECOPD-related disease targets to obtain the potential targets of quercetin in the treatment of AECOPD, and these targets were imported into the String database. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed by the Cytoscape software. Gene Ontology (GO) function enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out on potential targets. Molecular docking verification of quercetin and key targets was carried out by the Autodock software. Human bronchial epithelial BEAS-2B cells were cultured in serum-free medium containing different volume fractions (0, 1%, 2%, 4%) of cigarette smoke extract (CSE) solution for 24 h. The levels of interleukin (IL)-6 and IL-8 were detected to determine the optimal volume fraction of CSE. In addition, the model group (equal volume of serum-free medium) and low-, medium- and high-dose quercetin groups (1, 3, 10 $\mu\text{mol/L}$) were set. After 12 h of corresponding treatment, cells were incubated for 24 h with serum-free medium containing 2% CSE. The expression levels of phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), cysteine proteolytic enzyme-3 (Caspase-3) and B lymphoblastoma 2 (Bcl-2) proteins were detected. **Results** A total of 854 potential targets of quercetin, 1 176 targets of AECOPD-related diseases and 196 potential targets of quercetin against AECOPD were obtained. The mechanism of quercetin in the treatment of AECOPD may be related to TNF, MMP9, EGFR, CASP3, MAPK8, TRP53, MTOR, AKT1, SRC, PTGS2 and other proteins. Enrichment analysis showed that this effect might involve PI3K/Akt signaling pathway, chemokine signaling pathway, apoptosis and other signaling pathways. Molecular docking results showed that quercetin had the highest binding energy with Akt1 protein. Compared with those in the model group, the expression level of PI3K protein in BEAS-2B cells in the medium- and high-dose quercetin groups significantly decreased, and the expression level of Akt protein in the high-dose quercetin group significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with those in the model group, the level of Caspase-3 protein in the high-dose quercetin group significantly decreased, and the level of Bcl-2 protein in medium- and high-dose quercetin groups significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The mechanism of quercetin in the treatment of AECOPD may be related to the inhibition of PI3K/Akt signaling pathway, cell apoptosis and other biological processes.

Key words: quercetin; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; network pharmacology; molecular docking; PI3K/Akt signaling pathway; apoptosis

槲皮素(Quercetin)为黄酮类化合物,广泛存在于西红柿、三七、洋葱等多种日常蔬果中。有研究发现,槲皮素能明显抑制炎症介质的合成及软骨细胞凋亡,促进巨噬细胞向M2型极化,对慢性骨关节炎具有较好的改善作用^[1];槲皮素对非酒精性脂肪肝有良好的改善作用,机制可能与其抑制白细胞介素(IL)- 1β 、IL-6和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子的分泌,进而发挥抗炎作用有关^[2],可知槲皮素具有较好的清除自由基及抗炎作用。但目前基于槲皮素与急性加重慢性阻塞性肺疾病(AECOPD)的网络药理学分析及实验验证较少,具体作用靶点与机制尚未明晰。在此,本研究中利用网络药理学方法对槲皮素作用靶点和AECOPD疾病靶点取交集,进行富集分析,预测相关作用机制,随后通过细胞实验进一步验证槲皮素抗AECOPD的作用机制。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 网络药理学研究

槲皮素靶点筛选:以“槲皮素”“Quercetin”为关键词,检索 Pharmmapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>, Version 2017)、Ctdbase (<http://ctdbase.org/>)、TargetNet (<http://targetnet.scbdd.com/home/index/>)等药物靶点数据库,预测槲皮素相关作用靶点;筛选,剔除重复靶点。同时,结合已发表的网络文献补充靶点。

AECOPD靶点预测:以“Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease”“AECOPD”等为关键词,检索 GeneCards (<https://www.genecards.org/>, Version 5.0)、Disgenet (<https://www.disgenet.org/>, Version 7.0)等疾病靶点数据库,预测AECOPD相关疾病靶点;筛选,剔除重复靶点。

槲皮素对AECOPD潜在作用靶点预测:将获得的槲皮素药物靶点、AECOPD疾病靶点导入OmicShare基迪奥生物信息云平台进行交集比对、绘制韦恩图,获得槲皮素治疗AECOPD的潜在作用靶点。

蛋白相互作用(PPI)网络构建:将槲皮素治疗AECOPD的潜在作用靶点导入String (<https://string-db.org/>)数据库进行深入分析,项目选择“Multiple proteins”、种属选择“Homo sapiens”,以得分 > 0.4 为筛选条件,构建PPI网络。将String数据库获得的结果导入Cytoscape软件,进行可视化操作与数据分析,利用其中Cytohubba插件进行预测分析并评分,以Degree值排序获得排名前50的核心基因,并以颜色区分(分值低为黄色,分值高为红色)。

富集分析:为进一步探究获得的交集靶点在生物功能和信号通路中的作用,对其进行基因本体论(GO)功能富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。将靶点基因信息导入DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)数据库中,种属

选择“Homo sapiens”;将结果导入 Cytoscape 软件,进行可视化操作与数据分析。

分子对接验证:通过分子对接技术验证槲皮素与预测排名靠前的信号通路核心靶点蛋白的亲合力。对接过程包括:下载槲皮素 mol2 格式文件;下载靶点蛋白 3D 结构,进行去水、去配体等前处理;导入 Autodock 软件进行加氢前处理;导入 PyMOL 软件进行分子对接,计算槲皮素与核心靶点蛋白结合能大小(< -5 kcal/mol 提示结合活性较好);对结果行可视化分析。

1.2 细胞实验验证

1.2.1 材料

仪器:Odyssey 型双色红外荧光成像系统(美国 Licor 公司);Axio Observer3 型荧光显微镜(德国 Zeiss 公司);DW-HL828 型-80℃低温冰箱(中科美菱低温科技有限责任公司);F3 型微量移液器、FC 型酶标仪、BB150 型二氧化碳培养箱(赛默飞世尔科技<中国>有限公司);1658033 型多功能电泳系统(美国 Bio-Rad 公司)。

试剂:DMEM 高糖培养基(美国 Gibco 公司,批号为 12677019);槲皮素(成都普瑞法科技开发有限公司,批号为 117-39-5); β -actin、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)和 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)蛋白单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司,批号分别为 3700, 17366, 4691, 9662, 3498);IL-6、IL-8 检测试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司,批号分别为 JYM0007Bo, JYM0143Go);胎牛血清、青/链霉素双抗、BCA 试剂盒(赛默飞世尔科技<中国>有限公司,批号分别为 10100147, 15070063, 23221);香烟(骆驼牌,每支含焦油 10 mg,尼古丁 0.8 mg)。

细胞:人支气管上皮 BEAS-2B 细胞株(中国科学院上海生命科学研究院)。

1.2.2 方法

香烟提取物(CSE)制备:香烟去掉滤嘴后点燃,用 50 mL 玻璃注射器收集香烟烟雾,导入 20 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)中,经 0.22 μ m 过滤器滤过,在 320 nm 波长处测定吸光度,建立标准曲线并对滤出液浓度进行校准,将所制得的 CSE 溶液分装,-80℃冻存备用。

CSE 建模体积分数筛选:将 BEAS-2B 细胞培养于完全培养基中(含 10% 胎牛血清,1% 青/链霉素双抗),放入 5% CO₂, 37℃ 细胞孵箱,待细胞融合至约 50% 时,将培养基更换为不含血清的高糖培养基饥饿培养 12 h,再换为含不同体积分数(0, 1%, 2%, 4%) CSE 溶液的无血清培养基继续孵育 24 h,收集细胞上清液,按试剂盒说明书测定 IL-6 和 IL-8 的含量,以确定最佳 CSE 建模体积分数。

分组:实验分为模型组(等体积无血清培养基)及

槲皮素低、中、高剂量(1, 3, 10 μ mol/L)组。将 BEAS-2B 细胞培养于完全培养基中,放入 5% CO₂, 37℃ 细胞孵箱,待细胞融合至约 50% 时,各组分别以无血清培养基或含不同浓度槲皮素的无血清培养基培养 12 h;维持药物浓度不变,以含最佳建模体积分数 CSE 溶液的无血清培养基继续孵育 24 h,收集细胞上清液。

PI3K, Akt, Caspase-3, Bcl-2 蛋白水平检测:采用 Western blot 法。各组 BEAS-2B 细胞加入细胞裂解液提取总蛋白,以 BCA 法检测蛋白浓度,加入上样缓冲液并于沸水水浴 5 min 使蛋白变性;取适量蛋白样品经 10% SDS-PAGE 分离,湿转法转移至 PVDF 膜上,经封闭液封闭、一抗 4℃ 孵育过夜、洗膜、二抗孵育、ECL 显色后,通过 ImageJ2x 软件分析蛋白表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对 AECOPD 潜在作用靶点

共获得槲皮素潜在靶点 854 个,AECOPD 相关疾病靶点 1 176 个,取交集,得槲皮素对 AECOPD 潜在作用靶点 196 个,见图 1。

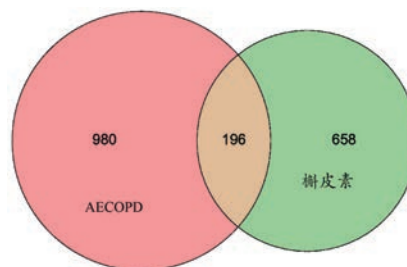


图 1 槲皮素对 AECOPD 潜在作用靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of potential targets of the action of quercetin on AECOPD

2.2 槲皮素 - AECOPD 交集靶点 PPI 网络

槲皮素 - AECOPD 交集靶点 PPI 网络见图 2。此 PPI 网络节点数为 196,边数为 3 393,平均节点分数 34.6,提示 PPI 网络连通性较好。

2.3 槲皮素 - AECOPD 关键靶点

关键靶点 PPI 网络见图 3,包括 TNF, MMP9, EGFR, CASP3, MAPK8, TRP53, MTOR, AKT1, SRC, PTGS2 等多种炎症、凋亡通路核心蛋白。

2.4 GO 与 KEGG 富集分析

槲皮素对 AECOPD 的治疗作用主要是通过调控凋亡过程、炎性反应、药物反应等生物过程;细胞表面、细胞质膜、膜间等细胞组成;酶结合位点、蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白结合位点等分子功能而实现的。详见图 4 A, B, C。

共得到槲皮素 - AECOPD 交集靶点 KEGG 通路

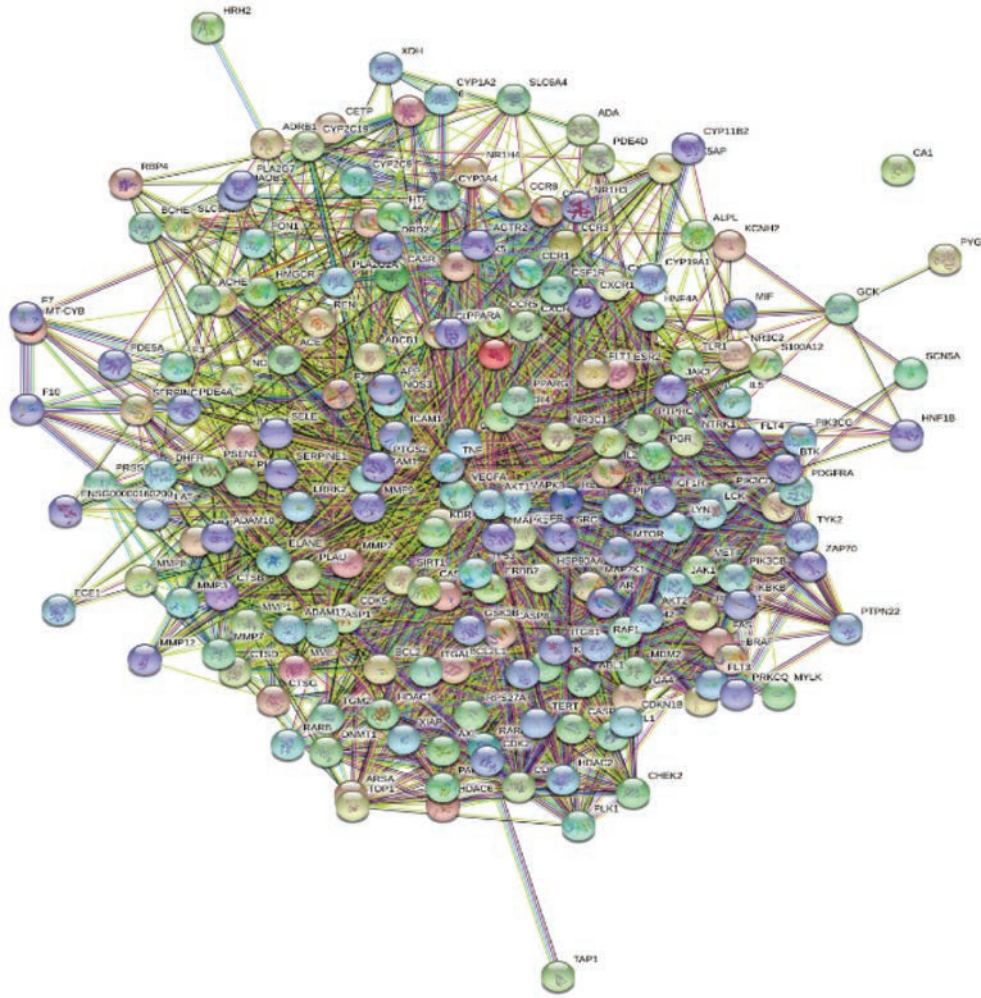


图2 槲皮素 - AECOPD 交集靶点 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of the intersection targets of quercetin - AECOPD

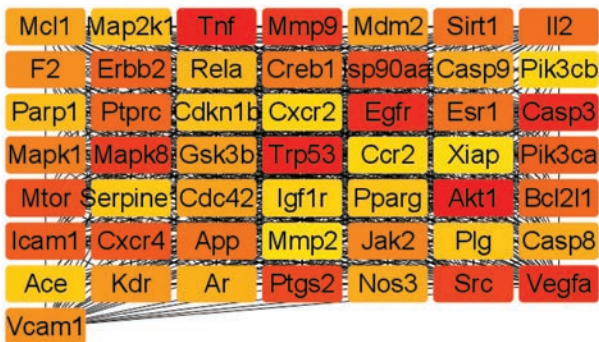


图3 槲皮素 - AECOPD 前 50 关键靶点 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of the top 50 key targets of quercetin - AECOPD

116 条, 选取评分较高信号通路数据作图, 排名前 10 的信号通路包括癌症通路、PI3K / Akt 信号通路、趋化因子信号通路、细胞凋亡、TNF 信号通路等。详见图 4 D。

2.5 靶点 - 信号通路网络

将 196 个槲皮素 - AECOPD 交集靶点及排名前 10 的 KEGG 富集通路数据, 导入 Cytoscape 软件, 构建槲皮素 - AECOPD 靶点 - 信号通路网络 (见图 5)。结果显示, 槲皮素可通过 PI3K / Akt 信号通路、细胞凋亡等机制发

挥治疗 AECOPD 的作用。

2.6 分子对接验证

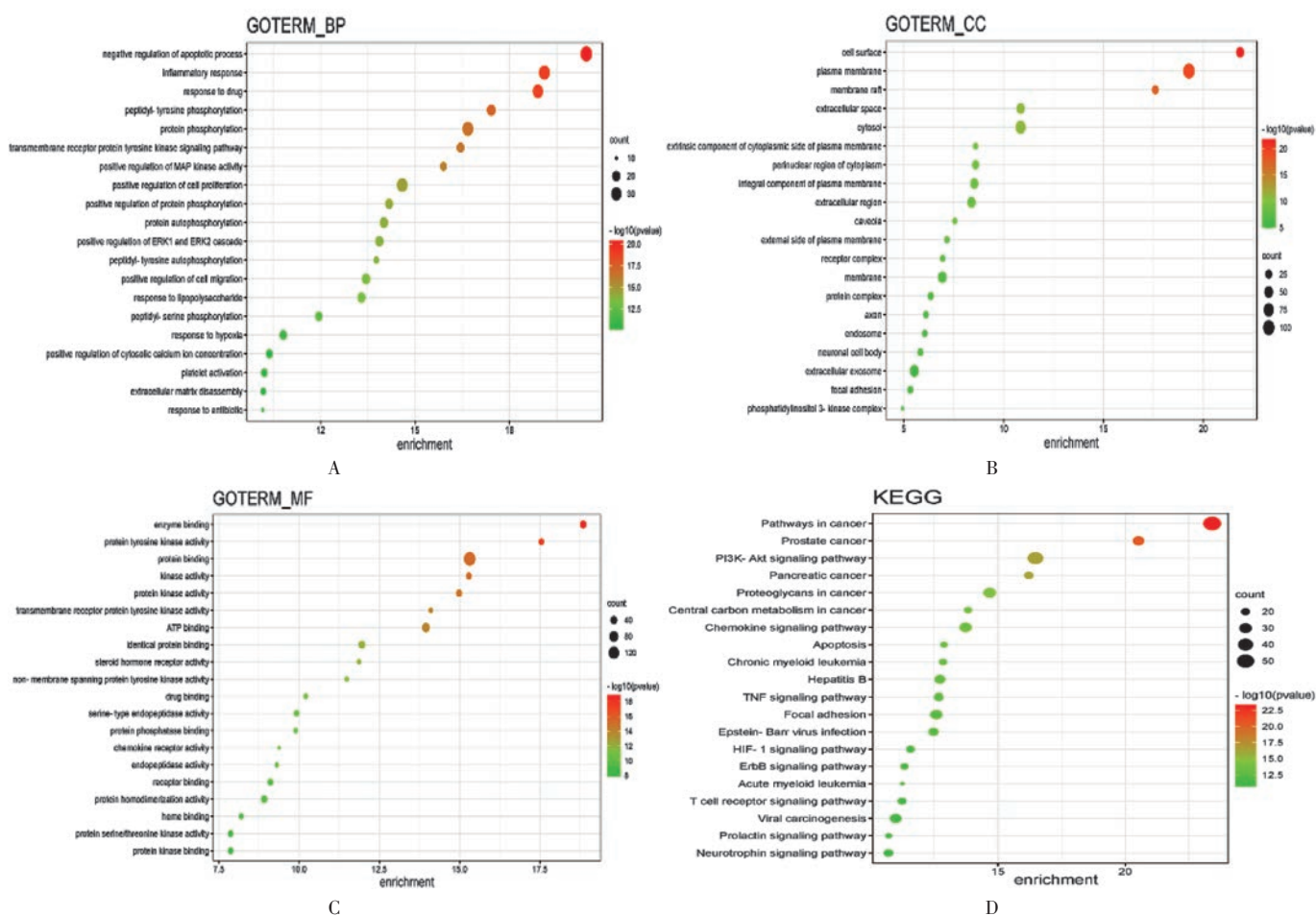
槲皮素与其治疗 AECOPD 的 5 个核心靶点 (PI3K, Akt, mTOR, Caspase - 3 和 Bcl - 2) 的结合能分别为 - 6. 64, - 6. 68, - 6. 39, - 6. 06, - 6. 40 kcal / mol, 提示槲皮素与 PI3K、Caspase - 3 等 PI3K / Akt 信号通路、细胞凋亡通路核心蛋白具有较好的结合能力。见图 6。

2.7 CSE 建模体积分数

结果见图 7。可见, BEAS - 2B 细胞经含不同体积分数 (0, 1%, 2%, 4%) CSE 溶液的无血清培养基孵育 24 h 后, IL - 6 和 IL - 8 的释放随着 CSE 溶液体积分数的增大有所增加, 其中, 2% CSE 对 IL - 6 的作用效果较 4% CSE 更稳定, 且 2% 和 4% CSE 促进 IL - 8 释放的作用略优于 1% CSE。故本研究中采用 2% CSE 溶液建模。

2.8 槲皮素对 CSE 诱导 BEAS - 2B 细胞的影响

PI3K / Akt 通路: 与模型组比较, 槲皮素中、高剂量组 BEAS - 2B 细胞中 PI3K 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0. 01$), 槲皮素高剂量组 BEAS - 2B 细胞中 Akt 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0. 01$), 提示槲皮素对 CSE 诱导的



A. 生物过程 B. 细胞组成 C. 分子功能 D. KEGG 通路富集分析

图4 槲皮素-AECOPD交集靶点GO与KEGG通路富集分析

A. Biological process B. Cell composition C. Molecular function D. KEGG pathway enrichment analysis

Fig. 4 GO and KEGG pathway enrichment analysis of intersection targets of quercetin-AECOPD

BEAS-2B细胞PI3K/Akt通路具有明显的抑制作用。详见图8A,B。

细胞凋亡:与模型组比较,槲皮素高剂量组BEAS-2B细胞中Caspase-3蛋白表达水平显著降低($P < 0.01$),槲皮素中、高剂量组BEAS-2B细胞中Bcl-2蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),提示槲皮素对BEAS-2B细胞凋亡具有抑制作用。详见图8C,D。

3 讨论

PI3K/Akt信号通路通过调控下游多种靶蛋白,广泛参与细胞的生长和增殖、蛋白合成及能量代谢等重要生理过程^[3]。PI3K激活后与下游重要靶蛋白Akt结合,Akt由细胞质转移到细胞膜,发生磷酸化反应,进而促进各类炎性蛋白的合成,对AECOPD的发生起重要作用^[4]。烟雾颗粒能激活中性粒细胞内PI3K/Akt通路并调控其迁移至肺部受伤或感染部位,引起炎症反应,进而诱发AECOPD^[5]。而使用LY294002(PI3K/Akt信号通路特异性阻断剂)可明显减少慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型中粒细胞的迁移及趋化过程,有效减少因炎症风暴导致的肺组织损害^[6]。目前临床常用的COPD

治疗药物如茶碱、吸入性糖皮质激素、长效 β_2 受体激动剂等均可直接或间接作用于PI3K/Akt通路,发挥抗COPD炎症作用^[4]。本研究中通过生物信息数据挖掘发现槲皮素与AECOPD排名前50的关键靶点中包含PIK3ca, PIK3cb, Akt1, mTOR等PI3K/Akt信号通路核心蛋白;KEGG通路富集分析也显示PI3K/Akt信号通路排名第2,具有较好的通路相关性;分子对接实验也证实,槲皮素与PI3K, Akt, mTOR等靶蛋白结合能力较好;细胞实验结果证实,槲皮素对AECOPD体外细胞模型中的PI3K与Akt的蛋白表达均有明显的抑制作用。提示槲皮素治疗AECOPD的潜在机制与抑制PI3K/Akt通路的信号传导密切相关。

除PI3K/Akt信号通路外,细胞凋亡也被发现很可能是槲皮素治疗AECOPD的作用机制之一。细胞凋亡也称为细胞程序性死亡,其典型特征包括凋亡小体形成、细胞核固缩、脱氧核糖核酸(DNA)降解等,对维持器官与组织稳态有重要意义^[7]。香烟烟雾引起的肺血管内皮细胞凋亡,是COPD重要发病机制之一^[8]。目前普遍认为,细胞凋亡程序的启动有内源性途径和外源性

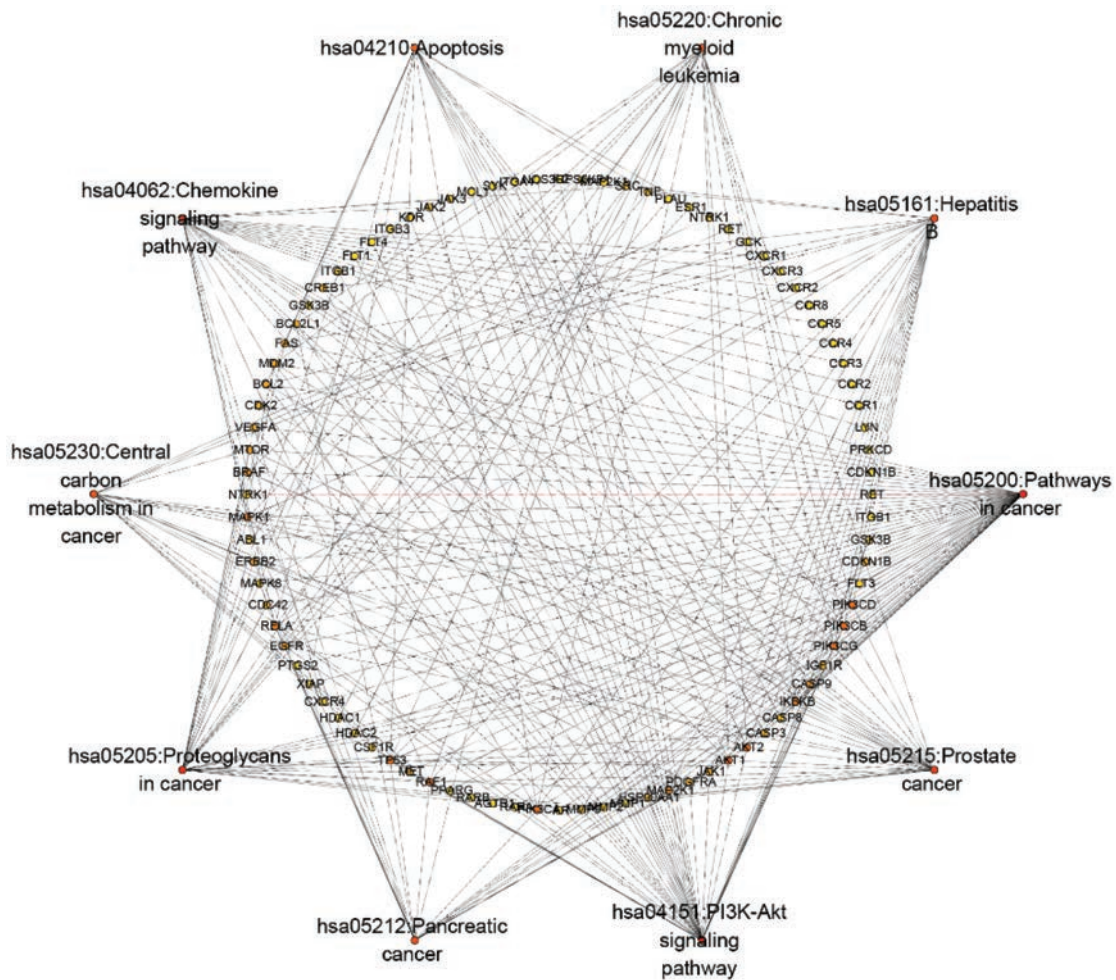


图5 槲皮素 - AECOPD 交集靶点 - 信号通路网络

Fig. 5 Network of quercetin - AECOPD intersection target - signaling pathway

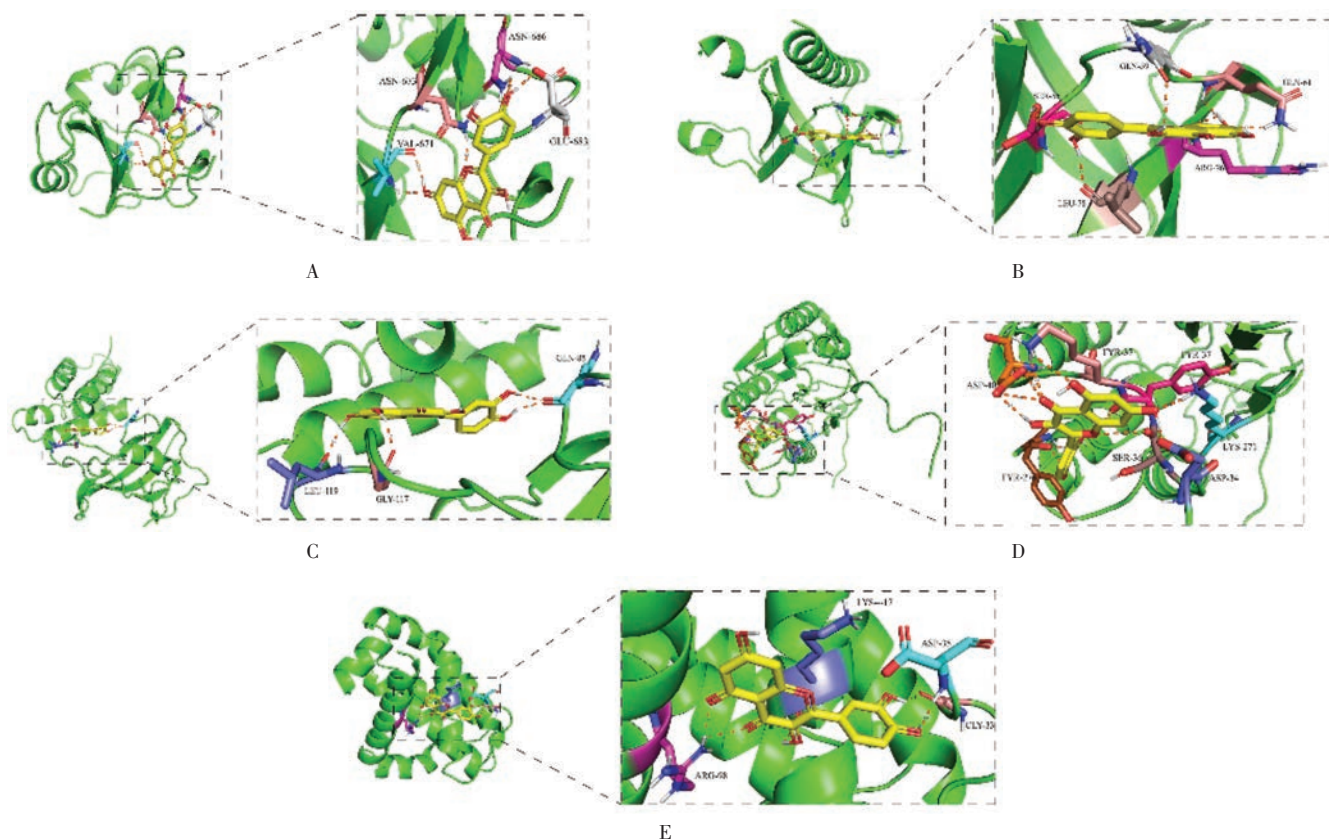
途径^[9-10]。内源性途径的启动主要是与细胞内环境的紊乱(氧化损伤、内质网应激)有关。通过 Caspase - 9 与促凋亡蛋白等结合形成凋亡小体,诱导 Caspase - 3 活化导致凋亡发生。外源性途径的启动则与死亡配体与死亡受体的结合相关。死亡配体(TNF, Fas 等)、死亡受体及 Caspase - 8 相互结合形成死亡诱导信号复合物,启动 Caspase - 8 / 10,进而激活 Caspase - 3 引起细胞凋亡过程^[9]。可见,无论是内、外源性途径均需 Caspase - 3 参与,其在细胞凋亡过程中发挥核心作用;此外, Caspase - 3 也是 PI3K / Akt 信号通路重要的下游靶蛋白之一,PI3K / Akt 信号通路激活后,通过信号交互网络启动 Caspase - 3,调控细胞凋亡过程^[11]。本研究中发现 Caspase - 3 是槲皮素与 AECOPD 重要的交互靶点,相关性很高, Degree 值排名前 10; Caspase - 3 也是 KEGG 通路分析排名前 10 的 PI3K / Akt、趋化因子信号通路、细胞凋亡等多条信号通路的共同靶点;进一步的分子对接实验验证也显示槲皮素与 Caspase - 3 具有良好的结合能力;细胞实验显示,槲皮素能显著抑制 Caspase - 3 蛋白表达,进而抑制细胞凋亡过程。

以上结果提示,槲皮素对 AECOPD 的防治作用与抑制细胞凋亡有关。

综上所述,本研究中通过网络药理学、分子对接实验及细胞实验证实槲皮素抗 AECOPD 作用与抑制 PI3K / Akt 和细胞凋亡有关,为槲皮素的进一步开发和临床使用提供了研究思路和实验数据参考。

参考文献

- [1] HU Y, GUI ZP, ZHOU Y, et al. Quercetin alleviates rat osteoarthritis by inhibiting inflammation and apoptosis of chondrocytes, modulating synovial macrophages polarization to M2 macrophages[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2019, 145: 146 - 160.
- [2] YANG H, YANG TT, HENG C, et al. Quercetin improves non-alcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db / db mice [J]. Phytotherapy Research, 2019, 33(12): 3140 - 3152.
- [3] 谢 凯, 梁 斌 今, 卞 晴 晴, 等. 基于 PI3K / AKT / mTOR 通路调控 A549 细胞自噬探讨补肺益肾方治疗 COPD 的机制[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4): 2294 - 2298.
- [4] 麻 芝 英, 何 志 义, 钟 小 宁, 等. PI3K / Akt 信号通路及相关药物在慢性阻塞性肺疾病中的研究进展[J]. 广东医学, 2014,

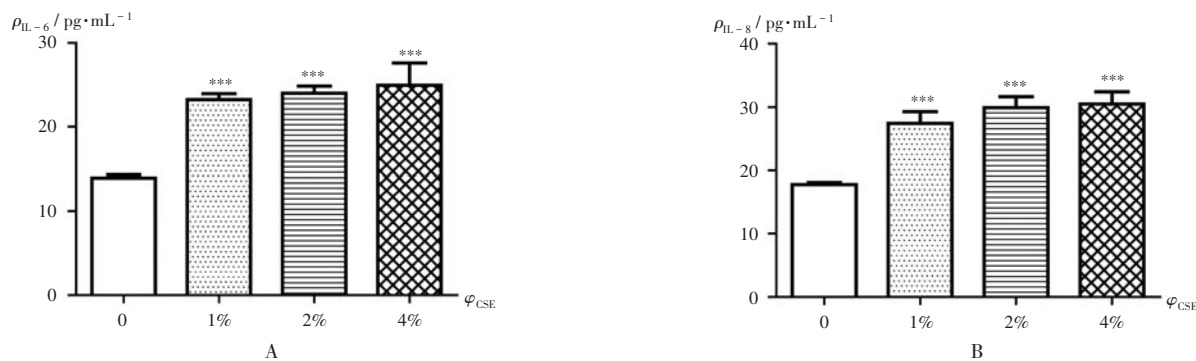


A. PI3K - 槲皮素 B. Akt - 槲皮素 C. mTOR - 槲皮素 D. Caspase - 3 - 槲皮素 E. Bcl - 2 - 槲皮素

图6 槲皮素与核心靶点分子对接结果

A. PI3K - quercetin B. Akt - quercetin C. mTOR - quercetin D. Caspase - 3 - quercetin E. Bcl - 2 - quercetin

Fig. 6 Molecular docking results of quercetin and key targets



A. IL - 6 B. IL - 8

注:与0比较,*** $P < 0.001$ 。

图7 不同体积分数CSE溶液对BEAS-2B细胞释放IL-6和IL-8的影响

A. IL - 6 B. IL - 8

Note: Compared with those at 0, *** $P < 0.001$.

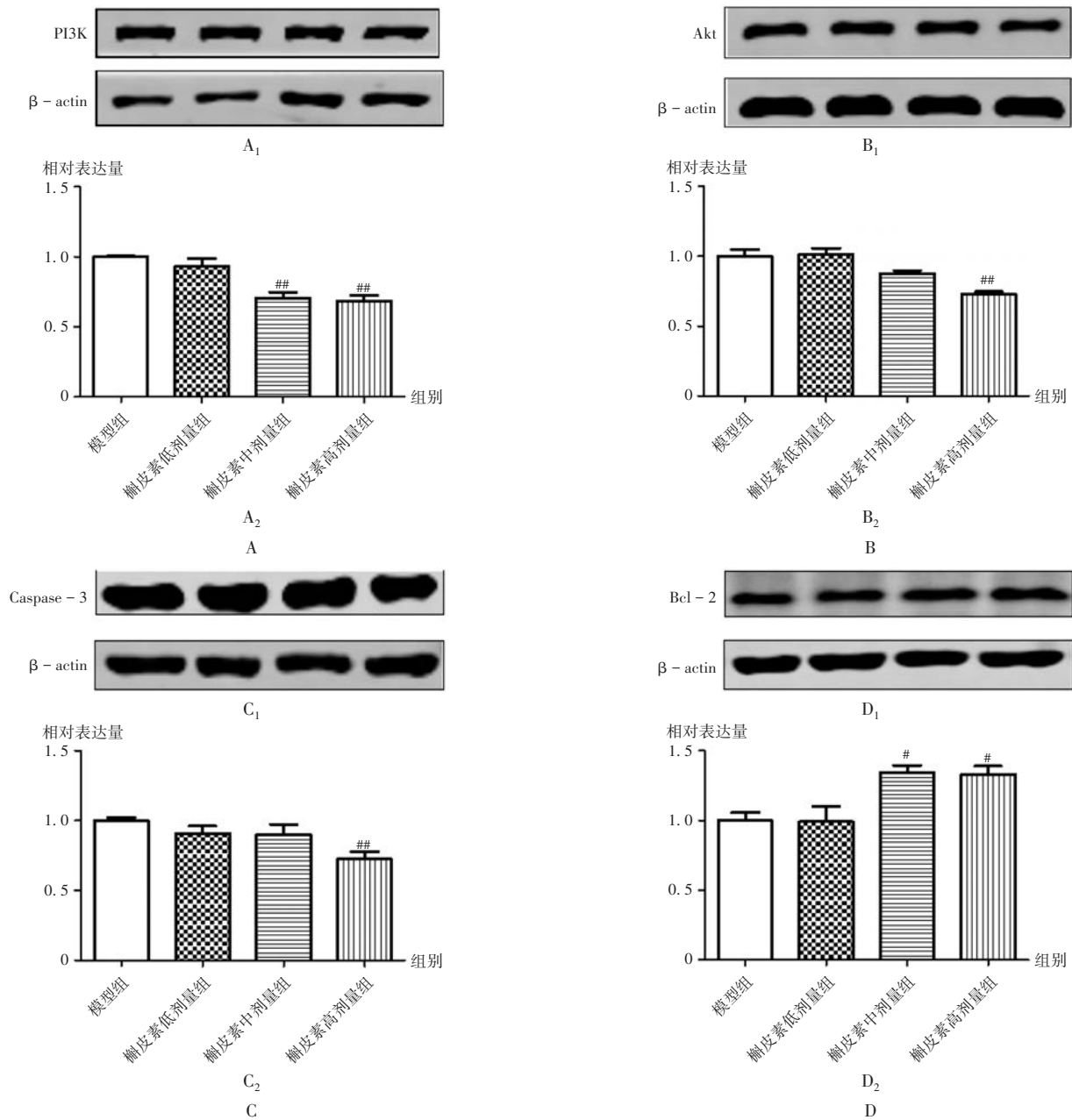
Fig. 7 Effect of different volume fractions of CSE solution on the release of IL - 6 and IL - 8 in BEAS - 2B cells

35(20):3257 - 3260.

- [5] GUAN XW, YUAN YZ, WANG GQ, et al. Ginsenoside Rg3 ameliorates acute exacerbation of COPD by suppressing neutrophil migration [J]. International Immunopharmacology, 2020, 83: 106449.
- [6] SAPEY E, STOCKLEY JA, GREENWOOD H, et al. Behavioral and structural differences in migrating peripheral neutrophils

from patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2011, 183(9): 1176 - 1186.

- [7] XU XB, LAI YY, HUA ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials [J]. Bioscience Reports, 2019, 39(1): BSR20180992.
- [8] SONG Q, CHEN P, LIU XM. The role of cigarette smoke - induced



A₁, B₁, C₁, D₁. Electrophoretogram A₂, B₂, C₂, D₂. Data statistics

A. PI3K B. Akt C. Caspase - 3 D. Bcl - 2

注:与模型组比较, #P < 0.05, ##P < 0.01。

图8 槲皮素对CSE诱导的BEAS-2B细胞PI3K/Akt通路和细胞凋亡的影响

A₁, B₁, C₁, D₁. Electrophoretogram A₂, B₂, C₂, D₂. Data statistics

A. PI3K B. Akt C. Caspase - 3 D. Bcl - 2

Note: Compared with those in the model group, #P < 0.05, ##P < 0.01.

Fig.8 Effect of quercetin on PI3K/Akt pathway and apoptosis of BEAS-2B cells induced by CSE

pulmonary vascular endothelial cell apoptosis in COPD [J].
Respiratory Research, 2021, 22(1):39.

[9] 李 帅,张炳东. 细胞凋亡途径的研究进展[J]. 山东医药,
2017, 57(37):103-106.

[10] D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy [J]. Cell Biology International, 2019, 43(6):582-592.

[11] ZHANG F, MA H, WANG ZL, et al. The PI3K/AKT/mTOR pathway regulates autophagy to induce apoptosis of alveolar epithelial cells in chronic obstructive pulmonary disease caused by PM2.5 particulate matter[J]. Journal of International Medical Research, 2020, 48(7):300060520927919.

(收稿日期:2022-04-22;修回日期:2022-07-21)