

基于网络药理学的降脂理肝汤治疗非酒精性脂肪肝病作用机制研究

唐 标, 邓常清*

湖南中医药大学, 湖南 长沙 410028

摘 要: **目的** 筛选降脂理肝汤主要活性成分, 预测其活性成分的作用靶点, 探讨降脂理肝汤治疗非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 的多成分-多靶点-多通路作用机制。 **方法** 通过多个数据库联合检索并筛选降脂理肝汤活性成分和其作用靶点以及 NAFLD 相关靶点, 并预测降脂理肝汤治疗 NAFLD 的潜在靶点。采用 Cytoscape 软件构建降脂理肝汤活性成分-作用靶点网络, 通过 Cytoscape 的插件 ClueGO 对靶点基因功能及通路进行富集分析。 **结果** 网络分析结果表明, 从降脂理肝汤中筛选得到 82 个活性成分, 涉及 NAFLD 靶点 53 个, 靶点主要关联 NAFLD 中胰岛素抵抗、氧化应激和炎症反应, 并且参与了 NAFLD 中 PI3K/Akt 信号通路、炎症小体途径、白细胞介素-10 (IL-10) 信号通路以及 T 细胞信号通路, 这些生物过程和信号通路介导了降脂理肝汤干预 NAFLD 潜在机制。 **结论** 为进一步深入研究降脂理肝汤治疗 NAFLD 作用机制提供了重要依据。

关键词: 降脂理肝汤; 非酒精性脂肪肝病; 网络药理学; 靶点; 胰岛素抵抗; 氧化应激; 炎症

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)15-3493-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.005

Action mechanism of Jiangzhi Ligan Decoction in treatment of non-alcoholic fatty liver disease based on network pharmacology

TANG Biao, DENG Chang-qing

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410028, China

Abstract: **Objective** To characterize the “multi-components, multi-targets, and multi-pathways” mechanism of Jiangzhi Ligan Decoction on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) using network pharmacology technology. **Methods** Data regarding natural molecules of Jiangzhi Ligan Decoction, targets of NAFLD, and interactions between natural molecules and NAFLD targets were screened. Network pharmacology of the interactions between natural molecules and NAFLD targets were established using Cytoscape software. The biological process and the signaling pathway of the putative targets were analyzed using ClueGO. **Results** The network analysis indicated that 82 active ingredients and 53 NAFLD related targets were screened in Jiangzhi Ligan Decoction, which was involved in regulation of insulin resistance, oxidative stress, inflammation, PI3K/Akt signaling pathway, inflammasome signaling pathway, IL-10 signaling pathway, and T cell signaling pathway. **Conclusion** This study provides an important basis for further study on the pharmacological mechanism of Jiangzhi Ligan Decoction in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease.

Key words: Jiangzhi Ligan Decoction; non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD); network pharmacology; target; insulin resistance; oxidative stress; inflammation

降脂理肝汤为临床经验方, 由泽泻、丹参、决明子、郁金、海藻和荷叶 6 味中药组成。临床观察表明, 降脂理肝汤具有调脂、护肝、减肥作用, 治疗非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 疗效确切^[1]。前期实验研究表明, 降脂理肝汤能调节高脂饮食诱导的 NAFLD 大鼠脂

代谢, 减轻肝组织的病理损伤, 以及调整肠道菌群种群, 改善高脂饮食诱导的 NAFLD^[2-5]。但是由于中药成分的多样性和作用机制的多靶点、多环节, 降脂理肝汤治疗 NAFLD 的主要活性成分和作用机制仍不明确。网络药理学是从系统水平分析药物作用机制, 近年来被逐渐引入到中药效应的研究中,

收稿日期: 2018-02-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503385)

作者简介: 唐 标 (1981—), 男, 副教授, 研究方向为中药药理研究。Tel: (0731)88458201 E-mail: njtangbiao@126.com

*通信作者 邓常清 (1963—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药药理研究。Tel: (0731)88458258 E-mail: dchangq@sohu.com

对进一步发现药效物质、探索分子作用机制和阐释其科学内涵具有重要的价值^[6-9]。本研究采用网络药理学方法研究降脂理肝汤治疗 NAFLD 可能的药效物质和作用靶点, 以期对降脂理肝汤的深入研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要化学成分的收集和筛选

利用 TCMSP (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>, Version: 2.0)^[10]并结合 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/index.php/>)^[11]收集泽泻、决明子、丹参、郁金、海藻和荷叶的主要化学成分。采用网络药理学中常用的化学成分筛选方法, 综合口服生物利用度 (OB) 和类药性 (DL) 作为筛选参数。其中 OB 指的是药物的有效成分或活性基被吸收到达体循环并被吸收的速度与程度; DL 指药物包含一些特定的功能基团或者具有与大多数药物相同或相似的物理特征, 这 2 个参数是筛选中药成分的关键参数^[11]。利用数据平台, 选取同时满足 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化学成分作为候选活性成分。另外结合参考文献对于未能入选, 但是文献报道有生物活性和药理作用的也纳入候选活性成分, 建立药物-活性分子数据集。

1.2 靶点收集

利用 TCMSP、BATMAN-TCM、STITCH 数据库 (<http://stitch.embl.de/>) 检索候选活性成分靶点, 整理收集到的靶点导入 Uniprot 数据库 (<http://www.Uniprot.org/>), 通过输入靶基因名称列表并限定物种为人, 剔除非人源靶点, 并将所有靶基因名称校正为其官方名称 (official gene symbol)。剔除没有靶点的活性成分, 建立活性成分-作用靶点数据集。在 OMIM 数据库 (online mendelian inheritance in man; <http://www.omim.org/>)、GAD 数据库 (<http://geneticassociationdb.nih.gov/>)、KEGG 通路数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/>)、TTD 数据库 (<http://database.idrb.cqu.edu.cn/TTD/>) 中通过检索关键词“non-alcoholic fatty liver disease”或“nonalcoholic fatty liver disease”或“NAFLD”或“fatty liver, nonalcoholic”或“liver, nonalcoholic fatty”或“livers, nonalcoholic fatty”或“nonalcoholic fatty liver”或“nonalcoholic steatohepatitis”或“steatohepatitis, nonalcoholic”收集疾病相关靶点, 整理后建立 NAFLD 相关靶点数据集。通过活性成分靶点和 NAFLD 靶点的匹配, 得到降脂理肝汤治疗 NAFLD

的潜在靶点, 建立降脂理肝汤治疗 NAFLD 的潜在靶点数据集。并且将作用靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库, 通过输入靶基因名称列表并限定物种为人, 并将所有靶基因名称校正为其官方名称 (official gene symbol), 设定阈值 $P < 0.05$ 进行 KEGG (KEGG pathway analysis) 代谢通路富集初步分析, 揭示作用靶点的潜在作用。

1.3 网络构建和分析

采用 Cytoscape (Version 3.2.1) 构建药物-活性成分网络、活性成分-作用靶点网络^[12], 网络中每个节点的拓扑学特征通过 Cytoscape 的附加功能 CytoNCA 计算 4 个参数来评价, 这 4 个参数分别为度中心性 (degree centrality, DC)、中介中心性 (betweenness centrality, BC)、接近中心性 (closeness centrality, CC) 和特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC), 这 4 个参数是网络药理学研究中评价网络节点的重要性的核心参数, 值越大, 说明节点越接近网络的中心^[13]。采用 4 个核心参数分析并筛选化学成分-靶点网络的核心网络, 评价降脂理肝汤治疗 NAFLD 的核心成分和靶点, 并进行文献验证。

1.4 靶点的分子功能/生物过程和通路富集分析

基因富集分析是分析基因表达信息的一种方法, 富集是指将基因按照先验知识, 按照基因组注释信息进行分类。采用 Cytoscape 的插件 ClueGO 进行降脂理肝汤治疗 NAFLD 的潜在靶点基因的富集分析, 分析的内容包括生物过程和信号通路 2 个方面, ClueGO 为网络药理常用的基因富集分析工具, ClueGO 网络的构建采用 Kappa 统计, 反映基因与其关联的类似基因之间的关系^[14]。通过基因的富集分析预测降脂理肝汤治疗 NAFLD 的可能机制。

2 结果

2.1 降脂理肝汤中候选化学成分的收集和筛选

通过 TCMSP 和 BATMAN-TCM 数据库的检索, 收集到泽泻 46 个化学成分、丹参 197 个化学成分、决明子 68 个化学成分、郁金 222 个化学成分、海藻 93 个化学成分、荷叶 20 个化学成分。对检索到的各中药化学成分采用 OB 和 DL 两个指标进行筛选, $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化学成分纳入候选活性成分, 并通过文献检索对候选活性成分补充, 对没有入选但文献报道含量较高并且有明确的药理作用的化学成分也纳入候选化学成分, 剔除无靶点化学成分, 共得到有效活性成分 82 个, 其中泽泻 16 个、丹参 25 个、决明子 17 个、郁金 9 个、海藻

1 个和荷叶 17 个。在 82 个化学成分中, 有的化学成分存在于多种中药中, 其中, 谷甾醇 (sitosterol)

存在于泽泻、郁金和荷叶中，槲皮素（quercetin）存在荷叶和海藻中。具体成分见图 1。

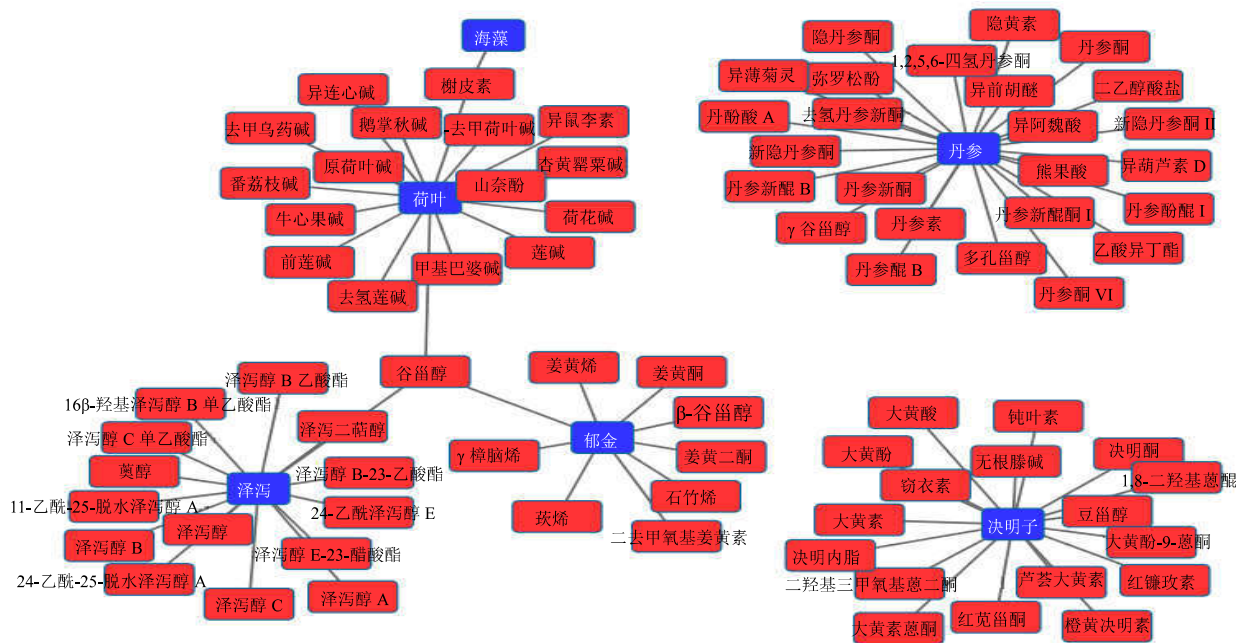


图 1 降脂理肝汤药物-活性成分网络图

Fig. 1 Herbs-components network of Jinagzhi Ligan Decoction

2.2 靶点收集

通过 TCMSP、BATMAN-TCM、STITCH 数据库检索候选活性成分的靶点,共检索到 82 个活性成分对应的 1 088 个作用靶点,其中丹参对应的靶点有 627 个,泽泻对应的靶点有 163 个,郁金对应的靶点有 572 个,决明子对应的靶点 225 个,荷叶对应的靶点 190 个,海藻对应的靶点 82 个。在药物与靶点的对应中,存在多种中药共有多个靶点。在活性成分与靶点的对应中,普遍存在一个活性成分有多个靶点以及多个活性成分对应一个靶点的特征。通过 OMIM 数据库、GAD 数据库、KEGG 通路数据库和 TTD 数据库关键词检索的方式共收集到 180 个 NAFLD 相关靶点。将降脂理肝汤活性成分靶点和 NAFLD 靶点匹配后,得到 53 个降脂理肝汤治疗 NAFLD 潜在靶点,见表 1。

2.3 活性成分-作用靶点网络的构建及分析

采用 Cytoscape 软件构建活性成分-作用靶点网络,如图 2-A 所示,网络共有 1 167 个节点,4 175 条边,每个节点平均与 7 个节点相连,其中节点代表活性成分和作用靶点,边代表活性成分和作用靶点之间的相互作用。从图 2-A 中可见一个活性成分可以作用于多个靶点,多个活性成分可以作用于一个

靶点,体现了降脂理肝药多成分、多靶点的协同作用特点。采用 CytoNCA 计算网络节点的 DC、BC、CC 和 EC 值,得到网络 DC 中位数为 3, BC 中位数为 3.669 086, CC 中位数为 0.287 051, EC 中位数为 0.005 481。根据文献报道的网络药理学筛选方法^[15], DC 值大于 2 倍中位数值 3 的节点为重要结点,利用 $DC>6$ 并综合 $BC>3.669\ 086$ 、 $CC>0.287\ 051$ 、 $EC>0.005\ 481$ 筛选网络得到活性成分-作用靶点核心网络(图 2-B),核心网络共有 239 个结点,1 566 条边。在核心网络中,56 个活性成分中有较大度的活性成分在丹参中有 6 个,分别为丹参酮 B、新隐丹参酮 II、丹参酚醌 I、丹参素、丹参新酮、丹酚酸 A;泽泻中有 4 个,分别为萹醇、泽泻醇 A、泽泻醇 B、泽泻醇 B 23-乙酸酯;郁金中有 4 个,分别为有莪术二酮、姜黄酮、姜黄烯、 β -谷甾醇;决明子中有 3 个,分别为红镰玫素、豆甾醇、大黄素;荷叶中有 3 个,分别为槲皮素、山柰酚和原荷叶碱;海藻中有 1 个,为槲皮素。在文献的报道中,同样有网络药理学研究报道丹参素和丹酚酸 A 是丹参中发挥肝保护作用的主要活性成分^[16],并且实验研究揭示丹酚酸 A 能通过 TXNIP/NLRP3 和 TXNIP/ChREBP 通路调控在 NAFLD 中发挥保护作用^[17];萹醇、泽泻

表 1 降脂理肝汤活性成分潜在治疗 NAFLD 基因靶点

Table 1 Information of potential targets for Jinagzhi Ligan Decoction in treatment of NAFLD

编号	基因	蛋白	Uniprot
1	COX5A	cytochrome c oxidase subunit 5A	P20674
2	ADH1C	alcohol dehydrogenase 1C	P00326
3	COX6C	cytochrome c oxidase subunit 6C	P09669
4	MET	hepatocyte growth factor receptor	P08581
5	LEP	leptin	P41159
6	RXRA	retinoic acid receptor RXR-alpha	P19793
7	APOE	apolipoprotein E	P02649
8	FAS	tumor necrosis factor receptor superfamily member 6	P25445
9	PPARD	peroxisome proliferator-activated receptor delta	Q03181
10	PIK3CB	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit beta isoform	P42338
11	PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	P37231
12	GSTP1	glutathione S-transferase P	P09211
13	MTTP	microsomal triglyceride transfer protein large subunit	P55157
14	TNF	tumor necrosis factor	P01375
15	PTGS1	prostaglandin G/H synthase 1	P23219
16	COX7B	cytochrome c oxidase subunit 7B, mitochondrial	P24311
17	CDC42	cell division control protein 42 homolog	P60953
18	CYP2E1	cytochrome P450 2E1	P05181
19	AGTR1	type-1 angiotensin II receptor	P30556
20	CASP7	caspase-7	P55210
21	ADRB2	beta-2 adrenergic receptor	P07550
22	PIK3CD	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta isoform	O00329
23	TGFB1	transforming growth factor beta-1	P01137
24	GSK3B	glycogen synthase kinase-3 beta	P49841
25	IL6	interleukin-6	P05231
26	GABRA1	gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-1	P14867
27	PPARD	peroxisome proliferator-activated receptor delta	Q03181
28	MC4R	melanocortin receptor 4	P32245
29	INS	insulin	P01308
30	GSTM1	glutathione S-transferase Mu 1	P09488
31	IL10	interleukin-10	P22301
32	IKBKB	inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta	O14920
33	PIK3CA	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform	P42336
34	ALDH1A1	retinal dehydrogenase 1	P00352
35	PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2	P35354
36	ADK	adenosine kinase	P55263
37	RELA	transcription factor p65	Q04206
38	NR1H4	bile acid receptor	Q96R11
39	COX5B	cytochrome c oxidase subunit 5B, mitochondrial	P10606
40	PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2	P35354
41	INSR	insulin receptor	P06213
42	ENPP1	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 1	P22413
43	PIK3R1	phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	P27986
44	NFKB1	nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit	P19838
45	IL1B	interleukin-1 beta	P01584
46	HSD11B1	corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	P28845
47	GSK3A	glycogen synthase kinase-3 alpha	P49840
48	SREBF1	sterol regulatory element-binding protein 1	P36956
49	NR1I2	nuclear receptor subfamily 1 group I member 2	O75469
50	COX7C	cytochrome c oxidase subunit 7C, mitochondrial	P15954
51	JUN	transcription factor AP-1	P05412
52	BAX	apoptosis regulator BAX	Q07812
53	CES1	liver carboxylesterase 1	P23141

醇 A、泽泻醇 B、泽泻醇 B 23-乙酸酯都能调节脂代谢，泽泻醇 B 23-乙酸酯能调节肝脏脂质过氧化并且作为孕烷 X 受体的激动剂调控肝脏药物代谢酶的活性发挥保护作用^[18]；大黄素能通过降低体质量和脂质水平以及抗炎和控制血糖水平来减少 NAFLD 损伤^[19]；槲皮素能通过 PI3K/AKT 通路减轻脂代谢紊乱以及抗炎、抗氧化等多途径在 NAFLD 中发挥保护作用^[20]。在核心网络（图 2-B）中，共 183 个作用靶点，其中有较大度的靶点为 BCL2、INS、TNF、LEP、IL10、PTGS2、GABRA1、NFKB1、IL1B、FAS，靶点的网络拓扑学参数见表 2。这 10 个靶点为 NAFLD 的重要靶点，主要参与 NF- κ B 和 TNF 信号

通路，在 NAFLD 中调节脂代谢和炎症因子以及纤维化，介导 NAFLD 的发生发展过程中发挥了重要的作用^[21]。主要活性成分和靶点的预测与文献报道吻合，说明结果具有一定的准确性。此外 1 088 个作用靶点 DAVID 通路富集分析表明，TNF、NFKB1、RPS6KB1、INS、SLC2A2、SLC2A1、PIK3CA、NOS3、PIK3R5、PRKAA1、PRKAA2、INSR、PIK3R1、PIK3CG、SREBF1、IL6、PIK3CB、RELA、PIK3CD、PRKAB1、ACACB、PRKCD、PCK1、PTPN11、CD36、PYGM、PYGL、RPS6KA2、GSK3B、MAPK9、MAPK8、MTOR、IKBKB、PYGB 34 个靶点参与了胰岛素抵抗，这些靶点有潜在干预 NAFLD 的作用。

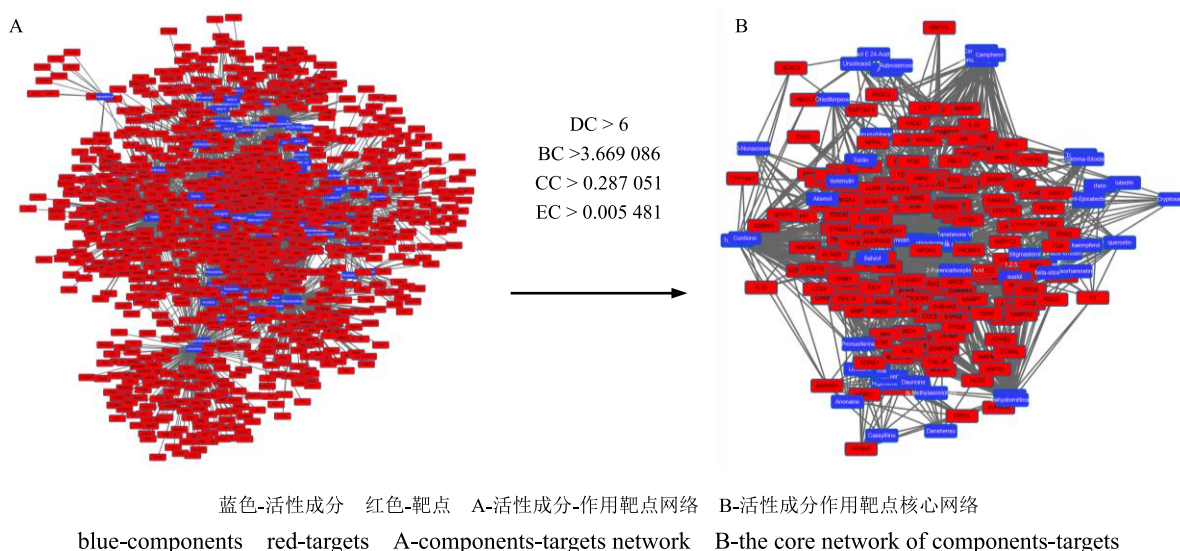


图 2 降脂理肝汤活性成分-作用靶点网络

Fig. 2 Components-targets network of major active ingredients of Jinagzhiligan Decoction

表 2 核心靶点的网络拓扑学参数

Table 2 DC, EC, BC, and CC of major targets

靶点	DC	EC	BC	CC
PTGS2	25	0.050 298	20 757.540	0.335 443
GABRA1	14	0.051 860	7 812.305	0.329 565
TNF	11	0.049 558	9 340.688	0.345 584
IL1B	11	0.046 289	8 591.193	0.321 389
RXRA	11	0.044 346	10 737.600	0.319 627
INS	10	0.051 354	14 808.450	0.377 346
IL10	9	0.049 458	11 596.420	0.363 240
FAS	8	0.044 929	2 526.776	0.306 197
LEP	7	0.041 759	1 639.274	0.299 897

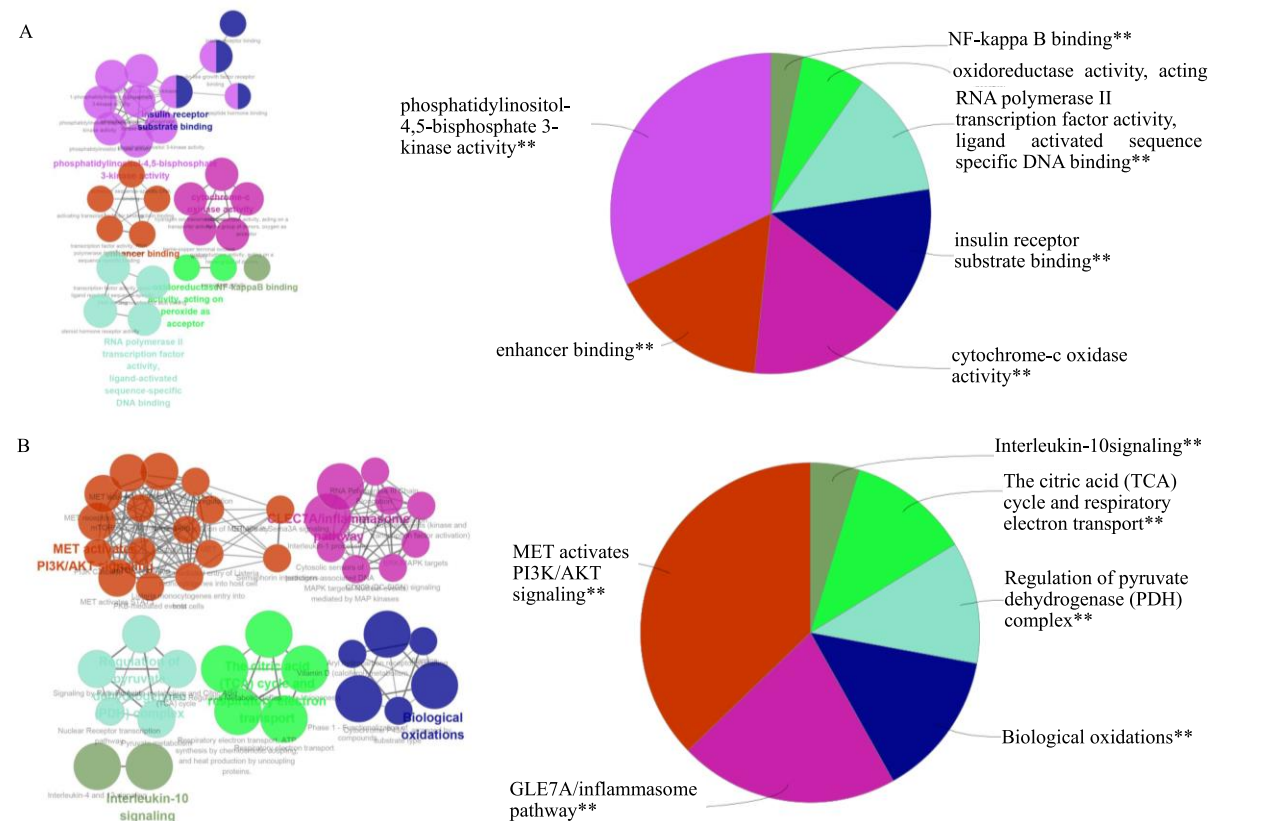
2.4 靶点的分子功能、生物过程和通路富集分析

采用 ClueGO 进行降脂理肝汤治疗 NAFLD 的靶点基因的富集分析，分析的内容包括生物过程和通路 2 个方面，分析参数设置采用软件默认设置，网

络特异性选择中等并 $P < 0.05$ 时显示结果。靶点生物过程富集结果见图 3-A，靶点关联的生物过程主要有 PI3K 的活性（9 个靶点）、以过氧化物为受体的氧化还原酶活性（3 个靶点）、胰岛素受体底物结合（7 个靶点）和增强子结合（5 个靶点）、细胞色素 C 氧化酶活性（7 个靶点）、配体激活序列特异性 DNA 结合和 RNAP II 活性（7 个靶点）、NF- κ B 结合（3 个靶点）。文献报道，这些生物学过程在 NAFLD 发病机制中主要介导了胰岛素抵抗、氧化应激和炎症反应^[21-24]。靶点通路富集结果见图 3-B，靶点参与的通路主要有 PI3K/Akt 通路（6 个靶点参与）、炎症小体途径（5 个靶点参与）、生物氧化（9 个靶点参与）、丙酮酸脱氢酶（PDH）复合物调控途径（5 个靶点参与）、TCA 循环和呼吸电子传递（7 个靶点参与）、白细胞介素 10（IL-10）（7 个靶点参与）信号通路，

并且也存在着多靶点、多通路的协同作用，通路富集的具体结果见表 3。另外靶点的免疫学过程富集分析显示靶点主要关联 T 细胞活化和 T 细胞受体信号通路（15 个靶点）。这些通路主要关联 NAFLD 发病机制中炎症反应通路、PI3K/Akt 通路和氧化应激通路，并且这些生物过程和通路均为 NAFLD 发生

发展的关键过程，在疾病中起到重要作用^[25-26]。综合富集结果，可以预测降脂理肝汤治疗 NAFLD 的机制：参与对胰岛素抵抗、氧化应激和炎症反应的调控；通过 PI3K/Akt 通路、炎症小体途径、IL-10 信号通路以及 T 细胞信号通路的调控来干预 NAFLD 的进展。



右边的图为 ClueGO 富集分析结果 左边的图是关键生物过程和通路的标记 A-降脂理肝汤治疗 NAFLD 靶点生物过程富集分析 B-降脂理肝汤治疗 NAFLD 靶点通路富集分析
The enrichment analysis is represented by the pie charts (right) as generated by ClueGo and the most vital term in the group is labeled (left) A-Candidate NAFLD targets enriched in the representative biological process are shown B-Candidate NAFLD targets enriched in the representative signaling pathway are shown

图 3 降脂理肝汤治疗 NAFLD 的靶点富集分析

Fig. 3 Enrichment analysis of candidate targets for Jinagzhi Ligan Decoction against NAFLD

表 3 靶点通路富集结果

Table 3 Candidate targets enriched in pathway

编号	通路	基因	P 值
1	biological oxidations	ADH1C、ALDH1A1、CES1、CYP2E1、GSTM1、GSTP1、NR1H4、PTGS1、RXRA	1.07×10^{-6}
2	CLEC7A/inflammasome pathway	IKBKB、IL1B、JUN、NFKB1、RELA	3.29×10^{-4}
3	interleukin-10 signaling	IL10、IL1B、IL6、PIK3R1、PTGS2、TGFB1、TNF	4.11×10^{-6}
4	MET activates PI3K/AKT signaling	CDC42、GSK3B、MET、PIK3CA、PIK3CB、PIK3R1	7.94×10^{-4}
5	regulation of pyruvate dehydrogenase (PDH) complex	ADH1C、ALDH1A1、PPARD、PPARG、RXRA	1.95×10^{-4}
6	the citric acid (TCA) cycle and respiratory electron transport	COX5A、COX5B、COX6C、COX7B、COX7C、PPARD、RXRA	1.06×10^{-4}

3 讨论

降脂理肝汤中以泽泻和丹参为主,泽泻利湿降浊以消脂,丹参活血化瘀理肝;以决明子和海藻为辅,决明子清肝化浊通便,海藻消痰软坚、利水清热;以郁金为佐,郁金行气化瘀、通络止痛,助丹参活血化瘀疏理肝络;以荷叶为使,荷叶升清降浊。临床和实验研究表明降脂理肝汤能有效干预 NAFLD。本研究通过数据库的检索和筛选,共得到有效活性成分 82 个,其中 41 个来自君药泽泻和丹参,18 个来自辅药决明子和海藻,9 个来自佐药郁金,17 个来自使药荷叶,且药物的活性成分有重叠。共检索到 82 个活性成分的 1 088 个靶点,其中丹参对应的靶点有 627 个,泽泻对应的靶点有 163 个,郁金对应的靶点有 572 个,决明子对应的靶点 225 个,荷叶对应的靶点 190 个,海藻对应的靶点 82 个。一个活性成分可以作用于多个靶点,多个活性成分可以作用于一个靶点,体现了降脂理肝汤多成分、多靶点的协同作用。有效成分和靶点的分布以及活性成分与靶点的对应,一定程度上反映了降脂理肝汤配伍的科学内涵。并且通过活性成分-作用靶点网络的构建和筛选,预测出降脂理肝汤中有较大度的活性成分为丹参酮 B、新隐丹参酮 II、丹参酚酮 I、丹参素、丹参新酮、丹酚酸 A、莪醇、泽泻醇 A、泽泻醇 B、泽泻醇 B 23-乙酸酯、莪术二酮、姜黄酮、姜黄烯、 β -谷甾醇、红镰玫素、豆甾醇、大黄素、槲皮素、山柰酚和原荷叶碱。文献的报道与结果吻合,也为降脂理肝汤治疗 NAFLD 的药效物质基础的研究提供参考。

降脂理肝汤治疗 NAFLD 靶点的生物学过程富集分析结果表明,靶点关联的生物过程涉及 NAFLD 发病机制中的胰岛素抵抗、氧化应激和炎症反应。降脂理肝汤治疗 NAFLD 靶点的通路富集分析结果表明,靶点参与的通路主要涉及 NAFLD 发病机制中炎症反应通路、PI3K/AKT 通路和氧化应激通路。另外靶点的免疫学过程富集分析显示靶点主要关联 T 细胞活化和 T 细胞受体信号通路。综合富集结果,可以预测降脂理肝汤治疗 NAFLD 的机制:参与对胰岛素抵抗、氧化应激和炎症反应的调控;通过 PI3K/Akt 通路、炎症小体途径、IL-10 信号通路以及 T 细胞信号通路的调控来干预 NAFLD 的进展。目前认为 NAFLD 是遗传-环境-代谢相关性疾病,但其发病机制尚未完全阐明,较为成熟的“二次打击学说”认为,首次打击主要是由胰岛素抵抗等因素

导致的肝脏脂质代谢紊乱、肝细胞脂肪沉积;二次打击包括脂质过氧化、氧化应激、细胞因子、内毒素血症和炎症反应等多种因素,其共同参与诱导肝细胞变性、坏死等炎症反应以及肝纤维化、硬化的发生与发展^[27]。并且最近的研究表明,炎症小体和 T 细胞信号通路在 NAFLD 的进展过程中发挥了关键作用^[28-29]。预测的机制为 NAFLD 发生发展的核心过程,与文献报道吻合,为后续研究提供了方向。另外课题组前期的实验研究揭示,降脂理肝汤可通过调节脂代谢、改善脂质过氧化、增加脂联素含量、增强胰岛素敏感性、提高超氧化物歧化酶(SOD)活性、降低血清 TNF- α 含量、抗氧化应激和减轻炎症来干预治疗 NAFLD^[3-4]。这为预测的结果提供了实验依据,也证明了预测结果具有一定的准确性。但是降脂理肝汤对于 NAFLD 中关键生物过程和关键通路的调控还需要进一步的深入研究。

综上所述,网络药理学预测结果表明,降脂理肝汤治疗 NAFLD 的可能机制:(1)参与 NAFLD 中胰岛素抵抗、氧化应激和炎症反应的调控;(2)通过 PI3K/AKT 通路、炎症小体途径、IL-10 信号通路以及 T 细胞信号通路的调控来干预 NAFLD 的进展。本研究也揭示了降脂理肝汤治疗 NAFLD 的多成分、多靶点和多通路的协同作用的特点,为进一步深入研究降脂理肝汤治疗 NAFLD 药效物质和作用机制提供了重要的科学依据。

参考文献

- [1] 吴娅妮,周佩娟,陈 铁,等.降脂理肝汤治疗非酒精性脂肪肝临床疗效分析[J].辽宁中医药大学学报,2014,16(6):19-21.
- [2] 冯梦君,谢佳楠,张怡歆,等.降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织病理的影响[J].世界华人消化杂志,2015,23(16):2532-2538.
- [3] 唐 标,冯梦君,谢佳楠,等.降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠脂联素、SOD、TNF- α 的影响[J].湖南中医杂志,2015,31(9):151-153.
- [4] 唐 标,冯梦君,谢佳楠,等.降脂理肝汤对非酒精性脂肪肝大鼠生化指标的影响[J].世界华人消化杂志,2015,23(18):2942-2946.
- [5] 唐 标,肖新云,刘又嘉,等.降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物及酶活性的影响[J].应用与环境生物学报,2016,22(3):442-445.
- [6] Zhou C, Liu L, Zhuang J, et al. A systems biology-based approach to uncovering molecular mechanisms underlying effects of traditional Chinese medicine Qingdai in chronic myelogenous leukemia, involving

- integration of network pharmacology and molecular docking technology [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 4305-4316.
- [7] Zhang Y Q, Mao X, Guo Q Y, *et al.* Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [8] 张 潇, 高 耀, 向 欢, 等. 基于网络药理学的交泰丸治疗抑郁症作用机制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1584-1590.
- [9] 李 静, 高 丽, 高 耀, 等. 基于网络药理学的款冬花止咳化痰活性成分靶点探究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 179-187.
- [10] Li Y, Zhang J, Zhang L, *et al.* Systems pharmacology to decipher the combinational anti-migraine effects of Tianshu formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174: 45-56.
- [11] Liu Z, Guo F, Wang Y, *et al.* BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21146.
- [12] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [13] Tang Y, Li M, Wang J, *et al.* CytoNCA: A cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks [J]. *Biosystems*, 2015, 127: 67-72.
- [14] Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, *et al.* ClueGO: A cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(8): 1091-1109.
- [15] Xie G, Wang C Z, Yu C, *et al.* Metabonomic pro-fling reveals cancer chemopreventive effects of American ginseng on colon carcinogenesis in Apc (Min/+) mice [J]. *J Proteome Res*, 2015, 14(8): 3336-3347.
- [16] Hong M, Li S, Wang N, *et al.* A Biomedical investigation of the hepatoprotective effect of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and network pharmacology-based prediction of the active compounds and molecular targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 620.
- [17] Ding C, Zhao Y, Shi X, *et al.* New insights into salvianolic acid A action: Regulation of the TXNIP/NLRP3 and TXNIP/ChREBP pathways ameliorates HFD-induced NAFLD in rats [J]. *Sci Rep*, 2016, 27(6): 28734.
- [18] Meng Q, Duan X P, Wang C Y, *et al.* Alisol B 23-acetate protects against non-alcoholic steatohepatitis in mice via farnesoid X receptor activation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(1): 69-79.
- [19] Li X, Xu Z, Wang S, *et al.* Emodin ameliorates hepatic steatosis through endoplasmic reticulum-stress sterol regulatory element-binding protein 1c pathway in liquid fructose-feeding rats [J]. *Hepatol Res*, 2016, 46(3): 105-117.
- [20] Porras D, Nistal E, Martínez-Flórez, *et al.* Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 102: 188-202.
- [21] Zeng L, Tang W J, Yin J J, *et al.* Signal transductions and nonalcoholic fatty liver: A mini-review [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(7): 1624-1631.
- [22] Meex R C R, Watt M J. Hepatokines: Linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(9): 509-520.
- [23] Spahis S, Delvin E, Borys J M, *et al.* Oxidative stress as a critical factor in nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 26(10): 519-541.
- [24] Arrese M, Cabrera D, Kalergis A M, *et al.* Innate immunity and inflammation in NAFLD/NASH [J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(5): 1294-1303.
- [25] Benedict M, Zhang X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review [J]. *World J Hepatol*, 2017, 9(16): 715-732.
- [26] Matsuda S I, Kobayashi M, Kitagishi Y. Roles for PI3K/AKT/PTEN pathway in cell signaling of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *SRN Endocrinol*, 2013, 2013: 472432.
- [27] Karim M F, Al-Mahtab M, Rahman S, *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)-a review [J]. *Mymensingh Med J*, 2015, 24(4): 873-880.
- [28] Xiao J, Tipoe G L. Inflammasomes in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2016, 21: 683-695.
- [29] Chackelevicius C M, Gambaro S E, Tiribelli C, *et al.* Th17 involvement in nonalcoholic fatty liver disease progression to non-alcoholic steatohepatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(41): 9096-9103.