

基于网络药理学及实验验证探究松三糖治疗肝纤维化的作用机制

吕志远¹, 宋建忠^{1,2}, 曹玲玲³, 向阳⁴, 李进发¹, 常军民^{1,5*}

1. 新疆医科大学 药学院, 新疆 乌鲁木齐 830000

2. 新疆医科大学附属肿瘤医院 药学部, 新疆 乌鲁木齐 830011

3. 新疆医科大学 基础医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000

4. 新疆医科大学第一附属医院 检验科, 新疆 乌鲁木齐 830011

5. 新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000

摘要: **目的** 利用网络药理学、分子对接技术研究松三糖治疗肝纤维化潜在机制, 并对核心靶点进行实验验证。**方法** 从 Swiss Target Prediction 数据库中筛选松三糖治疗疾病相关靶点; 从 OMIM、GeneCards、Disgenet 数据库中筛选出肝纤维化的相关靶点。对 STRING 数据库进行蛋白质相互作用网络, 将 tsv 格式数据结果导入 Cytoscape 3.9.1 软件中进行可视化分析。进一步使用 DAVID 数据库对交集靶点进行基因本体 (GO) 分析和京都基因和基因组的百科全书 (KEGG) 富集分析, 并进行分子对接。通过 MTT 法检测小鼠肝星状细胞系 JS-1 细胞活力; Western blotting 验证核心靶点的蛋白表达水平。**结果** KEGG 富集分析显示交集靶点涉及信号通路 64 条, 主要为磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B (Akt)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路。分子对接提示松三糖与核心靶点能较好结合。Western blotting 结果显示, 在不同浓度松三糖作用下, JS-1 细胞中磷酸化的 PI3K/Akt 以及 MAPK 的蛋白表达量均显著降低。**结论** 松三糖可能通过作用于 PI3K/Akt 及 MAPK 等多个靶点, 发挥抗肝纤维化作用。

关键词: 松三糖; 肝纤维化; 网络药理学; 分子对接; 磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B; 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)10-2477-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.10.004

Mechanism of melezitose in treatment of liver fibrosis based on network pharmacology and experimental verification

LÜ Zhiyuan¹, SONG Jianzhong^{1,2}, CAO Lingling³, XIANG Yang⁴, LI Jinfa¹, CHANG Junmin^{1,5}

1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

2. Department of Pharmacy, Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

3. Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

4. Clinical laboratory, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

5. Xinjiang Key Laboratory of Natural Medicine Active Components and Drug Release Technology, Urumqi 830000, China

Abstract: Objective To investigate the mechanisms of the melezitose in treating liver fibrosis using network pharmacology and molecular docking techniques, and to validate the core targets. **Methods** The related targets of melezitose in treatment of liver fibrosis were screened from the Swiss Target Prediction database. The related targets of liver fibrosis were screened from OMIM, GeneCards and Disgenet databases. The protein interaction network was carried out on the STRING database, and the tsv format data results were imported into Cytoscape 3.9.1 software for visual analysis. DAVID database was further used for GO analysis and KEGG enrichment analysis, and molecular docking. The viability of mouse hepatic stellate cell line JS-1 was measured by MTT assay. Western blotting verified the protein expression level of the core target. **Results** KEGG enrichment analysis showed that the intersection targets involved 64 signaling pathways, mainly PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. Molecular docking suggested that pine triose could bind well to the core target. Western blotting results showed that the phosphorylated PI3K/Akt and MAPK protein expressions in cells

收稿日期: 2024-03-03

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项项目 (2022A03019-3); 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2022D01D37)

作者简介: 吕志远, 男, 硕士, 研究方向为中草药提取物药理活性研究。E-mail: L17698951427@163.com

*通信作者: 常军民, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为天然药物物质基础研究。E-mail: 1617265908@qq.com

were significantly reduced under the influence of different concentrations of melezitose. **Conclusion** Melezitose may exert anti-liver fibrosis effects by acting on multiple targets such as PI3K/Akt and MAPK.

Key words: melezitose; liver fibrosis; network pharmacology; molecular docking; PI3K/Akt; MAPK

肝纤维化可能由各种病因引起的,如毒性损伤、慢性病毒感染、酗酒、免疫攻击等^[1]。肝纤维化的特征是细胞外基质 (ECM) 的积累,破坏了肝脏的生理结构,导致肝细胞受损和免疫细胞浸润,激活肝星状细胞 (HSC)^[2]。转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 被认为是 HSC 活化的最重要的调节因子之一^[3]。活化后的 HSC 从休眠状态到肌成纤维细胞的转化过程,肌成纤维细胞产生了 ECM 的主要组成部分,如 I 型胶原 (CoL1A1)^[4]。肝纤维化进程中首先发生肝脏损伤,当损伤积聚时,生物体首先启动促炎机制,随着炎症反应的发生,肝脏组织的正常结构和生理功能逐渐被破坏,从而导致瘢痕组织的产生,发生纤维化^[5]。肝纤维化最终发展为肝硬化、肝衰竭或肝癌,占全球所有年死亡人数的 3.5%^[6]。目前临床缺少肝纤维化治疗的有效药物。因此,寻找高效低毒的天然药物及探究相关作用靶点,筛选治疗肝纤维化的候选药物成为当今药学领域研究的热点内容之一。

现代医学研究发现新疆特色药材刺糖提取物具有调节胃肠道功能、抗肿瘤、抗氧化、调节免疫及抗炎、抗菌、护肝、护肾、抗骨质疏松、抗溃疡、抗糖尿病等作用^[7-8]。研究表明,松三糖作为刺糖低聚糖的主要活性成分之一,由 α -D-Glcp-(1 \rightarrow 3)- β -D-*Fruf*-(2 \rightarrow 1)- α -D-Glcp 组成。动物实验表明其能够减少肝脏组织中胶原纤维的积累,恢复肝功能指标,降低白细胞介素 (IL)-6、IL-1 β 和肿瘤坏死因子- α 的水平^[9]。但松三糖治疗肝纤维化的作用机制并不明确。故本研究利用网络药理学和分子对接技术探索松三糖治疗肝纤维化的潜在作用机制。网络药理学基于药理学、计算机等学科发展而来,其可用于预测药物治疗疾病的潜在靶点、作用机制等,可为新药研发提供一定的研究依据^[10]。分子对接技术是在分子水平上预测配体和靶点结合能力的一种方法,其广泛运用于计算机辅助药物研发领域^[11-12]。结合网络药理学并通过体外实验对部分核心靶点进行验证,以期后续松三糖用于治疗肝纤维化药物研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

松三糖由课题组从维药刺糖中提取并经过结

构鉴定,质量分数为 99.85%;胎牛血清 (Gibco USA); DMEM (杭州沃森生物技术有限公司); 0.25%胰蛋白酶消化液 (南京凯基生物科技发展有限公司,货号 KGY001-100); 青霉素-链霉素双抗 (10 000 U, 美国 Hyclone 公司,货号 SV30010), MTT 细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒 (武汉布德生物,货号 AR1156), 二甲基亚砜 DMSO (美国 Sigma 公司); CoL1A1 (HuaBio,货号 ET1609-68)、TGF- β 1 (货号 AF03634), 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K, 货号 CST 4257)、p-PI3K (CST, 货号 17366)、蛋白激酶 B (Akt, CST, 货号 4691)、p-Akt (CST, 货号 4060)、p38 (Proteintech 公司, 货号 14064-1-AP)、p-p38 (Proteintech 公司, 货号 28796-1-AP)、细胞外调节蛋白激酶 (ERK, Proteintech 公司, 货号 11257-1-AP)、p-ERK (Proteintech 公司, 货号 28733-1-AP)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK, Proteintech 公司, 货号 17572-1-AP)、p-JNK (Proteintech 公司, 货号 80024-1-RR), RIPA 裂解液 (Abcam 公司, 货号 ab156034); 蛋白酶抑制剂 (Abcam 公司, 货号 65621)。

1.2 松三糖作用靶点和肝纤维化疾病靶点的筛选

PubChem 数据库获得松三糖的结构,将结构导入 Swiss Target Prediction 数据库中筛选松三糖治疗疾病相关靶点;以“liver fibrosis”为关键词从 OMIM (<https://www.omim.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、Disgenet (<https://www.disgenet.org/>) 数据库中筛选出肝纤维化的相关靶点。将靶点信息置于同一文档,整合化合物治疗靶点和肝纤维化疾病相关靶点。

1.3 蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建

通过微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 将松三糖治疗靶点和肝纤维化疾病靶点进行交集处理并制作 Venn 图,从而获得该化合物治疗肝纤维化疾病的潜在靶点。将交集靶点上传到 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 进行蛋白质互作网络,物种选择“homo sapiens”,设置默认“medium confidence (0.400)”。将 tsv 格式数据结果导入 Cytoscape 3.9.1 软件中进行可视化分析。使用 CytoHubba 插件中 MCC 算法,筛选出前 10 个关键基因。

1.4 基因本体 (GO) 和京都基因和基因组的百科全书 (KEGG) 富集分析

利用生物信息学注释数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>) 对治疗肝纤维化疾病的靶点进行基因本体论 GO 功能富集分析和 KEGG 富集分析。GO 富集分析选取排名前 15 位的生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF) ($P < 0.01$), 利用微生信在线网站绘制可视化 GO 功能富集图。KEGG 富集分析选取排名前 25 位的显著通路 ($P < 0.005$), 微生信在线网站绘制可视化 KEGG 功能富集图。

1.5 分子对接

松三糖的 3D 结构通过 PubChem 数据库获得 (保存为 SDF 文件)。其次在 PDB (<https://www.rcsb.org/>) 数据库下载靶点蛋白结构, 保存为 Moe 文件。对已下载的蛋白要在 MOE 软件中先进行一系列预处理过程, 包括进行结构性问题的修正、质子化、删除未结合的水分子、能量优化等。接下来以预处理过的蛋白为受体, 以化合物为配体, 进行蛋白与小分子化合物之间的分子对接。

1.6 细胞培养

小鼠肝星状细胞系 JS-1 由中国药科大学生命科学技术学院刘畅教授课题组赠送。JS-1 细胞在 Dulbecco 改良的 Eagle's 培养基添加 10% 胎牛血清、100 IU/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素。细胞保存在 37 $^{\circ}\text{C}$ 加 5% CO_2 的加湿培养箱中。

1.7 MTT 实验

将处于对数生长期的 JS-1 细胞以 5×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL (5000 个/孔), 继续培养 24 h。将 96 孔板中的细胞液吸出, 并加入 0、5、10、20、40、80、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 松三糖, 每孔 100 μL , 继续培养 24 h。每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 10 μL , 培养 4 h, 弃去旧液, 加入 DMSO 溶液, 每孔 150 μL , 震荡 10 min, 使用酶标仪在 490 nm 处测定吸光度 (A) 值。根据 A 值来计算细胞活力。需进行 3 次独立重复实验, 每组 6 个复孔。

$$\text{细胞存活率} = 1 - (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.8 Western blotting 实验

将 JS-1 细胞分为对照组、模型组及松三糖 (20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组。用 2.5 ng/mL 的 TGF- β 1 刺激 JS-1 细胞 12 h 构建肝纤维化模型^[13], 松三糖组用含 20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 松三糖培养基处理 24 h 后在含有蛋白酶、磷酸酶抑制剂的 RIPA 溶液中进行细胞裂解。将所得悬浮液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下以 12 000 r/min 离心 20 min, 以

分离上清液。在还原条件下, 变性后的蛋白通过 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳分离, 随后转移到聚偏二氟乙烯膜 (PVDF) 上。然后用 5% BSA 在室温下封闭 1 h。随后, 将其与抗 CoL1A1、PI3K/Akt 及抗 P38、ERK、JNK 抗体在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。用 TBST 缓冲液对膜进行 3 次洗涤, 然后与羊抗鼠/兔辣根过氧化物酶 (HRP) 二抗 (1:5000) 在室温下孵育 1 h。最后, 使用 ECL 方法对膜上的蛋白条带进行可视化, 并以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 作为内参进行定量分析, 使用 Image J 软件进行定量强度分析。

1.9 统计学方法

使用 Graph Pad Prism 8.0 软件处理数据。所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差 ANOVA 分析。

2 结果

2.1 松三糖作用靶点预测结果

将绘制好的松三糖化合物结构导入 Swiss Target Prediction 数据库中筛选松三糖治疗疾病相关靶点, 共得到 92 个潜在作用靶点。

2.2 肝纤维化疾病靶点筛选结果

从 OMIM (<https://www.omim.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、Disgenet (<https://www.disgenet.org/>) 数据库中筛选出肝纤维化的相关靶点, 共得到 9 962 个有关肝纤维化潜在靶点。

2.3 松三糖治疗肝纤维化潜在作用靶点的获得

肝纤维化的作用靶点与松三糖的治疗靶点通过取交集, 获得 70 个交集靶点, 即为松三糖治疗肝纤维化的潜在作用靶点, 见图 1。

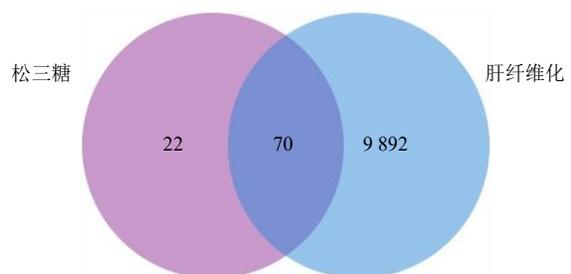


图 1 松三糖与肝纤维化靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of melezitose and liver fibrosis targets

2.4 松三糖治疗肝纤维化作用靶点 PPI 网络分析

PPI 网络分析包括 74 个节点, 见图 2A。将结果导入 Cytoscape 3.9.1 进行可视化分析, 利用 CytoHubba 插件中的 MCC 算法, 计算出前 10 位的基因, 见图 2B, 分别为信号转导子和转录激活子 3

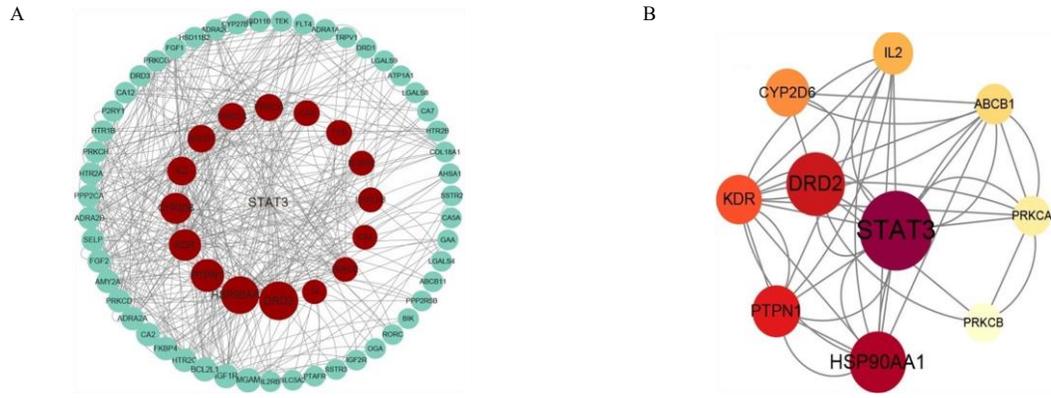


图 2 松三糖治疗靶点与肝纤维化靶点 PPI 网络图 (A)、排名前 10 位的关键基因 (B)

Fig. 2 PPI network diagram of melezitose therapeutic target and liver fibrosis target (A) and top 10 hub genes (B)

(STAT3)、相对分子质量 9×10^4 热休克蛋白 $\alpha A1$ (HSP90AA1)、多巴胺受体 D2 (DRD2)、非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 1 (PTPN1)、激酶插入域蛋白受体 (KDR)、细胞色素 P4502D6 (CYP2D6)、白细胞介素-2 (IL-2)、ATP 结合盒亚族 B 成员 (ABCB1)、蛋白激酶 C α (PPKCA)、PPKCB 等。

2.5 GO 和 KEGG 富集分析结果

对交集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 分析显示共富集到 298 个条目, 包括 199 项 BP、48 项 CC 和 51 项 MF。从 BP、CC 和 MF 中各选取富集程度最高的前 10 项, 其中最具有代表性的是 BP,

ERK1 和 ERK2 级联的正向调控、环化酶激活肾上腺素受体信号通路、突触囊泡外吞的调控、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联的正调节等, 见图 3。富集到 64 条 KEGG 信号通路, 见图 4。主要包括 TRP 通道的炎症介质调节、钙信号通路、表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂抵抗、Rap1 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、血管平滑肌收缩、低氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路、MAPK 信号通路等。

2.6 分子对接

采用分子对接技术对 KEGG 富集靶点信号通路 PI3K/Akt 及 MAPK 的相关靶点蛋白进行对接,

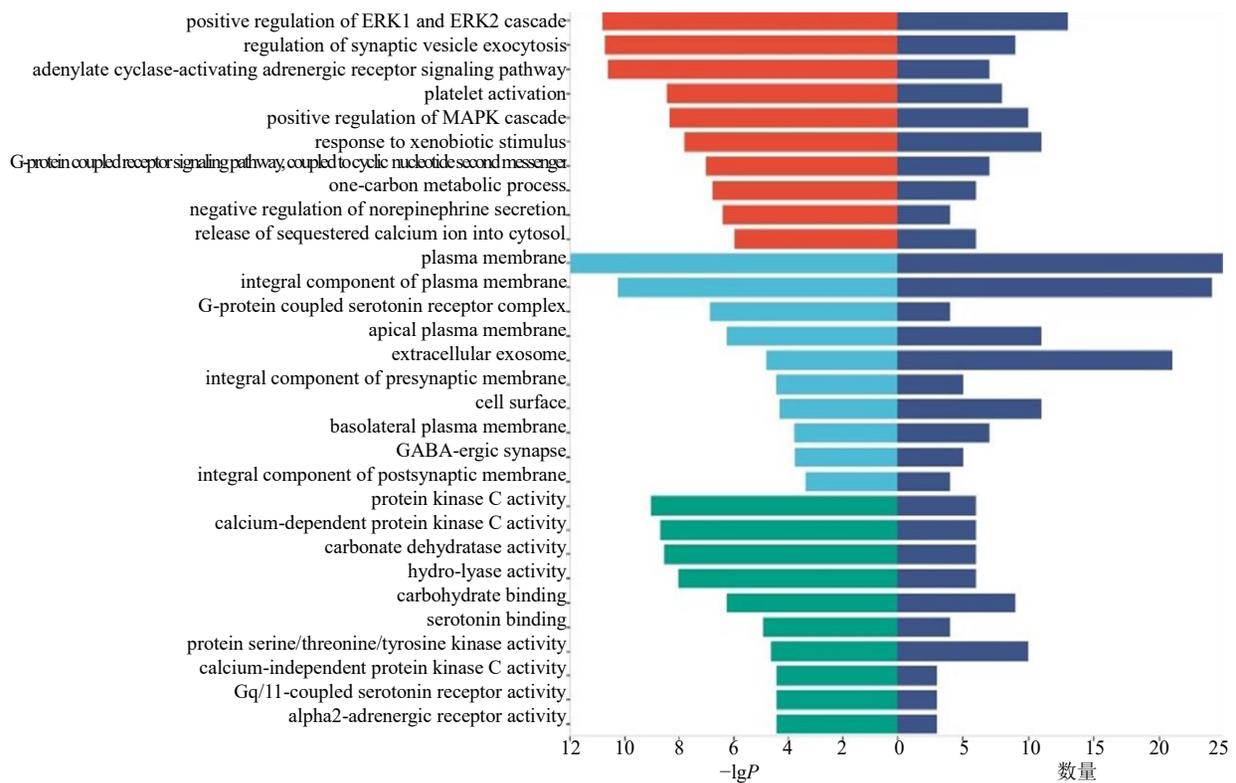


图 3 GO 富集分析结果

Fig. 3 GO enrichment analysis results

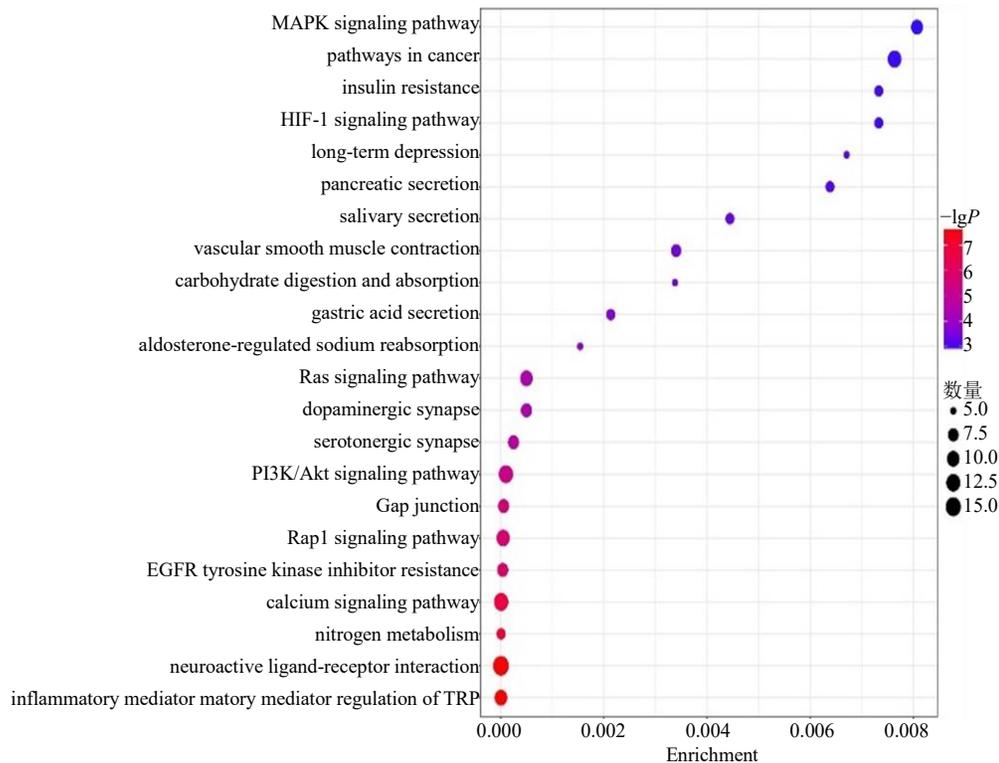


图 4 KEGG 富集分析结果

Fig. 4 KEGG enrichment analysis results

探究松三糖与这些靶点蛋白的结合能力。结果表明松三糖和 PI3K/Akt, P38、ERK、JNK 结合能分别是 -6.3 、 -7.5 、 -6.2 、 -6.0 、 -6.6 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.4 \text{ J}$), 见表 1、图 5。松三糖与核心靶点的结合能均 < -5 kcal/mol。

2.7 松三糖对 JS-1 细胞活力的影响

0、5、10、20、40、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 松三糖分别

表 1 松三糖与靶点的结合能

Table 1 Binding energy of melezitose and target

靶蛋白	PDB ID	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
PI3K	5NGB	-6.3
Akt	6S9W	-7.5
P38	2GHI	-6.2
JNK	3O17	-6.0
ERK1/2	6OTS	-6.6

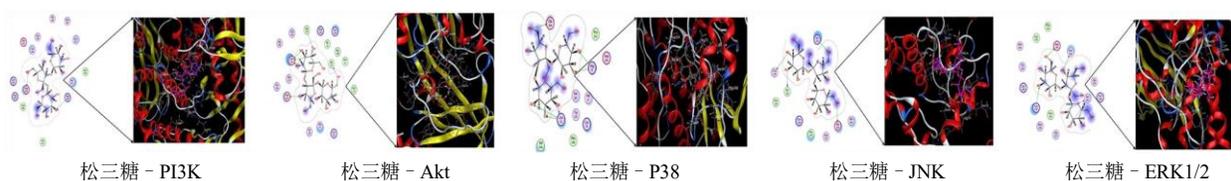


图 5 松三糖和核心靶点的分子对接结果

Fig. 5 Molecular docking results of melezitose and core targets

处理 JS-1 细胞 24 h 后, 通过 MTT 法检测各组细胞的细胞活力, 细胞抑制率均低于 10%, 表明松三糖对细胞无显著毒性, 见图 6。

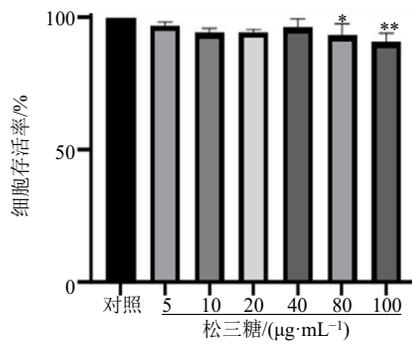
2.8 Western Blotting 检测结果

如图 7 所示, Western blotting 结果表明, 松三糖减少 TGF- β 1 诱导的 JS-1 细胞中的 I 型胶原积累, 且以剂量相关性方式下调 JS-1 细胞中 p-PI3K、p-Akt、p-P38、p-JNK、p-ERK 蛋白的表达 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。

3 讨论

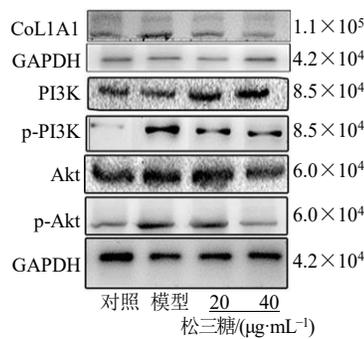
肝纤维化是慢性炎症向肝硬化的过渡阶段, 其病理过程是可逆的^[4]。近年来, 从药用植物中提取高效、低毒的有效成分以减轻肝纤维化的研究越来越受到重视。本研究通过网络药理学、分子对接然后结合细胞试验, 探究了从刺糖中提取的活性成分松三糖对肝纤维化的保护作用及可能的作用机制。

通过构建 PPI 网络得到排名前 10 位的基因, 分别为 *STAT3*、*HSP90AA1*、*DRD2*、*PTPN1*、*KDR*、

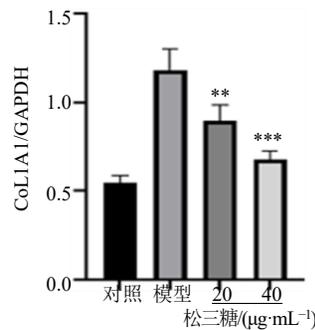
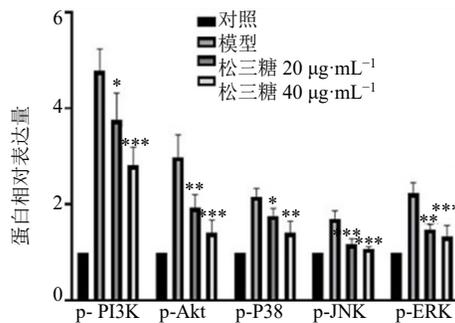
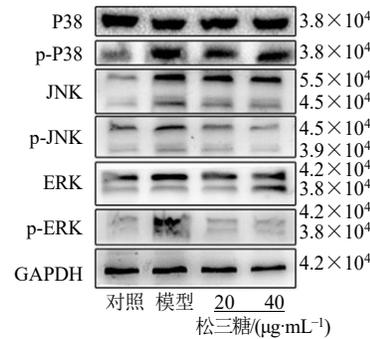


与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$.
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group.

图 6 松三糖对 JS-1 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 6 Effect of melezitose on cell viability of JS-1 cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



CYP2D6、*IL-2*、*ABCB1*、*PPKCA*、*PPKCB* 等。STAT3 在肝病的发病机制中起着关键作用^[15]。据报道，STAT3 是一种细胞质信号转录因子，属于 Janus 激酶信号转导和转录激活因子 STAT 通路，在肝损伤过程中起着至关重要的作用。当 STAT3 持续被激活时，会导致各种病理表现^[16-17]。近年来，研究证明，STAT3 与各种因素引起的肝纤维化的发生发展密切相关。STAT3 的激活在肝纤维化的发病机制中起到抗炎或促炎作用^[18]。蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B，由 PTPN1 编码) 是一种广泛表达的非受体磷酸酶，可调节信号转导的许多方面，PTP1B 缺乏在肝损伤的啮齿动物模型中具有保护作用，包括 FAS 诱导的肝衰竭、对乙酰氨基酚过量引起的肝毒性以及胆管



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 7 松三糖对 JS-1 细胞 CoL1A1、PI3K/Akt 及 MAPK 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effects of melezitose on the expression of CoL1A1, PI3K/Akt and MAPK signaling pathway proteins in JS-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

结扎诱导的纤维化^[19-20]。

GO 分析显示松三糖参与缓解肝纤维化进程的生物学过程包括 ERK1 和 ERK2 级联的正调节、ERK1 和 ERK2 级联的正向调控、环化酶激活肾上腺素受体信号通路、突触囊泡外吞的调控、MAPK 级联的正调节等。KEGG 通路富集分析显示松三糖可能通过 PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路等治疗肝

纤维化。在肝脏中，PI3K 通路已被充分证明是调节细胞生长、增殖、存活和迁移的重要信号传导。生长因子与酪氨酸激酶受体结合后，PI3K 被激活，进而诱导 Akt 磷酸化^[21]。抑制 Akt 磷酸化可抑制 HSCs 活化，改善胶原蛋白和 ECM 沉积，并诱导 HSCs 凋亡^[22-23]。细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPKs) 在各种细胞过程中

起着至关重要的作用,包括细胞因子的产生、增殖和细胞凋亡。这些途径可能会在肝脏中引发纤维化。许多研究提供了支持 MAPK 信号转导在纤维化中的作用的信息^[24-25]。

最后,通过分子对接技术验证了松三糖与各核心靶蛋白之间的结合能力。结果显示,松三糖与 PI3K/Akt、P38、JNK、ERK 等靶蛋白均有较好结合活性。并通过 Western Blotting 实验表明松三糖减少 TGF- β 1 诱导的 JS-1 细胞中 I 型胶原的积累,降低了磷酸化的 PI3K、Akt、P38、JNK、ERK 的表达,从而缓解纤维化进程。综上所述,松三糖可能通过作用于 PI3K/Akt 及 MAPK 等多个靶点,发挥抗肝纤维化作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kisseleva T. The origin of fibrogenic myofibroblasts in fibrotic liver [J]. *Hepatology*, 2017, 65(3): 1039-1043.
- [2] Zhou W C, Zhang Q B, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7312-7324.
- [3] Liu X, Huang K, Zhang R J, et al. Isochlorogenic acid A attenuates the progression of liver fibrosis through regulating HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 582.
- [4] Bataller R, Brenner D A. Hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis [J]. *Semin Liver Dis*, 2001, 21(3): 437-451.
- [5] Tan Z, Sun H B, Xue T X, et al. Liver Fibrosis: Therapeutic targets and advances in drug therapy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 21: 730176.
- [6] Elpek G Ö. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7260-7276.
- [7] Song J Z, Zhao X, Bo J Q, et al. A polysaccharide from Alhagi honey protects the intestinal barrier and regulates the Nrf2/HO-1-TLR4/MAPK signaling pathway to treat alcoholic liver disease in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117552.
- [8] 陈盈盈, 宋建忠, 李杰, 等. 刺糖化学成分及其生物活性研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2023, 20(7): 42-45.
- [9] LÜ Z Y, Song J Z, Xiang Y, et al. Structural characterization and therapeutic effect of alhagi honey oligosaccharide on liver fibrosis in mice [J]. *Fitoterapia*, 2024, 175: 105974.
- [10] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [11] 蒋湘勇, 康海, 郭琼, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探究白藜芦醇治疗前列腺癌的作用机制 [J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(7): 1717-1726.
- [12] 吴青业, 张颖梅, 王荣繁, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨归芍地黄汤加减方治疗抽动秽语综合征的作用机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(2): 516-526.
- [13] Liu J F, Kong D L, Qiu J F, et al. Praziquantel ameliorates CCl₄-induced liver fibrosis in mice by inhibiting TGF- β /Smad signalling via up-regulating Smad7 in hepatic stellate cells [J]. *Brit J Pharmacol*, 2019, 24: 4666-4680.
- [14] Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2015, 39 Suppl 1(1): S60-S63.
- [15] Gao B, Wang H, Lafdil F, et al. STAT proteins-key regulators of anti-viral responses, inflammation, and tumorigenesis in the liver [J]. *J Hepatol*, 2012, 57(2): 430-441.
- [16] Levy D E, Darnell J E Jr. Stats: Transcriptional control and biological impact [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(9): 651-662.
- [17] Kasembeli M M, Bharadwaj U, Robinson P, et al. Contribution of STAT3 to inflammatory and fibrotic diseases and prospects for its targeting for treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2299.
- [18] Zhao J, Qi Y F, Yu Y R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis [J]. *Ann Hepatol*, 2021, 21: 100224.
- [19] Mobasher M A, González-Rodríguez A, Santamaría B, et al. Protein tyrosine phosphatase 1B modulates GSK3 β /Nrf2 and IGFIR signaling pathways in acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(5): e626.
- [20] García-Ruiz I, Ruiz N B, Rada P, et al. Protein tyrosine phosphatase 1b deficiency protects against hepatic fibrosis by modulating naph oxidases [J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101263.
- [21] Piguet A C, Dufour J F. PI(3)K/PDEN/AKT pathway [J]. *J Hepatol*, 2011, 54(6): 1317-1319.
- [22] Wang X, Ikejima K, Kon K, et al. Ursolic acid ameliorates hepatic fibrosis in the rat by specific induction of apoptosis in hepatic stellate cells [J]. *J Hepatol*, 2011, 55(2): 379-387.
- [23] Son M K, Ryu Y L, Jung K H, et al. HS-173, a novel PI3K inhibitor, attenuates the activation of hepatic stellate cells in liver fibrosis [J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 3470.
- [24] Younis N S, Ghanim A M H, Saber S. Mebendazole augments sensitivity to sorafenib by targeting MAPK and BCL-2 signalling in n-nitrosodiethylamine-induced murine hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 19095.
- [25] Wu C, Chen W Y, Ding H Y, et al. Salvianolic acid B exerts anti-liver fibrosis effects via inhibition of MAPK-mediated phospho-Smad2/3 at linker regions *in vivo* and *in vitro* [J]. *Life Sci*, 2019, 239: 116881.

[责任编辑 高源]