

基于网络药理学探讨黄芪治疗代谢相关脂肪性肝病作用机制

赵鑫, 吕文良, 刘爽, 曹正民, 徐蕾, 陈静, 李娟梅*

中国中医科学院广安门医院 感染疾病科, 北京 100053

摘要: **目的** 使用网络药理学方法探讨黄芪治疗代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的作用机制。**方法** 根据TCMSP数据库、GeneCards数据库和比较毒物基因组学数据库数据库, 预测和筛选黄芪的活性成分和MAFLD的相关基因, 得到黄芪治疗MAFLD的潜在靶点, 使用Cytoscape 3.8.0软件和STRING数据库, 构建黄芪活性成分与MAFLD相关靶点的成分-靶点网络, 分析网络获得重要靶点, 并利用Metascape数据库对其进行GO和KEGG通路富集分析。**结果** 从黄芪中筛选得到叶酸、槲皮素、山柰酚、异鼠李素等20个活性成分, 能够作用于91个MAFLD相关靶点, 其中IL4、EGFR、MAPK8、TNF、HIF-1 α 等27个靶点是重要靶点, 可能通过调控糖尿病并发症AGE-RAGE信号通路、白细胞介素-17信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化等通路, 参与调节MAFLD脂质代谢、氧化应激反应和炎症反应等多种生物过程。**结论** 黄芪可以通过多靶点、多途径参与MAFLD的治疗。

关键词: 黄芪; 代谢相关脂肪性肝病; 网络药理学; 富集分析; 作用机制

中图分类号: R284.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2021)01-0089-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.01.012

Mechanism of *Astragali Radix* in treatment of metabolic associated fatty liver disease based on network pharmacology

ZHAO Xin, LÜ Wenliang, LIU Shuang, CAO Zhengmin, XU Lei, CHEN Jing, LI Juanmei

Department of Infectious Diseases, China Academy of Chinese Medical Sciences, Guang'anmen Hospital, Beijing 100053, China

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of *Astragali Radix* in treatment of metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) by means of network pharmacology. **Methods** According to TCMSP database, GeneCards database, and Comparative Toxicogenomics database, predict and screen the active ingredients of *Astragali Radix* and related genes of MAFLD, obtain the potential targets of *Astragali Radix* for treating MAFLD. Cytoscape 3.8.0 software and STRING database was used to construct a component-target network between active ingredients and potential targets. Analyze the network to obtain important targets, and use Metascape database to annotate important targets with gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. **Results** *Astragali Radix* contains 20 active components such as quercetin, kaempferol, isorhamnetin and folic acid, which can act on 91 MAFLD targets. Among them, 27 targets are key targets, such as IL4, EGFR, MAPK8, TNF and HIF-1 α , which can regulate AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, IL-17 signaling pathway, fluid shear stress and atherosclerosis, involved lipid metabolism, oxidative stress and inflammatory response and other biological processes. **Conclusion** *Astragali Radix* play a role in treatment of MAFLD through multiple targets and pathways.

Key words: *Astragali Radix*; MAFLD; network pharmacology; enrichment analysis; mechanism

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD), 是一种多系统代谢功能紊乱累及肝脏的疾病, 现更名为代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease,

MAFLD)^[1], 其病理机制主要是肝细胞内脂质的积聚导致肝细胞损伤和凋亡, 造成肝脏炎症和纤维化及肝功能受损。MAFLD的疾病谱包括从单纯的肝细胞脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎(non-

收稿日期: 2020-08-30

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化研究”专项(2018YFC1705700); 艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治专项(2018ZX10303-502); 京津冀中医国家临床重点专科肝病协同病房项目(GZY-GCS-2017-60); 中国科学技术协会“青年人才托举工程”(No. 2016QNRC001)

第一作者: 赵鑫(1994—), 女, 河南平顶山人, 硕士。Tel: 15037579369 E-mail: 751778321@qq.com

***通信作者:** 李娟梅(1985—), 女, 湖南邵阳人, 硕士, 主治医师。Tel: 13263398693 E-mail: juanmeili2012@126.com

alcoholic steatohepatitis, NASH), 及其进一步进展为肝纤维化、肝硬化和肝癌, 甚至导致死亡^[2]。MAFLD的全球患病率高达25.2%^[3], 严重威胁着人类健康。目前, 西医尚无官方推荐的治疗药物, 中医药治疗应用广泛, 效果良好。中医辨证论治理论中认为MAFLD以气虚血瘀为本, 病在肝脾^[4], 治疗应以补气化瘀为主, 适宜使用中药黄芪^[5-6]。黄芪, 性甘, 微温, 入肺脾经, 临床常用于益气养血, 行滞化瘀。黄芪含有黄酮、多糖、皂苷等多种有效成分^[7-8], 现代药理研究表明, 黄芪及其提取物对MAFLD具有预防和治疗作用^[9-11]。本研究运用网络药理学方法探讨黄芪治疗MAFLD的作用机制, 揭示黄芪防治MAFLD在靶点-通路层面的复杂分子机制, 为黄芪治疗MAFLD的作用机制研究提供新思路和新方向。

1 方法

1.1 黄芪潜在活性成分及其作用靶点

在中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)中检索黄芪潜在药效成分, 依照口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18的标准进行筛选。并使用TCMSP数据库检索上一步得到的活性成分的作用靶点, 将靶点通过UniProt数据库(<https://www.uniprot.org>)映射为标准基因名称, 即黄芪活性成分与作用靶点。

1.2 黄芪治疗MAFLD作用靶点

在GeneCards数据库(<https://www.genecards.org>)中检索得到MAFLD相关靶基因。再使用比较毒物基因组学(Comparative Toxicogenomics Database, CTD)数据库(<http://ctdbase.org>)的检索功能, 获取与MAFLD相关基因, 筛选经过实验验证的基因作为MAFLD相关靶点。将2个数据库获取的MAFLD相关基因合并删除重复项, 得到MAFLD相关靶基因。再将MAFLD靶基因与黄芪活性成分作用靶点基因映射筛选, 取交集, 获得黄芪治疗MAFLD的潜在作用靶点。

1.3 靶点互作网络的构建

1.3.1 构建黄芪成分靶点网络 使用Cytoscape 3.8.0软件构建黄芪治疗MAFLD的黄芪-活性成分-作用靶点网络。在该网络中, 节点(Node)代表黄芪活性成分及其作用于MAFLD的靶蛋白, 边(Edge)代表活性成分-靶蛋白的相互作用。采用Cytoscape 3.8.0软件中的“Analyze Network”功能, 对网络的拓扑参数进行计算, 网络图中节点的节点连接度(Degree)越大, 表示该节点在网络中的作用越关

键, 分析得出黄芪治疗MAFLD的重要活性成分。

1.3.2 蛋白质相互作用网络与重要靶点 STRING数据库(<https://string-db.org>)是一种包含已知和数据预测的蛋白质-蛋白质相互作用(Protein-protein interaction, PPI)的数据库, 在STRING平台中将得到的黄芪治疗MAFLD的潜在靶点导入, 设定种类为“智人(Homo sapiens)”, 置信度设置为“0.4”进行筛选, 其余参数保持默认, 获取目标基因的蛋白质相互作用信息的tsv格式文件, 并通过Cytoscape软件构建PPI网络。运用Cytoscape软件的MCODE和STRING应用程序对PPI网络进行渲染和重要的基因模块聚类分析, 执行MCODE和STRING应用程序中的所有默认参数, 得到PPI网络中密集连接的网络组件(Module), Module内包含靶点即为黄芪治疗MAFLD的重要作用靶点。

1.4 基因本体分析和KEGG通路注释及富集分析

基因本体分析(Gene Ontology, GO)是注释基因产物及其功能特征的通用方法, 其中GO分析依据功能的不同, 可区分为生物过程(biological process, BP)、细胞成分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)。将交集靶点导入Metascape数据库(<https://metascape.org>), 物种类型选择为“Homo sapiens”, 再选择“Custom Analysis”, 使用默认设定值作为筛选条件, 进行GO分析和京都基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路注释及富集分析, 用于基因注解, 并对结果进行可视化处理。

2 结果

2.1 黄芪潜在活性成分

使用TCMSP数据库获取黄芪潜在活性成分, 根据口服OB≥30%、DL≥0.18的条件, 共筛选出候选活性成分20个, 如表1所示。

2.2 预测黄芪治疗MAFLD作用靶点

通过TCMSP数据库共检索出黄芪活性成分靶点208个, 使用GeneCards数据库、CTD数据库检索得到MAFLD靶点1 010个, 将两者取交集映射, 得到91个靶点, 即为黄芪治疗MAFLD的潜在靶基因, 见表2。

2.3 网络图分析

2.3.1 成分靶点网络 以91个靶基因作为黄芪治疗MAFLD的作用靶点, 建立黄芪治疗MAFLD的活性成分-靶点基因网络图, 共有105个节点、202条边。节点表示黄芪活性成分及靶点, 边代表了黄芪活性成分与靶点之间的相互作用, 20个成分中有14个活性成分作用于91个MAFLD靶点, 如图1所示。

表1 黄芪活性成分基本信息

Table 1 Basic information of active ingredients in *Astragali Radix*

TCMSP 编号	成分名称	OB/%	DL/%
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28
MOL000211	丁子香酚	55.38	0.78
MOL000239	梔子醇	50.83	0.29
MOL000296	常春藤皂苷元	36.91	0.75
MOL000354	异鼠李素	49.60	0.31
MOL000371	3,9-di- <i>O</i> -methylisolin	53.74	0.48
MOL000033	(3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i>)-10,13-dimethyl-17-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclo-penta[<i>a</i>]phenanthren-3-ol	36.23	0.78
MOL000374	(5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di- <i>O</i> -glucoside)	41.72	0.69
MOL000378	7- <i>O</i> -meth-ylisomucronulatol	74.69	0.30
MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside	36.74	0.92
MOL000380	(6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-9,10-dime-thoxy-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -dihydro-6 <i>H</i> -benzo-furano[3,2- <i>c</i>]chromen-3-ol	64.26	0.42
MOL000387	联苯双酯	31.10	0.67
MOL000392	刺芒柄花素	69.67	0.21
MOL000398	二氢异黄酮	109.99	0.30
MOL000417	毛蕊异黄酮	47.75	0.24
MOL000422	山柰酚	41.88	0.24
MOL000433	叶酸	68.96	0.71
MOL000438	(3 <i>R</i>)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chro-man-7-ol	67.67	0.26
MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di- <i>O</i> -glucosiole	49.28	0.62
MOL000442	1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48

表2 黄芪潜在治疗MAFLD作用靶点

Table 2 Potential target genes of *Astragali Radix* in treatment of MAFLD

基因靶点名称					
MMP2	CCND1	OPRD1	GSTP1	COL3A1	ATP5F1B
XDH	ESR1	MAPK8	AHR	HMOX1	AKT1
HSPB1	ADRB2	ICAM1	NFE2L2	PTPN1	PRKACA
PTEN	VEGFA	NCOA1	NR1I3	PPARA	SIRT1
NOS2	TGFB1	IGHG1	TNF	MAOB	IL1B
SLC6A4	MYC	RELA	IL1A	CYP1A2	IGFBP3
RXRA	MT-ND6	HIF-1 α	MPO	AHSA1	HTR2A
ACACA	ACHE	OPRM1	CHUK	GSTM1	NR1I2
COL1A1	GSK3B	CXCL10	SPP1	EGFR	CDKN2A
PINK1	CCL2	SERPINE1	F2	IKBKB	JUN
PON1	MMP1	TP53	PTGS2	NQO1	PRKCA
TF	STAT1	INSR	OLR1	IFNG	CD40LG
CYP1A1	SLC2A1	CASP9	SLPI	HSPA5	CYP3A4
E2F1	CASP3	HERC4	ADH1C	IL4	PRSS1
PPARG	PARP1	ADH1B	SLC6A3	PPARD	CDKN1A
CRP					

经 Cytoscape 软件网络拓扑参数计算,黄芪治疗 MAFLD 的活性成分-靶点基因网络平均 Degree 值为 3.85,在 14 种活性成分中槲皮素、山柰酚、芒柄花素等 10 种活性成分的 Degree 大于均值,和多个靶点基因具有相互作用,可能是黄芪治疗 MAFLD 的重要潜在药效成分,黄芪各活性成分的拓扑参数见表 3。

2.3.2 PPI 网络分析 通过 Cytoscape 3.8 软件获得 PPI 网络图,该网络含有 75 个 Nodes,773 条 Edges。利用 Cytoscape 软件的 MCODE 插件对该网络图进行聚类分析,筛选出核心基因模块,属于子簇 B(得分 23.5),包含 27 个 Nodes 和 306 条 Edges,得到核心基因 27 个,包括 CASP3、CCL2、CCND1、CRP、CXCL10、EGFR、HIF-1 α 、HMOX1、ICAM1、IFNG、IL4、MAPK8、MMP1、MMP2、MPO、MYC、NOS2、PPARG、PTEN、PTGS2、SERPINE1、SPP1、STAT1、TGFB1、TNF、TP53、VEGFA,见图 2。这些靶点在 PPI 网络中具有重要地位,说明其在黄芪治疗 MAFLD 中具有重要意义。

2.4 GO 富集分析和 KEGG 富集分析

利用 Metascape 网站对黄芪治疗 MAFLD 的 27 个重要靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 途径富集分析,对富集结果按照 *P* 值排序,Count 值表示富集在该通路的基因数量。结果见图 3~5。GO 生物过程富集(图 3)主要涉及细胞因子介导的信号通路、细胞分化的负调控、对营养水平的反应、对氧气水平的反应、上皮细胞增殖的调节、活性氧代谢过程、对脂多糖的反应、调节平滑肌细胞增殖等生物过程。GO 分子功能分析(图 4)中排名前 5 的功能涉及细胞因子受体结合、蛋白酶结合、组蛋白乙酰转移酶结合、血红素结合和趋化因子受体结合。

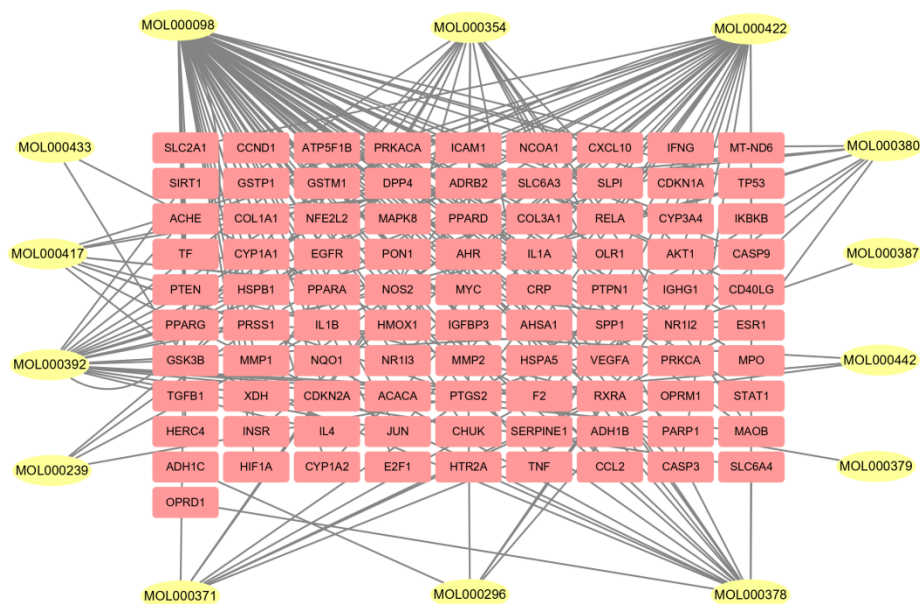


图1 黄芪治疗MAFLD的活性成分-靶点网络图

Fig. 1 Active ingredient-target network map of *Astragali Radix* against MAFLD

表3 黄芪主要活性成分拓扑参数

Table 3 Topological parameters of main active ingredients of *Astragali Radix*

TCMSP 编号	活性成分	Degree
MOL000098	槲皮素	72
MOL000422	山柰酚	34
MOL000392	刺芒柄花素	21
MOL000354	异鼠李素	17
MOL000378	7-O-甲基异麦芽糖醇	15
MOL000417	毛蕊异黄酮	10
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dime-thoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzo-furano[3,2-c]chromen-3-ol	9
MOL000371	3,9-di-O-methylnissolin	8
MOL000296	常春藤皂苷元	5
MOL000239	栀子醇	4
MOL000442	1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	3
MOL000433	叶酸	2
MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	1
MOL000387	联苯双酯	1

GO 细胞组分分析(图5)中排名前5细胞组分是膜筏、细胞外基质、细胞质核周区域、RNA 聚合酶 II 转录因子复合物、膜面和核膜。KEGG 通路分析显示,在黄芪治疗 MAFLD 所涉及的通路中相关性排名前15名的通路涉及癌症相关通路、糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、白细胞介素-17 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、乙型肝炎、利什曼病、类风湿关节炎、HIF-1 α 信号通路等通路,详见表4。

3 讨论

MAFLD 的发病机制尚不清楚,目前主要认为与瘦素抵抗、胰岛素抵抗、氧化应激、内质网应激、肠道菌群失调、自噬和 MicroRNA 作用、脂质代谢紊乱、炎症浸润、肥胖、2 型糖尿病等^[12-13]等多种潜在途径及损伤之间的相互作用有关。林敏华等^[14]研究发现中药及有效成分治疗 MAFLD 的机制大多是通过改善血脂代谢紊乱、胰岛素抵抗、抗炎、抗过氧化的作用,从而阻断肝细胞脂肪化和炎症浸润。

表4 黄芪治疗MAFLD重要靶点的KEGG富集分析

Table 4 KEGG Pathway enrichment analysis results of *Astragali Radix* against MAFLD key target

KEGG 通路	基因数量(Count)	lgP
Pathways in cancer	16	-21.73
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	11	-19.46
IL-17 signaling pathway	9	-15.29
Fluid shear stress and atherosclerosis	9	-13.59
Hepatitis B	9	-13.53
Pancreatic cancer	7	-12.28
Leishmaniasis	7	-11.86
Rheumatoid arthritis	7	-11.21
HIF-1 signaling pathway	7	-10.85
MicroRNAs in cancer	9	-10.67
p53 signaling pathway	5	-7.92
Thyroid hormone signaling pathway	5	-6.78
Sphingolipid signaling pathway	4	-5.08
Apelin signaling pathway	4	-4.81
Renal cell carcinoma	3	-4.30

3.1 黄芪活性成分治疗MAFLD的靶点及作用机制

结合黄芪活性成分-靶点网络分析发现,槲皮素、山柰酚等14个成分是黄芪的潜在活性成分,能够与91个靶点相互作用,主要通过调节脂质代谢异常来降低肝细胞脂质累积来防治MAFLD。Wei等^[15]发现槲皮素、山柰酚、异鼠李素等黄酮类成分能够抑制长链脂肪酸 β -氧化过程中的脂质积累。研究发现槲皮素、山柰酚能够通过控制血清总胆固醇(total cholesterol, TC),低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)和三酰甘油(triacylglycerol, TG)的水平,减少了肝脏中脂肪的储存来防治MAFLD^[16]。叶酸可减轻HFD诱导的糖脂代谢紊乱及脂质蓄积,对MAFLD有保护作用^[17]。Ganbold等^[18]研究发现异鼠李素能够通过抑制NASH小鼠新生脂肪形成途径来减少肝内脂质累积和血清TG含量,减轻NASH造成的肝损伤。研究发现槲皮素可通过提高自噬溶酶体降解能力,影响清道夫受体(scavenger receptor, SR)介导的低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, oX-LDL)摄取能力来减轻HFD引起的肝损害,并降低血清胆固醇和oX-LDL含量^[19]。Panchal等^[20]发现槲皮素可减轻大多数代谢综合征的症状。槲皮素可能通过介导肌醇依赖酶1 α (inositol-requiring enzyme 1 α , IRE1 α)/X盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)信号通路途径促进极低密

度脂蛋白(very low-density lipoproteins, VLDL)组装和吞噬脂肪来改善HFD诱导的MAFLD。研究发现,槲皮素可以激活胆汁酸受体法尼醇X受体1(Farnesoid X receptor1)/武田G蛋白偶联受体5(Takeda G-protein-coupled receptor 5)信号通路,减弱炎症反应,调节脂质代谢从而治疗MAFLD^[21]。研究表明,槲皮素可以通过介导同源性磷酸酶张力蛋白诱导的激酶1(phosphatase and tensin homologue (PTEN)-induced putative kinase 1, PINK1)/Parkin线粒体自噬信号通路减轻肝脂肪变性^[22]。Liu等^[23]发现,叶酸通过抑制胰岛素或胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)信号介导的磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)/固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element binding transcription proteins, SREBPs)信号通路抑制脂肪形成。Xin等^[24]发现叶酸通过依赖沉默信息调节因子1(Silent information regulator 1, SIRT1)上调过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α)水平来改善肝脂质代谢,并恢复肝一碳代谢和肠道菌群多样性,从而治疗HFD诱导的NASH。

黄芪对MAFLD的防治作用可以通过抗炎和减轻氧化应激实现。研究结果表明,槲皮素能通过调节脂肪酸相关代谢产物、炎症相关代谢产物、氧化应激相关代谢产物和其他差异代谢产物,减少HFD

诱导的MAFLD引起的肝损伤^[25]。Sid等^[26]发现叶酸能够通过活化核因子 κ B(Nuclear factor kappa B, NF- κ B)和炎性细胞因子来减轻HFD诱发的肝脂质积累和炎症灶产生。王登科等^[27]发现黄芪注射液能够下调炎症因子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)的表达。Yang等^[21]发现槲皮素可能通过抑制白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), 白细胞介素6(Interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的产生来治疗MAFLD。Pasdar等^[28]研究发现槲皮素可以通过改善氧化应激的相关副作用改善MAFLD相关血常规指标。Zang等^[29]发现黄芪能够显著抑制缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)的表达量。研究显示, 异鼠李素能抑制过氧化物酶增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR- γ)活化诱导的脂肪细胞分化, 减少肝脏脂肪变性^[30]。

3.2 黄芪治疗MAFLD关键靶点及通路

本研究基于网络药理学方法揭示了黄芪可能通过介导关键靶点和信号通路起到治疗MAFLD的作用。由PPI网络图分析可得, CC型趋化因子2(C-C motif ligand 2, CCL2)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、CXC趋化因子配体10(CXC chemokine ligand 10, CXCL10)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL4)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶8(mitogen-activated protein kinase 8, MAPK8)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、肿瘤抑制蛋白P53(tumor protein p53, TP53)、HIF-1 α 、ICAM-1等27个靶点是PPI网络的关键靶蛋白, 主要与氧化应激、炎症反应和脂质代谢进程相关。其中CXCL2、CXCL10、IL4、TNF、ICAM-1是炎症因子, CRP是急性时相反应蛋白, 它们都与免疫炎症、组织坏死密切相关, 黄芪可能通过下调CCL2、CXCL10等促炎因子的表达, 减轻炎性损伤, 降低ICAM-1的表达水平, 减少炎细胞的渗出; MAPK8基因与脂肪代谢有关; TP53、HIFA与氧化应激反应有关; EGFR和活性氧产生及内质网应激有关, 以上因素也是MAFLD发生发展的重要危险因素。

KEGG通路分析结果显示, 在黄芪治疗MAFLD所涉及的通路中, 前15名是癌症相关通路、糖尿病并发症AGE-RAGE信号通路、白介素-17信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化等通路, 这些通路大多仍然与MAFLD疾病进程中的炎症浸

润、脂质代谢紊乱和氧化应激反应相关。但KEGG富集分析排在首位的通路是肿瘤疾病相关信号通路, 表明黄芪在肿瘤疾病的治疗应用中大有可为。近年来, 关于黄芪抗肿瘤的效果和作用机制已经得到了广泛的研究和证实, 基础研究认为黄芪活性成分多糖、皂苷、黄酮均具有免疫调节作用^[31], 能够通过介导血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)/基质金属蛋白酶(Matrix metalloprotein, MMP)信号通路、抑制新生血管, 产生抑癌作用^[32]。虽然本研究中预测的关键靶点、作用通路在MAFLD的作用机制尚未被基础研究证实, 但功能类似的相关靶点、通路已经被证明是黄芪治疗作用的有效途径, 研究中预测的靶点及信号通路亦可能为黄芪治疗MAFLD重要作用通路。

综上所述, 黄芪潜在活性成分可能通过作用于CXCL2、CXCL10、IL4、TNF、ICAM-1、CRP、MAPK8、TP53、HIFA、EGFR介导AGEs-RAGE、白介素-17、流体剪切应力与动脉粥样硬化、乙肝及类风湿性关节炎等信号通路, 参与调节脂质代谢紊乱、抑制氧化应激和炎症反应等过程改善MAFLD的肝损伤, 发挥治疗MAFLD的作用。本研究通过网络药理学的方法, 预测了黄芪潜在活性成分对于MAFLD疾病相关靶点、通路和作用机制, 发现黄芪的多活性成分-靶点-通路能够协同并作, 并通过抗炎、调节脂质代谢、调控氧化应激反应等多方面、多渠道发挥治疗MAFLD的作用, 为探究黄芪治疗MAFLD的作用机制指明了新的方向, 也为后期的实验验证提供了可靠的理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Eslam M, Sanyal A J, George J, et al. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7): 1999-2014.
- [2] Machado M V, Cortez-Pinto H. Non-alcoholic fatty liver disease: what the clinician needs to know [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(36): 12956-12980.
- [3] Younossi Z M, Golabi P, de Avila L, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Hepatol*, 2019, 71(4): 793-801.
- [4] 吕娇娇. 脂肪性肝损伤中医气虚痰毒证实验研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2013.
- [5] Lv J J. Experimental study on Qi Deficiency and Phlegm

- Toxin syndrome of traditional Chinese medicine for fatty liver injury [J]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2013.
- [5] 刘明明. 基于数据挖掘方法探讨李勇教授治疗非酒精性脂肪肝学术思想及用药规律 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2018.
- Liu M M. Based on data mining method discusses the understanding of the professor Li Yong for the treatment of NAFLD and medication regularity [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2018.
- [6] 左 草. 黄芪降脂汤治疗非酒精性脂肪性肝病的临床研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- Zuo C. Clinical study of Huangqi Jiangzhi Decoction on nonalcoholic fatty liver disease [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2015.
- [7] Zhang W M, Ma W R, Zhang J, et al. The immunoregulatory activities of astragalus polysaccharide liposome on macrophages and dendritic cells [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 105: 852-861.
- [8] 黄鹏程, 金伟锋, 万海同, 等. 遗传神经网络与遗传算法优选黄芪皂苷微波提取工艺条件 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3815-3823.
- Huang P C, Jin W F, Wan H T, et al. Optimization of microwave extraction conditions of astragalus saponins by genetic neural network and genetic algorithm [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(16): 3815-3823.
- [9] Duan X P, Meng Q, Wang C Y, et al. Effects of calycosin against high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2018, 33(2): 533-542.
- [10] 代鲜敏, 黄 思, 孙 旸, 等. 黄芪对非酒精性脂肪肝的影响及潜在机制 [J/OL]. 中华中医药学刊, 1-10[2020-12-17]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20200817.1430.280.html>.
- Dai X M, Huang S, Sun C, et al. Effect of *Astragalus membranaceus* on non-alcoholic fatty liver disease and its potential mechanism [J/OL]. Chin Arch Tradit Chin Med, 1-10 [2020-12-17]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20200817.1430.280.html>.
- [11] 方 芳, 宋育林, 许建明, 等. 黄芪提取物对高脂饮食诱导的大鼠非酒精性脂肪性肝病影响的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(1): 145-148.
- Fang F, Song Y L, Xu J M, et al. The effects of *Astragalus membranaceus* extraction on nonalcoholic fatty liver disease in rats induced by high fat diet [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2009, 27(1): 145-148.
- [12] 王 虎, 滕 田, 王 莉, 等. 非酒精性脂肪性肝病发病机制的研究进展 [J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(4): 769-773.
- Wang H, Teng T, Wang L, et al. Research advances in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Clin Hepatol, 2017, 33(4): 769-773.
- [13] 周 盐, 蒋雨薇, 郑培永. 中医药治疗非酒精性脂肪肝肝病临床研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(6): 1327-1330.
- Zhou Y, Jiang Y W, Zheng P Y. Research progress of traditional Chinese medicine in treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2019, 46(6): 1327-1330.
- [14] 林敏华, 吴 昊, 曾华敏, 等. 中药提取物及有效成分防治非酒精性脂肪性肝病的作用机制研究进展 [J]. 中国中医药图书情报杂志, 2020, 44(1): 72-76.
- Lin M H, Wu H, Zeng H M, et al. Research progress in mechanism of action of Chinese materia medica extracts and active components for prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Chin J Libr Inf Sci Tradit Chin Med, 2020, 44(1): 72-76.
- [15] Wei T, Xiong F F, Wang S D, et al. Flavonoid ingredients of Ginkgo biloba leaf extract regulate lipid metabolism through SPl-mediated carnitine palmitoyltransferase 1A up-regulation [J]. J Biomed Sci, 2014, 21(1): 87.
- [16] Gurusaiiah P, Guo H M, Li D X, et al. Preventive effect of flavonol derivatives abundant sanglan tea on long-term high-fat-diet-induced obesity complications in C57BL/6 mice [J]. Nutrients, 2018, 10(9): E1276.
- [17] 许菁菁, 张妍薇, 孙 玥, 等. 叶酸对高脂饮食诱导的C57BL/6小鼠肥胖及非酒精性肝病的预防作用 [A]// 营养研究与临床实践——第十四届全国营养科学大会暨第十一届亚太临床营养大会、第二届全球华人营养科学家大会论文摘要汇编 [C]. 北京: 中国营养学会, 2019: 2.
- Xu J J, Zhang Y W, Sun Y, et al. Preventive effect of folic acid on obesity and non-alcoholic liver disease induced by high fat diet in C57BL/6 mice [A]// Nutritional research and clinical practice — the summary of papers from the 14th National 11th Asia-Pacific Clinical Nutrition Conference and the 2nd Global Chinese Nutrition Scientist Conference [C]. Beijing: Chinese Nutrition Society, 2019: 2.
- [18] Ganbold M, Owada Y, Ozawa Y, et al. Isorhamnetin alleviates steatosis and fibrosis in mice with nonalcoholic steatohepatitis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 16210.
- [19] Liu L, Gao C, Yao P, et al. Quercetin alleviates high-fat diet-induced oxidized low-density lipoprotein accumulation in the liver: implication for autophagy regulation [J]. Biomed Res Int, 2015: 607531.
- [20] Panchal S K, Poudyal H, Brown L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-

- induced metabolic syndrome in rats [J]. J Nutr, 2012, 142(6): 1026-1032.
- [21] Yang H, Yang T T, Heng C, et al. Quercetin improves nonalcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db/db mice [J]. Phytother Res, 2019, 33(12): 3140-3152.
- [22] Liu P Y, Lin H K, Xu Y F, et al. Frataxin-mediated PINK1-parkin-dependent mitophagy in hepatic steatosis: the protective effects of quercetin [J]. Mol Nutr Food Res, 2018, 62(16): e1800164.
- [23] Liu Y L, Shen J, Yang X, et al. Folic acid reduced triglycerides deposition in primary chicken hepatocytes [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(50): 13162-13172.
- [24] Xin F Z, Zhao Z H, Zhang R N, et al. Folic acid attenuates high-fat diet-induced steatohepatitis via deacetylase SIRT1-dependent restoration of PPAR α [J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(18): 2203-2220.
- [25] Zhu X H, Xiong T, Liu P Y, et al. Quercetin ameliorates HFD-induced NAFLD by promoting hepatic VLDL assembly and lipophagy via the IRE1 α /XBP1s pathway [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 114: 52-60.
- [26] Sid V, Shang Y, Siow Y L, et al. Folic acid supplementation attenuates chronic hepatic inflammation in high-fat diet fed mice [J]. Lipids, 2018, 53(7): 709-716.
- [27] 王登科, 谢浩平, 戴新文, 等. 黄芪注射液对脑出血后大鼠脑组织含水量及炎症介质 ICAM-1 的影响 [J]. 青海医学院学报, 2014, 35(4): 247-250.
- Wang D K, Xie H P, Dai X W, et al. Effects of astragalus injection on cerebral edema and expression of ICAM-1 in rats with cerebral hemorrhage [J]. J Qinghai Med Coll, 2014, 35(4): 247-250.
- [28] Pasdary Y, Oubari F, Zarif M N, et al. Effects of quercetin supplementation on hematological parameters in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study [J]. Clin Nutr Res, 2020, 9(1): 11-19.
- [29] Zang W H, Bian H, Huang X Z, et al. Traditional Chinese Medicine (TCM) *Astragalus membranaceus* and *Curcuma wenyujin* promote vascular normalization in tumor-derived endothelial cells of human hepatocellular carcinoma [J]. Anticancer Res, 2019, 39(6): 2739-2747.
- [30] Nie H, Deng Y J, Zheng C Y, et al. A network pharmacology-based approach to explore the effects of Chaihu Shugan powder on a non-alcoholic fatty liver rat model through nuclear receptors [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(9): 5168-5184.
- [31] 刘莹. 黄芪的抗肿瘤作用机制与研究进展 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(5): 34-35.
- Liu Y. The antitumor mechanism and research progress of *Astragalus membranaceus* [J]. Cardiovasc Dis J Integr Tradit Chin West Med, 2018, 6(5): 34-35.
- [32] 邓春, 赵红艳, 高美丽. 黄芪活性成分抗肿瘤研究进展 [J]. 国外医学: 医学地理分册, 2018, 39(3): 276-280.
- Deng C, Zhao H Y, Gao M L. Progress of *Astragali Radix* and its active components of anti-tumor [J]. Foreign Med Sci: Sec Medgeograp, 2018, 39(3): 276-280.

[责任编辑 高源]