

【实验研究】

基于网络药理学及分子对接探讨芍药甘草汤治疗乙型病毒性肝炎肝损伤的作用机制

廖 楚¹, 李恒飞^{2, 3}, 李晓东^{1, 2, 3*}

1. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430065

2. 湖北省中医院 肝病科、中医肝肾研究及应用湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430061

3. 湖北省中医药研究院, 湖北 武汉 430061

摘要: 目的 运用网络药理学研究芍药甘草汤治疗乙型病毒性肝炎所致肝损伤的作用机制。方法 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)获取芍药甘草汤的化合物及靶点,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药(DL)≥0.18为阈值进行化合物筛选,将靶点输入Uniprot获取靶点对应的基因Symbol;从TTD、OMIM等数据库获取乙型病毒性肝炎的相关靶点并筛选出与芍药甘草汤靶点基因的交集基因;运用Cytoscape3.8.0软件绘制活性成分-靶点、疾病-中药-化合物-交集靶点(基因)网络图;运用String构建蛋白相互作用网络,再用R语言的Bioconductor安装包,进行GO富集及KEGG通路富集分析,并联合主要化合物、交集基因与通路分析结果,绘制成分-靶点-通路网络图;用Vina软件对筛选出来的结果进行分子对接。结果 筛选得到芍药甘草汤有效成分105种、有效成分靶点214个;筛选得到乙型病毒性肝炎疾病靶点5984个,药物-疾病交集基因198个;经蛋白互作网络及拓扑结构分析得到21个核心靶点,121条相互作用关系;槲皮素、山柰酚、柚皮素等为芍药甘草汤的主要活性成分,PPARA、RB1、TP53、MAPK3、AKT1、STAT3、JUN等为主要作用靶点。GO富集分析显示靶点所在的细胞组分主要为薄膜筏、膜微域、膜区域;生物学过程主要富集在有对金属离子的响应、对脂多糖的反应;分子功能主要为核受体活性、转录因子活性。KEGG富集发现膜区由糖基化终末产物介导的AGE-RAGE通路、乙型肝炎通路等为主要通路。进一步筛选核心靶点及化合物成分进行分子对接显示MAPK3、AKT1、STAT3、JUN作为核心靶点可与槲皮素、山柰酚、柚皮素稳定对接。结论 通过网络药理学及分子对接的方法,找到了芍药甘草汤治疗慢性乙型病毒性肝炎肝损伤可能的潜在靶点,预测了其发挥药理作用的关键通路。

关键词: 芍药甘草汤; 乙型病毒性肝炎; 肝损伤; 网络药理学; 分子对接; 槲皮素; 山柰酚; 柚皮素; MAPK3; AKT1; STAT3; JUN

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2021)09-1852-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.09.006

Discussion on mechanism of Shaoyao Ganciao Decoction in treating liver injury of viral hepatitis type B based on network pharmacology and molecular docking

LIAO Chu¹, LI Hengfei^{2, 3}, LI Xiaodong^{1, 2, 3}

1. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Hubei Key Laboratory of Hepatology and Kidney Research and Application of Traditional Chinese Medicine, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

3. Hubei Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

Abstract: Objective Using network pharmacology to study the mechanism of Shaoyao Ganciao Decoction in the treatment of liver injury caused by chronic viral hepatitis B. **Methods** Compound and target of Shaoyao Ganciao Decoction were obtained through systematic pharmacology database and analysis platform of Traditional Chinese medicine (TCMSP). Compound screening was

收稿日期: 2021-02-10

基金项目: 国家中医药管理局全国名老中医专家盛国光传承工作室项目建设(国中医药人教函[2018-134号]); 国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题(JDZX2012051)

第一作者: 廖 楚(1994—),女,在读硕士研究生,研究方向为中医药防治结石及肝胆病。E-mail: liaochu5566@126.com

*通信作者: 李晓东(1973—),男,主任医师,博士生导师,研究方向为中医药防治结石及肝胆病。E-mail: lixiaodong555@126.com

conducted with the threshold of oral bioavailability (OB) $\geq 30\%$ and class drug (DL) ≥ 0.18 . Target was input into Uniprot to obtain gene Symbol corresponding to target. Targets related to HEPATITIS B were obtained from TTD, OMIM, GeneCards, DrugBank and PharmGkb data database, and intersection genes with target genes of Shaoyao Gancao Decoction were screened out. Cytoscape3.8.0 software was used to draw the network map of active ingredient - target, disease - Chinese medicine - compound - intersection target (gene). The protein interaction network was constructed by using String. The GO enrichment and KEGG pathway enrichment analysis was carried out in the R language Bioconductor installation package. The component-target-pathway network diagram was drawn by combining the main compounds, intersection genes and pathway analysis results. Vina software was used to perform molecular docking on the screened results. **Results** There were 105 kinds of effective components and 214 targets of active components in Shaoyao Gancao Decoction. Five thousand nine hundred and eighty-four targets of chronic viral hepatitis B and 198 drug-disease intersection genes were selected. After the network interaction network and topology structure analysis, 21 core targets and 121 interaction relationships are obtained. Quercetin, kaempferol and naringenin are the main active components of Shaoyao Gancao Decoction, while PPARA, RB1, TP53, MAPK3, AKT1, STAT3 and JUN are the main targets. GO enrichment analysis showed that the target cells were grouped into membrane rafts, membrane microdomains, and membrane regions. Biological processes are mainly concentrated in response to metal ions and reaction to lipopolysaccharides. The main molecular functions are nuclear receptor activity and transcription factor activity. KEGG enrichment showed that age-RAGE pathway and hepatitis B pathway mediated by glycosylated end products were the main pathways in the membrane area. Further screening of core targets and compound components for molecular docking showed that MAPK3, AKT1, STAT3 and JUN were core targets for stable docking with small molecules of quercetin, kaempferol and naringenin. **Conclusion** Through network pharmacology and molecular docking, this study found the potential target of Shaoyao Gancao Decoction for the treatment of liver injury in chronic viral hepatitis B, and predicted the key pathway of its pharmacological effect. It provides new ideas and methods for the development of classical prescription and the clinical application of related drugs.

Key words: Shaoyao Gancao Decoction; chronic viral hepatitis B; network pharmacology; molecular docking; quercetin; kaempferol; naringenin; MAPK3; AKT1; STAT3; JUN

乙型病毒性肝炎(viral hepatitis type B, 简称乙肝)是由乙型肝炎病毒引起的以肝脏病变为主的一种传染病^[1], 可导致严重的肝损伤, 最终引起肝癌、肝硬化。中医药已成为临床治疗乙肝及其所致肝损伤的一种重要手段, 在一定程度上弥补了单纯使用化学药的不足。中药复方具有多靶点、多途径的优势, 治疗过程中不良反应少^[2]。

芍药甘草汤源于张仲景之《伤寒杂病论》, 2018年作为第一批入选的经典名方收录在《古代经典名方目录》中。该方由芍药和甘草两味药材组成, 组方精简, 疗效显著, 被广泛应用于古代、现代中医临床的不同疾病中^[3]。现代药理学研究证明芍药甘草汤具有护肝降酶、保护肝功能、治疗乙肝的作用^[4-6]。

网络药理学强调网络靶标的研究模式, 从整体上探索药物与疾病的相关性, 这与复方中药的整体性和系统性不谋而合^[7-9]。本研究采用网络药理学研究方法分析预测芍药甘草汤治疗乙型肝炎的作用机制, 以期芍药甘草汤这一经典名方的开发提供思路。

1 资料与方法

1.1 芍药甘草汤有效成分的筛选和作用靶点的获取

通过 TCMSp (<http://tcmspw.com/tcmsp.php>) 平台分别检索白芍、甘草的化学成分, 构建芍药甘草汤数据库。结合生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性

指数(DL) ≥ 0.18 筛选出芍药甘草汤的有效活性成分, 利用该平台得到相关有效成分的作用靶点。并用 Uniport 数据库对预测的靶点进行注释, 把 Gene Name 转化为 Gene Symbol。

1.2 芍药甘草汤“药物-成分-靶点-疾病”可视化网络的构建

以“Hepatitis B”为关键词, 运用 TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)、OMIM (<http://www.omim.org/>)、GeneCards (<http://www.genecards.org/>)、DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>)、PharmGkb (<https://www.pharmgkb.org/>) 数据库获取乙肝的靶点, 将芍药甘草汤有效成分的靶点与疾病的靶点进行匹配, 取得交集, 运用 Cytoscape 3.8.0 软件, 构建芍药甘草汤“药物-成分-靶点-疾病”的可视化网络图。

1.3 芍药甘草汤治疗乙肝的蛋白互作(PPI)网络的构建

将芍药甘草汤有效成分与乙肝的匹配靶点上传 STRING 数据库, 将蛋白种属设置为“Homo sapiens”, 隐藏游离节点, 构建 PPI 网络图, 并利用 CytoNCA 计算筛选出核心靶点。

1.4 基因本体论(GO)富集分析以及 KEGG 通路富集分析

运用 GO 富集分析描述基因功能, 通过 KEGG 通路富集分析获得显著富集的信号通路并绘制通

路图,探讨芍药甘草汤治疗乙肝的生物学过程及信号通路。

1.5 分子对接

运用分子对接验证预测的关键活性成分和关键靶点之间的相互作用关系。分子对接包括大分子受体和小分子配体准备,需要用到 Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、PDB (<http://www.rcsb.org/>)网站,以及 Pymol、vina、ChembioOffice、Autodocktools 等软件。

2 结果

2.1 芍药甘草汤有效成分及作用靶点

根据 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$,通过 TCMSP 筛选芍药甘草汤中白芍、甘草的有效成分 105 个,去重合并后的靶点 214 个。

2.2 芍药甘草汤“药物-成分-靶点-疾病”可视化网络图

通过 TTD、OMIM、GeneCards、DrugBank、PharmGkb 数据库获取乙肝的相关靶点 5 984 个,与芍药甘草汤的靶点进行匹配,得到共有靶点 198 个,并得到相关 Venn 图,见图 1、2。通过 Cytoscape3.8.0 软件,构建芍药甘草汤“药物-成分-靶点-疾病”的可视化网络图,见图 3。按照度值(degree)排名前 15 的活性成分见表 1。图 3 中不同颜色和形状的代表信息不同,其中浅蓝色矩形节点代表芍药甘草汤和乙肝的共有靶点,2 个同心圆节点代表有效成分,紫色圆形代表芍药的有效成分,红色圆形代

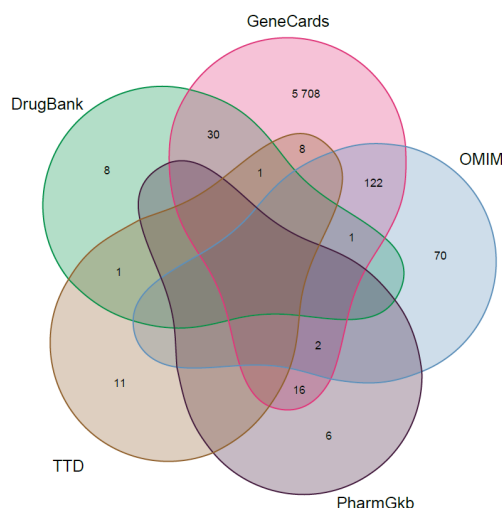


图1 5个数据库中的基因交集

Fig. 1 Union of genes in five databases

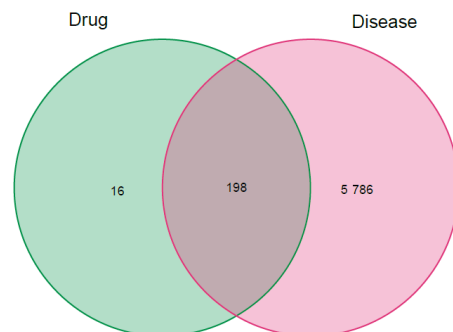


图2 药物和疾病靶点的交集基因

Fig. 2 Intersection genes of drugs and disease targets

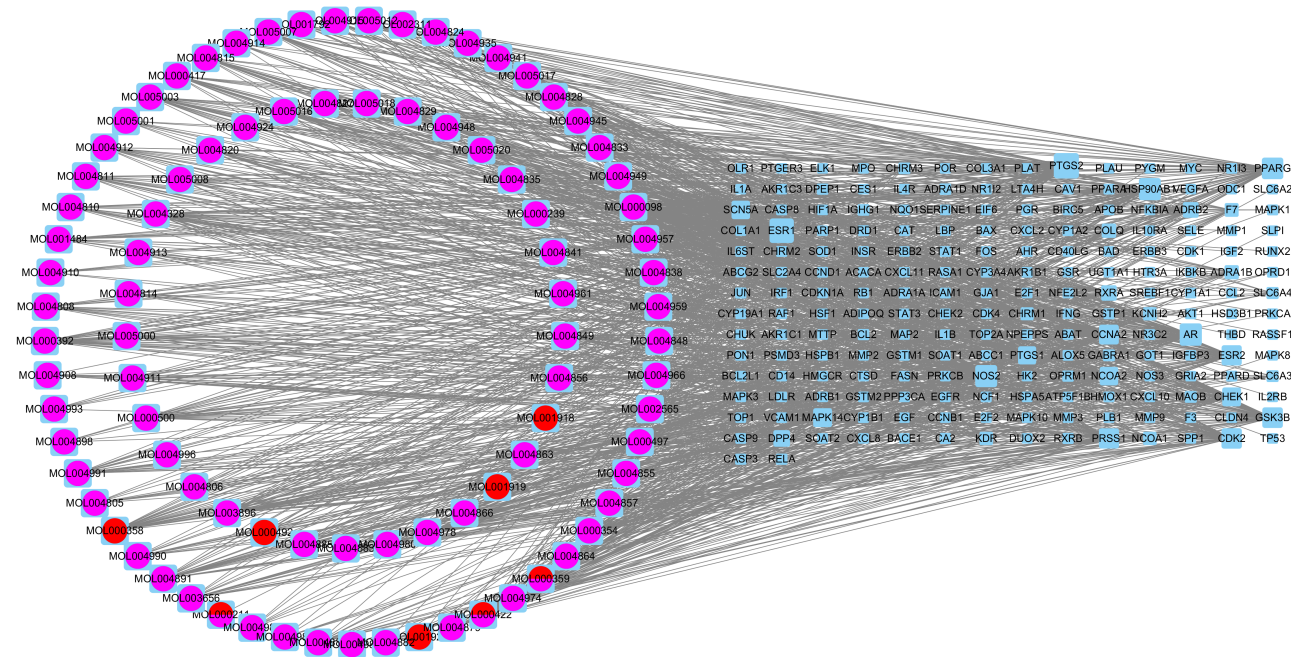


图3 药物和疾病靶点网络图

Fig. 3 “Component-target-pathway-disease” network

表1 芍药甘草汤活性成分度值排序

Table 1 Degree ranking of active components of Shaoyao Gancao Decoction

排序	成分ID	成分名称	成分中文名称	来源	度值
1	MOL000098	quercetin	槲皮素	甘草	128
2	MOL000422	kaempferol	山柰酚	甘草、白芍	49
3	MOL004328	naringenin	柚皮素	甘草	35
4	MOL003896	7-methoxy-2-methylisoflavone	7-甲氧基-2-甲基异黄酮	甘草	34
5	MOL000354	isorhamnetin	异甘草素	甘草	28
6	MOL000392	formononetin	芒柄花黄素	甘草	28
7	MOL000497	licochalcone a	甘草查尔酮甲	甘草	28
8	MOL000358	β -sitosterol	β -谷甾醇	白芍	26
9	MOL002565	medicarpin	美迪紫檀素	甘草	25
10	MOL004891	shinpterocarpin	紫檀皮素类	甘草	25
11	MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	拉诺[6,5-f]铬-3-基]-5-甲氧基苯酚	甘草	25
12	MOL000500	vestitol	前庭醇	甘草	23
13	MOL004835	glypallichalcone	格列查尔酮	甘草	23
14	MOL004974	3'-methoxyglabridin	3'-甲氧基光卤素	甘草	23
15	MOL005003	licoagrocarpin	李果芸香碱	甘草	23

表甘草有效成分,而既有红色又有紫色的圆形节点代表芍药甘草共有的有效成分。

2.3 芍药甘草汤治疗乙肝的PPI网络

在STRING数据库中构建疾病-药物共有靶点的PPI。将交集基因靶点导入,物种选择“Homo sapiens”,剔除1个游离蛋白,将交互得分最高置信度设置为 ≥ 0.9 ,得到关键靶点173个节点、739条边的PPI,见图4。

2.4 PPI核心网络的筛选

将在STRING数据库中得到的PPI网络的文本文档导入到Cytoscape3.8.0软件,利用插件CytoNCA计算上述筛选节点的Degree、Betweenness、Closeness、Eigenvector、Local Average connectivity based Method、Network值并按照中位值用R语言进行筛选,得出核心网络。第1次筛选后得到52个节点,328条边的网络图;第2次筛选后得到21个节点,121条边的网络图。经过2次筛选后得到的核心网络见图5,核心蛋白的度值排名见表2。

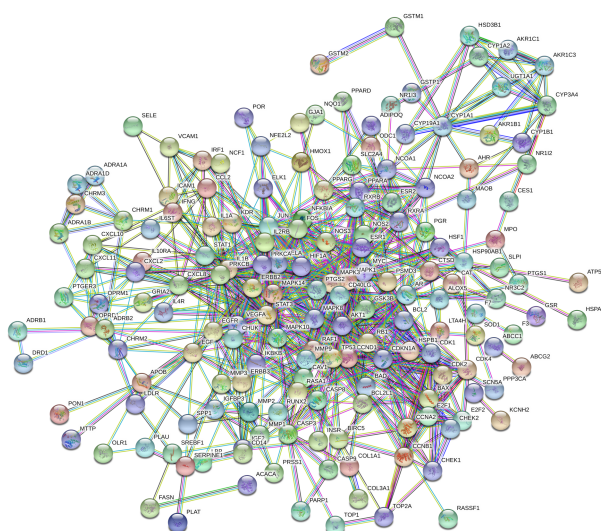


图4 芍药甘草汤治疗乙肝的PPI

Fig. 4 PPI of Shaoyao Gancao Decoction in treatment of viral hepatitis type B

2.5 GO以及KEGG通路富集分析

在Bioconductor中找到“DOSE”“clusterProfiler”“pathview”3个安装包,在R中运行安装。对芍药甘草汤治疗乙肝潜在作用靶标进行GO和KEGG富集

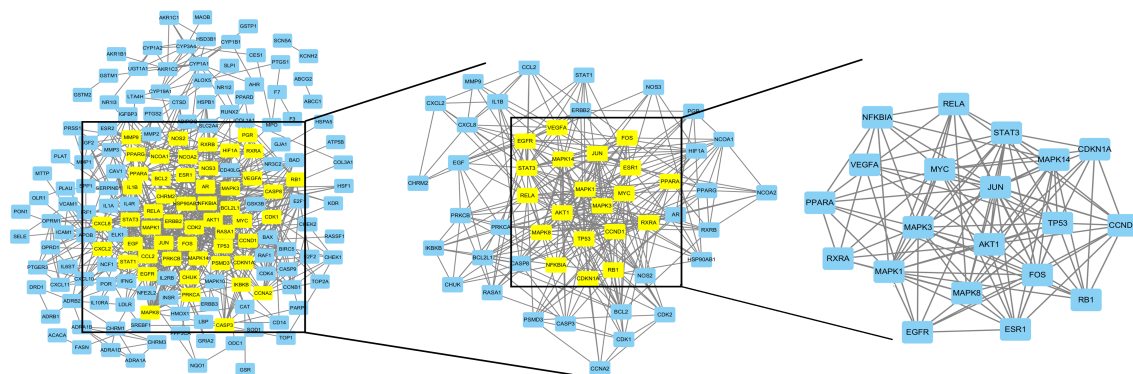


图5 筛选后的核心PPI网络

Fig. 5 PPI network of screened core protein

表2 核心蛋白的度值排名

排序	名称	度值
1	PPARA	28
2	RB1	27
3	TP53	27
4	CDKN1A	25
5	AKT1	25
6	EGFR	25
7	MAPK14	22
8	VEGFA	19
9	CCND1	18
10	MAPK3	18
11	MAPK1	17
12	MYC	16
13	ESR1	15
14	RXRA	15
15	STAT3	15
16	RELA	15
17	FOS	15
18	NFKBIA	14
19	JUN	12
20	MAPK8	12

分析,筛选 $P < 0.05$ 的生物过程与通路,利用经过R语言的ClusterProfiler运行包运行得到气泡图和条形图,筛选靠前的生物过程及通路绘图。富集在生物学过程(BP)、细胞组成(CC)、分子功能(MF)一共2 845条,筛选出前30条,点越大则富集基因越多, P 值越小颜色越红,则表示相应结果的置信度越高。GO具体分析结果:①BP分析富集基因有对金属离子的响应、对脂多糖的反应、对细菌源分子的反应、对营养水平的响应、对氧气水平的反应、细胞对药物的反应、对抗生素的反应、对类固醇激素的反应、对外源性刺激的反应、对酸性化学物质的反应;②CC分析中富集基因有薄膜筏、膜微域、膜区域、转录因子复合体、小窝、核糖核酸聚合酶II转录因子复合体、质膜筏、核转录因子复合体、突触前膜的组成部分、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物;③MF富集基因有核受体结合、转录因子结合、直接配体调节序列特异性DNA结合、类固醇激素受体活性、磷酸酶结合、酰胺结合、泛素样蛋白连接酶结合、核糖核酸聚合酶ii转录因子结合、血红素结合、脱氧核糖核酸结合转录激活因子活性、核糖核酸聚合酶二特异性、蛋白质磷酸酶结合(图6)。

KEGG通路富集分析结果显示,共186条通

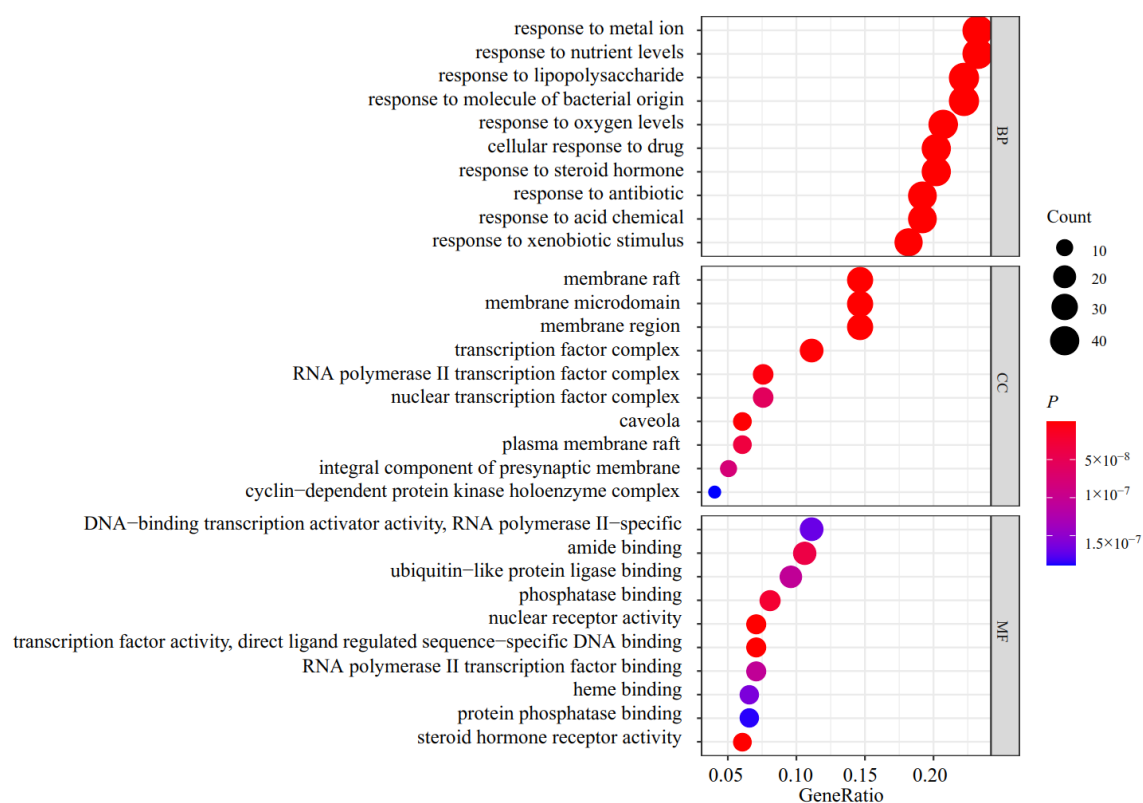


图6 GO富集分析气泡图

Fig. 6 GO enrichment analysis bubble chart

路($P < 0.05$), 同样筛选前30条, 可知芍药甘草汤治疗乙肝涉及膜区由糖基化终末产物介导的AGE-RAGE通路、流体切应力与动脉粥样硬化、前列腺癌、乙型肝炎、胰腺癌、卡波济肉瘤相关疱疹病毒感染、丙型肝炎、膀胱癌、非小细胞肺癌、白细胞介素17信号通路、人巨细胞病毒感染、内分泌抵抗、TNF肿瘤坏死因子信号通路、小细胞肺癌、Th17细胞分化信号通路、PI3K-Akt通路、氧代疟原虫等(图7)。利用R语言pathview包绘制乙肝(Hepatitis B)相关即“hsa05161”通路图(图8), 其中标红的基因则为存在于疾病-药物共有靶点的PPI网络中的基因。

2.6 分子对接

受体准备: 将存在于“hsa05161”-Hepatitis B通路上并且度值排名位于筛选过后核心靶点前4的基因作为分子对接的受体, 包括MAPK3、AKT1、STAT3、JUN; 为了使输入基因在PDB(<http://www.rcsb.org/>)查询得到的小分子结构更准确, 根据基因简称在uniprot数据库中找到对应的蛋白的ID, 在PDB(<http://www.rcsb.org/>)中搜索下载对应的结构的pdb格式, 并用pymol软件去除水分子和原有配体最终得到备用的受体结构。

配体准备: 将表2中的活性成分排名前3的化合物在Pubchem中下载的2D结构作为小分子配体, 通过“ChembioOffice”软件将2D结构转化为3D结构, 并对结构进行优化。

准备PDBQT文件和确定活性口袋, 用Autodocktools软件将上述受体和配体文件转化为PDBQT格式, 同时确定活性口袋, 利用Vina软件计算分子对接的结合能, 药物成分和靶点对接的最后用pymol进行可视化。结果显示, 各小分子均能与配体进行稳定结合。结果见图9和表3。

3 讨论

本研究采用网络药理学研究方法分析预测芍药甘草汤治疗乙肝导致的肝损伤的作用机制, 通过初步筛选共预测出芍药甘草汤中214个活性成分靶点和5 984个乙肝的治疗靶点, 利用Venny平台进行映射取交集后共获得198个潜在作用靶点。单味药-活性成分-作用靶点网络显示槲皮素(quercetin)、山柰酚(kaempferol)、柚皮素(naringenin)能匹配到较多的靶点, 可能是芍药甘草汤治疗乙肝导致的肝损伤的关键有效成分。有研究表明, 槲皮素可通过增强建鲤的抗氧化酶活性和对自由基的清除能力

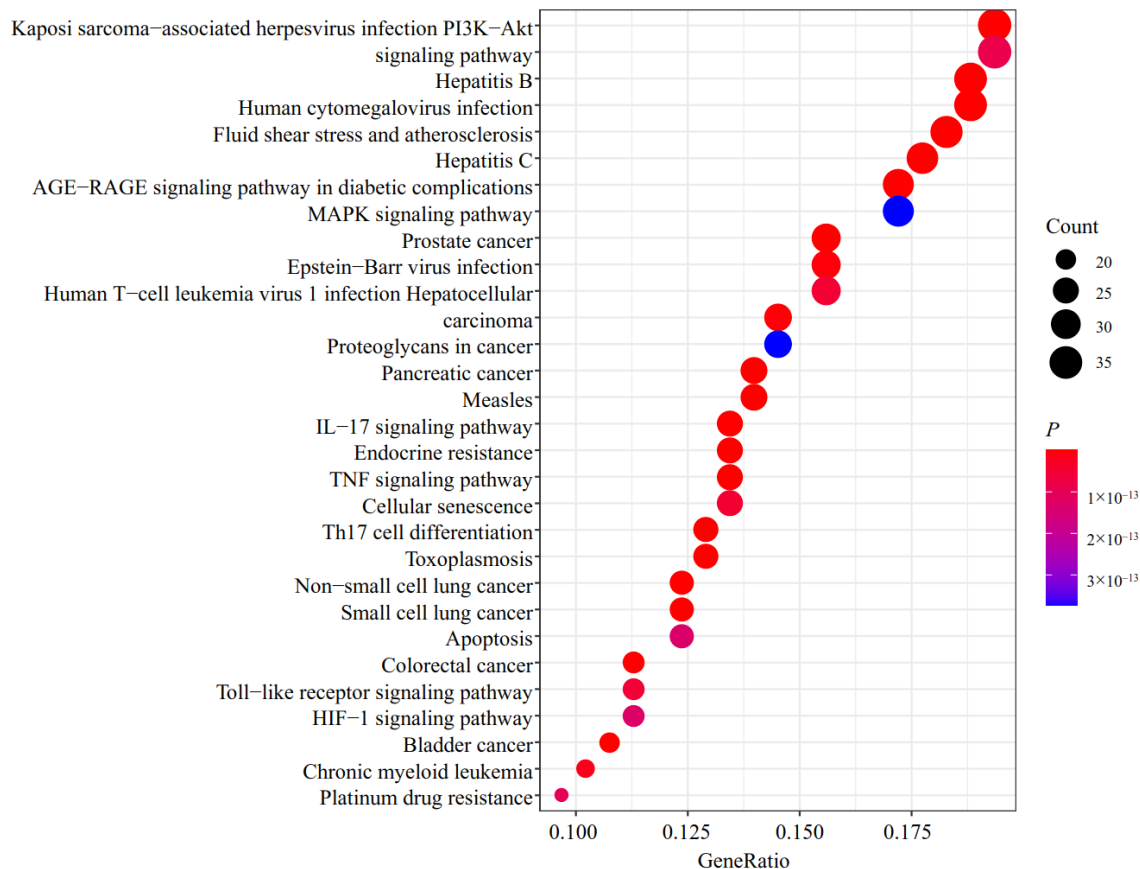


图7 KEGG富集分析气泡图
Fig. 7 Bubble Diagram of KEGG enrichment analysis

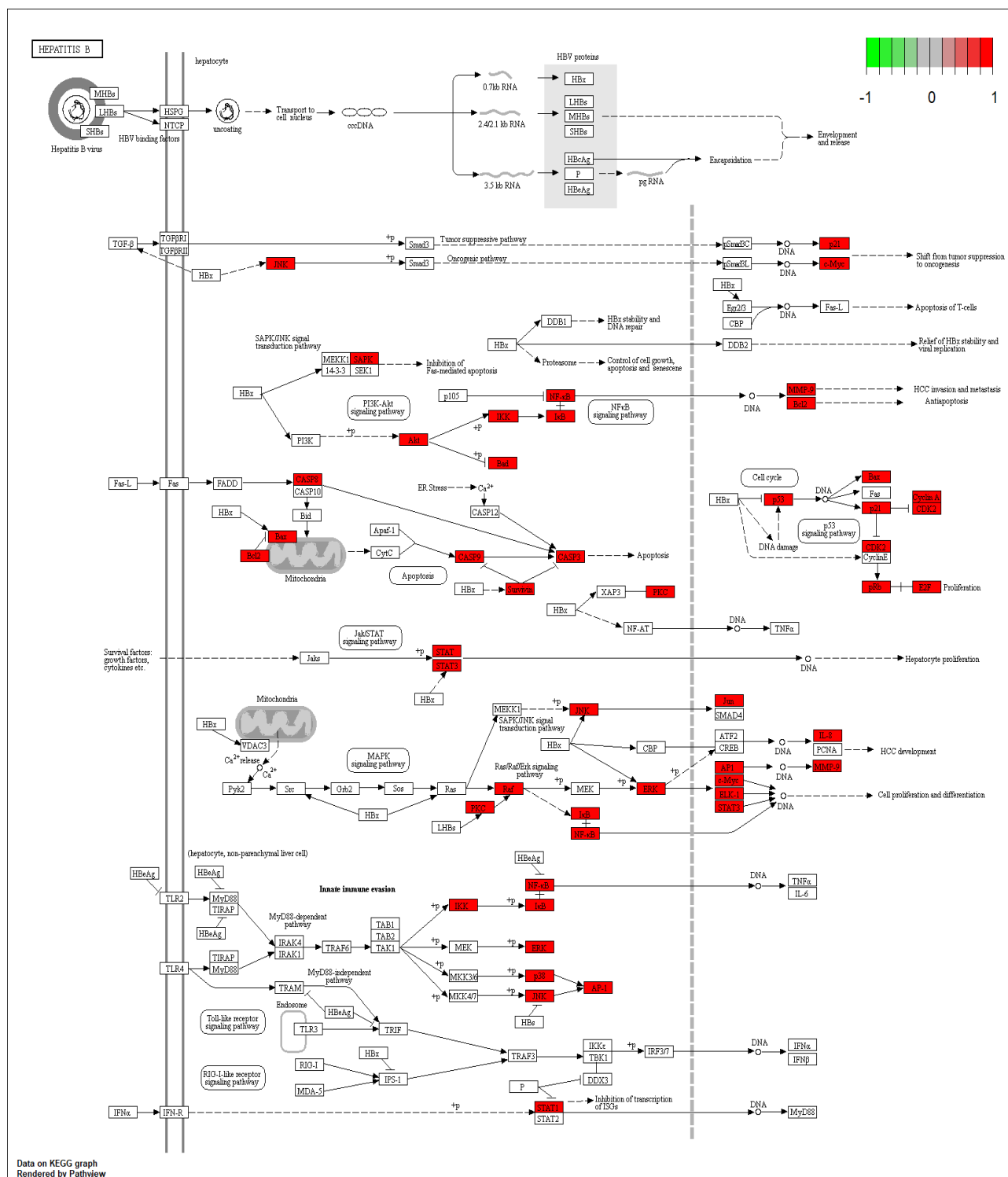


图8 “hsa05161”-hepatitis B通路图
Fig. 8 “hsa05161”-hepatitis B path diagram

来保护四氯化碳诱导的化学性肝细胞损伤^[10]；槲皮素通过抑制NLRP3炎症小体的激活和细胞凋亡以SIRT1依赖的方式对INH诱导的肝损伤发挥保护作用^[11]。除此之外，还有研究探讨槲皮素对脂多糖(LPS)所致肝损伤保护作用的机制，发现其显著降低氧化应激和促炎细胞因子的标志物，通过调节

核孤儿受体(CAR、PXR)和细胞色素P450酶(CYP1A2、CYP2E1、CYP2D22、CYP3A11)的表达来发挥保肝作用^[12]。山柰酚具有抗癌、抗氧化、调节免疫、抗组织损伤的作用，有研究表明，山柰酚通过调节肠道紧密连接蛋白、丁酸受体和转运体减轻小鼠急性酒精性肝损伤(AALI)^[13]；山柰酚可以通

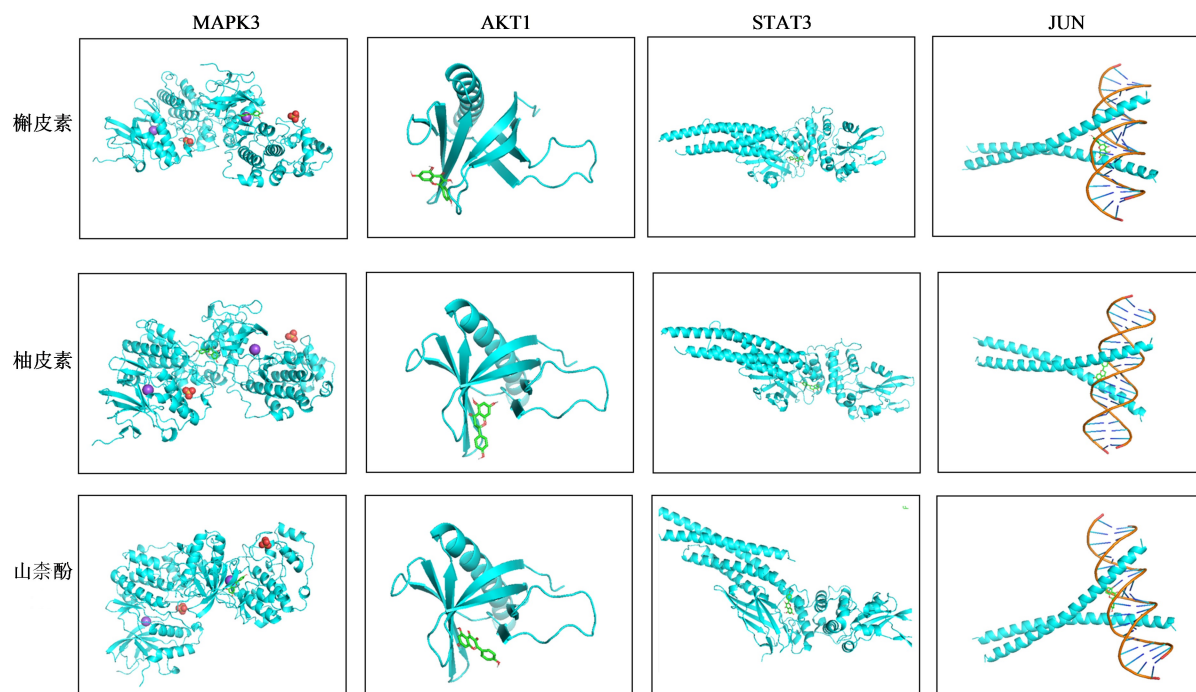


图9 分子对接结果

Fig. 9 Molecular docking results

表3 芍药甘草汤关键活性成分和关键活性靶点对接的结合能

Tabel 3 Binding energy of key active components and key active targets in Shaoyao Gancao Decoction

成分	靶点	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
槲皮素	MAPK3	-39.3
	AKT1	-29.3
	STAT3	-31.0
	JUN	-39.3
山柰酚	MAPK3	-37.2
	AKT1	-28.4
	STAT3	-31.0
	JUN	-36.8
柚皮素	MAPK3	-32.2
	AKT1	-31.8
	STAT3	-30.5
	JUN	-35.6

过增加肠黏膜中丁酸受体、转运蛋白和 TJ 蛋白的表达来预防 AALI。山柰酚对内质网应激诱导的肝细胞损伤具有保护作用^[14]。柚皮素具有抗菌、消炎、抗癌、解痉和利胆等作用,有研究报道柚皮素能增强乙肝疫苗细胞介导的免疫反应^[15];槲皮素可以通过抑制 T 淋巴细胞的激活、减少炎症因子的分泌达到保护急性免疫性肝损伤的作用^[16]。

网络拓扑结构结合信号通路发现 PPARα、RB1、MAPK3、AKT1、STAT3、JUN 等靶点可能是芍药甘草汤作用的关键靶点,最后结合信号通路信息,选中 MAPK3、AKT1、STAT3、JUN 与排名前 3 的药物成分进行分子对接,MAPK3 在 MAPK 信号通路起着重要作用,已知肝细胞癌发生、发展与 MAPK 信号通路最为密切^[17];有研究发现瑞香素通过调节 MAPK 信号通路缓解脂多糖/D-半乳糖胺诱导的急性肝损伤^[18]。AKT1 是肝癌发生的重要靶点,慢病毒介导 Akt1 shRNA 载体可抑制 HepG2 细胞增殖和侵袭,并促进其凋亡,可作为肝癌的潜在治疗靶点^[19]。STAT3 是信号转导及转录激活因子家族成员,在肝癌等慢性炎症相关性肿瘤中异常激活。作为肝癌炎症微环境中的关键信号分子,STAT3 不仅参与肝癌发生过程中的“炎癌转化”,而且通过多种方式促进肝癌进展中癌细胞的增殖、侵袭与转移,是一个潜在的肝癌治疗靶标^[20]。JUN 家族中的成员 c-jun 基因是转录因子 1 组成部分,参与到细胞的增殖、凋亡、迁移、侵袭等生物学行为中,且与肝癌的发生也密切相关^[21]。分子对接结果显示,各小分子均能与配体进行稳定结合。

GO 和 KEGG 富集分析结果显示,芍药甘草汤可以对病毒和机体起到双方面的调节,直接通过乙肝肝炎通路途径的同时还可以调节机体的免疫应答。其中白细胞介素(IL)-17 主要与炎症发展、免疫

答应等多种生物活性相关,IL-17水平越高表示慢性重型乙型肝炎患者病情越严重。有研究表明,IL-17是参与慢性炎症的重要细胞因子,可激活多种免疫细胞进而分泌炎症调节因子,导致肝脏持续炎症及造成肝脏损伤^[22]。肿瘤坏死因子(TNF)- α 由单核巨噬细胞合成和分泌,在肝脏炎症反应及肝纤维化的发生发展过程中起着重要作用,有研究表明TNF- α 水平和HBV DNA病毒载量、丙氨酸转氨酶(ALT)水平存在明显相关性,可将其作为评估HBV感染相关性肝病患者病情严重程度和临床疗效的重要指标^[23]。此外,TNF- α 还与肝癌的发生密切相关,研究表明TNF- α 可能通过活化NF- κ B信号通路而提高人肝癌细胞株MHCC-97L血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶9(MMP9)的表达,促进肝癌细胞的侵袭能力^[24]。由以上论述可知,芍药甘草汤中的多种活性化合物以协同的多靶点的方式从抗病毒、减轻炎症损伤、调整机体免疫、抑制癌变等多个方面治疗乙肝及其导致的肝损伤,起到整体性的调节作用。

本研究通过网络药理学及分子对接的方法,筛选得到芍药甘草汤治疗乙肝及其导致的肝损伤的活性化合物成分和可能的潜在靶点,预测了其发挥药理作用的关键通路。为从新的角度发掘经典名方的潜在价值、促进相关药物合理的临床应用提供了新的思路和方法,另外,芍药甘草汤是否可以治疗所有肝脏疾病所致的肝损伤和肝功能异常也值得思考和探索。然而由于所使用的相关数据库数据及软件有待更新健全,得出的结果仍有待实验佐证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王贵强,段钟平,王福生,等.慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J].实用肝脏病杂志,2020,23(1):9-32.
Wang G Q, Duan Z P, Wang F S, et al. The guidelines of prevention and treatment for chronic hepatitis B (2019 version) [J]. J Prac Hepatol May, 2020, 23(1): 9-32.
- [2] 覃秀容,陈月桥,石清兰,等.慢性乙型病毒性肝炎的中医药治疗研究进展[J].中医药学报,2020,48(7):66-71.
Qin X R, Chen Y Q, Shi Q L, et al. Research progress of TCM in treating chronic hepatitis B [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2020, 26(6): 216-225.
- [3] 曲缘章,马生军,朱广伟,等.芍药甘草汤的历史沿革与现代研究[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(6):216-225.
Qu Y Z, Ma S J, Zhu G W, et al. Historical evolution and modern research on Shaoyao Gancaotang [J]. Chin J Exp Tradit Med, 2020, 26(6): 216-225.
- [4] 戴瑛,赵军宁,宋军,等.芍药甘草汤有效成分群(芍甘多苷)抗乙型肝炎病毒作用研究[J].中药药理与临床,2009,25(3):36-39.
Dai Y, Zhao J N, Song J, et al. Study on the anti hepatitis B virus effect of effective components of Shaoyao Gancao Decoction (paeoniflorin) [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2009, 25(3): 36-39.
- [5] 梁炳银,余英宏,范杉,等.芍药甘草汤治疗148例病毒性肝炎的临床观察[J].上海中医药杂志,1989(6):4-6.
Liang B Y, Yu Y H, Fan S, et al. Clinical observation on 148 cases of viral hepatitis treated with Shaoyao Gancao Decoction [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 1989(6): 4-6.
- [6] 朱广伟,张贵君,汪萌,等.中药芍药甘草汤基原及药效组分和药理作用研究概况[J].中华中医药杂志,2015,30(8):2865-2869.
Zhu G W, Zhang G J, Wang M, et al. Research situation about origin, active components alignment and pharmacological actions of Shaoyao Gancao Decoction [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2015, 30(8): 2865-2869.
- [7] Zhang R Z, Zhu X, Bai H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: review and assessment [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 123.
- [8] 代吉瑞,魏文峰,霍金海,等.网络药理学在中医药领域的研究进展[J].黑龙江中医药,2018,47(6):105-107.
Dai J R, Wei W F, Huo J H, et al. Research situation about origin, active components alignment and pharmacological actions of Shaoyao Gancao Decoction [J]. Heilongjiang J Tradit Chin Med, 2018, 47(6): 105-107.
- [9] 任艳,邓燕君,马焱彬,等.网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战[J].中草药,2020,51(18):4789-4797.
Ren Y, Deng Y J, Ma H B, et al. Research progress and challenges of network pharmacology in field of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(18): 4789-4797.
- [10] 刘英娟,申玉金,杜金梁,等.槲皮素对四氯化碳致建鲤肝细胞损伤的保护作用[J].农业生物技术学报,2015,23(3):369-379.
Liu Y J, Shen Y J, Du J L, et al. Protective effects of quercetin on carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in common Carp (*Cyprinus carpio*) cells [J]. J Agric Biotechnol, 2015, 23(3): 369-379.
- [11] Zhang Y, Qu X, Gao H, et al. Quercetin attenuates NLRP3 inflammasome activation and apoptosis to protect INH-induced liver injury via regulating SIRT1

- pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106634.
- [12] Zhao L, Chen F, Zhang Y, et al. Involvement of P450s and nuclear receptors in the hepatoprotective effect of quercetin on liver injury by bacterial lipopolysaccharide [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42(3): 211-220.
- [13] Jing C, Han X Y, Xiao L M, et al. Kaempferol alleviates acute alcoholic liver injury in mice by regulating intestinal tight junction proteins and butyrate receptors and transporters [J]. *Toxicology*, 2020, 429: 152338.
- [14] 郭媛媛, 任 锋, 张向颖, 等. 山奈酚对内质网应激诱导的肝细胞损伤的保护及机制 [J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(35): 5400-5407.
- Guo Y Y, Ren F, Zhang X Y, et al. Protective effect of kaempferol on endoplasmic reticulum stress-induced hepatocyte apoptosis and underlying mechanism [J]. *World Chin J Digestol*, 2014, 22(35): 5400-5407.
- [15] 芦丽淦. 柚皮素及聚乙二醇增强乙肝DNA疫苗免疫效果的研究 [D]. 郑州: 河南大学, 2010.
- Lu L J. Protective effect of kaempferol on endoplasmic reticulum stress-induced hepatocyte apoptosis and underlying mechanism [D]. Zhengzhou: Henan University, 2010.
- [16] 宋紫辉. 柚皮素对急性免疫性肝损伤的保护作用 [D]. 河南大学, 2009.
- Song Z H. Protective effect of kaempferol on endoplasmic reticulum stress-induced hepatocyte apoptosis and underlying mechanism [D]. Zhengzhou: Henan University, 2009.
- [17] 李德宇, 陈孝平. 肝细胞癌组织中血管生成素样蛋白3和MAPK蛋白的表达 [J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2011, 46(2): 192-194.
- Li D Y, Chen X P. Expression of ANGPTL3 and MAPK protein in hepatocellular carcinoma tissue [J]. *J Zhengzhou Univ Med*, 2011, 46(2): 192-194.
- [18] 吕红明, 慈鑫鑫, 樊晓烨, 等. 瑞香素调节NLRP3、MAPK、NF- κ B和自噬信号通路抗脂多糖/d-半乳糖胺诱导的急性肝损伤 [A]// 中国畜牧兽医学学会兽医药理毒理学会第十五次学术讨论会 [C]. 兰州: 医药卫生科技, 2019.
- Lu H M, Ci X X, Fan X Y, et al. Daphnetin regulates NLRP3, MAPK, NF - κ B and autophagy signaling pathways to resist lipopolysaccharide/D-galactosamine induced acute liver injury [A]// The 15th Symposium of Veterinary Pharmacology and toxicology branch of Chinese society of animal husbandry and veterinary medicine [C]. Lanzhou: Medical and health technology, 2019.
- [19] 马体栋, 赵 凡, 李碧香. 慢病毒介导Akt1 shRNA载体转染对人肝母细胞瘤细胞株HepG2凋亡和增殖的影响 [J]. *肿瘤药理学*, 2019, 9(4): 572-577.
- Ma T D, Zhao F, Li B X. Effects of lentivirus-mediated Akt1 shRNA vector transfection on apoptosis and proliferation of hepatoblasts HepG2 cells [J]. *Anti-Tumor Pharm*, 2019, 9(4): 572-577.
- [20] 音金萍, 岳紫晨, 卓少元. STAT3: 慢性炎症介导肝癌进程的关键分子 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(4): 948-952.
- Yin J P, Yue Z C, Zhuo S Y. STAT3: A key molecule in the progression of liver cancer mediated by chronic inflammation [J]. *J Clin Hepatol*, 2020, 36(4): 948-952.
- [21] 刘 晨. FAM83A/PI3K/AKT/c-Jun正反馈环路促进肝癌细胞迁移、侵袭和转移的研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- Liu C. Positive feedback loop of FAM83A/PI3K/AKT/c-Jun induces migration, invasion and metastasis in hepatocellular [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2009.
- [22] 叶志明, 高东奔, 宋茂舟, 等. 早期应用醋酸泼尼松联合恩替卡韦对慢性重型乙型肝炎患者肝功能及TGF- β 、IL-17、TNF- α 的影响 [J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2020, 4(11): 61-63.
- Ye Z M, Gao D B, Song M Z, et al. Effect of early application of prednisone acetate combined with entecavir on liver function, TGF - β , IL-17 and TNF - α in patients with chronic severe hepatitis B [J]. *Res Modern Med Health Electronic J*, 2020, 4(11): 61-63.
- [23] 邵方真. HBV感染相关性肝病患者血清TNF- α 、IL-8、IL-10水平检测的意义 [J]. *医药论坛杂志*, 2019, 40(2): 51-54.
- Shao F Z. Significance of detection of serum TNF- α , IL-8 and IL-10 levels of patients of HBV infection associated with liver disease [J]. *J Med Forum*, 2019, 40(2): 51-54.
- [24] 朱 倩, 卢贵余, 桂芬芳, 等. TNF- α 对肝癌细胞NF- κ B信号通路活化的影响及临床意义 [J]. *河北医药*, 2018, 40(24): 3700-3703.
- Zhu Q, Lu G Y, Gui F F, et al. Effects of TNF- α on activation of NF- κ B signaling pathway in hepatocellular carcinoma *in vitro* and its clinical significance [J]. *Hebei Med J*, 2018, 40(24): 3700-3703.