

# 基于 PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 信号通路探讨四妙丸改善游离脂肪酸诱导的高脂血症 HepG2 细胞模型脂质沉积

王可馨<sup>1,2</sup>, 徐文杰<sup>1</sup>, 张锋林<sup>2</sup>, 丁梦泽<sup>2</sup>, 谭晓梅<sup>2\*</sup>, 夏婷<sup>1,2,3\*</sup>

1. 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095

2. 南方医科大学 中医药学院, 广东省中药制剂重点实验室, 广东 广州 510515

3. 广西中医药大学 广西优势中成药与民族药开发工程技术研究中心, 广西 南宁 530020

**摘要:** 目的 通过数据库预测结合体外细胞实验探讨四妙丸调血脂的作用及机制。方法 通过中药系统药理学 (TCMSP) 数据库与分析平台、GeneCards、Disgenet、OMIM 等数据库筛选四妙丸关键成分及高脂血症相关靶点; 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析四妙丸治疗高脂血症的关键靶点; 基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 分析此过程涉及的生物学过程及通路; 进一步采用分子对接探讨四妙丸成分与关键靶点间的相互作用。体外培养 HepG2 细胞, 采用 CCK-8 实验筛选游离脂肪酸造模和四妙丸、辛伐他汀给药的最佳浓度, 构建游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞高脂血症模型, 给予四妙丸 (25、50、100 mg·L<sup>-1</sup>)、辛伐他汀 (25 μmol·L<sup>-1</sup>) 处理 24 h, 对照组不造模不加药, 模型组不加药, 通过细胞油红 O 染色和细胞内总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG) 含量测定研究细胞内脂质积累情况; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blotting 检测磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA)、丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG) 和细胞色素 7A1 (CYP7A1) mRNA 和蛋白表达。**结果** 共筛选出 56 个四妙丸核心成分, 对应蛋白靶点 735 个; 高脂血症疾病靶点共 1 860 个; 有效成分靶点与疾病靶点的交集靶点为 244 个。PPI 结果显示核心靶点包括 AKT1、IL6、EGFR、TNF、PIK3CA、PPARG 等。GO 和 KEGG 富集分析揭示四妙丸主要通过 PI3K-AKT1 信号通路、胰岛素抵抗、炎症反应信号等改善高脂血症。细胞实验结果表明, 与模型组比较, 四妙丸显著降低游离脂肪酸诱导的 HepG2 高脂血症细胞模型内脂质沉积 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 显著降低细胞内 TC、TG 的含量 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 显著降低细胞内 PIK3CA、AKT1 mRNA 和蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 显著升高 PPARG、CYP7A1 mRNA 和蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。**结论** 四妙丸改善游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞高脂血症, 作用机制与调节 PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 信号通路有关。

**关键词:** 四妙丸; 高脂血症; 网络药理学; HepG2 细胞; PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 通路; 作用机制

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2025)06-1425-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.06.005

## Effect of Simiao Pill on improving hyperlipidemia in HepG2 cells induced by free fatty acids explored based on PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 signaling pathway

WANG Kexin<sup>1,2</sup>, XU Wenjie<sup>1</sup>, ZHANG Fenglin<sup>2</sup>, DING Mengze<sup>2</sup>, TAN Xiaomei<sup>2</sup>, XIA Ting<sup>1,2,3</sup>

1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmaceutics, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

3. Guangxi Engineering Technology Research Center of Advantage Chinese Patent Drug and Ethnic Drug Development, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

**Abstract: Objective** To explore the lipid-lowering effect and mechanism of Simiao Pill through database prediction and *in vitro* cell experiments. **Methods** The key components of Simiao Pill and the targets related to hyperlipidemia were screened through databases

收稿日期: 2024-11-10

基金项目: 广东省中医药研究开发重点实验室开放基金项目 (KFKT02-002); 广东省中医药局开放项目 (20233004)

作者简介: 王可馨 (2000—), 女, 硕士, 从事中药复方药理作用机制研究。E-mail: WangKX123187@163.com

\*通信作者: 夏婷 (1996—), 女, 博士, 助理研究员, 从事中药制剂和中药药理作用机制研究。E-mail: xiating0226@163.com

谭晓梅 (1963—), 女, 博士, 研究员, 从事中药新制剂及中药复方配伍规律研究。E-mail: tanxm\_smu@163.com

such as Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) Database and Analysis Platform and GeneCards, the key targets of Simiao Pill in treating hyperlipidemia were analyzed by protein-protein interaction (PPI), the biological processes and pathways involved in this process were analyzed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), molecular docking was further used to explore the interaction between the components of Simiao Pill and the key targets. HepG2 cells were cultured *in vitro*, and the CCK-8 assay was used to screen the optimal concentrations of free fatty acid modeling and Simiao Pill and simvastatin administration. A free fatty acid-induced HepG2 cell hyperlipidemia model was constructed, and the cells were treated with Simiao Pill (25, 50, 100 mg·L<sup>-1</sup>) and simvastatin (25 μmol·L<sup>-1</sup>) for 24 h. The control group was not modeled and not treated with drugs, and the model group was not treated with drugs. The intracellular lipid accumulation was studied by oil red O staining and determination of total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) content in cells. The mRNA and protein expressions of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha (PIK3CA), serine/threonine kinase 1 (AKT1), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), and cytochrome P450 7A1 (CYP7A1) were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blotting. **Results** A total of 56 core components of Simiao Pill were screened, corresponding to 735 protein targets; there were 1 860 disease targets for hyperlipidemia; the intersection targets of the effective component targets and disease targets were 244. The PPI results showed that the core targets included AKT1, IL6, EGFR, TNF, PIK3CA, PPARG, et al. GO and KEGG enrichment analysis revealed that Simiao Pill mainly improved hyperlipidemia through the PI3K-AKT signaling pathway, insulin resistance, and inflammatory response signaling. The cell experiment results showed that compared with the model group, Simiao Pill significantly reduced lipid deposition in the free fatty acid-induced HepG2 hyperlipidemia cell model ( $P < 0.05, 0.01$ ), significantly reduced the intracellular TC and TG content ( $P < 0.05, 0.01$ ); significantly reduced the mRNA and protein expression levels of PIK3CA and AKT1 in cells ( $P < 0.05, 0.01$ ), and significantly increased the mRNA and protein expression levels of PPARG and CYP7A1 ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** Simiao Pill improves free fatty acid-induced hyperlipidemia in HepG2 cells, and its mechanism of action is related to the regulation of the PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 signaling pathway.

**Key words:** Simiao Wan; hyperlipidemia; network pharmacology; HepG2 cells; PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 pathway; mechanisms of action

高脂血症是一种脂质代谢紊乱性疾病,临床上以血脂异常为特征,表现为血液内总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)升高或高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)降低<sup>[1]</sup>。它是肥胖、糖尿病、代谢相关脂肪性肝病等糖脂代谢性疾病和动脉粥样硬化等心脑血管疾病的危险致病因素<sup>[2]</sup>。临床治疗高脂血症以化学药为主,主要包括他汀类、贝特类等,短期服用效果快,但长期服用用药剂量大且存在肝肾毒性、肌肉毒性等不良反应<sup>[3-4]</sup>。中药及中药复方具有多途径多靶点调血脂的特点,能全面调节机体失衡且不良反应少。因此开发具有调血脂作用的中药及中药复方具有科学和临床意义。

四妙丸作为上市中成药,最早记载于清代张秉诚的《成方便读》,用于治疗湿热下注所致的痹症。全方由盐炒黄柏、苍术、牛膝和薏苡仁 4 味药组成,有清热祛痰、健脾利湿、活血降浊的功效<sup>[5-7]</sup>。现代药理学研究表明,四妙丸在抑制胶原诱导关节炎大鼠的同时,对大鼠血脂有调节作用<sup>[8]</sup>。四妙丸能在降低 2 型糖尿病小鼠血糖水平的同时降低小鼠血脂<sup>[9]</sup>。临床研究表明四妙丸能降低高尿酸血症

人群的血脂水平,且无肝肾毒性<sup>[10]</sup>,但其调血脂机制尚不清楚。

本研究通过网络药理学方法筛选四妙丸治疗高脂血症的潜在作用靶点,并对部分有效成分进行分子对接,而后采用游离脂肪酸诱导 HepG2 细胞建立高脂血症细胞模型,研究四妙丸对 HepG2 高脂血症细胞内脂质蓄积的影响,并对功能富集程度较强的关键信号靶点进行验证。

## 1 材料

### 1.1 细胞

HepG2 细胞株购自吉妮欧生物科技有限公司。

### 1.2 药物及主要试剂

四妙丸(批号 230101,规格 6 g×6 袋)购自吉林紫鑫药业股份有限公司;辛伐他汀(批号 C10636115)购自上海麦克林生化科技有限公司;油酸(批号 WXBD6763V)、棕榈酸(批号 0000303101)购自美国 Sigma 公司;DMED 高糖培养基(批号 6124137)、0.25%胰酶(批号 2764719)、无菌 PBS 缓冲液(批号 6123187)购自美国 Gibco 公司;胎牛血清(批号 SA230316)购自武汉普诺赛生物有限公司;细胞油红 O 染色试剂盒(批号 240004005)、

细胞级二甲基亚砜(DMSO)溶液(批号 1209M039)购自北京索莱宝科技有限公司; CCK-8 试剂盒(批号 061223230821)购自上海碧云天生物技术股份有限公司; TG 测定试剂盒(批号 20240619)、TC 测定试剂盒(批号 20240624)购自南京建成生物有限公司。

### 1.3 主要仪器

BB150 型 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱、1510-01871 型酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司、DMi8 倒置荧光显微镜购自德国 Leica 公司; 1645050 SDS-PAGE 电泳装置购自美国 BIO-RAD 公司。

## 2 方法

### 2.1 网络药理学

**2.1.1 四妙丸活性成分的筛选** 采用中药系统药理学(TCMSP)数据库与分析平台(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>), 检索黄柏、苍术、牛膝、薏苡仁中的有效成分, 以口服利用度(OD) ≥ 30%和生物类药性(DL) ≥ 0.18 为标准, 结合本课题组对四妙丸进行的成分分析结果<sup>[7]</sup>, 筛选四妙丸有效成分。

**2.1.2 四妙丸与高脂血症的靶点筛选** 将所筛选的四妙丸有效成分在 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)上确定 Canonical SMILES 结构, 输入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 以可能性(possibility) ≥ 8% 为标准筛选作用靶点, 对应的基因符号名称通过 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)进行标准化。合并, 去重, 获得四妙丸的作用靶点。

以“hyperlipidemia”为关键词在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、Disgenet(<https://disgenet.com/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>) 3 个数据库中检索相关靶点, 去除重复基因后, 收集与高脂血症相关的人类靶点基因。

**2.1.3 化学成分与交集靶点的网络构建** 将所筛选出的四妙丸成分靶点和高脂血症疾病靶点作韦恩图并取交集, 得到四妙丸与高脂血症的交集靶点。将四妙丸中 4 味中药、药物有效成分、交集靶基因输入 Cytoscape 3.9.1 软件, 制作有效成分-靶点网络图。

**2.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建** 将四妙丸有效成分治疗高脂血症的关键靶蛋白上传到 STRING(<https://cn.string-db.org/>)平台。分析各靶点得分, 分数越高, 表明目标蛋白之间的相互作用

用越大。筛选置信度 > 0.7 的靶点构建 PPI 网络。

**2.1.5 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集通路分析** 使用 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库平台对交集靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路注释, 保留  $P \leq 0.01$  的信号通路, 并进行可视化处理。

### 2.2 分子对接

将四妙丸中含量排名前 3 的主要成分和“四妙丸有效成分-交集基因网络图”中中度值靠前的潜在成分作为对接药物分子。使用 PubChem 数据库中获取药物分子的 2D 结构, 在 PDB 数据库中获取对接核心蛋白靶点结构。使用 Sybyl-X 软件进行分子对接, 优化构象, 进行可视化分析。

### 2.3 细胞实验

**2.3.1 四妙丸储备液的制备** 称取四妙丸 1 g (15 粒) 研磨成细粉, 溶解于 10 mL 纯水中, 超声充分溶解, 得四妙丸储备液 (100 g·L<sup>-1</sup>)。滤过除菌后, 根据后续实验需求配制不同质量浓度的工作液进行细胞给药。

**2.3.2 细胞培养** HepG2 细胞株使用含 15% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液的 DMEM 高糖培养基, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养。

**2.3.3 CCK-8 法检测细胞活性** 取处于对数生长期的 HepG2 细胞, 以每孔 1 × 10<sup>5</sup> 个接种于 96 孔板中, 分为空白组(无细胞), 对照组(正常生理状态下细胞), 分别加入含游离脂肪酸(油酸: 棕榈酸 = 2: 1, 0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mmol·L<sup>-1</sup>)、四妙丸(3.125、6.250、12.500、25.000、50.000、100.000 mg·L<sup>-1</sup>)、辛伐他汀(0、1.562、3.125、6.250、12.500、25.000、50.000 μmol·L<sup>-1</sup>) 完全培养基的给药组。每组设置 4 个复孔, 培养 24 h 后加入 10% CCK-8 溶液, 37 °C 孵育 2 h, 在 450 nm 的波长下测量各孔的吸光度(A)值, 计算细胞相对存活率。

$$\text{细胞相对存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

**2.3.4 游离脂肪酸诱导的 HepG2 脂质蓄积模型的建立及分组给药** 取处于对数生长期的 HepG2 细胞, 以每孔 5 × 10<sup>5</sup> 个接种于六孔板中, 待细胞完全贴壁后, 模型组加入筛选出的最佳造模浓度的游离脂肪酸(油酸: 棕榈酸 = 2: 1)进行脂质诱导 24 h, 待细胞形态变圆, 中间存在明亮的脂滴, 说明模型建立成功。对照组不造模不给药, 四妙丸(25、50、100 mg·L<sup>-1</sup>)组、辛伐他汀(25 μmol·L<sup>-1</sup>)组在造模后给药, 给药 24 h。

**2.3.5 油红 O 染色** 将给药结束后的细胞弃去培养基, PBS 清洗 2 遍, 加入油红固定液室温固定 25 min。固定完成后弃去固定液, 蒸馏水清洗 2 次后加入 60% 异丙醇润洗 20~30 s。弃去异丙醇, 加入配好的油红 O 染色液, 避光浸染 20~30 min。弃去染液, 用 60% 异丙醇漂洗 20 s 至细胞间质清晰, 蒸馏水洗 2~5 次, 直至无多余染液。每个孔加入少量蒸馏水置于显微镜下拍照, 采用 Image J 软件对选取的视野进行染色面积统计。

**2.3.6 HepG2 细胞中 TC、TG 含量的测定** 给药结束后, 弃去细胞培养基, PBS 清洗 2 遍, 加入 RIPA 裂解液冰上裂解 20 min, 裂解结束后, 将细胞收集于 EP 管中, 在冰水浴条件下超声破碎。按照 TC、TG 试剂盒说明书, 进行细胞内 TC、TG 含量的测定。

**2.3.7 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基  $\alpha$  (PIK3CA)、丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT1)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPARG) 和细胞色素 7A1 (CYP7A1) mRNA 表达** 提取给药后 HepG2 细胞的总 RNA。利用反转录试剂盒将提取的 RNA 逆转录为 cDNA, 和含有引物的反应混合物进行 qRT-PCR 分析。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法分析各组间 mRNA 表达的相对差异, 并归一化为同一样本中 GAPDH 的水平。引物序列见表 1。

**2.3.8 Western blotting 法检测 PIK3CA、AKT1、PPARG 和 CYP7A1 蛋白的表达** 收集给药结束后 HepG2 细胞, 加入含有磷酸酶抑制剂和 PMSF 的 RIPA 缓冲液进行裂解制备蛋白提取物。用 10% SDS-PAGE 分离制备的蛋白提取物, 将其转移到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后, 分别将膜与一抗 CYP7A1 (1:3 000)、PPARG (1:3 000)、

PIK3CA (1:1 000)、AKT1 (1:20 000)、GAPDH (1:3 000) 在 4 °C 下孵育过夜, 然后与二抗 (1:5 000) 在 25 °C 下孵育 2 h。随后, 使用 ECL 化学发光试剂和化学发光成像系统对膜进行可视化。使用 Image J (1.8.0) 对膜进行定量, 并归一化为 GAPDH 表达。

**2.3.9 数据统计分析** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 GraphPad Prism 8 软件对实验数据和图形进行分析, 多组间数据比较采用单因素方差分析。

### 3 结果

#### 3.1 四妙丸活性成分及靶点和高脂血症相关靶点的筛选

筛选得到四妙丸活性成分共 56 个, 其中包括黄柏 34 个、苍术 6 个、牛膝 13 个、薏苡仁 9 个, 共有成分 6 个。具体成分见表 2。对四妙丸的活性成分进行靶点富集, 合并去重, 获得作用靶点 735 个。

高脂血症相关靶点在 GeneCards 数据库中获得 1 696 个, 在 DisGeNet 数据库中获得 433 个, 在 DrugBank 数据库中获得 30 个, 合并移除重复靶点后得到最终靶点 1 860 个。

将四妙丸的 735 个靶点和高脂血症的 1 860 个靶点取交集并作图, 得到 244 个四妙丸治疗高脂血症的关键靶点, 见图 1。

#### 3.2 四妙丸成分-交集靶点网络分析

成分-靶点网络图由 305 个节点, 1 572 条边组成, 见图 2。有效成分节点度越高, 作用能力越强, 网络图节点度排名靠前的成分包括黄柏呈 (phellochin)、汉黄芩素 (wogonin)、黄芩苷 (baicalein)、黄柏酮 (obacunone)、槲皮素 (quercetin)、表小檗碱 (epiberberine)、红厚壳内酯 (inophyllum E)、四氢小檗碱 (S-canadine)、小檗碱 (berberine)、巴马汀 (palmatine)、木兰花碱 (magnoflorine)。

#### 3.3 PPI 网络分析与核心靶点的筛选

将 244 个交集基因导入 String 数据库中, 得到四妙丸成分-高脂血症靶点 PPI 网络。该网络由 226 个节点, 2 464 条边组成。如图 3 所示, 节点颜色越深, 表明在 PPI 中越重要。

通过 CytoNCA 插件根据 Degree 值运算得到在 PPI 网络中 16 个核心靶蛋白, 其依次为 AKT1、IL6、EGFR、TNF、CTNBN1、BCL2、ESR1、MAPK1、HIF1A、PRKACA、CASP3、PIK3CA、TLR4、PTGS2、

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	序列 (5'→3')
PIK3CA	正向: CCACGACCATCATCAGGTGAA
	反向: CCTCACGGAGGCATTCTAAAGT
AKT1	正向: AGCGACGTGGCTATTGTGAAG
	反向: GCCATCATTCTTGAGGAGGAAGT
PPARG	正向: TACTGTCCGGTTTCAGAAATGCC
	反向: GTCAGCGGACTCTGGATTCAG
CYP7A1	正向: GAGAAGGCAAACGGGTGAAC
	反向: GGATTGGCACCAAATTGCAGA
GAPDH	正向: CATGAGAAGTATGACAACAGCCT
	反向: AGTCCTCCACGATACCAAAGT

表 2 筛选出的四妙丸中活性成分

Table 2 Selected active ingredients in Simiao Pills

序号	MOL ID	分子名称	中文名称	序号	MOL ID	分子名称	中文名称
A1	MOL001454	berberine	小檗碱	HB27	MOL006413	phellochin	黄柏呈
A2	MOL001458	coptisine	黄连碱	HB28	MOL006422	thalifendine	唐宋草酚定
A3	MOL002643	delta 7-stigmastanol	豆甾烷醇	HB29	MOL000764	magnoflorine	木兰花碱
B	MOL000449	stigmasterol	豆甾醇	NX1	MOL001006	poriferasta-7, 22E-dien-3 $\beta$ -ol	粉苞苣甾醇
A4	MOL000358	beta-sitosterol	$\beta$ -谷甾醇	NX2	MOL012461	28-norolean-17-en-3-ol	28-诺鲁林-17-烯-3-酮
C	MOL000173	wogonin	汉黄芩素	NX3	MOL012542	$\beta$ -ecdysterone	$\beta$ -脱皮甾酮
HB1	MOL002636	kihadalactone A	柠檬苦素	NX4	MOL002714	baicalein	黄芩苷元
HB2	MOL013352	obacunone	黄柏酮	NX5	MOL002776	baicalin	黄芩苷
HB3	MOL002641	phellavin	异黄柏苷	NX6	MOL002897	epiberberine	表小檗碱
HB4	MOL002644	phellopterin	珊瑚菜素	NX7	MOL003847	inophyllum E	红厚壳内酯
HB5	MOL002651	dehydrotanshinone II <sub>A</sub>	去氢丹参酮 II <sub>A</sub>	NX8	MOL000422	kaempferol	山柰酚
HB6	MOL002656	dihydrniloticin	二氢尼洛替星	YXR1	MOL001323	sitosterol- $\alpha$	$\alpha$ -谷甾醇
HB7	MOL002660	niloticin	尼洛替星	YXR2	MOL001494	mandenol	亚油酸乙酯
HB8	MOL002662	rutacarpine	吴茱萸次碱	YXR3	MOL002372	(6Z,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracosane	六甲基四烯-2-己烯
HB9	MOL002663	skimmianin	茵芋碱	YXR4	MOL002882	[(2R)-2,3-dihydroxypropyl](Z)-octadec-9-enoate	(Z)-十八烷基-9-烯酸酯
HB10	MOL002666	chelerythrine	白屈菜红碱	YXR5	MOL000359	sitosterol	谷甾醇
HB11	MOL002668	worenine	甲基黄连碱	YXR6	MOL008118	coixenolide	薏苡仁酯
HB12	MOL002670	cavidine	卡维丁	YXR7	MOL008121	2-monoolein	2-单油酸
HB13	MOL002671	candletoxin A	坎得毒素 A	YXR8	MOL000953	CLR	胆固醇复合物
HB14	MOL002673	hispidone	鬃毛酮	CZ1	MOL000179	2-hydroxyisoxypopyl-3-hydroxy-7-isopentene-2,3-dihydrobenzofuran-5-carboxylic	2-羟基异氧丙基-3-羟基-7-异戊烯 5-羧酸
HB15	MOL000622	magnograndiolide	大麦醇内酯	CZ2	MOL000184	NSC63551	豆甾醇
HB16	MOL000762	palmidin A	棕榈酰胺 A	CZ3	MOL000186	stigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	豆甾醇葡萄糖苷
HB17	MOL000785	palmatine	巴马汀	CZ4	MOL000188	$\beta$ -acetoxyatractylone	$\beta$ -乙酰氧白头翁烯
HB18	MOL000787	fumarine	原阿片碱	CZ5	MOL000085	$\beta$ -daucosterol_qt	胡萝卜苷
HB19	MOL000790	isocorypalmine	异紫堇球碱				
HB20	MOL000098	quercetin	槲皮素				
HB21	MOL001455	S-canadine	四氢小檗碱				
HB22	MOL001771	poriferast-5-en-3 $\beta$ -ol	胆甾醇苯甲酸酯				
HB23	MOL002894	berberrubine	小檗红碱				
HB24	MOL005438	campesterol	菜油甾醇				
HB25	MOL006392	dihydrniloticin	二氢尼洛替星				
HB26	MOL006401	melianone	美利安酮				

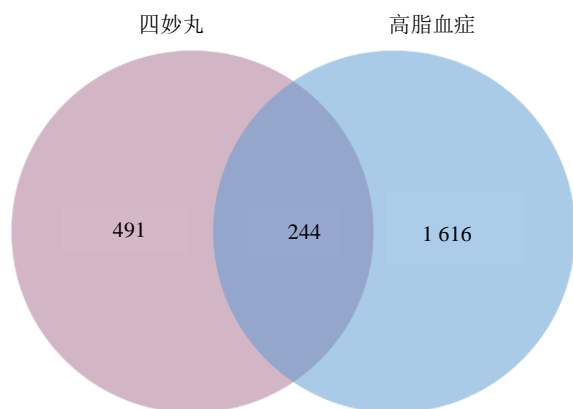


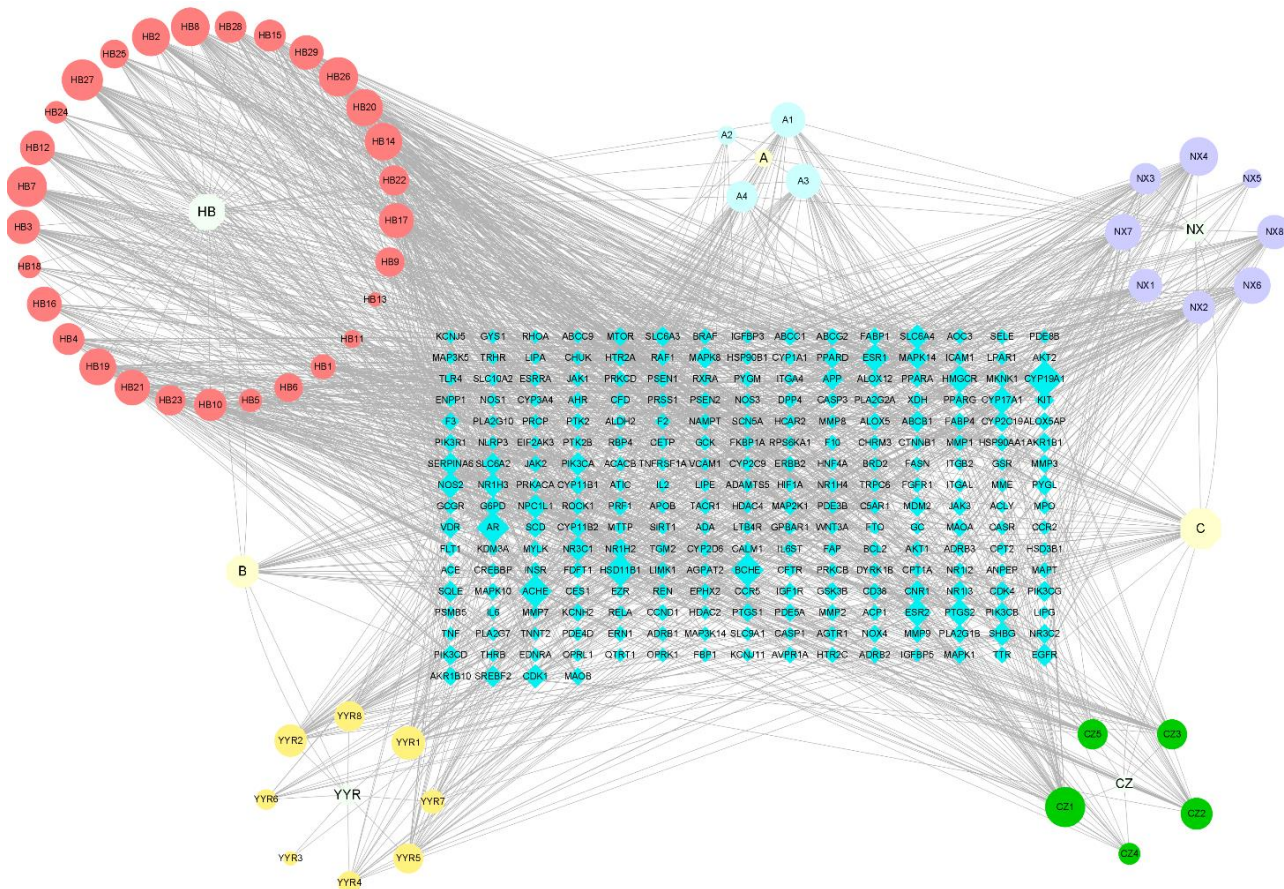
图 1 四妙丸成分靶点与高脂血症疾病靶点交集韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of intersection of Simiao Pills related targets and hyperlipidemia related targets

PPARG、CCND1。

### 3.4 GO 和 KEGG 富集分析

DAVID 数据库对 244 个交集靶点进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析, 如图 4-A 所示, 得到 GO 富集分析 ( $P < 0.01$ ) 条目共 403 个, 其中包括 119 个生物过程 (BP)、76 个细胞组分 (CC)、208 个分子功能 (MF)。根据基因富集个数分别列出 Top10 并绘制气泡图, BP 主要包括信号转换 (52 个)、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控 (48 个) 等; CC 主要包括细胞质膜 (128 个)、细胞质 (118 个)、细胞质基质 (115 个) 等; MF 主要包括药物与血浆蛋白结合 (206 个)、相同蛋白质结合 (61 个)、ATP 结合 (58 个) 等。



HB-黄柏; NX-牛膝; CZ-苍术; YYR-薏苡仁; 红色圆圈 (HB1~HB2)-黄柏中活性成分; 紫色圆圈 (NX1~NX8)-牛膝中活性成分; 绿色圆圈 (CZ1~CZ5)-苍术中活性成分; 橙色圆圈 (YYR1~YYR8)-薏苡仁中活性成分; 蓝色圆圈和黄色八边形 (A1~A4、B、C)-黄柏与牛膝、黄柏与薏苡仁、苍术与牛膝共有活性成分; 蓝绿色菱形为蛋白靶点。

HB-*Phellodendron chinense*; NX-*Achyranthes bidentata*; CZ-*Atractylodes lancea*; YYR-*Coix lacryma-jobi*; red circles (HB1—HB2)-active components in *P. chinense*; purple circles (NX1—NX8)-active components in *A. bidentata*; green circles (CZ1—CZ5)-active components in *A. lancea*; orange circles (YYR1—YYR8)-active components in *C. lacryma-jobi*; blue circles and yellow octagons (A1—A4, B, C) - common active components between *P. chinense* and *A. bidentata*, *P. chinense* and *C. lacryma-jobi*, *A. lancea* and *A. bidentata*; blue-green rhombuses represent protein targets.

图 2 四妙丸成分-交集靶点网络图

Fig. 2 Network diagram of Simiao Pills component-intersection targets

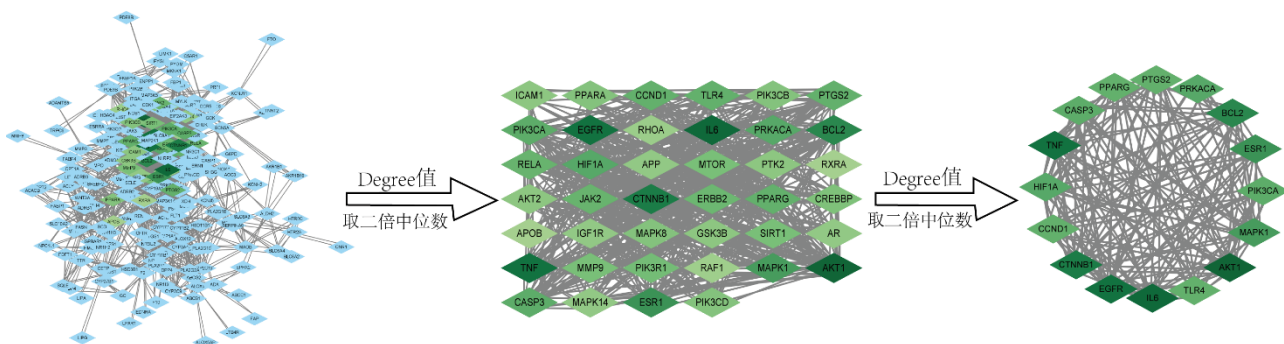


图 3 四妙丸治疗高血脂症的潜在作用靶点 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of potential targets of Simiao Pills in treatment of hyperlipidemia

将计数值中 Top20 的信号通路绘制成气泡图, 见图 4-B。基因富集最多的通路集中于有关代谢通

路 (如脂质和动脉粥样硬化、PI3K/AKT 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、胰岛素抵抗等)。

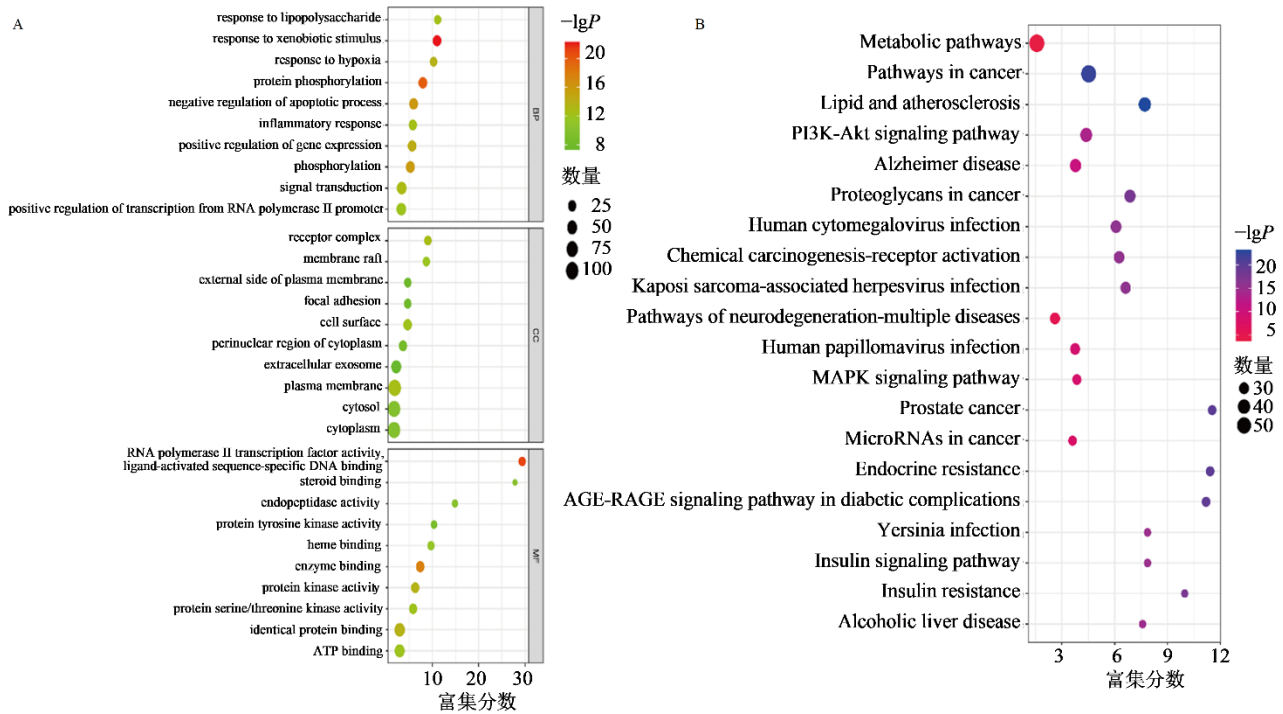


图 4 四妙丸治疗高脂血症的潜在作用靶点 GO (A) 和 KEGG (B) 富集分析气泡图

Fig. 4 Bubble map of GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis for potential targets of Simiao Pills in treatment of hyperlipidemia

### 3.5 分子对接

选取四妙丸中关键成分小檗碱、汉黄芩素、黄柏呈、槲皮素、绿原酸分别与核心基因靶点 PIK3CA、AKT1、PPARG、CYP7A1 进行分子对接, Total Score > 4 代表两者有一定的结合能力, 具体结合分值见表 3。结果表明, 黄柏呈、槲皮素与 4 个潜在基因靶点之间有较强的结合能力, 其中, 绿原酸与 PIK3CA 之间结合能力最强。将 4 个基因靶点与其结合能力较高的成分进行可视化分析, 见图 5。

### 3.6 四妙丸对 HepG2 细胞活性的影响

如图 6 所示, 与对照组比较, 辛伐他汀、游

离脂肪酸分别在  $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  及以下浓度时对 HepG2 细胞活性无显著性影响, 所以选择  $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的辛伐他汀作为阳性药,  $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的游离脂肪酸进行 HepG2 细胞造模。与对照组比较, 各质量浓度四妙丸对 HepG2 细胞活性均无明显影响, 结果表明  $0\sim 100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  四妙丸对 HepG2 细胞无毒性作用, 故选择 25、50、 $100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的四妙丸作为低、中、高给药质量浓度进行后续实验。

### 3.7 四妙丸对 HepG2 细胞脂质蓄积的影响

如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组 HepG2 细胞内红色脂滴面积显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 各给药组 HepG2 细胞内红色脂滴面积均显著

表 3 活性成分与潜在作用靶点的结合能力评分分值

Table 3 Total score for active ingredient binding to potential targets

活性成分	Total Score			
	PIK3CA	AKT1	PPARG	CY7PA1
黄柏呈 (phellochin)	6.587 6	5.549 0	6.143 9	6.838 7
槲皮素 (quercetin)	6.489 4	5.278 3	4.336 7	5.955 8
小檗碱 (berberine)	4.268 3	3.192 3	4.268 5	5.350 7
汉黄芩素 (wogonin)	4.121 8	2.758 9	3.674 9	4.431 1
绿原酸 (chlorogenic acid)	7.351 8	2.334 6	4.328 8	5.589 2

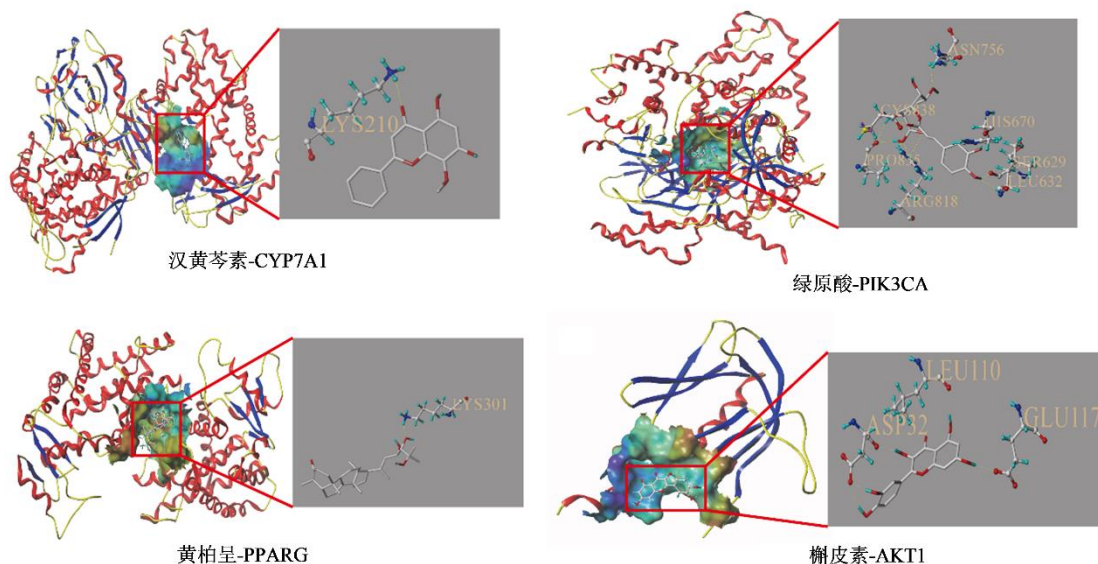


图 5 部分活性成分与核心靶点分子对接图

Fig. 5 Molecular docking maps of some active ingredients with core targets

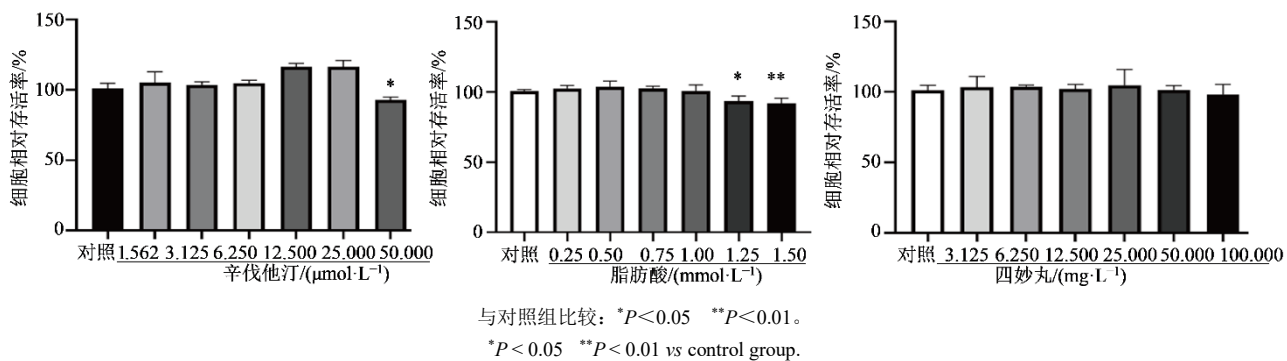


图 6 辛伐他汀、游离脂肪酸、四妙丸对 HepG2 细胞活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Fig. 6 Effect of simvastatin, free fatty acids, and Simiao Pills on HepG2 cell viability ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

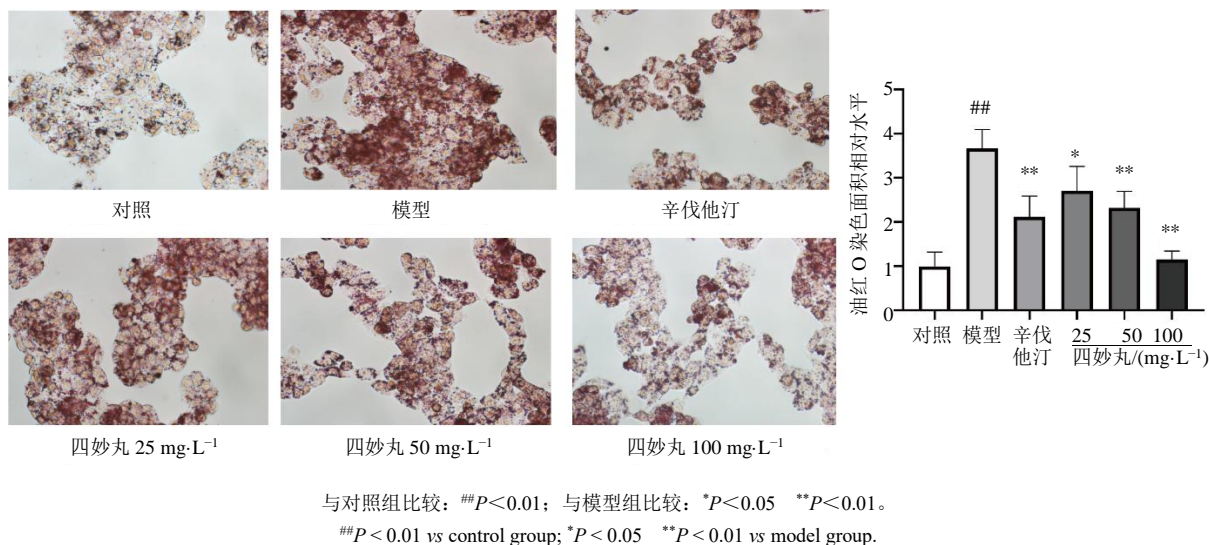


图 7 四妙丸对游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞内脂质蓄积的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Fig. 7 Effect of Simiao Pills on free fatty acid-induced intracellular lipid accumulation in HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )



减少 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，结果表明，四妙丸可以减轻 HepG2 细胞中的脂质蓄积，且呈质量浓度相关性，高质量浓度的调血脂作用优于阳性药辛伐他汀。

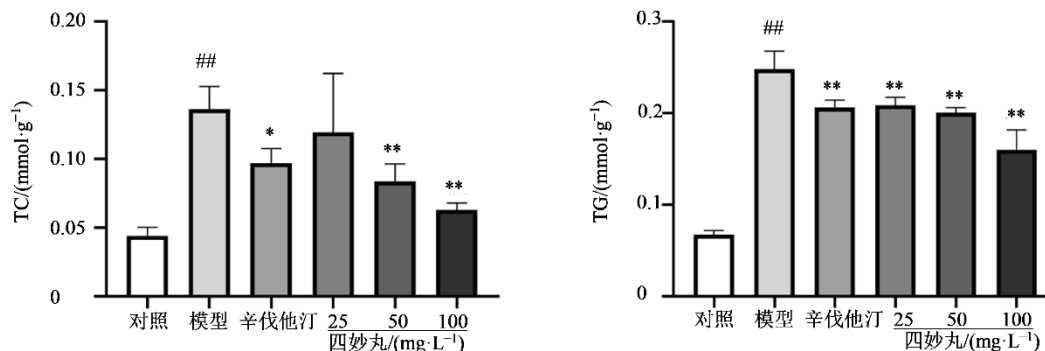
### 3.8 四妙丸对 HepG2 细胞总 TC、TG 水平的影响

如图 8 所示，与对照组比较，游离脂肪酸诱导的 HepG2 高脂血症细胞内 TC 和 TG 含量均显著升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组相比，各给药组细胞内 TG 含量均显著降低 ( $P < 0.01$ )，辛伐他汀及四

妙丸中、高质量浓度组 TC 水平均显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。

### 3.9 四妙丸对 HepG2 细胞 *PIK3CA*、*AKT1*、*PPARG*、*CYP7A1* mRNA 表达的影响

如图 9 所示，与对照组相比，经游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞中 *PI3KCA*、*AKT1* mRNA 相对表达量显著升高 ( $P < 0.01$ )，*CYP7A1*、*PPARG* mRNA 相对表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较，

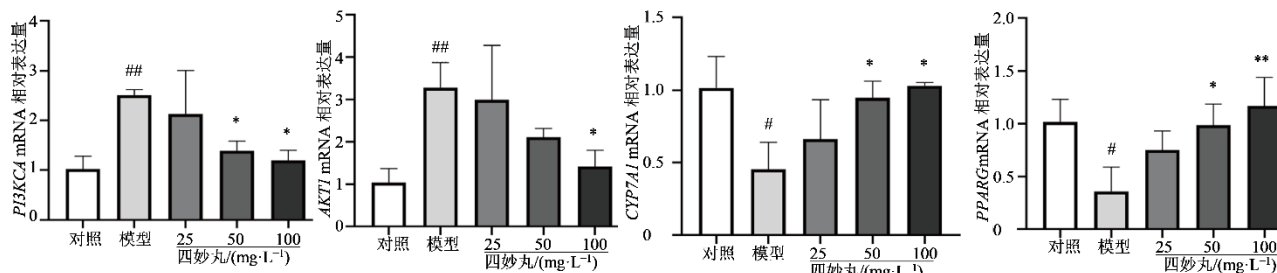


与对照组比较：<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较：<sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.

图 8 四妙丸对游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞内 TC 和 TG 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

Fig. 8 Effect of Simiao Pills on free fatty acid-induced intracellular TC and TG contents in HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )



与对照组比较：<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较：<sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.

图 9 四妙丸对游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞内 *PI3KCA*、*AKT1*、*CYP7A1*、*PPARG* mRNA 相对表达量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

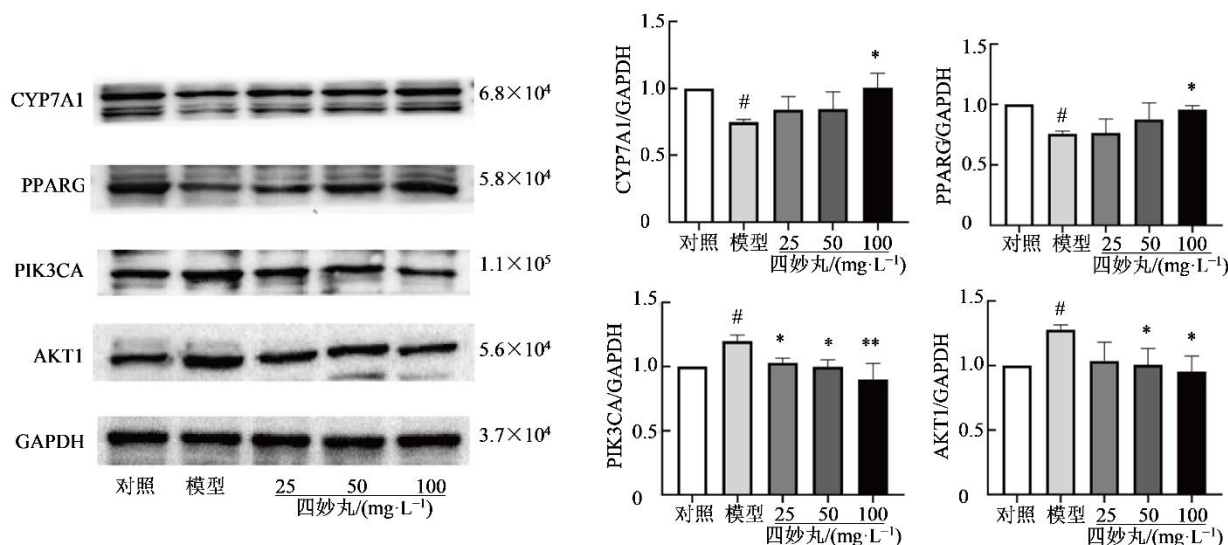
Fig. 9 Effect of Simiao Pills on relative mRNA expression of *PI3KCA*, *AKT1*, *CYP7A1* and *PPARG* in HepG2 cells induced by free fatty acids ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

50、100 mg·L<sup>-1</sup> 的四妙丸能显著降低 *PI3KCA* mRNA 相对表达水平 ( $P < 0.05$ )，显著升高 *CYP7A1*、*PPARG* mRNA 相对表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，100 mg·L<sup>-1</sup> 的四妙丸显著降低 *AKT1* mRNA 相对表达水平 ( $P < 0.05$ )。

### 3.10 四妙丸对 HepG2 细胞 *PIK3CA*、*AKT1*、*PPARG* 和 *CYP7A1* 蛋白表达的影响

如图 10 所示，与对照组相比，模型组细胞中

*CYP7A1* 和 *PPARG* 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )，而 *PIK3CA* 和 *AKT1* 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，四妙丸 100 mg·L<sup>-1</sup> 组 *CYP7A1* 和 *PPARG* 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )，各质量浓度组 *PIK3CA* 蛋白表达显著下降 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，50、100 mg·L<sup>-1</sup> 组 *AKT1* 蛋白表达水平显著下降 ( $P < 0.05$ )，与 qRT-PCR 实验结果基本一致。



与对照组比较: # $P < 0.05$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 。  
# $P < 0.05$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group.

图 10 四妙丸对游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞内 PI3KCA、AKT1、CYP7A1 和 PPARG 蛋白相对表达量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 10 Effect of Simiao Pills on relative expression of PI3KCA, AKT1, CYP7A1 and PPARG proteins in HepG2 cells induced by free fatty acids ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

#### 4 讨论

我国中医典籍中并未提及“高脂血症”病名，将其纳入“痰浊、肥人、中风”等范畴，目前中医主要通过中药复方、中成药等药物干预，调节血脂水平，减少肝脏脂肪堆积，从而达到治疗效果<sup>[11]</sup>。在治疗上，常使用清热化痰、祛湿化痰、健脾排浊、滋补肝肾的药物进行干预<sup>[12]</sup>。四妙丸全方由盐炒黄柏、苍术、薏苡仁、牛膝 4 味药以 2:1:2:1 的比例组成。方中黄柏苦寒，清热燥湿，除下焦湿热，为君药；苍术辛、苦温，辛能发散祛风，苦温能燥湿，健脾绝生痰之源，助黄柏增强燥湿之力；薏苡仁甘淡、性凉，健脾利湿除痹，助黄柏清热利湿，助苍术健脾燥湿，共为臣药；牛膝苦、性酸平，补益肝肾利关节，活血通经，引火下行，故为使药<sup>[13]</sup>。四药配伍苦寒燥相制，可考虑治疗肝失疏泄而痰湿内生所致的高脂血症。

近年来，越来越多的实验证实四妙丸对代谢性疾病的治疗有积极的作用，如降尿酸、降血糖等<sup>[14-15]</sup>，目前对于四妙丸调血脂的研究比较少，根据现有文献，四妙丸降脂效应特点主要包括通过调节脂质代谢相关信号通路抑制脂肪合成与积累、与其他药物联合应用效果更佳、不良反应少和适用人群广泛等特点。本课题组也在前期的实验中发现四妙丸能通

过调节胰岛素受体底物(IRS1)/蛋白激酶 B(AKT2)/葡萄糖转运体 2(GLUT2)/叉头框蛋白 O1(FOXO1) 水平改善小鼠胰岛素抵抗的同时也能改善血脂<sup>[9]</sup>；四妙丸联合非诺贝特胶囊治疗慢性痛风性关节炎时，能同时降低血尿酸(SUA)、TG、TC 水平显示出联合用药在降脂及其他症状改善方面的综合优势<sup>[16]</sup>；四妙丸的成分和作用机制使其适用于多种代谢性疾病患者；但四妙丸调血脂的药效往往体现在协同作用上，其具体调血脂机制还不清楚。所以本研究采用网络药理学方法揭示了四妙丸对高脂血症的多成分、多靶点作用机制，并在 HepG2 细胞上验证了四妙丸对高脂血症的治疗作用和涉及的 PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 信号通路的脂质代谢机制。

PPI 结果揭示了网络中的关键靶标包括 AKT1、PIK3CA、PPARG 等。主要富集在 PI3K/AKT 信号通路、代谢通路、胰岛素抵抗等通路。其中 PI3K/AKT 通路是脂质代谢障碍中的重要介质<sup>[17]</sup>，其能通过调节脂肪相关合成因子及相关酶的表达，发挥调节脂质代谢的作用<sup>[18]</sup>。同时分子对接结果表明四妙丸中有效成分与靶点 PIK3CA、AKT1、PPARG、CYP7A1 之间存在较强结合力，进一步证明四妙丸可能通过以上靶点发挥调血脂作用。

PIK3CA 是 PI3K 信号通路中的关键基因, 负责编码 PI3K 亚基 P110 $\alpha$  蛋白, 具有脂类激酶的活性<sup>[18-19]</sup>, AKT1 是 PI3K 的下游靶点, 参与多种 BP, 包括细胞脂质代谢、细胞增殖、细胞生长调控和血管生成等<sup>[19-20]</sup>。PI3K/AKT 信号通路与脂质合成密切相关, 在减少肝脏脂质堆积中起着关键作用, 异常激活可导致肝脏脂质代谢紊乱, 从而引起肝脏脂质蓄积<sup>[21]</sup>, 因此抑制 PI3K/AKT 信号通路有利于减少肝脏内脂质积累改善脂质代谢紊乱<sup>[22]</sup>。PPARG 是脂质传感器 PPARs 的其中一个亚型, 被认为是脂质代谢中的一个关键调控因子, PPARG 在脂肪细胞分化、细胞内脂滴形成和分解等方面起着重要作用<sup>[23]</sup>。通过激活 PPARG 相关通路, 可以调控下游胆汁酸合成限速酶活性<sup>[24]</sup>。CYP7A1 是胆固醇通过经典途径在肝脏中转化为胆汁酸的关键合成限速酶<sup>[25]</sup>, 其作用主要介导肝脏内胆固醇的转化, 影响肝脏内胆固醇的代谢和胆汁酸的合成, 整体调控脂质代谢, 参与改善代谢性疾病。

目前高脂血症模型还是多选用 SD 大鼠、C57BL/6 小鼠、黄金仓鼠等与人类基因类似的动物来造模, 但存在造模时间长, 造模成本高且个体差异大等缺点<sup>[26]</sup>。HepG2 细胞系保留了肝细胞的多种生物学特性, 具有与人肝脏相似的代谢能力, 可多代遗传, 并能表达多种影响糖脂代谢的基因。已经成为了一种肝脏脂质合成、摄取和胆固醇代谢体外研究的经典细胞模型<sup>[27]</sup>。所以为了明确四妙丸对高脂血症的治疗作用, 后续实验采用 HepG2 高脂血症细胞模型对四妙丸的调血脂药效和机制进行验证。

细胞实验证明四妙丸能有效地降低 HepG2 高脂血症细胞模型内脂质蓄积, 降低 TC 和 TG 含量, 并呈质量浓度相关性, 且最高质量浓度 100 mg·L<sup>-1</sup> 的四妙丸调血脂效果比阳性药辛伐他汀好。而 qRT-PCR 实验和 Western blotting 实验发现, 经过游离脂肪酸诱导后的 HepG2 细胞内 PIK3CA 和 AKT1 mRNA 和蛋白表达水平明显升高, PPARG 和 CYP7A1 mRNA 和蛋白表达水平明显降低, 而给予四妙丸干预后, 能明显下调细胞 PIK3CA 和 AKT1 mRNA 和蛋白表达水平, 上调细胞 PPARG 和 CYP7A1 mRNA 和蛋白表达水平。提示四妙丸可以通过抑制 PIK3CA/AKT1 信号通路和促进 PPARG/CYP7A1 信号通路来降低 HepG2 细胞内的脂质蓄积。

本研究利用网络药理学方法预测四妙丸治疗

高脂血症的有效成分-交集靶点相互作用和多靶点机制, 验证了四妙丸可以通过 PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 信号通路改善 HepG2 高脂血症细胞内的脂质蓄积。这为四妙丸用于高脂血症的治疗提供了理论依据, 也为治疗高脂血症药物的开发提供新的思路。然而, 此研究依旧存在着局限性: (1) 本研究通过数据库检索并以 OD 和 DL 为限制条件并结合之前的 HPLC 测定四妙丸成分含量进行筛选, 因为筛选出的活性成分没有完全的体内血药浓度的测定, 不能说明具体是哪个成分发挥治疗作用; (2) 本研究只在体外细胞模型上进行实验, 还需构建动物高脂血症模型来进一步阐明四妙丸调血脂的作用以及机制; (3) 四妙丸具有通过多成分、多靶点、多途径的协同作用治疗高脂血症的特点, 本研究主要关注于 PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 信号通路, 其他有协同作用的通路还有待探讨。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 逯维钰, 刘新宇, 冯玲. 探讨高脂血症的中西医治疗现状 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(22): 65-67. Lu W Y, Liu X Y, Feng L. Discussion on the treatment status of hyperlipidemia with traditional Chinese and western medicine [J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2023, 21(22): 65-67.
- [2] 赵婧含, 吴文轩, 李雪, 等. 血脂异常及脂代谢紊乱的中西医治疗现状与前景 [J]. 中国临床保健杂志, 2023, 26(5): 614-618. Zhao J H, Wu W X, Li X, et al. Status and prospect of diagnosis and treatment of dyslipidemia and lipid metabolism disorders in Chinese and western medicine [J]. Chin J Clin Healthc, 2023, 26(5): 614-618.
- [3] Jeeyavudeen M S, Pappachan J M, Arunagirinathan G. Statin-related muscle toxicity: An evidence-based review [J]. touchREV Endocrinol, 2022, 18(2): 89-95.
- [4] He C H, Fu P, Zhang K X, et al. Chinese herbal medicine for dyslipidemia: Protocol for a systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(44): e13048.
- [5] 谢耀慧, 李昕蓉, 何军刚, 等. 四妙丸的化学成分、药理作用和临床应用的研究进展及质量标志物(Q-Marker)的预测分析 [J/OL]. 中华中医药学刊, 2024: 1-23. (2024-07-23). [https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZYHS202407\\_20\\_00E&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ](https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZYHS202407_20_00E&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ). Xie Y H, Li X R, He J G, et al. Research progress of

- chemical composition, pharmacological action and clinical application of Simiao Pill and prediction and analysis of quality marker (Q-Marker) [J/OL]. China Ind Econ, 2024: 1-23. (2024-07-23). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZYHS2024072000E&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [6] 梁欣仪, 梅志刚, 闻晓东. 基于数据挖掘的四妙丸类方临床应用配伍规律分析 [J]. 中草药, 2022, 53(2): 507-518.  
Liang X Y, Mei Z G, Wen X D. Analysis of clinical compatibility rules of modified Simiao Pill based on data mining [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(2): 507-518.
- [7] 赵明久, 曹毅, 王利, 等. 四妙丸联合苯溴马隆治疗痛风性关节炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(3): 820-823.  
Zhao M J, Cao Y, Wang L, et al. Clinical study on Simiao Pills combined with benzbromarone in treatment of gouty arthritis [J]. Drugs Clin, 2019, 34(3): 820-823.
- [8] 陈哲, 杨思思, 王玉, 等. 四妙丸对高脂饮食胶原诱导关节炎大鼠血脂及关节的影响 [J]. 中国医药导报, 2014, 11(2): 24-27.  
Chen Z, Yang S S, Wang Y, et al. Effects of Simiao Pills on blood lipid and joints of high-fat diet collagen-induced arthritis rats [J]. China Med Her, 2014, 11(2): 24-27.
- [9] Xia T, Xu W J, Hu Y N, et al. Simiao Wan and its ingredients alleviate type 2 diabetes mellitus via IRS1/AKT2/FOXO1/GLUT2 signaling [J]. Front Nutr, 2023, 9: 1012961.
- [10] 邵鹏. 加减四妙散治疗高尿酸血症及对血脂水平影响的临床研究 [D]. 福州: 福建中医学院, 2009.  
Shao P. Clinical study on the treatment of hyperuricemia and its impact on blood lipid levels with Jia Jian Si Miao San [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2009.
- [11] 柏帆, 唐露霖, 尚文斌. 高脂血症的中医分类治疗探讨 [J]. 中医药学报, 2022, 50(2): 10-13.  
Bai F, Tang L L, Shang W B. Discussion on TCM classification and treatment of hyperlipemia [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(2): 10-13.
- [12] 田时秋, 李依林, 裴海鸾, 等. 高脂血症发病机制及药物治疗 [J]. 生命的化学, 2022, 42(12): 2237-2247.  
Tian S Q, Li Y L, Pei H L, et al. The pathogenesis and drug therapy of hyperlipidemia [J]. Chem Life, 2022, 42(12): 2237-2247.
- [13] 蔡秀江, 李红, 杨海慧, 等. 四妙丸临床应用研究进展 [J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(12): 2232-2234.  
Cai X J, Li H, Yang H H, et al. Research progress on clinical application of Simiao pill [J]. J Pract Tradit Chin Med, 2022, 38(12): 2232-2234.
- [14] Zeng L Y, Deng Y J, Zhou X H, et al. Simiao pills alleviates renal injury associated with hyperuricemia: A multi-omics analysis [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 333: 118492.
- [15] Chen Y M, Zhu L J, Hu W X, et al. Simiao Wan modulates the gut microbiota and bile acid metabolism during improving type 2 diabetes mellitus in mice [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154264.
- [16] 赵耀东, 徐文东. 四妙丸联合非诺贝特胶囊治疗慢性痛风性关节炎的临床效果 [J]. 河南医学研究, 2020, 29(19): 3475-3477.  
Zhao Y D, Xu W D. Clinical effect of Simiao pill combined with fenofibrate capsule on chronic gouty arthritis [J]. Henan Med Res, 2020, 29(19): 3475-3477.
- [17] Zhang X. NAFLD related-HCC: The relationship with metabolic disorders [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1061: 55-62.
- [18] 杜霞, 刘园, 赵林涛, 等. 基于 PI3K/AKT/mTOR 信号通路探讨小陷胸汤改善高脂血症小鼠肝脏脂质代谢的分子机制 [J]. 陕西中医, 2023, 44(6): 688-692.  
Du X, Liu Y, Zhao L T, et al. The molecular mechanism of Xiaoxianxiong decoction to improve liver lipid metabolism in hyperlipidemia mice by regulating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2023, 44(6): 688-692.
- [19] 张静, 朱静, 冷洁, 等. PIK3CA 相关过度生长谱研究新进展 [J]. 重庆医科大学学报, 2023, 48(5): 512-515.  
Zhang J, Zhu J, Leng J, et al. A review of new progress in PIK3CA-related overgrowth spectrum research [J]. J Chongqing Med Univ, 2023, 48(5): 512-515.
- [20] Li R L, Wang C L, Chen Y, et al. A combined network pharmacology and molecular biology approach to investigate the active ingredients and potential mechanisms of mulberry (*Morus alba* L.) leaf on obesity [J]. Phytomedicine, 2021, 92: 153714.
- [21] Yang H L, Cao Q Y, Xiong X L, et al. Fluoxetine regulates glucose and lipid metabolism via the PI3K-AKT signaling pathway in diabetic rats [J]. Mol Med Rep, 2020, 22(4): 3073-3080.
- [22] 田晓丹, 金晨, 陈志, 等. 石榴花对棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积的改善作用及机制研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2462-2470.  
Tian X D, Jin C, Chen Z, et al. Effect and mechanism of Punica granatum flower on lipid deposition induced by palmitic acid in HepG2 cells [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(8): 2462-2470.
- [23] Norris A W, Chen L H, Fisher S J, et al. Muscle-specific PPARgamma-deficient mice develop increased adiposity

- and insulin resistance but respond to thiazolidinediones [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(4): 608-618.
- [24] Kókény G, Calvier L, Hansmann G. PPAR $\gamma$  and TGF $\beta$ -major regulators of metabolism, inflammation, and fibrosis in the lungs and kidneys [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10431.
- [25] Li T G, Matozel M, Boehme S, et al. Overexpression of cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase promotes hepatic bile acid synthesis and secretion and maintains cholesterol homeostasis [J]. *Hepatology*, 2011, 53(3): 996-1006.
- [26] 高婷, 苗明三. 基于数据挖掘的高脂血症动物模型分析 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(1): 75-78.  
Gao T, Miao M S. Analysis of hyperlipidemia animal models based on data mining [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2023, 39(1): 75-78.
- [27] Nakamaru K, Matsumoto K, Taguchi T, et al. AICAR, an activator of AMP-activated protein kinase, down-regulates the insulin receptor expression in HepG2 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328(2): 449-454.

[责任编辑 兰新新]