

心可舒片调控 TNF 和 PI3K-Akt 信号通路改善斑马鱼高脂血症

田水淼¹, 王勇澄^{1#}, 吴子玄¹, 庄开颜¹, 李贝贝¹, 赵贺¹, 刘庆¹, 张建汝¹, 刘可春¹, 张云¹, 张华铮², 夏青^{1*}

1. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103

2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

摘要: 目的 探究心可舒片缓解斑马鱼高脂血症的作用, 并初步阐明其分子机制。方法 利用 0.05% 蛋黄粉喂养诱导的斑马鱼模型结合油红 O 染色评价心可舒片(100、200、400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的调血脂作用, 并检测总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性以及丙二醛(MDA)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量。联合网络药理学、转录组学、分子对接分析心可舒片的潜在调脂机制; 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)技术检测肿瘤坏死因子(TNF)和磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(Akt)信号通路中 *akt1*、*akt2*、*caspase3*、*sele*、*mapk14*、*pik3r1* 基因表达量和转录组学筛选的差异基因 *ncf1*、*gpr84*、*irf1b*、*nox1a*、*zgc:92275*、*crx*、*flvcr2a*、*serping1*、*ccl20a.3*、*bcl3*、*rpl3a* 的表达量进行验证。结果 与模型组比较, 心可舒片能够显著缓解高脂喂食导致的斑马鱼体内脂质积累, 降低 TC、TG、LDL-C 和 MDA 含量, 增强 T-SOD 活性($P < 0.01$)。网络药理学、分子对接及 qRT-PCR 验证结果表明, 心可舒片主要作用于 ALB、Akt1、IGF1、EGFR、CASP3 和 MMP9 等靶点, 通过调控 TNF 和 PI3K-Akt 信号通路缓解高脂血症。转录组学及 qRT-PCR 验证结果表明, 戊糖磷酸途径和吞噬作用在心可舒片的调脂过程中也发挥着关键作用。结论 心可舒片可以缓解斑马鱼高脂血症及伴随的氧化应激, 作用机制与 TNF、PI3K-Akt 信号通路及其调控的炎症和代谢途径有关。

关键词: 心可舒片; 高脂血症; 转录组学; 网络药理学; 斑马鱼; TNF 信号通路; PI3K-Akt 信号通路

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)06-1908-17

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.06.005

Network pharmacology integrated with transcriptomic analysis re-veals Xinkeshu Tablets ameliorate hyperlipidemia via regulating TNF and PI3K-Akt signaling pathways

TIAN Shuimiao¹, WANG Yongcheng¹, WU Zixuan¹, ZHUANG Kaiyan¹, LI Beibei¹, ZHAO He¹, LIU Qing¹, ZHANG Jianru¹, LIU Kechun¹, ZHANG Yun¹, ZHANG Huazheng², XIA Qing¹

1. Biology Institute of Shandong Academy of Sciences, Qilu University of Technology, Jinan 250103, China

2. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Abstract Objective To investigate the effect of Xinkeshu Tablets on alleviating hyperlipidemia in zebrafish and preliminarily elucidate its molecular mechanism. **Methods** The lipid-regulating effects of Xinkeshu Tablets (100, 200, and 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) were evaluated using a zebrafish model induced by 0.05% egg yolk powder feeding, combined with Oil Red O staining, and the activities of total superoxide dismutase (T-SOD), as well as the levels of malondialdehyde (MDA), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), were measured. Potential lipid-regulating mechanisms of Xinkeshu Tablets were further analyzed through integrated network pharmacology, transcriptomics, and molecular docking. Real-time quantitative PCR (qRT-

收稿日期: 2026-01-21

基金项目: 国家自然科学基金联合基金项目(U23A20514); 齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产教融合试点工程重大创新专项(2025ZDZX14); 山东省中医药科技项目(M20242212); 外专双百项目(WSR2024032, WSP2024016); 国家高端人才项目(H20240744); 国家药品监督管理局药品审评中心重点实验室开放课题(2021TREDP01); 山东生物健康食品高值开发利用技术创新中心重大创新任务(SDJSZX2025ZDRW03)

作者简介: 田水淼, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质与作用机制。E-mail: 19906409460@163.com

#共同第一作者: 王勇澄, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质与作用机制。E-mail: 19546143397@163.com

***通信作者:** 夏青, 男, 博士, 副研究员, 研究方向为中药药效物质与作用机制。E-mail: sdxq1021@163.com

PCR) was employed to validate the expression levels of genes involved in the tumor necrosis factor (TNF) and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) signaling pathways—specifically *akt1*, *akt2*, *caspase3*, *sele*, *mapk14*, and *pik3r1*—as well as differentially expressed genes identified by transcriptomics, including *ncf1*, *gpr84*, *irflb*, *noxo1a*, *zgc:92275*, *crx*, *flvcr2a*, *serping1*, *ccl20a.3*, *bcl3*, and *rpl13a*. **Results** Compared with the model group, Xinkeshu Tablets significantly alleviated lipid accumulation in zebrafish induced by a high-fat diet, reduced levels of TC, TG, LDL-C, and MDA, and enhanced T-SOD activity ($P < 0.01$). Network pharmacology, molecular docking, and qRT-PCR validation results indicated that Xinkeshu Tablets primarily target ALB, Akt1, IGF1, EGFR, CASP3, and MMP9, ameliorating hyperlipidemia by modulating the TNF and PI3K-Akt signaling pathways. Transcriptomics and qRT-PCR validation further revealed that the pentose phosphate pathway and phagocytosis also play crucial roles in the lipid-regulating effects of Xinkeshu Tablets. **Conclusion** Xinkeshu Tablets alleviates hyper-lipidemia and its associated oxidative stress in zebrafish, with its lipid-lowering mechanism involving the TNF, PI3K-Akt signaling pathway and the inflammatory and metabolic pathways it regulates.

Key words: Xinkeshu Tablets; hyperlipidemia; transcriptomic; network pharmacology; zebrafish; TNF signaling pathway; PI3K-Akt signaling pathway

高脂血症是心脑血管疾病的主要危险因素^[1-3]。受不健康生活方式影响，高脂血症患者数量正快速增长。高脂血症作为脂质代谢稳态失衡的病理表现，与全身性慢性炎症反应形成正反馈调控环路，共同驱动动脉粥样硬化及心脑血管疾病进展^[4]。肿瘤坏死因子（TNF）等炎症相关信号通路的异常激活被认为是高脂血症诱发血管损伤的核心机制之一。高脂环境下，过量脂质尤其是氧化低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）可刺激巨噬细胞、血管内皮细胞等分泌促炎因子，激活下游炎症信号通路，加剧血管内皮损伤、促进动脉粥样硬化斑块形成与不稳定^[5-6]。心可舒片由丹参、葛根、三七、木香、山楂 5 味中药组成，具有活血化瘀、行气止痛的功效，主要用于气滞血瘀所致的高脂血症、心绞痛等各类心血管疾病。研究表明心可舒片通过调脂和保护内皮功能对动脉粥样硬化性心肌缺血发挥保护作用^[7-9]；有效清除氧自由基，调节血脂异常及脂质过氧化^[10-11]；改善冠心病患者的总胆固醇（TC）和三酰甘油（TG）水平^[12]，对高脂血症和冠心病均有明确疗效^[7]。但是，心可舒片治疗高脂血症的具体机制尚不明确。

斑马鱼因胚胎透明、早期发育迅速、繁殖力强且饲养成本低，被广泛用作脊椎动物模型。Ka 等^[12]通过转录组学分析比较高脂饮食喂养的斑马鱼与小鼠，证实斑马鱼可用于研究人类血脂异常及相关疾病。网络药理学契合中药“多成分、多靶点”的特点，是阐明中药作用机制的高效工具。转录组学分析则能以高通量、定量的方式全面探究转录组特征^[13]。其中，RNA 测序无需预先了解目标转录本或基因信息，无定量上限，还具备

识别序列变异等额外优势^[14]。

本研究采用 0.05% 蛋黄粉喂养斑马鱼建立高脂血症模型，通过油红 O 染色评价心可舒片的调脂作用，并检测总超氧化物歧化酶（T-SOD）活性及丙二醛（MDA）、TC、TG、LDL-C 含量；结合网络药理学与转录组学分析心可舒片的潜在调脂机制，并利用实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）方法进行验证，为心可舒片的临床合理应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

心可舒片（批号 0191101，每片 0.31 g）由山东沃华医药科技股份有限公司提供；心可舒片中含有淀粉、糊精等药用辅料，直接给药易造成斑马鱼饲养液浑浊、引入无关干扰成分，且给药剂量难以精准把控。因此本研究对心可舒片进行提取处理，去除辅料与不溶性杂质、富集活性成分，保证给药体系均一稳定及实验结果准确可靠。心可舒片的提取方法及液质联用（LC-MS）分析已在本团队前期研究中优化确定^[3]。简要步骤如下：将心可舒片用 10 倍体积的甲醇超声提取，随后浓缩并冷冻干燥，利用液质联用技术从心可舒片中已经鉴定出了 116 种化合物。

依折麦布（批号 C2320442，质量分数 $\geq 99\%$ ）购自阿拉丁试剂（上海）有限公司；油红 O 购自西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司（CAS 号 1320-06-5）；T-SOD 检测试剂盒（货号 A001-1）、MDA 检测试剂盒（货号 A003-1）、TC 检测试剂盒（货号 A111-1-1）、TG 检测试剂盒（货号 A110-1-1）、LDL-C 检测试剂盒（货号 A113-1-1）均购自南京建成生物工程研究所；三卡因购自西格玛奥德里奇（上海）

贸易有限公司,并配成 0.16%三卡因溶液,于 4 °C 保存。总 RNA 提取试剂盒 V2 (货号 RC112)、HiScript® II Q RT Super Mix for qPCR (+gDNA wiper)、ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2 主要仪器

斑马鱼养殖系统购自北京爱生科技有限公司;HPG280BX 光照培养箱购自哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;Axio Zoom V16 蔡司显微镜购自德国奥伯科亨公司;C1000 Touch PCR 仪购自伯乐生命医学产品(上海)有限公司;Agilent 2100 生物分析仪(安捷伦科技有限公司)。

1.3 斑马鱼饲养与胚胎收集

本研究用斑马鱼为 AB 品系,由山东省科学院生物研究所药物筛选实验室提供。饲养条件:水温控制在(28.5±0.5)°C,光照周期 14 h/10 h, pH 7.2~7.4,电导率 500~800 μS·cm⁻¹,每天喂食 2 次新鲜丰年虫。实验前 1 晚,选取健康成年斑马鱼,按 2:2 的雌雄比例转移至产卵盒中。次日清晨,开灯后 2 h 内收集斑马鱼胚胎,置于 28 °C 恒温培养箱中培养。本研究严格按照山东省科学院生物研究所动物伦理委员会要求开展实验,伦理审批号为 SWS20210815。

2 方法

2.1 药物处理

预试验结果显示心可舒片提取物 800 μg·mL⁻¹ 以下质量浓度对斑马鱼无不良反应,且具有明显的调血脂活性。本实验选取 100、200、400 μg·mL⁻¹ 3 个质量浓度开展调血脂活性评价和机制研究。将受精后 5 dpf 的斑马鱼随机转移至 24 孔板,每孔 10 条,分为 6 组:对照组、模型组、依折麦布(阳性药,2 μmol·L⁻¹)组和心可舒片(100、200、400 μg·mL⁻¹)组,每组设 3 个重复。斑马鱼高脂血症造模方法参照已有文献报道的蛋黄诱导高脂造模体系,并结合本实验室实验条件进行参数优化确定^[15]。对照组用斑马鱼饲养水培养;模型组、依折麦布组、心可舒片组先喂食 0.05%蛋黄溶液 48 h,随后冲洗去除蛋黄溶液,模型组后续加入斑马鱼饲养水,给药组加入含相应药物的斑马鱼饲养水。所有组均继续培养 48 h。

2.2 油红 O 染色

将斑马鱼幼鱼用 4%多聚甲醛 4 °C 固定 6~8 h,用 1,2-丙二醇与磷酸盐缓冲液(PBS)梯度脱水后,

室温避光油红 O 染色 30 min,再用 1,2-丙二醇与 PBS 梯度复水,最后用 0.1%聚山梨酯-20 清洗 3 次。用蔡司 Axio Zoom V16 显微镜拍摄每条斑马鱼的侧位图,以尾部脂质染色的积分吸光度(A)值分析脂质蓄积水平,同时计算各组的调脂率。

$$\text{调脂率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{给药}}) / A_{\text{模型}}$$

2.3 生化指标检测

收集各组斑马鱼幼鱼,每组设置 3 个重复组,每个重复组 40 尾斑马鱼。各组斑马鱼幼鱼匀浆后离心,取上清液检测 T-SOD 活性及 MDA、TC、TG、LDL-C 水平。采用南京建成生物工程研究所商品化试剂盒,批内变异系数(CV) < 5%,批间 CV < 8%;每批实验均设置标准品对照组、对照组与质量控制组;方法灵敏度、线性范围和特异性均符合试剂盒标准。

2.4 网络药理学分析与 qRT-PCR 验证

2.4.1 靶点收集 本研究通过中国学术期刊全文数据库(CNKI, <https://www.cnki.net/>)和 PubMed 数据库(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)筛选心可舒片各组成药材中可能的入血化合物,用于网络药理学分析。通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库(<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php/>)和 Swiss Target Prediction 数据库(<http://swiss.targetprediction.ch/>)收集这些潜在入血化合物的相关靶点,通过 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)将靶点名称转换为标准基因名称。

以“高脂血症”为关键词,从 DrugBank 数据库(<https://go.drugbank.com/>)、GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)和 OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)获取高脂血症相关靶点基因。通过 Venn 图分析交集靶点,获取心可舒片调脂的潜在靶点。

2.4.2 蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络构建 通过 String 数据库(<https://string-db.org/>)构建心可舒片治疗高脂血症潜在靶点的 PPI 网络,使用 Cytoscape 3.6.0 软件进行可视化。

2.4.3 功能富集分析 通过 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对共同靶点进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,结合 P 值和基因计数筛选关键 GO 条目与 KEGG 通路。

2.4.4 中药-成分-靶点-疾病网络构建 在 Excel 表格中建立高脂血症、心可舒片活性成分、预测靶点

之间的对应关系, 导入 Cytoscape 3.6.0 软件, 构建“中药-成分-靶点-疾病”网络图, 分析心可舒片活性成分的多成分、多靶点、多途径作用机制。

2.4.5 分子对接 选取“中药-成分-靶点-疾病”网络中度值排名前 5 的活性成分与度值排名前 5 的靶点蛋白进行分子对接验证。从 PDB (<https://www.rcsb.org/>) 下载靶点的 PDB 文件, 使用 PYMOL 软件对受体蛋白进行去水、去配体处理; 从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载中药有效成分的 2D 结构文件, 通过 Chem 3D 软件转换为 3D 结构文件; 使用 AutoDock-Tools 对受体蛋白和配体进行加氢处理, 保存受体与配体的 BDPQT 格式文件并记录活性口袋相关数据; 最后运行

AutoDock-Vina, 根据活性口袋参数进行分子对接, 使用 Pymol 软件进行可视化分析。

2.4.6 网络药理学 qRT-PCR 验证 从 TNF 和磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K) 和蛋白激酶 B (Akt) 信号通路中选取 *akt1*、*akt2*、*caspase3*、*sele*、*mapk14*、*pik3r1* 基因验证网络药理学结果。收集各组斑马鱼幼鱼, 其中每组设置 3 个重复组, 每个重复组 40 尾斑马鱼。按照 FastPure[®] 细胞/组织总 RNA 提取试剂盒 V2 说明书提取总 RNA, 使用 HiScript[®] II Q RT Super Mix for qPCR (+gDNA wiper) 进行逆转录。通过 Primer 5.0 软件设计 qRT-PCR 引物 (表 1), 以获得的 cDNA 为模板, 使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 进行 qRT-PCR 扩增。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>akt1</i>	GTTGGTTCCTCCGTTCAAGC	GGTCGTCTCTCGCTGTCAAA
<i>akt2</i>	GCCAATCAGCCACCTCTCAA	GGCACGTATCCACTCCTCTC
<i>caspase3</i>	CTTTGATCGCAGGACAGGCA	GTGATCGTCATGGGCAACTG
<i>sele</i>	TGTCCAGCCCTTGAAAAACC	GGTCTCTGAAACTCCTGTGAGG
<i>mapk14</i>	GCCATGAGGCTCGTACTTACAT	ATCCGGGTATGATATTGGGC
<i>pik3r1</i>	GAGGGAATGGAGGAGAGACCA	TGGAGGTCTCGGTTTAGGAGT
<i>Rpl3a</i>	TCTGGAGGACTGTAAGAGGTATGC	AGACGCACAATCTTGAGAGCAG

2.5 转录组学分析与 qRT-PCR 验证

2.5.1 转录组学分析 收集对照组、模型组、心可舒片高剂量组 (400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的斑马鱼幼鱼用于转录组学分析。采用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 使用 Agilent 2100 生物分析仪评估 RNA 完整性。转录组学分析由上海欧易生物医学科技有限公司 (中国上海) 完成。以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2\text{FC}| > 0.58$ 为筛选标准, 分析模型组与对照组、心可舒片组与模型组的差异表达基因 (DEGs), 揭示 2 组比较中 DEGs 的表达模式。

2.5.2 GO 与 KEGG 通路富集分析 基于超几何分布, 使用 R 语言对 DEGs 进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。

2.5.3 转录组学 qRT-PCR 验证 基于转录组测序的 KEGG 通路富集分析结果, 本研究聚焦与高脂血症及脂质代谢紊乱密切相关的戊糖磷酸途径、吞噬体通路、TNF 介导的凋亡通路及炎症-糖脂代谢通路, 筛选各通路中与调脂效应相关的关键 DEGs: *ncfl*、*gpr84*、*irflb*、*noxo1a*、*zgc: 92275*、*crx*、*flvcr2a*、

serping1、*ccl20a.3*、*bcl3*、*rpl3a*, 通过 qRT-PCR 对上述基因的表达变化进行验证, 以确认转录组测序结果的可靠性, 并为心可舒片的调脂作用机制提供分子水平依据。qRT-PCR 引物见表 2, RNA 提取、逆转录及扩增步骤同“2.4.6”项。

2.6 统计分析

所有数据先进行 Shapiro-Wilk 正态性检验与 Levene 方差齐性检验, 符合条件后再进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 判断差异显著性。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 心可舒片对斑马鱼的调脂作用

如图 1 所示, 模型组斑马鱼的 A 值显著高于对照组 ($P < 0.01$), 表明喂食 0.05% 蛋黄粉可成功建立斑马鱼高脂血症模型; 依折麦布组斑马鱼的 A 值显著低于模型组 ($P < 0.01$); 心可舒片处理组的 A 值显著低于模型组 ($P < 0.01$), 调脂率显著高于模型组 ($P < 0.01$), 且呈剂量相关性, 表明心可舒片可以剂量相关性的缓解斑马鱼高脂血症。

表 2 qRT-PCR 引物序列
Table 2 qRT-PCR primer sequences

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>ncf1</i>	CAGCTCATTCGGGACTTCTTC	TGCTCCGTA CTGT TTTGTGG
<i>gpr84</i>	CAACAGCGTGTCCATCATAAC	CCAGCACCCAGGAGGAGATA
<i>irf1b</i>	CCCGCCGTCAGCAAGAA	CATACCCAACAGTAGGACTGGAAGT
<i>noxo1a</i>	CCCTTTAAGCGATCAGCACG	GCAGTTGACCGCAGTATTCTCTC
<i>zgc:92275</i>	AGCAAGACTTGGGAGTTTATACGGC	AAGACATCCAGATCCAGAAGAGGC
<i>crx</i>	CACCAAAACACGCTATCCAGAC	CGGCATTTAGCACGACGGT
<i>flvr2a</i>	CGGGACAGCACTCATACTG	ACGAGCGTCAAGCCAATTCT
<i>serping1</i>	GTACATTCTGGTCCC GCGTA	TTGGGCTGGAGTTTGGTTCA
<i>ccl20a.3</i>	GAGTCGGATTTCAGCGTGTG	TCTTGCCTCCGTTTGTGTGG
<i>bcl3</i>	GCACAAGTTTAAGGGGCACG	GTTTCCCCTGTCACCCACAT
<i>rpl13a</i>	TCTGGAGGACTGTAAGAGGTATGC	AGACGCACAATCTTGAGAGCAG

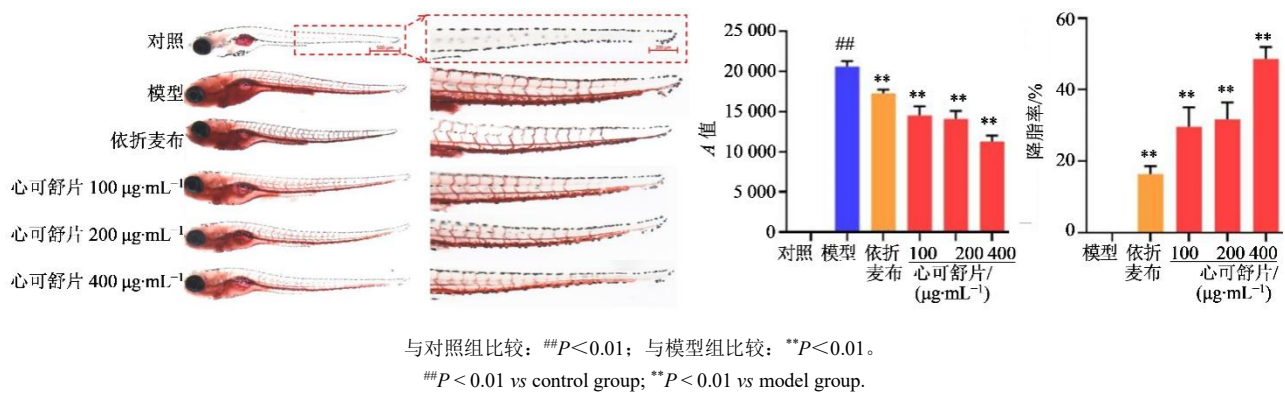


图 1 心可舒片在斑马鱼中的调血脂活性 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 1 Hypolipidemic activity of Xinkeshu Tablets in zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2 生化指标检测结果

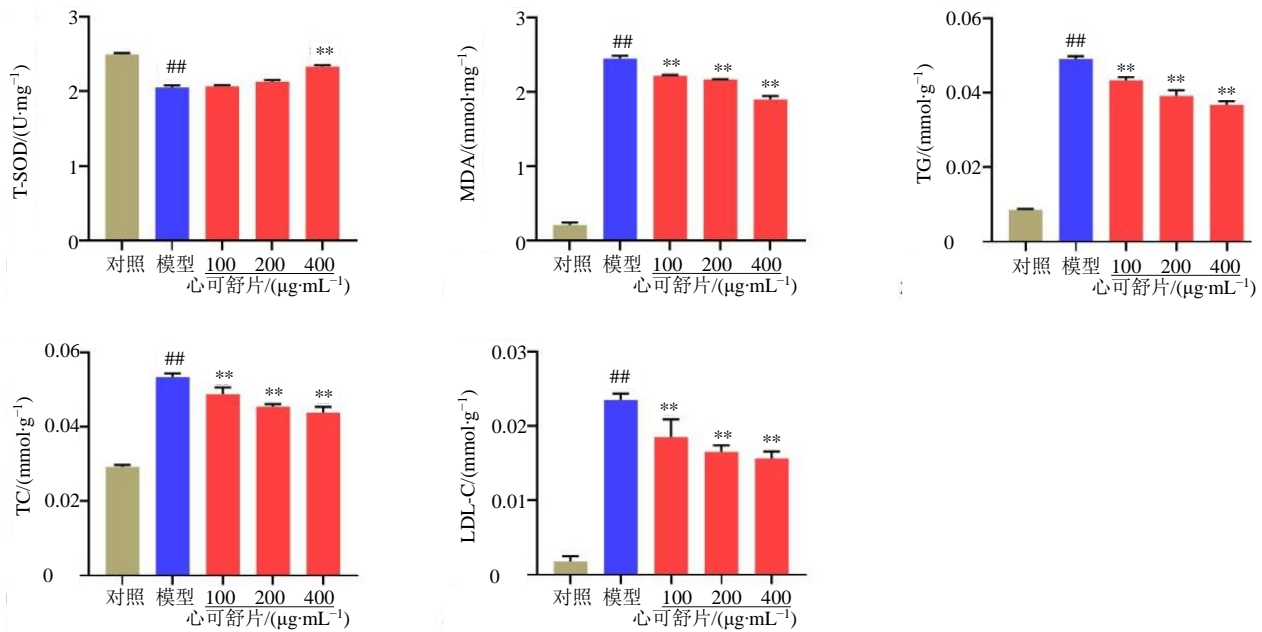
如图 2 所示, 与对照组相比, 模型组斑马鱼的 T-SOD 活性显著降低 ($P < 0.01$), MDA、TG、TC、LDL-C 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 心可舒片处理组的 T-SOD 活性显著升高 ($P < 0.01$), 心可舒片各质量浓度组 MDA、TG、TC、LDL-C 含量显著降低 ($P < 0.01$), 说明心可舒片可以降低斑马鱼血脂水平, 并缓解高脂血症伴随的氧化应激。

3.3 网络药理学分析结果

3.3.1 靶点预测 心可舒片的 30 种潜在入血化合物见表 3。如图 3-A 所示, 通过数据库筛选, 共收集到心可舒片相关靶点 433 个、高脂血症相关靶点 1 801 个; Venn 分析显示, 心可舒片的 138 个靶点可能发挥调脂作用。如图 3-B 所示, “成分-靶点”网络包含 168 个节点和 2 791 条边。

PPI 网络可视化分析结果如图 3-C 所示, 拓扑分析表明 ALB、Akt1、IGF1、EGFR、CASP3、MMP9、PPARG、HSP90AA1、CAT、PPARA 是心可舒片调脂的关键靶点。

3.3.2 GO 与 KEGG 通路富集分析 前 30 个 GO 条目如图 3-E 所示, 其中 17 个与生物过程 (BP) 相关, 包括 RNA 聚合酶 II 启动子转录起始、类固醇激素介导的信号通路、蛋白水解等; 12 个与分子功能 (MF) 相关, 包括类固醇激素受体活性、RNA 聚合酶 II 转录因子活性、配体激活序列特异性 DNA 结合、丝氨酸型内肽酶活性等; 仅 1 个核质与细胞组分 (CC) 相关。如图 3-D 所示, 结合 P 值、富集因子和基因计数, 筛选出前 20 条 KEGG 通路, 结果表明心可舒片的调脂机制与 TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、FoxO 信号通路、脂肪细胞因子信号通路、胰岛素抵抗等相关。



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs control group; ** $P < 0.01$ vs model group.

图 2 各组 T-SOD、MDA、TC、TG、LDL-C 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Levels of T-SOD, MDA, TC, TG, and LDL-C in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

表 3 心可舒片的 30 种潜在入血化合物

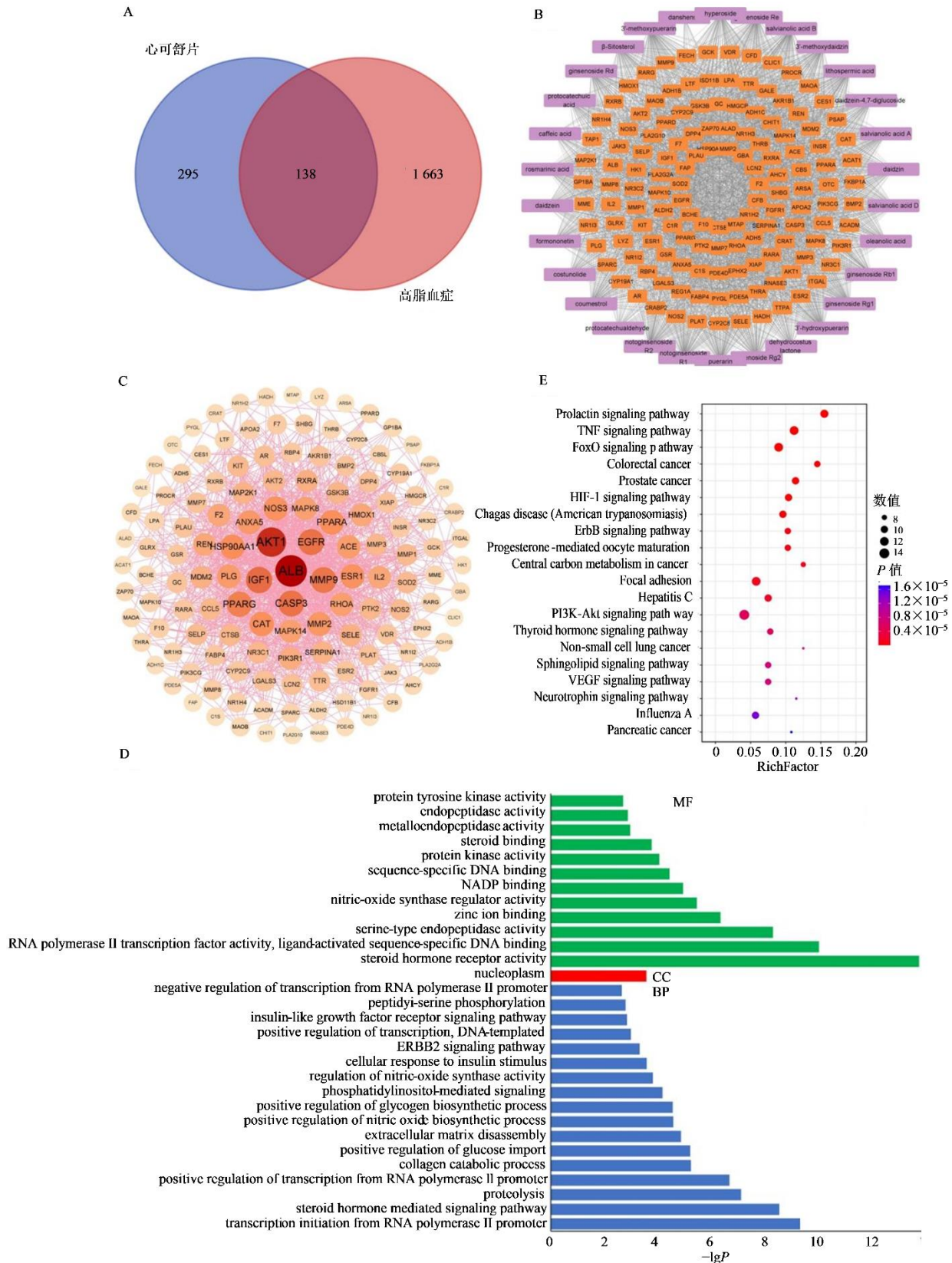
Table 3 Thirty potential absorbed compounds of Xinkeshu Tablets

中药	单体名称
丹参	丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸A、丹酚酸B、丹酚酸D、原儿茶醛、原儿茶酸
葛根	3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、大豆苷、大豆苷元、芒柄花素、3'-甲氧基大豆苷、考迈斯托醇、大豆苷元-4, 7-二葡萄糖苷
三七	三七皂苷R ₁ 、三七皂苷R ₂ 、人参皂苷Rg ₁ 、人参皂苷Rg ₂ 、人参皂苷Rb ₁ 、人参皂苷Rd、人参皂苷Re
木香	去氢木香内酯、木香内酯
山楂	金丝桃苷、齐墩果酸、β-谷甾醇

3.3.3 “中药-成分-靶点-疾病”网络构建与分子对接验证 利用心可舒中的主要活性成分及获取的疾病靶点，构建“中药-成分-靶点-疾病”网络图。如图 4-A 所示，图中共 173 个节点，2 821 条边，活性成分依据度值高低排序，居前 5 位的为人参皂苷 Rd、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rg₂、三七皂苷 R₁。居前 6 位的蛋白靶点为 Akt1、Akt2、半胱天冬酶 3 (CASP3)、MAPK14、PIK3R1、内皮细胞中 E 选择素 (SELE)。

依据度值排序，对潜在活性成分与关键靶点进行分子对接，如图 4-B 所示，各小分子-蛋白复合体的结合能均低于 $-20.92 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ，表明各小分子与对应靶点蛋白可稳定结合。具体结合模式如图 4-C 所示，在 Akt1 的活性口袋中，人参皂苷 Rd 与

Asp325、Asn324、Glu322 等残基形成常规氢键，与 Lys39 形成碳氢键，同时与 Ile36、Pro51、Tyr38 等疏水性残基产生疏水相互作用；人参皂苷 Re 靶向 PIK3R1 的活性口袋，与 Asp843、Asn803、Lys720 残基形成常规氢键，与 Lys672、Gly122 等残基形成碳氢键，并通过与 Val845、Ile713 等疏水性残基的疏水相互作用增强结合稳定性；人参皂苷 Rg₁ 嵌入 MAPK14 的活性口袋，与 Ile147、Arg149、Glu328 等残基形成常规氢键，与 Phe169 等疏水性残基形成烷基相互作用，同时与 Arg67 通过 π -烷基作用稳定复合体构象；人参皂苷 Rg₂ 结合于 PIK3R1 的活性口袋，与 Asp454、Arg348、Asn378 等残基形成常规氢键，与 Ser1015 形成碳氢键，同时 Pro366 等疏水性残基通过烷基相互作用向小分子聚集；此

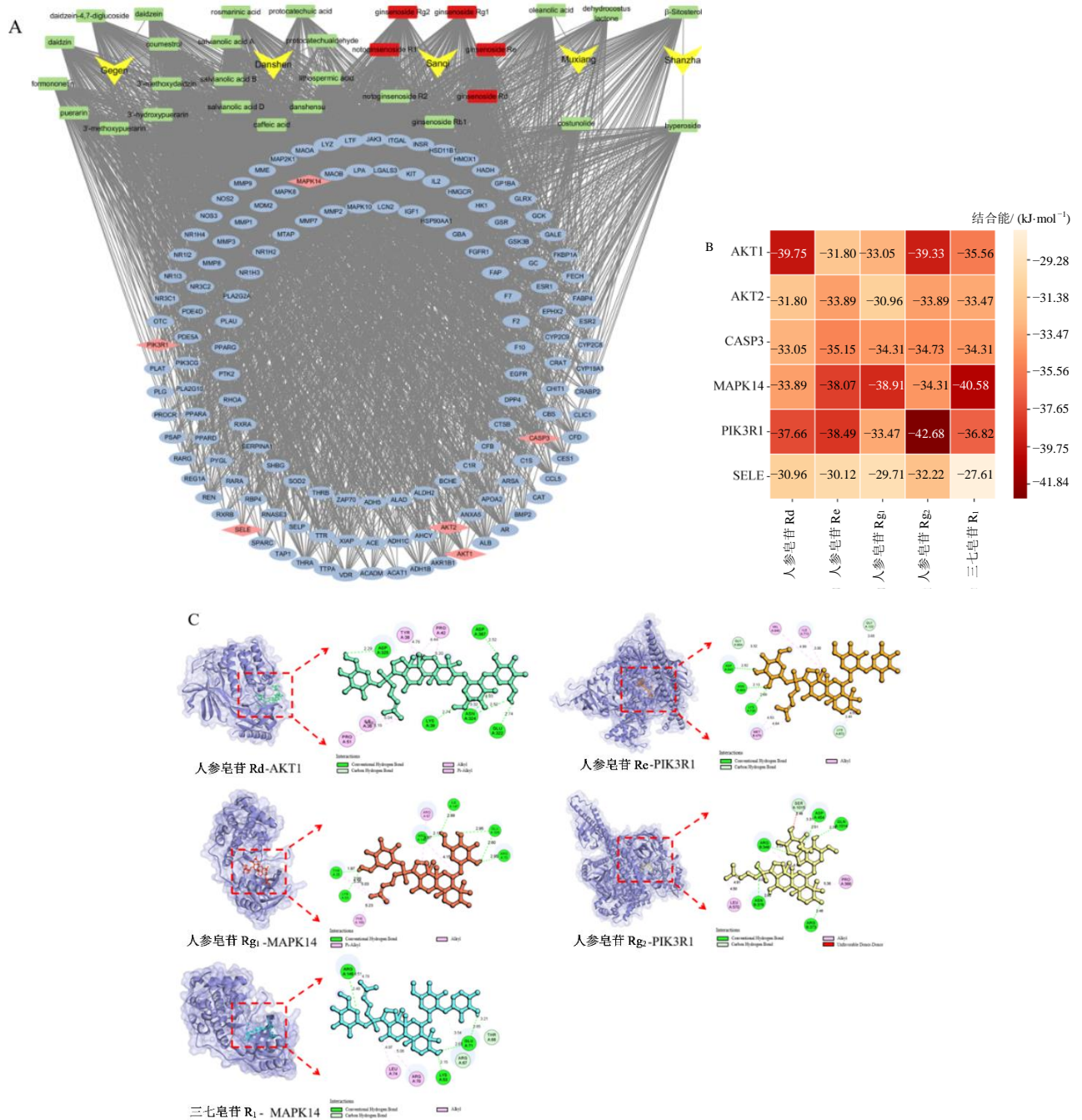


A- Venn 图; B-组分-靶点网络图; C-PPI 网络图; D-前 20 条 KEGG 通路; E-富集度前 30 的 GO 条目。

A-Venn diagram; B-component-target network; C-PPI network; D-Top 20 KEGG pathways; E-Top 30 most enriched GO items.

图 3 网络药理学分析结果

Fig. 3 Results of network pharmacology analysis



A-“中药-成分-靶点-疾病”网络图; B-小分子-蛋白复合体的结合能; C-分子对接 2D 图。

A-“traditional chinese medicine-ingredients-target-disease” network; B-binding energies of small molecule-protein complexes; C-molecular docking 2D diagram.

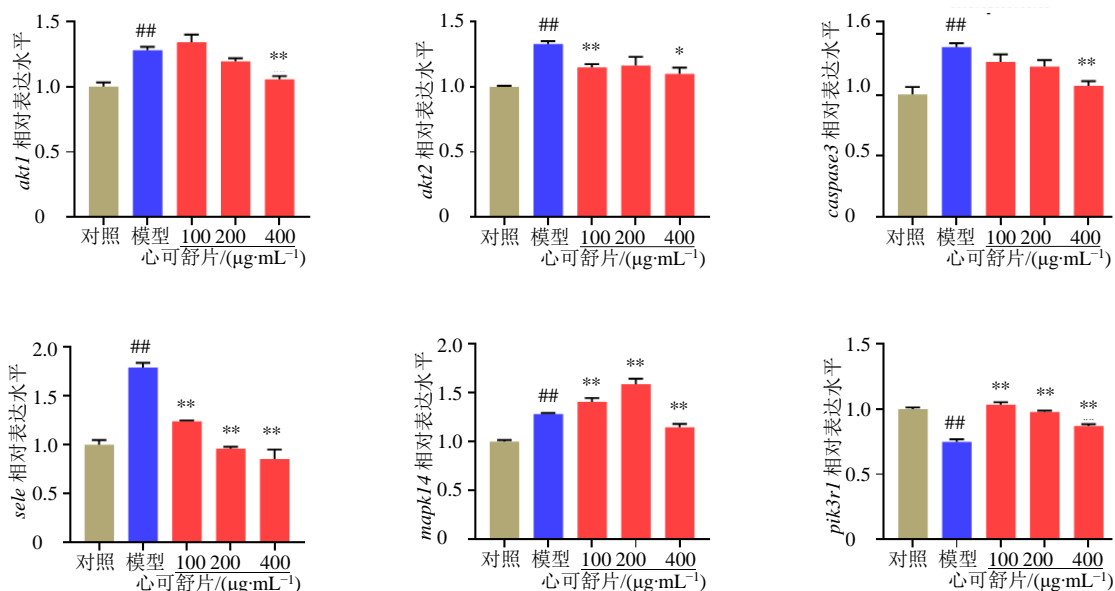
图 4 分子对接分析结果

Fig. 4 Results of molecular docking analysis

外,三七皂苷 R₁ 靶向 MAPK14 的活性口袋,与 Arg149、Lys53、Glu71 形成常规氢键,与 Thr68、Arg67 形成碳氢键,与 Leu74、Arg70 等疏水残基形成烷基相互作用。

3.3.4 网络药理学 qRT-PCR 验证结果 如图 5 所示,与对照组相比,模型组的 *akt1*、*akt2*、*caspase3*、

sele、*mapk14* 基因表达水平显著上调 ($P < 0.01$), *pik3r1* 基因表达水平显著下调 ($P < 0.01$); 与模型组比较,400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 心可舒片组 *akt1*、*akt2*、*caspase3*、*sele*、*mapk14* 基因表达水平显著下调 ($P < 0.05$ 、0.01); 心可舒片组 *pik3r1* 基因表达水平显著上调 ($P < 0.01$)。



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

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 5 TNF 信号通路的基因表达 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Gene expression of TNF signaling pathway ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.4 转录组学分析结果

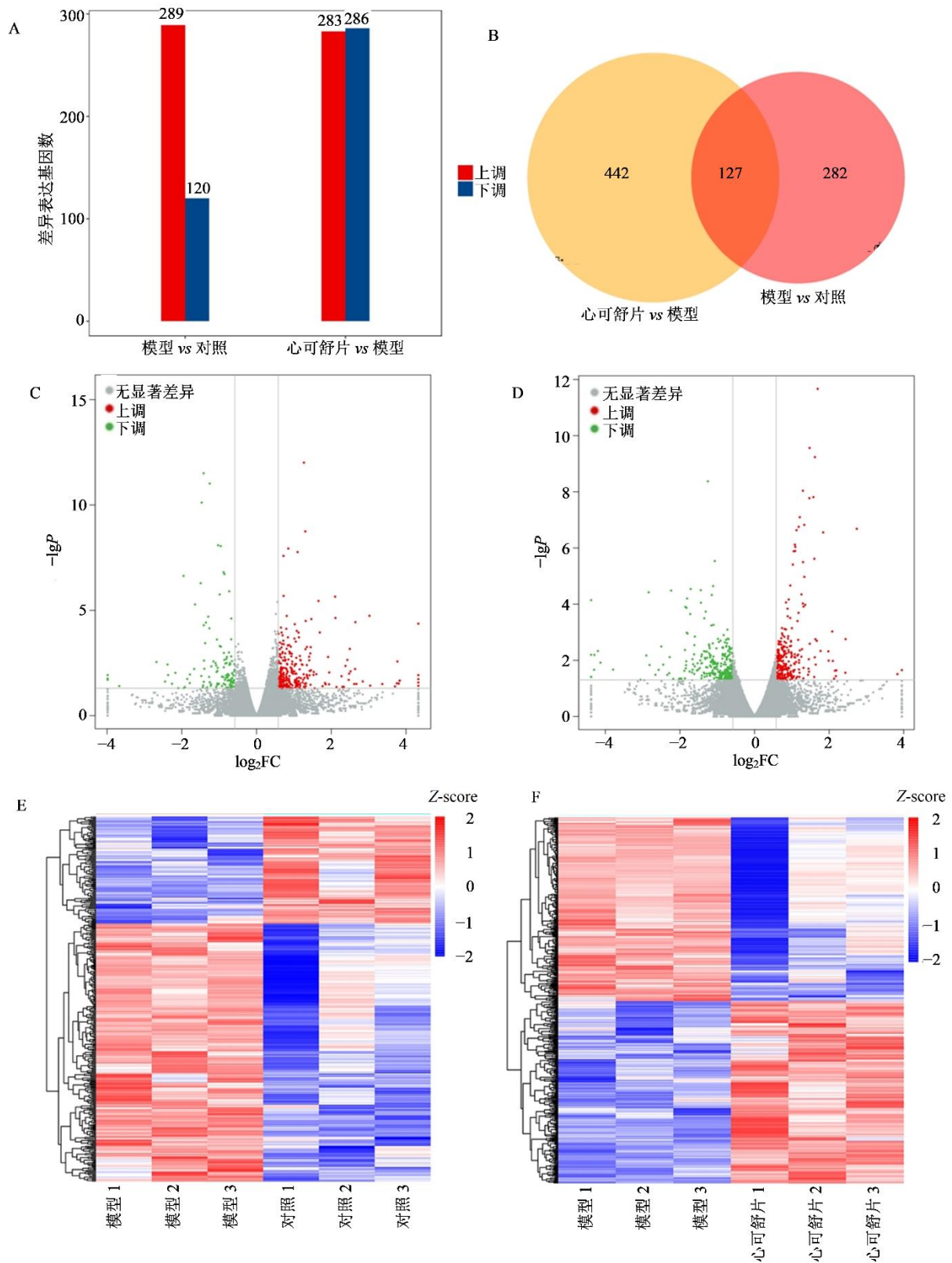
3.4.1 DEGs 筛选 筛选阈值参考斑马鱼转录组领域常用标准及本课题组前期研究确定, 同时结合相关文献方法, 保证筛选结果稳定、可靠、可重复。以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 0.58$ 为标准, 如图 6-A 所示, 对照组与模型组共筛选出 409 个差异基因, 其中上调基因 289 个、下调基因 120 个; 模型组与心痛舒片组共筛选出 569 个差异基因, 其中上调基因 283 个、下调基因 286 个。如图 6-B 所示, Venn 分析显示, 2 个比较组共存在 127 个共同 DEGs。如图 6-C、D 所示, 火山图显示 DEGs 的整体分布, 其中绿色点代表下调基因, 红色点代表上调基因, 灰色点代表无显著差异基因。如图 6-E、F 所示, 聚类分析结果显示 DEGs 的表达模式, 红色代表基因表达水平相对较高, 蓝色代表表达水平相对较低。

3.4.2 GO 富集分析 在模型 vs 对照中, 共获得 814 个 GO 条目, 前 30 个条目如图 7-A 所示, BP 包括补体激活、类固醇激素介导的信号通路、钾离子导入、跨膜转运等; CC 包括细胞外区域、细胞外空间、线粒体呼吸链复合物 IV、内质网膜整合组分等; MF 包括 DNA 结合转录因子活性、L-氨基酸跨膜转运体活性、ATP 激活内向整流钾通道活性、类固醇激素受体活性等。在心可舒片 vs 模型中, 共获得 1 005 个 GO 条目。如图 7-B 所示, 前 30 个条目分

别为: BP 包括细胞蛋白降解相关的蛋白水解、游泳行为、超氧化物代谢过程、胆固醇代谢过程等; CC 包括溶酶体、神经元胞体、顶端质膜等; MF 包括晶状体结构成分、半胱氨酸型内肽酶活性、半胱氨酸型肽酶活性、序列特异性 DNA 结合等。

3.4.3 KEGG 通路富集分析 在模型 vs 对照组中, 共富集到 82 条 KEGG 通路, 如图 8-A 所示, 前 20 条通路分别为: 单纯疱疹病毒感染、脂肪细胞因子信号通路、胰岛素信号通路、C 型凝集素受体信号通路、NOD 样受体信号通路、神经活性配体-受体相互作用、戊糖磷酸途径、吞噬体、类固醇激素生物合成、ABC 转运体等; 在心可舒片 vs 模型中, 共富集到 93 条通路。如图 8-B 所示, 前 20 条通路分别为: C 型凝集素受体信号通路、细胞黏附分子、神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、甘油磷脂代谢、嘌呤代谢、初级胆汁酸生物合成、戊糖磷酸途径、吞噬体、类固醇激素生物合成等。

3.4.4 转录组学 qRT-PCR 验证结果 如图 9 所示, 与对照组相比, 模型组的 *ncfl*、*noxola*、*gpr84*、*bcl3*、*ccl20a.3*、*serping1*、*flvcr2a*、*irf1b* 基因表达显著上调 ($P < 0.01$), 而心痛舒片处理组的上述基因表达显著低于模型组 ($P < 0.01$)。模型组的 *zgc: 92275*、*crx* 基因表达显著低于对照组 ($P < 0.01$), 心痛舒片处理组的上述基因表达显著高于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

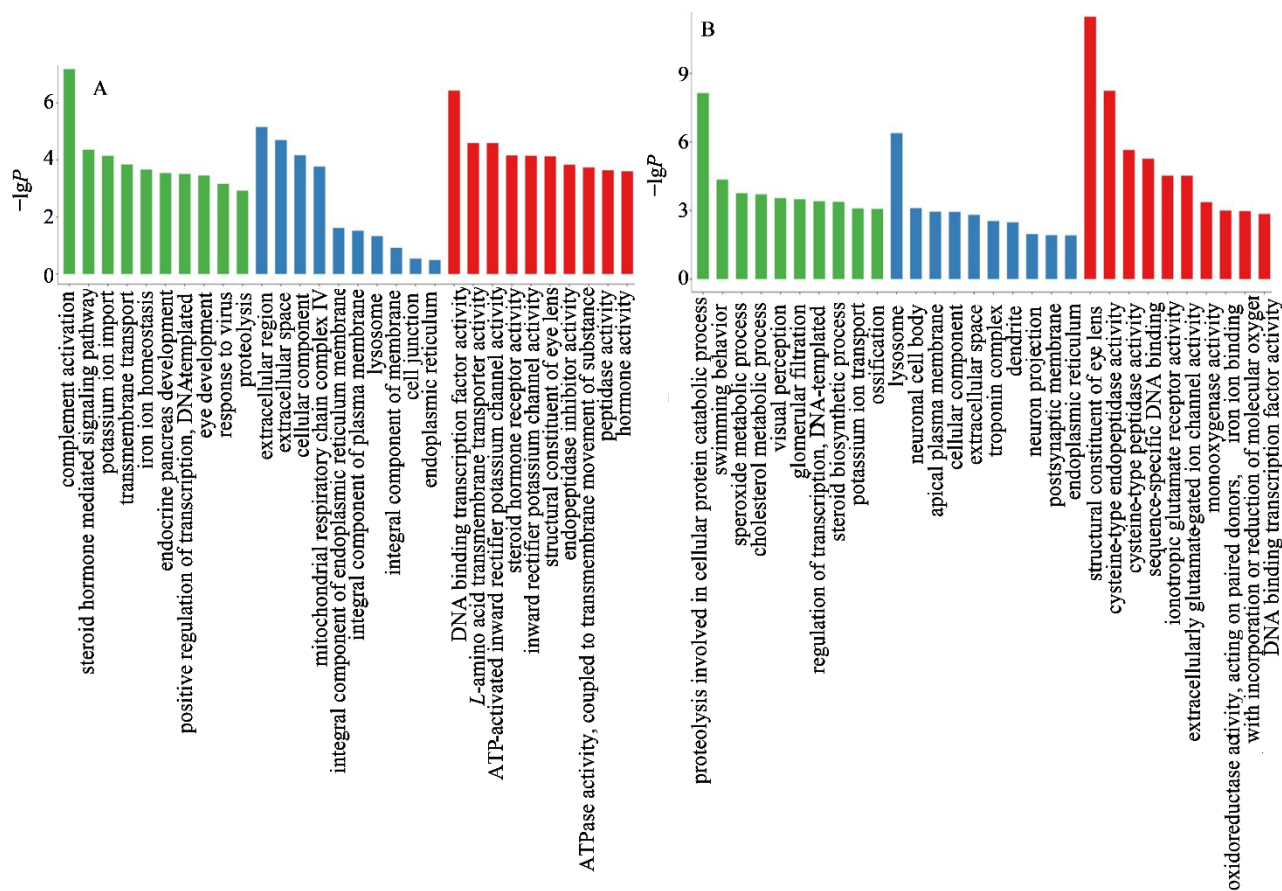


A-DEGs 直方图; B-Venn 图; C、D-模型 vs 对照、心可舒片 vs 模型的 DEGs 火山图; E、F-DEGs 聚类树状图。

A-Histogram of DEGs; B-Venn diagram of DEGs; C, D- Volcano plot of DEGs comparing model vs control, and Xinkeshu Tablet vs model; E, F-Cluster dendrograms of DEGs.

图 6 DEGs 表达图

Fig. 6 DEGs expression patterns



A-模型 vs 对照中的前 30 个 GO 条目；B-心可舒片 vs 模型中的前 30 个 GO 条目。
A-Top 30 GO term in model vs control; B-Top 30 GO term in Xinkeshu Tablets vs model.

图 7 GO 分析
Fig. 7 GO analysis

4 讨论

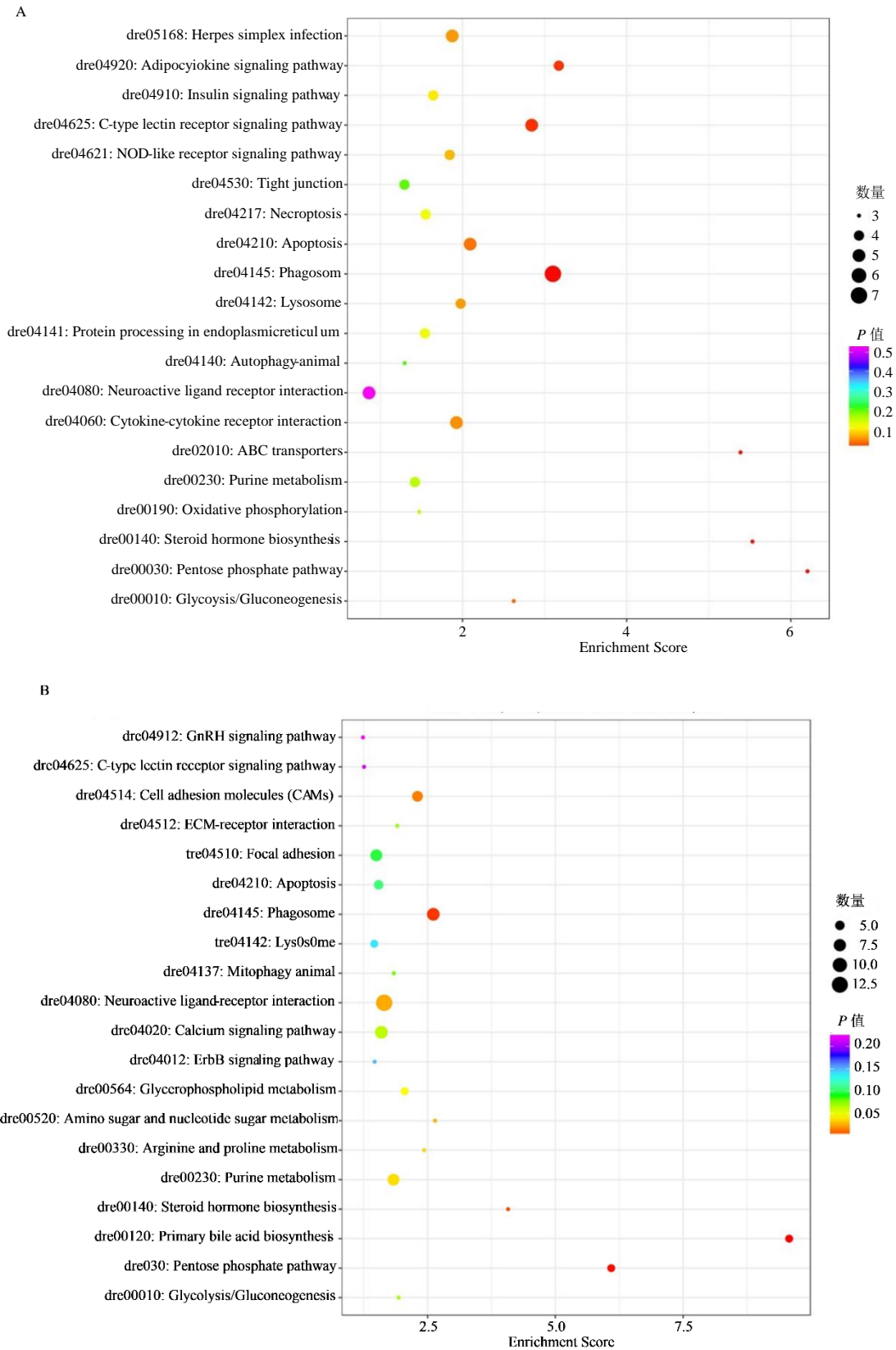
高脂血症可直接诱发动脉粥样硬化、冠心病、脂肪肝等严重疾病，对人类健康构成重大威胁^[13]。心可舒片临床广泛用于治疗气滞血瘀型冠心病，具有明确的调脂活性，但其调血脂机制仍不清楚。本研究利用斑马鱼模型评价心可舒片缓解高脂血症活性，并结合网络药理学、转录组学、分子对接和 qRT-PCR 等技术探究其潜在作用机制。

本研究通过喂食蛋黄粉建立斑马鱼高脂血症模型，油红 O 染色强度显著升高表明斑马鱼体内脂质蓄积增加；而心可舒片处理组的染色强度显著降低，与预期一致。TC、TG、LDL-C 是评价高脂血症的常用指标，本研究发现模型组的 TC、TG、LDL-C 显著高于对照组，心可舒片处理后上述指标显著降低。且该调脂效应呈剂量相关性，100、200、400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度组对脂质蓄积的抑制作用逐步增强。HDL-C 也是重要的血脂检测指标，

但由于斑马鱼体内 HDL-C 含量很低，难以准确检测其含量。上述研究结果表明心可舒片具有良好的调脂活性，与临床效果一致。

血脂异常与氧化应激损伤是动脉粥样硬化的重要病理因素，且二者常伴随存在^[16]。脂质代谢紊乱时，机体产生自由基，打破氧化代谢动态平衡，增强脂质过氧化反应，生成 MDA 等大量脂质过氧化物。SOD 是一种抗氧化酶，可有效清除体内超氧阴离子自由基，减轻脂质过氧化损伤，保护细胞免受氧化应激破坏。高脂血症可能降低 SOD 活性、升高 MDA 含量，导致氧化还原稳态失衡，促进动脉粥样硬化发生^[17]。本研究结果表明，心可舒片可呈剂量相关性提高 T-SOD 活性，降低 MDA 含量，表明其可减轻高脂血症引起的氧化应激反应，保护机体免受氧化损伤。

网络药理学是探讨中药多成分、多靶点药效机制的有力工具。综合采用网络药理学、转录组学、



A-模型 vs 对照中 KEGG 富集前 20 条通路；B-心可舒片 vs 模型中 KEGG 富集前 20 条通路。

A-Top 20 pathways of KEGG enrichment of model vs control; B-Top 20 pathways of KEGG enrichment of Xinkeshu Tablets vs model.

图 8 KEGG 通路分析

Fig. 8 KEGG pathway analysis

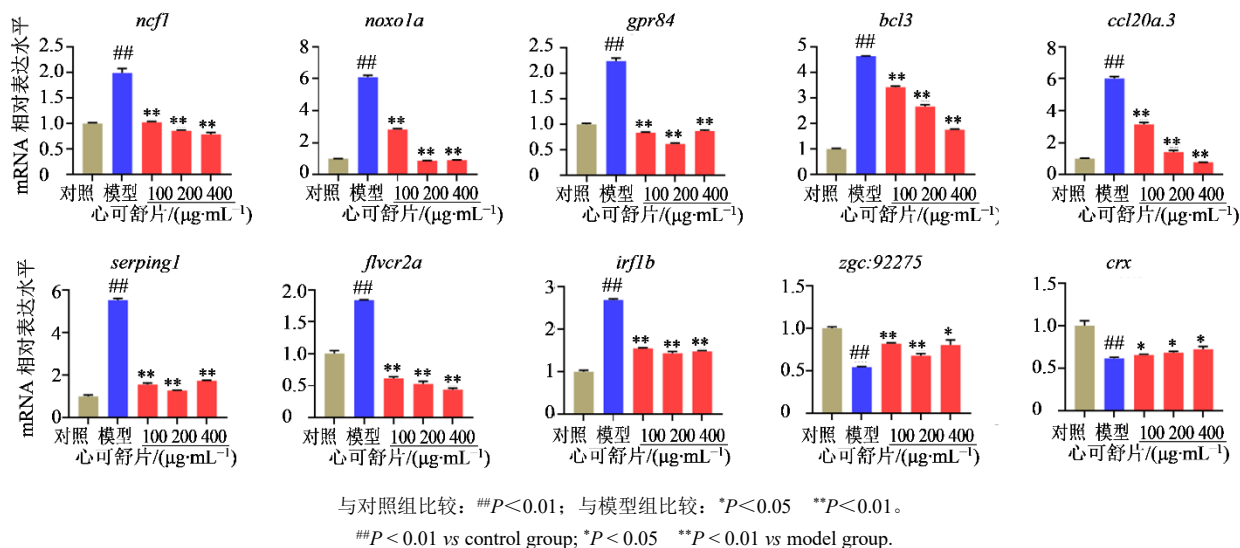


图 9 通过 qRT-PCR 测定 DEGs 的相对表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 9 Relative expression levels of DEGs measured by qRT-PCR ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分子对接和 qRT-PCR 等技术初步开展了心可舒片降血脂作用机制研究。网络药理学研究结果显示丹酚酸 B、3'-甲氧基葛根素、人参皂苷 Re、丹酚酸 A 等是心可舒片的主要潜在调脂活性成分，且以上成分调脂作用已有文献报道^[18-19]，但人参皂苷 Rd 等成分的调脂作用尚未见文献报道，可作为后续研究方向。分子对接结果显示，心可舒片核心活性成分为人参皂苷 Rd、Re、Rg₁、Rg₂ 及三七皂苷 R₁，且各成分与 Akt1、PIK3R1、MAPK14 等关键靶点的结合能均低于 $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，该结合特性的药效意义尚未充分说明。各活性成分与靶点的结合并非单一的氢键作用，而是通过“氢键+碳氢键+疏水相互作用/烷基相互作用”的多重结合模式，如人参皂苷 Rd 与 Akt1 蛋白的 Asp325、Lys39 等残基形成多重键合，可稳定靶点蛋白的活性口袋构象，抑制 Akt1 的异常激活。这种多重键合模式使心可舒片的活性成分能高效、特异地作用于核心靶点，且不同成分靶向不同靶点形成“成分簇-靶点簇”的协同作用，契合中药“多成分、多靶点、多途径”的作用特点，这可能是心可舒片发挥稳定调脂效应的物质基础。基于网络药理学的潜在靶点研究结果显示，ALB、Akt1、IGF1、EGFR、CASP3、MMP9 是心可舒片缓解高脂血症的关键靶点，且参与 TNF、PI3K-Akt、FoxO 等信号通路。TNF 是一种重要的促炎细胞因子，可诱导凋亡、炎症、免疫等信号通路^[20]；转录组学分析结果也显示，心可舒片处理后可直接影响与 TNF 介导的凋亡通路。TNF- α 等细胞因子可

促进脂肪分解，升高血液游离脂肪酸水平；脂肪组织扩张可引发炎症反应，进而导致胰岛素抵抗、血脂异常、2 型糖尿病等代谢紊乱^[21]。脂质紊乱与炎症过程密切相关，许多心血管疾病治疗药物均与 TNF- α 相关，例如葛根中的葛根素具有舒张血管、抗炎、抗氧化、心脏保护、改善胰岛素抵抗等多种药理作用，可通过抑制细胞外信号调节激酶 (ERK) 磷酸化、TNF- α 和一氧化氮合酶表达及 TNF- α 、一氧化氮释放发挥抗炎作用^[22]。

网络药理学与转录组学富集结果具有高度相关性。网络药理学从多成分、多靶点层面预测，发现 TNF 与 PI3K-Akt 是心可舒片降血脂的核心上游信号通路；转录组学于转录层面探究，富集到的戊糖磷酸途径、吞噬体通路、炎症与糖脂代谢通路均为 PI3K-Akt 的下游效应通路。通过网络药理学与转录组学联合分析，发现心可舒片可通过调控上游 TNF/PI3K-Akt 等信号通路，进一步影响下游炎症、糖脂代谢及吞噬功能等，从而发挥降血脂作用。

高脂血症并非单纯的脂质代谢异常，其与炎症反应的病理关联是推动血管损伤及代谢紊乱进展的核心环节。大量研究证实，高脂环境下过量蓄积的脂质会激活巨噬细胞、血管内皮细胞等免疫细胞，触发促炎因子网络的级联激活——通过上调 TNF- α 、IL-6 等炎症介质的释放，加剧血管内皮损伤、促进动脉粥样硬化斑块形成与不稳定^[23]。同时，炎症因子还可通过干扰脂质代谢关键酶的活性、抑

制脂质转运蛋白的表达,进一步加重血脂蓄积,形成脂质紊乱-炎症激活的正反馈环路。这一病理过程中,TNF 和 PI3K-Akt 信号通路扮演着关键调控角色^[24]。TNF 通路的异常激活可直接诱导血管内皮细胞凋亡、促进炎症细胞浸润。PI3K-Akt 信号通路参与葡萄糖代谢、脂质代谢、蛋白质代谢及炎症调节。网络药理学通路富集分析表明,PI3K-Akt 信号通路可能是心可舒片发挥作用的重要通路;同时,转录组学 KEGG 分析显示,心可舒片可影响与 PI3K-Akt 直接相关的黏附斑、*erbB* 信号通路、糖酵解/糖异生通路等多种通路。激活 PI3K-Akt 信号通路可显著降低血清 FFA、TC、TG 水平,并抑制 TNF- α 、IL-6 等促炎因子的分泌^[25-27]。Akt 是 PI3K 的下游靶分子,脂肪细胞中 Akt 亚型包括 Akt1 和 Akt2^[28];抑制 Akt 信号可增强体内抗炎效果,缓解代谢综合征^[29]。研究表明,与正常饮食相比,高脂饮食可显著上调小鼠 Akt1、Akt2 表达^[11,29]。Caspase-3 是与线粒体凋亡相关的内源性蛋白,是凋亡过程中最重要的执行因子^[30]。高胆固醇血症可加重大鼠氧化损伤,且 TNF- α 等炎症介质可调节促凋亡因子 Caspase-3 水平,使其显著升高^[31-32]。SELE 上调可能促进肥大细胞产生 TNF- α 、IL-6、组胺等炎症因子,进而引发血管炎和内皮功能障碍^[33-34];在急性心肌梗死、冠心病、外周动脉成形术后再狭窄、稳定型及不稳定型心绞痛患者中均观察到 SELE 水平升高^[35]。本实验中,qRT-PCR 结果显示,模型组 *akt1*、*akt2*、*caspase3*、*sele* 表达显著高于对照组,表明高脂饮食可增加斑马鱼炎症反应和脂质代谢异常;而心可舒片可显著下调上述基因表达,提示其可能通过作用于这些关键靶点减轻高脂血症诱发的斑马鱼炎症反应,并调节脂质代谢。

PI3K p85 α 调节 *pik3r1* 基因表达,该基因编码 PIK3R1 蛋白;抑制 PIK3R1 可增加胰岛素抵抗、促进血栓形成,并升高血糖和血脂水平^[36-37]。本实验中,模型组 *pik3r1* 表达显著低于对照组,提示胰岛素抵抗增强、脂质代谢异常;而心可舒片组 *pik3r1* 表达显著高于模型组,表明 PIK3R1 可能是心可舒片改善高脂血症斑马鱼脂质代谢异常的关键靶点。MAPK14 是 MAPK 信号通路的组成部分,可被细胞因子、生长因子、氧化应激等多种刺激激活,参与细胞增殖、分化、自噬等过程^[38-39]。在动脉粥样硬化大鼠中,由于 C-LDL 进一步氧化成氧化型低密度脂蛋白从而激活 MAPK14,使其表达水平增

加。本实验中,高脂血症斑马鱼的 LDL-C 水平高于对照组,LDL 氧化为 Ox-LDL 后上调 *mapk14* 表达;而 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 心可舒片可显著下调高脂血症斑马鱼的 *mapk14* 表达。

戊糖磷酸途径 (PPP) 是一种葡萄糖氧化分解途径,可产生烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH),作为脂肪酸、胆固醇、核苷酸、神经递质等生物合成途径的还原剂^[40],尤其在脂肪组织中活性较高。在肝脏、脂肪组织等代谢活跃器官中,胆固醇和/或脂肪酸代谢对 NADPH 的需求可调节 PPP 活性^[41]。由转录组结果可知,模型组 *h6pd*、*kttb* 基因表达高于对照组。*h6pd* 参与 PPP,是碳水化合物降解的一部分,与 6-磷酸葡萄糖酸内酯酶活性、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性、NADP 结合相关,且参与葡萄糖代谢和戊糖磷酸分流过程;*kttb* 参与金属离子结合、硫胺素焦磷酸结合及转酮酶活性。心可舒片处理组的 *h6pd*、*kttb* 表达显著高于高脂血症斑马鱼,提示 *h6pd*、*kttb* 可能是心可舒片调节斑马鱼 PPP、发挥调脂作用的关键靶点。PPP 产生的 3-磷酸甘油醛和 6-磷酸果糖可重新进入糖酵解/糖异生途径进行代谢。此外,PPP 可间接促进嘌呤代谢信号通路,Wan 等证实高脂饮食可诱导嘌呤降解^[42]。在高脂饮食斑马鱼中,PPP、糖酵解通路、嘌呤代谢信号通路均发生调节,心可舒片可能通过调节这 3 条通路发挥调脂作用。

高胆固醇血症小鼠的全身性代谢变化可改变巨噬细胞代谢,减轻炎症反应^[43]。吞噬细胞表面受体与配体特异性结合形成吞噬体,吞噬体与溶酶体融合后释放毒性物质,以杀灭细菌或减轻炎症反应^[44]。高脂血症斑马鱼的 *ncfl* 基因表达上调,而心可舒片可逆转这一趋势。*ctss2.1* 与半胱氨酸型内肽酶活性相关,参与免疫反应及细胞蛋白降解相关的蛋白水解;*ncfl* 参与吞噬细胞中活性氧 (ROS) 和活性氮 (RNS) 的产生、颗粒外源性抗原的交叉呈递、ROS 解毒、VEGFA-VEGFR2 通路及激活 NADPH 氧化酶的 RHO GTP 酶。Chan 等发现,高脂饮食诱导的高脂蛋白反应负鼠中,游离胆固醇和缺乏磷脂的胆汁引起的肝损伤会引发炎症反应和氧化应激,导致 TNF、NFKB1、COX2、CYBA、NCF1 表达上调^[45]。上述结果表明 *ctss2.1*、*ncfl* 可能是心可舒片通过调节吞噬体发挥斑马鱼调脂作用的关键靶点。此外,高脂饮食可激活斑马鱼的 C 型凝集素受体信号通路,下调 *bcl3*、*irflb* 的表达;随着心可舒片浓度升

高, 这 2 个基因的表达逐渐降低。

本研究基于 OB 值与 DL 值预测和文献报道筛选得到 30 种心可舒片潜在入血成分, 后续将采用 UPLC MS/MS 开展大小鼠入血成分验证, 进一步明确药效物质基础。另外本研究目前已完成 qRT-PCR 基因水平验证, 由于目前商业化斑马鱼特异性抗体稀缺, 其他反应种属抗体假阳性概率较高, 本研究暂未完成蛋白水平验证, 未来拟于哺乳动物和细胞模型开展蛋白水平的表达验证, 进一步确证作用机制。

本研究发现心可舒片可缓解高脂饮食诱导的斑马鱼高脂血症, 降低 TC、TG、LDL-C 水平, 并升高 T-SOD 活性, 降低 MDA 含量, 作用机制与 TNF、PI3K-Akt 信号通路及其调控的炎症和代谢途径密切相关。本研究为心可舒片临床合理用药提供证据, 也为心可舒片的二次开发提供技术支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Tietge U J F. Hyperlipidemia and cardiovascular disease: Inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2014, 25(1): 94-95.
- [2] Brunham L R, Lonn E, Mehta S R. Dyslipidemia and the current state of cardiovascular disease: Epidemiology, risk factors, and effect of lipid lowering [J]. *Can J Cardiol*, 2024, 40(8): S4-S12.
- [3] Liu Q, Zhang H Z, An Y, et al. Xinkeshu tablets promote angiogenesis in zebrafish embryos and human umbilical vein endothelial cells through multiple signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116636.
- [4] Baardman J, Verberk S G S, Prange K H M, et al. A defective pentose phosphate pathway reduces inflammatory macrophage responses during hypercholesterolemia [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(8): 2044-2052.e5.
- [5] Wang Q, Du L J, Hong J N, et al. Molecular mechanism underlying the hypolipidemic effect of Shanmei Capsule based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Technol Health Care*, 2021, 29: 239-256.
- [6] Yuan G Z, Shi S, Jia Q L, et al. Use of network pharmacology to explore the mechanism of Gegen (*puerariae lobatae Radix*) in the treatment of type 2 diabetes mellitus associated with hyperlipidemia [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2021, 2021: 6633402.
- [7] 刘桂芳, 魏新侠. 心可舒对 CHD 伴焦虑抑郁患者心理状态、血脂、血压, 睡眠及不良心血管事件的影响 [J]. *贵州医药*, 2025, 49(3): 376-378.
- [8] 马玉琴, 刘祥欢, 张硕, 等. 心可舒临床研究进展 [J]. *中国药物警戒*, 2025, 22(11): 1310-1314.
- [9] 许静琳, 王华, 姚昉. 心可舒片基于态靶-血浊辨证理论辨治冠心病的临床应用 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2024, 22(15): 2774-2777.
- [10] Xu J L, Wang H, Yao F. Clinical application of Xinkeshu Tablet in treating coronary heart disease based on syndrome differentiation theory of state target and blood turbidity [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2024, 22(15): 2774-2777.
- [11] Peng J B, Jia H M, Liu Y T, et al. Qualitative and quantitative characterization of chemical constituents in Xin-Ke-Shu preparations by liquid chromatography coupled with a LTQ Orbitrap mass spectrometer [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55(5): 984-995.
- [12] Chen M T, Liu M N, Guo X, et al. Effects of Xinkeshu Tablets on coronary heart disease patients combined with anxiety and depression symptoms after percutaneous coronary intervention: A meta-analysis [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154243.
- [13] Ka J, Pak B, Han O, et al. Comparison of transcriptomic changes between zebrafish and mice upon high fat diet reveals evolutionary convergence in lipid metabolism [J]. *Bi-ochem Biophys Res Commun*, 2020, 530(4): 638-643.
- [14] Huang X Q, Agrawal I, Li Z, et al. *Transcriptomic Analyses In Zebrafish Cancer Models For Global Gene Expression And Pathway Discovery* [M]//Cancer and Zebrafish. Cham: Springer International Publishing, 2016: 147-168.
- [15] Pardo-Palacios F J, Wang D J, Reese F, et al. Systematic assessment of long-read RNA-seq methods for transcript identification and quantification [J]. *Nat Meth*, 2024, 21(7): 1349-1363.
- [16] Zhou J, Xu Y Q, Guo S Y, et al. Rapid analysis of hypolipidemic drugs in a live zebrafish assay [J]. *J Pharmacol Toxicol Meth*, 2015, 72: 47-52.
- [17] Hasheminasabgorji E, Jha J C. Dyslipidemia, diabetes and atherosclerosis: Role of in-flammation and ROS-redox-sensitive factors [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(11): 1602.

- [17] Vekic J, Stromsnes K, Mazzalai S, et al. Oxidative stress, atherogenic dyslipidemia, and cardiovascular risk [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(11): 2897.
- [18] Meng X Y, Chen Y, Zhao B X, et al. Salvianolic acid B attenuates hypercholesterolemia via modulating the gut microbiota and bile acid metabolism [J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 999: 177701.
- [19] Chung S. Ginsenoside Re lowers blood glucose and lipid levels via activation of AMP-activated protein kinase in HepG2 cells and high-fat diet fed mice [J]. *Int J Mol Med*, 2011: 73-80.
- [20] van Loo G, Bertrand M J M. Death by TNF: A road to inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(5): 289-303.
- [21] Wang Q, Du L J, Hong J N, et al. Molecular mechanism underlying the hypolipidemic effect of Shanmei Capsule based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Technol Health Care*, 2021, 29: 239-256.
- [22] Yuan G Z, Shi S, Jia Q L, et al. Use of network pharmacology to explore the mechanism of Gegen (*Puerariae Lobatae Radix*) in the treatment of type 2 diabetes mellitus associated with hyperlipidemia [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2021, 2021: 6633402.
- [23] 黄菊, 王梦玲, 周子玥, 等. 基于脂质组学探讨鳖甲煎丸治疗非酒精性脂肪性肝炎的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(10): 2557-2565.
- Huang J, Wang M L, Zhou Z Y, et al. Mechanism of Biejiajian Pills against non-alcoholic steatohepatitis based on lipidomics [J]. *China J Chin Mater Med*, 2024, 49(10): 2557-2565.
- [24] Yang B J, Xu J H, Dao X Y, et al. Aerobic exercise and PI3K inhibitor ameliorate obesity cardiomyopathy by alleviating pyroptosis in middle-aged mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(10): 4935.
- [25] Meng X Y, Chen Y, Zhao B X, et al. Salvianolic acid B attenuates hypercholesterolemia via modulating the gut microbiota and bile acid metabolism [J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 999: 177701.
- [26] Liu Y H, Qiu Y, Chen Q G, et al. Puerarin suppresses the hepatic gluconeogenesis via activation of PI3K/Akt signaling pathway in diabetic rats and HepG2 cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111325.
- [27] Wu Y C, Yan Q, Yue S Q, et al. NUP85 alleviates lipid metabolism and inflammation by regulating PI3K/Akt signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(6): 2219-2235.
- [28] Acosta-Martinez M, Cabail M Z. The PI3K/Akt pathway in meta-inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15330.
- [29] Liu Z J, Gan L, Liu G N, et al. Sirt1 decreased adipose inflammation by interacting with Akt2 and inhibiting mTOR/S6K1 pathway in mice [J]. *J Lipid Res*, 2016, 57(8): 1373-1381.
- [30] Dho S H, Cho M, Woo W, et al. Caspases as master regulators of programmed cell death: Apoptosis, pyroptosis and beyond [J]. *Exp Mol Med*, 2025, 57(6): 1121-1132.
- [31] AlSaad A M, Mohany M, Almalki M S, et al. Baicalein neutralizes hypercholesterolemia-induced aggravation of oxidative injury in rats [J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(9): 1156-1166.
- [32] Gong W H. Coexistence of hyperlipidemia and acute cerebral ischemia/reperfusion induces severe liver damage in a rat model [J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(35): 4934.
- [33] Ong E S, Oh C L Y, Tan J C W, et al. Pressurized hot water extraction of okra seeds reveals antioxidant, antidiabetic and vasoprotective activities [J]. *Plants*, 2021, 10(8): 1645.
- [34] Wang H, Xu Y C, Jin M S, et al. SELE downregulation suppresses mast cell accumulation to protect against inflammatory response in chronic idiopathic urticaria [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2021, 182(2): 83-93.
- [35] Wang X Y, Zhang J X, Du X B, et al. Association of A561C and G98T polymorphisms in E-selectin gene with coronary artery disease: A Meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79301.
- [36] Jin Y D, Xie Z R, Li S S, et al. Combined lipidomics and network pharmacology study of protective effects of *Salvia miltiorrhiza* against blood stasis syndrome [J]. *Evid Based Comp Altern Med*, 2021, 2021: 5526778.
- [37] Zhou Q B, Chen Y, Zhang Y, et al. Hypermethylation effects of yiqihuoxue decoction in diabetic atherosclerosis using genome-wide DNA methylation analyses [J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 163-176.
- [38] Joseph S, Zhang X Y, Droby G N, et al. MAPK14/p38 α shapes the molecular landscape of endometrial cancer and promotes tumorigenic characteristics [J]. *Cell Rep*, 2025, 44(1): 115104.
- [39] Wu S Y, Huang X, Liao P H. Potential diagnostic biomarkers and Mapk14 protein expression: Autophagy-related genes linking immune infiltration in acute respiratory distress syndrome [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 279: 135077.
- [40] Guan D X, Men Y Q, Bartlett A, et al. Central inhibition of HDAC6 re-sensitizes leptin signaling during obesity to induce profound weight loss [J]. *Cell Metab*, 2024, 36(4):

- 857-876.e10.
- [41] Gupte S A. Targeting the pentose phosphate pathway in syndrome X-related cardi-ovascular complications [J]. Drug Dev Res, 2010, 71(3): 161-167.
- [42] Wan W T, Jiang B P, Sun L, et al. Metabolomics reveals that vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) prevents high-fat-diet-induced metabolism disorder by improving glucose homeostasis in rats [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182830.
- [43] Beardman J, Verberk S G S, Prange K H M, et al. A defective pentose phosphate pathway reduces inflammatory macrophage responses during hypercholesterolemia [J]. Cell Rep, 2018, 25(8): 2044-2052.e5.
- [44] Cheng D, Morsch M, Shami G J, et al. Observation and characterisation of macrophages in zebrafish liver [J]. Micron, 2020, 132: 102851.
- [45] Chan J, Sharkey F E, Kushwaha R S, et al. Steatohepatitis in laboratory opossums exhibiting a high lipemic response to dietary cholesterol and fat [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 303(1): G12-G19.

[责任编辑 兰新新]