

基于网络药理学和实验验证探讨沙棘治疗代谢相关脂肪性肝病的作用机制

曹寒晶¹, 王煦焱¹, 高 腾¹, 贺晶晶¹, 杜苗苗¹, 张高艺¹, 刘继平², 王 斌², 王 川^{1,2*}

1. 陕西中医药大学 药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省中医药管理局中药药效机制与物质基础重点实验室/中医药脑健康产业陕西省高校工程研究中心, 陕西 咸阳 712046

摘要: **目的** 通过网络药理学、分子对接及动物实验探讨沙棘对肝脏脂质蓄积的作用机制。**方法** 中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP)、Swiss Target Prediction 数据库筛选沙棘的活性成分和靶点, Gene Cards 及 OMIM 数据库获取代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 相关疾病靶点, Cytoscape 构建“药物-成分-靶点”网络。蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析识别关键靶点, 对核心靶点进行基因本体 (GO) 注释及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 将主要成分和靶点进行分子对接。24 只 ApoE^{-/-}小鼠分为对照组、模型组和沙棘低、高剂量 (100、200 mg·kg⁻¹) 组。对照组饲喂普通饲料, 其他组饲喂高脂饲料 16 周, 沙棘组 ig 给药 16 周。检测小鼠血脂水平, 苏木精-伊红 (HE) 染色检测肝脏病理形态, 油红 O 染色检测肝脏脂质蓄积, 测定肝脏脂质总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG) 水平, 蛋白质印迹法 (Western blotting) 检测过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、沉默调节蛋白 1 (SIRT1)、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 相关蛋白表达。**结果** 筛选沙棘活性成分 33 种, 作用靶点 345 个, MAFLD 相关靶点 1832 个, 共同靶点 120 个, 核心靶点为雌激素受体 1 (ESR1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (AKT1)、PPARG、SIRT1 等, 主要通过调控 PI3K-Akt 信号通路等, 分子对接表明主要成分与关键靶点结合活性良好。动物实验结果表明, 沙棘可降低 TC、TG 及低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平, 升高高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平, 减少肝脏脂肪变性及脂质蓄积, 降低肝脏 TC、TG 水平, 升高 PPAR γ 、SIRT1 及 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达。**结论** 沙棘调节血脂, 减少肝脏脂质蓄积, 其机制可能与激活 PPAR γ /SIRT1 和 PI3K/Akt 信号通路相关。

关键词: 沙棘; 代谢相关脂肪性肝病; 网络药理学; 分子对接; 血脂

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)08-2154-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.08.010

Exploration on mechanism of *Hippophae Fructus* in treatment of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease based on network pharmacology and experimental validation

CAO Hanjing¹, WANG Xuyan¹, GAO Teng¹, HE Jingjing¹, DU Miaomiao¹, ZHANG Gaoyi¹, LIU Jiping², WANG Bin², WANG Chuan^{1,2}

1. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Key Research Laboratory of Pharmacodynamic Mechanism and Material Basis of Chinese Medicine, Shaanxi Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine/Engineering Research Center of Chinese Medicine Brain Health Industry of Shaanxi Province Universities and Colleges, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of *Hippophae Fructus* on metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) through network pharmacology, molecular docking and animal experiments. **Methods** The active components and targets of *Hippophae Fructus* were screened by TCMSPS and Swiss Target Prediction databases, and the disease targets related to MAFLD were obtained from Gene Cards and OMIM databases. The "drug-component-target" network was constructed by Cytoscape. The key targets were identified by PPI network analysis, and GO and KEGG pathway enrichment analysis were performed on the core targets. Molecular docking was conducted on the main components and targets. Total of 24 ApoE^{-/-} mice were divided into control group,

收稿日期: 2025-03-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82374077); 陕西省中医药科研创新人才项目 (TZKN-CXRC-02); 咸阳市科技创新人才项目 (L2024-CXNL-KJRCTD-KJRC-0003); 秦创原中医药产业创新聚集区项目 (L2024-QCY-ZYYJJQ-X45); 大学生创新创业训练计划项目 (202310716075)

作者简介: 曹寒晶, 女, 本科生, 研究方向为中药药理学。E-mail: 3164865595@qq.com

***通信作者:** 王 川, 男, 博士, 研究方向为中药防治心血管病。E-mail: wangchuan@sntcm.edu.cn

model group, low- and high-dose (100 and 200 mg·kg⁻¹) *Hippophae Fructus* group. The control group was fed with normal diet, and the other groups were fed with high-fat diet for 16 weeks. The *Hippophae Fructus* groups were given intragastric administration for 16 weeks. The blood lipid levels of mice were detected, and the liver pathological morphology was detected by HE staining. The liver lipid accumulation was detected by Oil Red O staining, and the levels of TC and TG in the liver were determined. The expressions of PPAR γ , SIRT1, and PI3K/AKT-related proteins were detected by Western blotting. **Results** A total of 33 active components and 345 targets of *Hippophae Fructus* were screened, 1 832 MAFLD-related targets were obtained, and 120 common targets were identified. The core targets were ESR1, AKT1, PPARG, SIRT1, etc. The main mechanism was through the PI3K-Akt signaling pathway, and the molecular docking showed that the main components had good binding activity with the key targets. The animal experiment results showed that *Hippophae Fructus* reduced serum TC, TG and LDL-C levels ($P < 0.01$), increased HDL-C levels ($P < 0.05$), reduced liver steatosis and lipid accumulation, decreased liver TC and TG levels ($P < 0.05, 0.01$), increased PPAR γ , SIRT1, p-PI3K and p-Akt protein expression ($P < 0.01$). **Conclusion** *Hippophae Fructus* reduces blood lipids and liver lipid accumulation, and its mechanism may be related to the activation of PPAR γ /SIRT1 and PI3K/AKT signaling pathway.

Key words: *Hippophae Fructus*; metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; network pharmacology; molecular docking; blood lipid

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)又称非酒精性脂肪性肝病(NAFLD),是与遗传因素和代谢异常密切相关的常见慢性肝病,现已成为全球最常见的慢性肝脏疾病,包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、肝硬化和肝细胞癌^[1]。MAFLD 常常与肥胖、胰岛素抵抗、高血糖及血脂异常等代谢性疾病密切相关^[2]。MAFLD 发病机制复杂,病理机制尚未完全阐明,MAFLD 治疗药物研发进展也十分缓慢。目前主要通过改变不良生活方式或减肥药物、降血糖药物、调血脂药物等降低其风险。

MAFLD 属于中医“肝癖”范畴,其病机主要跟脾虚运化失常相关,痰饮、湿热、淤血为主要的病理因素^[3]。沙棘为药食两用植物,具有健脾消食、活血化瘀的功效,早在中国古代就是藏医、蒙医的常用药材。现代研究表明沙棘具有多种药效活性成分,其中以黄酮、多糖、多酚类为主,药理作用广泛,主要有改善血液循环、调血脂、降血压、增强免疫功能及抗肿瘤等药理作用^[4-5]。沙棘在防治代谢性综合征等疾病中发挥了较好的作用,但是其机制尚不明确,因此,本研究运用网络药理学及分子对接筛选出沙棘防治 MAFLD 的相关靶点及信号通路,并通过体内实验进行验证,为沙棘的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析^[6]

1.1.1 沙棘活性成分及相应靶点筛选 中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>)数据库中以“沙棘”为关键词,检索获取相关中药化学成分信息,以类药性(DL) ≥ 0.18 、口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 为条

件对化学成分进行筛选,获取有效成分,并在 TCMSP 数据库及 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库获取有效成分的作用靶点。

1.1.2 MAFLD 潜在靶点筛选 以“non-alcoholic fatty liver disease”为检索词,通过 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)及 OMIM (<https://omim.org/>)数据库获取 MAFLD 的相关疾病靶点,将沙棘中有效成分作用靶点及疾病相关靶点进行映射,获得沙棘及治疗 MAFLD 的潜在靶点。

1.1.3 “药物-有效成分-潜在靶点”的网络构建 将沙棘中的有效成分与沙棘治疗 MAFLD 的潜在靶点,导入至 Cytoscape3.8.0,构建“药物-有效成分-潜在靶点”网络。网络中的节点(Node)表示靶点或化合物,而边(Edge)则表示药物、有效成分与疾病相互作用。

1.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 将沙棘治疗 MAFLD 的潜在靶点导入 STRING (<https://string-db.org/>)数据库,将物种设置为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值调为“highest confidence”,将蛋白互作综合得分 >0.4 ,获得靶点的相互作用关系,导出为 TSV 文件,将 TSV 文件导入 Cytoscape 3.8.0 制作出靶点相互作用网络,并使用其中的“Network analyzer”插件,得到靶蛋白相互作用网络拓扑参数和网络图。

1.1.5 基因本体(GO)注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 对 PPI 网络中大于平均度值的关键靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 分析时选择生物学过程(BP)、细胞组成(CC)、分子功能(MF)。GO 和 KEGG

富集结果都以 $P < 0.05$ 为筛选条件, 对结果进行可视化分析^[7-8]。

1.1.6 分子对接 选取沙棘治疗 MAFLD 的主要活性成分, 从 PubChem 数据库下载相关化合物的三维结构。利用 Chem3D 软件对化合物结构进行优化, PDB 数据库获取与沙棘治疗 MAFLD 相关的核心靶点蛋白的三维结构, 使用 Pymol 和 AutoDockTools 软件对活性化合物和靶点蛋白进行预处理, AutoDock 4 软件进行分子对接模拟, 评估活性化合物与靶点蛋白之间的结合能力, 利用 Pymol 进行对接结果的可视化分析, 进一步确认配体与靶点蛋白之间的结合模式和结合能^[9]。

1.2 动物实验

1.2.1 实验动物 SPF 级 ApoE^{-/-}小鼠, 雄性, 体重 20~25 g, 24 只, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京)2021-0006。动物饲养于陕西中医药大学 SPF 级动物实验室, 饲养条件及动物福利符合相关要求, 动物实验经陕西中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号: SUCMDL20240201001)。

1.2.2 药物、试剂及仪器 沙棘提取物(批号: S27676; 上海源叶生物科技有限公司; 沙棘总黄酮质量分数 30%); 沉默信息调节因子 1(SIRT1) 抗体(批号: SAB52578P; 美国 SAB 公司), p-磷脂酰肌醇-3-激酶(p-PI3K) 抗体(批号: AF3242, 亲科生物研究中心有限公司); 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 抗体(货号: 16643-1-AP)、PI3K 抗体(批号: 60225-1-Ig)、p-蛋白激酶 B(p-Akt) 抗体(批号: 28731-1-AP)、Akt 抗体(批号: 10176-2-AP) 及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH) 抗体(货号: 10494-1-AP) 购买于武汉三鹰生物技术有限公司。TC(A111-2-1)、TG(A110-2-1)、LDL-C(A113-2-1)、HDL-C(A112-2-1) 均购自南京建成生物工程研究所。高脂饲料(40%脂肪、1.25%胆固醇, 批号 XT108C, 江苏省协同医药生物工程有限公司)。

TL-48R 型高通量组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司); DYY-6D 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司); DR4V4 型化学发光成像系统(基因有限公司); Eon 型全波长酶标仪(美国 BioTek 仪器有限公司); 1950S 型冰冻切片机(德国徕卡); BX53 型生物显微镜(日本奥林巴斯)。

1.2.3 造模、分组及给药 将 24 只 ApoE^{-/-}小鼠随机分为对照组、模型组和沙棘提取物低、高剂量组。

对照组小鼠饲喂正常饲料, 其余各组饲喂高脂饲料, 饲喂 16 周。沙棘低、高剂量组每日造模同时分别 ig 给予 100、200 mg·kg⁻¹ 沙棘提取物, 对照组和模型组 ig 给予等量 0.9% 氯化钠溶液, 每天 1 次, 连续 16 周^[10]。

1.2.4 标本处理 给药 16 周后, 禁食 12 h, 戊巴比妥麻醉采血, 2 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 收集血清, -80 °C 冰箱保存。肝脏 0.9% 氯化钠溶液清洗, 称质量、拍照。取肝脏左叶部分 OCT 固定, 其余肝组织样本冻存于 -80 °C 冰箱。

1.2.5 血清和肝脏脂质检测 生化试剂盒检测血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。肝脏组织匀浆, 测定肝脏组织中 TC、TG 水平。

1.2.6 苏木精-伊红(HE)染色和油红 O 染色 肝脏组织固定、脱水、包埋及切片, 分别进行 HE 和油红 O 染色后封片, 光学显微镜下观察肝脏组织形态和脂质蓄积情况。

1.2.7 Western blotting 检测 肝脏组织 100 mg, 加入 RIPA 裂解缓冲液后使用高通量组织研磨仪充分匀浆, 4 °C, 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液 BCA 蛋白定量, 加入蛋白上样缓冲液 95 °C 变性 5 min, SDS-PAGE 蛋白凝胶电泳、转膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 加入一抗 PPAR γ (1:500)、SIRT1(1:1 000)、p-PI3K(1:1 000)、PI3K(1:1 000)、p-Akt(1:1 000)、Akt(1:1 000) 和 GAPDH(1:1 000) 4 °C 孵育过夜。二抗(1:2 000) 室温孵育 1 h, ECL 发光液显色后成像分析系统显影蛋白条带, Image J 软件计算目的条带灰度值。

1.3 统计学分析

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 结果采用 SPSS 16.0 进行统计学分析, 符合方差齐性的数据采用单因素方差分析; 不符合正态分布的数据使用 Kruskal-Wallis 检验; 组间两两比较采用 Dunnett's T3 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 沙棘治疗 MAFLD 网络药理学分析

2.1.1 沙棘有效成分及作用靶点 TCMSP 数据库结果显示沙棘的活性成分为 33 种, 包括槲皮素、异鼠李素、山柰酚、沙棘甾醇、 β -谷甾醇等, 获得潜在的作用靶点 345 个。使用 OMIM 和 GeneCards 数据库中进行靶点筛选, 合并去重后得到 MAFLD 相关靶点共 1 832 个。与沙棘有效成分靶点取交集, 获得 120 个共同靶点(图 1)。

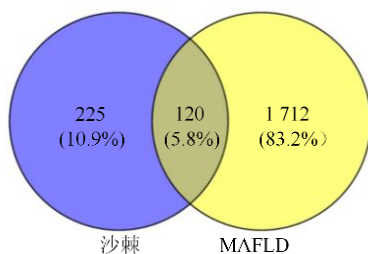


图 1 沙棘与 MAFLD 共同靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of common targets of *Hippophae Fructus* and MAFLD

2.1.2 PPI 网络的构建 运用 STRING 数据库构建沙棘治疗 MAFLD 靶点 PPI 网络 (图 2), 分析得到的网络中共有 24 个节点, 170 条边, 平均节点度为 31.5。核心靶点为 ESR1、AKT1、PPARG、SIRT1, 将筛选出的靶点绘制成“成分-靶点”图 (图 3)。

2.1.3 GO 与 KEGG 通路富集分析结果 利用在线作图软件微生信绘制了 GO 分析柱状图和 KEGG 通路分析气泡图 (图 4), 在 BP 中, 沙棘主要涉及 RNA 聚合酶 II 对转录的阳性调节、RNA 聚合酶 II 对转录的负调控、DNA 模板转录的阳性调节等, CC 主要涉及胞浆、细胞质、核等; MF 主要涉及酶结合、相同的蛋白质结合、金属离子结合、ATP 结合等。根据 $-lgP$ 值和基因比例分析, KEGG 结果 (图 5) 表明, 排名前 3 的靶点通路为 PI3K-Akt 通路、Rap1 通路、MAPK 通路等。

2.1.4 分子对接结果 核心靶点与沙棘主要的核

心成分槲皮素、山柰酚、异鼠李素、天竺葵素进行分子对接, 表明沙棘主要活性成分与相应的受体靶

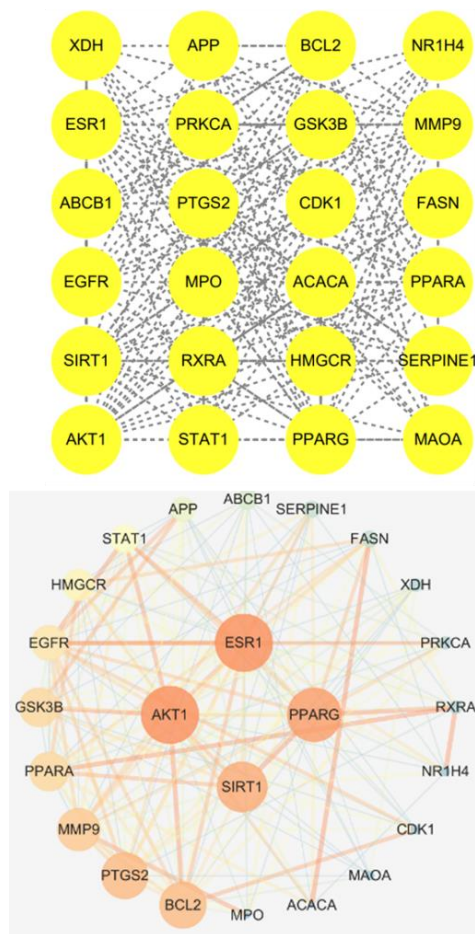


图 2 关键靶点蛋白 PPI 分析

Fig. 2 PPI analysis of key target proteins

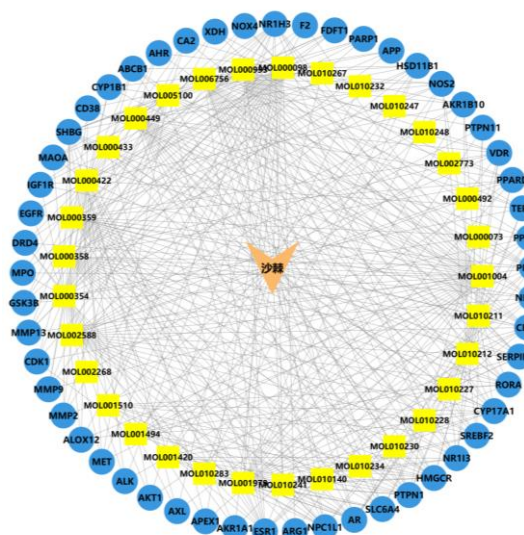


图 3 成分-靶点网络

Fig. 3 Component-target network

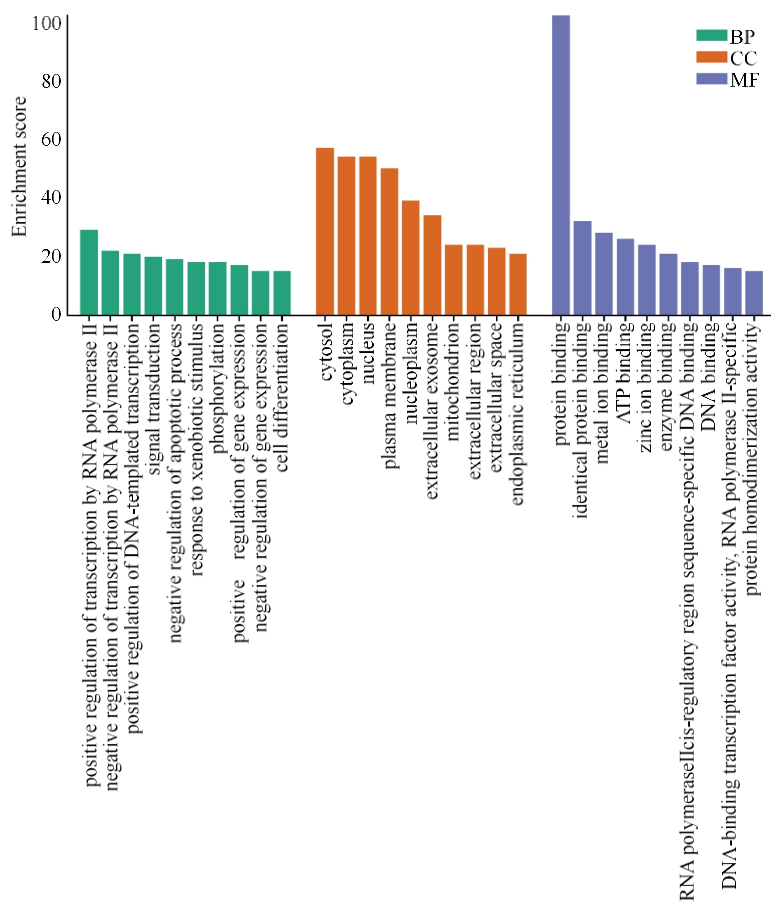


图 4 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis

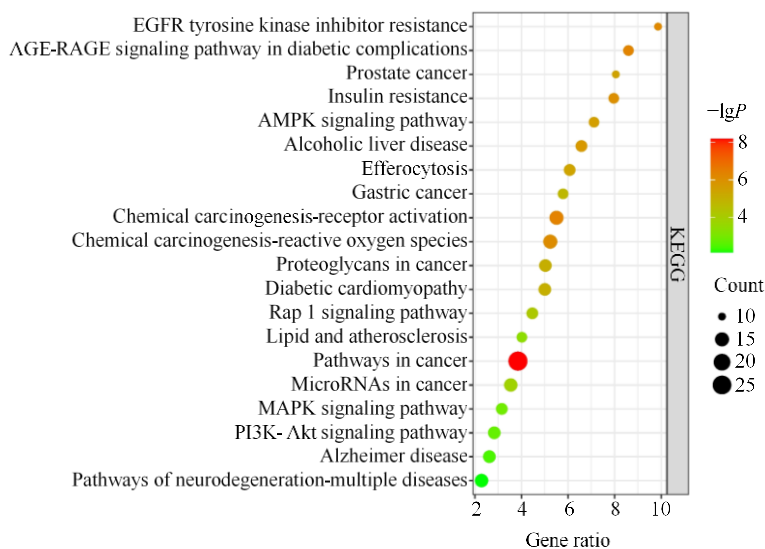


图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis

蛋白具有良好的结合亲和力(表 1),如槲皮素和 ESR1 有较好的结合,槲皮素、异鼠李素、山柰酚和 PPARG

有较好的结合,天竺葵素和 AKT1 有较好的结合。对其中最佳的对接结果进行可视化处理,见图 6。

表 1 沙棘活性成分与核心靶点之间的结合能

Table 1 Binding energies between *Hippophae Fructus* active ingredients and core targets

蛋白	结合能/(kJ·mol ⁻¹)			
	槲皮素	异鼠李素	山柰酚	天竺葵素
ESR1	-21.33	-19.53	-18.81	-18.18
AKT1	-20.45	-17.93	-20.61	-25.89
PPARG	-21.24	-21.87	-22.50	-18.69
SIRT1	-19.11	-18.10	-20.36	-20.45

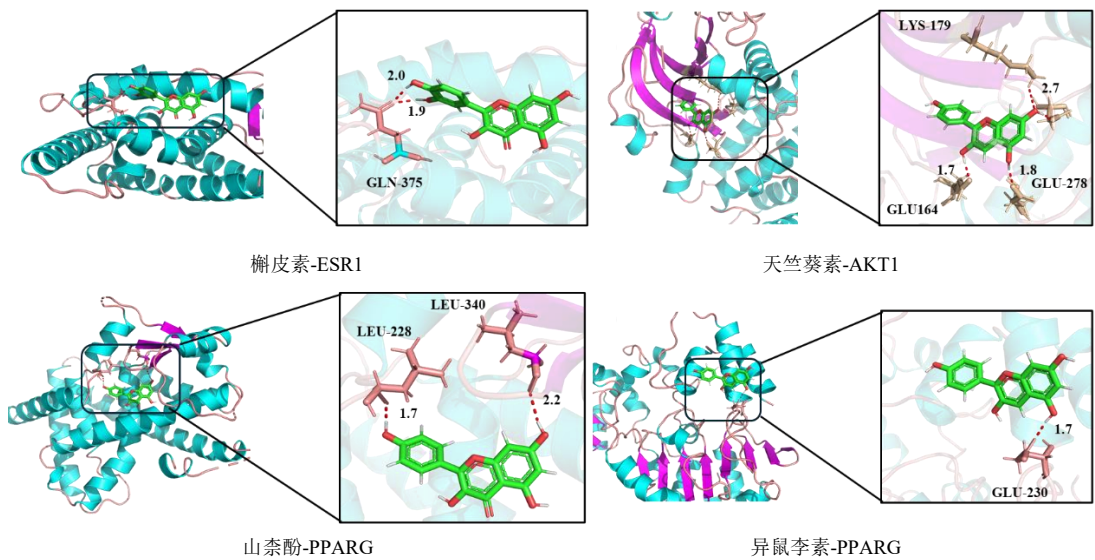


图 6 沙棘治疗 MAFLD 核心活性成分与靶点对接

Fig. 6 Optimal alignment of core active components of *Hippophae Fructus* for the treatment of MAFLD with their targets

2.2 动物实验结果

2.2.1 沙棘提取物对高脂饮食诱导 ApoE^{-/-}小鼠血清脂质的影响 高脂饮食饲喂 ApoE^{-/-}小鼠 16 周, 与对照组 (正常饮食) 相比, 模型组 TC、TG 和 LDL-C 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01), HDL-C 水平显著降低 ($P<0.01$)。与模型组比较, 沙棘提取物低、高剂量组 TC、TG 和 LDL-C 水平均显著下降 ($P<0.01$), 沙棘提取物低、高剂量 HDL-C 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。见表 2。

2.2.2 沙棘提取物对肝脏组织病变的影响 HE 染色结果表明, 对照组肝细胞排列紧凑, 没有明显的

空泡, 模型肝组织脂肪变性明显, 出现较严重的空泡化, 而沙棘提取物干预后明显改善肝细胞空泡化, 脂肪空泡较模型组明显变小。肝组织油红 O 染色观察脂质沉积情况, 对照组小鼠肝脏没有出现明显脂质积累, 模型组小鼠肝脏出现大量脂滴, 沙棘提取物低、高剂量组明显的减少了肝脏脂质 (图 7)。

2.2.3 沙棘提取物对肝脏组织脂质水平的影响 与对照组相比, 模型组肝脏 TC、TG 水平显著升高 ($P<0.01$), 与模型组相比, 沙棘提取物高剂量组明显降低了小鼠肝脏 TC、TG 水平 ($P<0.01$ 、 0.05)。见图 8。

表 2 大鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Comparison of serum TC, TG, LDL-C and HDL-C levels in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	7.92±0.80	0.71±0.14	3.65±1.22	2.04±0.22
模型	—	27.76±4.47 ^{##}	1.71±0.25 ^{##}	15.77±2.11 ^{##}	1.14±0.23 ^{##}
沙棘提取物	100	19.82±3.46 [*]	0.84±0.11 ^{**}	10.60±1.52 ^{**}	1.60±0.31 [*]
	200	10.42±1.41 ^{**}	0.68±0.08 ^{**}	6.94±1.14 ^{**}	2.11±0.52 ^{**}

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.

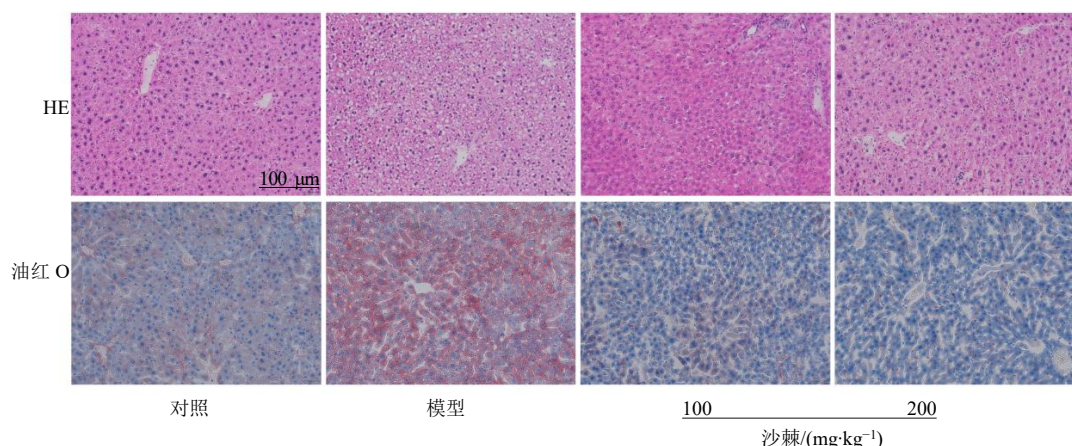
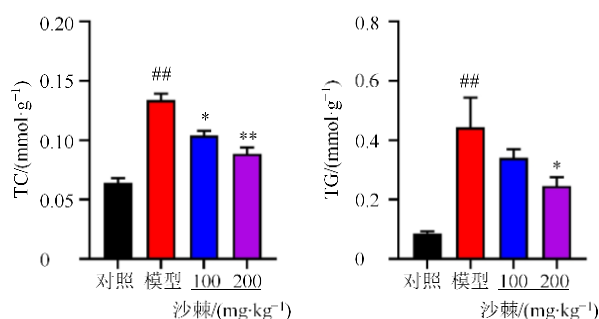


图 7 小鼠给药 16 周肝组织 HE 染色及油红 O 染色 (×200)

Fig. 7 HE staining and oil red O staining of liver tissue of mice in all groups administered for 16 weeks (×200)



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

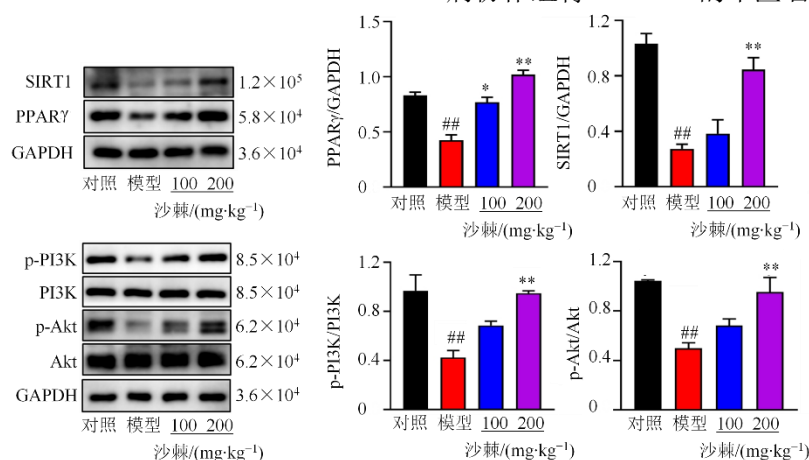
0.01。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 8 小鼠肝脏 TC 和 TG 含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 8 Comparison of liver TC and TG content in mice

($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组相比: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ 。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 9 各组小鼠肝脏 PPARγ、SIRT1、p-PI3K、p-Akt 蛋白水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 9 Liver PPARγ, SIRT1, p-PI3K, p-Akt protein level in mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.2.4 沙棘提取物对肝脏组织相关蛋白表达的影响 与对照组相比,模型组小鼠 PPARγ、SIRT1、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$);与模型组相比,沙棘提取物高剂量组 PPARγ、SIRT1、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$ 、0.05)。见图 9。

3 讨论

MAFLD 是当前最普遍的慢性肝脏疾病。研究显示,成人 MAFLD 的全球患病率约为 25%^[11]。该病可发展为非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌^[12-13]。根据 MAFLD 的临床表现,中医将其归类为“肥气”“胁痛”“积聚”“黄疸”“肝癖”等症状^[14]。“十一五”国家中医药管理局中医肝病协作组将 MAFLD 的中医名称确定为“肝癖”。

MAFLD 可分为肝郁脾虚、湿浊内停、湿热蕴结、痰瘀互结等不同证型^[15]。中医药治疗在脂肪性肝病上有着独特的优势,如多成分、多靶点、多效应的作用特点及不良反应较小、对药物的依赖性低等优势。

沙棘属胡颓子科植物,有醋柳果、酸刺柳等之称,以其干燥成熟的果实入药,具有很高的营养价值和药用价值。藏医典《晶珠本草》描述“沙棘,活血散瘀,利心脏血脉”“可补益人体血液”。现代研究表明,沙棘具有多种药理作用,包括抗炎^[16]、抗氧化^[17]、保肝^[18]、抗心血管疾病^[19]、抗衰老^[20]、调节免疫功能^[17]、抗肿瘤和抑菌等^[21]。然而,沙棘治疗 MAFLD 的作用及其机制还不明确,因此,本研究通过网络药理学、分子对接与动物实验验证揭示沙棘防治 MAFLD 潜在的活性成分及其机制。本研究通过网络药理学筛选得到沙棘主要活性成分槲皮素、异鼠李素、山柰酚、 β -谷甾醇等。有研究报道,槲皮素具有一定抗炎、抗氧化作用,通过抑制炎症因子释放、减少脂质合成、改善胰岛素抵抗等治疗 MAFLD^[22];山柰酚通过 SIRT1/AMPK 和 PI3K/Akt 等通路抑制 MAFLD 的发展^[23];异鼠李素降低血浆及肝脏 TC、TG,减少脂质沉积改善 MAFLD^[24]。结合 PPI 网络分析,沙棘治疗 MAFLD 核心靶点为 ESR1、AKT1、PPARG、SIRT1 等。ESR1 为雌激素受体 1 基因,主要对性发育和生殖功能有重要的作用^[25];AKT1 属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族中的 AGC 激酶,调控细胞周期、转录、翻译、细胞凋亡和细胞分化,主要分布在胰岛素高敏感的组织中,例如肝脏、骨骼肌和脂肪中,在胰岛素的代谢中起到关键作用^[26-27]。有研究表明,与正常组相比,MAFLD 小鼠模型 AKT1 水平降低^[28-29]。PPARG (PPAR γ) 通过脂肪生成、胰岛素抵抗、炎症和氧化应激参与 MAFLD 的发病机制,MAFLD 大鼠肝组织中 PPAR γ 蛋白显著降低,山柰酚、黄芩素、甜菜碱等可以激动 PPAR γ ,改善胰岛素抵抗,降低血清脂质水平,并防止肝脏脂质沉积^[30-32]。从 GO 和 KEGG 富集分析结果可知,沙棘可能通过 PI3K/Akt、Rap1、MAPK 等信号通路治疗 MAFLD。PI3K/Akt 信号通路是 MAFLD 相关疾病重要的细胞信号传导通路,在 PI3K/Akt 信号通路中,Akt 是中心环节,可激活下游多种效应信号分子,研究表明,激活 PI3K/Akt 信号通路可以抑制肝脏脂质沉积,延缓 MAFLD 的进程。

分子对接结果显示,核心活性成分与核心靶点具有良好的结合亲和力。动物研究结果也表明,与对照组相比,模型组 AopE^{-/-}小鼠血浆及肝脏 TC、TG 水平升高,肝脏出现大量脂滴。而沙棘提取物组小鼠血浆及肝脏 TC、TG 水平显著降低,肝脏脂滴明显减少,网络药理学结果显示,ESR1、AKT1、PPARG、SIRT1 为核心靶点,PI3K/Akt 信号通路为主要通路,Western blotting 检测相关蛋白,结果显示模型组小鼠肝脏 PPAR γ 、SIRT1、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达明显下降;沙棘提取物高剂量组小鼠肝脏 PPAR γ 、SIRT1、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白表达明显升高。

本研究采用网络药理学和分子对接方法初步预测沙棘治疗 MAFLD 的主要活性成分和核心作用靶点,通过动物实验对治疗作用和关键的靶点通路进行实验验证,初步表明沙棘可能通过激活 PPAR γ /SIRT1 及 PI3K/Akt 信号通路,抑制肝脏脂质蓄积,发挥其防治 MAFLD 作用,为沙棘防治 MAFLD 临床应用提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 文瑾,范超,夏俪宁,等.共轭亚油酸甘油酯及其微囊乳液对高脂饮食诱导的大鼠非酒精性脂肪肝的缓解作用[J].食品与发酵工业,2021,47(21):102-108.
Wen J, Fan C, Xia L N, et al. Amelioration effects of conjugated linoleic acid glyceride and microencapsulated emulsion on high-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease in rats [J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(21): 102-108.
- [2] Friedman S L, Neuschwander-Tetri B A, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies [J]. Nat Med, 2018, 24(7): 908-922.
- [3] 任大梅.非酒精性脂肪性肝病的中医诊疗[J].世界最新医学信息文摘,2013,13(17):2.
Ren D M. Traditional Chinese medicine diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. World Lat Med Inf, 2013, 13(17): 2.
- [4] 凌娜,郭春秋,田海燕,等.基于文献计量学的沙棘多糖研究现状与发展动态的可视化分析[J].中草药,2024,55(20):7047-7061.
Ling N, Guo C Q, Tian C Y, et al. Visualized analysis of research status and development trend of *Hippophae rhamnoides* polysaccharides based on bibliometrics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(20): 7047-7061.
- [5] 王欣欣,陈小艳,张文莲,等.蒙药沙棘概况及药理作用研究进展[J].中国民族医药杂志,2022,28(11):51-54.

- Wang X X, Chen X X, Zhang W L, et al. Research progress on the overview and pharmacological effects of Mongolian medicine *Sea Buckthorn* [J]. J Med Pharm Chin Minor, 2022, 28(11): 51-54.
- [6] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. 中草药, 2024; 55(12): 4204-4213.
- Liao Y N, Zhao K L, Guo H W. Application and challenges of network pharmacology research in traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024; 55(12): 4204-4213.
- [7] Liu Y S, Li X, Chen C, et al. Exploration of compatibility rules and discovery of active ingredients in TCM formulas by network pharmacology [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4): 572-588.
- [8] 王婷, 刘维海, 张盼, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨中研益肺解毒汤防治新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的活性成分及靶点 [J]. 陕西中医药大学学报, 2023, 46(2): 1-8.
- Wang T, Liu W H, Zhang P, et al. Discussion of active components and targets of Zhongyan Yifei Jiedu Decoction in prevention and treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking [J]. J Shaanxi Univ Chin Med, 2023, 46(2): 1-8
- [9] 毛茜, 王子强, 王川, 等. 双石通淋胶囊治疗良性前列腺增生的网络药理学及实验研究 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(5): 15-21.
- Mao Q, Wang Z Q, Wang C, et al. Mechanism of Shuangshi Tonglin capsules (双石通淋胶囊) against benign prostatic hyperplasia: Based on network pharmacology and experiment [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2023, 39(5): 15-21.
- [10] Schierwagen R, Maybüchen L, Zimmer S, et al. Seven weeks of Western diet in apolipoprotein-E-deficient mice induce metabolic syndrome and non-alcoholic steatohepatitis with liver fibrosis [J]. Sci Rep, 2015, 5: 12931.
- [11] Younossi Z, Tacke F, Arrese M, et al. Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis [J]. Hepatology, 2019, 69(6): 2672-2682.
- [12] Mundi M S, Velapati S, Patel J, et al. Evolution of NAFLD and its management [J]. Nutrition in clinical practice: Official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, 2020, 35(1): 72-84.
- [13] 田晓玲, 蒋佳佳, 张彧, 等. 中药多糖防治非酒精性脂肪肝病作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 6016-6025.
- Tian X L, Jiang J J, Zhang Y, et al. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine polysaccharide in prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(17): 6016-6025.
- [14] 李鲜, 周英武, 王菲. 脂肪肝的中医辨证和治疗 [J]. 中国民间疗法, 2004, 12(10): 13-14.
- Li X, Zhou Y W, Wang F. TCM syndrome differentiation and treatment of fatty liver [J]. China's Naturopathy, 2004, 12(10): 13-14.
- [15] 代三红. 中医辨证治疗非酒精性脂肪肝 516 例 [J]. 陕西中医, 2011, 32(11): 1478-1479.
- Dai S H. 516 cases of nonalcoholic fatty liver treated by TCM syndrome differentiation [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2011, 32(11): 1478-1479.
- [16] Han Y, Yuan C, Zhou X W, et al. Anti-inflammatory activity of three triterpene from *Hippophae rhamnoides* L. in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 12009.
- [17] Liu Y, Ran L M, Wang Y H, et al. Basic characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from sea buckthorn leaves [J]. Fitoterapia, 2023, 169: 105592.
- [18] Guo R X, Guo X B, Li T, et al. Comparative assessment of phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities of Sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries [J]. Food Chem, 2017, 221: 997-1003.
- [19] [17] Chen Y M, He W W, Cao H J, et al. Research progress of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) in prevention and treatment of cardiovascular disease [J]. Front Cardiovasc Med, 2024, 11: 1477636.
- [20] Liu X Y, Xing Y, Yuen M, et al. Anti-aging effect and mechanism of proanthocyanidins extracted from *Sea buckthorn* on hydrogen peroxide-induced aging human skin fibroblasts [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(10): 1900.
- [21] Olas B, Skalski B, Ulanowska K. The anticancer activity of sea buckthorn [*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. nelson] [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 232.
- [22] Li Y, Yao J Y, Han C Y, et al. Quercetin, inflammation and immunity [J]. Nutrients, 2016, 8(3): 167.
- [23] Yao Y X, Yu Y J, Dai S, et al. Kaempferol efficacy in metabolic diseases: Molecular mechanisms of action in diabetes mellitus, obesity, non-alcoholic fatty liver disease, steatohepatitis, and atherosclerosis [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 175: 116694.
- [24] 周健, 杜凤, 康秉文, 等. 异鼠李素通过减轻氧化应激改善游离脂肪酸诱导肝细胞脂质沉积 [J]. 中南药学, 2021, 19(3): 376-381.
- Zhou J, Du F, Kang B W, et al. Isorhamnetin alleviates free

- fatty acids-induced lipid accumulation via reducing oxidative stress in hepatocytes [J]. Cent South Pharm, 2021, 19(3): 376-381.
- [25] Grinshpun A, Chen V, Sandusky Z M, et al. ESR1 activating mutations: From structure to clinical application [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2023, 1878(1): 188830.
- [26] 黄秀兰, 崔国辉, 周克元. PI3K-Akt 信号通路与肿瘤细胞凋亡关系的研究进展 [J]. 癌症, 2008, 27(3): 331-336.
- Huang X L, Cui G H, Zhou K Y. Correlation of PI3K-Akt signal pathway to apoptosis of tumor cells [J]. Chin J Cancer, 2008, 27(3): 331-336.
- [27] 王维, 张琍. PI3K/Akt 信号转导通路的研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2010, 26(7): 1051-1052.
- Wang W, Zhang L. Research progress of PI3K/Akt signal transduction pathway [J]. Mod Med Health, 2010, 26(7): 1051-1052.
- [28] Liu H, Hao M S, Liu W, et al. Medium- and long-chain triglyceride propofol activates PI3K/AKT pathway and inhibits non-alcoholic fatty liver disease by inhibiting lipid accumulation [J]. J Bioenerg Biomembr, 2024, 56(1): 45-53.
- [29] Zhang X P, Zhu L H, Ma J C, et al. Huatan Qushi formula alleviates non-alcoholic fatty liver disease via PI3K/Akt signaling and gut microbiota modulation [J]. J Tradit Chin Med Sci, 2024, 11(4): 443-455.
- [30] 常珊珊, 王爽, 吴锋, 等. 灵芝多糖对非酒精性脂肪肝大鼠 PPAR γ 和环氧合酶-2 表达的影响 [J]. 交通医学, 2013, 27(1): 9-13.
- Chang S S, Wang S, Wu F, et al. Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on the PPAR γ and COX-2 in the rat with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Med J Commun, 2013, 27(1): 9-13.
- [31] 王亮, 刘安宁, 李红玲, 等. 黄芩素调节 PPAR γ /LXR α /ABCA1 信号通路干预 NAFLD 大鼠肝功能和胰岛素抵抗研究 [J]. 现代医学, 2023, 51(1): 17-23.
- Wang L, Liu A N, Li H L, et al. Effects of baicalein on liver function and insulin resistance in NAFLD rats by regulating PPAR γ /LXR α /ABCA1 signaling pathway [J]. Mod Med J, 2023, 51(1): 17-23.
- [32] 刘贵波, 刘跃光, 孙成, 等. PPAR γ 激动剂山柰酚对 2 型糖尿病大鼠视网膜病变作用研究 [J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16(11): 4-7.
- Liu G B, Liu Y G, Sun C, et al. Effects of PPAR γ agonists on retinopathy in type 2 diabetes rats [J]. J Clin Med Pract, 2012, 16(11): 4-7.

[责任编辑 齐静雯]