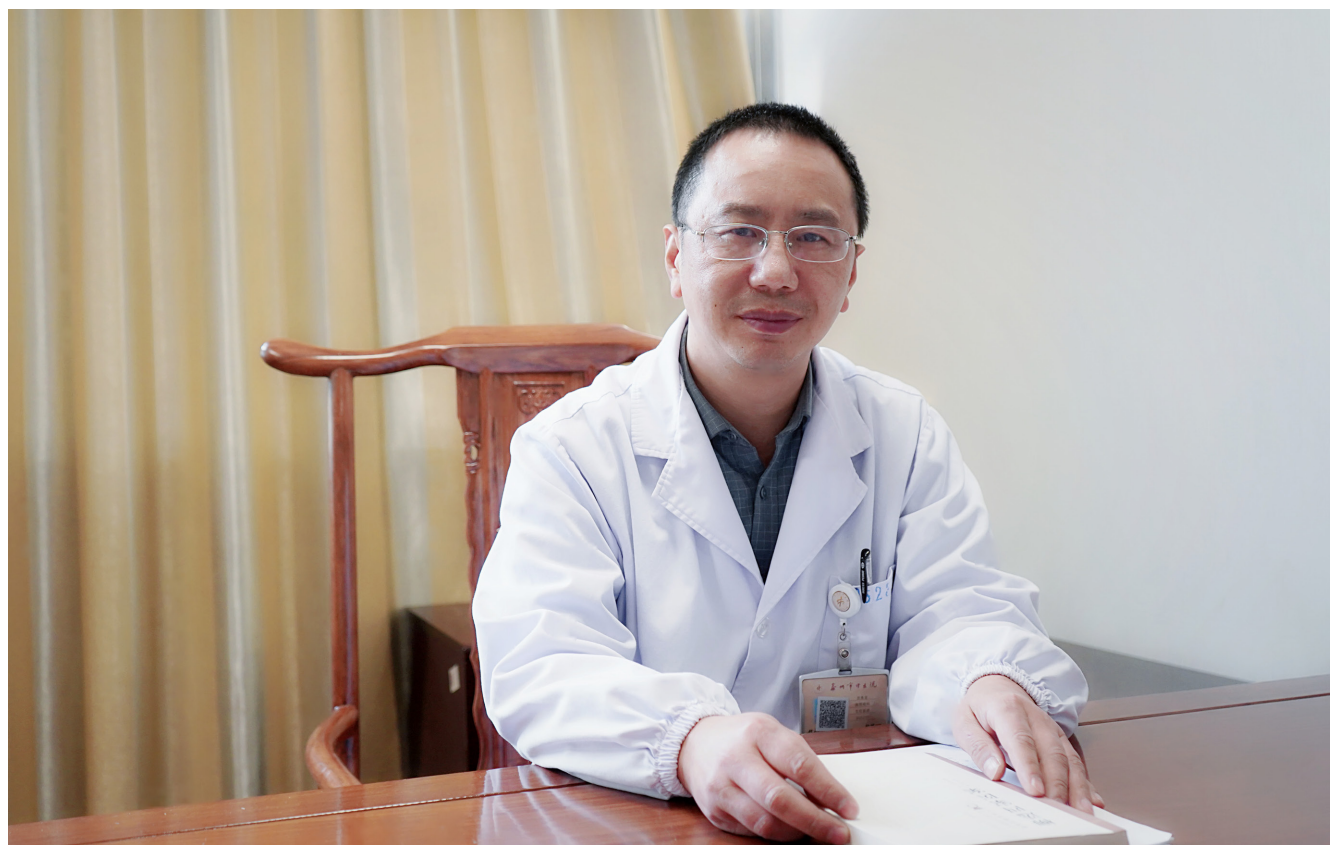


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 4 月 8 日 第 31 卷 第 7 期 (Volume 31 Number 7)



7 / 2023

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



文献综述

- 249 止血粉治疗急性上消化道出血的研究进展
苏东帅, 李成坤, 高聪, 祁兴顺

基础研究

- 256 基于网络药理学研究一贯煎治疗肝纤维化的有效成分及作用机制
崔欣怡, 姜晓丹, 李汶航, 张睿, 油红捷, 唐佐青, 马赟, 杨铮, 车念聪, 刘玉兰

临床研究

- 268 胃癌患者血清人附睾蛋白4、糖链抗原72-4、胃泌素-17水平检测意义
施玲芳, 王秀芳, 吕赛华

临床实践

- 275 采用双因素理论支持下的照顾者介入护理对功能性消化不良患儿遵医行为、症状改善的影响
朱红玲, 张丽香, 郑聪霞
- 282 基于Lasso回归的慢性乙型肝炎发生肝硬化列线图预测模型的构建
李影, 韩可兴, 苏倩, 徐楠, 谢琴秀, 郜玉峰
- 290 TLRs在炎症性肠病结肠黏膜组织中的表达及意义
郭丽丽, 吴中平, 杨碧锋

消 息

- 255 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯
274 《世界华人消化杂志》正文要求
289 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

沈美龙, 医学博士. 主任医师, 江苏省泰州市中医院感染病科副主任, 发热门诊主任, 脾胃2科肝病科主任. 研究方向为肝病基础与临床, 现担任江苏省中西医结合感染病学会委员, 江苏省中医肝病学会委员, 江苏省肝病免疫学委员, 泰州市肝病学会委员, 《世界华人消化杂志》编委. 积极学习本专业前沿进展, 掌握肝病临床疑难杂症的治疗和处理, 在国内外发表论文30余篇, 参编书籍3本, 主持并完成省级以上课题2项.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2023-04-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 31 Number 7 April 8, 2023

REVIEW

- 249 Hemostatic powder for acute upper gastrointestinal bleeding: Recent research advances
Su DS, Li CK, Gao C, Qi XS

BASIC RESEARCH

- 256 Investigation of effective components and action mechanism of Yiguanjian in treatment of liver fibrosis based on network pharmacology
Cui XY, Jiang XD, Li WH, Zhang R, You HJ, Tang ZQ, Ma Y, Yang Z, Che NC, Liu WL

CLINICAL RESEARCH

- 268 Significance of serum levels of HE4, CA72-4, and G-17 in patients with gastric cancer
Shi LF, Wang XF, Lv SH

CLINICAL PRACTICE

- 275 Effect of caregiver intervention nursing based on two-factor theory on compliance behavior and symptom improvement in children with functional dyspepsia
Zhu HL, Zhang LX, Zheng CX
- 282 Construction of a Lasso regression-based prediction model for development of cirrhosis in chronic hepatitis B
Li Y, Han KX, Su Q, Xu N, Xie QX, Gao YF
- 290 Significance of expression of Toll-like receptors in colonic mucosal tissue of patients with inflammatory bowel disease
Guo LL, Wu ZP, Yang BF

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 7 April 8, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Mei-Long Shen, Medical Doctor, Chief Physician, Department of Infection Disease, TaiZhou Traditional Chinese Medical Hospital, No. 6 Yimiao Road, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China. shenml9326@126.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date April 8, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

基于网络药理学研究一贯煎治疗肝纤维化的有效成分及作用机制

崔欣怡, 姜晓丹, 李汶航, 张睿, 油红捷, 唐佐青, 马赞, 杨铮, 车念聪, 刘文兰

崔欣怡, 姜晓丹, 李汶航, 张睿, 马赞, 杨铮, 车念聪, 刘文兰, 首都医科大学中医药学院 北京市 100069

油红捷, 唐佐青, 首都医科大学基础医学院 北京市 100069

李汶航, 成都中医药大学附属眉山医院(眉山市中医医院)消化内科 四川省眉山市 620000

崔欣怡, 首都医科大学中医药学院中医诊断学专业在读硕士研究生, 主要从事中医药治疗慢性肝病疗效机制的研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81573879; 北京市自然科学基金资助项目, No. 7182021.

作者贡献分布: 崔欣怡与刘文兰对此文所作贡献两均等; 此课题由崔欣怡、刘文兰、张睿、油红捷、唐佐青、马赞、杨铮、车念聪设计; 研究过程由崔欣怡与李汶航操作完成; 数据分析由崔欣怡完成; 本论文写作由崔欣怡、姜晓丹、刘文兰完成。

通讯作者: 刘文兰, 教授, 博士生导师, 副主任医师, 100069, 北京市右安门外西头条10号, 首都医科大学中医药学院. wenlanliu1900@126.com

收稿日期: 2022-12-12

修回日期: 2023-01-22

接受日期: 2023-03-20

在线出版日期: 2023-04-08

Investigation of effective components and action mechanism of Yiguanjian in treatment of liver fibrosis based on network pharmacology

Xin-Yi Cui, Xiao-Dan Jiang, Wen-Hang Li, Rui Zhang, Hong-Jie You, Zuo-Qing Tang, Yun Ma, Zheng Yang, Nian-Cong Che, Wen-Lan Liu

Xin-Yi Cui, Xiao-Dan Jiang, Wen-Hang Li, Rui Zhang, Yun Ma, Zheng Yang, Nian-Cong Che, Wen-Lan Liu, School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Hong-Jie You, Zuo-Qing Tang, School of Basic Medical

Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Wen-Hang Li, Department of Gastroenterology, Meishan Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Meishan 620000, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81573879; Beijing Natural Science Foundation of China, No. 7182021.

Corresponding author: Wen-Lan Liu, Professor, Doctoral Supervisor, Associate Chief Physician, School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, No. 10 Xitoutiao, Youanmenwai, Fengtai District, Beijing 100069, China. wenlanliu1900@126.com

Received: 2022-12-12

Revised: 2023-01-22

Accepted: 2023-03-20

Published online: 2023-04-08

Abstract

BACKGROUND

Traditional Chinese medicine compounds are characterized by the comprehensive adjustment of multiple components and show unique advantages in the prevention and treatment of liver fibrosis. Yiguanjian (YGJ) is a famous prescription for nourishing Yin to soothe the liver, which can improve the symptoms of liver fibrosis, and understanding its anti-liver fibrosis mechanism can promote its development and use.

AIM

To explore the mechanism of YGJ in the treatment of liver fibrosis through network pharmacology and to experimentally validate the initial results obtained.

METHODS

Components of YGJ and potentially targeted proteins were downloaded from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) database. The targets of liver fibrosis were accessed from GeneCard and OMIM databases. STRING database was utilized to construct a

protein-protein interaction (PPI) network based on the components of YGJ and the targets of liver fibrosis. The PPI network was subjected to random walk with restart (RWR) to obtain key genes, and Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were performed based on the DAVID database. For animal experimental validation, eighteen SD rats were randomly assigned to a normal group, a model group, and a YGJ group. The rats in the model group and YGJ group were intraperitoneally injected with 50% CCl₄ olive oil solution for 6 wk to induce liver fibrosis, and rats in the normal group were intraperitoneally injected with the same amount of olive oil solution. Then, the rats of the YGJ group were given YGJ decoction (6.67 g/kg) daily for 4 weeks. Meanwhile, rats in the other groups were given distilled water. Blood and liver samples were collected, and the levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in the serum of rats were detected with an automated analyzer. Pathological changes in liver tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining. Western blot and qRT-PCR were used to detect the expression of key proteins and genes in the liver.

RESULTS

A total of 52 components and 186 potential targets of YGJ were obtained, and 1080 targets of liver fibrosis were screened. The top 10 genes with the high-affinity scores to the drug targets were *STAT6*, *SRC*, *MAPK3*, *STX1A*, *EP300*, *STAT3*, *PLG*, *CTNNB1*, *CDKN1B*, and *CANX*. The top 50 genes were mainly enriched in response to PI3K- Akt signaling pathway and FoxO signaling pathway, etc. In CCl₄-induced liver fibrosis rats, YGJ decoction could significantly improve liver lesions and reduce fibrosis. YGJ decoction could reduce α -SMA expression, promote the expression of phosphorylated STAT6, increase the protein expression of PPAR- γ and CD163 and the mRNA expression of *Arg-1*, *CD206*, and *CD163*, and inhibit the gene expression of *IL-6*.

CONCLUSION

The therapeutic effect of YGJ decoction for liver fibrosis involves multiple components and multiple pathways, including the STAT6/PPAR- γ pathway.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Yiguanjian; Liver fibrosis; Network pharmacology; Random walk with restart

Citation: Cui XY, Jiang XD, Li WH, Zhang R, You HJ, Tang ZQ, Ma Y, Yang Z, Che NC, Liu WL. Investigation of effective components and action mechanism of Yiguanjian in treatment of liver fibrosis based on network pharmacology. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(7): 256-267

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i7/256.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i7.256>

摘要

背景

中药复方具有多成分综合调节的特点, 在肝纤维化防治中显示出独特的优势. 一贯煎始载于魏之琇所著《续名医类案》, 是滋阴疏肝的著名方剂, 能够改善肝纤维化症状, 研究其抗肝纤维化机制有助于药物开发和推广.

目的

通过网络药理学探究一贯煎治疗肝纤维化的机制并实验验证.

方法

利用文献和TCMSP数据库收集一贯煎成分及靶点, GeneCard、OMIM数据库收集肝纤维化疾病靶点. 通过STRING数据库构建一贯煎-肝纤维化蛋白互作网络(protein-protein interaction, PPI)子网络, 应用重启随机游走算法获得关键基因, 通过DAVID数据库进行基因本体(gene ontology, GO)富集分析及京都基因和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析. 动物实验验证, 18只SD大鼠随机分为正常组、模型组、一贯煎组. 模型组、一贯煎组大鼠采用腹腔注射50%四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)橄榄油溶液造模6周, 正常组注射等量橄榄油. 造模结束后一贯煎组每天灌胃一贯煎溶液(6.67 g/kg)共4 wk, 其他组灌胃等量蒸馏水, 取血和肝脏. 全自动生化仪检测血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST). HE、Masson染色观察肝脏病理学变化. Western blot法和qRT-PCR法检测肝脏关键蛋白表达水平和mRNA转录水平.

结果

筛选得到一贯煎成分52个, 潜在作用靶点186个, 肝纤维化疾病靶点1080个, 得到一贯煎治疗肝纤维化的关键基因, 其中亲和度前10的基因为STAT6、SRC、MAPK3、STX1A、EP300、STAT3、PLG、CTNNB1、CDKN1B、CANX, 亲和度前50的基因KEGG富集得到PI3K-Akt信号通路、FoxO信号通路等134条. 动物实验结果发现, 一贯煎能够改善CCl₄肝纤维化大鼠肝功能 and 减轻纤维化, 降低 α -肌动蛋白表达, 促进信号转导和转录激活因子6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)磷酸化, 提高过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR- γ)、白细胞分化抗原163(cluster of differentiation 163, CD163)蛋白表达和精氨酸酶1、白细胞分化抗原206、CD163mRNA转录水平, 降低白细胞介素6的mRNA转录水平.

结论

一贯煎治疗肝纤维化作用涉及多个成分、多条信号

通路, 其中包括STAT6/PPAR- γ 通路.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 一贯煎; 肝纤维化; 网络药理; 重启随机游走

核心提要: 本研究基于网络药理学方法, 通过构建一贯煎-肝纤维化蛋白互作子网络, 应用重启随机游走算法探索一贯煎治疗肝纤维化的作用机制, 实验验证表明一贯煎抗肝纤维化作用与调控STAT6/PPAR- γ 通路促进巨噬细胞向M2型极化有关.

文献来源: 崔欣怡, 姜晓丹, 李汶航, 张睿, 油红捷, 唐佐青, 马赞, 杨铮, 车念聪, 刘文兰. 基于网络药理学研究一贯煎治疗肝纤维化的有效成分及作用机制. 世界华人消化杂志 2023; 31(7): 256-267

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i7/256.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i7.256>

0 引言

肝纤维化是由细胞外基质的过度沉积导致肝脏结构和功能异常的病理变化^[1], 是慢性肝病发展到肝硬化的必经阶段. 全球每年约有100多万人死于肝硬化及其并发症, 而在早期肝纤维化干预治疗可以有效减缓肝硬化的发生发展^[2]. 肝纤维化进程中有多种细胞及细胞因子参与, 因此单一用药的效果可能有限, 而中医药具有毒副作用小, 多成分、多靶点的特点, 在抗肝纤维化领域可以发挥整体用药的优势^[3]. 一贯煎始载于魏之琇所著《续名医类案》, 由生地黄、北沙参、当归、枸杞子、麦冬、川楝子组成, 是滋阴疏肝的著名方剂, 临床上可用于治疗慢性肝炎、酒精性脂肪肝、肝纤维化等疾病, 具有很好的疗效^[4]. 由于一贯煎药理机制研究尚未明确, 阻碍了其进一步开发应用, 借助网络药理学有利于阐明其有效成分及作用机制. 因此本研究应用网络药理学方法基于邻近网络筛选一贯煎治疗肝纤维化的关键靶基因, 并通过药理实验进行验证, 旨在为后期进一步研究一贯煎治疗肝纤维化的作用机制提供基础.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物: 一贯煎组成: 由北沙参9 g、麦冬9 g、当归9 g、生地黄20 g、枸杞子12 g、川楝子4.5 g组成, 购于北京同仁堂药店. 按饮片(g):水(mL) = 1:6的比例加入蒸馏水并浸泡饮片1 h, 大火加热至沸腾, 小火煎煮20 min, 过滤, 收集滤液, 滤渣中再加入饮片(g):水(mL) = 1:4比例的蒸馏水继续煎煮30 min, 合并两次滤液, 最终将两次煎煮的汤液浓缩至1 g/mL.

1.1.2 动物: 6周龄SPF级Sprague-Dawley雄性大鼠, 体

重(200±20) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号SCXK(京)2016-0006, 动物实验伦理审查批准号: AEEI-2015-123. 饲养在首都医科大学实验动物科学部SPF级动物室, 自由饮食, 室温保持在(24±2) °C, 湿度保持在30%左右.

1.1.3 试剂与仪器: 试剂: 橄榄油(迈萨维诺特级初榨橄榄油, 希腊, 货号: 67519); 四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)(纯度≥99.0%, 上海易恩化学技术有限公司, 货号: 206848); 天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)检测试剂盒(北京莱帮生物技术有限公司, 货号: Lb10702); 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)检测试剂盒(北京莱帮生物技术有限公司, 货号: Lb10701); HE染色试剂盒(上海歌凡生物科技有限公司, 货号: 20200602); Masson三色染色试剂盒(上海歌凡生物科技有限公司, 货号: 20200704); RIPA蛋白裂解液(兰博利德, 中国, 货号: 1090121810); BCA蛋白浓度测定试剂盒(江苏碧云天公司, 货号: 010719190828); 总RNA提取试剂(苏州新赛美生物科技有限公司, 货号: M5100); SYBR Green Qpcr Master Mix(武汉赛维尔生物, 货号: MPC2011005); 兔源信号转导和转录激活因子6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)(D3H4)抗体(CST, 美国, 货号: #5397); 兔源过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR- γ)抗体(proteintech, 中国, 货号: 16643-1-AP); 兔源Anti-STAT6(phospho Y641)抗体[EPR22599-78](abcam, 美国, 货号: ab263947); 兔源白细胞分化抗原163(cluster of differentiation 163, CD163)抗体[EPR19518](abcam, 美国, 货号: ab182422); 鼠源 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)抗体(Sigma, 美国, 货号: A2547); 鼠源甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体 (Proteintech, 中国, 货号60004-1-Ig-100UL); PBS缓冲液(北京翊擎生物科技有限公司, 货号: 15002109016); 通用型抗体稀释液(苏州新赛美生物科技有限公司, 货号: WB500D).

仪器: 酶标仪(美国, 型号: Multiskan FC); 电泳槽/电泳仪(美国, 型号: bio-RAD mini-PROTEAN); 实时荧光定量PCR仪(美国, 型号: Bio-rad CFX96); 化学发光成像系统(美国, 型号: bio-RAD ChemiDoc XRS).

1.2 方法

1.2.1 一贯煎治疗肝纤维化关键基因筛选: (1)一贯煎作用靶点筛选 通过检索文献^[5-7]和中药系统药理学数据库与分析平台^[8](TCMSP, <https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>)收集药物成分信息, 以口服生物利用度≥30%; 药物相似性≥0.18为筛选条件, 获取北沙参、麦冬、当

归、生地黄、枸杞子、川楝子6味中药成分靶点信息。利用Uniprot数据库^[9](<http://www.uniprot.org/>)对筛选出的靶点基因进行标准化处理,运用Cytoscape 3.9.0软件,构建一贯煎成分-靶点网络;(2)肝纤维化疾病靶点筛选 通过人类基因综合数据库GeneCard^[10](<https://www.genecards.org/>)及人类孟德尔遗传OMIM^[11](<http://www.omim.org/>),以“liver fibrosis”为检索关键词,筛选肝纤维化疾病靶点;(3)蛋白互作网络构建 通过蛋白相互作用数据库STRING数据库^[12](<https://string-db.org/>),筛选“智人”数据可信度评分>900的蛋白互作关系,构建人类蛋白互作网络(protein-protein interaction, PPI)。合并一贯煎作用靶点和肝纤维化疾病靶点作为节点,基于人类PPI网络构建一贯煎-肝纤维化子网络;(4)基于随机游走重启算法筛选一贯煎治疗肝纤维化的关键基因 利用R语言RandomWalkRestartMH包,在子网络中基于重启随机游走(random walk with restart, RWR)算法,以一贯煎作用靶点为种子基因,设置重启概率(r)为0.75,获得与一贯煎作用靶点亲和度较高的基因为一贯煎治疗肝纤维化的关键基因;(5)基因本体(gene ontology, GO)富集分析和京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析 通过DAVID数据库^[13](<https://david.ncifcrf.gov/>),物种选择人类(Homo sapiens),对一贯煎治疗肝纤维化的关键基因中亲和度前50个关键基因进行GO分析及KEGG分析,筛选FDR值<0.05的生物过程或者相关通路。利用R语言ggplot2包进行可视化。

1.2.2 肝纤维化大鼠模型建立及分组给药:将18只SD大鼠随机分为正常组、模型组和一贯煎组,每组6只。模型组和一贯煎组大鼠每周腹腔注射三次50% CCl₄油溶液(四氯化碳:橄榄油 = 1:1),1 wk-2 wk注射剂量为2 mL/kg;3 wk-4 wk注射剂量为1 mL/kg;5 wk-6 wk注射剂量为0.5 mL/kg,正常组大鼠每周按相同剂量注射三次橄榄油。造模结束后,一贯煎组大鼠每天给予一次6.67 g/kg一贯煎溶液灌胃治疗(临床一贯煎成年人用量63.5 g,大鼠与60 kg成人按体表面积折算等效剂量比值按照6.3倍计算),共持续4 wk。正常组和模型组以等量蒸馏水灌胃。

1.2.3 样本采集:治疗结束,麻醉后腹主动脉取血,血液室温静置4 h以上,1500×g低温离心15 min,收集上层血清。分离肝脏,拍照,取约1 cm³肝组织进行固定,剩余肝组织冻存,检测相关指标。

1.2.4 血清生化指标检测:按照血清ALT和AST活性测定试剂盒,应用全自动生化分析仪检测大鼠血清ALT、AST。

1.2.5 肝脏病理切片观察:固定好的肝组织水洗后,经

过脱水-透明-浸蜡-包埋-切片等过程制作石蜡切片。进行HE染色、Masson染色的分析。

1.2.6 Western blotting检测肝脏STAT6、p-STAT6、PPAR- γ 、 α -SMA、CD163蛋白表达:取肝脏组织,加入组织蛋白抽提液(100:1:1 = RIPA裂解液:PMSF贮存液:磷酸酶蛋白抑制剂),匀浆,涡旋,冰浴20 min待裂解充分。12000 r/min离心20 min,收集上清液,即为总蛋白溶液。采用BCA法测蛋白浓度,并将各样品浓度统一为6 μ g/ μ L,金属浴90 $^{\circ}$ C 5 min使蛋白变性。冷却后,将样品加入电泳孔中,电压150 V进行电泳。将蛋白湿法转至PVDF膜,加入TBST于室温下脱色摇床上洗3次,每次5 min,使用5%脱脂奶粉(0.5% TBST配制),于摇床上封闭2 h。加入TBST于室温下脱色摇床上洗3次,每次5 min,加入一抗,4 $^{\circ}$ C摇床孵育过夜,加入TBST于室温下脱色摇床上洗3次,每次5 min。加入二抗室温孵育1 h,用TBST在室温下脱色摇床上洗3次,每次5 min。ECL底物孵育,化学发光成像系统获取蛋白条带,Image J软件处理系统分析目标带的灰度值,以GAPDH为内参计算蛋白相对表达量。

1.2.7 qRT-PCR检测肝脏 α -SMA、白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)、精氨酸酶1(arginase I, Arg-1)、白细胞分化抗原206(cluster of differentiation 206, CD206)、CD163 mRNA转录水平:剪取肝脏组织30 mg-40 mg, Trizol法提取总RNA。通过研磨、离心、抽提出总RNA,溶于20 μ L无RNA酶水中,检测RNA浓度及纯度,最后反转录浓度为5 μ g/ μ L cDNA,稀释10倍后待测。

qRT-PCR反应体系(以20 μ L体系为例)为2 $\times$ SYBR qPCR Master Mix(Low ROX): 10 μ L; Forward Primer(10 μ mol/L): 0.4 μ L; Reverse Primer(10 μ mol/L): 0.4 μ L; cDNA: 1 μ L; Nuclease-Free Water: 8.2 μ L。引物序列见表1。反应程序为预变性95 $^{\circ}$ C、30 s;变性95 $^{\circ}$ C、15 s;退火、延伸,60 $^{\circ}$ C, 30 s,循环(45次);最后仪器自带熔解曲线程序。 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因相对表达量。

统计学处理 采用Graph Pad Prism 8软件进行数据统计分析,采用单因素方差分析组间差异,组间两两比较用最小显著性差异法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一贯煎作用靶点 共获取一贯煎成分52个,潜在作用靶点186个,绘制一贯煎成分-靶点网络图,见图1。

2.2 肝纤维化疾病靶点 通过GeneCard数据库及OMIM数据库筛选得到1080个肝纤维化疾病靶点。

2.3 蛋白互作网络构建 通过String数据库,构建包含11812个节点和247200条边的人类PPI网络,以一贯煎作

表 1 引物序列

引物名称	引物序列(5'→3')
GAPDH-F	CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG
GAPDH-R	GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT
CD163-F	CTGGGATGTCCAAGTCCAT
CD163-R	AATGCTTCCCCATTCTGG
Arg-1-F	TGGACCTGGGGAACACTAT
Arg-1-R	CTTCCTCCCAGCAGGTAGC
CD206-F	TTTGGCTGGGACTGACCTA
CD206-R	GGTGTAGGCTCGGGTAGTAGTG
IL-6-F	CAACGCTGCTGGGAGTCTTGT
IL-6-R	GACAAGGCTTTTGTGTTTGCTTC
α-SMA-F	ACCCAGGCATTGCTGACAG
α-SMA-R	AGAAGCATTTGCGGTGGAC

表 2 随机游走重启算法获得亲和度前10的基因

序号	基因	评分
1	STAT6	0.002386264
2	SRC	0.002183804
3	MAPK3	0.002144015
4	STX1A	0.002072575
5	EP300	0.001943904
6	STAT3	0.001840098
7	PLG	0.001807229
8	CTNNB1	0.001723117
9	CDKN1B	0.001684177
10	CANX	0.001529570

表 3 一贯煎对肝纤维化大鼠血清ALT、AST含量的影响(U/L, n = 6, mean ± SD)

分组	ALT(U)	AST(U)
正常组	41.28 ± 10.72	103.92 ± 24.65
模型组	77.27 ± 27.82 ^b	180.02 ± 51.58 ^b
一贯煎组	40.68 ± 5.62 ^a	106.87 ± 31.21 ^e

^b*P*<0.01, 与正常组比较; ^a*P*<0.01, 与模型组比较. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶.

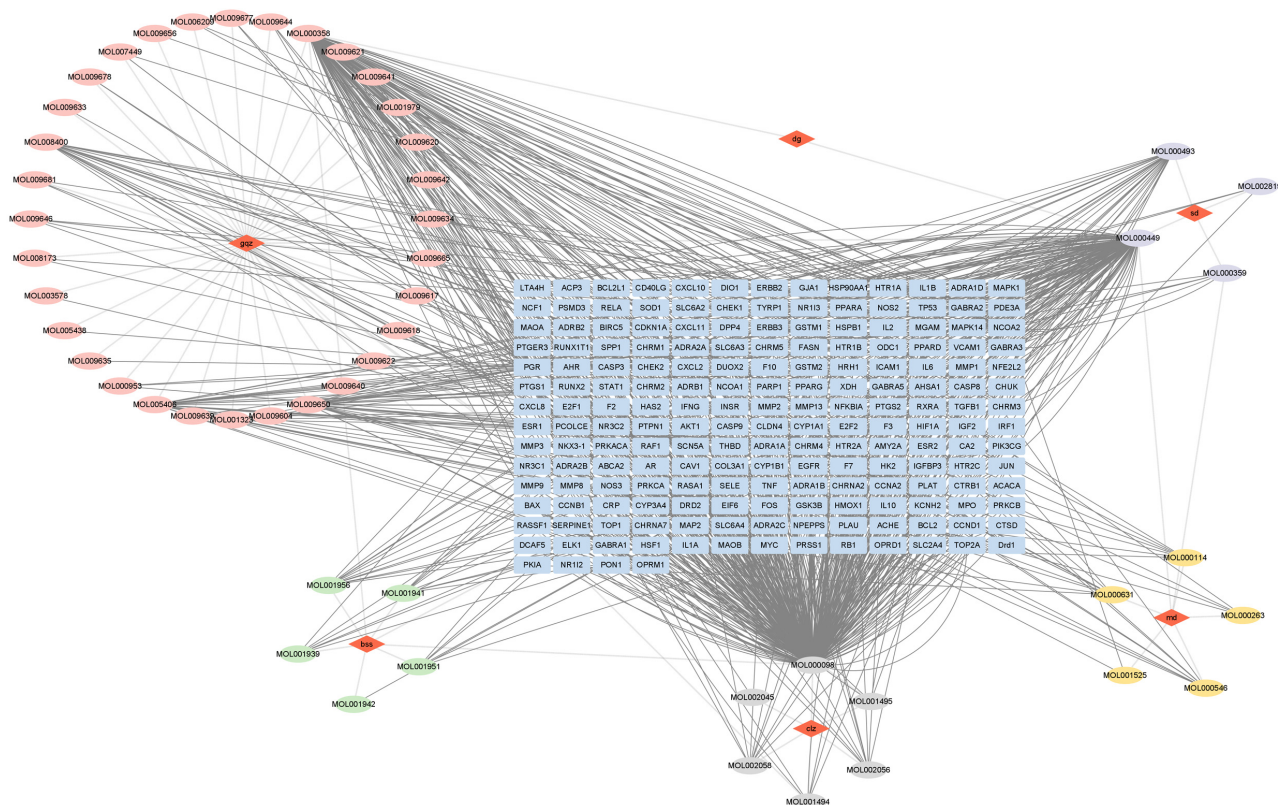
用靶点和肝纤维化疾病靶点作为节点, 排除单独蛋白, 构建有826个节点, 10270条边的一贯煎-肝纤维化子网络.

2.4 一贯煎治疗肝纤维化的关键基因 基于子网络进行RWR算法筛选得到一贯煎治疗肝纤维化的关键基因, 亲和度前10的基因见表2.

2.5 一贯煎治疗肝纤维化的关键基因的KEGG、GO富集分析 KEGG结果富集得到PI3K-Akt信号通路、FoxO信号通路、HIF-1信号通路、JAK-STAT信号通路等134条. GO富集结果显示主要涉及信号转导、凋亡过程的

负调控、细胞增殖的正调控、炎症反应等89个生物进程; 细胞质、细胞外区域、细胞外泌体等23个细胞组分; 酶结合、受体结合、蛋白磷酸酶结合等33个分子功能. 以富集基因数排序, 展示前40条KEGG通路, 前20条GO分析, 见图2.

2.6 一贯煎对肝纤维化大鼠血清ALT、AST含量的影响 生化指标检测结果见表3显示, 与正常组大鼠比较, 模型组大鼠血清中的ALT、AST水平显著上升(*P*<0.01), 提示肝功能损伤. 与模型组大鼠比较, 给予一贯煎治疗后, 大鼠血清中ALT、AST水平明显下降(*P*<0.01), 提示一贯



DOI: 10.11569/wcid.v31.i7.256 **Copyright** ©The Author(s) 2023.

图 1 一贯煎成分-靶点网络图. □: 靶点; ○: 一贯煎成分; ◇: 中药.

煎治疗具有改善大鼠肝功能的作用。

2.7 一贯煎对肝纤维化大鼠肝脏病理学的影响 HE、Masson染色结果见图3、4: 图3A、图4A显示, 正常组大鼠肝脏结构清晰、肝细胞排列规则, 胞核清楚、胞浆均匀, 仅在汇管区附近出现极少量胶原; 图3B、图4B显示, 模型组大鼠肝脏结构明显破坏, 细胞排列杂乱, 出现大量炎症细胞浸润, 可见片状和桥接坏死, 有大量蓝色胶原纤维连接形成间隔, 肝纤维化形成。提示模型组出现明显肝纤维化变化; 图3C、4C显示, 一贯煎组大鼠肝脏结构损伤明显减轻, 炎性浸润细胞明显减少, 纤维面积显著减少。提示一贯煎减轻肝纤维化程度。

2.8 一贯煎对肝组织中STAT6、p-STAT6、PPAR- γ 、 α -SMA、CD163蛋白表达的影响 WB检测结果显示:与正常组相比,模型组的 α -SMA蛋白表达水平显著升高($P<0.001$), STAT6磷酸化水平显著降低($P<0.01$), PPAR- γ 、CD163蛋白表达显著下降($P<0.05$);与模型组相比,一贯煎组 α -SMA的蛋白表达水平显著降低($P<0.01$), STAT6磷酸化水平明显上升($P<0.05$), PPAR- γ 、CD163蛋白表达显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.001$),见图5。

2.9 一贯煎对肝组织中 α -SMA、IL-6、Arg-1、CD206、CD163 mRNA转录水平影响 qRT-PCR结果显示:与正常组相比,模型组的 α -SMA、IL-6 mRNA转录

水平显著升高, M2型巨噬细胞标志物Arg-1、CD206、CD163 mRNA转录水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与模型组相比, 一贯煎组 α -SMA、IL-6的mRNA转录水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), Arg-1、CD206、CD163 mRNA转录水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 见图6。

3 讨论

网络药理可以帮助探究药物、靶点与疾病之间的相互作用,尤其适用于成分复杂的中药复方^[14]。通过药物作用靶点和疾病靶点构建PPI子网络,可以在更大范围寻找有效的潜在作用靶点,进一步预测药物作用机制^[15,16]。本研究基于人类PPI网络以药物作用靶点和疾病靶点为节点构建一贯煎-肝纤维化PPI子网络,利用RWR算法筛选一贯煎治疗肝纤维化的关键靶点。

根据RWR评分,与一贯煎作用靶点亲和度较高的前10位基因有STAT6、SRC、MAPK3、STX1A、EP300、STAT3、PLG、CTNNB1、CDKN1B、CANX。其中多数基因与肝纤维化的形成和逆转密切相关: 转录因子家族中的成员, 信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)以及STAT6在细胞生长、分化等基本细胞过程中发挥着至关重要的作用^[17]。其中, 抑制STAT3表达水平, 能够减少

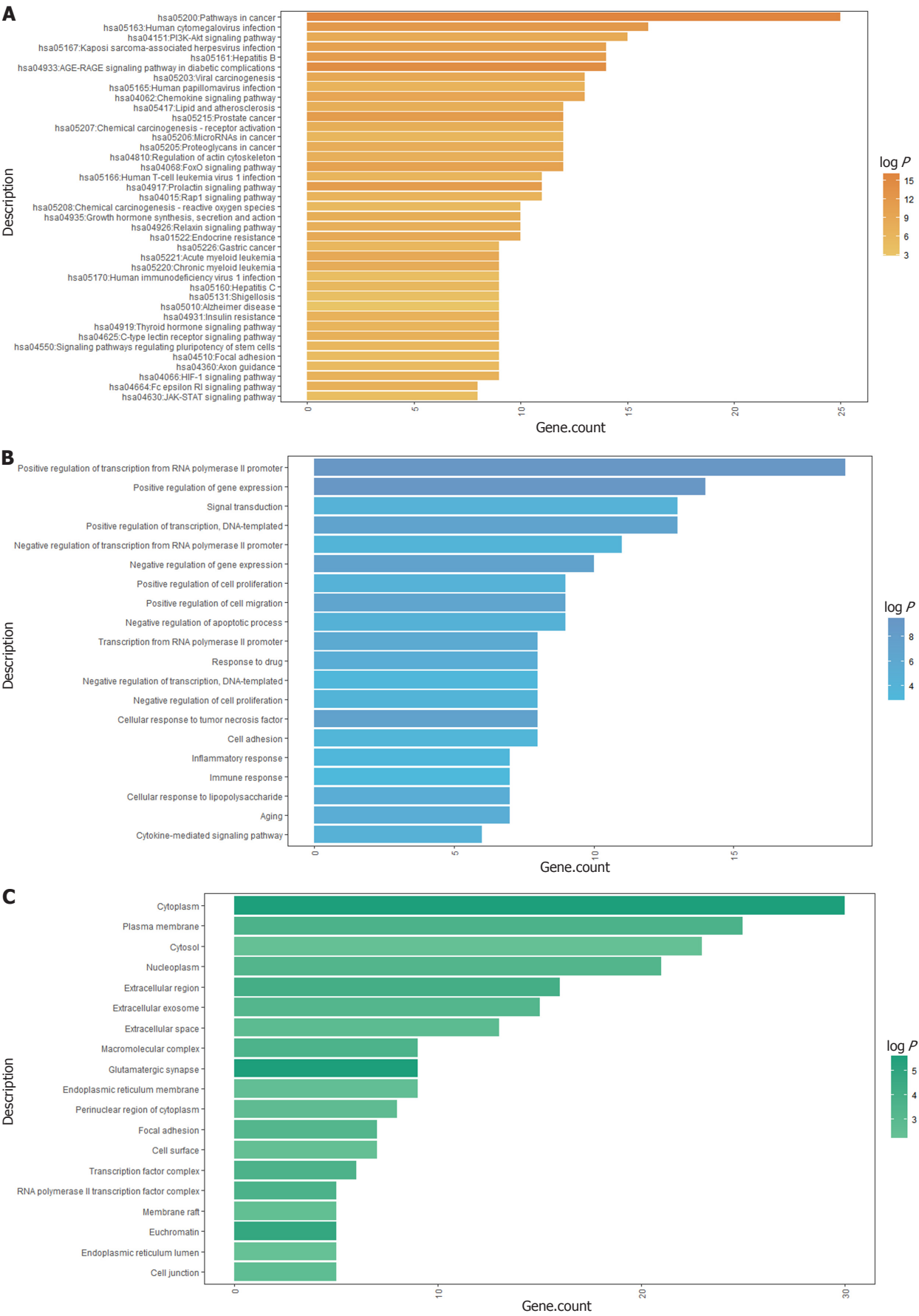




图 2 一贯煎治疗肝纤维化关键基因GO富集分析和KEGG富集分析. A: KEGG富集分析; B: GO生物进程分析; C: GO细胞成分分析; D: GO分子功能分析. GO: 基因本体; KEGG: 京都基因和基因组百科全书.

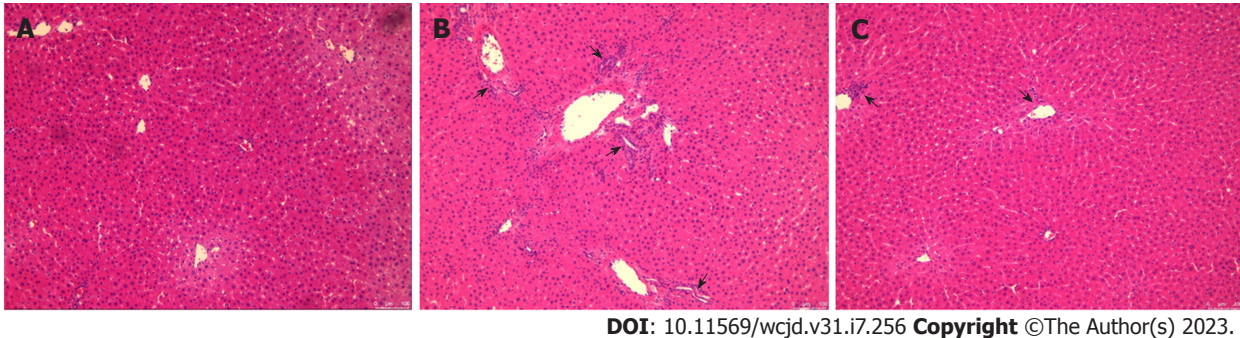


图 3 HE染色(200×). A: 正常组; B: 模型组; C: 一贯煎组. 黑色箭头: 炎性细胞浸润.

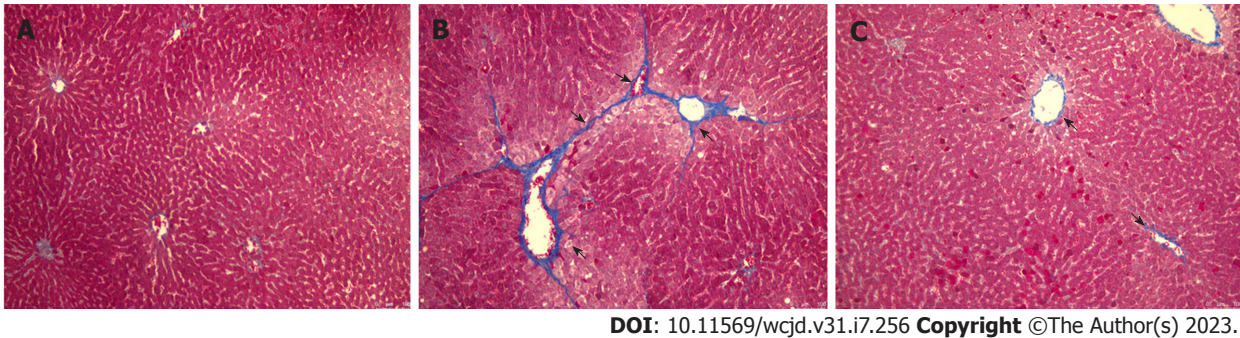
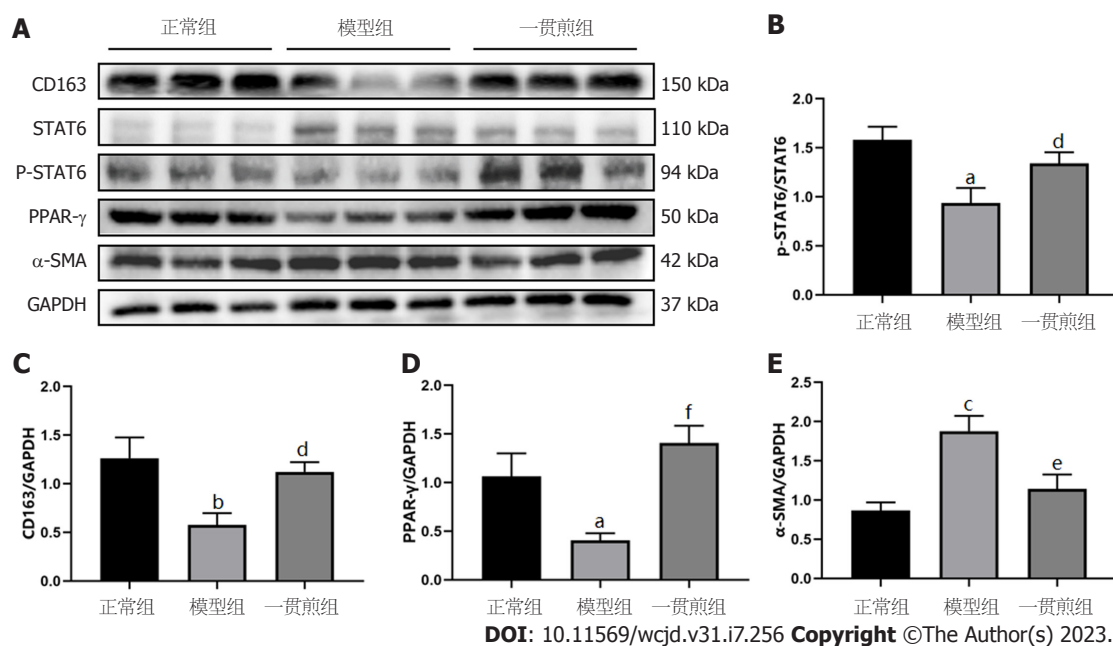


图 4 Masson染色(200×). A: 正常组; B: 模型组; C: 一贯煎组. 黑色箭头: 胶原纤维增生.

细胞外基质沉积, 减轻肝纤维化^[18]. STAT6的磷酸化可以诱导肝脏巨噬细胞向抗炎(M2)型转换^[19]. M2型巨噬细胞在肝纤维化消退过程中, 也发挥逆转纤维化的作用^[20]. 如M2型巨噬细胞可以表达Arg-1对抑制和消除纤维化极为重要^[21]; M2型巨噬细胞分泌的外泌体中microRNA-

411-5p可以下调钙调素调节蛋白表达抑制肝星状细胞活化, 从而逆转肝纤维化^[22]. 原癌基因酪氨酸蛋白激酶(proto-oncogene tyrosine-protein kinase, SRC)通过STAT3、蛋白激酶B等磷酸化, 从而调节各种生物活性, 包括细胞存活、增殖和迁移^[23,24]. 研究表明SRC促进肝



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i7.256 Copyright ©The Author(s) 2023.

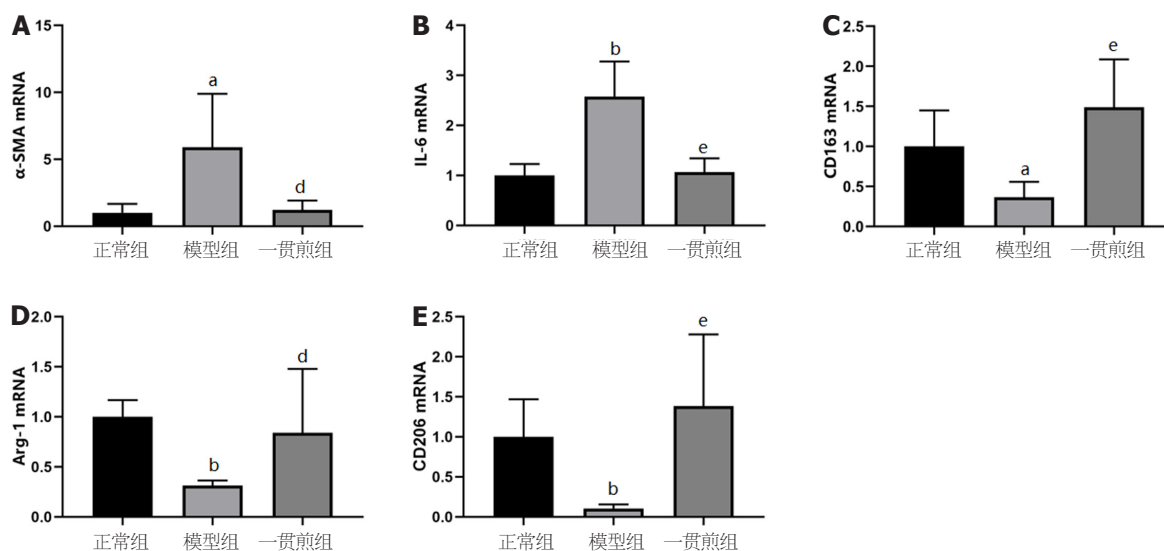
图 5 各组大鼠肝组织 α -SMA、STAT6、p-STAT6、PPAR- γ 、CD163蛋白表达水平分析. A: 各组大鼠肝组织中 α -SMA、STAT6、p-STAT6、PPAR- γ 、CD163蛋白表达的代表性条带; B: p-STAT6蛋白表达水平的统计结果; C: CD163蛋白表达水平的统计结果; D: PPAR- γ 蛋白表达水平的统计结果; E: α -SMA蛋白表达水平的统计结果. 数据以平均值 $\pm$ SEM表示, $n = 3$, $^aP < 0.05$, 与正常组比较; $^bP < 0.01$, 与正常组比较; $^cP < 0.001$, 与正常组比较; $^dP < 0.05$, 与模型组比较; $^eP < 0.01$, 与模型组比较; $^fP < 0.001$, 与模型组比较. α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; STAT6: 信号转导和转录激活因子6; p-STAT6: 磷酸化信号转导和转录激活因子6; PPAR- γ : 过氧化物酶体增殖物激活受体- γ ; CD163: 白细胞分化抗原163.

星状细胞活化, 刺激转化生长因子- β 的产生, 抑制SRC的表达可以预防肝纤维化的形成^[25]. 组蛋白乙酰基转移酶EP300^[26]、细胞内支架蛋白 β -catenin(由CTNNB1编码产生)^[27]、细胞周期抑制蛋白p27(由CDKN1B编码产生)^[28]以及ER应激关键因子钙连蛋白(由CANX编码产生)^[29]的表达均可通过减少肝星状细胞活化或促进肝星状细胞凋亡, 来改善肝纤维化. 纤溶酶原(plasminogen, PLG)是血液中的一种纤溶因子, 会促进低密度脂蛋白的摄取导致巨噬细胞发泡, 实验表明, 抑制PLG可减少巨噬细胞发泡, 从而减轻非酒精性脂肪性肝炎导致的纤维化^[30]. 以上结果显示通过PPI子网络筛选得到的关键基因可以作为抗肝纤维化的潜在治疗基因, 为一贯煎抗肝纤维化的机制研究提供理论依据.

对亲和度前50个关键基因进行通路富集分析, 结果表明一贯煎抗肝纤维化作用涉及多个通路, 如PI3K-Akt信号通路、FoxO信号通路、HIF-1信号通路、JAK-STAT信号通路等. 研究显示, PI3K/Akt信号通路在调控细胞增殖、凋亡方面发挥重要作用, 肝康片可以激活PI3K/Akt信号通路, 抑制下游相关凋亡基因, 减少肝细胞凋亡, 有效减轻大鼠肝纤维化, 保护肝脏^[31]. FoxO信号通路可以诱导线粒体自噬, 从而减轻肝脏氧化应激反应, 缓解肝组织损伤^[32]. HIF-1信号通路是应答缺氧应激的关键通路, HIF-1 α 是缺氧诱导因子1(hypoxia-inducible

factor-1, HIF-1)的一个亚型, 肝损伤会引起肝缺氧和HIF-1 α 持续激活, 导致生长促进因子持续产生, 最终引起胶原蛋白的累积和肝纤维化的形成^[33]. 通过抑制HIF-1 α 的表达, 可以减缓肝组织纤维化进程^[34]. JAK-STAT信号通路主要由酪氨酸激酶相关受体、Janus激酶以及信号转导和转录激活因子组成, 可以被白细胞介素4、IL-6等细胞因子激活, 调控靶基因转录与表达, 在肝纤维化的形成过程发挥重要的调控作用^[35]. 徐冲等^[36]发现高车前素通过干预JAK1/STAT3信号通路可有效减轻CCl₄诱导小鼠肝纤维化程度和炎症小鼠的肝损伤和炎症程度. 因此, 一贯煎抗肝纤维化的主要途径可能参与多条通路, 涉及缺氧、细胞增殖、凋亡、氧化应激等多个环节.

根据网络药理学结果, 选择RWR结果评分最高的STAT6基因进行动物实验验证, 以探究一贯煎抗纤维化的作用机制. PPAR- γ 属于核受体超家族, 是一种配体激活的转录因子^[37]. PPAR- γ 是M2型巨噬细胞成熟的必要条件^[38], 其与STAT6的相互作用能够促使巨噬细胞向M2型极化^[39]. Western blot和qRT-PCR实验表明一贯煎可以促进STAT6蛋白磷酸化, 上调PPAR- γ 表达, 同时, M2型巨噬细胞标志物CD163蛋白及CD206、Arg-1 mRNA转录水平增加, 提示一贯煎促进巨噬细胞向M2型极化. 此外, 说明一贯煎通过调控STAT6磷酸化诱导巨噬细胞极化可以作为抗肝纤维化的靶点, 在一定程度上验证了本次网络



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i7.256 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 6 各组大鼠肝组织 α -SMA, IL-6、Arg-1、CD206、CD163 mRNA转录水平分析. A: α -SMA mRNA转录水平的统计结果; B: IL-6 mRNA转录水平的统计结果; C: CD163 mRNA转录水平的统计结果; D: Arg-1 mRNA转录水平的统计结果; E: CD206 mRNA转录水平的统计结果. 数据以平均值 $\pm$ SEM表示, $n = 3$, $^aP < 0.05$, 与正常组比较; $^bP < 0.01$, 与正常组比较; $^dP < 0.05$, 与模型组比较; $^eP < 0.01$, 与模型组比较. α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白; IL-6: 白细胞介素6; Arg-1: 精氨酸酶1; CD206: 白细胞分化抗原206; CD163: 白细胞分化抗原163.

药理学结果的可靠性.

潜在作用机制.

4 结论

本研究借助网络药理学方法探究一贯煎治疗肝纤维化可能的作用靶标及途径, 预测一贯煎可以通过多种成分、多条通路治疗肝纤维化. 通过实验验证发现一贯煎可以通过调控STAT6/PPAR- γ 通路促进巨噬细胞向M2型极化, 发挥逆转肝纤维化的作用, 为后续深入研究一贯煎治疗肝纤维化的作用机制提供科学依据.

文章亮点

实验背景

肝纤维化是慢性肝病向肝硬化发展过程中的重要过程, 阻止、甚至逆转肝纤维化进程具有重要临床意义. 中医对肝纤维化虽无确定病名, 但肝纤维化的主要临床表现可将其归属于“胁痛”、“积聚”或“鼓胀”等范畴, 在中医药宝库中留有大量治疗此类疾病的珍贵方剂, 其中一贯煎配伍精当, 是治疗肝纤维化肝肾阴虚证的首选方剂.

实验动机

探索一贯煎治疗肝纤维化作用机制对于其开发和推广具有重要意义.

实验目标

通过网络药理学方法探索一贯煎治疗肝纤维化机制的

实验方法

通过搜索文献和TCMSP数据库收集一贯煎成分及靶点, GeneCard、OMIM数据库收集肝纤维化疾病靶点. 基于STRING数据库构建一贯煎-肝纤维化蛋白互作子网络, 应用重启随机游走算法获得一贯煎治疗肝纤维化的关键基因, 通过基因本体富集分析与京都基因和基因组百科全书通路分析关键基因主要参与的生物学过程与信号通路. 进行实验验证. 给予四氯化碳油溶液建立肝纤维化大鼠模型. 并用一贯煎进行治疗. 收集大鼠血清和肝组织. 检测血清肝功能指标天冬氨酸转氨酶、丙氨酸转氨酶变化. HE、Masson染色观察肝脏病理学变化. Western blot法和qRT-PCR法检测一贯煎对肝纤维化标志 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、炎症标志物白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、关键基因信号转导和转录激活因子6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)、p-STAT6、过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR- γ)、M2巨噬细胞标志白细胞分化抗原163(cluster of differentiation 163, CD163)、精氨酸酶1(arginase I, Arg-1)、白细胞分化抗原206(cluster of differentiation 206, CD206)蛋白表达及mRNA转录水平的影响.

实验结果

收集得到一贯煎成分52个, 靶点186个, 肝纤维化疾病靶

点1080个, 得到一贯煎治疗肝纤维化亲和度前10的关键基因有STAT6、SRC、MAPK3、STX1A、EP300、STAT3、PLG、CTNNB1、CDKN1B、CANX。GO富集分析和KEGG富集分析结果显示主要涉及信号转导、凋亡过程的负调控等生物进程; 细胞质、细胞外区域等细胞组分; 酶结合、受体结合等分子功能。涉及PI3K-Akt信号通路、FoxO信号通路等。实验验证结果发现, 一贯煎能够改善大鼠肝功能, 减轻纤维化, 降低 α -SMA表达及IL-6的mRNA转录水平, 促进STAT6磷酸化, 提高PPAR- γ 、CD163蛋白表达和Arg-1、CD206、CD163 mRNA转录水平。

实验结论

网络药理学预测结果显示一贯煎可以通过多种成分、多条通路治疗肝纤维化, STAT6、SRC、MAPK3、STX1A、EP300、STAT3、PLG、CTNNB1、CDKN1B、CANX是一贯煎治疗肝纤维化的关键基因。实验验证证明一贯煎可以减轻肝纤维化症状, 与调控STAT6/PPAR- γ 通路促进巨噬细胞向M2型极化有关。

展望前景

本研究借助网络药理学方法对一贯煎治疗肝纤维化作用机制进行预测, 并对预测结果进行了简单验证, 但对亲和度评分最高的基因进行了基本验证, 还需对其他基因及机制进行进一步研究, 有望为一贯煎治疗肝纤维化的作用机制及药物开发提供新思路。

5 参考文献

- 1 Kisseleva T, Brenner D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021; 18: 151-166 [PMID: 33128017 DOI: 10.1038/s41575-020-00372-7]
- 2 Ginès P, Castera L, Lammert F, Graupera I, Serra-Burriel M, Allen AM, Wong VW, Hartmann P, Thiele M, Caballeria L, de Knecht RJ, Grgurevic I, Augustin S, Tsochatzis EA, Schattenberg JM, Guha IN, Martini A, Morillas RM, Garcia-Retortillo M, de Koning HJ, Fabrellas N, Pich J, Ma AT, Diaz MA, Roulot D, Newsome PN, Manns M, Kamath PS, Krag A; LiverScreen Consortium Investigators. Population screening for liver fibrosis: Toward early diagnosis and intervention for chronic liver diseases. *Hepatology* 2022; 75: 219-228 [PMID: 34537988 DOI: 10.1002/hep.32163]
- 3 徐列明, 刘平, 沈锡中, 吴亚云, 平健. 肝纤维化中西医结合诊疗指南(2019年版). *中国中西医结合杂志* 2019; 39: 1286-1295
- 4 郑嘉琦, 张定棋, 简迅, 刘伟, 陈佳美, 慕永平, 徐莹. 经典名方一贯煎治疗慢性肝病的临床与基础研究进展. *上海中医药杂志* 2021; 55: 96-100 [DOI: 10.16305/j.1007-1334.2021.2003280]
- 5 彭婉, 马骁, 王建, 曾南, 董泰玮, 李雷, 李敏. 麦冬化学成分及药理作用研究进展. *中草药* 2018; 49: 477-488
- 6 李小辉, 袁名睿, 陆雪萍, 陆礼和, 李战国, 梅双喜, 王京昆, 董汛. 麦冬的化学成分研究. *中草药* 2021; 52: 3804-3809
- 7 张波泳, 江振作, 王跃飞, 杨龙, 杨帆, 于卉娟. UPLC/ESI-Q-TOF MS法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分. *中成药* 2016; 38: 1104-1108
- 8 Ru J, Li P, Wang J, Zhou W, Li B, Huang C, Li P, Guo Z, Tao

- W, Yang Y, Xu X, Li Y, Wang Y, Yang L. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines. *J Cheminform* 2014; 6: 13 [PMID: 24735618 DOI: 10.1186/1758-2946-6-13]
- 9 Wang Y, Wang Q, Huang H, Huang W, Chen Y, McGarvey PB, Wu CH, Arighi CN; UniProt Consortium. A crowdsourcing open platform for literature curation in UniProt. *PLoS Biol* 2021; 19: e3001464 [PMID: 34871295 DOI: 10.1371/journal.pbio.3001464]
- 10 Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, Zimmerman S, Twik M, Fishilevich S, Stein TI, Nudel R, Lieder I, Mazor Y, Kaplan S, Dahary D, Warshawsky D, Guan-Golan Y, Kohn A, Rappaport N, Safran M, Lancet D. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. *Curr Protoc Bioinformatics* 2016; 54: 1.30.1-1.30.33 [PMID: 27322403 DOI: 10.1002/cpb.5]
- 11 Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, Altman RB, Klein TE. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92: 414-417 [PMID: 22992668 DOI: 10.1038/clpt.2012.96]
- 12 Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, Lyon D, Kirsch R, Pyysalo S, Doncheva NT, Legeay M, Fang T, Bork P, Jensen LJ, von Mering C. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Res* 2021; 49: D605-D612 [PMID: 33237311 DOI: 10.1093/nar/gkaa1074]
- 13 Sherman BT, Hao M, Qiu J, Jiao X, Baseler MW, Lane HC, Imamichi T, Chang W. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Res* 2022; 50: W216-W221 [PMID: 35325185 DOI: 10.1093/nar/gkac194]
- 14 Zhang R, Zhu X, Bai H, Ning K. Network Pharmacology Databases for Traditional Chinese Medicine: Review and Assessment. *Front Pharmacol* 2019; 10: 123 [PMID: 30846939 DOI: 10.3389/fphar.2019.00123]
- 15 Wei X, Hou W, Liang J, Fang P, Dou B, Wang Z, Sai J, Xu T, Ma C, Zhang Q, Cheng F, Wang X, Wang Q. Network Pharmacology-Based Analysis on the Potential Biological Mechanisms of Sinisan Against Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Front Pharmacol* 2021; 12: 693701 [PMID: 34512330 DOI: 10.3389/fphar.2021.693701]
- 16 Yu J, Fu Y, Zeng L, Zheng Y. Investigating the active components of Huatan Tongjing decoction for the treatment of polycystic ovary syndrome via network pharmacology. *Chem Biol Drug Des* 2022; 100: 515-524 [PMID: 35822313 DOI: 10.1111/cbdd.14117]
- 17 Kong X, Horiguchi N, Mori M, Gao B. Cytokines and STATs in Liver Fibrosis. *Front Physiol* 2012; 3: 69 [PMID: 22493582 DOI: 10.3389/fphys.2012.00069]
- 18 Tang M, Chen Y, Li B, Sugimoto H, Yang S, Yang C, LeBleu VS, McAndrews KM, Kalluri R. Therapeutic targeting of STAT3 with small interference RNAs and antisense oligonucleotides embedded exosomes in liver fibrosis. *FASEB J* 2021; 35: e21557 [PMID: 33855751 DOI: 10.1096/fj.202002777RR]
- 19 Li Y, Sheng Q, Zhang C, Han C, Bai H, Lai P, Fan Y, Ding Y, Dou X. STAT6 up-regulation amplifies M2 macrophage anti-inflammatory capacity through mesenchymal stem cells. *Int Immunopharmacol* 2021; 91: 107266 [PMID: 33321466 DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107266]
- 20 Cheng D, Chai J, Wang H, Fu L, Peng S, Ni X. Hepatic macrophages: Key players in the development and progression of liver fibrosis. *Liver Int* 2021; 41: 2279-2294 [PMID: 33966318 DOI: 10.1111/liv.14940]
- 21 Pesce JT, Ramalingam TR, Mentink-Kane MM, Wilson MS, El Kasm K, Smith AM, Thompson RW, Cheever AW, Murray PJ, Wynn TA. Arginase-1-expressing macrophages suppress Th2 cytokine-driven inflammation and fibrosis. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000371 [PMID: 19360123 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000371]
- 22 Wan Z, Yang X, Liu X, Sun Y, Yu P, Xu F, Deng H. M2

- macrophage-derived exosomal microRNA-411-5p impedes the activation of hepatic stellate cells by targeting CAMSAP1 in NASH model. *iScience* 2022; 25: 104597 [PMID: 35789846 DOI: 10.1016/j.isci.2022.104597]
- 23 Jiang XL, Deng B, Deng SH, Cai M, Ding WJ, Tan ZB, Chen RX, Xu YC, Xu HL, Zhang SW, Zhang SQ, Liu B, Zhang JZ. Dihydrotanshinone I inhibits the growth of hepatoma cells by direct inhibition of Src. *Phytomedicine* 2022; 95: 153705 [PMID: 34538671 DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153705]
 - 24 Zhang L, Zhou F, Drabsch Y, Gao R, Snaar-Jagalska BE, Mickanin C, Huang H, Sheppard KA, Porter JA, Lu CX, ten Dijke P. USP4 is regulated by AKT phosphorylation and directly deubiquitylates TGF- β type I receptor. *Nat Cell Biol* 2012; 14: 717-726 [PMID: 22706160 DOI: 10.1038/ncb2522]
 - 25 Seo HY, Lee SH, Lee JH, Kang YN, Hwang JS, Park KG, Kim MK, Jang BK. Src Inhibition Attenuates Liver Fibrosis by Preventing Hepatic Stellate Cell Activation and Decreasing Connective Tissue Growth Factor. *Cells* 2020; 9 [PMID: 32120837 DOI: 10.3390/cells9030558]
 - 26 Zhao J, Peng L, Cui R, Guo X, Yan M. Dimethyl α -ketoglutarate reduces CCl₄-induced liver fibrosis through inhibition of autophagy in hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 481: 90-96 [PMID: 27823933 DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.11.010]
 - 27 Rong X, Liu J, Yao X, Jiang T, Wang Y, Xie F. Human bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes alleviate liver fibrosis through the Wnt/ β -catenin pathway. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10: 98 [PMID: 30885249 DOI: 10.1186/s1328701912042]
 - 28 Wang L, Bai G, Chen F. Human bone marrow mesenchymal stem cells suppress the proliferation of hepatic stellate cells by inhibiting the ubiquitination of p27. *Biochem Cell Biol* 2017; 95: 628-633 [PMID: 28746817 DOI: 10.1139/bcb20170127]
 - 29 He L, Hou X, Fan F, Wu H. Quercetin stimulates mitochondrial apoptosis dependent on activation of endoplasmic reticulum stress in hepatic stellate cells. *Pharm Biol* 2016; 54: 3237-3243 [PMID: 27572285 DOI: 10.1080/13880209.2016.1223143]
 - 30 Tomonari Y, Iwaki T, Arakawa T, Umemura K. Inhibition of plasminogen suppresses fibrosis and macrophage foaming in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model. *Fundam Clin Pharmacol* 2022; 36: 827-836 [PMID: 35261068 DOI: 10.1111/fcp.12774]
 - 31 郝志明, 窦琴, 包晓云. 基于PI3K/Akt信号通路探讨肝康片对四氯化碳致肝纤维化大鼠肝功能的保护机制. *现代消化及介入诊疗* 2020; 25: 188-192
 - 32 廖丹, 钱波, 徐敏. FoxO1转录因子与肝纤维化的关系研究进展. *中国医药导报* 2019; 16: 54-57
 - 33 Zhan L, Huang C, Meng XM, Song Y, Wu XQ, Yang Y, Li J. Hypoxia-inducible factor-1 α in hepatic fibrosis: A promising therapeutic target. *Biochimie* 2015; 108: 1-7 [PMID: 25447141 DOI: 10.1016/j.biochi.2014.10.013]
 - 34 张禹, 黄秋思, 刘定, 杨沈秋. 疏肝化痰益气法对肝纤维化大鼠 HIF-1 α 、VEGF表达的影响. *吉林中医药* 2020; 40: 230-233 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2020.02.027]
 - 35 潘金, 琚坚. JAK/STAT信号转导通路在肝纤维化形成中的作用. *临床肝胆病杂志* 2013; 29: 393-396
 - 36 徐冲, 秦小东, 任丽, 罗先钦. 基于JAK1/STAT3信号通路研究高车前素对肝纤维化小鼠的影响. *中草药* 2022; 53: 6093-6100
 - 37 Li J, Guo C, Wu J. The Agonists of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ for Liver Fibrosis. *Drug Des Devel Ther* 2021; 15: 2619-2628 [PMID: 34168433 DOI: 10.2147/DDDT.S310163]
 - 38 Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Goforth MH, Morel CR, Subramanian V, Mukundan L, Red Eagle A, Vats D, Brombacher F, Ferrante AW, Chawla A. Macrophage-specific PPAR γ controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature* 2007; 447: 1116-1120 [PMID: 17515919 DOI: 10.1038/nature05894]
 - 39 Lee YJ, Kim BM, Ahn YH, Choi JH, Choi YH, Kang JL. STAT6 Signaling Mediates PPAR γ Activation and Resolution of Acute Sterile Inflammation in Mice. *Cells* 2021; 10 [PMID: 33652833 DOI: 10.3390/cells10030501]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

