

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-01-008

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

## 枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝病生物学靶点网络药理学研究

鲍家成, 杨渊

(桂林医学院公共卫生学院/广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室, 桂林 541199)

**摘要** **目的** 通过网络药理学研究枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 的生物学靶点和作用机制。**方法** 通过本草组鉴 (HERB) 数据库、SwissADME 和中医药系统药理学 (TCMSP) 数据库筛选枸骨叶的活性成分, 通过 TCMSP 和 Swiss Target Prediction 和 GeneCards 数据库获得相关靶点, 使用 Cytospace 和 STRING 绘制化合物-靶点-疾病和蛋白-蛋白互作网络 (PPI) 图, 使用 DAVID 数据库进行基因功能分类体系 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。**结果** 分离得到槲皮素、山柰酚、多梗白菜菊素高中心度化合物, 血管内皮生长因子 A (VEGFA)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和肿瘤坏死因子 (TNF) 等 10 个关键蛋白。富集分析显示, 枸骨叶治疗 NAFLD 与 TNF、IL-17 和晚期糖基化产物 (AGE)-晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 信号通路有关。分子对接显示关键化合物和关键靶点对接较好。**结论** 枸骨叶通过调控 TNF、IL-17、AGE-RAGE、CLR 和 TLR 信号通路, 治疗 NAFLD。

**关键词**: 网络药理学; 枸骨叶; 非酒精性脂肪肝病

中图分类号: R575.5

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)01-0050-11

## Network pharmacology study on *Ilex cornuta folium* in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease

BAO Jiacheng, YANG Yuan

(College of Public Health/Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposure Omics and Whole Life Cycle Health, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

**Abstract** **Objective** To investigate the biological targets and mechanism action of treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) effect of *Ilex cornuta folium* based on network pharmacology. **Methods** Through the HERB database, SwissADME, and Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Platform (TCMSP) database, active ingredients of *Ilex cornuta folium* were screened. Relevant targets were obtained through TCMSP, Swiss Target Prediction, and GeneCards databases.

基金项目: 广西科技计划项目 (桂科 AD21220070)。

第一作者: 鲍家成, 硕士研究生, 研究方向为动物毒理学。

通信作者: 杨渊, yang1977yuan@yeah.net。

Compound-target-disease and protein-protein interaction (PPI) networks were constructed using Cytospace and STRING. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis were performed using the DAVID database. **Results** Separate and obtain high concentration compounds of quercetin, kaempferol, and multi stem cabbage chrysanthemum, Vascular endothelial growth factor A (VEGFA), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and 10 key proteins such as tumor necrosis factor (TNF), enrichment analysis, Ilex cornuta folium treatment of NAFLD may be related to signaling pathways such as TNF, IL-17, advanced glycosylation product (AGE)-receptor for advanced glycosylation end products (RAGE), and molecular docking analysis showed good docking of key compounds and key targets. **Conclusion** Ilex cornuta folium treat NAFLD by modulating TNF, IL-17, AGE-RAGE, CLR and TLR signaling pathways.

**Keywords:** network pharmacology; Ilex cornuta folium; nonalcoholic fatty liver disease

非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种因脂质代谢紊乱导致肝脏脂肪变性的肝脏疾病, 与胰岛素抵抗、遗传易感性和心血管疾病发生密切相关<sup>[1]</sup>。非酒精性脂肪肝严重影响糖尿病和肥胖人群的生活和健康, 随着肥胖人群数量的增加和发病年龄的年轻化, 对该病的预防和治疗越来越重要。因此, 尽早诊断治疗非酒精性脂肪肝有助于消除人群健康风险, 改善患者的预后情况。

枸骨, 又名: 猫儿刺, 属于冬青科冬青属常绿灌木, 主要以叶入药。枸骨叶是传统中药材, 中医上具有补肝肾、养气血、祛风湿的作用, 在现代医学主要用于降血脂、血糖、抗氧化、抗菌、扩张冠状动脉、抗肿瘤等作用<sup>[2]</sup>。有研究表明, 枸骨叶的三萜皂苷类、苯丙素类和黄酮类化合物有抗氧化作用<sup>[3]</sup>。枸骨叶的乙酸乙酯提取物可以抑制细菌生长, 具有抗炎作用<sup>[4]</sup>, 三萜类化合物有降血脂功效, 其中的熊果酸有抗肿瘤作用<sup>[5]</sup>。现代药理学研究表明, 枸骨叶具有较好的非酒精性脂肪肝治疗效果, 但作用机制尚不明确。本研究通过网络药理学的方法, 预测分析枸骨叶活性成分治疗非酒精性脂肪肝的潜在生物学靶点及分子相互作用, 为非酒精性脂肪肝的干预治疗提供理论基础和研究方向。

## 1 方法

### 1.1 活性成分筛选

通过本草组鉴数据库 (HERB) (<http://herb.ac.cn/>), 进行枸骨叶化学活性成分的筛选, 使用中

医药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP) (<https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 和 SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) 对化合物进行类药性和生物利用度分析筛选。TCMSP 设置口服利用率 (oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ , 类药性 (drug likeness, DL)  $\geq 0.18$ , SwissADME 设置类药性满足任意 3 种评估模型 (Lipinski, Ghose, Veber, Egan 和 Muegge) 合格且生物利用度评分 (Bioacailbility Score)  $\geq 0.55$ <sup>[6]</sup>。

### 1.2 靶点预测和可视化分析

通过 TCMSP 和 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 数据库对符合条件的化合物进行靶点预测。使用 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 获得非酒精性脂肪肝的相关靶点。将化合物预测的靶点和非酒精性脂肪肝的相关靶点进行交集, 并通过 Cytoscape 3.9.1 绘制化合物-靶点-疾病网络图。

### 1.3 蛋白质相互作用分析

将交集得到的共同靶点通过 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 物种设置为 Homo Sapiens, 得到蛋白质-蛋白质互作网络图 (protein-protein interaction, PPI), 导入 Cytoscape 3.9.1 中采用极大团中心度 (maximal clique centrality, MCC) 算法得到 PPI 网络中的核心靶点 TOP10。

### 1.4 基因富集分析

将共同靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 物种设置为 Homo Sapiens, 进行基因功

能分类体系(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析。

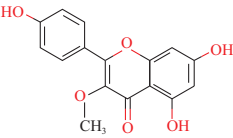
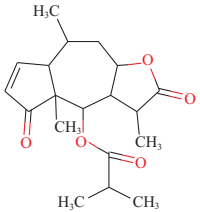
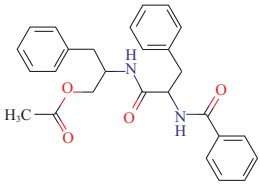
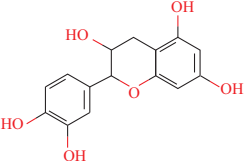
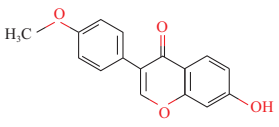
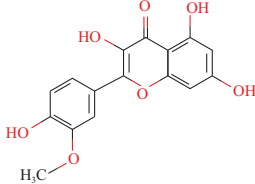
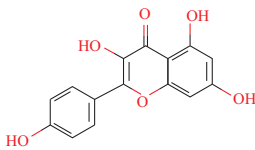
## 2 结果

### 2.1 活性成分筛选

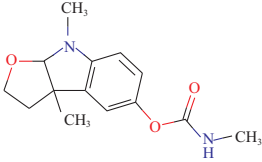
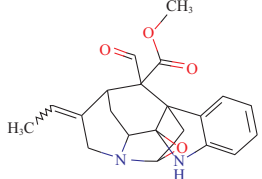
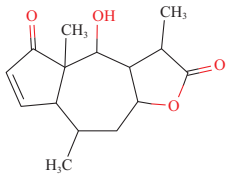
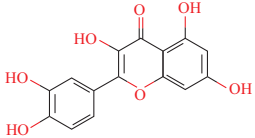
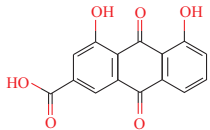
通过 HERB 数据库共获得 137 个化合物,通过口服利用度、类药性和生物利用度的筛选,去除矿物

质和维生素,得到符合的化合物共 12 个,主要包括黄酮类化合物(异山柰素、(+)-儿茶素五乙酸酯、异鼠李素、山柰酚、槲皮素),倍半萜类化合物(山金车内酯 C、多梗白菜菊素),异黄酮类(芒柄花黄素),生物碱(金色酰胺醇酯、毒扁豆次碱、鸭脚树叶醛碱)和蒽醌类化合物(大黄酸)5 类,如表 1 所示。

表 1 枸骨叶活性成分

序号	名称	结构	类型
1	异山柰素 (3-methylkempferol)		黄酮类
2	山金车内酯 C (arnicolide C)		倍半萜类
3	金色酰胺醇酯 (aurantiamide acetate)		生物碱
4	(+)-儿茶素五乙酸酯 [(+)-catechin]		黄酮类
5	芒柄花黄素 (formononetin)		异黄酮类
6	异鼠李素 (isorhamnetin)		黄酮类
7	山柰酚 (kaempferol)		黄酮类

续表

序号	名称	结构	类型
8	毒扁豆次碱 (physovenine)		生物碱
9	鸭脚树叶醛碱 (picralinal)		生物碱
10	多梗白菜菊素 (plenolin)		倍半萜类
11	槲皮素 (quercetin)		黄酮类
12	大黄酸 (rhein)		蒽醌类

## 2.2 化合物-靶点-疾病网络构建与拓扑分析

通过 TCMSP 和 Swiss Target Prediction 数据库对枸骨叶的活性化合物潜在靶点进行预测, 共获得潜在靶点 525 个。通过 Genecards 和 OMIM 数据库获得非酒精性脂肪肝的相关靶点, 其中 Genecard 以

相关性评分  $\geq 0.5$  分为标准, 共获得非酒精性脂肪肝相关基因 2 230 个。将预测得到的活性化合物和非酒精性脂肪肝相关靶点用韦恩图做交集, 共得到交集靶点 177 个, 如图 1 所示。

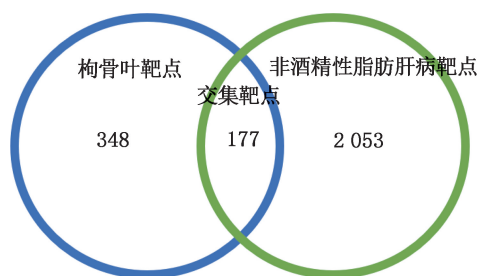
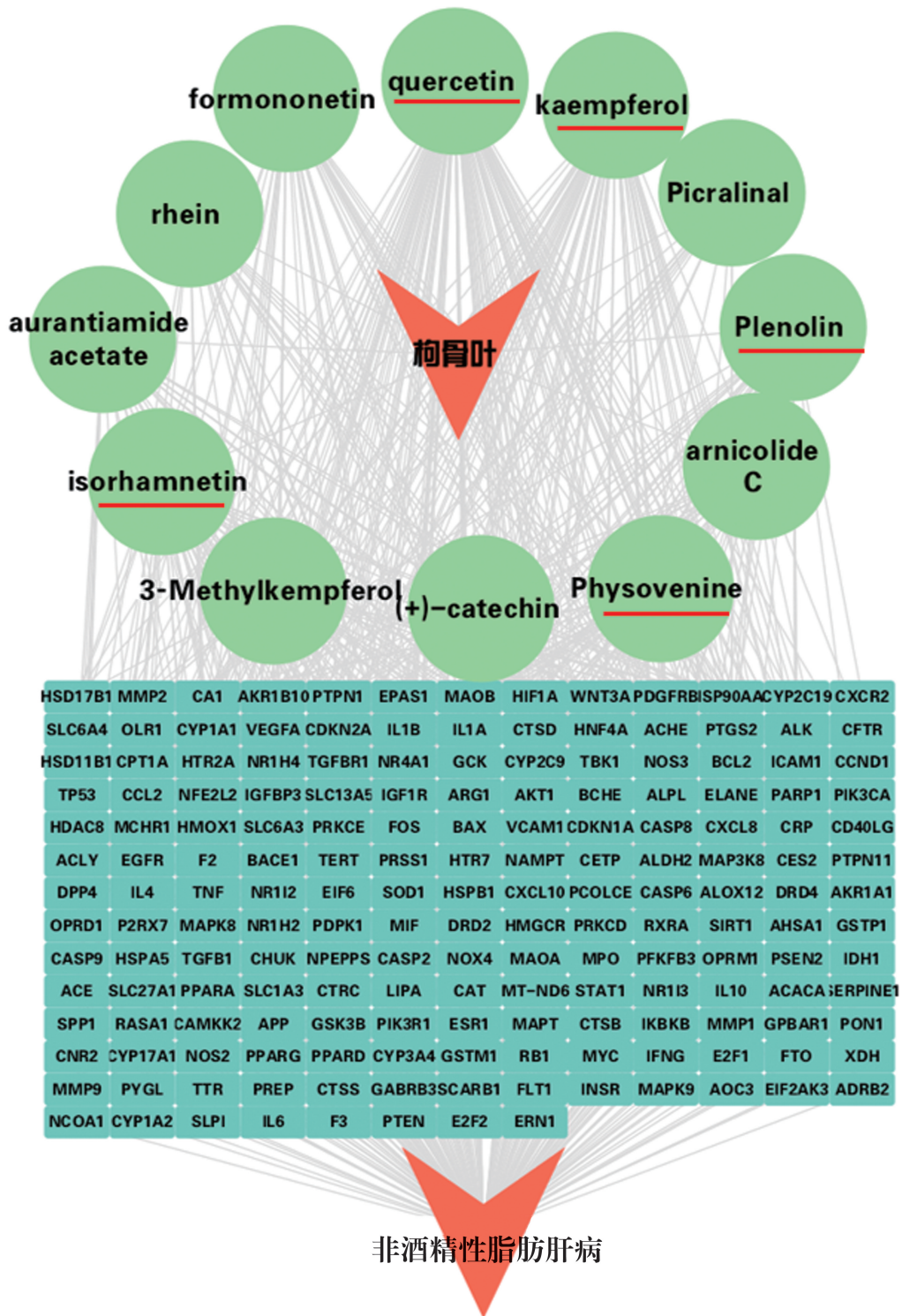


图 1 枸骨叶化合物预测靶点与非酒精性脂肪肝靶点的韦恩图

通过 Cytospace 3.9.1 绘制枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝的化合物-靶点-疾病网络图, 网络有 191 个节点, 619 条连线。采用 BC 值 (betweenness centrality) 进

行中心度计算<sup>[7]</sup>, 中心度最高的前 5 个化合物是槲皮素 BC 值: 4 558.31、山柰酚 BC 值: 1 227.31、多梗白菜菊素 BC 值: 591.29、毒扁豆次碱 BC 值: 555.72、

异鼠李素 BC 值:526.15,如图 2 所示。



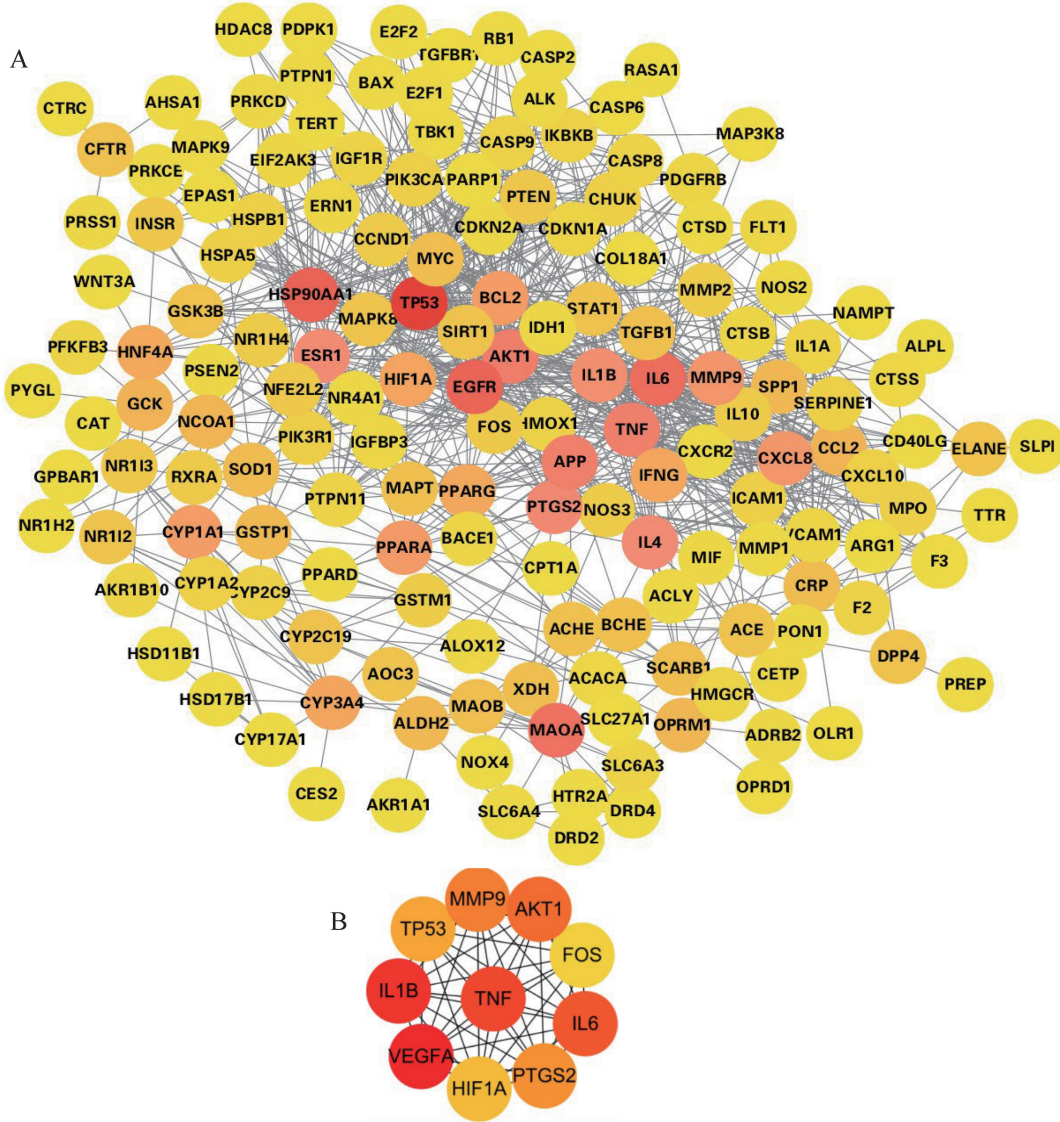
注:红色箭头表示枸骨叶和非酒精性脂肪肝病,绿色圆形表示枸骨叶中的化合物,划线表示中心度高的化合物,蓝色方块表示枸骨叶和非酒精性脂肪肝病的共同靶点。

图 2 枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝病的化合物-靶点-疾病网络图

### 2.3 蛋白质互作网络分析

将交集靶点导入 STING 数据库中, 交互作用得分  $\geq 0.07$  分, 共得到 177 个节点, 921 条连线, 平均节点得分 10.4 分。将得到的 PPI 网络图导入 Cytospace, 采用 cytoHubba 中的 MCC 算法, MCC 算法在筛选核心蛋白上具有更高的精确度<sup>[8]</sup>, 计算得到 PPI 网络中 TOP10 的核心蛋白靶点, 依次为血管

内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin 1 Beta, IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1) 等, 如图 3、表 2 所示。



注: A. PPI 网络图; B. MCC 算法得到 PPI 网络核心 Top10 靶点, 节点表示蛋白, 边表示蛋白与蛋白间的相互作用, 中心度越高, 颜色越深。

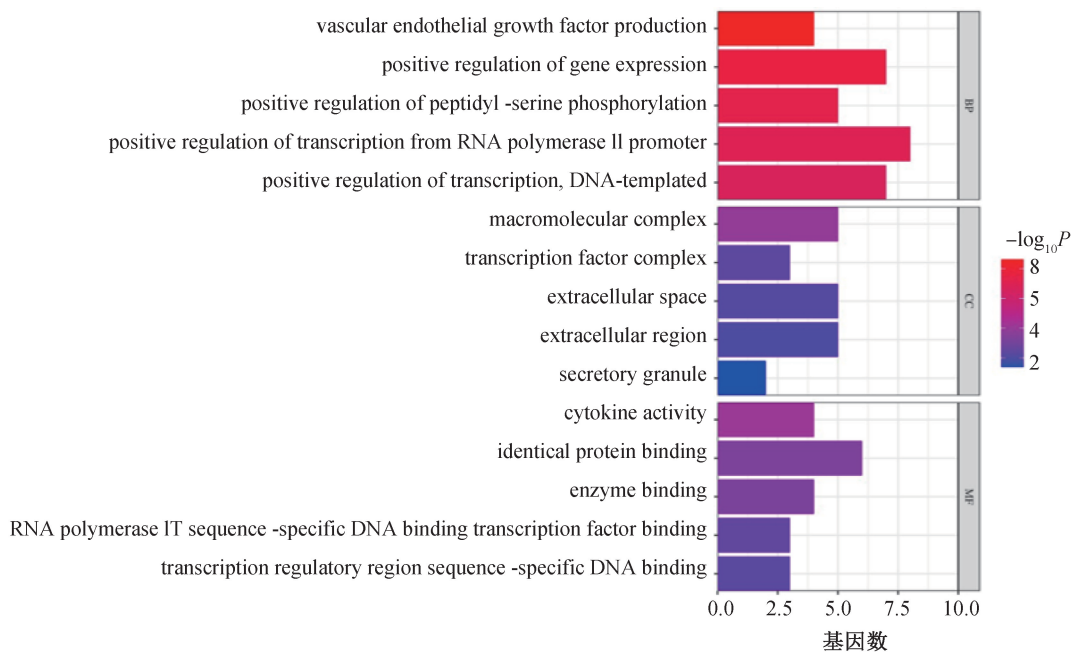
图 3 枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝病的 PPI 网络及核心靶点

表 2 基于 MCC 算法的 PPI 网络的核心靶点表

序号	基因	全称	得分/分
1	VEGFA	血管内皮生长因子 A	1.834 400×10 <sup>24</sup>
2	IL-1β	白细胞介素-1β	1.834 400×10 <sup>24</sup>
3	TNF	肿瘤坏死因子	1.834 400×10 <sup>24</sup>
4	IL-6	白细胞介素-6	1.834 400×10 <sup>24</sup>
5	AKT1	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	1.834 395×10 <sup>24</sup>
6	MMP9	基质金属蛋白酶 9	1.834 394×10 <sup>24</sup>
7	PTGS2	前列腺素 G/H 合酶 2	1.834 394×10 <sup>24</sup>
8	TP53	肿瘤蛋白 P53	1.834 134×10 <sup>24</sup>
9	HIF1A	缺氧诱导因子 1	1.762 825×10 <sup>24</sup>
10	FOS	原癌基因 Fos	1.746 153×10 <sup>24</sup>

### 2.4 GO 和 KEGG 富集分析

用 DAVID 数据库对 PPI 网络中的核心靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路的富集分析,设置  $P < 0.05$ 。GO 功能富集分析生物学过程 (biological process, BP), 细胞组分 (cell component, CC), 分子功能 (molecular function, MF) 的数据共得到 175 项条目。BP 的 TOP5 是血管内皮生长因子的产生、基因表达的正向调节、肽基-丝氨酸磷酸化的正向调节、对 RNA 聚合酶 II 启动子的转录进行正向调节、转录的正向调节。CC 的 TOP5 是分别是大分子复合体、转录因子复合物、细胞外空间、细胞外区域、分泌颗粒。MF 的 TOP5 依次是细胞因子活性、相同的蛋白质结合、酶结合、RNA 聚合酶 II 序列特异性 DNA 结合转录因子结合、转录调节区序列特异性 DNA 结合,如图 4 所示。



注:条状图的条子颜色表示 $-\log_{10}P$ 的大小, $-\log_{10}P$ 越大颜色越接近红色, $-\log_{10}P$ 越小越接近蓝色,长度表示项目相关的基因数。

图 4 GO 富集分析

KEGG 通路富集分析,得到枸骨叶治疗 NAFLD 可能主要通过 TNF 信号通路、IL-17 信号通路、AGE-

RAGE 信号通路、CLR 信号通路、TLR 信号通路等关键通路,如表 3 所示。

表 3 核心靶点 KEGG 富集分析的相关通路图

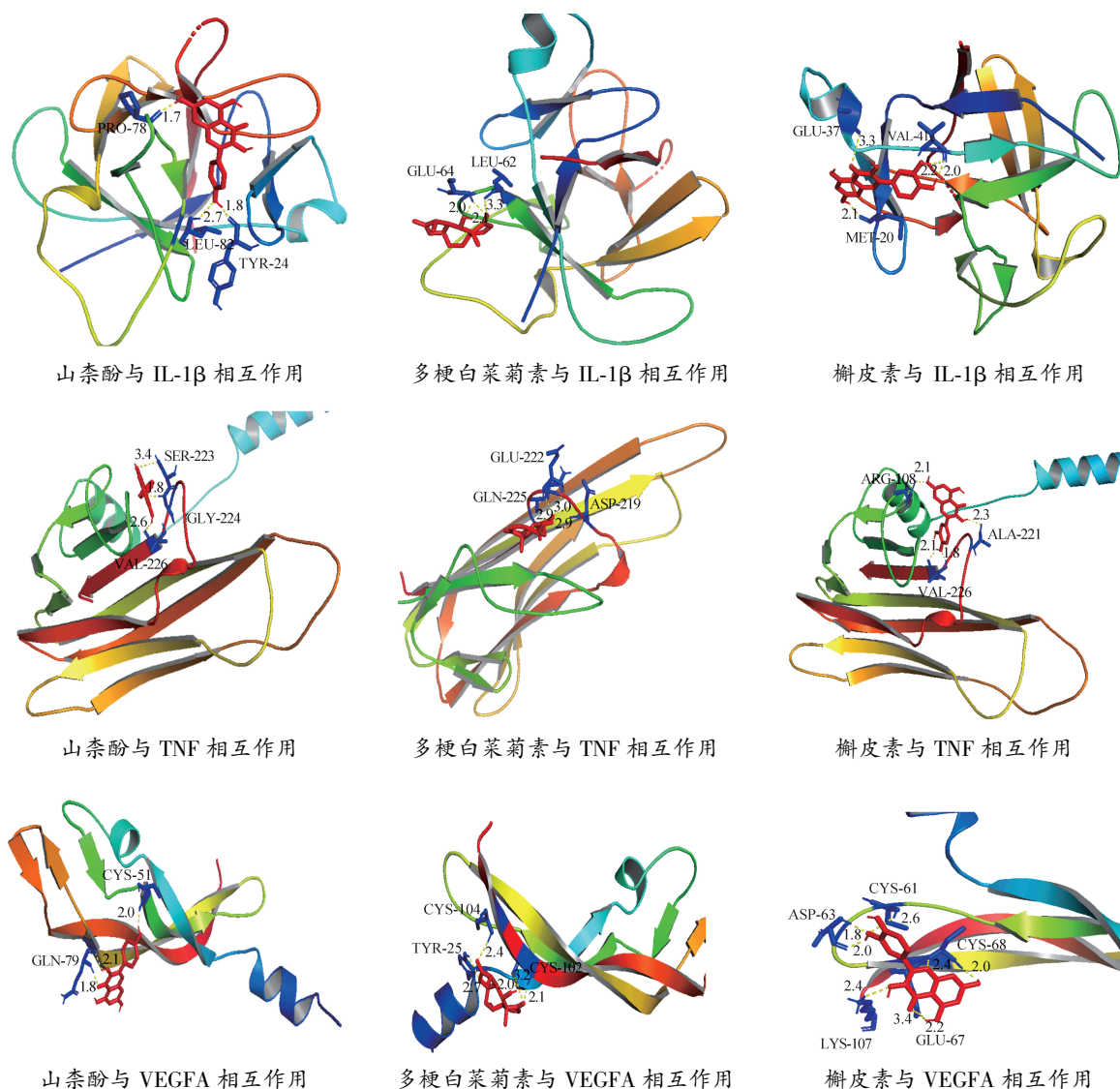
序号	通路名称	相关核心靶点	P
1	TNF 信号通路	IL-6, IL-1 $\beta$ , AKT1, FOS, PTGS2, TNF, MMP9	$4.59 \times 10^{-10}$
2	IL-17 信号通路	IL-6, IL-1 $\beta$ , FOS, PTGS2, TNF, MMP9	$2.15 \times 10^{-8}$
3	AGE-RAGE 信号通路	IL-6, IL-1 $\beta$ , AKT1, TNF, VEGFA	$2.50 \times 10^{-6}$
4	CLR 信号通路	IL-6, IL-1 $\beta$ , AKT1, PTGS2, TNF	$2.92 \times 10^{-6}$
5	TLR 信号通路	IL-6, IL-1 $\beta$ , AKT1, FOS, TNF	$2.92 \times 10^{-6}$

## 2.5 分子对接分析

将 PPI 图中 BC 值最高的 3 个活性成分作为靶点, 将 PPI 网络中 MCC 法计算得到分数最高的 3 种核心蛋白作为配体进行分子对接。对接发现, 所选分子与靶蛋白结合能均小于  $-1.2$  kcal/mol (1 kcal = 4.184 kJ), 如表 4 所示, 具体结合位点如图 5 所示。

表 4 关键成分与关键靶点的分子对接表

蛋白分子	结合能/ (kcal/mol)		
	IL-1 $\beta$	TNF	VEGFA
山柰酚 (kaempferol)	-6.5	-5.02	-5.91
多梗白菜菊素 (plenolin)	-7.2	-6.43	-5.95
槲皮素 (quercetin)	-6.25	-4.74	-5.5



注: 红色代表活性分子, 蓝色代表结合位点 (文字表示结合的残基), 黄色虚线代表极性键 (数字表示极性键的长度)。

图 5 关键分子和关键靶点分子对接图

### 3 讨论

#### 3.1 枸骨叶的活性成分

筛选共得到 12 种枸骨叶中可能的潜在活性化合物,包括异山柰素、(+)-儿茶素五乙酸酯、异鼠李素、山柰酚、槲皮素、山金车内酯 C、多梗白菜菊素、芒柄花黄素、金色酰胺醇酯、毒扁豆次碱、鸭脚树叶醛碱、大黄酸。目前研究表明,异山柰素、山金车内酯 C、金色酰胺醇酯和大黄素分别可以通过脂多糖诱导 TNF- $\alpha$  释放,抑制 MAPK 信号通路中的 ERK、JUK 和 p38 的磷酸化,抑制 NF- $\kappa$ B 通路,下调各种促炎性因子的表达和通过 NF- $\kappa$ B、AP-1 和 MAPK 信号通路起到抗炎的作用<sup>[9-12]</sup>。(+) - 儿茶素五乙酸酯可以增加主动脉血管紧张素转换酶的活性和活性氧的产生,保护心血管功能<sup>[13]</sup>。芒柄花黄素主要来自于红三叶草和黄芪。研究表明,芒柄花黄素可以通过多种信号通路诱导细胞凋亡,阻滞细胞周期和抑制细胞增殖等途径发挥抗肿瘤作用<sup>[14]</sup>。异鼠李素和山柰酚可以通过改变线粒体膜电位和 PI3K/AKT 信号通路调节凋亡相关蛋白(Bcl-2、Bax 和 Casp3),抑制细胞凋亡,与各种炎症相关疾病(比如肝纤维化)有关<sup>[15-16]</sup>。槲皮素具有强大的抗氧化性,降低胰岛素抵抗,提高胰岛素水平<sup>[17]</sup>。大黄酸可以间接改变嘌呤代谢,通过益生菌乳酸杆菌参与调控宿主代谢,干扰 NLRP3 炎症小体,降低 IL-1 $\beta$  的分泌,激活 Nrf2-HO1-NQO1 通路,抑制 Nox2 亚基的表达和转位,调节氧化还原平衡<sup>[18]</sup>。

#### 3.2 枸骨叶活性成分靶点

采用 MCC 算法在 177 个交集靶点中,得到 10 个核心蛋白,包括 VEGFA、IL-1 $\beta$ 、TNF、IL-6、AKT1、MMP9、PTGS2、TP53、HIF1A、FOS。VEGFA 是重要促血管生成活性生长因子,可以增加血管通透性。有研究<sup>[19]</sup>表明,VEGFA 与肿瘤的血管扩张生长有关,因此,VEGFA 被认为是肿瘤治疗的关键靶点之一。VEGFA 可以通过 AGE-RAGE 通路介导脂肪酸促肝星状细胞的活化。IL-1 $\beta$ 、TNF 和 IL-6 是机体先天免疫系统的关键因子,可以促进炎症相关疾病的发生。炎性细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  可以通过激活局部免疫细胞,吸引其他免疫细胞到肝脏,引起肝脏的慢性炎症,有助于肝纤维化的发生<sup>[20]</sup>。AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,在 Akt/ $\beta$ -catenin 信号通路,参与上皮间质转化(EMT)<sup>[21]</sup>。MMP9 与细胞外

基质降解和合成的平衡有关,与异物引起的炎症反应,肝纤维化和肝硬化都相关<sup>[22]</sup>。PTGS2 是前列腺素合成的关键酶,过表达诱导的炎症反应可以刺激肝星状细胞的活化,是肝纤维化的重要原因之一<sup>[23]</sup>。TP53 被认为是一种抑癌基因,突变表达被认为与脂肪肝相关肝癌的发生有关<sup>[24]</sup>。HIF1A 是细胞在缺氧条件下生存能力的重要转录调节因子。有研究表明,HIF-1 $\alpha$  通过激活 PPAR- $\alpha$ /ANGPTL4 信号通路在非酒精性脂肪肝病的脂质代谢调节中起着关键作用<sup>[25]</sup>。FOS 参与细胞的正常分化、转化和生长。研究表明,YAP-TEAD 协同 RAS 诱导的 AP-1 (FOS/JUN) 转录因子驱动肿瘤生长<sup>[26]</sup>。

#### 3.3 枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝病的潜在机制

**3.3.1 TNF 信号通路** TNF 信号通路在非酒精性脂肪肝病中有重要作用,TNF 由 mTNF 和 sTNF 蛋白结合,是一种多功能的细胞因子,是一种促炎性因子,同时在机体免疫机制中发挥作用。TNF 激活 TNFR1 和 TNFR2,TNFR1 可以结合相关的死亡域(TRADD)、受体互作蛋白激酶(RIPK1)和肿瘤坏死因子 2( TRAF2) 形成复合物,复合物的形成会激活 TGF $\beta$  激活激酶 1 (TAK1),进一步激活 c-JUN 和核转录因子  $\kappa$ B 的抑制剂(IKK)。同时,TRAF2 可结合细胞凋亡抑制蛋白 1 (cIAP1) 和 2 (cIAP2);另外 TNFR2 可以通过募集 TRAFs,激活 NF- $\kappa$ B,参与细胞炎症、细胞增殖和细胞坏死<sup>[27]</sup>。

**3.3.2 IL-17 信号通路** 当 IL-17 与受体结合后,通过 ACT1-TRAF6 信号传导复合体激活 TAK1,从而进一步激活 IKK,参与细胞炎症和细胞坏死<sup>[28]</sup>。

**3.3.3 AGE-RAGE 信号通路** AGE-RAGE 信号传递,通过 PKC、p38MAPK、fetuina-A、TGF- $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 和 ERK1/2 信号通路增加骨基质蛋白,同时可以激活 Nox-1 和抑制 SOD-1 的表达,增加氧化应激反应,促进血管钙化,与非酒精性脂肪肝病相关的 II 型糖尿病、心血管疾病有关<sup>[29]</sup>。

**3.3.4 CLR 信号通路** CLR 是一种多功能受体,包括胶凝素选择素、淋巴细胞凝集素和蛋白聚糖在内的一大类受体家族。与配体结合可以激活氧化应激反应,同时可以通过 MAPK、PKC 信号,进一步激活 IKK,激活 NF- $\kappa$ B 通路,参与炎症反应和细胞坏死<sup>[30]</sup>。

**3.3.5 TLR 信号通路** TLR 信号通路可以介导

MyD88, 促使 IRAK-4、IRAK-1 和 TRAF6 与受体结合, 激活 IKK 和 JUN, 进一步促进 NF- $\kappa$ B 和 AP-1 通路, 参与炎症反应和肿瘤生长<sup>[31]</sup>。

3.3.6 生物体基因及其产物 通过 GO 基因富集分析得到, 枸骨叶治疗非酒精性脂肪肝病, 可能是通过减弱异物刺激引起的机体免疫应激的炎性反应, 抑制肝星状细胞活化, 从而抑制 NAFLD 的进展, 或者通过对细胞凋亡的正向调节和负向调节, 诱导活化的肝星状细胞凋亡, 可以有效抑制肝纤维化的进展, 促进细胞外基质的降解<sup>[32]</sup>, 但过量的细胞凋亡会导致炎性因子释放增加, 进一步导致炎症反应增强, 不利于非酒精性脂肪肝病治疗<sup>[33]</sup>。因此, 促进活化肝星状细胞的凋亡, 抑制肝和其外周细胞的凋亡对非酒精性脂肪肝病的治疗和预后具有重要作用。脂多糖是革兰氏阴性细菌壁外壁的组成成分, 是一种常见的内毒素, 会增加代谢性疾病的发生概率, 同时肠源性的脂多糖是诱导肝细胞炎症反应的关键因子<sup>[34]</sup>。枸骨叶具有抗氧化性, 对脂多糖诱导的肝细胞凋亡具有一定保护作用。膜筏是在细胞膜上有鞘脂和胆固醇结合而成的一个高动态性非均一的小区域。枸骨叶可能通过调控膜筏, 抑制肝窦内皮细胞的去窗孔化, 抑制肝细胞 EMT, 从而抑制非酒精性脂肪肝病<sup>[35]</sup>。最后, 一些关键基因(如 MAPK8、MAPK9 和 CRP)的表达上调, 有利于非酒精性脂肪肝病的治疗。

## 4 结论

枸骨叶中异山柰素、(+)-儿茶素五乙酸酯、异鼠李素、山柰酚和槲皮素活性成分, 通过调控 TNF、IL-17、AGE-RAGE、CLR 和 TLR 信号通路, 降低核心靶点 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF 促炎性因子和 VEGFA 促纤维化因子表达, 上调核心靶点 AKT1 以抑制细胞凋亡, 产生抗 NAFLD 效应。

## 参考文献

[1] RINELLAM E. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review[J]. JAMA, 2015, 313(22): 2263–2273.  
 [2] 王存琴, 何丹. 枸骨的化学成分及药理活性研究进展[J]. 包头医学院学报, 2016, 32(8): 160–162.  
 [3] YU S J, YU Z P, WANG Y Y, et al. Structural characterization and biological evaluation of chemical constituents

from *Ilex cornuta* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2020, 22(4): 316–328.

- [4] KIM J, KANG W, MIN H. In vitro anti-inflammatory activity of *Ilex cornuta* extract mediated by inhibition of extracellular signal-regulated kinase phosphorylation [J]. J Med Food, 2017, 20(10): 981–988.  
 [5] KIM H, KAN S Y, KANG H, et al. Ursolic acid suppresses cholesterol biosynthesis and exerts anti-cancer effects in hepatocellular carcinoma cells [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(19): 4767.  
 [6] MARTIN Y C. A bioavailability score [J]. J Med Chem, 2005, 48(9): 3164–3170.  
 [7] TANG Y, LI M, WANG J X, et al. CytoNCA: a cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks [J]. Biosystems, 2015, 127: 67–72.  
 [8] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome [J]. BMC Syst Biol, 2014, 8(Suppl 4): S11.  
 [9] LEALL K, CANUTO K M, DA SILVA COSTA K C, et al. Effects of amburoside A and isokaempferide, polyphenols from *Amburana cearensis*, on rodent inflammatory processes and myeloperoxidase activity in human neutrophils [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2009, 104(3): 198–205.  
 [10] WANG G, LIU H F, ZHANG Q R, et al. Two sesquiterpene lactones, arnicolide B and arnicolide C, isolated from *Centipeda minima*, exert anti-inflammatory effects in LPS stimulated RAW 264.7 macrophages via inactivation of the MAPK pathway [J]. Nat Prod Res, 2023, 37(17): 2969–2972.  
 [11] YANG Y, ZHANG L H, YANG B X, et al. Aurantiamide acetate suppresses the growth of malignant gliomas in vitro and in vivo by inhibiting autophagic flux [J]. J Cell Mol Med, 2015, 19(5): 1055–1064.  
 [12] ZHOU B X, YANG Z F, FENG Q T, et al. Aurantiamide acetate from *Baphicacanthus cusia* root exhibits anti-inflammatory and anti-viral effects via inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway in Influenza A virus-infected cells [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 199: 60–67.  
 [13] SAMOKHVALOVAT V, KIM Y A, KORYSTOVA A F, et al. (+)-catechin stereoisomer and gallate induce oxidative stress in rat aorta [J]. Molecules, 2022, 27(11): 3379.  
 [14] TAYK C, TAN L T, CHAN C K, et al. Formononetin: a review of its anticancer potentials and mechanisms [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 820.  
 [15] LI X Y, CHEN H L, ZHANG Z L, et al. Isorhamnetin

- protects Zearalenone-induced damage via the PI3K/Akt signaling pathway in porcine ovarian granulosa cells [J]. *Anim Nutr*, 2022,11: 381-390.
- [16] DEVIK P, MALAR D S, NABAVID S F, et al. Kaempferol and inflammation: from chemistry to medicine [J]. *Pharmacol Res*, 2015,99: 1-10.
- [17] HOSSEINI A, RAZAVI B M, BANACH M, et al. Quercetin and metabolic syndrome: a review [J]. *Phytother Res*, 2021,35(10):5352-5364.
- [18] ZHOU Y Y, GAO C F, VONG C T, et al. Rhein regulates redox-mediated activation of NLRP3 inflammasomes in intestinal inflammation through macrophage-activated crosstalk [J]. *Br J Pharmacol*, 2022,179(9):1978-1997.
- [19] SHEN H, YU H, LI Q Y, et al. Hepatocyte-derived VEGFA accelerates the progression of non-alcoholic fatty liver disease to hepatocellular carcinoma via activating hepatic stellate cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(11): 2917-2928.
- [20] DWI ASTARINIF, RATNASARI N, WASITYASTUTI W. Update on non-alcoholic fatty liver disease-associated single nucleotide polymorphisms and their involvement in liver steatosis, inflammation, and fibrosis: a narrative review [J]. *Iran Biomed J*, 2022,26(4):252-268.
- [21] SUN X T, XING G Y, ZHANG C, et al. Knockdown of Trop2 inhibits proliferation and migration and induces apoptosis of endometrial cancer cells via AKT/ $\beta$ -catenin pathway [J]. *Cell Biochem Funct*, 2020,38(2):141-148.
- [22] KURZEPA J, MADRO A, CZECHOWSKA G, et al. Role of MMP-2 and MMP-9 and their natural inhibitors in liver fibrosis, chronic pancreatitis and non-specific inflammatory bowel diseases [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2014, 13(6):570-579.
- [23] HU Y, YANG X F, WU S D, et al. COX-2 in liver fibrosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2020,506: 196-203.
- [24] CHAKRABORTYE, SARKAR D. Emerging therapies for hepatocellular carcinoma (HCC) [J]. *Cancers*, 2022, 14(11):2798.
- [25] HAN L, LIN X, YAN Q, et al. PBLD inhibits angiogenesis via impeding VEGF/VEGFR2-mediated microenvironmental cross-talk between HCC cells and endothelial cells [J]. *Oncogene*, 2022,41(13):1851-1865.
- [26] THOMPSON B J. YAP/TAZ: drivers of tumor growth, metastasis, and resistance to therapy [J]. *Bioessays*, 2020, 42(5):e1900162.
- [27] TIEGS G, HORST A K. TNF in the liver: targeting a central player in inflammation [J]. *Semin Immunopathol*, 2022,44(4):445-459.
- [28] AMATYA N, GARG A V, GAFFEN S L. IL-17 signaling: the Yin and the Yang [J]. *Trends Immunol*, 2017,38(5): 310-322.
- [29] KAY A M, SIMPSON C L, STEWART J A Jr. The role of AGE/RAGE signaling in diabetes-mediated vascular calcification [J]. *J Diabetes Res*, 2016,2016: 6809703.
- [30] YAN H M, KAMIYAT, SUABJAKYONG P, et al. Targeting C-type lectin receptors for cancer immunity [J]. *Front Immunol*, 2015,6: 408.
- [31] KAWAI T, AKIRA S. TLR signaling [J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(1):24-32.
- [32] KISSELEVAT, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021,18(3):151-166.
- [33] KANDAT, MATSUOKA S, YAMAZAKI M, et al. Apoptosis and non-alcoholic fatty liver diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2018,24(25):2661-2672.
- [34] MOHRA E, CRAWFORD M, JASBI P, et al. Lipopolysaccharide and the gut microbiota: considering structural variation [J]. *FEBS Lett*, 2022,596(7):849-875.
- [35] DOLGANIUC A. Role of lipid rafts in liver health and disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(20): 2520-2535.

[收稿日期:2023-07-13]

[责任编辑:杨建香 英文编辑:李佳睿]