

基于UPLC-Zone TOF-MS/MS联合网络药理学 探讨脉复生防治NAFLD作用*

胡涛¹, 王冰钰¹, 苏薇薇², 彭维², 黎建华¹, 李常青³, 周毅业¹, 郭洁文¹

1. 广州医科大学附属中医医院, 广东 广州 510000
2. 广东省中药上市后质量与药效再评价工程技术研究中心 / 广东省热带亚热带植物资源重点实验室 / 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275
3. 广州中医药大学青蒿研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 依据脉复生的化学成分, 采用网络药理学、分子对接技术、构建NAFLD小鼠模型, 探究脉复生防治NAFLD的作用机制。通过UPLC-Zone TOF-MS/MS对脉复生全成分进行检测; 借助Swiss生物信息学研究平台获取活性成分和靶点, 在OMIM、Disgenet数据库筛选NAFLD疾病靶点, 对交集靶点进行PPI分析; 在Metascape网站进行GO与KEGG富集分析, 对核心靶点与活性成分展开分子对接; 采用HFD诱导C57BL/6J小鼠构建NAFLD模型进行核心靶点验证; 指认得到130个化学成分, 筛选得到54个活性成分与176个可能作用于NAFLD的潜在靶点; 根据Degree值对排名前10的成分与靶点进行分子对接实验, 对结合能最优的对接模型TNF与Quercetin、IL-17与Asiatic acid、IL-1 β 与Quercetin进行可视化分析; 筛选炎症因子和脂肪代谢相关基因进行qPCR测序。富集分析表明脉复生治疗NAFLD与脂肪酸转化、脂质代谢正向调节等生物过程相关, 涉及AGE-RAGE、HIF-1、IL-17等信号通路; 与对照组相比, 模型组血清学检测ALT、TG、LDL-C指标上升并且HDL-C指标下降($P < 0.05$); 与模型组相比, 脉复生给药组和辛伐他汀组能够降低小鼠体质量、肝脏和脂肪质量占比($P < 0.05$), 降低血清中TNF- α 、IL-1 β 和IL-17的含量和mRNA表达, 在高剂量时具有显著性差异($P < 0.01$); 与对照组相比, 脉复生给药组能够通过调节脂质代谢相关基因的表达, 降低肝脏脂质堆积, 缓解肝脏脂肪变性。

关键词: UPLC-Zone TOF-MS/MS; 脉复生; 非酒精性脂肪肝; 网络药理学; 实验验证

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137(2024)05-0073-10

Applying the UPLC-Zone TOF-MS/MS combined network pharmacology to explore the effects of MFS intervention on NAFLD

HU Tao¹, WANG Bingyu¹, SU Weiwei², PENG Wei², LI Jianhua¹, LI Changqing³, ZHOU Yiyi¹, GUO Jiewen¹

1. The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China
2. Guangdong Engineering and Technology Research Center for Quality and Efficacy Re-evaluation of Post-marketed TCM / Guangdong Key Laboratory of Plant Resources / School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China
3. Center for Artemisinin Research, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

* 收稿日期: 2024-05-11

录用日期: 2024-06-12

网络首发日期: 2024-07-22

基金项目: 广州市基础研究计划(2023A03J0781)

作者简介: 胡涛(1995年生), 女; 研究方向: 中西医结合治疗代谢综合征疾病;

E-mail: 2022210620@stu.gzhmu.edu.cn

通信作者: 郭洁文(1968年生), 女; 研究方向: 中西医结合治疗代谢综合征疾病;

E-mail: 2019620682@gzhmu.edu.cn

增强出版



ZR20240154

全文阅读



ZR20240154

Abstract: The mechanism of MaiFuSheng (MFS) on inhibiting Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) were investigated based on the exploration of chemical compositions, the techniques of network pharmacology and molecular docking, and the validation using NAFLD mice model. The components of MFS were identified through UPLC-Zeno TOF-MS/MS. The Swiss Bioinformatics Research Platform were applied to obtain active components and potential targets of MFS. The DisGeNet and OMIM databases were used to screen disease targets of NAFLD. The intersection between disease targets and potential targets of MFS were obtained from Venn diagram, which were analyzed by constructing cross-target protein-protein interaction (PPI) network. The Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment were conducted on Metascape database. The molecular docking about core targets and active components of MFS were carried out. Using high-fat diet (HFD)-induced C57BL/6J mice as NAFLD animal model to validate key targets. A total of 130 compounds were recognized, 54 active constituents and 176 potential targets of NAFLD were collected. The molecular docking experiments for the top 10 components with the targets are based on the degree value. We found docking models with the best binding energy for TNF- α with Quercetin, IL-17 with Asiatic acid, and IL-1 β with Quercetin. We applied qPCR technique to detect above inflammation and lipid metabolism related indicators. Enrichment analysis demonstrated that MFS protects NAFLD via biological processes such as fatty acid transformation and positive regulation of lipid metabolism, as well as signaling pathways such as AGE-RAGE, HIF-1, and IL-17. Compared to the control groups, the model group's ALT, TG, and LDL-C indicators increased, whereas HDL-C indicators dropped ($P < 0.05$). MFS and Simvastatin treatment groups significantly reduced body weight, liver weight, and fat weight compared to the model groups ($P < 0.05$). Higher doses resulted in significant reductions in serum levels and expression of TNF- α , IL-1 β , and IL-17 ($P < 0.01$). Compared to the control groups, the MFS treatment groups can minimize liver lipid accumulation by modulating the expression of lipid metabolism-related genes and improving hepatic fat breakdown.

Key words: UPLC-Zone TOF-MS/MS; MaiFuSheng; NAFLD; network pharmacology; experimental validation

非酒精性脂肪肝(NAFLD)是一类包括单纯性肝脏脂肪沉积、坏死性炎症、纤维化、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、NASH肝硬化和/或肝细胞性肝癌等多种类型的肝脏疾病(Zachou et al., 2024)。NAFLD发病机制复杂,与线粒体功能障碍、氧化应激、肠道内毒素、慢性炎症等多种因素相关;其中炎症细胞因子水平与肝脏损伤程度密切相关,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和ICAM-1等在疾病进展变化中具有重要意义(Duan et al., 2022)。迄今对NAFLD尚无明确的治疗手段和药物。

脉复生是广州医科大学附属中医医院研发的中药院内制剂,由鸡血藤、牛大力、岗稔等数味岭南特色药材组成。课题组既往研究表明,脉复生在抑制炎症细胞因子、抗血栓、抗凝血等方面具有显著优势(刘若轩等, 2018; 钟世顺等, 2019; Li et al., 2021),既往临床实践证实,脉复生能够调节患者血脂代谢和免疫功能(杜猛等, 2010; 周伟

青等, 2016),是否能够改善NAFLD,并减缓NAFLD的进展和减少其恶性并发症的发生,作用机制尚不明确。本研究通过对脉复生的成分进行分析,利用HFD诱导小鼠构建NAFLD模型,探讨脉复生对NAFLD的影响作用,为防治NAFLD提供理论与实验依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 8周龄C57BL/6J雄性小鼠60只, SFP级, 20~22 g, 购于广东省动物中心, 动物生产许可证号: SCXK(粤)2022-0002, 饲养温度20~25 °C, 相对湿度50%~70%, 明暗周期12 h/12 h, 期间自由饮食。所有动物方案均经广州中医药大学动物伦理委员会批准(编号:2023NK129)。

1.1.2 药物与试剂 脉复生(广州医科大学附属中医医院, 230222); 辛伐他汀(批号:国药准字

HJ20171162,杭州默沙东制药有限公司);丙氨转移酶(ALT)微孔板检测试剂盒(爱必信,abs580002);甘油三酯(TG)检测试剂盒(爱必信,abs580085);低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(武汉华美生物,CSB-E16561r);高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒(武汉华美生物,CSB-E14399r);RNAeasyTMPLUS动物RNA抽提试剂盒(碧云天,R0032);高脂饲料(Envigo,TD140897);一步法反转录qPCR试剂盒(碧云天,D7268);多聚甲醛固定液(碧云天,P0099);油红O染色试剂盒(碧云天,C0158M);PVP封片液(碧云天,C0185)。

1.1.3 主要实验仪器 Waters ACQUITY UPLC I-Class型超高效液相色谱仪(美国Waters公司,进样器型号C23FNP828G,柱温箱C23CHA725G);ZenoTOFTM 7600高分辨质谱仪(美国AB SCIEX公司,FC23282306);光学显微镜(德国Leica公司);石蜡切片机(德国Leica公司);多功能酶标仪(美国Thermo公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 脉复生全成分检测 ① 色谱条件。选择Kinetex-100A(100 mm×2.10 mm,2.6)C18色谱柱(美国,Phenomenex),流动相A为 $\phi=0.1\%$ 甲酸水溶液,流动相B为乙腈,梯度(ϕ)洗脱:5%~30% B(0.01~15 min),30%~90% B(15~35 min),95%~95% B(35~37 min),95%~5% B(37~37.1 min),5% B(37.1~40 min);流速:0.3 mL/min,柱温:45℃,进样量:2 μ L。② 质谱条件。喷雾电压正模式:5 500 V,负模式:-4 500 V,载气:55 psi(1 psi=6 895 Pa),离子源温度:550℃,气帘气:35 psi,碰撞器压力:10 psi,入口电压:60 V,扫描范围: m/z 50~1 500。

1.2.2 成分靶点与疾病靶点筛选 利用SwissADME网站(<http://www.swissadme.ch/>)导入化合物结构,根据“GI absorption=High”和“Druglikeness \geq 2YES”进行活性成分筛选,在SwissTargetPrediction导入活性成分,以“Probability $>$ 0.1”进行靶点筛选;以“non-alcoholic fatty liver disease”为关键词,通过OMIM数据库(<https://omim.org/>)、Disgenet数据库(<http://www.disgenet.org/>)对NAFLD疾病靶点进行筛选;使用Jvenn在线工具(<https://jvenn.toulouse.inrae.fr/app/example.html>)进行成分靶点与疾病靶点交集分析。

1.2.3 成分-靶点-疾病网络图构建 将交集数据在String网站(<https://string-db.org>)进行PPI蛋白互

作分析,使用Cytoscape3.9.1进行优化,绘制“成分-靶点-疾病”网络图。

1.2.4 信号通路富集分析与分子对接 在Metascape数据库(<https://metascape.org>)进行GO和KEGG富集分析,用R语言进行可视化分析。筛选得到的核心靶点在UniProt网站(<https://www.uniprot.org/>)选择“Human”得到Entry号,在PDB网站(<https://www.rcsb.org/>)下载蛋白;使用AutodockTools 1.5.7进行分子对接,得到结合能后选择最优结合能的配体和受体,导入Pymol 2.6.0进行可视化操作。

1.2.5 核心靶点小鼠体内模型验证

1)动物分组、造模(Zhong et al.,2020)和给药。适应性喂养1周后,将小鼠随机分为6组,每组10只,分别为对照组、模型组、辛伐他汀组、脉复生低中高剂量组;对照组给予普通饲料(CW)喂养,剩余组给予高脂饲料(HFD)喂养,8周后,分别给予辛伐他汀(0.5 mg/kg/d)、脉复生低、中、高剂量(5、10、20 g/kg/d)灌胃,对照组给予生理盐水(2 mL/d),连续灌胃4周。

2)样本的采集和处理。各组小鼠末次给药后,禁食不禁水12 h,测定体质量、肝脏和内脏脂肪的质量,收集组织和血清样本用于下一步实验。

3)样本血清学检测。血液样本在室温3 000 r/min离心15 min得到血清样本,按照试剂盒说明书进行样本处理。

4)qPCR检测。使用试剂盒对肝组织中的RNA纯化提取后进行实时荧光定量PCR;引物设计同Liu et al.(2023),计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行比较。

5)苏木精-伊红染色(H&E)和油红O染色。使用 $w=4\%$ 多聚甲醛固定液固定肝脏冰冻切片15 min,然后用苏木精固定10 min,伊红固定30 s。固定的肝脏冰冻切片用改良油红O染色试剂盒染色20 min。所有载玻片均用PVP封片液进行密封,然后使用徕卡光学显微镜拍摄。

6)统计学分析。使用GraphPad Prism7.0软件计算结果,所有数据均以平均值 \pm 标准差(SD)表示。采用单因素方差分析(ANOVA)或 t 检验进行组间差异分析。 $P<0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 脉复生的UPLC-Zone TOF-MS/MS分析

采用UPLC-Zone TOF-MS/MS技术,正负模式下对脉复生样品、单味药材样品和对照品样品进行分析,得到脉复生样品离子流图和对照品离子

流图,如图1所示。通过准确相对分子量及碎片离子、对照品比对、AB SCIEX天然产物二级质谱库、单味药材归属,共指认出130个化学成分。其

中12个成分经标准品确证,包括16种苯丙酸类化合物,15种黄酮类化合物,11种环烯醚萜类化合物,14种皂苷类化合物。

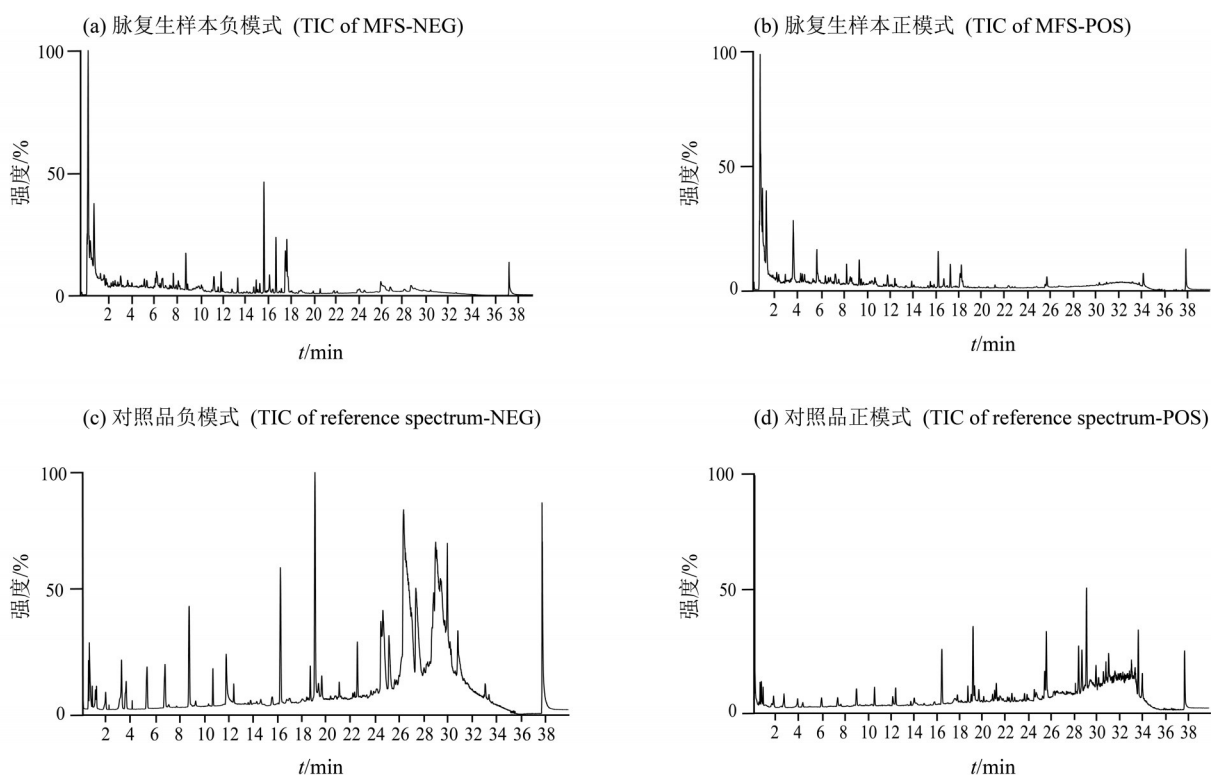


图1 总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram(TIC)

2.2 成分与疾病靶点

根据 UPLC-Zone TOF-MS/MS 结果,采用“GI absorption=High”和“Druglikeness \geq 2YES”为标准进行活性成分筛选,获得54个活性成分;以“Probability $>$ 0.1”为条件进行靶点筛选,共得到733个相关靶点。构建“脉复生成分-靶点”网络(增强出版:附图1)。该网络图共有815个节点和2 554条边。通过OMIM数和Disgenet数据库对NAFLD疾病靶点进行筛选,共得到1 458个疾病相关靶点;利用Jvenn在线工具,获得脉复生治疗NAFLD主要作用靶点176个,结果如图2所示。

2.3 脉复生-成分-NAFLD-靶点网络图构建

将交集靶点对应的成分与NAFLD靶点导入Cytoscape 3.9.1软件进行网络图构建与分析,结果如图3所示。根据Degree值进行排名,排名前10的成分为Levistilide A、Lyoniresinol、Tembetarine、Hypaphorine、N-Decanoylalanine、Quercetin、Phello-dendrine、Rehmapicrogenin、Asiatic acid、Tetrahydro-

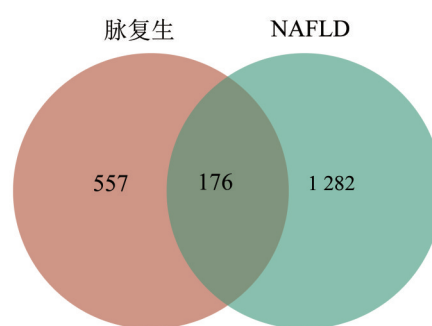


图2 脉复生成分靶点与疾病靶点 Venny 图
Fig. 2 Venny of targets and disease targets of compounds of MFS

palmatine作为分子对接配体;将交集数据在String网站(<https://string-db.org>)进行PPI蛋白互作分析,利用Cytoscape 3.9.1软件进行优化,使用CytoHubba插件进行排序,共有176个节点和919条节边,排名前10的靶点为STAT3、EGFR、IL1 β 、IL17、TNF、NFKB1、AKT1、JUN、BCL2、PTGS2,作为分子对接受体,如图4所示。

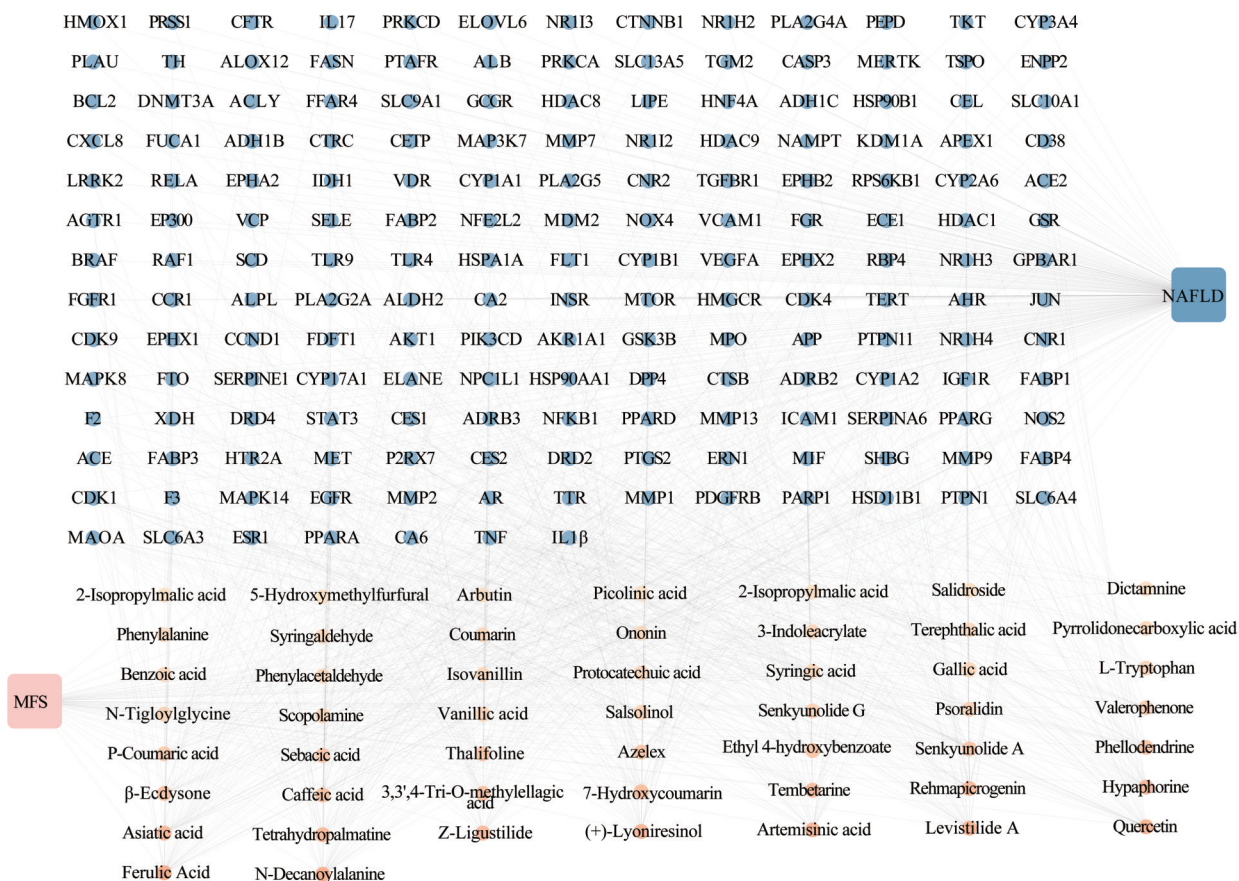


图3 “脉复生-成分-NAFLD-靶点”网络图
Fig. 3 MFS-Components-NAFLD-Targets network

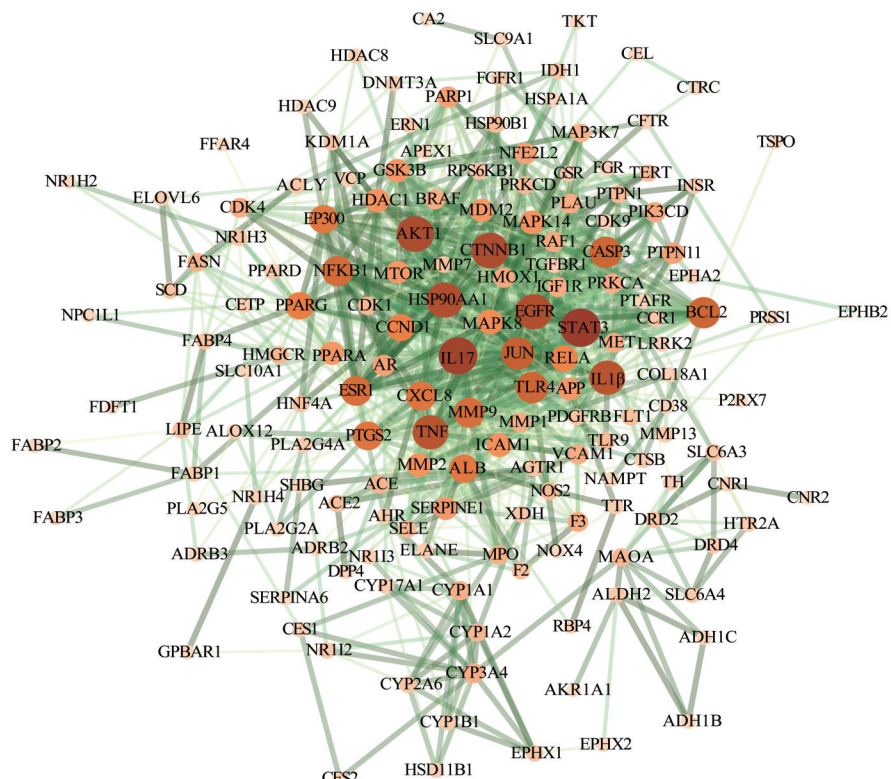


图4 脉复生治疗 NAFLD 主要的作用靶点
Fig. 4 The main target of MFS in treating NAFLD

2.4 GO和KEGG富集分析

结果表明,靶点基因主要参与了细胞迁徙的正向调节、磷代谢过程的正向调节、炎症反应等生物过程,与细胞膜、受体复合物、转录调节复

合体等细胞成分相关,分子功能有蛋白激酶活性、转录因子结合、生长因子受体结合等;KEGG通路富集表明,相关通路与脂质与动脉粥样硬化、免疫应答、脂肪酸代谢过程等相关,如图5所示。

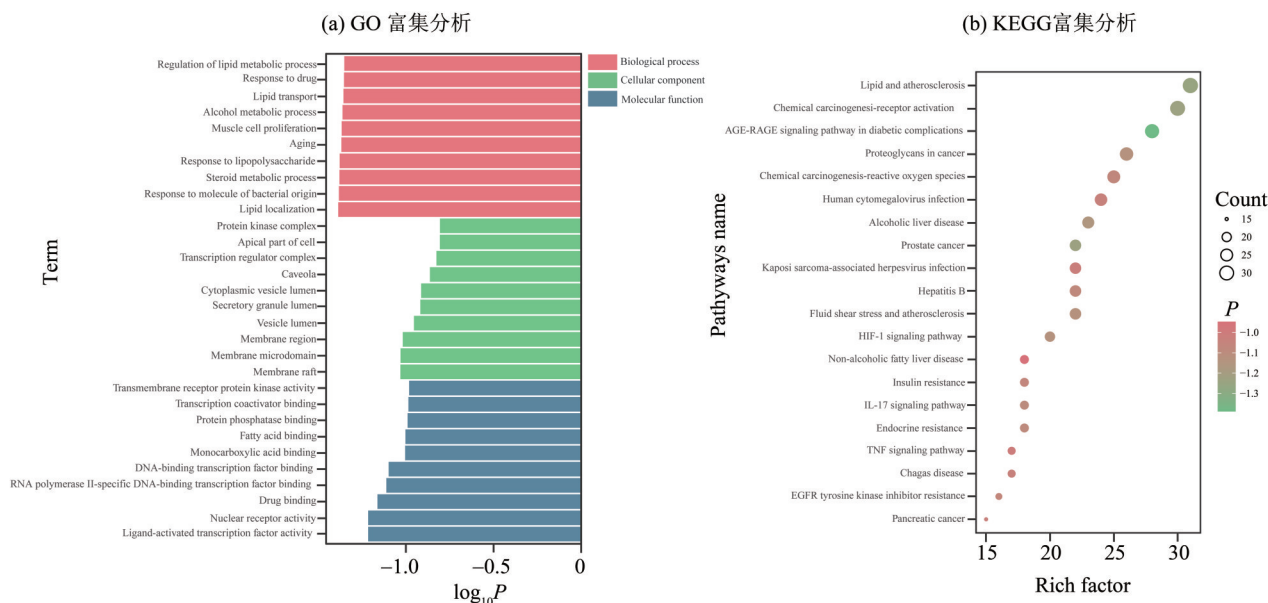


图5 GO和KEGG富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis of GO and KEGG

2.5 分子对接结果

运用Autodock软件将Degree值前10的成分与靶点进行分子对接,得到对接模型结合能热图,如图6所示。其中TNF与Quercetin、IL-17与Asiatic acid、IL-1 β 与Quercetin结合能绝对值排名前3,表明他们具有较好的结合能力,说明Quercetin和Asiatic acid可能通过靶向作用于TNF、IL-17、IL-1 β 发挥治疗NAFLD的作用,使用Pymol2.6进行可视化分析,如图7所示。

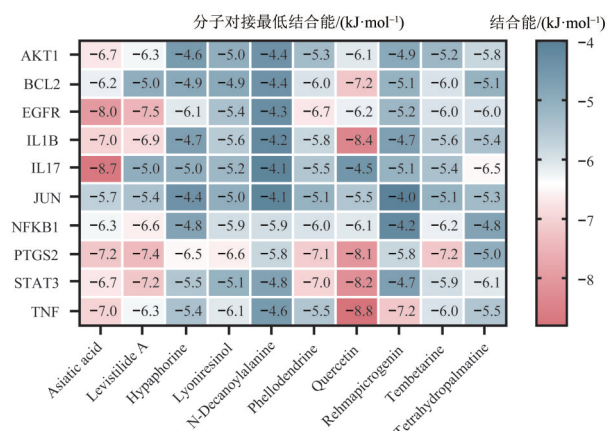


图6 分子对接结合能热图

Fig.6 Heat map of molecular docking binding energy

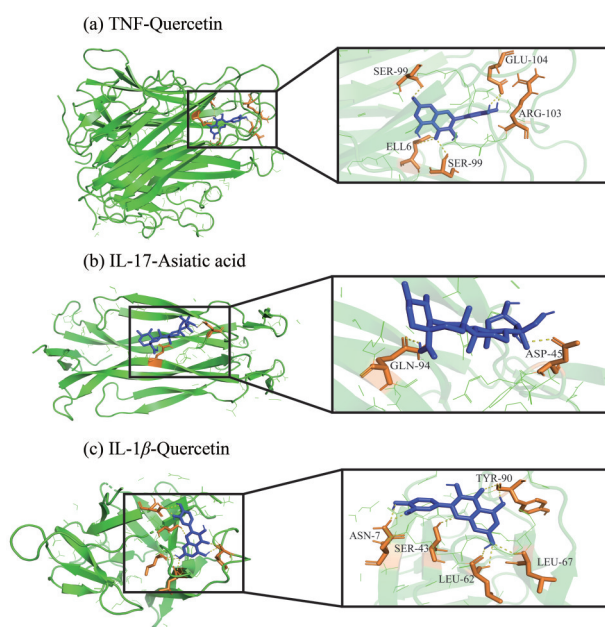


图7 成分-靶点分子对接模式图

Fig. 7 The docking pattern of Component-Target molecules

2.6 脉复生对高脂饲养小鼠诱导NAFLD的影响

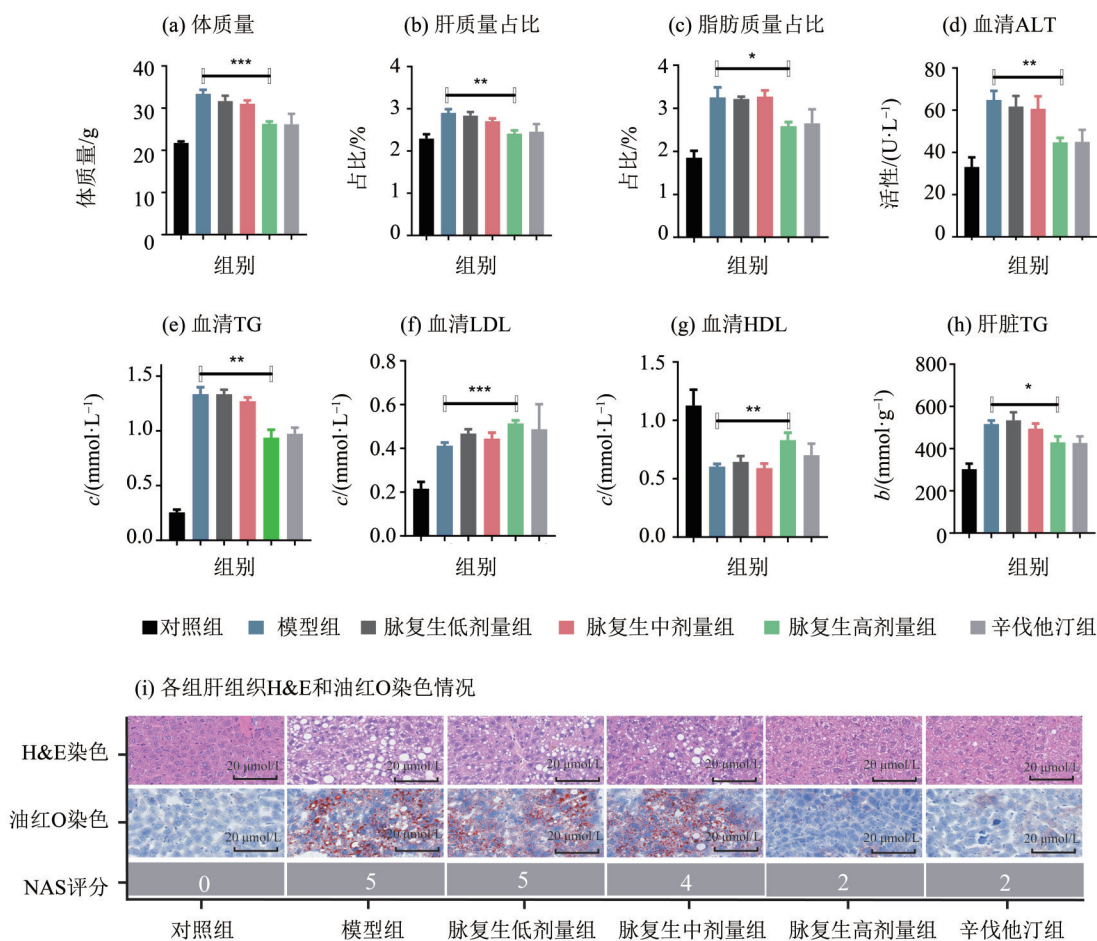
2.6.1 脉复生对肝脏生理指标的影响 与对照组相比,模型组小鼠体质量显著高增加,脉复生低、中剂量组无显著性差异,脉复生高剂量组和辛伐他汀组小鼠体质量显著降低($P < 0.001$),如图8a

所示;与对照组相比,模型组肝脏质量占比和脂肪质量占比明显升高,脉复生高剂量组和辛伐他汀组显著降低肝脏质量占比($P<0.01$)和脂肪质量占比($P<0.05$),如图8b~c所示。

2.6.2 脉复生对肝脏生化指标的影响 ALT是存在于肝脏参与蛋白质转换的酶,肝细胞受损会引起ALT的升高(刘宏等,2018)。与对照组相比,模型组血清ALT显著升高($P<0.05$);与模型组比较,给予药物治疗后血清ALT活性降低,其中脉复生高剂量组与辛伐他汀组效果显著($P<0.05$),如图8d所示;甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)与血脂代谢密切相关。与对照组相比,模型组血清TG、LDL-C升高,HDL-C降低;与模型组相比,脉复生高剂量组与辛伐他汀组显著降低TG、LDL-C血清水

平升高HDL-C血清水平,差异具有统计学意义($P<0.05$),如图8e~h所示。

2.6.3 脉复生对肝脏组织病理的影响 肝组织病理检查是诊断NAFLD的金标准,非酒精性脂肪肝活动度评分(NAS)从脂肪变性、小叶炎症和肝细胞气球样变性3个方面进行评分(田爱平等,2023)。对照组小鼠肝小叶结构完整,轮廓清晰,肝细胞胞质均匀,肝窦正常,肝索呈放射状整齐排列。模型组肝实质受损,可见大泡性脂肪变性和肝细胞气球样变性,门管区炎症细胞浸润,肝小叶纤维化。与模型组比较,脉复生各剂量给药组与辛伐他汀组脂肪变性程度明显减轻。肝细胞气球样变形减少、炎性浸润减轻、小叶纤维化程度降低;脉复生高剂量组和辛伐他汀组肝细胞排列整齐,无明显脂肪变性和纤维化改变,如图8i所示。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

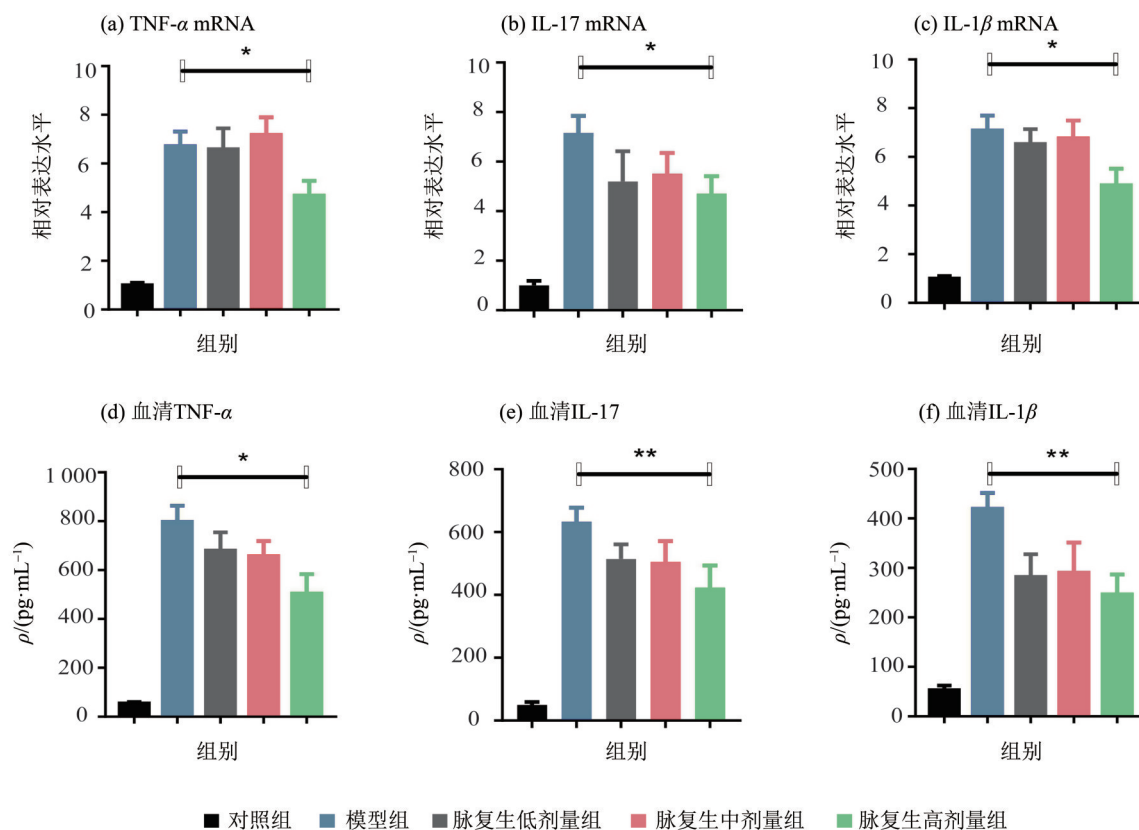
图8 脉复生对小鼠非酒精性脂肪肝的作用效果

Fig. 8 Effect of MFS improvement to NAFLD

2.7 脉复生对NAFLD小鼠肝脏炎症水平的影响

与对照组相比,模型组血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-17的含量与mRNA表达升高($P<0.01$);与模型

组相比,脉复生给药组小鼠血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-17的含量与mRNA表达降低($P<0.05$),脉复生高剂量组具有显著性差异($P<0.01$),如图9所示。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图9 脉复生对炎症细胞因子表达的影响

Fig. 9 Effect of MFS on the expression of Inflammatory Cytokines

2.8 脉复生对NAFLD小鼠脂质代谢相关基因表达的影响

2.8.1 脉复生促进NAFLD小鼠肝脏脂肪分解
 肌肉碱棕榈酰转移酶(CPTs)和过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)是参与脂肪酸氧化的关键因子,调节脂肪酸 β 氧化。与对照组相比,模型组PPAR α 、Cpt1a和Cpt2的mRNA表达降低,经脉复生低、中、高剂量组干预治疗后mRNA表达上调,并在脉复生高剂量组中具有显著性差异($P < 0.01$),说明脉复生能够促进HFD诱导NAFLD小鼠脂肪分解,如图10a所示。

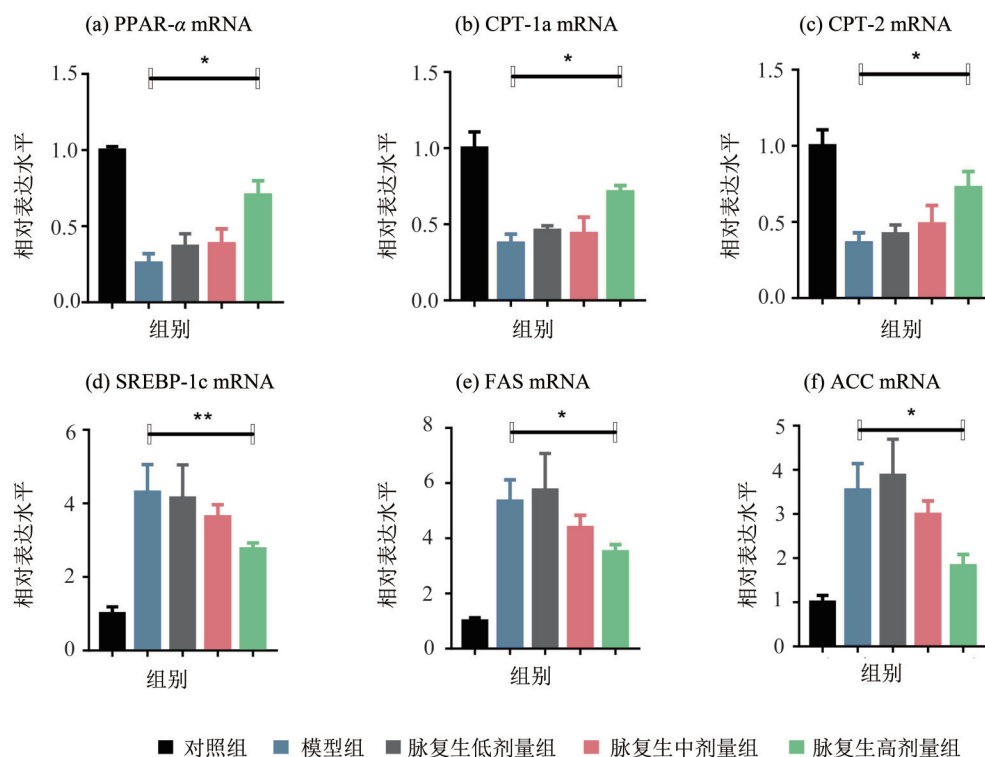
2.8.2 脉复生抑制NAFLD小鼠肝脏脂肪合成
 固醇调节元件结合蛋白1c(Srebp1c)是脂肪生成的主要调节因子,脂肪酸合酶(Fas)和乙酰辅酶A羧化酶(Acc)是脂肪合成的关键酶。与对照组相比,模型组Srebp1c、Fas和Acc的mRNA表达显著上调,经脉复生低、中、高剂量组干预治疗后,Srebp1c、Fas和Acc的表达水平显著下调,脉复生高剂量组差异具有显著性($P < 0.01$),说明脉复生能够抑制HFD诱导NAFLD小鼠脂肪合成,如图

10b所示。

3 讨论

本研究使用UPLC-Zone TOF-MS/MS对脉复生的化学成分进行检测,共指出130个化学成分,包括黄酮类、生物碱类和皂苷类等。脉复生原质量标准仅检测竹节参皂苷IV和人参皂苷Ro含量。本文采用超高压液相-质谱联用技术检测包含竹节参皂苷IV和人参皂苷Ro在内的多个化学成分,更加全面深入地诠释了脉复生的化学物质基础。在此基础上,进一步采用网络药理学技术阐明脉复生治疗NAFLD的药效物质。

慢性炎症是NAFLD发展成非酒精性脂肪性肝炎(NASH)及肝纤维化的关键驱动因素(Srinivas et al., 2021)。TNF- α 与NAFLD的发生密切相关,能够直接反应肝脏脂肪功能(许磊等, 2019),在肝脏发生损伤时,主要由肝脏Kupffer巨噬细胞产生,此外脂肪细胞堆积也会促进TNF- α 的产生,继而诱导多种促炎介质的释放,如IL-1 β 、IL-18、IL-6、CCL-5、MCP-1等,加重肝脏炎症反应,导致



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图10 脉复生对脂质代谢基因表达的影响

Fig. 10 Effect of MFS on the expression of Lipid Metabolism gene expression

NAFLD相关并发症的发生(Vachliotis et al., 2023)。前期实验发现, 脉复生可以通过下调IL-6和TNF- α , 降低CAM-1和VCAM-1的蛋白表达及转录水平, 减轻大鼠血管内皮炎症反应, 其抗炎作用与NF- κ B信号通路密切相关。另外, 脉复生还靶向作用于CD3⁺、CD20⁺细胞, 抑制炎症浸润和炎症因子释放(刘若轩等, 2018; 钟世顺等, 2019; Li et al., 2021)。IL-17是主要由CD4⁺T细胞和 $\gamma\delta$ T细胞分泌的促炎细胞因子(Meng et al., 2021), 调节先天性和适应性免疫, 能够加快NAFLD和肝纤维化的进展(李燕平等, 2016)。网络药理学分析得到脉复生中10个关键药效成分与10个核心靶点, 通过分子对接实验, 发现成分与TNF- α 、IL-1 β 与IL-17之间有较好的结合能力。HFD诱导NAFLD小鼠体内实验进一步说明, 脉复生通过剂量依赖性抑制上述炎症因子的表达来缓解NAFLD的发展。

脂质代谢异常引起肝脏脂质堆积是引起NAFLD发生的另一重要特征, 由肉碱棕榈酰转移酶CPT1a和CPT2介导的脂肪酸 β 氧化是脂肪分解

的核心步骤, PPAR- α 活化后起转录因子作用, 通过调控CPT1a和CPT2调节脂肪酸 β 氧化(Chu et al., 2022)。Fas和Acc是脂肪酸合成的重要限速酶, Srebp1c的激活能够增加脂肪酸合成和甘油三酯的积累(Gong et al., 2023)。研究结果显示, 脉复生高剂量组显著上调HFD诱导NAFLD小鼠PPAR α 、Cpt1a和Cpt2的mRNA表达水平($P < 0.05$), 加速脂质分解, 减少脂肪堆积, 脉复生治疗组下调Srebp1c、Fas和Acc的表达水平($P < 0.01$), 抑制肝脏脂肪生成, 减少甘油三酯的分泌。

非酒精性脂肪肝严重的并发症是导致患者死亡的主要因素(Mantovani et al., 2020), 炎症的发生与疾病的进展密切相关, 早期监控NAFLD恶性病变指标和尽早预防NAFLD恶性肝脏病变具有重要的临床意义(Cotter et al., 2020), 开发NAFLD治疗新策略成为近期研究热点(Shi et al., 2024)。脉复生能够减轻NAFLD小鼠体质量和肝脏脂肪质量, 通过下调TNF- α 、IL-1 β 与IL-17的表达和调控脂肪酸代谢相关基因表达, 减缓NAFLD的进展, 为研发防治NAFLD的新药提供新方向。

参考文献:

- 杜猛,尹红,2010.脉复生对脉管炎患者免疫功能的调节作用[J].湖北中医杂志,32(4):46-47.
- 李燕平,沈天然,陈旭,等,2016.白介素-17A对胰岛素信号通路的影响及其机制[J].中山大学学报(医学科学版),37(6):809-816.
- 刘宏,生书晶,苏薇薇,2018.复方血栓通胶囊对弥散性血管内凝血模型大鼠肝肾功能的影响[J].中山大学学报(自然科学版),57(6):97-102.
- 刘若轩,李阿荣,邓志军,等,2018.脉复生对血栓闭塞性脉管炎大鼠血管内皮炎症的作用[J].广东药科大学学报,34(3):330-334.
- 田爱平,杨永峰,2023.非酒精性脂肪性肝病诊断-病理的重要性[J].临床肝胆病杂志,39(3):491-497.
- 许磊,汪子铮,牛亦博,2019.不同负荷游泳运动对PM_{2.5}暴露运动大鼠肝脏TNF- α 、PPAR- γ 蛋白表达的影响[J].中山大学学报(自然科学版),58(6):19-24.
- 钟世顺,李阿荣,洪波,等,2019.脉复生加减方对血栓闭塞性脉管炎大鼠血管内皮炎症作用[J].今日药学,29(12):804-806.
- 周伟青,刘若轩,张洁,等,2016.脉复生对血栓闭塞性脉管炎患者血脂与血液流变学的作用[J].广东医学,37(1):130-132.
- CHU X, ZHOU Y, ZHANG S, et al, 2022. *Chaetomorpha linum* polysaccharides alleviate NAFLD in mice by enhancing the PPAR α /CPT-1/MCAD signaling [J]. *Lipids Health Dis*, 21(1): 140-151.
- COTTER G, RINELLA M, 2020. Nonalcoholic fatty liver disease 2020: The state of the disease[J]. *Gastroenterology*, 158(7): 1851-1864.
- DUAN Y, PAN X, LUO J, et al, 2022. Association of inflammatory cytokines with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Front Immunol*, 13: 880298.
- GONG Z, HAN S, LI C, et al, 2023. *Rhinacanthin C* ameliorates insulin resistance and lipid accumulation in NAFLD mice via the AMPK/SIRT1 and SREBP-1c/FAS/ACC signaling pathways[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2023: 6603522.
- LI J, ZHONG J, HUANG C, et al, 2021. Integration of traditional Chinese medicine and nibble debridement and dressing method reduces thrombosis and inflammatory response in the treatment of thromboangiitis obliterans [J]. *Ann Transl Med*, 9(18): 1413.
- LIU N, YANG X, GUO J, et al, 2023. Hepatic ZBTB22 promotes hyperglycemia and insulin resistance via PEPCK1-driven gluconeogenesis[J]. *EMBO Rep*, 24(6): e56390.
- MANTOVANI A, SCORLETTI E, MOSCA A, et al, 2020. Complications, morbidity and mortality of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Metabolism*, 111: 154170.
- MENG Z, LIU X, LI T, et al, 2021. The SGLT2 inhibitor empagliflozin negatively regulates IL-17/IL-23 axis-mediated inflammatory responses in T2DM with NAFLD via the AMPK/mTOR/autophagy pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 94: 107492.
- SHI X, XIONG Y, SONG H, et al, 2024. Progress and hot-spot of diet or exercise therapy in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Front Nutr*, 11: 1326092.
- SRINIVAS N, SURESH D, SANTHEKADUR K, et al, 2021. Extracellular vesicles as inflammatory drivers in NAFLD[J]. *Front Immunol*, 11: 627424.
- VACHLIOTIS D, POLYZOS A, 2023. The role of tumor necrosis factor- α in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Curr Obes Rep*, 12(3): 191-206.
- ZACHOU M, FLEVARI P, NASIRI-ANSARI N, et al, 2024. The role of anti-diabetic drugs in NAFLD. Have we found the Holy Grail? A narrative review [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 80(1): 127-150.
- ZHONG F, ZHOU X, XU J, et al, 2020. Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Digestion*, 101(5): 522-535.

(责任编辑 张冰)