

本文引用:廖小妹,陈美丽,王玺舜,唐博翔,何文智.加味消脂利肝方治疗非酒精性脂肪肝的网络药理学研究及实验验证[J].湖南中医药大学学报,2023,43(2):317-326.

加味消脂利肝方治疗非酒精性脂肪肝的网络药理学研究及实验验证

廖小妹^{1,2},陈美丽³,王玺舜²,唐博翔²,何文智^{1,2*}

1.湖南中医药大学口腔医学院,湖南长沙410208;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208;

3.湖南中医药大学附属长沙市中医医院,湖南长沙410002

[摘要] **目的** 基于网络药理学预测加味消脂利肝方治疗非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的作用机制,并通过实验验证加味消脂利肝方治疗 NAFLD 的作用。**方法** 通过 TCMSPP 收集加味消脂利肝方的主要化学成分及靶点信息;使用 GeneCards 和 OMIM 数据库获取 NAFLD 相关靶点;通过 STRING 平台对药物疾病靶蛋白进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建,运用 Cytoscape 3.9.0 对 PPI 图进行关键靶点分析;利用 Metascape 数据库对共有靶点进行基因本体(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库通路富集分析。实验验证利用高脂饮食诱导法(high-fat feed, HFD)构建 NAFLD 大鼠模型,分为空白组,模型组,加味消脂利肝方低、中、高剂量组,阳性药组。灌胃 2 周后,HE 染色观察各组血清、肝组织的形态学。**结果** 通过网络药理学预测得到加味消脂利肝方通过 IL-6、TNF、JUN、IL-1 β 、CXCL8 等核心靶点发挥抗炎消脂作用,KEGG 富集到基因通路 198 条,其中包括 PI3K/Akt 信号通路、TNF 信号通路等。验证实验表明,与空白组相比,模型组 ALT、AST、TG、TC、LDL-C 血清浓度明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),HDL-C 血清浓度明显降低($P<0.01$),脂滴区域增加。与模型组相比,加味消脂利肝方组 NAFLD 大鼠血清 ALT、AST、TG、TC、LDL-C 水平降低($P<0.05$),HDL-C 水平升高($P<0.05$),脂滴区域减少。**结论** 加味消脂利肝方具有多通路、多靶点的优势,能改善血清脂质水平及肝功能,减少肝脏内脂质沉积,最终发挥治疗 NAFLD 的作用。

[关键词] 加味消脂利肝方;非酒精性脂肪肝;脂质水平;实验验证;网络药理学

[中图分类号]R256.4

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.02.023

Network pharmacology analysis and experimental verification of Jiawei Xiaozhi Ligan Decoction in treating NAFLD

LIAO Xiaomei^{1,2}, CHEN Meili³, WANG Xishun², TANG Boxiang², HE Wenzhi^{1,2*}

1. Stomatological College, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Changsha Hospital of Chinese

Medicine in Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410002, China

[Abstract] **Objective** To identify the mechanism of Jiawei Xiaozhi Ligan Decoction (JWXZLGD) in treating non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) based on network pharmacology, and to verify the effects on NAFLD by experiments. **Methods** TCMSPP database was used to screen the active compounds of JWXZLGD and the target sites. Meanwhile, GeneCards and the OMIM

[收稿日期]2022-10-20

[基金项目]湖南省卫生健康委员会(D202308018795);湖南中医药大学创新项目(2021YF08,2021dj04)。

[第一作者]廖小妹,女,硕士研究生,研究方向:中西医结合防治消化及内分泌疾病。

[通信作者]*何文智,男,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:173489628@qq.com。

database were applied to obtain NAFLD related targets. Protein-protein interaction (PPI) network of the disease target proteins was constructed with the String platform and the key targets in PPI maps were then analyzed by Cytoscape 3.9.0. Then enrichment pathway analysis of GO and KEGG was done based on the Metascape database. Molecular docking of key targets is also performed with the iGemdock Molecular Docking Tool. Finally, experimental verification was carried out by high-fat feed (HFD) to construct a rat model of NAFLD, which was divided into blank group, model group, low-, medium-, high-dose Jiawei Xiaozhi Ligan Decoction group and positive drug group. After 2 weeks of gastric irrigation, morphological observation was carried out on the HE stained liver tissue of serum in each group. **Results** Based on network pharmacology, JWXZLGD could take anti-inflammatory and fat lowering effects by core targets such as IL-6, TNF, JUN, IL-1 β , and CXCL8, and KEGG is enriched to 198 gene pathways, including NF- κ B, PI3K/Akt, TNF, and other signaling pathways. Compared with the blank group, the model group showed the significantly higher serum concentrations of ALT, AST, TG, TC, and LDL-C ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the significantly lower serum concentration of HDL-C ($P < 0.01$), and demonstrated an increase in lipid droplet area. Compared with the model group, the JWXZLGD group demonstrated lower serum ALT, AST, TG, TC, and LDL-C ($P < 0.05$), higher HDL-C levels ($P < 0.05$) and a decrease in the area of lipid droplets. **Conclusion** JWXZLGD has multiple pathways and targets, which can improve serum lipid levels and liver function, reduce lipid deposition in the liver, and ultimately play a role in the treatment of NAFLD.

[**Keywords**] Jiawei Xiaozhi Ligan Decoction; non-alcoholic fatty liver disease; lipid level; experimental verification; network pharmacology

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是以肝细胞脂肪变性、蓄积,炎症性坏死为病理特征,以炎症反应、胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)为病理机制,无过量饮酒史的临床综合征。NAFLD作为一种潜在的进行性肝病,有25%左右的脂肪变性发展为肝脏炎症并进展为非酒精性脂肪性肝炎^[1],持续的肝损伤和细胞死亡将导致纤维化,最终导致肝硬化和肝癌^[2-3],并且在早期一般不具有临床治疗指征。目前,疾病发展过程中得到普遍肯定的NAFLD发病机制是“多次打击”学说,它阐述其基本表现为由肝细胞内甘油三酯(triglyceride, TG)的蓄积,逐渐过渡成肝组织坏死性炎症和纤维化,进行性发展为肝硬化和肝癌,成为NAFLD患者致死的主要因素^[4]。减少炎症反应、降低肝细胞损害程度、促进患者肝功能恢复、提高生活质量是临床研究NAFLD的目标^[5]。目前,治疗该疾病主要包括生活方式干预、手术、辅助药物等^[6-8],虽有一定的治疗效果^[9],但长期服用效果不佳、肝毒性较大,停药后的反弹现象使其临床依从性差^[10]。

中医学认为NAFLD是膏粱厚味诱发,导致湿、痰、瘀互结的病理因素^[11]。中医药治疗疑难杂症,数千年来积累了很多有效的治疗手段。临床中医运用辨证治疗NAFLD^[12],针灸^[13]、推拿^[14]、穴位埋线^[15]等治法,均获得较好疗效,中医药治疗作用温和、成本低、

治疗依从性高等优势,尤其适用于需长期治疗的慢性代谢性疾病^[16]。综上所述,临床更期待从传统中药组方中寻找新的NAFLD治疗方法。

加味消脂利肝方是临床医家在丹栀逍遥散及保和丸基础上加减化裁而组成,具有疏肝解郁、消脂利肝的功效。前期临床研究中,明确了丹栀逍遥散降脂的有效性,疗效显著,安全性高^[17]。加味消脂利肝方疏肝软坚,健脾消积,解毒散瘀;方中黄连抗炎、降血脂、解热,并通过抑制神经氨酸苷酶进而影响脂肪变性^[18],属于NAFLD临床辨证用方君药之一。但该药方的药效作用机制尚不明确,活性成分及靶点关联性未知。基于此,本研究拟采用网络药理学探索加味消脂利肝方干预NAFLD的机制,为加味消脂利肝方的临床应用提供科学依据,同时实验验证加味消脂利肝方治疗NAFLD的疗效。

1 网络药理学

1.1 加味消脂利肝方药物靶点筛选

借助TCMSP收集加味消脂利肝方各中药的化学成分^[19]。设定口服生物利用度 $\geq 30\%$ 、类药性 ≥ 0.18 ^[20]为TCMSP数据库的筛选条件,获得活性成分及作用靶点后,将化合物作用的靶点转化为UniProt蛋白质数据库标准化的靶点,限定物种为“Homo sapiens”。

1.2 非酒精性脂肪肝疾病靶点库建立

用“Non alcoholic fatty liver disease”“Non-alcoholic fatty liver disease”“NAFLD”为疾病关键词,通过 GeneCards、OMIM 数据库筛选 NAFLD 的潜在靶点。在 GeneCards 数据库中,Score 值和该靶点与疾病联系成正相关,选取相关性分数>5 的靶点,取两个数据库信息的交集,建立疾病靶点库。

1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建

疾病与药方靶点取交集并绘制韦恩图,并提交至 STRING 数据库构建 PPI 网络模型^[21],生物种类设定为“Homo sapiens”,最小互相作用阈值设定为“highest confidence”(>0.9),获得 PPI 网络,并通过 Cytoscape 3.9.0 中的 MCODE 插件对 PPI 网络进一步分析获取关键靶点。

1.4 基因本体(gene ontology, GO)分析与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析

应用 MetaScape 数据平台对加味消脂利肝方与 NAFLD 交集靶点进行 GO、KEGG 通路富集分析。

2 实验验证

2.1 材料

2.1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠,体质量(200±20) g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司出售,实验动物许可证 SYXK(湘)2019-0009,湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准伦理编号:XMBH-202110290006。

2.1.2 仪器 Motic 显微镜(北京荣兴光恒科技有限公司,货号:BA210T);SQ2125 石蜡切片机(金华市益迪医疗设备有限公司,货号:YD-315);包埋机(常州市中威电子仪器有限公司,货号:BMJ-A);盖玻片(货号:DY89-1)、载玻片(货号:AY89-2)均购自海门市远泰实验器材厂;全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司,货号:JXFSTPRP-48);PVDF 膜(上海玉博生物科技有限公司,货号:IPVH00010)。

2.1.3 药物 加味消脂利肝方组成:黄连 6 g,柴胡 30 g,生白芍 10 g,广郁金 15 g,莪术 10 g,山楂 10 g,丹参 10 g,大黄 15 g,炒枳壳 10 g,泽泻 10 g,炒白术 15 g,茯苓 15 g(湖南中医药大学第一附属医院中

药房购买,批号:2110001S、2105004S、2108003S、2104001S、2108005W、2109003S、2109004S、2108017W、2108007C、2109008S、2106028C、2110011C)。辛伐他汀(成都恒瑞制药有限公司,批号:211005)。

2.1.4 试剂 血清 ALT、AST、TG、TC、HDL-C、LDL-C 采用 ELISA 试剂盒检测(厂家:南京建成生物工程研究所有限公司,批号:20220512、20220511、20220513、20220512、20211225、20211225);中性树脂(长沙艾碧维生物科技有限公司,批号:20220206);苏木素伊红染色液(长沙艾碧维生物科技有限公司,批号:01A20211223);PBS(长沙艾碧维生物科技有限公司,批号:20220111)。

2.2 方法

2.2.1 造模及药物制备 NAFLD 模型:利用 HFD 诱导法造模^[22]:持续高脂饲料(高脂饲料配方:普通饲料 70%,1%胆固醇,10%猪油,10%蔗糖)喂养 6 周后,随机选取 4 只解剖,观察大鼠肝脏脂肪变,判断模型建立是否成功。将中药饮片按剂量比例称取 156 g,水煎煮 3 次,每次 1 h,合并 3 次煎煮滤液,浓缩至 200 mL,即加味消脂利肝方生药浓度 0.78 g·mL⁻¹。

2.2.2 分组及给药 采用 SPSS 25.0 以简单随机抽样法将大鼠分为空白组($n=5$),模型组($n=5$),加味消脂利肝方低、中、高剂量组($n=5$),阳性药组(辛伐他汀组, $n=5$)。按大鼠体质量每 100 g 灌胃 1 mL 计算,每天上午加味消脂利肝方低、中、高剂量组分别给予 3.9、7.8、15.6 g·kg⁻¹ 加味消脂利肝方灌胃,阳性药组给予 0.15 mg·kg⁻¹ 辛伐他汀(按体质量 70 kg 成人每天 10 mg 计算)。空白组、模型组给予同体积生理盐水灌胃。各组均灌胃 2 周。

2.2.3 血清脂质指标及肝功能指标检测 于 8 周末实验结束后腹主动脉取血,常温下静置血液 1 h,后离心取上清液,用于测定各组大鼠血清 TG、TC、HDL-C、LDL-C、ALT、AST 水平。

2.2.4 HE 染色 实验结束后取材,心脏灌注,取肝脏以多聚甲醛固定用于病理染色,将固定的肝组织脱水,石蜡包埋。60 °C 烤片 12 h。切片脱蜡至水:先将切片 3 次置于二甲苯中,每次 20 min,然后依次置于 100%、95%、85%、75%乙醇中 5 min。再用蒸馏水浸洗 5 min,苏木素染 5 min,蒸馏水冲洗,PBS 返蓝,伊红染 5 min,蒸馏水冲洗,梯度乙醇(95%~100%)脱水,每级 5 min(或者直接把切片烤干)。取出后置于

表 1 加味消脂利肝方治疗 NAFLD 的活性成分

活性成分	中药	活性成分	中药
berberine	黄连	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	中药
(R)-canadine	黄连	sugiol	丹参
quercetin	黄连、柴胡、山楂叶	dehydrotanshinone II A	丹参
linoleyl acetate	柴胡	luteolin	丹参
stigmasterol	柴胡、山楂叶	2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione	丹参
isorhamnetin	柴胡、山楂叶	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	丹参
kaempferol	柴胡、白芍、山楂叶	cryptotanshinone	丹参
paeoniflorin	白芍	tanshinone iia	丹参
β -sitosterol	白芍、郁金、大黄、枳壳、泽泻	marmin	枳壳
(+)-catechin	白芍	hesperetin	枳壳
naringenin	郁金、枳壳	nobiletin	枳壳
hederagenin	莪术、茯苓	alisol B monoacetate	泽泻
eupatin	大黄	1-monolinolein	泽泻
rhein	大黄	14-acetyl-12-senecioid-2E,8Z,10E-atractylenetriol	白术
toralactone	大黄	3 β -acetoxyatractylone	白术
aloe-emodin	大黄	8 β -ethoxy atractylenolide III	白术
(-)-catechin	大黄		

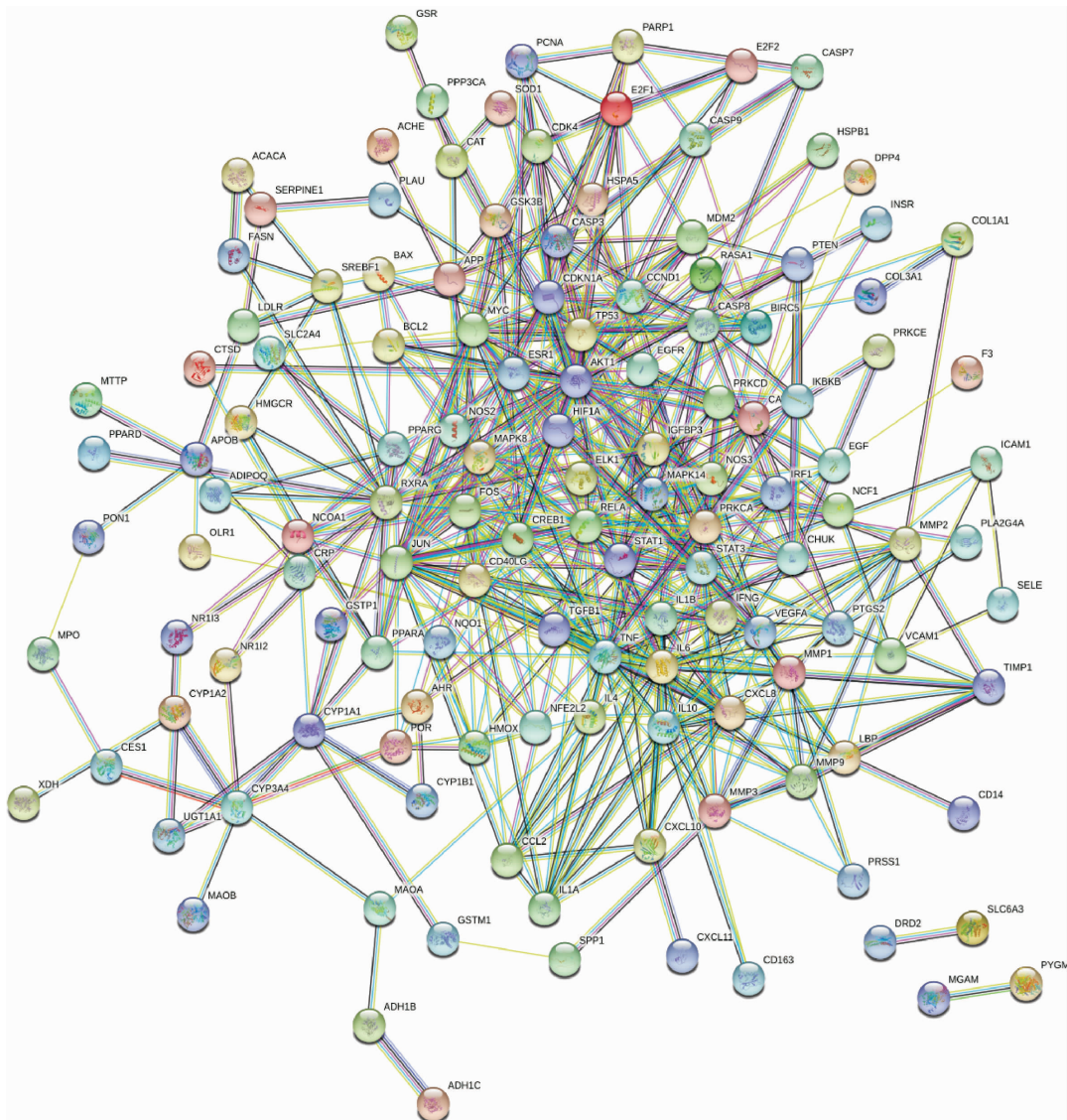


图 3 靶点 PPI 网络图

根据以上信息筛选得到 33 个加味消脂利肝方治疗 NAFLD 的活性成分(表 1)。其中君药预测得到 22 个活性成分,包括黄连 3 个、柴胡 5 个、丹参 8 个、大黄 6 个;臣药筛选得到活性成分 11 个,包括白芍 4 个、郁金 2 个、莪术 1 个、山楂叶 4 个;佐使药预测得到 12 个活性成分,包括枳壳 5 个、泽泻 3 个、白术 3 个、茯苓 1 个。

3.1.3 PPI 网络构建结果 将 148 个潜在靶点信息录入 STRING 平台构建 PPI 网络。设最低要求交互分数:最高置信度为 0.900,结果显示,该网络一共含有靶蛋白节点数 132 个。详见图 3。将上述结果导入 Cytoscape 3.9.0 中进行关键靶点分析,根据 MCC 方法选取的加味消脂利肝方治疗 NAFLD 的关键靶点,预测关联系数前 10 的靶点为核心靶点。详见图 4。

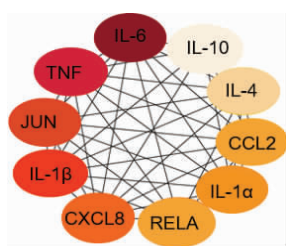


图 4 靶点 PPI 关键靶点预测

3.1.4 GO 分析与 KEGG 通路富集分析结果 对筛选得到的 148 个 NAFLD 靶点进行 GO、KEGG 通路

分析。根据 $P < 0.01$ 筛选出 2105 条 GO 分析结果,包括生物过程(biological process, BP)1846 个、细胞组分(cellular component, CC)97 个、分子功能(molecular function, MF)162 个。根据靶点富集数目进行筛选,运用在线生物网站绘制排名前 10 的结果。详见图 5。同时,以 $P < 0.01$ 作为条件进行筛选,共富集得到 198 条通路,并筛选出靶点富集数目排名前 20 的结果^[23]。详见图 6。分析结果表明,加味消脂利肝方治疗 NAFLD 的作用靶点涉及的通路有 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、TNF 信号通路、NF- κ B 通路等。

3.2 加味消脂利肝方对 NAFLD 大鼠模型的作用

3.2.1 模型判定 空白组大鼠肝脏颜色呈均匀红褐色,边缘锐利,质软。模型组肝脏体积增大,颜色呈暗土黄色,边缘圆钝,包膜紧张,质地变脆。详见图 7。

3.2.2 血清指标检测结果 模型组血清 TG、TC、LDL-C、ATL、AST 水平明显高于空白组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)、HDL-C 水平低于空白组 ($P < 0.01$)。治疗 2 周后,与模型组相比,加味消脂利肝方中剂量组血清 TG、TC、LDL-C、ATL、AST 水平降低 ($P < 0.05$),血清 HDL-C 水平升高 ($P < 0.05$);阳性药组血清 TG、TC、LDL-C、ATL、AST 水平降低 ($P < 0.05$),血清 HDL-C 水平升高 ($P < 0.05$)。详见图 8。

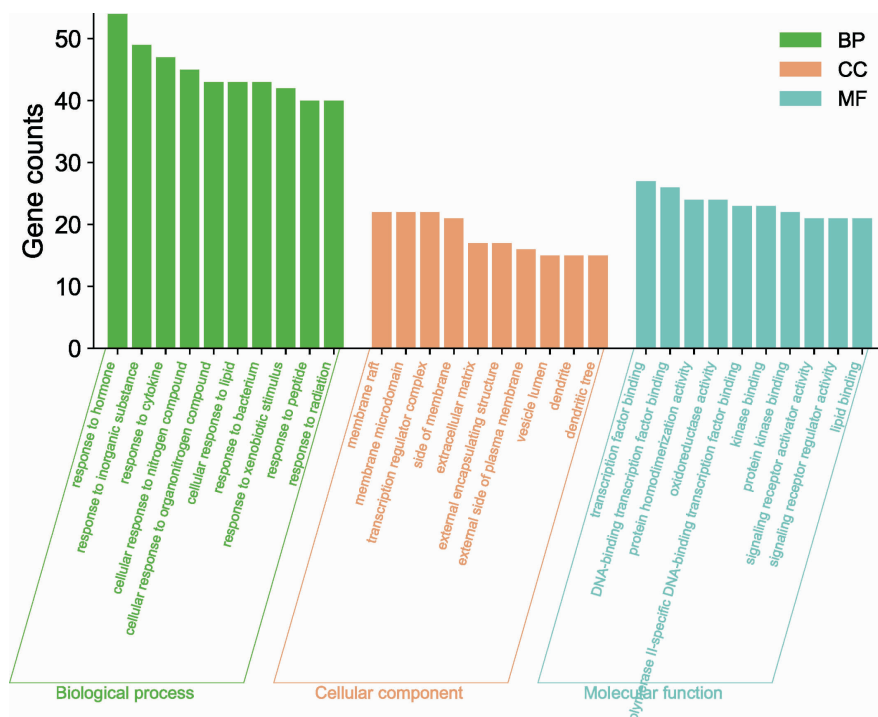


图 5 GO 分析图

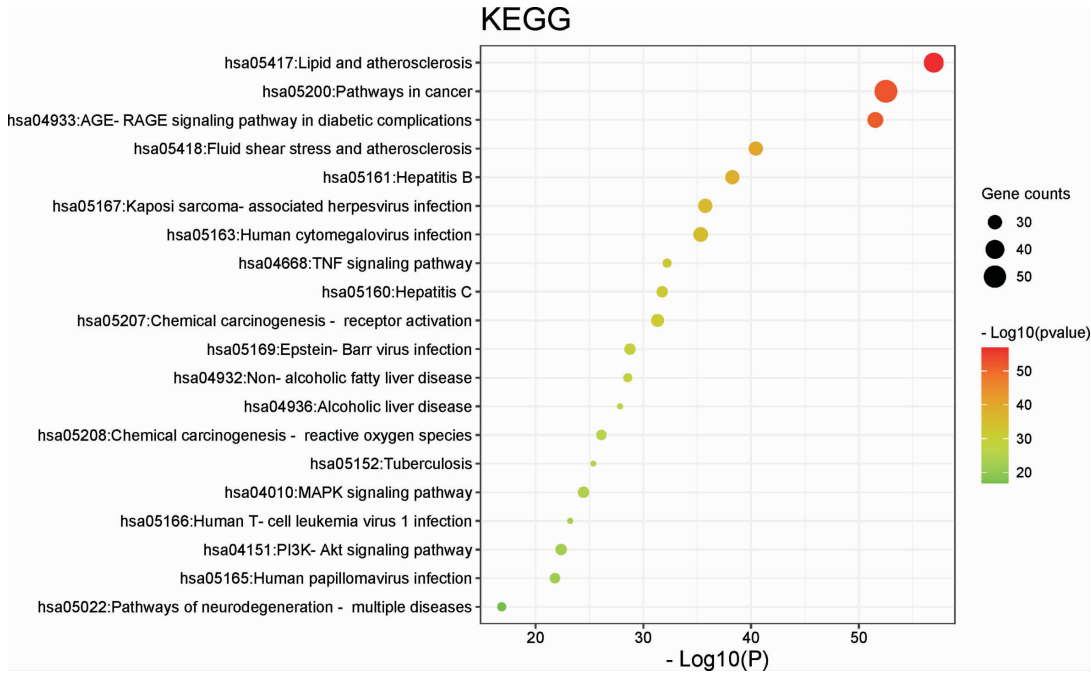


图 6 KEGG 通路分析富集气泡图

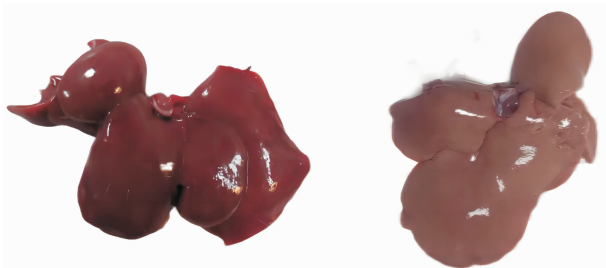


图 7 大鼠肝脏肉眼观察图

泡及炎症性浸润。与模型组相比,加味消脂利肝方低、中、高组肝脏内脂滴性空泡显著减少,阳性药组的脂肪变性及炎症坏死明显改善。详见图 9。

4 讨论

随着生活饮食习惯的改变,我国慢性代谢性肝脏疾病发病率不断上升,因肝脏炎症性坏死,脂肪变性造成肝功能损伤最终导致的肝纤维化、肝硬化逐年增加,尤其是中老年更为严重,长期治疗使患者承

3.2.3 加味消脂利肝方对 SD 大鼠肝组织病理学的影响 与空白组比较,模型组肝脏可见内脂滴性空

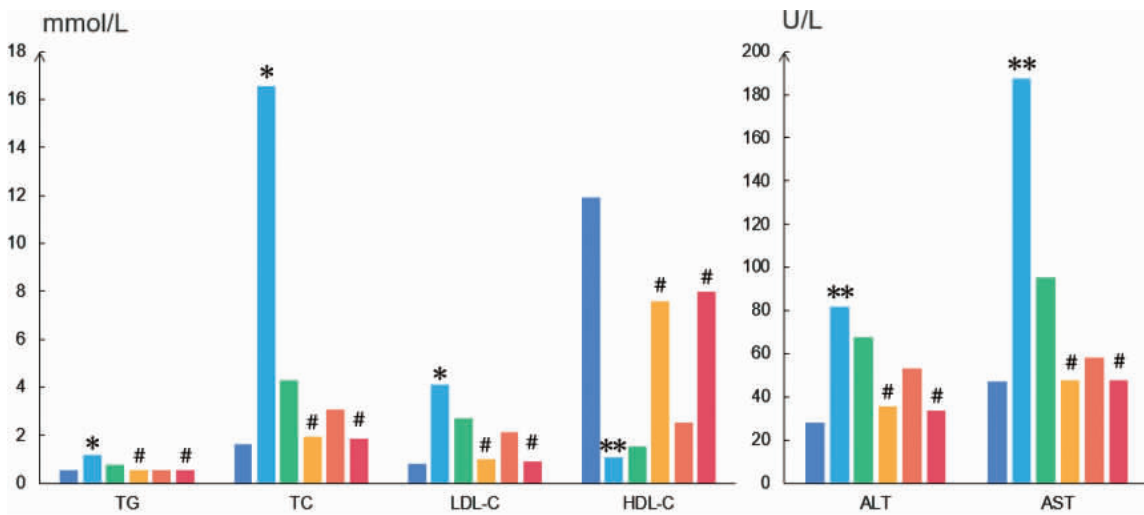


图 8 各组大鼠血清指标

注:从左到右不同颜色柱状图形依次为空白组,模型组,加味消脂利肝方低、中、高剂量组,阳性药组;与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$ 。

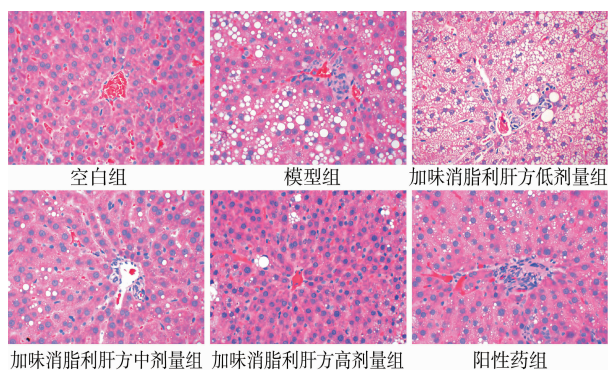


图9 SD大鼠肝组织HE染色结果($\times 400$)

受了极大的心理和经济压力^[24]。NAFLD的全球患病率为25%,据报道,南美洲为30.45%、亚洲为27.37%、北美洲为24.13%、欧洲为23.71%、非洲为13.48%,其中,中东地区的患病率最高,为31.79%^[25-26],患病率在全球范围内呈上升趋势。研究证明肝脂肪沉积是NAFLD的重要病理改变,其病理改变具有可逆性,常可通过改变生活方式缓解,然而早期NAFLD无特异性诊治手段,改变生活方式对患者挑战性大,因此临床重点探索潜在的治疗药物^[26]。

中医学将脂肪肝归属于“胁痛”“积聚”“湿浊”等病的范畴,其发病可由饮食失调、过食肥甘厚味、缺少运动以及情志所伤引起,本虚标实,肝郁为发病关键环节,脾虚为病机,痰瘀互阻为主要病理因素贯穿疾病始终^[27],临床中医治疗以张仲景“见肝之病,知肝传脾,当先实脾”的理论为基础^[28],中药方以调肝兼理脾药为主。近年来,随着饮食结构和生活方式的改变,不同患者表现出的疾病征象不尽相同^[29],因此,NAFLD的早期筛查有利于及时发现疾病并延缓疾病的进展,符合中医学“治未病”理论^[30]。

本实验分析发现,与模型组比较,加味消脂利肝方中剂量组TG、TC、LDL-C水平降低($P < 0.05$),HDL-C水平升高($P < 0.05$),肝功能ALT、AST水平改善($P < 0.05$),加味消脂利肝方能明显改善大鼠血清血脂及肝功能,肝脏组织病理得到明显改善,为后续进一步实验验证提供了部分基础,而改善脂质指标及肝功能指标未成剂量依赖性,可能与肝脏代谢功能受损,无法代谢高浓度药量有关,但其肝组织病理学改变有一定剂量变化趋势,其结果具有临床意义。

对于中药治疗NAFLD作用机制,网络药理学可以较好的预测^[31]。有研究表明,TCMSP筛选结果中活性成分小檗碱已被用于治疗代谢综合征,尤其是

通过调节肠道菌群治疗NAFLD^[32]。小檗碱增加了SCFA诱导的细菌增殖,并降低了肥胖和瘦素水平,增加了胰岛素敏感性和脂联素水平,增加益生菌双歧杆菌和乳酸杆菌的数量。同时小檗碱^[33]降低NAFLD肝细胞活性、IL-6和TNF水平^[34],下调NF- κ B活性,抑制肝脏炎症反应的产生^[35]。柚皮素可通过EGFR-PI3K-Akt/ERK-MAPKinase通路,降低NF- κ B活性、抑制肝脏炎症反应^[36],同时,山柰酚可通过抑制Tyk-STAT信号通路,改善炎症反应导致的代谢性疾病^[37]。

IL-6、TNF、IL-4、IL-10等炎症因子诱导的炎症反应^[38]是NAFLD发生发展中导致肝细胞脂肪变性、脂肪蓄积后肝组织坏死性炎症和纤维化不可逆转的损伤,引起肝功能受损的物质基础^[39],尤其IL-6作为一种重要的炎症因子和脂肪因子,可以诱导机体产生IR^[40]。IL-6、TNF- α 的水平增高是导致疾病发生的一个重要因素,槲皮素浓度与巨噬细胞中胆固醇外流和ABCA1 mRNA及其蛋白质的表达呈正相关^[41],槲皮素能减轻肠道损伤、改善肠屏障完整性、调控肠道菌群^[32],进而改善脂质代谢^[42]。木犀草素能降低巨噬细胞中总胆固醇水平,并改善脂质代谢和抑制炎症反应^[43],这些活性物质是中药方中的常见成分,预期对疾病治疗效果与实验结果相互印证。

综上所述,基于网络药理学结合实验研究,对加味消脂利肝方治疗NAFLD的作用机制进行预测,证实了加味消脂利肝方发挥了治疗NAFLD的作用,且具有多成分、多靶点、多途径的作用机制特征。目前实验研究进一步论证其分子机制,加味消脂利肝方中君药黄连含有活性成分小檗碱,小檗碱作为影响肠道菌群治疗代谢性疾病的主要活性成分,抑制炎症因子改变肠道菌群进而治疗NAFLD,为后续实验验证加味消脂利肝方治疗NAFLD的药效物质基础提供一定的思路,其中肠道菌群在加味消脂利肝方治疗NAFLD中发挥的作用,期待试验的进一步验证。

参考文献

- [1] 张冉冉,李若瑜,徐慧超,等.脂肪肝病机的“六郁”观[J].世界中西医结合杂志,2018,13(10):1456-1458,1462.
- [2] GORE E, BIGAEVA E, OLDENBURGER A, et al. Investigating

- fibrosis and inflammation in an ex vivo NASH murine model[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2020, 318(2): G336-G351.
- [3] REN Z G, et al. Sintilimab plus a bevacizumab biosimilar (IBI305) versus sorafenib in unresectable hepatocellular carcinoma (ORIENT-32): A randomised, open-label, phase 2-3 study[J]. *The Lancet Oncology*, 2021, 22(7): 977-990.
- [4] 辛晟梁,徐可树.非酒精性脂肪性肝病发病机制新认识[J].*临床肝胆病杂志*,2017,33(8):1581-1583.
- [5] TRAUSSNIGG S, SCHATTENBERG J M, DEMIR M, et al. Norursodeoxycholic acid versus placebo in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: A double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 dose-finding trial[J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 4(10): 781-793.
- [6] MORROW M R, BATCHULUUN B, WU J H, et al. Inhibition of ATP-citrate lyase improves NASH, liver fibrosis, and dyslipidemia[J]. *Cell Metabolism*, 2022, 34(6): 919-936.
- [7] LIAN B H, CAI L J, ZHANG Z Q, et al. The anti-inflammatory effect of Pien Tze Huang in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2022, 151: 113076.
- [8] JANI S, DA EIRA D, STEFANOVIC M, et al. The ketogenic diet prevents steatosis and insulin resistance by reducing lipogenesis, diacylglycerol accumulation and protein kinase C activity in male rat liver[J]. *The Journal of Physiology*, 2022, 600(18): 4137-4151.
- [9] GASTALDELLI A, STEFAN N, H?RING H U. Liver-targeting drugs and their effect on blood glucose and hepatic lipids[J]. *Diabetologia*, 2021, 64(7): 1461-1479.
- [10] ZHOU J W, CHEN Y D, YU J, et al. The efficacy of novel metabolic targeted agents and natural plant drugs for nonalcoholic fatty liver disease treatment: A PRISMA-compliant network meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Medicine*, 2021, 100(12): e24884.
- [11] 何 聪,孔 婧,王慧超,等.祛湿化痰法治疗非酒精性脂肪肝研究进展[J].*陕西中医*,2020,41(12):1843-1845.
- [12] YE M Q, TANG Y H, HE J Y, et al. Alleviation of non-alcoholic fatty liver disease by Huazhi Fugan Granules is associated with suppression of TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 2021, 33 (5): 257-266.
- [13] 刘 莉,郝 欣.针灸联合益生菌对非酒精性脂肪肝治疗的临床疗效[J].*中国老年学杂志*,2022,42(8):1853-1856.
- [14] 张 玮,李华南,赵 娜,等.腹部推拿对非酒精性脂肪肝大鼠肠上皮细胞 MLCK、P-MLC 表达及 P-MLC 与 F-actin 共定位的影响[J].*天津中医药*,2021,38(9):1191-1194.
- [15] 阎晓悦,任 鑫,王京奇,等.穴位埋线联合中药治疗非酒精性脂肪性肝病疗效观察[J].*上海针灸杂志*,2020,39(2):173-178.
- [16] BASRI N F, RAMLI A S, MOHAMAD M, et al. Traditional and complementary medicine (TCM) usage and its association with Patient Assessment of Chronic Illness Care (PACIC) among individuals with metabolic syndrome in primary care[J]. *BMC Complement Medicine and Therapeutics*, 2022, 22(1): 14-28.
- [17] 董 璐,曹雅静,薛焕利,等.丹栀逍遥散对非酒精性脂肪性肝病大鼠 LKB1/AMPK/ACC 通路及肝脂肪变性的影响[J].*中西医结合肝病杂志*,2022,32(1):44-48.
- [18] ZHANG J Y, CHEN Q Q, LI J, et al. Neuraminidase 1 and its inhibitors from Chinese herbal medicines: An emerging role for cardiovascular diseases[J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2021, 49(4): 843-862.
- [19] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSp: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 6(1): 13-18.
- [20] ZHAO P, LI J S, LI Y, et al. Systems pharmacology-based approach for dissecting the active ingredients and potential targets of the Chinese herbal Bufei Jianpi formula for the treatment of COPD [J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2015, 10: 2633-2656.
- [21] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [22] 高文静,侯 敏,陈潇潇,等.黄芪囊泡样纳米颗粒通过调节肠道菌群降低 db 糖尿病小鼠血糖的作用机制分析[J].*中国实验方剂学杂志*,2021,27(14):111-118.
- [23] 姜婉茹,周 地,戚嘉欣,等.基于网络药理学的杏贝止咳颗粒治疗哮喘作用机制研究[J].*沈阳药科大学学报*,2022,39(1):68-85.
- [24] YOUNOSSI Z M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A global public health perspective[J]. *Journal of Hepatology*, 2019, 70(3): 531-544.
- [25] HONG T, CHEN Y Y, LI X Y, et al. The role and mechanism of oxidative stress and nuclear receptors in the development of NAFLD[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2021: 6889533.
- [26] 尚文斌,于希忠,王国强,等.人参皂苷 Rb1 改善高脂喂养肥胖小鼠胰岛素抵抗和脂肪异位沉积[J].*中国中药杂志*,2013,38(23): 4119-4123.
- [27] WANG T Y, SONG J, HU J, et al. Efficacy and safety of Huazhi Rougan Granule in the treatment of non-alcoholic fatty liver: A systematic review and meta-analysis [J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2021, 10(12): 12969-12984.
- [28] 谢君艳,邓小敏,陈国忠,等.新思路探析“见肝之病,知肝传脾,当先实脾”[J].*辽宁中医药大学学报*,2018,20(6):85-87.
- [29] KIM J Y, HE F, KARIN M. From liver fat to cancer: Perils of the western diet[J]. *Cancers*, 2021, 13(5): 1095-1113.
- [30] WANG Z L, et al. Chinese herbal medicine: Fighting SARS-

- CoV-2 infection on all fronts[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 270: 113869.
- [31] ZHANG G X, ZHANG Y Y, ZHANG X X, et al. Different network pharmacology mechanisms of Danshen-based Fangjis in the treatment of stable angina[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2018, 39(6): 952-960.
- [32] MOURIES J, BRESCIA P, SILVESTRI A, et al. Microbiota-driven gut vascular barrier disruption is a prerequisite for non-alcoholic steatohepatitis development[J]. *Journal of Hepatology*, 2019, 71(6): 1216-1228.
- [33] YIN X C, PENG J H, ZHAO L P, et al. Structural changes of gut microbiota in a rat non-alcoholic fatty liver disease model treated with a Chinese herbal formula[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2013, 36(3): 188-196.
- [34] SPATUZZA C, POSTIGLIONE L, COVELLI B, et al. Effects of berberine and red yeast on proinflammatory cytokines IL-6 and TNF- α in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of human subjects[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2014, 5: 230-234.
- [35] HARRISON S A, GUNN N, NEFF G W, et al. A phase 2, proof of concept, randomised controlled trial of berberine ursodeoxycholate in patients with presumed non-alcoholic steatohepatitis and type 2 diabetes[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 5503-5510.
- [36] GHANBARI-MOVAHED M, JACKSON G, FARZAEI M H, et al. A systematic review of the preventive and therapeutic effects of naringin against human malignancies[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 639840.
- [37] RIENKS J, BARBARESCO J, NÖTHLINGS U. Association of polyphenol biomarkers with cardiovascular disease and mortality risk: A systematic review and Meta-analysis of observational studies[J]. *Nutrients*, 2017, 9(4): 415-425.
- [38] KANONI S, KUMAR S, AMERIKANOU C, et al. Nutrigenetic interactions might modulate the antioxidant and anti-inflammatory status in mastiha-supplemented patients with NAFLD[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 683028.
- [39] SHIH P H, SHIUE S J, CHEN C N, et al. Fucoidan and fucoxanthin attenuate hepatic steatosis and inflammation of NAFLD through modulation of leptin/adiponectin axis[J]. *Marine Drugs*, 19(3): 148-164.
- [40] MONTEFUSCO L, D'ADDIO F, LORETELLI C, et al. Anti-inflammatory effects of diet and caloric restriction in metabolic syndrome[J]. *Journal of Endocrinological Investigation*, 2021, 44(11): 2407-2415.
- [41] ZHENG B, DUFFY D, TRICOCI P, et al. Pharmacometric analyses to characterize the effect of CSL112 on apolipoprotein A-I and cholesterol efflux capacity in acute myocardial infarction patients[J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2021, 87(6): 2558-2571.
- [42] SANDOVAL-RAMÍREZ B A, CATALÁN Ú, PEDRET A, et al. Exploring the effects of phenolic compounds to reduce intestinal damage and improve the intestinal barrier integrity: A systematic review of in vivo animal studies[J]. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 2021, 40(4): 1719-1732.
- [43] LI J, DONG J Z, REN Y L, et al. Luteolin decreases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice via a mechanism including decreasing AMPK-SIRT1 signaling in macrophages[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018, 16(3): 2593-2599.

(本文编辑 苏 维)