

基于网络药理学和实验验证探讨水红花子对非酒精性脂肪肝病的作用及机制



高舒畅^{1, 2}, 韩丹蕊^{1, 2}, 马东来³, 王晓娜³, 段绪红^{1, 2}

1. 河北中医药大学药学院 (石家庄 050200)
2. 河北省中药炮制技术创新中心 (石家庄 050200)
3. 河北中医药大学实验中心 (石家庄 050200)

【摘要】目的 采用生信分析技术及斑马鱼实验模型探讨水红花子对非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 的作用及可能机制。方法 运用数据库资料, 构建水红花子与 NAFLD 之间的“化学成分-交集靶点-通路”关系网络图, 筛选水红花子治疗 NAFLD 的作用靶点及关键成分, 并通过分子对接及动物实验进一步验证。结果 共筛选到水红花子治疗 NAFLD 的 11 个关键成分、287 个作用靶点, 提示肿瘤坏死因子 (TNF)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、B 细胞淋巴瘤 2 蛋白 (BCL2)、蛋白激酶 B α (AKT1) 等为核心靶点, 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-AKT 为关键信号通路; 分子对接结果显示, 槲皮素、山柰酚、金圣草素与核心靶蛋白能稳定结合。动物实验表明, 水红花子可改善 NAFLD 斑马鱼的肝脏脂肪变性和结构损伤, 并降低总胆固醇及甘油三酯水平, 增加高密度脂蛋白胆固醇水平。结论 通过网络药理学、分子对接及实验验证, 初步阐明水红花子通过多成分、多途径、多靶点对 NAFLD 产生治疗作用, 为其临床应用提供了一定的参考依据。

【关键词】水红花子; 非酒精性脂肪肝病; 网络药理学; 分子对接; 信号通路; 作用机制; 斑马鱼模型; 脂质代谢

【中图分类号】 R285

【文献标识码】 A

Study on the effect and mechanism of *Polygoni Orientalis Fructus* on nonalcoholic fatty liver disease based on network pharmacology and experimental validation

GAO Shuchang^{1,2}, HAN Danrui^{1,2}, MA Donglai³, WANG Xiaona³, DUAN Xuhong^{1,2}

1. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China
 2. Hebei Technical Innovation Center of Chinese Materia Medica Processing, Shijiazhuang 050200, China
 3. Experimental Center, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China
- Corresponding authors: WANG Xiaona, Email: wangxiaona@hebcm.edu.cn; DUAN Xuhong, Email: duanxuhong@126.com

【Abstract】Objective To investigate the effect and potential mechanism of *Polygoni Orientalis Fructus* on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) by using bioinformatics analysis techniques and

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202601077

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目 (2026098)

通信作者: 王晓娜, 硕士, 实验师, Email: wangxiaona@hebcm.edu.cn

段绪红, 博士, 副教授, 副主任中药师, 硕士研究生导师, Email: duanxuhong@126.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

zebrafish model experiments. **Methods** Based on the database resources, a "chemical component- intersection target-pathway" network between *Polygoni Orientalis Fructus* and NAFLD was constructed to screen the therapeutic targets and key components of *Polygoni Orientalis Fructus* in the treatment of NAFLD, and further verification was performed via molecular docking and animal experiments. **Results** A total of 11 key components and 287 therapeutic targets of *Polygoni Orientalis Fructus* for NAFLD were screened out, suggesting that tumor necrosis factor (TNF), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), B-cell lymphoma 2 (BCL2), protein kinase Ba (AKT1), etc. were the core targets and phosphatidylinositol 3 (PI3K)-AKT was the key signaling pathway. Molecular docking results showed that quercetin, kaempferol and chrysoeriol formed stable bindings with the core target proteins. Animal experiments indicated that *Polygoni Orientalis Fructus* could ameliorate hepatic steatosis and structural damage in NAFLD zebrafish, reduce the levels of total cholesterol (TC) and triglyceride (TG), and increase the level of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C). **Conclusion** Through network pharmacology, molecular docking and experimental verification, it is preliminarily clarified that *Polygoni Orientalis Fructus* exerts a therapeutic effect on NAFLD through multi- components, multi-pathways and multi-targets, which provides a certain reference for its clinical application.

【Keywords】 *Polygoni Orientalis Fructus*; NAFLD; Network pharmacology; Molecular docking; Signaling pathway; Mechanism of action; Zebrafish model; Lipid metabolism

非酒精性脂肪肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 作为全球发病率最高的慢性肝脏疾病, 全球患病率已攀升至 25%, 成为一项重大全球公共卫生挑战^[1]。该病发病机制较为复杂, 以肝细胞脂肪变为特征, 若缺乏及时干预治疗, 可进展为伴有炎症和纤维化的非酒精性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 并最终恶化为肝硬化甚至肝癌^[2]。该疾病的病理生理机制尚未完全明确, 且全球范围内仍缺乏获批的针对性治疗药物与干预策略^[3]。目前主要通过饮食调整、控制体重和管控血糖等方式进行干预, 但疗效不甚理想。此外, NAFLD 在世界范围内的患病率约 25.2%, 其中国内发病率高于全球为 29.2%。据估算, 到 2030 年中国的 NAFLD 患者人数可达到 3.15 亿^[4], 该病已成为我国及全球慢性肝病的主要诱因之一。因此开发兼具高效性、安全性与经济性的治疗 NAFLD 药物已刻不容缓。

水红花子为蓼科植物红蓼 (*Polygonum orientale* L.) 的干燥成熟果实, 味咸、性微寒, 归肝、胃经, 具有散血消癥、消积止痛、利水消肿功效, 常用于癥瘕痞块、癭瘤、食积不消、胃脘胀痛、水肿腹水等病症^[5]。近年来, 临床研究发现水红花子对慢性肝炎、肝纤维化、肝硬化、原发性肝癌等疾病的治疗具有良好效果^[6-7], 但其对 NAFLD 治疗的药效物质基础及作用机制尚不

明确。

网络药理学以系统生物学为基础, 整合多学科技术, 从整体网络层面探讨药物与机体的相互作用, 预测药物作用机制, 契合中医药整体观, 为其现代化研究提供参考。斑马鱼具有快速发育、透明胚胎、低成本、高通量筛选能力等优势, 且肝脏组织与哺乳动物类似, 基因与人类高度同源, 因此斑马鱼是肝脏疾病药物研发与活性筛选的优选模型^[8]。

本研究首先通过网络药理学筛选水红花子中调控 NAFLD 的活性成分及作用靶点, 并利用分子对接预测其结合模式。再以斑马鱼脂肪肝模型进行动物体内验证, 系统评价水红花子的抗 NAFLD 活性, 旨在阐明水红花子治疗 NAFLD 的作用机制, 为其临床合理应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

RE-52 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); BSA2245-CW 型分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); MH-1000 型电热套 (北京科伟永兴仪器有限公司); WP-Z-UV 型超纯水机 (四川沃特尔水处理设备有限公司); BK-360B 型超声提取机 (济南巴克超声波科技有限公司); Centrifuge 5418 型离心机 (美国 Eppendorf 有限公司); XL-30C 型粉碎机 (广州市旭朗机械设备有限公司)

限公司); B-510LD4型OPTIKA正置显微镜(北京博为高科生物科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(货号分别为:A111-1-1、A110-1-1和A112-1-1)均购自南京建成生物工程研究所;实验用水红花子饮片(产地:江苏,批号:25030801)由河北佰世本草药业有限公司提供,经河北中医药大学药学院侯芳洁副教授鉴定,为蓼科植物红蓼(*Polygonum orientale* L.)的干燥成熟果实。

1.3 动物

受精后5 d的斑马鱼幼鱼(野生型AB品系,质量合格证号:苏ICP2024046901号-2)购自南京一树梨花生物科技有限公司。饲养条件:水温28.5℃,pH约为7,14 h光照/10 h黑暗,每天定时定量喂养丰年虾,适应性饲养1周,并及时清理食物残渣及排泄物。

1.4 网络药理学分析

1.4.1 水红花子主要活性成分靶点与疾病靶点的获取及“药物-成分-靶点-疾病”网络的构建

在中药系统药理学分析平台(TCMSP, <https://old.tcmisp-e.com/tcmisp.php>)筛选水红花子的化学成分,结合Swiss Target Prediction数据库(<https://www.swisstargetprediction.ch/>)预测结果中的人源靶点,以结合概率大于0.01进行初筛,充分保留潜在作用靶点,以便与疾病靶点取交集获得核心靶点;GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)获取疾病相关靶点(Relevance Score均大于0.1,全部保留,便于后续取交集),标准化去重后通过微生信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制“水红花子-NAFLD”靶点交互式韦恩图,取药物靶点与疾病相关靶点的交集,将交集靶点与水红花子的主要化学成分导入Cytoscape 3.9.1软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络图。

1.4.2 蛋白质-蛋白质相互作用网络及核心靶点的通路和功能富集分析

将交集靶点导入STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)获取蛋白质-蛋白质相互作用网络(protein-protein interaction, PPI)网络,并导入Cytoscape 3.9.1软件进行网络拓扑学分析筛选关键

靶点。通过DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对交集靶点进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析和基因本体(gene ontology, GO)功能注释分析。

1.4.3 “成分-靶点-通路”网络构建

整理水红花子中的核心成分、核心靶点、排名前10的KEGG通路结果,导入Cytoscape 3.9.1软件构建“成分-靶点-通路”网络。

1.5 分子对接验证

选取度(degree)值排名前10的核心成分与核心靶点,通过PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)与蛋白质结构数据库(PDB, <https://www.rcsb.org/>)获取药物主要成分的2D分子结构和关键靶点蛋白晶体结构,导入MOE软件预处理并进行分子对接及计算,评价化合物与靶点的结合能力。

1.6 体内实验验证

1.6.1 水红花子提取物的制备与非毒剂量筛选

参考《医疗机构中药煎药室管理规范》^[9],结合水红花子的临床煎煮服用方法,取50 g水红花子饮片,置于圆底烧瓶中,加入200 mL蒸馏水,加热回流提取2次,每次1 h;收集并合并提取液,减压浓缩至一定体积,冷冻干燥,得冻干粉3.1 g。根据鱼缸中水的体积,加入冻干粉,搅拌得到浓度为4 mg/mL的药液,备用。

在体视显微镜下观察斑马鱼状态,取形态完整、活力良好的斑马鱼幼鱼50尾,随机分为5组,每组10尾,将幼鱼置于2 mg/mL蛋黄液中饲养24 h,随后置于含有胚胎蓝水的6孔板内,每孔分别添加6 mL不同质量浓度的水红花子提取物,浓度梯度设定为0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/mL,恒温培养24 h,随后对各组幼鱼的存活情况,计算死亡率,公式如下:

$$\text{死亡率}(\%) = (\text{死亡斑马鱼尾数} / \text{总斑马鱼尾数}) \times 100\%$$

结果所有浓度组幼鱼均未死亡,提示给药浓度低于3.2 mg/mL时均为安全剂量,故选择中等浓度2.0 mg/mL作为后续实验给药浓度。

1.6.2 斑马鱼NAFLD病模型的建立及给药

通过显微镜观察,筛选80尾斑马鱼幼鱼,随机分为4组,每组20尾。设置对照组(胚胎蓝

水)、模型组 (2 mg/mL 蛋黄液)、水红花子低剂量组 (0.5 mg/mL)、高剂量组 (2 mg/mL)。将上述4组幼鱼置于6孔板中, 除对照组外, 其余各组均在含2 mg/mL 蛋黄液的培养基中连续饲养72 h以构建高脂血症模型, 期间每日更换新鲜的诱导液。造模完成后, 水红花子组向各孔加入6 mL 相应药物, 持续干预24 h。

1.6.3 匀浆中脂质水平的检测

给药结束后, 将各组斑马鱼幼鱼冰水浴麻醉后安乐死处理。参照检测试剂盒说明书操作, 取幼鱼组织样本, 采用超声破碎仪制备组织匀浆, 匀浆液置于4 °C条件下低温离心, 收集上清液, 利用酶标仪或全自动生化分析仪分别测定TC、TG及HDL-C的含量。

1.6.4 油红O染色与苏木精-伊红病理组织染色

将斑马鱼幼鱼用4%多聚甲醛固定24 h以上, 分别进行石蜡包埋与OCT包埋处理: 石蜡包埋样本切片厚度5~8 μm , 脱蜡后开展苏木精-伊红染色; OCT包埋样本行9 μm 冰冻切片, 切片后进行油红O染色。染色完毕后, 通过显微镜观察组织形态并完成图像分析。

2 结果

2.1 网络药理学预测水红花子干预NAFLD的靶点及机制

2.1.1 水红花子成分、靶点与NAFLD疾病相关靶点与“药物-有效成分-共有靶点”网络

收集去重后得到水红花子的化学成分11个 (有2个化学成分在SwissTargetPrediction数据库中未检索到, 故舍弃), 成分作用靶点287个, NAFLD相关靶点1765个, 药物靶点与疾病靶点取交后得到88个交集靶点, 见图1-A。将水红花子11个化学成分与88个交集靶点导入Cytoscape 3.9.1软件, 构建“药物-有效成分-共同靶点”关联网络, 见图1-B, 筛选得到degree值大于2倍中位数 (degree > 39) 的节点15个。

2.1.2 关键靶点的PPI网络、KEGG通路及GO生物学过程分析

PPI网络分析得到水红花子对NAFLD的调控涉及108个节点和1274条边, 平均degree值为23.59, degree值排名前20的靶点包括蛋白激酶

B α (protein kinase B α , AKT1)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、B细胞淋巴瘤2蛋白 (B-cell lymphoma 2, BCL2)、缺氧诱导因子1 α 亚基 (hypoxia-inducible factor 1 subunit alpha, HIF1A)、热休克蛋白90 α A1 (heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90AA1)、雌激素受体1 (estrogen receptor 1, ESR1)、丝裂原活化蛋白激酶3 (mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)、基质金属蛋白酶9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)等, 见图1-C。KEGG通路分析结果显示85个关键靶点共涉及127条通路, 水红花子对NAFLD的防治主要涉及癌症信号通路、PI3K/AKT通路、糖尿病并发症晚期糖基化终产物及其受体 (advanced glycation end products receptor for advanced glycation end products, AGE-RAGE) 信号通路等, 见图1-D。GO功能分析结果显示涉及生物过程 (biological process, BP) 包括基因表达调控、细胞凋亡调控、炎症反应等399个条目; 细胞组成 (cellular component, CC) 包括内质网、内膜系统、线粒体及细胞外泌体等51个条目; 分子功能 (molecular function, MF) 包括蛋白质及受体结合、氧化还原酶活性等149个条目, 见图1-E。以上靶点及通路与脂质合成代谢、炎症反应、氧化应激和细胞凋亡调控等存在密切联系。

2.1.3 水红花子-NAFLD的“活性成分-关键靶点-核心通路”网络

选取水红花子核心成分、核心靶点、排名前10的KEGG通路数据, 构建“活性成分-关键靶点-核心通路”网络, 见图1-F。

2.2 核心成分与关键靶点的分子对接验证

水红花子中11个活性成分的口服利用度 (oral bioavailability, OB) 均 $\geq 30\%$, 类药性 (drug likeness, DL) 均 ≥ 0.18 , 核心活性成分槲皮素、山柰酚、金圣草素与核心靶点AKT1、TNF、PPAR γ 、EGFR、BCL2之间具有较好的结合能力, 见表1。提示上述核心成分可能通过直接结合靶蛋白发挥调控作用。对接最优结果见表2, 可视化结果见图2。

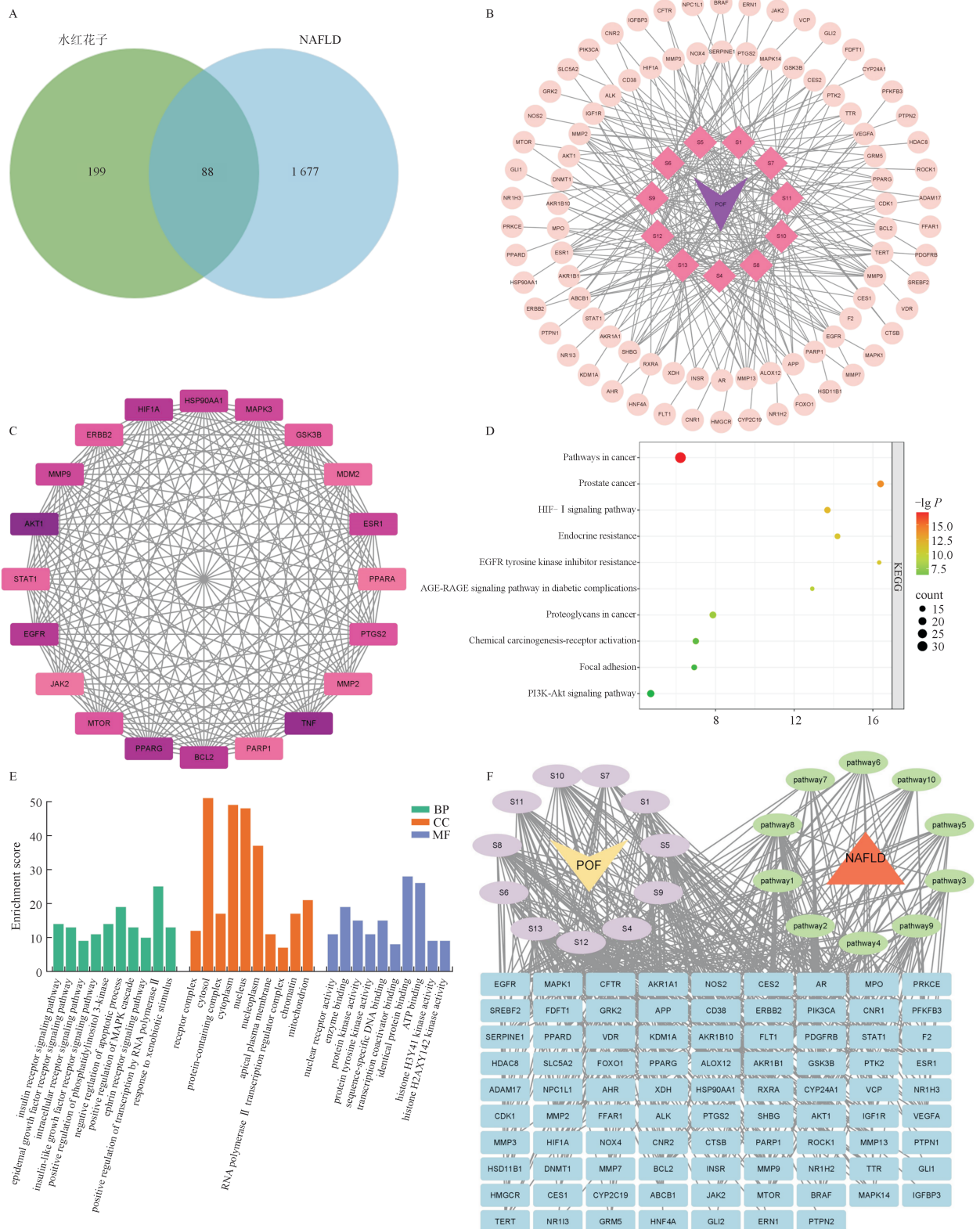


图 1 基于网络药理学预测水红花子干预 NAFLD 进程的作用机制

Figure 1. Mechanism of action of *Polygoni Orientalis Fructus* in intervening NAFLD progression based on network pharmacology

注：A. 水红花子-NAFLD-靶点交集韦恩图；B. “有效成分-共有靶点”关联网络；C. 排名前 20 位的核心靶点；D. 水红花子干预 NAFLD 潜在靶点 KEGG 富集的前 10 条目；E. 水红花子干预 NAFLD 潜在靶点 GO 的 BP 富集前 10 条目；F. 水红花子干预 NAFLD 的“成分-靶点-通路”网络。

表1 分子对接化合物信息

Table 1. Compound information of molecule docking

序号	Mol ID	化合物名称	OB (%)	DL
1	MOL001040	儿茶素 [(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one]	42.36	0.21
2	MOL001736	(-)-花旗松素 [(-)-taxifolin]	60.51	0.27
3	MOL003044	金圣草素 (chryseriol)	35.85	0.27
4	MOL000332	N-香豆酰酪胺 (N-coumaroyltyramine)	85.63	0.20
5	MOL000358	β -谷甾醇 (β -sitosterol)	36.91	0.75
6	MOL000422	山柰酚 (kaempferol)	41.88	0.24
7	MOL004576	花旗松素 (taxifolin)	57.84	0.27
8	MOL000492	(+)-儿茶素 [(+)-catechin]	54.83	0.24
9	MOL005190	圣草酚 (eriodictyol)	71.79	0.24
10	MOL007923	对香豆酸-2-苯乙醇酯 [2-(4-hydroxyphenyl) ethyl (E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoate]	93.36	0.21
11	MOL000098	槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28

表2 分子对接结果

Table 2. Results of molecule docking

序号	靶蛋白	蛋白质数据库名称	化合物	分子对接评分
1	AKT1	3QKL	槲皮素	-6.386 3
2	TNF	4Y60	槲皮素	-5.819 1
3	PPARG	3U9Q	金圣草素	-6.860 1
4	EGFR	6TG0	山柰酚	-6.225 5
5	BCL2	ZW3L	槲皮素	-5.697 0

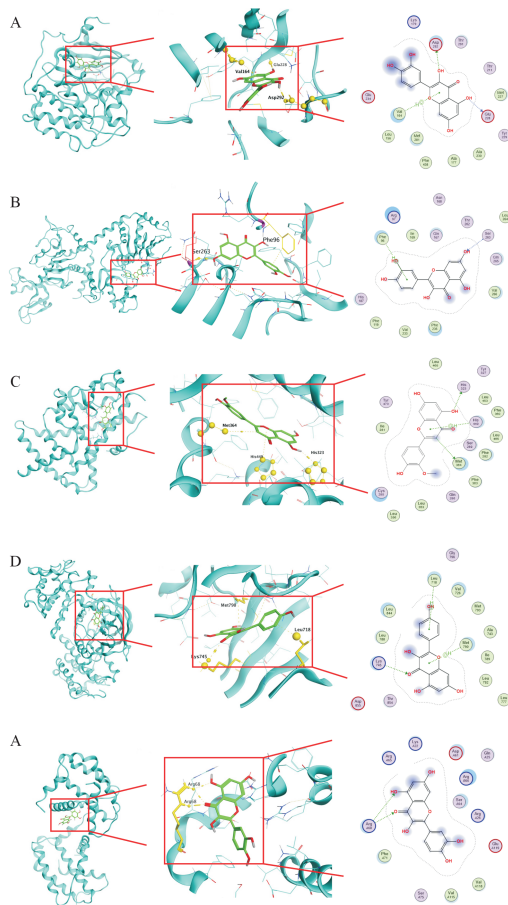


图2 核心成分与核心靶点分子对接

Figure 2. Molecular docking of core components and core targets

注: A. AKT1-槲皮素; B. TNF-槲皮素; C. PPARG-金圣草素; EGFR-山柰酚; E. BCL2-槲皮素。

2.3 斑马鱼模型实验验证

2.3.1 对TC、TG、HDL-C含量的影响

运用试剂盒对各组斑马鱼的TC、TG以及HDL-C含量进行测定,结果表明,模型组的TC、TG含量相较于对照组呈现显著升高态势 ($P < 0.05$);水红花子2个剂量组的TC、TG含量与模型组相比均有所下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),且高剂量组的降低幅度更大。模型组的HDL-C含量相较于对照组明显降低 ($P < 0.05$);水红花子2个剂量组的HDL-C含量与模型组相比均有所增加,其中高剂量组的增加更为显著 ($P < 0.05$),结果见图3。

2.3.2 对肝脏结构与功能的影响

油红O染色结果表明,与对照组相比,模型组斑马鱼腹部出现明显的红色染色,提示蛋黄粉可促进斑马鱼内脏脂质沉积,高脂模型构建成功。水红花子2个剂量组的斑马鱼腹部颜色较模型组明显变浅,红色区域明显减少,表明水红花子均能减少斑马鱼脂肪堆积,具有一定的降脂作用(图4)。HE染色结果显示,对照组斑马鱼幼鱼肝脏组织排列紧密且结构整齐;模型组肝脏组织内可见大量空泡,排列紊乱;水红花子组的肝脏组织结构均较模型组有所改善,提示水红花子能够减轻肝细胞损伤,高剂量水红花子组改善效果优于低剂量水红花子组(图5)。

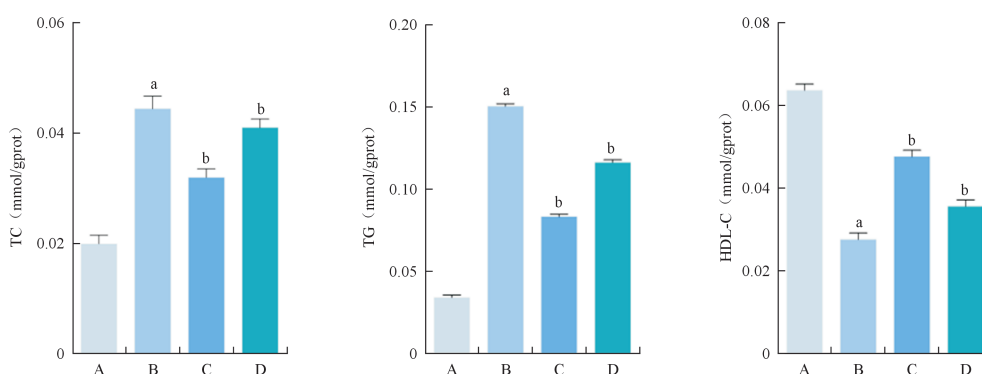


图3 水红花子对斑马鱼 TC、TG 和 HDL-C 含量的影响 (n=3)

Figure 3. Effects of *Polygoni Orientalis Fructus* on TC, TG and HDL-C contents in zebrafish (n=3)

注: A. 对照组; B. 模型组; C. 水红花子高剂量组; D. 水红花子低剂量组; 与对照组比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$ 。

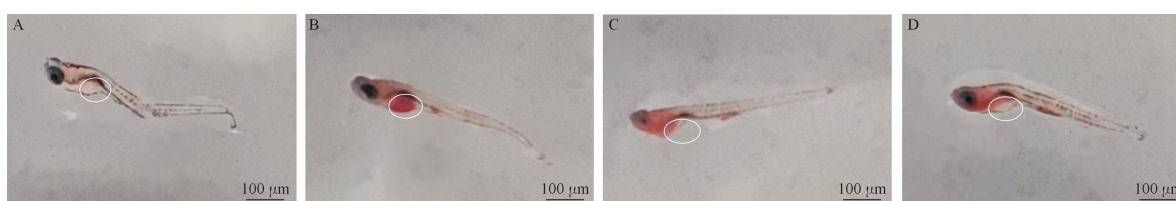


图4 斑马鱼油红O染色 (40×)

Figure 4. Oil red O staining of zebrafish (40×)

注: A. 对照组; B. 模型组; C. 水红花子高剂量组; D. 水红花子低剂量组。

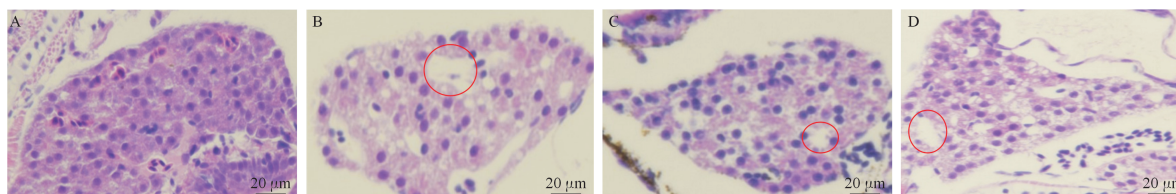


图5 斑马鱼肝脏 HE 染色 (400×)

Figure 5. HE staining of zebrafish liver (400×)

注: A. 对照组; B. 模型组; C. 水红花子高剂量组; D. 水红花子低剂量组。

3 讨论

中医认为 NAFLD 的核心病机为本虚标实、虚实夹杂^[10], 以痰浊瘀阻、肝脾失调为关键。本虚为肝、脾、肾 3 个脏腑功能的亏虚, 尤以脾胃虚弱、肝气郁结为要; 标实则是痰湿、气滞、血瘀、浊脂内停, 且多以痰浊瘀阻为核心病理环节, 最终形成虚与实互为因果的恶性循环。NAFLD 的中医治疗遵循“标本兼顾、扶正祛邪”的原则: 扶正以健脾、疏肝、补肾为主, 意在恢复脏腑功能; 祛邪以化痰、祛湿、理气、活血为主, 清除体内多余的痰湿和浊脂, 减轻肝脏负担, 同时要注重饮食节制、保持良好的生活习惯。现代医学研究表明, NAFLD 并非仅是肝脏的局部病变, 而是一种涉及全身的代谢紊乱性疾病。其病理生理过程涵盖脂毒性损伤、肝脏免疫

微环境失衡、肠道菌群结构紊乱及肝脏与外周组织胰岛素抵抗等关键环节, 而内质网应激、自噬调控异常、线粒体功能受损、肝细胞凋亡及慢性炎症反应等多通路的交互作用促使了疾病的发生发展^[11]。脂质在肝脏内的异常累积导致机体疾病易感性提高, 推动 NAFLD 向 NASH 阶段发展, 并可能沿着“肝硬化-肝癌”^[12] 的恶性链条持续发展。中药水红花子具有散血消癥、消积止痛等功效, 常用来治疗癥瘕痞块等症, 可对由饮食不节、情志失调、痰湿体质等多种因素导致的浊毒内蕴、膏浊内聚于肝而引发的 NAFLD 具有独特的疗效, 水红花子的药效作用与 NAFLD 的病理生理机制具有高度契合性, 其核心优势在于多成分、多通路、多靶点的协同作用, 通过整合调控实现对 NAFLD 的综合治疗效果。

基于网络药理学预测分析结果表明, 中药水

红花子中槲皮素、山柰酚、金圣草素等成分可与NAFLD相关的多个靶点形成调控关联，提示其可能是水红花子发挥抗NAFLD作用的关键活性成分。进一步分子对接验证显示，上述核心活性成分与NAFLD核心靶点蛋白具备良好的结合活性，推测其可通过直接激活或抑制靶点蛋白的构象与功能，从而发挥对疾病的干预作用。国内外研究表明，水红花子中主要活性成分对NAFLD及相关靶点具有良好的调控作用，对脂质代谢、炎症和氧化应激等均具有积极的治疗作用^[13]。槲皮素作为水红花子的关键活性成分，能够通过调控脂质代谢基因表达、抑制细胞色素P450 2E1驱动的脂质过氧化过程，进而缓解脂毒性并改善胰岛素抵抗^[14]，从而有效抑制NAFLD的恶化；山柰酚可调控脂质代谢与葡萄糖代谢平衡，其调控作用可能与激活肝X受体 β ^[15]、PPAR α 及PPAR δ ^[16]等有关；金圣草素可通过抑制核因子 κ B和激活蛋白-1活化、脂多糖刺激的RAW 264.7细胞中的PI3K/AKT和MAPK磷酸化，从而缓解Toll样受体4介导的炎症反应^[17]。核心靶点AKT1、TNF、PPARG、EGFR、BCL2、HIF1A、HSP90AA1、ESR1、MAPK3、MMP9等与NAFLD发病机制过程中的脂质代谢紊乱、炎症调控、细胞自噬调控及凋亡信号通路等关键病理生理进程密切相关。

PPAR属于核激素受体超家族的配体依赖性转录因子，包含3种主要亚型。其中，PPAR α 的激活能够上调脂肪酸 β -氧化通路及脂质代谢关键基因的转录水平，发挥改善脂肪肝病理状态与抑制动脉粥样硬化发展^[18]的双重功效。此外，乙酰辅酶A羧化酶作为脂质合成与分解代谢平衡的关键调控节点，其活性的抑制可纠正脂质代谢紊乱，对脂肪肝的炎症进展与纤维化形成产生显著的改善效应^[19]；脂肪酸合酶是饱和脂肪酸合成的关键酶，对脂肪酸链长度调节和脂质沉积改善具有积极作用^[20]；固醇调节元件结合蛋白家族是调控脂质稳态的重要核转录因子，其通过介导内源性胆固醇与多种脂质合成相关酶系的表达调控，实现对机体脂质代谢的精准调控^[21]，上述靶点从脂质合成、分解、稳态调控等多个维度，共同构成了抗NAFLD脂质代谢紊乱调控网络，对治疗NAFLD有积极疗效。EGFR可通过调控

PPARG、固醇调节元件结合转录因子1等脂质代谢关键转录因子，参与脂质代谢调节；靶向抑制EGFR信号通路，可显著减轻肝细胞脂肪变性程度，缓解肝组织损伤与纤维化进程，同时改善机体葡萄糖耐量^[22]。EGFR亦可通过激活PI3K/AKT信号通路，参与NAFLD在内的多种炎症性疾病、代谢紊乱性疾病及肿瘤相关性疾病的病理进程调控，例如，EGFR突变肺癌细胞可抑制PI3K/AKT/雷帕霉素靶蛋白通路，糖酵解通量发生改变，从而影响其存活能力^[23]。BCL2的上调与抗凋亡密切相关，BCL2基因启动子区域具有富含G的序列，可以形成i基序结构，并在调控基因转录中发挥重要作用，上调BCL2表达，能减少NAFLD/NASH模型中的肝细胞凋亡^[24]。

本研究通过网络药理学预测与分子对接验证，并整合斑马鱼肝脏表型观察、组织病理学切片等分析，结果证明水红花子干预可有效减少斑马鱼肝内脂质沉积、缓解肝脏组织损伤，在一定程度上改善NAFLD发病进展。本研究也存在一定的局限性：仅采用斑马鱼幼鱼构建模型，其生理结构、代谢通路与人类差异显著，不能明确其具体调控机制；仅用水红花子总提取物进行实验，未对其核心成分分离纯化，缺乏单体成分与提取物的药效对比，无法确定关键活性成分及成分间协同机制；未明确各活性成分的有效剂量、配伍比例，成分与药效之间的关系仍需进一步实验验证。后续实验将开展水红花子化学成分的研究，进一步明确治疗NAFLD的作用物质基础；并在通路预测的基础上，应用Western blotting等技术从分子水平进行机制验证。

综上，本研究结合网络药理学分析与实验验证，系统探究了中药水红花子干预NAFLD的潜在作用机制，阐明其早期从NAFLD增向NASH进展阶段的作用，证实多成分、多靶点、多通路协同调控的核心特征。研究证实，水红花子可从疾病表型及基因表达层面发挥降脂保肝、抗氧化应激及抗炎效应，其作用机制可能涉及TNF、PPARG、MMP9、BCL2、AKT1等关键靶点调控，以及PI3K-AKT等核心信号通路。本研究结果可为水红花子的后续研发与临床转化提供科学支撑，亦可为NAFLD这类病机复杂的代谢性疾病的防治策略优化提供参考。

参考文献

- Guo X, Yin X, Liu Z, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) pathogenesis and natural products for prevention and treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15489. DOI: [10.3390/ijms232415489](https://doi.org/10.3390/ijms232415489).
- Wong SW, Chan WK. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in Asia[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2020, 39(1): 1–8. DOI: [10.1007/s12664-020-01018-x](https://doi.org/10.1007/s12664-020-01018-x).
- Rong L, Zou J, Ran W, et al. Advancements in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 13: 1087260. DOI: [10.3389/fendo.2022.1087260](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1087260).
- Le MH, Yeo YH, Li X, et al. 2019 global NAFLD prevalence: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2022, 20(12): 2809–2817. DOI: [10.1016/j.cgh.2021.12.002](https://doi.org/10.1016/j.cgh.2021.12.002).
- 中国药典 2025 年版. 一部[S]. 2025: 208.
- 杜宇琼, 车念聪, 高彦彬, 等. 水红花子现代药理作用研究进展[J]. *北京中医药*, 2015, 34(12): 993–995. [Du YQ, Che NC, Gao YB, et al. Research progress on modern pharmacological effects of *Polygoni Orientalis Fructus*[J]. *Beijing Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 34(12): 993–995.] DOI: [10.16025/j.1674-1307.2015.12.020](https://doi.org/10.16025/j.1674-1307.2015.12.020).
- 杨涵, 崔银峰, 范忠义, 等. 基于网络药理学探讨水红花子抗肝硬化机制[J]. *延边大学学报(自然科学版)*, 2022, 48(2): 132–137. [Yang H, Cui YF, Fan ZY, et al. Mechanism of *Fructus Polygoni Orientalis* in treatment of liver cirrhosis based on network pharmacology[J]. *Journal of Yanbian University (Natural Science Edition)*, 2022, 48(2): 132–137.] DOI: [10.3969/j.issn.1004-4353.2022.02.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-4353.2022.02.007).
- 陈雪平, 夏龙飞, 李晓敏, 等. 斑马鱼实验模型在生物活性评价中的应用[J]. *今日药学*, 2024, 34(5): 387–400. [Chen XP, Xia LF, Li XM, et al. Application of zebrafish experimental models in the evaluation of biological activity[J]. *Pharmacy Today*, 2024, 34(5): 387–400.] DOI: [10.12048/j.issn.1674-229X.2024.05.013](https://doi.org/10.12048/j.issn.1674-229X.2024.05.013).
- 国家中医药管理局. 医疗机构中药煎药室管理规范 [国中医药发 [2009] 3 号] [EB/OL]. (2009–03–16) [2025–11–23]. <http://www.natcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>.
- 张声生, 李军祥. 非酒精性脂肪性肝病中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. *中医杂志*, 2017, 58(19): 1706–1710. [Zhang SS, Li JX. Expert consensus on Chinese medicine diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease (2017)[J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 58(19): 1706–1710.] DOI: [10.13288/j.11-2166/r.2017.19.022](https://doi.org/10.13288/j.11-2166/r.2017.19.022).
- Lian CY, Zhai ZZ, Li ZF, et al. High fat diet-triggered nonalcoholic fatty liver disease: a review of proposed mechanisms[J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 330: 109199. DOI: [10.1016/j.cbi.2020.109199](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109199).
- Yin X, Guo X, Liu Z, et al. Advances in the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2844. DOI: [10.3390/ijms24032844](https://doi.org/10.3390/ijms24032844).
- Li Z, Li Y, Jiang T, et al. Quercetin and its metabolites: mechanistic insights as the basis of their therapeutic potential in NAFLD and HCC[J]. *Molecules*, 2025, 30(22): 4441. DOI: [10.3390/molecules30224441](https://doi.org/10.3390/molecules30224441).
- 张超, 李昌平. 槲皮素治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2015, 26(5): 718–721. [Zhang C, Li CP. Current progress in mechanism of quercetin for treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2015, 26(5): 718–721.] DOI: [10.3969/j.issn.1003-9783.2015.05.033](https://doi.org/10.3969/j.issn.1003-9783.2015.05.033).
- Hoang MH, Jia YY, Mok B, et al. Kaempferol ameliorates symptoms of metabolic syndrome by regulating activities of liver X receptor- β [J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(8): 868–875. DOI: [10.1016/j.jnuthio.2015.03.005](https://doi.org/10.1016/j.jnuthio.2015.03.005).
- Li N, Yin L, Shang JM, et al. Kaempferol attenuates nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic mice via the Sirt1/AMPK signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115113. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.115113](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115113).
- Yoon HS, Park CM. Chrysoeriol ameliorates COX-2 expression through NF- κ B, AP-1 and MAPK regulation via the TLR4/MyD88 signaling pathway in LPS-stimulated murine macrophages[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 718. DOI: [10.3892/etm.2021.10150](https://doi.org/10.3892/etm.2021.10150).
- Guo J, Wu J, He QY, et al. The potential role of PPARs in the fetal origins of adult disease[J]. *Cells*, 2022, 11(21): 3474. DOI: [10.3390/cells11213474](https://doi.org/10.3390/cells11213474).
- Chen LY, Duan YQ, Wei HQ, et al. Acetyl-CoA carboxylase (ACC) as a therapeutic target for metabolic syndrome and recent developments in ACC1/2 inhibitors[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28(10): 917–930. DOI: [10.1080/13543784.2019.1657825](https://doi.org/10.1080/13543784.2019.1657825).
- Schroeder B, Steen TV, Espinoza I, et al. Fatty acid synthase (FASN) regulates the mitochondrial priming of cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11): 977. DOI: [10.1038/s41419-021-04262-x](https://doi.org/10.1038/s41419-021-04262-x).
- Eberle D, Hegarty B, Bossard P, et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis[J]. *Biochimie*, 2004, 86(11): 839–848. DOI: [10.1016/j.biochi.2004.09.018](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2004.09.018).
- Bhushan B, Banerjee S, Paramje S, et al. Pharmacologic inhibition of epidermal growth factor receptor suppresses nonalcoholic fatty liver disease in a murine fast food diet model[J]. *Hepatology*, 2019, 70(5): 1546–1563. DOI: [10.1002/hep.30696](https://doi.org/10.1002/hep.30696).
- Makinoshima H, Takita M, Saruwatari K, et al. Signaling through the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/mammalian target of rapamycin (mTOR) axis is responsible for aerobic glycolysis mediated by glucose transporter in epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated lung adenocarcinoma[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(28): 17495–17504. DOI: [10.1074/jbc.M115.660498](https://doi.org/10.1074/jbc.M115.660498).
- Li XY, Wang J, Gong X, et al. Upregulation of BCL-2 by acridone derivative through gene promoter i-motif for alleviating liver damage of NAFLD/NASH[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(15): 8255–8268. DOI: [10.1093/nar/gkaa615](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa615).

收稿日期: 2026 年 01 月 29 日 修回日期: 2026 年 03 月 09 日
本文编辑: 马琳璐 钟钰妮