

水飞蓟宾缓解油酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积的机制探讨

肖素军, 肖亚君, 吴培赛, 彭忠田

基金项目: 湖南省教育厅科学研究资助项目(编号:17C1152)

作者单位: 418000 怀化, 湖南医药学院生理学教研室(肖素军, 吴培赛); 523110 广东, 东莞东华医院健康体检科(肖亚君);

421001 湖南, 南华大学附属第一医院感染科(彭忠田)

作者简介: 肖素军(1983-), 女, 在读博士研究生, 讲师, 研究方向: 脂质代谢与肝脏疾病。E-mail: xiaosujun1028@sina.com

通信作者: 彭忠田(1971-), 男, 医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 肝病、结核病的诊治和基础研究。E-mail: hncspzt@163.com

[摘要] **目的** 构建油酸诱导的 HepG2 细胞脂肪变性模型, 探索水飞蓟宾调节 HepG2 细胞脂质沉积的作用机制。**方法** 通过 0.4 mM 油酸刺激 HepG2 细胞 24 h 构建脂肪变性模型。根据实验目的设置对照组、油酸组(OA 组)、油酸 + 水飞蓟宾组(OA + S 组)、油酸 + 氯喹组(OA + CQ 组)和油酸 + 氯喹 + 水飞蓟宾组(OA + CQ + S 组)。每组 4 样本。通过油红 O 染色以及甘油三酯(TG)检测评估各干预组细胞脂质沉积情况。通过 Western blot 检测各干预组自噬标志蛋白 LC3B 的表达情况。**结果** OA 组 HepG2 细胞胞内染色脂滴数量明显多于对照组, 且 TG 含量高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。OA + S 组经水飞蓟宾干预后胞内染色脂滴数量减少, TG 含量下降, 与 OA 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。OA + CQ + S 组在油酸刺激后, 用自噬抑制剂氯喹预处理 1 h, 再加水飞蓟宾干预 24 h, HepG2 细胞内出现显著脂质沉积, TG 含量上升, 与 OA + S 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 而与 OA 组水平相当($P > 0.05$)。Western blot 检测结果显示, OA 组 LC3B II/LC3B I 水平较对照组降低($P < 0.05$); OA + S 组 LC3B II/LC3B I 水平显著高于 OA 组, 与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$); OA + CQ 组、OA + CQ + S 组的 LC3B II/LC3B I 水平显著高于 OA 组和 OA + S 组($P < 0.05$)。**结论** 0.4 mM 油酸可引起 HepG2 细胞脂肪变性。水飞蓟宾通过增强 HepG2 细胞自噬而改善油酸引起的脂质沉积。

[关键词] 水飞蓟宾; 自噬; 油酸; 脂肪变性; 非酒精性脂肪肝

[中图分类号] R 575.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)11-1092-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.11.07

Mechanisms of silibinin relieving oleic acid-induced lipid deposition in HepG2 cells XIAO Su-jun, XIAO Ya-jun, WU Pei-sai, et al. Teaching and Research Section of Physiology, Hunan University of Medicine, Huaihua 418000, China

[Abstract] **Objective** To construct a model of fatty degeneration of hepatoblastoma cell line(HepG2) cells induced by oleic acid, and to explore the mechanisms of silibinin in regulating lipid deposition in HepG2 cells. **Methods** HepG2 cells were stimulated by 0.4 mM oleic acid for 24 hours to construct a steatosis model. The control group, the oleic acid group(OA group), the oleic acid + silibinin group(OA + S group), the oleic acid + chloroquine group(OA + CQ group) and the oleic acid + chloroquine + silibinin group(OA + CQ + S group) were set up according to different experimental purposes, with 4 samples in each group. Oil red O staining and triglyceride(TG) detection were used to evaluate the lipid deposition of cells in each intervention group. Western blot was used to detect the expression of autophagy marker protein LC3B in each intervention group. **Results** The number of intracellular stained lipid droplets in HepG2 cells in the OA group was significantly more than that in the control group, and the TG content in the OA group was higher than that in the control group, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). In the OA + S group, the number of intracellular stained lipid droplets decreased after the intervention of silibinin, and the content of TG decreased, which were significantly different compared with those in the OA group($P < 0.05$). The OA + CQ + S group

was pre-treated with autophagy inhibitor chloroquine for 1 hour after stimulation with oleic acid, and then added with silibinin for 24 hours. Significant lipid deposition occurred and TG content increased in HepG2 cells, and there were statistically significant differences between the OA + CQ + S group and the OA + S group ($P < 0.05$), but the changes of lipid deposition and the increase of TG content in the OA + CQ + S group were similar to those in the OA group ($P > 0.05$). The results of Western blot detection showed that the level of LC3B II / LC3B I in the OA group was lower than that in the control group ($P < 0.05$), and the level of LC3B II / LC3B I in the OA + S group was significantly higher than that in the OA group, and there was no significant difference in the level of LC3B II / LC3B I between the OA + S group and the control group ($P > 0.05$). The levels of LC3B II / LC3B I in the OA + CQ group and the OA + CQ + S group were significantly higher than those in the OA group and the OA + S group ($P < 0.05$). **Conclusion** 0.4 mM oleic acid can cause fatty degeneration of HepG2 cells. Silibinin improves oleic acid-induced lipid deposition by enhancing autophagy in HepG2 cells.

[Key words] Silibinin; Autophagy; Oleic acid; Steatosis; Nonalcoholic fatty liver disease

非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是常见的慢性肝病, 临床上组织学和影像学检查显示超过 5% 肝细胞出现脂肪变性^[1], 且无继发性病因, 如药物、过量饮酒等。在全球范围内, NAFLD 的发病率约为 25%^[2]。尽管脂肪变性本身是相对良性且可逆的, 但仍有 8% ~ 20% 的单纯肝细胞脂肪变性会进展为非酒精性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 甚至肝纤维化或肝癌^[3,4]。NAFLD 的主要发病机制是脂质代谢失衡以及肝脏脂毒性的产生。研究表明, 自噬在 NAFLD 的发生和发展中也起着至关重要的作用^[5-9]。水飞蓟素 (silibinin) 是从水飞蓟的果实中提取的水飞蓟素, 是一种包含活性黄酮木素和类黄酮的混合物, 具有清除自由基、抗氧化和抗炎的功能^[10]。目前水飞蓟素在临床上主要用于治疗慢性肝炎、急性肝炎、肝脏脂肪变性以及肝硬化等疾病, 但对于其是否通过激活自噬通路机制来缓解 NAFLD, 目前仍鲜有研究。鉴此, 本研究旨在通过构建油酸诱导的 HepG2 细胞脂肪变性模型, 探讨水飞蓟素缓解 HepG2 细胞脂质沉积的机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要材料 HepG2 细胞由湖南医药学院生物医学中心保存并提供。主要试剂和仪器: 水飞蓟素 (sigma, Lot: 6015V52LB)、油酸 (sigma, Lot: 0459K0731V)、氯喹 (Macklin, CAS: 54-05-7)、油红 O (sigma-aldrich, 09755)、重组 Anti-LC3B 抗体 (abcam, ab192890)、GAPDH 抗体 (proteintech, 10494-1-AP)、HRP-抗兔 IgG (中杉金桥, ZB-5301)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 检测试剂盒 (南京建成, A110-1-1)、BCA 检测试剂盒 (碧云天, BD0028)、显微镜 (奥林巴斯 BX53)、凝胶成像系统 (Tanon-5200)、SpectraMax M5-多功能酶标仪。

1.2 实验方法

1.2.1 药物配置 (1) 水飞蓟素: 溶解于 DMSO 中,

配置成 $1 \times 10^4 \mu\text{M}$ 母液, 使用时稀释 1 000 倍, 终浓度为 $10 \mu\text{M}$ 。(2) 氯喹: 溶解于双蒸水中, 配置成 60 mM 母液, 使用时稀释 1 000 倍使用, 终浓度为 $60 \mu\text{M}$ 。(3) 油酸: 溶解在无水乙醇中, 配置成 40 mM 母液, 70°C 水浴 30 min 助溶, 用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤器过滤除菌, -80°C 分装保存, 使用时用 1% 无脂酸钠 BSA-MEM 培养基稀释 100 倍, 终浓度为 0.4 mM。

1.2.2 构建油酸诱导的 HepG2 细胞脂肪变性模型^[11] 用含 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 DMEM 高糖培养基培养 HepG2 细胞, 待细胞生长至融合度约 60% 时, 用不含脂肪酸的 1% BSA-MEM 培养细胞过夜。对照组继续用不含脂肪酸的 1% BSA-MEM 培养, 油酸组 (OA 组)、油酸 + 水飞蓟素组 (OA + S 组)、油酸 + 氯喹组 (OA + CQ 组)、油酸 + 氯喹 + 水飞蓟素组 (OA + CQ + S 组) 均加入 0.4 mM 油酸, OA + S 组在油酸刺激 24 h 后加入 $10 \mu\text{M}$ 的水飞蓟素继续培养 24 h。OA + CQ 组采用油酸刺激 24 h 后再加入 $60 \mu\text{M}$ 氯喹继续培养 24 h。OA + CQ + S 组则在油酸刺激 24 h 后, 用 $60 \mu\text{M}$ 氯喹预处理 1 h, 再加入水飞蓟素继续培养 24 h。

1.2.3 油红 O 染色 将 0.5 g 油红 O 粉末加入到 100 ml 异丙醇中, 配置成 0.5% 油红 O 母液, 60°C 水浴溶解。使用时, 取 6 ml 油红加入 4 ml 双蒸水, 双层滤纸过滤, 制备油红 O 工作液, 全程避光 (油红 O 工作液现配现用)。用磷酸盐缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 将细胞洗 3 次, 吸净 PBS, 加入 4% 多聚甲醛固定 15 min。弃去固定液, 双蒸水洗两次, 待细胞培养板干燥后, 加入油红 O 工作液反应 25 min。用双蒸水清洗两次, 而后用异丙醇溶液漂洗 5 s, 加入适量双蒸水洗涤, 待样品干燥后在显微镜下观察。

1.2.4 Western blot 检测 裂解细胞后用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 蛋白质通过 12% SDS-PAGE 分离, 转

移到0.22 μm PVDF 固定膜上,并分别置入 LC3B 抗体(用含5% BSA 的 TBST 液稀释,稀释比例为1:1 000)、GAPDH 抗体(用含5% BSA 的 TBST 液稀释,稀释比例为1:10 000),4℃ 孵育过夜。用辣根过氧化物酶标记的 IgG 进行印迹分析。用 Image J 软件进行灰度值分析,以 LC3B II 灰度值与 LC3B I 灰度值的比值表示 LC3 蛋白表达量。

1.2.5 TG 检测 用胰酶消化细胞,以1 000 r/min 条件离心10 min,弃上清液,留细胞沉淀。用 PBS 洗两次,再次以1 000 r/min 离心10 min,弃上清。加入300 μl PBS,冰水浴条件下通过超声破碎(功率300 W,5 s/次,间隔1 min,重复5次),制备好的匀浆液,在酶标仪下通过波长510 nm 光进行检测。

TG 含量 (mmol/g) = $\frac{\text{样本 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{校准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{校准品浓度} \div \text{待测样本蛋白浓度}$

1.3 统计学方法 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各干预组 HepG2 细胞脂质沉积情况 油红 O 染色结果显示,OA 组脂质沉积程度较对照组明显,提示0.4 mM 能够引起 HepG2 细胞脂肪变性,造模成功。OA + S 组 HepG2 细胞内脂质沉积的程度较 OA 组轻,提示水飞蓟宾可缓解油酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积。OA + CQ + S 组 HepG2 细胞内出现显著脂质沉积,与 OA 组情况相似。见图1。

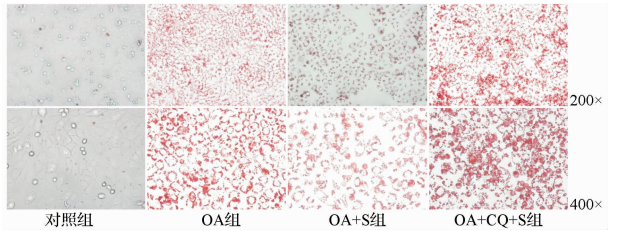


图1 显微镜下观察 HepG2 细胞脂质沉积所见(油红 O 染色)

2.2 各干预组 TG 水平比较 经油酸处理后,HepG2 细胞 TG 水平上升,OA 组、OA + S 组、OA + CQ + S 组的 TG 水平均高于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。水飞蓟宾处理后,HepG2 细胞的 TG 水平获得下调,OA + S 组 TG 水平显著低于 OA 组(*P* < 0.05)。但水飞蓟宾的干预效应会受到氯喹的阻断,OA + CQ + S 组的 TG 水平显著高于 OA + S 组(*P* < 0.05),但与 OA 组比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表1。

表1 各干预组 TG 水平比较[($\bar{x} \pm s$), mmol/g]

组 别	<i>n</i>	TG
对照组	4	0.13 ± 0.03
OA 组	4	0.38 ± 0.01 ^a
OA + S 组	4	0.23 ± 0.04 ^{ab}
OA + CQ + S 组	4	0.37 ± 0.07 ^{ac}
<i>F</i>	—	33.150
<i>P</i>	—	0.000

注:与对照组比较,^a*P* < 0.05;与 OA 组比较,^b*P* < 0.05;与 OA + S 组比较,^c*P* < 0.05

2.3 各干预组 LC3B II/LC3B I 水平比较 油酸刺激后 LC3B II/LC3B I 水平下调,OA 组与对照组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。油酸刺激后再加入水飞蓟宾处理24 h,LC3B II/LC3B I 水平上调,OA + S 组与 OA 组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05),与对照组比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。应用自噬抑制剂氯喹处理后,LC3B II/LC3B I 水平上调,OA + CQ 组、OA + CQ + S 组与对照组、OA 组及 OA + S 组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见图2,表2。

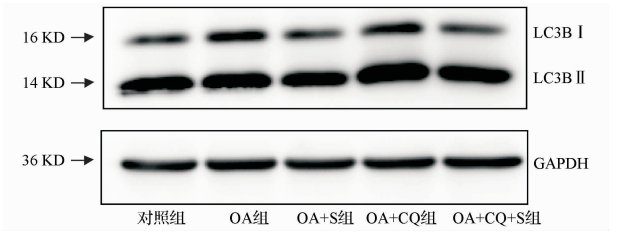


图2 Western blot 检测自噬标志蛋白 LC3B II/LC3B I 结果图

表2 各干预组 LC3B II/LC3B I 水平比较[($\bar{x} \pm s$), 灰度值]

组 别	<i>n</i>	LC3B II / LC3B I
对照组	3	2.27 ± 0.21
OA 组	3	1.53 ± 0.21 ^a
OA + S 组	3	2.13 ± 0.25 ^b
OA + CQ 组	3	2.67 ± 0.06 ^{abc}
OA + CQ + S 组	3	2.90 ± 0.10 ^{abc}
<i>F</i>	—	25.510
<i>P</i>	—	0.000

注:与对照组比较,^a*P* < 0.05;与 OA 组比较,^b*P* < 0.05;与 OA + S 组比较,^c*P* < 0.05

3 讨论

3.1 NAFLD 始于肝脏中 TG 的异常积累,严重者可进展为肝损伤、肝纤维化。肝脏脂肪变性与营养过剩、肥胖、胰岛素抵抗等密切相关。肝损伤与多种机制有关,包括肝细胞凋亡、内质网应激、自噬和线粒

体功能障碍、免疫反应的改变和炎性细胞因子的增加^[12]。因此,NAFLD 是多因素参与的病理过程。自噬是机体的一种保护性反应,有助于维持机体稳态并促进细胞生存。脂质吞噬是细胞内双层膜包裹脂滴,并将其输送至溶酶体进行降解,是一种特殊的自噬。脂质吞噬能将细胞内异常脂滴降解以使细胞处于稳态。越来越多的证据表明,在 NAFLD 患者以及 NAFLD 动物模型中肝脏自噬受到损伤,高胰岛素血症和一些自噬相关的蛋白如 Atg7 和 Atg5 的下调与自噬体的形成障碍有关^[13]。自噬异常可以导致肝脏脂质积累、损伤以及炎症,甚至纤维化和癌变。

3.2 目前,对于 NAFLD 缺乏有效的治疗措施,最好的方法仅限于平衡饮食、规律体育锻炼和减重等生活方式层面上的干预^[14]。水飞蓟宾是从植物水飞蓟中提取的一种天然黄酮类化合物,具有稳定肝细胞膜、抗氧化以及保护肝脏等作用,临床上用于护肝治疗。研究表明,水飞蓟宾在 NAFLD 患者中的治疗作用,包括降低谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平,改善胰岛素抵抗,降低血浆总胆固醇、TG、低密度脂蛋白-胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)水平^[15]。研究表明,水飞蓟宾可降低大鼠血清 TG 水平,减轻肝脏相对重量和肝细胞脂质沉积,改善胰岛素抵抗,上调脂肪分解相关基因脂肪甘油三酯脂肪酶(adipose triglyceride lipase, ATGL)的表达,从而改善高脂饮食引起的肝脏损伤^[16]。然而,水飞蓟宾减轻 NAFLD 的机制尚未完全了解。

3.3 NAFLD 主要表现为大泡样脂肪变性,是肝脏对饮食和脂肪组织高水平脂肪酸的反应^[17]。饱和棕榈酸(PA,16:0)和单不饱和油酸(OA,9-顺式 18:1)是饮食和血清中最为丰富的脂肪酸,进入肝细胞的脂肪酸(fatty acid,FA)主要合成 TG^[18]。本研究采用含 0.4 mM 油酸的 1% 无脂脂肪酸 BSA-MEM 培养 HepG2 细胞 24 h,细胞内脂质明显增加,提示成功构建体外 NAFLD 模型。自噬过程中 LC3/Atg8 被 Atg4 在羧基端剪切,生成胞质 LC3 I。LC3 I 通过泛素样反应,使磷脂酰乙醇胺偶联,生成 LC3 II,它可以附着到自噬体膜上,是自噬体的结构蛋白,最终 LC3 II 被溶酶体降解。本研究结果显示,加入油酸刺激 24 h 后, HepG2 细胞内 TG 含量显著增加,且自噬相关蛋白 LC3 II/LC3 I 水平下调,提示油酸可用于诱导肝细胞脂肪变性,且能抑制细胞的自噬水平。加入油酸后用自噬抑制剂氯喹处理 HepG2 细胞,与单纯用油酸刺激比较,LC3B II/LC3B I 水平上升,提示氯喹可通

过抑制溶酶体功能抑制 LC3 II 的降解从而抑制自噬。在油酸刺激的基础上加入水飞蓟宾, HepG2 细胞内 TG 含量显著降低,且细胞 LC3B II/LC3B I 水平有所恢复;而在油酸刺激 HepG2 细胞后,用自噬抑制剂氯喹预处理 1 h,再加水飞蓟宾干预 24 h,细胞 TG 含量显著增加,提示水飞蓟宾通过增强自噬缓解油酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积。

综上所述,通过油酸刺激 HepG2 细胞可以建立肝细胞脂肪变性的体外模型,水飞蓟宾通过增强自噬改善油酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积,为临床用药提供了理论依据。

参考文献

- [1] 陈松,黄泽和.非酒精性脂肪肝病的影像学定量评估研究进展[J].中国临床新医学,2018,11(12):1283-1286.
- [2] Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. Hepatology, 2016,64(1):73-84.
- [3] Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies[J]. Nat Med, 2018, 24(7):908-922.
- [4] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review[J]. JAMA, 2015,313(22):2263-2273.
- [5] González-Rodríguez A, Mayoral R, Agra N, et al. Impaired autophagic flux is associated with increased endoplasmic reticulum stress during the development of NAFLD[J]. Cell Death Dis, 2014,5(4):e1179.
- [6] Zeng TS, Liu FM, Zhou J, et al. Depletion of Kupffer cells attenuates systemic insulin resistance, inflammation and improves liver autophagy in high-fat diet fed mice[J]. Endocr J, 2015,62(7):615-626.
- [7] Singh R, Kaushik S, Wang Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism[J]. Nature, 2009,458(7242):1131-1135.
- [8] Lin CW, Zhang H, Li M, et al. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice[J]. J Hepatol, 2013,58(5):993-999.
- [9] Chen R, Wang Q, Song S, et al. Protective role of autophagy in methionine-choline deficient diet-induced advanced nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2016,770:126-133.
- [10] Surai PF. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives[J]. Antioxidants(Basel), 2015, 4(1):204-247.
- [11] 董丽红,张瑞芬,黄菲,等.油酸诱导单纯性肝脂肪变性细胞模型的建立及应用[J].中国药理学通报,2017,33(11):1622-1626.
- [12] Wree A, Broderick L, Canbay A, et al. From NAFLD to NASH to cirrhosis—new insights into disease mechanisms[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013,10(11):627-636.
- [13] Yang L, Li P, Fu S, et al. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance[J]. Cell Metab, 2010,11(6):467-478.
- [14] Molina-Molina E, Lunardi Baccetto R, Wang DQ, et al. Exercising

the hepatobiliary-gut axis. The impact of physical activity performance[J]. *Eur J Clin Invest*, 2018,48(8):e12958.

- [15] Loguercio C, Andreone P, Brice C, et al. Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012,52(9):1658–1665.
- [16] Grattagliano I, Diogo CV, Mastrodonato M, et al. A silybin-phospholipids complex counteracts rat fatty liver degeneration and mitochondrial oxidative changes[J]. *World J Gastroenterol*, 2013,19(20):3007–3017.
- [17] Vergani L, Vecchione G, Baldini F, et al. Polyphenolic extract atten-

uates fatty acid-induced steatosis and oxidative stress in hepatic and endothelial cells[J]. *Eur J Nutr*, 2018,57(5):1793–1805.

- [18] Ricchi M, Odoardi MR, Carulli L, et al. Differential effect of oleic and palmitic acid on lipid accumulation and apoptosis in cultured hepatocytes[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009,24(5):830–840.
- [收稿日期 2021-05-07][本文编辑 余军 吕文娟]

本文引用格式

肖素军,肖亚君,吴培赛,等. 水飞蓟宾缓解油酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积的机制探讨[J]. *中国临床新医学*, 2021,14(11):1092–1096.

论著

基于网络药理学及分子对接技术探讨清解化攻方治疗重症急性胰腺炎的作用机制

秦百君, 江柳庆, 陈蕊, 杨昕, 谭琦, 黄梦瑶, 刘锐荣, 陈国忠

基金项目: 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(编号:S2019021)

作者单位: 530000 南宁,广西中医药大学第一临床医学院(秦百君,杨昕,谭琦,黄梦瑶,刘锐荣); 530001 广西,南宁市中医医院老年病科(江柳庆); 650011 云南,昆明市中医医院急诊科(陈蕊); 530023 南宁,广西中医药大学第一附属医院脾胃科(陈国忠)

作者简介: 秦百君(1994-),男,在读博士研究生,研究方向:消化系统疾病中医药防治研究。E-mail:bere489@163.com

通信作者: 陈国忠(1970-),男,医学博士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向:消化系统疾病中医药防治研究。E-mail:cheninjp@163.com

[摘要] **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探讨清解化攻方治疗重症急性胰腺炎(SAP)的作用机制。**方法** 应用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)检索清解化攻方的活性成分和作用靶点,通过 Cytoscape 构建“药物-成分-靶点-疾病”网络图,借助 DAVID 数据库和 R 软件对药物疾病交集基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,利用 Autodock Vina 软件进行分子对接。**结果** 共筛选出清解化攻方的 202 个药物活性成分和 225 个潜在靶点,其中 210 个靶点与 SAP 相关。靶点通路富集分析结果显示,清解化攻方可能作用于炎症因子、细胞凋亡等途径发挥作用。分子对接结果显示,清解化攻方的主要活性成分与关键靶点具有良好的结合活性。**结论** 清解化攻方可能通过 P53 信号通路、PI3K-AKT 信号通路等多途径发挥抗炎、调控细胞凋亡、改善能量代谢等作用。

[关键词] 清解化攻方; 重症急性胰腺炎; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

[中图分类号] R 915 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)11-1096-06

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.11.08

Investigation of the mechanism of action of Qingjie Huangong Prescription in treating severe acute pancreatitis based on network pharmacology and molecular docking technology QIN Bai-jun, JIANG Liu-qing, CHEN Rui, et al. *The First Clinical Faculty of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, China*

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of action of Qingjie Huangong Prescription(QJHGP) in treating severe acute pancreatitis(SAP) based on network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform(TCMSP) was used to retrieve the