

基于血管新生探讨丹参防治肝纤维化的作用机制



刘艳芳¹, 黄金彪², 刘素杰¹, 陈瑜倩¹, 郑洋², 王佳慧², 赵铁建^{1,*}

¹广西中医药大学基础医学院生理教研室, 广西南宁 530222

²广西中医药大学赛恩斯新医药学院医学系, 广西南宁 530222

摘要: 目的: 运用网络药理学和分子对接探究丹参基于血管新生防治肝纤维化的作用机制。方法: 通过 TCMSP 数据库明晰丹参的活性药理成分及其作用靶点, 利用 TTD、GeneCards、CTD 等数据库获得肝纤维化、血管新生相关靶点, 采用 Venn 图对丹参活性成分作用靶点和肝纤维化及血管新生相关靶点进行交互处理; 使用 Cytoscape3.9.0 软件构建药物-成分-靶点-疾病网络; 利用 String 数据库构建交互靶点互作网络; 利用 Metascape 平台对交互靶点进行 GO (Gene Ontology) 富集分析和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 信号通路分析, 明确丹参基于血管新生防治肝纤维化的分子机制。结果: 通过 TCSMP 数据库筛选出丹参活性成分 65 个, 作用潜在靶点 132 个, 通过 GeneCards、TTD、CTD 数据库分别筛选出肝纤维化和血管新生靶点 4841、1200 个, 映射取交集得到丹参影响血管新生防治肝纤维化的共同靶点 50 个, 构建丹参-成分-靶点-疾病网络图, 并对共同靶点蛋白进行 PPI 网络分析, 得到关键靶点。对共同靶点在 Metascape 平台进行 GO 和 KEGG 信号通路富集分析, 显示 PI3K-Akt 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、MAPK 信号通路、VEGF 信号通路等信号通路可能参与丹参调节血管新生防治肝纤维化的不同环节。分子对接结果显示良好。结论: 丹参的多种主要活性成分通过多通路发挥抗血管新生的作用, 从而防治肝纤维化。

关键词: 肝纤维化; 血管新生; 丹参; 网络药理学

DOI: [10.57237/j.mrf.2023.04.006](https://doi.org/10.57237/j.mrf.2023.04.006)

To Explore the Mechanism of Salvia Miltiorrhiza in Preventing Liver Fibrosis Based on Angiogenesis

Liu Yanfang¹, Huang Jinbiao², Liu Sujie¹, Chen Yuqian¹, Zheng Yang², Wang Jiahui², Zhao Tiejian^{1,*}

¹Department of Physiology, School of Basic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530222, China

²Department of Medicine, Faculty of Chinese Medicine Science, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530222, China

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82204755, 81960751); 广西自然科学基金青年基金项目 (2023GXNSFBA297094); 广西中医药大学赛恩斯新医药学院国家级大学生创新创业训练项目 (202313643012); 广西中医药大学国家级大学生创新创业训练项目 (202310600020); 广西中医药大学青年基金项目 (2022QN008; 2022MS024); 广西中医药大学赛恩斯新医药学院科研项目 (2022MS002; 2022MS008; 2022QJ001)。

*通信作者: 赵铁建, 570041687@qq.com

收稿日期: 2023-11-07; 接受日期: 2023-12-06; 在线出版日期: 2023-12-27

<http://www.medresfront.com>

Abstract: Objective: Network pharmacology and molecular docking were used to explore the mechanism of *Salvia miltiorrhiza* in the prevention and treatment of liver fibrosis based on angiogenesis. Method: The active pharmacological components and their action targets of *Salvia miltiorrhiza* were clarified by TCMSP database, and the targets related to hepatic fibrosis and angiogenesis were obtained by TTD, GeneCards, CTD and other databases. The active components of *Salvia miltiorrhiza* and the targets related to liver fibrosis and angiogenesis were interactively processed by Venn map. The drug-component-target-disease network was constructed by Cytoscape3.9.0 software, and the interaction target network was constructed by using String database. The interaction targets were analyzed by GO (Gene Ontology) enrichment analysis and KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) signal pathway analysis using Metascape platform to clarify the molecular mechanism of *Salvia miltiorrhiza* in the prevention and treatment of liver fibrosis based on angiogenesis. Result: 65 active components and 132 potential targets of *Salvia miltiorrhiza* were screened from TCSMP database, 4841 and 1200 targets of hepatic fibrosis and angiogenesis were screened by GeneCards, TTD and CTD database respectively, 50 common targets of *Salvia miltiorrhiza* affecting angiogenesis and prevention and treatment of liver fibrosis were obtained by mapping, and the *Salvia miltiorrhiza*-component-target-disease network map was constructed. The common target proteins were analyzed by PPI network, and the key targets were obtained. The enrichment analysis of GO and KEGG signal pathways on the Metascape platform showed that PI3K-Akt signal pathway, AGE-RAGE signal pathway in diabetic complications, MAPK signal pathway, VEGF signal pathway and other signal pathways may be involved in different aspects of *Salvia miltiorrhiza* regulating angiogenesis and preventing liver fibrosis. The results of molecular docking are good. Conclusion: A variety of main active components of *Salvia miltiorrhiza* play the role of anti-angiogenesis through multiple pathways, so as to prevent and treat liver fibrosis.

Keywords: Liver Fibrosis; Angiogenesis; *Salvia*; Network Pharmacology

1 引言

肝纤维化 (hepatic fibrosis, HF) 是慢性肝细胞损伤的结果, 导致重塑和形成假腺泡结构修复, 纤维和细胞外基质 (EMC) 增生和沉积, 最终导致肝硬化[1]。肝纤维化在转变为肝硬化之前尚有可逆的可能[2], 如果肝纤维化能得到有效的逆转, 那就能防治更多慢性肝病的进展, 如何逆转肝纤维化也是现代防治慢性肝病的一个焦点话题。肝星状细胞 (HSCs) 受到损伤产生的促炎介质和缺氧刺激, 造成了肝内血管新生[3], 血管新生 (Angiogenesis) 是肝纤维化发展中一项关键的病理过程。肝纤维化造成了血管新生, 反过来, 血管新生又加速了肝脏的纤维化[4]。能够抑制血管新生, 肝纤维化也将得到有效抑制。

丹参是中国中医药中的传统药材, 具有痛经止血,

活血化瘀, 凉血消痈, 清心除烦的功能。丹参中有许多成分与血管新生息息相关, 如丹参酮 I、丹参酮 II A、隐丹参酮可以通过 VEGF/VEGFR 信号通路抑制血管新生[5]。丹参中的水溶性成分 (如丹参素、丹酚酸 B)、脂溶性成分 (如丹参酮 I、甲基丹参酮)、丹参多糖等有很好的抗炎作用[6], 已有研究表明, 与丹参具有类似药理性质的广西莪术所含的莪术醇通过调控小鼠肝窦内皮细胞 (LSEC) 的窗孔结构, 从而抑制肝内血管新生[7]。目前关于丹参对肝内血管新生作用的报道较少, 其具体的作用机制尚不明确。本研究将通过网络药理学以及分子对接的方法, 探讨基于血管新生丹参防治肝纤维化的分子机制, 为丹参防治肝纤维化提供理论依据, 具体工作流程见图 1。

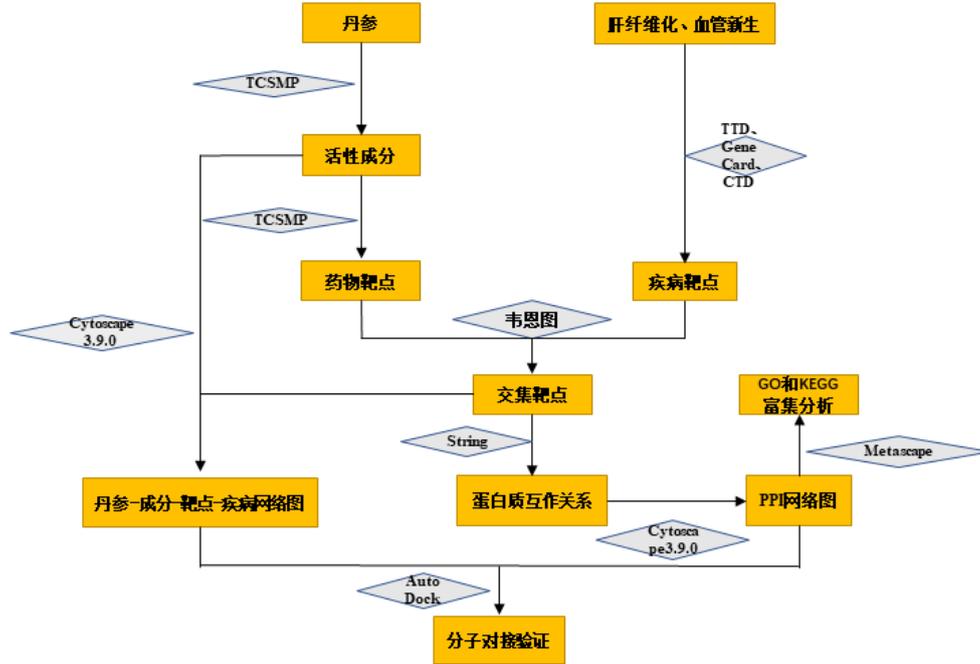


图 1 利用网络药理学和分子对接基于血管新生探讨丹参防治肝纤维化的作用流程图

2 资料与方法

2.1 丹参有效成分及靶点的筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) (<http://tcm-spw.com/tcmsp.php>) 筛选丹参有效化合物成分及作用靶点, 以口服生物利用度 ($OB \geq 30\%$) 和类药性 ($DL \geq 0.18$) 作为筛选标准, 并利用 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 进行蛋白基因名的转换, 所得即为候选化合物及相应靶点基因。

2.2 疾病靶点的筛选

通过 TTD (<https://ngdc.cncb.ac.cn/>)、CTD (<http://ctd.mdibl.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库检索肝纤维化、血管新生的相关靶点, 输入关键词“Hepatic fibrosis”“Angiogenesis”, 以相关性分值 (Relevance score > 1) 作为限定条件, 获得符合条件的疾病相关靶点。

2.3 丹参对肝纤维化和血管新生靶点取交集及 PPI 网络的构建

将丹参对与肝纤维化和血管新生的共同靶点以 Venny 图进行展示。丹参对肝纤维化和血管新生的交集

靶点上传至 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 获取蛋白质互作关系 PPI 网络图。下载“.tvs”后导入 Cytoscape3.9.0 进行可视化操作。利用内置插件 CentiScaPe 2.2Menu 计算网络拓扑学参数, 包括点度中心性 (Degree centrality, DC) 的阈值、中介中心性 (Betweenness centrality, BC) 的阈值及接近中心性 (Closeness centrality, CC) 的阈值, 节点参数值越大, 说明节点越接近网络的中心, 筛选出关键靶点。

2.4 药物-成分-靶点-疾病网络图的构建

运用 CytoScape 3.9.0 软件构建丹参与血管新生、肝纤维化的药物-成分-靶点-疾病网络, 并进行可视化展示。通过 Degree 值分析药物成分, Degree 值越大, 其与蛋白靶点的相关性就越高, 节点与节点之间的连线也会越粗, 从而筛选出丹参的主要活性成分。

2.5 GO 和 KEGG 通路富集分析

将通过 Veeny 图展示得到的共同靶点用 Excel 文件导入 Metascape 数据库 (<https://metascape.org>) 进行 GO 和 KEGG 通路富集分析, GO 功能分析的结果以柱状图的形式进行可视化, KEGG 通路富集分析的结果以气泡图的形式进行可视化, 从而得到丹参与肝纤维化、血管新生共同靶点基因参与的生物学过程和可能的信号通路。

2.6 活性成分-靶点分子对接

根据药物-成分-靶点-疾病网络和 PPI 网络筛选出的主要活性成分和关键靶点进行分子对接。主要活性成分的三 D 结构从 RCSB PDB Homepage 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中获取, 关键靶点的蛋白在 PubMed 数据库中获取。在 Pymol 中对主要活性成分的二 D 结构去除水分子和其余靶点, 利用 Autodock 对靶点蛋白进行预处理(加氢、计算电荷数)。通过 Autodock 软件对主要活性成分和关键靶点进行分子对接, 并利用 Pymol 对分子对接结果进行可视化。

3 结果

3.1 丹参有效成分及靶点的筛选

在 (TCMSP) 数据库中 (<http://tcm-spw.com/tcmsp.php>) 以口服生物利用度 ($OB \geq 30\%$) 和类药性 ($DL \geq 0.18$) 作为筛选标准, 筛选出丹参的活性成分 65 种(见表 1), 发现活性成分潜在靶点 932 个, 在 Uniport 数据库中将 Uniport ID 转化成 Gene name, 剔除非人源性和删除重复项后得到潜在靶点 132 个。

表 1 丹参部分有效化合物成分

Mol ID	Molecule Name	OB(%)	DL
MOL000006	luteolin	36.16	0.25
MOL007154	tanshinone iia	49.89	0.4
MOL007064	przewalskin b	110.32	0.44
MOL007081	Danshenol B	57.95	0.56
MOL007119	miltionone I	49.68	0.32
MOL007082	Danshenol A	56.97	0.52
MOL007105	epidanshenspiroketallactone	68.27	0.31
MOL007156	tanshinone VI	45.64	0.3
MOL007143	salvilone I	32.43	0.23
MOL007145	salviolone	31.72	0.24
MOL001601	1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36
MOL000569	digallate	61.85	0.26
MOL007064	przewalskin b	110.32	0.44
MOL007068	Przewaquinone B	62.24	0.41

3.2 疾病靶点的筛选

通过 TTD (<https://ngdc.cnbc.ac.cn/>)、CTD (<http://ctd.mdibl.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 检索肝纤维化、血管新生的相关靶点, 检索出肝纤维化 (hepatic fibrosis, HF) 相关靶点 6313 个, 血管新生 (Angiogenesis) 相关靶

点 4971 个, 以相关性分值 (Relevance score > 1) 作为限定条件, 筛选后得到肝纤维化相关靶点 4841 个, 血管新生相关靶点 1200 个。

3.3 丹参对肝纤维化和血管新生靶点交集及 PPI 网络的构建

在 TCMSP 数据库中得到丹参活性成分潜在靶点 932 个, 在 Uniport 数据库中进行转换, 删除重复项后的得到 132 个潜在靶点。利用 Venny 图对肝纤维化、血管新生的相关靶点和丹参的潜在靶点进行交互, 得到 50 个共同靶点。(见图 2) 将交互所得到的 50 个共同靶点导入 String 数据库中制作 PPI 网络, 下载“.tvs”后导入 Cytoscape3.9.0 进行可视化操作。(见图 3) 网络中有 50 个蛋白节点, 619 条边, Degree 值越高, 节点就会越大, 连接两个节点之间的线条也会越粗。节点的颜色由黄到红, Degree 值越高, 颜色也会越深。利用内置插件 CentiScaPe 2.2 Menu 计算网络拓扑学参数, 得到数据点度中心性 (Degree centrality, DC) 为 24.76, 中介中心性 (Betweenness centrality, BC) 为 26.080000000000055, 接近中心性 (Closeness centrality, CC) 为 0.013730185027946238, 筛选出关键靶点 16 个。涉及到的关键靶点有 AKT1(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)、VEGFA(血管内皮生长因子 A)、TP53(细胞性肿瘤抗原)、MMP9(基质金属蛋白酶-9)、STAT3(转录激活因子 3) 等等(见表 2) 说明这 16 个靶点在血管新生影响肝纤维化的过程中可能对血管新生有的影响。

表 2 PPI 网络 16 个关键靶点拓扑学性质

序号	关键靶点	接近中心性 (CC)	中介中心性 (BC)	Degree
1	AKT1	0.018867925	142.0052541	45
2	VEGFA	0.018518519	120.3085968	44
3	TP53	0.01754386	79.45124362	42
4	MMP9	0.01754386	73.84391423	41
5	STAT3	0.017241379	69.2794676	41
6	CASP3	0.016949153	48.19836333	40
7	MYC	0.016393443	52.35642159	38
8	PTGS2	0.015873016	39.50139149	36
9	FOS	0.015873016	35.6760327	36
10	CCND1	0.015873016	43.94137382	36
11	ERBB2	0.015151515	43.46625247	33
12	MAPK1	0.015384615	45.98828438	33
13	MCL1	0.014925373	35.20548432	32
14	MDM2	0.014925373	32.96396212	32
15	MMP2	0.014705882	29.2759166	31
16	MAPK14	0.014285714	26.12397863	28

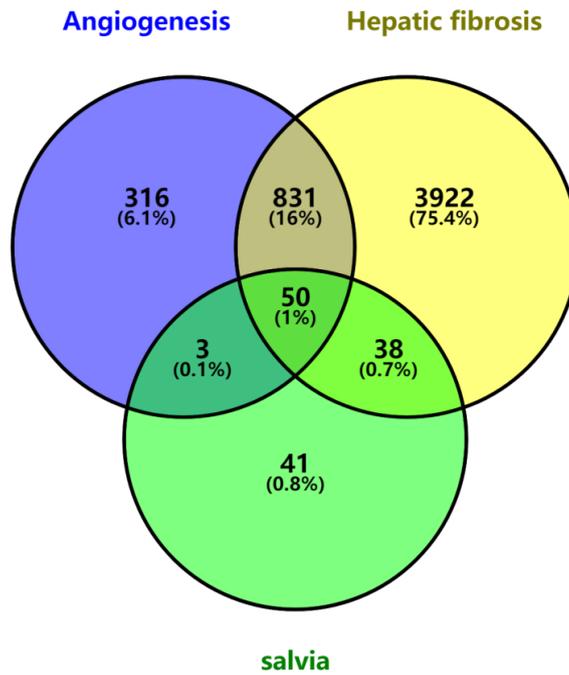


图2 丹参和疾病靶点 Venny 图

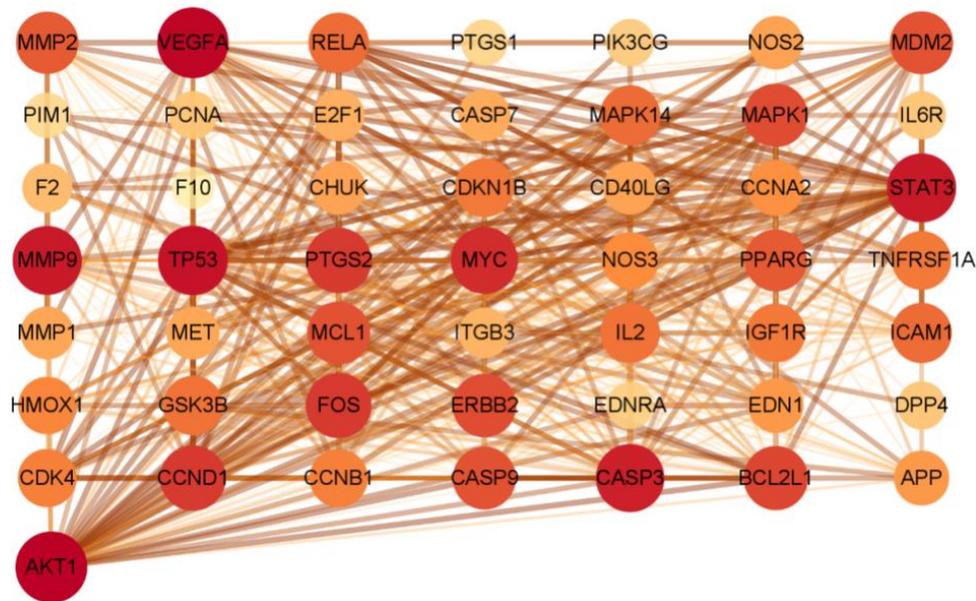


图3 丹参与疾病共同靶点蛋白互作网络

3.4 药物-成分-靶点-疾病网络图的构建

将丹参的活性成分和共同靶点导入 Cytoscape3.9.0 中，得到丹参-成分-靶点-疾病网络图。（见图 4）在该网络中有 105 个节点，340 条边，在 Cytoscape3.9.0 中分析出 Degree 值，将 Degree 值从大到小排列前六的的活性成分选为丹参的主要活性成分。（见表 3）主要活性成分包括木犀草素、丹参酮 IIA、

丹参新醌、二氢丹参酮、隐丹参酮、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮。这六个主要成分在丹参影响血管新生从而防控肝纤维化起到重要作用。

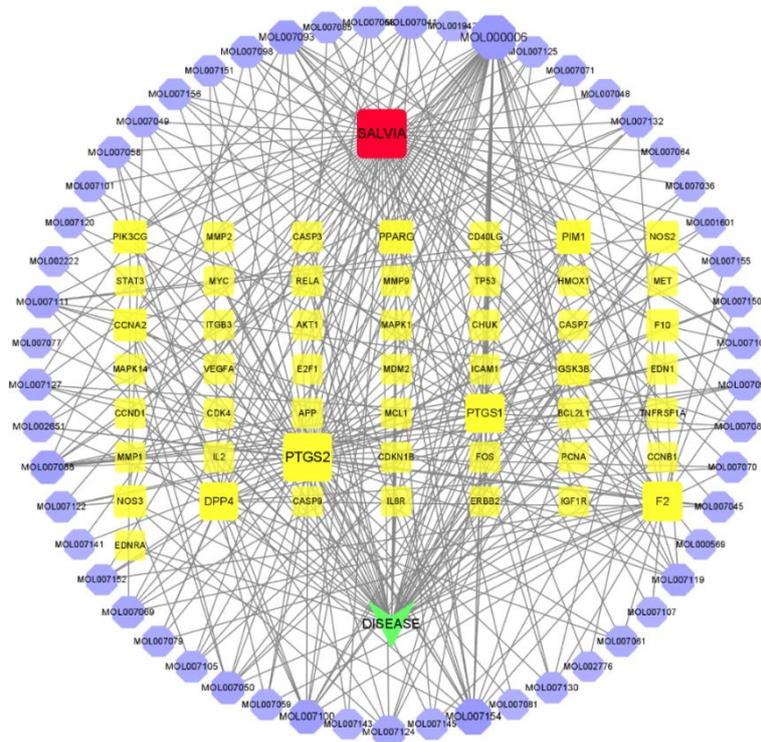


图 4 丹参-成分-靶点-疾病网络图

表 3 丹参主要活性成分

MOL ID	化学名称	中文名称	分子式	Degree	参考文献
MOL000006	luteolin	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	38	[8]
MOL007154	tanshinone iia	丹参酮 IIA	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	16	[8]
MOL007093	dan-shexinkum d	丹参新醌 D	C ₂₁ H ₂₀ O ₄	11	[8]
MOL007100	dihydrotanshinlactone	二氢丹参酮	C ₁₈ H ₁₄ O ₃	11	[8]
MOL007088	cryptotanshinone	隐丹参酮	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	10	[8]
MOL007041	2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	C ₁₈ H ₁₆ O ₂	8	[8]

3.5 GO 和 KEGG 通路富集分析

将 50 个共同靶点导入 Metascape 数据库中 GO 富集分析，其中生物过程 (BP) 927 个，细胞组成 (CC) 52 个，分子功能 (MF) 86 个。生物过程 (BP) 取富集性最为显著的前 20 绘制气泡图，(见图 5) 细胞组成 (CC) 和分子功能 (MF) 各取富集性最为显著的前 10 绘制气泡图。(见图 6、图 7) 横坐标为分析项目，纵坐标为基因数目，按照 P 值由小到大的顺序排列。共同靶点涉及的主要生物过程有细胞对有机氮化合物的反应、对激素的反应、对氧含量降低的反应、细胞对化学应激的反应、对辐射的反应、细胞迁移的正调控、蛋白质磷酸化的正调控等。主要的细胞组成有膜筏、蛋白激酶复合物、转录调节复合物、受体复合物、

细胞间连接等。主要的分子功能有蛋白激酶结合、蛋白激酶活性、细胞周期蛋白依赖性丝氨酸/苏氨酸激酶调节活性、蛋白同源二聚活性等。

将 50 个共同靶点导入 Metascape 数据库中进行 KEGG 信号通路分析，得到 158 条信号通路，提取富集性最为显著的前 20 条制作气泡图进行可视化展示。

(见图 8) 横坐标为 Gene ratio，纵坐标为信号通路。点的大小由基因数目表示，点越大，代表在此通路上的富集基因越多。丹参参与的通路主要有癌症的途径，PI3K-Akt 信号通路(磷酸肌醇-3-激酶-蛋白酶 B 信号通路)，卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染，脂质与动脉粥样硬化，糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路，膀胱癌，MAPK (丝裂原活化蛋白激酶) 信号通路，VEGF (血管内皮生长因子) 信号通路，核因子 κB (NF-κB) 信号通路，JAK-STAT 信号通路等等。

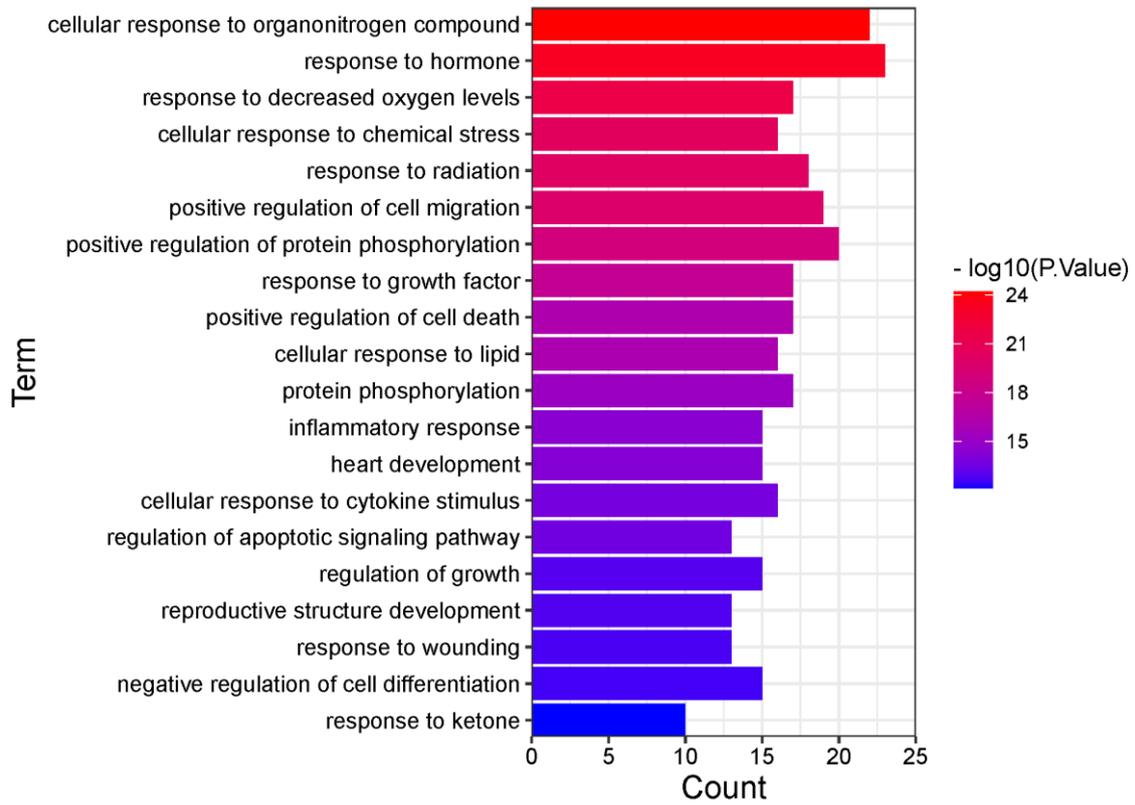


图 5 GO 富集分析-生物过程 (BP)

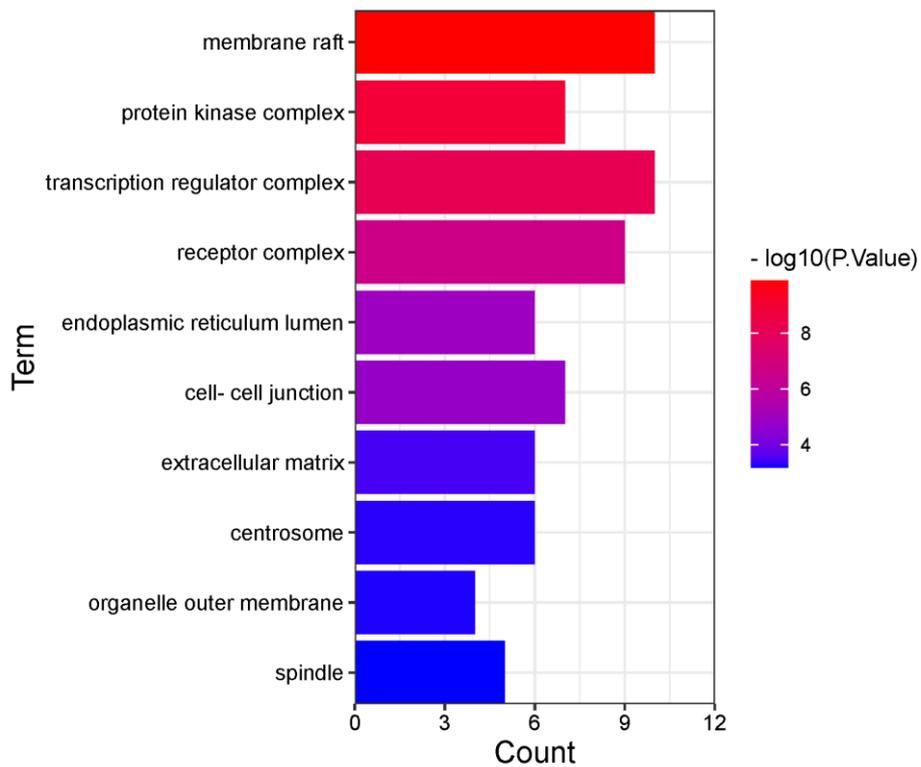


图 6 GO 富集分析-细胞组成 (CC)

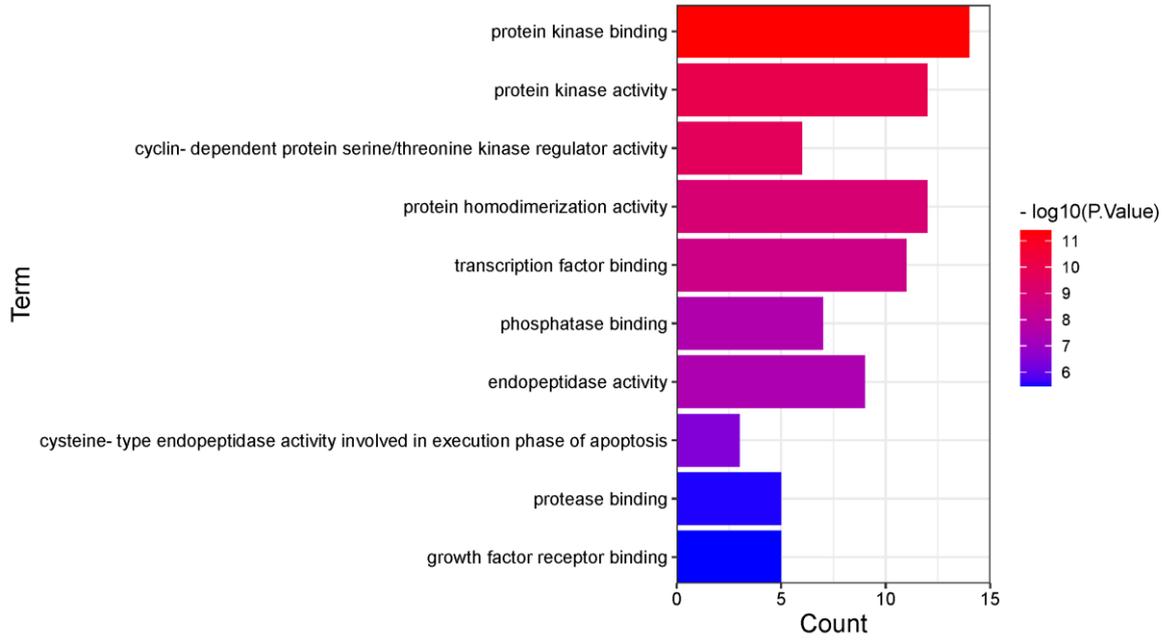


图 7 GO 富集分析-分子功能 (MF)

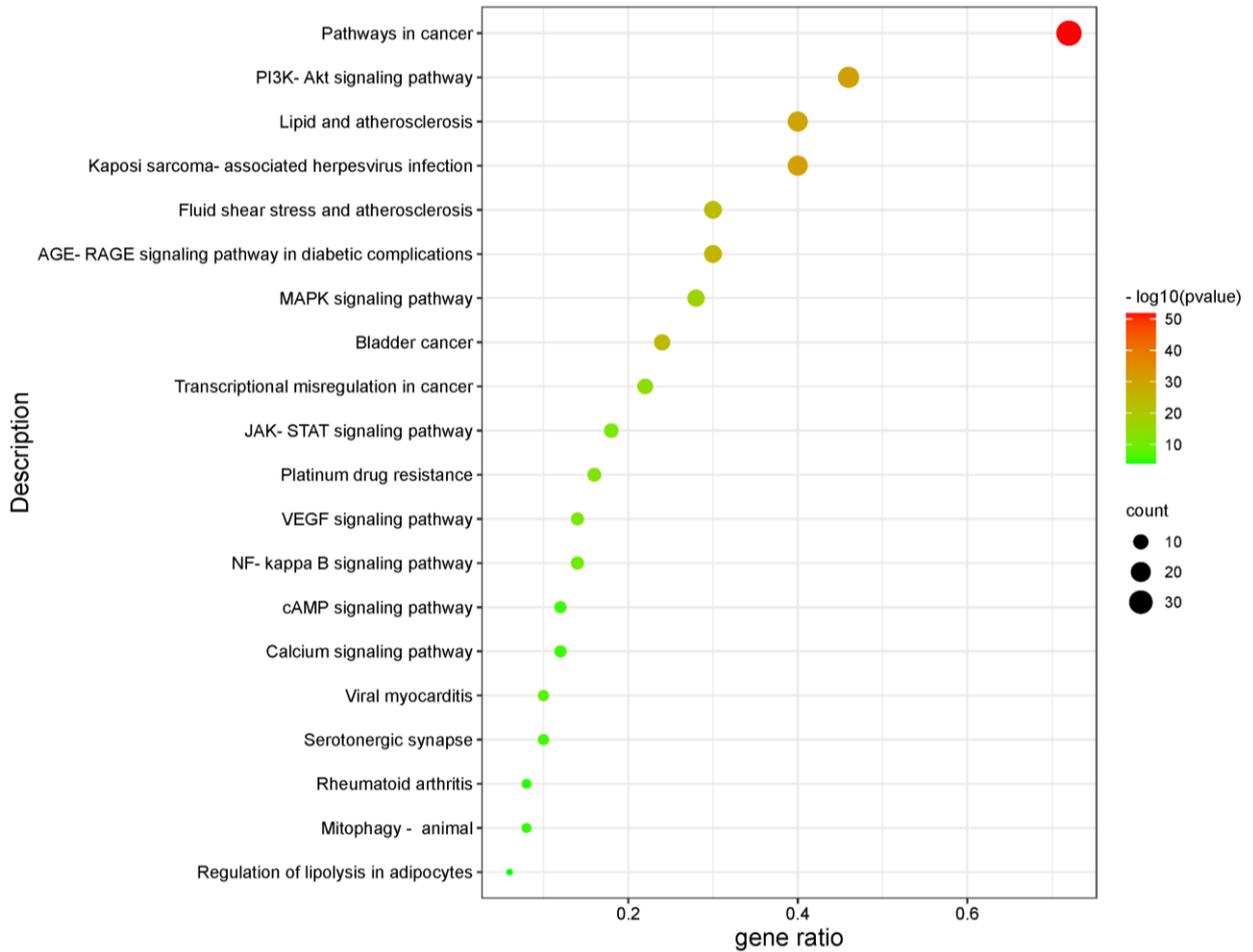


图 8 KEGG 信号通路富集分析

3.6 活性成分-靶点分子对接

将通过 Cytoscape3.9.0 筛选出来的丹参主要活性成分 (见表三) 与在关键靶点中点度中心性, 中介中心性, 接近中心性综合排列靠前的五个关键靶点 (见表二) 在 Autodock 软件中进行分子对接。这五个关键靶点分别为 AKT1、VEGFA、TP53、MMP9、STAT3。在 PudChem 数据库中下载木犀草素、丹参酮 IIA、丹参新醌 D、二氢丹参酮、隐丹参酮、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-

二酮的三级结构, 关键靶点的蛋白在 PudMed 数据库中获取。分子对接结果显示所有小分子和大蛋白的结合能均小于 0 (见表 4), 说明小分子和大蛋白可自发结合。取各个活性成分与蛋白结合能最优的进行可视化 (见图 9)。木犀草素的对接结合能相对较差, 丹参酮 IIA、丹参新醌、二氢丹参酮、隐丹参酮、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮对接结合能相对较好, 均小于 -5, 说明其可能是丹参基于血管新生防治肝纤维化的关键成分。

表 4 主要活性成分分子对接结果

主要活性成分	结合能 (kcal mol ⁻¹)				
	AKT1	VEGFA	TP53	MMP9	STAT3
木犀草素	-5.39	-4.17	-4.98	-4.84	-4.94
丹参酮 IIA	-8.86	-6.27	-7.02	-7.83	-7.58
丹参新醌 D	-8.12	-7.41	-7.11	-8.3	-6.1
二氢丹参酮	-7.65	-6.32	-7.34	-10.47	-6.15
隐丹参酮	-8.43	-6.73	-7.22	-8.12	-7.56
2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	-7.76	-6.44	-6.19	-7.46	-7.97

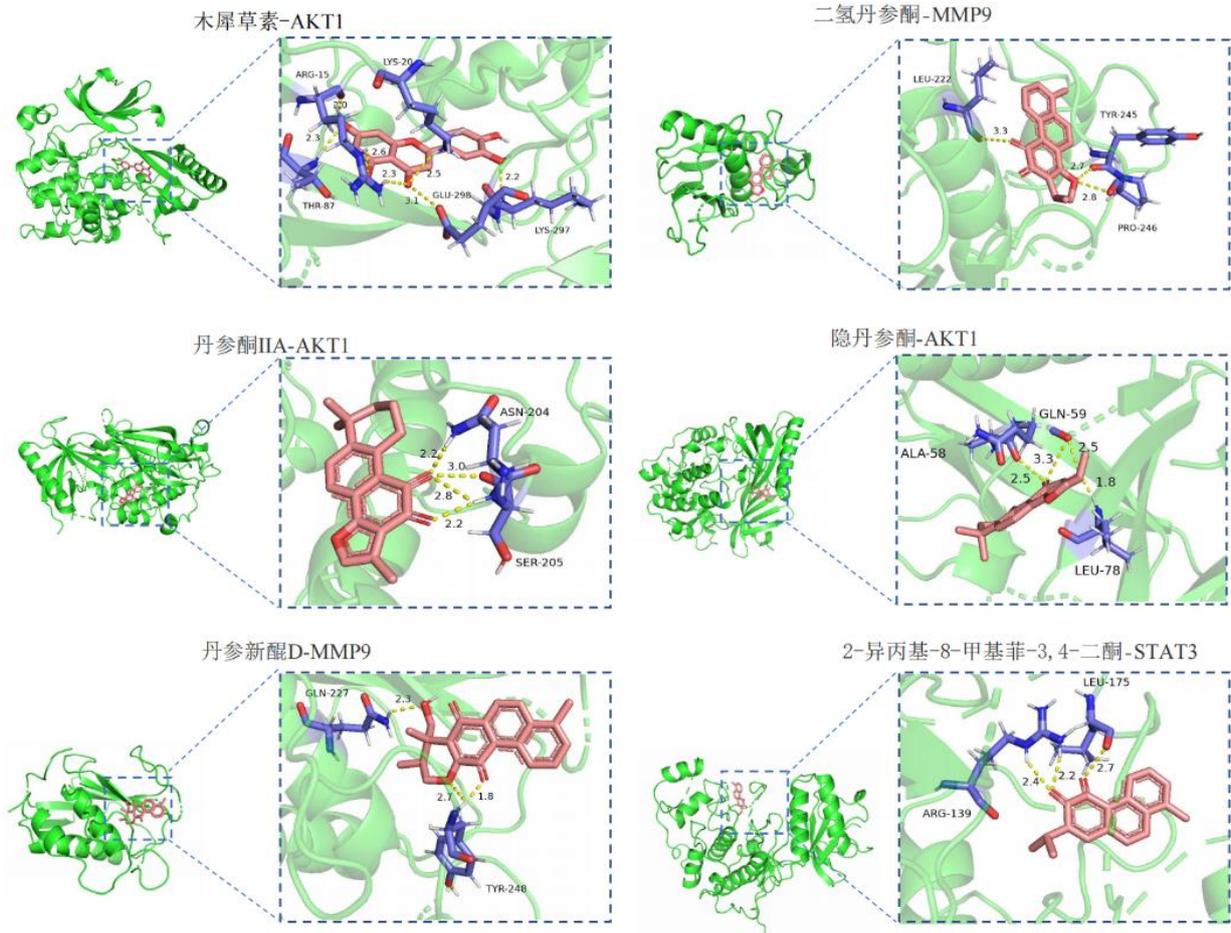


图 9 主要活性成分与靶点对接图

4 讨论

血管新生和肝纤维化是相伴相促的，血管新生在肝脏纤维化的过程中有着重要的作用。抑制了血管新生可减轻肝内血管扭曲，防治肝纤维化，肝硬化甚至肝癌。在肝的纤维化过程中，肝窦内皮细胞和血管新生同时发生改变。炎症和缺氧是导致血管新生的一个重要原因[3, 9]，慢性间接性缺氧就是通过血管新生加速了缺氧和非酒精性肝炎合并大鼠的肝纤维化[10]。目前抗血管生成疗法来防治肝纤维化的效果还不太理想，抗血管新生的多靶点治疗是未来一个新的发展方向[11]，本文通过利用网络药理学和分子对接的方法基于血管新生来探究丹参防治肝纤维化的分子机制。通过 TCSMP 数据库筛选出丹参活性成分 65 个，作用潜在靶点重复项后得到 132 个，通过 GeneCards、TTD、CTD 数据库分别筛选出肝纤维化和血管新生靶点 4841、1200 个，映射取交集得到丹参影响血管新生防治肝纤维化的共同靶点 50 个，构建丹参-成分-靶点-疾病网络图，并对共同靶点蛋白进行 PPI 网络分析，得到关键靶点。对共同靶点在 Metascape 平台进行 GO 和 KEGG 信号通路富集分析，显示 PI3K-Akt 信号通路（磷酸肌醇-3-激酶-蛋白酶 B 信号通路）、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、MAPK（丝裂原活化蛋白激酶）信号通路、VEGF（血管内皮生长因子）信号通路等信号通路可能参与丹参调节血管新生防治肝纤维化的不同环节。

丹参活性成分和肝纤维化、血液新生相关靶点蛋白相互匹配取交集后，得到 50 个关键靶蛋白对应 53 个活性成分。其中 Degree 值排名前六的活性成分分别为木犀草素、丹参酮 IIA、丹参新醌 D、二氢丹参酮、隐丹参酮、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮。Pan Jie 等在探讨木犀草素对非小细胞肺癌的血管内皮细胞的影响实验中，发现木犀草素能够抑制 VEGF（血管内皮生长因子），从而抑制非小细胞肺癌血管内皮细胞血管生成[12]。木犀草素对抗炎症也有很好的作用，其可改变炎症中的各种通路，对转录因子和激活蛋白-1 的调节[13]。丹参酮 IIA 有强大的抗炎能力和抗氧化能力，已有实验证明，丹参酮 IIA 可降低脉络膜新生血管动物模型脉络膜视网膜中 HIF-1 α 和 VEGF 的表达[14]，可有效抑制血管新生。隐丹参酮是一种具有抗菌、抗炎、降温作用的单体，有细胞实验证实其能够保护 RPE 细胞免受 CoCl₂-诱导的缺氧而引起的细胞凋亡和炎症反应[15]，其可通过介导 MAPK 信号通路发挥抗炎作用[16]，

从一定程度上说明了隐丹参酮与肝内血管新生有所联系，在临床上也会用于抗肝炎。

利用 Cytoscape 内置插件 CentiScaPe 2.2 Menu 计算 PPI 网络拓扑学参数筛选出 16 个关键靶点，根据 Degree 值大小选出 5 个关键靶点，分别为 AKT1（丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶）、VEGFA（血管内皮生长因子 A）、TP53（细胞性肿瘤抗原）、MMP9（基质金属蛋白酶 -9）、STAT3（转录激活因子 3）。AKT1 可以调节神经元的发育[17]，参与调节血管新生、生长、细胞凋亡等生理过程[18]。VEGFA（血管内皮生长因子 A）是最主要的 VEGF（血管内皮生长因子）。体外实验发现二者在肿瘤血管生成中具有协同作用。MMP9 在血管新生的过程中，可参与基底膜的降解过程，也能降解人纤溶酶原，产生血管抑制碎片[19]。MMP9 靶点可被木犀草素调节，从而抑制血管新生[20]。VEGF（血管内皮生长因子）是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子。VEGFA（血管内皮生长因子 A）可以促进血管新生和使血管通透性增加。也有研究表明，丹参治疗小鼠的血管生成缺陷和心力衰竭，VEGFA 蛋白表达显著增加，对反应性心肌血管新生的保护作用至少部分是通过 VEGFA 的表达实现的[21]。

总之，丹参可能通过调节上述基因的表达，有较好的抗炎效果，调控肝内血管新生，达到防控肝纤维化的目的。

GO 富集分析得到共同靶点涉及的主要生物过程有细胞对有机氮化合物的反应、对激素的反应、对氧含量降低的反应、细胞对化学应激的反应、细胞迁移的正调控、蛋白质磷酸化的正调控等。主要的细胞组成为蛋白激酶复合物、转录调节复合物、受体复合物、细胞间连接等。主要的分子功能有蛋白激酶结合、蛋白激酶活性、细胞周期蛋白依赖性丝氨酸/苏氨酸激酶调节活性、蛋白同源二聚活性等。KEGG 信号通路富集分析除去癌症途径，结合肝纤维化基于血管新生的发病过程和常见的信号通路，丹参可能通过 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、VEGF 信号通路发挥抗血管新生作用防治肝纤维化。PI3K-Akt 信号通路参与氧化应激、炎症反应和细胞凋亡的过程。牛艳邦[22]等通过小鼠实验，利用药物对四氯化碳诱导的急性肝损伤的小鼠进行干预，发现干预组药物通过抑制 PI3K-Akt 信号通路有效减轻了四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤，其中干预组中的小鼠与模型组相比，肝组织中的促进炎症因子（IL-6、TNF- α ）的表达水平降低，抗炎因子 IL-10 的表达水平显著增高，降低 PI3K、Akt

磷酸化。PI3K-Akt 信号通路对血管新生也有潜移默化的影响[23]，通过对 PI3K-Akt 信号通路得影响对缺血缺氧诱导得人脐静脉内皮细胞血管的形成和增殖发挥保护作用[24]。MAPK 信号通路主要调节抗炎与致炎方面的平衡，在肝纤维化的进展中与肝星状细胞的增殖有关，抑制 MAPK 信号通路，可显著下调致炎因子（TGF- β 1、IL-6），改善肝纤维化[25]。也有研究表明利用中药汤剂加味补阳还五汤减少 VEGF 等促血管生成因子的表达，抑制 MAPK 信号通路，从而有效地改善肺部的纤维化[26]。VEGF 信号通路可以调控血管内皮细胞的增殖、存活，引起血管的通透性改变，控制血管的新生。调节 VEGF 信号通路，可抑制肝癌血管新生。朱婷婷等通过体外实验，测量了 VEGF 蛋白的表达水平，用天冬多糖对 VEGF 信号通路进行干预，将对照组和实验组进行对比发现，肝癌细胞的迁移、增殖和血管生成的能力降低，被天冬多糖有所补回。证明了肝癌血管新生受 VEGF 信号通路调节[27]。

基于此，本研究推测丹参可通过多个信号通路发挥抗血管新生防治肝纤维化的作用。分子对接结果显示，活性成分和对接蛋白之间的结合能均小于 0，说明两者可以自发结合，其中木犀草素的结合能相对较差，说明木犀草素在丹参基于血管新生防治肝纤维化的过程中发挥作用可能较小。丹参酮 IIA、丹参新醌、二氢丹参酮、隐丹参酮、2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮对接结合能相对较好，均小于-5，其可能是丹参基于血管新生防治肝纤维化的关键活性成分。

综上所述，本研究通过对丹参和疾病靶点进行分析，初步推测丹参基于血管新生防治肝纤维化的作用机制，结果表明，丹参中的 65 个活性成分可能主要通过 AKT1、VEGFA、TP53、MMP9、STAT3 等 50 个与血管新生和肝纤维化的潜在作用靶点，富集与 I3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、VEGF 信号通路等信号通路，以抗血管新生，从而达到防治肝纤维化的目的。丹参可通过多种活性成分通过多个信号通路发挥抗血管新生防治肝纤维化，体现了丹参防治肝纤维化的优势，为后续丹参防治肝纤维化提供新的理论依据。

5 结论

本研究借助网络药理学工具探究丹参基于血管新生防治肝纤维化的分子机制，筛选得到丹参相关靶点 132 个，血管新生相关靶点 1200 个，肝纤维化相关靶点 4841 个，三者共同靶点 50 个，对关键靶点富集分

析发现关键靶点主要富集在 PI3K/AKT、VEGF 等信号通路上，进一步的分子对接发现丹参主要活性成分木犀草素、隐丹参酮、丹参酮 IIA 与关键靶点 AKT1 具有较好的靶向结合作用。综上所述，丹参通过多种活性成分作用于多途径，调控血管新生防治肝纤维化，为中药药理以及疾病防治研究提供了新思路。

参考文献

- [1] Wang FD, Zhou J, Chen EQ. Molecular Mechanisms and Potential New Therapeutic Drugs for Liver Fibrosis [J]. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 787748.
- [2] Tai Y, Zhao C, Lan T, Zhang L, Xiao Y, Tong H, Liu R, Tang C, Gao J. Integrated Analysis of Hepatic miRNA and mRNA Expression Profiles in the Spontaneous Reversal Process of Liver Fibrosis [J]. *Front Genet.* 2021; 12: 706341.
- [3] Zadorozhna M, Di Gioia S, Conese M, Mangieri D. Neovascularization is a key feature of liver fibrosis progression: anti-angiogenesis as an innovative way of liver fibrosis treatment [J]. *Mol Biol Rep.* 2020; 47(3): 2279-2288.
- [4] 高俪原; 梁宝瑜; 金春; 李余佳; 王振屹; 张峰; 郑仕中, 血管新生在肝脏疾病发生与发展中作用的研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2020, 35-39, 35-39.
- [5] 罗丹, 王宏艳. 丹参及其化合物对血管新生中血管内皮生长因子/血管内皮生长因子受体通路调控作用研究进展[J]. *国际中医中药杂志*, 2021, 43(10): 1054-1057.
- [6] 原景; 杜韩; 万梅绪; 李智; 张燕欣; 李德坤; 庄朋伟; 鞠爱春, 丹参有效成分及丹参类制剂抗炎药理作用的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2021, 39-49, 39-49.
- [7] 郑洋; 王佳慧; 彭岳; 原鲜玲; 汪磊; 赵铁建, 莪术醇对小鼠肝窦内皮细胞结构的影响及其对肝内血管新生的抑制作用 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, 55-61, 55-61.
- [8] 单晓晓, 洪帮振, 刘洁, 王国凯, 陈卫东, 俞年军, 彭代银, 王雷, 张彩云. 丹参化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(21): 5496-5511.
- [9] 朱婷婷, 程紫薇, 邢东炜, 张闽光. 缺氧微环境调控肝细胞癌血管新生的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(09): 19-22.
- [10] Wu W, Li W, Wei J, Wang C, Yao Y, Zhu W, He W, Zhou W, Liu J. Chronic intermittent hypoxia accelerates liver fibrosis in rats with combined hypoxia and nonalcoholic steatohepatitis via angiogenesis rather than endoplasmic reticulum stress [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2019; 51(2): 159-167.

- [11] 辜群利, 李晖, 陈婧. 抗血管生成疗法在肝纤维化肝硬化和肝细胞癌中的应用进展 [J]. 医药导报, 2022, 41(1): 92-98.
- [12] Pan J, Cai X, Zheng X, Zhu X, Feng J, Wang X. Luteolin inhibits viability, migration, angiogenesis and invasion of non-small cell lung cancer vascular endothelial cells via miR-133a-3p/purine rich element binding protein B-mediated MAPK and PI3K/Akt signaling pathways [J]. Tissue Cell. 2022; 75: 101740.
- [13] 胡泽香, 佟雷, 耿艳萌, 杨琦, 侯甲福. 木犀草素的药理活性及其制剂研究进展 [J]. 中医临床研究, 2022, 14(10): 141-145.
- [14] 郝雪莲, 亢泽峰, 陈水龄, 刘健. 丹参酮 IIA 对 BN 大鼠脉络膜新生血管 HIF-1 α 和 VEGF 表达的影响 [J]. 中国中医眼科杂志, 2020, 30(3): 166-170+184.
- [15] Gu Y, Liu W, Liu G, Li X, Lu P. Assessing the protective effects of cryptotanshinone on CoCl₂-induced hypoxia in RPE cells [J]. Mol Med Rep. 2021; 24(4): 739.
- [16] Wu JS, Meng QY, Shi XH, Liu LX, Zhang ZK, Guan HS, Shao CL, Wang CY. The oxygenated products of cryptotanshinone by biotransformation with *Cunninghamella elegans* exerting anti-neuroinflammatory effects by inhibiting TLR 4-mediated MAPK signaling pathway [J]. Bioorg Chem. 2020; 104: 104246.
- [17] Fei E, Chen P, Zhang Q, Zhong Y, Zhou T. Protein Kinase B/Akt1 Phosphorylates Dysbindin-1A at Serine 10 to Regulate Neuronal Development [J]. Neuroscience. 2022; 490: 66-78.
- [18] 濮雪华, 李飞, 缪小莉, 叶纪录, 陆伦根. 转化生长因子 β 通过 PI3K/AKT/mTOR/p70S6K 通路调节肝祖细胞的迁移 [J]. 中华肝脏病杂志, 2018, 26(9): 680-685.
- [19] 李玮浩. CD105、MMP9 和 VEGF 在肝细胞肝癌组织的表达 [D]. 郑州大学, 2006.
- [20] 曹自, 孙保存, 赵秀兰, 张艳辉, 古强, 梁晓辉, 董学易, 赵楠. Runx2 通过促进 MMP9 的表达增强肝细胞肝癌迁移侵袭能力 [J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(9): 424-428.
- [21] Ai F, Chen M, Li W, Yang Y, Xu G, Gui F, Liu Z, Bai X, Chen Z. Danshen improves damaged cardiac angiogenesis and cardiac function induced by myocardial infarction by modulating HIF1 α /VEGFA signaling pathway [J]. Int J Clin Exp Med. 2015; 8(10): 18311-18318.
- [22] 牛艳邦, 王晓玲, 陈晨, 任益凡, 张海利, 董胜利. 二甲双胍抑制 PI3K-AKT-mTOR 信号通路对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤的影响 [J]. 中国生物制品学杂志, 2021, 34(9): 1062-1068+1075.
- [23] Nasirzadeh M, Rasmi Y, Rahbarghazi R, Kheradmand F, Karimipour M, Aramwit P, Astinfeshan M, Gholinejad Z, Daeihasani B, Saboory E, Shirpoor A, Rezabakhsh A, Zolali E, Khalaji N. Crocetin promotes angiogenesis in human endothelial cells through PI3K-Akt-eNOS signaling pathway [J]. EXCLI J. 2019; 18: 936-949.
- [24] Wang XL, Qi J, Shi YQ, Lu ZY, Li RL, Huang GJ, Ning BB, Hao LS, Wang H, Hao CN, Li Y, Zhou HS, Duan JL. Atorvastatin plus therapeutic ultrasound improve postnatal neovascularization in response to hindlimb ischemia via the PI3K-Akt pathway [J]. Am J Transl Res. 2019; 11(5): 2877-2886.
- [25] 郑洋, 梁天坚, 王佳慧, 赵铁建, 汪磊. 莪术醇对肝窦内皮细胞 MAPK 信号通路作用的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(1): 57-61.
- [26] 宋丽. 加味补阳还五汤通过 MAPK/ERK 信号通路干预肺纤维化血管新生机制的实验研究及临床分析 [D]. 山东中医药大学, 2021.
- [27] 朱婷婷, 程紫薇, 邢东炜, 张闽光. 基于 HIF-1 α /VEGF/NF- κ B 信号通路探讨天冬多糖调控 COMMD3 抑制肝癌血管生成的作用机制 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2836-2841.