

苓桂术甘汤改善胰岛素抵抗的网络药理学分析

罗力¹, 刘春茹¹, 黄钰², 张震宇², 余耀和¹, 许帅³, 龙舒妮¹ (1. 广州新海医院中医科, 广东 广州 510300; 2. 广州新海医院内分泌科, 广东 广州 510300; 3. 深圳市宝安区中医院内分泌科, 广东 深圳 518101)

摘要: **目的** 基于网络药理学探讨苓桂术甘汤改善胰岛素抵抗(IR)的分子机制。**方法** 利用中药系统药理学分析平台(TCMSP)获取苓桂术甘汤的活性成分及作用靶点, 通过 OMIM、DisGenet、KEGG、TTD、GAD、Drugbank 等数据库获取 IR 疾病相关靶点, 并利用 VennDiagram 包获得二者的交集靶点即为苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点。利用 Cytoscape 3.6.0 软件及 STRING 数据库分别构建中药-活性成分-潜在作用靶点网络、苓桂术甘汤治疗 IR 潜在作用靶点的蛋白相互作用(PPI)网络, 并进行网络特异性分析, 最后借助 topGO、GOplot 包对结果进行可视化处理, 阐明可能的关键靶点和关键通路。采用 org.Hs.eg.db、ClusterPofiler 包对苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析。**结果** 共筛选出苓桂术甘汤 120 个活性成分、73 个潜在作用靶点。分析得到槲皮素、柚皮素、山柰酚、芒柄花素、 β -谷甾醇等关键活性成分, 维甲酸 X 受体 α (RXRA)、雌激素 α 受体(ESR1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1)等关键靶点。苓桂术甘汤对 IR 的治疗作用与糖脂代谢、激素应答、转录过程和氧化应激等生物学过程相关, 涉及晚期糖基化(AGE-RAGE)信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路等多条通路。**结论** 苓桂术甘汤可能主要通过槲皮素、柚皮素、山柰酚等活性成分调节糖脂代谢、肿瘤坏死因子等信号通路发挥治疗 IR 的作用。

关键词: 苓桂术甘汤; 胰岛素抵抗; 网络药理学; 糖脂代谢; 肿瘤坏死因子; 分子机制; 信号通路

中图分类号: R285.5; R857.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)11-1685-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.11.012

Network Pharmacology Analysis of Ling Gui Zhu Gan Decoction in Treatment of Insulin Resistance

LUO Li¹, LIU Chungu¹, HUANG Yu², ZHANG Zhenyu², YU Yaohe¹, XU Shuai³, LONG Shuni¹ (1. Chinese Medicine Department of Guangzhou Xinhai Hospital, Guangzhou 510300 Guangdong, China; 2. Endocrinology Department of Guangzhou Xinhai Hospital, Guangzhou 510300 Guangdong, China; 3. Endocrinology Department of Shenzhen Baoan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518101 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the potential mechanism of Ling Gui Zhu Gan decoction in ameliorating insulin resistance using network pharmacology. **Methods** Firstly, the chemical compounds and potential targets of Ling Gui Zhu Gan decoction were collected from TCMSP database. Targets related to insulin resistance(IR) were obtained on OMIM, DisGenet, KEGG, TTD and GAD databases. Meanwhile, the Ling Gui Zhu Gan decoction-IR intersection targets were presented by Venn Diagram package. Then, the “herbs-active components-targets” network and the Ling Gui Zhu Gan decoction-IR interaction network were constructed by Cytoscape 3.6.0. Moreover, network topological analysis of the both two networks were conducted to explore crucial nodes. Finally, GO analysis and KEGG enrichment analysis of the Ling Gui Zhu Gan decoction-IR interaction network were performed by the org.Hs.eg.db and the ClusterPofiler package. **Results** There were 120 active components and 73 potential targets in Ling Gui Zhu Gan decoction. Active components with high scores included quercetin, naringenin, kaempferol, formononetin,

收稿日期: 2021-05-07

作者简介: 罗力, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 经方、针灸治疗糖尿病等疑难病症。Email: luolitem@qq.com。通信作者: 许帅, 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合治疗内分泌疾病。Email: 359166471@qq.com。

基金项目: 广东省中医药局科研项目(20212194)。

and β -sitosterol, etc. The key targets in *Ling Gui Zhu Gan* decoction-IR interaction network included RXRA, ESR1, AKT1, etc. GO analysis revealed that the biological progress involving *Ling Gui Zhu Gan* decoction may related to metabolic process of glucose and lipid, hormone response, transcription process and oxidative stress, etc. The KEGG pathways might be enriched in AGE-RAGE signaling pathway, TNF signaling pathway, PI3K/AKT signaling pathway, and other pathways, etc. **Conclusion** Quercetin, naringenin, kaempferol, and other components in *Ling Gui Zhu Gan* decoction showed important implications in improving insulin resistance through regulating glucolipid metabolism pathway, TNF pathway, and other pathways.

Keywords: *Ling Gui Zhu Gan* decoction; insulin resistance; network pharmacology; glucolipid metabolism; TNF; molecular mechanism; signaling pathway

胰岛素抵抗(IR)是指胰岛素的作用靶组织如肝脏、脂肪、肌肉等对胰岛素的生物学反应能力下降,使生理水平浓度的胰岛素产生的生物学效应下降的一种病理状态^[1],可导致高胰岛素血症、高血糖、血脂异常、内皮功能障碍、炎症标志物升高等病理状态,与代谢综合征、2型糖尿病、代谢相关脂肪性肝病、多囊卵巢综合征、高血压、冠心病、脑中风等多种疾病密切相关,严重影响患者的生活质量^[1-3]。

中医学无 IR 之名,根据其症状,可归属“消渴”“脾瘅”“脂浊”“肝痞”等范畴。中医学认为,IR 病机多为脾失健运导致痰浊内生^[4]。苓桂术甘汤出自《伤寒论》,具有健脾利湿、温化痰饮的功效,对 IR 具有改善作用^[4-6]。研究表明,其对 IR 的改善作用机制可能与降低血清抵抗素、升高脂联素、抑制过

氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)活性^[7],增强葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)表达^[8],抑制炎症信号通路^[9],以及下调蛋白激酶 C、改善脂代谢、降低炎症因子表达^[10]等有关。由于中药复方成分复杂,目前尚不能全面揭示苓桂术甘汤多成分的协同作用机制。因此,本研究拟通过网络药理学方法,以苓桂术甘汤中具有治疗 IR 活性的主要活性成分和疾病靶点为研究对象,通过构建“中药-活性成分-潜在作用靶点”网络并进行生物信息学分析,以期系统探究其协同作用机制,为该方剂的进一步开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件 研究所用数据库、软件包及其网址,见表 1。

表 1 数据库及软件

Table 1 Databases and softwares

数据库及 R 语言包	中文注释	网址
TCMSP	中药系统药理学数据库与分析平台	http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php
OMIM	人类孟德尔遗传在线数据库	http://www.omim.org
DisGenet	人类疾病相关的基因与突变位点信息数据库	https://www.disgenet.org/home
KEGG	京都基因与基因组百科全书	https://www.kegg.jp/kegg/
TTD	药物/疾病治疗靶点数据库	http://http://db.idrblab.net/ttd
Drugbank	药物和药物靶点数据库	https://go.drugbank.com/
GAD	基因关联数据库	https://geneticassociationdb.nih.gov/
NCBI	美国国家生物技术信息中心	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=
Pubchem	美国国立卫生研究院的开放化学数据库	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov
String	基因关联数据库	http://string-db.org
VennDiagram 1.6.20	生成韦恩图和欧拉图	https://cran.r-project.org/web/packages/VennDiagram/
org.Hs.eg.db 3.13.0	基因 ID 转换	http://www.bioconductor.org/packages/release/data/annotation/html/
ClusterProfiler 4.0.0	GO、KEGG 富集分析及可视化	http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/clusterProfiler.html
topGO 2.44.0	GO 富集分析及可视化	http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/topGO.html
Goplot 1.0.2	GO 富集分析及可视化	http://wencke.github.io/

1.2 苓桂术甘汤的活性成分筛选 采用 TCMSP 平台^[11]检索苓桂术甘汤(茯苓、桂枝、白术、甘草)的化学成分,并以口服生物利用度(OB) > 30%和类药性(DL) > 0.18 作为活性成分筛选标准^[12],对获取的活性成分进行查阅比对、删减重复后,获得唯一有效活性成分数据集。

1.3 苓桂术甘汤潜在作用靶点获取 基于 TCMSP 平台开发的 SysDT 模型和整合自 HIT 数据库的药物-分子靶标信息^[12],获取苓桂术甘汤活性成分的潜在作用靶点。采用 NCBI 数据库的 Gene 子库进行靶点名称规范化,删减重复、非人类来源的靶点,最终形成苓桂术甘汤活性成分作用靶点的 Gene symbol 集。

1.4 IR 疾病相关靶点获取 利用 OMIM、DisGenet、KEGG、TTD、GAD 等疾病靶点数据库及 Drugbank 数据库,以“Insulin resistance”为关键词检索相关靶点。采用 NCBI 数据库的 Gene 子库进行靶点名称规范化处理,删减重复、非人类来源的靶点,形成 IR 疾病相关的 Gene symbol 集。

1.5 中药-活性成分-潜在作用靶点网络构建 基于 R 语言及 VennDiagram 包对“1.3”“1.4”项下获得的 2 个 Gene symbol 集进行比对分析,取其交集靶点即为苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点。根据中药、活性成分、交集靶点之间的对应关系,借助 Cytoscape 3.6.0 软件构建苓桂术甘汤治疗 IR 的中药-活性成分-潜在作用靶点网络。

1.6 苓桂术甘汤治疗 IR 潜在作用靶点的蛋白相互作用(PPI)网络构建 将苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点(交集靶点)导入 String 蛋白质相互作用数据库,设置 Minimum required interaction score > 0.9,隐藏游离节点,进行 PPI 网络分析。下载相互作用靶点的 tsv 文件,进行文件格式转换后导入 Cytoscape 3.6.0 软件,构建苓桂术甘汤治疗 IR 潜在作用靶点的 PPI 网络。

1.7 网络特异性分析 运用 Cytoscape 软件中的 Network analyzer 插件,计算网络中心度、网络异质性、平均相邻节点等网络特征值及节点的连通度、介数中心性等参数,评估节点在网络中的关键程度。节点的连通度(Degree)指网络中与该节点直接相连的节点个数,介数中心性(Betweenness centrality)则指网络中通过该节点的最短路径数目^[13]。节点的连接度和介数中心性是复杂网络节点重要程度评估的常用参考系数,一般而言,具有较高连接度和介数中心性的节点在网络中越重要。

1.8 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 基于 R 软件的 org.Hs.eg.db 包,对苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点(交集靶点)进行 entrezID 转换;然后加载 ClusterPofiler 包,对交集基因进行包括生物学过程(BP)、细胞组分(CC)及分子功能(MF)的基因本体(GO)功能分析,以及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析;设置 $P < 0.01$, minGSSize = 50, maxGSSize = 500,最后加载 topGO、GOplot 等 R 包进行分析结果可视化处理。

2 结果

2.1 苓桂术甘汤活性成分及其作用靶点 共检索、筛选得到苓桂术甘汤的活性成分 120 个,其中茯苓 15 个、白术 7 个、桂枝 7 个、甘草 92 个,桂枝和甘草共有活性成分为 β -谷甾醇。经删除重复靶点和去除非人类来源的靶点,共得到苓桂术甘汤活性成分作用靶点 240 个。

2.2 苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点 分别通过 OMIM、DisGenet、KEGG、TTD、GAD、Drugbank 数据库获取 IR 疾病相关靶点,合并去重后共得靶点 608 个。利用 R 软件的 VennDiagram 包对上述活性成分靶点和 IR 疾病相关靶点进行对比匹配,最终得到交集靶点 73 个,即为苓桂术甘汤治疗 IR 的潜在作用靶点,见图 1。

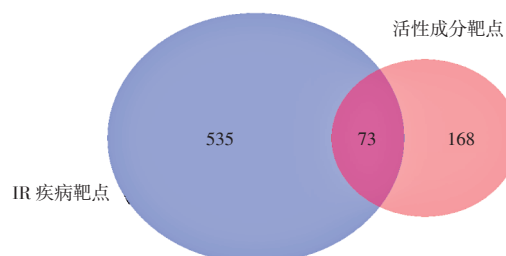


图 1 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗(IR)的潜在作用靶点

Figure 1 Potential therapeutic targets of Ling Gui Zhu Gan decoction in the treatment of insulin resistance

2.3 中药-活性成分-潜在作用靶点网络分析 利用 Cytoscape 3.6.0 软件构建中药-活性成分-潜在作用靶点网络,结果见图 2。该网络共有 175 个节点、1 791 条边,网络中心度为 0.462,网络密度为 0.061、网络异质性为 1.479,平均相邻节点 10.606 个,网络节点的连接稀疏不均,网络向某些节点聚拢。其中连接度及介数中心性排前 10 位的活性成分共有 13 个(见表 2),其中槲皮素同时具有最高的连接度和介数中心性。此外,该网络中满足连接度及介数中心性排前 20 位的靶点有 21 个(见表 3),其中前列

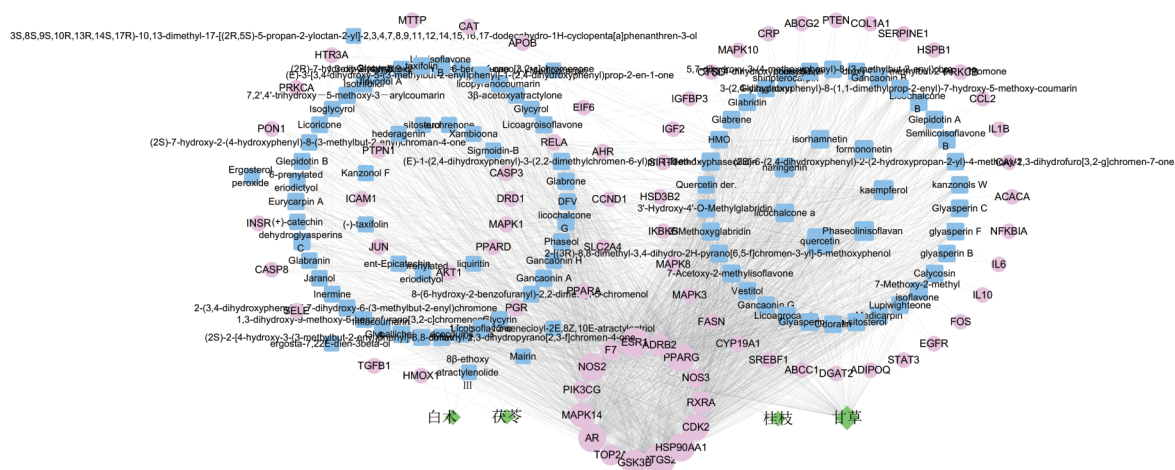


图2 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗的“中药-活性成分-潜在作用靶点”网络

Figure 2 Network of “Herb-active components-potential therapeutic target” for *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

表 2 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗的主要活性成分信息

Table 2 Main ingredients of *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

活性成分	介数中心性	度值	OB/%	DL
槲皮素(Quercetin)	0.296	103	46.43	0.28
柚皮素(Naringenin)	0.101	39	59.29	0.21
山柰酚(Kaempferol)	0.078	45	41.88	0.24
芒柄花素(Formononetin)	0.028	33	69.67	0.21
β -谷甾醇(Beta-sitosterol)	0.028	25	36.91	0.75
甘草酮 a(Licochalcone a)	0.027	31	40.79	0.29
花旗松素(Taxifolin)	0.024	19	57.84	0.27
常春藤皂苷元(Hederagenin)	0.016	7	36.91	0.75
美迪紫檀素(Medicarpin)	0.016	21	49.22	0.34
异鼠李素(Isorhamnetin)	0.012	31	49.6	0.31
7-甲氧基异黄酮(7-Methoxy-2-methyl isoflavone)	0.007	27	42.56	0.20
1-甲氧基莱豆素(1-Methoxyphaseollidin)	0.003	29	69.98	0.64
3-甲氧基光甘草定(3'-Methoxyglabridin)	0.002	27	46.16	0.57

腺素 G/H 合酶 2(PTGS2)具有最高的连接度和介数中心性。结果表明, 苓桂术甘汤的不同活性成分可作用于同一靶点, 多数活性成分具有多靶点作用, 反映该方具有多成分、多靶点的整体作用效应。

2.4 苓桂术甘汤治疗 IR 潜在作用靶点的 PPI 网络分析

导入 String 蛋白相互作用数据库, 根据其互作数据的 tsv 文件, 由 Cytoscape 3.6.0 软件优化生成 PPI 网络, 见图 3。该网络共含 68 个节点、244 条边, 网络中心度为 0.259, 网络密度为 0.107, 网络异质性 0.845, 平均相邻节点 7.176 个。满足连接度及介数中心性排前 20 位的关键靶点共有 14 个, 见表 4。其中, AKT1 同时具有最高的连接度和介数中心性。将“中药-活性成分-潜在作用靶点”网络与 PPI 网络中

表 3 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗的主要作用靶点信息

Table 3 Potential targets of *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

靶点	度值	介数中心性
前列腺素 G/H 合酶 2(PTGS2)	182	0.202
雌激素 α 受体(ESR1)	160	0.063
雄激素受体(AR)	136	0.061
热休克蛋白 90 α (HSP90AA1)	134	0.096
一氧化氮合酶 2(NOS2)	134	0.035
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)	132	0.061
周期蛋白依赖性激酶 2(CDK2)	114	0.019
糖原合成酶激酶 3 β (GSK3B)	114	0.017
丝裂原活化蛋白激酶 14(MAPK14)	96	0.012
维甲酸 X 受体 α (RXRA)	62	0.028
β 2 肾上腺素能受体(ADRB2)	62	0.021
拓扑异构酶(DNA)2 α (TOP2 α)	54	0.011
凝血因子 VII(F7)	40	0.011
磷酸肌醇 3 激酶(PIK3CG)	32	0.017
一氧化氮合酶 3(NOS3)	30	0.008
孕酮受体(PGR)	18	0.033
网状内皮细胞过多症病毒癌基因同源物 A(RELA)	12	0.006
胱天蛋白酶 3(CASP3)	8	0.004
转录因子 Jun(JUN)	8	0.002
丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1)	6	0.003
丝裂原活化蛋白激酶 14(MAPK14)	6	0.002

的关键作用靶点相互映射,推测 RXRA、ESR1、AKT1 等可能是苓桂术甘汤发挥治疗 IR 作用的核心靶点。

2.5 GO 功能富集分析 经 GO 功能注释, 共得相关富集条目 1 082 条, 其中生物学过程(BP) 1 006 条, 分子功能(MF) 48 条, 细胞组分(CC) 28 条。根据 *P* 值排序, 各取 BP、MF、CC 排前 10 位的条目, 见图 4。细胞组涉及细胞膜、囊腔、转录调节复合物、胞

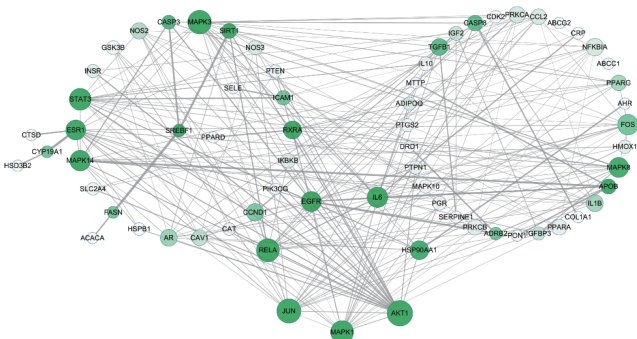


图 3 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗潜在作用靶点的蛋白互作 (PPI) 网络

Figure 3 Protein-protein interaction network for the potential targets of *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

表 4 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗的关键靶点信息

Table 4 Key targets of *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

靶点	度值	介数中心性
丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (AKT1)	24	0.184 232
雌激素 α 受体 (ESR1)	15	0.105 115
表皮生长因子受体蛋白 (EGFR)	15	0.098 276
白细胞介素 6 (IL6)	16	0.088 689
丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14)	16	0.079 408
信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)	18	0.077 083
转录因子 Jun (JUN)	22	0.067 905
丝裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3)	21	0.063 768
网状内皮细胞过多症病毒癌基因同源物 A (RELA)	20	0.062 329
丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)	20	0.058 878
维甲酸 X 受体 α (RXRA)	12	0.051 414
丝裂原活化蛋白激酶 8 (MAPK8)	15	0.046 585
热休克蛋白 90 α (HSP90A1)	13	0.046 272
转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)	10	0.037 838

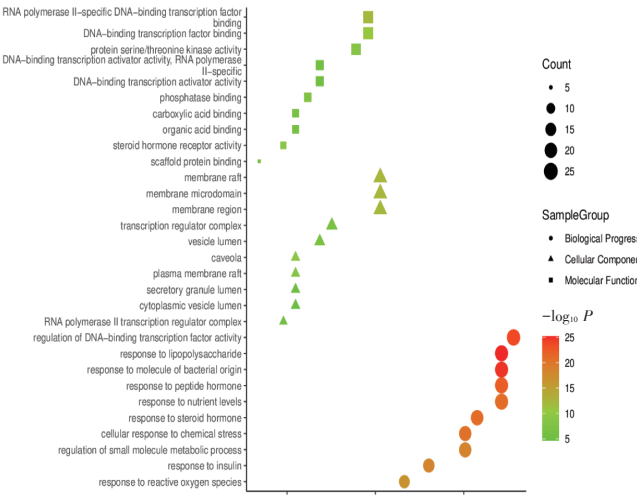


图 4 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗的 GO 功能富集分析

Figure 4 Gene ontology enrichment analysis of *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

质泡腔、核染色质、内质网腔、神经元细胞体、蛋白激酶复合物、细胞-基底连接等；分子功能涉及 DNA 结合转录因子的结合、类固醇激素受体结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、酶活性、磷酸酶结合、有机酸结合、支架蛋白结合、DNA 结合转录激活因子活性等；生物学过程涉及对脂多糖的反应、对细菌来源的分子的反应、DNA 结合转录因子活性的调控、对肽类激素的反应、对类固醇激素的反应、对营养水平的反应、细胞对化学应激的反应、小分子代谢过程的调控、对胰岛素的反应、对活性氧的反应等。

2.6 KEGG 通路富集分析 共获得苓桂术甘汤治疗 IR 潜在作用靶点的 KEGG 富集通路 145 条。根据 P 值排序，取排前 10 位的通路，去除其中 Chagas disease 通路、Hepatitis B 通路、卡波西肉瘤相关的疱疹病毒感染等无关通路，纳入后续富集靶点数目较多的流体剪切应力与动脉粥样硬化通路、Toll 样受体信号通路、PI3K-AKT 信号通路，得到苓桂术甘汤治疗 IR 的关键通路，见表 5。

3 讨论

通过对“中药-活性成分-潜在作用靶点”网络分析表明，槲皮素、柚皮素、山柰酚、芒柄花素、 β -谷甾醇、甘草酮 a、花旗松素、常春藤皂苷元等可能是苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗 (IR) 的主要活性成分。研究^[14-15]表明，槲皮素可通过增强胰岛素信号通路中的酪氨酸磷酸化，下调 SREBP-1c 和脂肪酸合酶的表达水平，改善炎症以提高胰岛素敏感性来治疗 IR。常春藤皂苷元具有促进胰岛素分泌，降低胰高血糖素水平，降血脂、降血糖的作用^[16-17]。 β -谷甾醇能够降脂、抗氧化、抗炎、调节葡萄糖吸收^[18]，通过调控 IRS-1/AKT 介导的胰岛素信号通路缓解 IR^[19]。甘草酮 a^[20]、异鼠李素^[21]、花旗松素^[22]等均具有改善胰岛素敏感性的药理作用。

综合分析“中药-活性成分-潜在作用靶点”网络与 PPI 网络中的关键作用靶点，推测 RXRA、ESR1、AKT1 等可能是苓桂术甘汤发挥治疗 IR 作用的核心靶点。研究表明，RXRA 可同时被苓桂术甘汤的 4 味中药靶向作用，主要表达于肝脏、肾脏、皮肤等组织中，可调节葡萄糖代谢、脂肪酸代谢、胆固醇代谢、脂联素信号通路等多个生物过程^[23]，并可通过与 PPARG 结合形成异二聚体以调节葡萄糖和脂质代谢中的稳态^[24]，发挥调节 IR 的作用^[25]。ESR1 的

表 5 苓桂术甘汤治疗胰岛素抵抗的 KEGG 关键通路信息

Table 5 KEGG pathway enrichment analysis of *Ling Gui Zhu Gan* decoction in the treatment of insulin resistance

KEGG ID	通路	靶点占比值	P 值	基因	靶点数/个
hsa04933	在糖尿病并发症中的晚期糖基化通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)	0.31	6.80E-26	NOS3, JUN, CASP3, PRKCA, TGFB1, RELA, ICAM1, MAPK14, MAPK10, AKT1, MAPK8, SELE, MAPK3, MAPK1, STAT3, CCND1, IL6, IL1B, CCL2, PRKCB, SERPINE1, COL1A1	22
hsa05417	脂代谢与动脉粥样硬化 (Lipid and atherosclerosis)	0.37	1.41E-23	NOS3, RXRA, HSP90AA1, JUN, CASP3, CASP8, PRKCA, RELA, ICAM1, APOB, PPARG, MAPK14, GSK3B, MAPK10, IKBKB, AKT1, MAPK8, SELE, MAPK3, MAPK1, STAT3, FOS, IL6, NFKBIA, IL1B, CCL2	26
hsa04668	肿瘤坏死因子通路 (TNF signaling pathway)	0.27	4.62E-20	PTGS2, JUN, CASP3, CASP8, RELA, ICAM1, MAPK14, MAPK10, IKBKB, AKT1, MAPK8, SELE, MAPK3, MAPK1, FOS, IL6, NFKBIA, IL1B, CCL2	19
hsa04657	白细胞介素 17 通路 (IL-17 signaling pathway)	0.25	4.98E-20	PTGS2, HSP90AA1, JUN, CASP3, CASP8, RELA, MAPK14, GSK3B, MAPK10, IKBKB, MAPK8, MAPK3, MAPK1, FOS, IL6, NFKBIA, IL1B, CCL2	17
hsa04068	FoxO 信号通路 (signaling pathway)	0.27	1.03E-18	TGFB1, CAT, MAPK14, CDK2, MAPK10, SIRT1, IKBKB, AKT1, MAPK8, SLC2A4, INSR, MAPK3, MAPK1, STAT3, CCND1, EGFR, IL10, IL6, PETN	19
hsa04931	胰岛素抵抗 (Insulin resistance)	0.24	2.06E-17	NOS3, RELA, GSK3B, MAPK10, PTPN1, IKBKB, AKT1, MAPK8, SLC2A4, INSR, PPARA, SREBF1, STAT3, IL, NFKBIA, PRKCB, PTEN	17
hsa04932	非酒精性脂肪肝病 (Non-alcoholic fatty liver disease)	0.25	3.10E-16	RXRA, JUN, CASP3, CASP8, TGFB1, RELA, GSK3B, MAPK10, IKBKB, AKT1, MAPK8, INSR, PPARA, SREBF1, ADIPOQ, FOS, IL6, IL1B, NFKBIA	18
hsa05418	流体剪切应力与动脉粥样硬化 (Fluid shear stress and atherosclerosis)	0.23	3.35E-14	NOS3, HSP90AA1, JUN, RELA, ICAM1, MAPK14, MAPK10, IKBKB, AKT1, MAPK8, HMOX1, SELE, FOS, CAV1, IL1B, CCL2	16
hsa04151	PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-AKT signaling pathway)	0.27	9.80E-11	NOS3, RXRA, HSP90AA1, PIK3CG, PRKCA, RELA, GSK3B, CDK2, IKBKB, AKT1, INSR, MAPK3, MAPK1, CCND1, EGFR, IL6, COL1A1, PTEN, IGF2	19
hsa04620	TOLL 样受体信号通路 (Toll-like receptor signaling pathway)	0.20	1.76E-13	JUN, CASP8, RELA, MAPK14, MAPK10, IKBKB, AKT1, MAPK8, MAPK3, MAPK1, FOS, IL6, NFKBIA	14

结合靶标雌激素是类固醇激素，可参与血糖调节。在 ESR1 介导的 SLC2A4 基因阻遏作用下，雌激素能调节 GLUT4 的表达及脂肪、葡萄糖的正常转化^[26]，从而改善脂肪组织的胰岛素敏感性^[27]，在 IR 的发病中起重要作用。AKT1 在 PI3K/AKT/mTOR 信号转导通路中发挥重要作用，其高表达可激活 mTOR，增强 SREBP1 的作用，进而增加细胞内三酰甘油的含量^[28]，从而调节能量稳态，调节脂肪酸的合成。研究^[29]表明，通过调节 PI3K/AKT/mTOR 信号通路可逆转肥胖大鼠的 IR。此外，目前大量研究^[30]证实，低水平的炎症与肥胖诱导的 IR 密切相关，其中 IL-6 被视为胰岛素敏感性的抑制性脂肪因子，在肝脏组织中其通过 STAT3-SOCS-3 途径削弱胰岛素作用，相反，其被认为有益于肌肉组织中胰岛素调节的糖代谢。上述靶点可能作为苓桂术甘汤治疗 IR 的关键作用靶点，但仍需大量实验进一步验证。

KEGG 通路富集结果提示，苓桂术甘汤对 IR 的潜在治疗靶点主要集中在 AGE-RAGE、TNF、PI3K/AKT、Toll 样受体等信号通路。研究表明，长期慢性高血糖会导致包括胰岛素在内的血浆蛋白糖基化，而糖基化的胰岛素可通过胰岛素信号转导^[31]，减弱脂肪细胞的胰岛素敏感性^[32]，引起肝脏脂肪沉积等多种途径诱导 IR 的发生^[33]。TNF 信号通路中，TNF- α 可通过激活炎性细胞因子的信号传导，促使细胞内炎

性反应的发生，从而阻断细胞内的胰岛素信号传导，诱发 IR^[34]。而 PI3K/AKT 信号通路是胰岛素信号传导的重要通路，参与机体三大营养物质代谢^[35]，其受损可引起胰岛素信号通路受阻，导致 IR 的发生。上述研究表明，苓桂术甘汤治疗 IR 的作用机制可能通过多通路的协同作用。

综上所述，苓桂术甘汤中槲皮素、柚皮素、山柰酚、 β -谷甾醇等多种活性物质，可能通过 RXRA、ESR1、AKT1、JUN 等潜在作用靶点，进而对 AGE-RAGE、TNF、PI3K/AKT/mTOR 等多条信号通路发挥调节作用，导致下游的糖脂分子代谢、激素应答等生物学过程发生变化，从而发挥对 IR 的多靶点、多通路、多途径的治疗作用。然而，本研究虽可为揭示苓桂术甘汤治疗 IR 的可能机制提供参考，但限于网络药理学研究方法的局限性，仍需要后续更精准的实验验证。

参考文献:

- [1] DILEK Y, HAVVA S. Insulin resistance, obesity and lipotoxicity[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2017, 960: 277-304.
- [2] JORGE B A, GERARDO G N, NADIA R R, et al. Insulin resistance at the crossroad of alzheimer disease pathology: a review[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2020, 11: e560375.
- [3] LEE C J, SEARS C L, MARUTHUR N. Gut microbiome and its role

- in obesity and insulin resistance[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2020, 1461(1): 37–52.
- [4] 潘善余, 徐安姝, 徐浩娟. 胰岛素抵抗中医证治浅探[J]. *新中医*, 2019, 51(9): 305–306.
- [5] 赵明权. 苓桂术甘汤合茵陈蒿汤加减治疗非酒精性脂肪性肝炎 53 例[J]. *光明中医*, 2020, 35(13): 1966–1968.
- [6] 沈维增, 廖圣榕, 梁炳君, 等. 周末禁食联合加味苓桂术甘汤治疗非酒精性脂肪肝病的临床研究[J]. *西部中医药*, 2020, 33(3): 12–16.
- [7] 黄江荣, 杜亚明, 鄢进, 等. 加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠血清抵抗素、脂联素、胰岛素、胰高血糖素抵抗的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(6): 227–230.
- [8] 倪靖怡, 李旷怡, 张英俭, 等. 加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠脂肪细胞因子和骨骼肌葡萄糖转运蛋白表达的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(9): 1769–1774.
- [9] 周健翔. 加味苓桂术甘汤治疗非酒精性脂肪肝病作用机制研究[D]. 荆州: 长江大学, 2020.
- [10] 毛堂友, 韩海啸, 赵唯含, 等. 苓桂术甘汤对 NASH 大鼠肝组织 DGAT2、PKC ϵ 的作用研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2016, 24(2): 87–91.
- [11] RU J, LI P, WANG J, et al. Tcmisp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 6(1): 6–13.
- [12] 汝锦龙. 中药系统药理学数据库和分析平台的构建和应用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [13] 张喜平, 李永树, 刘刚, 等. 节点重要度贡献的复杂网络节点重要度评估方法[J]. *复杂系统与复杂性科学*, 2014, 11(3): 26–32.
- [14] LI X, WANG R, ZHOU N, et al. Quercetin improves insulin resistance and hepatic lipid accumulation *in vitro* in a nafld cell model[J]. *Biomed Rep*, 2013, 1(1): 71–76.
- [15] WANG Z, ZHAI D, ZHANG D, et al. Quercetin decreases insulin resistance in a polycystic ovary syndrome rat model by improving inflammatory microenvironment[J]. *Reproductive Sciences*, 2017, 24(5): 682–690.
- [16] 刘佳慰, 李万泉, 邹美南. 常春藤皂苷元体外降脂活性研究[J]. *湖北中医杂志*, 2019, 41(12): 3–6.
- [17] 邢颖, 南敏伦, 王雪, 等. 常春藤皂苷元的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(22): 226–234.
- [18] 陈元堃, 曾奥, 罗振辉, 等. β -谷甾醇药理作用研究进展[J]. *广东药科大学学报*, 2021, 37(1): 148–153.
- [19] BABU S, KRISHNAN M, RAJAGOPAL P, et al. Beta-sitosterol attenuates insulin resistance in adipose tissue *via* irs-1/akt mediated insulin signaling in high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 873: e173004.
- [20] LUO Z F C L T. Hypoglycemic effects of licochalcone a on the streptozotocin-induced diabetic mice and its mechanism study[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 8(69): 2444–2456.
- [21] MARWA M, MAHA S, HELMY H A, et al. New insight into the role of isorhamnetin as a regulator of insulin signaling pathway in type 2 diabetes mellitus rat model: molecular and computational approach[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 135: e111176.
- [22] LIYUAN G, PEIPEI Y, QI Z, et al. Taxifolin improves disorders of glucose metabolism and water-salt metabolism in kidney *via* PI3K/AKT signaling pathway in metabolic syndrome rats[J]. *Life Sciences*, 2020, 263: e118713.
- [23] CHEN G H M W X. Effects of rxralpha on proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells through tgf-beta/Smad signaling pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(11): 4723–4729.
- [24] LEMKUL J A, LEWIS S N, BASSAGANYARIERA J, et al. Phosphorylation of ppargamma affects the collective motions of the ppargammarxralpha-DNA complex[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e123984.
- [25] HYUN U M, KYOUNG H H, SEUNG J H, et al. The association of adiponectin and visceral fat with insulin resistance and beta-cell dysfunction[J]. *Journal of Korean Medical Science*, 2019, 34(1): e30618514.
- [26] BARRETO-ANDRADE J N, DE FÁTIMA L A, CAMPELLO R S, et al. Estrogen receptor 1(esr1) enhances slc2a4/glut4 expression by a sp1 cooperative mechanism[J]. *Int J Med Sci*, 2018, 15(12): 1320–1328.
- [27] GALLAGHER C J, LANGEFELD C D, GORDON C J, et al. Association of the estrogen receptor-alpha gene with the metabolic syndrome and its component traits in African-American families: the insulin resistance atherosclerosis family study[J]. *Diabetes*, 2007, 56(8): 2135–2141.
- [28] ZHANG T, HUANG J, YI Y, et al. Akt serine/threonine kinase 1 regulates de novo fatty acid synthesis through the mammalian target of rapamycin/sterol regulatory element binding protein 1 axis in dairy goat mammary epithelial cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(5): 1197–1205.
- [29] WANG Z, LIU Y, LI Q, et al. Preoperative oral carbohydrate improved postoperative insulin resistance in rats through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 9–17.
- [30] KIM J H, BACHMANN R A, CHEN J. Interleukin-6 and insulin resistance[J]. *Vitam Horm*, 2009, 80: 613–633.
- [31] WALKER P B, BANSODE S B, MORE N P, et al. Molecular investigation of glycated insulin-induced insulin resistance *via* insulin signaling and age-rage axis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(2): e166029.
- [32] KAILASH P, MANISH M. Age-rage stress, stressors, and antistressors in health and disease[J]. *Int J Angiol*, 2018, 27(1): 1–12.
- [33] MCNAIR E, QURESHI M, PRASAD K, et al. Atherosclerosis and the hypercholesterolemic age-rage axis[J]. *Int J Angiol*, 2016, 25(2): 110–116.
- [34] ABUELEZZ N Z, SHABANA M E, ABDEL-MAGEED H M, et al. Nanocurcumin alleviates insulin resistance and pancreatic deficits in polycystic ovary syndrome rats: insights on PI3K/AKT/mTOR and TNF- α modulations[J]. *Life Sciences*, 2020, 256: e118003.
- [35] XINGJUN H, GUIHUA L, JIAO G, et al. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2018, 14(11): 1483–1496.

(编辑: 邹元平)