

· 基础研究 ·

基于网络药理学的松花粉调节高脂血症机制探讨[△]余泽宇^{1,2,3}, 梁士兵^{1,2,3}, 高凯³, 石丽花⁴, 张红⁵, 刘建平^{1,2,3*}

1.北京中医药大学 循证医学中心, 北京 100029;

2.北京中医药大学 国际循证中医药研究院, 北京 100029;

3.北京中医药大学 中医学院, 北京 100029;

4.烟台新时代健康产业有限公司, 山东 烟台 264006;

5.新时代健康产业(集团)有限公司, 北京 102206

[摘要] **目的:** 基于网络药理学方法研究松花粉对高脂血症治疗的潜在作用机制。**方法:** 检索中药系统药理学数据库与分析平台、中国知网、PubMed 数据库, 获取中药松花粉化学成分; 利用 PubChem 数据库将成分标准化, 并导入 SwissTargetPrediction 数据库筛选其潜在作用靶点; 通过 GeneCards、OMIM 数据库获得高脂血症相关潜在靶点; 利用 Venny 软件将所得松花粉相关靶点与高脂血症相关靶点取交集, 并使用 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络模型和成分-靶点网络; 通过 Metascape 平台进行交集靶点的基因本体富集分析及京都基因和基因组百科全书富集分析。**结果:** 松花粉治疗高脂血症关键活性成分为山柰酚、香橙素、 β -谷甾醇、花旗松素等, 关键靶点蛋白有类视黄醇 X 受体 α (RXRA)、 β -淀粉样蛋白前体蛋白 (APP)、血管内皮生长因子 (VEGFA)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、磷脂酰肌醇 3-激酶调节亚基 α (PIK3R1)、甲状腺运载蛋白 (TTR)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPARA) 等。松花粉治疗高脂血症的通路主要涉及缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路、PPAR 信号通路、卵巢类固醇及类固醇生物生成、脂肪细胞脂解调节、胆汁分泌、胰高血糖素信号通路、脂肪消化和吸收等通路, 其主要分子和生物功能主要与脂质结合、类固醇代谢、炎症反应、脂质应答、激素调节等相关。**结论:** 研究结果初步说明了松花粉治疗高脂血症可能的作用机制, 体现了松花粉多靶点、多通路、联合调控、调节平衡的作用特点, 为松花粉相关药物开发和临床应用提供参考。

[关键词] 松花粉; 高脂血症; 网络药理学; 靶点预测

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)05-0845-09

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20210811001

Mechanism of Pini Pollen in Regulating Hyperlipidemia Based on Network PharmacologyYU Ze-yu^{1,2,3}, LIANG Shi-bing^{1,2,3}, GAO Kai³, SHI Li-hua⁴, ZHANG Hong⁵, LIU Jian-ping^{1,2,3*}

1. Center for Evidence-based Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Institute for Excellence in Evidence-Based Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

4. Yantai New Era Health Industry Co., Ltd., Yantai 264006, China;

5. New Era Health Industry (Group) Co., Ltd., Beijing 102206, China

[Abstract] **Objective:** To explore the underlying mechanism of Pini Pollen in the treatment of hyperlipidemia based on network pharmacology. **Methods:** The Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, CNKI, and PubMed were searched for the chemical constituents of Pini Pollen. The chemical constituents were standardized by PubChem and then imported into SwissTargetPrediction to screen the potential targets. Potential targets related to hyperlipidemia were obtained through GeneCards and OMIM. The common targets of Pini Pollen and

[△] **[基金项目]** 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目 (ZYXCXTD-C-202006)

* **[通信作者]** 刘建平, 教授, 研究方向: 循证中医药临床疗效评价与方法学; E-mail: liujp@bucm.edu.cn

hyperlipidemia were screened out by Venny, and STRING and Cytoscape were used to construct the protein-protein interaction (PPI) network model and component-target network. Finally, the Gene Ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of the common targets were carried out on the Metascape platform. **Results:** The key active components of Pini Pollen in the treatment of hyperlipidemia were kaempferol, aromadendrin, β -phytosterol, and taxifolin. The key target proteins included retinoid X receptor alpha (RXRA), amyloid-beta precursor protein (APP), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), RAC-alpha serine/threonine-protein kinase (Akt1), phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit 1 (PIK3R1), transthyretin (TTR), and peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARA). The pathways of Pini Pollen in the treatment of hyperlipidemia mainly involved hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) signaling pathway, PPAR signaling pathway, ovarian steroids and steroid biogenesis, adipocyte lipolysis regulation, bile secretion, glucagon signaling pathway, fat digestion, absorption, and other pathways. Its main molecular and biological functions were mainly related to lipid binding, steroid metabolism, inflammatory response, lipid response, hormone regulation, etc.. **Conclusion:** The results preliminarily demonstrated the underlying mechanism of Pini Pollen in the treatment of hyperlipidemia and reflected the characteristics of multi-target, multi-pathway, combined regulation and balance of Pini Pollen, providing a theoretical basis for drug development and clinical application of Pini Pollen.

[Keywords] Pini Pollen; hyperlipidemia; network pharmacology; target prediction

高脂血症 (hyperlipidemia) 是一种脂质代谢紊乱性疾病, 指人体内脂肪代谢或者运转异常, 使血液中血脂含量超出正常水平, 血中胆固醇、三酰甘油过高或高密度脂蛋白过低。高脂血症是导致心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 的重要诱因, 而 CVD 是成年人死亡的主要原因之一。有研究表明, 血脂异常可导致机体发生慢性炎症反应, 而炎症因子的释放可通过损害血管内皮细胞及血管壁, 增加动脉粥样硬化的发病风险^[1]; 也有研究指出, 与总胆固醇水平正常的人相比, 高脂血症患者发生 CVD 的风险大约是其 2 倍^[2]。目前, 临床上使用的调脂药物主要有他汀类、贝特类等, 虽然疗效显著, 但是近年来研究发现他汀类药物可能引发肝损伤、横纹肌溶解、新发肿瘤和糖尿病等不良反应^[3]。因此, 寻找治疗高脂血症的其他有效药物十分必要。

松花粉, 又名松花、松黄, 为淡黄色粉末, 主要来源于松科植物马尾松 *Pinus massoniana* Lamb.、油松 *P. tabulaeformis* Carr. 或同属数种植物的干燥花粉^[4]。其始载于《神农本草经》, 被列为上品, 在后期的《新修本草》《本草纲目》《本草从新》等中医传统著作中均有记载^[5]。有研究显示, 松花粉对高脂血症具有一定防治效果^[6-8]。然而, 松花粉作为一种中药, 存在成分复杂、多作用靶点、多作用通路的特点, 采用传统药理研究方法难以系统、完整地阐明其作用机制。网络药理学是系统生物学的重要组成部分, 其整体性、系统性和注重药物间相互作用的特点与中医药学的基本特点相吻合, 可用来分析药物在网络中与特定节点的相互作用关系,

是一门从系统层面揭示中药对机体调控网络作用的新兴学科, 为研究传统中药的现代药理学作用机制提供了新的思路^[9-10]。

本研究通过对文献及多种公共数据平台进行检索, 并借助网络药理学分析方法, 初步揭示松花粉治疗高脂血症的潜在作用机制, 为松花粉的进一步研究和临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 松花粉靶点确定及筛选

以“松花粉”“化学成分”“靶点”为检索词, 检索并筛选中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <https://tcmsp-e.com>)^[11]、中国知网 (<https://www.cnki.net>)、PubMed 数据库 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) 中松花粉化学成分相关的数据和文献, 对其化学成分进行整理归纳, 检索日期截至 2021 年 6 月 29 日。利用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)^[12] 获得化学成分的标准名称和分子式, 并导入 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch>)^[13], 设定物种为“人类”, 以分子相关靶点可能性 (probability) ≥ 0.08 为界值进行靶点预测和筛选。

1.2 疾病相关靶点筛选

以“hypertriglyceridemia”“hypercholesterolemia”“hyperlipidemia”为检索词, 检索 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org>)^[14] 和 OMIM 数据库 (<https://omim.org>) 中与高脂血症相关的潜在靶点,

检索日期截至2021年6月30日。其中,对GeneCards数据库中的检索结果进行合并后,按照相关性得分(relevance score)由高到低排序并删除重复值,之后再以相关性得分 ≥ 1 为筛选原则对靶点进行筛选。将筛选得到的靶点与OMIM数据库所得靶点进行合并,从而得到所有高脂血症相关靶点。

1.3 网络构建与分析

利用Venny 2.1软件将得到的松花粉相关靶点与疾病相关靶点取交集,并绘制韦恩图。进而提交至STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)^[15]构建智人的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络模型,其中最小相互作用阈值设定为“highest confidence”,其余设置均为默认。得到PPI网络后,通过Cytoscape 3.8.2软件绘制松花粉成分-交集靶点网络,并使用软件中的Centiscape插件计算各节点的中介中心性(betweenness)和度(degree)值;通过MCODE插件进一步分析PPI网络,提取子网络,得到潜在功能模块。

1.4 富集分析

将松花粉-高脂血症交集靶点导入Metascape平台(<https://metascape.org/>)^[16],设置 $P < 0.01$ 、最小通路相关基因数为3、富集因子 > 1.5 ,进行交集靶点的基因本体(GO)富集分析^[17]以探索靶点可能涉及的分子功能、生物过程以及基因产物活跃位置;并进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析^[18],以探寻靶点参与的潜在通路。

2 结果

2.1 松花粉靶点确定及筛选

通过中国知网、PubMed数据库共检索得到松花粉化学成分相关文献29篇,其中5篇^[19-23]提及松花粉化学成分、分子式及结构式,初步获得松花粉化学成分31个;通过TCMSP提取松花粉化学成分8个。对检索到的化学成分进行合并,最终获取化学成分35个,见表1。通过SwissTargetPrediction数据库进行靶点预测及筛选,获取靶点953个,对重复值进行删除,最终共计获取松花粉靶点300个。

2.2 高脂血症相关靶点的获取

通过检索GeneCards数据库共得到高脂血症相关靶点4815个,删除重复值后剩余3061个,以相关性得分 ≥ 1 为原则进行筛选,共得到相关靶点897个;

通过检索OMIM数据库,共得到相关靶点860个。将两者进行整合并删除重复值,最终得到高脂血症相关靶点1550个。

2.3 PPI网络构建

松花粉成分相关靶点和疾病相关靶点取交集后,得到共同靶点68个,韦恩图见图1。将共同靶点提交至STRING数据库构建PPI网络模型,见图2。将化学成分和交集靶点导入Cytoscape软件绘制药物成分-交集靶点蛋白网络,见图3。节点大小与成分-靶点蛋白网络内节点连接数呈正相关。山柰酚、(2*R*,3*R*)-2-(3,5-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one、香橙素、 β -谷甾醇和花旗松素成分节点的连接数 ≥ 20 ,可能是松花粉潜在关键成分。使用Centiscape插件计算中介中心性和度值,计算后排序前10的靶点蛋白见表2;使用MCODE插件对相互作用关系进行分析,得到潜在关键子网络,见图4。子网络内部连线密度较高,外部连线相对较少,因此被认为是潜在具有生物学意义的集合,可能为蛋白质复合体或功能模块,具有更密切的相互作用^[24]。

2.4 富集分析

针对68个关联交集靶点,利用Metascape平台进行GO富集分析和KEGG富集分析。GO富集分析显示,分子功能可能与核受体活性(GO:0004879)、脂质结合(GO:0008289)、氧化酶活性(GO:0016491)、激素结合(GO:0042562)、类固醇激素受体活性(GO:0003707)、磷酸盐结合(GO:0019902)、受体调节(GO:0030545)等相关(图5A);生物过程可能与类固醇代谢(GO:0008202)、炎症反应(GO:0006954)、活性氧化物代谢(GO:0072593)、细胞脂质应答(GO:0071396)、激素调节(GO:0010817)、代谢物前体和能量生成(GO:0006091)等相关(图5B);细胞组成可能与受体复合物(GO:0043235)、囊腔(GO:0031983)、核膜膜间隙(GO:0005641)、细胞膜(GO:0098552)、细胞外基质(GO:0031012)、RNA聚合酶II转录调节复合物(GO:0090575)等相关(图5C)。

KEGG富集分析显示,松花粉治疗高脂血症的作用机制可能涉及缺氧诱导因子HIF-1信号通路(hsa04066)、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)

表1 松花粉化学成分

序号	成分	PubChem CID	分子式
1	3,4-二羟基苯甲酸 (3,4-dihydroxybenzoic acid)	72	C ₇ H ₆ O ₄
2	4-羟基苯甲醛 (4-hydroxybenzaldehyde)	126	C ₇ H ₆ O ₂
3	4-羟基苯甲酸 (4-hydroxybenzoic acid)	135	C ₇ H ₆ O ₃
4	柚皮素[5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one]	932	C ₁₅ H ₁₂ O ₅
5	丁二酸 (succinic acid)	1110	C ₄ H ₆ O ₄
6	尿嘧啶 (uracil)	1174	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂
7	乙酸龙脑酯 (bornyl acetate)	6448	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
8	α-蒎烯 (alpha-pinene)	6654	C ₁₀ H ₁₆
9	棕榈酸甲酯 (methyl palmitate)	8181	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
10	对羟基苯乙醇[2-(4-hydroxyphenyl)ethanol]	10393	C ₈ H ₁₀ O ₂
11	桃金娘烯醇 (myrtenol)	10582	C ₁₀ H ₁₆ O
12	黄酮 (flavone)	10680	C ₁₅ H ₁₀ O ₂
13	肉豆蔻酸 (myristic acid)	11005	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
14	3-羟基黄酮 (3-hydroxyflavone)	11349	C ₁₅ H ₁₀ O ₃
15	3-羟基-4-甲氧基苯甲酸 (3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid)	12575	C ₈ H ₈ O ₄
16	环氧石竹烯 (caryophyllene epoxide)	14350	C ₁₅ H ₂₄ O
17	14-甲基十六烷酸 (14-methylhexadecanoic acid)	22207	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
18	单硬脂酸甘油酯 (glyceryl monostearate)	24699	C ₂₁ H ₄₂ O ₄
19	甘油-1,3-二肉豆蔻酸酯 (glyceryl-1,3-dimyristate)	82201	C ₃₁ H ₆₀ O ₃
20	三十二烷醇 (dotriacontanol)	96117	C ₃₂ H ₆₆ O
21	香橙素 (aromadendrin)	122850	C ₁₅ H ₁₂ O ₆
22	花色苷 (flavylium)	145858	C ₁₅ H ₁₁ O ⁺
23	β-谷甾醇 (beta-sitosterol)	222284	C ₂₉ H ₅₀ O
24	花旗松素 (taxifolin)	439533	C ₁₅ H ₁₂ O ₇
25	杜鹃醇 (rhododendrol)	919205	C ₁₀ H ₁₄ O ₂
26	4-氧代苯甲酸酯 (4-oxoniobenzoate)	3702506	C ₇ H ₆ O ₃
27	山柰酚 (kaempferol)	5280863	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
28	柚皮素查耳酮 (naringenin chalcone)	5280960	C ₁₅ H ₁₂ O ₅
29	紫云英苷 (astragalin)	5282102	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁
30	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 (isorhamnetin-3-O-glucoside)	5318645	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂
31	(2R,3R)-2-(3,5-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one	5320468	C ₁₅ H ₁₂ O ₇
32	泪柏醚 (manoyl oxide)	6432025	C ₂₀ H ₃₄ O
33	龙脑(+)-borneol]	6552009	C ₁₀ H ₁₈ O
34	3-epi-β-谷甾醇 (3-epi-beta-sitosterol)	12303645	C ₂₉ H ₅₀ O
35	1-硬脂酰-sn-甘油 (1-stearoyl-sn-glycerol)	15560610	C ₂₁ H ₄₂ O ₄

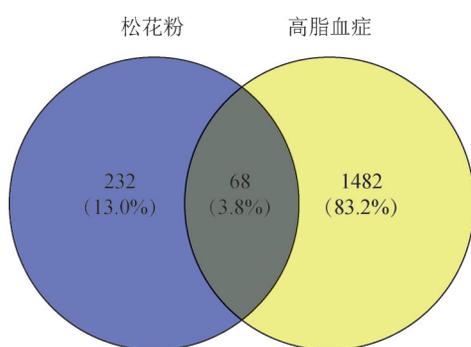


图1 松花粉活性成分靶点与高脂血症靶点韦恩图

信号通路 (hsa03320)、卵巢类固醇生成 (ko04913)、脂肪细胞脂解调节 (hsa04923)、胆汁分泌 (ko04976)、胰高血糖素信号通路 (ko04922)、类固醇生物合成 (hsa00100)、脂肪消化和吸收 (ko04975) 等, 见表3。

将子网络进行KEGG富集分析, 显示子网络1和2与胰岛素抵抗 (hsa04931)、HIF-1 信号通路 (hsa04066)、类固醇合成 (hsa00100) 可能有关, 子网络3未见到相关基因≥2的潜在通路, 见表4。

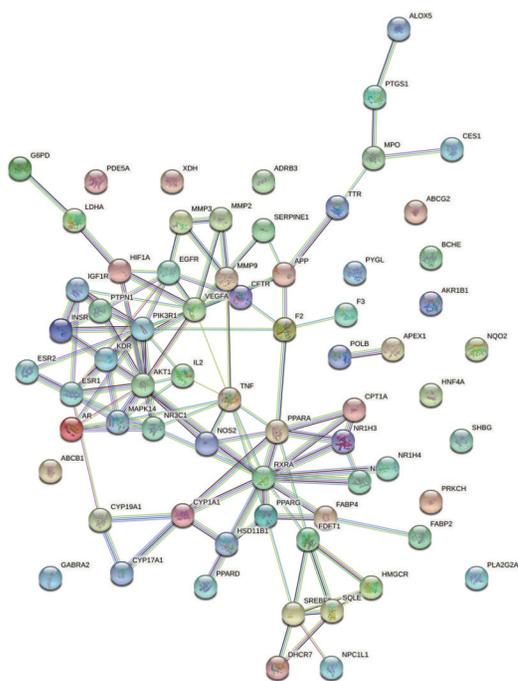
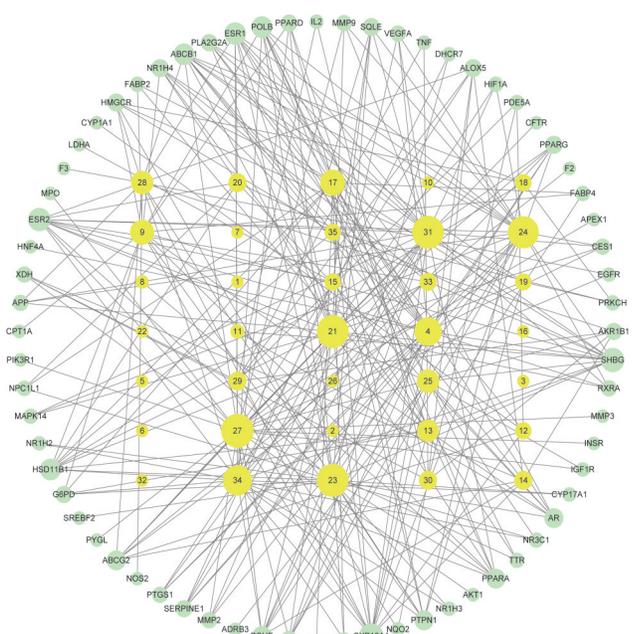


图2 松花粉治疗高脂血症靶点PPI网络



注：绿色为靶点蛋白；黄色为松花粉成分；形状越大表明对应连接关系越多；松花粉成分序号同表1。

图3 松花粉成分与高脂血症交集靶点蛋白网络

3 讨论与总结

松花粉是中药中少有的花粉类中药材。近年来，关于松花粉及破壁松花粉等加工产物的药用和保健价值的研究较多，其含有丰富的营养成分和生物活性物质，具有抗衰老、缓解疲劳、降血糖、美容等

表2 松花粉治疗高脂血症关键靶点

靶点	中介中心性	度
RXRA	826.049 7	15
APP	481.944 4	5
VEGFA	431.936 1	11
AKT1	384.734 0	11
PIK3R1	380.546 6	14
TTR	376.000 0	2
TNF	368.862 1	9
PPARA	335.138 8	8
F2	314.042 1	5
MPO	292.000 0	3

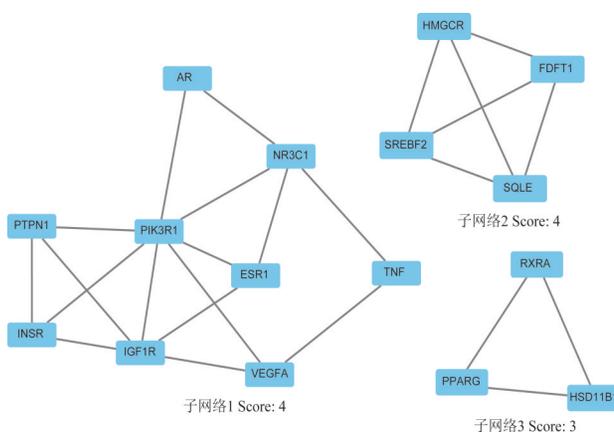
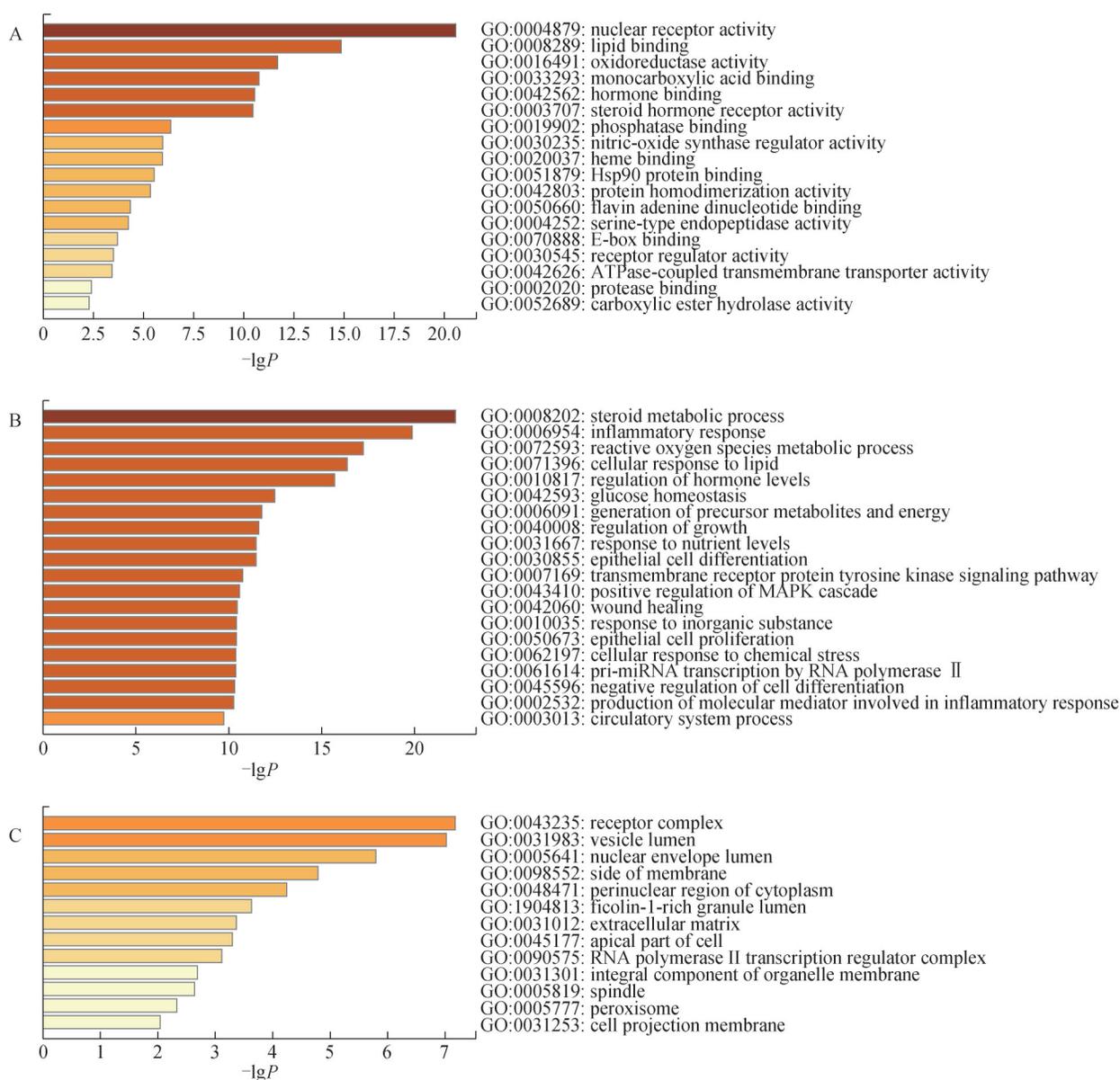


图4 松花粉治疗高脂血症靶点PPI网络中子网络

多种保健和药用功效^[25]。松花粉因其“止血除风”之性，多用以外敷，而内服用药时其调脂作用尤为受到关注^[26]。含有松花粉的扶正化癥方有助于抑制体外细胞和小鼠脂肪性肝纤维化进展^[27-29]。马尾松花粉水提物能够促进高脂饮食小鼠脂质代谢过程，使小鼠体质量相对减轻、血脂水平有所改善^[30]。樊柏林等^[31]发现破壁松花粉能够有效预防大鼠脂肪堆积。多项实验及临床研究均提示松花粉具有较好的调脂作用^[7-8,32]。

网络药理学对生物网络进行整合分析，可以提示药物与作用靶点间的相互关系，为已知中药的临床疗效和靶点开发提供理论依据^[9]。本研究通过对现有文献的总结，整理了松花粉的潜在成分，作为TCMSP中化合物的补充。其中柚皮素被证实可抑制脂肪生成并降低脂肪细胞中胰岛素敏感性^[33]；龙脑可以显著降低高糖高脂大鼠低密度脂蛋白胆固醇、极低密度脂蛋白胆固醇和动脉粥样硬化指数^[34]。

成分-靶点网络体现了松花粉内成分存在复杂的高脂血症治疗交互作用。其潜在关键成分中，山柰



注：A. 分子功能；B. 生物过程；C. 细胞组成。

图5 松花粉治疗高脂血症靶点的GO富集分析

酚是一种黄酮类化合物，具有广泛的药理作用^[35]。山柰酚可以通过刺激巨噬细胞中2种高密度脂蛋白受体的蛋白表达，增加巨噬细胞胆固醇外排^[36]。山柰酚还可以促进巨噬细胞、肝细胞和肠细胞中肝X受体（LXRs）及其靶基因的mRNA水平，诱导肝细胞PPAR活性，抑制蛋白激酶B（Akt）并诱导肝细胞自噬，从而降低血浆和肝脏三酰甘油水平^[37]。香橙素也是一种黄酮类化合物，具有很好的抗炎、抗氧化、抗增殖活性，可以改善葡萄糖摄取和胰岛素抵抗，并抑制心脏纤维化及相关的纤维生成基因，对心功能有改善作用，这些都与高脂血症的治疗和

预后相关^[38]。花旗松素同样具有抗炎、保护心血管等作用，可以降低大鼠血清和肝脏的脂浓度、肝脏总胆固醇水平^[39]，抑制人低密度脂蛋白氧化^[40]。 β -谷甾醇对高胆固醇类高脂血症作用效果良好，可以防止或逆转肝脏和主动脉中脂质和胆固醇浓度的增加^[41-42]。

PPI网络显示，在“highest confidence”为最小相互作用阈值下，共存在68个节点和113条连接，其中中介中心性排序前10的关键节点中与调脂可能相关的有类视黄醇X受体 α （RXRA）、 β -淀粉样蛋白前体蛋白（APP）、Akt1、磷脂酰肌醇3-激酶调节

表3 松花粉治疗高脂血症靶点 KEGG 富集分析潜在的相关通路

序号	通路	富集基因数/个	-lgP
1	hsa04066: 缺氧诱导因子信号通路 (HIF-1 signaling pathway)	11	14.22
2	hsa03320: PPAR 信号通路 (PPAR signaling pathway)	8	11.10
3	ko04913: 卵巢内固醇生成 (ovarian steroidogenesis)	6	8.64
4	hsa04923: 脂肪细胞脂解调节 (regulation of lipolysis in adipocytes)	6	8.24
5	ko04976: 胆汁分泌 (bile secretion)	6	7.70
6	hsa05219: 膀胱癌 (bladder cancer)	4	5.53
7	ko05202: 癌症中的转录失调 (transcriptional misregulation in cancer)	6	5.31
8	ko04922: 胰高血糖素信号通路 (glucagon signaling pathway)	5	5.29
9	hsa00100: 类固醇生物合成 (steroid biosynthesis)	3	4.83
10	hsa04520: 黏附连接 (adherens junction)	4	4.55
11	ko04657: IL-7 信号通路 (IL-7 signaling pathway)	4	4.11
12	ko04659: Th17 细胞分化 (Th17 cell differentiation)	4	3.88
13	ko04975: 脂肪消化和吸收 (fat digestion and absorption)	3	3.87
14	hsa04670: 白细胞跨内皮迁移 (leukocyte transendothelial migration)	4	3.77
15	hsa00590: 花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism)	3	3.34
16	hsa04610: 补体及凝血级联 (complement and coagulation cascades)	3	3.03
17	hsanan01: 药物代谢 (drug metabolism)	3	2.54
18	hsa04080: 神经活性配体-受体相互作用 (neuroactive ligand-receptor interaction)	4	2.34

表4 松花粉治疗高脂血症靶点子网络 KEGG 富集分析潜在的相关通路

子网络	通路	富集基因数/个	-lgP
1	ko05205: 癌症蛋白多糖 (proteoglycans in cancer)	5	8.64
1	hsa04931: 胰岛素抵抗 (insulin resistance)	4	7.52
1	hsa04066: HIF-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)	4	7.43
1	hsa04520: 黏附连接 (adherens junction)	3	5.88
2	hsa00100: 类固醇生物合成 (steroid biosynthesis)	2	5.54

亚基 α (PIK3R1)、甲状腺素运载蛋白 (TTR)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPARA) 等。RXRA 与脂质代谢和脂肪细胞分化的调节相关^[43], 参与胆汁酸和胆汁盐的运输、胆固醇代谢等血脂调节途径; APP 可能参与胰岛素受体结合和胆固醇代谢; Akt1 是许多通路的靶点, 功能涉及细胞生存、新陈代谢等^[44], 和 PIK3R1 一同参与胰岛素对血糖、血脂的调节^[45-47]; TTR 则通过参与甲状腺素调节对脂质代谢产生影响; PRARA 是脂质传感器和脂质代谢调节器, 其激活可以减少肝细胞内脂质积累^[48], 已被证明可治疗血脂异常^[49]。另外, 与凝血和炎症相关的潜在关键靶点, 如血管内皮生长因子 (VEGFA) 和肿瘤坏死因子 (TNF) 等, 对高脂血症造成的心血管病变有调节作用, 可能是松花粉治疗高脂血症的非降脂相关的作用靶点。

GO 富集展示了松花粉干预高脂血症的蛋白在细胞内的存在位点和潜在分子、生物学过程。KEGG

信号通路富集分析表示, 松花粉调脂的作用机制可能涉及 HIF-1 信号通路、PPAR 信号通路、卵巢类固醇生成、脂肪细胞脂解调节、胆汁分泌、胰高血糖素信号通路、类固醇生物合成、脂肪消化和吸收等。其中 HIF-1 是响应缺氧和激活基因的关键转录调节器, 有研究显示, HIF-1 信号通路参与氧化低密度脂蛋白的抑制和高脂血症的调控^[50], 并且可通过抑制长链酰基辅酶 A 脱氢酶与中链酰基辅酶 A 脱氢酶抑制脂肪酸的分解代谢^[51]。PPAR 在棕色脂肪的形成和体温控制中起着核心的作用, 可通过调节合成代谢和氧化过程之间的平衡来调节脂肪组织的动态平衡, 存在增加脂肪酸氧化、脂质分解代谢的能力^[52]。胰高血糖素则可以降低三酰甘油的吸收和分泌、增加胆汁中胆固醇排泄, 该通路可以通过调节肝脂代谢, 从而调治血脂异常^[53]。

研究结果初步说明了松花粉治疗高脂血症可能的作用机制, 体现了松花粉多靶点、多通路、联合

调控、调节平衡的特点。但因为在分析中混入较多与高脂血症关联性不明显的功能机制和通路,且针对基因相关作用特点缺乏明确的实验确认,需要进一步实验研究以明确松花粉治疗高脂血症的作用机制、松花粉对比其他降脂药物作用的异同,从而为高脂血症的治疗提供更多思路 and 选择。

参考文献

- [1] PI X C, XIE L, PATTERSON C. Emerging roles of vascular endothelium in metabolic homeostasis[J]. *Circ Res*, 2018, 123(4):477-494.
- [2] KARR S. Epidemiology and management of hyperlipidemia[J]. *Am J Manag Care*, 2017, 23(Suppl 9):S139-S148.
- [3] 李艳,孙珂煊,白芳,等. 高脂血症相关疾病发病机制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(4):84-87.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:215.
- [5] 张瑞婷,夏伟,张述仁,等. 松花粉活性成分研究进展[J]. *现代农业科技*, 2018(16):235-236.
- [6] 刘玉玲,王建伟,佟继铭,等. 松花粉提取物对大鼠实验性高脂血症的预防功能研究[J]. *实验动物科学*, 2013, 30(5):41-43.
- [7] 樊柏林,王护民,宋毅,等. 破壁松花粉对高脂血症人群降血脂作用的观察[J]. *职业与健康*, 2006, 22(22):2012-2014.
- [8] 黄远媛. 松花粉治疗高脂血症32例[J]. *安徽中医临床杂志*, 1998, 10(2):82.
- [9] 解静,高杉,李琳,等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. *中草药*, 2019, 50(10):2257-2265.
- [10] 陈海彬,周红光,李文婷,等. 网络药理学:中药复方作用机制研究新视角[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(7):2873-2876.
- [11] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSPP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6:13.
- [12] KIM S, CHEN J, CHENG T J, et al. PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1):D1388-D1395.
- [13] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1):W357-W364.
- [14] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The GeneCards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54:1.30.1-1.30.33.
- [15] 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 Res*, 2019, 47(D1):D607-D613.
- [16] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1523.
- [17] ASHBURNER M, BALL C A, BLAKE J A, et al. Gene ontology: Tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium [J]. *Nat Genet*, 2000, 25(1):25-29.
- [18] KANEHISA M, SATO Y, KAWASHIMA M, et al. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1):D457-D462.
- [19] 刘建祥,刘伟伟,宋辉. 花粉挥发油成分GC/MS分析[J]. *农业机械*, 2012(27):66-67.
- [20] 唐雨,张瑜,袁久志,马跃平. 松花粉化学成分分离与鉴定[J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(6):429-432.
- [21] 董素哲. 松花粉的质量评价方法的研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2012.
- [22] 李丽. 马尾松花粉的化学成分及其对胃粘膜的保护作用[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2010.
- [23] 阮伟万,陈前进. 破壁前后的松花粉质量鉴别研究[J]. *中国药物经济学*, 2016, 11(3):14-16.
- [24] VELLA D, MARINI S, VITALI F, et al. MTGO: PPI network analysis via topological and functional module identification [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):5499.
- [25] 王敏. 松花粉的成分及药理作用研究进展[J]. *安徽医药*, 2008, 12(4):357-359.
- [26] LIANG S B, LIANG N, BU F L, et al. The potential effects and use of Chinese herbal medicine pine pollen (*Pinus pollen*): A bibliometric analysis of pharmacological and clinical studies [J]. *World J Tradit Chin Med*, 2020, 6(2):163-170.
- [27] 邢心睿. 扶正化痰方抗肝纤维化的网络多靶标作用机制研究[D]. 上海:中国人民解放军海军军医大学, 2019.
- [28] 余燕青. 扶正化痰方对肝星形细胞和肝窦内皮细胞影响的实验研究[D]. 长沙:中南大学, 2012.
- [29] 贾彦红. 扶正化痰复方对非酒精性脂肪性肝纤维化防治作用的研究[D]. 石家庄:河北医科大学, 2012.
- [30] 张含. 松花粉水提物对小鼠食欲及脂质代谢的影响[D]. 济南:山东师范大学, 2013.
- [31] 樊柏林,刘烈刚. 破壁松花粉对大鼠降血脂效应及作用机制研究[J]. *职业与健康*, 2005, 21(6):809-811.
- [32] 赵霖, WINDISCH W, ROTH F X, 等. 松花粉对家猪粪便特性及肠道菌群的影响[J]. *营养学报*, 2006, 28(3):

- 240-243.
- [33] RICHARD A J, AMINI-VAUGHAN Z, RIBNICKY D M, et al. Naringenin inhibits adipogenesis and reduces insulin sensitivity and adiponectin expression in adipocytes [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2013, 2013: 549750.
- [34] MADHURI K, NAIK P R. Ameliorative effect of borneol, a natural bicyclic monoterpene against hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 336-347.
- [35] CALDERÓN-MONTAÑO J M, BURGOS-MORÓN E, PÉREZ-GUERRERO C, et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2011, 11(4): 298-344.
- [36] DUH P D, HSIAO W C, WANG B S. An aqueous extract of Welsh onion green leaves increase ABCA1 and SR-BI expression in macrophage RAW 264.7 cells [J]. *Food Chem*, 2008, 107(3): 1029-1038.
- [37] HOANG M H, JIA Y Y, LEE J H, et al. Kaempferol reduces hepatic triglyceride accumulation by inhibiting Akt [J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(11): e13034.
- [38] CUI S M, CUI Y Q, LI Y, et al. Inhibition of cardiac hypertrophy by aromadendrin through down-regulating NFAT and MAPKs pathways [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(4): 805-811.
- [39] SUNIL C, XU B J. An insight into the health-promoting effects of taxifolin (dihydroquercetin) [J]. *Phytochemistry*, 2019, 166: 112066.
- [40] KOSTYUK V A, KRAEMER T, SIES H, et al. Myeloperoxidase/nitrite-mediated lipid peroxidation of low-density lipoprotein as modulated by flavonoids [J]. *FEBS Lett*, 2003, 537: 146-150.
- [41] DILLER E R, ROSE C L, HARVEY O A. Effect of beta-sitosterol on regression of hyperlipemia and increased plasma coagulability in the chicken [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1960, 104: 173-176.
- [42] GUMEDE N M, LEMBEDE B W, BROOKSBANK R L, et al. B-sitosterol shows potential to protect against the development of high-fructose diet-induced metabolic dysfunction in female rats [J]. *J Med Food*, 2020, 23(4): 367-374.
- [43] GORLA-BAJSZCZAK A, JUGE-AUBRY C, PERNIN A, et al. Conserved amino acids in the ligand-binding and tau (i) domains of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha are necessary for heterodimerization with RXR [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1999, 147(1/2): 37-47.
- [44] RÖNNSTRAND L. Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61(19/20): 2535-2548.
- [45] KANE S S, SANO H, LIU S C H, et al. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(25): 22115-22118.
- [46] MOLINARO A, BECATTINI B, MAZZOLI A, et al. Insulin-driven PI3K-AKT signaling in the hepatocyte is mediated by redundant PI3K α and PI3K β activities and is promoted by RAS [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(6): 1400-1409.
- [47] KWOK A, ZVETKOVA I, VIRTUE S, et al. Truncation of PIK3R1 causes severe insulin resistance uncoupled from obesity and dyslipidaemia by increased energy expenditure [J]. *Mol Metab*, 2020, 40: 101020.
- [48] JIA Y Y, WU C Y, KIM J, et al. Astaxanthin reduces hepatic lipid accumulations in high-fat-fed C57BL/6J mice via activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and inhibition of PPAR gamma and Akt [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 28: 9-18.
- [49] BERGER J, MOLLER D E. The mechanisms of action of PPARs [J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 409-435.
- [50] HUTTER R, SPEIDL W S, VALDIVIEZO C, et al. Macrophages transmit potent proangiogenic effects of oxLDL *in vitro* and *in vivo* involving HIF-1 α activation: A novel aspect of angiogenesis in atherosclerosis [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6(4): 558-569.
- [51] ZHANG H F. HIF-1 suppresses lipid catabolism to promote cancer progression [J]. *Mol Cell Oncol*, 2015, 2(4): e980184.
- [52] 叶尔柏, 萧晓玲, 何子煜, 等. PPARs 信号通路参与肠道菌群和棕色脂肪组织的代谢调控肥胖 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(32): 5222-5226.
- [53] PATEL V, JOHARAPURKAR A, KSHIRSAGAR S, et al. Central and peripheral glucagon reduces hyperlipidemia in rats and hamsters [J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2017, 67(6): 318-326.

(收稿日期: 2021-08-11 编辑: 田苗)