山西大学学报(自然科学版)49(5):803—814,2026
Journal of Shanxi University(Nat. Sci. Ed.)

DOI:10.13451/j.sxu.ns.2026026

基于网络药理学验证猴头菌改善酒精性肝损伤

张文芳[1],任钰佳[1],杨浩然[1],吕晶鑫[1],李文静[1],马乾[1],李震宇[2*],秦楠[1*]
(1.山西中医药大学 中药与食品工程学院,山西 晋中 030619;
2.山西大学 中医药现代研究中心,山西 太原 030006)

摘 要:通过网络药理学及体内实验探讨猴头菌提取物改善酒精性肝损伤的作用机制。采用网络药理学技术获取猴头菌提取物改善酒精性肝损伤的核心靶点和信号通路。将48只斯普雷格-道利(Sprague-Dawley,SD)大鼠随机分为正常组、模型组、阳性药对照组及猴头菌提取物低、中、高剂量组,采用50%体积分数的酒精建立肝损伤模型。猴头菌提取物低、中、高剂量组每天分别灌胃1、2、4 mg·kg^{-1},阳性对照组每天给多烯磷脂酰胆碱50 mg·kg^{-1}。干预3周后,采用苏木精-伊红(Hematoxylin and Eosin,HE)染色观察肝组织病理变化,酶联染色吸附试验(Enzyme-linked Immunosorbent Assay,ELISA)检测丙二醛(Malondialdehyde,MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase,GSH-PX)、超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase,SOD)、过氧化氢酶(Catalase,CAT)抗氧化因子水平,Western blot检测p38丝裂原活化蛋白激酶/核因子κB(p38 Mitogen-activated Protein Kinase/Nuclear Factor kappa-B,p38MAPK/NF-κB)信号通路相关蛋白表达水平。网络药理学筛选获得猴头菌提取物主要以猴头菌素、猴头菌酮、大黄酚等为关键成分,作用于肿瘤蛋白p53(Tumor Protein p53,TP53)、蛋白激酶Bα(Protein Kinase B alpha,AKT1)、信号转导与转录激活因子3(Signal Transducer and Activator of Transcription 3,STAT3)、表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor,EGFR)和丝裂原活化蛋白激酶14(Mitogen-activated Protein Kinase 14,MAPK14)等靶标蛋白,调控MAPK/NF-κB、TNF等信号通路发挥抗氧化、抗炎作用。体内实验结果表明猴头菌提取物能显著降低肝组织中MDA因子水平,升高GSH-PX、SOD、CAT水平,改善大鼠肝脏病理损伤,降低酒精性肝损伤大鼠肝脏组织中p-p38MAPK和p-NF-κB p65、TNF蛋白相对表达量(P<0.05)。猴头菌提取物对酒精性肝损伤大鼠的改善作用主要体现在改善肝脏病理改变、降低肝脏组织中的氧化炎症因子水平等方面,其作用机制可能与调控p38MAPK/NF-κB信号通路有关。

关键词:猴头菌;酒精性肝损伤;网络药理学;p38-MAPK/NF-κB
中图分类号:R96 **文献标志码:**A **文章编号:**0253-2395(2026)05-0803-12

Validation of *Hericium erinaceum* in Alleviating Alcoholic Liver Injury Based on Network Pharmacology

Zhang Wenfang[1], Ren Yujia[1], Yang Haoran[1], Lü Jingxin[1], Li Wenjing[1], Ma Qian[1], Li Zhenyu[2*], Qin Nan[1*]
(1. *College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong* 030619*, China;*
2. *Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine , Shanxi University, Taiyuan* 030006*, China*)

Abstract: The purpose of this study was to explore the potential mechanism of *Hericium erinaceum* extract in alleviating alcoholic

收稿日期:2025-11-25;**修回日期:**2026-04-21
基金项目:山西省自然科学基金(202303021222202);山西省高等学校科技创新项目(2023L194);山西中医药大学优秀博士毕业生来晋工作奖励科研启动基金项目(2023BKS23);山西中医药大学博士科研启动资金(2023BK10)
作者简介:张文芳(1993—),女,山西太原人,博士,讲师,研究方向为药食同源功能产品,E-mail:m1893541279@163.com
* **通信作者:**李震宇(Li Zhenyu),E-mail:lizhenyu@sxu.edu.cn;秦楠(Qin Nan),E-mail:bszy6688@163.com
引文格式:张文芳,任钰佳,杨浩然,等.基于网络药理学验证猴头菌改善酒精性肝损伤[J].山西大学学报(自然科学版),2026,49(5):803-814. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2026026.

liver injury through the combination of network pharmacology and experimental validation. Network pharmacology technology identified the core targets and signaling pathways of *Hericium erinaceum* extract in the treatment of alcoholic liver injury. SD rats were randomly divided into 6 groups: control group (Con), model group (Mod), positive drug group (PC), low dose (L) group, middle dose (M) group, high dose (H) group. A rat model of chronic alcoholic liver injury was established by intragastric administration of 50% ethanol solution every other day for 3 weeks. The positive control group was treated with Polyene Phosphatidylcholine 50 mg·kg^{-1} per day, the low-, medium-, and high-dose groups were given intragastric administration of 1, 2, and 4 mg·kg^{-1} per day, respectively. After 3 weeks of intervention, hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of liver tissue, ELISA was employed to measure the levels of oxidative and inflammatory factors, and western blot was used to detect the expression of related proteins. Network pharmacological analysis obtained that *Hericium erinaceum* extract mainly takes Erinacine (Hericenone), Hericene, and chrysophanic acid as the key components, which act on the target proteins such as TP53, AKT1, STAT3, EGFR, MAPK14, and regulate the signaling pathways of MAPK/NF-κB and TNF. The *in vivo* experimental showed that *Hericium erinaceum* extract could significantly reduced the level of oxidative factor MDA in liver tissue, increased the levels of GSH-PX, SOD, and CAT, improved pathological liver damage in rats, and decreased the relative expression levels of p-p38MAPK, p-NF-κB p65, and TNF proteins in liver tissue of rats with alcoholic liver injury (P<0.05). It is suggested that *Hericium erinaceum* extract can ameliorate alcohol-induced liver injury, and the mechanism may be related to the regulation of the p38MAPK/NF-κB signaling pathway.

Keywords: *Hericium erinaceum*; alcoholic liver injury; network pharmacology; p38-MAPK/NF-κB

0 引言

酒精性肝损伤是常见的肝脏疾病[1-2],长期饮酒引起的氧化应激持续加重后会导致脂肪肝、肝纤维化、肝硬化等肝脏有关疾病[3-8]。目前人们对酒精性肝损害的有关机制仍未完全了解[9]。但氧化应激在酒精性肝损害的进展过程中居于核心位置已无人否认。研究显示p38 MAPK/NF-κB信号通路是参与氧化与炎症反应的关键细胞内信号通路,在促进能量消耗、葡萄糖稳态和脂质代谢中发挥着重要作用[10]。当机体发生氧化损伤后,p38 MAPK/NF-κB信号通路被激活,诱导TNF-α、IL-1β等下游靶基因表达升高,降低机体抗氧化能力,从而诱导相应的生物学改变[11-12],因此预测p38-MAPK/NF-κB通路与酒精性肝损伤有所关联。鉴于此,寻求安全、有效的天然抗氧化、抗炎制剂,已成为应对这一严重并发症的重要策略。在临床用药中,通过经典的方剂及组方提高免疫调节、抗脂质过氧化、抗自由基损伤、保护肝细胞膜等途径来治疗酒精性肝损伤,相关国内学者在酒精性肝损伤的中药干预方面效果显著,如葛根、枳椇子、金银花等,但对猴头菌提取物的研究多集中在神经保护等作用,对酒精性肝损伤的作用机制尚未深入探索[13]。

猴头菌(*Hericium erinaceum*)是齿菌科(*Hydnaceae*)猴头属的一种高等真菌。在中国拥有悠久的药用和食用历史,现已证实,猴头菌具有抗溃疡、抗炎、增强免疫力、抗肿瘤、降血糖、保护胃肠道健康[13]等功效,已成为药物和功能性食品开发的重要资源。有研究显示猴头菌能够减轻乙醇对肝细胞的损害作用[14],但其具体的作用靶点和机制仍未明确。

网络药理学采用系统生物学和生物信息学的研究思路,从整体角度出发,基于“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络,通过网络分析,能系统地观察药物对疾病网络的干预与影响。目前该方法已被用于预测猴头菌提取物治疗神经退行性疾病[15]、胃溃疡[16]等疾病的潜在靶点与通路,也有研究采用网络药理学筛选姜黄素、葛根、水飞蓟素等治疗酒精性肝损伤、非酒精性脂肪性肝病及肝纤维化的关键靶点及作用通路[17-19]。但目前尚未见利用网络药理学系统预测猴头菌提取物改善酒精性肝损伤相关靶点及信号通路的研究报道。

基于此,本研究首先验证猴头菌提取物是否能够减轻乙醇对肝细胞的氧化应激损伤,随后通过网络药理学以及蛋白免疫印迹法探究猴头菌提取物改善酒精性肝损伤的作用机制,特别是聚焦了p38 MAPK/NF-κB通路上的作用,完善了酒精性肝损伤干预中天然药物分子机制的研究,为猴头菌的高值化利用和酒精性肝损伤的膳食

干预策略提供科学支撑,为开发基于药食同源物质的酒精性肝损伤辅助疗法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

48只体重约150 g雄性健康SD大鼠(北京华阜康生物科技股份有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2019-0008,动物伦理编号:AWE202307340)。饲养于山西中医药大学SPF动物实验室,大鼠饲养环境为室温20 ℃~25 ℃,自由饮水进食。

1.2 试剂与材料

猴头菌(兴化顶萃食品有限公司);实验动物饲料(北京华阜康生物科技股份有限公司);实验用抗体、RIPA裂解液、BCA蛋白质定量试剂盒、一步法PAGE彩色凝胶快速配制试剂盒(10 g/100 mL)、PVDF膜、普通ELC化学发光试剂盒(纳克级)、预染蛋白Marker VII(8 kDa~195 kDa)、10×TBST缓冲液、SWE快速高分辨电泳缓冲液(干粉)、免冰浴快速转膜缓冲液(干粉)、无蛋白快速封闭液、磷酸酶抑制剂均购于赛维尔生物科技有限公司。无水乙醇、甲醇(分析纯)。

1.3 仪器与设备

掌上离心机(武汉赛维尔生物科技有限公司);涡旋机(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);干式恒温器(杭州米欧仪器有限公司);DYY-6C型电泳仪电源(北京六一生物科技有限公司);智能显影仪(广州博鹭腾生物科技有限公司);旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司);迷你垂直电泳槽、迷你转印槽均购于韦克斯。

1.4 动物实验方法

1.4.1 猴头菌乙酸乙酯提取物制备

将猴头菌子实体干燥粉末用适量水混悬,使用等体积的乙酸乙酯进行液-液萃取,重复操作3次。合并所有乙酸乙酯萃取液,经减压过滤后,于旋转蒸发仪中(水浴温度40 ℃)减压浓缩,回收溶剂,得到深棕色浸膏状粗提物,记为HE-EA。计算提取率,置于-20 ℃冰箱避光保存,供后续实验使用。

1.4.2 造模、分组及给药

实验动物经一周适应性饲养后,随机分为6组:空白对照组(Con)、模型组(Mod)、阳性对照组(PC)、猴头菌提取物低剂量(L)组、中剂量(M)组、高剂量(H)组。采用隔日体积分数50%酒精灌胃法建立酒精性肝损伤模型,阳性对照组给予多烯磷脂酰胆碱(50 mg/kg),各实验组分别灌胃低、中、高不同剂量猴头菌提取物(1、2、4 mg/kg),实验期间,模型组和空白组每日灌胃0.5%羧甲基纤维素钠消除应激,灌胃体积均为10 mL·kg^{-1}·d^{-1},连续干预三周后取材。

1.4.3 ELISA法检测大鼠肝脏组织中氧化、炎症因子水平

从-80 ℃冰箱中取出分装好的肝脏组织,剪碎,移入2 mL离心管中,加入9倍体积的生理盐水,用组织匀浆器充分磨碎,3 000 r/min离心10 min,取上清液,按试剂盒要求测定MDA、CAT、SOD、GSH-PX水平。

1.4.4 HE观察肝脏组织病理变化

取肝脏,用0.9 g/100 mL生理盐水冲洗称重后置于体积分数10%的组织固定液中。常温下按规定方法脱水、透明、包埋和切片处理,采用苏木精-伊红(H&E)染色法染色后封片,并在400倍的光学显微镜下观察肝脏的病理形态并拍照。

1.4.5 WB检测肝脏中p38、p-p38、p65、p-p65、TNF蛋白的表达

取适量大鼠肝脏组织匀浆,3 000 r/min离心20 min后收集上清备用。按照相关试剂盒说明书进行大鼠肝脏组织中p38、p-p38、p65、p-p65、TNF-α的测定。采用Image J软件分析条带灰度值,进行蛋白表达定量分析。

1.5 网络药理学

1.5.1 猴头菌成分及靶点筛选

采用系统药理学方法对猴头菌提取物活性成分进行筛选与评价。首先通过本草组鉴(High-throughput Experiment- and Reference-guided Database of traditional Chinese Medicine,HERB)数据库、TCMSP数据库、文献查阅获取猴头菌化学成分信息,并筛选出口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18的活性成分。利用Swiss Target Prediction平台基于SMILES号预测潜在靶点,设置概率阈值>0,通过UniProt数据库统一基因命名,获得成分-

靶点对应关系。

1.5.2 ALI疾病靶点收集

通过Gene Cards数据库以“Alcoholic liver injury”“Alcoholic hepatic disease”为关键词检索,计算得分中位数后筛选≥中位数的高评分靶点,得到酒精性肝损伤疾病靶点。

1.5.3 药物-疾病共同靶点筛选

将猴头菌活性成分作用的靶点与酒精性肝损伤的疾病靶点通过Veeny 2.1.0绘制韦恩图,交集部分即为猴头菌-酒精性肝损伤共同靶点。

1.5.4 “中药-成分-靶点-疾病”网络构建及分析

利用Cytoscape 3.10.3构建并可视化“中药-活性成分-作用靶点-疾病”网络,并根据degree值筛选出核心成分。

1.5.5 PPI网络构建及核心靶点分析

将药物-疾病交集靶点导入STRING数据库,限定物种为人(Homo sapiens)并设置置信度阈值≥0.9进行网络预测,隐藏孤立节点,导出TSV格式的蛋白互作数据。随后运用Cytoscape 3.10.3软件进行网络可视化,依据Degree值筛选网络核心靶点作为后续通路富集分析的研究对象。

1.5.6 GO与KEGG富集分析

借助DAVID数据库,以$P<0.05$为显著性标准,分别进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析,分析通过微生信在线平台生成包含分子功能、生物过程及细胞定位的GO富集气泡图和KEGG通路富集气泡图。

1.6 统计学分析

采用GraphPad Prism 9软件进行统计学分析。本研究所有数据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析对结果进行统计学意义分析,$P<0.05$时认为差异显著,具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 网络药理学预测猴头菌提取物改善酒精性肝损伤的作用机制

2.1.1 猴头菌活性成分筛选

通过HERB数据库、TCMSP数据库、文献检索,初步获得猴头菌提取物的潜在活性成分93个。部分成分虽未完全满足上述标准,但因在药材中含量较高或已有研究证实其显著药理活性,亦被纳入后续分析。最终筛选出猴头菌提取物的代表性活性成分47个(见表1),包括Erinacine A、Erinacine H、Hericene C等。

表1 猴头菌提取物活性成分基本信息

Table 1 Basic information of active ingredients of *Hericium erinaceum* extract

编号	成分名称	OB (≥30%)	DL (≥0.18)
HTG1-7	Erinacine A-G	—	—
HTG8-10	Erinacine I-K	—	—
HTG11-13	Erinacine P-R	—	—
HTG14	Erinacol	—	—
HTG15	11-O-Acetylcyathatriol	—	—
HTG16	11-O-Acetylcyathin A3	—	—
HTG17	Hericinoid A	—	—
HTG18	Laxitextine B	—	—
HTG19	Erinacol	—	—
HTG20	Hericerin	—	—
HTG21	Hericene B	—	—
HTG22	Hericene C	—	—
HTG23-27	Hericene E-H	—	—
HTG27-30	Erinacerin A-D	—	—
HTG31-33	Erinapyrone A-C	—	—
HTG34	Emodin	24.40	0.24
HTG35	Chrysophanic acid	18.84	0.21
HTG36	Rhein	47.07	0.28
HTG37	Ergosterol	14.29	0.72
HTG38	beta-Sitosterol	36.91	0.75
HTG39	Cholestan-22(26)-epoxy-3,16-dione	—	—
HTG40	Pregn-5-en-20-one	—	—
HTG41	Spironolactone	—	—
HTG42	Bisphenol A	—	—
HTG43	Palmitic acid	19.30	0.10
HTG44	(E)-2-methyl-6-oxohept-2-enoic acid	—	—
HTG45	Pentenoic acid	61.28	0.01
HTG46	Adonitol	17.61	0.02
HTG47	D-threitol	46.41	0.01

注:—表示未查到该活性成分的数值。

2.1.2 猴头菌活性成分作用靶点和ALI靶点的筛选

通过蛋白质数据库(UniProt)对上述活性成分的靶点进行预测,得到猴头菌活性成分的潜在作用靶点711个。从Gene Cards数据库检索酒精性肝损伤(ALI)相关疾病靶点,经去重后共得到ALI

靶点748个。进一步使用Venny 2.1.0工具对药物靶点与疾病靶点取交集,获得猴头菌提取物与ALI的共同靶点124个(占药物靶点的9.3%,占疾病靶点的8.8%),这些靶点可能为猴头菌提取物改善ALI的核心作用靶点。

2.1.3 猴头菌-成分-靶点-疾病网络构建

使用Cytoscape 3.10.3创建“药物-有效成分-靶点”网络图,该网络由164个节点,686条边(见图1)组成。分析显示,度值排名较前的成分包括猴头菌素、猴头菌酮、大黄酚、甾醇等,提示其为关键活性物质,其中黄酮类和萜类成分占比突出,与已有研究中由氧化应激、炎症导致的活性保护成分特征一致。

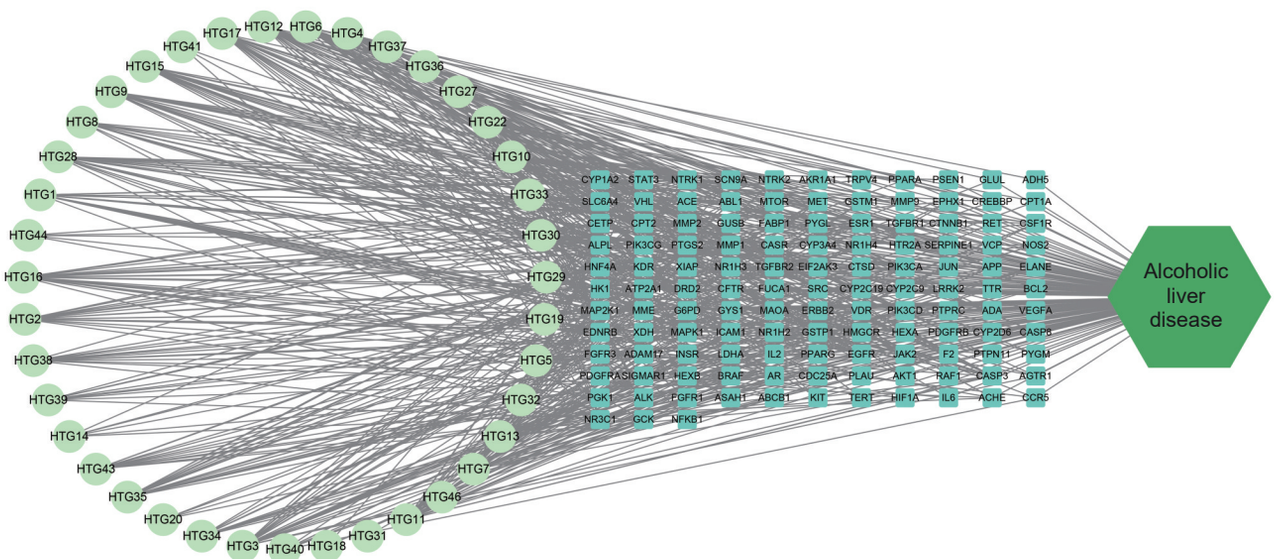


图1 中药-成分-靶点-疾病网络图

Fig. 1 TCM-component-target-disease network diagram

2.1.4 PPI网络及网络拓扑分析

将筛选获得的124个猴头菌提取物与酒精性肝损伤(ALI)的共同靶点导入STRING 11.5数据库,构建蛋白质相互作用(PPI)网络(见图2)。分析发现AKT1、STAT3、EGFR、MMP9、IL-6、IL-2、NFKB1、MAPK1等靶点具有较高的连接度,与多个核心节点形成密集连接。其中AKT1作为关键枢纽节点,与MMP9等炎症和相关靶点直接相连,可通过磷酸化间接激活NF-κB;而p38MAPK可通过转录调控促进MMP9表达;MAPK1通过多条边连接氧化应激相关靶点(如NOS3);STAT3与NF-κB存在协同作用,共同调控炎症相关基因(如IL-6、IL-2)的表达;EGFR激活可通过下游激酶(如MAPK、PI3K/AKT)间接调控NF-κB活性,它们与p38MAPK/NF-κB通路形成多通路交互网络,共同参与细胞增殖、氧化应激、炎症、凋亡等过程。因此提示猴头菌提取物可能通过调节p38MAPK/NF-κB信号通路相关蛋白,发挥抗炎、抗氧化及抗凋亡的综合效应[20],从而改善酒精性肝病病理进程。

2.1.5 GO富集分析和KEGG富集分析

GO富集分析结果如(图3)。生物过程分析发现“乙醇反应”直接对应疾病诱因,提示靶点参与酒精应激的病理响应,涉及氧化应激、炎症反应调控等过程。细胞凋亡的负向调控是生物过程显著富集的条目之一,提示猴头菌可能通过抑制病理性细胞死亡发挥保护作用。视黄醇(维生素A)代谢异常与肝脏脂肪变性相关;胰岛素样生长因子IGF通路异常与肝纤维化相关,提示猴头菌可能改善肝脂代谢,调控肝纤维化进程。结合疾病与成分的交集作用靶点推断猴头菌可通过“对抗酒精氧化应激+减轻炎症反应+抑制肝细胞凋亡”发挥改善作用,为后续机制验证提供方向。细胞组分分析中,质膜是信号受体(如IGF受体)的定位区域,提示靶点参与信号转导的“起始环节”;线粒体是肝细胞能量代谢与凋亡的核心细胞

器,酒精可损伤线粒体功能,提示靶点可能保护线粒体;核质是转录因子(如NF-κB)的作用区域,提示靶点可能参与NF-κB相关基因通路的表达调控。分子功能分析中蛋白激酶(如MAPK)、氧化还原酶是信号通路的核心酶,提示猴头菌通过调控氧化还原酶、激酶活性,如通过调控蛋白或组蛋白的磷酸化,参与细胞周期、基因转录、表观遗传调控等关键生理活动,缓解酒精诱导的氧化应激与炎症反应。

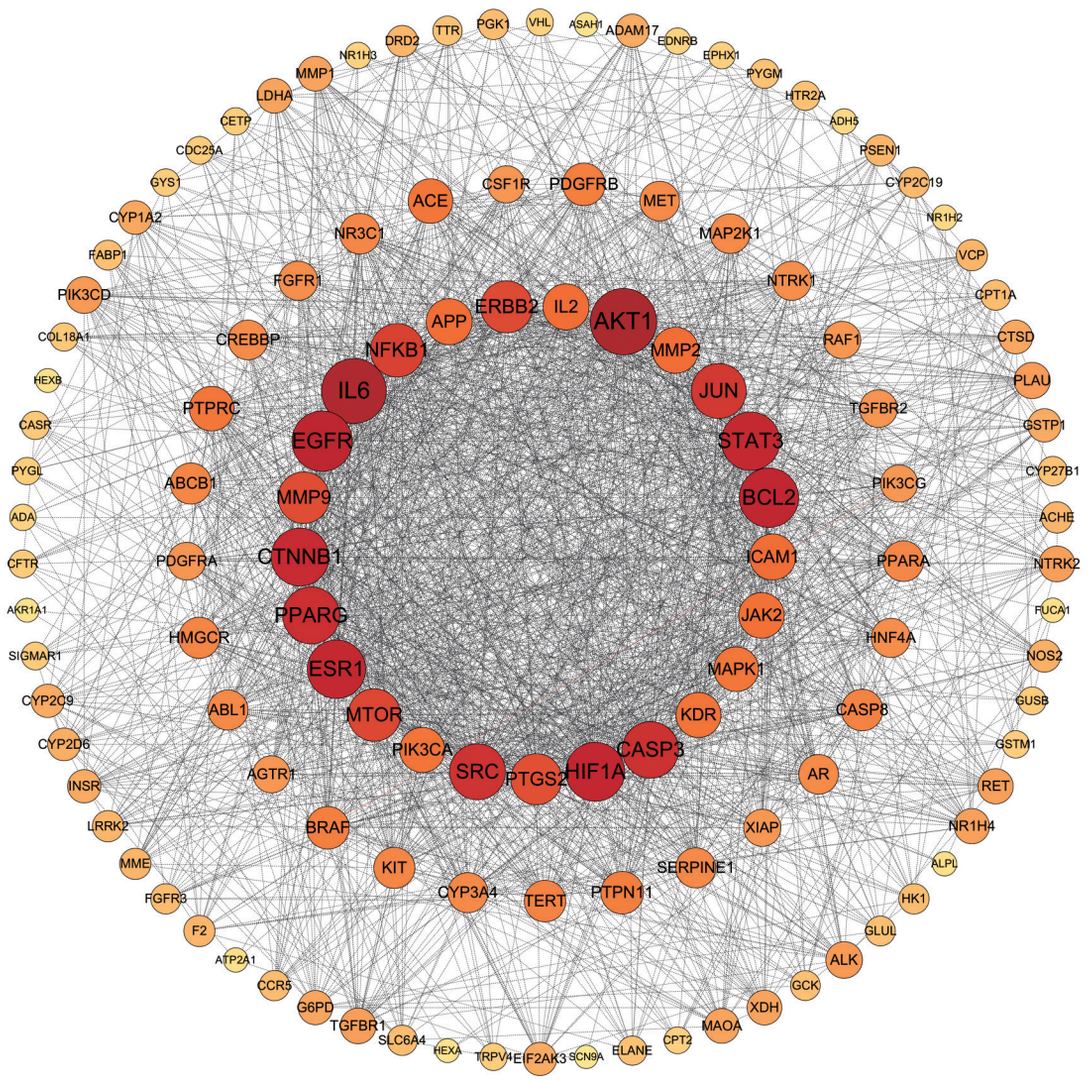


图2 猴头菌提取物-ALI共同作用靶点PPI网络

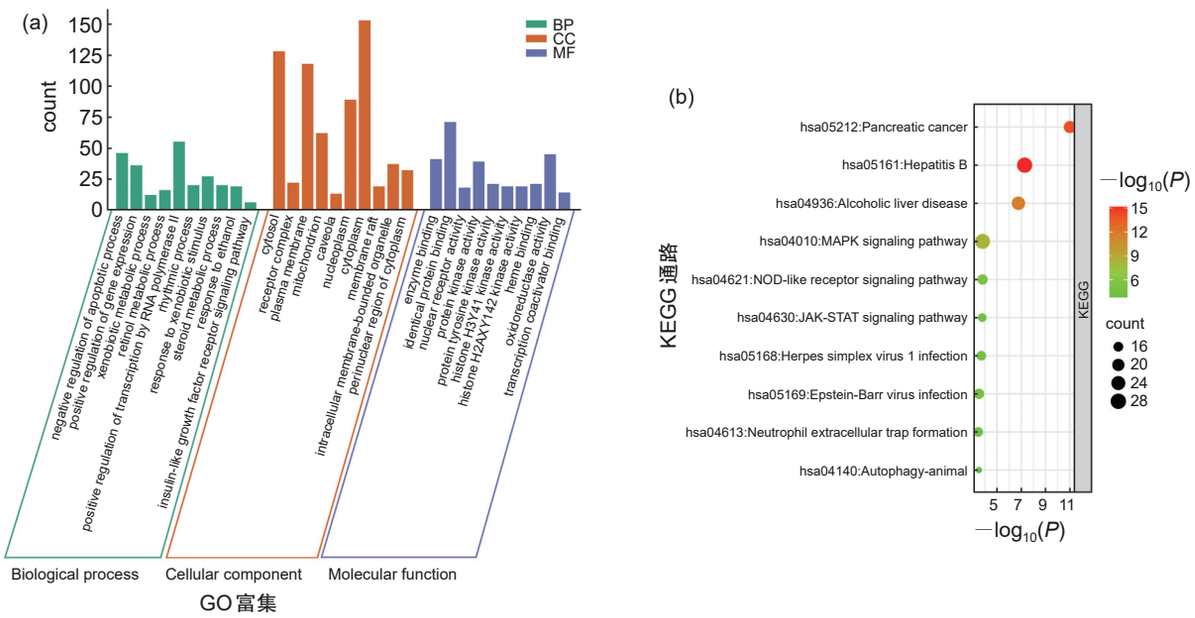
Fig. 2 PPI network of *Hericium erinaceum* extract-ALI common targets

KEGG通路富集分析表明,核心靶点涉及的主要途径包括肝炎、酒精性肝病、MAPK信号通路,这些反应调控通路均与酒精性肝病的氧化和炎症调控密切相关(见图3)。此外,中药-成分-靶点-疾病网络图呈现“多成分-多靶点”的协同调控模式,这些关键靶点可能通过协同调节氧化应激、炎症反应、脂代谢、凋亡、线粒体能量代谢等多维度病理环节,从而发挥改善酒精性肝损伤的作用。

2.2 猴头菌乙酸乙酯提取物对大鼠肝组织病理学切片的影响

在图4中,空白组的肝细胞排列整齐,结构清晰,无明显病理损伤,且染色均匀。模型组的肝组织肝索排列出现紊乱,染色分布不均匀,炎性细胞浸润明显,存在一定程度的病理改变。阳性对照组肝细胞排列良好,肝组织形态结构改善,边界基本清晰。猴头菌提取物组,随着剂量升高(L→M→H),组织病理损伤呈现逐渐改善的趋势,炎性细胞浸润明显

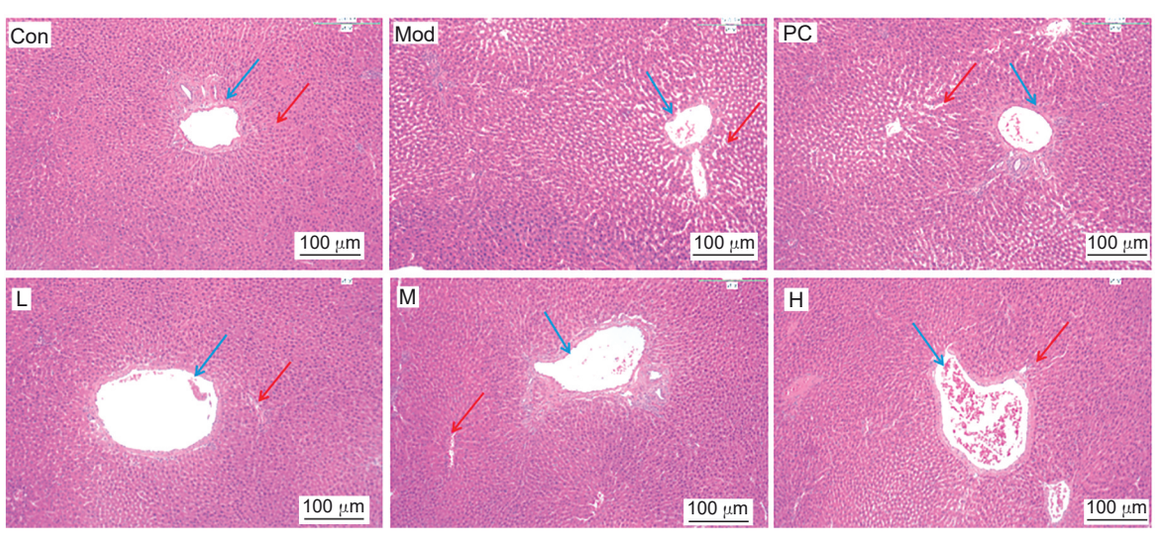
减轻,高剂量组(H 组)的组织形态更接近空白对照组(Con 组),说明猴头菌乙酸乙酯提取物可能对该组织的病理损伤具有一定的保护或修复作用,且存在一定剂量依赖性。



注:BP 为生物过程,CC 为细胞组分,MF 为分子功能。

图 3 猴头菌提取物治疗酒精性肝损伤的 GO 富集分析(a)和 KEGG 富集分析(b)

Fig. 3 GO enrichment analysis (a) and KEGG enrichment analysis (b) of *Hericium erinaceum* extract in the treatment of alcoholic liver injury



注:Con 代表空白对照组;Mod 代表模型组;PC 代表阳性对照组;L 代表猴头菌低剂量组;M 代表猴头菌中剂量组;H 代表猴头菌高剂量组。红色箭头指炎细胞浸润;蓝色箭头指中央静脉。

图 4 猴头菌提取物对大鼠肝组织病理学的影响(H&E,×200)

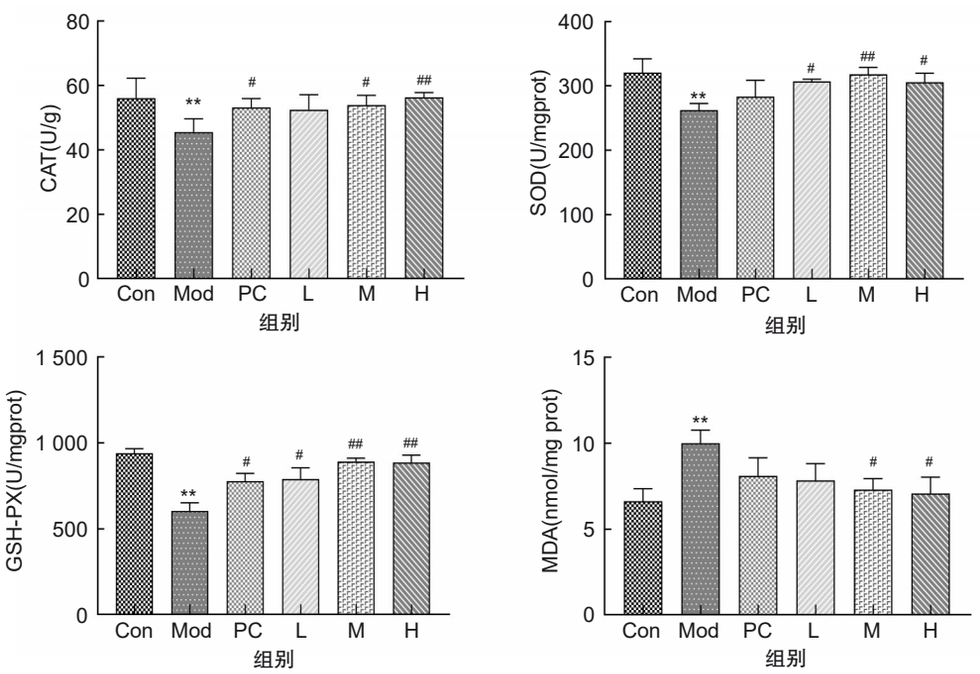
Fig. 4 The effect of extract from *Hericium erinaceum* on histopathology of rat liver tissue (H&E, ×200)

2.3 猴头菌乙酸乙酯提取物对大鼠抗氧化指标的影响

慢性酒精性肝损伤主要是由酒精在人体内代谢产生有害的活性氧(ROS)等引发氧化应激所致,通过增加脂质过氧化物的形成,抑制肝细胞的抗氧化能力,此外酒精的代谢物乙醛也会通过脂质的过氧化与蛋白质的共价结合而对肝产生毒害作用导致肝细胞死亡。丙二醛(MDA)是脂质过氧化产物之一,其含量体现脂质过氧化水平,间接衡量细胞受自由基侵害程度。过氧化氢酶

(CAT)是机体主要的抗氧化酶,能够维持机体的氧化还原平衡,将机体有害的自由基清除,超氧化物歧化酶(SOD)活力反映机体清除自由基能力;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)主要作用是清除自由基,防止脂质过氧化反应发生,其水平也是衡量机体抗氧化能力的重要因素。

由图5可知,与空白组相比,模型组MDA含量显著上升($P<0.01$),SOD、CAT和GSH-PX的活性显著降低($P<0.01$),显示酒精可导致机体脂质过氧化程度增加,使大鼠肝脏发生氧化应激,机体抗氧化能力减弱,肝细胞受损;与模型组相比,猴头菌提取物低、中、高剂量组的MDA含量有不同程度的降低;SOD、CAT和GSH-PX水平均有不同程度的升高,显示猴头菌提取物在适当剂量下可以改善酒精性肝损伤。



注:与对照组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$。

Note: Compared with the control group,* $P<0.01$; compared with the model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

图5 猴头菌乙酸乙酯提取部位对大鼠CAT、SOD、GSH-PX以及MDA水平的影响

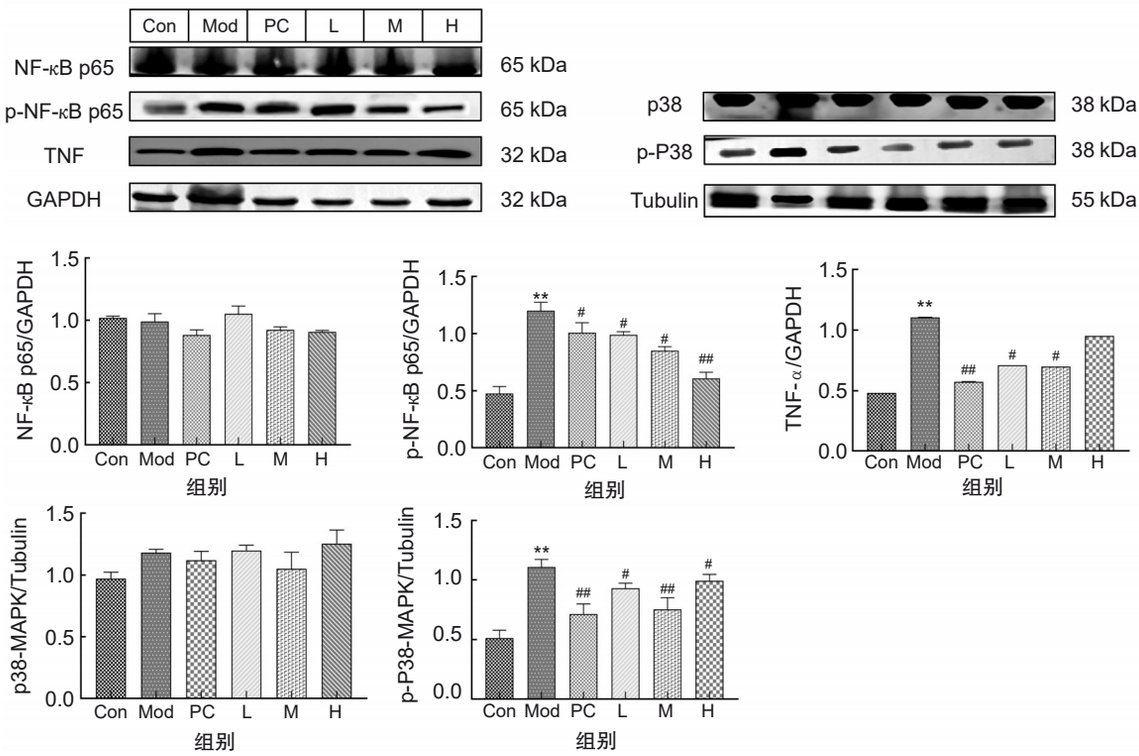
Fig. 5 The effect of ethyl acetate extract from *Hericium erinaceum* on the levels of CAT、SOD、GSH-PX and MDA in rats

2.4 猴头菌提取物对p38、p-p38、p65、p-p65、TNF-α蛋白的影响

蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测结果表明,与空白对照组(Con)相比,酒精性肝损伤模型组大鼠肝脏组织中p-p38、p-p65及TNF-α的蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$)(见图6),表明p38 MAPK及NF-κB炎症信号通路被强烈激活,这在酒精性肝损伤的发病机制中起着关键作用。经猴头菌提取物不同剂量干预后,均不同程度地降低了p-p38、p-p65、TNF-α的表达($P<0.05$或$P<0.01$),且存在一定的剂量依赖性。因此猴头菌提取物可能通过抑制p38 MAPK/NF-κB信号通路的过度激活,并减少下游炎症因子TNF-α的产生,从而缓解酒精性肝损伤过程中的氧化炎症反应,这为其在防治酒精性肝损伤方面的应用提供了实验依据。

3 分析与讨论

网络药理学在中医药多靶点、多通路研究方面具有突出优势,适用于中药复方的复杂应用研究[21]。本研究通过网络药理学预测发现,酒精性肝损伤发病因素错综复杂,是机体多环节、多系统共同调节的结果。其中NF-κB signaling pathway,MAPK signaling pathway和Apoptosis等相关信号通路,可能是猴头菌提取物改善酒精性肝损伤的关键通路,主要是猴头菌二萜类、酚类、有机酸类、甾醇类等关键成分,通过作用于AKT1、STAT3、EGFR、MMP9、IL6、



注:与对照组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$, ## $P<0.01$。

Note: Compared with the control group,* $P < 0.01$; compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

图 6 猴头菌提取物对p38MAPK/NF-κB通路相关蛋白的影响(n=8,$\bar{x}\pm s$)

Fig. 6 Effects of different extracts of *Hericium erinaceum* on p38MAPK / NF-κB pathway-related proteins

IL2、NFKB1、MAPK1等靶点蛋白发挥作用。

2014年,喻凯等证实猴头菌提取物对慢性肝病和肝硬化有较好的治疗效果[22]。截至2016年,上海医药研究所研究显示从该猴头菌分离得到的麦角甾醇被证实能够降低与衰老相关的β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)活性[23],并可通过抑制LPS来减弱细胞中IL-8的产生[24];猴头菌酚类Hericene A、E和Hericenone F不仅能降低MDA、NO水平,还可显著上调SOD、CAT、GSH-Px的抗氧化酶的表达水平[25],通过抑制体内的LPS来阻碍巨噬细胞促炎介质的产生[26];可能对炎症相关疾病和某些癌症的治疗具有潜在作用。从猴头菌菌丝体中分离出5种齐墩果酸的苷类物质对治疗肝炎有一定的疗效[27]。

猴头菌二萜类化合物在氧化和炎症调控方面也显示出显著的效果。其中Erinacine C通过降低促炎细胞因子(IL-6、TNF-α和NO)的表达,调控NF-κB、p-IκBα通路,激活并增强Nrf2介导的HO-1的表达水平[28]。Erinacine A可诱导HCT-116、DLD-1等肿瘤细胞内活性氧(ROS)的生成,从而减少细胞的增殖和侵袭,同时被证实可诱导人结肠癌细胞凋亡[29-30]。Erinacine B与Erinacine C具有抑制神经炎症的作用,在阿尔茨海默病等神经退行性疾病的干预领域同样展现出良好的应用前景[31]。Erinacine S能够通过诱导胃癌细胞内活性氧簇的生成,触发细胞凋亡信号通路,可通过上调Fas受体及肿瘤坏死因子(TNF)相关凋亡蛋白的表达水平,下调胃癌移植瘤组织中增殖细胞核抗原及细胞周期蛋白D1的分子丰度,最终实现对肿瘤细胞增殖周期的阻滞效应。

猴头菌对MAPK/NF-κB通路具有调控潜力,因而可能具有广谱治疗价值。该通路作为炎症-纤维化级联的核心枢纽,其抑制剂在改善结肠炎黏膜损伤、抑制Lewis肺癌转移、缓解糖尿病肾病纤维化中已展现显著疗效。p38 MAPK/NF-κB在调控机体炎症、氧化应激、细胞凋亡中属枢纽地位,p38 MAPK信号通路作为细胞内重要的信号转导途径之一,与急性肝损伤的发生有关,NF-κB的抑制可以认定为炎

症缓解的标志。大量研究表明,该通路可被多种促炎细胞因子(如TNF-α,IL-1β,IL-6等)激活,同时其下游效应分子又能反过来调控这些细胞因子的合成与释放,形成复杂的炎症调控网络[32-33]。在诱导小鼠急性肝功能衰竭的过程中,随着诱导时间的延长及病程进展,p38 MAPK磷酸化水平逐渐升高,已有研究通过抑制MAPK信号通路预防对乙酰氨基酚(APAP)诱导的急性肝损伤[34],使用p38 MAPK抑制剂抑制后,TNF-α、IL-1β表达水平均降低。

本研究KEGG富集网络显示氧化应激和炎症反应的关键通路p38-MAPK/NF-κB节点占据关键位置,与酒精性肝损伤的氧化损伤和炎症的核心病理特征直接相关;且核心靶点(如AKT1、STAT3、EGFR、MMP9、IL6、IL2、NFKB1、MAPK1)与MAPK/NF-κB通路存在显著关联,提示猴头菌可能通过调控这些上游靶点影响p38-MAPK/NF-κB通路的激活。本研究采用猴头菌提取物低、中、高剂量组及阳性药物多烯磷脂酰胆碱,分析评价药物干预后对酒精性肝损伤大鼠肝细胞氧化应激的影响。结果显示酒精可导致机体脂质过氧化程度增加,使大鼠肝脏发生氧化应激,机体抗氧化能力减弱,肝细胞受损;猴头菌提取物低、中、高剂量组干预后,脂质过氧化产物MDA含量不同程度的降低;SOD、CAT和GSH-PX水平均有不同程度的升高,显示猴头菌提取物可以改善酒精性肝氧化应激,并呈一定剂量依赖性。WB实验显示,猴头菌提取物低、中、高剂量组能够明显抑制大鼠肝脏组织中p38、p65蛋白的磷酸化水平,降低TNF-α蛋白表达水平。该研究结果符合猴头菌提取物对酒精性肝损伤大鼠的调节作用,与网络药理学分析结果相互印证补充。"计算预测→通路锁定→机制验证"的闭环研究,丰富了猴头菌提取物调控肝损伤机制的研究,凸显了多靶点协同作用的优势。

尽管研究取得明确结论,仍需审视其局限:活性成分筛选遗漏猴头菌中部分低丰度化合物;疾病靶点筛选的主观性可能造成与脂肪变性初期[35]密切相关的脂代谢靶点缺失;实验验证聚焦p38-MAPK而尚未探究TNK/JNK-MAPK通路的潜在协同机制,衣浩然等[36]证实,白藜芦醇(RES)的肝保护作用需同时抑制JNK与p38活化。未来可结合GeneCards与DisGeNET数据库优化酒精性脂肪肝(AFLD)靶标筛选,并通过检测JNK/p-JNK表达动态,阐明猴头菌对MAPK信号网络的整体调控能力,尤其需关注其在肝细胞脂质蓄积起始阶段的干预效应。基于本研究所建立的"成分-靶点-通路"研究范式,未来可进一步开展关键节点分子对接,模拟*Hericenones*、*Erinacines*等特征成分与通路上相关蛋白的结合模式,进行多模型药效与机制验证。

4 结论

本研究基于网络药理学技术及体内实验验证,发现猴头菌提取物能抑制酒精性肝损伤,减轻肝组织的氧化、炎症反应,改善酒精性肝的病理损伤,其作用机制可能与调控p38-MAPK/NF-κB信号通路相关蛋白的表达有关。此研究为深入探讨猴头菌提取物改善酒精性肝损伤机制提供试验基础和科学依据。

参考文献:

[1] Wang F J, Tu P F, Zeng K W, *et al*. Protective Effects of the Total Glycosides of Cistanche Deserticola Y. C. Ma in Alcoholic Liver Injury in Mice[J]. *Acta Pharm Sin*, 2021, **56**: 2528-2535.

[2] Liu C, Ding J X, Zhou Y, *et al*. Protective Effects of *Lonicerae* Japonicae *Flos* Against Acute Alcoholic Liver Injury in Rats Based on Network Pharmacology[J]. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 2021, **46**(17): 4531-4540. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20210624.401.

[3] 杨帆,霍志伟,朱雯,等. 超高压辅助胶束法提取落叶松中二氢槲皮素的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2023, **44**(23): 175-183. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020026.
Yang F, Huo Z W, Zhu W, *et al*. Optimization of Ultrahigh Pressure Assisted Micellar Extraction of Taxifolin from Larch[J]. *Sci Technol Food Ind*, 2023, **44**(23): 175-183. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020026.

[4] Fang T J, Guo J T, Lin M K, *et al*. Protective Effects of *Lactobacillus* Plantarum Against Chronic Alcohol-induced Liver Injury in the Murine Model[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, **103**(20): 8597-8608. DOI: 10.1007/s00253-019-10122-8.

[5] Acharya C, Bajaj J S. Gut Microbiota and Complications of Liver Disease[J]. *Gastroenterol Clin N Am*, 2017, **46**

(1): 155−169. DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.013.

[6] Aki T, Funakoshi T, Unuma K, *et al*. Impairment of Autophagy: From Hereditary Disorder to Drug Intoxication [J]. *Toxicology*, 2013, **311**(3): 205−215. DOI: 10.1016/j.tox.2013.07.001.

[7] Yu H S, Oyama T, Isse T, *et al*. Formation of Acetaldehyde-derived DNA Adducts Due to Alcohol Exposure[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, **188**(3): 367−375. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.08.005.

[8] Agrawal A. Identifying Genetic Variation for Alcohol Dependence[J]. *Alcohol Res Curr Rev*, 2012, **34**(3): 274. DOI: 10.35946/arcr.v34.3.02.

[9] Liao C C, Yu H P, Chou A H, *et al*. Gastrodin Alleviates Acetaminophen-induced Liver Injury in a Mouse Model through Inhibiting MAPK and Enhancing Nrf2 Pathways [J]. *Inflammation*, 2022, **45**(4): 1450−1462. DOI: 10.1007/s10753-021-01557-1.

[10] Sanz-Ezquerro J J, Cuenda A. P38 Signalling Pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(3): 1003. DOI: 10.3390/ijms22031003.

[11] Corre I, Paris F, Huot J. The P38 Pathway, a Major Pleiotropic Cascade that Transduces Stress and Metastatic Signals in Endothelial Cells[J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(33): 55684−55714. DOI: 10.18632/oncotarget.18264.

[12] Wang J L, Ren C H, Feng J, *et al*. Oleanolic Acid Inhibits Mouse Spinal Cord Injury through Suppressing Inflammation and Apoptosis *via* the Blockage of P38 and JNK MAPKs[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, **123**: 109752. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109752.

[13] Wang X Y, Zhang D D, Yin J Y, *et al*. Recent Developments in *Hericium erinaceus* Polysaccharides: Extraction, Purification, Structural Characteristics and Biological Activities[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, **59**(sup1): S96−S115. DOI: 10.1080/10408398.2018.1521370.

[14] 谢宇曦, 王红阳, 程爱斌. 猴头菇提取物通过抑制线粒体膜通透性转移孔的开放对酒精性肝损害的保护作用[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2016, **19**(10): 1469−1471. DOI: 10.11723/mtgyyx 1007-9564 201610018.
Xie Y X, Wang H Y, Cheng A B. Protective Effect of *Hericium erinaceus* Extract on Alcoholic Liver Injury by Inhibiting the Opening of Mitochondrial Membrane Permeability Transfer Pores[J]. *Chin J Coal Ind Med*, 2016, **19**(10): 1469−1471. DOI: 10.11723/mtgyyx1007-9564 201610018.

[15] Eckert G P, Song Z Y, Cheng S W. Systems Pharmacological Approach to Investigate the Mechanism of *Hericium erinaceus* for Alzheimer's Disease[J]. *Digit Chin Med*, 2019, **2**(1): 7−18. DOI: 10.1016/j.dcmed.2019.05.002.

[16] 甘泽隆, 谢光波, 谢丽源. 基于网络药理学及分子对接技术探究猴头菇治疗慢性胃炎的潜在作用机制[J]. 菌物学报, 2023, **42**(12): 2422−2441. DOI: 10.13346/j.mycosystema.230104.
Gan Z L, Xie G B, Xie L Y. Potential Mechanism of *Hericium erinaceus* in the Treatment of Chronic Gastritis Analysed by Network Pharmacology and Molecular Docking Techniques[J]. *Mycosystema*, 2023, **42**(12): 2422−2441. DOI: 10.13346/j.mycosystema.230104.

[17] Subramaniyan V, Lubau N S A, Mukerjee N, *et al*. Alcohol-induced Liver Injury in Signalling Pathways and Curcumin's Therapeutic Potential[J]. *Toxicol Rep*, 2023, **11**: 355−367. DOI: 10.1016/j.toxrep.2023.10.005.

[18] 叶晨, 江雯, 胡熳, 等. 水飞蓟黄酮提取物治疗非酒精性脂肪肝病的网络药理学研究[J]. 药学学报, 2022, **57**(2): 399−408. DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1254.
Ye C, Jiang W, Hu M, *et al*. Network Pharmacology Study of Flavone Extracts of *Silybum marianum* in the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease[J]. *Acta Pharm Sin*, 2022, **57**(2): 399−408. DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1254.

[19] 唐高俊, 胡杰, 张宝芳. 基于网络药理学和生物信息学探讨葛根芩连方治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制[J]. 中西医结合慢性病杂志, 2024, **1**(1): 26−39.
Tang G J, Hu J, Zhang B F. Exploration of the Mechanism of Gegen Qinlian Decoction in Treating Nonalcoholic Fatty Liver Disease Based on Network Pharmacology and Bioinformatics[J]. *J Integr Tradit Chin West Med Chronic Dis*, 2024, **1**(1): 26−39.

[20] 舒乐, 严兴科, 马思睿, 等. 中医药调控Nrf2/HO-1信号通路治疗帕金森病的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2025, **50**(11): 2982−2993. DOI: 10.19540/j. cnki. cjcmm.20250314.501.
Shu L, Yan X K, Ma S R, *et al*. Research Progress on Parkinson′s Disease Treatment with Traditional Chinese Medicine *via* Regulating Nrf2/HO-1 Signaling Pathway [J]. *China J Chin Mater Med*, 2025, **50**(11): 2982−2993. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20250314.501.

[21] 陈晓晴. 基于网络药理学的镇肝熄风汤治疗高血压病阴虚阳亢证的潜在机制及临床疗效评价[D]. 济南: 山东中医药大学, 2022.
Chen X Q. Network Pharmacology Study and Clinical Efficacy Obsercation of Zhenganxifeng Decoction Intervening Yin Deficiency Yang Hyperactivity Hypertension [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2022.

[22] 喻凯, 李光, 李福双, 等. 猴头菌培养物化学成分研究[J]. 菌物研究, 2014, **12**(2): 111−114. DOI: 10.13341/j.

jfr.2014.0070.
Yu K, Li G, Li F S, *et al*. Study on Chemical Constituents of *Hericium erinaceus* Culture[J]. *J Fungal Res*, 2014, **12**(2): 111−114. DOI: 10.13341/j.jfr.2014.0070.

[23] Noh H J, Yang H H, Kim G S, *et al*. Chemical Constituents of *Hericium* Erinaceum Associated with the Inhibitory Activity Against Cellular Senescence in Human Umbilical Vascular Endothelial Cells[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2015, **30**(6): 934−940. DOI: 10.3109/14756366.2014.995181.

[24] Tada H, Kawahara K, Osawa H, *et al*. *Hericium erinaceus* Ethanol Extract and Ergosterol Exert Anti-inflammatory Activities by Neutralizing Lipopolysaccharide-induced Pro-inflammatory Cytokine Production in Human Monocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, **636**: 1−9. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.10.090.

[25] Li I C, Lee L Y, Chen Y J, *et al*. Erinacine A-enriched *Hericium erinaceus* Mycelia Promotes Longevity in *Drosophila melanogaster* and Aged Mice[J]. *PLoS One*, 2019, **14**(5): e0217226. DOI: 10.1371/journal.pone.0217226.

[26] Xie G B, Tang L, Xie Y, *et al*. Secondary Metabolites from *Hericium erinaceus* and Their Anti-inflammatory Activities[J]. *Molecules*, 2022, **27**(7): 2157. DOI: 10.3390/molecules27072157.

[27] Wang L Y, Huang C S, Chen Y H, *et al*. Anti-inflammatory Effect of Erinacine C on NO Production through Down-regulation of NF-KB and Activation of Nrf2-mediated HO-1 in BV2 Microglial Cells Treated with LPS[J]. *Molecules*, 2019, **24**(18): 3317. DOI: 10.3390/molecules24183317.

[28] Lee K C, Kuo H C, Shen C H, *et al*. A Proteomics Approach to Identifying Novel Protein Targets Involved in Erinacine A-Mediated Inhibition of Colorectal Cancer Cells' Aggressiveness[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, **21**(3): 588−599. DOI: 10.1111/jcmm.13004.

[29] Lee K C, Lee K F, Tung S Y, *et al*. Induction Apoptosis of Erinacine a in Human Colorectal Cancer Cells Involving the Expression of TNFR, Fas, and Fas Ligand *via* the JNK/P300/P50 Signaling Pathway with Histone Acetylation[J]. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 1174. DOI: 10.3389/fphar.2019.01174.

[30] Lin C Y, Chen Y J, Hsu C H, *et al*. Erinacine S from *Hericium erinaceus Mycelium* Promotes Neuronal Regeneration by Inducing Neurosteroids Accumulation[J]. *J Food Drug Anal*, 2023, **31**(1): 32−54. DOI: 10.38212/2224-6614.3446.

[31] Li J H, Jia J H, Teng Y, *et al*. Gastrodin Alleviates DSS-induced Colitis in Mice through Strengthening Intestinal Barrier and Modulating Gut Microbiota[J]. *Foods*, 2024, **13**(15): 2460. DOI: 10.3390/foods13152460.

[32] Li X Y, Lin J Q, Lin Y, *et al*. Hydrogen Sulfide Protects Against Acetaminophen-induced Acute Liver Injury by Inhibiting Apoptosis *via* the JNK/MAPK Signaling Pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2019, **120**(3): 4385−4397. DOI: 10.1002/jcb.27724.

[33] Leone G M, Mangano K, Petralia M C, *et al*. Past, Present and (Foreseeable) Future of Biological Anti-TNF Alpha Therapy[J]. *J Clin Med*, 2023, **12**(4): 1630. DOI: 10.3390/jcm12041630.

[34] Jin M Y, Wu X Y, Li M Y, *et al*. Noni (*Morinda citrifolia* L.) Fruit Polysaccharides Regulated IBD Mice *via* Targeting Gut Microbiota: Association of JNK/ERK/NF-KB Signaling Pathways[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, **69**(35): 10151−10162. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c03833.

[35] 李姝琪, 李志恒, 李华爽, 等. 中药提取物、活性成分及复方对酒精性肝损伤保护作用的研究进展[J]. 中成药, 2025, **47**(1): 139−147. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-1528.2025.01.021.
Li S Q, Li Z H, Li H S, *et al*. Research Progress on Protective Effects of Traditional Chinese Medicine Extracts, Active Components and Compound Prescription on Alcoholic Liver Injury[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2025, **47**(1): 139−147. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.01.021.

[36] 衣浩然, 韩智学, 刘琦, 等. 基于JNK/P38 MAPK通路探讨白藜芦醇对酒精依赖大鼠肝脏的保护作用[J]. 包头医学院学报, 2025, **41**(4): 29−33. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2025.04.006.
Yi H R, Han Z X, Liu Q, *et al*. The Protective Effect of Resveratrol on the Liver of Alcohol-dependent Rats Based on JNK/P38 MAPK Pathway[J]. *J Baotou Med Coll*, 2025, **41**(4): 29−33. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2025.04.006.