基于系统药理学探究鸡骨草通过铁死亡调控肝纤维化的分子机制

秦雅渲，郑洋，王佳慧，赵铁建，杨仕权*，汪磊*（广西中医药大学赛恩斯新医药学院，广西 南宁 530222）

摘要：目的 基于网络药理学、分子对接、生物信息学及机器学习方法，系统解析鸡骨草通过铁死亡干预肝纤维化的分子机制。**方法** 通过TCMSP数据库筛选鸡骨草活性成分，结合GEO和FerrDb数据库获取肝纤维化及铁死亡相关基因；利用R语言对肝纤维化数据集进行批次校正、差异分析和WGCNA模块构建；取鸡骨草、肝纤维化及铁死亡三者交集得到核心基因，并基于STRING和Cytoscape构建蛋白互作网络及“药物-成分-靶点-疾病”网络；通过GO与KEGG富集分析挖掘核心通路；结合随机森林、XGBoost分析筛选特征基因，并通过MR分析和ROC曲线验证，最后进行分子对接。**结果** （1）筛选鸡骨草活性成分12种及预测靶点301个；经批次校正及PCA分析整合肝纤维化基因17 731个及铁死亡基因396个，获得交集靶点27个；（2）GO分析显示靶点富集于氧化应激反应及核受体活性等；KEGG通路富集于癌症代谢（hsa05207）及PPAR信号通路（hsa03320）；（3）机器学习（随机森林分析、XGBoost分析）筛选出特征基因*AR*与*FABP4*；（4）通过ROC曲线*AR*（AUC=0.591）和*FABP4*（AUC=0.623）及MR分析进行验证；（5）*AR*、*FABP4*等基因与鸡骨草活性成分进行对接。**结论** 鸡骨草可能通过*AR*和*FABP4*调控氧化应激及脂代谢通路铁死亡抑制肝纤维化，为中药多靶点治疗提供新依据。

关键词：WGCNA分析；机器学习；鸡骨草；肝纤维化；铁死亡

中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674-229X（2026）06-0442-08

Doi：10.12048/j.issn.1674-229X.2026.06.007

Molecular Mechanism of *Abri Herba* Regulating Hepatic Fibrosis via Ferroptosis Based on Systems Pharmacology

QIN Yaxuan, ZHENG Yang, WANG Jiahui, ZHAO Tiejian, YANG Shiquan*, WANG Lei*（*Faculty of Chinese Medicine Science, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi* 530222, *China*）

ABSTRACT: OBJECTIVE To systematically elucidate the molecular mechanism of *Herba Abri* intervened liver fibrosis via regulating ferroptosis using network pharmacology, molecular docking, bioinformatics, and machine learning approaches. **METHODS** Active components of *Abri Herba* were screened via the TCMSP database. Liver fibrosis and ferroptosis-related genes were retrieved from GEO and FerrDb databases. R language was employed for batch correction, differential analysis, and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). Core genes were identified by intersecting targets of *Abri Herba*, liver fibrosis, and ferroptosis. Protein-protein interaction (PPI) networks and “drug-component-target-disease” network were constructed using STRING and Cytoscape. Functional enrichment analyses (GO and KEGG) were conducted to identify core pathways. Feature genes were screened via random forest and XGBoost algorithms, validated by Mendelian randomization (MR) analysis and receiver operating characteristic (ROC) curves, followed by molecular docking. **RESULTS** (1) Twelve active components and 301 predicted targets of *Herba Abri* were identified. Batch correction and principal component analysis (PCA) integrated 17 731 liver fibrosis-related genes and 396 ferroptosis-related genes, obtaining 27 intersection targets. (2) GO analysis revealed enrichment in oxidative stress response and nuclear receptor activity. KEGG pathways were enriched in cancer metabolism (hsa05207) and PPAR signaling (hsa03320). (3) Machine learning (random forest and XGBoost) prioritized signature genes *AR* and *FABP4*. (4) Validation via ROC curves demonstrated AUC values were 0.591 for *AR* and 0.623 for *FABP4*, supported by MR analysis. (5) Molecular docking confirmed stable interactions between *AR*, *FABP4* and active components of *Herba Abri*. **CONCLUSION** *Abri Herba* may inhibit ferroptosis in liver fibrosis by regulating

基金项目：广西自然科学基金项目（2025GXNSFAA069460）；广西中医药大学赛恩斯新医药学院中医药（民族医药）现代化重点实验室（No.04）；广西中医药大学赛恩斯新医药学院2025年大学生创新训练计划项目（202513643004）；广西中医药大学校级科研项目（2024ZD007）；广西中医药大学赛恩斯新医药学院校级科研项目（2024ZZA003，2024ZZB006，2024ZZB007，2024ZZB010）

作者简介：秦雅渲，在读本科生，研究方向：民族药防治慢性肝病　　*共同通讯作者：杨仕权，硕士，助理研究员，研究方向：民族药防治慢性肝病，E-mail：ysqzy112233@163.com；汪磊，硕士，副教授，研究方向：民族药防治慢性肝病，E-mail：wl13610222925@qq.com

oxidative stress and lipid metabolism pathways to inhibit ferroptosis and thereby suppress liver fibrosis through *AR* and *FABP4*, providing novel evidence for the multi-target therapeutic potential of traditional Chinese medicine.
KEYWORDS: WGCNA; machine learning; *Herba Abri*; liver fibrosis; ferroptosis

肝纤维化(liver fibrosis)是多种慢性肝损伤后肝组织异常修复的核心病理过程,严重威胁人类健康[1]。近年来研究发现,铁死亡(Ferroptosis)作为一种铁依赖性脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡方式[2],在肝纤维化进展中扮演关键角色。在肝纤维化进程中,铁过载和氧化应激增强可诱导肝细胞及肝星状细胞发生铁死亡,进而通过释放促纤维化介质激活肌成纤维细胞,促进胶原沉积与细胞外基质过度积累。具体而言,铁代谢紊乱与抗氧化系统功能失调是铁死亡发生的核心机制。铁蓄积通过Fenton反应催化脂质过氧化,引起膜结构损伤与细胞内容物释放;同时,脂质代谢重编程及抗氧化能力下降进一步放大氧化损伤,形成恶性循环,加剧肝纤维化[3]。然而,目前针对铁死亡调控肝纤维化的分子机制尚未完全阐明,不同细胞类型(肝细胞、肝星状细胞、巨噬细胞)中铁死亡的作用差异、关键信号通路的交叉调控机制,以及铁死亡与其他细胞死亡方式的相互作用等尚不明确。此外,现有研究多聚焦于单一分子或通路,缺乏对铁死亡相关代谢网络的系统整合分析,导致其作为治疗靶点的转化潜力未能充分挖掘,临床治疗手段亦存在局限性。

因此,探索基于铁死亡调控的新型干预策略,对肝纤维化的防治具有重要意义。中药因其多成分、多靶点、多通路的整体调节特性,在肝病治疗中展现出独特优势[4]。鸡骨草(*Abri Herba*)作为传统清热解毒类中药[5],常用于肝胆疾病的治疗,现代药理学研究表明其具有抗炎、抗氧化及抗纤维化等活性[6],在临床上对于多种肝病中具有显著疗效[7,8]。虽然中药在肝病治疗中的应用历史悠久,但对于中药如何通过调控铁死亡来影响肝纤维化的研究尚属起步阶段。在鸡骨草的研究方面,目前多集中于其对肝纤维化经典信号通路的作用[9],而铁死亡与肝纤维化的交互作用机制复杂[10],缺乏系统深入的研究,铁死亡作为代谢与氧化应激的交汇点,很可能是鸡骨草发挥多途径抗纤维化效应的关键环节,但目前相关研究极为匮乏。

基于此,本研究首次以鸡骨草为研究对象,整合网络药理学、分子对接、生物信息学及机器学习算法,系统解析其通过铁死亡途径干预肝纤维化的潜在机制。通过筛选鸡骨草活性成分及其作用靶点,结合肝纤维化与铁死亡相关基因数据集,构建“药物-成分-靶点-疾病”多维网络,识别关键调控基因及通路;进一步利用随机森林、XGBoost等机器学习模型筛选特征基因,并通过孟德尔随机化分析与ROC曲线验证其可靠性;最终结合分子对接阐明活性成分与靶蛋白的结合模式。本研究从铁死亡视角阐释鸡骨草抗肝纤维化的作用机制,不仅填补了该中药在铁死亡调控领域的研究空白,也为肝纤维化的多靶点干预策略提供了新思路,同时推动了中药现代化研究在细胞死亡代谢调控方面的深入探索。

1 方法

1.1 鸡骨草预测靶点的筛选

在系统药理学数据库与分析平台(TCMSP,https://tcmsp-e.com/)中输入“鸡骨草”进行检索,通过筛选条件设置口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18对鸡骨草有效活性成分进行筛选并下载相关数据保存使用,并通过相关文献进行补充其相关活性成分,然后将筛选出的化合物复制在Pubchem(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)进行搜索,得到SMILES并将号码输入SwissTargetPrediction(http://swisstargetprediction.ch/)进行靶点预测。

1.2 肝纤维化铁死亡数据获取及预处理

借助GEO数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/),以“liver fibrosis”检索并限定物种为智人,筛选出4个数据集GSE139602、GSE197112、GSE199656和GSE285291。其中将GSE139602与GSE197112数据集被用作单独的验证队列来证实本研究发现。SE199656和GSE285291则作为训练队列。借助Sangerbox(http://sangerbox.com/)对GSE197112和GSE139602数据集进行数据合并,批次校正及主成分分析方法(Principal Component Analysis,PCA),以去除2组数据的批次效应;运用FerrDb网站(http://www.zhounan.org/ferrdb/current/)中选取抑制和促进铁死亡以及其标志物,去除三者重复的靶点,最终获取铁死亡基因。

1.3 肝纤维化铁死亡靶点筛选

采用“limma”包提取相关基因并输出同时满足

$P<0.05$ 且 | log2 fold change（log2FC）|>1 的差异基因，使用“pheatmap”包绘制热图及“ggplot2”包绘制火山图来更好地展示差异基因表达。同时借助Genecards数据库获取肝纤维化相关靶点。然后对两种方法获取的靶点进行交互处理得到肝纤维化铁死亡相关靶点。在完成数据预处理后，采用加权基因共表达网络分析（WGCNA）对基因表达谱进行系统性挖掘。将MM阈值设置为0.8，GS阈值设置为0.1，权重阈值设置为0.1。通过样本聚类和离群值检验剔除异常样本及噪声数据，构建无尺度拓扑网络；随后基于基因间表达相关性动态划分共表达模块，并通过模块特征基因表征各模块核心表达模式。进一步将模块特征基因与临床表型数据（如纤维化分期、疾病状态）进行关联性分析，基于皮尔逊相关系数（Pearson correlation coefficient）及显著性阈值（$P<0.05$），筛选出与肝纤维化病理进程显著相关的关键模块，作为后续靶点研究的核心对象。

1.4 关键靶点的获取及“核心中药-活性成分-交集靶点-疾病”网络图的构建

对肝纤维化相关靶点、铁死亡相关靶点与鸡骨草作用靶点进行交互处理得到鸡骨草在铁死亡机制上防治疾病的关键靶点，将核心中药、活性成分、交集靶点、疾病一起导入Cytoscape3.7.1软件进行可视化操作。同时，将关键靶点输入STRING数据库（https://string-db.org/Version 11.0），设置物种为“Homo sapiens”，置信度>0.4，得到原始PPI网络。将原始PPI相关数据导入Cytoscape3.7.1，进行Degree值、Closeness值、Betweenness值分析，筛选去除小于平均度值的节点。

1.5 富集分析

富集分析包括GO（gene ontology，GO）功能分析和KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）分析，将三者交集靶点库利用R包进行分析，其中GO富集分析包括生物过程（biological process，BP）、分子功能（molecular function，MF）和细胞组成（cell component，CC）3个部分。

1.6 使用机器学习算法选择特征基因

通过CNSKNOWALL（https://www.cnsknowall.com/），根据基因鉴定对肝纤维化铁死亡至关重要的特征基因，为确保稳健和全面的选择，本研究先进行机器学习模型筛选，其中随机森林算法（random forest，RF）及XGBoost模型得分较高，选取这两种方法进行筛选特征基因。RF分析是一种集成学习方法，可有效管理不平衡的数据并估计特征重要性，得分>0.5的基因被认为具有显著性。XGBoost模型的核心思想是将多个弱分类器（决策树）组合成一个强分类器。每个决策树都在前一棵树的残差基础上进行训练，通过不断迭代优化损失函数来逐步减小残差。特征基因来自对XGBoost和RF方法结果的交叉分析。

1.7 MR分析

孟德尔随机化（Mendelian Randomization，MR）是流行病学研究中评估病因推断的数据分析技巧，它是利用与暴露因素具有强相关的遗传变异作为工具变量，来评估暴露因素与结局之间的因果关系。选取双样本MR分析，探讨特征基因与疾病肝纤维化之间的因果关系，将单核苷酸多态性（Single Nucleotide Polymorphism，SNP）定义为工具变量（Instrumental Variable，IV）。从GWAS数据库（https://gwas.mrcieu.ac.uk/）等获得了特征基因的SNP作为暴露因子，肝纤维化的SNP作为结果因子。筛选$P<5\times10^{-8}$并去除具有强连锁不平衡（linkage disequilibrium，LD）的IV（$r^2<0.3$，kb=500）。通过在线网站进行MR分析，包括逆方差加权（inverse-variance-weighted，IVW）、孟德尔随机化-Egger（MR-Egger）、加权中位数（Weighted mode，WM）、简单模式和加权模式方法。进行敏感性分析，通过异质性、水平多效性和留一法分析来估计MR结果是否具有可靠性。进行异质性检验，$P>0.05$表明没有异质性。

1.8 基因验证

通过验证多个独立数据集中生物标志基因的差异表达。绘制受试者工作特征（receiver operating characteristic curve，ROC）以评估2个特征基因对肝纤维化的诊断准确性和特异性，并进行分析和可视化。

1.9 特征基因的作用通路

使用KEGG数据库来识别2个特征基因与肝纤维化铁死亡中生物标志基因相关的显著富集通路，并利用微生信（http://www.bioinformatics.com.cn/）绘制该特征基因作用通路。

1.10 分子对接

通过网络分析鉴定的蛋白质，其晶体结构从蛋白质数据库中检索获得。研究中使用的蛋白质及其PDB ID分别为FABP4（1TOU）、HIF1A（8HE0）、

EGFR(1M14)、AR(1XOW)、MAPK3(3FXW)、PIK3CA(4TUU)这些蛋白质的结构均通过Maestro 4.6进行处理和准备，先进行受体蛋白预处理，导入受体结构(PDB格式)至Maestro工作区，使用Protein Preparation Wizard模块，进行补全缺失残基、优化氢键网络(H-bond Assignment)、去除水分子；对配体分子进行处理，通过LigPrep模块，生成质子化状态、枚举立体异构体(保留手性中心)。其次，对结合位点定义，使用Receptor Grid Generation，指定活性口袋(基于共晶配体或文献报道残基)，设置格点盒子尺寸。然后，设置分子对接运行对接参数，选择Glide模块，分析结果。最后利用Pymol 2.5进行可视化验证。

2 结果

2.1 鸡骨草化合物的筛选

基于TCMSP数据库筛选鸡骨草的活性成分，另外文献报道鸡骨草有抗肝纤维化的作用，故进行补充后共获得12个活性成分。表1中重点展示了鸡骨草活性成分以及核心成分信息。

表1 鸡骨草化合物筛选

Mol ID	化合物名称	OB/%	DL
MOL002975	Butin	69.94	0.21
MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL003651	Soyasapogenol E	37.64	0.75
MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
MOL013315	Abrisapogenol A	17.58	0.75
MOL003657	Abrisapogenol D	17.64	0.75
MOL007680	Abrine	70.83	0.09
MOL007413	Schaftoside	4.68	0.82
MOL004958	Isoschaftoside	17.38	0.83
MOL003653	Kaikasaponin Ⅲ	11.35	0.05
MOL007681	Sophoradiol	17.55	0.76
MOL007679	Hypaphorine	1.96	0.12

2.2 肝纤维化铁死亡数据获取及预处理

通过GEO数据库下载肝纤维化基因芯片数据集(GSE139602、GSE197112、GSE199656和GSE285291)，将GSE139602和GSE197112合并、批次校正及PCA分析得到17 731个基因。运用FerrDb网站获取铁死亡基因396个，见附图1。

2.3 肝纤维化铁死亡靶点筛选

采用R语言提取肝纤维化铁死亡基因，运用“limma”包分析得到差异基因，同时采用“ggplot2”包对差异基因绘制火山图及热图。以“pheatmap”包对差异基因进行聚类分析，进一步进行WGCNA分析，排除异常信息及异常样本，构建共表达网络，将基因分为不同的模块，不同基因模块与表型数据关联分析，计算筛选出与患病相关性最高的基因模块，见附图2。

2.4 核心靶点的获取及“核心中药-活性成分-交集靶点-疾病”网络图的构建

鸡骨草活性成分预测出301个作用靶点，由肝纤维化靶点系统的构建中获得9 996个肝纤维化的疾病靶点；将鸡骨草、铁死亡和肝纤维化的疾病靶点取交集，用韦恩图显示出来，共得到27个交集靶点，见附图3A。此交集靶点可能是鸡骨草防治肝纤维化铁死亡的潜在基因。将其导入STRING数据库中，Organisms选择“Homo sapiens”物种，置信度选择0.4；隐藏网络中未连接的游离节点，得到交集靶点的蛋白互作图，见附图3B。将活性成分预测靶点、肝纤维化及铁死亡靶点导入软件Cytoscape 3.10中，从而得到活性成分-疾病靶点交集网络图，见附图3C。同时，对以上交集靶点进行一致性聚类，见附图3D~G。

2.5 富集分析

在鸡骨草治疗肝纤维化潜在治疗靶点的GO富集分析中，生物功能(BP)富集前10名条目涉及：对氧化应激的反应、细胞对化学应激的反应、细胞分解代谢过程的调节、miRNA转录的调节、miRNA转录、调节前体代谢物和能量的产生、调节miRNA代谢过程、炎症反应的调节、对肽激素的反应、miRNA代谢过程；细胞组分(CC)前10涉及：凯沃拉、核包膜、质膜筏、膜筏、富含Ficolin-1的颗粒腔、膜微结构域、核膜、囊泡管腔、富含Ficolin-1的颗粒、三级颗粒腔；分子功能(MF)前10个条目涉及：DNA结合转录因子结合、RNA聚合酶II特异性DNA结合转录因子结合、核受体活性、配体激活的转录因子活性、氧化还原酶活性(作用于单个供体，掺入分子氧，掺入两个氧原子)、氧化还原酶活性(作用于掺入分子氧的单个供体)、磷蛋白结合、转录共激活因子结合、铁离子结合、p53结合。鸡骨草活性成分-潜在作用靶点-通路前10名通路包括：癌症中的中心碳代谢、癌症中的蛋白聚糖、EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药、化学致癌作用-受体激活、癌症中的MicroRNA、人类巨细胞病毒感染、PD-L1在癌症中的表达和PD-1检查点通路、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、甲状腺激

素信号通路、催乳素信号通路等，见附图4。

2.6 机器学习

进行机器学习模型筛选，其中随机森林分析（曲线下面积AUC=0.858 5）、XGBoost分析（曲线下面积AUC=0.703 1）准确性较高，见附图5A。故采取随机森林分析及XGBoost分析进行筛选。对肝纤维化铁死亡基因进行随机森林分析，以重要性得分>0.5共获得10种基因，包括*SCD*、*PIK3CA*、*FABP4*、*AR*、*GSK3B*、*MDM4*、*HIF1A*、*PTPN6*、*STAT3*、*PTGS2*，见附图5B。对肝纤维化铁死亡基因进行XGBoost分析，筛选10个特征基因*FABP4*、*NR4A1*、*EGFR*、*AR*、*MAPK3*、*MDM2*、*PIK3CA*、*G6PD*、*ABCC1*、*CDC25A*，见附图5C。对WGCNA分析及机器学习（RF、XGBoost）、核心基因交集，获得肝纤维化铁死亡特征基因*AR*、*FABP4*，见附图5D。

*AR*作为核受体超家族成员，在肝纤维化进程中发挥着多重调控作用。研究表明，在肝纤维化微环境中，炎症因子IL-6通过激活STAT3信号通路促进*AR*表达上调，而*AR*又可作为STAT3的共激活因子，形成正反馈循环，持续放大炎症信号。更重要的是，*AR*信号通路的异常激活会直接导致细胞内抗氧化系统失衡，具体表现为谷胱甘肽合成减少和GPX4活性下降，这两个关键变化显著增强了细胞对铁死亡的敏感性。提示鸡骨草可能通过干预AR-STAT3信号轴，同时抑制炎症反应和铁死亡进程，这为其抗肝纤维化作用提供了新的机制解释。

另一方面，*FABP4*作为脂质代谢的关键调控因子，在连接脂代谢紊乱与铁死亡中起着核心作用。在肝纤维化进程中，*FABP4*表达上调促进长链脂肪酸的细胞内转运和积累，导致脂质过氧化水平显著升高，直接触发铁死亡发生机制。值得注意的是，*FABP4*是PPAR信号通路的重要下游效应分子，而PPAR通路在调节脂质代谢、氧化应激和炎症反应中具有核心地位。富集分析结果显示PPAR通路显著富集，进一步支持了*FABP4*通过调控脂质过氧化参与铁死亡的机制假说。鸡骨草活性成分与*FABP4*的稳定结合，表明其可能通过干预*FABP4*介导的脂质代谢重编程，恢复肝脏脂质稳态，从而抑制铁死亡相关的脂质过氧化损伤。

在功能机制方面，*AR*可调节肝脏脂质代谢与铁稳态，可能通过影响抗氧化蛋白表达，加剧脂质过氧化进程，从而促进铁死亡发生。*FABP4*作为脂质分子伴侣，在肝脏脂质代谢紊乱及胰岛素抵抗中发挥关键作用，其高表达可能通过促进脂毒性及氧化应激，进一步推动肝星状细胞活化与纤维化进程。两者在铁代谢、氧化应激及脂质代谢等铁死亡核心环节中均扮演重要角色，提示其作为肝纤维化进程中铁死亡调控关键节点的潜力。

2.7 MR分析

脂肪酸结合蛋白（fatty acid-binding protein 4，FABP4）特征基因的SNP作为暴露因子，获得ID prot-b-71，肝纤维化的SNP作为结果因子，获得ID ebi-a-GCST90091033。虽然，*P*值均>0.05（IVW：*P*=0.930，MR-Egger：*P*=0.653），OR值接近1且置信区间包含1（IVW：OR=0.998，95%*CI*=0.945～1.053），且IVW、加权中位数、加权模式等方法均未显示显著关联，表明无统计学意义的因果关系。但是，留一法分析中整体*P*=0.05接近显著性阈值，可能提示微弱关联，但需结合其他方法结果。简单模式的OR=1.121（*P*=0.075）显示微弱正向趋势，故后续将进一步通过ROC进行验证。雄激素受体（androgen receptor，AR）特征基因的SNP作为暴露因子，获得ID ebi-a-GCST90018905，肝纤维化的SNP作为结果因子，获得ID ebi-a-GCST90091033。虽然，方法的*P*值均>0.05（IVW：*P*=0.606，MR-Egger：*P*=0.591），OR值接近1且置信区间包含1（IVW：OR=1.011，95%*CI*=0.969～1.055）。IVW、加权中位数（OR=0.971）、加权模式（OR=0.951）等方法均未显示显著关联，表明无统计学意义的因果关系，但是简单模式的*P*=0.075（OR=1.121，95%*CI*=0.991～1.269）接近显著性阈值，故后续将进一步进行ROC分析验证，见附图6。

2.8 基因验证

将训练集基因芯片数据（GSE199656和GSE285291）合并并去批次后，分别与基因*AR*与*FABP4*进行验证，运用ROC曲线能更好地判断*AR*、*FABP4*作为疾病特征基因的准确性，研究结果显示，对*AR*基因ROC来说，曲线下面积AUC=0.591，见附图7A。对于*FABP4*基因ROC来说，曲线下面积AUC=0.623，见附图7B。两者均>0.5，说明*AR*、*FABP4*作为疾病特征基因的准确性较高。

2.9 特征基因的富集通路

进一步探究2个特征基因（*AR*、*FABP4*）作用的KEGG通路，找到*AR*对应hsa05207 Chemical carci-

nogenesis-receptor activation（化学致癌作用-受体激活）及 hsa05215 Prostate cancer（前列腺癌）；*FABP4* 对应 hsa03320 PPAR signaling pathway（PPAR 信号通路）及 hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes（脂肪细胞脂肪分解的调节），见附图 8。

2.10 分子对接

将鉴定出的化合物与选定的蛋白质对接，以测量其结合亲和度，并分析其合理的结合模式。除了筛选出的 2 个特征基因（*FABP4*、*AR*）进行分子对接，笔者选取了一些 degree 值较高的相关基因（*HIF1A*、*EGFR*、*MAPK3*、*PIK3CA*）进行对接。其中对于 *FABP4* 其对应的活性成分 Sophoradiol、ypaphorine、Soyasapogenol E，其中 *FABP4* 只能与 Hypaphorine 成功对接。其对接值为 −7.044。*HIF1A* 与 butin 对接值为 −4.812，*EGFR* 与 Soyasapogenol 对接值为 −2.799，*AR* 与 Sophoradiol 对接值为 −2.464，*MAPK3* 与 Soyasapogenol E 对接值为 −2.606，PIK3CA 与 Hypaphorine 对接值为 −5.596，见附图 9。

3 讨论

肝纤维化作为慢性肝病向肝硬化发展的重要病理过程，对患者预后产生显著影响[11]，其进展与铁死亡介导的脂质过氧化密切相关。当前，铁死亡参与肝纤维化的具体机制尚未完全阐明，使得从铁死亡这一独特视角开展肝纤维化研究成为当下的热点领域。铁死亡是一种依赖铁离子的程序性细胞死亡形式，与铁代谢、脂质代谢以及氨基酸抗氧化系统存在紧密联系。研究表明，铁死亡在肝纤维化的发生与进展中扮演着重要角色[12]，有望成为预防和治疗肝纤维化的新靶点。既往研究显示，诸多中药成分能够通过调控铁死亡途径抑制肝纤维化进程[13]。本研究聚焦于广西道地药材鸡骨草，旨在深入探讨其治疗肝纤维化与铁死亡的相关机制，为中药抗肝纤维化研究开辟新的思路。

在本研究中，创新性地融合了网络药理学、分子对接、生物信息学以及机器学习算法等多种前沿技术手段，系统性地解析了鸡骨草通过铁死亡途径干预肝纤维化的潜在分子机制。首先，借助 TCMSP 数据库对鸡骨草的活性成分进行了筛选，并从 GEO 和 FerrDb 数据库分别获取了肝纤维化及铁死亡相关基因。通过批次校正、差异分析以及 WGCNA 模块构建等生物信息学方法对数据进行整合处理，从而确保了数据分析的准确性和可靠性。将鸡骨草、肝纤维化及铁死亡三者的基因交集进行取交集操作，成功筛选出核心基因，并基于 STRING 和 Cytoscape 平台构建了蛋白互作网络及“药物-成分-靶点-疾病”网络，为初步锁定潜在关键靶点奠定了坚实基础。在此基础上，运用 GO 与 KEGG 富集分析深入挖掘核心通路，结果显示靶点主要富集于氧化应激反应及核受体活性等相关功能，而通路则集中富集于癌症代谢以及 PPAR 信号通路，这一发现充分展现了中药多成分、多靶点、多通路协同作用的整体调节优势。

为了进一步提高关键基因筛选的准确性与可信度，本研究结合 RF 和 XGBoost 两种机器学习算法对海量数据进行深度挖掘与分析，最终精准筛选出 *AR* 与 *FABP4* 这两个关键特征基因。后续通过严谨的 MR 分析以及 ROC 曲线验证，证实了 *AR* 和 *FABP4* 作为特征基因在诊断和预测肝纤维化方面具有较高的准确性，且分析结果显示无异质性，从而为这两个基因在肝纤维化研究中的重要地位提供了有力证据。最终，借助分子对接实验，成功验证了 *AR*、*FABP4* 等基因与鸡骨草活性成分之间存在稳定的结合模式，这一关键实验结果为从分子水平阐明鸡骨草活性成分与靶蛋白的具体作用机制提供了直观且具有说服力的实验依据。

探讨 *AR* 的生物学功能及其在肝纤维化中的作用机制发现，*AR* 属于核受体超家族中的类固醇受体[14]，其结构由 N 端转录激活区、DNA 结合区、铰链区以及配体结合区 4 个重要结构域构成[15]。研究表明，*AR* 与其他信号通路的交互作用可能导致肝细胞癌的发生风险显著增加，并且其在调控氧化应激、炎症反应以及肝星状细胞活化等关键病理过程中发挥着核心作用。血清中的 IL-6 作为一种促炎性细胞因子，能够通过激活下游信号通路，促进肿瘤的发生、侵袭和转移，进而调节炎性反应相关癌症的发展进程[16]。具体而言，IL-6 水平的升高可激活 STAT3 信号通路，引发 STAT3 的磷酸化，进而导致 *AR* 表达上调。同时，STAT3 还能够与 *AR* 产生交互作用，作为 *AR* 的共激活因子参与 downstream 信号转导[17]。研究证实[18]，17β-雌二醇可通过抑制 *AR* 的表达，减少肝癌细胞的增殖，并且在 *AR* 过表达的肝癌细胞中，其能够有效降低 STAT3 的磷酸化水平，这表明削弱 IL-6、STAT3 信号转导通路具有抑制肝癌

发展的潜力。此外，*AR*在胰高血糖素介导的糖脂代谢过程中同样发挥着关键作用[19]。综合上述研究结果可以推断，*AR*主要通过IL-6、STAT3信号通路调控氧化应激和炎症反应，进而加剧肝星状细胞的活化[20]，推动肝纤维化进程。因此，鸡骨草可能通过抑制*AR*介导的STAT3磷酸化过程，进而对肝功能产生积极影响。

*FABP4*是一种由脂肪细胞分泌的多功能因子，广泛参与脂肪酸的运输、代谢以及信号转导过程[21]，并且在肝脏等组织中具有广泛的表达分布。既往研究显示，L-FABP在不饱和脂肪酸、饱和脂肪酸、胆固醇以及胆汁酸等多种脂质物质的转运过程中扮演着不可或缺的角色。更为重要的是，目前多项研究表明L-FABP在脂肪肝、肝硬化以及肝癌的发生发展进程中发挥着关键作用，其有望成为肝损伤早期诊断的潜在生物标志物[22]。作为一种在肝脏内含量丰富的细胞内蛋白质，L-FABP归属于细胞内脂质结合蛋白家族，具有独特的生物学功能，其参与了脂肪酸和其他脂质配体的吸收、转运以及代谢过程，并且与核信号传导、细胞内脂解作用等关键生理过程存在密切关联[23]。综合分析表明，*FABP4*在PPAR信号通路中处于核心地位，能够通过精细调控脂质过氧化水平来影响铁死亡的进程[24,25]。而鸡骨草活性成分与*FABP4*的稳定结合现象表明，鸡骨草可能通过干预脂代谢紊乱，进而实现对铁死亡的有效抑制，为肝纤维化的治疗提供了新的策略方向。

从临床转化视角来看，*AR*和*FABP4*不仅可作为肝纤维化诊断的潜在生物标志物，更重要的是为肝纤维化治疗提供了新的靶点思路。传统抗纤维化治疗多聚焦于单一靶点，而鸡骨草的多成分特性使其能够同时作用于*AR*相关的炎症-氧化应激轴和*FABP4*介导的脂代谢-铁死亡轴，这种多靶点干预模式更符合肝纤维化复杂病理网络的治疗需求。特别值得关注的是，铁死亡作为代谢性细胞死亡方式，与肝纤维化中的代谢重构密切相关，针对铁死亡的干预可能成为阻断肝纤维化进展的突破点。

综上所述，本研究运用系统药理学的研究方法，对鸡骨草调控肝纤维化铁死亡过程的潜在分子机制进行了全面而深入的探究。研究结果表明，鸡骨草能够通过作用于*AR*、*FABP4*等关键靶点，进而实现对铁死亡的有效调控。这些关键靶点的功能主要集中在抗氧化活性、转录活性的调控以及参与多种信号通路的传递过程，其中相关信号通路涵盖了化学致癌作用-受体激活、PPAR信号通路以及脂肪细胞脂肪分解的调节等重要途径。由此可见，鸡骨草极有可能通过调控氧化应激、炎症反应以及干预脂代谢紊乱等多种途径，对铁死亡的发生发展产生重要影响，从而发挥其抗肝纤维化的作用优势。

本研究为鸡骨草抗肝纤维化的分子机制提供了系统且全面的理论证据，进一步凸显了鸡骨草在调控铁死亡通路中的独特潜力和优势，为中药现代化研究以及广西特色药材的开发与应用奠定了坚实的理论基础。然而，本研究存在以下局限性，研究主要基于公共数据库，样本来源的异质性可能对结果产生影响；机器学习模型虽然具有较好的预测性能，但其在临床样本中的普适性仍需验证；铁死亡在不同阶段肝纤维化中的动态变化规律仍需深入研究。这些局限性也为未来研究指明了方向。后续研究将着重开展相关体内实验和临床试验，以进一步完善鸡骨草在肝纤维化治疗中的应用价值和作用机制，为肝纤维化的临床治疗提供更具科学性和实用性的新策略和新观点。

附图1~9见本文知网页面。

参考文献

[1] 陆伦根，尤红，谢渭芬，等.肝纤维化诊断及治疗共识(2019年)[J].实用肝脏病杂志，2019，22(6)：793-803.

[2] 唐银佩，朱平生.中药活性成分及复方调控铁死亡防治肝纤维化机制研究进展[J].中国现代应用药学，2025，42(15)：2726-2734.

[3] 徐雅玲，王波.药物诱导铁死亡调控肝纤维化的相关机制[J].国际免疫学杂志，2025，48(1)：69-74.

[4] 郭晓玲，贾战生，张静.中药逆转肝纤维化的分子机制[J].临床肝胆病杂志，2025，41(1)：170-175.

[5] 刘诚军.基于化学成分分析与代谢组学的鸡骨草抗非酒精性脂肪肝病作用机制与药效物质初探[D].桂林：广西师范大学，2024.

[6] 李庭树，黄锁义.鸡骨草的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].中国实验方剂学杂志，2019，25(10)：226-234.

[7] 曾珍，刘燕萌，王艺涵，等.经典名方中鸡骨草和毛鸡骨草的本草考证[J].中国实验方剂学杂志，2025，31(17)：193-201.

[8] 李爱媛，周芳，成彩霞.鸡骨草与毛鸡骨草对急性肝损伤的保护作用[J].云南中医中药杂志，2006，27(4)：35-36.

[9] 马紫慧，张思宁，张晓蕾，等.中医药靶向调控PI3K/Akt信号通路治疗非酒精性脂肪性肝病研究进展[J].山东中医杂志，2025，44(4)：481-488.

[10] Guo G Y，Yang W T，Sun C，*et al*.Dissecting the potential role of ferroptosis in liver diseases：an updated review[J].Free Radic Res，2023，57(4)：282-293.

[11] 王宇明，于乐成.肝脏炎症及其防治专家共识[J].中国实用内

科杂志,2014,34(2):152-163.
[12] Bi Y G,Liu S L,Qin X,*et al*.FUNDC1 interacts with GPx4 to govern hepatic ferroptosis and fibrotic injury through a mitophagy-dependent manner[J].J Adv Res,2024,55:45-60.
[13] 李浩,吴勉华,马艳霞,等.中药调控铁死亡抑制肝纤维化的研究进展[J].南京中医药大学学报,2023,39(6):587-593.
[14] Bannister P,Meystre C M,Losowsky M S.Androgen receptor concentrations in needle biopsy specimens of human liver[J].Liver,1988,8(1):28-31.
[15] Supakar P C,Jung M H,Song C S,*et al*. Nuclear factor κB functions as a negative regulator for the rat androgen receptor gene and NF-κB activity increases during the age-dependent desensitization of the liver[J].J Biol Chem,1995,270(2):837-842.
[16] Wang R H,Cai S L,Liu D H,*et al*. Research progress of androgen/androgen receptor signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J].Cancer Res Prev Treat,2023,50(2): 180-185.
[17] Pu R,Liu W B,Zhou X Y,*et al*. The effects and underlying mechanisms of hepatitis B virus X gene mutants on the development of hepatocellular carcinoma[J].Front Oncol,2022,12:836517.
[18] Sun H Y,Yang W Q,Tian Y,*et al*. An inflammatory-CCRK circuitry drives mTORC1-dependent metabolic and immunosuppressive reprogramming in obesity-associated hepatocellular carcinoma[J].Nat Commun,2018,9:5214.
[19] Lee S,Lee M,Bin Kim J,*et al*. 17β-estradiol exerts anticancer effects in anoikis-resistant hepatocellular carcinoma cell lines by targeting IL-6/STAT3 signaling[J].Biochem Biophys Res Commun,2016,473(4):1247-1254.
[20] Chen J,Wu Y Y,Hao W Y,*et al*. Non-canonical hepatic androgen receptor mediates glucagon sensitivity in female mice through the PGC1α/ERRα/mitochondria axis[J].Cell Rep,2025,44(1):115188.
[21] Lv J,Hu Y M,Li L L,*et al*. Targeting *FABP4* in elderly mice rejuvenates liver metabolism and ameliorates aging-associated metabolic disorders[J].Metabolism,2023,142:155528.
[22] 王瑞华,蔡仕良,柳东红,等.雄激素/雄激素受体信号通路在肝细胞癌中的研究进展[J].肿瘤防治研究,2023,50(2):180-185.
[23] 王南南,徐力致,王亚平.肝型脂肪酸结合蛋白研究进展[J].生命科学,2012,24(2):139-144.
[24] 孙瑞青,赵严,贾蓉蓉,等.L-FABP与脂类代谢相关疾病的研究进展[J].胃肠病学和肝病学杂志,2014,23(4):368-372.
[25] Yang H R,Deng Q M,Ni T,*et al*.Targeted Inhibition of LPL/FABP4/CPT1 fatty acid metabolic axis can effectively prevent the progression of nonalcoholic steatohepatitis to liver cancer[J].Int J Biol Sci,2021,17(15):4207-4222.

(收稿日期:2025-09-07;在线出版日期:2026-05-09)