



基于网络药理学与分子对接探讨板连紫金散 防治肉鸡热应激的作用机制

左宗韬¹, 杨泊文¹, 李雨清¹, 杜肖肖¹, 奚凯伦¹, 高 雲¹, 梅家慧¹,
郭世宁^{1,2}, 石达友^{1,2}, 刘 翠^{1,2*}

(1. 华南农业大学兽医学院, 广州 510000; 2. 广东省兽用中药与天然药物工程技术研究中心, 广州 510642)

摘 要: 本文旨在通过网络药理学、分子对接及动物试验探讨板连紫金散防治热应激肉鸡的作用机制。使用TCMSP平台筛选板连紫金散活性成分及作用靶点, GeneCards数据库分析热应激疾病相关靶点, 通过Venny与Cytoscape3.7.2软件绘制板连紫金散与热应激疾病交集靶点图, 利用STRING数据库建立蛋白相互作用网络, 在DAVID数据库、meatscape数据库中进行靶点GO功能富集与KEGG通路富集分析。动物试验将300只1日龄肉鸡, 随机均分为5组, 除空白组外, 其余组均以环境温度 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热应激处理42 d, 其中3个给药组分别在基础日粮中添加0.5%、1%、2%的中药复方, 模型组与空白组饲喂基础日粮。试验期间, 记录肉鸡直肠温度, 检测肉鸡血清炎症因子(IL-6、TNF- α 及IL-10)、肝脏组织损伤相关分子模式因子(HSP70、HSP90)及肝脏炎症因子(IL-6、TNF- α 及IL-10)水平, 并观察肉鸡肝脏病理组织损伤情况。结果表明, 板连紫金散和热应激交集靶点122个, 脂质与动脉粥样硬化与癌症通路是富集基因数和显著性较高的通路, 分子对接结果显示板连紫金散潜在靶点较多的成分与热应激疾病核心靶点结合较好; 板连紫金散能显著降低热应激第14、28、42天肉鸡血清中IL-6、TNF- α 含量($P<0.05$), 显著升高IL-10含量($P<0.05$), 显著降低肝脏组织中HSP70、HSP90、IL-6、TNF- α 含量($P<0.05$), 显著升高IL-10含量($P<0.05$); 热应激第14天, 肉鸡肝脏组织轻度损伤, 板连紫金散组肝脏组织未见明显异常, 热应激第28、42天, 肉鸡肝脏组织损伤程度逐渐加重, 板连紫金散组未见明显损伤。综上, 板连紫金散能缓解热应激导致的肉鸡生长性能、肝脏功能损伤, 多种活性成分可通过IL-6、IL-10、TNF- α 、HSP70等关键靶点, 调节多条信号通路以缓解肉鸡热应激损伤。

关键词: 网络药理学; 板连紫金散; 热应激; 肉鸡; 热休克蛋白

中图分类号: S853.74

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)03-1722-15

Exploring the Mechanism of Action of Banlian Zijinsan against Heat Stress in Broiler Chickens based on Network Pharmacology and Molecular Docking

ZUO Zongtao¹, YANG Bowen¹, LI Yuqing¹, DU Xiaoxiao¹, XI Kailun¹, GAO Yun¹,
MEI Jiahui¹, GUO Shining^{1,2}, SHI Dayou^{1,2}, LIU Cui^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510000, China;

2. Guangdong Technology Research Center for Traditional Chinese Veterinary Medicine and Nature
Medicine, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This study aimed to investigate the mechanism of Banlian Zijin San (BLZJS) in preventing and treating heat stress in broilers using network pharmacology, molecular docking, and animal

收稿日期: 2025-07-07

基金项目: 国家自然科学基金(32273046); 广东省企业科技特派员专项(GDKTP2021054500)

作者简介: 左宗韬, 硕士生, 主要从事中兽药研发及应用研究, E-mail: zuozt@stu.scau.edu.cn

* 通信作者: 刘 翠, 主要从事中兽药研发及应用研究, E-mail: liuc@scau.edu.cn

experiments. Active components and targets of BLZJS were screened using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Heat stress-related disease targets were identified via the GeneCards database. Venny and Cytoscape 3.7.2 software were used to map BLZJS-heat stress intersection targets and construct a "drug-component-disease-target" network. The STRING database established a protein-protein interaction (PPI) network. GO functional enrichment and KEGG pathway enrichment analyses of targets were performed using DAVID and Metascape databases. The results of network pharmacology showed that 122 targets were intersected between Banlian Zijinsan and heat stress, and the lipid and atherosclerosis and cancer pathways were the ones with higher number of enriched genes and significance, and the molecular docking results showed that the components of Banlian Zijinsan with higher number of potential targets bound better to the core targets of heat stress diseases; For the animal experiments, 300 1-day-old broiler chickens were randomly divided into 5 groups. Except for the control group, all other groups were subjected to heat stress treatment at an ambient temperature of 37 ± 2 °C for 42 days. Three treatment groups were added with 0.5%, 1%, and 2% of traditional Chinese medicine compound to their basal diet, while the model group and control group were fed with basal diet. During the experiment, Banlian Zijin San could significantly reduce the levels of IL-6 and TNF- α in the serum of broiler chickens on days 14, 28, and 42 of heat stress ($P < 0.05$), significantly increased the level of IL-10 ($P < 0.05$), significantly reduced the levels of HSP70, HSP90, IL-6, and TNF- α in liver tissue ($P < 0.05$), and significantly increased the level of IL-10 ($P < 0.05$). Mild liver damage occurred in the model group on day 14, but not in BLZJS groups. Liver damage worsened in the model group on days 28 and 42, while BLZJS groups showed no significant damage. BLZJS alleviates heat stress-induced impairments in broiler growth performance and liver function. Its multiple active components likely regulate key targets (IL-6, IL-10, TNF- α , HSP70) and signaling pathways to mitigate heat stress.

Keywords: network pharmacology; banlian zijinsan; heat stress; broiler; heat shock protein

* **Corresponding author:** LIU Cui, E-mail: liuc@scau.edu.cn

热应激是影响家禽养殖业发展的主要环境应激因素之一,与其他动物相比,禽类具有基础体温高、代谢旺盛、皮肤无汗腺等特点,对温度相关的环境威胁(如热应激)更加敏感^[1]。广东夏季湿热且漫长,外界温度较高,一旦鸡舍内温度控制不当,极易造成热应激反应,严重影响鸡群的正常生产能力,致其体重增加缓慢,饲料利用率下降,产蛋率降低等,对现代化规模养禽业造成严重经济损失^[2]。热应激通过改变肉鸡的生理和生化反应,加速机体代谢,持续消耗机体营养储备,导致生长、生产性能降低,饲料利用率下降,甚至引起肉鸡死亡^[3]。因此,寻找有效的措施缓解热应激损伤已成为当前研究热点。

目前,热应激主要通过补充维生素、改变喂养策略及改善饲养条件等措施进行防治,其中在饲料

中添加药物是缓解热应激的重要手段^[4]。中药饲料添加剂可促进动物生长,提升对营养物质的消化吸收,改善动物免疫力等^[5]。现代研究表明,中药富含多种生物活性成分、维生素、矿物质及微量元素,可通过协调机体热平衡、调节激素分泌、提高采食量及免疫机能等多个途径发挥作用,缓解热应激带来的危害^[6]。复方板连紫金散由板蓝根、连翘、紫锥菊、金银花、鱼腥草、藿香及薄荷组成,方中板蓝根和连翘配伍为君药,具有清热解毒,疏散风热等功效;紫锥菊具有免疫调节、抗炎及抗氧化作用,金银花和鱼腥草则常用于解热复方,三者配伍为臣药;另有薄荷疏风散热,藿香发汗、降暑气,与紫锥菊合用可助其健脾祛湿之效。网络药理学是系统生物学的重要组成部分,其整体性、系统性及注重药物间相互作用的特点与中医学的基本特点相吻合,

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,为研究中药与现代药理学之间的相互关系搭建了桥梁^[7]。本研究通过网络药理学构建成靶点疾病作用网络,将核心靶点与相关性高的活性成分进行分子对接验证,再通过动物试验验证板连紫金散防治热应激肉鸡的作用机制,以期热应激的防治药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验药品

试验用中药复方板连紫金散由板蓝根(粤东药业有限公司)、连翘(山西太原药业有限公司)、紫锥菊(康达中药材种植专业合作社)、金银花(广东时珍制药有限公司)、鱼腥草(广东时珍制药有限公司)、藿香(清源中药饮片有限公司)、薄荷(普宁泽群中药有限公司)组成,按4:4:3:3:3:2:2比例经干燥粉碎后,过80目筛网混合制成。

1.2 试剂与仪器

EDTA抗凝剂真空采血管、无添加真空采血管、RNALater™动物组织RNA稳定保存液购自上海碧云天生物科技有限公司,兽用水银体温计购自安徽方达药械有限公司,HSP70、HSP90、TNF- α 、IL-6、IL-10试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

全自动动物生化分析仪(BS-380)购自广州市上菱生物技术有限公司,低温高速离心机(5425R)购自珠海黑马医学仪器有限公司,恒温水浴锅(HWS24)购自广州中广测量检测技术有限公司,全自动样品快速研磨仪(TD24-WS)购自武汉塞维尔生物科技有限公司,酶标仪(MK3)购自Thermo Fisher公司(美国)。

1.3 数据库与分析平台

本研究所使用的数据库及分析平台主要有TCMSP数据库(<https://www.tcmsp-e.com/>)、GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)、PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、OMIM数据库(<https://www.omim.org/>)、DAVID数据库(<https://david-d.ncifcrf.gov/>)、Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical数据库(<https://phytochem.nal.usda.gov/>)、STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)、Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)、metascape数据库

(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)、Cytoscape 3.7.2软件、PyMol软件。

1.4 基于网络药理学和分子对接分析板连紫金散防治热应激的作用机制

首先通过TCMSP数据库筛选板连紫金散中各单味药的活性成分和作用靶点,筛选标准为口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 ,其中紫锥菊药物活性成分和作用靶点使用Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical数据库进行筛选;使用GeneCards数据库、OMIM数据库中以关键词“Heat stress”筛选热应激相关疾病靶点,并采用Uniprot数据库筛选连紫金散作用靶点与热应激相关靶点并绘制交集图;利用STRING数据库进行蛋白-蛋白互相作用分析,得到PPI网络图;将板连紫金散防治热应激的作用靶点交集信息导入Cytoscape3.7.2软件,构建其活性成分作用靶点疾病相互作用网络图;再使用Cytoscape3.7.2软件中的CentiScaPe2.2插件对靶点蛋白互作网络进行分析,通过degree值、closeness值及betweenness值三个参数筛选大于阈值的数据,得到靶点核心网络图;利用DAVID数据库,对板连紫金散与热应激的交集靶点进行GO功能与KEGG通路富集分析;对核心靶点中degree值排名靠前的靶点蛋白与板连紫金散中的主要有效活性成分进行分子对接,使用PyMol软件对对接结果进行可视化处理。

1.5 动物试验验证板连紫金散防治热应激的作用机制

1.5.1 试验分组及处理 试验动物为基龙恩州肉鸡,饲养周期63 d,由恩平基龙实业有限公司种鸡场提供。将300只1日龄肉鸡,适应性饲养21 d后随机均分为5组,分别为空白组、热应激组、复方低剂量组、复方中剂量组、复方高剂量组(每组3个重复,每个重复20羽)。基础日粮参照《中国鸡饲养标准》(NY/T33-2004)进行配制。试验分组与处理见表1,基础日粮组成及营养水平见表2。本研究涉及的所有动物实验程序符合华南农业大学实验动物伦理操作要求。

1.5.2 样品采集及处理 在热应激第14、28及42天采样,每组随机选取6只肉鸡,翅静脉采血,收集血清并于 -80°C 保存;采集肝脏,一部分置于10%甲醛溶液中,一部分于 -80°C 保存。

1.5.3 肝脏病理组织学检查 各组肉鸡肝脏经10%甲醛溶液固定后,用乙醇和二甲苯处理,石蜡包

表 1 试验分组与处理

Table 1 Experimental groupings and treatments

组别 Group	数量(羽) Number	处理 Treatment	给药 Medication
空白组 Control group	60	环境温度 24 °C±2 °C Environmental temperature 24 °C±2 °C	基础日粮 Basic diet
热应激组 Heat stress group	60	环境温度 37 °C±2 °C Environmental temperature 37 °C±2 °C	基础日粮 Basic diet
复方低剂量组 Compound low-dose group	60	环境温度 37 °C±2 °C Environmental temperature 37 °C±2 °C	基础日粮+0.5% 中药复方 Basic Diet+0.5% Herbal Compound
复方中剂量组 Compound medium dose group	60	环境温度 37 °C±2 °C Environmental temperature 37 °C±2 °C	基础日粮+1% 中药复方 Basic Diet+1% Herbal Compound
复方高剂量组 Compound high-dose group	60	环境温度 37 °C±2 °C Environmental temperature 37 °C±2 °C	基础日粮+2% 中药复方 Basic Diet+2% Herbal Compound

表 2 基础日粮组成及营养水平

Table 2 Composition and nutritional level of basic diets

原料组成 Raw material composition	含量/% Content	营养水平 Nutrient level	含量/% Content
玉米 Sorghum	61.00	粗蛋白 Crude protein	19.10
豆粕 Soybean Meal	29.30	蛋氨酸 Methionine	0.46
鱼粉 Fishmeal	3.40	赖氨酸 Lysine	1.00
石粉 Stone Powder	1.00	有效磷 Available phosphorus	0.92
碳酸氢钙 Calcium Bicarbonate	1.50	钙 Calcium	0.44
豆油 Soybean Oil	2.20		
食盐 Salt	0.30		
蛋氨酸 Methionine	0.20		
赖氨酸 Lysine	0.10		
预混料 Premix	1.00		
合计 Total	100.00		

1. 预混料为每千克饲粮提供:维生素 B1. 1.5 mg, 维生素 B2. 7.9 mg, 维生素 B6. 2.5 mg, 叶酸. 0.87 mg, 维生素 B12. 0.014 mg, 维生素 D. 1 260 IU, 维生素 K. 25 mg, 胆碱. 557 mg, 铜. 8.4 mg, 锌. 1 mg, 锰. 60 mg, 铁. 81.3 mg, 硒. 0.15 mg, 碘. 0.35 mg, 烟酸. 40 mg, 泛酸. 13 mg, 生物素. 0.15 mg。2. 饲粮营养水平为计算值

1. The premix provides: vitamin B1. 1.5 mg, vitamin B2. 7.9 mg, vitamin B6. 2.5 mg, folic acid. 0.87 mg, vitamin B12. 0.014 mg, vitamin D. 1 260 IU, vitamin K. 25 mg, choline. 557 mg, copper. 8.4 mg, zinc. 1 mg, manganese. 60 mg, iron. 81.3 mg, selenium. 0.15 mg, iodine. 0.35 mg, niacin. 40 mg, pantothenic acid. 13 mg, biotin. 0.15 mg. 2. Ration nutrient levels are calculated values

埋并切片,进行HE染色,观察肝脏组织病理变化。

1.5.4 肝脏热休克蛋白及炎症因子含量测定
各组肉鸡血清热应激指标 HSP70、HSP90 与血清炎症相关因子 IL-6、IL-10、TNF- α 均采用酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA) 试剂盒进行检测,具体操作严格按照商用说明书实施(上海酶联生物科技有限公司)。

1.6 数据处理与分析

利用 SPSS 20 软件统计分析试验数据,结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,多组数据比较采用单因素 ANOVA 分析各组间差异性,多重比较利用最小显著差数法和 Duncan's 新复极差检验法进行。采用 Origin 2021 软件作图。

2 结果

2.1 板连紫金散活性成分与作用靶点

通过 TCMSP 数据库及 Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical 数据库进行查找并筛选出符合口服生物利用度(OB)和类药性(DL)的活性成分共有 118 个,其中紫锥菊活性成分有 30 个。使用 Swiss Target Predication 预测 118 种活性成分的作用靶点,共获得板连紫金散活性成分的作用靶点 883 个。

2.2 热应激疾病相关靶点与板连紫金散交集靶点

在 GeneCards、OMIM 数据库中通过关键词“Heat stress”进行检索分析,共得到 672 个热应激疾病相关靶点。将板连紫金散活性成分的作用靶点与热应激疾病相关靶点导入 Venny 在线软件进行韦恩图的构建(图 1),得到板连紫金散与热应激交集靶点 122 个。

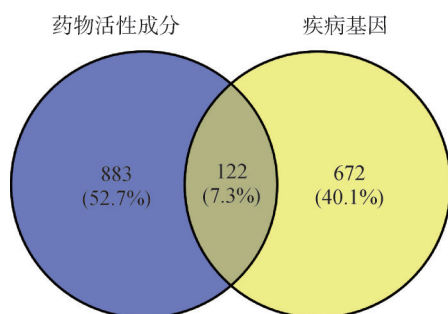


图 1 韦恩图

Fig. 1 Venny diagram

2.3 板连紫金散-热应激靶点网络分析与 PPI 网络构建

将板连紫金散活性成分的作用靶点和热应激

疾病相关靶点导入到 Cytoscape 3.7.2 中制作“药物-成分-疾病-靶点”网络互作图(图 2),通过分析其药物有效活性成分主要有金圣草黄素(Chryseriol)、高车前素(Dinatin)、芫花素(Genkwanin)、麝香草酚(thymol)、槲皮素(querccetin)等,这些有效成分提示为板连紫金散防治热应激疾病的作用靶点;对核心靶点进行 PPI 网络分析(图 3),结果显示,各节点平均 degree 值为 33.29,有 51 个靶点超过平均值,其中 degree 值较高的 AKT1、TNF、TP53、IL-6、IL-1 β 、HSP90,可能是板连紫金散防治热应激的关键靶点。

2.4 GO 功能分析和 KEGG 富集分析

使用 DAVID 数据库进行 GO 功能分析,得到 GO 条目 818 条($P < 0.05$),选择 BP、CC 和 MF 富集高的前 15 条进行可视化分析(图 4),发现板连紫金散与热应激交集靶点 GO 功能涉及凋亡过程的负调节、磷酸化、正向基因表达调控、信号转导、蛋白质磷酸化等,提示板连紫金散防治热应激疾病的靶点主要与调节凋亡、基因调控、磷酸化作用等密切相关。

使用 metascape 数据库进行 KEGG 富集分析,选择前 15 条信号通路进行可视化处理(图 5),经分析得出板连紫金散防治热应激疾病的信号通路主要涉及在脂质与动脉粥样硬化、癌症通路、血管内皮生长因子 A 与血管内皮生长因子受体 2 信号传导、对氧化应激的反应等信号通路。

2.5 分子对接验证

选择核心靶点中 degree 值排名靠前的靶点蛋白 HSP70、HSP90、TP53、AKT1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 与板连紫金散中的主要有效活性成分金圣草黄素、高车前素、芫花素、槲皮素、麝香草酚进行分子对接(图 6),其中麝香草酚、芫花素、金圣草黄素展现出了较好的结合效果,三者与靶点蛋白的结合能平均值为 $-19.75 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

2.6 板连紫金散对热应激下肉鸡血清炎症因子含量的影响

如图 7 所示,在热应激条件下,肉鸡血清细胞因子含量呈现动态变化:热应激第 14 和 28 天时,与空白组相比,热应激组血清 IL-6 含量极显著升高($P < 0.001$),与热应激组相比,复方中、高剂量组血清 IL-6 含量极显著降低($P < 0.01$);热应激第 42 天时,与空白组相比,热应激组血清 IL-6 含量显著升高($P < 0.05$),与热应激组相比,复方高剂量组血清

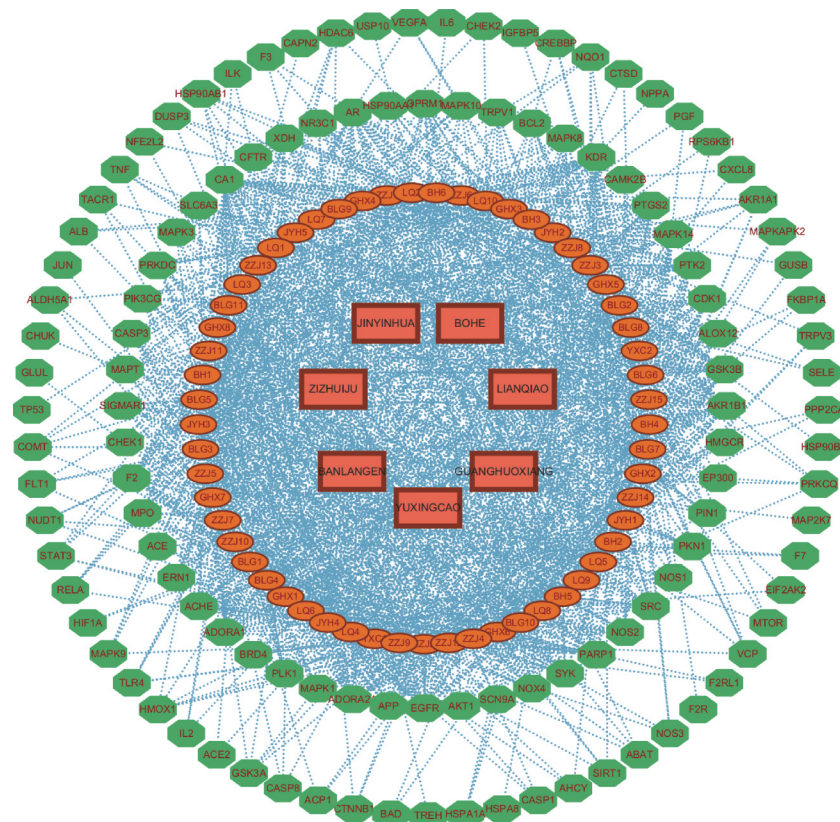


图2 药物-成分-疾病-靶点网络互作图

Fig. 2 Interaction diagram of drug component disease target network

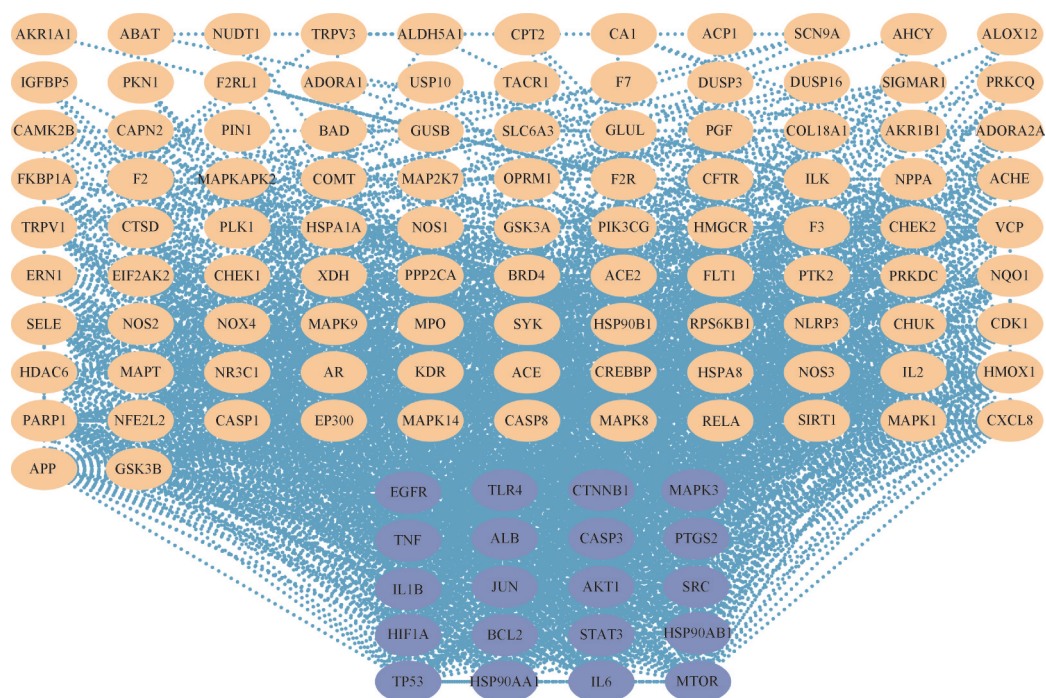


图3 核心靶点PPI网络图

Fig. 3 PPI network diagram of core targets

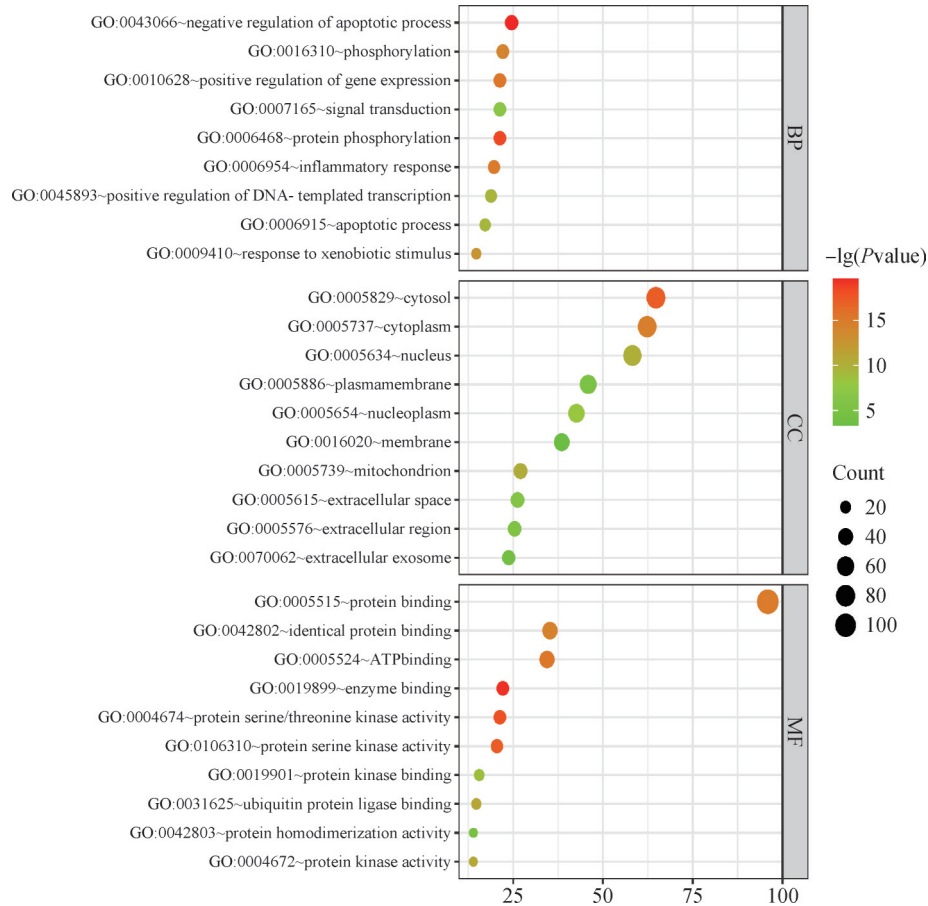


图4 GO功能分析

Fig. 4 GO function analysis

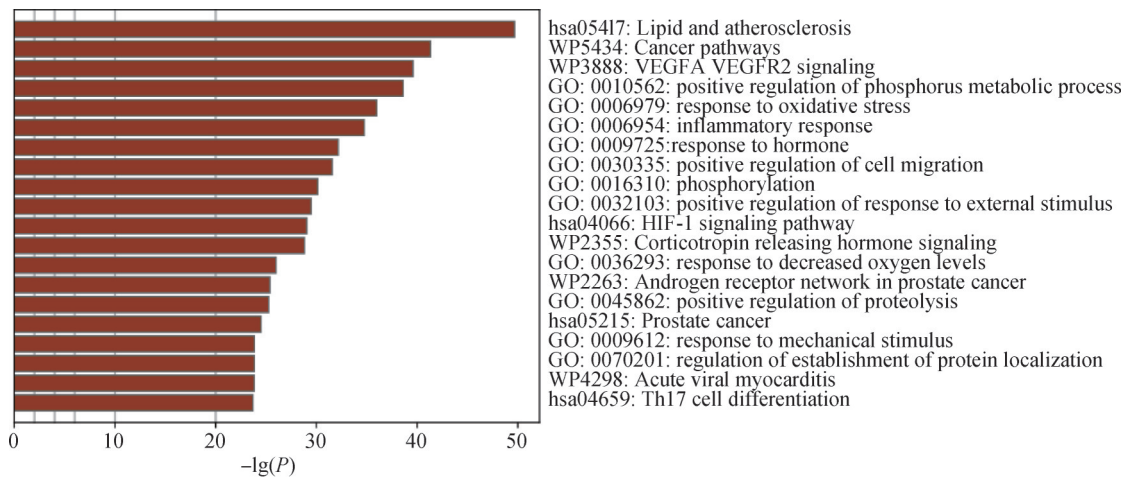
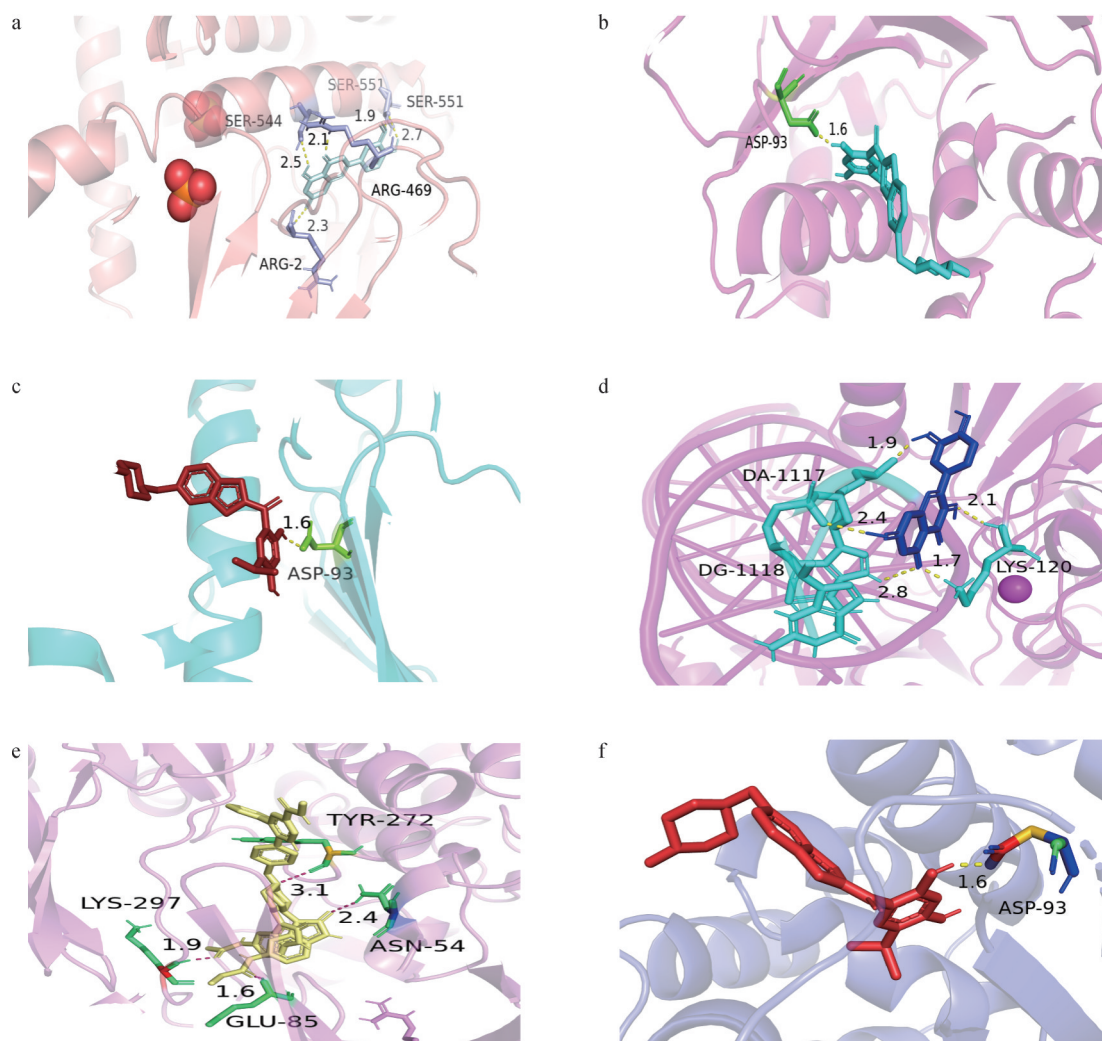


图5 KEGG富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis

IL-6 含量极显著升高 ($P < 0.01$)。在血清 IL-10 含量变化中,热应激第 14 天时,与热应激组相比,复方低、中剂量组血清 IL-10 含量显著极升高 ($P < 0.01$);热应激第 28 和 42 天时,与空白组相比,热应

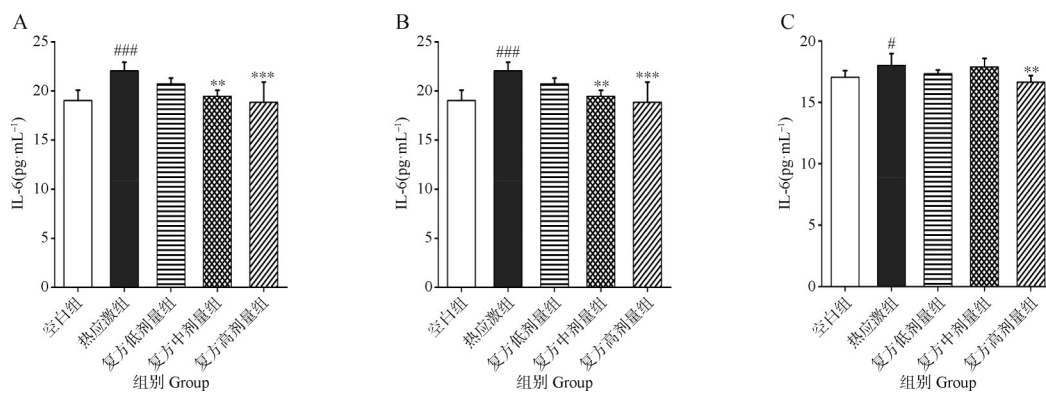
激组血清 IL-10 含量显著降低 ($P < 0.05$),与热应激组相比,复方低、中剂量组血清 IL-10 含量显著升高 ($P < 0.05$)。在血清 TNF- α 含量变化中,热应激第 14 天时,空白组与热应激组血清 TNF- α 含量无显著



a. 金圣草黄素-HSP70; b. 高车前素-HSP90; c. 芫花素-HSP90; d. 槲皮素-TP53; e. 麝香草酚-AKT1; f. 金圣草黄素-HSP90
a. Chryseriol-HSP70; b. Dinatin-HSP90; c. Genkwanin-HSP90; d. Quercetin-TP53; e. Thymol-AKT1; f. Chryseriol-HSP90

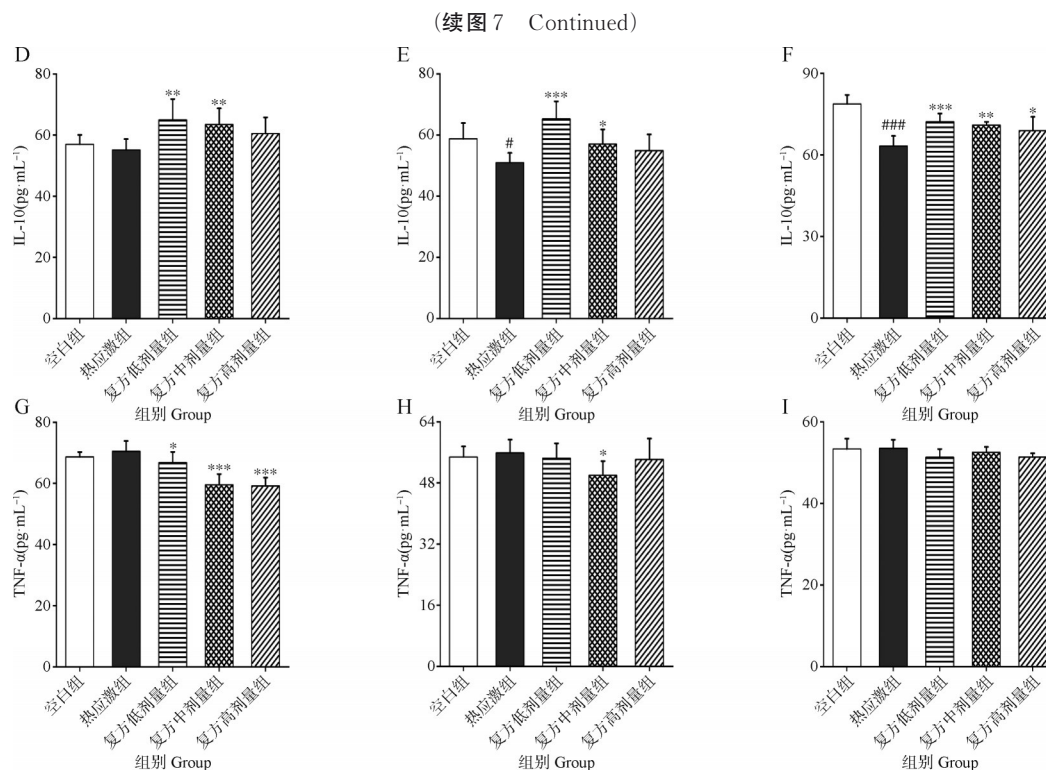
图6 主要活性成分与关键靶点分子对接可视化处理结果

Fig. 6 Visualization results of docking between main active ingredients and key target molecules



(图7 Fig.7)

(转下页 Carried forward)



A、D、G. 第14天; B、E、H. 第28天; C、F、I. 第42天。与空白组相比, #表示有统计学差异($P < 0.05$), ##表示有显著统计学差异($P < 0.01$), ###表示有极显著统计学差异($P < 0.001$); 与热应激组相比, *表示有统计学差异($P < 0.05$), **表示有显著统计学差异($P < 0.01$), ***表示有极显著统计学差异($P < 0.001$)

A, D, G. Day 14; B, E, H. Day 28; C, F, I. Day 42. Compared with the control group, # indicates statistical difference ($P < 0.05$), ## indicates significant statistical difference ($P < 0.01$), and ### indicates extremely significant statistical difference ($P < 0.001$); Compared with the heat stress group, * indicates statistical difference ($P < 0.05$), ** indicates significant statistical difference ($P < 0.01$), and *** indicates extremely significant statistical difference ($P < 0.001$)

图7 不同热应激时间对肉鸡血清细胞因子的影响

Fig. 7 The effect of different heat stress times on serum cytokines in broiler chickens

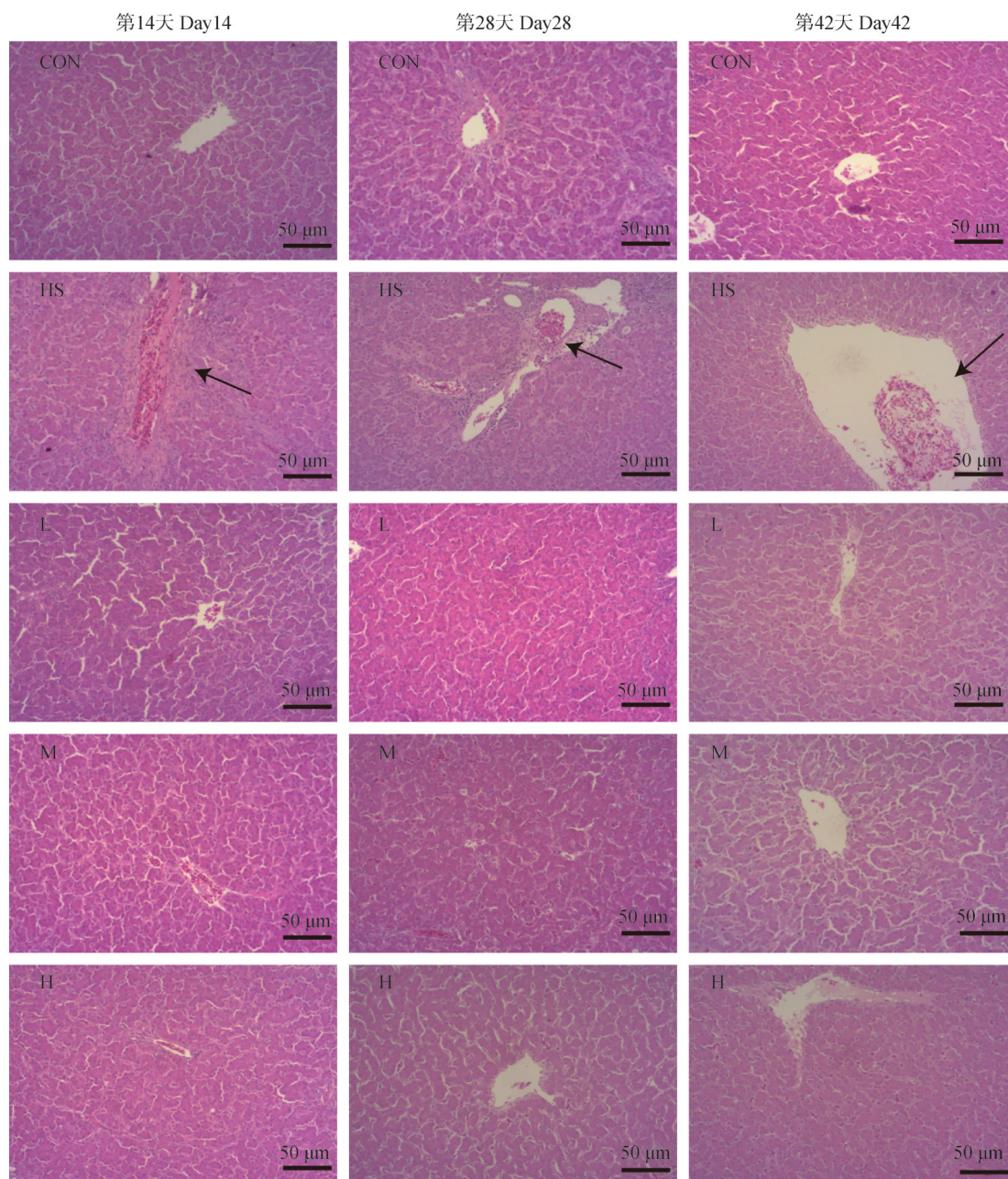
变化, 相较于热应激组, 三个剂量板连紫金散组其含量均显著降低($P < 0.05$); 热应激第28天时, 与热应激组相比, 仅复方中剂量组血清 TNF- α 含量显著降低($P < 0.05$); 热应激第42天时, 各组别间血清 TNF- α 含量均无显著影响($P > 0.05$)。

2.7 板连紫金散对热应激下肉鸡肝脏功能的影响

2.7.1 各组肉鸡肝脏组织病理切片观察 如图8所示, 热应激处理第14天, 与空白组相比, 热应激组肝血窦扩张, 狄氏间隙轻度增宽, 肝细胞体积稍微增大。与热应激组相比, 3个剂量板连紫金散组未见明显异常。热应激处理第28和42天, 与空白组相比, 热应激组肝血窦内充盈红细胞, 狄氏间隙明显增宽且充盈水肿液, 肝细胞体积肿大且排列松散, 部分肝细胞出现大小不一的空泡样结构, 可能为颗粒变性或脂肪变性。与热应激组相比, 板连

紫金散组肝血窦内有少量红细胞。

2.7.2 各组肉鸡肝脏热休克蛋白含量变化 如图9所示, 在HSP70的含量变化中, 与空白组相比, 热应激第14和28天时, 与空白组相比, 热应激组肉鸡肝脏HSP70水平极显著升高($P < 0.001$), 而饲料中添加低、中、高剂量板连紫金散则极显著降低其水平($P < 0.01$); 热应激第42天时, 与空白组相比, 热应激组肉鸡肝脏HSP70水平极显著升高($P < 0.001$), 与热应激组相比, 饲料中添加低、高剂量板连紫金散的肉鸡肝脏HSP70水平极显著降低($P < 0.001$)。在HSP90的含量变化中, 与空白组相比, 热应激第14和28天时, 热应激组肉鸡肝脏HSP90水平极显著升高($P < 0.01$), 与热应激组相比, 饲料中添加三种剂量板连紫金散均极显著降低肉鸡肝脏HSP90水平($P < 0.001$); 热应激第42天时,



切片左上标“CON”代表空白组,“HS”代表热应激组,“L”代表复方低剂量组,“M”代表复方中剂量组,“H”代表复方高剂量组
The superscript "CON" on the left side of the slice represents the control group, "HS" represents the Heat stress group, "L" represents the low-dose compound group, "M" represents the medium dose compound group, and "H" represents the high-dose compound group

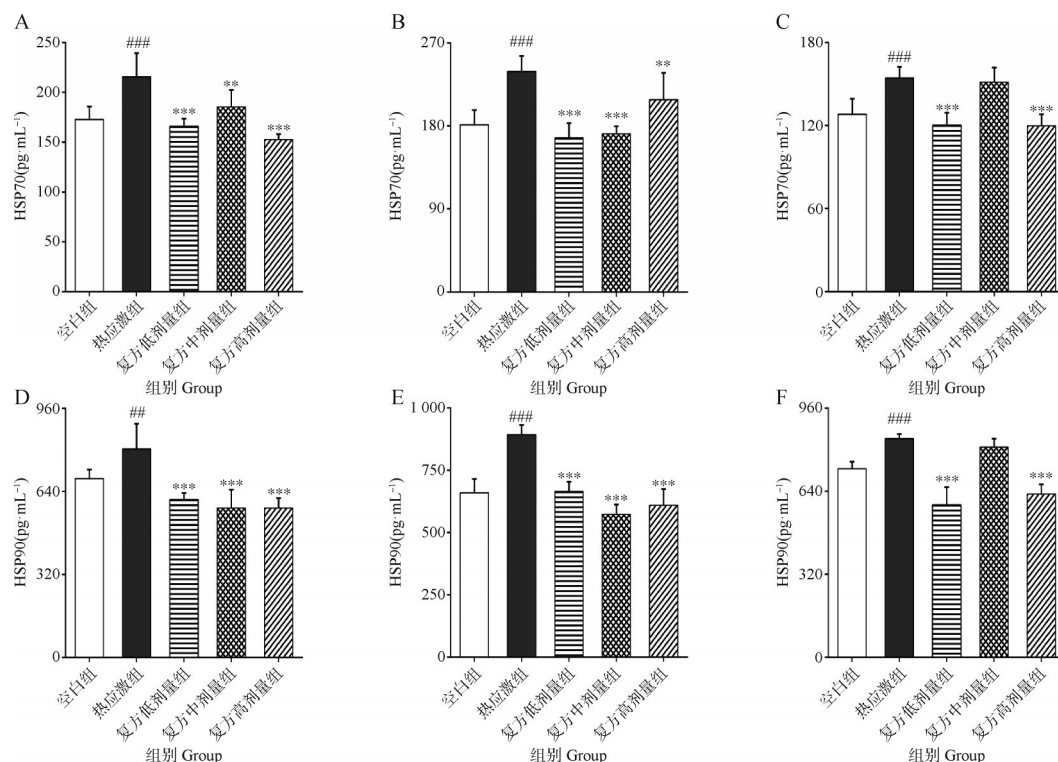
图8 各组肉鸡肝脏病理组织切片(HE,200×)

Fig. 8 Pathological tissue sections of liver in each group of broiler chickens (HE, 200×)

与空白组相比,热应激组肉鸡肝脏 HSP90 水平极显著升高($P<0.001$),与热应激组相比,饲料中添加低剂量和高剂量板连紫金散均极显著降低($P<0.001$)。

2.7.3 各组肉鸡肝脏炎症因子变化 如图10所示,热应激第14、28及42天时,与空白组相比,热应

激组肉鸡肝脏 IL-6、TNF- α 含量极显著升高($P<0.01$),极显著降低肉鸡肝脏 IL-10 含量($P<0.001$),与热应激组相比,饲料中添加不同剂量板连紫金散均显著降低肉鸡肝脏 IL-6 含量($P<0.05$),极显著降低 TNF- α 含量($P<0.01$)。热应激第14天时,与热应激组相比,饲料中添加中剂量、高



A、D. 第14天; B、E. 第28天; C、F. 第42天。与空白组相比, #表示有统计学差异($P < 0.05$), ##表示有显著统计学差异($P < 0.01$), ###表示有极显著统计学差异($P < 0.001$); 与热应激组相比, *表示有统计学差异($P < 0.05$), **表示有显著统计学差异($P < 0.01$), ***表示有极显著统计学差异($P < 0.001$)

A, D. Day 14; B, E. Day 28; C, F. Day 42. Compared with the control group, # indicates statistical difference ($P < 0.05$), ## indicates significant statistical difference ($P < 0.01$), and ### indicates extremely significant statistical difference ($P < 0.001$); Compared with the heat stress group, * indicates statistical difference ($P < 0.05$), ** indicates significant statistical difference ($P < 0.01$), and *** indicates extremely significant statistical difference ($P < 0.001$)

图9 不同热应激时间对肉鸡肝脏热休克蛋白水平的影响

Fig. 9 The effect of different heat stress times on the levels of heat shock proteins in broiler liver

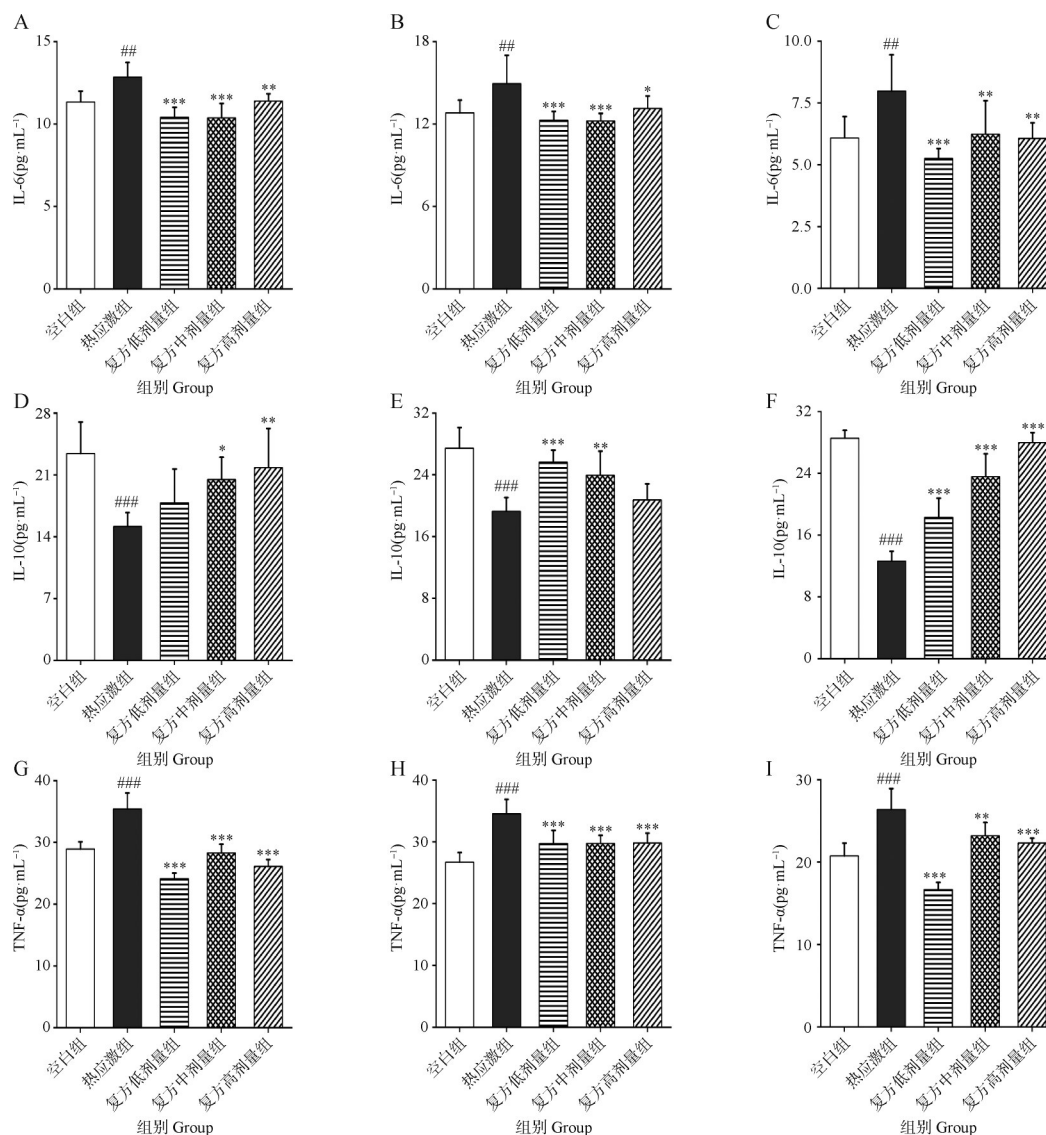
剂量板连紫金散显著升高 IL-10 含量($P < 0.05$)。热应激第28天时,与热应激组相比,饲料中添加低剂量、中剂量板连紫金散极显著升高 IL-10 含量($P < 0.01$)。热应激第42天时,饲喂3种剂量板连紫金散均极显著升高 IL-10 含量($P < 0.001$)。

3 讨论

热应激通常是指机体处于热环境之中,并产生可感知的不适应及生理上疲劳等一系列非特异性的全身应答反应^[8]。随着全球气候变暖,在诸多环境因素中,高温逐渐成为影响家禽生长性能的主要因素^[9]。热应激不仅影响家禽的生长发育、生产性能及屠宰性能,还会影响机体免疫功能,造成机体免疫抑制,诱发各种疾病。

本研究通过网络药理学及分子对接分析发现,

板连紫金散中含有多种活性成分,如金圣草黄素、麝香草酚、高车前素、槲皮素等,其中槲皮素在抗氧化、抗炎、清除细胞自由基等方面展现出良好的生理活性,同时槲皮素可以通过抑制肾脏组织中 HMGB1/RAGE/NF- κ B 信号通路相关因子的表达来减少炎症相关因子如 IL-6、TNF- α 的水平释放,进而减少机体一定程度的炎症反应^[10]。金圣草黄素是一种天然黄酮类化合物,在抗肿瘤、抗氧化和抗炎免疫等多个方面具有良好的药效作用^[11]。有研究表明,金圣草黄素可通过抑制过量活性氧的产生和活性氧导致的线粒体功能障碍,缓解过氧化氢导致的 ARPE-19 细胞氧化应激反应,该机制与下调红系衍生的核因子2相关因子入核能力,并抑制其下游 HO-1 和 NQO-1 抗氧化基因的表达有关^[12]。高车前素的抗氧化作用可以通过提高抗氧化酶水



A、D、G. 第14天; B、E、H. 第28天; C、F、I. 第42天。与空白组相比, #表示有统计学差异($P < 0.05$), ##表示有显著统计学差异($P < 0.01$), ###表示有极显著统计学差异($P < 0.001$); 与热应激组相比, *表示有统计学差异($P < 0.05$), **表示有显著统计学差异($P < 0.01$), ***表示有极显著统计学差异($P < 0.001$)

A, D, G. Day 14; B, E, H. Day 28; C, F, I. Day 42. Compared with the control group, # indicates statistical difference ($P < 0.05$), ## indicates significant statistical difference ($P < 0.01$), and ### indicates extremely significant statistical difference ($P < 0.001$); Compared with the heat stress group, * indicates statistical difference ($P < 0.05$), ** indicates significant statistical difference ($P < 0.01$), and *** indicates extremely significant statistical difference ($P < 0.001$)

图10 不同热应激时间对肉鸡肝脏炎症因子水平的影响

Fig. 10 The effect of different heat stress times on the levels of inflammatory factors in broiler liver

平和抑制呼吸链实现,研究表明,高车前素可减少血管内皮中炎症因子(IL-1 β 、IL-18、ICAM-1)的分泌,抑制血管内炎症介质的产生^[13]。此外,在大鼠惊厥模型中,高车前素可激活小胶质细胞,同时抑制IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等促炎细胞因子的产生^[14],从而达到抗炎效果。

蛋白互作网络图显示,中药复方板连紫金散的

活性成分通过AKT1、IL-6、TP53、TNF等核心靶点来防治热应激疾病。对核心靶点进行KEGG通路分析,脂质与动脉粥样硬化和癌症通路是富集基因数和显著性较高的通路。动脉粥样硬化是一种慢性脂质驱动的炎症性疾病,早期特征是血管内皮功能障碍^[15],慢性应激如热应激,除了通过升高血压,激活血小板,升高血脂和血浆纤维蛋白原,引起内皮

功能紊乱产生致动脉粥样硬化作用外,还可诱发炎症反应参与动脉粥样硬化的发生。研究发现,慢性应激可激活单核巨噬细胞,刺激CRP、IL-1、IL-6、TNF- α 分泌;激活肥大细胞,分泌细胞因子,诱导黏附分子表达;增加ET-1产生,通过ET-1刺激MMPs分泌^[16-17]。癌症的发展是一个综合性的复杂过程,现有研究表明RTK/RAS/MAP-激酶(RTK-RAS)通路、PI3K/Akt信号通路、TP53信号通路、APC等信号通路与癌症发展有联系^[18],其中PI3K/Akt信号通路在炎症疾病中发挥着关键作用,当机体受到刺激,PI3K活化并磷酸化AKT磷酸化位点Ser473和Thr308而激活AKT,活化的AKT通过增强I κ B激酶的降解,使NF- κ B活化,活化的NF- κ B诱导炎症因子的表达,从而降低机体炎症反应^[19]。以上网络药理学分析说明,板连紫金散有效成分是通过多靶点、多通路来抑制炎症因子的过度释放,以缓解热应激肉鸡的损伤。

肝脏是承担机体代谢功能的重要器官,执行多种生理功能,包括解毒、维持能量平衡、促进生物合成等^[20]。因此,与其他器官相比,肝脏对热应激更敏感。热应激通过引起脂肪肝和肝脏炎性损伤,损害其功能^[21]。热应激可通过引起氧化应激和炎症反应导致肝脏损伤,如肝细胞肿胀、肝组织结构改变和肝实质结构异常^[22]。热应激肉鸡肝脏的病理情况具体表现为肝细胞脂肪变性和肝窦扩张,此外,在肝脏组织中央部位出现异嗜性细胞和淋巴细胞坏死^[23]。本试验中,热应激导致正常肝脏出现病变,肝细胞肿胀,肝脏组织充血并出现空泡样结构,从组织结构层面对肝脏造成损伤,饲喂板连紫金散能有效改善肝脏组织病理结构。热休克蛋白作为一种损伤相关分子模式,通常在细胞受到应激或细胞死亡时大量释放。肝脏对热应激反应敏感,高温环境下肉鸡肝脏中HSP70 mRNA表达上调,导致肝脏中HSP70含量大幅上升^[24]。肝脏免疫细胞的模式识别受体能够识别损伤相关分子模式热休克蛋白,两者结合激活TLR4信号通路,产生大量炎症因子^[25]。NF- κ B除了作用于TLR4受体,还会作用于其他免疫受体下游,促进多种炎症趋化因子和细胞因子前体产生,激活炎症反应^[26]。研究表明,持续7和14 d的热应激均使肝脏TLR4蛋白表达上调,进一步检测炎症相关蛋白,发现TNF- α 和IL-6蛋白表达水平同样上调^[27]。本试验中,肝脏中热休克蛋白和促炎因子含量上升,抗炎因子含量下降,

饲料中添加板连紫金散后,这些指标含量均逐渐恢复正常,提示热应激的确导致肝脏应激反应,通过刺激细胞释放HSP70、HSP90,激活肝脏炎症反应,造成肝脏损伤,给予板连紫金散对热应激下的肝脏具有保护作用。此外,作为一种环境应激原,高温还导致肝脏损伤相关分子模式HSP70、HSP90含量大幅增加,进而增加促炎因子IL-6和TNF- α 含量,降低抗炎因子IL-10含量。

本研究通过网络药理学及分子对接进行靶点预测,确定了板连紫金散的主要活性成分与热应激关联性靠前的靶点蛋白的结合,表明其主要活性成分与热应激关联性靠前的核心靶点蛋白具有良好的结合活性与稳定性。分子对接结果显示,这些活性成分能有效结合目标蛋白的关键活性位点,形成稳定的氢键、疏水相互作用等,为后续阐释板连紫金散通过调控这些靶点及下游通路发挥抗热应激作用提供了重要的理论依据。随后在热应激肉鸡模型中验证了板连紫金散对肝脏保护及炎症反应的影响。综合网络药理学预测,分子对接验证及动物试验结果表明,板连紫金散通过其多种活性成分协同作用,调控HSP70、IL-6、TNF- α 等核心靶点,进而干预PI3K/Akt、NF- κ B等关键信号通路,有效抑制了热应激诱导的过度炎症反应,减轻了肝脏组织的炎性损伤和病理变化,从而缓解肉鸡的热应激损伤。本研究为板连紫金散防治家禽热应激提供了充分的临床证据和初步的作用机制阐释,也体现了传统中药复方“多成分-多靶点-多通路”整合调节的优势,为其在现代化畜牧养殖中应对高温环境挑战的应用提供了科学依据。

4 结 论

板连紫金散通过多靶点调节多条通路防治肉鸡热应激,饲料中添加板连紫金散能有效降低热应激下肉鸡的血清炎症因子、肝脏炎症因子、肝脏热休克蛋白水平,保护肉鸡免受高温环境的应激影响。

参考文献(References):

- [1] DEEB N, CAHANER A. Genotype-by-environment interaction with broiler genotypes differing in growth rate. 3. Growth rate and water consumption of broiler progeny from weight-selected versus nonselected parents under normal and high ambient temperatures

- [J]. *Poult Sci*, 2002, 81(3):293-301.
- [2] HOUSHMAND M, AZHAR K, ZULKIFLI I, et al. Effects of prebiotic, protein level, and stocking density on performance, immunity, and stress indicators of broilers[J]. *Poult Sci*, 2012, 91(2):393-401.
- [3] 刘正方, 刘远飞. 热应激对鸡肠道微生物的影响及调控措施[J]. 畜牧兽医学(电子版), 2020(2):22-23. LIU Z F, LIU Y F. The effect of heat stress on intestinal microbiota in chickens and its regulatory measures [J]. *Graziery Veterinary Sciences (Electronic Version)*, 2020(2):22-23. (in Chinese)
- [4] WASTI S, SAH N, MISHRA B. Impact of heat stress on poultry health and performances, and potential mitigation strategies[J]. *Animals*, 2020, 10(8):1266.
- [5] 姚晓辉. 金银花的生物活性成分及其在畜禽饲料生产和疾病防治中的应用 [J]. 饲料研究, 2022, 45(11):149-151. YAO X H. Bioactive components of *Lonicera japonica* and its application in livestock production and disease control[J]. *Feed Research*, 2022, 45(11):149-151. (in Chinese)
- [6] WU H, LUO D, LI C, et al. Chicoric acid improves heart and blood responses to hypobaric hypoxia in tibetan yaks [J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46(2):339-355.
- [7] 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. XIE J, GAO S, LI L, et al. Research progress and application strategy on network pharmacology in Chinese materia medica [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(10):2257-2265. (in Chinese)
- [8] 赵正卿, 雷辉, 刘俊华, 等. 热应激时下丘脑视上核和室旁核 Fos 蛋白的表达 [J]. 神经解剖学杂志, 2007(3):313-317. ZHAO Z Q, LEI H, LIU J H, et al. Heat stress induces changes in FOS protein expression in the hypothalamic supraoptic nucleus and paraventricular nucleus of rats [J]. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2007(3):313-317. (in Chinese)
- [9] 代雪立, 肖敏华, 宋晓琳, 等. 热应激对家禽肠道结构与功能影响的研究进展 [J]. 中国家禽, 2010, 32(11):41-43. DAI X L, XIAO M H, SONG X L, et al. Research progress on the effects of heat stress on intestinal structure and function in poultry [J]. *China Poultry*, 2010, 32(11):41-43. (in Chinese)
- [10] 姜一凡, 李小荣, 耿嘉逸, 等. 槲皮素通过抑制 HMGB1/RAGE/NF- κ B 信号通路减轻糖尿病引起的大鼠肾脏损伤 [J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(9):1769-1775. JIANG Y F, LI X R, GENG J Y, et al. Quercetin ameliorates diabetic kidney injury in rats by inhibiting the HMGB1/RAGE/NF- κ B signaling pathway [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2024, 44(9):1769-1775. (in Chinese)
- [11] 邓颖, 白殊同. 金圣草黄素相关药理作用机制的研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(10):1155-1162. DENG Y, BAI S T. Research advance of chrysoeriol on its pharmacological action and underlying mechanism [J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2022, 27(10):1155-1162. (in Chinese)
- [12] MISHRA B, PRIYADARSINI K I, KUMAR M S, et al. Effect of O-glycosilation on the antioxidant activity and free radical reactions of a plant flavonoid, chrysoeriol [J]. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11(13):2677-2685.
- [13] WU X, XU J. New role of hispidulin in lipid metabolism: PPAR α activator [J]. *Lipids*, 2016, 51:1249-1257.
- [14] LIN T Y, LU C W, WANG S J, et al. Protective effect of hispidulin on kainic acid-induced seizures and neurotoxicity in rats [J]. *Eu J Pharmacol*, 2015, 755:6-15.
- [15] 黄宁川, 马辉, 马鹏. Sp1/ABCA1 信号通路在尿毒症动脉粥样硬化中的作用及其调节机制 [J]. 重庆医科大学学报, 2025, 50(6):808-814. HUANG N C, MA H, MA P. Role of Sp1/ABCA1 signaling pathway in uremic atherosclerosis and its regulatory mechanism [J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2025, 50(6):808-814. (in Chinese)
- [16] HANSSON G K, LIBBY P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(7):508-519.
- [17] 李金平, 胡厚源. 慢性应激与动脉粥样硬化 [J]. 心血管病学进展, 2009, 30(6):1020-1022. LI J P, HU H Y. Chronic stress and atherosclerosis [J]. *Advances in Cardiovascular Diseases*, 2009, 30(6):1020-1022. (in Chinese)
- [18] VOGELSTEIN B, KINELER K W. Cancer genes and the pathways they control [J]. *Nat Med*, 2004, 10(8):789-799.
- [19] LUPA E, PIOZZI L, GOFFI A, et al. Role of

- phosphoinositide 3-kinase in the pathogenesis of acute pancreatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(41): 15190.
- [20] SCHLIESS F, HOEHME S, HENKEL S G, et al. Integrated metabolic spatial-temporal model for the prediction of ammonia detoxification during liver damage and regeneration [J]. *Hepatology*, 2014, 60(6):2040-2051.
- [21] CHEN Y, CHENG Y, WEN C, et al. Protective effects of dietary mannan oligosaccharide on heat stress-induced hepatic damage in broilers[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2020, 27:29000-29008.
- [22] JIA L, CHANG X, QIAN S, et al. Hepatocyte toll-like receptor 4 deficiency protects against alcohol-induced fatty liver disease [J]. *Mol Metab*, 2018, 14: 121-129.
- [23] AENGWANICH W, SIMARAKS S. Pathology of heart, lung, liver and kidney in broilers under chronic heat stress[J]. *Pathology*, 2004, 26(3):418.
- [24] ASE A, KRAEFT S K, KURT-JONES E A, et al. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine[J]. *Nat Med*, 2000, 6(4): 435-442.
- [25] BIEGHS V, TRUATWEIN C. The innate immune response during liver inflammation and metabolic disease[J]. *Trend Immunol*, 2013, 34(9):446-452.
- [26] ZHONG Z, UMEMURA A, SANCHEZ-LOPEZ E, et al. NF- κ B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria [J]. *Cell*, 2016, 164(5):896-910.
- [27] LIU Y L, DING K N, SHEN X L et al. Chronic heat stress promotes liver inflammation in broilers via enhancing NF- κ B and NLRP3 signaling pathway [J]. *BMC Vet Res*, 2022, 18(1):289.
- (编辑 白永平)