DOI:10.12441/spyswjs.20251106002 [文章编号] 1673-1689(2026)03-0055-13

基于UPLC-Q-TOF/MS代谢组学技术的六堡茶改善大鼠动脉粥样硬化作用机制

陈 欣[1,2,3] 黄雯芳[1,2,3] 韦礼娜[1] 蒋芳诚[4] 刘兆基[1,2,3] 姚晰月[1] 张均伟[5]
叶 勇[1,2,3] 赖泽锋[1,2,3*]

(1. 广西医科大学药学院,广西 南宁 530021; 2. 老年重大疾病防治与生物医药转化高校工程研究中心,广西南宁530021; 3. 广西生物活性分子研究与评价重点实验室,广西 南宁 530021; 4. 广西医科大学第一附属医院,广西 南宁 530021; 5. 梧州中茶茶业有限公司,广西 梧州 543003)

摘要:【目的】基于UPLC-Q-TOF/MS代谢组学技术探究六堡茶(Liupao tea, LP)改善大鼠动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)的作用机制。【方法】采用高脂饮食联合腹腔注射维生素D_3的方法诱导AS大鼠模型,设正常对照组、模型组、辛伐他汀组、六堡茶低剂量组、六堡茶高剂量组。干预12周后,通过主动脉、肝脏和结肠的苏木素-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色评估组织病理,通过非靶向代谢组学分析尿液差异代谢物,并整合网络药理学筛选活性成分及核心靶标。【结果】六堡茶显著减轻了主动脉中膜增厚、肝脏脂肪变性及结肠损伤。通过代谢组学共鉴定出了379个差异代谢物,六堡茶回调了84.7%异常代谢物,其中血管紧张素Ⅳ和硫酸乙酰肝素均显著上调,富集于肾素-血管紧张素系统、糖胺聚糖降解及癌症中的蛋白聚糖通路;网络药理学分析共筛选出127个活性成分(主要包括多酚类、生物碱类等)及8个核心靶点(*MAPK1*、*MAPK8*、*MAPK14*、*BCL2*、*CASP3*、*RELA*、*STAT1*、*HDAC1*),KEGG通路涉及代谢通路、脂质与动脉粥样硬化以及流体剪切应力与动脉粥样硬化等。【结论】六堡茶通过成分-靶点-通路网络协同调节血管功能、抑制炎症氧化应激以及改善代谢紊乱,从而发挥改善AS的作用,为传统茶饮预防AS提供了科学依据。

关键词:六堡茶;动脉粥样硬化;非靶向代谢组学;网络药理学;信号通路

Mechanisms of Liupao Tea in Ameliorating Atherosclerosis in Rats Based on UPLC-Q-TOF/MS Metabolomics Technology

CHEN Xin[1,2,3] *HUANG Wenfang*[1,2,3] *WEI Li'na*[1] *JIANG Fangcheng*[4] *LIU Zhaoji*[1,2,3]
YAO Xiyue[1] *ZHANG Junwei*[5] *YE Yong*[1,2,3] *LAI Zefeng*[1,2,3*]

(1. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. University Engineering Research Center of Prevention and Treatment of Major Diseases in the Elderly and Biomedical Translation, Nanning 530021, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Bioactive Molecules Research and Evaluation, Nanning 530021, China; 4. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 5. Wuzhou Zhongcha Tea Industry Co., Ltd., Wuzhou 543003, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to investigate the mechanisms through which Liupao tea (LP) ameliorated atherosclerosis (AS) in rats based on ultra high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) metabolomics technology. [**Method**] A rat model of AS was

基金项目:广西重点研发计划项目(桂科AB25069365,桂科AB24206003)。
通信作者:赖泽锋(1980—),男,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品及中药活性成分药理研究。E-mail:laizefeng@gxmu.edu.cn
收稿日期:2025-11-06 **修回日期:**2026-01-05

established by a high-fat diet combined with intraperitoneal injection of vitamin D_3. The rats were assigned into the following groups: control, model, simvastatin, low-dose LP, and high-dose LP. After intervention for 12 weeks, histopathological changes in the aorta, liver, and colon were assessed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Urinary differential metabolites were analyzed *via* untargeted metabolomics. Metabolomic findings were integrated with network pharmacology to identify active components and core targets. [**Result**] LP significantly alleviated aortic medial thickening, hepatic steatosis, and colon injury. Metabolomic analysis identified 379 differential metabolites, among which 84.7% of altered metabolites were reversed by LP. Notably, angiotensin IV and heparan sulfate were significantly upregulated and enriched in the renin-angiotensin system, glycosaminoglycan degradation, and proteoglycan pathway in cancer. Network pharmacology screened out 127 active components (mainly including polyphenols and alkaloids) and 8 core targets (*MAPK1*, *MAPK8*, *MAPK14*, *BCL2*, *CASP3*, *RELA*, S*TAT1*, and *HDAC1*). KEGG pathway analysis revealed involvement in metabolic pathways, lipid and atherosclerosis, and fluid shear stress and atherosclerosis. [**Conclusion**] LP ameliorates AS through a component-target-pathway network that collectively modulates vascular function, inhibits inflammation and oxidative stress, and alleviates metabolic disorders. These findings provide a scientific basis for the application of tea in preventing AS.

Keywords: Liupao tea; atherosclerosis; untargeted metabolomics; network pharmacology; signaling pathway

随着居民生活方式的改变，饮食不均衡所引发的心脑血管疾病发病率逐年攀升。动脉粥样硬化（atherosclerosis，AS）是冠心病、脑梗死及外周血管病的主要病理基础，其发病过程涉及脂质代谢紊乱、慢性炎症反应及血管内皮功能障碍等多重病理机制的复杂级联效应[1]。《中国心血管健康与疾病报告 2024》显示，我国心血管疾病患者达 3.3 亿人，在农村与城市居民死亡原因中的占比分别达 48.98% 和 47.35%，防治形势严峻[2]。当前他汀类药物虽能有效降低低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein cholesterol，LDL-C）水平，但长期用药可能引发肌肉毒性、肝酶异常等不良反应[3-4]。因此，健康饮食干预策略对防控 AS 相关心脑血管疾病等慢性疾病具有重要作用。

六堡茶（Liupao tea，LP）作为中国国家地理标志产品，是通过微生物固态发酵制成的黑茶。研究表明，六堡茶具有显著的抗氧化[5]、降血脂[3,6]、改善糖尿病[7]和抗炎[8-9]等多重功效。这些功效主要归因于其在微生物发酵过程中产生的茶褐素、茶多糖和其他微生物次级代谢产物等生物活性物质[10-12]，使其在心血管保护方面展现出应用潜力[13]。然而，现有研究多聚焦于六堡茶对肥胖[14-15]、糖尿病等代谢性疾病的防治作用，尚缺乏关于其直接干预动脉粥样硬化斑块形成和发展的分子机制研究，特别是缺乏系统性的成分-靶点-通路网络分析[16]，严重制约了六堡茶在 AS 防治方面的应用价值挖掘。

本研究旨在通过整合 UPLC-Q-TOF/MS 非靶向代谢组学和网络药理学分析技术，探究六堡茶改善 AS 的作用机制，为传统茶饮预防 AS 提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

六堡茶：中茶集团梧州中茶茶业有限公司；辛伐他汀（纯度 98%）：上海吉至生化科技有限公司；维生素 D_3 注射液：哈尔滨三马兽药业有限公司；蒸馏水：广州屈臣氏食品饮料有限公司；甲醇、乙腈（HPLC 级）：赛默飞世尔科技（中国）有限公司。

1.2 主要仪器与设备

超纯水系统：Milli-Q® Integral10 型，德国默克密理博公司；万分之一电子天平：EL204 型，梅斯特-托利多国际贸易（上海）公司；高速冷冻离心机：5810R 型，德国艾本德公司；四极杆飞行时间质谱仪：Waters Xevo G2-XS 型，美国沃特世公司；超高效液相色谱仪：iClass Acquity 型，美国沃特世公司；光学显微镜：Olympus BX53 型，日本奥林巴斯公司。

1.3 方法

1.3.1 六堡茶茶液的配制

参照广西壮族自治区地方标准 DB45/T 1649—2017《六堡茶冲泡及品饮办法》制备六堡茶茶液。准

确称取60.00 g茶叶，用沸水快速洗茶叶2次去除杂质，随后加入400 mL沸水浸泡20 min，所得茶原液质量浓度为150.00 mg/mL，使用纯水分别稀释至75.00、37.50 mg/mL，分装后于4 ℃冰箱保存备用。

1.3.2　辛伐他汀的配制

以辛伐他汀（simvastatin）作为阳性对照，灌胃剂量为4 mg/（kg·d）。

1.3.3　实验动物饲养及分组

6周龄SPF级雄性Sprague-Dawley（SD）大鼠30只，购于广西医科大学动物实验中心。实验动物生产许可证号：SYXK（桂）2020-0003；使用许可证号：SYXK（桂）2020-0004。试验前于（22±2）℃、相对湿度（50±5）%、12 h光暗循环（光照时间6：00~18：00）的动物房中适应性饲养1周。试验通过广西医科大学实验动物伦理委员会审批（批准号：202309981），符合动物试验伦理规范。

大鼠随机分为5组（n=6）：正常对照（Control）组（普通饲料+生理盐水）、模型（Model）组（高脂饲料+维生素D_3）、辛伐他汀（Simvastatin）组（高脂饲料+维生素D_3+辛伐他汀4 mg/（kg·d））、六堡茶低剂量（LP-L）组（600 mg/（kg·d）+高脂饲料+维生素D_3）与六堡茶高剂量（LP-H）组（1 200 mg（kg·d）+高脂饲料+维生素D_3），连续干预12周。

1.3.4　AS大鼠模型的建立

采用高脂饲料联合大剂量维生素D_3腹腔注射的方法建立AS大鼠模型。高脂饲料配方如下：质量分数3.5%胆固醇、质量分数0.5%胆酸钠、质量分数0.2%丙硫氧嘧啶、质量分数5.0%白糖、质量分数10.0%猪油及质量分数80.8%基础饲料。模型诱导持续12周，并于试验起始阶段连续3 d腹腔注射维生素D_3（600 000 IU/kg）以加速血管钙化及斑块形成。

1.3.5　组织病理学观察

取主动脉、肝脏、结肠组织，用体积分数4%中性甲醛固定24 h，经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后，用石蜡包埋，切片后进行HE染色。用光学显微镜观察主动脉壁、肝脏和结肠壁等的形态结构，脂质沉积，炎性细胞浸润情况。

1.3.6　尿液样本收集及前处理

试验末期，将大鼠置于代谢笼，禁食，可自由饮水，收集12 h尿液样本。采集过程中维持样本处于低温（0~4 ℃）环境。尿液在4 ℃于3 500 r/min离心20 min，取上清液分装后冻存于−80 ℃超低温冰箱。

200 μL尿液中加入1 000 μL甲醇，涡旋振荡2 min，4 ℃、15 000 r/min离心15 min，取上清液经0.22 μm尼龙微孔滤膜过滤，收集滤液置于进样瓶。

1.3.7　超高效液相色谱（UPLC）条件

以Waters Acquity™超高效液相色谱系统分离代谢产物。采用Waters Acquity UPLC BEH C18色谱柱（100 mm×2.1 mm×1.7 μm），自动进样器温度设置为4 ℃，柱温40 ℃，流量0.4 mL/min，进样量10 μL，流动相A为体积分数0.1%甲酸−水溶液，流动相B为体积分数0.1%甲酸−乙腈溶液。梯度洗脱程序为：0~1 min，流动相A体积分数为95%；1~2 min，流动相A体积分数为70%；2~3 min，流动相A体积分数为50%；3~4 min，流动相A体积分数为40%；4~5 min，流动相A体积分数为35%；5~6 min，流动相A体积分数为30%；6~7 min，流动相A体积分数为25%；7~8 min，流动相A体积分数为20%；8~9 min，流动相A体积分数为15%；9~10 min，流动相A体积分数为95%。

1.3.8　质谱条件

离子源以正电喷雾电离（ESI）模式运行。MSE扫描模式：在运行期间使用低能量（CE4eV）和高能量（CE20-45eV）2种MSE模式交替采集。诱导解离气体为纯度99.999%的氩气，去溶剂化气体与锥孔气体为纯度>99.5%的氮气。毛细管电压为3.0 kV（+），样品锥孔电压为40 V（+），碰撞能电压为6.0 V；离子源温度为100 ℃，脱溶剂温度为20 ℃；锥孔气流量为30 L/h，脱溶剂气流量为800 L/h；数据采集率为0.2 s。锁定质量校正：以乙腈−水−甲酸（体积比50∶49.9∶0.1）为溶剂，配制250 ng/mL的亮氨酸脑啡肽标准校正溶液。通过参比探针连续输注（5 μL/min），每30 s扫描一次。

1.3.9　网络药理学分析

根据《网络药理学评价方法指南》中“药效成分筛选需考量生物利用度、成药性”的规范要求[17]，在TCMSP数据库（https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php）以口服利用度（oral bioavailability，OB）≥30%和类药性（drug-likeness，DL）≥0.18为筛选条件。前者可确保成分达到有效血药浓度，避免因胃肠道降解、膜穿透不足导致药效缺失；后者则保障化合物具备良好的溶解性、稳定性以及低毒性，符合成药潜力评估核心需求[18]。随后以“胃肠道吸收

高，同时满足 2 个及 2 个以上药物相似性”为条件从成分靶点数据库（SWISSADME）中获取六堡茶的有效成分[19]，经过 PubChem 数据库统一靶点名称和去除重复值后，得到活性成分。于 PubChem 数据库下载六堡茶活性成分的 2D 结构，根据成分的 2D 结构在 Swiss Target Prediction 数据库中搜索，筛选录入 probability>0 的有效靶点。疾病靶点的收集使用 Gene Cards 数据库（https://www.genecards.org/），以“atherosclerosis”为关键词，筛选标准：Relevance score>2（Gene Cards 数据库），且需在 Therapeutic Target 数据库（https://db.idrblab.net/ttd/）和 Online Mendelian Inheritance in Man（OMIM）数据库（https://omim.org/）中能搜索到。利用 STRING 数据库（https://string-db.org/）和 Cytoscape 3.10.0 软件构建靶点的蛋白-蛋白相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络。采用 DAVID 数据库（https://david.ncifcrf.gov/）进行基因的 Gene Ontology（GO）功能分析和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes（KEGG）通路富集分析。

1.3.10 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0.2 进行试验数据统计分析及绘图，以平均数±标准误差（mean±SEM）表示。对于组间样本的差异比较，若样本满足正态分布且方差齐性，则采用单因素方差分析法；方差不齐性则采用 Brown-Forsythe 和 Welch ANOVA 检验；样本不满足正态分布则采用 Kruskal-Wallis 检验。$P<0.05$ 表示差异结果有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 六堡茶减轻高脂饮食引起的组织病理损伤

六堡茶为广西特色后发酵黑茶，作者以 AS 大鼠模型评估六堡茶对 AS 的预防和改善作用。AS 涉及血管内皮损伤、慢性炎症反应等病理过程[20-21]，大鼠腹主动脉、肝脏及结肠组织 HE 染色结果表明，六堡茶能够显著减轻 AS 导致的组织病理损伤。如图 1 所示，与 Control 组相比，Model 组腹主动脉形态结构紊乱，中膜厚度不均并伴有局部破损。Model 组肝细胞排列紊乱，肝索结构模糊，肝窦轻度扩张，部分肝细胞胞质内出现脂质空泡；结肠组织可见平滑肌损伤和坏死，浆膜层纤维结缔组织结构疏松，说明肠道微环境紊乱可能与 AS 进程相关。LP-H 组大鼠腹主动脉形态结构较 Model 组改善明显，中膜厚度趋于均匀，平滑肌细胞排列整齐，肝细胞形态正常，肝小叶结构清晰，未见明显脂肪变性。此外，LP-H 组结肠组织整体结构完整，结肠形态结构恢复良好，肠绒毛排列整齐、数量较多，平滑肌层结构完整，其改善效果与 Simvastatin 组相近。六堡茶干预后，主动脉结构趋于规整，脂质沉积减轻，结肠黏膜形态改善，肠绒毛排列有序，表明六堡茶可能通过保护血管内皮、调节肠道屏障功能及抑制局部炎症反应来延缓 AS 发展，而这一作用可能与六堡茶的调节肠道菌群功能、抗炎及抗氧化活性密切相关[7，22-24]。

2.2 非靶向代谢组学分析

2.2.1 六堡茶对 AS 大鼠尿液代谢轮廓的调控作用

为评估六堡茶对 AS 大鼠代谢轮廓的影响，采用偏最小二乘判别分析（PLS-DA）和正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）对尿液代谢物数据进行建模分析。如图 2（a）~（c）所示，Model 组与 Control 组在得分图上呈现明显分离趋势，表明 AS 病变导致大鼠机体代谢状态发生显著改变，尿液总代谢

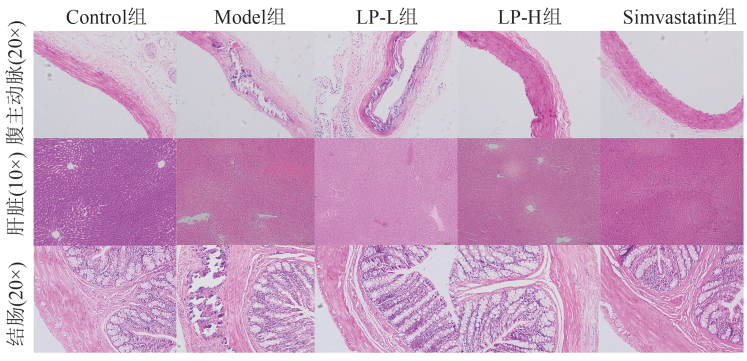


图 1 LP 减轻高脂饮食引起的腹主动脉、肝脏和结肠等组织的病理损伤

Fig. 1 LP alleviates the high-fat diet-induced histopathological injuries of the abdominal aorta, liver, and colon

物轮廓紊乱。

为验证模型可靠性，进行200次置换检验。如图2(d)~(e)所示，所建模型未出现过拟合，具有良好的拟合优度与预测性能。通过总离子流色谱图(total ion chromatogram，TIC)对比各组尿液代谢物谱。如图2(f)~(i)所示，Model组色谱峰形与Control组差异显著，而LP-H组的色谱轮廓与Control组高度相似，表明六堡茶干预可逆转AS诱导的部分代谢物峰强度变化，回调Model组中异常表达的代谢物。

2.2.2　六堡茶的潜在生物标志物的筛选与鉴定

六堡茶可通过调节代谢物水平，以抗氧化、抗

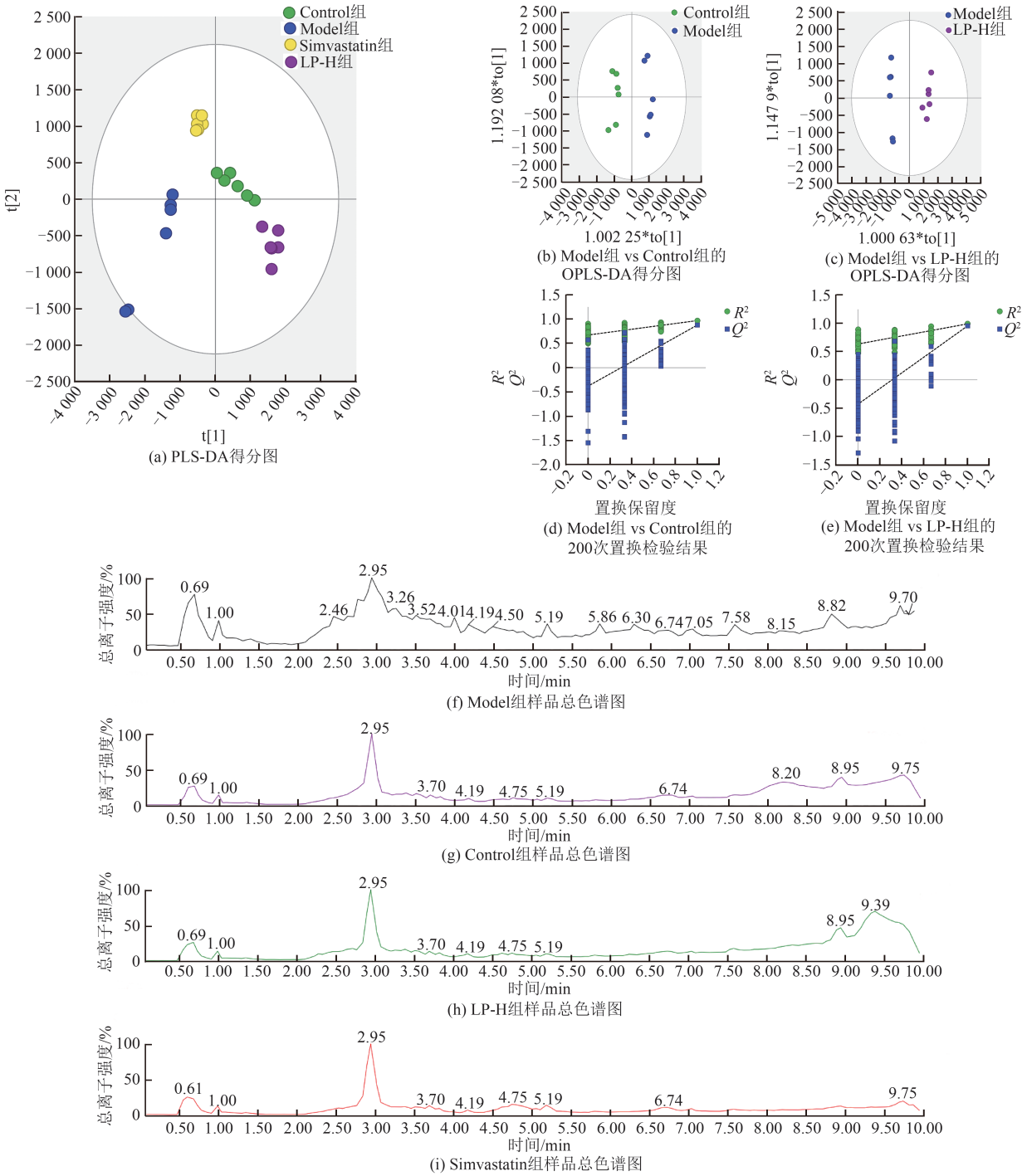
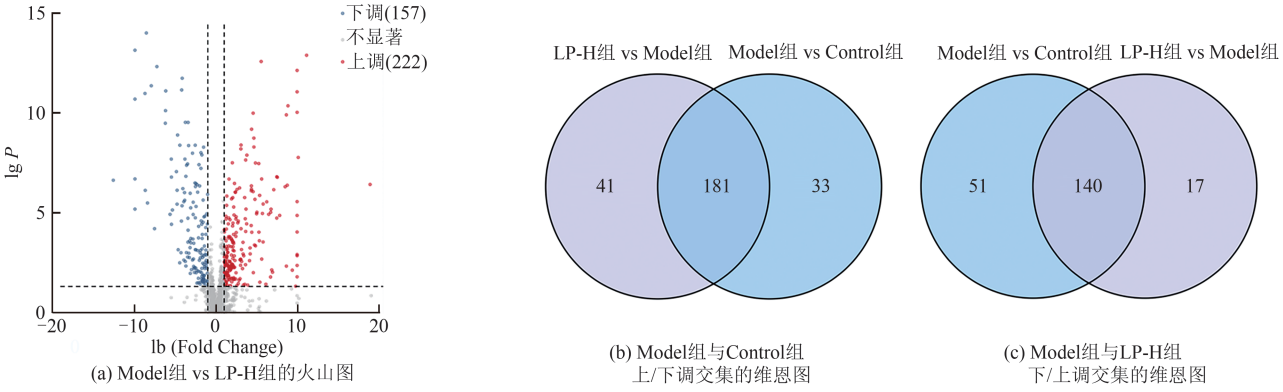


图2　LP对AS大鼠尿液代谢物代谢轮廓的调控作用

Fig. 2　Regulatory effects of LP on urinary metabolic profiles in the rat model of AS

炎、调节脂质代谢以及调节肠道菌群代谢等多重机制干预 AS 发展。以 P<0.05、|Fold Change|≥1 为阈值绘制火山图，结果见图 3(a)。Model 组与 LP-H 组之间的显著差异代谢物有 379 个，其中有 157 个差异代谢物显著下调、222 个差异代谢物显著上调。如图 3(b)~(c)所示，六堡茶干预可系统性恢复 84.7%(321 个)的异常代谢物：Model 组过表达的 222 种代谢物经 LP-H 干预后，81.5%(181 个)的代谢物显著下调；Model 组中低表达的 157 种代谢物经 LP-H 干预后，89.2%(140 个)的代谢物上调至正常水平。以上逆转的代谢物可能为六堡茶改善 AS 的潜在生物标志物。



(a) Model组 vs LP-H组的火山图　(b) Model组与Control组 上/下调交集的维恩图　(c) Model组与LP-H组 下/上调交集的维恩图

图 3　LP 对 AS 大鼠尿液代谢物的调节作用

Fig. 3　Regulatory effects of LP on urinary metabolites in the rat model of AS

如表 1 所示，六堡茶干预明显重塑了 AS 大鼠的尿液代谢物组成，主要类别为羧酸及其衍生物(17.69%)、异戊二烯脂类(17.01%)、脂肪酰(7.48%)、甾体及其衍生物(6.12%)和含氧有机化合物(6.12%)等。上述类别以及黄酮类化合物具有抗氧化、抗炎及调节脂质代谢的作用，并可抑制 MAPK/NF-κB 信号通路，减轻血管炎症反应[25-28]。羧酸及其衍生物，包括脑啡肽 L(enkephalin L)、血管紧张素 IV(angiotensin IV)、培哚普利拉(perindoprilat)、羟基化卵磷脂(hydroxylated lecithin)等，其水平从 13.33% 显著上升至 17.69%，这些物质在调节血管张力、抑制氧化应激及促进脂质代谢中发挥重要作用。此外，吲哚及其衍生物水平的降低说明六堡茶可能通过影响宿主-微生物共代谢来改善 AS 进程[29]。

2.2.3　六堡茶改善 AS 的潜在代谢通路分析

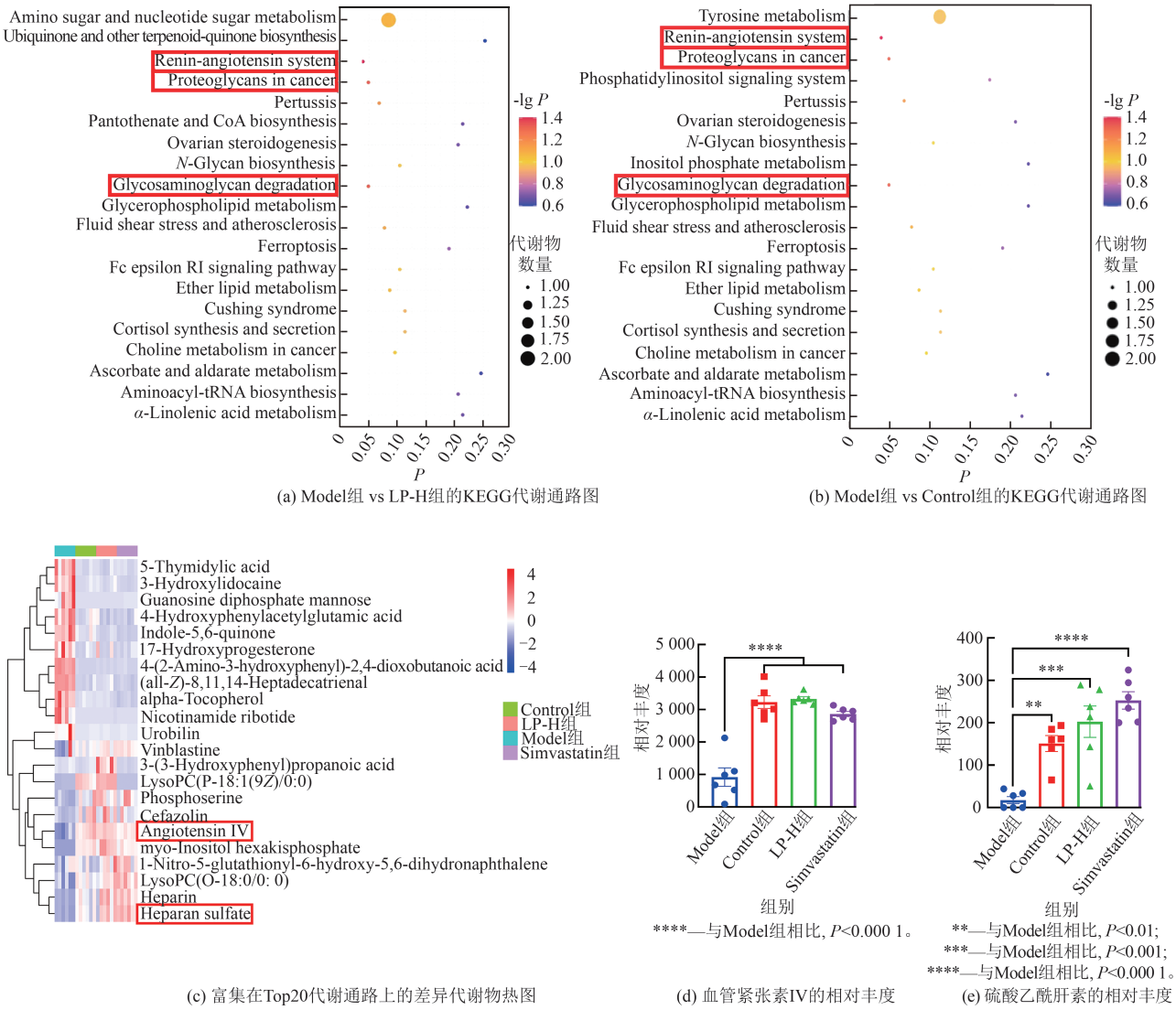
如图 4(a)~(b)所示，Model 组与 Control 组、Model 组与 LP-H 组之间的差异代谢物共同显著富集于肾素-血管紧张素系统(Renin-angiotensin system，RAS)、糖胺聚糖降解(Glycosaminoglycan degradation)及癌症中的蛋白聚糖(Proteoglycans in

表 1　LP 干预对 AS 大鼠尿液代谢物类别占比的影响

Table 1　Effects of LP intervention on the proportions of urinary metabolite categories in the rat model of AS

组别	异戊二烯脂类占比/%	羧酸及其衍生物占比/%	脂肪酰占比/%	含氧有机化合物占比/%	苯及其衍生物占比/%	甾体及其衍生物占比/%
Model组 vs Control组	16.00	13.33	7.33	7.33	6.67	5.33
Model组 vs LP-H组	17.01	17.69	7.48	6.12	5.44	6.12
组别	黄酮类化合物占比/%	萘类占比/%	吲哚及其衍生物占比/%	唑类占比/%	甘油脂占比/%	二氮杂环己烷类化合物占比/%
Model组 vs Control组	3.33	3.33	2.67	2.00	2.00	1.33
Model组 vs LP-H组	4.76	2.04	1.36	1.36	2.04	1.36
组别	二嗪占比/%	甘油磷脂类占比/%	内酰胺类占比/%	有机含氮化合物占比/%	鞣质占比/%	四吡咯及其衍生物占比/%
Model组 vs Control组	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33	1.33
Model组 vs LP-H组	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36	1.36

cancer)3条通路。如图4(c)所示，六堡茶干预能显著回调Model组中异常表达的代谢物。定量分析结果见图4(d)~(e)。在Model组中表达失调的血管紧张素Ⅳ(angiotensin Ⅳ)与硫酸乙酰肝素(heparan sulfate，HS)，经六堡茶干预后均显著上调。RAS是炎症与氧化应激调控的重要系统，过度激活可促进炎症细胞浸润与氧化应激，刺激细胞因子(如IL-6、TNF-α和COX-2[30])的产生，加速AS发展。因此六堡茶可能通过调节血管紧张素Ⅳ等代谢物水平抑制RAS异常活化。HS是糖胺聚糖家族的关键成员，对AS具有动态调节作用，它在疾病早期可维持内皮屏障、抗炎及抑制脂质氧化，并可通过促进NO释放、竞争性抑制LDL滞留、抑制促炎因子、减轻慢性炎症等机制发挥血管保护效应[31-34]。癌症中的蛋白聚糖通路虽与肿瘤相关，但其核心组分也参与了血管炎症、细胞黏附及信号转导过程，说明六堡茶可通过调控基质微环境间接影响AS发展。综上，六堡茶可通过上调血管紧张素Ⅳ与HS水平，抑制RAS异常激活并调节糖胺聚糖降解，减轻血管炎症和氧化应激，从而发挥抗AS作用。



(a) Model组 vs LP-H组的KEGG代谢通路图　(b) Model组 vs Control组的KEGG代谢通路图

(c) 富集在Top20代谢通路上的差异代谢物热图　(d) 血管紧张素Ⅳ的相对丰度　(e) 硫酸乙酰肝素的相对丰度

****—与Model组相比，P<0.000 1。

—与Model组相比，P<0.01；*—与Model组相比，P<0.001；****—与Model组相比，P<0.000 1。

图4　LP改善大鼠AS的潜在代谢通路分析

Fig. 4　Potential metabolic pathways of LP in ameliorating AS in rats

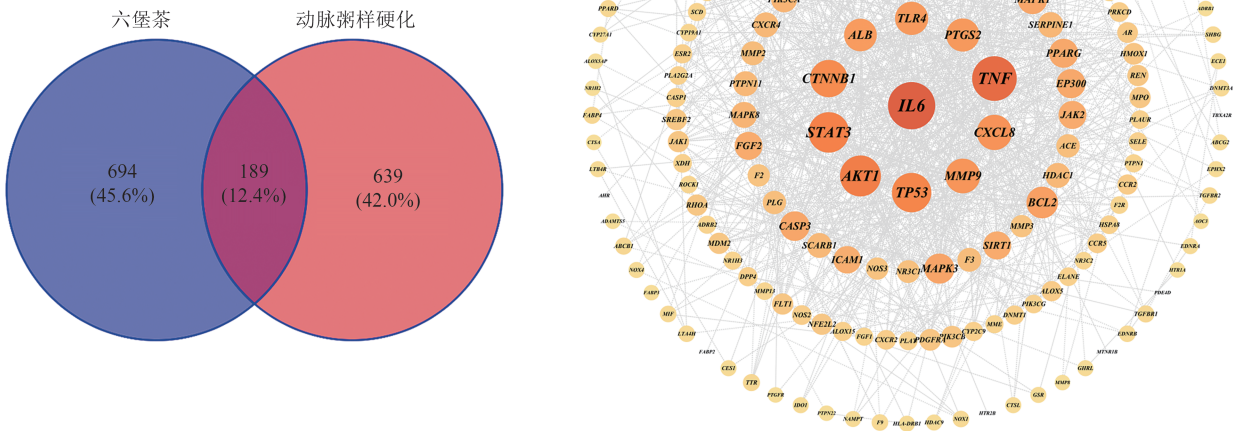
2.3　网络药理学分析

2.3.1　六堡茶活性成分及调控基因、疾病靶点的筛选

为解析六堡茶干预AS的药效物质基础及作用机制，作者整合近5年的文献报道，收集了499个六堡茶活性化合物[2,6,35-44]，经TCMSP数据库、SWISSADME数据库和PubChem数据库筛选，最

终确定 127 个活性成分，主要包括多酚类、生物碱类、萜类等。通过 Swiss Target Prediction 平台预测，共获得 883 个六堡茶相关调控基因，见图 5(a)。

以“atherosclerosis”为关键词，从 Therapeutic Target、Gene Cards 及 OMIM 数据库得到 828 个 AS 相关疾病基因。将六堡茶作用靶点集与疾病基因交集，获得了 189 个潜在关键作用靶标。将交集基因导入 STRING 数据库构建 PPI 网络，并用 Cytoscape 3.10.0 进行可视化与拓扑分析，见图 5(b)，节点大小与颜色深度均与节点度值(Degree)正相关。拓扑分析显示，度值排名前 11 位的核心基因依次为：*IL-6*、*TNF*、*AKT1*、*STAT3*、*TP53*、*CTNNB1*、*CXCL8*、*MMP9*、*PTGS2*、*TLR4*、*ALB*。这些枢纽基因可能在六堡茶干预 AS 的复杂生物学过程中发挥核心调控作用。



(a) 六堡茶和动脉粥样硬化靶点的维恩图　　(b) 189个交集基因的PPI网络图

图 5　LP 改善 AS 的潜在作用靶点

Fig. 5　Potential targets of LP in ameliorating AS

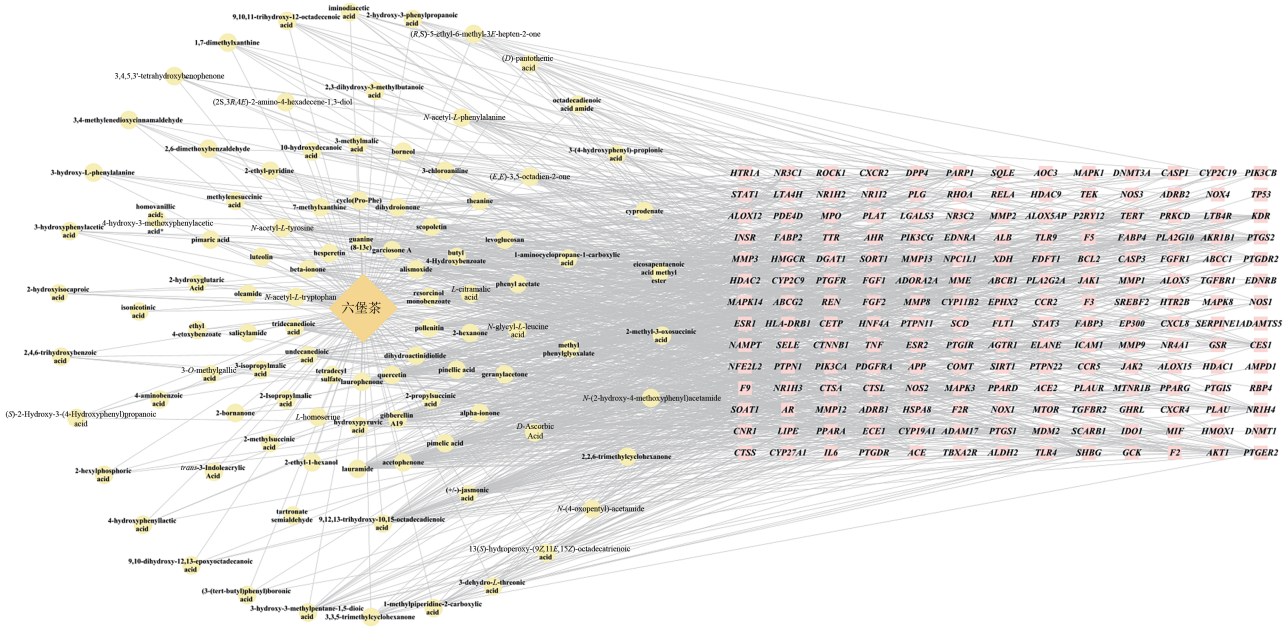
2.3.2　六堡茶-活性成分靶点-疾病网络构建与分析

如图 6 所示，六堡茶-活性成分靶点-疾病交互网络揭示了六堡茶中主要活性成分与 AS 相关靶点之间的多层次作用关系。其活性成分以酚酸类及多酚衍生物、有机酸及其衍生物、氨基酸与含氮化合物、萜类与挥发性成分、酯类与脂肪酸衍生物为主要类别，靶点功能主要富集于脂代谢调节、炎症与免疫反应、血管功能与氧化应激等关键通路。

为识别网络中的核心调控节点，综合采用节点度值(Degree)、最大团中心性(MCC)、边缘渗透成分(EPC)、最大邻域分量(MNC)和最大邻域分量密度(DMNC)5 种拓扑学中心性指标，提取各算法下排名前 30 位的基因并通过交集分析确定枢纽基因，见图 7。最终筛选出 8 个关键枢纽基因：*MAPK1*、*MAPK8*、*MAPK14*、*BCL2*、*CASP3*、*RELA*、*STAT1* 和 *HDAC1*。主要富集于 MAPK 信号通路、细胞凋亡调控及 NF-κB 炎症反应通路。

这些预测的核心靶点与代谢组学结果相互印证，六堡茶上调的血管紧张素Ⅳ富集于 RAS，其过度激活会促进炎症细胞浸润与氧化应激，而 *MAPK* 家族成员响应氧化应激与炎症信号，形成“促炎-促凋亡”调控网络，影响动脉粥样硬化的斑块稳定性[45-47]。*BCL2*、*CASP3* 参与线粒体凋亡途径，对血管内皮细胞具有保护作用[48]。已有研究表明，在 *Apoe*$^{-/-}$ 小鼠晚期动脉粥样硬化病变中，*BCL-2* 对巨噬细胞凋亡具有保护作用[49]；*CASP3* 参与炎症反应及凋亡调控[50]、影响动脉粥样硬化斑块稳定性[51]；RELA(p65)是 NF-κB 复合物亚基，可激活 *TNF-α*、

*IL-6*等基因[52]，RELA与参与动脉粥样硬化血运重建后的免疫调节关键基因（*VCAM1*、*MMP9*、*CXCR4*）均存在结合位点[53]；*STAT1*可与*NF-κB*协同放大炎症信号（如IFN-γ通路）[54]；*HDAC1*通过改善*VAV3*来抑制miR-182-5p并激活AKT通路，从而促进动脉粥样硬化[55]。上述结果表明，六堡茶可能通过调节炎症-凋亡平衡网络，增强血管内皮稳定性，抑制AS相关病理进程。



圆点—药物靶点；方块—AS靶点；连线—相互作用。

图6　六堡茶-活性成分靶点-疾病网络图

Fig. 6　LP-active compound-target-disease network

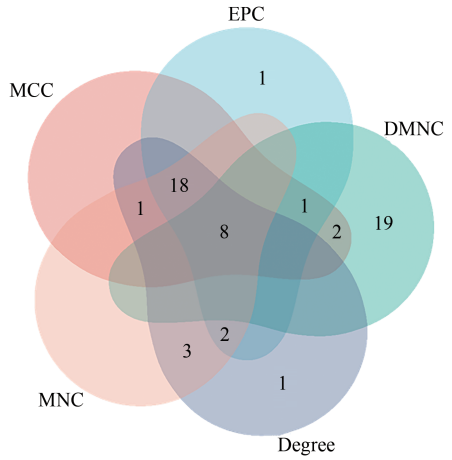


图7　枢纽基因交集维恩图

Fig. 7　Venn diagram of hub genes

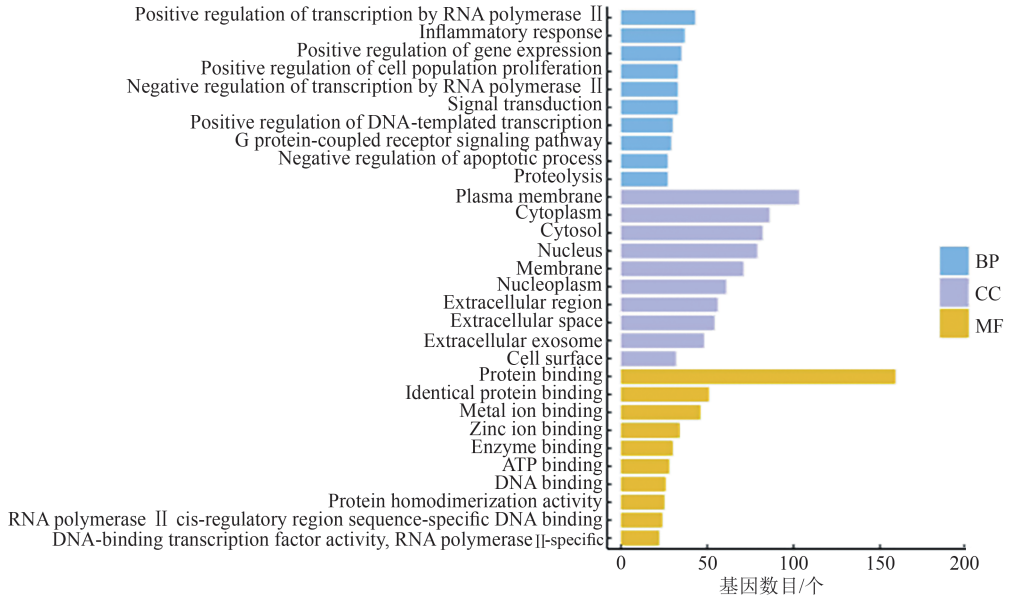
2.3.3　关键调控基因的GO与KEGG富集分析

为解析六堡茶改善AS的分子机制，作者对关键交集靶标进行了GO功能注释及KEGG通路富集分析，涵盖生物过程（biological process，BP）、细胞组分（cellular component，CC）和分子功能（molecular function，MF）3个层面。

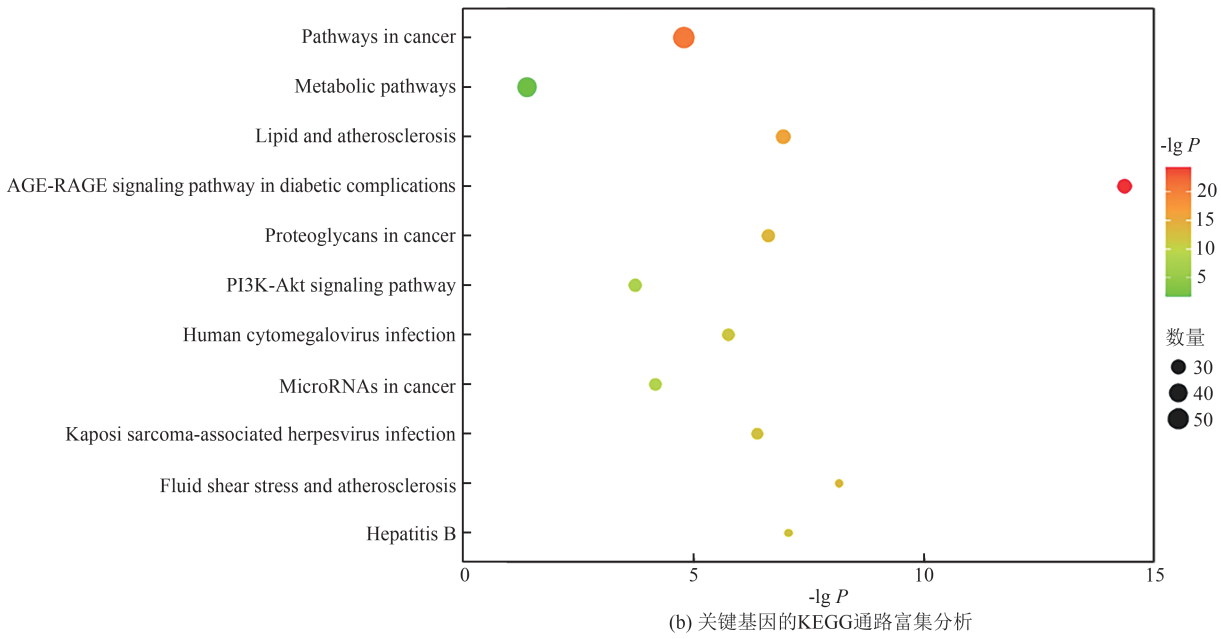
GO富集分析结果见图8（a）。BP中关键靶标富集于转录调控、细胞信号转导及应激与免疫反应等过程；主要包括RNA聚合酶II介导的转录正调控与负调控（Positive regulation of transcription by RNA polymerase II、Negative regulation of transcription by RNA polymerase II）、基于DNA模板的转录双向调控（Positive regulation of gene expression、Positive regulation of cell population proliferation、Positive regulation of DNA-templated transcription、Negative regulation of apoptotic process）。此外，炎症反应（Inflammatory response）显著富集，说明六堡茶干预涉及天然免疫及炎症激活机制。CC中差异基因产物主要定位于细胞膜和分泌相关区域，如膜系统相关的质膜（Plasma membrane）、细胞膜（Membrane）和细胞表面（Cell surface）富集，以及细胞外空间（Extracellular region、Extracellular space）和细胞外外泌体（Extracellular exosome）的富集。MF中主要集中于蛋白质互作和核酸结合，如蛋白质结合（Protein

binding）、同源蛋白质结合（Identical protein binding）和酶结合（Enzyme binding）、DNA 结合（DNA binding）和 RNA 聚合酶Ⅱ顺式调控区域结合（RNA polymerase Ⅱ cis-regulatory region sequence-specific DNA binding）等。结果表明，六堡茶参与转录动态调控、炎症与免疫反应、跨膜信号传递及蛋白质复合物组装的调控。

DAVID 数据库分析显示，相关基因共富集于 159 条 KEGG 通路，主要涉及代谢途径（Metabolic pathways）、脂质与动脉粥样硬化（Lipid and atherosclerosis）、流体剪切应力与动脉粥样硬化（Fluid shear stress and atherosclerosis）等通路，见图 8(b)。结合代谢组学分析，发现硫酸乙酰肝素的变化涉及糖胺聚糖降解通路，而网络药理学富集到的流体剪切应力与动脉粥样硬化通路与血管内皮表面的蛋白聚糖功能密切相关。KEGG 共同富集分析也显示，代谢组学与网络药理学的数据在脂质代谢、炎症相关通路上存在显著交集。



(a) 关键基因的GO富集分析



(b) 关键基因的KEGG通路富集分析

图 8　GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

Fig. 8　GO and KEGG pathway enrichment analyses

3　结论

作者从组织病理学、非靶向代谢组学与网络药理学层面，系统阐明六堡茶预防和改善AS的“多成分-多靶点-多通路”调控机制：1）改善AS导致的腹主动脉中膜增厚、肝脏脂肪变性和结肠损伤；2）调节脂质代谢，抑制RAS过度激活及糖胺聚糖降解通路异常，血管紧张素Ⅳ和硫酸乙酰肝素显著上调；3）网络药理学分析显示，六堡茶可作用于*MAPK1*、*MAPK8*、*MAPK14*、*BCL2*、*CASP3*、*RELA*、*STAT1*和*HDAC1*等8个核心靶点；4）成分-靶点-通路-效应多维网络构建结果表明，六堡茶可通过核心靶点调控RAS、糖胺聚糖代谢、脂质代谢等关键通路，协同改善血管功能、抑制炎症与氧化应激、缓解代谢紊乱。本研究为六堡茶预防AS提供了理论依据，后续将结合肠道宏基因组测序、关键蛋白质表达验证及临床随机对照试验，明确靶点与量效关系，推动六堡茶传统茶饮在心血管疾病预防中的开发应用。

参考文献

[1] ZHANG Z Y，HU C F，WANG M X，et al. Research on mechanism of PCS in damaging vascular endothelial cells and promoting formation of atherosclerosis *via* TLR4/TREM-1 [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences，2018，22(21)：7533-7542.

[2] LI Q，HONG X，ZHENG X X，et al. Characterization of key aroma compounds and core functional microorganisms in different aroma types of Liupao tea[J]. Food Research International，2022，152：110925.

[3] MA W J，SHI Y L，YANG G Z，et al. Hypolipidaemic and antioxidant effects of various Chinese dark tea extracts obtained from the same raw material and their main chemical components[J]. Food Chemistry，2022，375：131877.

[4] JANG A Y，JO S H，KOH K K. Emerging new lipid-lowering therapies in the statin era[J]. CardioMetabolic Syndrome Journal，2021，1(1)：66.

[5] HUANG S Y，CHEN H，TENG J W，et al. Antihyperlipidemic effect and increased antioxidant enzyme levels of aqueous extracts from Liupao tea and green tea *in vivo*[J]. Journal of Food Science，2022，87(9)：4203-4220.

[6] WU Z M，YU W X，NI W J，et al. Improvement of obesity by Liupao tea is through the IRS-1/PI3K/AKT/GLUT4 signaling pathway according to network pharmacology and experimental verification[J]. Phytomedicine，2023，110：154633.

[7] DING Q Z，ZHANG B W，ZHENG W，et al. Liupao tea extract alleviates diabetes mellitus and modulates gut microbiota in rats induced by streptozotocin and high-fat，high-sugar diet[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy，2019，118：109262.

[8] TONG Y，SHE Z Y，LIN X T，et al. Liupao tea extract alleviates rheumatoid arthritis in mice by regulating the gut-joint axis mediated *via* fatty acid metabolism[J]. Foods，2025，14(16)：2854.

[9] MING S J，OU J X，HUANG Y，et al. Liupao tea aqueous extract alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rats by modulating the gut microbiota[J]. Open Life Sciences，2025，20(1)：20251106.

[10] WEI L，HUANG L，DU L J，et al. Structural characterization and *in vitro* antioxidant，hypoglycemic and hypolipemic activities of a natural polysaccharide from Liupao tea[J]. Foods，2023，12(11)：2226.

[11] WANG X C，SHE Z Y，ZHOU H L，et al. Characterisation of the phytochemical and bioactivity profiles of raw tea，stale-aroma，and betelnut-aroma type of Liupao tea through GC/LC-MS-based metabolomics [J]. Analytical Methods，2025，17(3)：562-575.

[12] FENG X Y，CHEN M，SONG H Z，et al. A systemic review on Liubao tea：a time-honored dark tea with distinctive raw materials，process techniques，chemical profiles，and biological activities[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety，2023，22(6)：5063-5085.

[13] WU Y，SUN H L，YI R K，et al. Anti-obesity effect of Liupao tea extract by modulating lipid metabolism and oxidative stress in high-fat-diet-induced obese mice[J]. Journal of Food Science，2021，86(1)：215-227.

[14] WU W L，HU Y，ZHANG S G，et al. Untargeted metabolomic and lipid metabolism-related gene expression analyses of the effects and mechanism of aged Liupao tea treatment in HFD-induced obese mice[J]. RSC Advances，2021，11(38)：23791-23800.

[15] WANG Y Y，HU Q，CHEN B T，et al. Effects of Liupao tea with different years of aging on glycolipid metabolism，body composition，and gut microbiota in adults with obesity or overweight：a randomized，double-blind study[J]. Foods，2025，14(5)：866.

[16] YANG S Y，WEI Z J，LUO J C，et al. Integrated bioinformatics and multiomics reveal Liupao tea extract alleviating NAFLD *via* regulating hepatic lipid metabolism and gut microbiota [J]. Phytomedicine，2024，132：155834.

[17] 世界中医药学会联合会. 网络药理学评价方法指南[J]. 世界中医药，2021，16(4)：527-532.
World Federation of Chinese Medicine Societies.

Network pharmacology evaluation methodology guidance [J]. World Chinese Medicine, 2021, 16(4): 527-532. (in Chinese)

[18] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6(1): 13.

[19] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 42717.

[20] 张姝萍,王岳飞,徐平. 茶多酚对动脉粥样硬化的预防作用与机理研究进展[J]. 茶叶科学,2019,39(3):231-246.
ZHANG S P, WANG Y F, XU P. Prevention of tea polyphenols on atherosclerosis and relative mechanisms [J]. Journal of Tea Science, 2019, 39(3): 231-246. (in Chinese)

[21] 王鑫玉,赵一慕,高云,等. 普洱茶素II改善高脂血症 *ApoE*$^{-/-}$小鼠动脉粥样硬化作用机制研究[J]. 中草药, 2023, 54(4): 1157-1163.
WANG X Y, ZHAO Y M, GAO Y, et al. Mechanism of Puer in II on improving atherosclerosis in *ApoE*$^{-/-}$mice with hyperlipidemia[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(4): 1157-1163. (in Chinese)

[22] ZHANG Z D, LI J H, ZHANG M, et al. GPR109a regulates phenotypic and functional alterations in macrophages and the progression of type 1 diabetes[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2022, 66(23): 2200300.

[23] ZHOU D S, LIU X T, LAN L L, et al. Protective effects of Liupao tea against high-fat diet/cold exposure-induced irritable bowel syndrome in rats[J]. Heliyon, 2023, 9(6): e16613.

[24] SATO F T, YAP Y A, CRISMA A R, et al. Tributyrin attenuates metabolic and inflammatory changes associated with obesity through a GPR109A-dependent mechanism [J]. Cells, 2020, 9(9): 2007.

[25] 牛福星,杜云平,黄远斌,等. 工程微生物合成苯丙酸类化合物及其衍生物的研究进展[J]. 合成生物学,2020, 1(3):337-357.
NIU F X, DU Y P, HUANG Y B, et al. Recent advances in the production of phenylpropanoic acids and their derivatives by genetically engineered microorganisms[J]. Synthetic Biology Journal, 2020, 1(3): 337-357. (in Chinese)

[26] 温馨,王兴亚,孙崇德,等. 黄酮类化合物调节肥胖相关炎症的研究进展[J]. 中草药,2017,48(14):2972-2978.
WEN X, WANG X Y, SUN C D, et al. Regulation of obesity-induced inflammation by flavonoids[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(14): 2972-2978. (in Chinese)

[27] KUMARI D, BANDYOPADHYAY P, SURYAPRAKASH N. Discrimination of α-amino acids using green tea flavonoid (−)-epigallocatechin gallate as a chiral solvating agent [J]. The Journal of Organic Chemistry, 2013, 78(6): 2373-2378.

[28] MILLAR C L, DUCLOS Q, BLESSO C N. Effects of dietary flavonoids on reverse cholesterol transport, HDL metabolism, and HDL function [J]. Advances in Nutrition, 2017, 8(2): 226-239.

[29] ZHOU Y, CHEN Y, HE H, et al. The role of the indoles in microbiota-gut-brain axis and potential therapeutic targets: a focus on human neurological and neuropsychiatric diseases [J]. Neuropharmacology, 2023, 239: 109690.

[30] POZNYAK A V, BHARADWAJ D, PRASAD G, et al. Renin-angiotensin system in pathogenesis of atherosclerosis and treatment of CVD[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(13): 6702.

[31] 邱宏,丁侃. 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的功能机制研究进展[J]. 生命科学,2011,23(7):648-661.
QIU H, DING K. Progress in function and mechanism study of heparan sulfate proteoglycan[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2011, 23(7): 648-661. (in Chinese)

[32] FU X, NIU T S, YANG T G, et al. CircMAPK1 promotes the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells through miR-22-3p/methyl-CpG binding protein 2 axis [J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2021, 31(7): 2189-2198.

[33] LEPEDDA A J, NIEDDU G, FORMATO M, et al. Glycosaminoglycans: from vascular physiology to tissue engineering applications [J]. Frontiers in Chemistry, 2021, 9: 680836.

[34] GORDTS P L S M, ESKO J D. The heparan sulfate proteoglycan grip on hyperlipidemia and atherosclerosis [J]. Matrix Biology, 2018, 71: 262-282.

[35] 刘润琦. 茶化学在降脂减肥中的应用[J]. 当代化工研究,2018(1):54-55.
LIU R Q. Application of tea chemistry in lipid-lowering weight loss[J]. Modern Chemical Research, 2018(1): 54-55. (in Chinese)

[36] 杨高中,马士成,张悦,等. 陈化六堡茶的主要品质化学成分及其抗氧化活性分析[J]. 山西农业科学,2022,50(11):1519-1526.
YANG G Z, MA S C, ZHANG Y, et al. Analysis of the main quality chemical components of aged Liupao tea and their antioxidant activity [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2022, 50(11): 1519-1526. (in Chinese)

[37] 周丹水,陈小雪,吴志敏,等. 基于网络药理学和分子对

接法研究六堡茶干预COVID-19的活性成分[J]. 中国药科大学学报，2020，51(5)：556-567.
ZHOU D S，CHEN X X，WU Z M，et al. Potential active compounds of Liupao tea for prevention and treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking[J]. Journal of China Pharmaceutical University，2020，51(5)：556-567.(in Chinese)

[38] 马婉君，马士成，刘春梅，等. 六堡茶的化学成分及生物活性研究进展[J]. 茶叶科学，2020，40(3)：289-304.
MA W J，MA S C，LIU C M，et al. Research progress on chemical composition and biological activity of Liupao tea [J]. Journal of Tea Science，2020，40(3)：289-304.(in Chinese)

[39] 吴志敏. 梧州六堡茶化学成分分析及对湿热型便秘大鼠的作用机制研究[D]. 广州：广东药科大学，2022.

[40] ZHOU H L，WANG X C，SHE Z Y，et al. Combining bioinformatics and multiomics strategies to investigate the key microbiota and active components of Liupao tea ameliorating hyperlipidemia [J] . Journal of Ethnopharmacology，2024，333：118438.

[41] GONG Z P，OUYANG J，WU X L，et al. Dark tea extracts：chemical constituents and modulatory effect on gastrointestinal function [J] . Biomedicine & Pharmacotherapy，2020，130：110514.

[42] WANG H F，TENG J W，HUANG L，et al. Determination of the variations in the metabolic profile and sensory quality of Liupao tea during fermentation through UHPLC-HR-MS metabolomics [J] . Food Chemistry，2023，404：134773.

[43] ZHU M Z，LI N，ZHOU F，et al. Microbial bioconversion of the chemical components in dark tea[J]. Food Chemistry，2020，312：126043.

[44] LV H P，ZHANG Y，SHI J，et al. Phytochemical profiles and antioxidant activities of Chinese dark teas obtained by different processing technologies [J] . Food Research International，2017，100：486-493.

[45] 辛剑，陈辉兵，尚艺泰. p38MAPK信号通路抑制剂对TNF-α诱导的乳腺癌细胞凋亡的影响[J]. 中国妇幼保健，2019，34(6)：1375-1379.
XIN J，CHEN H B，SHANG Y T. Effect of p38MAPK signaling pathway inhibitor on TNF-α-induced apoptosis of breast cancer cells [J] . Maternal and Child Health Care of China，2019，34(6)：1375-1379.(in Chinese)

[46] CHOI S H，GONEN A，DIEHL C J，et al. SYK regulates macrophage MHC-II expression *via* activation of autophagy in response to oxidized LDL[J]. Autophagy，2015，11(5)：785-795.

[47] SHEN S R，HUANG Z Q，LIN L M，et al. Tussilagone attenuates atherosclerosis through inhibiting MAPKs-mediated inflammation in macrophages[J]. International Immunopharmacology，2023，119：110066.

[48] YU H B，ZHANG H J，CHENG Y，et al. JNK pathway promotes hepatocyte apoptosis by inhibiting Bcl-2 and upregulating expressions of Bim，caspase-3 and caspase-9 after cardiopulmonary bypass [J] . Tropical Journal of Pharmaceutical Research，2020，19(3)：519-524.

[49] THORP E，LI Y K，BAO L P，et al. Brief report：increased apoptosis in advanced atherosclerotic lesions of *Apoe*$^{-/-}$ mice lacking macrophage Bcl-2 [J] . Arteriosclerosis，Thrombosis，and Vascular Biology，2009，29(2)：169-172.

[50] 赵雪，顾耘，张璐，等. 基于YWHAZ/p38MAPK/CASP3信号通路探讨软脉煎治疗动脉粥样硬化的机制[J]. 中国药理学通报，2024，40(3)：573-581.
ZHAO X，GU Y，ZHANG L，et al. Mechanism of Ruanmai decoction in treating atherosclerosis based on YWHAZ/p38MAPK/CASP3 signaling pathway [J] . Chinese Pharmacological Bulletin，2024，40(3)：573-581.(in Chinese)

[51] GROOTAERT M O，SCHRIJVERS D M，HERMANS M，et al. Caspase-3 deletion promotes necrosis in atherosclerotic plaques of *ApoE* knockout mice [J] . Oxidative Medicine and Cellular Longevity，2016，2016：3087469.

[52] AHSAN H，MALIK S I，SHAH F A，et al. Celecoxib suppresses NF-κB p65（RelA）and TNFα expression signaling in glioblastoma [J] . Journal of Clinical Medicine，2023，12(20)：6683.

[53] 曹培东，桂春. PCI对RelA的影响及血运重建后的作用机制研究[J]. 医学信息，2022，35(8)：74-78.
CAO P D，GUI C. Effect of PCI on RelA and its mechanism after revascularization [J] . Journal of Medical Information，2022，35(8)：74-78.(in Chinese)

[54] CHMIELEWSKI S，OLEJNIK A，SIKORSKI K，et al. STAT1-dependent signal integration between IFNγ and TLR4 in vascular cells reflect pro-atherogenic responses in human atherosclerosis[J]. PLoS One，2014，9(12)：e113318.

[55] GAO Y X，PAN L F，ZHAO L，et al. HDAC1 promotes artery injury through activation of VAV3 by binding to miR-182-5p in atherosclerotic mice model[J]. Cellular Signalling，2021，78：109840.