

本文引用: 唐博翔, 陈美丽, 廖小妹, 王玺舜, 余家乐, 李涵宇, 何文智. 基于“肝病实脾”理论探讨黄连温胆汤通过修复肠屏障及抑制 TLR4/NF- κ B 通路抗肝纤维化的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(11): 2063–2071.

基于“肝病实脾”理论探讨黄连温胆汤通过修复肠屏障及抑制 TLR4/NF- κ B 通路抗肝纤维化的作用机制

唐博翔^{1,2}, 陈美丽³, 廖小妹², 王玺舜², 余家乐², 李涵宇², 何文智^{1,2*}

1. 湖南中医药大学口腔医学院, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208;

3. 湖南中医药大学附属长沙市中医医院, 湖南 长沙 410002

〔摘要〕 目的 基于中医“肝病实脾”理论, 探索黄连温胆汤修复肠黏膜屏障、改善肝纤维化的作用机制。方法 将 SD 大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、秋水仙碱组及黄连温胆汤组, 每组 8 只; 除空白组外, 其余 3 组均采用 40% 四氯化碳 (CCl₄) 诱导肝纤维化大鼠模型, 每 3 d 注射 1 次, 持续 8 周; 在造模第 5 周, 黄连温胆汤组灌胃黄连温胆汤 12 g/kg, 秋水仙碱组灌胃秋水仙碱溶液 0.2 mg/kg, 空白组和模型组灌胃生理盐水, 每天 1 次, 持续 8 周。通过 HE 和 Masson 染色评估肝肠组织病理变化; ELISA 检测血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、脂多糖 (LPS) 含量; Western blot 检测肝组织中 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、I 型胶原蛋白 (Collagen I) 及肠组织中闭合蛋白 (Occludin)、闭锁小带蛋白-1 (ZO-1)、Toll 样受体 4 (TLR4)、髓样分化因子 88 (MyD88)、核因子- κ B (NF- κ B) p65 蛋白表达水平。结果 与空白组相比, 模型组肝组织 HE 染色显示肝严重损伤; Masson 染色可见典型纤维化, 胶原纤维面积占比升高 ($P < 0.01$); 肝组织中 Collagen I、 α -SMA 蛋白表达水平平均升高 ($P < 0.01$); 肠组织 HE 染色显示肠黏膜结构严重破坏; 肠组织中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平平均降低 ($P < 0.01$); 肠组织中 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 蛋白表达水平平均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 血清中 TNF- α 、LPS 含量均升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 黄连温胆汤组及秋水仙碱组肝组织 HE 染色显示肝损伤减轻, Masson 染色可见纤维化程度改善, 胶原纤维面积占比均降低 ($P < 0.01$), 肝组织 Collagen I、 α -SMA 蛋白表达水平平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 黄连温胆汤组肠组织 HE 染色显示肠黏膜结构明显修复, 肠组织中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平平均升高 ($P < 0.01$), 肠组织中 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 蛋白表达水平平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 血清中 TNF- α 、LPS 含量均降低 ($P < 0.01$); 秋水仙碱组血清中 TNF- α 含量降低 ($P < 0.01$)。与秋水仙碱组比较, 黄连温胆汤组肠组织中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平平均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平平均降低 ($P < 0.01$); 血清中 LPS 含量降低 ($P < 0.01$)。结论 黄连温胆汤通过修复肠黏膜屏障结构、降低通透性, 并抑制 TLR4/NF- κ B 通路介导的肠源性炎症, 从而改善肝纤维化, 其“肠肝同治”机制为中医“肝病实脾”理论提供了分子生物学证据。

〔关键词〕 肝纤维化; 黄连温胆汤; 肠黏膜屏障; TLR4/NF- κ B 通路; 肝病实脾

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.11.006

Mechanism of action of Huanglian Wendan Decoction against hepatic fibrosis via intestinal barrier repair and inhibition of TLR4/NF- κ B pathway based on the theory of "fortifying the spleen to treat liver disease"

TANG Boxiang^{1,2}, CHEN Meili³, LIAO Xiaomei², WANG Xishun², YU Jiale², LI Hanyu², HE Wenzhi^{1,2*}

1. School of Stomatology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan University of

〔收稿日期〕 2025-07-22

〔基金项目〕 湖南省自然科学基金项目 (2025JJ90044); 湖南省卫生健康委员会项目 (D202308018795)。

〔通信作者〕 * 何文智, 男, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: 173489628@qq.com。

Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Changsha Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated to Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410002, China

[Abstract] Objective To investigate the mechanism of action of Huanglian Wendan Decoction (HLWDD) in repairing the intestinal mucosal barrier and ameliorating hepatic fibrosis (HF) based on the TCM theory of "fortifying the spleen to treat liver disease". **Methods** SD rats were randomly divided into four groups using a random number table method: the control group, model group, colchicine group, and HLWDD group, with eight rats in each group. Except the blank group, the other three groups were induced to develop liver fibrosis models using 40% carbon tetrachloride (CCl₄), with injections administered once every 3 days for a duration of eight weeks. At week 5 of modelling, the HLWDD group was gavaged with HLWDD at a dose of 12 g/kg, the colchicine group was gavaged with a colchicine solution at a dose of 0.2 mg/kg, while the blank and model groups were gavaged with physiological saline solution once daily for 8 weeks. HE and Masson staining were used to evaluate the histopathological changes in hepatic and intestinal tissues. ELISA was employed to measure the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and lipopolysaccharide (LPS) in the serum. Western blot was performed to determine the protein expression levels of α -smooth muscle actin (α -SMA) and collagen type I (Collagen I) in hepatic tissues, as well as Occludin, zonula occludens-1 (ZO-1), Toll-like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), and nuclear factor- κ B (NF- κ B) p65 in intestinal tissues. **Results** Compared with the blank group, the model group exhibited severe hepatic damage as demonstrated by HE staining of hepatic tissues; Masson staining revealed typical fibrosis with an increased collagen fiber area ratio ($P < 0.01$). Protein expression levels of Collagen I and α -SMA in hepatic tissues were elevated ($P < 0.01$). HE staining of intestinal tissues revealed severe mucosal structural damage, accompanied by decreased protein expression levels of Occludin and ZO-1 ($P < 0.01$) and increased protein expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 in intestinal tissues ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Serum levels of TNF- α and LPS were significantly elevated ($P < 0.01$). Compared with the model group, both the HLWDD and colchicine groups showed alleviated hepatic damage in HE staining, improved fibrosis degree in Masson staining, and significantly reduced collagen fiber area ratio ($P < 0.01$). Protein expression levels of Collagen I and α -SMA in hepatic tissues decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The HLWDD group demonstrated significant restoration of the intestinal mucosal structure in HE staining increased protein expression levels of Occludin and ZO-1 ($P < 0.01$), decreased protein expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B p65 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and reduced serum levels of TNF- α and LPS ($P < 0.01$). The colchicine group showed decreased serum TNF- α level ($P < 0.01$). Compared with the colchicine group, the HLWDD group exhibited higher protein expression levels of Occludin and ZO-1 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) while lower protein expression levels of TLR4 and MyD88 ($P < 0.01$) in intestinal tissues, as well as reduced LPS levels in serum ($P < 0.01$). **Conclusion** HLWDD ameliorates HF by restoring intestinal mucosal barrier structure, reducing permeability, and inhibiting gut-derived inflammation mediated by the TLR4/NF- κ B pathway. This mechanism of "gut-liver co-treatment" provides molecular biological evidence for the TCM theory of "fortifying the spleen to treat liver disease."

[Keywords] hepatic fibrosis; Huanglian Wendan Decoction; intestinal mucosal barrier; TLR4/NF- κ B pathway; fortifying the spleen to treat liver disease

肝纤维化是因肝脏长期受损后修复机制失衡,引发细胞外基质异常沉积而形成的病理性瘢痕化过程^[1]。该病理进程涉及多因素、多通路的相互作用机制,临床研究证实其具有渐进性发展特征^[2]。若未能及时有效干预,肝纤维化将可能依次向肝硬化及肝癌等终末期肝病阶段演变^[3]。近年研究发现,肠道屏障功能在肝纤维化发生发展过程中扮演关键调控角色^[4]。“肠肝轴”理论揭示了肝脏与肠道在结构、代谢及免疫层面的紧密双向联系^[5]。当肠道屏障崩解时,革兰氏阴性菌外膜成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等肠源性损伤因子可通过门静脉系

统大量涌入肝脏,激活肝脏炎症与纤维化级联反应,加剧疾病进程^[6]。因此,修复受损的肠黏膜屏障、阻断“肠漏-肝损”恶性循环,已成为肝纤维化防治的重要策略^[7]。然而,当前针对肝纤维化的肠道靶向疗法研究仍处于探索初期,亟须探寻安全有效的干预手段。

黄连温胆汤出自《六因条辨》,由温胆汤化裁而成,具体中药组成为黄连、半夏、陈皮、茯苓、枳实、炙甘草、竹茹、生姜^[8]。全方配伍精当,具有清热化痰、理气健脾、消癥化积之效^[9]。该方在肝胆疾病管理中应用广泛,临床及基础研究证实,其具有控制炎症、

改善肝脏代谢的功能^[10-11]。此外,现代药理研究显示,方中核心药物如黄连、茯苓、陈皮等具有调节肠道菌群、减轻肠道炎症、保护肠黏膜屏障的潜在作用^[12-15]。然而,黄连温胆汤是否能够修复肝纤维化状态下的肠黏膜屏障损伤,并通过“肠肝轴”途径改善肝纤维化,目前尚未有系统研究。

在中医理论框架内,“肝脾传变”学说与当代“肠肝轴”理论具有一定的契合性^[16]。《金匱要略·脏腑经络先后病脉证第一》提出“见肝之病,知肝传脾,当先实脾”的治则,强调“健脾”在肝病防治中的核心地位。中医“脾”的功能范畴涵盖现代解剖学的“肠道”,两者在营养吸收、免疫防御、水液代谢等方面高度重叠,中医的“健脾”治法在现代医学中常表现为调节肠道功能^[17-20]。故从“肠肝同治”角度,探究“清热化痰、理气健脾”功效的黄连温胆汤对肝纤维化的干预作用,具有一定的理论基础。基于此,本研究旨在通过构建四氯化碳(tetrachloromethane, CCl₄)诱导的肝纤维化大鼠模型,系统评估黄连温胆汤对肝脏纤维化病理改变的影响,并重点探究其对肠黏膜屏障结构和功能的修复作用;进一步从分子机制层面,考察黄连温胆汤对肠道组织关键信号通路 Toll 样受体 4/核因子- κ B(Toll-like receptor 4/nuclear factor kappa-B, TLR4/NF- κ B)及下游肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的调控效应,以期阐明其通过修复肠屏障、抑制肠源性炎症信号改善肝纤维化的作用机制,为黄连温胆汤的临床应用及“肝病实脾”理论提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 实验动物

48 只雄性 SD 大鼠,SPF 级,体质量 180~220 g,8 周龄,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物许可证号:SYXK(湘)2019-0009。在温度(22±2)℃、相对湿度 50%~70%、噪声≤60 dB,昼夜明暗交替 12 h/12 h 的屏障环境内进行适应性喂养。实验已通过湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准,伦理批准号:SLBH-202312060001。

1.2 药物及试剂

黄连温胆汤组方:黄连 6 g,半夏 6 g,陈皮 9 g,

茯苓 4.5 g,枳实 6 g,炙甘草 3 g,竹茹 6 g,生姜 3.5 g。每剂共含生药 44 g,饮片购自湖南中医药大学第一附属医院门诊中药药房。秋水仙碱(广东彼迪药业有限公司,国药准字 H20113208,批号:20231011,规格:0.5 mg×20 片/盒)。

TNF- α 、LPS ELISA 试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:JL13202、JL52811);TLR4 抗体(杭州华安生物技术有限公司,批号:RT-1666);髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)抗体(成都正能生物技术有限责任公司,批号:340629);NF- κ B p65 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:10745-1-AP); α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)抗体(加拿大 Affinity 生物技术有限公司,批号:AF1032);I 型胶原蛋白(Collagen I)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号:bs-7158R);闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:21773-1-AP);闭合蛋白(Occludin)抗体(成都正能生物技术有限责任公司,批号:502601); β -actin 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:66009-1-Ig); β -tubulin 抗体(成都正能生物技术有限责任公司,批号:390628);BCA 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技公司,批号:E-BC-K318-M);Goat anti-mouse IgG(杭州戴格格生物技术有限公司,批号:db10003);Goat anti-rabbit IgG(杭州戴格格生物技术有限公司,批号:db10002)。

1.3 主要仪器

CYTATION5 型多功能酶标仪(美国 Bio-TEK 公司);Fresco 17 型冷冻离心机、HM325 型石蜡切片机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);A1R HD25 型激光共聚焦显微镜(日本 NIKON 公司)。

2 方法

2.1 药物配制

将配制好的中药饮片经水浸泡,一煎、二煎后过滤,合并浓缩至 44 mL,即为黄连温胆汤组成生药浓度 1 g/mL 的药液,置于 4℃冰箱低温储存。

2.2 模型制备与给药方案

大鼠适应性喂养 1 周后,按随机数字表法分成 6 组,空白组、模型组、黄连温胆汤组、秋水仙碱

组, 每组 8 只。模型组、黄连温胆汤组、秋水仙碱组按 2 mL/kg 腹腔注射含 40% CCl₄ 的橄榄油溶液, 空白组腹腔注射等体积橄榄油溶液, 每 3 d 注射 1 次, 持续 8 周^[21-22]。所有大鼠均喂养普通饲料、正常饮水。从第 5 周开始, 根据人与大鼠体表面积剂量折算, 黄连温胆汤组灌胃黄连温胆汤 12 g/kg, 秋水仙碱组灌胃秋水仙碱溶液 0.2 mg/kg^[23], 空白组和模型组灌胃生理盐水。灌胃体积均为 12 mL/kg, 1 次/d, 持续 8 周。

2.3 样本采集和处理

最后一次给药完成后, 实验大鼠在自由饮水条件下禁食 12 h, 随后以 2% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉。通过腹主动脉采集全血样本后, 将血液置于 4 ℃低温环境中 2 h, 离心处理 10 min, 分离得到的血清样本经分装后, 迅速转移至 -80 ℃超低温冰箱冻存。完成采血操作后立即对大鼠实施安乐死, 系统采集肝脏及回肠末端组织, 选取部分肝叶组织和回肠末端组织浸渍于 4% 多聚甲醛固定液中进行组织固定, 余下肝组织和回肠末端组织经分装后, 用液氮速冻, 转入 -80 ℃长期保存。

2.4 肝和肠组织形态学观察

多聚甲醛固定后的肝和肠组织经脱水、包埋、切片、脱蜡后, 行 HE 和 Masson 染色, 观察各组大鼠肝和肠组织形态变化及肝纤维化程度。Masson 染色成像后使用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统, 计算胶原纤维含量。

2.5 血清生化指标检测

按照 ELISA 试剂盒说明书对血清中的 TNF- α 、LPS 进行检测, 测定吸光度值, 计算浓度。

2.6 肝和肠组织中相关蛋白的 Western blot 检测

取出 -80 ℃冻存的肝和肠组织, 加入裂解液进行蛋白提取, 经离心后收集上清液。检测上清液的蛋白浓度, 定质量为 30 μ g, 计算出上样体积, 将蛋白变性后用于 Western blot 实验。经电泳、电转膜、5% 脱脂牛奶室温封闭后, 加入 TLR4 一抗 (1:1 000)、MyD88 一抗 (1:500)、NF- κ B p65 一抗 (1:3 000)、 α -SMA 一抗 (1:500)、Collagen I 一抗 (1:1 000)、Occludin 一抗 (1:1 000)、ZO-1 一抗 (1:8 000), 4 ℃孵育过夜。次日加入二抗 (1:100 000), 室温孵

育 90 min。显影后对目标条带进行灰度值测定。因多个目标蛋白与内参分子量范围有交叉, 所以采用两个不同内参 β -actin、 β -tubulin 作为标准化对照, 计算目标蛋白的相对表达水平。

2.7 统计学分析

使用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。计量资料以 " $\bar{x} \pm s$ " 表示, 符合正态分布且方差齐, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验; 不符合正态分布, 采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 黄连温胆汤对肝纤维化大鼠肝组织病理学的影响

HE 染色结果显示, 空白组结构正常, 无炎症细胞浸润、肝细胞空泡变性或窦周纤维化; 模型组肝细胞排列紊乱、坏死并伴淋巴细胞浸润; 黄连温胆汤组及秋水仙碱组干预后, 肝细胞坏死、结缔组织增生和淋巴细胞浸润均改善。详见图 1。

Masson 染色结果显示, 空白组大鼠肝组织汇管区仅见散在胶原纤维沉积; 模型组呈现典型纤维化病理特征, 表现为汇管区胶原纤维显著增生, 形成连续性纤维间隔, 部分区域出现纤维桥接现象并形成早期假小叶结构; 黄连温胆汤组及秋水仙碱组纤维化程度明显改善, 表现为纤维间隔断裂重组, 桥接纤维数量减少, 假小叶形成区域缩小。详见图 2A。

Masson 结果中胶原纤维面积占比定量统计分析显示, 与空白组相比, 模型组大鼠的胶原纤维面积占比升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 黄连温胆汤组、秋水仙碱组大鼠的胶原纤维面积占比均降低 ($P < 0.01$)。详见图 2B。

3.2 黄连温胆汤对肝纤维化大鼠肠组织病理学的影响

HE 染色结果显示, 空白组大鼠小肠黏膜屏障结构完整, 肠绒毛呈规整栅栏状排列, 隐窝形态及肠腺结构均未见异常; 模型组呈现显著病理改变, 表现为肠黏膜完整性破坏, 局部绒毛萎缩塌陷, 伴表层上皮细胞脱落, 绒毛高度与隐窝深度较正常生理状态明显缩减; 黄连温胆汤组肠绒毛形态学损伤得

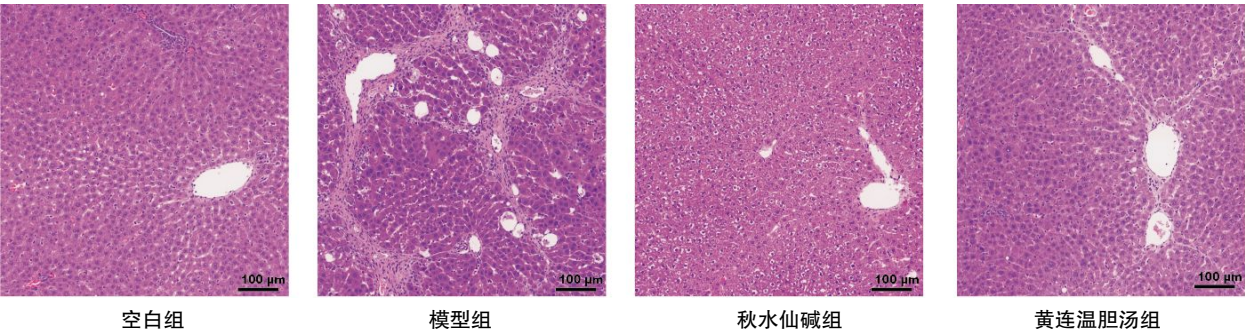


图 1 各组大鼠肝组织 HE 染色结果($\times 100$)

Fig.1 HE staining results of hepatic tissues among different groups of rats ($\times 100$)

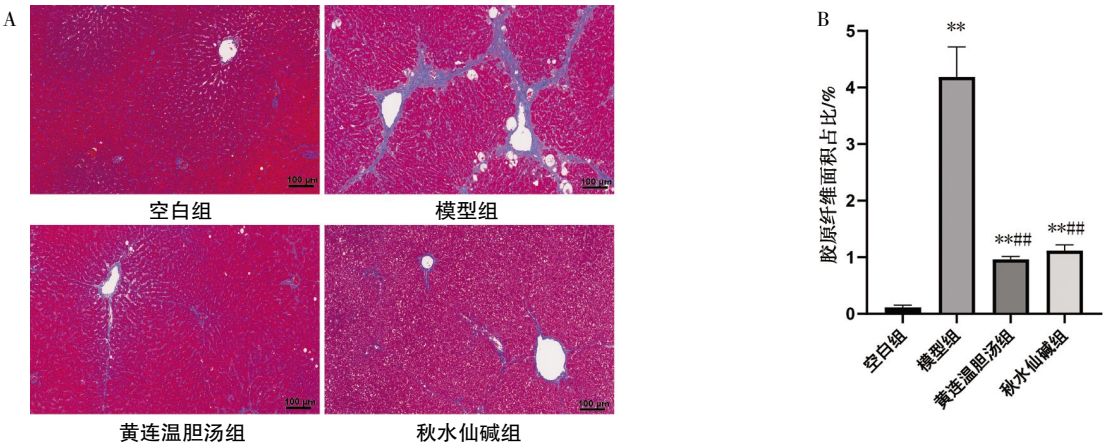


图 2 各组大鼠肝组织 Masson 染色结果及胶原纤维面积占比比较

Fig.2 Masson staining results of hepatic tissues and comparison of collagen fiber content ratio among different groups of rats

注:A.大鼠肝组织 Masson 染色结果($\times 100$);B.胶原纤维面积占比统计。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,*** $P<0.01$ 。

到改善,表现为绒毛立体结构重建,上皮细胞排列趋于有序;而秋水仙碱干预后,肠上皮细胞并未见明显改善。详见图 3。

3.3 黄连温胆汤对肝纤维化标志物 Collagen I 和 α -SMA 蛋白表达水平的影响

与空白组相比,模型组肝组织中 Collagen I、 α -SMA 蛋白表达水平均升高($P<0.01$);与模型组相比,黄连温胆汤组、秋水仙碱组肝组织中 Collagen I、

α -SMA 蛋白表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 4。

3.4 黄连温胆汤对肝纤维化大鼠血清中 TNF- α 、LPS 含量的影响

与空白组相比,模型组血清中 TNF- α 、LPS 含量升高($P<0.01$);与模型组相比,黄连温胆汤组血清中 TNF- α 、LPS 含量降低($P<0.01$),秋水仙碱组血清中 TNF- α 含量降低($P<0.01$);与秋水仙碱组相比,

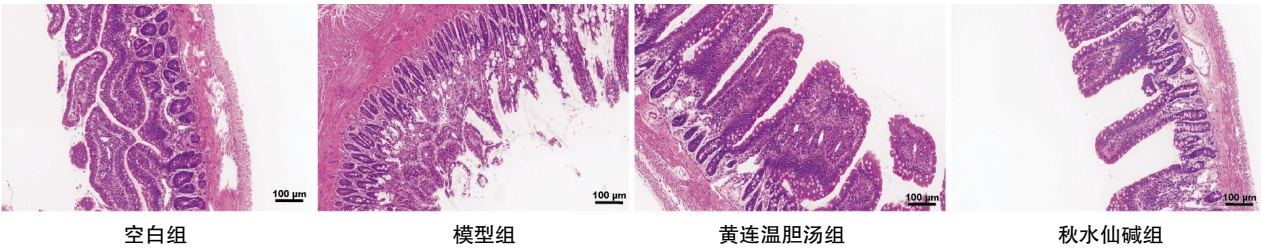


图 3 各组大鼠肠组织 HE 染色结果($\times 100$)

Fig.3 HE staining results of intestinal tissues among different groups of rats ($\times 100$)

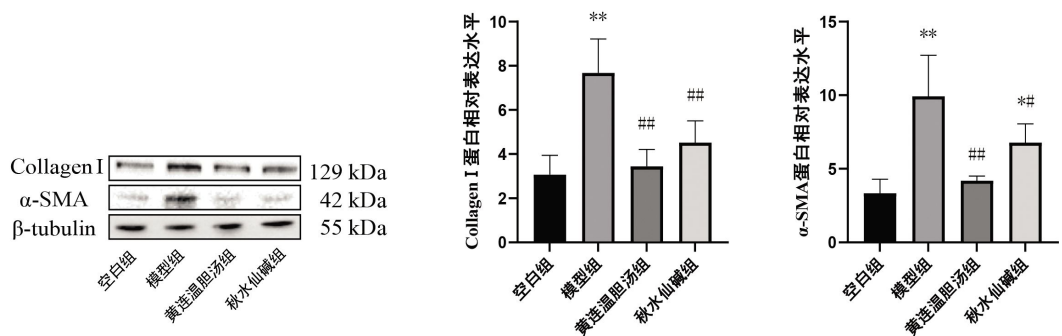


图 4 各组大鼠肝组织中 Collagen I、α-SMA 蛋白表达水平比较

Fig.4 Comparison of Collagen I and α-SMA protein expression levels in hepatic tissues among different groups of rats

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

黄连温胆汤组血清中 LPS 含量降低($P<0.01$)。详见表 1。

表 1 各组大鼠血清中 TNF-α、LPS 含量比较

Table 1 Comparison of TNF-α and LPS levels in serum among different groups of rats

组别	<i>n</i>	LPS/(ng/mL)	TNF-α/(pg/mL)
空白组	5	0.43±0.04	34.22±7.90
模型组	5	0.87±0.16**	145.4±18.72**
黄连温胆汤组	5	0.53±0.13 ^{##}	48.98±6.24 [#]
秋水仙碱组	5	0.86±0.16**	57.55±4.32 [#]

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,^{##} $P<0.01$ 。

3.5 黄连温胆汤对肠组织中紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 蛋白表达水平的影响

与空白组相比,模型组肠组织中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平降低($P<0.01$);与模型组相比,黄连温胆汤组肠组织中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平升高($P<0.01$);与秋水仙碱组比较,黄连温胆汤组肠组织

中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 5。

3.6 黄连温胆汤对肝纤维化大鼠肠组织中 TLR4、MyD88、NF-κB p65 蛋白表达水平的影响

与空白组相比,模型组肠组织中 TLR4、MyD88、NF-κB p65 蛋白表达水平升高($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组相比,黄连温胆汤组肠组织中 TLR4、MyD88、NF-κB p65 蛋白表达水平降低($P<0.05$, $P<0.01$);与秋水仙碱组比较,黄连温胆汤组肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平降低($P<0.01$)。详见图 6。

4 讨论

中医理论中“脾”的功能,尤其是其运化水谷、防御外邪方面,与现代医学的肠道功能高度吻合^[24]。黄连温胆汤组方体现了“从脾论治肝病”的思想。君药黄连大苦大寒,主清中焦湿热疫毒,其有效成分如小檗碱具有广谱抗菌、抗炎、调节肠道菌群、减轻肠道炎症、保护肠上皮细胞的作用^[25-27]。方中陈皮、茯苓

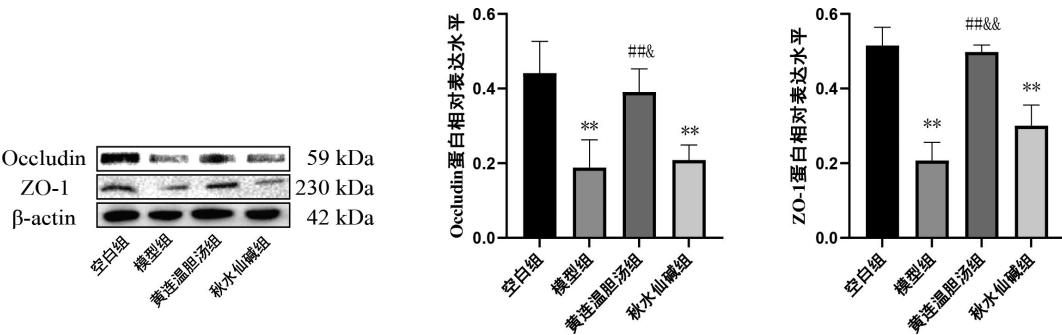


图 5 各组大鼠肠组织中 Occludin、ZO-1 蛋白表达水平比较

Fig.5 Comparison of Occludin and ZO-1 protein expression levels in intestinal tissues among different groups of rats

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,^{*} $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

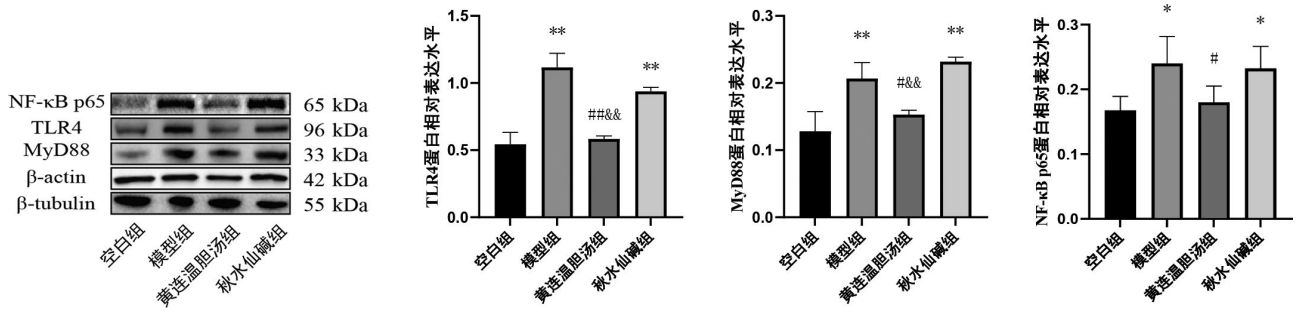


图6 各组大鼠肠组织中TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白表达水平比较

Fig.6 Comparison of TLR4, MyD88, and NF-κB p65 protein expression levels in intestinal tissues among different groups of rats

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,△ $P<0.01$ 。

的使用,正是“肝病实脾”理论的核心体现。中医认为“见肝之病,知肝传脾,当先实脾”,意指肝病易横逆犯脾,导致脾失健运,湿浊内生。陈皮辛香行散,苦燥温化,既能理气和中,又能燥湿化痰;茯苓甘淡平和,功擅健脾渗湿,两者相伍,共奏健脾理气、渗湿利水之效,旨在恢复中焦运化之职,截断湿热滋生之源,从病机上游实现“实脾以防肝传”。现代研究证实,陈皮、茯苓能显著调节肠道菌群平衡、促进消化液分泌、增强胃肠动力、保护肠黏膜^[28-29],强化了肠道的屏障功能,与“脾主运化”和“脾为之卫”的现代内涵,即营养物质的消化吸收和肠道屏障的完整性与防御力相契合。枳实、竹茹理气化痰清热,可通过调节胃肠平滑肌功能、改善肠道微循环、减轻氧化应激,间接保护屏障^[30-31]。半夏燥湿化痰消痞,亦有抗炎、调节免疫之效^[32]。生姜温中散寒止呕,能缓解黄连苦寒之性,促进吸收,其姜辣素具有抗炎、抗氧化活性^[33]。甘草调和诸药,益气补中,其甘草酸、黄酮类成分具有明确的抗炎、保护胃黏膜作用^[34]。全方“清热化痰”以祛邪(抗炎、抑菌、清除病理产物)、“理气健脾”以固本(调节胃肠功能、修复肠屏障、恢复稳态),配伍协调,多成分、多靶点协调肠道功能。

研究通过病理染色证实,黄连温胆汤干预后,肝细胞坏死减少、炎症浸润减轻、纤维间隔断裂及胶原沉积下降;进一步定量分析显示,黄连温胆汤降低了肝脏胶原纤维面积占比。在分子层面,黄连温胆汤下调了肝星状细胞活化标志物 α -SMA及细胞外基质成分Collagen I的表达,与其抗肝纤维化作用相符,这与既往研究报道黄连温胆汤及其类似方剂具

有保肝、抗炎、抗纤维化作用的结果一致^[9,23,35],夯实了其作为抗肝纤维化中药复方的实验依据。研究进一步揭示了黄连温胆汤对肝纤维化状态下受损肠屏障的修复作用及其机制。模型组大鼠肠黏膜结构严重破坏,黄连温胆汤干预后,肠绒毛形态与上皮细胞排列趋于正常,提示其有效修复了肠道物理屏障。紧密连接蛋白Occludin与ZO-1在模型组肠组织中表达下调,而黄连温胆汤上调了二者表达,提示其通过加固紧密连接结构来修复屏障功能,而加固紧密连接正是屏障修复的核心环节^[36]。血清LPS水平是评估肠道通透性和内毒素血症的金标准之一^[37]。模型组血清LPS水平升高,证实存在“肠漏”;黄连温胆汤干预后LPS降低,客观反映了肠道通透性下降与内毒素移位减少,与上述紧密连接结构修复结果相互印证。而TLR4作为肠道稳态的关键调控因子广泛分布于肠道的黏膜层及固有层,其介导的免疫应答在炎症调控中发挥着重要作用^[38]。TLR4激活后,通过MyD88依赖性通路,导致NF-κB活化入核,启动TNF- α 基因的转录^[39-40]。在此过程中,黄连温胆汤通过抑制肠组织TLR4/NF-κB通路的活化,从源头上减少了促炎因子TNF- α 的产生,从而有效阻断了LPS移位。阳性药物秋水仙碱虽能直接改善肝纤维化指标并降低血清TNF- α ,但对肠黏膜结构、紧密连接蛋白Occludin和ZO-1表达、血清LPS水平及肠组织TLR4/NF-κB通路均无显著改善作用。这表明秋水仙碱主要直接靶向肝脏,而黄连温胆汤则具备多靶点、源头干预的优势,通过修复肠屏障与抑制肠源性炎症通路间接减轻肝纤维化。

综上所述,黄连温胆汤能有效改善 CCl_4 诱导的大鼠肝纤维化。其核心作用机制涉及对受损肠黏膜屏障的显著修复(改善肠黏膜结构、上调紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 表达、降低血清 LPS 水平),并有效抑制肠组织中 TLR4/NF- κ B 信号通路的过度激活,从而减少促炎因子 TNF- α 的产生,最终减轻肝脏炎症与纤维化进程。这一“肠肝同治”的作用模式,为阐释中医“肝病实脾”理论的科学内涵提供了现代生物学依据,也为黄连温胆汤应用于肝纤维化防治提供了新的实验支持。

参考文献

- [1] XIE D Y, HUANG Y H, YU Y T, et al. Interactions between hepatic stellate cells and immune cells: Implications for liver fibrosis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2026, 1872(1): 168062.
- [2] CERRITO L, GALASSO L, IACCARINO J, et al. Present and future perspectives in the treatment of liver fibrosis[J]. *Pharmaceuticals*, 2025, 18(9): 1321.
- [3] ZHU W C, CUI Y, QIU J H, et al. Exploring the therapeutic potential of TGF- β inhibitors for liver fibrosis: Targeting multiple signaling pathways[J]. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 2025, 13(7): 588–598.
- [4] ZHANG K K, WAN J Y, CHEN Y C, et al. Polystyrene nanoplastics exacerbate aflatoxin B1-induced hepatic injuries by modulating the gut-liver axis[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 935: 173285.
- [5] MARSHALL J C. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses[J]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1998, 76(5): 479–484.
- [6] JIANG Y C, GUO J, LIU S H, et al. Vincamine ameliorates hepatic fibrosis via inhibiting S100A4-mediated farnesoid X receptor activation: Based on liver microenvironment and entero-hepatic circulation dependence[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2025, 182(11): 2447–2465.
- [7] 刘军灵, 秦 斌, 郑振东. 肠道微生物稳态与肝癌关系的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(11): 1185–1190.
- [8] 关佳怡, 乔明亮, 赵晨怡, 等. 黄连温胆汤现代临床应用及作用机制研究进展[J/OL]. *中华中医药学刊*, 2025. [2025-07-04]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20250522.1506.048>.
- [9] 谢爱泽, 毛德文, 石清兰, 等. 黄连温胆汤治疗慢性乙型肝炎肝纤维化肝胆湿热证的效果观察[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(7): 1502–1507.
- [10] 梁婉诗, 王家竞, 尤雅琳, 等. 基于“痰、郁、火”辨治更年期综合征[J]. *中医杂志*, 2023, 64(20): 2142–2145.
- [11] LIU Z C, FU H J, LI N C, et al. Systematic pharmacology and experimental validation to elucidate the inflammation-associated mechanism of Huanglian Wendan (HLWD) decoction in the treatment of MAFLD associated with atherosclerosis[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2025, 337: 118841.
- [12] 袁 丽, 练卓诗, 罗柳婷, 等. 陈皮酵素调节肠菌稳态及 Nrf2/NLRP3 通路修复肠黏膜改善小鼠急性溃疡性结肠炎[J]. *药学报*, 2022, 57(12): 3513–3523.
- [13] 陈桂美, 毛 娟. 茯苓酸对具核梭杆菌诱导的肠上皮细胞炎症反应的抑制作用及机制的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(4): 544–548.
- [14] 侯敏艳, 何亚萍, 邬 宇, 等. 仙鹤草-黄连药对抗炎症性肠病的作用及其机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(11): 2641–2647.
- [15] 李楚洁, 黄海阳, 李晓君, 等. 干姜、白术、茯苓、薏苡仁和黄连不同药性中药对小鼠菌群多样性的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2018, 45(7): 1526–1529.
- [16] 杨雪梦, 尹东豪, 张丽丽, 等. 基于“肠道菌群-胆汁酸互作”探讨肝衰竭“土壅木郁”病机的生物学内涵[J]. *中国医药导报*, 2024, 21(32): 166–169.
- [17] 李雅清, 李 慧, 安振涛, 等. 运脾柔肝方治疗便秘型肠易激综合征作用机制的理论探讨[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(7): 1699–1701.
- [18] 何彦虎, 金 华, 刘志军, 等. 基于“脾与小肠相通”理论探讨脾-肠-菌-高血压相关性[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(8): 1–5.
- [19] 李 姣, 文颖娟, 彭高强, 等. 基于肠黏膜屏障探讨炎症性肠病从脾论治的相关研究[J]. *西部中医药*, 2024, 37(1): 112–119.
- [20] 王姝婷, 徐晓梅. 基于肠肝轴理论从脾论治肝纤维化研究进展[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2024, 22(20): 102–104.
- [21] 苏子衡, 张露蓉, 潘韵芝, 等. 腹腔和皮下注射 CCl_4 致大鼠肝纤维化 2 种造模方法的比较及自愈性研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2023, 43(5): 501–507.
- [22] 薛文静, 苏子衡, 张露蓉, 等. 清肝益脾胶囊对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的保护作用及对肠道菌群的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2023, 43(24): 2749–2755.
- [23] 胥文娟, 李红芳, 牛媛媛, 等. 化瘀软肝胶囊对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠的作用[J]. *中成药*, 2023, 45(5): 1447–1454.
- [24] 闫 聪, 王琪格, 战丽彬. 基于“脾为之卫”理论从肠黏膜屏障探讨从脾论治 2 型糖尿病机制[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(12): 2026–2030.
- [25] TAN Y H, LI C, ZHOU J L, et al. Berberine attenuates liver

- fibrosis by autophagy inhibition triggering apoptosis via the miR-30a-5p/ATG5 axis[J]. *Experimental Cell Research*, 2023, 427(2): 113600.
- [26] 李 震, 刘 伟, 候桂琴. 盐酸小檗碱对肝纤维化大鼠肠道黏膜屏障的保护作用及机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(12): 1888-1893.
- [27] YI J Z, WU S Y, TAN S W, et al. Berberine alleviates liver fibrosis through inducing ferrous redox to activate ROS-mediated hepatic stellate cells ferroptosis[J]. *Cell Death Discovery*, 2021, 7: 374.
- [28] 曾 兵, 廖柏鸿, 周东耀, 等. 陈皮酵素可体内抑制小鼠的肝纤维化[J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(4): 588-592.
- [29] MA L R, BAI Y Q, LIU J, et al. The therapeutic effects of traditional Chinese medicine on insulin resistance in obese mice by modulating intestinal functions[J]. *Heliyon*, 2024, 10(9): e30379.
- [30] 梁巧文, 陈家仪, 马 丽, 等. 枳实总黄酮对肝郁脾虚型大鼠肠易激综合征的治疗作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2014, 25(5): 576-581.
- [31] 黄菊青, 林 斌, 徐庆贤, 等. 竹茹多糖体外调节肠道菌群的作用研究[J]. *营养学报*, 2019, 41(1): 45-52.
- [32] 姚军强. 半夏的药理作用及其临床配伍运用[J]. *中医研究*, 2013, 26(2): 3-5.
- [33] 李 宇, 欧阳芳欣, 张 贺, 等. 6-姜酚与 6-姜烯酚改善肠道紧密连接损伤作用研究进展[J]. *食品科学*, 2024, 45(24): 282-292.
- [34] 张 畦, 安祯祥, 何远利, 等. 异甘草素对大鼠肝纤维化的治疗作用及其机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(4): 649-654.
- [35] 李 寒, 王 宁, 马伯艳. 基于肝细胞焦亡的黄连温胆汤干预 IGT IR 的机制[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(13): 3394-3401.
- [36] KUO W T, ODENWALD M A, TURNER J R, et al. Tight junction proteins occludin and ZO-1 as regulators of epithelial proliferation and survival[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2022, 1514(1): 21-33.
- [37] MAES M, MIHAYLOVA I, LEUNIS J C. Increased serum IgA and IgM against LPS of enterobacteria in chronic fatigue syndrome (CFS): Indication for the involvement of gram-negative enterobacteria in the etiology of CFS and for the presence of an increased gut-intestinal permeability[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2007, 99(1/2/3): 237-240.
- [38] BÓDI N, EGYED-KOLUMBÁN A, ONHAUSZ B, et al. Intestinal region-dependent alterations of toll-like receptor 4 expression in myenteric neurons of type 1 diabetic rats[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(1): 129.
- [39] ISAACS-TEN A, ECHEANDIA M, MORENO-GONZALEZ M, et al. Intestinal microbiome-macrophage crosstalk contributes to cholestatic liver disease by promoting intestinal permeability in mice[J]. *Hepatology*, 2020, 72(6): 2090-2108.
- [40] 龚红霞, 董焕成, 苏 韞, 等. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨大补脾汤联合奥沙利铂对胃癌荷瘤小鼠肠道屏障损伤的影响[J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(8): 31-36.

(本文编辑 陈 晨)