

本文引用: 张 鑫, 陆世银, 侯 玲, 思 斯, 张琳华, 周桂梅, 许文婧, 徐晓琳, 韦梦萍, 文 娟. 壮药叶下珠醇提物通过调控 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路改善四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(3): 472-482.

壮药叶下珠醇提物通过调控 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路改善四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化

张 鑫¹, 陆世银¹, 侯 玲², 思 斯¹, 张琳华¹, 周桂梅¹, 许文婧¹, 徐晓琳¹, 韦梦萍¹, 文 娟^{2*}
1. 柳州市中医医院(柳州市壮医医院), 广西 柳州 545026; 2. 柳州市柳铁中心医院, 广西 柳州 545007

[摘要] **目的** 探讨叶下珠醇提物对四氯化碳(CCl₄)诱导的大鼠肝纤维化(HF)的治疗作用,并基于核因子 κ B(NF- κ B)/转化生长因子- β 1(TGF- β 1)/Smad 信号通路探讨其潜在机制。**方法** 采用腹腔注射 CCl₄ 橄榄油溶液建立 SD 大鼠 HF 模型。将造模成功大鼠随机分为模型组、秋水仙碱组(0.12 mg/kg)及叶下珠醇提物低、中、高剂量组(4、8、16 g/kg);另设正常组,每组 8 只。从第 9 周起灌胃给药,每天 1 次,连续 4 周。实验结束,称量体质量;检测肝脾脏指数;比色法测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平;ELISA 检测血清透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)与肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6 及 TGF- β 1 的水平;HE、Masson 及天狼星红染色观察肝组织病理变化;免疫组织化学检测肝组织 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和 I 型胶原(Collagen I)表达水平;RT-qPCR 及 Western blot 检测肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3、Smad7 的 mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较,模型组大鼠体质量、血清 SOD 水平、Smad7 mRNA 与蛋白表达水平均降低($P<0.01$);肝脾脏指数、血清 ALT、AST、MDA、HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 、IL-6 水平、肝组织 α -SMA、Collagen I 水平、肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$)。与模型组比较,各给药组大鼠体质量、血清 SOD 水平、Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$);肝脾脏指数、血清 ALT、AST、MDA、HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 、IL-6 水平、肝组织 α -SMA、Collagen I 水平、肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。与秋水仙碱组比较,叶下珠醇提物低、中剂量组大鼠体质量、血清 SOD 水平均降低($P<0.01$),肝脾脏指数、血清 ALT、AST、MDA、HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 、IL-6 水平以及肝组织 α -SMA、Collagen I 水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$);叶下珠醇提物低剂量组肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$);叶下珠醇提物高剂量组肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$)。与叶下珠醇提物低剂量组比较,叶下珠醇提物中、高剂量组大鼠体质量、血清 SOD 水平、Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$);肝脾脏指数、血清 ALT、AST、MDA、HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 、IL-6 水平、肝组织 α -SMA、Collagen I 水平、肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。与叶下珠醇提物中剂量组比较,叶下珠醇提物高剂量组大鼠体质量、血清 SOD 水平、Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$);肝脾脏指数、血清 ALT、AST、MDA、HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 、IL-6 水平、肝组织 α -SMA、Collagen I 水平、肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 叶下珠醇提物通过调控 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路,增强抗氧化能力、减轻炎症反应与肝损伤、抑制肝星状细胞活化及胶原沉积,从而有效改善 CCl₄ 诱导的大鼠 HF。

[关键词] 叶下珠;肝纤维化;抗氧化;炎症因子;NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.03.006

[收稿日期] 2025-09-28

[基金项目] 广西壮族自治区中医药管理局中医药项目(GXZYB20240642);广西中医药大学自然科学基金面上项目(2025LZ020);柳州市科技攻关与新产品试制(2020NBAA0802)。

[通信作者] * 文 娟,女,硕士,副主任医师,E-mail:394965973@qq.com。

Ethanol extract of Zhuang medicine Yexiazhu (*Phyllanthus Urinaria*) ameliorates CCl₄-induced hepatic fibrosis in rats by regulating the NF- κ B/TGF- β 1/Smad signaling pathway

ZHANG Xin¹, LU Shiyin¹, HOU Ling², SI Si¹, ZHANG Linhua¹, ZHOU Guimei¹, XU Wenjing¹,
XU Xiaolin¹, WEI Mengping¹, WEN Juan^{2*}

1. Liuzhou Traditional Chinese Medical Hospital (Liuzhou Hospital of Zhuang Medicine), Liuzhou, Guangxi 545026, China;

2. Liuzhou Municipal Liutie Central Hospital, Liuzhou, Guangxi 545007, China

[Abstract] **Objective** To investigate the therapeutic effects of the ethanol extract of Yexiazhu (*Phyllanthus urinaria*) (EPU) on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatic fibrosis (HF) in rats and to explore its potential mechanism based on the nuclear factor- κ B (NF- κ B)/transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/Smad signaling pathway. **Methods** A HF model was established in SD rats by intraperitoneal injection of CCl₄ olive oil solution. The successfully modeled rats were randomly assigned into model, colchicine (0.12 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose EPU groups (4, 8, 16 g/kg), with eight rats in each group, along with another normal control group. From the 9th week onwards, the modeled rats were given the corresponding drug intervention by gavage once daily for four consecutive weeks. At the end of the experiment, body weight was measured; liver and spleen indices were calculated; serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) were determined by colorimetry; serum levels of hyaluronic acid (HA), laminin (LN), type III procollagen (PCIII), type IV collagen(IV-C), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6, and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) were determined by ELISA; pathological changes in liver tissue were observed using HE, Masson, and Sirius Red staining; the expression levels of α -smooth muscle actin (α -SMA) and Collagen I in liver tissue were determined by immunohistochemistry; mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, Smad3, and Smad7 in liver tissue were examined by RT-qPCR and Western blot. **Results** Compared with the normal group, the model group exhibited decreases in body weight, serum level of SOD, and mRNA and protein expression levels of Smad7 ($P < 0.01$), as well as increases in liver and spleen indices, serum levels of ALT, AST, MDA, HA, LN, PCIII, IV-C, TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β , and IL-6, levels of α -SMA and Collagen I in liver tissue, mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, and Smad3 in liver tissue ($P < 0.01$). Compared with the model group, all drug groups showed increases in body weight, serum levels of SOD, and mRNA and protein expression levels of Smad7 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), along with decreases in liver and spleen indices, serum levels of ALT, AST, MDA, HA, LN, PCIII, IV-C, TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β , and IL-6, levels of α -SMA and Collagen I in liver tissue, as well as mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, and Smad3 in liver tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the colchicine group, the low- and medium-dose EPU groups exhibited decreases in body weight and serum level of SOD ($P < 0.01$), along with increases in liver and spleen indices, serum levels of ALT, AST, MDA, HA, LN, PCIII, IV-C, TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β , and IL-6, as well as expression levels of α -SMA and Collagen I in liver tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Furthermore, the low-dose EPU group showed increases in mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, and Smad3 ($P < 0.01$), along with decreases in those of Smad7 ($P < 0.01$), whereas the high-dose EPU group showed decreases in mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, and Smad3 ($P < 0.01$) and increases in those of Smad7 ($P < 0.01$). Compared with the low-dose EPU group, the medium- and high-dose EPU groups demonstrated increases in body weight, serum level of SOD, and mRNA and protein expression levels of Smad7 ($P < 0.01$), decreases in liver and spleen indices, serum levels of ALT, AST, MDA, HA, LN, PCIII, IV-C, TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β , and IL-6, levels of α -SMA and Collagen I in liver tissue, as well as mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, and Smad3 in liver tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the medium-dose EPU group, the high-dose EPU group showed increases in body weight, serum level of SOD, and mRNA and protein expression levels of Smad7 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), along with decreases in liver and spleen indices, serum levels of ALT, AST, MDA, HA, LN, PCIII, IV-C,

TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β , and IL-6, levels of α -SMA and Collagen I in liver tissue, mRNA and protein expression levels of NF- κ B, TGF- β 1, and Smad3 in liver tissue ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** EEPU effectively ameliorates CCl₄-induced HF in rats by modulating the NF- κ B/TGF- β 1/Smad signaling pathway, enhancing antioxidant capacity, alleviating inflammatory response and liver damage, and inhibiting hepatic stellate cells activation and collagen deposition.

[**Keywords**] Yexiazhu (Phyllanthus Urinaria); hepatic fibrosis; antioxidant; inflammatory cytokines; NF- κ B/TGF- β 1/Smad signaling pathway

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是多种慢性肝病进展中的关键病理改变,主要表现为肝内结缔组织异常增生及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积,若未及时干预可进一步发展为肝硬化甚至肝癌^[1]。其核心机制在于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)持续活化,进而促进 ECM 合成与沉积,同时伴有炎症反应与氧化应激的加剧^[2]。在信号通路层面,核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)与转化生长因子- β 1/Smad 蛋白(transforming growth factor- β 1/Smad, TGF- β 1/Smad)信号通路是调控 HF 进程的两大关键途径。NF- κ B 作为重要的炎症转录因子,在肝损伤早期被激活,可促进肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6 等炎症因子释放,进一步活化 HSC^[3];而 TGF- β 1 作为较强的促纤维化因子,主要通过激活 Smad2/3 信号通路,驱动 HSC 向肌成纤维细胞转化,并促进胶原合成^[3]。此外,该通路负调控因子 Smad7 的表达下调,会进一步解除对信号转导的抑制,从而加剧纤维化进程^[4]。两条通路相互交织,形成“炎症-纤维化”恶性循环,共同推动 HF 进展。

壮医学将 HF 归为“蛊病”范畴,认为蛊毒滞留龙路、火路,导致气机阻滞、瘀毒内结^[5-6]。目前,临床常结合中医“肝肾同源”理论,以“健脾益气、滋补肝肾、化瘀解毒”为治则,在抑制 HSC 活化、减轻炎症与氧化损伤等方面显示出多靶点干预优势^[7-8]。叶下珠为大戟科植物,广泛分布于广西、广东等地区,被《壮药志》记载为常用民族药^[9-10],其性凉、味微苦,具平肝清热、利湿解毒、通络散结之功,民间常用于黄疸型肝炎、肝硬化等肝脏疾病的治疗^[11-13]。现代药理学研究表明,叶下珠提取物具有抗炎、抗氧化、抗肝损伤等多重活性^[14]。近年研究发现,叶下珠对四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导的 HF 具有一定的改善作用,可降低血清 HF 标志物水平,减轻肝组织病理损伤^[15],但其作用机制,特别是是否通过调控 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路发挥作用,尚不明确。

因此,本研究在前期基础上,以 CCl₄ 诱导的大鼠 HF 模型为对象,以秋水仙碱为阳性对照,系统观察叶下珠醇提物的抗 HF 效应,并进一步从 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路调控角度探讨其作用机制,以期为该民族药的深度开发与抗 HF 药物研究提供实验依据。

1 实验材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只,体质量 120~140 g,由广东维通利华实验动物技术有限公司提供。动物饲养于广西中医药大学动物实验中心,自由摄食标准饲料与灭菌注射用水,通风条件良好,12 h 光照昼夜循环,温度 20~25 °C,相对湿度 50%~55%。动物生产许可证号:SCXK(粤)2022-0063,动物使用许可证号:SYXK(桂)2019-0001。本实验经广西中医药大学动物伦理委员会审查通过,动物实验伦理批号:GXTCMU-EC20250805-462。

1.2 主要药物与试剂

叶下珠药材(广西柳州百草堂中药饮片厂有限责任公司,批号:20231215,规格:0.5 kg/袋),经柳州市中医医院张洪平主任中药师鉴定为大戟科植物叶下珠的干燥全草。秋水仙碱片(西双版纳药业有限责任公司,国药准字:H53021369,批号:20240926,规格:0.5 mg/片)。橄榄油(山东鲁花集团商贸有限公司,批号:20240510);CCl₄(天津博迪生化股份有限公司,批号:20240417);丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号:20250521、20250513、20250418、20250426);4%多聚甲醛(广州赛国生物科技有限公司,批号:21245812);HE 染色液、Masson 染色液、天狼星红染色液(北京索莱宝科技有限公司,批号:20240724、20240913、20240715);透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原(procollagen type Ⅲ,

PCⅢ)、Ⅳ型胶原(collagen type Ⅳ, Ⅳ-C)ELISA 试剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号:20250320、20250323、20250406、20250312);TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 、IL-6 ELISA 试剂盒(武汉华联科生物技术有限公司,批号:202501、202503、202502、202501);小鼠抗 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)单克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号:202406A);小鼠抗Ⅰ型胶原(collagen type Ⅰ, Collagen Ⅰ)单克隆抗体(美国 Sigma 公司,批号:202402);兔抗大鼠 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3、Smad7、GAPDH 抗体(武汉碧云天生物技术有限公司,批号:202403、202405、202501、202402、202406)。

1.3 主要仪器

旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器公司,型号:RE-52);Bio-Rad iMark 酶标仪(上海伯乐生命医学产品有限公司,型号:Bio-Rad 680);实时荧光定量 PCR 仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,型号:ABI 7500];超纯水器(北京普析通用仪器有限责任公司,型号:GWB-1);电热恒温水浴锅(宁波新芝生物科技股份有限公司,型号:SC-20);台式离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司,型号:TD5);高速低温离心机(长沙湘锐离心机有限公司,型号:TGD-20MC);生物组织石蜡包埋机(孝感亚光医用电子技术有限公司,型号:YB-6LF);石蜡切片机(德国 Laica 公司,型号:RM2235);倒置显微镜(广州市明美光电技术有限公司,型号:MI52-N);电子天平(上海恒平科学仪器有限公司,型号:JY2002);制冰机(常熟雪科制冷设备有限公司,型号:IMS-130)。

2 方法

2.1 叶下珠醇提物的制备

取叶下珠药材 30 kg,加入 70%乙醇水溶液 30.0 L,浸泡 30 min 后,加热回流提取 1.5 h(保持微沸)。趁热以双层 200 目滤布过滤,收集醇提液。滤渣按同法重复提取 1 次,合并两次滤液。将合并后的滤液真空浓缩,并定容至质量浓度为 5.0 g/mL(按生药量计),分装后于-20℃冰箱中保存备用。临用前稀释至所需浓度。

2.2 分组、造模及给药

48 只大鼠经适应性饲养 1 周后,分为正常组 8 只和造模组 40 只。正常组大鼠腹腔注射橄榄油(0.1 mL/100 g),造模组大鼠腹腔注射 40%CCl₄ 橄

榄油溶液(0.1 mL/100 g)以建立 HF 模型^[3],每周注射 2 次,持续 12 周。分别于造模第 8 周随机选取 2 只大鼠进行肝脏病理学检查,以验证 HF 是否成功诱导,当肝组织出现明显炎症细胞浸润、广泛致密蓝色胶原沉积、纤维组织增生及胶原纤维束时,判定造模成功^[3]。从造模第 9 周起,将造模成功的 40 只大鼠随机分为模型组、秋水仙碱组(阳性对照,0.12 mg/kg)^[4]及叶下珠醇提物低、中、高剂量组(按生药量计,分别为 4、8、16 g/kg)^[13],每组 8 只。各给药组每日灌胃相应药物 1 次,连续 4 周;正常组与模型组则给予等体积生理盐水。给药期间,除正常组外,其余各组继续按原方案造模。实验期间所有大鼠自由摄食饮水,每日记录其行为活动。

2.3 动物取材、体质量及肝脾脏指数测定

末次给药后,大鼠禁食 24 h(自由饮水),称量并记录大鼠体质量,随后以异氟烷实施麻醉,麻醉起效后经腹主动脉采血,离心后分离血清,保存于-80℃超低温冰箱待测。采血后将大鼠肝脏和脾脏取出,用预冷生理盐水冲洗,滤纸吸干后称重,计算肝(脾)脏指数,肝(脾)脏指数=肝(脾)脏质量/体质量 $\times$ 100%^[4]。取部分肝组织进行病理学检测,余下肝组织存于-80℃冰箱备用。

2.4 HE 染色、Masson 染色及天狼星红染色观察肝组织病理学变化

取大鼠肝右叶相同解剖部位约 1 cm³的组织块,立即投入 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h。固定完成后,经流水冲洗,依次放入梯度乙醇(70%、80%、90%、95%、100%)中进行脱水,各浓度停留 1 h。随后将组织置于二甲苯中透明两次,每次 30 min。使用石蜡包埋机进行石蜡浸渍与包埋。石蜡切片机切片,厚度为 3 μ m。切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,行 HE 染色、Masson 染色及天狼星红染色,均按说明书操作。染色完成后,切片经流水冲洗、梯度乙醇脱水、二甲苯透明,最后用中性树胶封片。于倒置显微镜下观察并采集图像,评估肝组织炎症、坏死及胶原纤维沉积情况。

2.5 比色法检测血清 ALT、AST、MDA、SOD 水平

取适量大鼠血清,采用比色法测定血清中 ALT、AST、MDA 和 SOD 的水平。依次加入血清样本及各种试剂,ALT、AST 和 SOD 检测需 37℃孵育 30 min 后加入显色液,MDA 检测需 95℃水浴 30 min 后离心取上清。所有指标均使用酶标仪于 510 nm 波长处测定吸光度值。

2.6 ELISA 检测血清 LN、HA、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 及 IL-6 水平

取适量大鼠血清,采用 ELISA 检测血清中 LN、HA、PCⅢ、Ⅳ-C、TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 及 IL-6 的水平。在包被抗体的 96 孔板中依次加入标准品和血清样本,孵育、洗板后加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体,再次孵育并洗板,加入底物显色,终止反应后于 450 nm 波长测定吸光度值。

2.7 免疫组织化学检测 α -SMA 与 Collagen I 表达

石蜡切片经脱蜡、水化后,置于 pH 6.0 的柠檬酸钠抗原修复液中,于微波炉中进行热介导抗原修复(中高火 5 min,停火 5 min,重复一次)。自然冷却后,用 PBS 冲洗 3 次。滴加 5%牛血清白蛋白封闭液,室温封闭 30 min。去除封闭液,分别滴加一抗工作液:小鼠抗 α -SMA 单克隆抗体(稀释比例为 1:200)和小鼠抗 Collagen I 单克隆抗体(稀释比例为 1:150),4 $^{\circ}\text{C}$ 湿盒内孵育过夜(约 16 h)。次日,PBS 冲洗 3 次,滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗(稀释比例为 1:500),室温孵育 1 h。PBS 冲洗后,显色试剂盒进行显色,显微镜下控制显色时间(1~3 min)。苏木素复染细胞核 30 s,流水冲洗返蓝。最后经脱水、透明、封片后,于显微镜下观察阳性表达(呈棕黄色)。每张切片随机选取 5 个不重叠视野($\times 200$),采用 ImageJ 软件对阳性染色区域进行半定量分析,以平均光密度值表示蛋白相对表达量。

2.8 RT-qPCR 检测肝组织 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路相关 mRNA 表达

取约 30 mg 肝组织,加入 1 mL Trizol 试剂,充分匀浆。按 RNA 提取试剂盒说明书步骤,经氯仿抽提、异丙醇沉淀、75%乙醇洗涤后,获得总 RNA。测定 RNA 浓度与纯度(A260/A280 比值在 1.8~2.0 之间)。取 1 μg 总 RNA,使用逆转录试剂盒进行基因组 DNA 去除及反转录,以合成 cDNA。采用 SYBR Premix Ex TaqTM II 在实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增。反应体系为(20 μL):SYBR Premix Ex TaqTM II 10 μL ,上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 0.8 μL ,cDNA 模板 2 μL ,灭菌蒸馏水 6.4 μL 。反应程序为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火/延伸 30 s,共 45 个循环。溶解曲线分析验证扩增特异性。以 GAPDH 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因 mRNA 的相对表达水平。引物序列详见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 RT-qPCR primer sequences

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
NF- κ B	正向:GACCTGGAGCAAGCCATTAG	183
	反向:CGGATCCAAGTCATAGTCCG	
TGF- β 1	正向:CATGGAGCTGGTGAACGGAAG	175
	反向:GACTGGCGAGCCTTAGTTTGAC	
Smad3	正向:GTCCCTCCTGACCCTGGTACAAG	143
	反向:CGAGGACAGCCGATACAAAGATG	
Smad7	正向:TTCATCAAGTCCGCCACAC	126
	反向:CGTCCACGGCTGCTGATAA	
GAPDH	正向:AGAACATCATCCCTGCATCC	138
	反向:CACATTGGGGGTAGGAACAC	

2.9 Western blot 检测肝组织 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路相关蛋白表达

取约 30 mg 冻存肝组织,加入预冷的 RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂),于冰上充分匀浆。离心后取上清液,采用 BCA 法测定蛋白浓度。等量蛋白样品经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后,转至 PVDF 膜。用 5%脱脂牛奶室温封闭 2 h 后,将膜分别置于稀释好的兔抗大鼠一抗工作液中,包括 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3、Smad7 及 GAPDH(稀释比例分别为 1:2 000、1:1 000、1:500、1:1 000、1:2 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,经 TBST 洗涤 3 次,加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗(稀释比例为 1:10 000),室温孵育 60 min。再次经 TBST 洗涤 3 次后,使用化学发光凝胶成像系统显影。采用 ImageJ 软件分析目标条带的灰度值,以 GAPDH 作为内参进行标准化。

2.10 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,数据符合正态分布且方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两组间比较采用 LSD 法。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 叶下珠醇提取物对 HF 大鼠体质量及肝脾指数的影响

与正常组相比,模型组大鼠体质量降低($P<0.01$),肝脏指数和脾脏指数均升高($P<0.01$)。与模型组比较,叶下珠醇提取物低、中、高剂量组及秋水仙碱组大鼠体质量均升高($P<0.05$, $P<0.01$),肝脏指数和脾

脏指数均降低($P<0.01$)。与秋水仙碱组相比,叶下珠醇提取物低、中剂量组大鼠体质量降低($P<0.01$),肝脏指数和脾脏指数均升高($P<0.05, P<0.01$);叶下珠醇提取物高剂量组体质量升高($P<0.05$)。与叶下珠醇提取物低剂量组相比,叶下珠醇提取物中、高剂量组大鼠体质量升高($P<0.01$),肝脏指数和脾脏指数降低($P<0.05, P<0.01$)。与叶下珠醇提取物中剂量组比较,叶下珠醇提取物高剂量组大鼠体质量升高($P<0.01$),肝脏指数和脾脏指数降低($P<0.05, P<0.01$)。详见表 2。

3.2 叶下珠醇提取物对肝功能及抗氧化活性的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清 ALT、AST、MDA 水平均升高($P<0.01$),SOD 水平降低($P<0.01$)。与模型组比较,叶下珠醇提取物低、中、高剂量组和秋水仙碱组大鼠血清 ALT、AST 及 MDA 水平均降低($P<0.01$),SOD 水平均升高($P<0.01$)。与秋水仙碱组比较,叶下珠醇提取物低、中剂量组大鼠血清 ALT、AST 及 MDA 水平均升高($P<0.01$),SOD 水平均降低($P<0.01$);

与叶下珠醇提取物低剂量组相比,叶下珠醇提取物中、高剂量组大鼠血清 ALT、AST 及 MDA 水平均降低($P<0.01$),SOD 水平均升高($P<0.01$)。与叶下珠醇提取物中剂量组比较,叶下珠醇提取物高剂量组大鼠血清 ALT、AST 及 MDA 水平均降低($P<0.01$),SOD 水平升高($P<0.01$)。详见表 3。

3.3 叶下珠醇提取物对血清 HF 标志物的影响

与正常组比较,模型组血清 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 水平均升高($P<0.01$)。与模型组比较,叶下珠醇提取物低、中、高剂量组和秋水仙碱组血清中 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 水平均下降($P<0.05, P<0.01$)。与秋水仙碱组比较,叶下珠醇提取物低、中剂量组血清 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 水平均升高($P<0.01$)。与叶下珠醇提取物低剂量组比较,叶下珠醇提取物中、高剂量组血清 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 水平均降低($P<0.01$)。与叶下珠醇提取物中剂量组比较,叶下珠醇提取物高剂量组血清 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 水平均降低($P<0.01$)。详见表 4。

表 2 各组大鼠体质量及肝脾脏指数比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of body weight and liver and spleen indices among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	体质量/g	肝脏指数/%	脾脏指数/%
正常组	380.28±9.28	2.42±0.31	0.15±0.02
模型组	257.68±11.18 ^{##}	4.53±0.53 ^{##}	0.42±0.04 ^{##}
秋水仙碱组	358.58±13.88 ^{##**}	2.84±0.37 ^{##**}	0.19±0.04 ^{##**}
叶下珠醇提取物低剂量组	286.36±15.42 ^{##*△△}	3.88±0.44 ^{##**△△}	0.30±0.04 ^{##**△△}
叶下珠醇提取物中剂量组	337.89±10.22 ^{##**△△◆}	3.34±0.43 ^{##**△◆}	0.23±0.03 ^{##**△◆}
叶下珠醇提取物高剂量组	377.22±11.54 ^{##*◆◆○○}	2.71±0.40 ^{##**◆◆○○}	0.20±0.02 ^{##**◆◆○○}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与叶下珠醇提取物低剂量组比较,[◆] $P<0.05$,^{◆◆} $P<0.01$;与叶下珠醇提取物中剂量组比较,[○] $P<0.05$,^{○○} $P<0.01$ 。

表 3 各组大鼠血清中 ALT、AST、SOD 和 MDA 的表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=8, U\cdot L^{-1}$)

Table 3 Comparison of the serum expression levels of ALT, AST, SOD, and MDA among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=8, U\cdot L^{-1}$)

组别	ALT	AST	SOD	MDA
正常组	95.48±6.02	107.25±6.04	293.54±12.30	5.11±0.74
模型组	176.06±10.33 ^{##}	214.33±8.85 ^{##}	146.11±8.05 ^{##}	17.03±0.96 ^{##}
秋水仙碱组	103.42±9.72 ^{**}	136.76±7.63 ^{##**}	258.67±15.80 ^{##**}	7.14±0.88 ^{##**}
叶下珠醇提取物低剂量组	151.85±7.05 ^{##**△△}	192.05±9.44 ^{##**△△}	173.15±12.54 ^{##**△△}	14.62±0.91 ^{##**△△}
叶下珠醇提取物中剂量组	138.06±8.64 ^{##**△△◆}	171.40±6.02 ^{##**△△◆}	202.82±11.46 ^{##**△△◆}	11.05±0.83 ^{##**△△◆}
叶下珠醇提取物高剂量组	108.80±8.20 ^{##*◆◆○○}	142.12±8.24 ^{##**◆◆○○}	267.30±13.70 ^{##**◆◆○○}	8.21±0.69 ^{##**◆◆○○}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,^{△△} $P<0.01$;与叶下珠醇提取物低剂量组比较,^{◆◆} $P<0.01$;与叶下珠醇提取物中剂量组比较,^{○○} $P<0.01$ 。

表 4 各组大鼠血清中 HA、LN、PCⅢ和Ⅳ-C 的表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=8, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)Table 4 Comparison of the serum expression levels of HA, LN, PCⅢ, and Ⅳ-C among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=8, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

组别	HA	LN	PCⅢ	Ⅳ-C
正常组	65.47±7.06	106.82±10.30	60.72±5.42	173.70±12.07
模型组	182.70±8.50 ^{##}	281.42±11.08 ^{##}	153.07±9.66 ^{##}	288.09±13.52 ^{##}
秋水仙碱组	91.04±8.63 ^{###}	114.74±10.39 ^{**}	78.03±9.81 ^{###}	196.55±11.73 ^{###}
叶下珠醇提物低剂量组	158.44±13.09 ^{##*△△}	262.82±10.60 ^{##*△△}	134.22±10.93 ^{##*△△}	259.24±13.24 ^{##*△△}
叶下珠醇提物中剂量组	122.70±8.55 ^{##*△△◆◆}	224.95±15.47 ^{##*△△◆◆}	113.40±8.75 ^{##*△△◆◆}	237.90±12.51 ^{##*△△◆◆}
叶下珠醇提物高剂量组	87.27±9.36 ^{##*◆◆○○}	120.53±12.51 ^{##*◆◆○○}	82.17±6.53 ^{##*◆◆○○}	203.30±13.45 ^{##*◆◆○○}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,^{△△} $P<0.01$;与叶下珠醇提物低剂量组比较,^{◆◆} $P<0.01$;与叶下珠醇提物中剂量组比较,^{○○} $P<0.01$ 。

3.4 叶下珠醇提物对炎症因子与促纤维化因子的影响

与正常组比较,模型组大鼠血清 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 和 IL-6 水平均升高($P<0.01$)。与模型组相比较,叶下珠醇提物低、中、高剂量组和秋水仙碱组大鼠血清 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 和 IL-6 水平均降低($P<0.05, P<0.01$)。与秋水仙碱组比较,叶下珠醇提物低、中剂量组大鼠血清 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 和 IL-6 水平均升高($P<0.01$)。与叶下珠醇提物低剂量组比较,叶下珠醇提物中、高剂量组大鼠血清 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 和 IL-6 水平均降低($P<0.01$)。与叶下珠醇提物中剂量组比较,叶下珠醇提物高剂量组大鼠血清 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 和 IL-6 水平均降低($P<0.01$)。详见表 5。

3.5 叶下珠醇提物对肝组织病理损伤与胶原沉积的影响

HE 染色结果显示,正常组大鼠肝小叶结构完整,肝细胞索排列整齐,未见明显病理性改变;模型组肝小叶结构遭到破坏,肝细胞排列紊乱,出现明显

的点状坏死和炎症细胞浸润,并伴有严重纤维化;叶下珠醇提物低、中、高剂量组及秋水仙碱组均能不同程度地改善肝小叶结构损伤、炎症坏死及纤维化病变,其中叶下珠醇提物高剂量组的改善效果与秋水仙碱组相当。详见图 1。

Masson 染色结果显示,正常组大鼠肝组织中未见明显蓝色胶原纤维沉积;模型组则可见广泛蓝色胶原沉积,汇管区及中央静脉周围纤维组织显著增生,纤维间隔增厚,局部形成假小叶和胶原纤维束;叶下珠醇提物低、中、高剂量组及秋水仙碱组干预后,胶原纤维增生范围均有不同程度减少,其中叶下珠醇提物高剂量组的改善效果最为显著。详见图 2。

天狼星红染色结果表明,正常组肝组织未见纤维化表现;模型组呈现明显纤维化改变;叶下珠醇提物低、中、高剂量组及秋水仙碱组纤维化程度均减轻,其中以叶下珠醇提物高剂量组的减轻效果最显著。详见图 3。

3.6 叶下珠醇提物对 HSC 活化标志物的影响

与正常组比较,模型组大鼠肝组织中 α -SMA

表 5 各组大鼠血清中 TNF- α 、TGF- β 1、IL-1 β 及 IL-6 的表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=8, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)Table 5 Comparison of the serum expression levels of TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β , and IL-6 among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=8, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

组别	TNF- α	TGF- β 1	IL-1 β	IL-6
正常组	132.63±18.09	106.52±9.08	85.04±7.44	104.82±8.42
模型组	463.57±23.87 ^{##}	193.61±10.08 ^{##}	192.15±13.90 ^{##}	247.05±14.55 ^{##}
秋水仙碱组	204.55±17.24 ^{###}	117.53±12.54 ^{**}	103.71±11.32 ^{###}	127.26±11.30 ^{###}
叶下珠醇提物低剂量组	411.21±20.07 ^{##*△△}	171.08±8.24 ^{##*△△}	163.96±12.73 ^{##*△△}	215.91±16.35 ^{##*△△}
叶下珠醇提物中剂量组	343.52±19.74 ^{##*△△◆◆}	151.73±10.36 ^{##*△△◆◆}	142.28±10.85 ^{##*△△◆◆}	186.24±13.40 ^{##*△△◆◆}
叶下珠醇提物高剂量组	226.81±24.06 ^{##*◆◆○○}	120.86±9.63 ^{##*◆◆○○}	111.59±13.30 ^{##*◆◆○○}	138.09±15.38 ^{##*◆◆○○}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,^{△△} $P<0.01$;与叶下珠醇提物低剂量组比较,^{◆◆} $P<0.01$;与叶下珠醇提物中剂量组比较,^{○○} $P<0.01$ 。

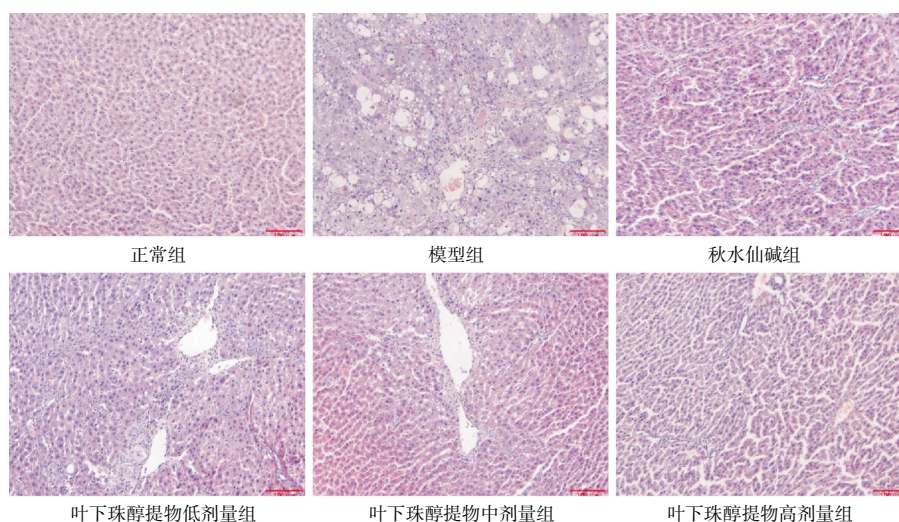


图 1 叶下珠醇提取物对 CCl_4 诱导 HF 大鼠肝组织病理变化的改善作用 (HE, $\times 200$, 标尺=100 μm)

Fig.1 Ameliorative effects of EEPU on liver histopathological changes in CCl_4 -induced HF rats (HE, $\times 200$, scale bar=100 μm)

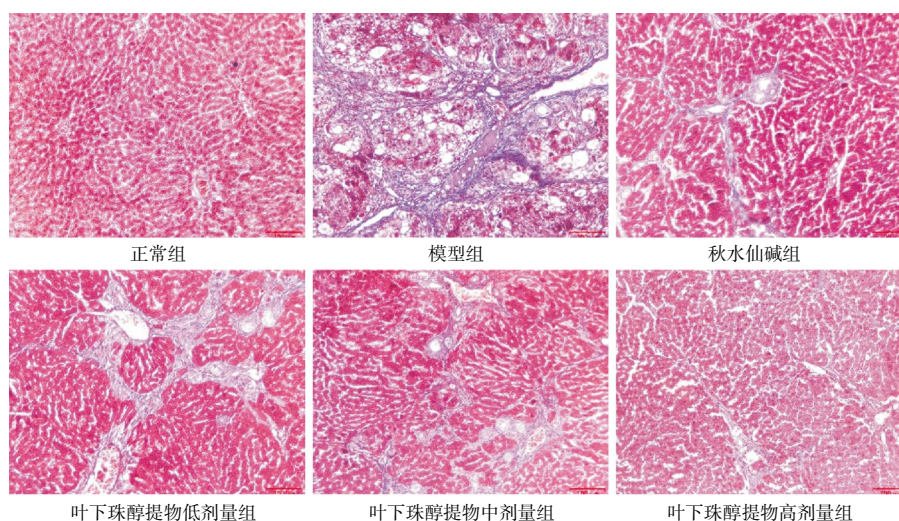


图 2 叶下珠醇提取物对 CCl_4 诱导 HF 大鼠肝组织病理变化的改善作用 (Masson, $\times 200$, 标尺=100 μm)

Fig.2 Ameliorative effects of EEPU on liver histopathological changes in CCl_4 -induced HF rats (Masson, $\times 200$, scale bar=100 μm)

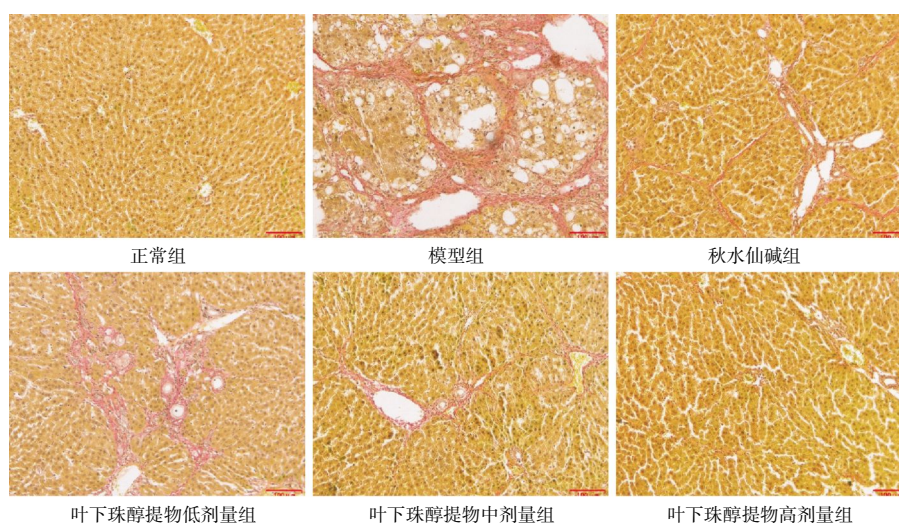


图 3 叶下珠醇提取物对 CCl_4 诱导 HF 大鼠肝组织病理变化的改善作用 (天狼星红, $\times 200$, 标尺=100 μm)

Fig.3 Ameliorative effects of EEPU on liver histopathological changes in CCl_4 -induced HF rats (Sirius red staining, $\times 200$, scale bar= 100 μm)

与 Collagen I 水平均升高($P<0.01$)。与模型组比较,叶下珠醇提取物低、中、高剂量组及秋水仙碱组大鼠肝组织中 α -SMA 与 Collagen I 水平均降低($P<0.01$)。与秋水仙碱组比较,叶下珠醇提取物低、中剂量组大鼠肝组织中 α -SMA 与 Collagen I 水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与叶下珠醇提取物低剂量组比较,叶下珠醇提取物中、高剂量组大鼠肝组织中 α -SMA 与 Collagen I 水平均降低($P<0.01$)。与叶下珠醇提取物中剂量组比较,叶下珠醇提取物高剂量组大鼠肝组织中 α -SMA 与 Collagen I 水平均降低($P<0.01$)。详见图 4。

3.7 叶下珠醇提取物对 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路相关基因 mRNA 与蛋白的影响

与正常组比较,模型组大鼠肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$)。与模型组比较,

叶下珠醇提取物低、中、高剂量组及秋水仙碱组大鼠肝组织 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$)。与秋水仙碱组比较,叶下珠醇提取物低剂量组 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$);叶下珠醇提取物高剂量组 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$)。与叶下珠醇提取物低剂量组比较,叶下珠醇提取物中、高剂量组 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.01$)。与叶下珠醇提取物中剂量组比较,叶下珠醇提取物高剂量组 NF- κ B、TGF- β 1、Smad3 mRNA 与蛋白水平均降低($P<0.01$),Smad7 mRNA 与蛋白水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 5。

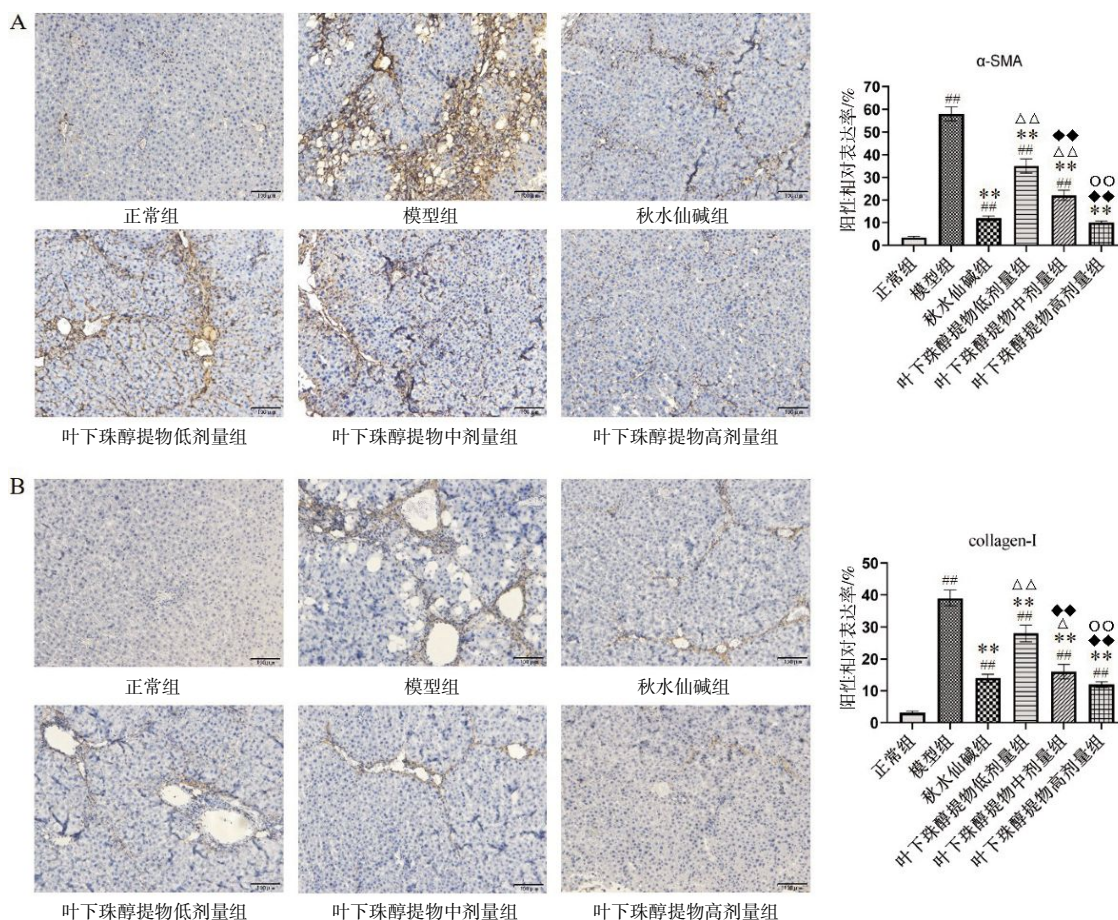


图4 各组大鼠肝组织 α -SMA、Collagen I 的表达水平比较($\times 200$, 标尺=100 μ m, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.4 Comparison of the expression levels of α -SMA and Collagen I in liver tissue among different groups of rats ($\times 200$, scale bar=100 μ m, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注:A. α -SMA 染色代表图及阳性相对表达率;B.Collagen I 染色代表图及阳性相对表达率。与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与叶下珠醇提取物低剂量组比较,^{◆◆} $P<0.01$;与叶下珠醇提取物中剂量组比较,^{○○} $P<0.01$ 。

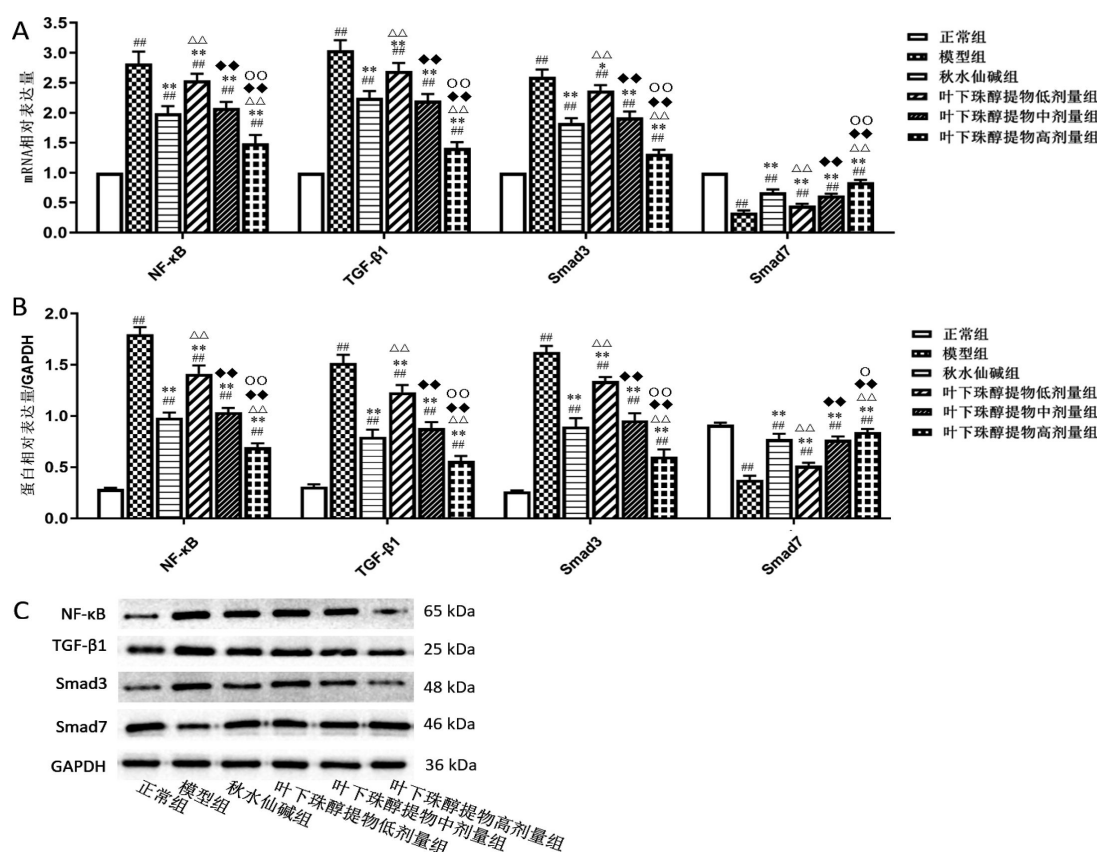


图5 各组大鼠肝组织 NF-κB、TGF-β1、Smad3 和 Smad7 mRNA 与蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.5 Comparison of mRNA and protein expression levels of NF-κB, TGF-β1, Smad3, and Smad7 in liver tissue among different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:A.各组 mRNA 相对表达量;B.各组蛋白相对表达量;C.各组 Western blot 蛋白条带图。与正常组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与秋水仙碱组比较,Δ $P<0.05$,ΔΔ $P<0.01$;与叶下珠醇提取物低剂量组比较,◆ $P<0.01$;与叶下珠醇提取物中剂量组比较,◇ $P<0.05$,○○ $P<0.01$ 。

4 讨论

HF 是多种慢性肝病进展中的关键病理过程,其核心机制在于 HSC 的持续活化及细胞外基质的过度沉积与降解不足^[16-17]。目前,临床尚缺乏高效抗 HF 药物,因此从民族药中发掘有效药物并阐明其作用机制具有重要价值。叶下珠作为治疗肝病的常用壮药^[7],其抗 HF 的系统效应与分子机制尚未明确。本研究综合体内药效、病理形态、血清生化及分子信号等多维度证据,系统阐释了叶下珠醇提取物对 CCl₄ 诱导 HF 的改善作用及其与 NF-κB/TGF-β1/Smad 信号通路调控的关联。

研究结果显示,叶下珠醇提取物能显著改善 HF 大鼠的体质量增长、降低肝脾脏指数,提示其可缓解肝器质性病变及全身代谢负荷。在肝功能方面,叶下珠醇提取物可降低血清 ALT、AST 和 MDA 水平,提高 SOD 水平,说明其具备明确的肝保护与抗氧化应激作用,这与叶下珠已知的抗氧化成分(如黄酮类、

酚酸类)作用相符^[8,9]。

在纤维化进程调控方面,叶下珠醇提取物可显著降低血清中 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 等肝纤维化标志物水平,提示其能抑制 ECM 的过度合成与沉积;同时,叶下珠醇提取物能有效抑制炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 及核心促纤维化因子 TGF-β1 的表达,表明其具备调节炎症微环境、阻断“炎症-纤维化”恶性循环的潜力。肝组织病理学结果进一步证实,叶下珠醇提取物干预后肝小叶结构破坏、炎症浸润及胶原沉积均显著改善,Masson 与天狼星红染色显示纤维间隔变薄、胶原排列趋于有序,从组织形态层面支持其抗纤维化效应。

在分子机制层面,本研究聚焦于 NF-κB/TGF-β1/Smad 信号轴,发现叶下珠醇提取物能抑制肝组织中 NF-κB、TGF-β1 及 Smad3 的 mRNA 与蛋白表达,同时上调抑制型分子 Smad7 的 mRNA 与蛋白表达。NF-κB 是炎症反应的关键转录因子,其活化可促进 TNF-α、IL-6 等炎症因子的释放,从而进一步激活 HSC 并

增强TGF- β 1/Smad3 信号通路^[18];而 TGF- β 1/Smad3 信号通路是推动 HSC 活化、ECM 合成的核心途径, Smad7 作为负调控蛋白,其表达上调可阻断 Smad2/3 磷酸化及核转位,从而中断信号转导,最终抑制 HSC 的活化与 HF 的进展^[19]。叶下珠醇提物通过双重抑制 NF- κ B 活化与 TGF- β 1/Smad3 信号通路,并增强 Smad7 表达,从上游炎症激发与下游纤维化执行两个层面协同阻断了 HSC 的活化进程。免疫组化结果中 HSC 活化的标志物 α -SMA 与 Collagen I 表达的下调,进一步印证了叶下珠醇提物对 HSC 活化及胶原合成的抑制作用。

综上所述,本研究证实叶下珠醇提物对 CCl₄ 诱导的 HF 大鼠具有显著的改善作用。其机制可能与其调控 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路有关。通过该通路,叶下珠醇提物不仅增强了机体抗氧化能力、减轻了炎症反应与肝损伤,还有效抑制了肝星状细胞的活化及胶原沉积,最终发挥抗 HF 的功效。以上发现为叶下珠作为抗 HF 候选药物的开发提供了重要的实验依据。此外,本研究仍有一定局限:所用提取物为多组分混合物,其关键活性成分尚未明确;机制研究集中于 NF- κ B/TGF- β 1/Smad 信号通路,尚未在细胞模型中进行直接验证;通路间的交互作用及更系统的分子网络也有待进一步揭示。

参考文献

- [1] LIANG Y Q, JIANG X Y, ZHAO X F, et al. Vitamin D alleviates HFD-induced hepatic fibrosis by inhibiting DNMT1 to affect the TGF β 1/Smad3 pathway[J]. *iScience*, 2024, 27(12): 111262.
- [2] SHENDGE A K, SEKLER I, HERSHFINKEL M. ZnR/GPR39 regulates hepatic insulin signaling, tunes liver bioenergetics and ROS production, and mitigates liver fibrosis and injury[J]. *Redox Biology*, 2024, 78: 103403.
- [3] 李晓英, 李宁宁, 李赛菲, 等. 芹黄素通过调节 NF- κ B/TGF- β /Smad 通路改善小鼠肝纤维化的作用及机制[J]. *河南医学高等专科学校学报*, 2025, 37(2): 128-135.
- [4] 侯玲, 覃妮, 陆世银, 等. 壮药牛大力醇提物对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠的改善作用研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2025, 45(1): 15-22.
- [5] 覃妮, 黄曙院, 周柳, 等. 岩黄连总生物碱对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠的改善作用研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(12): 2191-2198.
- [6] 吕艳杭, 吴姗姗, 王振常. 壮方柔肝化纤颗粒联合自体骨髓干细胞治疗乙肝患者肝纤维化、炎症因子及外周血 T 细胞的影响[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(4): 824-828.
- [7] 张赞, 张煜涵, 张涛. 壮药治疗肝脏疾病的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(11): 2224-2229.
- [8] HAN N, YE Q, GUO Z L, et al. Metabolomics analysis of differential chemical constituents and α -glucosidase inhibiting activity of *Phyllanthus urinaria* L. root, stem, leaf and fruit[J]. *Natural Product Research*, 2023, 37(4): 642-645.
- [9] JATO J, WAINDOK P, NGNODANDI F N B F, et al. Anthelmintic activities of extract and ellagitannins from *Phyllanthus urinaria* against *Caenorhabditis elegans* and zoonotic or animal parasitic nematodes[J]. *Planta Medica*, 2023, 89(13): 1215-1228.
- [10] WEI C S, WU Z L, YANG X Y, et al. Integrating network pharmacology and in vitro experiments for assessing the anti-tumor effects of *Phyllanthus urinaria* L. anti-neoplastic decoction in hepatocellular carcinoma[J]. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 2025, 31(3): 114-121.
- [11] GONDOKESUMO M E, RASYAK M R, IBRAHIM M. Anti-cancer activity prediction of *Curcuma longa* and *Phyllanthus urinaria* through computational analysis[J]. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2025, 16(2): 53-60.
- [12] LUO Q, HUANG J E, CAO L, et al. Exploring the mechanism of *Phyllanthus urinaria* L. against ulcerative colitis based on network pharmacology and in vivo experiments[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2024, 52(12): 100465.
- [13] LIU L H, WANG B, MA Y B, et al. A review of *Phyllanthus urinaria* L. in the treatment of liver disease: Viral hepatitis, liver fibrosis/cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2024, 15: 1443667.
- [14] 王刚, 曹后康, 曹秋妍, 等. 叶下珠对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠的保护作用及机制研究[J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(4): 104-108.
- [15] 陈秋贵, 覃妮, 陆世银, 等. 基于 TGF- β /Smad 信号通路探讨牛大力总黄酮对四氯化碳致肝纤维化大鼠的保护作用[J]. *现代中西医结合杂志*, 2025, 34(3): 299-305.
- [16] LAN T, YU Y, ZHANG J, et al. Cordycepin ameliorates non-alcoholic steatohepatitis by activation of the AMP-activated protein kinase signaling pathway[J]. *Hepatology*, 2021, 74(2): 686-703.
- [17] BERINGER A, MIOSEC P. IL-17 and TNF- α co-operation contributes to the proinflammatory response of hepatic stellate cells[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2019, 198(1): 111-120.
- [18] JIANG Y, XIANG C, ZHONG F, et al. Histone H3K27 methyltransferase EZH2 and demethylase JMJD3 regulate hepatic stellate cells activation and liver fibrosis[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 361-378.
- [19] YANG Y R, BU F T, YANG Y, et al. LEFTY2 alleviates hepatic stellate cell activation and liver fibrosis by regulating the TGF- β 1/Smad3 pathway[J]. *Molecular Immunology*, 2020, 126: 31-39.

(本文编辑 陈晨)