

基于 STAT3/p53/NF- κ B 探究加味黄芩汤治疗淤胆型肝炎肝脏纤维化的作用机制

刘 嘉¹, 王子晗¹, 张景正¹, 胡永红^{2*}

1. 江苏卫生健康职业学院 江苏省中医经典名方评价与转化工程研究中心, 江苏 南京 211800

2. 南京工业大学 食品与轻工学院, 江苏 南京 211800

摘要: **目的** 探究加味黄芩汤 (JWHQ) 治疗淤胆型肝炎肝脏纤维化 (CHF) 的药效及作用机制。**方法** 应用三重四极杆高效液相色谱-质谱 (QQQ-HPLC-MS) 联用检测 JWHQ 中的活性成分与物质基础。C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、熊去氧胆酸 (阳性药, UDCA, 75 mg·kg⁻¹) 和 JWHQ 低、中、高剂量 (0.5、1.0、1.5 g·kg⁻¹) 组, 除对照组外, 应用 α -萘异硫氰酸酯 (ANIT) 诱导 C57BL/6J 小鼠 CHF 模型, JWHQ 和 UDCA 均 ig 给药。通过化学试剂盒检测大鼠血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、白蛋白 (ALB)、碱性磷酸酶 (ALP)、 γ -谷氨酰转氨酶 (γ -GT)、总胆汁酸 (TBA)、总胆红素 (TBIL)、直接胆红素 (DBIL) 水平; 通过离体肝脏状态检测和苏木素-伊红 (HE) 染色检测小鼠肝脏损伤程度; 应用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定小鼠血清肝纤四项 [透明质酸 (HA)、层黏连蛋白 (LN)、IV 型胶原 (Col-IV) 和 III 型前胶原氨基端肽 (PIIINP)]; Masson 染色和天狼星红染色评估小鼠肝脏纤维化水平; 网络药理学预测 JWHQ 治疗 CHF 的关键作用靶点及通路; 通过 Western blotting、ELISA 和分子对接验证 JWHQ 对关键靶点和通路的作用。**结果** QQQ-HPLC-MS 共检测出 JWHQ 中 472 种成分。体内实验结果表明, JWHQ 可显著减少 CHF 小鼠的血清 ALT、AST、ALP、ALB、 γ -GT、TBA、TBIL 和 DBIL ($P < 0.05$ 、 0.01); 离体肝脏检测结果表明, JWHQ 可改善 CHF 小鼠的肝脏状态, 肝脏表面坏死样斑点减少; HE 结果表明, JWHQ 可减少 CHF 小鼠肝脏的局部弥漫性坏死面积和坏死程度; ELISA 结果表明, 中、高剂量的 JWHQ 干预可显著减少 CHF 小鼠血清中 HA、LN、Col-IV 和 PIIINP 含量 ($P < 0.01$); Masson 和天狼星红染色结果表明, 中、高剂量的 JWHQ 可改善 CHF 小鼠肝脏门管区纤维胶原沉积和假小叶面积。网络药理学结果表明, JWHQ 治疗 CHF 的潜在作用靶点有 266 个, 关键作用靶点为 TNF、TP53、STAT3、TGFB1、NFKB1、IL1B 和 FN1; 关键作用通路为 AGE-RAGE 通路、TNF 信号通路和脂质与动脉粥样硬化通路, 关键生物过程为对药物的反应和对炎症的反应, 关键细胞结构为膜筏、膜域和膜微结构域, 关键分子功能为核受体活性和配体结合的转录因子活性。Western blotting 和 ELISA 检测结果表明, JWHQ 可显著降低 CHF 小鼠肝脏信号转导因子和转录激活因子 3 (STAT3) 表达、STAT3 磷酸化、p53 表达、核因子 (NF)- κ B 表达、NF- κ B 磷酸化、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、转化生长因子 (TGF)- β 1 和 Fibronectin 表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 分子对接结果表明, JWHQ 90 个关键活性成分中与 STAT3 可形成自发结合的有 82 个, 与 Fibronectin 可形成自发结合的有 82 个, 与 p53 可形成自发结合的有 90 个, 与 NF- κ B 可形成自发结合的有 89 个, 与 TGF- β 1 可形成自发结合的有 88 个。**结论** JWHQ 可通过调控肝脏 STAT3/p53/NF- κ B 信号通路抑制炎症因子旁分泌, 降低肝脏细胞 TGF- β 1 表达, 阻断细胞外基质沉积, 从而发挥治疗 CHF 作用。

关键词: 加味黄芩汤; 肝纤维化; 淤胆型肝炎; 网络药理学; 分子对接; STAT3/p53/NF- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)01-0083-15

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.01.008

Mechanism of action of Jiawei Huangqi Decoction in treatment of cholestatic hepatitis fibrosis via STAT3/p53/NF- κ B signaling pathway

LIU Jia¹, WANG Zihan¹, ZHANG Jingzheng¹, HU Yonghong²

1. Jiangsu Health Vocational College, Jiangsu Provincial Engineering Research Center for Evaluation and Transformation of Classical Traditional Chinese Medicine Formulas, Nanjing 211800, China

2. College of Food Science and Light Industry, Nanjing Tech University, Nanjing 211800, China

收稿日期: 2025-09-22

基金项目: 江苏省卫生健康委医学科科研项目 (2022119); 江苏省高校“青蓝工程”优秀教学团队培养对象资助项目 (苏教师 [2020] 42 号)

作者简介: 刘 嘉, 男, 教授, 研究方向为中药的活性成分与作用机制研究。E-mail: liujia402@163.com

*通信作者: 胡永红, 女, 教授, 南京工业大学食品与轻工学院院长, 研究方向为药食同源功能食品活性成分机理研究及产品开发、药食同源食品安全检测。E-mail: h1109199142@163.com

Abstract: Objective To explore the efficacy and mechanism of action of JWHQ (JWHQ) in the treatment of cholestatic hepatitis fibrosis (CHF). **Methods** The active components and material basis of JWHQ were detected by triple quadrupole ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (QQQ-HPLC-MS). C57BL6/J mice were randomly divided into the control group, model group, ursodeoxycholic acid (positive drug, UDCA, 75 mg·kg⁻¹) group and JWHQ low, medium and high dose (0.5, 1.0, 1.5 g·kg⁻¹) groups. Except for the control group, the CHF model of C57BL6/J mice was induced by α -naphthyl isothiocyanate (ANIT). JWHQ and UDCA were ig administered. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyl transferase (γ -GT), total bile acid (TBA), total bilirubin (TBIL), and direct bilirubin (DBIL) in rat serum were detected by chemical reagent kits. The degree of liver injury in mice was detected by in vitro liver state detection and hematoxylin-eosin (HE) staining. The levels of liver fibrosis four items [hyaluronic acid (HA), laminin (LN), type IV collagen (Col-IV), and type III procollagen amino-terminal peptide (PIIINP)] in mouse serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels of liver fibrosis in mice were evaluated by Masson staining and Sirius red staining. Network pharmacology was used to predict the key targets and pathways of JWHQ in the treatment of CHF. The effects of JWHQ on key targets and pathways were verified by Western blotting, ELISA and molecular docking. **Results** A total of 472 components were detected in JWHQ by QQQ-HPLC-MS. The *in vivo* experimental results showed that JWHQ could significantly reduce the levels of serum ALT, AST, ALP, ALB, γ -GT, TBA, TBIL and DBIL in CHF mice ($P < 0.05, 0.01$). The *in vitro* liver test results indicated that JWHQ could improve the liver condition of CHF mice, with a reduction in the number of necrotic-like spots on the liver surface. The HE results demonstrated that JWHQ could reduce the area and degree of local diffuse necrosis in the liver of CHF mice. The ELISA results showed that the medium and high doses of JWHQ intervention could significantly reduce the levels of HA, LN, Col-IV and PIIINP in the serum of CHF mice ($P < 0.01$). The Masson and Sirius Red staining results indicated that the medium and high doses of JWHQ could improve the fibrous collagen deposition in the portal area and the area of pseudolobules in the liver of CHF mice. The network pharmacology results suggested that there were 266 potential targets for JWHQ in the treatment of CHF, with the key targets being TNF, TP53, STAT3, TGFB1, NFKB1, IL1B and FN1. The key pathways were the AGE-RAGE pathway, TNF signaling pathway and lipid and atherosclerosis pathway. The key biological processes were the response to drugs and the response to inflammation. The key cellular structures were lipid rafts, membrane domains and membrane microdomains. The key molecular functions were nuclear receptor activity and ligand-binding transcription factor activity. The Western blotting and ELISA results indicated that JWHQ could significantly reduce the expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), phosphorylated STAT3, p53, nuclear factor (NF)- κ B, phosphorylated NF- κ B, interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α), transforming growth factor (TGF)- β 1 and Fibronectin in the liver of CHF mice ($P < 0.05, 0.01$). The molecular docking results showed that among the 90 key active components of JWHQ, 82 could spontaneously bind to STAT3, 82 could spontaneously bind to Fibronectin, 90 could spontaneously bind to p53, 89 could spontaneously bind to NF- κ B, and 88 could spontaneously bind to TGF- β 1. **Conclusion** JWHQ can inhibit inflammatory factors by regulating the STAT3/p53/NF- κ B in the liver, reduce the expression of TGF- β 1 in liver cells, and block the deposition of extracellular matrix to treat CHF.

Key words: Jiawei Huangqi Decoction; liver fibrosis; cholestatic hepatitis; network pharmacology; molecular docking; STAT3/p53/NF- κ B

淤胆型肝炎又称为胆汁淤积型肝炎,系指由多种外源性因素如病毒、药物或自身免疫等引起胆管淤堵或胆汁酸代谢受阻等肝内胆汁淤积导致的肝脏炎症^[1]。其临床多表现为皮黄、尿黄、黄疸等症状,随病程发展逐渐导致肝内炎症细胞募集、肝脏弥漫性坏死和由门管区逐步发展的进行性肝纤维化,严重时可引起肝硬化和肝衰竭^[2-3]。目前临床治疗主要以熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸、奥贝胆酸等调节胆汁酸代谢类的药物为一线疗法^[4-5],但由于其长期使用存在明显不良反应、对纤维化的抑制效果不显著以及进行性肝脏纤维化的发展等问题,难以取得令人满意的临床疗效^[6]。因此,寻找一种安全且

抗纤维化效果显著的淤胆型肝炎治疗药物是值得关注的临床问题。

近年来中医药在临床治疗淤胆型肝炎和肝脏纤维化方面上已取得显著的疗效^[7-8]。中医临床上将淤胆型肝炎归病位为脾胃肝胆,归病机为湿热蕴结、气滞血瘀、肝脾不足^[9-11]。加味黄芩汤(JWHQ)为记载于《医学探骊集》的传统古方,由黄芩、厚朴、吴茱萸、苍术、白芍、升麻、大黄、木通、大枣和甘草组成,可清热燥湿、健脾通气、化瘀泄下^[12],其功效与淤胆型肝炎肝脏纤维化(CHF)的病机相匹配,具有较高的临床应用价值,可作为CHF的潜在治疗药物,但其药效和具体作用机制仍需进一

步评价。

本研究采用现代系统药理学和生物信息学方式,通过 HPLC-MS 测定 JWHQ 的活性成分,生物信息学预测其治疗 CHF 的作用靶点,并应用 α -萘异硫氰酸酯 (ANIT) 诱导的 CHF 小鼠模型进行体内的药效和初步机制验证,应用分子对接模拟验证其关键活性成分与关键治疗靶点之间的结合强度与结合方式,以期为 JWHQ 的临床应用和机制探究提供实验基础和数据支撑。

1 材料

1.1 实验试剂

JWHQ 方剂组成如下:黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 20 g、厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 15 g、吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 20 g、毛茛术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 20 g、杭白芍 *Paeonia lactiflora* Pall. 15 g、升麻 *Cimicifuga foetida* L. 15 g、大黄 *Rheum palmatum* L. 20 g、木通 *Akebia quinata* (Thunb.) Decne. 15 g、大枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 30 g、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 10 g。所有药材饮片均购自江苏省中医院中药房,由该院主管中药师方慧华鉴定为正品。代煎制备工艺如下:上述药材加 10 倍量水浸泡 30 min,武火煮沸后文火煎煮 40 min,滤过取药液;药渣再加 8 倍量水文火煎煮 30 min,滤过,合并 2 次滤液,浓缩至生药含量为 $2\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,分装,4 °C 保存备用。取 20 剂方剂浓缩液混合后经旋蒸浓缩、冷冻干燥后得中药冻干粉 412.36 g,提取率为 11.45%。

α -萘异硫氰酸酯 (ANIT),CAS 号 551-06-4;橄榄油,CAS 号 8001-25-0,货号 O108686,阿拉丁生化科技有限公司。熊去氧胆酸 (UDCA),CAS 号 128-13-2,美国默克 Sigma 公司。丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、白蛋白 (ALB)、碱性磷酸酶 (ALP)、 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT)、总胆汁酸 (TBA)、总胆红素 (TBIL)、直接胆红素 (DBIL) 试剂盒,南京建成生物工程研究所。苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒、Masson 三色染色试剂盒、天狼星红,碧云天生物技术有限公司。小鼠 IV 型胶原 (Col-IV) ELISA 试剂盒,生工生物工程股份有限公司。小鼠 III 型前胶原氨基端肽 (PIIINP) ELISA 检测试剂盒、小鼠层黏连蛋白 (LN) ELISA 试剂盒,江莱生物科技有限公司。透明质酸 (HA) ELISA 试剂盒,武汉菲恩生物科技有限公司。

大鼠白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) ELISA 试剂盒,Elabscience 生物科技有限公司。信号转导因子和转录激活因子 3 (STAT3)、P53、NF- κ B p65、TGF- β 1、Fibronectin、 β -actin 抗体,武汉三鹰生物技术有限公司。p-STAT3 (Tyr705) 抗体、p-NF- κ B p65 (Ser536) 抗体,亲科生物有限公司。

1.2 主要仪器

SpectraMax iD5 多功能酶标仪,美国 Molecular Devices 公司;Amersham Imager 600 凝胶成像分析系统,美国 GE 医疗集团;LCMS-8060NX 三重四极杆高效液相色谱质谱联用仪,日本岛津集团;HistoCore Arcadia 全自动组织包埋仪、HistoCore AUTOCUT 全自动石蜡切片机、HistoCore SPECTRA 染色和封片工作站,德国 Leica 集团;DM2000 正置光学显微镜、Leica DM4P 正置偏光显微镜,德国 Leica 集团。

1.3 实验动物

60 只 7 周龄 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠购自南京华阜康生物制品中心,饲养于江苏卫生健康职业学院中心实验室小鼠房,在 12 h 光照/12 h 黑暗循环下自由饮水和饮食,饲养温度为 $(20\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $(50\pm 10)\%$ 。动物生产许可证号 SCXK (沪) 2018-0006,实验方案经江苏卫生健康职业学院动物伦理委员会通过,所有动物操作与饲养均按照动物伦理与福利审查严格进行,伦理合格证号为 JHVC-IACUC-2023-B019。

2 方法

2.1 JWHQ 活性成分测定与筛选

取 50 μL 中药冻干粉,加入 200 μL 甲醇,随后以 $13\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液,加入到进样瓶,进行 LC-MS/MS 分析。整个分析过程中样品置于 8 °C 自动进样器中,样品经超高效液相色谱系统,使用 C_{18} 色谱柱 (NuovaSil ODS, 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm , 载碳量 15%) 进行分离。其中进样量 8 μL ,柱温 40 °C,体积流量 $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;色谱流动相 0.1% 甲酸水 (A)-含 0.1% 甲酸的甲醇 (B);色谱梯度洗脱程序如下:正负离子模式采用相同的色谱分离梯度:0.10~15.00 min, 1% $\rightarrow$ 99% B; 15~18 min, 99% B; 18.0~18.1 min, 99% $\rightarrow$ 1% B; 18.1~23.0 min, 1% B。每例样品分别采用电喷雾电离 (ESI) 进行正离子和负离子模式检测。样品经 HPLC 分离后用 Sciex TripleTOF 6600 质谱仪进行质谱分析。质谱

条件：电离源：ESI 离子源；鞘气 5 MPa；辅助气 5 MPa；喷雾电压：5.5 kV（+）/4.5 kV（-）；毛细管温度：500 °C；强度前 20 进行二级碎裂。一级谱和二级谱扫描范围均为 m/z 50~1 000，其余参数为默认值。所有原始数据使用 MS-DIAL（5.5 版本）进行峰对齐、保留时间校正和峰面积提取，其余参数均为软件默认值。

将所得的 472 种成分以代谢物名称导入 PubChem 数据库（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>）以获取化合物的结构信息、InChIKey 号和 Smiles 结构式，将 Smiles 结构式导入 SwissADME 数据库（<http://www.swissadme.ch/>）以获取组分的 ADME 和类药性信息，筛选条件为：胃肠道吸收（GI absorption）为“High”，类药性（Druglikeness）为具有 3 项“YES”以上作为活性成分。筛选完成后依据含量将活性成分排名，选取排名前 90 的关键活性成分。

2.2 实验动物分组与给药

小鼠适应性喂养 1 周后，混合到同一笼中随机分为 6 组，每组 10 只，分组及给药干预措施如下：对照组：0.3 mL 橄榄油+0.5 mL 0.9% NaCl 溶液；模型组：50 mg·kg⁻¹ ANIT 橄榄油溶液+0.5 mL 0.9% NaCl 溶液^[13]；UDCA：50 mg·kg⁻¹ ANIT 橄榄油溶液+75 mg·kg⁻¹ UDCA；JWHQ 低、中、高剂量组：50 mg·kg⁻¹ ANIT 橄榄油溶液+0.5、1.0、1.5 g·kg⁻¹ JWHQ。ANIT 橄榄油溶液、JWHQ、UDCA 均为 ig 给予，所有小鼠共干预 14 d。

2.3 取材

实验结束后 ip 80 mg·kg⁻¹ 氯胺酮+5 mg·kg⁻¹ 甲苯噻嗪麻醉小鼠，收集血液后每组取 3 只小鼠心脏灌注 0.9% NaCl 溶液，每只 10 mL，灌流完成后使用 4% 多聚甲醛灌注 40 mL，收集肝脏并离体拍照，拍照完成后置于 5 倍体积的多聚甲醛中固定。其余小鼠仅灌注 10 mL 0.9% NaCl 溶液后取肝脏冻存。

血液样本收集于一次性促凝血采血管中，室温静置 3 h 后于低温离心机 4 °C、3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，收集上层血清冻存作为血清样本。

2.4 肝脏功能检测

取血清样本，试剂盒法检测 ALT、AST、ALB、ALP、 γ -GT、TBA、TBIL 和 DBIL 水平，完成后于多功能酶标仪上检测吸光度。

2.5 肝脏病理学检测

取固定 24 h 后的肝脏样本，梯度乙醇脱水和二

甲苯透明后于全自动包埋机上进行石蜡包埋，HistoCore AUTOCUT 系统切片，经脱蜡、复水、透明后使用 HE 试剂盒、Masson 试剂盒和天狼星红试剂盒说明书进行染色，封片。HE 和 Masson 染色切片于正置光学显微镜下观测结果并拍照，天狼星红染色切片于偏振光显微镜下观测并拍照。

2.6 ELISA 检测

取血清样本进行肝纤四项（Col-IV、PIIINP、LN 和 HA）检测，测定方法按市场现售说明书进行，并于 SpectraMax iD5 系统中检测结果。

取冻存的肝脏样本进行炎症因子检测，肝脏样本经组织研磨后使用 RIPA 裂解液裂解蛋白，BCA 定量后，采用 ELISA 法检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平，并于 SpectraMax iD5 系统中检测结果。

2.7 Western blotting 检测

取冻存的肝脏组织，去除芥蒂组织后加入含 PMSF 的 RIPA 裂解液于组织研磨仪研磨、冰上裂解并离心，BCA 定量。变性后使用 Western blotting 法检测蛋白表达情况。取 30 μ g 蛋白质加样于 10% 的 SDS-PAGE 凝胶，电泳、转膜。使用 5% 脱脂牛奶封闭后，将其在 4 °C 与一级抗体孵育过夜。TBST 摇床清洗后，于常温应用辣根过氧化物酶标记的二级抗体（1：1 000）孵育 2 h，清洗后于 Amersham Imager 600 系统成像，结果应用 Fuji 进行灰度积分并进行统计学分析。

2.8 网络药理学分析

2.8.1 JWHQ 靶点预测 取 JWHQ 关键活性成分的 Smiles 结构式导入 SwissTargetPrediction 数据库（<http://www.swisstargetprediction.ch/>），选取物种为“Homo sapiens”进行天然产物的靶点预测，选取靶点可信度前 100 的靶点作为 JWHQ 的潜在药物靶点。

2.8.2 CHF 靶点获取及蛋白-蛋白相互作用（PPI）网络构建 以“Cholestatic hepatitis”为检索词于 GeneCards 数据库（<https://www.genecards.org/>）、DrugBank 数据库（<https://go.drugbank.com/>）和 OMIM 数据库（<https://www.omim.org/>）中进行靶点搜集，并将得到的淤胆型肝炎靶点通过 UniProt 数据库（<https://www.uniprot.org/>）的基因转换工具转化为 Official Gene Symbol，并统一进行查重处理，得到淤胆型肝炎的靶点信息。

以“Liver fibrosis”为检索词于上述 3 个数据库中进行靶点搜集，转化为 Official Gene Symbol 后查

重, 得到肝脏纤维化的靶点信息。

使用 Office Excel (2016) 中的 “VLOOKUP” 函数将上述 2 个病征的基因靶点进行交集处理, 得到 CHF 的靶点信息。

将 CHF 靶点和 JWHQ 预测靶点进行交集处理, 得到 JWHQ 治疗 CHF 的潜在靶点。将其潜在靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 进行 PPI 分析, 并将结果导入 Cytoscape v3.10.2 软件进行可视化构建。

2.8.3 富集分析 将所得的 JWHQ 治疗 CHF 的潜在靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行基因本体 (GO) 富集和京都基因百科全书 (KEGG) 富集分析。根据富集程度和 P 值进行通路筛选后导入微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化构建。

2.9 分子对接

于 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 获取 STAT3、p53、NF- κ B、TGF- β 1 和 Fibronectin 的蛋白结构, 将 “2.1” 项中获取的 JWHQ 关键活性成分

的 “2D sdf” 结构式与其一同应用 SailVina 进行结构处理和分子对接。

2.10 数据处理

使用 Graphpad prism 8.3.1 进行统计学处理和可视化构建, 多组间使用单因素方差分析和 t 检验进行异常数据剔除和显著性分析, 结果均以 $\bar{x} \pm s$ 呈现。

3 结果

3.1 JWHQ 的 QQQ-HPLC-MS 分析和关键活性成分筛选

HPLC-MS 检测的正、负离子流图如图 1 所示, 共检测出数据库匹配结果 472 个, 通过 ADME 和类药性筛选出含量排名前 90 的化合物作为 JWHQ 关键活性成分 (表 1)。

3.2 JWHQ 可改善淤胆型肝炎小鼠肝脏功能

小鼠肝脏功能检测结果如图 2-A 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠血清 ALT、AST、ALB、ALP、 γ -GT、TBA、TBIL 和 DBIL 均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 中、高剂量 JWHQ 组的小鼠血清 ALT、AST、ALB、ALP、 γ -GT、TBA、TBIL 和 DBIL

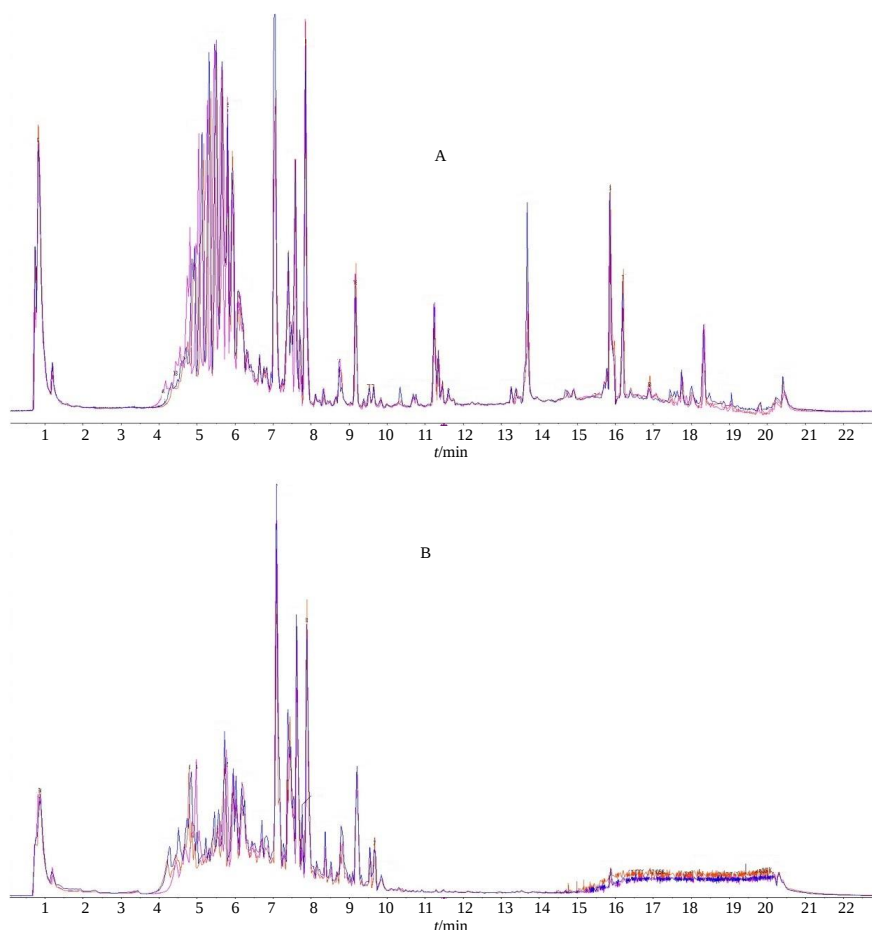


图 1 JWHQ 的 HPLC-MS 正(A)、负(B)离子流图

Fig. 1 HPLC-MS positive (A) and negative (B) ion chromatograms of JWHQ

表 1 JWHQ 关键活性成分信息
Table 1 Key active ingredient information of JWHQ

编号	化合物英文名称	化合物中文名称
M01	(1 <i>S</i> , 4 <i>R</i>)-7,7-dimethyl-2-oxobicyclo[2.2.1]heptane-1-carboxylic acid	(1 <i>S</i> , 4 <i>R</i>)-7,7-二甲基-2-氧代双环[2.2.1]庚烷-1-羧酸
M02	(2,4-dichlorophenyl)- <i>N</i> -[2-(2-methylindol-3-yl)ethyl]carboxamide	(2,4-二氯苯基)- <i>N</i> -[2-(2-甲基吲哚-3-基)乙基]甲酰胺
M03	(2 <i>E</i>)-3-(2,4-dichlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one	(2 <i>E</i>)-3-(2,4-二氯苯基)-1-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮
M04	(6-bromo-2-oxochromen-3-yl)- <i>N</i> -[2,2,6,6-tetramethyl(4-piperidyl)]carboxamide	(6-溴-2-氧代色烯-3-基)- <i>N</i> -(2,2,6,6-四甲基-4-哌啶基)甲酰胺
M05	[2-(2,5-dimethylindol-3-yl)ethyl][(4-methoxynaphthyl)sulfonyl]amine	[2-(2,5-二甲基吲哚-3-基)乙基][(4-甲氧基萘基)磺酰基]胺
M06	1-(2 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[3,4- <i>c</i>]1,4-dioxan-6-yl)-2-(4-(2-thienyl)pyrimidin-2-ylthio)ethan-1-one	1-(2 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -苯并[3,4- <i>c</i>]-1,4-二氧六环-6-基)-2-(4-(2-噻吩基)嘧啶-2-基硫代)乙-1-酮
M07	1-[(2,6-dichlorophenyl)methyl]-3-hydroxy-3-[2-oxo-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethyl]indolin-2-one	1-[(2,6-二氯苯基)甲基]-3-羟基-3-[2-氧代-2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙基]吲哚啉-2-酮
M08	10-methyl-3,10-dihydrobenzo[<i>g</i>]pteridine-2,4-dione	10-甲基-3,10-二氢苯并[<i>g</i>]蝶啶-2,4-二酮
M09	2-(4-bromophenyl)-1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)ethan-1-one	2-(4-溴苯基)-1-(2-羟基-4,6-二甲氧基苯基)乙-1-酮
M10	2,2,2-trifluoroethyl 6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-4-methyl-2-oxo-1,3,6-trihydropyrimidine-5-carboxylate	2,2,2-三氟乙基 6-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-4-甲基-2-氧代-1,3,6-三氢嘧啶-5-羧酸酯
M11	2-[(2,5-dimethylphenyl)sulfonyl]amino}-3-indol-3-ylpropanoic acid	2-[(2,5-二甲基苯基)磺酰基]氨基}-3-吲哚-3-基丙酸
M12	2-[[4-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl]amino]sulfonyl]phenyl]methyl]benzo[<i>c</i>]azolidine-1,3-dione	2-[[4-[(3,4,5-三甲氧基苯基)甲基]氨基]磺酰基]苯基]甲基]苯并[<i>c</i>]氮杂啉-1,3-二酮
M13	2 <i>H</i> -benzo[3,4- <i>d</i>]1,3-dioxolen-5-yl- <i>N</i> -[5-(tert-butyl)(1,3,4-thiadiazol-2-yl)]carb oxamide	2 <i>H</i> -苯并[3,4- <i>d</i>]-1,3-二氧杂环戊烯-5-基- <i>N</i> -[5-叔丁基-1,3,4-噻二唑-2-基]甲酰胺
M14	2-methoxyethyl 1-[2-(2,3-dichlorophenoxy)ethyl]-5-hydroxy-2-methylbenzo[<i>g</i>]indole-3-carboxylate	2-甲氧基乙基 1-[2-(2,3-二氯苯氧基)乙基]-5-羟基-2-甲基苯并[<i>g</i>]吲哚-3-羧酸酯
M15	3,2'-dihydroxychalcone	3,2'-二羟基查尔酮
M16	5-phenyl-7-(trifluoromethyl)(8-hydropyrazolo[1,5- <i>a</i>]pyrimidin-2-yl)-2-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolyl ketone	5-苯基-7-(三氟甲基)(8-氢吡唑并[1,5- <i>a</i>]嘧啶-2-基)-2-1,2,3,4-四氢异喹啉基酮
M17	6-(morpholin-4-ylsulfonyl)-3-(2-oxo-2-(2-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolyl)ethyl)-3-hydrobenzothiazol-2-one	6-(吗啉-4-基磺酰基)-3-(2-氧代-2-(2-1,2,3,4-四氢异喹啉基)乙基)-3-氢苯并噻唑-2-酮
M18	6,7-dimethoxy-1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline	6,7-二甲氧基-1-苄基-1,2,3,4-四氢异喹啉
M19	6-ethyl-4-(4-[(2,3,4-trimethoxyphenyl)methyl]piperazinyl)methyl chromen-2-one	6-乙基-4-(4-[(2,3,4-三甲氧基苯基)甲基]哌嗪基)甲基)色烯-2-酮
M20	cyclohexyl 4-(3-chloro-4-hydroxy-5-methoxyphenyl)-2-methyl-5-oxo-7-phenyl-1,4, 6,7,8-pentahydroquinoline-3-carboxylate	环己基 4-(3-氯-4-羟基-5-甲氧基苯基)-2-甲基-5-氧代-7-苯基-1,4,6,7,8-五氢喹啉-3-羧酸酯
M21	ethyl 1-(2,4-difluorophenyl)-7-chloro-6-fluoro-4-oxohydropyridino[2,3- <i>b</i>]pyridine-3-carboxylate	乙基 1-(2,4-二氟苯基)-7-氯-6-氟-4-氧代氢吡啶并[2,3- <i>b</i>]吡啶-3-羧酸酯
M22	heptyl 6-(3-bromo-4-hydroxy-5-methoxyphenyl)-4-methyl-2-oxo-1,3,6-trihydropyrimidine-5-carboxylate	庚基 6-(3-溴-4-羟基-5-甲氧基苯基)-4-甲基-2-氧代-1,3,6-三氢嘧啶-5-羧酸酯
M23	methyl 5-bromo-2,6-dioxo-1,3-dihydropyrimidine-4-carboxylate	甲基 5-溴-2,6-二氧代-1,3-二氢嘧啶-4-羧酸酯
M24	<i>N</i> -(2,4-difluorophenyl)-2-(9-ethyl-6-oxohydropurin-8-ylthio)acetamide	<i>N</i> -(2,4-二氟苯基)-2-(9-乙基-6-氧代氢嘌呤-8-基硫代)乙酰胺
M25	<i>N</i> -(2-methyl-3-oxo(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i> -benzo[3,4- <i>c</i>]1,4-oxazin-6-yl))(3,4,5-trimethoxyphenyl)carboxamide	<i>N</i> -(2-甲基-3-氧代(2 <i>H</i> ,4 <i>H</i> -苯并[3,4- <i>c</i>]-1,4-噁嗪-6-基))(3,4,5-三甲氧基苯基)甲酰胺
M26	<i>N</i> -(4-(2 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[<i>c</i>]1,4-dioxin-6-yl)(1,3-thiazol-2-yl))(3,4,5-trimethoxyphenyl)carboxamide	<i>N</i> -(4-(2 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -苯并[<i>c</i>]-1,4-二氧六环-6-基)(1,3-噻唑-2-基))(3,4,5-三甲氧基苯基)甲酰胺
M27	<i>N</i> -(4-acetylphenyl)[2-(2-thienylsulfonyl)(3-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolyl)]carb oxamide	<i>N</i> -(4-乙酰基苯基)[2-(2-噻吩基磺酰基)(3-1,2,3,4-四氢异喹啉基)]甲酰胺

表 1 (续)

编号	化合物英文名称	化合物中文名称
M28	<i>N</i> -(methylethyl)- <i>N</i> -{[3-(3-methylphenyl)(1,2,4-oxadiazol-5-yl)]methyl}(3,4,5-trimethoxyphenyl)carboxamide	<i>N</i> -(甲基乙基)- <i>N</i> -{[3-(3-甲基苯基)(1,2,4-噁二唑-5-基)]甲基}(3,4,5-三甲氧基苯基)甲酰胺
M29	<i>N</i> -[(4-methoxyphenyl)methyl]- <i>N</i> -(4-pentyloxyphenyl)ethane-1,2-diamide	<i>N</i> -[(4-甲氧基苯基)甲基]- <i>N</i> -(4-戊氧基苯基)乙烷-1,2-二甲酰胺
M30	<i>N</i> -[4-(2-thienylcarbonyl)phenyl](3,4,5-trimethoxyphenyl)carboxamide	<i>N</i> -4-(2-噻吩基羰基)苯基甲酰胺
M31	<i>N</i> -[4-(5,7-dichlorobenzoxazol-2-yl)phenyl](3,4-dimethoxyphenyl)carboxamide	<i>N</i> -4-(5,7-二氯苯并噁唑-2-基)苯基甲酰胺
M32	<i>N</i> -benzothiazol-2-yl-2-(1,3-dimethyl-2,6-dioxo(1,3,7-trihydropurin-7-yl))acetamide	<i>N</i> -苯并噻唑-2-基-2-(1,3-二甲基-2,6-二氧代(1,3,7-三氢嘌呤-7-基))乙酰胺
M33	(10 <i>E</i> ,15 <i>E</i>)-9,12,13-trihydroxyoctadeca-10,15-dienoic acid	(10 <i>E</i> ,15 <i>E</i>)-9,12,13-三羟基十八碳-10,15-二烯酸
M34	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2-(2,6-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2-(2,6-二羟基苯基)-3,5,7-三羟基-2,3-二氢色烯-4-酮
M35	(2 <i>Z</i>)-2-[(3-bromophenyl)carbonylamino]- <i>N</i> -[2-(2-methylindol-3-yl)ethyl]-3-phenyl prop-2-enamide	(2 <i>Z</i>)-2-[(3-溴苯基)羰基氨基]- <i>N</i> -[2-(2-甲基吲哚-3-基)乙基]-3-苯基丙-2-烯酰胺
M36	2,6-dihydroxybenzoic acid	2,6-二羟基苯甲酸
M37	2-hydroxy-4-methoxy-3,5-bis(3-methylbut-2-enyl)-6-(2-phenylethyl)benzoic acid	2-羟基-4-甲氧基-3,5-双(3-甲基丁-2-烯基)-6-(2-苯乙基)苯甲酸
M38	2'- <i>O</i> -methyl-kurarinone	2'- <i>O</i> -甲基苦参酮
M39	3-({4-[(6-ethoxy-2-oxochromen-4-yl)methyl]piperazinyl}methyl)-4-methoxybenzaldehyde	3-({4-[(6-乙氧基-2-氧代色烯-4-基)甲基]哌嗪基}甲基)-4-甲氧基苯甲醛
M40	3-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)-2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-7-yl acetate	3-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧六环-6-基)-2-氧代-2 <i>H</i> -色烯-7-基乙酸酯
M41	3-(4-methoxyphenyl)-isochromen-1-one	3-(4-甲氧基苯基)-异色烯-1-酮
M42	3-(8-hydroxyoctyl)phenol	3-(8-羟基辛基)苯酚
M43	3-hydroxy-5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(3-methylphenyl)-4-(phenylcarbonyl)-3-pyrrolin-2-one	3-羟基-5-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-1-(3-甲基苯基)-4-(苯基羰基)-3-吡咯啉-2-酮
M44	3-indol-3-yl-2-[(2-methyl-5-phenyl(3-furyl))carbonylamino]propanoic acid	3-吲哚-3-基-2-[(2-甲基-5-苯基(3-呋喃基))羰基氨基]丙酸
M45	4-hexylresorcinol	4-己基间苯二酚
M46	4-methoxy-7-methyl-5-oxo-5 <i>H</i> -furo[3,2- <i>g</i>]chromen-9-yl acetate	4-甲氧基-7-甲基-5-氧代-5 <i>H</i> -呋喃并[3,2- <i>g</i>]色烯-9-基乙酸酯
M47	4- <i>O</i> -methylphloracetophenone	4- <i>O</i> -甲基间苯三酚苯乙酮
M48	4-oxo-2-phenylchromen-6-yl thiophene-2-carboxylate	4-氧代-2-苯基色烯-6-基噻吩-2-羧酸酯
M49	5,6,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4 <i>H</i> -chromen-4-one	5,6,7-三羟基-2-(4-羟基苯基)-4 <i>H</i> -色烯-4-酮
M50	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,6-dimethoxy-4 <i>H</i> -chromen-4-one	5,7-二羟基-2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)-3,6-二甲氧基-4 <i>H</i> -色烯-4-酮
M51	6,7-dihydrotabersonine	6,7-二氢它波宁
M52	6-gingerol	6-姜酚
M53	7-(4-hydroxyphenyl)-2,2,10,10-tetramethyl-11,12-dihydro-2 <i>H</i> -dipyran[2,3- <i>f</i> :2',3'- <i>h</i>]chromen-8(10 <i>H</i>)-one	7-(4-羟基苯基)-2,2,10,10-四甲基-11,12-二氢-2 <i>H</i> -二吡喃并[2,3- <i>f</i> :2',3'- <i>h</i>]色烯-8(10 <i>H</i>)-酮
M54	7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin	7,8-二羟基-4-甲基香豆素
M55	7-prenyl-theophylline	7-异戊烯基茶碱
M56	1,3,8-trihydroxy-6-methylanthra-9,10-quinone	1,3,8-三羟基-6-甲基蒽-9,10-醌
M57	1-[[[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,11 <i>bR</i>)-3-ethyl-9,10-dimethoxy-2,3,4,6,7,11 <i>b</i> -hexahydro-1 <i>H</i> -benzo[<i>a</i>]quinolizin-2-yl)methyl]-7-methoxy-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -isoquinolin-6-one	1-[[[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,11 <i>bR</i>)-3-乙基-9,10-二甲氧基-2,3,4,6,7,11 <i>b</i> -六氢-1 <i>H</i> -苯并[<i>a</i>]喹啉-2-基]甲基]-7-甲氧基-3,4-二氢-2 <i>H</i> -异喹啉-6-酮
M58	2-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)-6-methylchroman-4-one	2-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二氧六环-6-基)-6-甲基色满-4-酮

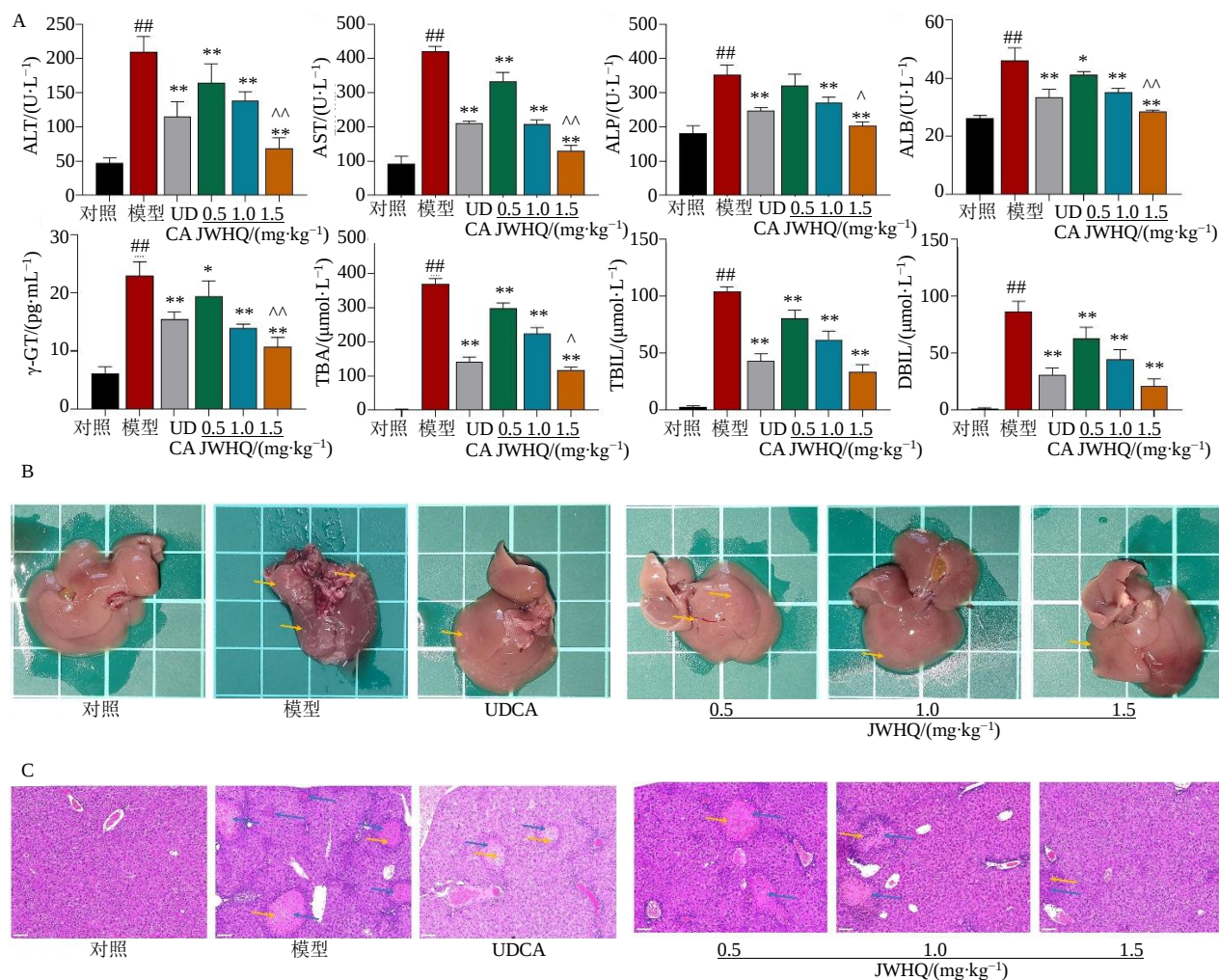
表 1 (续)

编号	化合物英文名称	化合物中文名称
M59	2-(7,8-dimethoxy-4-methyl-2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl)- <i>N</i> -(1-isopropyl-1 <i>H</i> -indol-4-yl)acetamide	2-(7,8-二甲氧基-4-甲基-2-氧代-2 <i>H</i> -色烯-3-基)- <i>N</i> -(1-异丙基-1 <i>H</i> -吲哚-4-基)乙酰胺
M60	baicalein	黄芩素
M61	bisdemethoxycurcumin	双去甲氧基姜黄素
M62	CCG-208187	(1 <i>S</i> ,5 <i>E</i> ,7 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,11 <i>E</i> ,13 <i>S</i> ,14 <i>S</i> ,16 <i>R</i> ,17 <i>S</i> ,18 <i>S</i> ,19 <i>S</i>)-19-苄基-7-羟基-7,9,16,17-四甲基-2,4,15-三氧杂-20-氮杂四环[11.8.0.0.0,0]二十一碳-5,11-二烯-3,8,21-三酮
M63	chrysosplenol C	金腰酚C
M64	CNP0252860	球黄黄酮D
M65	columbamine	哥伦布胺
M66	coptisine	黄连碱
M67	coumestrol	香豆雌酚
M68	dechlorodiploicin	脱氯二地衣酸
M69	didymic acid	双歧酸
M70	diosmetin	香叶木素
M71	ellagic acid	鞣花酸
M72	endocrocin	内棕榈酸
M73	epanorin	埃帕诺林
M74	ethyl 2-((4-methyl-2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-7-yl)oxy)propanoate	乙基2-((4-甲基-2-氧代-2 <i>H</i> -色烯-7-基)氧基)丙酸酯
M75	ethyl 2-[(4-methoxyphenyl)carbonylamino]acetate	乙基2-[(4-甲氧基苯基)羰基氨基]乙酸酯
M76	ethyl 2-[2-(4-bromophenoxy)acetyl amino]-3-indol-3-ylpropanoate	乙基2-[2-(4-溴苯氧基)乙酰氨基]-3-吲哚-3-基丙酸酯
M77	ethyl 3-{ <i>N</i> -[2-(4-chlorophenyl)acetyl amino]carbamoyl}propanoate	乙基3-{ <i>N</i> -[2-(4-氯苯基)乙酰氨基]氨甲酰基}丙酸酯
M78	eupafolin	泽兰黄酮
M79	eupatorin-5-methylether	泽兰黄素-5-甲基醚
M80	octadecanoic acid	硬脂酸
M81	galbulin	加尔布林
M82	hydroprotopine	氢原阿片碱
M83	isoeugenol	异丁香酚
M84	isoliquiritigenin	异甘草素
M85	isorhamnetin	异鼠李素
M86	jaceosidin	粗毛豚草素
M87	limonin	柠檬苦素
M88	limonine	柠檬烯
M89	loperamide hydrochloride	盐酸洛哌丁胺
M90	magnocurarine	木兰箭毒碱

显著降低 ($P < 0.01$)；与阳性对照组 (UDCA) 相比，高剂量 JWHQ 组小鼠 ALT、AST、ALB、ALP、 γ -GT 和 TBA 更低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，表明 JWHQ 可改善小鼠肝脏功能，且高剂量效果优于现用临床药物 UDCA。

离体肝脏检测结果 (图 2-B) 表明，对照组小鼠肝脏颜色偏淡且表面光洁；与对照组相比，模型组小鼠肝脏颜色暗沉且有大量局部坏死样白色斑点 (黄色箭头)；与模型组相比，JWHQ 低剂量组小

鼠肝脏表面颜色变淡，坏死样斑点明显变少，JWHQ 中剂量组小鼠肝脏颜色红润，表面坏死样斑点同样变少且聚集于肝叶边缘，JWHQ 高剂量组小鼠肝脏颜色红润且表面几乎无坏死样白色斑点；与 UDCA 组相比，JWHQ 高剂量组小鼠肝脏表面坏死样斑点更少。肝脏 HE 染色结果 (图 2-C) 表明，与对照组相比，模型组小鼠肝脏肝板区域存在大量肝实质细胞局部弥漫性坏死 (蓝色箭头)，坏死程度严重且存在大量炎症细胞募集 (黄色箭头)；与模型组相比，



A-各组小鼠血清的生化指标含量变化; B-各组小鼠离体肝脏外观(每格栅长度为5 mm); C-各组小鼠肝脏组织病理学检测(HE染色, ×200, 标尺为100 μm, 蓝色箭头为局部弥漫性坏死, 黄色箭头为炎症细胞募集)。与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与UDCA组比较: [^] $P < 0.05$ ^{^^} $P < 0.01$ 。

A-changes in biochemical indicators of serum in each group of mice; B-isolated liver detection of each group of mice (each grid length is 5 mm); C-liver histopathological detection of each group of mice (HE staining, original magnification ×200, scale bar equals 100 μm. The blue arrows indicate areas of focal diffuse necrosis, and the yellow arrows indicate inflammatory cell infiltration). ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; [^] $P < 0.05$ ^{^^} $P < 0.01$ vs UDCA group.

图2 JWHQ对淤胆型肝炎小鼠肝脏功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Effects of JWHQ on liver function in mice with cholestatic hepatitis ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

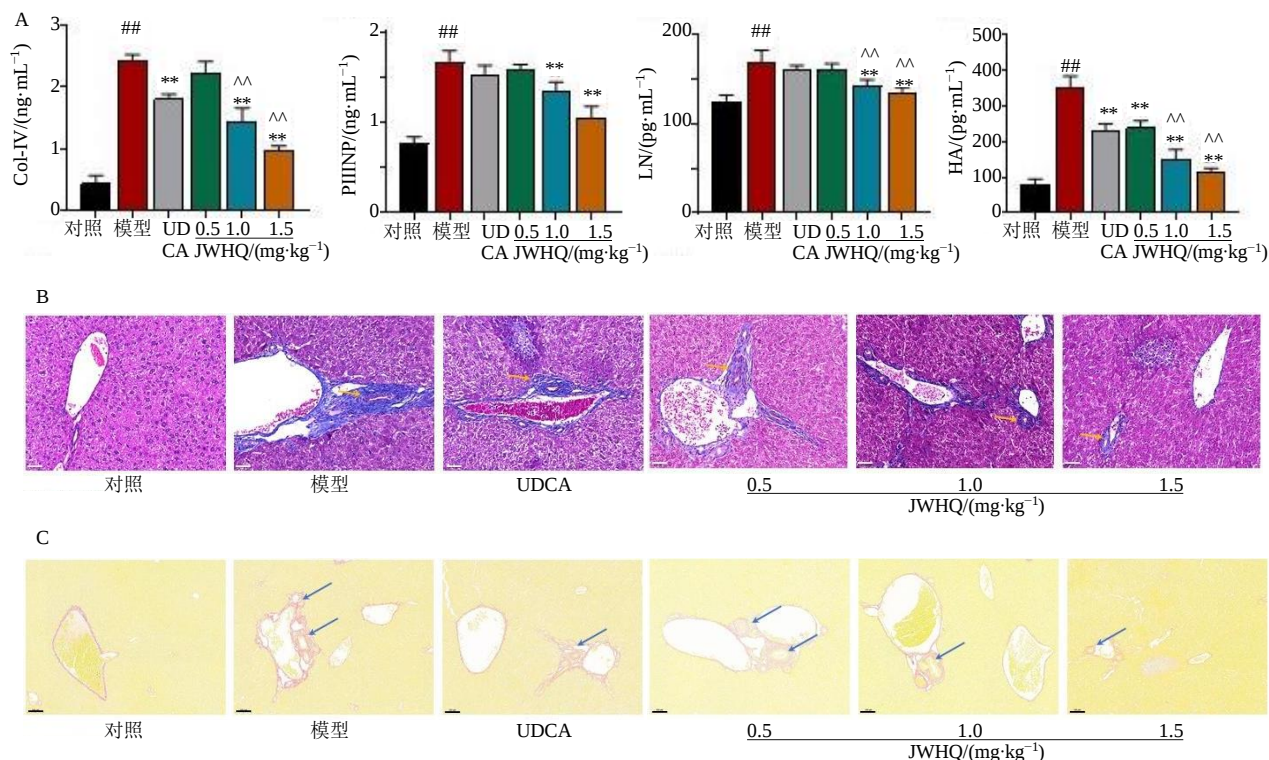
JWHQ中、高剂量组小鼠肝脏局部弥漫性坏死面积减少, JWHQ高剂量组小鼠肝脏局部弥漫性坏死面积更少, 且程度更轻, 表明JWHQ可改善CHF小鼠肝脏病理状态, 抑制胆汁淤积引起的肝脏坏死。

3.3 JWHQ可改善淤胆型肝炎小鼠肝脏纤维化程度

ELISA检测结果如图3-A所示, 与对照组相比, 模型组小鼠血清Col-IV、PIIINP、LN和HA含量显著升高($P < 0.01$); 与模型组相比, JWHQ中、高剂量组小鼠血清Col-IV、PIIINP、LN和HA含量

显著降低($P < 0.01$); 与UDCA组相比, JWHQ中、高剂量组小鼠血清Col-IV、LN和HA含量明显更低($P < 0.01$)。

Masson染色结果如3-B所示, 与对照组相比, 模型组小鼠肝脏门管区被假小叶(黄色箭头)包被且存在大量胶原沉积(蓝色染色); 与模型组相比, JWHQ组小鼠肝脏门管区假小叶(黄色箭头)和胶原沉积减少且呈剂量相关性。与UDCA组相比, JWHQ高剂量组小鼠肝脏假小叶面积和纤维沉积面积明显更少。天狼星红染色得到同样的结果(图3-C,



A-各组小鼠血清的生化指标含量变化; B-Masson 三色染色, $\times 100$, 标尺为 50 μm , 黄色箭头为假小叶形成; C-天狼星红染色, $\times 200$, 标尺为 100 μm , 蓝色箭头为假小叶形成。与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 UDCA 组比较: ^{^^} $P < 0.01$ 。

A-Changes in biochemical indicators in serum among different groups of mice; B-Masson trichrome staining, $\times 100$, scale bar = 50 μm , yellow arrows indicate pseudolobule formation; C- Sirius red staining, $\times 200$, scale bar = 100 μm , blue arrows indicate pseudolobule formation. ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group; ^{^^} $P < 0.01$ vs UDCA group.

图 3 JWHQ 对淤胆型肝炎小鼠肝脏纤维化的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 3 Effect of JWHQ on liver fibrosis in mice with cholestatic hepatitis ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

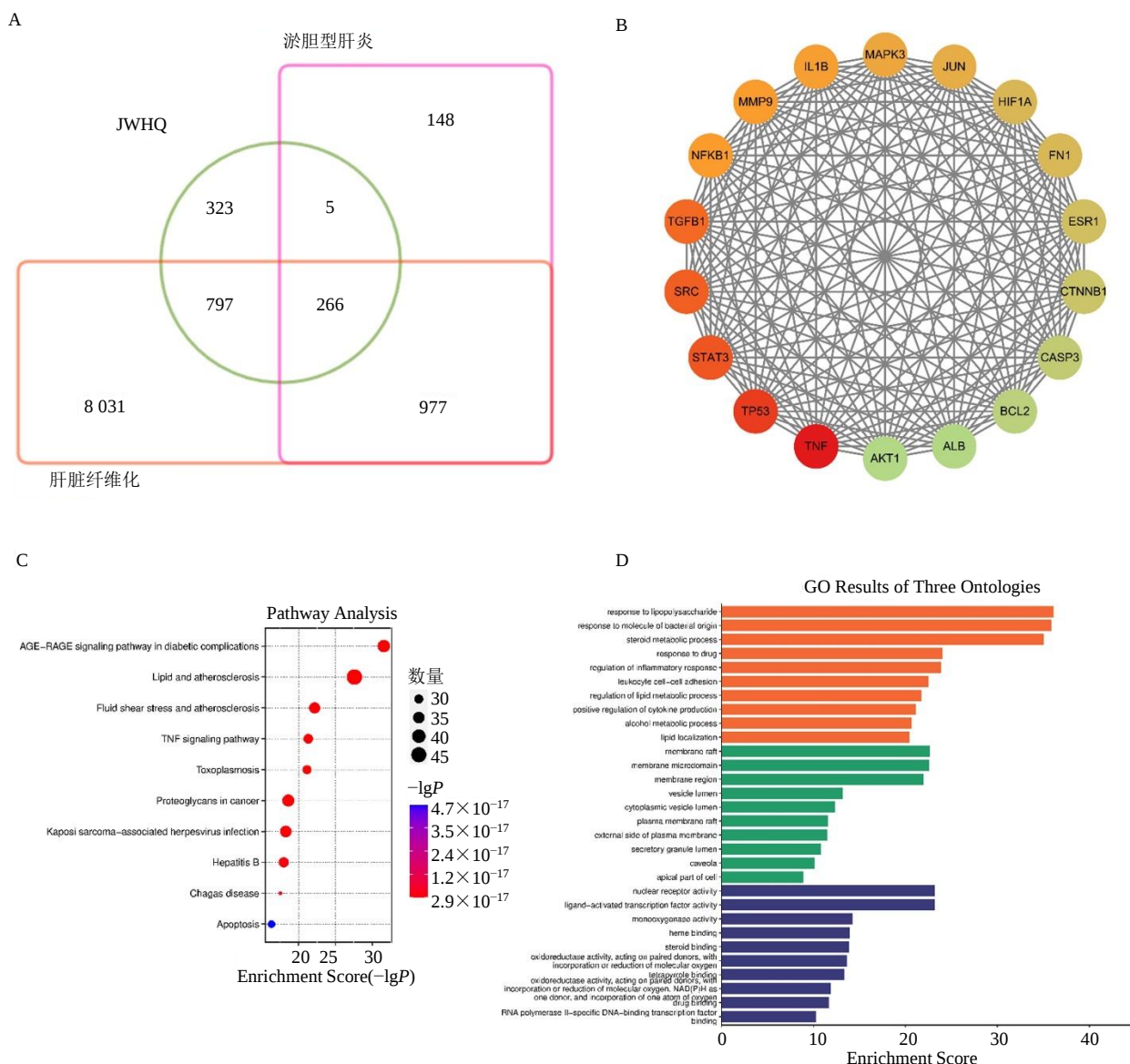
红色为阳性染色), 表明 JWHQ 可减轻 CHF 小鼠的肝脏纤维化程度。

3.4 JWHQ 可通过调控 STAT3/p53/NF- κ B 信号通路改善小鼠肝脏细胞外基质蓄积

网络药理学的预测结果如图 4 所示, 共搜集到淤胆型肝炎靶点 1 396 个, 肝脏纤维化靶点 10 071 个, 取交集获得 CHF 靶点 1 243 个。SwissTargetPrediction 预测出 JWHQ 靶点共 1 391 个, 与 CHF 靶点取交集的 JWHQ 治疗 CHF 的潜在靶点 266 个。PPI 结果显示, 这些靶点共有 5 289 条联系, 平均节点值为 40.068, 聚类系数为 0.281, 表明 PPI 网络联系密切但存在聚类效果差、边缘靶点多的问题, 因此通过节点值大小筛选出联系密切的前 18 名靶点作为 JWHQ 治疗 CHF 的关键靶点进行 PPI 网络分析, 结果如图 4-B 所示, 图中共有 18 个靶点, 153 条边, 平均聚类系数 1.0, 网络密度 1.0, 表明各关键靶点之间联系密切。关键靶点的富集分

析结果如图 4-C、D 结果所示, GO 分析结果表明, JWHQ 治疗 CHF 的关键生物过程为对药物的反应和对炎症的反应, 关键细胞结构为膜筏、膜域和膜微结构域, 关键分子功能为核受体活性和配体结合的转录因子活性; KEGG 结果表明, JWHQ 治疗 CHF 的关键作用通路为 AGE-RAGE 通路、TNF 信号通路和脂质与动脉粥样硬化通路。结合 PPI 网络结果分析, 选取关键靶点 TNF、TP53、STAT3、TGFB1、NFKB1、IL1B 和 FN1 进行后续研究。

Western blotting 和 ELISA 结果如图 5 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠肝脏 STAT3、p53、NF- κ B 表达量显著升高, STAT3 和 NF- κ B 的磷酸化水平升高, 炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达升高, TGF- β 1 和 Fibronectin 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 低、中、高剂量的 JWHQ 干预小鼠肝脏 STAT3、p53、NF- κ B 表达量显著降低, STAT3 和 NF- κ B 的磷酸化减少, 炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达下



A-JWHQ 与 CHF 靶点的韦恩分析; B-JWHQ 治疗 CHF 关键靶点的 PPI 网络分析; C-JWHQ 治疗 CHF 关键靶点的 GO 富集分析; D-JWHQ 治疗 CHF 关键靶点的 KEGG 富集分析。

A-Venn analysis of JWHQ and CHF; B-PPI network analysis of key targets of JWHQ in treating CHF; C-GO enrichment analysis of key targets of JWHQ in treating CHF; D-KEGG enrichment analysis of key targets of JWHQ in treating CHF.

图 4 JWHQ 治疗 CHF 的网络药理学分析

Fig. 4 Network pharmacological analysis of JWHQ in treatment of CHF

调, TGF- β 1 和 Fibronectin 表达下调 ($P < 0.05, 0.01$), 表明 JWHQ 可通过调控 CHF 小鼠 STAT/p53/NF- κ B 通路信号, 降低炎症因子和 TGF- β 1 表达, 下调 Fibronectin 分泌, 治疗肝脏纤维化。

分子对接结果如图 6 所示, JWHQ 的关键活性成分与 STAT3 可形成自发结合 (结合能小于 $-20.9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) 的有 82 个, 可形成自发强结合 (结合能小于 $-29.26 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) 的有 49 个, 与 p53 可形成自发结合的有 90 个, 可形成自发强结合的有 77

个, 与 NF- κ B 可形成自发结合的有 89 个, 可形成自发强结合的有 81 个, 与 TGF- β 1 可形成自发结合的有 88 个, 可形成自发强结合的有 75 个, 与 Fibronectin 可形成自发结合的有 82 个, 可形成自发强结合的有 54 个, 表明 JWHQ 可通过与 STAT3、p53、NF- κ B、TGF- β 1 和 Fibronectin 结合并影响其表达或发挥作用。

4 讨论

本研究使用的 JWHQ 是《医学探骊集 (卷三)》

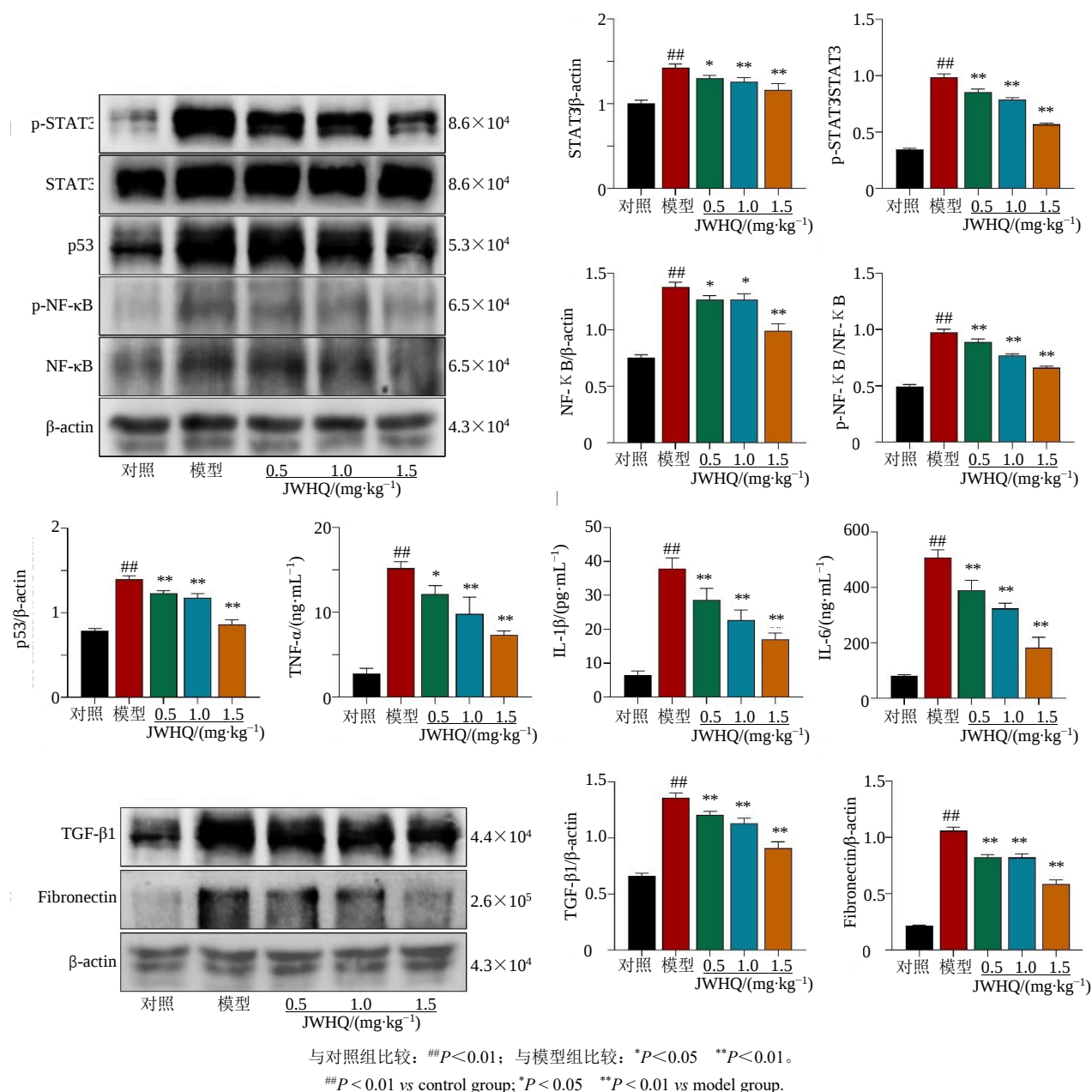


图 5 JWHQ 对淤胆型肝炎小鼠肝脏关键靶点蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 Effect of JWHQ on expression of key target proteins in liver of mice with cholestatic hepatitis ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

中 JWHQ 的加减方, 此方将原方剂的车前子换为等量大黄, 亦记载于《医学探骊集 (卷三)》中^[12]。此方用黄芩清热, 白芍养血、平抑肝阳, 厚朴、茺莢温中, 甘草、大枣和胃健脾, 苍术燥湿, 升麻木通升清引热, 换车前为大黄以去黄化瘀, 更适用于治疗 CHF 的病机。本研究结果发现, JWHQ 中的关键活性成分可以通过抑制 p53、STAT3、NF-κB 的表达, 同时抑制 STAT3 和 NF-κB 的磷酸化入核, 下调 TGF-β1 表达和炎症因子 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 的分泌, 抑制 Fibronectin 的表达、分泌和沉积, 治

疗 CHF 同时改善其肝脏功能 (图 7)。

研究表明, 淤胆型肝炎由胆汁淤积引起, 过量的胆汁酸通过多途径在肝内胆小管积聚诱发肝 Kupffer 细胞募集和肝星状细胞激活, 一方面募集的肝 Kupffer 细胞聚集在肝板的肝实质细胞区, 通过炎症反应引发肝板的多处慢性弥漫性细胞坏死, 另一方面激活的肝星状细胞分泌大量的细胞外基质成分 (包括胶原蛋白、纤维连接蛋白、LN 等) 引发肝硬化^[14-17]。有研究报道 STAT3 的表达量和磷酸化与肝炎引起的肝纤维化进程呈正相关^[18], 而

	STAT3	fibronectin-1	p53	NF- κ B	TGF- β_1		STAT3	fibronectin-1	p53	NF- κ B	TGF- β_1		STAT3	fibronectin-1	p53	NF- κ B	TGF- β_1
M01	-35.53	-35.11	-45.56	-55.18	-46.82	M31	-16.72	-17.97	-22.15	-23.83	-21.74	M61	-32.19	-30.93	-34.69	-45.98	-35.11
M02	-42.64	-44.31	-51.00	-58.10	-51.83	M32	-29.68	-29.26	-37.20	-43.05	-36.37	M62	-30.93	-35.53	-32.19	-41.80	-37.62
M03	-30.10	-44.31	-36.78	-44.73	-37.62	M33	-31.77	-29.26	-37.62	-42.22	-35.53	M63	-27.17	-32.60	-49.74	-34.28	-33.44
M04	-25.08	31.77	-31.77	-40.13	-33.02	M34	-29.68	-26.75	-35.11	-43.05	-33.02	M64	-40.55	-35.95	-49.74	-56.43	-52.67
M05	-24.24	-29.68	-28.01	-33.02	-31.77	M35	-28.42	-29.68	-39.29	-43.47	-35.95	M65	-40.55	-18.81	-36.37	-59.77	-54.76
M06	-27.59	-21.32	-35.53	-37.62	-37.62	M36	-29.68	-25.50	-38.04	43.05	-37.20	M66	-32.60	-42.64	-36.78	-46.82	-42.22
M07	-31.35	-28.01	-35.95	-45.14	-42.64	M37	-36.37	-33.02	-38.87	-50.16	-44.31	M67	-17.14	-41.38	-37.62	-24.24	-22.57
M08	-22.57	-31.35	-28.84	-32.19	-28.01	M38	-30.51	-17.97	-34.69	-40.55	-36.37	M68	-31.77	-32.60	-45.56	-42.64	-38.46
M09	-30.10	-34.69	-35.53	-41.38	-38.87	M39	-26.75	-19.65	-33.86	-34.69	-32.60	M69	-30.10	-35.95	-40.55	-43.05	-35.95
M10	-25.92	-22.99	-35.11	-36.37	-31.35	M40	-23.41	-21.32	-29.26	-33.02	-29.26	M70	-33.02	-29.26	-25.50	-45.98	-39.29
M11	-30.93	-28.42	-37.62	-45.98	-39.71	M41	-19.65	-32.19	-26.33	-26.75	-25.50	M71	-26.33	-33.44	-47.23	-37.20	-33.02
M12	-19.23	-26.75	-25.08	-29.26	-39.71	M42	-21.32	-34.69	-27.59	-31.77	-28.01	M72	-36.78	-33.86	-51.83	-52.25	-47.65
M13	-32.60	-31.77	-38.46	-48.91	-34.28	M43	-38.04	-34.28	-41.80	-49.74	-43.47	M73	-34.28	-37.62	-35.95	-48.49	-42.22
M14	-27.17	-20.06	-32.60	-40.55	0.00	M44	-18.39	-29.26	-25.92	-27.59	-23.83	M74	-31.77	-24.24	-47.23	-47.65	-41.38
M15	-27.17	-30.10	-31.77	-37.62	-33.86	M45	-36.78	-29.26	-42.64	-56.43	-25.08	M75	-20.06	-14.63	-35.53	-30.93	-25.92
M16	-25.50	-28.01	-33.44	-36.37	-32.19	M46	-29.26	-25.92	-33.86	-43.89	-46.40	M76	-22.99	-16.72	-36.37	-35.53	-30.51
M17	-25.50	-25.92	-32.19	-37.62	-31.77	M47	-29.26	-41.38	-34.28	-43.89	-33.86	M77	-18.81	-29.26	-45.98	-26.75	-25.08
M18	-28.42	-28.01	-33.44	-43.05	-34.28	M48	-42.22	-25.08	-47.23	-53.50	-51.41	M78	-17.14	-33.02	-29.26	-24.24	-22.57
M19	-28.84	-25.08	-33.86	-43.05	-36.78	M49	-30.51	-28.42	-37.20	-45.14	-38.04	M79	-42.22	-35.11	-23.83	-53.50	-51.41
M20	-21.74	-27.59	-28.84	-29.68	-27.17	M50	-23.83	-30.93	-29.26	-35.95	-30.93	M80	-41.38	-34.28	-43.89	-54.76	-55.18
M21	-23.41	-27.59	-32.19	-36.37	-30.10	M51	-35.95	-28.42	-40.55	-23.83	-43.47	M81	-29.68	-45.56	-48.91	-38.87	-34.69
M22	-28.42	-22.99	-36.78	-42.64	-36.37	M52	-16.72	-30.10	-22.15	-51.00	-21.74	M82	-34.28	-51.00	-38.04	-43.89	-39.29
M23	-32.19	-27.59	-40.13	-47.65	-42.22	M53	-37.20	-33.02	-32.19	-43.47	-50.16	M83	-36.37	-36.78	-25.08	-50.58	-43.05
M24	-32.19	-31.77	-37.20	-42.22	-36.78	M54	-30.93	-28.42	-32.19	-43.47	-37.62	M84	-27.59	-36.78	-38.46	-44.31	-34.69
M25	-29.68	-26.33	-37.20	-42.22	-37.20	M55	-29.26	-27.17	-36.78	-45.98	-35.95	M85	-31.77	-31.77	-32.60	-43.89	-40.13
M26	-21.74	-31.35	-32.19	-38.04	-32.60	M56	-30.51	-32.60	-28.84	-38.87	-38.87	M86	-25.08	-26.75	-31.77	-35.95	-33.02
M27	-28.01	-30.93	-32.60	-40.55	-34.69	M57	-26.33	-30.51	-35.95	-44.31	-33.44	M87	-37.62	-28.01	-32.19	-51.00	-45.98
M28	-28.84	-27.17	-32.60	-36.78	-35.11	M58	-32.60	-41.38	-33.02	-39.71	-38.04	M88	-21.32	-35.53	-33.44	-30.93	-27.59
M29	-28.42	-29.68	-29.68	-39.29	-35.53	M59	-29.68	-40.13	-31.77	-39.71	-37.20	M89	-16.30	-35.95	-33.02	-21.32	-19.65
M30	-35.11	-32.19	-39.71	-46.40	-40.55	M60	-24.66	-42.64	-46.40	-47.65	-36.78	M90	-33.86	-28.84	-33.86	-51.41	-43.89

图 6 JWHQ 关键活性成分与关键靶点的分子对接分析

Fig. 6 Molecular docking analysis of key active components and key targets in JWHQ

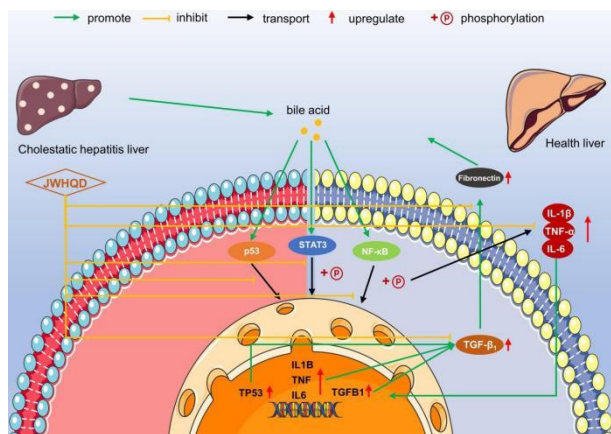


图 7 JWHQ 治疗 CHF 的作用机制

Fig. 7 Mechanism of action of JWHQ in treatment of CHF

抑制肝脏 STAT3 的表达可减弱肝脏的炎症反应和纤维化^[19],这与本研究结果相吻合。NF- κ B 的过表达在淤胆型肝炎中存在多重影响,一是其在肝实质细胞的磷酸化激活可通过入核上调炎症因子和趋化因子的表达,加剧肝脏的炎症募集,二是肝星状细胞中 NF- κ B 的激活可通过上调 TGF- β_1 等细胞修复和纤维化途径引发自身的过度激活^[20]。而抑制肝脏 NF- κ B 的磷酸化同样可抑制肝脏的纤维化进程^[21]。p53 是细胞中的一种细胞周期调节蛋白,其表达量与纤维细胞的增殖和迁移密切相关^[22],有研究证实抑制肝脏 p53 的表达可改善 CCl₄ 诱导的小鼠模型肝脏纤维化^[23]。TGF- β_1 对肝星状细胞激活的作用已被大量研究所证实,其表达量受 STAT3、NF- κ B、p53 等转录因子的调控,与肝星状细胞的激活呈明显的

正相关^[24-26]。目前已有针对 TGF- β_1 的药物吡非尼酮进入临床二期研究且取得良好疗效^[27]。上述研究表明通过多靶点调控治疗 CHF 方案是一种可行的治疗策略。

值得注意的是,这些蛋白并非孤立运作,而是在 CHF 的病理进程中构成了一个精密的细胞内信号串扰网络,共同放大炎症损伤并驱动纤维化的发生与发展。在胆汁酸等危险信号刺激下,膜受体被激活,分别通过 Janus 激酶 (JAK) 和 κ B 抑制因子激酶 (IKK) 磷酸化并激活 STAT3 与 NF- κ B。活化的 STAT3 (p-STAT3) 入核后,不仅能直接促进 IL-6、TNF- α 等促炎因子的转录,还能正向调控 NF- κ B p65 的表达,增强其转录活性^[28]。反之,活化的 NF- κ B 也能上调 STAT3 的表达,并可能通过调节其上游激酶来影响 STAT3 的磷酸化^[29]。这种相互强化的正反馈环路,导致促炎因子如“细胞因子风暴”般大量释放,持续攻击肝实质细胞,诱发其凋亡与坏死,并创造了一个极度有利于肝星状细胞 (HSC) 活化的微环境。在慢性淤胆状态下,持续的 p53 激活会加剧肝细胞损失^[30]。而 p53 的激活可以抑制 NF- κ B 的转录活性,而 NF- κ B 的持续活化也可能通过诱导 MDM2 等蛋白来降解 p53,从而抑制其促凋亡功能^[31]。这可能意味着在 ANIT 诱导的慢性损伤中,病理性信号打破了这种平衡,导致 p53 与 NF- κ B/STAT3 的促炎、促纤维化功能产生了协同效应。有研究指出,在某些情况下 p53 可以促进炎症因子表达,而活化的 STAT3 也能直接上调 p53 的表达,

形成另一个正反馈,共同诱导肝细胞衰老或凋亡,后者通过分泌衰老相关分泌表型进一步激活 HSC^[31]。本研究数据显示,在 STAT3/p53/NF- κ B 被抑制的同时,下游的 TGF- β 1 和 Fibronectin 也显著下调。NF- κ B 和 STAT3 均可直接结合于 *Tgfb1* 基因的启动子区域,促进其转录,活化的 HSC 自身也大量分泌 TGF- β 1,并以自分泌方式维持其活化状态^[32-33]。同时,p53 的激活可以增强 HSC 对 TGF- β 1 的敏感性,并促进其向肌成纤维细胞转化^[34]。因此,JWHQ 通过多靶点抑制上游的 STAT3/p53/NF- κ B 信号轴,能够更有效地从源头上阻断 TGF- β 1 这一核心促纤维化因子的产生和信号放大,进而抑制细胞外基质的过度沉积,体现了中药复方的多靶点、整体性作用。

本研究发现,JWHQ 治疗 CHF 的关键生物过程为对药物的反应和细胞对炎症的反应,关键通路为 TNF 信号通路和脂质与动脉粥样硬化通路,这提示 JWHQ 的治疗效果与炎症反应密切相关,这与中医理论中 JWHQ 的清热效果相吻合;关键细胞组分为膜域、膜筏和膜微结构域,提示 JWHQ 的治疗效果与细胞因子的分泌和细胞外基质的分泌有关,图 6 的 ELISA 结果和 Western blotting 分析结果表明其可抑制炎症因子和 Fibronectin 的分泌;关键分子功能为核受体结合和转录因子-受体结合,提示 JWHQ 对关键靶点 p53、NF- κ B 和 STAT3 的抑制作用可能是通过阻断其磷酸化激活和入核实现的。分子对接结果表明,JWHQ 的关键活性成分大多可与关键靶点的蛋白产生自发结合,表明科学假设的可靠性。Fibronectin 是一种高分子量细胞外基质成分,其自身存在大量黏附位点,可与其他细胞外基质成分如胶原、LN 等黏附沉积在一起,共同组成纤维化的骨架^[35]。改变 Fibronectin 的蛋白结构可显著抑制肿瘤细胞的迁移^[36]。因此,JWHQ 对 CHF 小鼠肝脏纤维化的抑制作用可能与其关键活性成分结合了 Fibronectin 的黏附位点,抑制其对其他细胞外基质成分的连接作用,破坏纤维化的骨架形成有关。

本实验系统地验证了 JWHQ 对 CHF 的治疗作用,其作用机制与抑制 p53、STAT3、NF- κ B 的表达和 STAT3、NF- κ B 的磷酸化入核,下调 TGF- β 1 表达、分泌和炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的分泌,抑制 Fibronectin 的表达、分泌和连接有关,为 JWHQ 治疗 CHF 的临床应用提供了数据支撑和研究基础。但本实验仍存在未曾解决的问题,如信号通路的研究

仅限于分子对接层面预测,并未通过体外回复实验进行验证;有研究表明 p53、STAT3 和 NF- κ B 存在相互串扰的可能^[27,29-30],本研究未深入探索这些转录因子之间的相互作用关系,后续将深入探究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Czaja A J. Cholestatic phenotypes of autoimmune hepatitis [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014, 12(9): 1430-1438.
- [2] 刘杜先, 刘兰侠, 杨永峰. 淤胆型肝炎的临床与病理 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(11): 2283-2288.
Liu D X, Liu L X, Yang Y F. Clinical and pathological features of cholestatic liver injury [J]. J Clin Hepatol, 2018, 34(11): 2283-2288.
- [3] Grimm D, Thimme R. Cholestatiche hepatopathien [J]. Ther Umsch, 2011, 68(4): 195-199.
- [4] Kalas M A, Chavez L, Leon M, et al. Abnormal liver enzymes: A review for clinicians [J]. World J Hepatol, 2021, 13(11): 1688-1698.
- [5] Hasegawa S, Yoneda M, Kurita Y, et al. Cholestatic liver disease: Current treatment strategies and new therapeutic agents [J]. Drugs, 2021, 81(10): 1181-1192.
- [6] 沈君彩. 熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的溶胆石功效及副作用比较 [J]. 新医学, 1984, 15(11): 589.
Shen J C. Comparison of cholelithiasis dissolving efficacy and side effects between ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid [J]. New Chin Med, 1984, 15(11): 589.
- [7] Wei C L, Qiu J, Wu Y Y, et al. Promising traditional Chinese medicine for the treatment of cholestatic liver disease process (cholestasis, hepatitis, liver fibrosis, liver cirrhosis) [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 297: 115550.
- [8] 赵志敏, 刘成海. 中医药治疗肝硬化的临床研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(15): 4178-4189.
Zhao Z M, Liu C H. Clinical research progress on treatment of liver cirrhosis with traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2025, 50(15): 4178-4189.
- [9] 王永炎, 严世芸. 实用中医内科学 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 187-188.
Wang Y Y, Yan S Y. Practical Traditional Chinese Medicine Internal Medicine [M]. 2nd Ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2009.
- [10] 舒静, 何强, 穆静, 等. 基于肝络病理理论治疗婴儿肝内胆汁淤积性肝病 [J]. 中医杂志, 2021, 62(1): 79-81.
Shu J, He Q, Mu J, et al. Treatment of infant intrahepatic cholestasis liver disease from the liver collateral disease

- theory [J]. *J Tradit Chin Med*, 2021, 62(1): 79-81.
- [11] 白金钊, 贾立群, 陈冬梅, 等. 中医辨证施治胆管癌用药规律及药理学研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(24): 8228-8240.
- Bai J Z, Jia L Q, Chen D M, et al. Research progress on medication patterns and pharmacology of traditional Chinese medicine for treating cholangiocarcinoma based on syndrome differentiation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(24): 8228-8240.
- [12] 康应辰 撰(清). 医学探骊集全集六卷(石拓本) [M]. 上海: 上海郑家实业公司, 1910: 3.
- Written by Kang Yingchen (Qing Dynasty). *Complete Collection of Medical Explorations in Six Volumes (Stone Topography)* [M]. Shanghai: Shanghai Zhengjia Industrial Co., Ltd., 1910: 3.
- [13] He X, Zhou Y, Yu J, et al. JiaGaSongTang improves chronic cholestasis via enhancing FXR-mediated bile acid metabolism [J]. *Phytomedicine*. 2024, 128: 155347.
- [14] Feldman A G, Sokol R J. Neonatal cholestasis: Updates on diagnostics, therapeutics, and prevention [J]. *Neoreviews*, 2021, 22(12): e819-e836.
- [15] Beuers U, Wolters F, Oude Elferink R P J. Mechanisms of pruritus in cholestasis: Understanding and treating the itch [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(1): 26-36.
- [16] Heinz N, Vittorio J. Treatment of cholestasis in infants and young children [J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2023, 25(11): 344-354.
- [17] Tam P K H, Wells R G, Tang C S M, et al. Biliary atresia [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2024, 10: 47.
- [18] Zhao J, Qi Y F, Yu Y R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis [J]. *Ann Hepatol*, 2021, 21: 100224.
- [19] Tian S Y, Zhou X, Zhang M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect against liver fibrosis via delivering miR-148a to target KLF6/STAT3 pathway in macrophages [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 330.
- [20] Luedde T, Schwabe R F. NF- κ B in the liver: Linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 8(2): 108-118.
- [21] Lan T, Chen B, Hu X Z, et al. Tianhuang formula ameliorates liver fibrosis by inhibiting CCL2-CCR2 axis and MAPK/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117516.
- [22] Yu S Y, Ji G, Zhang L. The role of p53 in liver fibrosis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1057829.
- [23] Chen S L, Li R Q, Zhang C Y, et al. Baicalein induces hepatic stellate cell senescence and attenuates liver fibrosis via CEBPZ/p53/HK2-mediated glycolysis inhibition [J]. *Phytomedicine*, 2025, 148: 157222.
- [24] Crouchet E, Dachraoui M, Jühling F, et al. Targeting the liver clock improves fibrosis by restoring TGF- β signaling [J]. *J Hepatol*, 2025, 82(1): 120-133.
- [25] Roehlen N, Crouchet E, Baumert T F. Liver fibrosis: Mechanistic concepts and therapeutic perspectives [J]. *Cells*, 2020, 9(4): 875.
- [26] Dewidar B, Meyer C, Dooley S, et al. TGF- β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis-updated 2019 [J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1419.
- [27] Wang W L, Gao Y L, Chen Y Z, et al. TGF- β inhibitors: The future for prevention and treatment of liver fibrosis? [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1583616.
- [28] He G B, Karin M. NF- κ B and STAT3—key players in liver inflammation and cancer [J]. *Cell Res*, 2010, 21(1): 159-168.
- [29] Fan Y H, Mao R F, Yang J H. NF- κ B and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer [J]. *Protein Cell*, 2013, 4(3): 176-185.
- [30] Wu J, Wang Y, Jiang R T, et al. Ferroptosis in liver disease: New insights into disease mechanisms [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 276.
- [31] Carrà G, Lingua M F, Maffeo B, et al. P53 vs NF- κ B: The role of nuclear factor-kappa B in the regulation of p53 activity and vice versa [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(22): 4449-4458.
- [32] Zhang J, Feng Q S. Pharmacological effects and molecular protective mechanisms of Astragalus polysaccharides on nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 854674.
- [33] Ahmed S, Misra D P, Agarwal V. Interleukin-17 pathways in systemic sclerosis-associated fibrosis [J]. *Rheumatol Int*, 2019, 39(7): 1135-1143.
- [34] Thangavelu L, Altamimi A S A, Ghaboura N, et al. Targeting the p53-p21 axis in liver cancer: Linking cellular senescence to tumor suppression and progression [J]. *Pathol Res Pract*, 2024, 263: 155652.
- [35] Theocharis A D, Manou D, Karamanos N K. The extracellular matrix as a multitasking player in disease [J]. *FEBS J*, 2019, 286(15): 2830-2869.
- [36] Bonadio J D, Bashiri G, Halligan P, et al. Delivery technologies for therapeutic targeting of fibronectin in autoimmunity and fibrosis applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2024, 209: 115303.