

整合网络药理学探讨洋川芎内酯 A 诱导肝星状细胞衰老缓解肝纤维化作用及机制

董明行, 李晓骄阳, 霍子璇, 李佳楠, 王馨, 杨紫涵, 唐恺悦, 曲姣蓉*

北京中医药大学生命科学学院, 北京 100029

摘要: 目的 于体内外水平探讨洋川芎内酯 A (senkyunolide A, SenA) 通过诱导肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 衰老以改善肝纤维化的作用机制。方法 利用 SwissTargetPrediction 数据库和 GeneCards 数据库获得 SenA 靶点及肝纤维化疾病相关靶点, 取二者交集进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。应用 Metascape 分析蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 筛选并确认核心靶点, 针对核心靶点开展功能富集分析, 并将核心靶点与 SenA 进行分子对接。采用胆总管结扎术建立肝纤维化小鼠模型, 分别采用转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 和血小板衍生生长因子-BB (platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB) 诱导建立人源肝星状 LX-2 细胞和大鼠肝星状 HSC-T6 细胞活化模型, 给予 SenA 干预后, 结合衰老相关 β -半乳糖苷酶 (senescence-associated- β -galactosidase, SA- β -Gal) 染色、EdU 染色、qRT-PCR 等表征衰老指标。结果 网络药理学结果显示, SenA 与肝纤维化有 39 个交集靶点, 交集靶点富集于细胞衰老相关通路。进一步基于 PPI 网络获得 19 个基因可能是 SenA 调控肝纤维化进展的核心靶点, 并发现与细胞衰老相关的核心靶点在 HSCs 中高表达。结合分子对接实验, 发现 SenA 与 Aurora 激酶 A (Aurora kinase A, AURKA) 的结合能力最强, 提示 AURKA 可能是 SenA 在 HSCs 发挥作用的关键分子靶点。体内外实验结果显示, SenA 显著诱导 HSCs 的衰老 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 显著下调增殖相关基因细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1, CCND1) 和周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2) 的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 同时上调衰老相关基因 *p21*、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 进而显著抑制 HSCs 活化与胶原沉积 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。结论 SenA 通过诱导 HSCs 衰老以抑制 HSCs 活化, 从而改善肝纤维化。

关键词: 洋川芎内酯 A; 衰老; 肝纤维化; 肝星状细胞; 衰老相关分泌表型

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)18-7124-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.18.005

Effect and mechanism of senkyunolide A against liver fibrosis via inducing hepatic stellate cell senescence using integrated network pharmacology

DONG Minghang, LI Xiaojiayang, HUO Zixuan, LI Jianan, WANG Xin, YANG Zihan, TANG Kaiyue, QU Jiaorong

School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To explore the mechanisms by which senkyunolide A (SenA) ameliorated liver fibrosis via inducing hepatic stellate cells (HSCs) senescence *in vitro* and *in vivo*. **Methods** SenA targets and liver fibrosis related targets were obtained using the SwissTargetPrediction database and GeneCards database. The intersection targets were used for gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Metascape was used to analyze protein-protein interaction (PPI) network, core targets were screened and confirmed, functional enrichment analysis on core targets was performed, and molecular docking with SenA was performed. A mouse model of liver fibrosis was established using common bile duct ligation. Human hepatic stellate LX-2 cells and rat hepatic stellate HSC-T6 cells were induced using transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) and platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB), respectively. After SenA intervention, senescence indicators were characterized by

收稿日期: 2026-06-12

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (82404984); 中央高校基本科研业务费专项资金 (2024-JYB-JBZD-055)

作者简介: 董明行, 硕士研究生, 研究方向为中药及天然产物防治肝纤维化。E-mail: 15870998858@163.com

*通信作者: 曲姣蓉, 副教授, 研究方向为中医药防治肝纤维化。E-mail: 202201012@bucm.edu.cn

senescence-associated- β -galactosidase (SA- β -Gal) staining, EdU staining, qRT-PCR, etc. **Results** The results of network pharmacology revealed that SenA and liver fibrosis shared 39 common targets, the common target genes were enriched in cellular senescence pathways. A total of 19 genes obtained based on PPI network may be the core targets of SenA on regulation of liver fibrosis progression, and it was found that core targets related to cellular aging are highly expressed in HSCs. Combining molecular docking experiments, it was found that SenA had the strongest binding ability to Aurora kinase A (AURKA), suggesting that AURKA may be a key molecular target for SenA in HSCs. The results of *in vivo* and *in vitro* experiments showed that SenA significantly induced HSCs senescence ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), significantly downregulated the expressions of proliferation related genes Cyclin D1 (*CCND1*) and cyclin dependent kinase 2 (*CDK2*) ($P < 0.05, 0.01$), and upregulated the expressions of senescence related genes *p21*, tumor necrosis factor- α (*TNF- α*) and interleukin-6 (*IL-6*) ($P < 0.05, 0.01$), thereby significantly inhibiting HSC activation and collagen deposition ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). **Conclusion** SenA induces HSC senescence to inhibit HSC activation, thereby improving liver fibrosis.

Key words: senkyunolide A; senescence; liver fibrosis; hepatic stellate cells; senescence associated secretory phenotypes

肝纤维化是指机体响应慢性肝损伤而产生的病理反应,在包括胆汁淤积在内的多种致病因素的影响下,肝脏内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度积累^[1]。临床报告显示,晚期肝纤维化患者通常具有较高的肝硬化和肝胆管癌的风险,并伴有不良预后,严重危害健康。肝纤维化的机制解析与治疗靶点开发,一直是肝病领域的研究热点。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的激活是肝纤维化发展的关键步骤,正常情况下, HSCs 处于静止状态^[2]。然而在肝损伤下,静止的 HSCs 转变为活化状态,活化的 HSCs 产生并分泌异常丰富的 ECM 成分,包括 I 型胶原(collagen type I, COL1)和 COL3。ECM 成分的改变增加了 ECM 的堆积,占据了正常肝细胞的空间,影响细胞形态,进一步加剧了肝纤维化^[3]。因此,抑制 HSCs 的活化或将活化的 HSCs 逆转为静止状态被认为是一种潜在的抗肝纤维化治疗策略。然而,现有研究表明,控制 HSCs 增殖和诱导 HSCs 凋亡并不能完全有效地清除活化的 HSCs^[4]。靶向诱导 HSCs 衰老被视为去除活化 HSCs 的另一种极具潜力的新兴策略^[5]。

细胞衰老是一种相对稳定的程序性细胞反应状态,在特定刺激下细胞周期发生不可逆的失调,其增殖能力下降^[6]。细胞周期相关蛋白在衰老细胞中显著变化,如周期蛋白依赖性激酶 2(cyclin dependent kinase 2, CDK2)和细胞周期蛋白 D1(cyclin D1, CCND1)在细胞衰老时显著下调,抑制细胞的增殖和分裂;抑制细胞周期进展的 p53 和 p21 在衰老中显著上调,导致细胞周期停滞^[7]。在细胞衰老过程中会表达和分泌包括白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在内的细胞因子,被称为衰老相关分泌表型(senescence associated secretory

phenotypes, SASPs)。此外,在衰老过程中,细胞的代谢活动和功能会发生变化,其中代表性酶衰老相关 β -半乳糖苷酶(senescence-associated- β -galactosidase, SA- β -Gal)活性升高^[8]。

中医药在治疗肝纤维化中展示出良好的疗效。活血化瘀类中药川芎在临床中多用于治疗肝纤维化。课题组前期研究不仅在动物体内验证了川芎的抗肝纤维化作用,还提取多种组分进行药效研究,发现川芎苯酞类化合物是川芎发挥抗肝纤维化作用的关键有效组分^[9]。洋川芎内酯 A(senkyunolide A, SenA)是川芎苯酞类化合物中代表性成分,提示其可能具有抗肝纤维化疗效。近年来,人们更多地关注 SenA 的抗痉挛和神经保护作用^[10],但其对肝纤维化及 HSCs 的作用从未被报道过,有望成为极具潜力的抗肝纤维化新药。本研究利用网络药理学的方法首先对 SenA 治疗肝纤维化的药效靶点、靶点之间的相互关系以及靶点所富集的通路进行分析,再结合细胞实验对 SenA 对于 HSCs 衰老的作用以及缓解 ECM 沉积的药效进行验证,进一步揭示川芎治疗肝纤维化的物质基础,对于挖掘川芎中活性成分具有重要意义。

1 材料

1.1 动物与细胞

SPF 级 C57BL/6J 小鼠,8 周龄,雌雄各半,体重 22~24 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号 SYXK(京)2025-0051。动物饲养于北京中医药大学实验动物中心,在正常条件下饲养,12 h 光照/12 h 黑暗,提供无限量饲料和水。动物实验经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号 BUCM20251016-003)。

人肝星状 LX-2 细胞和大鼠肝星状 HSC-T6 细胞购自亿奥邦(北京)生物科技研究有限公司。

1.2 药品与试剂

SenA (批号 B21461, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自上海源叶生物科技有限公司; 异丙醇 (批号 20250912)、无水乙醇 (批号 20260511) 购自北京正程生物科技有限公司; SA- β -Gal 染色试剂盒 (批号 20220412) 购自北京索莱宝科技有限公司; EdU 成像试剂盒 (批号 20221122) 购自美国 APEX BIO 公司; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色试剂盒 (批号 2509E045)、Masson 染色试剂盒 (批号 CR2605010) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; p21 抗体 (批号 10355-1-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 抗体 (批号 19245S)、荧光二抗 (批号 8889S) 购自美国 CST 公司; 转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$, 批号 CA59) 购自苏州近岸蛋白质科技股份有限公司; 血小板衍生生长因子-BB (platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB, 批号 HY-P7278) 购自美国 MCE 公司; SYBR qPCR 试剂盒 (批号 Q412-02)、逆转录试剂盒 (批号 P611-01) 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.3 仪器

8000 系列直热式 CO₂ 孵育器 (美国赛默飞世尔科技公司); Centrisart® D-16C 型离心机 (德国赛多利斯公司); C1000 Touch 型 PCR 仪 (美国 BIO-RAD 公司); FV300 型共聚焦显微镜、CKX53 型倒置显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); R500 型麻醉机 (深圳市瑞沃德生命科技有限公司); Nano-800 型微量核酸蛋白测定仪 (上海嘉鹏科技有限公司)。

2 方法

2.1 SenA 靶点基因与肝纤维化的靶点基因获取及可视化

以“senkynolide A”为关键词在 SwissTarget Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行检索, 获得相关靶点。应用 Uniprot 数据库将相关靶点转换为蛋白名。以肝纤维化标准英文名称“liver fibrosis”为检索词在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库中进行检索, 设置筛选条件 Relevance score >8 分, 得到肝纤维化疾病相关靶点。将所获 SenA 与肝纤维化的靶点用 Venny 2.1 在线工具制作韦恩图, 得到 SenA 潜在作用靶点与肝纤维化疾病靶点的交集, 以明确药物和疾病间的关键靶点。

2.2 SenA-肝纤维化交集靶点生信分析

应用 David (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对于 SenA-肝纤维化交集靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。结合微生信 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 对于 GO 功能的 3 个类别 [生物过程 (biological process, BP)、分子组成 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)] 中前 10 条进行可视化作图。用 Metascape 数据库进一步分析 GO BP 以及蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 分析。应用 R 语言对于所获 KEGG 条目中前 20 条通路进行可视化。从蛋白质数据库 (Protein Data Bank, PDB) 以及 ZINC 小分子数据库 (ZINC database, ZINC) 获取蛋白与小分子后, 开展分子对接, 借助 PyMOL 分子可视化软件分析结合位点与结合能。

2.3 动物实验

2.3.1 分组、造模与给药 采用随机分组法将 C57BL/6J 小鼠分为假手术组、模型组和 SenA 低、中、高剂量 (10、20、40 mg/kg^[11]) 组, 每组 6 只。除假手术组外, 其余小鼠采用胆总管结扎术建立肝纤维化模型。小鼠经异氟烷持续吸入麻醉后, 腹部备皮消毒后开腹, 分离胆总管后, 采用手术缝合线进行双重结扎。假手术组仅行腹部切开、组织分离与缝合操作, 不结扎胆总管。于术前 3 d 开始预给药, 术后恢复 2 d 后继续给药 4 d。各给药组 ig 相应药物 (0.009 3、0.018 7、0.037 4 mL/kg), 假手术组和模型组 ig 生理盐水。

2.3.2 肝组织病理变化观察 末次给药后, 取肝组织, 于 4% 多聚甲醛中固定后, 脱水, 石蜡包埋, 切片, 分别进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 和 Masson 染色, 于光学显微镜下观察并拍照。

2.3.3 qRT-PCR 检测肝组织相关基因表达 取肝组织, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析^[12]。引物序列见表 1, 采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算目的基因的相对表达量。

2.3.4 免疫荧光染色检测肝组织 p21 和 α -SMA 表达 肝组织石蜡切片脱蜡后, 加入 1 mmol/L 抗原修复液于 85 °C 处理 40 min; 室温冷却 30 min 后, 加入含 10% 山羊血清、0.2% Triton X 100 的 2.5% 牛血清白蛋白 PBS 封闭液封闭 30 min。滴加一抗, 4 °C 孵育过夜, 再加入对应二抗于室温孵育, DAPI 进行

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	种属	引物序列 (5'-3')
<i>Hprt1</i>	人	F: TATGGCGACCCGAGCCCT R: CATCTCGAGCAAGACGTTTCAG
<i>Hprt1</i>	小鼠	F: CCGAGGATTTGGAAAAAGTGTT R: CATCTCCTTCATGACATCTCGA
<i>AURKA</i>	大鼠	F: ACATCACGGAGTTGGCGAAT R: CAGCAGGTTCTCTGGCTTGA
<i>AURKA</i>	小鼠	F: CTGTTCCCTTCGGTCCGAAA R: GCTTCTGACCTGCTCCAAGT
<i>CCND1</i>	大鼠	F: GAGGCGGATGAGAACAAGCAGATC R: GGAGGGTGGGTTGGAAATGAACTTC
<i>CCND1</i>	人	F: GTCCTACTTCAAATGTGTGCAG R: GGGATGGTCTCCTTCATCTTAG
<i>CDK2</i>	大鼠	F: GCCCTATTCCCTGGAGACTCTGAG R: ATCCTGCCGAGCCCACTTGG
<i>CDK2</i>	人	F: CCTGGGCTGCAAAATATTATTC R: TGGCTTGTAATCAGGCATAGAA
<i>TNF-α</i>	大鼠	F: ATGGGCTCCCTCTCATCAGTTCC R: CCTCCGCTTGGTGGTTTGCTAC
<i>TNF-α</i>	人	F: CGAGTCTGGGCAGGTCTAC R: GGGAGGCGTTTGGAAGG
<i>p21</i>	大鼠	F: TCCTGGTGATGTCCGACCTGTTC R: GGCTCAACTGCTCACTGTCCAC
<i>p21</i>	人	F: GATGGAACCTCGACTTTGTAC R: GTCCACATGGTCTTCCTCTG
<i>Colla</i>	大鼠	F: ATCCTGCCGATGTCGCTATCC R: TTCTTGAGGTTGCCAGTCTGTTG
<i>Colla</i>	人	F: CCTGGTGATGCTGGTGCTAA R: ACATTACCAATGGGGCCAGG
<i>IL-6</i>	大鼠	F: ACTTCCAGCCAGTTGCCCTTCTTG R: TGGTCTGTTGTGGGTGGTATCCTC
<i>Fn</i>	大鼠	F: AGGCACAAGGTCCGAGAAGAG R: TGAGTCATCCGTAGGCTGGTTC
<i>Fn</i>	人	F: AATAGATGCAACGATCAGGACA R: GCAGGTTTCCTCGATTATCCTT

Hprt1-次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶 1; *AURKA*-Aurora 激酶 A; *Fn*-纤连蛋白。

Hprt1-hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1; *AURKA*-Aurora kinase A; *Fn*-fibronectin。

细胞核染色, 采用共聚焦显微镜观察并拍照。

2.4 细胞实验

2.4.1 细胞培养及给药处理

(1) LX-2 细胞: 用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养。设置对照组、模型组和 SenA 低、中、高剂量 (12.5、25.0、50.0 μmol/L) 组, 加入 5 ng/mL TGF-β1 处理使 LX-2 细胞活化^[13], 1 h 后各给药组给予相应药物干预 24 h。

(2) HSC-T6 细胞: 用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基, 于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养。设置

对照组、模型组和 SenA 低、中、高剂量 (12.5、25.0、50.0 μmol/L) 组, 加入 10 ng/mL PDGF-BB 处理使 HSC-T6 细胞活化^[14], 1 h 后各给药组给予相应药物干预 24 h。

2.4.2 qRT-PCR 检测相关基因表达 按“2.4.1”项下方法进行分组和给药, 收集细胞, 按“2.3.3”项下方法检测相关基因的表达。

2.4.3 SA-β-Gal 染色 按“2.4.1”项下方法进行分组和给药, 按照 SA-β-Gal 染色试剂盒说明书操作, 用 PBS 洗涤细胞 1 次, 加入 β-Gal 固定液在室温下固定 15 min, 再用 PBS 洗涤 2 次, 加入染色液, 37 ℃孵育 48 h, 于显微镜下观察并拍照, 细胞中 SA-β-Gal 被染为蓝色。

2.4.4 EdU 增殖实验 按“2.4.1”项下方法进行分组和给药, 加入 EdU 孵育 30 min。PBS 洗涤后, 用多聚甲醛固定细胞 1 h, 加入 0.3% Triton X-100 渗透液孵育 15 min。按照试剂盒说明配制 EdU 点击反应液, 室温下避光孵育 30 min。最后用 DAPI 染细胞核, 于共聚焦显微镜下观察并拍照。

2.5 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 绘制柱状图, 组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。

3 结果

3.1 SenA 抗肝纤维化的体内药效作用

HE 染色可清晰展示肝小叶结构并评估炎症浸润。如图 1 所示, 对照组肝组织细胞排列规则, 细胞核形态良好, 未见明显炎症细胞浸润。与对照组相比, 模型组小鼠肝汇管区结构明显破坏, 伴大量炎性细胞浸润与肝组织细胞排列紊乱。与模型组比较, 不同剂量 SenA 干预后均能减轻肝组织细胞紊乱和炎性细胞浸润。

Masson 染色可以检测胶原纤维沉积并评估肝纤维化程度。如图 1 所示, 模型组汇管区有大量的胶原沉积, 而不同剂量 SenA 干预后均不同程度减少了胶原沉积范围与密度。

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝脏指数和脾脏指数显著升高 ($P < 0.01$), 符合肝纤维化模型肝脾肿大的典型病理特征; 与模型组比较, SenA 中、高剂量组肝脏指数显著降低 ($P < 0.05$), SenA 各给药组脾脏指数显著降低 ($P < 0.01$ 、0.001), 且呈剂量相关性, 表明 SenA 可有效缓解肝纤维化小鼠肝脾肿大。

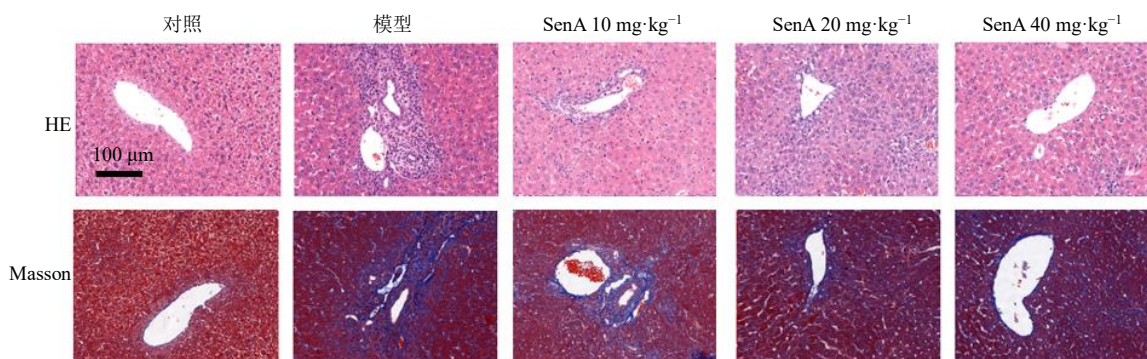
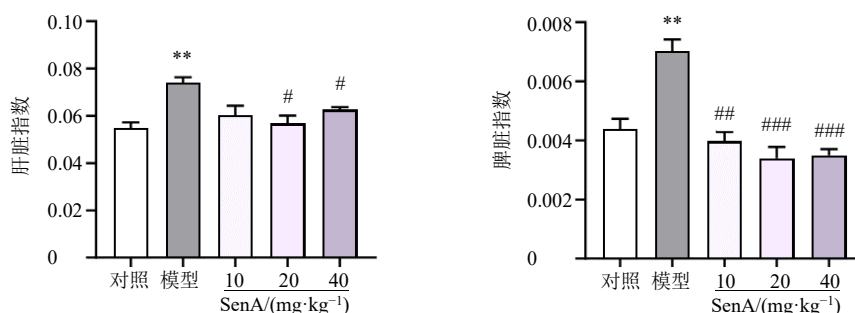


图 1 各组小鼠肝组织 HE 和 Masson 染色 (×20)

Fig. 1 HE and Masson staining of liver tissues of mice in each group (×20)



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$, 下图同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 2 各组小鼠肝脏、脾脏指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 2 Liver and spleen indexes of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.2 SenA 与肝纤维化交集靶点的获取

以“senkyunolide A”为关键词在 SwissTarget Prediction 数据库检索获得 100 个药物靶点。以肝纤维化的标准英文“liver fibrosis”为检索词在 GeneCards 数据库检索, 设置筛选条件 Relevance score > 8 分, 得到 1 280 个与肝纤维化疾病相关靶点。将 SenA 与肝纤维化靶点取交集, 获得 39 个交集靶点 (图 3), 占检索所得的 SenA 靶点的 39%, 提示 SenA 具有干预肝纤维化的潜力。

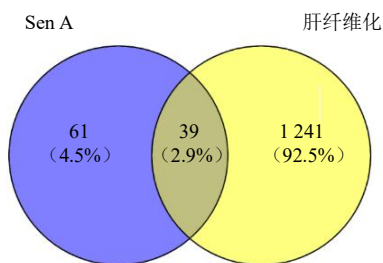


图 3 SenA 与肝纤维化交集靶点 Venn 图

Fig. 3 Venn diagram of intersection target between SenA and liver fibrosis

3.3 SenA 与肝纤维化交集靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

为进一步探讨 SenA 抗肝纤维化的可能作用机制, 对 39 个交集基因进行 GO 分析, 选取 3 个类别 (BP、CC、MF) 中排名前 10 的条目。如图 4-A 所示, BP 富集于衰老、细胞增殖调控、细胞衰老等衰老密切相关过程, CC 富集于细胞外分泌体、质膜的组成部分等过程, MF 富集于 MAP 激酶活性、生长因子结合等与细胞增殖密切相关过程。KEGG 结果 (图 4-B) 显示, 富集于 Ras 信号通路、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路等增殖相关通路, 并且关注到交集基因显著富集于细胞衰老通路, 提示 SenA 可能通过干预衰老过程以影响肝纤维化。

3.4 SenA 治疗肝纤维化作用靶点 PPI 分析

为进一步解析 39 个交集靶点的作用模式, 应用 Metascape 软件对 39 个基因进行 PPI 网络与成分分析以描述靶点之间的相互作用关系, 设置最小互作大小为 3, 结果显示, 蛋白与蛋白间形成 4 个主

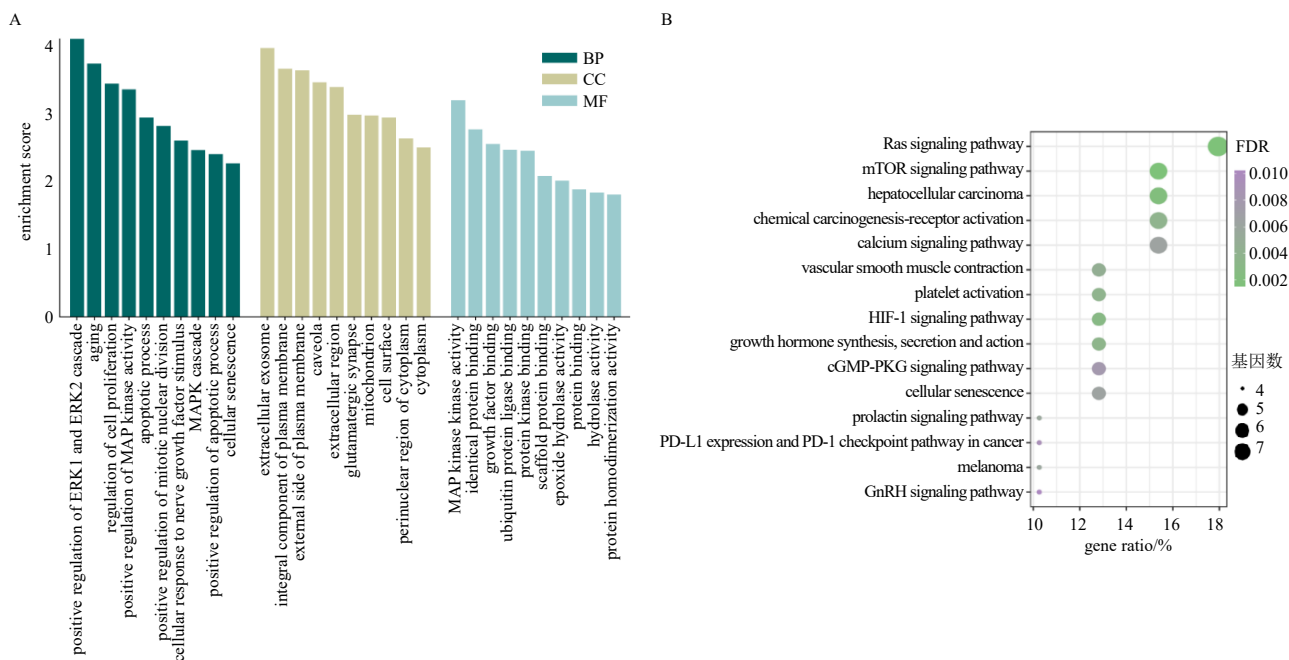


图 4 SenA 与肝硬化交集靶点的 GO (A) 和 KEGG (B) 富集分析

Fig. 4 GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis of intersection target between SenA and liver fibrosis

要互作模式，其相互作用网络见图 5-A，4 个主要模式中相互作用的蛋白见图 5-B。推测 4 个互作模式中的 19 个基因可能是 SenA 调控肝硬化进展的核心靶点。

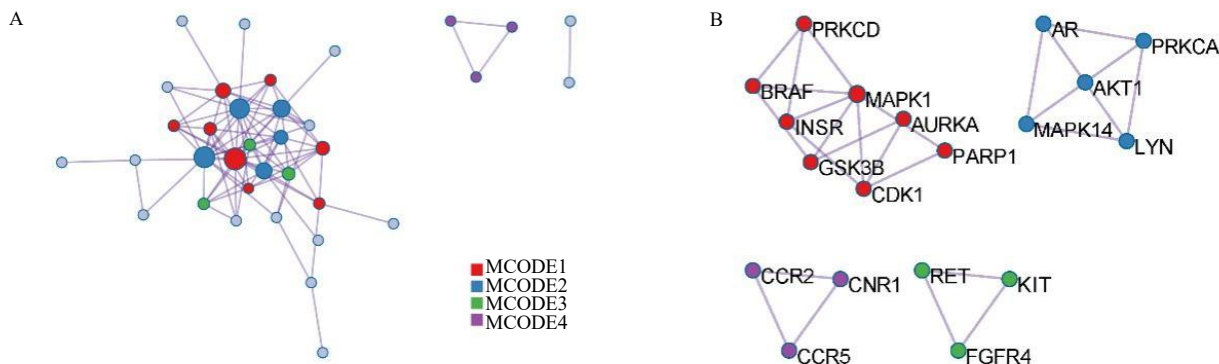
3.5 SenA 治疗肝硬化核心靶点的 GO 分析及网络视图可视化

应用 Metascape 软件进一步对 19 个核心靶点进行 GO 分析，在排名前 20 的通路中关注到细胞发育的正向调控及有丝分裂细胞周期的正向调控 2 个过程（图 6-A）。细胞衰老过程中伴随着细胞周期

的阻滞，进一步提示了 SenA 与衰老的密切联系。将 GO 条目可视化为网络图，其中相似度 >0.3 的条目通过线条连接，使富集的途径以网络方式表现，以理解通路或生物过程之间的关系及 P 值，见图 6-B、C。

3.6 SenA 治疗肝硬化核心靶点在 HSCs 中的表达分析

HSCs 活化水平是调控肝硬化进展的核心关键。应用 Human Protein Atlas 数据库分析 19 个核心靶基因在 HSCs 中的表达，结果如图 7 所示，与衰

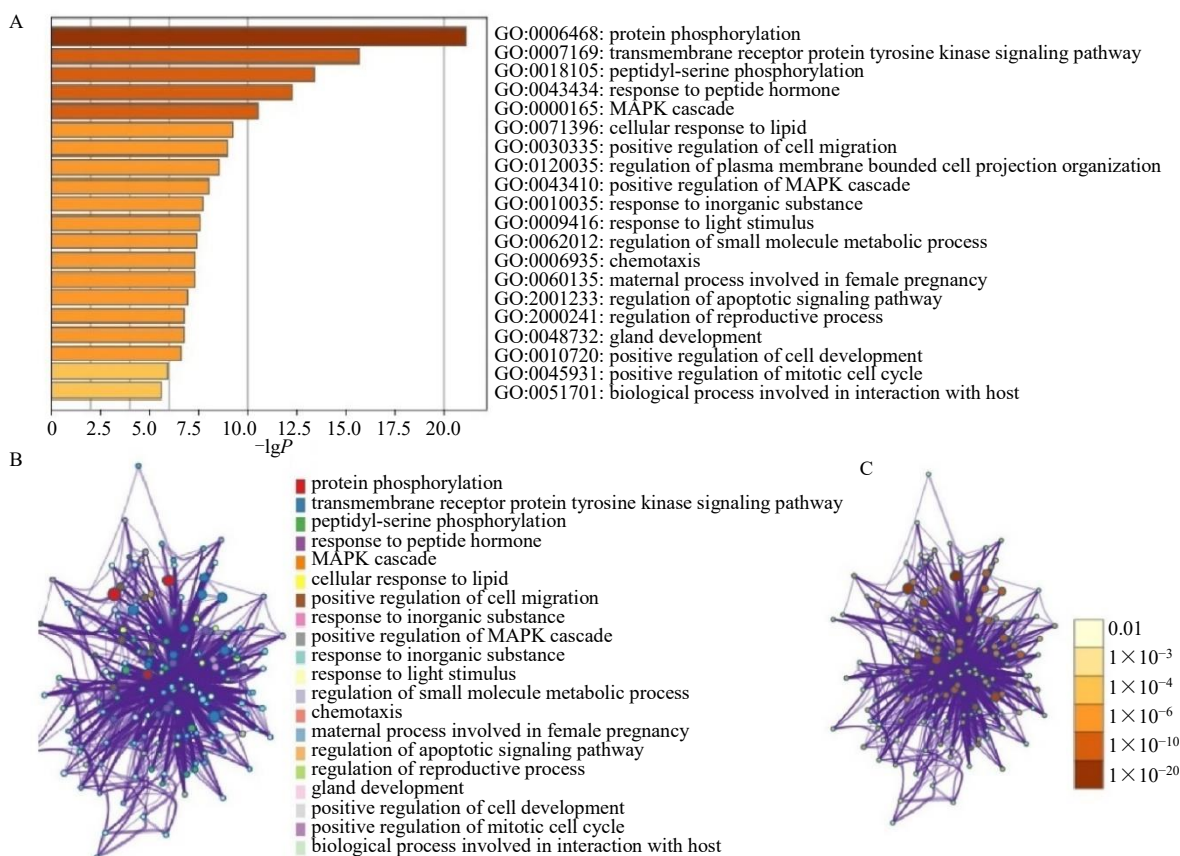


A-39 个靶点的互作模式；B-19 个核心靶点的互作模式。

A-interaction network of 39 targets; B-interaction network of 19 core targets.

图 5 SenA 与肝硬化交集靶点的 PPI 分析

Fig. 5 PPI analysis of intersection target between SenA and liver fibrosis



A-GO 富集分析; B-分群显示的 GO 条目网络; C-P 值显示的 GO 条目网络。
A-GO enriched terms; B-GO network colored by cluster ID; C-GO network colored by P value.

图 6 核心基因的 GO 分析及 GO 条目网络

Fig. 6 GO analysis of core genes and network of enriched GO terms

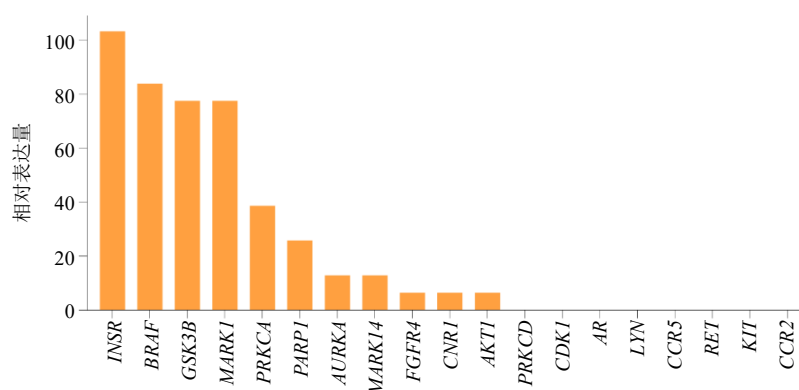


图 7 核心基因在 HSCs 中的表达水平

Fig. 7 Expressions of target genes in HSCs

老相关的 AURKA、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3B)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (serine/threonine kinase 1, AKT1)、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 [Poly (ADP-ribose) polymerase 1, PARP1]、丝裂原活化蛋白激酶 14 (mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14) 和 MAPK1 均在 HSCs

中表达, 提示 SenA 可调控 HSCs 衰老, 进而发挥抗肝纤维化作用。

3.7 分子对接检测 SenA 与衰老靶基因的互作

为验证 SenA 与上述核心靶点的直接结合能力, 对 6 个与衰老相关的核心靶点进行分子对接实验。分子对接结果 (图 8) 显示, SenA 能够与 AURKA、

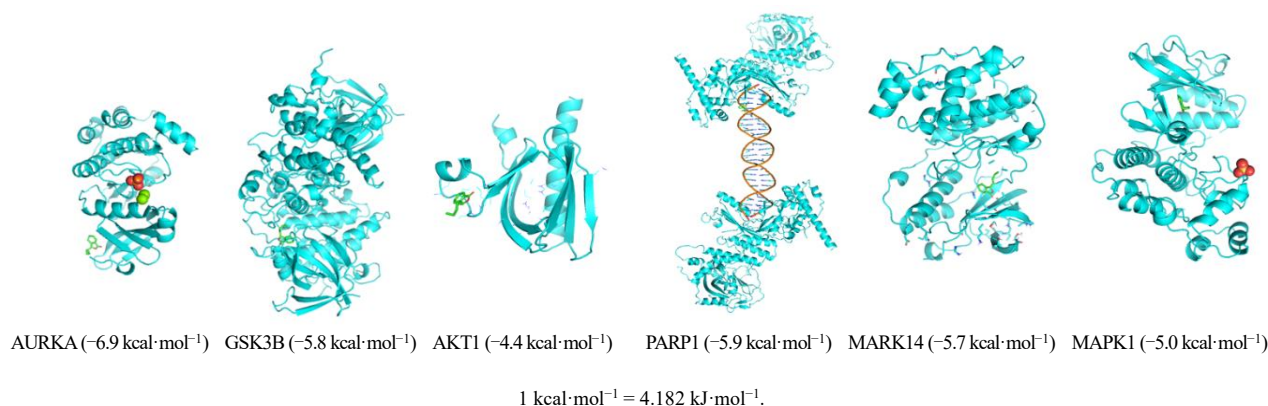


图 8 SenA 与核心靶点的分子对接分析

Fig. 8 Molecular docking of SenA with core targets

GSK3B、AKT1、PARP1、MARK14 和 MAPK1 结合，其中与 AURKA 的结合能力最强，二者结合能为 -6.9 kcal/mol (1 kcal/mol = 4.182 kJ/mol)。

分子对接实验预测 AURKA 是 SenA 调控 HSCs 衰老的潜在靶点，因此采用 qRT-PCR 进一步验证肝纤维化小鼠肝组织和活化 HSC-T6 细胞中 AURKA 的表达，结果见图 9。体内实验中，与对照组比较，

模型组小鼠肝组织 AURKA 的表达水平显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，SenA 高剂量组小鼠肝组织 AURKA 的表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。体外实验中，与对照组比较，模型组 HSC-T6 细胞 AURKA 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，SenA 低、高剂量组 HSC-T6 细胞 AURKA 的表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

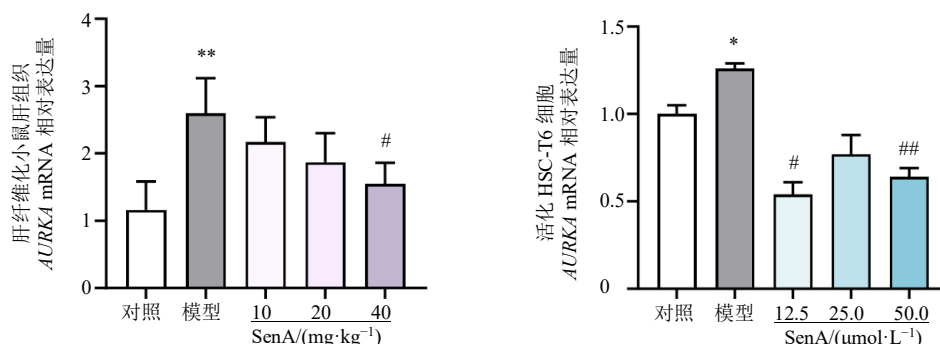


图 9 肝纤维化小鼠肝组织 ($n=6$) 和活化 HSC-T6 细胞 ($n=3$) 中 AURKA 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 9 Expressions of AURKA in liver tissue of mice with liver fibrosis ($n=6$) and activated HSC-T6 cells ($n=3$) ($\bar{x} \pm s$)

3.8 体内 SenA 诱导 HSCs 衰老改善肝纤维化

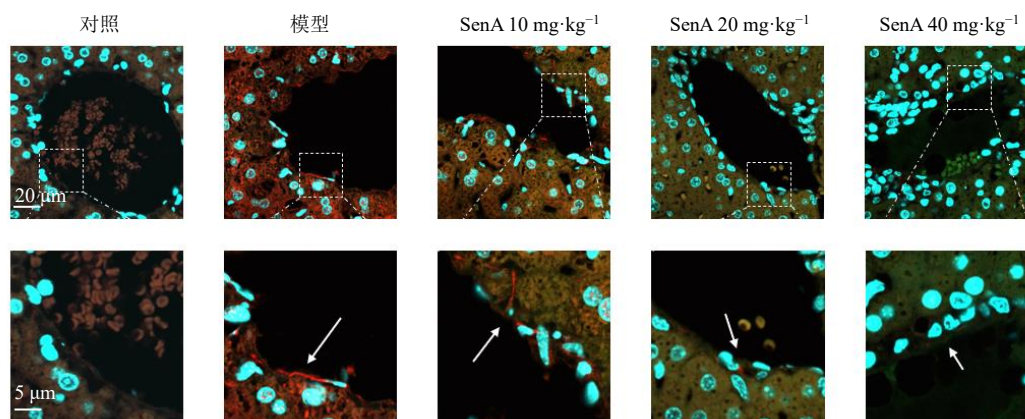
通过肝纤维化小鼠肝组织 p21/ α -SMA 免疫共染，进一步验证 SenA 对活化 HSCs 衰老的调控作用。免疫荧光染色结果 (图 10) 显示，与对照组比较，模型组小鼠肝组织 α -SMA 阳性信号显著增强，而 p21 表达降低；与模型组比较，SenA 干预后小鼠肝组织 α -SMA 阳性信号呈剂量相关性减弱，同时 p21 信号逐渐加强，且 p21 与 α -SMA 存在明显的共定位。

3.9 体外 SenA 诱导 HSCs 衰老改善肝纤维化

SA- β -Gal 为细胞衰老的经典标志物，体外激活 HSC-T6 细胞并给予 SenA 干预，通过 SA- β -Gal 染色评估细胞衰老情况，仅衰老细胞可呈现特征性蓝

色阳性染色。如图 11 所示，与对照组比较，模型组 SA- β -Gal 阳性染色显著减少 ($P < 0.01$)；与模型组比较，SenA 各剂量组 SA- β -Gal 阳性染色显著增加 ($P < 0.01$ 、0.001)，且呈剂量相关性，表明 SenA 能促进 HSCs 衰老进程。

EdU 阳性标记代表 S 期增殖细胞，衰老细胞增殖减缓可反映细胞衰老水平。通过 EdU 检测 HSC-T6 细胞和 LX-2 细胞的增殖情况，如图 12、13 所示，与对照组比较，模型组 HSC-T6 细胞和 LX-2 细胞中 EdU 阳性细胞比例显著升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，SenA 各剂量组 HSC-T6 细胞和 LX-2 细胞中 EdU 阳性细胞比例显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)，表明 SenA 能够抑制 HSCs 增殖。



p21 为绿色荧光, α -SMA 为红色荧光, 箭头表示 α -SMA 阳性染色区域。

p21 is green fluorescence, α -SMA is red fluorescence, arrow represents positive staining area of α -SMA.

图 10 肝纤维化小鼠肝组织 α -SMA 与 p21 共染色的代表性图像 (免疫荧光染色, $\times 100$)

Fig. 10 Representative images of co-staining of α -SMA and p21 in liver tissue of mice with liver fibrosis (immunofluorescence staining, $\times 100$)

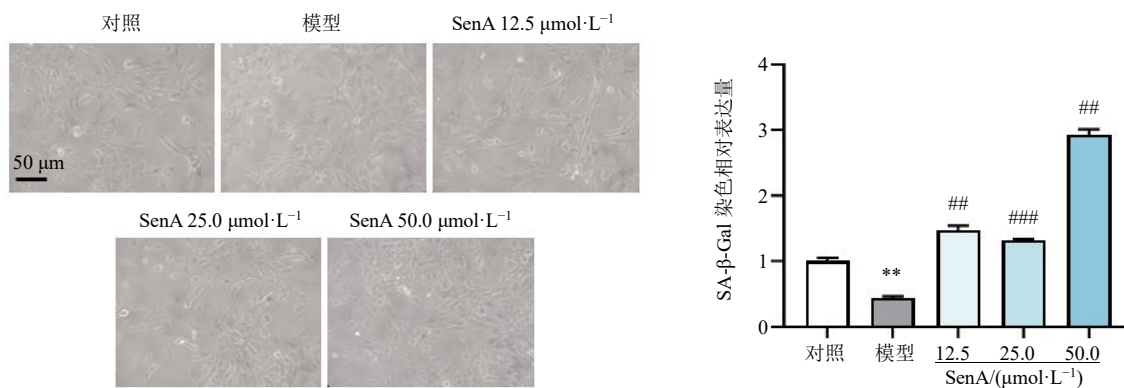


图 11 活化 HSC-T6 细胞中 SA-β-Gal 染色 ($\times 40$)

Fig. 11 SA-β-Gal staining of activated HSC-T6 cells ($\times 40$)

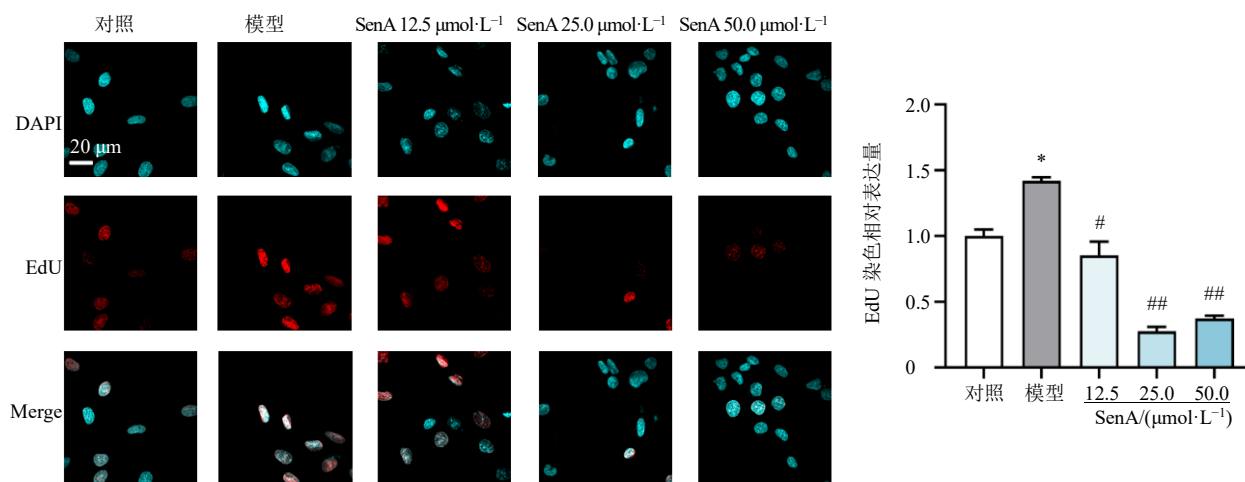


图 12 活化 HSC-T6 细胞中 EdU 染色 (免疫荧光染色, $\times 100$)

Fig. 12 Staining of EdU in activated HSC-T6 cells (immunofluorescence staining, $\times 100$)

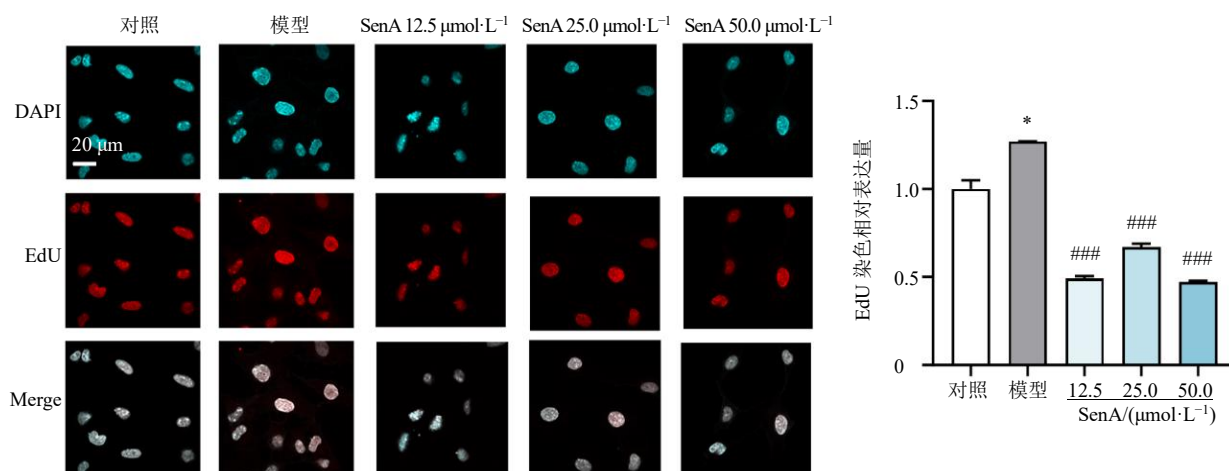


图 13 活化 LX-2 细胞中 EdU 染色 (免疫荧光染色, $\times 100$)

Fig. 13 Staining of EdU in activated LX-2 cells (immunofluorescence staining, $\times 100$)

通过 qRT-PCR 检测 HSC-T6 细胞和 LX-2 细胞中衰老相关标志基因的表达水平, 如图 14 所示, 在 HSC-T6 细胞中, 与对照组比较, 模型组促增殖因子 *CCND1* 和 *CDK2* 的表达显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.001), *p21* 表达显著下调 ($P < 0.01$); 与模型组比较, SenA 各剂量组 *CCND1* 的表达显著下调 ($P < 0.01$), SenA 低、中剂量组 *CDK2* 的表达显著下调 ($P < 0.05$ 、 0.01), SenA 低、中剂量组 *TNF- α* 的表达显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.01), SenA 中剂量组 *p21* 和 *IL-6* 表达显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

如图 15 所示, 在 LX-2 细胞中, 与对照组比较, 模型组促增殖因子 *CCND1* 和 *CDK2* 的表达显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.001); 与模型组比较, SenA 低、高剂量组 *CCND1* 的表达显著下调 ($P < 0.05$ 、 0.01), SenA 中、高剂量组 *CDK2* 的表达显著下调 ($P < 0.05$ 、 0.001), SenA 中剂量组 *TNF- α* 的表达显著上调 ($P < 0.05$), SenA 各剂量组 *p21* 表达显著上调 ($P < 0.05$)。以上结果提示, SenA 在 2 种活化的 HSCs 中均呈现出抑制细胞增殖、诱导衰老相关类型的效应。

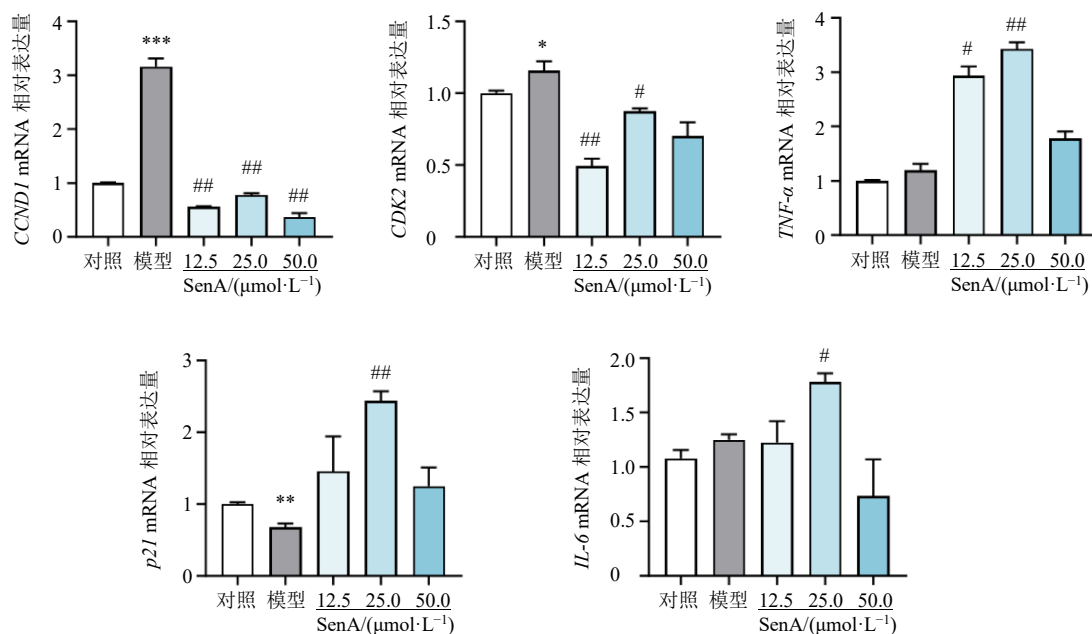
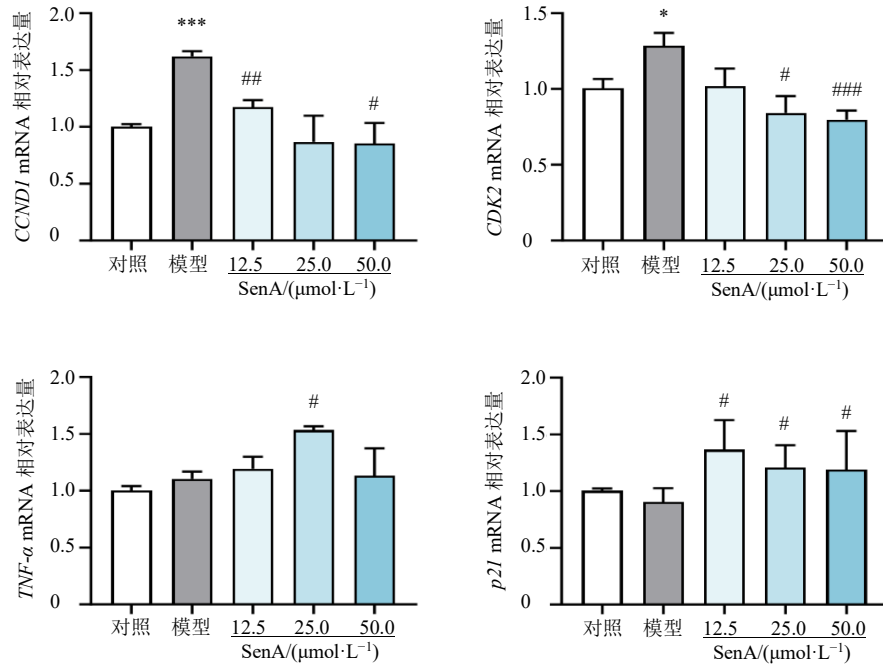


图 14 活化 HSC-T6 细胞中衰老相关基因的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

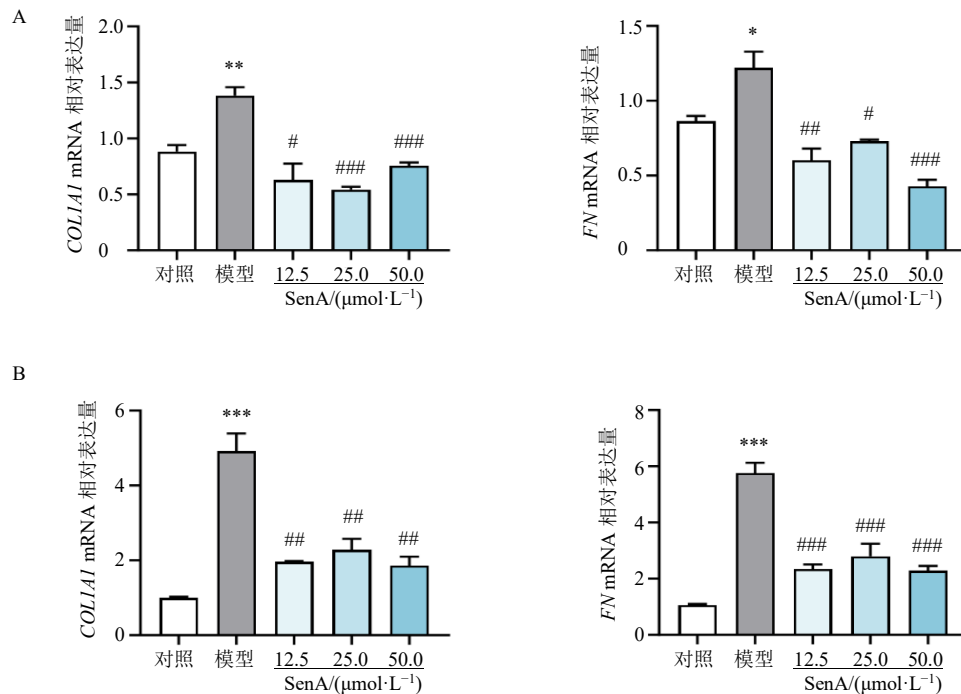
Fig. 14 Expression levels of senescence-associated genes in activated HSC-T6 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

图 15 活化 LX-2 细胞中衰老相关基因的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Fig. 15 Expression levels of senescence-associated genes in activated LX-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.10 SenA 抑制 HSCs 活化

通过 qRT-PCR 检测 HSC-T6 细胞和 LX-2 细胞中 HSCs 活化的标志物 COL1A1 和 FN 的表达水平, 如图 16 所示, 与对照组比较, 模型组 HSC-T6

细胞和 LX-2 细胞中 COL1A1 和 FN 表达均显著上调 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 与模型组比较, SenA 各剂量组 HSC-T6 细胞和 LX-2 细胞中 COL1A1 和 FN 表达均显著下调 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。

图 16 活化 HSC-T6 细胞 (A) 和 LX-2 细胞 (B) 中 COL1A1 和 FN 的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Fig. 16 COL1A1 and FN expression levels in activated HSC-T6 cells (A) and LX-2 cells (B) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

肝纤维化是多种慢性肝脏疾病进展过程中共有的病理过程,一旦发展到肝硬化阶段,肝移植是唯一有效的治疗方法^[15]。目前肝纤维化核心机制为受损肝实质细胞释放的损伤相关分子模式及炎症介质,激活免疫细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 、PDGF-BB、TGF- β 等细胞因子,驱动 HSCs 异常活化,而活化的 HSCs 将导致 ECM 胶原沉积^[16]。近年来研究发现诱导 HSCs 衰老是缓解肝纤维化另一种极具前景的新兴策略^[17]。已有多项研究报道 SenA 在肝胆疾病治疗中具有潜在临床应用价值。本研究通过网络药理学方法结合 HSCs 细胞株进行验证,证实 SenA 能诱导 HSCs 衰老,从而发挥抗肝纤维化的作用。

在肝纤维化患者中,诱导 HSCs 凋亡或死亡等策略,因缺乏细胞特异性极易诱发严重的肝细胞损伤甚至是肝衰竭^[18]。抑制 HSCs 活化是另一类治疗策略,但该方法难以彻底清除静息态 HSCs,使得静息态 HSCs 在肝损伤微环境的刺激下可迅速重新活化,影响治疗效果^[19]。细胞衰老是一种相对稳定的程序性细胞应答反应,已有研究证实,诱导 HSCs 衰老可通过阻止其增殖、减少胶原产生,从而发挥抗肝纤维化作用^[20]。中药天然产物可通过诱导 HSCs 衰老改善肝纤维化进程。白术内酯 III 可呈剂量相关性诱导人源 HSCs 衰老,进而改善肝纤维化^[21-22]。姜黄素可通过抑制 HSCs 增殖并诱导活化的 HSCs 衰老实现抗纤维化效应^[23]。此外,本课题组前期研究发现,藁本内酯可通过破坏微丝骨架动态平衡,激活环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)/干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)通路,最终促进活化 HSCs 衰老,从而抑制肝纤维化进展^[24]。在功能上,SenA 与已报道的藁本内酯、白术内酯 III 等抗肝纤维化单体相似,通过诱导活化 HSCs 衰老从而逆转肝纤维化。于机制水平,3 种小分子化合物实现上述作用的路径不同。藁本内酯与白术内酯 III 通过激活 HSCs 中 cGAS-STING 通路实现促进 HSC 衰老的功能;本研究推测 SenA 可能直接靶向 AURKA,抑制其激酶活性,阻滞 HSCs 于 G₀/G₁ 期并启动衰老程序。基于上述研究,诱导 HSCs 衰老作为治疗肝纤维化的一种具有前景的策略,大量天然产物在该领域具有潜在的靶向治疗价值。

肝纤维化在中医理论中常被归纳为“胁痛、积聚”的范畴。肝主疏泄,在情志不畅、饮食不节以

及其他外在因素的影响下,肝气易郁结不畅,导致气滞血瘀,这是肝纤维化最常见的中医病因病机。传统中药川芎归肝、胆经,具有活血行气、祛风止痛的功效。一方面,川芎活血行气之功,能够活血化瘀,对症气滞血瘀型肝纤维化;另一方面,肝为风脏,肝风内动而致胁痛,常见的活血药如三七、红花则难以对症治疗,而川芎兼具祛风止痛之效,能够缓解胁痛。故川芎治疗肝纤维化具有独特的优势。课题组前期研究发现川芎中苯酞类组分是抗肝纤维化的优势组分,SenA 作为苯酞类的代表性组分,已有大量研究报道了其治疗肝脏疾病的应用价值。SenA 能够显著抑制胆管细胞增殖以抑制肝纤维化进程。SenA 阻断肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)与组蛋白去乙酰化酶 3(histone deacetylase 3, HDAC3)的相互作用,从而增强 MYC 启动子组蛋白去乙酰化作用实现对胆管细胞增殖的抑制^[11]。另一项研究指出,SenA 能够稳定胆管细胞内质网 Ca²⁺平衡,从而缓解了胆汁淤积引起的肝纤维化^[25]。此外,SenA 在衰老相关疾病中也展现出干预潜力,在软骨细胞等正常组织细胞中,SenA 通过抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)炎症信号通路,延缓骨关节炎等典型衰老相关疾病的进展^[26]。尽管 SenA 抗肝纤维化效果明确,且其展现出抑制细胞增殖的能力,但是目前尚无研究报道 SenA 对 HSCs 衰老的影响。

为探讨 SenA 抗肝纤维化的机制,本研究将 SenA 作用靶点与肝纤维化靶点的 39 个交集靶点进行 GO 功能富集分析,发现交集靶点主要富集于衰老、细胞增殖、MAPK/ERK 级联反应等生物过程,而这些生物过程与肝纤维化密切相关^[27]。同时 KEGG 分析显示交集靶点富集于 Ras、mTOR 等增殖相关通路,考虑到增殖通路与衰老的关系^[28],这可能与 SenA 治疗肝纤维化有关。进一步评估了 SenA 调控肝纤维化进展的 4 个互作模式中的 19 个核心靶点基因,其中 11 个核心靶点基因在 HSCs 中表达。对 11 个基因中与衰老相关的 6 个核心基因 AURKA、PARP1、MAPK1、GSK3B、AKT1、MAPK14 与 SenA 进行分子对接。其中 SenA 与 AURKA 的结合能力最强。AURKA 是调控细胞增殖的关键激酶^[29],其在活化的 HSCs 中表达显著上调,且可通过抑制 p53/p21 通路防止细胞衰老^[30-31]。

因此,通过 qRT-PCR 检测肝纤维化小鼠肝组织和活化 HSC-T6 细胞中 *AURKA*、*p21* 以及 SASPs 相关基因的表达,发现 SenA 能够显著下调细胞增殖相关基因表达,并上调 *p21* 以及 SASPs 相关基因表达,推测 SenA 可能通过靶向抑制 *AURKA* 活性,进一步激活 *p21*,诱导活化 HSCs 发生衰老,发挥抗肝纤维化作用。这一研究揭示了 SenA 发挥抗纤维化作用的全新机制,为肝纤维化的治疗提供了新的潜在策略。本研究发现 SenA 诱导 HSCs 衰老进一步导致 HSCs 细胞周期阻滞,实现抗肝纤维化疗效^[32]。此外,SASPs 是细胞衰老过程中的另外一个典型特征。本研究发现 SenA 可以显著诱导 HSCs 中 *TNF- α* 、*IL-6* 的表达上调。有研究报道 *TNF- α* 作为 SASPs 的关键上游调控因子,可驱动下游 *IL-6* 的转录合成^[33]。*IL-6* 作为经典 SASPs 效应因子,可以联合 C-C 基序趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, *CCL2*) 等趋化因子招募巨噬细胞,并诱导基质金属蛋白酶-3 (matrix metalloproteinase-3, *MMP-3*)、*MMP-9* 高表达以降解 ECM^[34-35],这也可能是 SenA 诱导 HSC 衰老实现抗肝纤维化作用的另一实现路径,亟待进一步研究证实。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Breitkopf-Heinlein K, Syn W K. Harnessing liver progenitors in the treatment of liver fibrosis: A step in the right direction? [J]. *Gut*, 2020, 69(6): 975-976.
- [2] Zhong F J, Li Y M, Xu C, et al. EB2 promotes hepatocellular carcinoma proliferation and metastasis via MAPK/ERK pathway by modulating microtubule dynamics [J]. *Clin Sci*, 2021, 135(7): 847-864.
- [3] Rho H, Terry A R, Chronis C, et al. Hexokinase 2-mediated gene expression via histone lactylation is required for hepatic stellate cell activation and liver fibrosis [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(8): 1406-1423.
- [4] Qiao H W, Zhou Y, Qin X P, et al. NADPH oxidase signaling pathway mediates mesenchymal stem cell-induced inhibition of hepatic stellate cell activation [J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 1239143.
- [5] 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.
- [6] Fitsiou E, Soto-Gamez A, Demaria M. Biological functions of therapy-induced senescence in cancer [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 81: 5-13.
- [7] Jia K X, Zhang Y H, Luo R Y, et al. Acteoside ameliorates hepatic ischemia-reperfusion injury via reversing the senescent fate of liver sinusoidal endothelial cells and restoring compromised sinusoidal networks [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(15): 4967-4988.
- [8] Takasugi M, Yoshida Y, Ohtani N. Cellular senescence and the tumour microenvironment [J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(18): 3333-3351.
- [9] Li Y J, Li F H, Ding M N, et al. Chuanxiong Rhizoma extracts prevent liver fibrosis via targeting CTCF-c-MYC-H19 pathway [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(1): 82-93.
- [10] Li Y J, Ma Z, Ding M N, et al. Chuanxiong Rhizoma extracts prevent cholestatic liver injury by targeting H3K9ac-mediated and cholangiocyte-derived secretory protein PAI-1 and FN [J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(9): 694-709.
- [11] Li Y J, Liu R P, Li J N, et al. Senkyunolide A interrupts TRAF6-HDAC3 interaction to epigenetically suppress c-MYC and attenuate cholestatic liver injury [J]. *J Adv Res*, 2026, 79: 935-951.
- [12] 汪乐, 李佳楠, 杨洋, 等. 基于网络药理学整合体内实验探究四物汤单味药组分治疗胆汁淤积性肝损伤的作用与机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(5): 1553-1566.
- [13] Carson J P, Robinson M W, Ramm G A, et al. RNA sequencing of LX-2 cells treated with TGF- β 1 identifies genes associated with hepatic stellate cell activation [J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(12): 7677-7688.
- [14] Wu X J, Zhi F C, Lun W J, et al. Baicalin inhibits PDGF-BB-induced hepatic stellate cell proliferation, apoptosis, invasion, migration and activation via the miR-3595/ACSL4 axis [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 1992-2002.
- [15] Kawakatsu-Hatada Y, Murata S, Mori A, et al. Serous membrane detachment with ultrasonic homogenizer improves engraftment of fetal liver to liver surface in a rat model of cirrhosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11589.
- [16] Lee S H, Do S I, Kim H S. Hyperoxia accelerates progression of hepatic fibrosis by up-regulation of transforming growth factor- β expression [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(11): 3011-3017.
- [17] Yang Y, Zhang Y W, Wang L, et al. Targeting p97/valosin-containing protein promotes hepatic stellate cell senescence and mitigates liver fibrosis [J]. *DNA Cell Biol*, 2025, 44(3): 132-143.
- [18] Lu J L, Yu C X, Song L J. Programmed cell death in hepatic fibrosis: Current and perspectives [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 449.
- [19] Yuan S Y, Wei C, Liu G F, et al. Sorafenib attenuates liver

- fibrosis by triggering hepatic stellate cell ferroptosis via HIF-1 α /SLC7A11 pathway [J]. *Cell Prolif*, 2022, 55(1): e13158.
- [20] Yang J F, Lu Y C, Yang P P, *et al.* microRNA-145 induces the senescence of activated hepatic stellate cells through the activation of p53 pathway by ZEB2 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7587-7599.
- [21] Udomsinprasert W, Sobhonslidsuk A, Jittikoon J, *et al.* Cellular senescence in liver fibrosis: Implications for age-related chronic liver diseases [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2021, 25(9): 799-813.
- [22] Wu H Y, Wu L X, Xiao L X, *et al.* Atractylenolide III suppresses senescence-associated secretome via inhibiting cGAS/NF- κ B pathway in hepatic stellate cells [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2023, 50(4): 316-324.
- [23] Jin H, Lian N, Zhang F, *et al.* Activation of PPAR γ /p53 signaling is required for curcumin to induce hepatic stellate cell senescence [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(4): e2189.
- [24] Qu J R, Li J N, Wang L, *et al.* Disturbance of cytoskeleton induced by ligustilide promotes hepatic stellate cell senescence and ameliorates liver fibrosis [J]. *Theranostics*, 2025, 15(16): 8049-8067.
- [25] Li Y J, Guo M Y, Qin W Q, *et al.* Senkyunolide A ameliorates cholestatic liver fibrosis by controlling CLCC1-mediated endoplasmic reticulum Ca²⁺ release [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2025, 46(12): 3257-3272.
- [26] Shao M L, Lv D W, Zhou K, *et al.* Senkyunolide A inhibits the progression of osteoarthritis by inhibiting the NLRP3 signalling pathway [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 535-542.
- [27] Martinod K, Witsch T, Erpenbeck L, *et al.* Peptidylarginine deiminase 4 promotes age-related organ fibrosis [J]. *J Exp Med*, 2017, 214(2): 439-458.
- [28] Ara D, Dheeravath S, Mungamuri S K. Aflatoxin B1 downregulates *ARID3* genes to overcome senescence for inducing hepatocellular carcinoma [J]. *Toxicon*, 2024, 250: 108114.
- [29] Wildung M, Herr C, Riedel D, *et al.* miR449 protects airway regeneration by controlling AURKA/HDAC6-mediated ciliary disassembly [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7749.
- [30] Liu Z N, Wu B M, Liu X Q, *et al.* CD73/NT5E-mediated ubiquitination of AURKA regulates alcohol-related liver fibrosis via modulating hepatic stellate cell senescence [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(3): 950-966.
- [31] Xie T S, Ding Q, Feng S W, *et al.* Antioxidant mechanism of modified Qiongyu paste against aging based on network pharmacology and experimental validation [J]. *J Tradit Chin Med Sci*, 2022, 9(4): 420-431.
- [32] Wang B S, Han J, Elisseeff J H, *et al.* The senescence-associated secretory phenotype and its physiological and pathological implications [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(12): 958-978.
- [33] Zhao R L, Jin X Y, Li A, *et al.* Precise diabetic wound therapy: PLS nanospheres eliminate senescent cells via DPP4 targeting and PARP1 activation [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(1): 2104128.
- [34] Wang G, Zhao H J, Zheng B Q, *et al.* TLR2 promotes monocyte/macrophage recruitment into the liver and microabscess formation to limit the spread of *Listeria monocytogenes* [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1388.
- [35] Cui X, Morales R T, Qian W Y, *et al.* Hacking macrophage-associated immunosuppression for regulating glioblastoma angiogenesis [J]. *Biomaterials*, 2018, 161: 164-178.

[责任编辑 李亚楠]