

• XXXX •

肝豆扶木汤治疗肝豆状核变性的机制研究进展

程婷¹, 杨文明^{1,2*}

(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 合肥 230031; 2. 新安医学教育部重点实验室, 合肥 230038)

[摘要] 威尔逊病(Wilson disease, WD)是一种由ATP7B基因突变引起的常染色体隐性遗传性铜代谢障碍疾病,临床表现包括肝脏损害、神经系统病变以及非运动症状等。其发病机制十分复杂,主要涉及铜代谢障碍、铁死亡、细胞自噬、铁代谢紊乱、肠道菌群失调和铜死亡等病理过程。安徽中医药大学第一附属医院在WD基础与临床研究方面已处于国际领先水平,我院杨文明教授创制的肝豆扶木汤(GDFMD)具有多成分、多靶点、多通路的作用特点。该文系统综述了GDFMD治疗WD的机制研究进展,表明其可通过调控过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路改善脂质代谢、抑制谷胱甘肽过氧化物酶4/长链酰基辅酶A合成酶家族成员4/花生四烯酸15-脂氧合酶(GPX4/ACSL4/ALOX15)信号通路介导的铁死亡、调节磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)和miR-29b-3p/自噬激活激酶1(ULK1)相关自噬、阻断转化生长因子- β_1 (TGF- β_1 /Smad)促纤维化信号、恢复氧化/抗氧化平衡、调节肠道菌群、抑制c-Jun氨基末端激酶(JNK)介导的细胞凋亡、干预铜死亡等多途径减轻肝损伤。此外,GDFMD还可改善肾损伤及吞咽功能障碍,并调控c-fos表达以减轻脑部损伤。综上所述,GDFMD在WD治疗中显示出多维度药理活性,具有广阔的临床应用和研究前景。

[关键词] 肝豆扶木汤; 肝豆状核变性; 机制; 研究进展

[中图分类号] R289;R259;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(XXXX)XX-0001-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252408

[网络出版地址]

[网络出版日期] XXXX-XX-XX



Mechanism of Gandou Fumu Decoction in Treating Wilson Disease: A Review

CHENG Ting¹, YANG Wenming^{1,2*}

(1. *The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;*
2. *Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230038, China*)

[Abstract] Wilson disease (WD) is an autosomal recessive inherited disorder of copper metabolism that is caused by mutations in the ATP7B gene. Its clinical manifestations include liver damage, neurological impairments, and various non-motor symptoms. Its pathogenesis is highly complex, primarily involving pathological processes such as dysregulated copper metabolism, ferroptosis, autophagy, disrupted iron metabolism, gut microbiota dysbiosis, and cuproptosis. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine has achieved internationally leading expertise in both basic and clinical research on WD. Gandou Fumu decoction (GDFMD) formulated by Professor YANG Wenming, functions in a multi-component, multi-target, and multi-pathway manner. This article systematically reviews the recent advances in the mechanism studies of GDFMD in treating WD. It demonstrates that GDFMD can alleviate liver damage through multiple pathways, including improving lipid metabolism by regulating the peroxisome proliferator-activated (PPAR) signaling pathway, inhibiting ferroptosis mediated by the glutathione peroxidase 4 (GPX4)/acyl coenzyme A synthetase long-chain family, member 4 (ACSL4)/arachidonate-15-lipoxygenase (ALOX15) pathway, modulating autophagy related to phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) and miR-29b-3p/UNC-51-like kinase 1 (ULK1), blocking the transforming growth factor (TGF)- β_1 /Smad pro-fibrotic signaling, restoring oxidative/anti-oxidative balance, regulating the gut microbiota, inhibiting c-Jun N-terminal

[收稿日期] 2025-09-10

[基金项目] 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目(U22A20366);国家中医药管理局中医药循证能力建设项目(2019XZZX-NB001);安徽省中医药科技攻关专项(202303a07020004)

[第一作者] 程婷, 博士, 医师, 从事肝豆状核变性基础与临床研究, E-mail: 18255124169@163.com

[通信作者] * 杨文明, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事肝豆状核变性基础与临床研究, Tel: 0551-62838522, E-mail: yangwm8810@126.com

kinase (JNK) -mediated apoptosis, and intervening in cuproptosis. In addition, GDFMD can alleviate kidney damage and swallowing dysfunction and regulate c-fos expression to alleviate brain injury. In summary, GDFMD demonstrates multi-dimensional pharmacological activities in the treatment of WD, showing broad prospects for clinical application and future research.

[Keywords] Gandou Fumu decoction (GDFMD); Wilson disease; mechanism; research progress

肝豆状核变性(HLD),又称威尔逊病(WD),是一种由于ATP7B基因突变引起的常染色体隐性遗传性铜代谢障碍性疾病^[1]。WD在全球范围内均有分布,发病率约为1/300 000至1/50 000,而亚洲人群的发病率普遍高于欧美人群。中国由于庞大的人口基数,其患病总人数显著高于西方国家^[2]。WD的临床表现包括肝脏损害、神经系统病变及非运动症状等^[3]。其发病机制十分复杂,主要涉及铜代谢障碍、铁死亡、细胞自噬、铁代谢紊乱、肠道菌群失调和铜死亡等病理过程^[4-12]。

WD是一种具有致残和致死风险的遗传性疾病,早期诊断和规范治疗能够显著改善患者的预后。部分患者在接受适当治疗后,能够维持接近正常的生活质量和寿命。目前,临床治疗仍以铜螯合剂和锌制剂为主要药物,但这些药物存在不良反应较多、患者依从性差及对神经系统损害的疗效有限等问题^[3]。对于晚期出现肝功能衰竭的患者,肝移植是当前唯一的根治性治疗方案,但受限于肝源紧缺和高昂费用,推广应用难度大。近年来,尽管基因治疗在WD的研究中取得了一定进展,但距离临床大规模应用仍存在较大差距。

安徽中医药大学第一附属医院自上世纪60年代开始对WD开展深入的基础与临床研究,是目前国内外规模最大的WD诊疗基地。本院杨文明教授基于WD“肝-肾-脑”轴病机理论,创制了“肝豆扶木汤”(GDFMD)。该方由枸杞子、白芍、三七粉、土茯苓等药物组成,具有滋补肝肾、活血化痰、解毒利湿等功效。通过超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用技术(MSE模式)(UPLC-Q-TOF/MS^E)分析GDFMD,共鉴定102种化合物,其中包括26种黄酮类、22种萜类、19种皂苷类、10种苯丙素类及25种其他化合物^[13]。此外,本团队采用超高效液相色谱-四极杆-轨道阱质谱联用技术(UHPLC-Q-Orbitrap-MS)技术进一步确认,26种酚类、25种生物碱和18种皂苷等成分是GDFMD药理活性的主要物质基础^[13-14](表1)。在配伍中,君药枸杞子与白芍富含多糖、黄酮及皂苷类成分,具有滋补肝肾、柔肝养血之功;臣药三七与土茯苓含有三七皂苷、多糖等活性成分,能活血化痰、解毒利湿;佐使药柴胡与郁金则可疏肝解郁、行气活血。全方在抗氧化、抗炎、抗纤维化、免疫调节及代谢改善等方面形成协同效应,兼顾“扶正固本”与“标本同治”,体现了传统理论与现代药理学的融合,具有重要的临床应用价值与科学意义。

表1 GDFMD的科学配伍及有效成分的协同作用

Table 1 Scientific compatibility and synergistic effects of active components in GDFMD

配伍	药物名称	主要成分	核心作用
君药	枸杞子	黄酮类、多糖、甜菜碱、酚类等	滋补肝肾;抗氧化,抗炎,抗凋亡、保肝与神经保护,改善铜代谢紊乱
	白芍	黄酮类、皂苷类、多糖、有机酸等	柔肝化阴;抗氧化、抗炎、免疫调节、抗凋亡、保肝、神经保护
臣药	三七粉	皂苷类、多糖、黄酮类等	活血化瘀,解毒利湿;抗氧化、抗炎、抗纤维化、改善微循环
	土茯苓	皂苷类、多糖、鞣质等	解毒利湿;抗氧化、抗炎、保肝、促进铜排泄
佐使药	柴胡	皂苷类、黄酮类、挥发油等	疏肝解郁;保肝、抗炎、免疫调节、抗氧化、调节胆汁分泌
	郁金	挥发油、黄酮类、萜类等	疏肝理气,活血止痛;护肝,抗炎、抗氧化、抗抑郁焦虑

大量动物实验证实,GDFMD能够通过多途径、多靶点发挥驱铜、抗肝纤维化、抗凋亡、抗炎、调节脂代谢等功能^[10,12,15]。多项临床研究表明,GDFMD能显著改善WD患者的肝功能指标,降低血清肝纤维化标志物,促进肝铜、尿铜排泄,并显著改善临床症状与体征^[9,16-18]。本研究综述国内外关于GDFMD治疗WD的机制研究进展,旨在为该方的临床应用与进一步研究提供理论依据和参考。

1 GDFMD多途径、多靶点治疗WD肝脏损害

肝脏损害是WD的主要临床表现之一,其特点包括脂质代谢紊乱、脂肪变性、肝纤维化,最终可能进展为肝硬化,严重时甚至导致肝衰竭或肝癌^[19]。目前,GDFMD在调节脂质代谢、减轻脂肪变性、延缓肝纤维化进程的治疗中展现出了独特的优势。以下几个方面是GDFMD通过多途径、多靶点治疗WD肝脏损害的研究现状。

1.1 调控PPAR信号通路改善脂质代谢 脂质代谢异常是WD肝损害的关键特征之一,通常在其他代谢紊乱之前便开始出现。这种异常破坏了脂质的摄取与代谢平衡,导致脂肪酸 β -氧化受限,并加速脂肪合成,最终可能引发肝细胞功能障碍甚至细胞死亡^[20]。反复的肝损伤与修复过程可能促进肝脏增生,并进一步发展为肝硬化^[21]。过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是一类重要的核受体,广泛参与脂质代谢、碳水化合物代谢及炎症等生理过程的调控^[22]。研究表明,过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路的异常调控与WD的病理进程密切相关^[23]。在WD小鼠模型的基因表达谱中,PPAR信号通路被认为是肝脏铜稳态失衡的关键靶向通路^[24]。在GDFMD治疗后,TX小鼠体内过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)、肉碱棕榈酰转移酶1 α (CPT1 α)和酰基-CoA氧化酶1(ACOX1)的mRNA及蛋白表

达上调,而硬脂酰-CoA去饱和酶1(SCD1)的mRNA及蛋白表达下调^[25]。可见,PPAR α 的激活可促进脂肪酸的 β -氧化,减少肝脏脂肪积聚,进而缓解WD患者脂质代谢异常所带来的肝损伤。

1.2 调控谷胱甘肽过氧化物酶4/长链酰基辅酶A合成酶4/花生四烯酸15-脂氧合酶(GPX4/ACSL4/ALOX15)信号通路抑制铁死亡改善肝脏脂肪变性 WD患者的肝脏脂肪变性是肝损伤的早期标志,若未得到及时干预,易进展为肝纤维化,最终可能导致肝衰竭或死亡。过量的铜积累是WD的主要病理特征之一,可通过自噬降解GPX4,从而减少过氧化物还原为无毒醇的能力,进一步促使铁死亡的发生^[26]。铁死亡是由细胞内铁过载和脂质过氧化引起的程序性细胞死亡形式。在此过程中,ACSL4作为一种关键酶,能够将多不饱和脂肪酸(PUFAs)与辅酶A(CoA)结合形成PUFA-CoA,随后溶血磷脂胆碱酰基转移酶3(LPCAT3)将PUFA-CoA插入溶血磷脂中,生成PUFA-PL。通过这一过程,PUFAs被整合到磷脂膜中,成为潜在的铁死亡诱导因子^[27]。脂氧合酶家族(ALOXs),包括ALOX15,是一组非血红素含铁的双加氧酶,负责精细调控脂质过氧化过程^[28]。在此过程中,ALOX能够催化PUFA的氧化反应,生成丙二醛(MDA)和4-羟基壬醛等脂质过氧化物,这些产物直接参与铁死亡的发生。其中,ALOX15作为脂氧合酶家族的重要成员,能够将PUFA-PL氧化为相应的磷脂氢过氧化物,这一反应进一步促进脂质过氧化,从而加剧铁死亡的进程^[29]。张梦影等^[12]研究表明,GDFMD通过调控GPX4/ACSL4/ALOX15信号通路,能够抑制铁死亡的发生,从而改善WD小鼠的肝脏脂肪变性。因此,GPX4、ACSL4、ALOX15可能在WD铁死亡和肝脏脂肪变性中发挥着至关重要的作用。

1.3 调控铁死亡、铁代谢治疗WD肝纤维化 铁死亡是一种与铁代谢异常密切相关的程序性细胞死亡方式,涉及铁积累和脂质过氧化等关键机制^[30]。赵晨玲等^[31]研究表明,GDFMD在改善WD患者的临床疗效方面具有显著优势,包括提高中医证候积分、调节铁代谢水平、缓解肝纤维化进程、改善超声影像学参数及调控铁死亡相关标志物。实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)分析发现,GDFMD可能通过调控关键基因如血红素氧化酶1(HMOx1)、PPAR α 、热休克蛋白B1(Hspb1)和丝裂原激活蛋白激酶3(MAPK3),减轻氧化应激和炎症反应,促进肝脏修复。其中,HMOx1作为血红素代谢的关键酶,通过释放二价铁离子(Fe²⁺),在铁代谢失衡中起到核心作用,促进脂质过氧化,从而诱发铁死亡^[32]。此外,HMOx1介导的库普费细胞铁死亡已被证实能加剧肝脏的炎症与损伤^[33]。PPAR α 是一个配体激活的核转录因子,能通过提高能量代谢效率减轻肝脏纤维化,并且可以直接与GPX4内含子3结合,促进GPX4的表达,抑制铁过载引起的铁死亡^[34]。Hspb1通过调控肌动蛋白细胞骨架,抑制转铁蛋白受体1介导的铁摄取,减少内吞作用及转铁蛋白的循环,进而抑制过量铁通过Fenton反应生成的活性氧(ROS)和脂质过氧化物,从而减轻由此引发的铁死亡^[35]。

GPX4作为一种抗氧化酶,能够通过降低ROS水平来抑

制铁死亡的发生,而其功能的有效发挥依赖于谷胱甘肽(GSH)的充足供应。当GSH缺乏时,GPX4会出现失活,从而导致铁死亡的发生^[36]。在铁死亡过程中,溶质载体家族7成员11(SLC7A11)作为一个关键蛋白,负责胱氨酸的摄取和GSH的合成,其表达受到抑制时,会导致GSH合成受阻,GPX4活性下降,抗氧化能力减弱,ROS积聚,从而诱发铁死亡^[37]。与此同时,SLC7A11促进细胞对胱氨酸的摄取和GSH的合成,从而增强抗氧化能力^[38]。郝文杰等^[39]通过分子对接发现,铁死亡的关键蛋白SLC7A11与GDFMD的活性成分具有良好的结合能力。GDFMD能够通过降低ROS和MDA水平,提升GSH水平,上调SLC7A11和GPX4的表达,减轻Erastin诱导的肝癌细胞HepG2中的铁死亡。

1.4 调控磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B/雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)介导的细胞自噬治疗WD肝纤维化 在生理状态下,细胞通常维持低水平的自噬,以清除损伤或衰老的细胞器,以及错误折叠或无功能的大分子蛋白质,并通过循环利用降解产物维持内环境稳态。然而,在缺氧、饥饿和中毒等应激条件下,自噬水平显著升高,从而增强细胞的适应能力和生存能力^[40]。有研究表明,WD患者和Atp7b^{-/-}小鼠的肝细胞中自噬活性明显增强^[41]。WD患者由于铜蓝蛋白(CP)合成受损和胆汁铜排泄障碍,导致血清中CP水平下降,并使得铜在肝脏、大脑基底节和角膜等组织中异常蓄积^[42]。铜离子过度沉积可通过激活PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导氧化应激反应,进而促进自噬与线粒体分裂^[15,43]。具体而言,PI3K激活后催化磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)磷酸化生成磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3),后者可招募含PH结构域的Akt及磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶1(PDK1),从而活化Akt。活化的Akt可进一步刺激雷帕霉素靶蛋白复合物1(mTORC1),而mTORC1通过磷酸化类自噬激活激酶1(ULK1),抑制AMP激活的蛋白激酶(AMPK)对ULK1的激活,阻断ULK1-Atg13-FIP200复合物的形成,从而对自噬产生负调控作用^[44-45]。唐露露等^[46]研究发现,GDFMD在铜负荷的HepG2细胞中能够通过阻断PI3K/Akt/mTOR信号通路抑制过度自噬,从而发挥细胞保护作用。铜负荷异常导致PI3K/Akt/mTOR信号通路功能紊乱,自噬调控呈现双重效应:一方面过度自噬促进线粒体损伤与肝细胞死亡,推动纤维化进程;另一方面,适度的自噬有助于清除铜诱导的受损线粒体和蛋白质聚集。因此,如何通过精准调控PI3K/Akt/mTOR信号通路以恢复自噬稳态,成为防治WD肝纤维化的重要策略之一。

1.5 调控微小RNA-29b-3p/类自噬激活激酶1(miR-29b-3p/ULK1)介导的细胞自噬治疗WD肝纤维化 miRNA通过调控肝星状细胞(HSCs)的活化、增殖、凋亡及自噬等过程,从而影响肝纤维化的发生与发展^[47]。研究表明,miR-29家族在抗肝纤维化方面具有显著作用。miR-29家族成员通过结合不同靶基因,调节相关信号通路,抑制HSCs的活化与异常增殖,促进其凋亡或自噬,从而减少细胞外基质(ECM)的过度沉积^[48-49]。其中,miR-29b-3p已被证实能够通过miR-29b-3p/高迁移率族蛋白B1/Toll样受体4/核转录因子- κ B

(HMGB1/TLR4/NF- κ B)信号通路发挥抗纤维化作用^[50]。此外,ULK1不仅是miR-29b-3p的靶基因之一,还是自噬的关键调控因子,参与自噬的起始过程^[51]。钱南南等^[5]研究进一步发现,GDFMD可下调ULK1、磷酸化(p)-ULK1、自噬相关13(Atg13)、p-Atg13、自噬相关蛋白-1(Beclin-1)、焦点黏附激酶家族相互作用蛋白200(FIP200)、自噬和Beclin-1调节因子1(AMBRA1)及微管相关蛋白1轻链3-II/I(LC3-II/I)等自噬相关蛋白的表达,同时上调p62蛋白的水平,抑制过度自噬,从而在缓解肝纤维化过程中发挥保护作用。

1.6 调控转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)/Smad信号通路表达治疗WD肝纤维化 WD肝纤维化的本质是ECM在肝脏中过度沉积,这一过程是疾病进展至肝硬化的必经阶段^[52]。ECM由多种胶原、非胶原糖蛋白和蛋白多糖组成,其中透明质酸(HA)是蛋白多糖的主要成分,而层粘连蛋白(LN)则是重要的结构糖蛋白。血清HA、LN、III型前胶原(PC-III)、IV型胶原(C-IV)等标志物的水平与肝纤维化的程度密切相关^[53-54]。

TGF- β_1 是促进肝纤维化进展的关键细胞因子^[55]。其通过与HSC表面I型和II型受体(T β R I、T β R II)结合,激活胞内Smad信号转导通路。在这一过程中,TGF- β_1 首先与T β R II结合形成复合物,进而与T β R I结合,形成T β R II-TGF- β_1 -T β R I三聚体复合物^[56]。此复合物能催化Smad2/3丝氨酸的磷酸化,并进一步与Smad4结合形成异源二聚体,进入细胞核,调控纤维化相关基因的转录,促进ECM的合成与沉积。在这一过程中,活化的HSC转化为成纤维细胞样细胞(MFB),并分泌基质金属蛋白酶(MMPs)及其抑制因子(TIMPs),这些因子阻碍了ECM的正常降解,从而推动肝纤维化的进展。而Smad4则通过增强Smad3对启动子的活性,进一步促进纤维化作用。相对而言,Smad7作为负性调控因子,能够抑制HSC的活化及ECM的合成与分泌,在抗纤维化过程中发挥保护作用^[57]。

研究表明,GDFMD能够显著降低TX小鼠肝纤维化的血清指标,可能通过抑制TGF- β_1 和Smad2的表达、上调Smad7蛋白水平来发挥抗纤维化作用^[11,58]。此外,GDFMD还能够下调TX¹小鼠中TGF- β_1 、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、波形蛋白(Vimentin)等促纤维化标志物的表达,同时上调上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)水平,从而减轻肝纤维化的进展^[59]。另外,有研究表明,GDFMD能够抑制T β R I、T β R II和Smad4的表达,提示其抗WD肝纤维化作用可能与阻断TGF- β /Smad信号通路的关键节点密切相关^[6]。

1.7 调控氧化/抗氧化失衡治疗WD肝纤维化 WD的核心病理机制是铜代谢障碍,导致铜在肝脏中过度沉积并诱发氧化应激反应。过量铜离子通过促进Fenton反应及线粒体功能障碍,生成大量ROS,从而破坏细胞膜脂质、蛋白质及DNA,造成氧化/抗氧化系统的失衡^[58]。这种持续的氧化应激不仅直接损伤肝细胞,还可通过激活HSCs促进ECM的过度沉积,从而推动肝纤维化的发生与发展。在调控铜负荷及抗氧化平衡方面具有显著作用。一方面,它能够促进体内铜的排泄,降低肝脏铜离子

水平,从源头上减轻氧化应激;另一方面,其可增强超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等抗氧化酶的活性,从而提高机体清除ROS的能力。已有研究表明,WD动物模型中肝脏SOD活性显著下降,MDA水平明显升高,而GDFMD干预后可使SOD活性显著提升,同时降低MDA含量,从而有效减轻铜离子诱导的氧化损伤^[10]。

1.8 调节肠道菌群改善WD肝纤维化 肠道菌群与肝纤维化之间通过“肠-肝轴”形成紧密的双向联系。肠道菌群紊乱时,致病菌比例增加而有益菌减少,会破坏肠道屏障完整性,导致内毒素[如脂多糖(LPS)]等微生物产物经门静脉易位至肝脏。在肝脏中,LPS通过激活Kupffer细胞上的TLR4/NF- κ B等炎症信号通路,诱发持续炎症反应,并直接刺激肝HSC活化为肌成纤维细胞,后者大量合成并分泌ECM,驱动肝纤维化进程。另一方面,有益菌(如乳酸杆菌、双歧杆菌)减少,使其代谢产生的具有抗炎和抗纤维化作用的短链脂肪酸水平下降,进一步削弱了对HSC活化的抑制能力^[60-61]。因此,维持肠道微生态平衡已成为预防和减缓肝纤维化进展的重要潜在治疗策略。

在WD患者中,肠道菌群的多样性和物种组成均发生显著改变。研究显示,在门水平上,*Actinobacteria*、*Firmicutes*和*Verrucomicrobia*的丰度显著下降,而*Bacteroidetes*、*Proteobacteria*、*Cyanobacteria*和*Fusobacteria*的丰度升高^[62]。不过,不同研究结果之间仍存在一定差异,例如,有学者观察到*Firmicutes*与*Bacteroidetes*呈相反趋势^[63]。此外,陶庄等在WD铜负荷模型大鼠中发现,*Actinobacteriota*门和*Corynebacterium*属的相对丰度显著增加,而*Verrucomicrobia*门和*Lactobacillus*属的丰度明显下降^[8]。可见,WD患者肠道菌群的紊乱机制值得进一步的人群研究。

1.9 调控c-Jun氨基末端激酶(JNK)信号通路抑制细胞凋亡改善肝纤维化 JNK信号通路是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)的重要成员之一,通过磷酸化作用调控线粒体功能,并在细胞凋亡过程中发挥关键作用^[64]。在WD中,铜依赖性线粒体损伤是肝细胞死亡的主要机制之一^[65]。铜过度沉积可诱导ROS大量生成,从而激活凋亡信号调节激酶(ASK),进一步通过磷酸化级联反应激活JNK信号通路。JNK的持续激活在肝细胞凋亡中起双重作用:一方面,通过磷酸化B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)(Ser70位点)蛋白,削弱其抗凋亡功能,促进线粒体外膜通透性增加;另一方面,活化的JNK可直接转移至线粒体,促使细胞色素C(Cyt C)从线粒体内膜间隙释放,进而激活胱天蛋白酶-3(Caspase-3),启动凋亡级联反应^[66-67]。与此同时,ROS还可作为促凋亡蛋白Bcl-2相关X蛋白(Bax)的上游信号,促进Bax激活和线粒体膜孔形成,加剧凋亡因子外泄,从而放大凋亡效应^[68]。研究显示,GDFMD干预可显著下调TX¹肝纤维化小鼠中p-JNK、Caspase-3和Bax的表达水平,同时上调抗凋亡蛋白Bcl-2的表达^[69]。这提示GDFMD可能通过抑制JNK信号通路的过度激活,阻断线粒体介导的凋亡途径,从而减轻肝细胞损伤与凋亡。

1.10 调控铜死亡靶点基因表达治疗WD肝纤维化 铜死亡是一种新近发现的、不同于细胞凋亡、坏死、焦亡及铁死亡的铜离子(Cu²⁺)依赖性调节性细胞死亡方式。其分子机制

主要涉及脂酰化蛋白的异常聚集和铁硫簇蛋白的不稳定,最终导致线粒体功能紊乱和细胞死亡^[70-71]。在WD中,铜过载引发的细胞损伤与铜死亡的典型效应高度一致,提示铜死亡可能是WD肝损伤与纤维化进展的重要机制之一。生物信息学分析显示,铜死亡相关基因如纤溶酶原激活物抑制因子1(SERPINE1)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、丙酮酸脱氢酶 β 亚基(PDHB)和丙酮酸脱氢酶激酶1(PDK1)在缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路中发挥关键作用,并与WD密切相关^[7]。这些基因在调节细胞能量代谢、血管生成和细胞存活等过程中均具有重要地位。调控其表达水平,不仅能够干预铜死亡信号的激活,还可能改善铜离子依赖的线粒体损伤和炎症反应,从而延缓肝纤维化的发生发展。进一步研究发现,GDFMD能够与铜死亡靶点基因具有良好的结合能力,提示其可能通过下调促铜死亡基因的表达(如VEGFA、PDK1),同时上调保护性因子,抑制铜死亡相关分子事件的过度发生,进而减轻WD中铜依赖性氧化应激与肝细胞损伤^[7]。

2 GDFMD通过其他途径发挥治疗WD的作用

在GDFMD干预WD肝脏损害作用机制广泛受到关注的同时,其在WD肾脏损伤、吞咽障碍、脑损伤等其他方面的作用也引起了学者的关注。

2.1 调控Janus激酶/信号转导与转录激活因子(JAK/STAT)信号通路治疗WD肾损伤 WD肾损伤主要表现为慢性肾功能受损,其临床症状以血尿、蛋白尿、氨基酸尿及面部和下肢浮肿为主^[72]。然而,迄今为止,WD肾损伤的具体机制尚不明确。研究显示,其可能与铜的直接毒性作用及间接的免疫学损伤机制密切相关^[72]。大量研究表明,JAK/STAT信号通路在炎症反应、细胞凋亡和纤维化过程中发挥关键作用。瘦素(LEP)作为一种重要的促炎因子,可通过结合瘦素受体(OB-R),激活JAK2/STAT3信号通路,促进促纤维化因子如[TGF- β_1 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)]的表达,诱导细胞凋亡和肾小管间质纤维化,从而推动肾损伤的进展^[73]。在WD中,铜过载导致的氧化应激与炎症反应进一步加剧了JAK/STAT信号通路的异常激活,加速了肾脏纤维化与功能损害。研究显示,GDFMD干预能够显著降低TX模型小鼠中LEP、OB-R、p-JAK2、p-STAT3、TGF- β_1 和MCP-1的表达水平^[4]。这提示GDFMD可能通过抑制JAK/STAT信号通路的过度激活,减轻炎症因子释放和细胞凋亡,恢复肾组织的稳态,从而有效缓解WD所致的肾损伤。

2.2 调控氧化/抗氧化失衡治疗WD吞咽障碍 约10%的WD患者可出现严重吞咽障碍,包括口角流涎、饮水呛咳、言语含糊、咀嚼/吞咽困难等,显著影响营养摄入与预后^[19,74]。铜过量沉积可通过促进自由基生成、增强脂质过氧化反应和抑制抗氧化酶活性,造成氧化/抗氧化失衡,进而加重吞咽相关神经环路等神经系统功能损害。研究表明,GDFMD联合吞咽训练可显著改善痰瘀互结型WD患者的吞咽功能,促进24h尿铜排泄,同时显著提高体内SOD水平并降低MDA水平^[75]。这提示GDFMD可能通过减轻铜致氧化应激、恢复抗氧化/氧化应激平衡、

减缓神经细胞损伤,从而改善WD患者的吞咽功能。

2.3 调节c-fos基因表达治疗WD脑部损伤 WD患者的锥体外系核团功能常受损,随着年龄增长,脑部核团的病理性损伤加重,其自发活动及功能协调性障碍亦逐渐明显^[76]。研究显示,胼胝体及皮质脊髓束的微观结构损伤与WD患者的神经系统症状密切相关,而“皮质-纹状体-丘脑-皮质”环路的阻滞可能是其神经损伤的重要病理机制^[77-79]。陶庄等^[80]应用静息态功能磁共振成像(rs-fMRI)发现,WD铜负荷大鼠模型存在广泛脑区功能异常及脑区间连接受损,受累脑区包括感觉皮层、小脑后叶、运动皮层、小脑前叶和纹状体。c-fos基因是典型的立即早期基因,作为重要转录因子在神经系统活动调节和应激反应中发挥关键作用。在生理状态下,c-fos在中枢神经系统中仅呈低水平表达;当受到缺血、缺氧或神经毒性等刺激时,其表达在脑组织中迅速上调,参与细胞转录调控过程,从而介导神经元的应激适应与修复反应^[81-83]。在WD铜负荷大鼠模型中,c-fos相对表达水平显著升高,提示铜沉积诱导的氧化应激与神经环路过度激活可能参与脑损伤进程。进一步研究发现,青霉胺及GDFMD干预均可使c-fos表达显著下降^[80]。

3 结语和展望

本研究系统综述了GDFMD治疗WD的多维度机制。现有证据表明,GDFMD并非通过单一靶点,而是通过一个复杂的网络调控体系发挥作用,其核心在于拮抗铜过量沉积引发的多重病理效应,包括有效改善脂质代谢、抑制铁死亡与铜死亡等多种程序性细胞死亡、调控自噬稳态、拮抗HSC活化以抗纤维化、恢复氧化/抗氧化平衡及调节肠道菌群-肝轴互动。这充分体现了中药复方多成分、多途径、多靶点整合调节的治疗优势。见表2。

目前,WD的主要治疗策略包括铜螯合剂和锌制剂。这些药物通过促进体内铜的排泄及抑制肠道对铜的吸收,在控制体内铜负荷方面具有确切疗效,已被广泛应用于临床。其中,青霉胺和二巯基丙磺酸钠是应用最为广泛的铜螯合剂,能有效促进铜排出并改善肝功能,但部分患者可能出现皮疹、胃肠道不适或肝酶升高等不良反应。相比之下,锌制剂通过竞争性抑制肠道铜吸收来维持铜平衡,其不良反应较轻、耐受性良好,但起效相对缓慢,且部分患者因长期口服金属盐而出现胃肠不适,从而影响治疗依从性。前期本团队开展的临床研究结果显示,GDFMD组治疗WD肝纤维化的临床有效率达70%^[18]。此外,GDFMD联合西药较单纯西药治疗可进一步提高临床疗效,且不良反应少、依从性好^[84]。不仅能够弥补现有药物的不足,还可能为个体化治疗和长期管理提供新的思路。

目前,本团队正在依托国家自然科学基金区域联合基金,重点开展神经通路及免疫炎症方面的研究。并且已有大量证据显示枸杞多糖通过激活核因子E₂相关因子2/血红素氧合酶-1(Nrf2/HO-1)与沉默信息调节因子1-过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (SIRT1/PGC-1 α)样信号通路,提高线粒体膜电位和三磷酸腺苷(ATP)生成,从而减轻氧化应激与细胞凋

表 2 GDFMD 治疗 WD 机制研究总结

Table 2 Summary of mechanistic studies on GDFMD in treatment of WD

作用机制/信号通路	主要分子/靶点	作用机制
PPAR 信号通路	PPAR α 、CPT1 α 、ACOX1 \uparrow 、SCD1 \downarrow	促进脂肪酸 β -氧化,减少肝脏脂肪积聚,改善脂质代谢 ^[25]
GPX4/ACSL4/ALOX15 信号通路	GPX4 \uparrow 、ACSL4 \downarrow 、ALOX15 \downarrow	抑制铁死亡,改善肝脏脂肪变性 ^[12]
铁死亡与铁代谢信号通路	HMOX1 \downarrow 、PPAR α \uparrow 、Hspb1 \uparrow 、MAPK3 调控;SLC7A11 \uparrow 、GPX4 \uparrow	调控铁代谢和铁死亡相关基因,减轻氧化应激和炎症,缓解肝纤维化 ^[31-39]
PI3K/Akt/mTOR 信号通路	PI3K \downarrow 、Akt \downarrow 、mTOR \downarrow 、ULK1 \downarrow 、AMPK \downarrow	抑制过度自噬,保护肝细胞,延缓肝纤维化 ^[46]
miR-29b-3p/ULK1 信号通路	miR-29b-3p 调控、ULK1 \downarrow 、Beclin-1 \downarrow 、LC3-II/I \downarrow 、p62 \uparrow	抑制过度自噬,减少 ECM 沉积,缓解肝纤维化 ^[5]
TGF- β_1 /Smad 信号通路	TGF- β_1 \downarrow 、Smad2/3 \downarrow 、Smad7 \uparrow 、 α -SMA \downarrow 、Vimentin \downarrow 、E-cadherin \uparrow	抑制 HSC 活化与 ECM 沉积,抗肝纤维化 ^[6, 11, 58-59]
氧化/抗氧化应激平衡	ROS \downarrow 、MDA \downarrow 、SOD \uparrow 、GSH-Px \uparrow	减轻铜诱导的氧化损伤,保护肝细胞 ^[10] 改善神经损伤,缓解吞咽障碍 ^[75]
肠道菌群(肠-肝轴)	致病菌 \uparrow 、有益菌 \downarrow 、TLR4/NF- κ B \uparrow 、短链脂肪酸 \downarrow	改善肠道菌群失衡,减少炎症,抑制纤维化进程 ^[8, 60-63]
JNK 信号通路	p-JNK \downarrow 、Caspase-3 \downarrow 、Bax \downarrow 、Bcl-2 \uparrow	抑制线粒体凋亡通路,改善肝纤维化 ^[69]
铜死亡相关基因	VEGFA \downarrow 、PDK1 \downarrow 、保护因子 \uparrow	抑制铜死亡相关信号,改善铜代谢异常与细胞损伤 ^[7]
JAK/STAT 信号通路	Leptin \downarrow 、OB-R \downarrow 、p-JAK2 \downarrow 、p-STAT3 \downarrow 、TGF- β_1 \downarrow 、MCP-1 \downarrow	抑制炎症反应与肾纤维化,缓解 WD 肾损伤 ^[4]
c-fos 基因表达	c-fos \downarrow	减轻铜诱导的神经损伤,改善脑功能障碍 ^[80]

亡;同时,下调 TLR4/NF- κ B 与 NLRP3 信号通路,间接抑制 MMP-9 表达,稳定紧密连接蛋白,从而维持血脑屏障(BBB)的完整性,对神经元及脑微血管内皮细胞产生双重保护作用^[85]。白芍主成分芍药苷可促进 PTEN 诱导激酶 1/帕金蛋白(PINK1/Parkin)介导的线粒体自噬、提高 Bcl-2/Bax 值并抑制 p38 MAPK/NF- κ B 信号,降低小胶质与星形胶质促炎表型,同时抑制过度血管内皮生长因子(VEGF)/MMP-2/9 活化以维持 BBB 完整性,显示出明确的中枢可达性与神经保护潜力^[86]。三七皂苷(如 Rg₁、Rb₁等)可通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路,抑制线粒体途径介导的凋亡,并减轻 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)相关炎症反应;同时,可改善脑微循环,降低内皮氧化应激和 MMP-9 活性,从而减少 BBB 通透性的升高^[87]。土茯苓来源的黄酮/多酚具有清除 ROS、抑制 NF- κ B、诱导型一氧化氮合酶/环氧化酶-2(iNOS/COX-2)及 NLRP3 的作用,从而缓解全身与中枢的炎症应激,并据其抗氧化与抗 MMP 特性推定有助于保护脑内皮与基底膜结构稳定^[88]。柴胡三萜皂苷可通过促进 NLRP3 泛素化降解与抑制 JNK/NF- κ B,降低过度神经炎症;同时减轻受损线粒体累积所致的 ROS 放大效应,并以此维护胶质-神经元稳态与 BBB 相关星形胶质足突功能^[89]。郁金中姜黄素通过上调 Nrf2/抗氧化反应元件(ARE)并下调 NF- κ B 与 NLRP3,发挥“促线粒体生物发生-强抗炎-护屏障”的三联效应;可提高抗氧化酶活性、修复线粒体结构、上调闭合蛋白-5/咬合蛋白(Claudin-5/Occludin)并抑制 MMP-9 与 BBB 渗漏^[90]。基于以上药物组成的 GDFMD 或许可以切断“铜毒性-氧化应激-炎症-屏障破坏”的恶性循环,从而为改善基底节等易损核团的能量危机与神经功能提供机制学支撑,并为标准去铜治疗之外的中枢神经保护提供互补思路。

然而,当前研究仍存在局限性。首先,绝大多数机制研究基于动物模型和细胞实验,其结论能否完全推及人体仍需验证,缺乏大规模、多中心的临床研究对机制进行反证与夯实。其次,GDFMD 化学成分复杂,虽已鉴定出多种活性成分,但其体内的药效物质基础、代谢过程及君臣佐使的配伍科学尚未彻底阐明,药物与靶点间的直接相互作用证据不足。最后,现有研究对 GDFMD 改善神经系统症状(如吞咽障碍、脑损伤)的机制解释仍较为薄弱,缺乏深入探讨。

未来研究应着重于以下几个方面,第一,深化药效物质基础研究,可结合多组学技术(如代谢组学、转录组学、蛋白质组学)、网络药理学、类器官等方法,明确 GDFMD 的关键效价成分及其直接分子靶点,并通过分子对接、分子动力学模拟、基因编辑及动物实验进行验证,从而揭示物质基础与药效的内在联系。第二,基于重要的科学问题进行顶层设计,规范实施高质量的临床研究。例如,可通过多中心、随机对照、长期随访的临床试验,系统评估 GDFMD 在不同分型、不同主证 WD 患者中的疗效、安全性及生活质量改善情况。第三,拓展神经保护机制研究,重点应用血脑屏障功能成像、神经炎症生物标志物检测及神经环路电生理学评价等技术,深入探讨 GDFMD 在维持血脑屏障完整性、抑制中枢炎症反应及修复神经环路方面的具体机制。第四,深入研究 GDFMD 与锌制剂、铜螯合剂等西药联用的协同效应与减毒机理,不仅要在体内外实验中考察药代动力学与药效学的相互作用,还需结合真实世界临床数据分析,探索其在降低不良反应、改善依从性及优化治疗方案方面的应用潜力。通过以上研究路径的逐步落实,不仅有望进一步阐明 GDFMD 的多靶点、多通路作用机制,还能推动其在中西医结合治疗 WD 中的临床转化与国际认可。

[利益冲突] 杨文明为本刊编委,未参与本文的任何审校过程,不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] COMPSTON A. Progressive lenticular degeneration: A familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver, by S. A. Kinnier Wilson, (From the National Hospital, and the Laboratory of the National Hospital, Queen Square, London) *Brain* 1912; 34: 295-509[J]. *Brain*, 2009, 132(Pt 8): 1997-2001.
- [2] SANDAHL T D, LAURSEN T L, MUNK D E, et al. The prevalence of Wilson's disease: An update[J]. *Hepatology*, 2020, 71(2): 722-732.
- [3] 杨悦, 杨文明, 汪瀚, 等. 肝豆状核变性中西医研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(4): 209-217.
- YANG Y, YANG W M, WANG H, et al. Wilson disease in traditional Chinese and western medicine: A review[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(4): 209-217.
- [4] 李祥, 杨文明, 杨悦, 等. 肝豆扶木汤通过 JAK/STAT 信号通路对 TX 小鼠肾纤维化的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(18): 26-35.
- LI X, YANG W M, YANG Y, et al. Intervention effect of Gandoufumu decoction on renal fibrosis in TX mice through JAK/STAT signaling pathway[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(18): 26-35.
- [5] 钱南南, 杨文明, 魏涛华, 等. 肝豆扶木汤通过调控 miR-29b-3p/ULK1 表达对 Wilson 病肝纤维化小鼠自噬的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(2): 17-25.
- QIAN N N, YANG W M, WEI T H, et al. Effect of Gandoufumu decoction on autophagy in mice with liver fibrosis in wilson disease by regulating expression of miR-29b-3p/ULK1[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(2): 17-25.
- [6] 唐露露, 杨文明, 谢文婷, 等. 肝豆扶木汤对 Wilson 病肝纤维化 TX 小鼠肝组织 T β R I、T β R II 和 Smad4 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 4043-4047.
- TANG L L, YANG W M, XIE W T, et al. Effects of Gandoufumu decoction on the expression of T β R I, T β R II and Smad4 in TX mice with liver fibrosis due to wilson disease[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2019, 34(9): 4043-4047.
- [7] 陶庄, 汪美霞, 康帅, 等. 肝豆状核变性铜死亡相关基因的生物信息学分析与验证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(15): 124-131.
- TAO Z, WANG M X, KANG S, et al. Bioinformatics analysis and validation of cuproptosis-related genes in Wilson disease[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2025, 31(15): 124-131.
- [8] 陶庄, 汪美霞, 王刚, 等. 肝豆状核变性铜负荷大鼠肠道菌群特征及肝豆扶木汤的干预作用[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(2): 841-847.
- TAO Z, WANG M X, WANG G, et al. Characteristics of intestinal microbiota in rats with copper overloaded Wilson disease and effect of Gandou Fumu decoction[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2025, 40(2): 841-847.
- [9] 杨文明, 洪亮, 董婷, 等. 肝豆扶木汤对实验性 Wilson 病模型大鼠肝损害的保护作用[J]. 中医药临床杂志, 2010, 22(11): 1013-1016.
- YANG W M, HONG L, DONG T, et al. The protective effect of Gandoufumu decoction on liver injury in experimental Wilson disease model rats[J]. *J Tradit Chin Med Clin Pharmacol*, 2010, 22(11): 1013-1016.
- [10] 杨文明, 洪亮, 汪美霞, 等. 肝豆扶木汤对实验性 Wilson 病模型大鼠肝铜、血清铜及肝组织自由基代谢的影响[J]. 中医药临床杂志, 2010, 22(11): 1010-1012.
- YANG W M, HONG L, WANG M X, et al. The effects of Gandoufumu decoction on hepatic copper, serum copper, and free radical metabolism in liver tissue of experimental Wilson disease model rats[J]. *J Tradit Chin Med Clin Pharmacol*, 2010, 22(11): 1010-1012.
- [11] 杨文明, 唐露露, 谢文婷, 等. 肝豆扶木汤对 TX 小鼠肝纤维化 TGF- β /Smad 信号通路的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(4): 404-407.
- YANG W M, TANG L L, XIE W T, et al. The influence of Gandoufumu decoction on the TGF- β /Smad signaling pathway in TX mice with hepatic fibrosis[J]. *J Integr Tradit Chin West Med Cardiovasc Cerebrovasc Dis*, 2018, 16(4): 404-407.
- [12] 张梦影, 赵晨玲, 田丽伟, 等. 肝豆扶木汤通过 GPX4/ACSL4/ALOX15 通路抑制铁死亡改善 Wilson 病小鼠的肝脏脂肪变性[J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(7): 1471-1478.
- ZHANG M Y, ZHAO C L, TIAN L W, et al. Gandoufumu decoction improves liver steatosis by inhibiting hepatocyte ferroptosis in mice with Wilson disease through the GPX4/ACSL4/ALOX15 signaling pathway[J]. *J South Med Univ*, 2025, 45(7): 1471-1478.
- [13] 黄蕾, 王倪, 董婷, 等. UPLC-Q-TOF/MS^E 分析鉴定肝豆扶木汤化学成分[J]. 药学学报, 2025, 60(3): 771-783.
- HUANG L, WANG N, DONG T, et al. Identification of chemical components in Gandoufumu decoction by UPLC-Q-TOF/MS^E [J]. *Acta Pharm Sin*, 2025, 60(3): 771-783.
- [14] 杨玉龙, 杨文明, 魏涛华, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap-MS 技术分析肝豆扶木汤中化学成分[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(4): 2001-2009.
- YANG Y L, YANG W M, WEI T H, et al. Analysis of chemical constituents in Gandoufumu decoction by UHPLC-Q-Orbitrap-MS technology[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2024, 39(4): 2001-2009.
- [15] 魏涛华, 杨文明, 唐露露, 等. 基于网络药理学探讨肝豆扶木汤治疗肝豆状核变性肝纤维化的作用机制及实验验证[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(8): 981-990.
- WEI T H, YANG W M, TANG L L, et al. Mechanism of Gandoufumu decoction in treating liver fibrosis mice with Wilson's disease based on network pharmacology and experimental proof[J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2021, 41(8): 981-990.
- [16] 刘丹青. 肝豆扶木汤对 Wilson 病肝纤维化临床疗效观察及其对 TX 小鼠肝纤维化的 Western blot 研究[D]. 合肥: 安徽中医

- 药大学, 2016.
- LIU D Q. The clinical effect observation of Gandou Fumu Tang on Wilson's disease hepatic fibrosis and the study on hepatic fibrosis in TX mice using western blot [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2016.
- [17] 张艳云, 汪美霞, 杨文明, 等. 肝脏 FibroTouch 技术联合血清无创肝纤维化模型观察肝豆扶木汤对肝豆状核变性肝纤维化的临床疗效[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(4): 1868-1873.
- ZHANG Y Y, WANG M X, YANG W M, et al. Study on the clinical effect of Gandoufumu decoction on hepatic fibrosis in Wilson's disease by liver FibroTouch technique combined with serum noninvasive liver fibrosis model[J]. Chin J Chin Mater Med, 2023, 38(4): 1868-1873.
- [18] 杨文明, 方芳, 汪美霞, 等. 肝豆扶木汤治疗 Wilson 病肝纤维化的临床研究[J]. 中医药临床杂志, 2014, 26(11): 1111-1113.
- YANG W M, FANG F, WANG M X, et al. Clinical study of Gandoufumu decoction in the treatment of hepatic fibrosis in Wilson's disease[J]. J Tradit Chin Med Clin Pharmacol, 2014, 26(11): 1111-1113.
- [19] 杨任民. 肝豆状核变性[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 3-74.
- YANG R M. Hepatolenticular Degeneration [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 3-74.
- [20] FROMENTY B, RODEN M. Mitochondrial alterations in fatty liver diseases[J]. J Hepatol, 2023, 78(2): 415-429.
- [21] JOHNCILLA M, MITCHELL K A. Pathology of the liver in copper overload[J]. Semin Liver Dis, 2011, 31(3): 239-244.
- [22] MIRZA A Z, ALTHAGAFI I I, SHAMSHAD H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications[J]. Eur J Med Chem, 2019, 166: 502-513.
- [23] AZBUKINA N V, LOPACHEV A V, CHISTYAKOV D V, et al. Oxylipin profiles in plasma of patients with Wilson's disease[J]. Metabolites, 2020, 10(6): 222.
- [24] ZHANG J, MA Y, XIE D, et al. Differentially expressed lncRNAs in liver tissues of TX mice with hepatolenticular degeneration[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 1377.
- [25] 曾靖喻. 基于 PPAR α 信号通路探讨肝豆扶木汤调控脂质代谢对 Wilson 病肝保护机制研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2025.
- ZENG J Y. Study on the hepatoprotective mechanism of Gandoufumu decoction in Wilson's disease via PPAR α signaling pathway-mediated regulation of lipid metabolism[D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2025.
- [26] XUE Q, YAN D, CHEN X, et al. Copper-dependent autophagic degradation of GPX4 drives ferroptosis[J]. Autophagy, 2023, 19(7): 1982-1996.
- [27] WANG S, LIU Z, GENG J, et al. An overview of ferroptosis in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113374.
- [28] GASCHLER M M, STOCKWELL B R. Lipid peroxidation in cell death [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 482(3): 419-425.
- [29] SONG S, SU Z, KON N, et al. ALOX5-mediated ferroptosis acts as a distinct cell death pathway upon oxidative stress in Huntington's disease[J]. Genes Dev, 2023, 37(5/6): 204-217.
- [30] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-282.
- [31] 赵晨玲, 余郭芳, 田丽伟, 等. 肝豆扶木汤对肝豆状核变性患者肝纤维化、铁代谢及铁死亡的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2025, 48(5): 625-635.
- ZHAO C L, YU G F, TIAN L W, et al. Effects of Gandou Fumu decoction on hepatic fibrosis, iron metabolism, and ferroptosis in patients with hepatolenticular degeneration[J]. J Beijing Univ Trad Chin Med, 2025, 48(5): 625-635.
- [32] RENJI S, SHAH N, MADKAIKAR M. Heme oxygenase-1 deficiency[J]. Indian Pediatr, 2021, 58(2): 196.
- [33] LI R, WEI R, LIU C, et al. Heme oxygenase 1-mediated ferroptosis in Kupffer cells initiates liver injury during heat stroke [J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14(9): 3983-4000.
- [34] XING G, MENG L, CAO S, et al. PPAR α alleviates iron overload-induced ferroptosis in mouse liver[J]. EMBO Rep, 2022, 23(8): e52280.
- [35] SUN X, OU Z, XIE M, et al. HSPB1 as a novel regulator of ferroptotic cancer cell death[J]. Oncogene, 2015, 34(45): 5617-5625.
- [36] KAGAN V E, MAO G, QU F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis[J]. Nat Chem Biol, 2017, 13(1): 81-90.
- [37] YANG W S, SRIRAMARATNAM R, WELSCH M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4[J]. Cell, 2014, 156(1-2): 317-331.
- [38] KOPPULA P, ZHANG Y, ZHUANG L, et al. Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer [J]. Cancer Commun (Lond), 2018, 38(1): 12.
- [39] 郝文杰, 杨文明, 魏涛华, 等. 基于生物信息学和细胞实验探讨肝豆扶木汤调控铁死亡治疗肝豆状核变性的作用[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3461-3468.
- HAO W J, YANG W M, WEI T H, et al. Investigation of the role of Gandoufumu decoction in regulating ferroptosis for the treatment of hepatolenticular degeneration based on bioinformatics and cell experiments[J]. Chin Pat Med, 2023, 45(10): 3461-3468.
- [40] LIU S, YAO S, YANG H, et al. Autophagy: Regulator of cell death [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(10): 648.
- [41] POLISHCHUK E V, MEROLLA A, LICHTMANNEGGER J, et al. Activation of autophagy, observed in liver tissues from patients with Wilson disease and from ATP7B-deficient animals, protects hepatocytes from copper-induced apoptosis [J]. Gastroenterology, 2019, 156(4): 1173-1189. e5.
- [42] AGGARWAL A, BHATT M. Wilson disease [J]. Curr Opin Neurol, 2020, 33(4): 534-542.
- [43] WANG Y, ZHAO H, SHAO Y, et al. Copper or/and arsenic induces autophagy by oxidative stress-related PI3K/Akt/mTOR

- pathways and cascaded mitochondrial fission in chicken skeletal muscle[J]. *J Inorg Biochem*, 2018, 188: 1-8.
- [44] HEMMINGS BA, RESTUCCIA D F. The PI3K-PKB/Akt pathway [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(4): a026609.
- [45] FAYARD E, XUE G, PARCELLIER A, et al. Protein kinase B (PKB/Akt), a key mediator of the PI3K signaling pathway [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2010, 346: 31-56.
- [46] 唐露露, 张静, 魏涛华, 等. 肝豆扶木汤对 CuCl₂ 诱导的 HepG2 细胞氧化损伤的保护作用和机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(12): 48-56.
- TANG L, ZHANG J, WEI T, et al. Protective effect and mechanism of Gandoufumu decoction on oxidative damage of HepG2 cells induced by CuCl₂ [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2021, 27(12): 48-56.
- [47] GÜNAY N, TAHERI S, MEMİŞ M, et al. Male-and female-specific microRNA expression patterns in a mouse model of methanol poisoning [J]. *Food Chem Toxicol*, 2023, 174: 113666.
- [48] LI L, HUANG Y, ZHANG Z. Expression profile of miRNAs involved in the hepatoprotective effects of curcumin against oxidative stress in Nile tilapia [J]. *Aquat Toxicol*, 2021, 237: 105896.
- [49] DALGAARD L T, SØRENSEN A E, HARDIKAR A A, et al. The microRNA-29 family: Role in metabolism and metabolic disease [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, 323(2): C367-C377.
- [50] ZHANG S, WANG Z, ZHU J, et al. Carnosic acid alleviates BDL-induced liver fibrosis through miR-29b-3p-mediated inhibition of the high-mobility group Box 1/Toll-like receptor 4 signaling pathway in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 976.
- [51] LEE E J, TOURNIER C. The requirement of uncoordinated 51-like kinase 1 (ULK1) and ULK2 in the regulation of autophagy [J]. *Autophagy*, 2011, 7(7): 689-695.
- [52] BATALLER R, BRENNER D A. Liver fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(2): 209-218.
- [53] CALÈS P, OBERTI F, MICHALAK S, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis [J]. *Hepatology*, 2005, 42(6): 1373-1381.
- [54] BONACINI M, HADI G, GOVINDARAJAN S, et al. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection [J]. *Am J Gastroenterol*, 1997, 92(8): 1302-1304.
- [55] 李顶春, 李武. TGF- β /Smad, MAPK/ERK、NF- κ B 信号通路对肝纤维化的影响 [J]. *现代免疫学*, 2017, 37(5): 427-432.
- LI D C, LI W. Effects of TGF- β /Smad, MAPK/ERK, and NF- κ B signaling pathways on liver fibrosis [J]. *Mod. Immunol*, 2017, 37(5): 427-432.
- [56] SUN Y, LIU B, XIE J, et al. Aspirin attenuates liver fibrosis by suppressing TGF- β /Smad signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2022, 25(5): 181.
- [57] SHU G, LEI X, LI G, et al. Ergothioneine suppresses hepatic stellate cell activation via promoting Foxa3-dependent potentiation of the Hint1/Smad7 cascade and improves CCl₄-induced liver fibrosis in mice [J]. *Food Funct*, 2023, 14(23): 10591-10604.
- [58] 唐露露, 刘丹青, 李睿, 等. 肝豆扶木汤对 TX 小鼠肝纤维化的保护作用及机制研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(12): 1461-1466.
- TANG L L, LIU D Q, LI R, et al. Protective effect and mechanism of Gandou Fumu decoction on WD hepatic fibrosis of model TX mice [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2018, 38(12): 1461-1466.
- [59] 曾靖喻, 唐露露, 陈洁, 等. 肝豆扶木汤对 Wilson 病小鼠肝纤维化和上皮-间质转化的干预作用 [J]. *河北中医*, 2024, 46(10): 1654-1660.
- ZENG J Y, TANG L L, CHEN J, et al. Protective effect and mechanism of Gandou Fumu decoction on WD hepatic fibrosis of model TX mice [J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2024, 46(10): 1654-1660.
- [60] SHEN H, ZHOU L, YANG Y, et al. The gut microbiota-produced vitamin B6 mitigates alcohol-associated liver disease by attenuating hepatic oxidative stress damage [J]. *Hepatol Commun*, 2025, 9(1): e0599.
- [61] TRIPATHI A, DEBELIUS J, BRENNER D A, et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(7): 397-411.
- [62] 龙胜. 肝豆汤加味方对湿热内蕴型肝豆状核变性患者胆汁酸、脂质代谢及肠道菌群的影响 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- LONG S. The effect of gandou decoction with modification on bile acid, lipid metabolism, and intestinal flora in patients with hepatolenticular degeneration of damp-heat internal type [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2020.
- [63] GENG H, SHU S, DONG J, et al. Association study of gut flora in Wilson's disease through high-throughput sequencing [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(31): e11743.
- [64] LUCERO M, SUAREZ A E, CHAMBERS J W. Phosphoregulation on mitochondria: Integration of cell and organelle responses [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(7): 837-858.
- [65] GEROSA C, FANNI D, CONGIU T, et al. Liver pathology in Wilson's disease: From copper overload to cirrhosis [J]. *J Inorg Biochem*, 2019, 193: 106-111.
- [66] ANNUNZIATO L, AMOROSO S, PANNACCIONE A, et al. Apoptosis induced in neuronal cells by oxidative stress: Role played by caspases and intracellular calcium ions [J]. *Toxicol Lett*, 2003, 139(2-3): 125-133.
- [67] SINHA K, DAS J, PAL P B, et al. Oxidative stress: The mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7): 1157-1180.
- [68] KIRKLAND R A, FRANKLIN J L. Bax, reactive oxygen, and cytochrome c release in neuronal apoptosis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2003, 5(5): 589-596.
- [69] 杨悦, 杨文明, 魏涛华, 等. 肝豆扶木汤通过 JNK 信号通路对 Wilson 病肝纤维化小鼠的干预作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(12): 119-126.
- YANG Y, YANG W M, WEI T H, et al. Intervention of

- Gandoufumu decoction on liver fibrosis in mice with Wilson's disease through JNK signaling pathway[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(12): 119-126.
- [70] TSVETKOV P, COY S, PETROVA B, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins[J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-1261.
- [71] TIAN Z, JIANG S, ZHOU J, et al. Copper homeostasis and cuproptosis in mitochondria[J]. *Life Sci*, 2023, 334: 122223.
- [72] WANG H, ZHOU Z, HU J, et al. Renal impairment in different phenotypes of Wilson disease[J]. *Neurol Sci*, 2015, 36(11): 2111-2115.
- [73] ZHANG L, LI R, WU B H, et al. Leptin activates the JAK/STAT pathway to promote angiogenesis in RF/6A cells in vitro[J]. *Int J Ophthalmol*, 2022, 15(4): 554-559.
- [74] TROCELLO J M, OSMANI K, PERNON M, et al. Hypersialorrhea in Wilson's disease[J]. *Dysphagia*, 2015, 30(5): 489-495.
- [75] 石桥,汪美霞,钱南南,等. 肝豆扶木汤联合吞咽训练对Wilson病吞咽障碍的疗效观察[J]. *南京中医药大学学报*, 2025, 41(1): 115-121.
- SHI Q, WANG M X, QIAN N N, et al. Clinical efficacy of Gandou Fumu decoction combined with swallowing training on Wilson's disease with dysphagia[J]. *J Nanjing Univ Chin Med*, 2025, 41(1): 115-121.
- [76] 周香雪,李欣蓓,初建平,等. 肝豆状核变性患者锥体外系核团功能活动的静息态功能磁共振研究[J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(9): 703-708.
- ZHOU X X, LI X B, CHU J P, et al. Resting-state functional magnetic resonance imaging study on the functional activity of extrapyramidal nuclei in patients with hepatolenticular degeneration[J]. *Chin J Neurol*, 2016, 49(9): 703-708.
- [77] WANG A, DONG T, WEI T, et al. Large-scale networks changes in Wilson's disease associated with neuropsychiatric impairments: A resting-state functional magnetic resonance imaging study[J]. *BMC Psychiatry*, 2023, 23(1): 805.
- [78] 袁年平,王安琴,武红利,等. 基于功能磁共振成像的肝豆状核变性患者纹状体亚区损害及临床分析[J]. *同济大学学报:医学版*, 2022, 43(2): 262-266.
- YUAN N P, WANG A Q, WU H L, et al. Functional magnetic resonance imaging study of striatal subregions in patients with Wilson disease[J]. *J Tongji Univ Med Sci*, 2022, 43(2): 262-266.
- [79] WANG A, WEI T, WU H, et al. Lesions in white matter in Wilson's disease and correlation with clinical characteristics[J]. *Can J Neurol Sci*, 2023, 50(5): 710-718.
- [80] 陶庄,刘继鹏,董文文,等. 肝豆扶木汤对Wilson病铜负荷大鼠中枢神经的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(8): 2727-2736.
- TAO Z, LIU J P, DONG W W, et al. The effects of Gandou Fumu decoction on the central nervous system of copper-loaded rats with Wilson's disease[J]. *Chin Pat Med*, 2025, 47(8): 2727-2736.
- [81] CRUZ-MENDOZA F, JAUREGUI-HUERTA F, AGUILAR-DELGADILLO A, et al. Immediate early gene c-fos in the brain: Focus on glial cells[J]. *Brain Sci*, 2022, 12(6): 687.
- [82] SAKURAI K. Rethinking c-Fos for understanding drug action in the brain[J]. *J Biochem*, 2024, 175(4): 377-381.
- [83] VELAZQUEZ F N, CAPUTTO B L, BOUSSIN F D. c-Fos importance for brain development[J]. *Aging (Albany NY)*, 2015, 7(12): 1028-1029.
- [84] 杨悦. 肝豆扶木汤治疗Wilson病肝纤维化临床疗效及对TX-J小鼠肝纤维化作用机制研究[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2021.
- YANG Y. Gandou Fumu decoction in the treatment of Wilson's disease liver fibrosis and its mechanism on liver fibrosis in TX-J mice[D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2021.
- [85] YANG Y, YU L, ZHU T, et al. Neuroprotective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on light-induced oxidative stress and mitochondrial damage via the Nrf2/HO-1 pathway in mouse hippocampal neurons[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 251: 126315.
- [86] HONG H, LU X, WU C, et al. A review for the pharmacological effects of paeoniflorin in the nervous system [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 898955.
- [87] QU J, XU N, ZHANG J, et al. *Panax notoginseng* saponins and their applications in nervous system disorders: A narrative review [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(22): 1525.
- [88] ZHAO X, CHEN R, SHI Y, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids from *Smilax glabra* Roxb. [J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5295.
- [89] GAO T, WANG T, WU L, et al. Saikosaponin-d alleviates depression by promoting NLRP3 ubiquitination and inhibiting inflammasome activation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 127: 111324.
- [90] FAN F, LEI M. Mechanisms underlying curcumin-induced neuroprotection in cerebral ischemia[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 893118.

[责任编辑 周冰冰]