

桂枝茯苓丸调控 mtDNA/NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路 抗肝纤维化的作用及机制

唐宇¹, 杨旭丽¹, 杨强², 王孝杰¹, 高永翔^{1*}, 李雪萍^{1*}

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 四川省乐至县中医医院, 四川 资阳 641599)

[摘要] 目的:探讨桂枝茯苓丸(GFW)抗肝纤维化的作用机制,重点解析其对线粒体DNA(mtDNA)/NOD样受体蛋白3(NLRP3)/胱天蛋白酶-1(Caspase-1)/消皮素D(GSDMD)信号通路的调控作用。方法:将42只雄性SD大鼠随机分为6组($n=7$):空白(Control)组,模型(Model)组,桂枝茯苓丸低、中、高剂量(GFW-L、GFW-M、GFW-H, 0.14、0.28、0.56 g·kg⁻¹·d⁻¹)组及大黄廑虫丸组(DZW, 1.8 g·kg⁻¹·d⁻¹),采用四氯化碳(CCl₄)腹腔注射诱导肝纤维化大鼠模型。观察大鼠一般情况;检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平;苏木素-伊红(HE)染色、马松三色(Masson)染色评估肝组织病理形态及胶原沉积;透射电镜(TEM)观察线粒体等微观细胞结构改变及损伤;流式细胞术检测线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$);酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测大鼠肝组织 mtDNA 及 NLRP3 mRNA 的表达水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝组织 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路相关蛋白的表达。结果:与 Control 组比较, Model 组大鼠体质量显著降低($P<0.01$);肝脏脏器系数显著升高($P<0.01$);血清 ALT、AST 水平显著升高($P<0.01$);肝组织呈现肝细胞结构紊乱伴炎性浸润,胶原沉积面积增加等典型纤维化特征;TEM 显示核膜变性、线粒体肿胀、内质网扩张、细胞器外溢等; $\Delta\Psi_m$ 显著降低($P<0.01$);肝组织 mtDNA、NLRP3 mRNA 水平显著升高($P<0.01$), NLRP3、Caspase-1、GSDMD 表达显著升高($P<0.01$), IL-1 β 、IL-18 表达显著增多($P<0.01$)。与 Model 组比较, GFW-L 组、GFW-M 组和 DZW 组大鼠体质量明显升高($P<0.05$), GFW-H 组体质量显著升高($P<0.01$); GFW 各组和 DZW 组肝脏脏器系数显著下降($P<0.01$); GFW-L 组血清 ALT 明显下降($P<0.05$), GFW-M 组、GFW-H 组和 DZW 组血清 ALT、AST 显著降低($P<0.01$);肝组织病理损伤及纤维化不同程度减轻;TEM 显示线粒体自噬,线粒体肿胀、内质网扩张等超微结构损伤不同程度减轻;GFW 各组 $\Delta\Psi_m$ 升高但差异无统计学意义;GFW-M 组 mtDNA mRNA 明显下降($P<0.05$), GFW-H 组和 DZW 组 mtDNA mRNA 显著降低($P<0.01$), GFW-M 组、GFW-H 组和 DZW 组 NLRP3 mRNA 显著降低($P<0.01$);Western blot 结果显示, GFW 各剂量组和 DZW 组 NLRP3 蛋白表达显著下调($P<0.01$), GFW-H 组和 DZW 组 GSDMD-N 蛋白表达显著下调($P<0.01$), GFW-M 组剪切的(cleaved) Caspase-1 蛋白表达明显下调($P<0.05$), GFW-H 组和 DZW 组 cleaved Caspase-1 蛋白表达显著下调($P<0.01$);GFW-H 组和 DZW 组 IL-1 β 、IL-18 表达水平显著下调($P<0.01$)。结论:GFW 能够通过抑制细胞焦亡改善 CCl₄ 诱导的肝纤维化,其机制可能与减轻线粒体损伤、抑制炎症小体组装及活化、阻止炎症因子释放有关。

[关键词] 桂枝茯苓丸;肝纤维化;线粒体损伤;焦亡

[中图分类号] R289;R259;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)14-0091-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252001

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20250903.1115.001>

[网络出版日期] 2025-09-03 14:18:47 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Guizhi Fulingwan Alleviate Hepatic Fibrosis by Modulating mtDNA/NLRP3/Caspase-1/GSDMD Signaling Pathway

TANG Yu¹, YANG Xuli¹, YANG Qiang², WANG Xiaojie¹, GAO Yongxiang^{1*}, LI Xueping^{1*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;

[收稿日期] 2025-06-10

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81904179);四川省自然科学基金项目(2023NSFSC1831);成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划项目(QNXZ2020001)

[第一作者] 唐宇,在读硕士,从事中医药防治风湿免疫相关疾病研究,E-mail:tangyu8623@stu.cdutcm.edu.cn

[通信作者] *高永翔,博士,教授,博士生导师,从事中药免疫药理毒理研究、中医药防治风湿免疫病的转化医学研究,E-mail:drgaoyx@cdutcm.edu.cn;

*李雪萍,博士,副教授,从事玄府学说与络病的理论与应用基础研究,E-mail:jclixueping@cdutcm.edu.cn

2. Sichuan Lezhi County Hospital of TCM, Ziyang 641599, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of Guizhi Fulingwan (GFW) against hepatic fibrosis, focusing on elucidating the regulatory effect of GFW on the mitochondrial DNA (mtDNA)/NOD-like receptor protein 3 (NLRP3)/cysteinyl aspartate-specific proteinase-1 (Caspase-1)/gasdermin D (GSDMD) signaling pathway. **Methods:** Forty-two male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly allocated into six groups ($n=7$): control, model, low/medium/high-dose (0.14, 0.28, 0.56 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) GFW (GFW-L, GFW-M, GFW-H), and Dahuang Zhechong pills (DZW, 1.8 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). The rat model of hepatic fibrosis was induced by intraperitoneal injection of carbon tetrachloride. General conditions of the rats were observed. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels were measured. Liver histopathology and collagen deposition were observed through hematoxylin and eosin (HE) staining and Masson's trichrome staining. Transmission electron microscopy (TEM) was employed to observe structural alterations and damage of cellular ultrastructures including mitochondria. Mitochondrial membrane potential (MMP, $\Delta\Psi_m$) was detected by flow cytometry. Serum levels of interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18 (IL-18) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA levels of mtDNA and NLRP3 in the liver tissue were quantified by Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR). The protein levels of key molecules in the NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway in the liver tissue were determined by Western blot. **Results:** Compared with the control group, the model group exhibited a decrease in body weight ($P<0.01$), an increase in liver index ($P<0.01$), elevations in serum ALT and AST levels ($P<0.01$), and typical fibrotic features such as disorganized hepatocytes, inflammatory infiltration, and increased collagen deposition in the liver tissue. TEM revealed significant karyotheca degeneration, mitochondrial swelling, endoplasmic reticulum expansion, and organelle efflux in the model group. In addition, the model group showed decreased $\Delta\Psi_m$ ($P<0.01$), up-regulated mRNA levels of mtDNA and NLRP3 ($P<0.01$) and protein levels of NLRP3, Caspase-1, and GSDMD ($P<0.01$) in the liver tissue, and increased serum levels of IL-1 β and IL-18 ($P<0.01$). Compared with that in the model group, the body weight increased in GFW-L, GFW-M, and DZW groups ($P<0.05$) and markedly increased in the GFW-H group ($P<0.01$). The liver index decreased in the GFW groups and DZW group ($P<0.01$). The serum ALT level declined in the GFW-L group ($P<0.05$), and the serum ALT and AST levels decreased in the GFW-M, GFW-H, and DZW groups ($P<0.01$). Histopathological damage and fibrosis were alleviated to varying degrees, and TEM revealed mitigated ultrastructural injuries including mitophagy, mitochondrial swelling, and endoplasmic reticulum expansion in the drug intervention groups. The $\Delta\Psi_m$ increased in GFW groups without statistical significance. The mRNA level of mtDNA in the liver tissue was down-regulated in the GFW-M ($P<0.05$), GFW-H ($P<0.01$), and DZW ($P<0.01$) groups. The mRNA level of NLRP3 was down-regulated in GFW-M, GFW-H, and DZW groups ($P<0.01$). Western blot analysis showed significantly down-regulated protein level of NLRP3 in all the GFW groups and the DZW group ($P<0.01$). The protein level of GSDMD-N was down-regulated in GFW-H and DZW groups ($P<0.01$). The protein level of cleaved Caspase-1 was down-regulated in GFW-M ($P<0.05$), GFW-H ($P<0.01$), and DZW ($P<0.01$) groups. In addition, the serum levels of IL-1 β and IL-18 declined in GFW-H and DZW groups ($P<0.01$). **Conclusion:** GFW can suppress pyroptosis to ameliorate CCl_4 -induced hepatic fibrosis, potentially through mitigating mitochondrial damage, inhibiting inflammasome assembly and activation, and blocking pro-inflammatory cytokine release.

[Keywords] Guizhi Fulingwan; hepatic fibrosis; mitochondrial damage; pyroptosis

肝纤维化是慢性肝损伤后异常修复的病理结局,以 I 型胶原、III 型胶原及纤维连接蛋白为主的细胞外基质(ECM)过度沉积为特征,可进一步进展为肝硬化、肝功能衰竭甚至肝细胞癌(HCC)^[1-3]。流行病学数据显示,全球约 15 亿人罹患慢性肝病,其年龄标准化患病率自 2000 年以来上涨 13%,达 20.7/10 万人,其中合并代谢综合征患者进展性肝纤维化风险显著升高^[4-5]。尽管抗纤维化药物研发取得进展(如奥贝胆酸、瑞美替隆),但其安全性与疗效仍受限,临床亟需有效的可替代干预策略^[6-7]。

肝脏作为机体代谢与解毒的核心器官,其功能高度依赖线粒体能量供应,而线粒体稳态失衡是肝纤维化的关键驱动因素。线粒体损伤导致活性氧

(ROS)蓄积及线粒体 DNA(mtDNA)损伤泄漏^[8],后者作为线粒体损伤相关分子模式(mito-DAMPs)通过 Toll 样受体 9(TLR9)激活炎症通路,促进肝星状细胞(HSCs)活化并向成纤维细胞转化,进而促进 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)激活及 ECM 沉积^[9-10]。焦亡(Pyroptosis)是一种由消皮素(GSDM)蛋白介导的程序性细胞死亡形式^[11]。肝纤维化过程中,肝脏实质细胞与肝窦内皮细胞(LSECs)、库普弗细胞(KCs)及 HSCs 等非实质细胞可通过 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体感知 mito-DAMPs 信号,激活胱天蛋白酶-1(Caspase-1)并剪切白细胞介素-1 β (IL-1 β)与白细胞介素-18(IL-18)前体,诱导焦亡执行蛋白 GSDMD 介导的细胞焦亡,形成“线粒体损

伤-炎症级联反应-细胞焦亡”恶性循环,进一步加剧肝纤维化进程^[12-14]。

桂枝茯苓丸(GFW)源于《金匱要略》,为经典活血化瘀方剂。临床研究表明,其可改善肝纤维化患者肝功能指标,使血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)/天冬氨酸氨基转移酶(AST)下降30%~45%,下调乙型肝炎纤维化血清肝纤四项水平^[15-16]。动物实验亦证明GFW混悬液能调控转化生长因子- β (TGF- β)/Smad信号通路并抑制HSCs活化^[17-19]。课题组前期研究发现,该方能减轻四氯化碳(CCl₄)模型大鼠胶原沉积,机制涉及调控氧化应激与血管增生^[20-21],但其是否通过干预线粒体损伤介导的炎症焦亡途径尚未明确。因此,本实验研究基于CCl₄诱导的大鼠肝纤维化模型,并以大黄廬虫丸为阳性药物^[22-23],观察GFW对大鼠体质量、肝功能、肝脏病理、肝细胞线粒体等微观结构、线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)、mtDNA、炎症因子释放、焦亡相关蛋白(NLRP3、Caspase-1、GSDMD)表达的影响,旨在探究GFW调控mtDNA/NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路抗纤维化的新机制,为中医药治疗肝纤维化提供新的实验室依据。

1 材料

1.1 动物 选用SPF级雄性SD大鼠42只,6周龄,初始体质量(203±14)g,购自北京斯贝福生物技术有限公司,实验动物生产合格证号SCXK(京)2019-0010。所有大鼠于标准化屏障环境中饲养,环境条件严格调控:温度(22±2)℃、相对湿度(50±5)%、12h昼夜明暗循环,通风系统持续运行,自由摄食饮水。

1.2 伦理 实验方案经成都中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(批准号2024040),符合国家《实验动物福利伦理审查指南》及国际实验动物护理与使用规范(如ARRIVE 2.0)。

1.3 药品 GFW(成都九芝堂金鼎药业有限公司,国药准字Z20053256,批号231001),由桂枝、茯苓、桃仁、牡丹皮、赤芍等量配伍组成;大黄廬虫丸(国药准字Z11021241,批号23011046)购自北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂黄芩、地黄、白芍、甘草等,并以蜂蜜为黏合剂制备。

1.4 试剂 橄榄油(北京索莱宝科技有限公司,批号A1230522001);CCl₄(上海阿达玛斯试剂有限公司,批号01376247); $\Delta\Psi_m$ 检测试剂盒JC-1(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号E-CK-A301);大鼠IL-1 β 、IL-18酶联免疫吸附测定法(ELISA)试

剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号分别为RA20020、RA20058);快速RNA提取试剂盒、Evo-MLV反转录预混试剂盒、SYBR Green检测试剂盒实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒[艾科瑞(AG)生物科技有限公司,批号分别为AG21023、AG11728、AG11701];二喹啉甲酸(BCA)检测试剂盒、预染蛋白Marker(美国赛默飞世尔科技公司,批号分别为A65453、26616);苏木素-伊红(HE)、马松(Masson)染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,货号分别为BA4025、BA4079B);NLRP3抗体、Caspase-1(剪切端)抗体、山羊抗兔二抗(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号分别为a5652、A16792、AS014);GSDMD抗体(美国Abcam公司,货号ab219800);Caspase-1抗体(美国Cell Signaling Technology公司,货号#83383);GSDMD-N抗体[艾比玛特生物医药(上海)有限公司,货号PU224937]; β -肌动蛋白(β -actin)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号66009-1-Ig)。

1.5 仪器 MS23型光学显微镜(日本Olympus公司);S10型高速匀浆研磨仪(宁波新芝公司);40266883型高速冷冻离心机(德国Heraeus公司);FQD-96A型恒温金属浴仪(美国赛默飞公司);CMax Plus型酶标仪(上海美谷分子仪器公司);FQD-96X型Real-time PCR仪(杭州博日公司);K5600C型超微量分光光度计(北京凯奥科公司);Mini-PROTEAN3型凝胶电泳仪(美国Bio-Rad公司);GelView 6000Plus型智能凝胶成像仪(广州博鹭腾公司);CytoFLEX型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司);HT7800型透射电子显微镜(日本日立公司);BP61S型精密天平(德国赛多利斯公司)。

2 方法

2.1 肝纤维化动物模型制备 SPF级雄性SD大鼠42只,适应性饲养1周后,采用随机数字表法选取7只作为空白组(Control组),剩余35只通过左右腹腔交替注射CCl₄油剂(CCl₄-橄榄油2:3)构建肝纤维化大鼠模型,注射剂量按照1 mL·kg⁻¹每周注射2次,持续12周,在造模成功后药物干预4周,方案参照肝纤维化病理进展文献及预实验结果^[24]。

2.2 分组及给药 造模结束后,将35只成模大鼠随机分为5组($n=7$):模型组(Model组),桂枝茯苓丸低、中、高剂量组(GFW-L、GFW-M、GFW-H组0.14、0.28、0.56 g·kg⁻¹·d⁻¹)及大黄廬虫丸组(DZW组,1.8 g·kg⁻¹·d⁻¹)。给药剂量依据体表面积折算(以

成人临床等效剂量的0.5、1、2倍界定,其中大黄廑虫丸组以人等效剂量的2倍作为参照)^[25]。GFW经超微粉碎后以纯水混悬给药;大黄廑虫丸直接以纯水溶解给药。

2.3 样本采集 末次给药后禁食12 h,以1.5%戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉。经腹主动脉采血,室温静置2 h后,3 500×g离心15 min(离心半径10 cm),分离血清并分装于-80 °C保存。完整摘取肝脏并称质量后,取部分左叶固定于2.5%戊二醛及预冷的磷酸盐缓冲液(PBS),剩余左肝固定于4%多聚甲醛(光镜观察);右叶分装后液氮速冻并转移至-80 °C冻存。

2.4 指标检测

2.4.1 体质量与脏器系数 所有大鼠于麻醉前测量体质量并记录。牺牲后完整摘取肝脏,精密电子天平称量肝脏质量,统计肝脏脏器系数(肝脏湿质量/体质量×100%)。

2.4.2 血清生化分析 腹主动脉采血离心取上清后,每样取血清200 μL并使用全自动生化分析仪检测ALT及AST。

2.4.3 肝组织病理学分析 取肝左叶组织,经4%多聚甲醛固定48 h,流水冲洗后梯度乙醇脱水(70%、80%、90%、95%、100%、100%),环保透明脱蜡液透明,石蜡包埋。制备4 μm厚连续切片,分别进行HE染色及Masson三色染色(铁苏木素、丽春红、苯胺蓝),光镜下评估炎症浸润与胶原沉积。

2.4.4 透射电镜检测 取肝左叶组织块1 mm³,2.5%戊二醛4 °C预固定24 h以上,1%锇酸后固定2 h,乙酸铀块染1 h。丙酮梯度脱水(50%、70%、90%、100%)后,环氧树脂包埋。超薄切片机切取80 nm切片,柠檬酸铅染色,裱贴于200目铜网,透射电镜下观察肝细胞线粒体、内质网等超微结构并采集图像。

2.4.5 流式细胞检测 取肝左叶新鲜组织,预冷PBS冲洗后剪切成2~3 mm³碎块,采用IV型胶原酶(1 g·L⁻¹)37 °C消化30 min,200目滤网过滤获得单细胞悬液。PBS洗涤2次后,以流式缓冲液[含2%胎牛血清(FBS)]重悬细胞,调整密度至1×10⁷个/mL,取5×10⁵个细胞,按JC-1试剂盒附带说明逐步染色,检测红绿荧光比值($Ex/Em=488/530$ nm vs 488/585 nm),FlowJo V10软件分析 $\Delta\Psi_m$ 变化。

2.4.6 ELISA检测血清IL-1 β 、IL-18含量 取出保存于-80 °C的血清样本冰上解冻后,按IL-1 β 及IL-18 ELISA试剂盒操作,配置好标准品后,再分别

向不同的孔中加入不同的样品及标准品,37 °C孵育30 min,用洗液洗涤5次,每次拍干;最后加入显色液避光反应15 min,加入终止液终止后,将样本放入酶标仪中于450 nm波长下检测样本的吸光度A。

2.4.7 Real-time PCR检测大鼠肝组织相关mRNA表达 精确称取肝右叶组织5 mg,快速RNA提取试剂盒裂解提取总RNA,使用超微分光光度计检测纯度($A_{260}/A_{280}=1.8\sim 2.0$)及浓度,取RNA 1 μg,Evov-MLV反转录试剂盒合成cDNA;SYBR Green预混液配制反应体系(10 μL),引物终浓度0.2 μm,PCR仪运行程序:95 °C 30 s,(95 °C 5 s,60 °C 30 s)40循环,熔解曲线分析。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参,2^{ΔΔCt}法计算mtDNA及NLRP3的mRNA相对表达量,引物序列由塞维尔生物科技有限公司设计并合成,见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primers sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
mtDNA	上游 AAGAGTGGGCAGACCGTTTT	194
	下游 GTCTTGAGCTGCGATCCTGTCT	
NLRP3	上游 CTGAAGCATCTGCTCTGCAACC	87
	下游 AACCAATGCGAGATCCTGACAAC	
GAPDH	上游 CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138
	下游 GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT	

注:mtDNA引物靶向线粒体D-loop区

2.4.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝组织相关蛋白的表达 称取适量组织放入无菌离心管,加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液(RIPA裂解液+蛋白酶抑制剂+磷酸酶抑制剂)及研磨珠后进行研磨匀浆,冰上静置0.5 h,4 °C、12 000×g离心15 min,取上清。BCA法测定蛋白浓度,调整上样量为25~50 μg/孔。10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳分离蛋白,湿转法(400 mA,20~30 min)转印至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜;5%脱脂牛奶室温封闭2 h,一抗[NLRP3 1:4 000, Caspase-1 1:1 000, 剪切的(cleaved) Caspase-1 1:4 000, GSDMD 1:1 000, GSDMD-N 1:1 000, β -actin 1:5 000]4 °C孵育12~16 h, TBST洗涤5 min×5;辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗(1:10 000)室温孵育1~1.5 h, TBST洗涤5 min×5次;增强化学发光法(ECL)化学发光底物显影成像,Image J分析条带灰度值,以 β -actin为内参计算相对表达量。

2.5 统计学分析 数据使用 GraphPad Prism 10 软件统计分析, 先进行 Shapiro-Wilk 正态性检验和 Levene's 方差齐性检验, 符合正态性分布及方差齐性, 则采用单因素方差分析及最小显著性差异法 (LSD) 检验, 所有数据均采 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态性分布及方差齐性, 则采用 Kruskal-Wallis 检验, 并使用 Dunn's *t* 检验进行两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 GFW 对 CCl₄ 肝纤维化大鼠体质量、肝脏脏器系数系数的影响 与 Control 组比较, Model 组大鼠体质量

显著降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 肝脏脏器系数显著增高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。与 Model 组比较, GFW-L 组、GFW-M 组、GFW-H 组和 DZW 组体质量明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 肝脏脏器系数均显著下降 ($P < 0.01$)。见表 2。

3.2 GFW 对 CCl₄ 肝纤维化大鼠血清 ALT 和 AST 的影响 与 Control 组比较, Model 组血清 ALT、AST 水平显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。与 Model 组比较, GFW-L 组 ALT 水平明显降低 ($P < 0.05$), GFW-M 组、GFW-H 组及 DZW 组 ALT、AST 水平均显著降低 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 GFW 对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠体质量、肝脏脏器系数、肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)

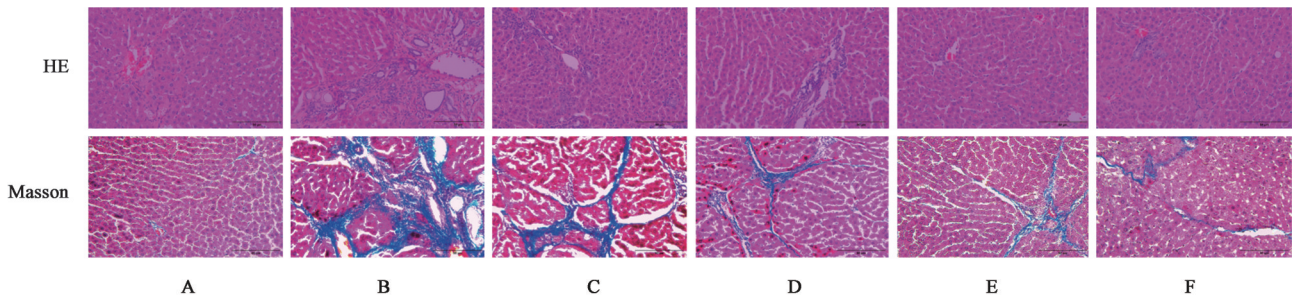
Table 2 Effect of GFW on body weight, liver organ coefficient and liver function in CCl₄-induced hepatic fibrosis rats ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体质量/g	肝脏脏器系数	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
Control 组		562.54±35.67	0.023 2±0.002 5	36.71±4.82	68.14±24.96
Model 组		397.71±58.53 ¹⁾	0.033 7±0.004 0 ¹⁾	82.80±28.91 ¹⁾	186.29±62.43 ¹⁾
GFW-L 组	0.14	477.47±42.13 ²⁾	0.026 0±0.002 7 ³⁾	51.71±12.13 ²⁾	154.86±19.31
GFW-M 组	0.28	476.29±31.06 ²⁾	0.026 1±0.002 4 ³⁾	41.60±18.82 ³⁾	103.01±28.41 ³⁾
GFW-H 组	0.56	498.69±46.68 ³⁾	0.025 3±0.004 0 ³⁾	40.29±4.77 ³⁾	103.89±28.66 ³⁾
DZW 组	1.8	470.19±40.92 ²⁾	0.025 3±0.002 2 ³⁾	46.17±8.42 ³⁾	95.51±9.02 ³⁾

注: 与 Control 组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与 Model 组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 3-表 5 同)

3.3 GFW 对 CCl₄ 肝纤维化大鼠组织病理学影响 Control 组大鼠肝细胞及肝小叶结构清晰, 形态完整, 可见少量蓝色胶原纤维沉积。Model 组大鼠肝组织肝细胞排列无序, 炎性细胞浸润明显, 胶原纤维沉

积显著增多。与 Model 组比较, GFW 各给药组及 DZW 组, 病理损伤不同程度改善, 肝细胞结构恢复, 炎性浸润减少, 胶原沉积面积明显减少, 其中 GFW-H 组和 DZW 组干预后病理改善效果明显。见图 1。



注: A. Control 组; B. Model 组; C. GFW-L 组; D. GFW-M 组; E. GFW-H 组; F. DZW 组 (图 2、图 3 同)

图 1 GFW 对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠肝脏组织病理学的影响 ($\times 200$)

Fig. 1 Effect of GFW on liver histopathology in CCl₄-induced hepatic fibrosis rats ($\times 200$)

3.4 GFW 对 CCl₄ 肝纤维化大鼠肝脏超微结构的影响 Control 组的肝组织微观结构正常, 肝细胞呈多边形分布, 排列整齐, 边界清晰, 核膜光滑圆润, 线粒体形态正常, 内质网清晰, 分布均匀, 断面上偶见正常状态的 KCs。Model 组大鼠可见肝细胞间分界不清并与红细胞接触、细胞膜破坏伴细胞碎裂、细胞器散入细胞间质、淋巴细胞及中性粒细胞等聚集, 一侧有明显的纤维

间隔形成, 线粒体数量减少并伴有肿胀、嵴减少, 内质网形态紊乱, 网腔扩张, 细胞核变性及异染色质分布异常, 核膜凹凸皱缩。与 Model 组比较, GFW 各剂量组和 DZW 组的肝细胞及损伤、核变性不同程度恢复, 细胞器的损伤减轻, 线粒体自噬增加。见图 2。

3.5 GFW 对 CCl₄ 肝纤维化大鼠肝脏 $\Delta\Psi_m$ 的影响 与 Control 组比较, Model 组大鼠肝细胞 $\Delta\Psi_m$ 显著

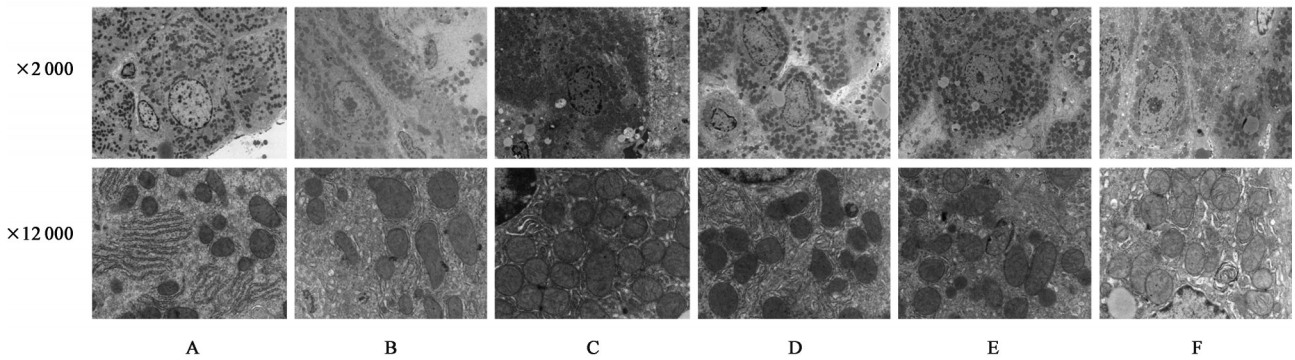


图2 GFW对CCl₄致肝纤维化大鼠肝细胞线粒体等超微结构的影响(透射电镜)

Fig. 2 Effect of GFW on ultrastructural features (such as mitochondria) of liver cells in rats with hepatic fibrosis caused by CCl₄ (TEM)

降低40循环($P<0.01$)。与Model组比较,GFW各剂量组及DZW组 $\Delta\Psi_m$ 有回升趋势,但差异无统计学意义。见表3。

3.6 GFW对CCl₄肝纤维化大鼠炎症因子的影响
与Control组比较,Model组大鼠血清IL-1 β 及IL-18水平显著升高($P<0.01$)。与Model组比较,GFW-H组和DZW组IL-1 β 及IL-18释放水平显著降低($P<0.01$)。见表3。

表3 GFW对CCl₄致肝纤维化大鼠肝脏 $\Delta\Psi_m$ 及血清炎症因子水平的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of GFW on mitochondrial membrane potential and serum inflammatory factor levels in liver of rats with hepatic fibrosis induced by CCl₄ ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	$\Delta\Psi_m(n=3)$	IL-1 $\beta(n=6)$ /pg·L ⁻¹	IL-18($n=6$) /pg·L ⁻¹
Control组		1.36±0.22	23.69±10.16	82.96±21.27
Model组		0.44±0.06 ¹⁾	63.57±9.55 ¹⁾	141.55±30.69 ¹⁾
GFW-L组	0.14	0.56±0.16	51.32±14.21	115.14±11.64
GFW-M组	0.28	0.69±0.17	48.08±13.81	112.90±11.20
GFW-H组	0.56	0.83±0.17	34.80±9.43 ³⁾	98.93±16.07 ³⁾
DZW组	1.8	0.93±0.45	30.99±17.87 ³⁾	99.52±17.00 ³⁾

3.7 GFW对CCl₄肝纤维化大鼠肝组织mtDNA和NLRP3 mRNA表达的影响
与Control组比较,Model组大鼠肝组织mtDNA、NLRP3 mRNA表达显著升高($P<0.01$)。与Model组比较,GFW-M组、GFW-H组和DZW组mtDNA、NLRP3 mRNA表达明显升高($P<0.05, P<0.01$)。见表4。

3.8 GFW对CCl₄肝纤维化大鼠肝组织NLRP3、Caspase-1、GSDMD蛋白表达的影响
与Control组比较,Model组NLRP3、cleaved Caspase-1及GSDMN-N表达水平均显著上调($P<0.01$)。与Model组比较,GFW各剂量组NLRP3显著降低($P<0.01$);GFW-H组和DZW组GSDMD-N表达水

表4 GFW对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织mtDNA和NLRP3 mRNA表达的影响($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 4 Effect of GFW on expression of mtDNA and NLRP3 mRNA in liver tissues of rats with hepatic fibrosis caused by CCl₄ ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NLRP3	mtDNA
Control组		1.00±0.00	1.00±0.00
Model组		9.80±2.18 ¹⁾	7.80±4.48 ¹⁾
GFW-L组	0.14	8.46±3.04	4.87±1.90
GFW-M组	0.28	4.62±2.07 ²⁾	3.13±0.96 ³⁾
GFW-H组	0.56	1.87±0.59 ³⁾	1.47±0.71 ³⁾
DZW组	1.8	1.53±0.43 ³⁾	1.15±0.29 ³⁾

平显著降低($P<0.01$);GFW-M组、GFW-H组和DZW组cleaved Caspase-1的表达水平明显下调($P<0.05, P<0.01$)。见图3、表5。

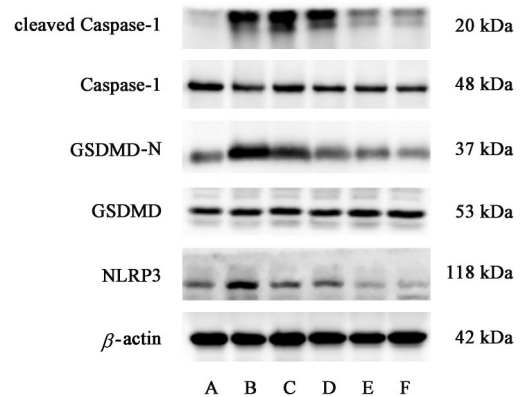


图3 各组大鼠肝组织NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路相关蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of expression of NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway-related proteins in hepatic tissues of each group of rats

4 讨论

线粒体损伤通过释放细胞色素C、活性氧(ROS)和mtDNA等信号分子,激活Caspase-1和

表5 GFW对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织NLRP3、Caspase-1、GSDMD相关蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 5 Effect of GFW on protein expressions of NLRP3, Caspase-1, GSDMD in liver tissues of rats with liver fibrosis caused by CCl₄ ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	NLRP3 /β-actin	GSDMD-N /GSDMD	cleaved Caspase-1 /Caspase-1
Control组		1.03±0.30	1.00±0.22	1.00±0.35
Model组		2.21±0.13 ¹⁾	2.14±0.18 ¹⁾	7.67±0.96 ¹⁾
GFW-L组	0.14	1.18±0.34 ³⁾	1.82±0.09	5.55±1.00
GFW-M组	0.28	1.01±0.23 ³⁾	1.22±0.39	4.88±0.68 ²⁾
GFW-H组	0.56	0.93±0.42 ³⁾	0.97±0.34 ³⁾	2.48±0.44 ³⁾
DZW组	1.8	1.01±0.55 ³⁾	0.69±0.28 ³⁾	2.44±0.59 ³⁾

NLRP3炎性小体,进而导致GSDMD介导的质膜孔形成^[26]。这一过程形成正反馈循环,放大炎症反应并加剧细胞损伤,是驱动细胞焦亡的核心机制。肝纤维化作为慢性肝病进展的核心病理环节,其动态可逆性特征已逐渐被认知^[27-28]。据此,课题组研究了GFW对CCl₄肝纤维化大鼠模型线粒体损伤、mtDNA/NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路、焦亡等的影响,进一步探究其抗纤维化的作用及机制。

研究结果显示,GFW能有效保护肝功能并减轻肝组织病理性损伤,进一步验证了其抗肝纤维化的作用。 $\Delta\Psi_m$ 下降是线粒体损伤标志之一,研究结果显示Model组大鼠肝细胞 $\Delta\Psi_m$ 显著降低,但与Model组比较,GFW各剂量组及DZW组 $\Delta\Psi_m$ 虽有回升趋势,但差异无统计学意义,可能与样本统计量较小相关,后续将进一步探究。mtDNA作为mito-DAMPs可以激活NLRP3炎性小体,促进Caspase-1介导的IL-1 β 、IL-18成熟及GSDMD依赖性细胞焦亡^[29-30]。焦亡通过“爆发式”释放炎症介质,放大炎症级联反应,已被证实参与肝纤维化的发生发展^[31-33](GFW抗肝纤维化机制图见增强出版附加材料)。GSDMD作为有效的焦亡执行蛋白,含成孔结构域N端和阻遏结构域C端两个保守结构域,当宿主受到内外源性因子刺激时,炎性Caspase可裂解GSDMD,导致其N端与C端解离,随后,寡聚化的GSDMD-N在细胞膜上形成孔道^[34-35]。这些孔道允许成熟的IL-1 β 和IL-18等小分子炎症介质及活化的Caspase-1等释放至胞外,最终导致细胞膜破裂,引发细胞焦亡^[36]。本研究结果显示GFW-H组能显著下调焦亡通路关键蛋白NLRP3、cleaved Caspase-1及GSDMN-N的表达,并减少IL-1 β 与IL-18的释放,表明GFW可能通过抑制NLRP3/

Caspase-1/GSDMD信号通路减轻促炎反应和肝细胞焦亡。值得注意的是,GFW-H组对焦亡通路的显著抑制强于中、低剂量,提示其抗炎效应存在剂量依赖性阈值,这与临床用药需足量方显效的经验相符。典型的焦亡过程涉及细胞肿胀、细胞膜表面出现气球样泡,最终导致质膜孔道形成和细胞破裂^[34,37]。本研究透射电镜观察上述典型特征并不显著,仅表现为细胞膜破坏、细胞器外溢,伴随线粒体肿胀和内质网扩张^[38],表明GFW干预可能有效抑制了焦亡进程向后期大规模的膜破裂发展,使得形态学改变不如其他指标变化典型。此外,焦亡可能主要发生在KCs^[39-40]、HSCs^[41-42]等特定细胞类型中,有待后续研究进一步明确。

本研究以CCl₄肝纤维化模型大鼠为研究对象,研究结果显示GFW可能通过抑制mtDNA/NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路,减轻肝细胞线粒体损伤及由此介导的炎性小体活化,抑制肝细胞焦亡,从而改善肝纤维化,但CCl₄诱导的慢性肝损伤模型难以完全模拟人类慢性肝病的代谢紊乱特征,未来可结合胆汁淤积(BDL)或高脂饮食等模型验证有效性的普适性^[43]。目前临床上暂无批准应用于临床的有效抗肝纤维化药物,但在未来研究中仍应囊括具有明确靶向机制的西药作为参照,如水飞蓟素、秋水仙碱等^[44-46]。4周的实验给药周期不长,或未能完全评估长期用药导致的免疫抑制或肠道菌群紊乱,后续需开展慢性毒性研究加以论证。GFW成分复杂,可多靶点发挥作用,焦亡亦由多信号通路调控。本研究仅聚焦于NLRP3/Caspase-1/GSDMD经典通路,后续可进一步结合质谱分析和网络药理学等方法,更深入探究以期明确GFW有效成分与焦亡信号通路的调控关系。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] YUAN H, XU R, LI S, et al. The malignant transformation of viral hepatitis to hepatocellular carcinoma: Mechanisms and interventions[J]. Med Comm, 2025, 6(3): e70121.

[2] HAMMERICH L, TACKE F. Hepatic inflammatory responses in liver fibrosis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(10): 633-646.

[3] BERUMEN J, BAGLIERI J, KISSELEVA T, et al. Liver fibrosis: Pathophysiology and clinical implications [J]. WIREs Mech Dis, 2021, 13(1): e1499.

[4] MOON A M, SINGAL A G, TAPPER E B. Contemporary epidemiology of chronic liver disease and cirrhosis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18(12): 2650-2666.

- [5] MAN S L M, DENG Y H, MA Y, et al. Prevalence of liver steatosis and fibrosis in the general population and various high-risk populations: A nationwide study with 5.7 million adults in China [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165 (4) : 1025-1040.
- [6] TACKE F, PUENGEL T, LOOMBA R, et al. An integrated view of anti-inflammatory and antifibrotic targets for the treatment of NASH [J]. *J Hepatol*, 2023, 79(2) : 552-566.
- [7] BHUSHAN S, SOHAL A, NOUREDDIN M, et al. Resmetirom: The first approved therapy for treating metabolic dysfunction associated steatohepatitis [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2025, 26(6) : 663-675.
- [8] SHAN S, CHAO S, LIU Z, et al. TREM2 protects against inflammation by regulating the release of mito-DAMPs from hepatocytes during liver fibrosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 220 : 154-165.
- [9] TSUCHIDA T, FRIEDMAN S L. Mechanisms of hepatic stellate cell activation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(7) : 397-411.
- [10] LU P, ZHENG H, MENG H, et al. Mitochondrial DNA induces nucleus pulposus cell pyroptosis via the TLR9-NF-kappaB-NLRP3 axis [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1) : 389.
- [11] LIU X, XIA S, ZHANG Z, et al. Channelling inflammation: Gasdermins in physiology and disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(5) : 384-405.
- [12] AN P, WEI L L, ZHAO S, et al. Hepatocyte mitochondria-derived danger signals directly activate hepatic stellate cells and drive progression of liver fibrosis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1) : 2362.
- [13] KNORR J, WREE A, TACKE F, et al. The NLRP3 inflammasome in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Semin Liver Dis*, 2020, 40(3) : 298-306.
- [14] CHARAN H V, DWIVEDI D K, KHAN S, et al. Mechanisms of NLRP3 inflammasome-mediated hepatic stellate cell activation: Therapeutic potential for liver fibrosis [J]. *Genes Dis*, 2023, 10(2) : 480-494.
- [15] 李鲜, 李永亮. 运用桂枝茯苓丸加味治疗肝纤维化经验 [J]. *中医研究*, 2016, 29(2) : 45-46.
- LI X, LI Y L. Experience in treating liver fibrosis with modified Guizhi Fuling pill [J]. *Tradit Chin Med Res*, 2016, 29(2) : 45-46.
- [16] 李季, 叶军, 薛冬英, 等. 桂枝茯苓丸抗大鼠肝纤维化作用及其机制研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(24) : 171-175.
- LI J, YE J, XUE D Y, et al. Study on inhibition and mechanism of Guizhi Fuling Wan on hepatic fibrosis rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2011, 17(24) : 171-175.
- [17] 张瑜. 桂枝茯苓丸加味治疗乙肝肝纤维化(瘀血阻络型)的临床观察 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.
- ZHANG Y. The clinical observation of Guizhi Fuling pill on the treatment of chronic hepatitis B with hepatic fibrosis (blood stasis type) [D]. Zhengzhou: Henan University of Chinese Medicine, 2016.
- [18] 李小红, 叶军, 王佩. 桂枝茯苓丸对大鼠肝脏纤维化的防治作用及其对肝组织病理学形态的影响 [J]. *抗感染药学*, 2020, 17(10) : 1411-1416.
- LI X H, YE J, WANG P. Study on prevention and treatment by using Guizhi Fuling pill in liver fibrosis of rats and its influence on histopathological morphology [J]. *Anti-Infect Pharm*, 2020, 17(10) : 1411-1416.
- [19] 徐宝贵. 桂枝茯苓丸防治小鼠肝纤维化的分子机制研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2022.
- XU B G. Study on molecular mechanism research of Guizhi Fuling pill in preventing and treating liver fibrosis in mice [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2022.
- [20] 杨卓娣. 桂枝茯苓丸抗 CCl₄ 致大鼠肝纤维化作用及对肝星状细胞活化的 TGF- β_1 /Smad2 通路调控机制 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- YANG Z D. Effects of Guizhi Fuling Wan on CCl₄-induced hepatic fibrosis in rats and its regulatory mechanism of TGF- β_1 /Smad2 pathway on hepatic stellate cell [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [21] 陈甜甜. 基于 TGF- β_1 /Smad2 信号通路探讨桂枝茯苓丸防治肝纤维化的作用机制 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- CHEN T T. Based on the TGF- β_1 /Smad2 signaling pathway to explore the mechanism of Guizhi Fuling pill in protecting and treating hepatic fibrosis [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [22] 中国中西医结合学会, 中华中医药学会, 中华医学学会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南 [EB/OL]. (2023-04-19) [2026-06-10]. <https://www.cacm.org.cn/wp-content/uploads/2023/06/肝纤维化中西医结合诊疗指南>.
- Chinese Society of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, China Association of Chinese Medicine, Chinese Medical Association. Guidelines for integrated traditional Chinese and western medicine diagnosis and treatment of liver fibrosis [EB/OL]. (2023-04-19) [2026-06-10]. <https://www.cacm.org.cn/wp-content/uploads/2023/06/Guidelines for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Diagnosis and Treatment of Liver Fibrosis>.
- [23] YE Z, HUANG Q, SHE Y, et al. A meritorious integrated medical regimen for hepatic fibrosis and its complications via the systematic review and meta-analysis for Dahuang Zhechong pill-based therapy [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9 : 920062.
- [24] CAO R, CAO C, HU X, et al. Kaempferol attenuates carbon tetrachloride CCl₄-induced hepatic fibrosis by promoting ASIC1a degradation and suppression of the ASIC1a-mediated ERS [J]. *Phytomedicine*, 2023, 121 : 155125.
- [25] NAIR A B, JACOB S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human [J]. *J Basic Clin Pharm*, 2016, 7(2) : 27-31.
- [26] LI Q, SHI N, CAI C, et al. The role of mitochondria in pyroptosis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8 : 630771.
- [27] 李满彪, 李金玉, 冯对平. 肝纤维化逆转的研究进展 [J]. 临

- 床肝胆病杂志, 2023, 39(1): 193-198.
- LI M B, LI J Y, FENG D P. Research advances in the reversal of liver fibrosis[J]. J Clin Hepatol, 2023, 39(1): 193-198.
- [28] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(3): 151-166.
- [29] LU Y, LI Z, ZHANG S, et al. Cellular mitophagy: Mechanism, roles in diseases and small molecule pharmacological regulation[J]. Theranostics, 2023, 13(2): 736-766.
- [30] RAMOS-TOVAR E, MURIEL P. NLRP3 inflammasome in hepatic diseases: A pharmacological target[J]. Biochem Pharmacol, 2023, 217: 115861.
- [31] WREE A, MEHAL W Z, FELDSTEIN A E. Targeting cell death and sterile inflammation loop for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis[J]. Semin Liver Dis, 2016, 36(1): 27-36.
- [32] TANG R, XU J, ZHANG B, et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 110.
- [33] CHEN X, HE W T, HU L, et al. Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis[J]. Cell Res, 2016, 26(9): 1007-1020.
- [34] LIU Z, WANG C, YANG J, et al. Crystal structures of the full-length murine and human gasdermin D reveal mechanisms of autoinhibition, lipid binding, and oligomerization[J]. Immunity, 2019, 51(1): 43-49.
- [35] BROZ P. Pyroptosis: Molecular mechanisms and roles in disease[J]. Cell Res, 2025, 35(5): 334-344.
- [36] BURDETTE B E, ESPARZA A N, ZHU H, et al. Gasdermin D in pyroptosis[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(9): 2768-2782.
- [37] LI Y, GUO B. GSDMD-mediated pyroptosis: Molecular mechanisms, diseases and therapeutic targets[J]. Mol Biomed, 2025, 6(1): 11.
- [38] SHAO F. Gasdermins: Making pores for pyroptosis[J]. Nat Rev Immunol, 2021, 21(10): 620-621.
- [39] XIE Z Y, XU Y X, YAO L. Angiotensin II can trigger HSC-LX2 pyroptosis through both classical and non-classical pathways[J]. Life Sci, 2022, 307: 120878.
- [40] XIE Z Y, XU Y X, ZHENG M Y, et al. Anti-pyroptosis effect of Albiziae Cortex-Tribuli Fructus combination on hepatic stellate cell line LX2: Based on network pharmacology[J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(2): 481-491.
- [41] WAN Y, ZHANG W, HUANG C, et al. Ursolic acid alleviates Kupffer cells pyroptosis in liver fibrosis by the NOX2/NLRP3 inflammasome signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 113(PA): 109321.
- [42] FAN G, LI Y, CHEN J, et al. DHA/AA alleviates LPS-induced Kupffer cells pyroptosis via GPR120 interaction with NLRP3 to inhibit inflammasome complexes assembly[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(1): 73.
- [43] 闵远蹇, 周欣欣, 刘湘花, 等. 肝纤维化动物模型的中西医临床吻合度分析[J]. 中华中医药学刊, 2026, 44(2): 130-136.
- MIN Y Q, ZHOU X X, LIU X H, et al. Analysis of clinical anastomosis of traditional Chinese and western medicine of animal model of liver fibrosis[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2026, 44(2): 130-136
- [44] WANG C, SHANG Y, KANAAN G, et al. Silymarin for adults with metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2025, 6: CD015524.
- [45] HAO S, LV Y, WANG Y, et al. Potential benefits of orally deliverable silymarin-loaded *Spirulina platensis* in mitigating alcoholic liver disease[J]. Food Res Int, 2025, 12: 116508.
- [46] WENG J H, KOCH P D, LUAN H H, et al. Colchicine acts selectively in the liver to induce hepatokines that inhibit myeloid cell activation[J]. Nat Metab, 2021, 3(4): 513-522.

[责任编辑 周冰冰]