

# 薛氏三甲散调控 PINK1/Parkin 信号通路介导的线粒体自噬 抗肝纤维化作用及机制

王宝家<sup>1</sup>, 胡木兰<sup>1</sup>, 龚圆渊<sup>1</sup>, 马洁<sup>2</sup>, 郑秀丽<sup>1\*</sup>, 陈雄斌<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137;

2. 四川省医学科学院四川省人民医院遗传性疾病四川省重点实验室, 成都 611137)

**【摘要】** 目的:探究薛氏三甲散(XSSJS)调控PTEN诱导假定激酶1(PINK1)/帕金森蛋白(Parkin)信号通路介导的线粒体自噬抗肝纤维化(LF)作用及其机制。方法:SPF级C57BL/6J雄性小鼠40只,随机分为空白组、模型组(20%四氯化碳2.5 mL·kg<sup>-1</sup>)、水飞蓟宾组(100 mg·kg<sup>-1</sup>)、XSSJS低剂量组(7.58 g·kg<sup>-1</sup>)、XSSJS高剂量组(15.16 g·kg<sup>-1</sup>)。采用腹腔注射四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)建立小鼠肝纤维化模型,分别予XSSJS低、高剂量或水飞蓟宾治疗6周,腹腔麻醉后腹主动脉取血,处死小鼠,分离肝脏。通过苏木素-伊红(HE)染色、马松(Masson)染色、天狼星红(Sirius Red)染色观察小鼠肝组织病理改变;透射电镜(TEM)观察线粒体形态;酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBil)、C反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)、转化生长因子-β<sub>1</sub>(TGF-β<sub>1</sub>)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)含量;免疫组化法(IHC)、免疫荧光(IF)、蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织纤维化指标α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA), I型胶原蛋白(Collagen I)和线粒体自噬相关指标微管相关蛋白1轻链3(LC3)、p62蛋白(p62)、自噬关键分子酵母Atg6同系物(Beclin-1)、PINK1、Parkin、线粒体外膜转运蛋白20(TOM20)蛋白表达水平。结果:与空白组比较,模型组小鼠血清ALT、AST、CRP、TBil、IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α含量显著升高(P<0.01);病理学染色观察发现肝组织内出现大量空泡,肝小叶结构完整性出现破坏,肝细胞排列方式变得不规则,肝组织内胶原纤维含量升高;电镜下线粒体出现肿胀、破裂,且损伤程度较重;线粒体自噬相关基因LC3、Beclin-1、PINK1、Parkin蛋白表达水平显著升高,p62和TOM20蛋白表达水平显著降低(P<0.01);与模型组比较,各治疗组小鼠肝组织病理损伤程度得到明显改善,血清ALT、AST、CRP、TBil、IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α含量明显降低(P<0.05, P<0.01),肝组织纤维化指标α-SMA、Collagen I蛋白表达水平显著降低(P<0.01),线粒体自噬相关蛋白LC3、Beclin-1、PINK1、Parkin表达水平降低,p62、TOM20蛋白表达水平显著升高(P<0.01),线粒体损伤得到改善。结论:XSSJS可能通过抑制PINK1/Parkin信号通路,降低肝组织线粒体自噬水平,防止线粒体过度自噬,提高线粒体质量,发挥抗肝纤维化的作用。

**【关键词】** 肝纤维化; 薛氏三甲散(XSSJS); PTEN诱导假定激酶1(PINK1)/帕金森蛋白(Parkin)信号通路; 线粒体自噬

**【中图分类号】** R575;R285;R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)14-0166-10

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.20260415

**【网络出版地址】** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260326.1557.002>

**【网络出版日期】** 2026-03-27 10:29:41 **【增强出版附件】** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



## Xueshisanjia San Prevents Liver Fibrosis via PINK1/Parkin Signaling Pathway-mediated Mitophagy

WANG Baojia<sup>1</sup>, HU Mulan<sup>1</sup>, GONG Yuanyuan<sup>1</sup>, MA Jie<sup>2</sup>, ZHENG Xiuli<sup>1\*</sup>, CHEN Xiongbin<sup>1\*</sup>

(1. School of Basic Medical Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Genetic Diseases Key Laboratory of Sichuan Province, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 611137, China)

**【收稿日期】** 2026-01-22

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81904080, 82500510);四川省中医药管理局专项(2024MS583, 2024MS164);成都中医药大学基础医学院传承创新发展科研基金项目(JCYB2401, JCYB2407, JCYB2408)

**【第一作者】** 王宝家, 博士, 讲师, 从事中医药防治肝病研究, E-mail: wangbaojia@cduetcm.edu.cn

**【通信作者】** \* 郑秀丽, 博士, 教授, 从事温病理论治法的临床应用研究, E-mail: zhengxiuli23@163.com;

\* 陈雄斌, 硕士, 讲师, 从事中药复方药效物质基础研究, E-mail: chenxiongbin528@hotmail.com

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the therapeutic effect and mechanism of Xueshisanjia San against liver fibrosis by regulating PTEN-induced putative kinase (PINK1)/Parkin signaling pathway-mediated mitophagy. **Methods:** Forty specific pathogen free (SPF)-grade male C57BL/6 mice were randomized into the control, model, silibinin ( $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), high-dose ( $15.16 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Xueshisanjia San, and low-dose ( $7.58 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Xueshisanjia San groups. The mouse model of liver fibrosis was constructed by intraperitoneal injection of 20% carbon tetrachloride solution. The treatment lasted for 6 weeks. Blood was collected from the abdominal aorta after intraperitoneal anesthesia, and the liver was separated. Liver pathology was examined by hematoxylin-eosin (HE) staining, Masson staining, and Sirius Red staining. Transmission electron microscopy (TEM) was employed to observe the mitochondrial morphology in the liver tissue. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), C-reactive protein (CRP), total bilirubin (TBil), transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6) in the serum of mice were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Immunohistochemistry, immunofluorescence assay, and Western blot were employed to determine the protein levels of liver fibrosis markers  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) and collagen I, as well as mitophagy markers microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3), p62, Beclin-1, PINK1, Parkin, and translocase of outer mitochondrial membrane 20 (TOM20). **Results:** Compared with the control group, the model group exhibited elevated levels of ALT, AST, CRP, TBil, IL-6, TGF- $\beta_1$ , and TNF- $\alpha$  in the serum ( $P<0.05$ ), pathological changes such destroyed structure of hepatic lobules, disarrangement of hepatic cells, and collagen accumulation, swollen, vacuolated, and fragment mitochondria, down-regulated expression of p62 and TOM20, and up-regulated expression of LC3, Beclin-1, PINK1, and Parkin ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, all the treatment groups exhibited declined levels of ALT, AST, CRP, TBil, IL-6, TGF- $\beta_1$ , and TNF- $\alpha$  in the serum ( $P<0.05$ ), alleviated pathological damage of liver tissue and mitochondrial damage, up-regulated expression of p62 and TOM20, and down-regulated expression of  $\alpha$ -SMA, COL1A1, LC3, Beclin1, PINK1, and Parkin ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Xueshisanjia San may prevent excessive mitophagy and improve mitochondrial quality by inhibiting PINK1/Parkin signaling pathway, thereby alleviating liver fibrosis.

**[Keywords]** liver fibrosis; Xueshisanjia San; PTEN-induced putative kinase (PINK1)/Parkin signaling pathway; mitophagy

肝纤维化(LF)是一种以肝组织内细胞外基质蛋白和纤维结缔组织过度增生与异常沉积为特征的病理过程<sup>[1-2]</sup>。若肝纤维化得不到有效控制,可能会进一步发展为肝硬化、肝癌和肝衰竭等终末期肝病<sup>[3-4]</sup>。目前,临床对于晚期肝硬化并无有效的治疗手段,尽早控制肝纤维化的病因及进展已成为临床防治肝硬化的重点策略<sup>[5]</sup>。迄今,临床有效治疗肝纤维化的药物较少,因此,深入探索肝纤维化发生发展机制,寻找肝纤维化治疗的新靶点,对于解决肝纤维化治疗难题至关重要<sup>[6]</sup>。

薛氏三甲散(XSSJS)出自薛生白《湿热病篇》中的仿吴氏三甲散,由土鳖虫、鳖甲、僵蚕、柴胡、桃仁泥等6味药物组成,为开通肝络玄府的经典名方。XSSJS是在吴氏三甲散基础上去龟甲、白芍、甘草、当归、牡蛎等阴柔滋腻、敛邪之品,加柴胡、桃仁泥增强方剂的辛润通络之力。方中土鳖虫、鳖甲、僵蚕等诸多虫药破滞散瘀,开玄通络;柴胡升散开泄、宣畅气机,引清气上行,使络脉玄府开通,邪随气血津液出入而外达于表;桃仁泥引药入血,辛润开泄,通络化瘀。已有临床研究证实,三甲散对治疗肝纤维化和肝硬化具有明显的效果,能有效降低肝纤维化指标,提高血清载脂蛋白(APO)A1、APOB的合成<sup>[7-8]</sup>。课题组前期开展了动物实验研究,发现XSSJS加减方能改善大鼠血清肝功能指标,降低大

鼠血清肝纤维化指标,减轻大鼠肝组织炎症及纤维化程度<sup>[9-10]</sup>。但对XSSJS改善肝纤维化的现代分子生物学机制尚不清楚,严重制约了XSSJS防治肝纤维化的进一步临床使用和推广。XSSJS与吴氏三甲散的差异对比见增强出版附加材料。

线粒体自噬是一种选择性自噬形式,可以通过清除受损线粒体以维持线粒体稳态并调控组织的稳态<sup>[11-12]</sup>。研究显示,线粒体自噬与肝纤维化的启动和发展密切相关<sup>[13-14]</sup>。PTEN诱导假定激酶1(PINK1)/帕金森蛋白(Parkin)信号通路是调节自噬的经典途径之一<sup>[15]</sup>。在前期的研究中,课题组通过透射电镜(TEM)观察发现,四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )诱导的肝纤维化小鼠肝细胞线粒体损伤加剧,并伴随明显的膜性结构包绕,再给予XSSJS后,发现XSSJS对肝细胞线粒体形态和结构有稳定作用。基于此,本研究以 $\text{CCl}_4$ 诱导的肝纤维化小鼠为研究对象,从PINK1/Parkin信号通路介导的线粒体自噬探究XSSJS防治肝纤维的作用机制,以期为XSSJS的临床应用提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级4~5周龄雄性C57BL/6J小鼠40只,体质量( $16\pm 2$ )g,由成都药康生物科技有限公司提供,实验动物合格证号SCXY(川)2020-0034。所有动物饲养于成都中医药大学屏障环境动物实

验中心,实验动物许可证号SYXK(川)2019-0049。室内饲养环境温度控制在(25±3)℃,相对湿度60%、12 h明暗交替,自由进食饮水,通风设备正常。

**1.2 伦理** 此次实验符合成都中医药大学实验动物伦理委员会的要求并获得批准,批号2023365。

**1.3 药物组成** XSSJS由鳖甲15 g(批号20211027)、柴胡5 g(批号20220713)、僵蚕10 g(批号20210811)、土鳖虫10 g(批号20210715)、桃仁10 g(批号20220119)组成,由四川新绿色药业科技发展股份有限公司生产,购自四川杏林春堂大药房。药材由成都中医药大学药学院中药标本中心高级实验师刘晓芬鉴定和质控,均符合2020年版《中华人民共和国药典》相关规定。将全方药物浸泡40 min后大火煮沸,小火煎煮1 h,滤出药汁后,加水2次煎煮30 min,混合2次滤出药汁,过滤后恒温水浴浓缩得到生药量为1.0 g·mL<sup>-1</sup>的汤剂,储存在4℃冰箱备用。

**1.4 试剂** CCl<sub>4</sub>(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号C12773729);肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为E-ELM0044、E-ELM3063),转化生长因子-β<sub>1</sub>(TGF-β<sub>1</sub>) ELISA试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司,批号70-EK981-96);马松(Masson)染液套装、辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗小鼠二抗(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号分别为G1006、GB23301);苏木素-伊红(HE)染色试剂(北京普西唐生物科技有限公司,批号H7004-5G);天狼星红(Sirius Red)染色液(南京森贝伽生物科技有限公司,批号BP-DL026);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBil)、C反应蛋白(CRP)试剂盒(美国Mindray公司,批号分别为140123015、140223008、140622007、148923007);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、β-肌动蛋白(β-actin)抗体、I型胶原蛋白(Collagen I)抗体、α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)抗体、线粒体外膜转运蛋白20(TOM20)抗体、PINK1抗体、p62蛋白(p62)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为60004-1-Ig、66009-1-Ig、67288-1-Ig、14395-1-AP、11802-1-AP、23274-1-AP、84826-1-RR);Parkin抗体、HRP标记山羊抗兔二抗(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号分别为A0968、AS014);微管相关蛋白1轻链3(LC3)、自噬关键分子酵母Atg6同系物(Beclin-1)抗体(美国CST公司,货号分别为

12741S、3495T)。

**1.5 仪器** MD SpectraMax iD5型多功能酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司),BS360s型全自动生化分析仪(美国Mindray公司),IX83型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司),DM2500型正置显微镜(德国Leica公司),Bio-Rad Mini-PROTEAN®Tetra型电泳系统(美国Bio-Rad公司),Touch Imager型接触式化学发光成像系统(上海易亨特生命科学公司)。

## 2 方法

**2.1 分组与给药** 雄性C57BL/6J小鼠经1周的适应性喂养后,按照随机数字表法分为5组,空白组、模型组、XSSJS低剂量组、XSSJS高剂量组、水飞蓟宾组,每组8只。除空白组小鼠外各组均腹腔注射20%CCl<sub>4</sub>橄榄油溶液2.5 mL·kg<sup>-1</sup>,隔天1次,共6周,建立肝纤维化模型。6周后根据文献报道,通过检测α-SMA, Collagen I蛋白表达水平是否升高、胶原纤维沉积是否增加、肝组织结构是否破坏、肝功指标是否异常来综合判断建模是否成功<sup>[16]</sup>。首次造模第2天即开始给药治疗,空白组与模型组给予等量的0.9%生理盐水灌胃,水飞蓟宾组以水飞蓟宾混悬液100 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃, XSSJS低、高剂量组以中药水煎剂灌胃,每日1次,持续6周。根据人与小鼠体表面积折算法,人与小鼠折算比例为1:9.1<sup>[17]</sup>,以60 kg成人用药剂量为基准,得出小鼠等效剂量为7.58 g·kg<sup>-1</sup>,并以此作为本研究中XSSJS低剂量组的给药剂量,在此基础上,按倍比关系得出高剂量组15.16 g·kg<sup>-1</sup>。

**2.2 标本采集与保存** 末次给药后禁食12 h,采用腹腔注射3%戊巴比妥钠(30 mg·kg<sup>-1</sup>)行麻醉,完成腹主动脉采血。于低温环境下摘取小鼠肝组织,称质量、拍照。完成后,将肝组织按照肝的分叶情况,1份浸入4%多聚甲醛溶液中予以固定,用于后期病理染色;1份2.5%戊二醛4℃冰箱保存,进行电镜观察;1份储存在-80℃的冰箱中存储,用于后续实验相关指标检测。

### 2.3 指标检测

**2.3.1 小鼠血清ALT、AST、CRP、TBil含量检测** 按照试剂盒说明书,使用迈瑞BS360S全自动生化仪检测血清ALT、AST、CRP、TBil含量。

**2.3.2 ELISA检测小鼠血清IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α含量检测** 按照ELISA试剂盒说明书步骤操作,检测小鼠血清IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α含量。

**2.3.3 肝组织病理学检测** 取经过4%多聚甲醛溶

液固定后的小鼠肝组织,进行常规石蜡包埋、切片(3 μm),进行HE、Masson及Sirius Red染色,光学显微镜下观察肝组织病理学变化。经2.5%戊二醛固定后的肝组织用于透射电镜观察肝组织线粒体超微结构。

**2.3.4 肝组织免疫组化(IHC)法测定α-SMA、Collagen I表达** 肝组织行常规石蜡切片,水化脱蜡,抗原修复,5%牛血清蛋白(BSA)封闭,滴加一抗α-SMA(1:300)、Collagen I(1:300),4℃孵育过夜,加二抗室温孵育60 min,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,脱水,封片。观察并拍照。

**2.3.5 肝组织免疫荧光法(IF)检测α-SMA、LC3、PINK1、p62的表达** 肝组织行常规石蜡切片,水化脱蜡,抗原修复,用5%BSA封闭,并4℃孵育一抗(均为1:300)过夜。接着加对应二抗(均为1:500)室温避光孵育60 min,DAPI染液避光孵育10 min,随后用抗淬灭封片剂封片。在荧光显微镜下观察并拍照。

**2.3.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织α-SMA、Collagen I、PINK1、Parkin、TOM20、Beclin-1、LC3、p62蛋白表达** 取保存于-80℃的肝组织,制备匀浆后经聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)法

测蛋白浓度并煮沸变性。采用10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳(全程120 V 70 min),湿转至PVDF膜或NC膜。封闭60 min后,加α-SMA、Collagen I(1:3 000)、PINK1、Parkin、TOM20(1:2 000)、Beclin-1、p62及LC3 I/II一抗(1:1 000,4℃过夜)和二抗(1:3 000,室温1 h),ECL显影后Image J分析条带灰度值,分别以GAPDH或β-actin为内参,得到相对比值。

**2.4 统计学处理** 采用SPSS 30.0统计软件进行统计分析。符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD)检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 XSSJS对LF小鼠血清ALT、AST、CRP、TBil水平的影响** 治疗结束后,与空白组比较,模型组血清ALT、AST、CRP、TBil水平显著升高( $P < 0.01$ ),与模型组比较,水飞蓟宾组及XSSJS低、高剂量组血清ALT、AST、CRP、TBil水平显著降低( $P < 0.01$ )。见表1。

表1 XSSJS对LF小鼠血清中ALT、AST、CRP、TBil水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Effect of XSSJS on levels of ALT, AST, CRP and TBil in serum of LF mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别        | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | ALT/U·L <sup>-1</sup>           | AST/U·L <sup>-1</sup>           | CRP/mg·L <sup>-1</sup>  | TBil/μmol·L <sup>-1</sup> |
|-----------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 空白组       |                       | 36.15±15.65                     | 136.18±16.56                    | 1.10±0.35               | 1.40±0.47                 |
| 模型组       |                       | 8 724.32±3 452.99 <sup>1)</sup> | 4 116.02±1 288.57 <sup>1)</sup> | 3.75±0.75 <sup>1)</sup> | 6.62±0.76 <sup>1)</sup>   |
| 水飞蓟宾组     | 0.1                   | 661.7±116.24 <sup>3)</sup>      | 543.25±50.20 <sup>3)</sup>      | 2.35±0.31 <sup>3)</sup> | 4.79±0.75 <sup>3)</sup>   |
| XSSJS低剂量组 | 7.58                  | 338.93±95.84 <sup>3)</sup>      | 202.52±38.89 <sup>3)</sup>      | 1.88±0.38 <sup>3)</sup> | 3.68±0.32 <sup>3)</sup>   |
| XSSJS高剂量组 | 15.16                 | 118.33±15.34 <sup>3)</sup>      | 119.28±10.50 <sup>3)</sup>      | 1.27±0.44 <sup>3)</sup> | 2.23±0.62 <sup>3)</sup>   |

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表2-表6同)

**3.2 XSSJS对LF小鼠血清IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α水平的影响** 治疗结束后,与空白组比较,模型组血清IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α水平显著升高( $P < 0.01$ ),与

模型组相比较,水飞蓟宾组及XSSJS低、高剂量组血清IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α水平明显降低( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ )。见表2。

表2 XSSJS对LF小鼠血清中IL-6、TGF-β<sub>1</sub>、TNF-α水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of XSSJS on levels of IL-6, TGF-β<sub>1</sub> and TNF-α in serum of LF mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

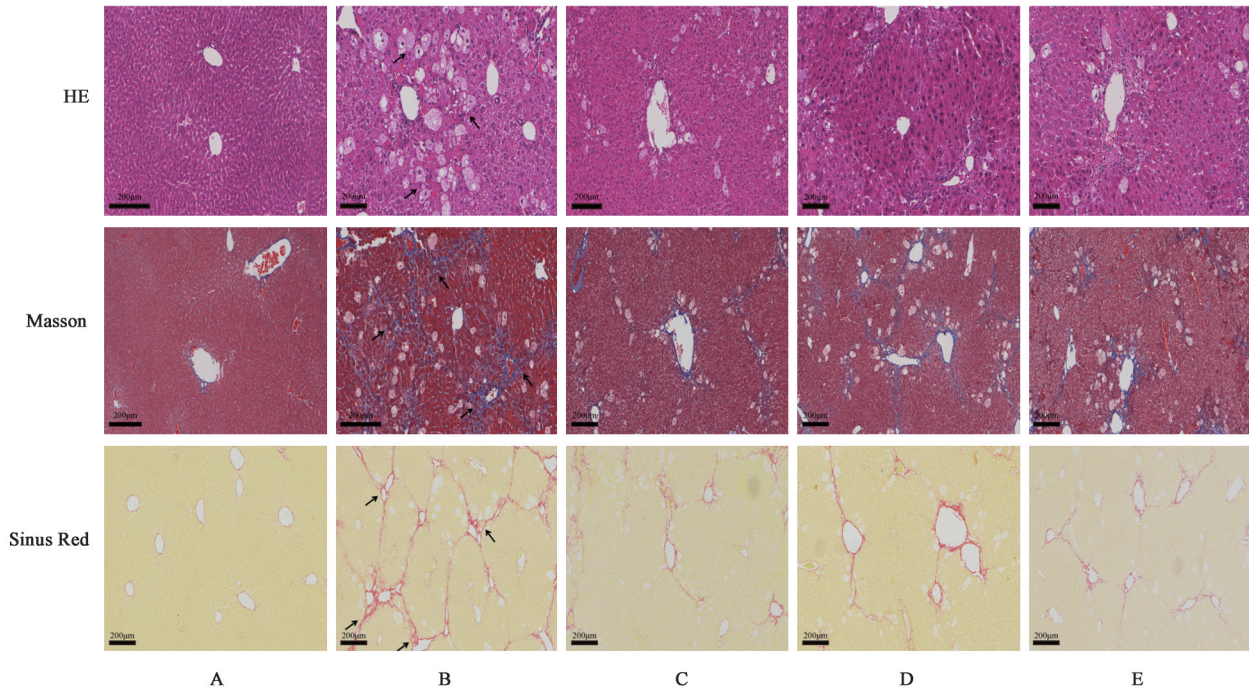
| 组别        | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | IL-6                     | TGF-β <sub>1</sub>            | TNF-α                    |
|-----------|-----------------------|--------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| 空白组       |                       | 19.51±1.90               | 1 450.94±350.46               | 5.22±1.21                |
| 模型组       |                       | 63.36±9.70 <sup>1)</sup> | 2 788.59±104.76 <sup>1)</sup> | 30.26±3.09 <sup>1)</sup> |
| 水飞蓟宾组     | 0.1                   | 44.00±5.28 <sup>3)</sup> | 2 106.37±247.60 <sup>2)</sup> | 7.81±1.87 <sup>3)</sup>  |
| XSSJS低剂量组 | 7.58                  | 24.66±1.53 <sup>3)</sup> | 1 890.28±134.66 <sup>3)</sup> | 7.00±1.24 <sup>3)</sup>  |
| XSSJS高剂量组 | 15.16                 | 20.80±1.85 <sup>3)</sup> | 1 577.30±173.59 <sup>3)</sup> | 4.26±0.70 <sup>3)</sup>  |

**3.3 XSSJS对LF小鼠肝组织病理学改变的影响** 与空白组比较,HE染色显示模型组小鼠肝组织

内出现大量空泡,肝小叶结构完整性出现破坏,肝细胞的排列方式变得不规则;Masson和Sirius Red

染色显示模型组小鼠肝组织内的胶原纤维显著增多,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。与模型组比较,

各治疗组肝组织病理损伤均有不同程度的改善( $P<0.01$ )。见图1、表3。



注:A.空白组;B.模型组;C.水飞蓟宾组;D.XSSJS低剂量组;E.XSSJS高剂量组(图2-图7同)

图1 XSSJS对LF小鼠肝组织病理学的影响( $\times 200$ )

Fig. 1 Effect of XSSJS on liver histopathology in LF mice ( $\times 200$ )

表3 XSSJS对LF小鼠肝组织Masson, Sirius Red阳性面积的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of XSSJS on positive areas of Masson, Sirius Red in liver of LF mice ( $\bar{x}\pm s, n=3$ ) %

| 组别        | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | Masson阳性<br>面积          | Sirius Red阳性<br>面积      |
|-----------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 空白组       |                           | 0.77±0.07               | 1.11±0.61               |
| 模型组       |                           | 9.78±1.33 <sup>1)</sup> | 8.42±1.35 <sup>1)</sup> |
| 水飞蓟宾组     | 0.1                       | 4.86±1.31 <sup>3)</sup> | 3.59±1.04 <sup>3)</sup> |
| XSSJS低剂量组 | 7.58                      | 3.74±0.86 <sup>3)</sup> | 2.84±0.45 <sup>3)</sup> |
| XSSJS高剂量组 | 15.16                     | 3.01±0.41 <sup>3)</sup> | 2.56±0.81 <sup>3)</sup> |

**3.4 XSSJS对LF小鼠肝组织 $\alpha$ -SMA、Collagen I表达的影响** 肝组织 $\alpha$ -SMA、Collagen I蛋白的IHC染色结果显示,与空白组比较,模型组肝组织中 $\alpha$ -SMA、Collagen I蛋白呈阳性反应显著( $P<0.01$ )。与模型组比较,各治疗组中肝组织 $\alpha$ -SMA、Collagen I表达显著降低( $P<0.01$ )。见图2、表4。

**3.5 XSSJS对LF小鼠肝组织 $\alpha$ -SMA表达的影响** 小鼠肝组织 $\alpha$ -SMA蛋白的IF染色结果显示,与空白组比较,模型组小鼠肝组织中 $\alpha$ -SMA的荧光信号明显增强。与模型组比较,各治疗组中肝组织 $\alpha$ -SMA荧光信号降低。见图3。

**3.6 XSSJS对LF小鼠肝组织 $\alpha$ -SMA、Collagen I蛋白表达的影响** Western blot检测实验结果表明,与空白组比较,模型组小鼠肝组织中 $\alpha$ -SMA、Collagen I蛋白表达水平显著增强( $P<0.01$ )。与模型组比较,各治疗组中肝组织 $\alpha$ -SMA、Collagen I蛋白表达水平显著降低( $P<0.01$ )。见图4、表5。

**3.7 XSSJS对LF小鼠肝组织线粒体损伤的影响** TEM观察发现,空白组小鼠肝组织的线粒体形态完整,基质均匀。模型组小鼠肝组织的线粒体出现了明显的肿胀、破裂,且损伤程度较重。与模型组比较,各治疗组小鼠肝组织线粒体形态比较完整,线粒体肿胀破裂程度均有一定的缓解。见图5。

**3.8 XSSJS对LF小鼠肝组织中PINK1、LC3、p62蛋白表达的影响** 肝组织IF结果显示,与空白组比较,模型组小鼠肝组织LC3、PINK1荧光信号明显增强,p62荧光信号减弱;与模型组比较,XSSJS低、高剂量治疗组的小鼠LC3、PINK1荧光信号减弱,p62荧光信号增强。见图6。

**3.9 XSSJS对肝纤维模型小鼠肝组织p62、LC3、Beclin-1、PINK1、Parkin、TOM20蛋白表达的影响** Western blot检测结果表明,与空白组比较,模型组小鼠肝组织中PINK1、Parkin、LC3、Beclin-1等蛋白

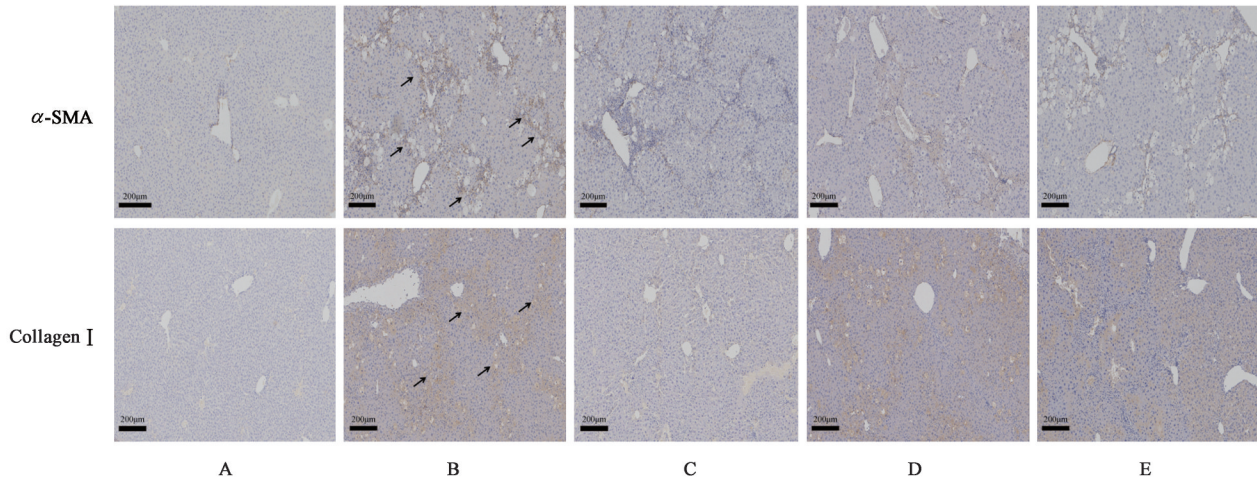


图2 XSSJS对LF小鼠肝组织 $\alpha$ -SMA、Collagen I表达的影响(免疫组化,  $\times 200$ )

Fig. 2 Effect of XSSJS on expression of  $\alpha$ -SMA and Collagen I in liver of LF mice (IHC,  $\times 200$ )

表4 XSSJS对LF小鼠 $\alpha$ -SMA、Collagen I表达的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 4 Effect of XSSJS on expression of  $\alpha$ -SMA and Collagen I in liver of LF mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ ) %

| 组别        | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | $\alpha$ -SMA         | Collagen I           |
|-----------|-------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| 空白组       |                                     | $0.38 \pm 0.11$       | $0.33 \pm 0.07$      |
| 模型组       |                                     | $10.45 \pm 1.02^{1)}$ | $11.9 \pm 2.12^{1)}$ |
| 水飞蓟宾组     | 0.1                                 | $6.16 \pm 0.96^{3)}$  | $4.06 \pm 0.84^{3)}$ |
| XSSJS低剂量组 | 7.58                                | $4.75 \pm 1.39^{3)}$  | $7.24 \pm 1.36^{3)}$ |
| XSSJS高剂量组 | 15.16                               | $5.17 \pm 1.04^{3)}$  | $4.69 \pm 1.15^{3)}$ |

表达水平显著升高( $P < 0.01$ ), p62、TOM20蛋白表达水平显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,各治疗

组中肝组织PINK1、Parkin、LC3、Beclin-1表达显著降低( $P < 0.01$ ), p62、TOM20表达水平在各治疗组均显著升高,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。见图7、表7。

#### 4 讨论

根据肝纤维化的临床表现和病理演变特点,中医学理论将肝纤维化多归属于“胁痛”“积聚”“肝积”等范畴<sup>[18]</sup>,病因多与肝气郁结、脾虚湿阻、络脉瘀阻相关,因此中医常用益气滋阴、柔肝软坚、活血化瘀法来治疗肝纤维化<sup>[19-21]</sup>。近年来,随着“玄府络病学说”的发展与丰富,课题组认为肝之络脉渗灌

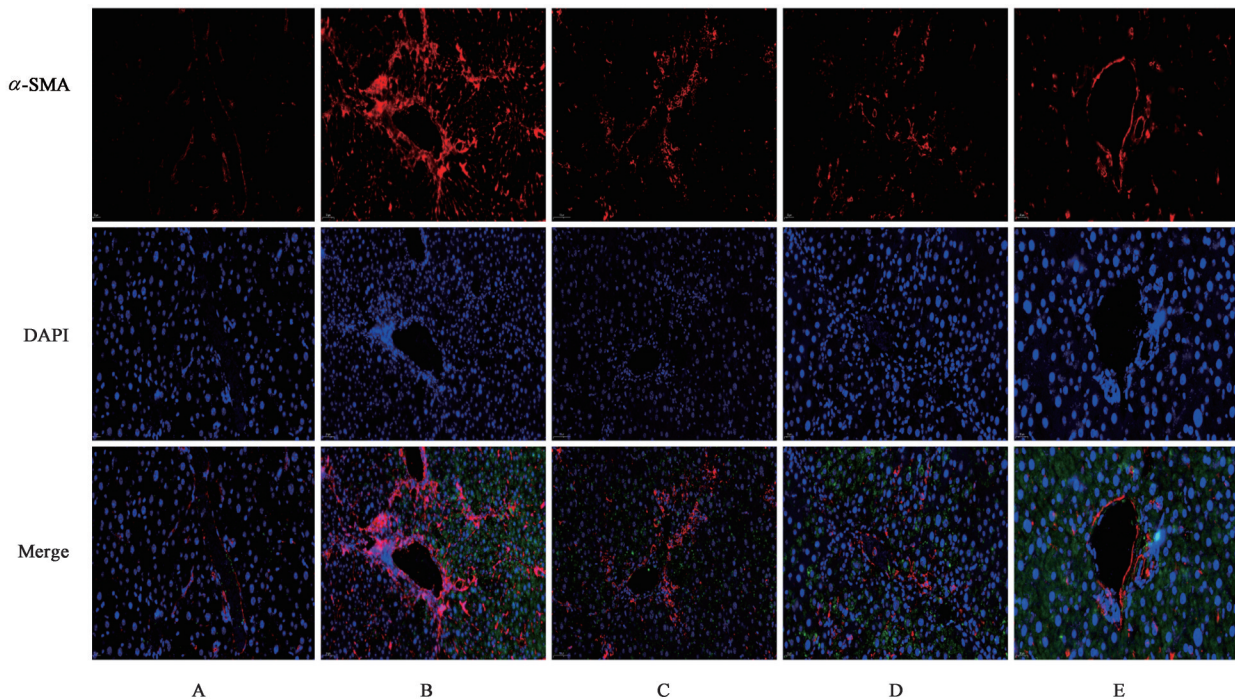


图3 XSSJS对LF小鼠肝组织 $\alpha$ -SMA表达的影响(免疫荧光,  $\times 400$ )

Fig. 3 Effect of XSSJS on expression of  $\alpha$ -SMA in liver of LF mice (IF,  $\times 400$ )

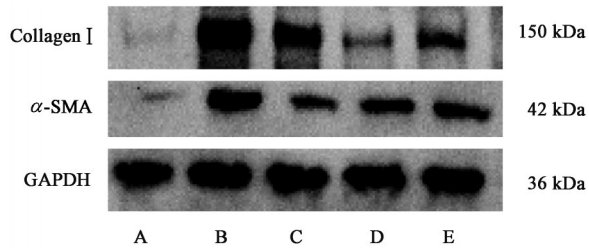


图4 XSSJS对LF小鼠肝组织α-SMA、Collagen I表达的影响

Fig. 4 Effect of XSSJS on expression of α-SMA and Collagen I in liver of LF mice

表5 XSSJS对LF小鼠α-SMA、Collagen I表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 5 Effect of XSSJS on expression of α-SMA and Collagen I in liver of LF mice (̄x±s, n=3)

| 组别        | 剂量 /g·kg <sup>-1</sup> | α-SMA /GAPDH            | Collagen I /GAPDH       |
|-----------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 空白组       |                        | 1.00±0.03               | 1.00±0.04               |
| 模型组       |                        | 3.44±0.16 <sup>1)</sup> | 4.54±0.18 <sup>1)</sup> |
| 水飞蓟宾组     | 0.1                    | 1.76±0.09 <sup>3)</sup> | 2.94±0.29 <sup>3)</sup> |
| XSSJS低剂量组 | 7.58                   | 2.58±0.18 <sup>3)</sup> | 1.38±0.11 <sup>3)</sup> |
| XSSJS高剂量组 | 15.16                  | 2.47±0.12 <sup>3)</sup> | 1.84±0.02 <sup>3)</sup> |

气血以濡养肝体,肝络之玄府通利,则气机畅达,肝不失濡养而司疏泄。若肝络损伤,则肝络之玄府闭郁,气血津液升降出入失常,以致气滞、血瘀、痰凝,随之而成胁痛、积聚等病症。因此,“肝络玄府闭郁-肝络脉瘀滞”为肝纤维化的重要病机本质之一<sup>[22-23]</sup>。XSSJS是薛生白在吴又可三甲散基础上形成的开通肝络玄府经典名方,方中柴胡可引入肝经,桃仁可加强活血破结之力,土鳖虫、鳖甲、僵蚕以活血走窜散结为主。薛氏继承虫药开玄通络之法,同时妙用开通玄府之柴胡,升散开泄、宣畅气机,引清气上行,使络脉玄府开通,邪随气血津液出入而外达于表;鳖甲与柴胡配对,针对“邪气深伏阴分,混处气血之中”,取其搜邪透邪之功,加用桃仁泥引药入血,桃仁为厥阴血分之要药,辛润开泄,开玄通络。全方破滞通络,破瘀散结,共奏抗纤维化之功。针

对“肝络之玄府闭郁”这一病机本质,笔者团队研究发现开通肝络玄府经典方XSSJS可以通过miR-29b-3p/血管内皮生长因子A(VEGFA)轴调控肝血管生成抑制抗肝纤维化进展<sup>[24]</sup>。此外,本课题组研究发现XSSJS可以通过调节自噬发挥抗肝纤维化的作用,但对于其调控机制不甚清楚。

线粒体自噬是一种选择性自噬,可以通过清除细胞内受损和功能障碍的线粒体来维持线粒体生理功能的稳态<sup>[15,25]</sup>。研究发现,线粒体自噬与肝纤维化的发生密切相关<sup>[26-27]</sup>。PINK1/Parkin介导的信号通路是线粒体自噬主要机制<sup>[28-30]</sup>。PINK1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,位于线粒体外膜上<sup>[31]</sup>,Parkin是位于细胞质内的E3泛素连接酶<sup>[32]</sup>。在稳态条件下,胞质中的PINK1前体蛋白在线粒体靶向定位序列的引导下进入线粒体,之后被位于线粒体基质和内膜上的蛋白酶切割,并释放到胞质中被泛素-蛋白酶体水解;当线粒体损伤时,PINK1无法进入线粒体,集聚在线粒体外膜上并发生自磷酸化而被激活,激活后的PINK1会募集胞质内的E3泛素连接酶Parkin到线粒体外膜上,并激活Parkin使其磷酸化,磷酸化后的Parkin对线粒体蛋白底物进行泛素化修饰并与p62结合,并招募LC3共同形成自噬小体,随后溶酶体与自噬小体融合,线粒体被降解清除<sup>[33-36]</sup>。研究发现,在肝纤维化过程中,PINK1表达水平明显升高<sup>[13]</sup>,过度激活PINK1/Parkin介导的线粒体自噬会激活肝星状细胞(HSCs),促进肝纤维化的发生<sup>[37-39]</sup>,抑制PINK1/Parkin依赖性线粒体自噬,减轻CCl<sub>4</sub>诱导的小鼠肝纤维化的发生<sup>[40-41]</sup>。在团队前期的研究中,发现XSSJS对肝纤维小鼠的线粒体损伤具有保护作用,因此结合XSSJS对自噬水平的调控,推测PINK1/Parkin信号通路介导的线粒体自噬可能是XSSJS防治肝纤维化的重要途径。

本研究通过动物实验验证了XSSJS防治肝纤维化发生的作用机制。与空白组比较,模型组小鼠在CCl<sub>4</sub>的诱导下发生了明显的纤维化,在经过水飞

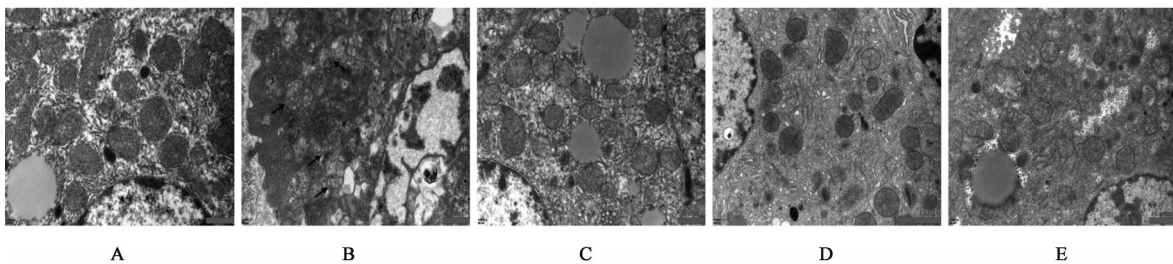


图5 XSSJS对LF小鼠肝组织线粒体损伤的影响(透射电镜,×3 000)

Fig. 5 Effect of XSSJS on mitochondrial damage in liver tissues of LF mice (TEM, ×3 000)

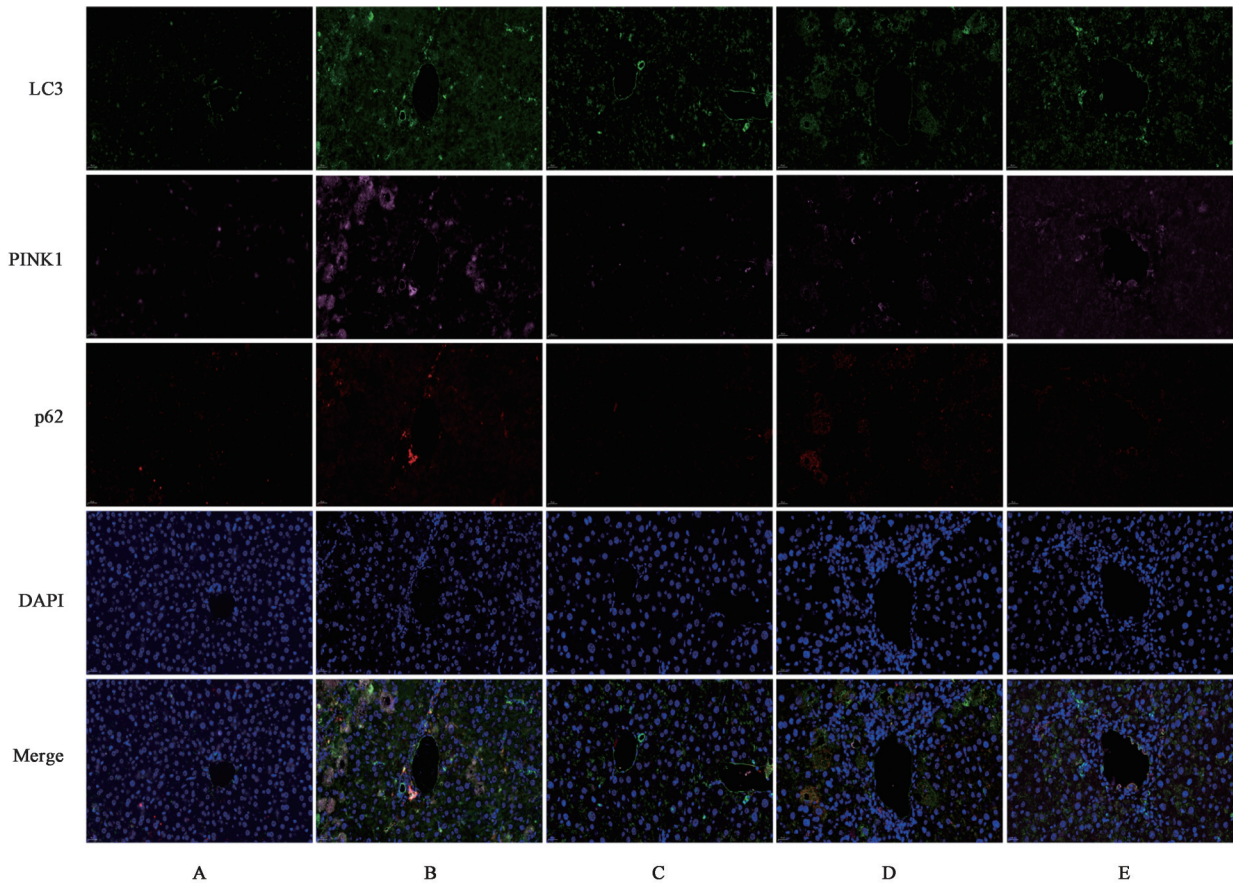


图6 XSSJS对LF小鼠肝组织LC3、PINK1、p62表达的影响(免疫荧光,×400)

Fig. 6 Effect of XSSJS on expression of LC3, PINK1, p62 in liver of LF mice (IF,×400)

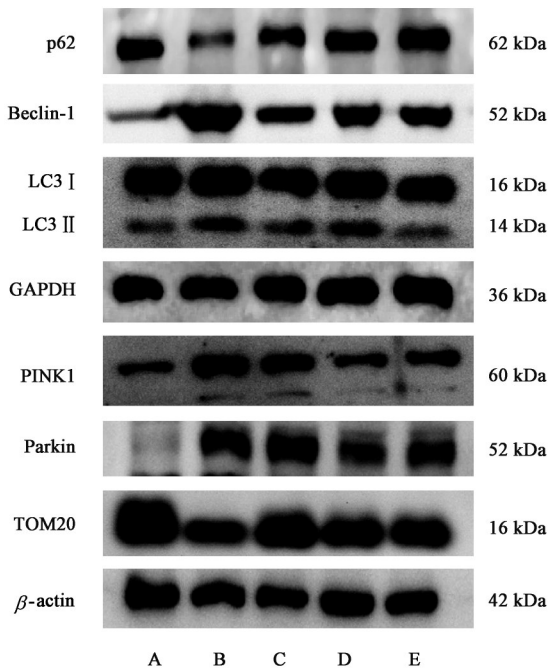


图7 各组小鼠肝组织LC3、p62、Beclin-1、PINK1、Parkin、TOM20蛋白表达电泳

Fig. 7 Electrophoresis of protein expression of LC3, p62, Beclin-1, PINK1, Parkin and TOM20 in liver tissue of mice in each group

藜蘆及 XSSJS 低、高剂量治疗后,小鼠的肝纤维程度均得到了明显的改善,提示 XSSJS 具有抗肝纤维化的作用。病理组织形态学观察发现,模型组小鼠肝组织结构完整性受到破坏,间质中胶原纤维含量明显升高,肝细胞线粒体出现肿胀破损;在经过给药治疗后,各组小鼠肝组织结构变得比较完整,间质胶原纤维含量降低,线粒体损伤得到改善,提示 XSSJS 可以改善线粒体损伤,提高线粒体质量。进一步通过 IF 及 Western blot 检测发现,与空白组比较,模型组的 PINK1、Parkin、LC3、Beclin-1 等蛋白表达水平升高,p62、TOM20 蛋白表达水平降低,提示模型组线粒体自噬水平较高,可能出现了线粒体过度清除的情况;与模型组比较,在经过水飞藜蘆及 XSSJS 低、高剂量治疗后,各治疗组中的 PINK1、Parkin、LC3、Beclin-1 等蛋白表达水平降低,p62、TOM20 蛋白表达水平升高,表明 XSSJS 可通过抑制 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬发挥抗肝纤维化的作用。见增强出版附加材料。

综上,开通肝络玄府法经典方 XSSJS 可通过抑制 PINK1/Parkin 信号通路减少线粒体的过度自噬,

表6 XSSJS对LF小鼠肝组织LC3、p62、Beclin-1、PINK1、Parkin、TOM20蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 6 Effect of XSSJS on expression of LC3, p62, Beclin-1, PINK1, Parkin and TOM20 in liver tissues of LF mice ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

| 组别        | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | p62/GAPDH               | Beclin-1/GAPDH          | LC3 II/LC3 I            | TOM20/GAPDH             | PINK1/ $\beta$ -actin   | Parkin/ $\beta$ -actin  |
|-----------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 空白组       |                       | 1.00±0.06               | 1.00±0.13               | 1.00±0.05               | 1.00±0.02               | 1.00±0.04               | 1.00±0.08               |
| 模型组       |                       | 0.56±0.02 <sup>1)</sup> | 3.52±0.23 <sup>2)</sup> | 1.91±0.07 <sup>1)</sup> | 0.50±0.02 <sup>1)</sup> | 2.26±0.06 <sup>1)</sup> | 3.65±0.08 <sup>1)</sup> |
| 水飞蓟宾组     | 0.1                   | 0.87±0.02 <sup>3)</sup> | 1.99±0.06 <sup>4)</sup> | 1.65±0.10 <sup>3)</sup> | 0.71±0.01 <sup>3)</sup> | 1.99±0.01 <sup>3)</sup> | 4.09±0.06 <sup>3)</sup> |
| XSSJS低剂量组 | 7.58                  | 0.96±0.02 <sup>3)</sup> | 2.59±0.08 <sup>4)</sup> | 1.56±0.12 <sup>3)</sup> | 0.70±0.04 <sup>3)</sup> | 1.24±0.02 <sup>3)</sup> | 2.74±0.13 <sup>3)</sup> |
| XSSJS高剂量组 | 15.16                 | 1.03±0.11 <sup>3)</sup> | 2.22±0.06 <sup>4)</sup> | 1.45±0.13 <sup>3)</sup> | 0.82±0.02 <sup>3)</sup> | 1.21±0.09 <sup>3)</sup> | 3.16±0.06 <sup>3)</sup> |

进而提高线粒体质量,发挥抗肝纤维化的作用。后期笔者团队将继续围绕XSSJS防治肝纤维化的作用机制,利用生物信息学和多组学等研究技术,结合体内外实验,进一步深入挖掘XSSJS防治肝纤维化的分子机制和具体作用靶点,为该方的临床使用和推广提供现代研究数据支持。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3): 151-166.

[2] PAROLA M, PINZANI M. Liver fibrosis in NAFLD/NASH: From pathophysiology towards diagnostic and therapeutic strategies[J]. *Mol Aspects Med*, 2024, 95: 101231.

[3] BATALLER R, BRENNER D A. Liver fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(2): 209-218.

[4] ZOLLER H, TILG H. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma[J]. *Metabolism*, 2016, 65(8): 1151-1160.

[5] ROEHLEN N, CROUCHET E, BAUMERT T F. Liver fibrosis: Mechanistic concepts and therapeutic perspectives[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 875-913.

[6] PEI Q, YI Q, TANG L. Liver fibrosis resolution: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9671.

[7] 蒲晓东. 三甲散治疗慢性肝炎肝纤维化62例临床观察[J]. *江苏中医药*, 2008, 40(11): 67-68.

PU X D. Clinical observation of Sanjia San in the treatment of chronic hepatitis liver fibrosis[J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med*, 2008, 40(11): 67-68.

[8] 何保军, 邵淑静, 朱士君. 复方三甲散等治疗肝硬化86例[J]. *辽宁中医杂志*, 1999(9): 407.

HE B J, SHAO S J, ZHU S J, et al. Compound Sanjia San in the treatment of liver cirrhosis[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 1999(9): 407.

[9] 牟德英, 郑秀丽, 杨宇, 等. 加减三甲散对肝纤维化大鼠Th17/Treg平衡的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(4): 801-804.

MOU D Y, ZHENG X L, YANG Y, et al. Influence of modified Sanjia powder on balance of Th17/Treg in rats with

hepatic fibrosis[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2018, 36(4): 801-804.

[10] 王蝶, 张宝成, 王宝家, 等. 基于“开玄府一通络脉”理论探究三甲散治疗肝纤维化[J]. *四川中医*, 2022, 40(4): 15-18.

WANG D, ZHANG B C, WANG B J, et al. Exploring the treatment of liver fibrosis with Sanjia powder based on the theory of "opening xuanfu-relaxing collaterals"[J]. *Sichuan J Tradit Chin Med*, 2022, 40(4): 15-18.

[11] PALIKARAS K, LIONAKI E, TAVERNARAKIS N. Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(9): 1013-1022.

[12] 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.

[13] BI Y, LIU S, QIN X, et al. FUNDC1 interacts with GPx4 to govern hepatic ferroptosis and fibrotic injury through a mitophagy-dependent manner[J]. *J Adv Res*, 2024, 55: 45-60.

[14] 田萌媛, 张铭, 赵哲, 等. 基于自噬探讨中医药抗肝纤维化的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(21): 255-263.

TIAN M Y, ZHANG M, ZHAO Z, et al. Traditional Chinese medicine against liver fibrosis based on autophagy: A review[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(21): 255-263.

[15] NARENDRA D P, YOULE R J. The role of PINK1-Parkin in mitochondrial quality control[J]. *Nat Cell Biol*, 2024, 26(10): 1639-1651.

[16] LAN T, CHEN B, HU X, et al. Tianhuang formula ameliorates liver fibrosis by inhibiting CCL2-CCR2 axis and MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117516.

[17] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202-203.

XU S Y, BIAN R L, CHEN X, et al. Methodology of pharmacological experiments[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 202-203.

[18] 杨靖, 李英, 曾莉, 等. 中医药治疗纤维化疾病的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(3): 270-278.

YANG J, LI Y, ZENG L, et al. Traditional Chinese medicine against fibrotic diseases: A review[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(3): 270-278.

[19] 张定棋, 徐莹, 杨海琳, 等. 不同制法下瘀血汤对CCl<sub>4</sub>诱导

- 大鼠肝纤维化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5):18-25.
- ZHANG D Q, XU Y, YANG H M, et al. Effect of Xiayuxue Tang with different processing method on CCl<sub>4</sub>-induced hepatic fibrosis in rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(5):18-25.
- [20] 赵志敏, 刘成海, 中药抗肝纤维化的研究实践与发展述评 [J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(8):5-10, 12.
- ZHAO Z M, LIU C H. Review on the research practice and development of traditional Chinese medicine in anti-hepatic fibrosis[J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2023, 57(8):5-10, 12.
- [21] 刘定, 曹洪欣, 潘富珍. 从“五脏相关”理论探讨肝纤维化病机变化特点[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(8):4512-4514.
- LIU D, CAO H X, PAN F Z. Discussion on characteristics of pathological changes of hepatic fibrosis based on the theory of "correlation between five Zang viscera" [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(8):4512-4514.
- [22] 李雪萍, 刘伟伟, 姚欢, 等. 桂枝茯苓丸开玄通络化瘀拮抗肝脏微循环障碍防治肝纤维化理论探析[J]. 四川中医, 2023, 41(9):29-34.
- LI X P, LIU W W, YAO H, et al. Guizhi Fuling Wan improve hepatic microcirculation by opening xuanfu and unblocking collaterals to prevent and treat hepatic fibrosis [J]. Sichuan J Tradit Chin Med, 2023, 41(9):29-34.
- [23] 王龙, 杨宇, 王宝家. 从“玄府”辨治肝纤维化的理论探析 [J]. 中医药学报, 2022, 50(3):9-12.
- WANG L, YANG Y, WANG B J. Theoretical analysis of treating liver fibrosis from: "Xuanfu" [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(3):9-12.
- [24] ZHANG T, YANG Y, WANG B, et al. XSSJS inhibits hepatic fibrosis by promoting the miR-29b-3p/VEGFA axis *in vitro* and *in vivo* [J]. Biosci Rep, 2022, 42(2):1-17.
- [25] SPRINGER W, KAHLE P J. Regulation of PINK1-Parkin-mediated mitophagy [J]. Autophagy, 2014, 7(3):266-278.
- [26] 阮博文, 冯丽娟, 磨奕玲, 等. 基于线粒体自噬探讨“阳化气、阴成形”理论治疗肝纤维化科学内涵 [J]. 辽宁中医杂志, 2026, 53(1):36-40.
- RUAN B W, FENG L J, MO Y L, et al. Exploring the scientific connotation of the theory of "Yang transforming into Qi, while Yin constituting form" in the treatment of hepatic fibrosis based on mitochondrial autophagy [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2026, 53(1):36-40.
- [27] LV T, FAN X, HE C, et al. SLC7A11-ROS/ $\alpha$ KG-AMPK axis regulates liver inflammation through mitophagy and impairs liver fibrosis and NASH progression [J]. Redox Biol, 2024, 72:103159.
- [28] YOULE R J, NARENDRA D P. Mechanisms of mitophagy [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010, 12(11):9-14.
- [29] LIU L, SAKAKIBARA K, CHEN Q, et al. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems [J]. Cell Res, 2014, 24(7):787-795.
- [30] SATO S, FURUYA N. Induction of PINK1/parkin-mediated mitophagy [J]. Mitophagy, 2018, 1759:9-17.
- [31] WAUER T, SIMICEK M, SCHUBERT A, et al. Mechanism of phospho-ubiquitin-induced PARKIN activation [J]. Nature, 2015, 524(7565):370-374.
- [32] HAN R, LIU Y, LI S, et al. PINK1-PRKN mediated mitophagy: Differences between *in vitro* and *in vivo* models [J]. Autophagy, 2022, 19(5):1396-1405.
- [33] NGUYEN T N, PADMAN B S, LAZAROU M. Deciphering the molecular signals of PINK1/Parkin mitophagy [J]. Trends Cell Biol, 2016, 26(10):733-744.
- [34] TANAKA K. The PINK1-Parkin axis: An overview [J]. Neurosci Res, 2020, 159:9-15.
- [35] CUMMINS N, GÖTZ J. Shedding light on mitophagy in neurons: What is the evidence for PINK1/Parkin mitophagy *in vivo* [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 75(7):1151-1162.
- [36] KAWAJIRI S, SAIKI S, SATO S, et al. PINK1 is recruited to mitochondria with parkin and associates with LC3 in mitophagy [J]. FEBS Lett, 2010, 584(6):1073-1079.
- [37] QIU Y N, WANG G H, ZHOU F, et al. PM<sub>2.5</sub> induces liver fibrosis via triggering ROS-mediated mitophagy [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 167:178-187.
- [38] WANG Z J, YU H, HAO J J, et al. PM<sub>2.5</sub> promotes Drp1-mediated mitophagy to induce hepatic stellate cell activation and hepatic fibrosis via regulating miR-411 [J]. Exp Cell Res, 2021, 407(2):112828.
- [39] DOU J Y, ZHOU M J, XUAN M Y, et al. Astilbin alleviates hepatic fibrosis through PXR-PINK1/Parkin pathway: A new strategy by regulating hepatic stellate cells-macrophage crosstalk [J]. Phytomedicine, 2024, 135:156144.
- [40] WU H, CHEN G, WANG J, et al. TIM - 4 interference in Kupffer cells against CCL4 - induced liver fibrosis by mediating Akt1/mitophagy signalling pathway [J]. Cell Prolif, 2019, 53(1):e12731.
- [41] WU N N, WANG L, WANG L, et al. Site-specific ubiquitination of VDACL1 restricts its oligomerization and mitochondrial DNA release in liver fibrosis [J]. Exp Mol Med, 2023, 55(1):269-280.

[责任编辑 顾雪竹]