

丹参泽泻汤调控 Nrf2/Omi/HtrA2 信号通路增加自噬通量改善代谢相关脂肪性肝病的作用机制

彪雅宁¹, 高星星², 陈健³, 刘晨旭¹, 张明⁴, 石铖¹, 张一昕^{1*}, 张睦清^{5*}

(1. 河北中医药大学药学院, 河北省中药资源利用与质量评价联合研究中心, 石家庄 050200;
2. 河北中医药大学第一附属医院, 石家庄 050011; 3. 河北中医药大学中医学院, 石家庄 050200;
4. 河北省第七人民医院, 河北定州 073000; 5. 河北医科大学第四医院, 石家庄 050011)

【摘要】 目的:探讨丹参泽泻汤通过调控核因子E₂相关因子2(Nrf2)/高温需求因子2(Omi/HtrA2)信号通路增加自噬通量对代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的治疗作用及其机制。方法:10只SD大鼠喂饲正常饲料作为正常组,另取50只SD大鼠喂饲高脂饲料复制MAFLD模型,并分为模型组,易善复组(0.144 g·kg⁻¹),丹参泽泻汤低、中、高剂量组(2.5、5、10 g·kg⁻¹)。造模12周后,药物治疗4周。实验结束后,检测血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)含量或活性;免疫荧光法检测肝组织活性氧(ROS)含量;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、造血细胞特异性蛋白1相关蛋白X-1(Hax-1)、视神经萎缩蛋白1(Opa1)、线粒体动力蛋白1(Drp1)、自噬关键分子酵母Atg6同系物(Beclin1)、选择性自噬接头蛋白62(p62)和微管相关蛋白1轻链3(LC3)蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠血清MDA、肝组织ROS水平及Hax-1、Drp1和p62蛋白表达均显著升高($P<0.01$),血清SOD、GSH-Px活性及肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Opa1、Beclin1和LC3 II蛋白表达均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,丹参泽泻汤各剂量组大鼠氧化损伤减轻,Hax-1、Drp1和p62蛋白表达明显下调($P<0.05$, $P<0.01$),Nrf2、Omi/HtrA2、Opa1、Beclin1和LC3 II蛋白表达明显上调($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:丹参泽泻汤治疗MAFLD的机制可能与调控Nrf2/Omi/HtrA2信号通路增强自噬通量,改善线粒体功能障碍有关。

【关键词】 代谢相关脂肪性肝病; 丹参泽泻汤; 核因子E₂相关因子2(Nrf2); 高温需求因子2(Omi/HtrA2); 自噬通量

【中图分类号】 R277;R285;R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)16-0085-07

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.20260331

【网络出版地址】 <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260128.1846.009>

【网络出版日期】 2026-01-29 10:59:36



Danshen Zexie Decoction Ameliorates Metabolic-associated Fatty Liver Disease by Increasing Nrf2/Omi/HtrA2 Pathway-mediated Autophagic Flux

BIAO Yaning¹, GAO Xingxing², CHEN Jian³, LIU Chenxu¹, ZHANG Ming⁴, SHI Cheng¹,
ZHANG Yixin^{1*}, ZHANG Muqing^{5*}

(1. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, International Joint Research Center on Resource Utilization and Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine (TCM) of Hebei Province, Shijiazhuang 050200, China; 2. The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 3. College of TCM, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; 4. Hebei Seventh People's Hospital, Dingzhou 073000, China; 5. The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

【收稿日期】 2025-10-23

【基金项目】 河北省自然科学基金项目(H2023423064);河北省属高校基本科研业务费专项(TDZR2025008);河北省中医药管理局中医药类科学研究课题计划项目(2026093);国家级大学生创新创业训练计划项目(202514432023)

【第一作者】 彪雅宁,博士,讲师,从事代谢性疾病中医药防治及机制研究,E-mail:biaoyanining@hebcm.edu.cn

【通信作者】 *张睦清,博士,副主任医师,从事消化内科疾病的基础和临床研究,E-mail:zmq1231003@126.com;

*张一昕,博士,教授,博士生导师,从事代谢性疾病中医药防治及机制研究,E-mail:zhangyixin@hebcm.edu.cn

[Abstract] **Objective:** To explore the therapeutic effect and mechanism of Danshen Zexie decoction on metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) by increasing autophagic flux via the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/high temperature requirement factor A2/Omi (Omi/HtrA2) pathway. **Methods:** Ten SD rats were fed a standard diet as the control group, while 50 SD rats were fed a high-fat diet to build the MAFLD model. The modeled rats were randomly assigned into model, Yishanfu ($0.144\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and low-, medium-, and high-dose Danshen Zexie decoction (2.5 , 5 , and $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively) groups. After 12 weeks of modeling, drugs were administered simultaneously for 4 weeks. Levels or activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) were measured. The hepatic reactive oxygen species (ROS) level was detected by immunofluorescence. Western blot was performed to assess the protein levels of Nrf2, Omi/HtrA2, hematopoietic cell-specific protein 1-associated protein X-1 (Hax-1), optic atrophy protein 1 (Opa1), mitochondrial dynamin-related protein 1 (Drp1), autophagy key molecule mammalian ortholog of yeast Atg6 (Beclin1), selective autophagy junction protein 62 (p62), and microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) in the liver. **Results:** Compared with the control group, the model group exhibited obviously elevation in serum level of MDA, hepatic level of ROS, and protein levels of Hax-1, Drp1 and p62 ($P<0.01$). Conversely, the serum activities of SOD and GSH-Px, as well as hepatic protein levels of Nrf2, Omi/HtrA2, Opa1, Beclin1 and LC II were decreased in the model group ($P<0.01$). Danshen Zexie decoction alleviated oxidative stress, lowered the protein levels of Hax-1, Drp1, and p62 ($P<0.05$, $P<0.01$), and increased the protein levels of Nrf2, Omi/HtrA2, Opa1, Beclin1 and LC II ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Danshen Zexie decoction may treat MAFLD by increasing autophagic flux and alleviating mitochondrial dysfunction through regulating the Nrf2/Omi/HtrA2 pathway.

[Keywords] metabolic-associated fatty liver disease; Danshen Zexie decoction; nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2); high temperature requirement factor A2/Omi (Omi/HtrA2); autophagic flux

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)发病率逐年升高,影响着全球约32.4%的人口,若不及时控制,不仅直接引发肝功能进行性损害,还与2型糖尿病、心血管疾病及肝外恶性肿瘤等重大慢性疾病的发病风险呈显著正相关,已成为全球性健康问题和我国慢性肝病疾病谱中的首要致病因素^[1-2]。目前尚缺乏理想的中药制剂,因此,寻找安全有效药物对于保障患者健康和减轻社会医疗负担具有积极意义。

MAFLD发病机制较复杂,目前广为认可的“多次平行命中”假说指出,自噬与线粒体功能障碍在MAFLD发展过程中的作用不容忽视。线粒体功能障碍可触发自噬来清除功能受损的线粒体,延缓MAFLD病情进展。研究发现,高温需求因子2(Omi/HtrA2)是一种核编码的线粒体丝氨酸蛋白酶,为调节自噬的关键因子,通过特异性切割并降解造血细胞特异性蛋白1相关蛋白X-1(Hax-1)以激活自噬关键分子酵母Atg6同系物(Beclin1)依赖性途径的自噬^[3]。核因子E₂相关因子2(Nrf2)为Omi/HtrA2的上游因子,通过上调Omi/HtrA2水平可改善线粒体功能障碍,逆转MAFLD的自噬抑制状态^[4-5],而下调Omi/HtrA2表达能够抑制肝脏自噬发生^[3]。既往研究多聚焦于PTEN诱导假定激酶1(PINK1)/帕金森蛋白(Parkin)介导的线粒体自噬通路来调节线粒体功能^[5],而关于激活Nrf2号触发Omi/HtrA2改善线粒体功能障碍以恢复自噬通量的相关报道较少。

丹参泽泻汤为“泽泻汤”加丹参和荷叶而成,具有祛湿消痰、活血化瘀之功,契合MAFLD“痰瘀互

结”的病机。临床表明,泽泻汤的降脂疗效确切^[6],且丹参和泽泻为治疗MAFLD使用频率较高的中药^[7],荷叶中生物碱类成分对MAFLD具有良好的抗脂肪肝活性^[8]。课题组前期研究表明丹参泽泻汤可通过活化Nrf2和改善线粒体功能障碍来减轻MAFLD大鼠肝脏脂质沉积^[9-10],同时还能抑制MAFLD向肝纤维化进展^[11]。但其能否通过活化Omi/HtrA2,改善线粒体功能进而治疗MAFLD,目前尚未见报道。因此,本研究在前期研究基础上,采用喂饲高脂饲料方法复制MAFLD大鼠模型,观察了其对实验大鼠Nrf2/Omi/HtrA2信号通路相关蛋白、自噬通量和线粒体功能的影响,旨在深入阐明丹参泽泻汤对MAFLD的治疗机制。

1 材料

1.1 动物 60只SPF级SD大鼠,雄性,体质量(188 ± 12)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证编号110011220104871687,生产合格证号SCXK(京)2021-0006,将动物饲养于河北中医药大学实验动物中心,温度(23 ± 3)℃、湿度30%~70%,12h明暗交替。

1.2 伦理 本实验经河北中医药大学伦理委员会审查通过(DWLL202303026)。

1.3 药物 本实验所用复方均为配方颗粒,由丹参15g、泽泻30g、麸炒白术12g、荷叶10g组成,由广东一方制药有限公司提供(批号分别为1102223、1094813、1090903、0046403);多烯磷脂酰胆碱胶囊(北京赛诺菲制药有限公司,商品名易善复,批号ABJD069B,规格228mg/粒)。

1.4 试剂 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号分别为A001-3-2、A003-1-2、A005-1-2);视神经萎缩蛋白1(Opa1)、线粒体动力蛋白1(Drp1)、Nrf2、Beclin1、选择性自噬接头蛋白62(p62)、Hax-1、微管相关蛋白1轻链3(LC3)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号分别为DF8587、DF7037、AF0639、AF5128、AF5384、DF7391、AF4615、S0001);HtrA2一抗多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号15775-1-AP);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(成都正能生物科技有限责任公司,货号R380646)。

1.5 仪器 iChem-530型全自动生化分析仪(深圳市库贝尔生物科技股份有限公司);HT300R型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);LEICA RM 2025型石蜡切片机(德国Leica公司);CX23型正置光学显微镜(日本Olympus公司);SCIENTZ-12型高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司);Mini-PROTEAN Tetra型垂直电泳槽、Mini-Trans-Blot型湿转槽、PowerPac basic型电泳仪电源(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 大鼠随机分为6组($n=10$):正常组,模型组,易善复组($0.144\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),丹参泽泻汤低、中、高剂量组(2.5 、 5 、 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),分别相当于生药量 7.04 、 14.08 、 $28.16\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,依据《中药药理研究方法学》中人与大鼠体表系数换算法得出给药剂量^[12]。采用高脂饲料建立(78.8%基础饲料+15%猪油+5%蔗糖+1%胆固醇+0.2%胆酸钠)MAFLD模型^[13],造模12周后,造模同时给予相应药物治疗4周,正常组和模型组给予等量蒸馏水,给药剂量 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.2 标本采集 样本采集前禁食不禁水12 h,动物麻醉后股动脉取血, $3\ 500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径8.6 cm),收集血清;迅速剖取2份适宜大小的肝组织分别用4%多聚甲醛固定和液氮保存。

2.3 指标检测

2.3.1 血清指标检测 分别采用水溶性四唑盐试剂(WST-1)法、分光光度法和硫代巴比妥酸(TBA)法检测血清SOD、GSH-Px活性和MDA含量。

2.3.2 免疫荧光法检测肝组织活性氧(ROS)含量 肝组织冷冻切片复温后,免疫荧光笔画圈,依

次加入自发荧光淬灭剂、ROS染液、4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染液孵育,封片,荧光显微镜观察。

2.3.3 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Opa1、Drp1、Hax-1、Beclin1、p62和LC3蛋白的表达 用放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液和苯甲基磺酰氟(PMSF)(1:10)混合液提取总蛋白,经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,转膜,快速封闭液封闭10 min,分别加入相应一抗(GAPDH稀释比例为1:10 000,其余抗体稀释比例均为1:1 000,4℃过夜)和二抗(1:5 000,室温30 min),增强化学发光法(ECL)显影后Image J分析条带灰度值。

2.4 统计学分析 采用SPSS 19.0软件进行统计分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,Shapiro-Wilk检验数据服从正态分布,计量资料采用单因素方差分析,方差齐用最小显著性差异法(LSD)检验,方差不齐用Dunnett' T3检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠血清SOD、GSH-Px和MDA含量或活性的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清SOD、GSH-Px活性显著降低($P<0.01$),血清MDA水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠血清SOD、GSH-Px活性显著升高($P<0.01$),血清MDA水平显著降低($P<0.01$)。见表1。

3.2 丹参泽泻汤对MAFLD肝组织ROS水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝组织ROS水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠肝组织ROS水平显著降低($P<0.01$)。见图1、表2。

3.3 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Drp1、Opa1、Hax-1、Beclin1、p62和LC3 II蛋白表达水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Opa1、Beclin1和LC3 II蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$),Drp1、Hax-1和p62蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Opa1、Beclin1和LC3 II蛋白表达水平均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),Drp1、Hax-1和p62蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。见图2、表3、表4。

4 讨论

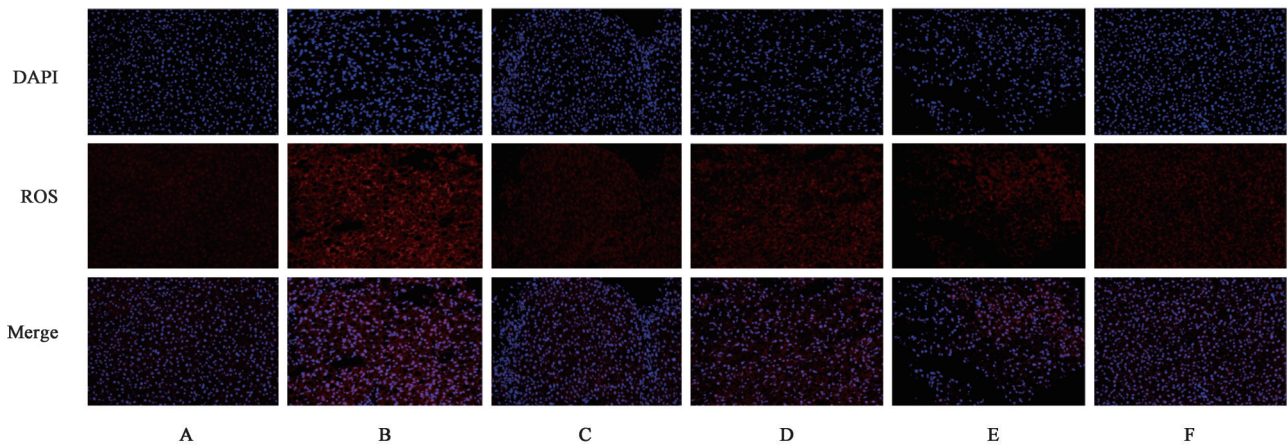
中医学将MAFLD归属于“积聚”“痰浊”“胁痛”等范畴。课题组认为其发病多是由于饮食不节、情志抑郁、起居失常等致脾运失常,肝失畅达。脾虚则湿聚生痰,肝郁则气滞血瘀,终致痰瘀互结于肝

表1 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠血清氧化应激指标的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Danshen Zexie decoction on serum oxidative stress indices in MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/mmol·L ⁻¹	GSH-Px/U·mL ⁻¹
正常组		194.91±27.26	6.82±1.34	765.19±60.92
模型组		121.32±16.96 ¹⁾	12.75±2.40 ¹⁾	607.18±51.19 ¹⁾
易善复组	0.144	177.86±12.23 ³⁾	7.40±1.07 ³⁾	692.06±40.11 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	172.78±14.03 ³⁾	7.91±1.33 ³⁾	697.14±65.59 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	197.63±18.70 ³⁾	7.57±1.07 ³⁾	770.88±69.28 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	199.94±24.58 ³⁾	7.34±0.94 ³⁾	785.14±48.77 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.05,³⁾P<0.01(表2-表4同)



注:A.正常组;B.模型组;C.易善复组;D-F:丹参泽泻汤低、中、高剂量组(图2同)

图1 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肝组织ROS水平的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 1 Effect of Danshen Zexie decoction on hepatic ROS level in MAFLD rats (IF, ×200)

表2 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肝组织ROS水平的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Danshen Zexie decoction on level of ROS in liver of MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ROS荧光面积/%
正常组		45.27±4.99
模型组		81.84±6.23 ¹⁾
易善复组	0.144	63.30±5.57 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	70.77±4.04 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	67.44±4.38 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	61.82±8.98 ³⁾

而成。故“痰瘀互结”为MAFLD的病机关键,消痰祛瘀为其重要治法。丹参泽泻汤方中泽泻利湿消痰,白术补脾燥湿,丹参活血祛瘀,荷叶芳化湿浊,四药合用,共奏消痰祛瘀之功,为治疗MAFLD的有效方剂。现代药理研究表明,泽泻乙醇提取物可通过下调脂肪酸合酶、乙酰辅酶A羧化酶1表达,抑制MAFLD模型细胞的脂质积累^[14]。丹参酮Ⅱ_A能够降低脂质积累,减轻炎症反应,改善MAFLD大鼠脂肪变性程度^[15]。白术内酯Ⅲ改善MAFLD大鼠脂代

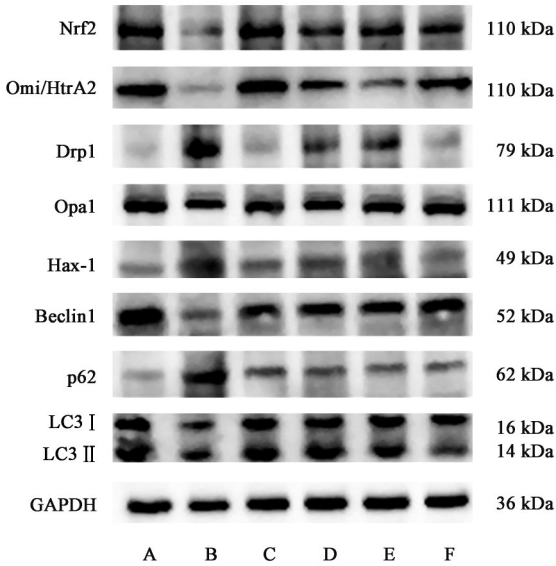


图2 大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Drp1、Opa1、Hax-1、Beclin1、p62、Beclin1和LC3蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of Nrf2, Omi/HtrA2, Drp1, Opa1, Hax-1, p62, Beclin1 and LC3 proteins expression in liver of rats

谢异常、炎症反应和氧化应激,其机制可能与调节高迁移率族蛋白(HMGB1)/晚期糖基化终产物受体

表3 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Drp1和Opa1蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of Danshen Zexie decoction on proteins of Nrf2, Omi/HtrA2, Drp1 and Opa1 in liver of MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Nrf2/GAPDH	Omi/HtrA2/GAPDH	Drp1/GAPDH	Opa1/GAPDH
正常组		1.39±0.09	1.09±0.14	0.40±0.06	1.35±0.06
模型组		0.75±0.04 ¹⁾	0.41±0.13 ¹⁾	1.22±0.10 ¹⁾	0.83±0.04 ¹⁾
易善复组	0.144	1.20±0.10 ³⁾	1.11±0.06 ³⁾	0.58±0.02 ²⁾	1.09±0.14 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	0.95±0.06 ²⁾	0.88±0.09 ³⁾	0.68±0.03 ²⁾	1.04±0.08 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	1.08±0.07 ³⁾	0.69±0.16 ²⁾	0.61±0.03 ²⁾	1.10±0.11 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	1.09±0.12 ³⁾	1.11±0.11 ³⁾	0.58±0.03 ²⁾	1.22±0.11 ³⁾

表4 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肝组织Hax-1、Beclin1、p62和LC3Ⅱ蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Danshen Zexie decoction on proteins of Hax-1, Beclin1, p62 and LC3Ⅱ in liver of MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Hax-1/GAPDH	Beclin1/GAPDH	p62/GAPDH	LC3Ⅱ/GAPDH
正常组		0.48±0.09	1.12±0.15	0.48±0.06	1.28±0.14
模型组		0.87±0.12 ¹⁾	0.67±0.13 ¹⁾	0.93±0.02 ¹⁾	0.73±0.06 ¹⁾
易善复组	0.144	0.52±0.02 ³⁾	0.93±0.06 ²⁾	0.63±0.13 ³⁾	1.28±0.07 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	0.58±0.04 ³⁾	0.90±0.06 ²⁾	0.67±0.07 ³⁾	1.23±0.14 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	0.56±0.04 ³⁾	0.92±0.04 ²⁾	0.61±0.11 ³⁾	1.31±0.02 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	0.54±0.06 ³⁾	1.10±0.17 ³⁾	0.58±0.05 ³⁾	1.15±0.05 ³⁾

(RAGE)通路,抑制细胞凋亡有关^[16]。荷叶碱及原荷叶碱为荷叶水提取物中的主要降脂成分,能够减少FFA诱导的HepG2细胞脂质蓄积^[17]。因此,本研究选用丹参泽泻汤为治疗方药。

线粒体功能障碍在MAFLD发病中的作用不可忽视,长期高脂高糖饮食,肝细胞脂质过量积聚,则线粒体脂肪酸氧化异常,引发线粒体功能障碍,导致ROS含量增加。而ROS的过量生成会触发氧化应激和脂质过氧化反应,进一步损伤线粒体功能,引起肝脏脂质沉积,加剧MAFLD病情发展^[18]。线粒体损伤时会出现形态结构和功能的双重损伤,其正常生理功能依靠线粒体的融合和分裂过程保持动态平衡以维系,其中线粒体分裂受Drp1蛋白调控,而线粒体融合受Opa1蛋白调控。经研究发现,MAFLD患者的线粒体出现肿胀,发生形态学改变^[19]。MAFLD合并糖尿病大鼠肝脏组织线粒体融合蛋白Opa1表达降低,而线粒体分裂蛋白Drp1表达增加^[20]。在HepG2细胞建立的MAFLD体外模型中,可观察到线粒体融合/分裂蛋白表达失衡,表现为分裂增强而融合减弱^[21],提示线粒体融合降低和分裂增强引发的线粒体功能障碍与MAFLD发生发展密切相关。本研究表明,MAFLD大鼠SOD、GSH-Px和Opa1活性或水平降低,MDA、ROS和Drp1水平升高,表明MAFLD出现氧化应激及线粒体功能障碍。丹参泽泻汤能够升高SOD、GSH-Px

和Opa1活性或水平,降低MDA、ROS和Drp1表达水平,表明丹参泽泻汤能够改善线粒体功能障碍,减轻氧化应激。

自噬是细胞消除、降解受损、衰老和失去功能的细胞器及变性的蛋白等大分子,为细胞提供循环能量的一种过程,也可作为细胞程序性死亡的另一种途径^[22]。自噬通量为自噬的整个过程,从吞噬体形成到自噬体形成,再到自噬体与溶酶体融合,以及最终的自噬体降解^[23]。在生理状态下,线粒体通过热休克蛋白(协助蛋白质正确折叠)及蛋白酶系统(负责错误蛋白质的降解)的协同作用,共同维持线粒体蛋白质的质和量的稳态。当线粒体出现功能障碍,线粒体内变性或者错误折叠的蛋白质大量积累超过自身清理能力时,就会触发自噬的发生,以清除受损的线粒体。Omi/HtrA2是一种进化保守的线粒体丝氨酸蛋白酶,能够修复错误折叠蛋白,并帮助新合成蛋白正确折叠^[24]。Nrf2是调节抗氧化机制的关键因子,大量ROS既能激发Nrf2抗氧化防御反应,又能够损伤线粒体,导致线粒体错误折叠蛋白增多,进而上调Omi/HtrA2表达,改善线粒体功能障碍。已有研究证实,氧化应激情况下,机体通过活化Nrf2信号分子,上调Omi/HtrA2表达,改善线粒体形态损伤和功能障碍^[4]。若Omi/HtrA2表达受抑,线粒体ROS生成过多,则会促进肝炎、肝纤维化的发生^[25]。同时,Omi/HtrA2还可通过下游

Hax-1/Beclin1途径参与自噬,Beclin1是自噬的关键调控因子,主要参与自噬体的形成,其可通过与B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)相互作用,抑制自噬^[26]。Omi/HtrA2位于Beclin1的上游,其通过切割Bcl-2家族相关蛋白Hax-1,解除其对Beclin1的抑制,最终诱导自噬^[27]。在自噬过程中,p62可直接反映自噬水平,其表达水平与自噬呈负相关^[28]。LC3为自噬体形成的关键蛋白,在自噬过程中首先转化为LC3 I,随后与磷脂酰乙醇胺共价结合形成LC3 II并定位于自噬体膜,故LC3 II的形成标志着自噬的发生^[29]。据报道,在MAFLD小鼠中,Omi/HtrA2表达增加能够下调p62表达;MAFLD模型细胞经过Omi/HtrA2表达载体处理后,被阻断的自噬活性也得到恢复^[4]。本实验结果表明,MAFLD大鼠肝组织Nrf2、Omi/HtrA2、Beclin1和LC3 II表达下调,p62表达上调,而丹参泽泻汤能够逆转上述指标趋势,表明丹参泽泻汤可能通过活化Nrf2信号分子,促进Omi/HtrA2表达,增加自噬通量,清除受损的线粒体,进而改善线粒体功能障碍,达到治疗MAFLD的目的。

综上所述,丹参泽泻汤对MAFLD大鼠有较好的治疗效果,其机制可能与调控Nrf2/Omi/HtrA2信号通路,增强自噬通量,改善线粒体功能障碍有关。本文仅在动物水平初步探讨了丹参泽泻汤治疗MAFLD的可能作用机制,后续将进一步开展体外实验,利用Nrf2及自噬抑制剂进行干预,以验证该方治疗MAFLD的作用机制。

[利益冲突] 张一昕是本刊编委,本文遵循期刊标准流程处理,其同行评审工作独立于编委会成员及其研究团队之外,本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] YOUNOSSI Z M, GOLABI P, PAIK J M, et al. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): A systematic review[J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1335-1347.
- [2] 房姝含, 许彦哲, 罗益, 等. 石斛碱对非酒精性脂肪性肝病小鼠肝脏脂肪酸代谢的影响及机制[J]. *遵义医科大学学报*, 2025, 48(8): 775-782.
FANG S H, XU Y Z, LUO Y, et al. Study on the effects and mechanisms of dendrobine on hepatic fatty acid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease mice [J]. *J Zunyi Med Univ*, 2025, 48(8): 775-782.
- [3] XU J, JIAO K, LIU X, et al. Omi/HtrA2 participates in age-related autophagic deficiency in rat liver[J]. *Aging Dis*, 2018, 9(6): 1031-1042.
- [4] ZHOU W, DENG X, ZHU X, et al. HtrA2/Omi mitigates NAFLD in high-fat-fed mice by ameliorating mitochondrial

dysfunction and restoring autophagic flux [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 218.

- [5] GE J, ZHANG C, SUN Y C, et al. Cadmium exposure triggers mitochondrial dysfunction and oxidative stress in chicken (*Gallus gallus*) kidney via mitochondrial UPR inhibition and Nrf2-mediated antioxidant defense activation [J]. *Sci Total Environ*, 2019, 689: 1160-1171.
- [6] 李爱珍. 泽泻汤治疗高脂血症的临床疗效[J]. *临床合理用药杂志*, 2018, 11(36): 114-115.
LI A Z. The clinical efficacy of *Alisma* decoction in treating hyperlipidemia [J]. *Chin J Clin Ration Drug Use*, 2018, 11(36): 114-115.
- [7] 寸晓丽, 董丽雪, 周瑞, 等. 基于数据挖掘技术对治疗非酒精性脂肪性肝病中药复方用药规律的探讨[J]. *中医临床研究*, 2024, 16(34): 40-46.
CUN X L, DONG L X, ZHOU R, et al. A study on medication rules of Chinese medicine compound in treating NAFLD based on data mining technology [J]. *Clin J Chin Med*, 2024, 16(34): 40-46.
- [8] 汪晨冉, 王乐, 杨影, 等. 荷叶生物碱类有效成分抗非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. *上海中医药杂志*, 2023, 57(10): 76-82.
WANG C R, WANG L, YANG Y, et al. Research progress on alkaloid active ingredients in *Nelumbinis Folium* against non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Shanghai J Trad Chin Med*, 2023, 57(10): 76-82.
- [9] BIAO Y N, CHEN J, LIU C X, et al. Protective effect of Danshen Zexie decoction against non-alcoholic fatty liver disease through inhibition of ROS/NLRP3/IL-1 β pathway by Nrf2 signaling activation [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 877924.
- [10] 高星星, 顾颖, 路帅, 等. 丹参泽泻汤调控PINK1/Parkin信号通路干预线粒体自噬改善代谢相关脂肪性肝病大鼠线粒体功能障碍[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(16): 77-84.
GAO X X, GU Y, LU S, et al. Danshen Zexie decoction alleviates mitochondrial dysfunction in rat model of MAFLD by intervening in mitophagy via PINK1/Parkin signaling pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, 32(16): 77-84.
- [11] 高星星, 张豆, 顾颖, 等. 丹参泽泻汤调控糖酵解抑制NETs改善代谢相关脂肪性肝病肝纤维化的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(16): 60-68.
GAO X X, ZHANG D, GU Y, et al. Danshen Zexie decoction ameliorates metabolic-associated fatty liver disease with liver fibrosis by regulating glycolysis and inhibiting NETs [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, 32(16): 60-68.
- [12] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1261-1262.
- [13] 陈奇. *Methodology for Pharmacological Research of Traditional Chinese Medicine* [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 1261-1262.
- [13] 彪雅宁, 安嘉琪, 张豆, 等. 丹参泽泻汤对代谢相关脂肪性肝

- 病大鼠肠道菌群-SCFAs-GLP-1代谢轴的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(16): 69-76.
- BIAO Y N, AN J Q, ZHANG D, et al. Regulatory effect of Danshen Zexie decoction on gut microbiota-SCFAs-GLP-1 metabolic axis in rat model of metabolic-associated fatty liver disease[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2026, 32(16): 69-76.
- [14] JEON S H, JANG E, PARK G, et al. Beneficial activities of *Alisma orientale* extract in a western diet-induced murine nonalcoholic steatohepatitis and related fibrosis model via regulation of the hepatic adiponectin and farnesoid X receptor pathways[J]. Nutrients, 2022, 14(3): 695.
- [15] 郝健亨, 王海军, 曹玉霞, 等. 丹参酮Ⅱ_A治疗非酒精性脂肪性肝病的网络分析及实验验证[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(21): 5243-5249.
- HAO J H, WANG H J, CAO Y X, et al. Network analysis and experimental validation of tanshinone II_A in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Chin J Gerontol, 2024, 44(21): 5243-5249.
- [16] 谭洁, 田霞, 韩峥, 等. 白术内酯Ⅲ调节HMGB1-RAGE信号通路对非酒精性脂肪性肝病大鼠炎症反应的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2025, 45(13): 1480-1486, 1497.
- TAN J, TIAN X, HAN Z, et al. Effects of Atractylenolide III on inflammatory response in non-alcoholic fatty liver disease rats by regulating the HMGB1-RAGE signaling pathway[J]. Chin J Hosp Pharm, 2025, 45(13): 1480-1486, 1497.
- [17] 洪祝平, 张建华, 史月姣, 等. 基于非酒精性脂肪肝细胞模型的荷叶水提物降脂作用机制研究[J]. 现代中药研究与实践, 2024, 38(2): 41-47.
- HONG Z P, ZHANG J H, SHI Y J, et al. Study on lipid-lowering effects and mechanisms of lotus leaf water extract using an *in vitro* model of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Res Pract Chin Med, 2024, 38(2): 41-47.
- [18] 朱潇旭, 段小花, 李瑞霞, 等. 线粒体功能障碍与非酒精性脂肪肝病发病关系的研究进展[J]. 山东医药, 2018, 58(29): 108-111.
- ZHU X X, DUAN X H, LI R X, et al. Research progress on the relationship between mitochondrial dysfunction and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Shandong Med J, 2018, 58(29): 108-111.
- [19] CARDOSO A R, CABRAL-COSTA J V, KOWALTOWSKI A J. Effects of a high fat diet on liver mitochondria: increased ATP-sensitive K⁺ channel activity and reactive oxygen species generation[J]. J Bioenerg Biomembr, 2010, 42(3): 245-253.
- [20] 彭思涵, 陶妍敏, 谢春光, 等. 基于线粒体融合-分裂系统探讨参芪化痰方改善糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病氧化应激损伤的机制[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(5): 2292-2296.
- PENG S H, TAO Y M, XIE C G, et al. Exploration on the mechanism of improvement of oxidative stress injury in diabetes mellitus combined with nonalcoholic fatty liver disease by Shenqi Huatan formula based on mitochondrial fusion-fission system[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharmacy, 2024, 39(5): 2292-2296.
- [21] BOUREBABA L, LYCZKO J, ALICKA M, et al. Inhibition of protein-tyrosine phosphatase PTP_B and LMPTP promotes palmitate/oleate-challenged HepG2 cell survival by reducing lipoapoptosis, improving mitochondrial dynamics and mitigating oxidative and endoplasmic reticulum stress[J]. J Clin Med, 2020, 9(5): 1294.
- [22] 杨楠, 马抢平, 梁建庆, 等. 归芪益元膏通过调控ERK信号通路增加自噬通量稳定PD-L1的表达对Lewis肺癌小鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(8): 107-114.
- YANG N, MA Q P, LIANG J Q, et al. Effect of Guiqi Yiyuan ointment on lewis lung cancer mice by increasing autophagic flux and stabilizing PD-L1 expression through regulation of ERK signaling pathway[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(8): 107-114.
- [23] ERSKINE D, KOSS D, KOROLCHUK V I, et al. Lipids, lysosomes and mitochondria: Insights into Lewy body formation from rare monogenic disorders [J]. Acta Neuropathol, 2021, 141(4): 511-526.
- [24] 张文华. 葛根素缓解镉致大鼠神经细胞氧化损伤及线粒体未折叠蛋白反应[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- ZHANG W H. Puerarin alleviated oxidative damage and mitochondrial unfolded protein response induced by cadmium in rat neurocyte[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022.
- [25] HUR W, KANG B Y, KIM S M, et al. Serine protease HtrA2/Omi deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes hepatic fibrogenesis via activation of hepatic stellate cells[J]. Cells, 2019, 8(10): 1119.
- [26] 张怡, 高维娟. Bcl-2/Bcln1复合物对细胞凋亡与自噬的调节作用[J]. 承德医学院学报, 2019, 36(4): 335-340.
- ZHANG Y, GAO W J. Regulatory effect of the Bcl-2/Bcln1 complex on cell apoptosis and autophagy[J]. J Chengde Med Univ, 2019, 36(4): 335-340.
- [27] MASIERO E, AGATEA L, MAMMUCARI C, et al. Autophagy is required to maintain muscle mass [J]. Cell Metab, 2009, 10(6): 507-515.
- [28] 秦红燕, 何小霞, 胡毓杰, 等. 电针对骨癌痛大鼠神经元自噬相关蛋白的调节作用[J]. 中国病理生理杂志, 2025, 41(8): 1559-1568.
- QIN H Y, HE X X, HU Y J, et al. Regulation of autophagy-related proteins by electroacupuncture in rats with bone cancer pain [J]. Chin J Pathophysiol, 2025, 41(8): 1559-1568.
- [29] RUNWAL G, STAMATAKOU E, SIDDIQI F H, et al. Lc3-positive structures are prominent in autophagy-deficient cells [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 10147.
- [责任编辑 孙丛丛]