

· 丹参泽泻汤治疗代谢相关脂肪性肝病作用机制专题 ·

[编者按] 代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)是遗传易感个体由于营养过剩和胰岛素抵抗引起的慢性进展性肝病,疾病谱包括代谢相关脂肪肝、代谢相关脂肪性肝炎及其相关纤维化和肝硬化,以全身乏力、腹部胀满、肝区隐痛、右上腹不适或胀满感、食欲减退及其他消化道症状为主要表现。作为一类表型复杂、驱动因素多样的代谢性疾病,MAFLD的病理进程涉及肝脏脂质蓄积、炎症反应及纤维化形成等序贯性病理过程,且与2型糖尿病、心血管疾病等密切相关,已成为全球肝病防治领域极具挑战性的公共卫生问题,但目前缺乏理想的治疗药物。根据其发病特点,中医学将其归属于“肝痞”“积聚”“肝癖”“胁痛”等范畴,病机多责之肝郁脾虚、痰瘀互结,丹参泽泻汤为经方“泽泻汤”加丹参、荷叶而成。方中以泽泻甘淡渗利,沉降下行,长于祛水湿,消痰浊;白术甘温补虚,苦温性燥,功擅补气健脾,燥湿利水;丹参活血祛瘀,通达肝络,消除肝络之浊瘀;荷叶升发清阳,化湿运脾。四药合用,肝脾同调,痰瘀同治,契合MAFLD的核心病机,为临床治疗MAFLD有效方药。河北中医药大学张一昕教授研究团队,长期致力于丹参泽泻汤防治MAFLD的基础研究。该专题聚焦于自噬、糖酵解、肠道菌群和中性粒细胞胞外诱捕网等关键切入点,系统阐释了丹参泽泻汤调控多靶点的分子机制,深入揭示了其治疗MAFLD的科学内涵,以期为MAFLD的中医药防治及经典方现代化应用提供新的理论视角与实验支撑。

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

高星星¹, 张豆², 顾颖³, 陆艾阳子³, 孙睿泽²,
孟琳山², 彪雅宁^{3*}, 张一昕^{3*}

(1. 河北中医药大学第一附属医院, 石家庄 050011; 2. 河北中医药大学中医学院, 石家庄 050200;
3. 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)

[摘要] 目的:探讨丹参泽泻汤调控糖酵解和中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)形成治疗代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)肝纤维化的作用机制。方法:72只SD大鼠随机分为正常组,模型组,秋水仙碱组($0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),丹参泽泻汤低、中、高剂量组(7 、 14 、 $28\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组12只。采用喂养高脂饲料和腹腔注射40%四氯化碳(CCl_4)橄榄油溶液复制MAFLD肝纤维化模型,第8周后给予药物治疗4周。实验结束后,检测血脂、肝脏脂质、肝功能及血清乳酸、三磷酸腺苷(ATP)、炎症因子含量和纤维化指标;苏木素-伊红(HE)、马松(Masson)和油红O染色法观察肝组织病理形态学;免疫组织化学法检测肝组织 α -平滑肌动蛋白(α -SMA)、中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)和髓过氧化物酶(MPO)蛋白表达;免疫荧光法检测肝组织活性氧(ROS)水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝组织葡萄糖转运体1(Glut1)、己糖激酶2(HK2)、丙酮酸激酶M2(PKM2)蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠血清胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、羟脯氨酸(HYP)、透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(ColⅣ)、层粘连蛋白(LN)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-8、乳酸、ATP和肝组织TC、TG、游离脂肪酸(FFA)及ROS、 α -SMA、NE、MPO、PKM2、HK2和Glut1表达均显著升高($P<0.01$),肝组织有大量脂滴和胶原纤维沉积。与模型组比较,丹参泽泻汤各剂量组均能显著改善肝功能和脂代谢异常,减轻肝组织脂肪变性和纤维病变程度,血清炎症因子、乳酸含量、ATP水平及肝组织ROS、 α -SMA、NE、MPO、PKM2、HK2和Glut1表达显著下调($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:丹参泽泻汤治疗MAFLD肝纤维化的作用机制可能与调控糖酵解,抑制NETs形成,减轻炎症反应有关。

[关键词] 代谢相关脂肪性肝病; 肝纤维化; 丹参泽泻汤; 糖酵解; 中性粒细胞胞外诱捕网

[中图分类号] R277;R285;R289 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)16-0060-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260337



[收稿日期] 2025-10-29

[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] 高星星,博士,从事代谢性疾病中医药防治及机制研究,E-mail:YJS20243016@hebcm.edu.cn

[通信作者] *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;

*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:biaoyaning@hebcm.edu.cn

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20260128.1347.003>

[网络出版日期] 2026-01-28 18:15:30

Danshen Zexie Decoction Ameliorates Metabolic-associated Fatty Liver Disease with Liver Fibrosis by Regulating Glycolysis and Inhibiting NETs

GAO Xingxing¹, ZHANG Dou², GU Ying³, LU Aiyangzi³, SUN Ruize², MENG Linshan²,
BIAO Yaning^{3*}, ZHANG Yixin^{3*}

(1. The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China;

2. College of Traditional Chinese Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; 3. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, International Joint Research Center on Resource Utilization and Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine of Hebei Province, Shijiazhuang 050200, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism through which Danshen Zexie decoction regulates glycolysis and the formation of neutrophil extracellular traps (NETs) to treat metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) with liver fibrosis. **Methods:** Seventy-two SD rats were randomly allocated into control, model, colchicine (0.2 mg·kg⁻¹), and low-, medium-, and high-dose Danshen Zexie decoction (7, 14, and 28 g·kg⁻¹, respectively) groups, with 12 rats in each group. A rat model of MAFLD with liver fibrosis was established by feeding a high-fat diet and intraperitoneally injecting 40% carbon tetrachloride (CCl₄) olive oil solution. After 8 weeks, drug interventions were administered for 4 weeks. After the experiment, levels of blood lipids, liver lipids, and liver function markers, as well as serum levels of lactate, adenosine triphosphate (ATP), inflammatory cytokines, and fibrosis indicators were measured. Hematoxylin-eosin (HE) staining, Masson staining, and oil red O staining were performed to assess the hepatic histopathology. Immunohistochemistry was employed to detect the expressions of α -smooth muscle actin (α -SMA), neutrophil elastase (NE), and myeloperoxidase (MPO) in the liver. The reactive oxygen species (ROS) level was measured by immunofluorescence. Western blot was performed to measure the protein levels of glucose transporter 1 (Glut1), hexokinase 2 (HK2), and pyruvate kinase M2 (PKM2) in the liver. **Results:** Compared with the control group, the model group showed increased serum levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), hydroxyproline (HYP), hyaluronic acid (HA), type III procollagen (PC III), type IV collagen (ColIV), laminin (LN), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), lactate, and ATP, as well as hepatic levels of TC, TG, free fatty acids (FFA), ROS, α -SMA, NE, MPO, PKM2, HK2, and Glut1 ($P<0.01$). Meanwhile, severe lipid droplet accumulation and collagen fiber deposition were observed in the liver. Compared with the model group, Danshen Zexie decoction improved the liver function and lipid metabolism, reduced hepatic steatosis and fibrosis, and downregulated the serum levels of inflammatory factors, lactate, ATP, as well as the hepatic levels of ROS, α -SMA, NE, MPO, PKM2, HK2, and Glut1 ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Danshen Zexie decoction treats MAFLD with liver fibrosis in rats by regulating glycolysis, inhibiting the formation of NETs, and reducing inflammatory responses.

[Keywords] metabolic-associated fatty liver disease; liver fibrosis; Danshen Zexie decoction; glycolysis; neutrophil extracellular trap

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)已成为中国第一大慢性肝病^[1],在该病的病程进展中,纤维化是单纯性脂肪肝病恶化为肝硬化、肝癌的关键环节。肝纤维化的发生发展是一个复杂的病理过程,肝星状细胞的活化是MAFLD向纤维化进展的核心环节,而肝星状细胞的激活与炎症反应密切相关^[2]。既往研究多聚焦于Toll受体、炎症小体等介导的炎症信号通路对MAFLD肝纤维化的影响,新近研究报道提示,中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)形成诱发的炎症反应在肝纤维化发病中的作用日益凸显,且活性

氧(ROS)为NETs形成的重要调控因子。肝星状细胞的活化需要糖酵解提供能量,而在这一过程中诱导了ROS的大量产生^[3]。然而,调控糖酵解抑制NETs形成,治疗MAFLD肝纤维化的研究尚未见报道。

课题组经过长期临床研究,在“痰瘀理论”指导下提出了“痰瘀互结,肝络瘀滞”为MAFLD肝纤维化的重要病机。丹参泽泻汤由丹参、泽泻、白术、荷叶组成,具有消痰降脂、化瘀通络之功,恰合MAFLD肝纤维化的病机特点。前期研究发现,丹

参泽泻汤可通过活化核因子E₂相关因子2(Nrf2)/高温需求因子2(Omi/HtrA2)信号通路及PTEN诱导激酶1(PINK1)/帕金蛋白(Parkin)信号通路,改善线粒体功能障碍,降低ROS产生,减缓MAFLD的病情进展^[4-5],但其能否进一步阻抑肝纤维化的发展尚不明确。基于此,本研究采用高脂饮食联合40%四氯化碳(CCl₄)溶液腹腔注射复制MAFLD肝纤维化模型大鼠,选用秋水仙碱为阳性药^[6],明确丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化的治疗作用及其潜在机制。

1 材料

1.1 动物 72只SPF级SD大鼠,雄性,体质量(188±12)g,购于辽宁长生生物科技股份有限公司,合格证编号210726240102690057,生产合格证号SCXK(辽)2020-0001。

1.2 伦理 本研究经河北中医药大学伦理委员会审查通过(DWLL202503056)。

1.3 药物 本实验所用复方由丹参15g、泽泻30g、麸炒白术12g、荷叶10g组成,由河北省石家庄市乐仁堂药店提供(批号分别为24121835、24111304、24110623、24071707),所有饮片经河北中医药大学郭龙教授鉴定为合格。称取以上剂量的中药饮片后加入8倍量蒸馏水浸泡40min,以武火煮沸后转文火煎煮30min后滤取头煎液,药渣加7倍量蒸馏水武火煮沸后文火煎煮30min,合并2次煎液浓缩至质量浓度分别为0.7、1.4、2.8g·mL⁻¹的药液,4℃保存备用。秋水仙碱片(西双版纳药业有限责任公司,批号231102,规格0.5mg/片)。

1.4 试剂 CCl₄溶液(上海易恩化学技术有限公司,货号R019799);总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、游离脂肪酸(FFA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(北京万泰德瑞诊断技术有限公司,货号分别为ZS0170、ZS0270、ZS1070、GS0170、GS0270);透明质酸(HA)、三磷酸腺苷(ATP)试剂盒(武汉云克隆科技股份有限公司,货号分别为UCEA182Ge、CEA349Ge);Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、Ⅳ型胶原(ColⅣ)试剂盒(菲越生物科技有限公司,货号分别为FY-ER1489、FY-ER1481);层粘连蛋白(LN)试剂盒(江莱生物科技有限公司,货号JL13737);肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-6、IL-8试剂盒(上海森雄科技实业有限公司,批号分别为SXR0322、SXR033、SXR063);α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)抗体、乳酸-羟脯氨酸(HYP)试剂盒、苏木素-伊红(HE)染液、马松(Masson)染液、油红O染液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号

分别为GB111364、G4308、G4311、G1005、G1006、G1015);丙酮酸激酶M2(PKM2)、己糖激酶2(HK2)、葡萄糖转运蛋白1(Glut1)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G抗体(Affinity生物科学有限公司,批号分别为AF5234、DF6176、AF5462、S0001);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(成都正能生物技术有限责任公司,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);CX23型正置光学显微镜(日本Olympus公司);LEICA RM 2025型石蜡切片机(德国Leica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型湿转槽和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=12):正常组,模型组,秋水仙碱组(0.2mg·kg⁻¹),丹参泽泻汤低、中、高剂量组(7、14、28g·kg⁻¹),依据《中药药理研究方法学》中人与大鼠体表系数法换算得出给药剂量^[7]。除正常组喂养普通饲料外,其余各组均给予高脂饲料,同时腹腔注射40%CCl₄橄榄油溶液(2mL·kg⁻¹),每周2次^[8]。造模8周后,正常组和模型组各随机抽取2只大鼠,剖取肝组织进行病理检测,经HE染色和Masson染色后,镜下可见大量脂滴空泡和胶原纤维沉积,表明模型建立成功^[9]。造模成功后,给予药物治疗4周,正常组和模型组给予等量蒸馏水,给药剂量10mL·kg⁻¹。

2.2 标本采集 末次给药后,禁食不禁水12h,麻醉大鼠后股动脉取血,3500r·min⁻¹离心15min(离心半径8.6cm),收集血清;迅速剖取1份适宜大小的肝组织用4%多聚甲醛固定;另剖取部分肝组织于液氮保存。

2.3 指标检测及方法

2.3.1 血清指标检测 全自动生化分析仪检测血清ALT、AST、TC、TG及肝组织TC、TG和FFA含量或活性,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清HA、LN、PCⅢ、ColⅣ、HYP、TNF-α、IL-6、IL-8和ATP含量,微孔板法检测血清乳酸含量。

2.3.2 肝组织病理形态学变化 固定于多聚甲醛液的肝组织经脱水,石蜡包埋,切片,进行HE和Masson染色;制作冰冻切片进行油红O染色,光镜

下观察。计算胶原容积分数(CVF), $CVF=胶原纤维面积/视野总面积\times 100\%$ 。

2.3.3 免疫荧光法检测肝组织ROS水平 制作肝组织冷冻切片,复温,免疫荧光笔画圈,分别加入自发荧光淬灭剂、ROS染液、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染液孵育,封片,荧光显微镜观察。

2.3.4 免疫组化法检测肝组织 α -SMA、中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)和髓过氧化物酶(MPO)表达情况 石蜡包埋后的肝组织切片进行脱蜡水化、抗原修复、灭活、封闭、一抗孵育(α -SMA 1:1 500,NE 1:200,MPO 1:500)、二抗孵育(1:200)、显色、复染、封片,显微镜观察。

2.3.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织HK2、PKM2和Glut1蛋白表达情况 称取肝组织约100 mg,加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液1 mL和PMSF 10 μ L提取总蛋白,煮沸变性后经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)

分离,转膜,快速封闭液封闭,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 $^{\circ}$ C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,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, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝功能和脂代谢的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清ALT、AST、TC和TG及肝组织TC、TG和FFA含量或活性均显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,各用药组大鼠肝损伤和脂代谢异常均得到明显改善,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。见表1、表2。

表1 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠血清生化指标的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Effect of Danshen Zexie decoction on serum biochemical indices in MAFLD rats with liver fibrosis ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹
正常组	10		79.50±18.10	170.81±33.00	1.97±0.21	0.67±0.11
模型组	9		245.24±34.55 ¹⁾	418.68±55.13 ¹⁾	4.95±0.48 ¹⁾	1.95±0.29 ¹⁾
秋水仙碱组	10	0.000 2	130.24±18.26 ³⁾	259.29±29.66 ³⁾	3.72±0.45 ³⁾	1.18±0.11 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	9	7	132.09±14.68 ³⁾	299.74±35.80 ³⁾	3.87±0.68 ³⁾	1.03±0.14 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	10	14	118.82±12.83 ³⁾	233.05±37.51 ³⁾	3.47±0.53 ³⁾	0.88±0.15 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	28	97.83±16.06 ³⁾	220.79±27.91 ³⁾	3.42±0.43 ³⁾	0.78±0.16 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7同)

表2 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝脏脂质含量的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effect of Danshen Zexie decoction on contents of hepatic lipid in MAFLD rats with liver fibrosis ($\bar{x}\pm s$)

mmol·g⁻¹

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG	FFA
正常组	10		1.34±0.17	1.15±0.29	268.90±39.72
模型组	9		3.28±0.69 ¹⁾	2.21±0.27 ¹⁾	527.44±64.05 ¹⁾
秋水仙碱组	10	0.000 2	2.35±0.30 ²⁾	1.85±0.27 ²⁾	302.30±50.08 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	9	7	2.28±0.33 ²⁾	1.75±0.27 ³⁾	320.00±27.84 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	10	14	1.90±0.39 ³⁾	1.57±0.28 ³⁾	268.80±29.66 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	28	1.69±0.40 ³⁾	1.48±0.33 ³⁾	266.60±48.74 ³⁾

3.2 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠血清炎症因子、乳酸和ATP水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、乳酸和ATP水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各用药组大鼠血清炎症因子、乳酸和ATP水平均显著降低($P<0.01$)。见表3、表4。

3.3 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织病理形态学的影响 与正常组比较,HE染色显示

模型组大鼠肝细胞排列紊乱,可见大量脂滴空泡和胶原纤维沉积;油红O染色显示模型组大鼠肝细胞内有大量红色脂滴;Masson染色显示模型组大鼠肝细胞中胶原纤维增多,CVF显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,各给药组大鼠肝组织病理均有不同程度改善,CVF均显著降低($P<0.01$)。见表4、图1。

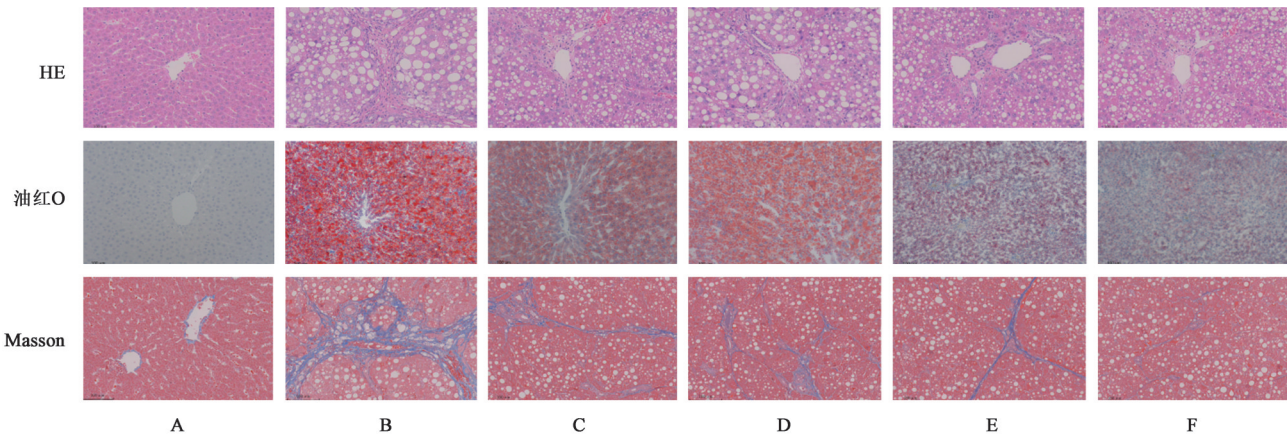
3.4 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝纤维化程度的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清

表3 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠血清炎症因子水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg ⁻¹	TNF-α	IL-6	IL-1β
正常组	10		17.91±1.72	21.02±1.07	15.04±2.16
模型组	9		37.84±2.84 ¹⁾	36.27±2.51 ¹⁾	32.82±2.89 ¹⁾
秋水仙碱组	10	0.000 2	22.86±2.51 ³⁾	22.25±1.58 ³⁾	22.79±3.03 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	9	7	19.53±1.13 ³⁾	21.44±1.28 ³⁾	24.78±1.04 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	10	14	18.45±1.12 ³⁾	21.53±1.47 ³⁾	21.61±1.96 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	28	18.74±1.58 ³⁾	21.00±1.47 ³⁾	20.01±1.20 ³⁾

表4 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠血清乳酸和ATP水平及肝组织CVF的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg ⁻¹	乳酸/ng·L ⁻¹	ATP/μg·L ⁻¹	CVF/%
正常组	10		5.33±0.86	40.02±8.43	8.97±0.90
模型组	9		11.63±1.21 ¹⁾	63.87±10.00 ¹⁾	36.93±2.83 ¹⁾
秋水仙碱组	10	0.000 2	8.44±0.75 ³⁾	51.67±8.08 ³⁾	23.42±2.17 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	9	7	7.71±0.76 ³⁾	54.62±9.48 ³⁾	20.79±2.25 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	10	14	6.13±0.60 ³⁾	50.85±5.37 ³⁾	17.76±2.17 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	28	5.15±0.75 ³⁾	47.86±8.78 ³⁾	10.25±1.08 ³⁾



注:A.正常组;B.模型组;C.秋水仙碱组;D-F.丹参泽泻汤低、中、高剂量组(图2-图4同)

图1 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织病理学的影响(×200)

Fig. 1 Effect of Danshen Zexie decoction on hepatic pathological changes in MAFLD rats with liver fibrosis (×200)

HA、LN、PCⅢ、ColⅣ和HYP含量均显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$),肝组织α-SMA的阳性表达较多;与模型组比较,各用药组大鼠血清HA、LN、PCⅢ、ColⅣ和HYP含量均显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),肝组织α-SMA表达降低。见表5、表6和图2。

3.5 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织ROS水平和NETs形成情况影响 免疫荧光和免疫组化结果提示,模型组大鼠肝组织ROS荧光表达增强,NE和MPO的阳性表达较多,着色较深;各给药组大鼠肝组织ROS荧光面积减少,NE和MPO表达

降低。见图2和图3。

3.6 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织糖酵解相关蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝组织HK2、PKM2和Glut1蛋白表达均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各用药组大鼠肝组织糖酵解相关蛋白表达均显著降低($P<0.01$)。见表7和图4。

4 讨论

中医学将肝纤维化归于“胁痛”“积聚”“痞积”等范畴,多是由于肝脾失调、痰浊瘀血等导致慢性肝病日久不愈而发病。丹参泽泻汤为经方泽泻汤

表5 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠血清HA、LN和PCⅢ含量的影响(̄x±s)

Table 5 Effect of Danshen Zexie decoction on serum contents of HA, LN and PCⅢ in MAFLD rats with liver fibrosis (̄x±s) μg·L⁻¹					
组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	HA	LN	PCⅢ
正常组	10		18.60±3.65	311.55±45.07	40.13±5.28
模型组	9		63.17±10.33 ¹⁾	535.20±43.88 ¹⁾	94.49±9.45 ¹⁾
秋水仙碱组	10	0.000 2	33.83±2.01 ³⁾	439.79±40.14 ³⁾	71.95±5.20 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	9	7	30.62±4.48 ³⁾	476.27±34.49 ³⁾	72.42±8.91 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	10	14	25.55±6.09 ³⁾	417.80±44.45 ³⁾	63.01±10.54 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	28	24.43±4.55 ³⁾	406.78±20.06 ³⁾	60.83±10.12 ³⁾

表6 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠血清ColⅣ和HYP含量的影响(̄x±s)

Table 6 Effect of Danshen Zexie decoction on serum contents of ColⅣ and HYP in MAFLD rats with liver fibrosis (̄x±s)				
组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	ColⅣ/μg·L ⁻¹	HYP/mg·L ⁻¹
正常组	10		51.15±5.93	14.86±2.42
模型组	9		123.98±12.10 ¹⁾	45.43±5.67 ¹⁾
秋水仙碱组	10	0.000 2	82.87±8.96 ³⁾	22.60±3.15 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	9	7	82.94±8.25 ³⁾	24.44±2.75 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	10	14	77.66±10.57 ³⁾	20.78±2.05 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	28	74.84±11.23 ³⁾	18.16±2.54 ³⁾

加丹参、泽泻而成,方中白术甘补苦燥,归脾、胃经,为补气健脾、燥湿利水的要药;丹参辛行苦泄,归肝、心经,善于通利肝络,活血祛瘀;泽泻甘淡渗利,功擅利水湿、消痰浊;荷叶清香入脾,升发脾阳,化湿祛浊,诸药合用,共奏健脾畅肝、消痰祛瘀之功,恰合MAFLD肝纤维化病机。药理研究表明,泽泻醇提取物和泽泻水提取物均能有效改善胆管结扎致肝纤维化小鼠肝组织胶原沉积和细胞坏死等病理损伤^[10]。白术内酯Ⅲ可通过抑制河马(Hippo)/

yes-相关蛋白(YAP)信号通路,改善MAFLD大鼠的肝纤维化^[11]。丹参酮Ⅱ_A能够减少肝组织中胶原蛋白沉积,减缓肝纤维化的进程^[12]。荷叶碱能够改善肝硬化大鼠肝纤维化及炎症反应^[13]。α-SMA是肝星状细胞活化的标志物^[14],HA、LN、PCⅢ、ColⅣ和HYP是肝纤维化血清标志物,其表达水平与肝纤维化程度呈正相关^[15]。前期研究已表明丹参泽泻汤有较好的调脂护肝作用^[16],本研究进一步发现,丹参泽泻汤和秋水仙碱治疗后,均能降低血脂(TC、TG)含量、肝脏脂质(TC、TG、FFA)水平及肝纤维化指标(HA、LN、PCⅢ、ColⅣ、HYP)和α-SMA蛋白表达,改善肝功能(AST、ALT),减少肝组织脂质和胶原的沉积,表明丹参泽泻汤是MAFLD肝纤维化的潜在治疗方药。

中性粒细胞被公认为是急性炎症的第一反应者,除经典的吞噬、脱颗粒作用外,还可通过促进NETs形成推动炎症反应的进程^[17]。肝脏发生炎症时,被刺激的中性粒细胞释放于胞外一种大型网状结构——NETs,由DNA、组蛋白和抗菌蛋白组成,常以NE、MPO和瓜氨酸化组蛋白H3(H3Cit)作为NETs形成的标志物^[18]。NETs能够作为多种白细胞

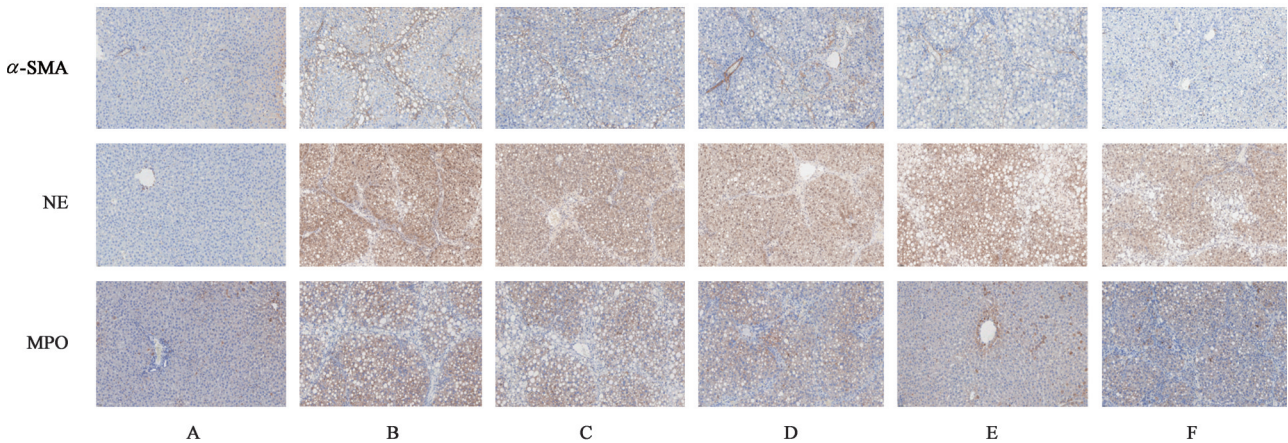


图2 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织α-SMA、NE和MPO表达的影响(免疫组化,×200)

Fig. 2 Effect of Danshen Zexie decoction on hepatic α-SMA, NE and MPO expressions in liver of MAFLD rats with liver fibrosis (IHC, ×200)

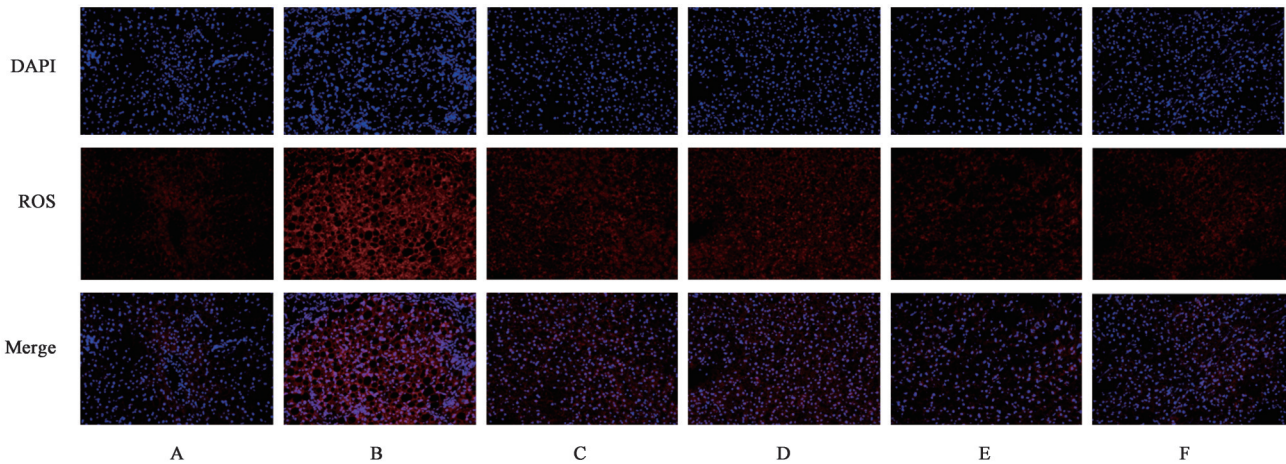


图3 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织ROS表达的影响(免疫荧光,×200)
Fig. 3 Effect of Danshen Zexie decoction on hepatic ROS level in MAFLD rats with liver fibrosis (IF, ×200)

表7 丹参泽泻汤对MAFLD肝纤维化大鼠肝组织HK2、PKM2和Glut1蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of Danshen Zexie decoction on proteins HK2, PKM2 and Glut1 in liver of MAFLD rats with liver fibrosis ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	HK2/GAPDH	PKM2/GAPDH	Glut1/GAPDH
正常组		0.50±0.04	0.45±0.05	0.75±0.08
模型组		1.40±0.18 ¹⁾	1.25±0.22 ¹⁾	1.30±0.06 ¹⁾
秋水仙碱组	0.000 2	0.71±0.07 ³⁾	0.72±0.10 ³⁾	0.77±0.10 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	7	0.63±0.08 ³⁾	0.79±0.05 ³⁾	0.76±0.07 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	14	0.67±0.08 ³⁾	0.68±0.07 ³⁾	0.69±0.06 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	28	0.49±0.05 ³⁾	0.61±0.07 ³⁾	0.57±0.07 ³⁾

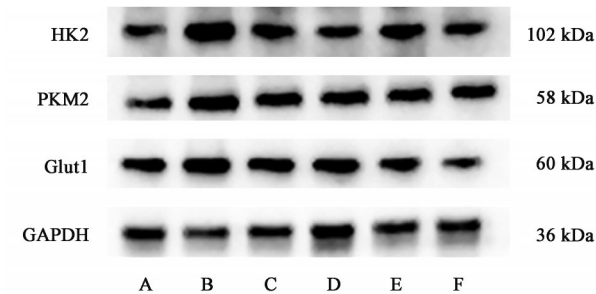


图4 大鼠肝组织HK2、PKM2和Glut1蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of HK2, PKM2 and Glut1 protein expressions in liver of rats

介素的载体直接参与肝脏炎症,并通过激活巨噬细胞触发炎症级联。由此释放的炎症因子进一步促进中性粒细胞募集与NETs形成,最终使肝脏陷入持续的炎症恶性循环,加速纤维化进程^[19-20]。MAFLD患者NETs血清标志物MPO-DNA浓度显著升高,且代谢功能障碍相关性脂肪性肝炎(MASH)患者的NETs水平与健康人群比较显著升高,是促进MASH向肝纤维化进展的重要因素。若通过耗竭中性粒细胞以减少中性粒细胞相关的颗粒蛋白表达水平,则能够减轻肝脏胶原沉积^[21]。在NETs形成过程中,ROS发挥不可或缺作用。研究

已证实,ROS生成抑制剂可明显抑制肝缺血再灌注损伤大鼠体内NETs的释放^[22]。由此可见,ROS调控的NETs形成诱发的炎症反应是MAFLD向肝纤维化进展的关键病理环节。

肝星状细胞的活化是MAFLD向肝纤维化发展的核心事件,而这一活化过程不仅需要炎症因子的参与,还需要大量的能量消耗。糖酵解作为一种快速提供能量的代谢途径,在肝星状细胞活化时显著上调,使得细胞能够快速适应并响应外界刺激,以满足其增殖分化的能量需求。同时,活化肝星状细胞还可以释放富含PKM2的外泌体,增强糖酵解并激活静止的肝星状细胞,形成正反馈回路,促进肝纤维化的进展^[23]。糖酵解是机体在缺氧条件下,葡萄糖经过酵解生成丙酮酸,最后生成乳酸,并产生少量ATP的过程。葡萄糖经Glut1转运入细胞后,在多种关键酶的催化下进行糖酵解^[24],HK2是调节糖酵解通量及将葡萄糖转化为丙酮酸的限速酶^[25],PKM2是丙酮酸激酶的同工酶,可催化生成ATP和丙酮酸^[26]。动物实验发现,抑制Glut1能显著减轻肝纤维化小鼠的炎症与纤维化程度;另一方面,活化肝星状细胞的外泌体中高表达Glut1,通过促进糖

酵解进一步持续激活肝星状细胞,加速纤维化进程^[23,27]。此外,糖酵解活性的增强可促进ROS的产生,ROS反过来又可通过细胞周期检验点激酶2(Chk2)磷酸化修饰PKM2的T95和T195位点促进糖酵解反应^[28]。研究表明,通过抑制糖酵解能够减少ROS生成^[29],同时糖酵解过程受抑,肝纤维化程度减轻^[30]。因此,异常糖酵解能够引起ROS过量产生,进而促进NETs形成,加快MAFLD向肝纤维化的发展。本研究发现,MAFLD肝纤维化大鼠肝组织HK2、PKM2、Glut1、NE、MPO、ROS水平及血清TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、乳酸和ATP水平显著高于正常组大鼠,而丹参泽泻汤可以抑制糖酵解和NETs的形成,减少ROS、乳酸和ATP水平及炎症因子含量,提示丹参泽泻汤可能通过调控糖酵解减少ROS生成,抑制NETs形成,减轻炎症反应。

综上,丹参泽泻汤治疗MAFLD肝纤维化的机制可能与调控糖酵解减少ROS生成,抑制NETs形成,减轻炎症反应有关,为丹参泽泻汤的临床应用和药物开发提供了依据。但是其调控糖酵解、抑制NETs形成的深层次机制有待进一步通过体外试验进行验证。

[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] 陈星懿,唐娟,廖美娟,等. 银杏黄酮苷元对大鼠非酒精性脂肪性肝病的防治作用[J]. 中华中医药学刊, 2026, 44(2): 196-200, 291-294.
CHEN X Y, TANG J, LIAO M J, et al. Prevention and treatment effect of Ginkgo flavone aglycone on non-alcoholic fatty liver disease in rats [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2026, 44(2): 196-200, 291-294.
- [2] 李燕,赖泳. 炎症细胞和细胞因子在肝纤维化中的作用研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(18): 1980-1984.
LI Y, LAI Y. Research progress on the roles of inflammatory cells and cytokines in liver fibrosis [J]. Chin J Hosp Pharm, 2018, 38(18): 1980-1984.
- [3] SHIRAI T, NAZAREWICZ R R, WALLIS B B, et al. The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease [J]. J Exp Med, 2016, 213(3): 337-354.
- [4] 彪雅宁,高星星,陈健,等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(16): 85-91.
BIAO Y N, GAO X X, CHEN J, et al. Danshen Zexie decoction ameliorates metabolic-associated fatty liver disease by increasing Nrf2/Omi/HtrA2 pathway-mediated autophagic

- flux [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2026, 32(16): 85-91.
- [5] 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.
- [6] 甘子奇,向晓莉,谢清宇,等. 白藜芦醇通过介导Nrf2/HO-1/GPX4信号通路抑制铁死亡改善肝纤维化的机制研究[J]. 中药药理与临床, 2026, 42(4): 68-74.
GAN Z Q, XIANG X L, XIE Q Y, et al. Resveratrol inhibits ferroptosis to ameliorate liver fibrosis by mediating the Nrf2/HO-1/GPX4 signaling pathway [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2026, 42(4): 68-74.
- [7] 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.
CHEN Q. Methodology for pharmacological research of traditional Chinese medicine [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 1261-1262.
- [8] 张伟萍,王泽然,冯帆,等. 基于Fas/FasL信号通路研究清肝九味散对肝纤维化大鼠的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(14): 2012-2018.
ZHANG W P, WANG Z R, FENG F, et al. Research of Qingganjiuwei powder on hepatic fibrosis in rats based on Fas/FasL signaling pathway [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2025, 41(14): 2012-2018.
- [9] 姚臻,李家妮,张可锋,等. 茵栀黄联合罗格列酮对非酒精性脂肪肝大鼠的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(2): 171-175.
YAO Z, LI J N, ZHANG K F, et al. Protective effects of Yinzhihuang combined with rosiglitazone on nonalcoholic fatty liver disease in rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(2): 171-175.
- [10] 董跨,唐莹莹,蒋嘉瑞,等. 泽泻改善胆管结扎致小鼠肝纤维化的药效与机制研究[J]. 药学报, 2025, 60(5): 1454-1463.
DONG K, TANG Y Y, JIANG J R, et al. Study on the hepatoprotective effects and mechanism of Alismatis Rhizoma extracts in bile duct ligation-induced liver fibrosis in mice [J]. Acta Pharm Sin, 2025, 60(5): 1454-1463.
- [11] 姚硕,李源,段超,等. 白术内酯Ⅲ调节Hippo/YAP信号通路对非酒精性脂肪肝大鼠肝纤维化的影响[J]. 河北医药, 2024, 46(21): 3212-3216, 3221.
YAO S, LI Y, DUAN C, et al. Effect of Atractylenolide III on liver fibrosis in rats with nonalcoholic fatty liver disease by regulating the Hippo/YAP signaling pathway [J]. Hebei Med J, 2024, 46(21): 3212-3216, 3221.
- [12] 宋海容,邱建利,李灿灿,等. 丹参酮Ⅱ_A对胆道闭锁肝纤维化大鼠Smad4 Smad7及I型胶原蛋白的影响[J]. 安徽医学, 2024, 45(5): 537-541.
SONG H R, QIU J L, LI C C, et al. Mechanism of tanshinone

- II_A retards hepatic fibrosis via TGF- β /Smad channel in biliary atresia[J]. Anhui Med J, 2024, 45(5): 537-541.
- [13] 孟赛, 巩林强, 李曙晖, 等. 荷叶碱通过 p38 MAPK-PPAR γ /NF- κ B 信号通路对肝硬化大鼠的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2025, 41(3): 595-599.
- MENG S, GONG L Q, LI S H, et al. Effect of nuciferine on liver cirrhosis rats through p38 MAPK-PPAR γ /NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Immunol, 2025, 41 (3) : 595-599.
- [14] MU M, ZUO S, WU R M, et al. Ferulic acid attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation via inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12: 4107-4115.
- [15] 吴闵, 安祯祥, 何远利, 等. 龙葵通过 Bcl-2/Bax/Caspase-3 通路对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的治疗作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(2): 117-125.
- WU M, AN Z X, HE Y L, et al. Study on therapeutic effect and mechanism of *Solanum nigrum* on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2026, 32(2): 117-125.
- [16] 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.
- [17] XIONG M Q, ZHANG Z L, CUI J G, et al. Dengyinnaotong attenuates atherosclerotic lesions, gut dysbiosis and intestinal epithelial barrier impairment in the high fat diet-fed ApoE^{-/-} mice[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 318: 116916.
- [18] LIU Y, YAN P, BIN Y, et al. Neutrophil extracellular traps and complications of liver transplantation[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1054753.
- [19] JORCH S K, KUBES P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease [J]. Nat Med, 2017, 23(3): 279-287.
- [20] WU V, ZHANG C, HE T, et al. Polyunsaturated fatty acids drive neutrophil extracellular trap formation in nonalcoholic steatohepatitis[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 945: 175618.
- [21] VAN DER WINDT DJ, SUD V, ZHANG H, et al. Neutrophil extracellular traps promote inflammation and development of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic steatohepatitis [J]. Hepatology, 2018, 68(4): 1347-1360.
- [22] ARUMUGAM S, GIRISH SK, KEMPARAJU K, et al. Neutrophil extracellular traps in acrolein promoted hepatic ischemia reperfusion injury: Therapeutic potential of NOX2 and p38 MAPK inhibitors[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(4) : 3244-3261.
- [23] WAN L, XIA T, DU Y, et al. Exosomes from activated hepatic stellate cells contain GLUT1 and PKM2: A role for exosomes in metabolic switch of liver nonparenchymal cells [J]. FASEB J, 2019, 33(7): 8530-8542.
- [24] 徐晴, 王萍, 姜艾利, 等. 从脾虚论治慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变的思考[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(8): 186-188.
- XU Q, WANG P, JIANG A L, et al. Theoretical discussion on treatment of chronic atrophic gastritis and gastric precancerous lesions from spleen deficiency [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(8): 186-188.
- [25] LI C, LI FY, SHEN Y, et al. Research progress on the mechanism of glycolysis in ovarian cancer [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1284853.
- [26] 张维明, 董晓宛, 陈柏林, 等. 清热凉血汤含药血清对 HaCaT 细胞 PKM2 介导的糖酵解和细胞增殖、凋亡的调节作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(6): 700-708.
- ZHANG W M, DONG X W, CHEN B L, et al. Regulatory effect of Qingre Liangxue decoction containing serum on PKM2 mediated glycolysis, proliferation, and apoptosis in HaCaT cells [J]. Chin J Integr Trad Western Med, 2024, 44 (6): 700-708.
- [27] ZHOU M Y, CHENG M L, HUANG T, et al. Transforming growth factor beta-1 upregulates glucose transporter 1 and glycolysis through canonical and noncanonical pathways in hepatic stellate cells [J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(40): 6908-6926.
- [28] LI C, DENG C, WANG S, et al. A novel role for the ROS-ATM-Chk2 axis mediated metabolic and cell cycle reprogramming in the M1 macrophage polarization [J]. Redox Biol, 2024, 70: 103059.
- [29] 张莹, 何乐冉, 何英芄, 等. 柯里拉京通过干扰糖酵解/ROS/NLRP3 信号抑制尼日利亚菌素诱导的软骨细胞焦亡[J]. 海军军医大学学报, 2025, 46(7): 847-855.
- ZHANG Y, HE L R, HE Y P, et al. Corilagin inhibits nigericin-induced chondrocyte pyroptosis by interfering glycolysis/ROS/NLRP3 signaling [J]. Acad J Naval Med Univ, 2025, 46(7): 847-855.
- [30] ZHENG D, JIANG Y, OU C, et al. Pyruvate kinase M₂ tetramerization protects against hepatic stellate cell activation and liver fibrosis [J]. Am J Pathol, 2020, 190 (11) : 2267-2281.

[责任编辑 孙丛丛]