旋覆花汤通过FXR-SHP信号通路调控胆汁酸代谢改善代谢相关脂肪性肝炎

王娇[1], 周峰峰[2], 辛一敬[1], 卓蕴慧[1]（1. 上海中医药大学附属曙光医院肝病科, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属市中医医院感染性疾病科, 上海 200071）

[摘要] **目的**：探讨旋覆花汤对代谢相关脂肪性肝炎（metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH）胆汁酸代谢作用及FXR-SHP信号通路的影响。**方法**：24只雄性C57BL/6J小鼠随机分为正常组、模型组、旋覆花汤组（14.19 g·kg^{-1}）和阳性对照药奥贝胆酸组（10 mg·kg^{-1}），高脂高果糖高胆固醇饲料喂养24周后灌胃给药6周。制备含药血清，以FFA诱导AML12细胞并加用FXR抑制剂Guggulsterone干预。检测血清丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）、总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）和低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）；苏木精-伊红染色（HE）、油红O及天狼星红染色观察肝组织病理；质谱分析胆汁酸谱；采用实时荧光定量聚合酶链式反应（qPCR）和蛋白免疫印迹法（Western blot）检测FXR、SHP表达；分子对接预测旋覆花汤活性成分与FXR的结合亲和力，并在体外实验验证亲和力较好的成分对FXR mRNA影响。**结果**：旋覆花汤显著降低MASH小鼠血清ALT、AST、TC、TG、LDL-C（$P<0.05$, $P<0.01$），减轻肝脂肪变性、炎症及纤维化，降低NAS评分、TG和Hyp含量（$P<0.05$, $P<0.01$）。胆汁酸谱逆转血清毒性胆汁酸升高和肝内生理性胆汁酸降低。旋覆花汤上调肝组织FXR和SHP表达（$P<0.05$, $P<0.01$），该效应被FXR竞争性拮抗剂Guggulsterone阻断。分子对接结果显示，旋覆花汤中木犀草素、金圣草素、杜鹃黄素等与FXR具有良好的结合亲和力；细胞实验证实，上述成分可显著上调肝细胞AML12中FXR mRNA的表达水平（$P<0.05$）。**结论**：旋覆花汤可显著改善MASH胆汁酸代谢紊乱，其作用机制可能与调控FXR-SHP信号通路有关。

[关键词] 代谢相关脂肪性肝炎（MASH）；旋覆花汤；胆汁酸代谢；FXR-SHP信号通路
[中图分类号] R285；R966 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213（2026）17-1983-10 DOI：10.13286/j.1001-5213.2026.17.04

Xuanfuhua Decoction ameliorates metabolic dysfunction-associated steatohepatitis by regulating bile acid metabolism via the FXR-SHP pathway

WANG Jiao[1], ZHOU Fengfeng[2], XIN Yijing[1], ZHUO Yunhui[1]（1. Department of Hepatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Department of Infectious Diseases, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China）

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the effect of Xuanfuhua Decoction (XFHD) on bile acid metabolism and farnesoid X Receptor-small heterodimer partner (FXR-SHP) signaling in metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH). **METHODS** Twenty-four male C57BL/6J mice were randomly divided into the normal control, MASH, XFHD (14.19 g·kg^{-1}), and positive control (obeticholic acid, 10 mg·kg^{-1}) groups. After 24 weeks of a high-fat, high-fructose, and high-cholesterol diet, mice were orally gavaged with the corresponding treatments for 6 weeks. Drug-containing sera were prepared, and AML12 cells were induced with free fatty acids (FFA) with or without the FXR inhibitor Guggulsterone. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were measured. Histopathological changes in the liver were assessed by hematoxylin and eosin (HE), Oil Red O, and Sirius Red staining, and bile acid profiles were analyzed by mass spectrometry. FXR and SHP mRNA and protein levels were measured by quantitative PCR (qPCR) and Western blot, respectively. Molecular docking was performed to predict the binding affinity between the active components of XFHD and FXR, and the regulatory effects of high-affinity components on FXR mRNA expression were further validated through *in vitro* assays. **RESULTS** XFHD significantly reduced serum ALT, AST, TC, TG, and LDL-C levels ($P<0.05$, $P<0.01$), alleviated hepatic steatosis, inflammation, and fibrosis, as well as decreased the NAS score and hepatic TG and hydroxyproline levels ($P<0.05$, $P<0.01$) in MASH mice. Bile acid profiling revealed that XFHD reversed the increase in serum levels of toxic bile acids and the decrease in intrahepatic physiological bile acids. Additionally, XFHD upregulated hepatic FXR and SHP expression ($P<0.05$, $P<0.01$), which was inhibited in the pres-

[基金项目] 上海市科委科技计划项目（编号：22Y11921000） [作者简介] 王娇，女，硕士在读，研究方向：中医药防治慢性肝病的临床与基础研究 [通信作者] 卓蕴慧，女，博士，主任医师，研究方向：中医药防治慢性肝病的临床与基础研究

ence of Guggulsterone. Molecular docking indicated that luteolin, chrysoeriol, and azaleatin in XFHD bound to FXR with high affinity, and *in vitro* assays confirmed that these components significantly upregulated FXR mRNA levels in AML12 cells ($P<0.05$). **CONCLUSION** XFHD markedly ameliorates disruptions in bile acid metabolism in MASH via modulating the FXR-SHP signaling pathway.

KEY WORDS: metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH); Xuanfuhua Decoction; bile acid metabolism; FXR-SHP signaling pathway

代谢相关脂肪性肝炎(metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH)作为代谢相关脂肪性肝病的进展期类型,以肝细胞脂肪变性、炎症浸润及纤维化为核心病理特征,其发病率随肥胖、2型糖尿病等代谢综合征人群的增加而逐年上升,若未有效干预,可持续进展为肝硬化甚至肝癌[1-2]。目前西医临床尚缺乏有效治疗药物,多以生活方式干预为主,疗效有限且依从性较差,因此探索安全有效的中医药治疗方案具有重要临床价值[3]。MASH属于中医"胁痛""积聚""痰浊"等范畴,其多因饮食不节、情志失调致脾失健运、痰湿内生、肝郁气滞、瘀血阻络,形成"痰、湿、瘀、毒"互结于肝而发此病。临床常以疏肝健脾、祛湿化痰、活血化瘀等法辨证施治[4-5]。旋覆花汤出自《金匮要略》,由旋覆花、新绛(茜草)及葱茎3味药组成,具有行气活血、化痰通络之功效,传统用于痰瘀交阻所致胸胁痞满、疼痛等症,是中医治疗"肝着"的经典方剂。既往研究发现旋覆花汤对四氯化碳诱导的肝纤维化肝窦毛细血管化具有较好的抑制作用,但作用机制尚不明确[6]。课题组前期研究结果显示,旋覆花汤对MASH具有较好的改善作用,但其对MASH的作用机制有待进一步研究[7]。现有研究证实,胆汁酸代谢紊乱是MASH发生、进展的核心驱动因素,通过干预胆汁酸代谢以改善MASH已形成广泛共识。法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)作为胆汁酸感知型核受体,可通过调控胆汁酸合成、转运及脂质代谢过程维持肝脏内环境稳态;小异源二聚体伴侣(small heterodimer partner, SHP)为FXR经典下游靶基因,二者共同构成FXR-SHP信号调控轴。在MASH病理状态下,该通路常呈抑制状态,进而诱发胆汁酸代谢失衡与肝内脂质过度蓄积[8-9]。据此,本研究旨在评价旋覆花汤对MASH胆汁酸代谢紊乱的干预效应,并阐明其对FXR-SHP信号轴的调控作用,以期为旋覆花汤用于MASH治疗提供部分科学依据。

1 材料

1.1 仪器 JXFSTPRP24型全自动样品快速研磨仪(上海净信实业公司);Centrifuge 5415R型低温离心机(德国Eppendorf公司);F200PRO型酶标仪(瑞士Tecan公司);AppliedBiosystems ViiA7型qPCR仪(美国Thermo Fisher公司);ASP300型组织脱水机、EG1160型石蜡包埋机、RM2035型切片机、SCN400型数字化摄片机(德国Leica公司);PowerPac HC型电泳仪/转膜仪(美国Bio-Rad公司)。

1.2 药品 旋覆花(安徽省万生中药饮片有限公司,批号210201),茜草(衢州南孔中药饮片有限公司,批号2104087);奥贝胆酸(大连美仑生物技术有限公司,货号:MB6084);木犀草素、金圣草素、红车轴草素、山柰酚、杜鹃黄素和Guggulsterone(上海皓元生物医药科技有限公司,货号:HY-N0162、HY-121471R、HY-N7981、HY-14590、HY-N7653、HY-110066)。

1.3 试剂 对照饲料和高脂高果糖高胆固醇饲料(美国Research Diets公司,货号:D12450B和D09100310);HE染色试剂盒、油红O染色试剂盒及羟脯氨酸(Hyp)试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号:D006-1-3、D027-1-3及A030-2-1);三酰甘油(TG)检测试剂盒(浙江东瓯诊断产品有限公司,货号:R0327);Ultrapure RNA试剂盒、HiFiScript All-in-one RT Master Mix for qPCR试剂盒及SuperStar Universal SYBR Master Mix试剂盒(江苏康为世纪生物科技股份有限公司,货号分别为:CW0581S、CW3371M及CW3360M)。FXR、SHP、GAPDH、HRP-conjugated Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)及HRP-conjugated Goat Anti-Mouse IgG(H+L)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为:25055-1-AP、24546-1-AP、20145-1-AP、60004-1-Ig、SA00001-2及SA00001-1);PVDF膜(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号:WJ001);DMEM/F-12培养基和胎牛血清(美国Gibco公司,货号:2963840、10091-148)。CCK-8试剂(苏州新赛美科技生物有限公司,货号:C6005)。油酸和棕榈酸(美国Sigma-Aldrich,货号:O1383、A-602448-0050);PCR引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成,引物序列见表1。

1.4 动物 SPF级C57BL/6J雄性小鼠24只(6~

表 1 PCR 引物序列

Tab 1 PCR primer sequences

引物		序列（5′-3′）
GAPDH	上游：	5′-CATCACTGCCACCCAGAAGACTG-3′
	下游：	5′-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG-3′
FXR	上游：	5′-GTGGTGGCAAATCCTCCATCAG-3′
	下游：	5′-AGATTCGCTGGCGTCAGTGTCT-3′
SHP	上游：	5′-CCAAGGAGTATGCGTACCTGAAG-3′
	下游：	5′-GCTCCAAGACTTCACACAGTGC-3′

注（note）：GAPDH，甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）；FXR，法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor）；SHP，小异源二聚体伙伴（small heterodimer partner）。

8 周龄，体质量 18～20 g）。购自上海斯莱克实验动物公司［生产许可证编号：SCXK（沪）2021-0004；使用许可证编号：SYXK（沪）2021-0005］，饲养于上海中医药大学实验动物中心，饲养温度 22～24 ℃，湿度 50%～60%。

2 方法

2.1 药物制备 旋覆花汤制备按照课题组前期研究[7]制备。

2.2 动物分组、造模与给药 将 24 只小鼠进行称重并依次编号，采用简单随机分组法，通过随机数字表法生成随机数字，根据随机数字结果将小鼠随机分为正常组、模型组、旋覆花汤组及奥贝胆酸组，共 4 组，每组 6 只。正常组予对照饲料，其余各组予高脂高果糖高胆固醇饲料（40% 脂肪、20% 果糖、2% 胆固醇）喂养 24 周建立 MASH 模型[7]。第 24 周结束之后，旋覆花汤组每天灌胃 14.19 g·kg^{-1}的旋覆花汤（相当于生药量 0.71 g·mL^{-1}）[7]。本研究采用奥贝胆酸作为阳性对照，每天灌胃剂量为 10 mg·kg^{-1}[10]，正常组和模型组每天灌胃 0.3% 的羧甲基纤维素钠（CMC-Na）溶液，药物治疗持续 6 周。

2.3 含药血清制备 选取 6 只小鼠，称重编号后采用随机数字表法随机分为 2 组，每组 3 只，其中一组给予旋覆花汤治疗剂量的 3 倍进行灌胃，每天 1 次，连续 3 d，第 3 天灌胃结束 1 h 后随即抽取小鼠腹腔动脉血；另外一组给予 PBS 灌胃作为空白对照。将收集好的含药血清经 56 ℃水浴灭活用于后续细胞实验。

2.4 样本收集 末次给药后，小鼠禁食 12 h（不禁水），麻醉取血及肝组织。血液室温静置 4 h，离心取血清，－80 ℃保存。肝组织部分固定于 4% 多聚甲醛或 OCT 包埋后液氮速冻，用于病理染色；其余液氮速冻，供分子检测。

2.5 评价指标

2.5.1 全自动生化分析仪检测血清生化相关指标 血清 ALT、AST、TC、TG 及 LDL-C 水平检测由上海中医药大学附属曙光医院检验科使用全自动生化分析仪检测。

2.5.2 HE 染色与天狼星红染色观察肝脏病理变化 肝组织经 4% 多聚甲醛固定 48 h 后进行脱水，使用石蜡对肝组织进行包埋并切成 4 μm 厚的切片。脱蜡至水，进行 HE 及天狼星红染色，封片后扫描。

2.5.3 油红 O 染色观察肝组织脂滴沉积 将经冰冻切片包埋剂包埋的肝组织切片至 8 μm 厚度，油红 O 染色 15 min，复染核，封片后观察红色脂滴，Image-Pro Plus 半定量分析阳性面积。

2.5.4 酶法检测肝组织 TG 含量 取 50 mg 肝组织，加入 750 μL 预冷乙醇-丙酮混合液（1∶1）匀浆，4 ℃静置后 3 000 r·min^{-1}离心 15 min。取 5 μL 上清液，加入 300 μL TG 检测液，37 ℃孵育 5 min，酶标仪 546 nm 波长测定吸光度，按试剂盒公式计算 TG 含量。

2.5.5 碱水法测定肝组织 Hyp 含量 取 50 mg 肝组织，加 1 mL 水解液，95 ℃水浴水解 20 min，冷却后调 pH，双蒸水稀释，活性炭纯化，离心取上清。加反应试剂，60 ℃反应 15 min，3 500 r·min^{-1}离心 10 min，取 200 μL 上清液，550 nm 波长测定吸光度，标准曲线计算 Hyp 含量。

2.5.6 蛋白免疫印迹法（Western blot）检测肝组织 FXR 和 SHP 蛋白表达 肝组织加 RIPA 裂解液（含蛋白酶/磷酸酶抑制剂）匀浆，4 ℃离心取上清，BCA 法定量。SDS-PAGE 电泳后转 PVDF 膜，封闭 15 min，加一抗 FXR（1∶1 000）、SHP（1∶1 000）、GAPDH（1∶10 000）4 ℃孵育过夜，HRP 二抗（1∶10 000）37 ℃孵育 1 h，ECL 显影，ImageJ 分析灰度值。

2.5.7 qPCR 检测小鼠肝组织相关基因表达 TRIzol 提取肝组织 RNA，反转录为 cDNA。SYBR 法 qPCR 扩增，以 GAPDH 为内参，$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算 mRNA 相对表达量。

2.5.8 胆汁酸谱检测血清和肝组织胆汁酸代谢情况 使用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 分析血清和肝组织的胆汁酸谱变化[11]。取血清 50 μL 加内标甲醇溶液 250 μL；另取肝组织 50 mg 加内标甲醇溶液 1 mL 匀浆，4 ℃离心取上清。氮气吹干，70% 甲醇复溶，离心后取上清进样分析。

2.5.9 网络药理学分析 通过 TCMSP 数据库口服利用度（oral bioavailability，OB≥30%），类药性（drug-likeness，DL≥0.18）筛选旋覆花汤活性成分。从 PubChem 下载 FXR 3D 结构，AutoDockTools 预

处理，AutoDock vina 1.1.2分子对接，Pymol2.1可视化。

2.5.10　细胞培养　AML12细胞培养于DMEM/F-12（含10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素）。FFA诱导（0.6 mmol·L^{-1}棕榈酸＋0.17 mmol·L^{-1}油酸），分为模型组、含药血清组（FFA＋10%含药血清）、抑制剂组（FFA＋10 μmol·L^{-1} Guggulsterone）及抑制剂＋含药血清组，干预24 h后Western blot检测FXR、SHP蛋白。

2.5.11　CCK-8法检测AML12细胞活力　将AML12细胞接种于96孔板（5×10^{3}个/孔），培养过夜后，分别加入不同摩尔浓度（0、12.5、25、50、100 μmol·L^{-1}）的药物孵育24 h，在检测前2 h向每孔加入10 μL CCK-8溶液进行孵育，使用酶标仪测定450 nm处的吸光度。

2.5.12　细胞分组干预　将AML12细胞分为对照组、模型组（FFA诱导）及5个单体化合物处理组，所有单体化合物统一使用50 μmol·L^{-1}干预，12 h后收集样本，采用qPCR法检测各组细胞中FXR的mRNA表达水平。

2.6　统计学处理　使用SPSS 27.0统计软件进行数据分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3　结果

3.1　旋覆花汤对小鼠血清ALT、AST、TC、TG及LDL-C水平的影响　与正常组比较，模型组小鼠血清ALT、AST、TC、TG及LDL-C水平均显著升高（P值均<0.01）；与模型组比较，旋覆花汤组小鼠血清ALT、AST、TC、TG及LDL-C水平均明显降低（$P<0.05$，$P<0.01$）；旋覆花汤组与奥贝胆酸组比较，上述指标差异均无统计学意义（P值均>0.05）（图1）。

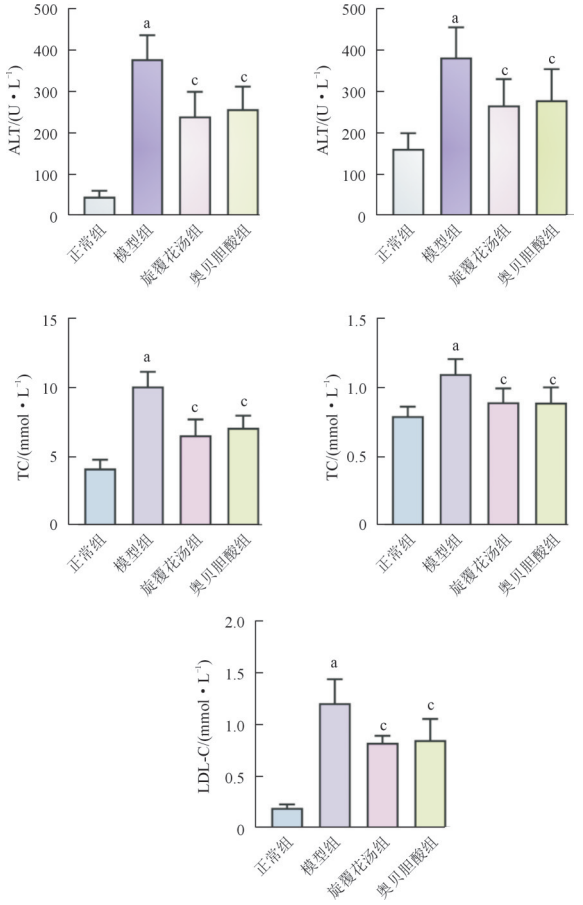


图1　各组小鼠血清ALT、AST、TC、TG及LDL-C水平变化（$\bar{x}\pm s$，n=6）

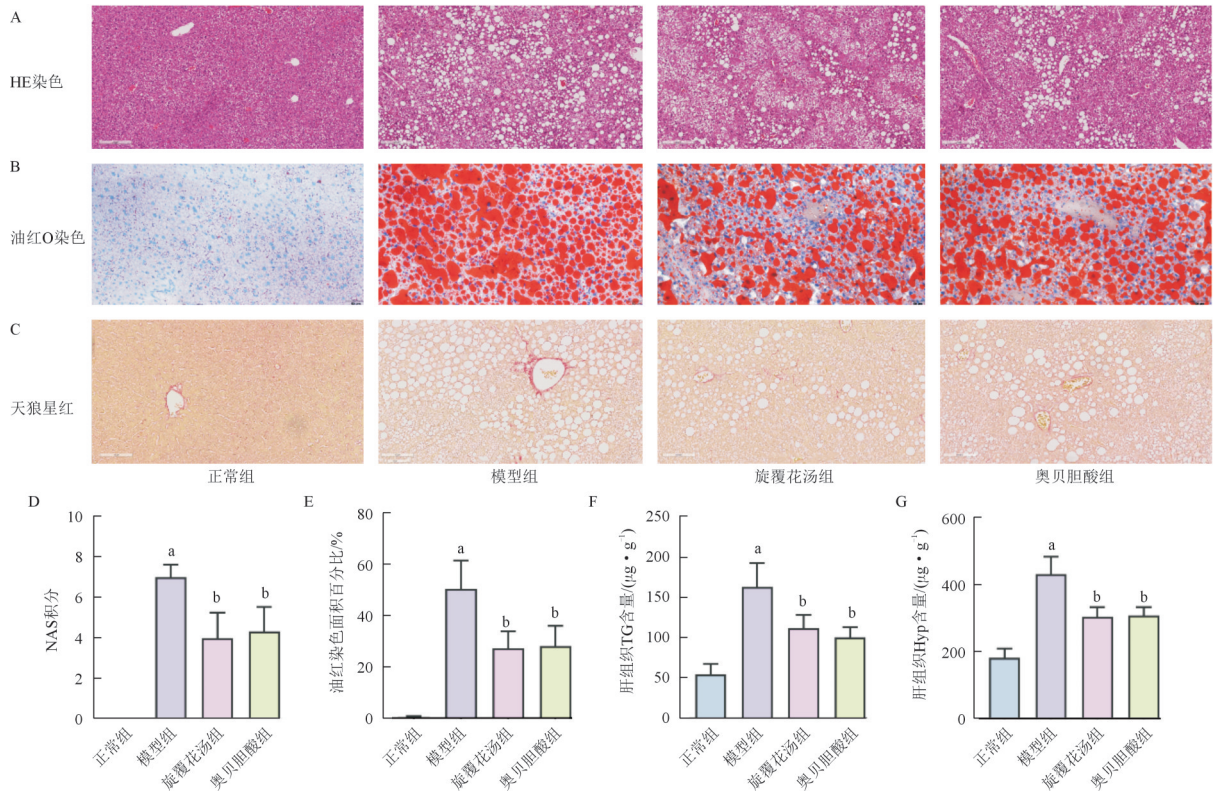
Fig 1　Changes in serum ALT, AST, TC, TG and LDL-C levels in each group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

注（note）：与正常组比较（*vs.* control group），$^aP<0.01$；与模型组比较（*vs.* model group），$^bP<0.05$；$^cP<0.01$。

3.2　旋覆花汤对小鼠肝组织脂质沉积、炎症及胶原沉积的影响　HE染色显示，正常组肝组织结构清晰；模型组见大量脂肪空泡、肝细胞脂肪变性与气球样变，伴炎性细胞浸润；旋覆花汤组及奥贝胆酸组上述病理改变明显减轻（图2A）。与正常组比较，模型组NAS评分显著增加（$P<0.01$）；旋覆花汤组和奥贝胆酸组NAS评分均显著降低（$P<0.01$），2组间无统计学差异（图2D）。油红O染色及半定量结果显示，模型组脂滴沉积显著增加（$P<0.01$），旋覆花汤组和奥贝胆酸组脂滴沉积显著减少（$P<0.01$）（图2B、2E）。模型组肝组织TG含量较正常组显著增加（$P<0.01$），旋覆花汤组和奥贝胆酸组均显著降低（$P<0.01$）（图2F）。天狼星红染色显示，模型组胶原纤维增生明显，旋覆花汤组和奥贝胆酸组均显著改善（图2C）。模型组Hyp含量较正常组显著增加（$P<0.01$），旋覆花汤组显著降低（$P<0.01$），与奥贝胆酸组相当（图2G）。

3.3　旋覆花汤对小鼠血清胆汁酸谱的影响　小鼠血清样本胆汁酸谱变化如图3所示，与正常组小鼠相比，模型组小鼠血清中胆酸、甘氨胆酸、牛磺胆酸、牛磺鹅脱氧胆酸、α-鼠胆酸、β-鼠胆酸、α-牛磺鼠胆酸、β-牛磺鼠胆酸、牛磺猪脱氧胆酸、牛磺脱氧胆酸及3β-羟基胆酸含量显著增加（$P<0.01$）。药物治疗之后，旋覆花汤组小鼠血清胆汁酸水平均显著下降（$P<0.05$，$P<0.01$）。此外，奥贝胆酸组小鼠胆汁酸改善与旋覆花汤组相当。

3.4　旋覆花汤对小鼠肝脏胆汁酸谱的影响　小鼠肝脏胆汁酸谱检测结果显示（图4），与正常组小鼠相比，模型组小鼠肝组织中胆酸、甘氨胆酸、鹅脱氧胆酸、α-鼠胆酸及β-鼠胆酸含量显著降低（$P<$



A. 肝组织HE染色(×100)(HE staining, ×100);B. 油红O染色(×50)(oil red O staining, ×50);C. 天狼星红染色(×100)(sirius red staining, ×100);D. NAS评分(NAS score);E. 油红O染色面积百分比(percentage of oil red O-stained area);F. 肝组织TG含量(liver TG levels);G. 肝组织Hyp含量(liver Hyp levels)

图2 各组小鼠肝组织病理学、脂质沉积及纤维化($\bar{x}\pm s$, n=6)

Fig 2 Liver histopathology, lipid deposition and fibrosis in each group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

注(note):与正常组比较(*vs.* control group),$^{a}P<0.01$;与模型组比较(*vs.* model group),$^{b}P<0.01$。

0.01),α-牛磺鼠胆酸、β-牛磺鼠胆酸、牛磺猪脱氧胆酸及牛磺鹅脱氧胆酸含量显著升高($P<0.01$)。药物治疗之后,旋覆花汤组小鼠肝组织胆汁酸得到显著改善,胆酸、甘氨胆酸、鹅脱氧胆酸、α-鼠胆酸及β-鼠胆酸含量显著增加($P<0.01$),α-牛磺鼠胆酸、β-牛磺鼠胆酸、牛磺猪脱氧胆酸及牛磺鹅脱氧胆酸含量显著下降($P<0.05$,$P<0.01$)。此外,奥贝胆酸组小鼠胆汁酸变化也得到显著改善,作用与旋覆花汤组相当。

3.5 旋覆花汤对小鼠FXR与SHP基因和蛋白的影响 qPCR和Western blot结果显示(图5A和B),与正常组比较,模型组肝组织FXR与SHP mRNA和蛋白表达均显著降低($P<0.01$)。药物治疗之后,旋覆花汤组肝组织FXR和SHP mRNA和蛋白表达均显著上调($P<0.05$,$P<0.01$)。此外,奥贝胆酸组的这些基因和蛋白表达也显著上调,作用与旋覆花汤组相当。

3.6 FXR抑制剂对旋覆花汤提高小鼠FXR与SHP蛋白表达的影响 为进一步验证旋覆花汤是否依赖FXR-SHP通路发挥保护作用,随后利用FXR特异性抑制剂Guggulsterone在FFA诱导的AML12细胞模型中进行干预。Western blot结果显示(图6),与模型组相比,旋覆花汤组细胞中FXR和SHP蛋白表达显著升高。然而加入FXR抑制剂后,旋覆花汤含药血清对FXR和SHP蛋白表达的上调作用被显著削弱($P<0.05$)。

3.7 旋覆花汤多种化学成分可激活FXR 根据分子对接评价旋覆花汤中化合物与FXR的结合情况,以明确旋覆花汤激活FXR的潜在化合物。分子对接结果显示,旋覆花汤中多种成分与FXR存在结合,蛋白结合能<-7 kcal·mol^{-1}的有33个化合物(**见中国知网本文增强出版附加材料**),结合能力较强的成分分别为:木犀草素(-9.133 kcal·mol^{-1})、金圣草素(-8.624 kcal·mol^{-1})、1-acetoxy-6-hydroxy2-methylanthraquinone-3-*O*-α-rhamnosyl(1→4)-α-glucoside、(-8.537 kcal·mol^{-1})、[(3*S*,4a*R*,6a*R*,6a*R*,6b*R*,8a*R*,12*S*,12a*R*,14a*R*,14b*R*)-4,4,6a,6b,8a,12,14b-heptamethyl-11-methylene-1,2,3,4a,5,6,6a,7,8,9,10,12,12a,13,14,14a-hexadecahydropicen-3-yl] acetate (-8.445

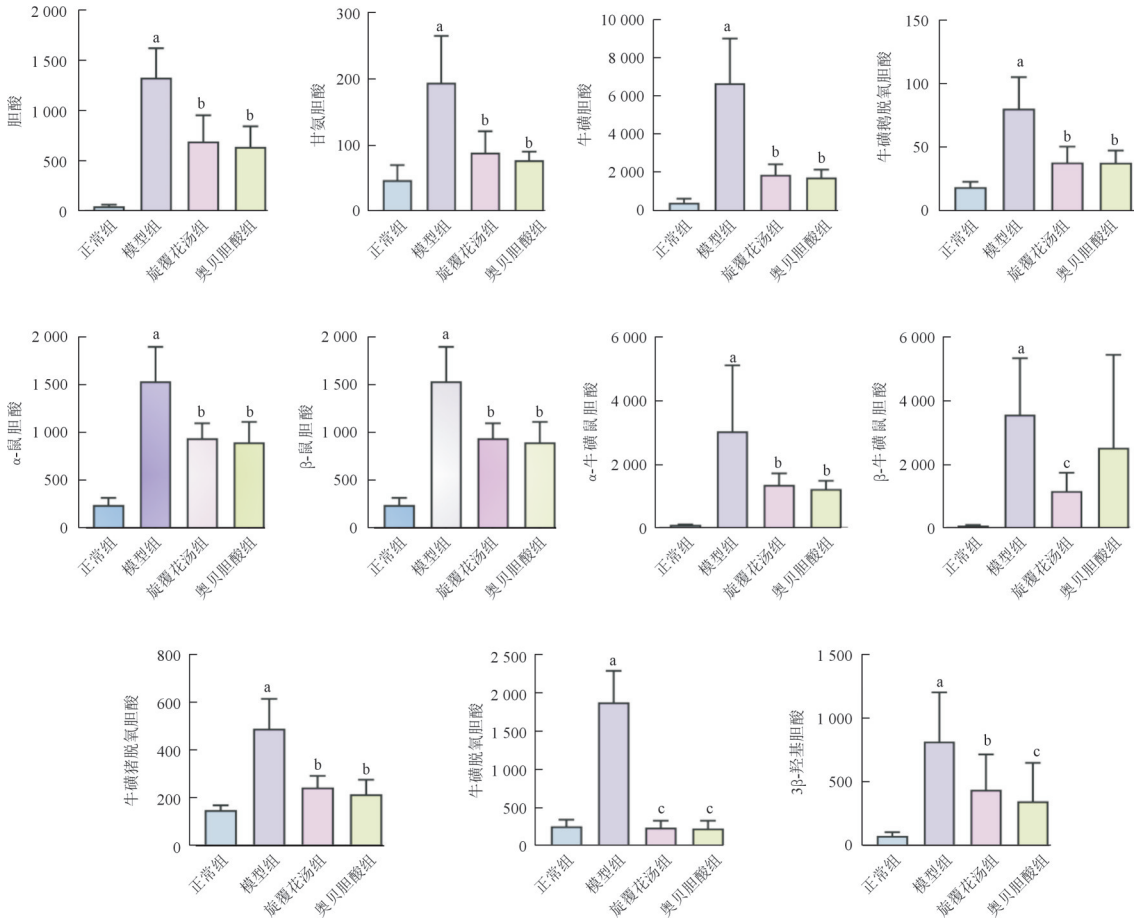


图3　各组小鼠血清胆汁酸谱变化情况（$\bar{x}\pm s$，n=6，μg·L^{-1}）

Fig 3　Changes in serum bile acid profile in each group（$\bar{x}\pm s$，n=6，μg·L^{-1}）

注（note）：与正常组比较（*vs.* control group），$^{a}P<0.01$；与模型组比较（*vs.* model group），$^{b}P<0.05$，$^{c}P<0.01$。

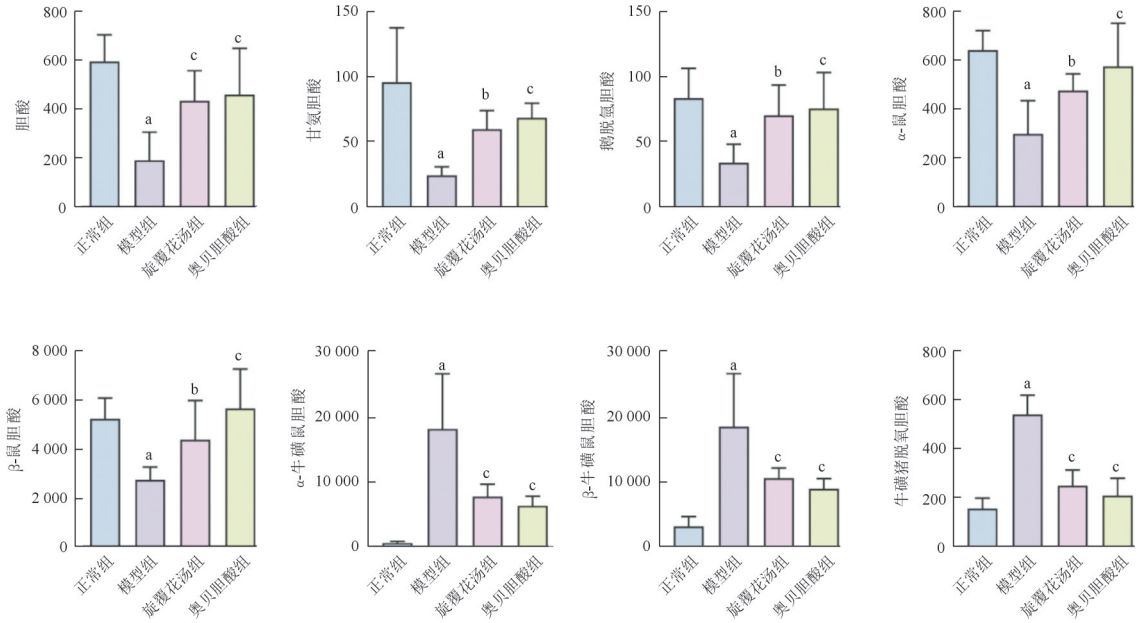
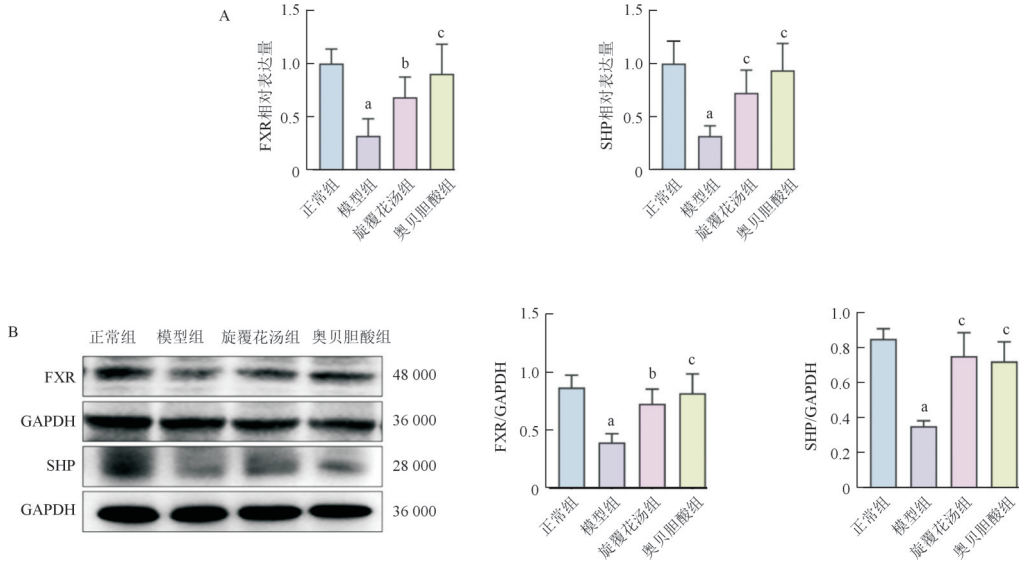


图4　各组小鼠肝脏胆汁酸变化（$\bar{x}\pm s$，n=6，μg·L^{-1}）

Fig 4　Changes in liver bile acid profile in each group（$\bar{x}\pm s$，n=6，μg·L^{-1}）

注（note）：与正常组比较（*vs.* control group），$^{a}P<0.01$；与模型组比较（*vs.* model group），$^{b}P<0.05$，$^{c}P<0.01$。



A. 旋覆花汤干预小鼠肝脏FXR和SHP mRNA的表达（Effects of XFHD on FXR and SHP mRNA expression in mouse liver）；B. 旋覆花汤干预小鼠肝脏FXR和SHP蛋白的表达（Effects of XFHD on FXR and SHP protein expression in mouse liver）

图5 各组小鼠肝脏FXR和SHP mRNA和蛋白表达（$\bar{x}\pm s$，mRNA：n=6，蛋白：n=3）

Fig 5 mRNA and protein expression levels of FXR and SHP in the liver of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, mRNA: n=6, protein: n=3)

注（note）：与正常组比较（*vs.* control group），$^{a}P<0.01$；与模型组比较（*vs.* model group），$^{b}P<0.05$，$^{c}P<0.01$。

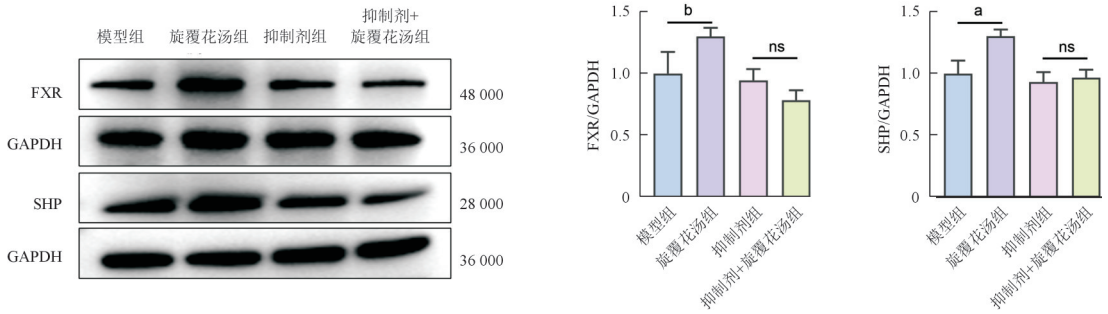


图6 各组AML12细胞FXR和SHP蛋白表达（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Fig 6 The protein expression of FXR and SHP in AML12 cells of each group ($\bar{x}\pm s$, n=3)

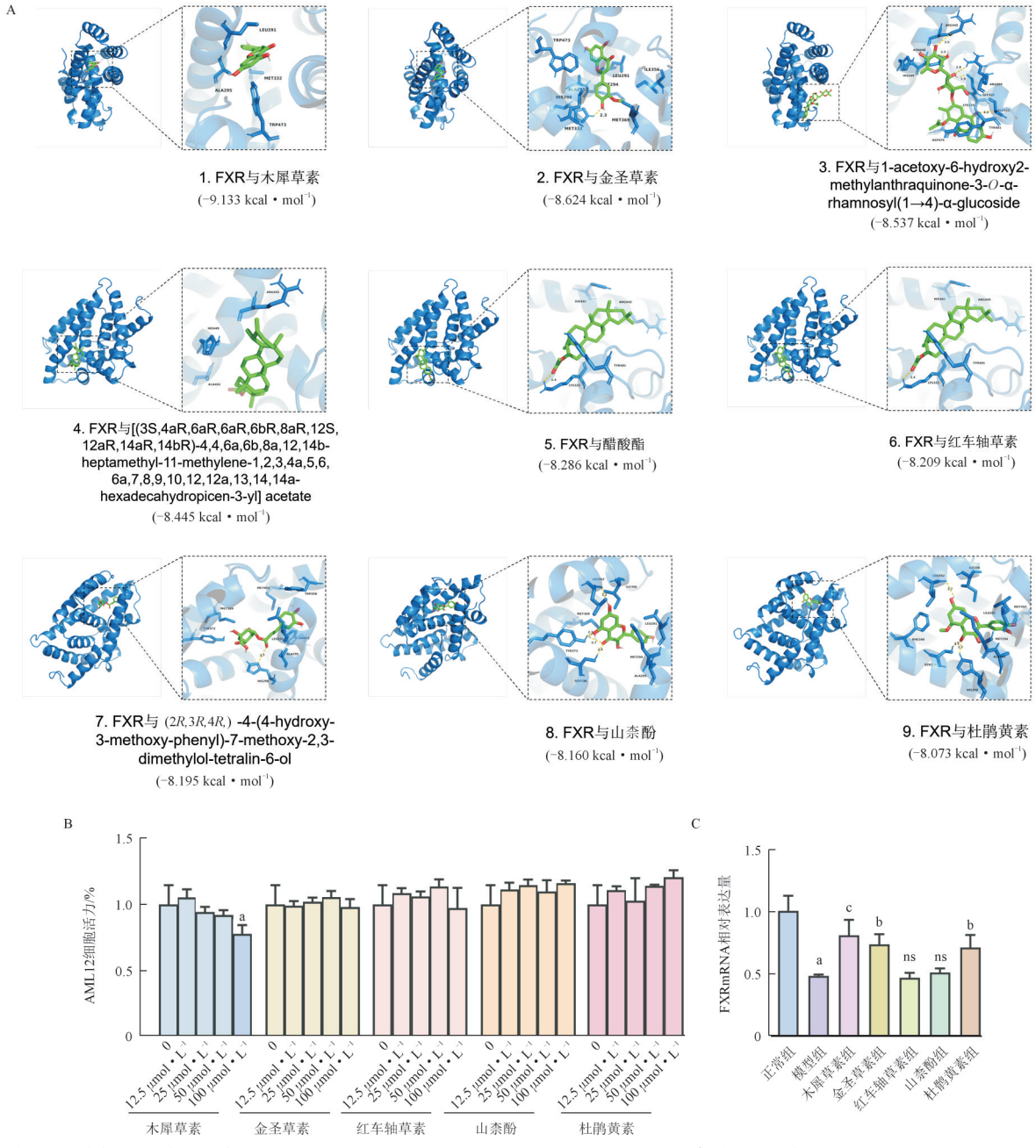
注（note）：与模型组比较（*vs.* model group），$^{a}P<0.01$，$^{b}P<0.05$；ns表示组间差异无统计学意义（there was no statistically significant difference between the groups），$P>0.05$。

kcal·mol^{-1}）、醋酸酯（－8.286 kcal·mol^{-1}）、红车轴草素（－8.209 kcal·mol^{-1}）、(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl) -7-methoxy-2, 3-dimethylol-tetralin-6-ol（－8.195 kcal·mol^{-1}）、山柰酚（－8.160 kcal·mol^{-1}）及杜鹃黄素（-8.073 kcal·mol^{-1}），其分子对接模拟图也显示这些化合物与FXR存在多个结合位点（图7A）。

根据分子对接结果，选取结合能较好且易获得的成分木犀草素、金圣草素、红车轴草素、山柰酚及杜鹃黄素进行体外肝细胞生物学验证，以明确其对FXR的激活效应。首先采用CCK-8法检测上述5个单体化合物对小鼠肝细胞系AML12细胞活力的影响。CCK-8结果显示，在100 μmol·L^{-1}摩尔浓度范围内，除木犀草素在100 μmol·L^{-1}时对细胞活力有显著性抑制（$P<0.05$），其余成分对细胞活力均无显著性抑制作用（图7B）。随后各成分均采用50 μmol·L^{-1}孵育AML12细胞12 h，qPCR结果（图7C）表明，与模型组相比，木犀草素、金圣草素及杜鹃黄素处理组FXR的mRNA表达均显著增加（$P<0.05$，$P<0.01$）。

4 讨论

MASH以肝细胞脂肪变性、炎症、纤维化为核心特征。血清ALT、AST升高是肝细胞损伤的直接标志，TC、TG、LDL-C异常及肝组织脂滴沉积反



A. 旋覆花汤成分与FXR分子对接(molecular docking of XFHD components with FXR)；B. 旋覆花汤成分对AML12细胞活力的影响(effects of XFHD components on AML12 cell viability)；C. 旋覆花汤成分对AML12细胞FXR mRNA表达的影响(effects of XFHD components on FXR mRNA expression in AML12 cells)

图7　旋覆花汤多种化学成分对FXR的作用($\bar{x}\pm s$, n=3)

Fig 7　Effects of multiple chemical components of XFHD on FXR ($\bar{x}\pm s$, n=3)

注(note)：与0 μmol·L^{-1}或正常组比较(*vs.* 0 μmol·L^{-1} or control group)，$^{a}P<0.01$；与模型组比较(*vs.* model group)，$^{b}P<0.05$，$^{c}P<0.01$；ns表示组间差异无统计学意义(there was no statistically significant difference between the groups)，$P>0.05$。

映脂质代谢紊乱[12]。本研究发现，旋覆花汤可显著降低MASH模型小鼠血清ALT、AST、TC、TG、LDL-C水平，减轻肝组织脂肪变性、炎症浸润及胶原沉积，降低NAS评分、肝TG及Hyp含量；提示旋覆花汤具有明确的肝细胞保护、脂质代谢调节、炎症抑制及抗肝纤维化作用。这一结果与课题组前期研究结论一致[7]，且与奥贝胆酸组疗效无统计学差异，表明旋覆花汤在改善MASH核心病理损伤方面具有潜在的临床应用价值。

胆汁酸代谢紊乱是MASH进展的关键环节。正常胆汁酸维持脂质消化吸收与胆固醇代谢稳态，MASH状态下其合成与排泄失衡，导致毒性胆汁酸在血清和肝组织异常蓄积，加重肝细胞炎症与纤维化[13]。本研究发现，MASH模型组小鼠血清中胆

酸、甘氨胆酸、牛磺胆酸等毒性胆汁酸显著升高，肝组织中胆酸、鹅脱氧胆酸等生理性胆汁酸降低，α-牛磺鼠胆酸、β-牛磺鼠胆酸等异常胆汁酸蓄积，提示胆汁酸合成与转运功能严重失调。旋覆花汤干预后，上述胆汁酸异常显著逆转，血清毒性胆汁酸下降，肝组织生理性胆汁酸回升，异常胆汁酸减少，胆汁酸组成恢复至接近正常水平，表明旋覆花汤可有效改善MASH胆汁酸代谢紊乱。该调控效应一方面减少毒性胆汁酸对肝细胞的直接损伤，降低炎症触发因素；另一方面恢复胆汁酸对脂质代谢的正常调节功能，协同改善脂肪变性与肝细胞损伤。

FXR是调控胆汁酸代谢的关键核受体，激活后可抑制胆汁酸合成关键酶（如CYP7A1、CYP8B1）的表达，减少胆汁酸从头合成，同时促进胆汁酸排泄转运蛋白（如BSEP、MRP2）的表达，加速胆汁酸排出[14]。SHP作为FXR下游靶基因，协同FXR形成“FXR-SHP”调控轴，维持胆汁酸与脂质稳态[15]。MASH状态下该通路常被抑制，导致胆汁酸合成紊乱、脂质堆积及炎症激活[16]。在本研究中，MASH模型组小鼠肝组织FXR及SHP的mRNA和蛋白表达均显著降低，提示FXR-SHP信号通路被抑制，这是导致胆汁酸代谢紊乱的重要分子机制。旋覆花汤干预后，FXR与SHP表达显著上调。为进一步验证该调控是否依赖FXR，采用FXR竞争性拮抗剂Guggulsterone干预FFA诱导的AML12细胞。实验结果显示含药血清可显著上调FXR和SHP蛋白表达，而Guggulsterone可阻断该效应，证实旋覆花汤通过激活FXR进而上调SHP发挥调控作用。旋覆花汤对FXR-SHP通路的激活与胆汁酸代谢改善、肝脏病理损伤减轻同步，提示其可能通过该通路治疗MASH。具体而言，旋覆花汤激活肝组织FXR，进而上调下游SHP表达，一方面抑制胆汁酸过度合成，另一方面促进异常蓄积胆汁酸排泄，从而恢复胆汁酸代谢平衡；同时，FXR-SHP通路的激活可进一步调控脂质代谢相关基因的表达，减少肝内脂质沉积，抑制炎症因子释放，最终实现对MASH的多维度改善。该机制与奥贝胆酸（FXR激动剂）一致，解释了两者疗效相当的原因。分子对接结果进一步证实，旋覆花汤中33种化合物与FXR发生稳定结合（结合能＜-7 kcal·mol^{-1}），其中木犀草素、金圣草素、红车轴草素、山柰酚及杜鹃黄素等成分结合能力最强。体外验证表明，50 μmol·L^{-1}木犀草素、金圣草素、杜鹃黄素可显著激活FXR mRNA表达，且上述成分已有改善脂质或胆汁酸代谢的报道[17-18]。综上，推测这些成分是旋覆花汤激活FXR-SHP通路的主要物质基础。

奥贝胆酸作为特异性FXR激动剂，主要通过激活FXR调控胆汁酸与脂质代谢；旋覆花汤为中药复方，具备多成分、多靶点特征，除FXR-SHP通路外，尚可同步干预脂质代谢、炎症等多条病理网络，这可能是其在部分指标中呈现更优趋势的原因。但本研究中二者整体药效无统计学差异。此外，本研究存在以下局限性：其一，未设置正常小鼠给药对照组，无法完全明确该剂量下旋覆花汤对正常机体的潜在不良反应；其二，仅通过细胞实验初步证实木犀草素、金圣草素、杜鹃黄素等上调FXR mRNA表达，尚未在蛋白水平及体内深入验证上述活性成分的作用机制。其三，本研究机制探讨仅聚焦FXR-SHP信号轴，未同步评价参与胆汁酸稳态调节、脂质代谢紊乱及肝脏炎症反应的其他相关信号通路，未能完整揭示旋覆花汤多靶点、多通路的整体调控网络。后续将拓展多通路、多环节相关探索性或验证性实验，完善旋覆花汤多靶点调控机制的系统研究。

综上，本研究明确了旋覆花汤通过“FXR-SHP通路-胆汁酸稳态轴”改善MASH的分子机制，为经典方剂治疗代谢性肝病提供了现代药理依据，也为MASH的临床治疗提供了新的候选方案。

参考文献：

[1] Steinberg GR, Valvano CM, De Nardo W, *et al*. Integrative metabolism in MASLD and MASH: Pathophysiology and emerging mechanisms[J]. J Hepatol, 2025, 83(2): 584-595.

[2] Hagström H, Shang Y, Hegmar H, *et al*. Natural history and progression of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2024, 9(10): 944-956.

[3] Portincasa P, Khalil M, Mahdi L, *et al*. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: from pathogenesis to current therapeutic options[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(11): 5640.

[4] 刘素芳，梁平书，王璐，等. 非酒精性脂肪肝的中医治疗思路与方法[J]. 环球中医药，2020，13(6)：1047-1049.
Liu SF, Liang PS, Wang L, *et al*. Traditional Chinese Medicine Thoughts and Therapeutic Approaches for Non-alcoholic Fatty Liver Disease[J]. Glob Tradit Chin Med, 2020, 13(6): 1047-1049.

[5] 童光东，邢宇锋，周晓玲，等. 肝癖（非酒精性脂肪性肝炎）诊疗方案[J]. 中国肝脏病杂志（电子版），2021，13(1)：1-9.
Tong GD, Xing YF, Zhou XL, *et al*. Diagnosis and treatment scheme of Ganpi (non-alcoholic steatohepatitis) [J]. Chin J Liver Dis Electron Version (Electronic Version), 2021, 13(1): 1-9.

[6] 李红，王存芬. 旋覆花苦豆子合剂防治肝纤维化的实验研究[J]. 新疆中医药，2009，27(1)：21-23.
Li H, Wang CF. Experimental Studying on Decoction of Xuanfuhua-Kudouzi in Preventing and Treating Hepatic Fibrosis

[J]. Xinjiang J Tradit Chin Med, 2009, 27(1): 21-23.

[7] 辛一敬, 陈逸云, 杨海琳, 等. 旋覆花汤对高脂高果糖高胆固醇饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(6): 1340-1350.
Xin YJ, Chen YY, Yang HL, *et al*. Effect of Xuanfuhua decoction on a mouse model of nonalcoholic steatohepatitis induced by high-fat, high-fructose, and high-cholesterol diet [J]. J Clin Hepatol, 2023, 39(6): 1340-1350.

[8] Guo J, Xiang ZW, Hu FF, *et al*. *Turicibacter sanguinis* is a candidate gut microbial pathobiont that promotes metabolic dysfunction-associated steatohepatitis[J]. mSystems, 2026, 11(6): e0029226.

[9] Zhong DD, Xie ZW, Huang BY, *et al*. Ganoderma Lucidum polysaccharide peptide alleviates hepatoteatosis via modulating bile acid metabolism dependent on FXR-SHP/FGF [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(3): 1163-1179.

[10] Haczeyni F, Poekes L, Wang H, *et al*. Obeticholic acid improves adipose morphometry and inflammation and reduces steatosis in dietary but not metabolic obesity in mice[J]. Obesity (Silver Spring), 2017, 25(1): 155-165.

[11] Wang Y, Ren TJ, Zheng LC, *et al*. Astragalus saponins inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in mouse macrophages[J]. Am J Chin Med, 2016, 44(3): 579-593.

[12] Kanwal F, Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, *et al*. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: Update and impact of new nomenclature on the American Association for the Study of Liver Diseases practice guidance on nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2024, 79(5): 1212-1219.

[13] Simbrunner B, Paternostro R, Reiberger T, *et al*. Bile acid signaling in MASLD: From pathogenesis to therapeutic applications[J/OL]. Hepatology, 2025 Sep 19.

[14] Wang K, Zhang YC, Wang GJ, *et al*. FXR agonists for MASH therapy: Lessons and perspectives from obeticholic acid [J]. Med Res Rev, 2024, 44(2): 568-586.

[15] Goodwin B, Jones SA, Price RR, *et al*. A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis[J]. Mol Cell, 2000, 6(3): 517-526.

[16] Ding LL, Yang L, Wang ZT, *et al*. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases [J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(2): 135-144.

[17] Taweesap P, Potue P, Khamseekaew J, *et al*. Luteolin relieves metabolic dysfunction-associated fatty liver disease caused by a high-fat diet in rats through modulating the AdipoR1/AMPK/PPARγ signaling pathway[J]. IJMS, 2025, 26(8): 3804.

[18] Song J, Lee H, Heo H, *et al*. Effects of chrysoeriol on adipogenesis and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes[J]. Foods, 2022, 12(1): 172.

收稿日期/Received: 2026-01-22
修回日期/Revised: 2026-04-19

(上接第 1967 页)

[9] 彭紫薇, 杨艳玲, 李花花, 等. 基于网络药理学结合层次分析法-熵权法和正交实验研究正骨洗药提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(17): 1813-1823.
Peng ZW, Yang YL, Li HH, *et al*. Study on the extraction process of Zhengguxiyao based on network pharmacology combined with analytic hierarchy process-entropy weight method and orthogonal test[J]. Chin J New Drugs, 2024, 33(17): 1813-1823.

[10] 蒋璐瑶, 唐志安, 房文通, 等. 基于转录组学探讨当归鸡血藤汤不同极性部位对化疗后骨髓抑制大鼠的影响[J]. 中成药, 2025, 47(6): 2033-2037.
Jiang LY, Tang ZA, Fang WT, *et al*. Transcriptomics-based investigation of the effects of different polar fractions of Danggui Jixueteng Decoction on chemotherapy-induced myelosuppression in rats[J]. Chin Tradit Pat Med, 2025, 47(6): 2033-2037.

[11] 赵婧含, 李雪, 吴文轩, 等. 熟地黄的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(6): 110-114.
Zhao JH, Li X, Wu WX, *et al*. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Radix rehmanniae praeparata [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2023, 51(6): 110-114.

[12] 黄光强, 梁洁, 韦金玉, 等. 基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的龙眼叶降血糖有效部位化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 127-138.
Huang GQ, Liang J, Wei JY, *et al*. Analysis and identification of chemical constituents in hypoglycemic effective fractions of longan Folium based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2021, 27(6): 127-138

[13] 秦丹, 傅鹏, 曹家杰, 等. 瑶药上山虎成分分析、指纹图谱建立及抗炎谱效关系研究[J]. 中国药房, 2025, 36(18): 2244-2249.
Qin D, Fu P, Cao JJ, *et al*. Study on component analysis, fingerprint establishment and anti-inflammatory spectrum-effect relationship of Yao ethnic medicine *Pittosporum pauciflorum* [J]. China Pharmacy, 2025, 36(18): 2244-2249.

收稿日期/Received: 2025-11-25
修回日期/Revised: 2026-01-30