

基于网络药理学和临床研究探讨肝豆扶木颗粒调节肝豆状核变性肝纤维化的机制

康 帅^{1,2}, 汪美霞^{1*}, 陶 庄¹, 杨文明¹, 周佳峰^{1,2}, 王 蕊^{1,2}

(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽中医药大学研究生院, 安徽 合肥 230038)

摘要: **目的** 基于网络药理学和临床研究探讨肝豆扶木颗粒调节肝豆状核变性肝纤维化的机制。**方法** 通过 TCSP、Drugbank 数据库筛选肝豆扶木颗粒的成分和靶点, GeneCards 数据库检索肝豆状核变性肝纤维化的基因靶点, 两者取交集得到共有靶点。将共有靶点导入 String 和 Cytoscape 软件构建蛋白互作网络及“中药-疾病-活性成分-共有靶点”可视化网络。采用 Metascape 平台进行 GO 功能、KEGG 通路富集分析, AutoDuck tools 软件进行分子对接, 测定活性成分和靶点的结合能力。60 例患者随机分为对照组和观察组, 每组 30 例, 检测肝功能指标 (ALT、AST)、肝纤四项指标 (HA、LN、CIV、PⅢN-P)。**结果** 活性成分有槲皮素、山柰酚、豆甾醇等, 核心靶点有 MYC、TP53、ESR1 等, 显著通路有 PI3K/Akt、VEGF 信号传导通路。关键活性成分与核心靶点之间存在较强的结合活性。治疗后, 2 组肝功能指标、肝纤四项指标降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 以观察组更明显 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 肝豆扶木颗粒可能通过槲皮素、山柰酚、豆甾醇作用于 MYC、TP53、ESR1 等靶点, 影响细胞 TGF- β 、IL-1 β 、IL-6 等细胞因子释放, 进而抑制 PI3K/Akt 等信号通路来发挥抗纤维化、保肝作用。

关键词: 肝豆扶木颗粒; 肝豆状核变性; 肝纤维化; 网络药理学; 临床研究

中图分类号: R287; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)09-3099-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.042

肝豆状核变性是一种由于 *ATP7B* 基因突变, 以铜代谢障碍为特征的常染色体隐性遗传疾病, 体内的铜常沉积在脑、肝、肾脏、角膜等部位, 肝脏作为铜代谢的主要器官, 肝纤维化是铜代谢障碍引起的基本病理表现^[1]。肝纤维化是发展为肝硬化的中间阶段, 肝硬化导致的并发症是肝豆状核变性病人死亡的主要原因。针对肝豆状核变性肝纤维化的治疗, 西医主要采用铜络合剂联合保肝药治疗, 但在临床治疗中往往因为铜络合剂引起的不良反应而被迫停药, 因此寻找治疗新方法具有重要意义^[2]。

中医药积累了较为丰富的治疗肝纤维化的经验, 其中肝豆扶木汤在治疗肝肾亏虚、痰瘀互结证的肝豆状核变性患者方面取得显著的临床疗效^[3], 在动物模型毒乳鼠中也有良好的抗肝纤维化作用^[4]。由于中药成分的复杂性, 本实验通过网络药理学筛选肝豆扶木颗粒治疗肝豆状核变性肝纤维化主要的活性成分、基因靶点、信号通路, 通过临床 60 例患者的临床疗效验证其作用机制, 以期治疗肝豆状核变性肝纤维化提供新思路。

1 材料与方法

1.1 活性成分及相关靶点筛选

采用 TCSP (<http://tcmsp.com/>) 数据库检索肝豆扶木颗粒组方药材 (柴胡、

枸杞、土茯苓、白芍、三七、郁金) 活性成分, 筛选条件为口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$, 类药性 (DL) ≥ 0.18 。利用 TCSP、DrugBank (<https://www.drugbank.com/>) 数据库检索相应基因靶点 (人源)。

1.2 疾病靶点筛选 以“hepatic fibrosis、Wilson disease”为关键词, 在 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 数据库中筛选相应的人类疾病基因靶点, 采用 Venny 在线工具得到化学成分与疾病的共有靶点。

1.3 活性成分与共有靶点网络、PPI 网络构建 将“1.2”项下共有靶点导入 String (<https://cn.string-db.org/>) 数据库, 结果保存为 TSV (A-B, B-A) 格式, 导入 Cytoscape 软件进行拓扑分析, 得到核心靶点 PPI, 构建“疾病-中药-活性成分-共有靶点”可视化网络。

1.4 基因本体 (GO) 功能、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将核心靶点导入 Metascape (<https://metascape.org/>) 数据库分别进行分子功能 (MF)、生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 模块分析, 所得数据根据 *P* 值由小到大排列, 将排名前 10 位的功能条目

收稿日期: 2024-04-24

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973825); 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目 (U22A20366); 青年岐黄学者培养项目 (国中医药人教函 [2022] 256 号); 安徽省重点研究与开发计划项目 (202204295107020001); 安徽省自然科学基金项目 (2308085QH291)

作者简介: 康 帅 (2000—), 男, 硕士, 研究方向为脑病。Tel: 18225972781, E-mail: 1571972832@qq.com

* **通信作者:** 汪美霞 (1977—), 女, 硕士, 主任中医师, 研究方向为脑病。Tel: 13856920314, E-mail: meixiawang96@sina.com

导入微生物平台绘制气泡图，并将排名前 20 位的 KEGG 生物途径绘制成气泡图。

1.5 分子对接验证及可视化分析

1.5.1 配体准备 在 TCMSP 数据库中查找活性成分的 InChEky，输入 PubChem 数据库中，下载化合物 SDF 文件，采用 Obabel 软件转换成 PDB 格式。将配体的 PDB 文件导入 AutoDuck 软件中加氢，计算电荷后保存，导出为 PDBQT 格式。

1.5.2 受体准备 在 Uniport (<https://www.uniprot.org/>) 数据库中输入靶点名称，找到 Entry，在 PDB 数据库中输入 Entry 编号查找并下载符合的 PDB 文件，通过 PyMol 软件去水去杂，保存为 PDB 格式。在 AutoDuck 软件中根据受体、配体位置设置分子对接活性口袋，采用 GA 算法进行虚拟对接，通过 PyMol 软件实现对接最优结果可视化。

2 结果

2.1 活性成分及相关靶点筛选 通过 TCMSP 数据库检索和筛选后得到活性成分分别为白芍 13 种、枸杞 15 种、柴胡 17 种、郁金 15 种、土茯苓 15 种、三七 8 种，去除重复项后得到 46 种，以及相应靶点 1 272 个，经删减和去重后得到 94 个。

2.2 疾病靶点筛选 共有 7 324 个疾病靶点，与活性成分靶点用 Venny 图映射后得到 76 个治疗靶点，见图 1。

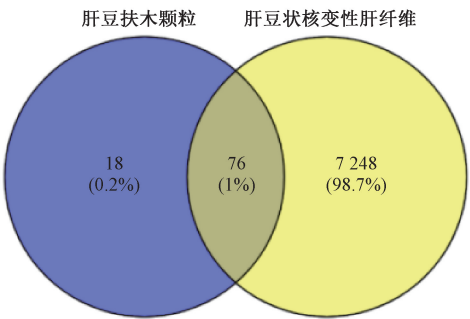


图 1 肝豆扶木颗粒成分靶点与肝豆状核变性肝纤维化交集靶点韦恩图

2.3 活性成分与共有靶点网络构建和核心靶点筛选 将 76 个治疗靶点与对应的 29 种活性成分（表 1）导入 Cytoscape 软件，构建“疾病-中药-活性成分-共有靶点”网络，见图 2，可知肝豆扶木颗粒通过多种中药联合作用多个靶点调节肝纤维化。再对网络图进行 network 分析，每个节点对应的 degree 越大，作用越强。

表 1 肝豆扶木颗粒治疗肝豆状核变性肝纤维化的活性成分

MOL 编号	活性成分	中药	degree
MOL000098	quercetin	柴胡、土茯苓、三七	60
MOL000422	kaempferol	白芍、柴胡	30
MOL000358	stigmasterol	枸杞、柴胡、土茯苓、三七	17
MOL000354	isorhamnetin	柴胡	13
MOL000449	β-sitosterol	白芍、枸杞、郁金、土茯苓、三七	12
MOL004328	naringenin	郁金、土茯苓	12
MOL008400	glycitein	枸杞	10
MOL004598	3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	柴胡	7
MOL005406	atropine	枸杞	6
MOL004609	areapillin	柴胡	6
MOL004576	taxifolin	土茯苓	6
MOL000492	(+)-catechin	白芍	5
MOL000546	diosgenin	土茯苓	5
MOL005344	ginsenoside rh2	三七	5
MOL004624	longikaurin A	柴胡	4
MOL001792	DFV	三七	4
MOL001494	mandenol	三七	3
MOL001645	linoleyl acetate	柴胡	3
MOL013117	4,7-dihydroxy-5-methoxyl-6-methyl-8-formyl-flavan	土茯苓	3
MOL004580	cis-dihydroquercetin	土茯苓	3
MOL001918	paeoniflorgenone	白芍	2
MOL001924	paeoniflorin	白芍	2
MOL001323	sitosterol alpha1	枸杞	2
MOL001495	ethyl linolenate	枸杞	2
MOL013187	cubebin	柴胡	2
MOL000490	petunidin	柴胡	2
MOL013129	(2R,3R)-2-(3,5-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychroman-4-one	土茯苓	2
MOL001736	(-)-taxifolin	土茯苓	2
MOL002879	diop	三七	2

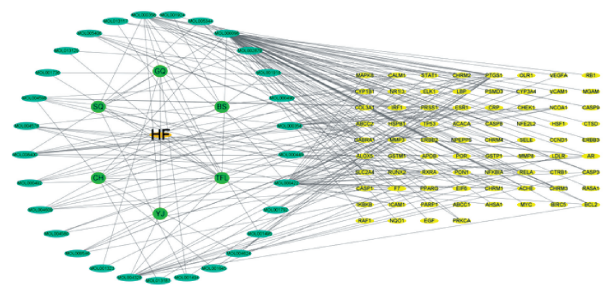


图 2 疾病-中药-活性成分-靶点图

将 String 数据库中所得 TSV 文件导入 Cytoscape 软件，得到 76 个节点、1 208 条边的 PPI 网络图，见图 3A。再采用 Cytoscape 拓扑分析，分别选取 betweenness、closeness、degree 排名前 20 位的基因，取交集得到 13 个核心基因，见图 3B。

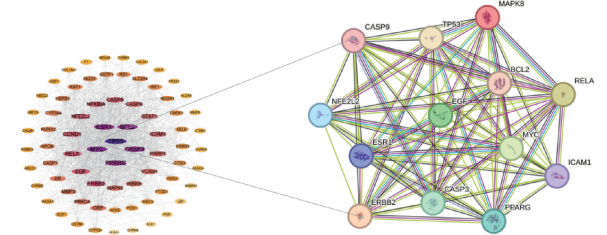


图 3 共有靶点 (A)、核心靶点 (B) 图

2.4 GO、KEGG 分析 GO 富集分析共得到生物过程 3 372 条、分子功能 567 条、细胞组分 361 条，选取显著性高的前 10 个条目绘制气泡图，其中生物过程主要涉及细胞对氮化合物、脂多糖、非生物刺激的反应以及转录调控复合物；细胞组成主要涉及细胞外基质、分泌颗粒腔；分子功能主要涉及 DNA 结合、转录因子结合、蛋白质结构域特异性结合、激酶结合等，见图 4。

KEGG 分析得到 225 条信号通路，选取显著性前 20 位的通路绘制气泡图，count 表示富集在该通路上的靶点数，见。由此可知，肝豆扶木颗粒治疗肝豆状核变性肝纤维化的关键通路有 PI3K/Akt 信号通路、血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路等，见图 5。

2.5 分子对接验证及可视化分析 选取核心蛋白网络中 3 个关键靶点与排名前 3 位的活性成分进行分子对接，最低

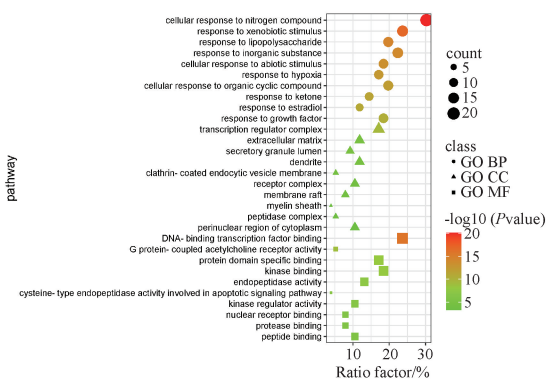


图 4 GO 富集分析图

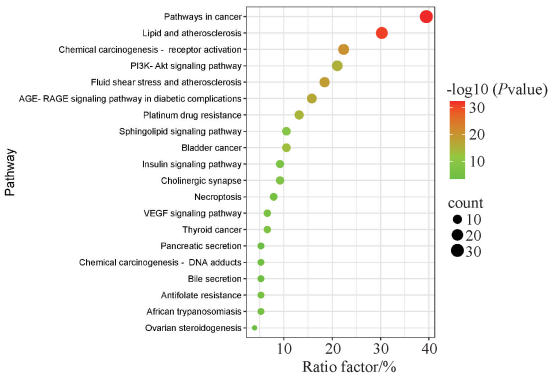


图 5 KEGG 富集分析图

结合能见表 2。一般认为，affinity<-5.0 kcal/mol 表示成分与受体蛋白之间有一定的结合活性，结合能越小，结合活性越强^[5]，可知槲皮素、山柰酚、豆甾醇与 ESR1、TP53、MYC 之间均有较好的结合活性。

表 2 关键靶点与排名前 3 位活性成分的结合能 (kcal/mol)

靶点	山柰酚	槲皮素	豆甾醇
TP53	-7.47	-7.66	-6.89
MYC	-5.37	-6.47	-6.54
ESR1	-7.21	-6.88	-7.31

采用 PyMol 软件进行可视化分析，发现山柰酚与 ESR1 的残基 GLU-353、PRO-399，槲皮素与 MYC 的残基 ASN-278、ARG-80，豆甾醇与 TP53 的残基 GLU-218、ASN-225 等结合发挥氢键作用，见图 6。

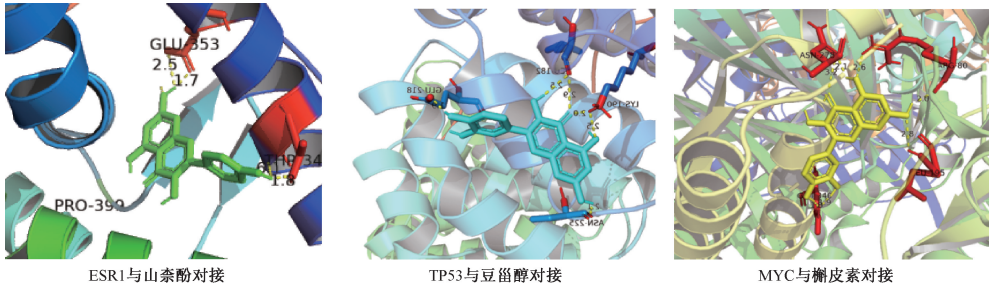


图 6 分子对接模式图

3 临床研究

3.1 一般资料 2023 年 1 月至 2023 年 12 月收治于安徽中医

药大学第一附属医院脑病中心的 60 例肝豆状核变性肝纤维化患者，简单随机法随机分为观察组和对照组，每组 30 例。

3.2 诊断标准

3.2.1 西医 采用莱比锡（Leipzig）计分法，总分≥4 分确诊，≤2 分排除诊断^[6]，并参照 2019 年版《肝纤维化中西医结合诊疗指南》^[7]。

3.2.2 中医 参照《肝豆状核变性的中医证候特征》^[8]。

3.3 纳入标准 ①确诊为肝豆状核变性，并伴有肝纤维化；②辨证为肝肾亏虚、痰瘀互结证；③未服用其他中药制剂；④患者了解本研究，签署知情同意书。

3.4 排除标准 ①对二巯丙磺钠、谷胱甘肽药物过敏；②酒精性、病毒性、自身免疫性或其他不明因素导致的肝纤维化；③有其他精神疾病、舞蹈病、癫痫；④妊娠期、哺乳期妇女；⑤合并严重心脑血管疾病；⑥有肝胆手术史。

3.5 治疗手段 对照组给予二巯丙磺钠（DMPS）20 mg/kg+500 mL 5% 葡萄糖注射液静脉滴注，每天 1 次；谷胱甘肽（GSH）1.8 g+100 mL 5% 葡萄糖注射液静脉滴注，每天 1 次，治疗 6 d 后间歇 2 d，给予 20 mL 10% 葡萄糖酸钙注射液静脉滴注，每天 1 次。观察组在对照组基础上加用肝豆扶木颗粒，每天 1 剂，早晚分服。2 组均以 8 d 为 1 个疗程，共 4 个疗程。

3.6 指标检测 ①肝纤四项指标，包括透明质酸（HA）、层黏连蛋白（LN）、Ⅲ型前胶原 N 端肽（PⅢN-P）、Ⅳ型胶原（CⅣ）水平；②肝功能指标，包括天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）水平。

3.7 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理，符合正态分布的计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用独立样本 *t* 检验，治疗前后采用配对样本 *t* 检验；非正态分布者以 *M*（*P*₂₅，*P*₇₅）表示，组内比较采用 Wilcoxon 符号秩和检验，组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。*P*<0.05 表示差异具有

表 6 2 组肝纤四项指标比较 [*M*（*P*₂₅，*P*₇₅），*n*=30]

组别	时间	HA/(ng·mL ⁻¹)	LN/(ng·mL ⁻¹)	CⅣ/(ng·mL ⁻¹)	PⅢN-P/(ng·mL ⁻¹)
对照组	治疗前	166.87(125.54~247.88)	197.36(150.68~239.37)	109.23(69.77~135.57)	47.62(34.43~57.55)
	治疗后	141.37(76.50~243.20)*	131.33(109.27~176.67)*	69.37(57.21~85.92)*	23.84(19.04~49.33)*
观察组	治疗前	186.31(132.91~318.14)	212.49(190.02~212.49)	101.78(66.13~144.78)	46.39(37.99~57.55)
	治疗后	99.44(72.10~123.80)**△	92.29(76.15~150.10)**△△	57.52(46.50~67.72)**△	21.38(17.31~24.90)**△

注：与同组治疗前比较，**P*<0.05，***P*<0.01；与对照组治疗后比较，△*P*<0.05，△△*P*<0.01。

4 讨论

肝纤维化发展与肝窦内的肝星状细胞（HSC）激活密不可分，肝豆状核变性患者体内铜离子过度沉积，促进了 HSC 活化，分泌大量胶原蛋白和纤维蛋白连接，打破了肝细胞外基质（ECM）的增生与分解平衡，导致肝纤维化的发生^[9]。

网络药理学分析表明，肝豆扶木颗粒发挥抗纤维化作用与槲皮素、豆甾醇、山柰酚等有关^[10]。在 CCl₄ 诱导的小鼠肝纤维化模型中，槲皮素可以通过抑制 TGF-β 和 α-SMA 等蛋白的表达来减少 ECM 成分的合成^[11]。另一方面槲皮素能调节肝组织谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、超氧化物歧化酶和丙二醛水平，减少肝细胞的氧化损伤^[12-13]。山柰酚可以通过抑制 Notch 通路降低 HSC 的活化，显著降低小鼠中的 α 平滑肌肌动蛋白和胶原水平^[14]，同时

统计学意义。

3.8 结果

3.8.1 一般资料 2 组一般资料比较，差异无统计学意义（*P*>0.05），具有可比性，见表 3~4。

表 3 2 组一般资料比较（ $\bar{x}\pm s$ ，*n*=30）

基本信息	对照组	观察组
（男/女）/例	17/13	19/11
年龄/岁	14.20±1.93	15.13±2.19
病程/年	6.15±1.75	6.35±1.65

表 4 2 组血清学指标比较 [*M*（*P*₂₅，*P*₇₅），*n*=30]

指标	对照组	观察组
HA/(ng·mL ⁻¹)	166.87(125.54~247.88)	186.31(132.91~318.14)
LN/(ng·mL ⁻¹)	197.36(150.68~239.37)	212.49(190.02~212.49)
PⅢN-P/(ng·mL ⁻¹)	47.62(34.43~57.55)	46.39(37.99~57.55)
CⅣ/(ng·mL ⁻¹)	109.23(69.77~135.57)	101.78(66.13~144.78)
ALT/(U·L ⁻¹)	66.00(44.37~122.47)	58.00(50.77~100.13)
AST/(U·L ⁻¹)	70.00(60.98~87.23)	78.65(65.43~96.33)

3.8.2 肝功能指标 治疗后，2 组 ALT、AST 水平降低（*P*<0.01），以观察组更明显（*P*<0.05），见表 5。

表 5 2 组肝功能指标比较 [*M*（*P*₂₅，*P*₇₅），*n*=30]

组别	时间	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照组	治疗前	66.00(44.37~122.47)	70.00(60.98~87.23)
	治疗后	52.25(37.88~66.98)**	46.65(38.10~61.53)**
观察组	治疗前	58.00(50.77~100.13)	78.65(65.43~96.33)
	治疗后	59.80(37.65~78.89)**△	42.20(28.25~47.93)**△

注：与同组治疗前比较，***P*<0.01；与对照组治疗后比较，△*P*<0.05。

3.8.3 肝纤四项指标 治疗后，2 组 HA、LN、CⅣ、PⅢN-P 水平降低（*P*<0.05，*P*<0.01），以观察组更明显（*P*<0.05，*P*<0.01），见表 6。

抑制 TGF-β1、Smad2/3 蛋白的表达，减少胶原的合成^[15]。豆甾醇则可能通过上调 MMPs 加速 ECM 的降解发挥抗纤维化作用^[16-17]。

在 PI3K/Akt 信号通路中，随着 PI3K 被激活并催化细胞膜上磷脂酰肌醇-3，4，5-三磷酸（PIP3）生成，在 PI3K 依赖酶的作用下，PIP3 与 Akt 可以通过磷酸化参与调节细胞代谢和细胞周期。Meng 等^[18]发现 IL-22 可以通过抑制 PI3K/Akt/MTOR 通路抑制 HSC 增殖，改善小鼠肝纤维化。Wu 等^[19]发现槲皮素可以通过减少 TGF-β 和 α-SMA 等纤维化细胞因子抑制 PI3K/Akt 通路，从而降低 CCl₄ 小鼠的肝纤维化程度。VEGF 与 VEGFR-2 结合可激活 PI3K/Akt 通路使内皮细胞存活率升高，也可通过调节 PLCγ 通路使血管内皮细胞增生、血管重构^[20]。邢安丽等^[21]研究表明 VEGF、TGF-β 低表达可抑制 HSC 活化，进一步减少 ECM 产生。

经分子对接进一步验证,肝豆扶木颗粒很可能作用于 MYC、TP53、ESR1 等靶点发挥治疗肝纤维化作用,当肝细胞受损时,TP53 表达增加,通过诱导 NF-κB 表达促进炎症介质 IL-1β、IL-6 和 MDA 的释放,加重炎症环境,导致细胞发生氧化炎症损伤^[22]。Xu 等^[23]研究表明 MYC 转录调控的 circ Mcph1 通过/miR-370-3p/Irak2 功能轴减少肝纤维化小鼠的胶原沉积和炎症损伤。ESR1 为 miR-181a-5p 的靶基因,抑制 miR-181a-5p 可提高 ESR1 的表达,从而增加 ERBB2 表达,减少肝细胞凋亡和炎症损伤^[24]。

CIV、HA、LN、PⅢPN-P 是构成细胞基质的主要成分,由细胞间质合成,可在内皮细胞中降解,肝纤四项指标的升高可在一定程度上反应内皮细胞的纤维化情况^[25]。临床研究发现,肝豆扶木颗粒能够显著降低肝豆状核变性肝纤维化患者 ECM 成分、血清肝功能指标。由此推断肝豆扶木颗粒可能通过槲皮素、山柰酚、豆甾醇作用于 MYC、TP53、ESR1 靶点,影响细胞 TGF-β、IL-1β、IL-6 等细胞因子释放,进而抑制 PI3K/Akt、VEGF 信号通路,减少 HSC 的活化及 ECM 产生,发挥抗肝纤维化和保肝的作用。

参考文献:

[1] 玛力帕提·艾尔肯江,凯迪日亚·库尔班,徐 玲,等. 肝豆状核变性发病机制、临床表型-基因型关系及药物治疗研究进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(6): 1497-1504.

[2] 翁飞鸿,周一平,伊思敏,等. 肝纤维化的病理学发生机制及诊疗研究进展[J]. 天津医科大学学报, 2023, 29(5): 559-563.

[3] 张艳云,汪美霞,杨文明,等. 肝脏 FibroTouch 技术联合血清无创肝纤维化模型观察肝豆扶木汤对肝豆状核变性肝纤维化的临床疗效[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(4): 1868-1873.

[4] 杨 悦,杨文明,魏涛华,等. 肝豆扶木汤通过 JNK 信号通路对 Wilson 病肝纤维化小鼠的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(12): 119-126.

[5] Di Muzio E, Toti D, Polticelli F. DockingApp: a user-friendly interface for facilitated docking simulations with AutoDock Vina [J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2017, 31(2): 213-218.

[6] 中华医学会神经病学分会神经遗传学组. 中国肝豆状核变性诊治指南 2021[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54(4): 310-319.

[7] 徐列明,刘 平,沈锡中,等. 肝纤维化中西医结合诊疗指南(2019 年版) [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(11): 1286-1295.

[8] 韩 辉,杨文明,张 娟,等. 肝豆状核变性的中医证候特征[J]. 中医药临床杂志, 2014, 26(1): 16-19.

[9] Christian T, Scott L F, Detlef D, *et al.* Hepatic fibrosis: Concept to treatment[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(1): S15-S24.

[10] 李 阳,焦 扬,牛 洁,等. 红花中的黄酮类化学成分及其药理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2024, 17(1):

137-143.

[11] 张明康,陈宇玥,周 燕,等. 槲皮素对四氯化碳致大鼠肝纤维化的缓解作用及其机制研究[J]. 中国药学, 2022, 31(11): 840-852.

[12] 张 艺,叶 升. 还原型谷胱甘肽生理功能及其临床应用[J]. 生命的化学, 2020, 40(12): 2226-2235.

[13] 陈文龙,戴富臻,邵正勇,等. 槲皮素对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化抑制作用和肝保护作用[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(1): 46-50.

[14] Xu T F, Huang S, Huang Q R, *et al.* Kaempferol attenuates liver fibrosis by inhibiting activin receptor-like kinase 5 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 6403-6410.

[15] Zhou G Y, Li C X, Zhang R R, *et al.* Kaempferol inhibits hepatic stellate cell activation by regulating miR-26b-5p/Jag1 axis and notch pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 881855.

[16] Chen W P, Yu C, Hu P F, *et al.* Stigmasterol blocks cartilage degradation in rabbit model of osteoarthritis [J]. *Acta Biochim Pol*, 2012, 59(4): 537-541.

[17] Xin Y, Li X, Zhu X, *et al.* Stigmasterol protects against steatohepatitis induced by high-fat and high-cholesterol diet in mice by enhancing the alternative bile acid synthesis pathway [J]. *J Nutr*, 2023, 153(7): 1903-1914.

[18] Meng Y X, Zhao R, Huo L J. Interleukin-22 alleviates alcohol-associated hepatic fibrosis, inhibits autophagy, and suppresses the PI3K/AKT/mTOR pathway in mice. [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2023, 47(3): 448-458.

[19] Wu L W, Zhang Q H, Mo W H, *et al.* Quercetin prevents hepatic fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and reducing autophagy *via* the TGF-β1/Smads and PI3K/Akt pathways[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1-4): 9289.

[20] 谭普芳,南月敏,王荣琦,等. 血管内皮生成因子与肝纤维化[J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(7): 862-865.

[21] 邢安丽,赵鲲鹏,张秋菊,等. 基于 HIF-1-α/VEGF/TGF-β₁ 通路探讨舒肝化癥方抗肝纤维化的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(8): 57-65.

[22] 白 夜,王 勇,张文进,等. miR-381-3p 通过靶向调控 TP53 表达对大鼠脊髓损伤后修复的作用及其机制研究[J]. 卒中与神经疾病, 2023, 30(5): 461-473.

[23] Xu J J, Chen X, Zhu S, *et al.* Myc-mediated circular RNA circMcph1/miR-370-3p/Irak2 axis is a progressive regulator in hepatic fibrosis. [J]. *Life Sci*, 2022, 312: 121182.

[24] Wu K, Ma L, Xu T, *et al.* Transcription factor YY1 ameliorates liver ischemia-reperfusion injury through modulating the miR-181a-5p/ESR1/ERBB2 axis [J]. *Transplantation*, 2023, 107: 878-889.

[25] 梁 晨,刘 晖,白 洁,等. 常见临床指标及无创肝纤维化评分对中国肝病型 Wilson 病进展期肝纤维化的诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(3): 570-574.