

基于 SCF/c-Kit 信号轴探讨大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠炎症反应的影响

韦慧怡^{1,2}, 庞尧安^{1#}, 罗艳萍¹, 付军¹, 梁舒惟¹, 陈辉帆¹, 韩澳¹, 张祉汀¹,
俞渊^{1*}, 李敏朋^{1*}

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530200; 2. 广西中医药大学研究生院, 广西南宁 530200)

摘要: **目的** 观察大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠炎症反应的改善作用。**方法** 将 SD 雄性大鼠随机分为空白组、模型组、ISCK03 (SCF/c-Kit 抑制剂) 组 (5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)、熊去氧胆酸+ISCK03 组 (0.063 g/kg+5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)、大黄灵仙方+ISCK03 组 (4.8 g/kg+5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)、熊去氧胆酸组 (0.063 g/kg) 和大黄灵仙方组 (4.8 g/kg), 每组 10 只。除空白组外, 其余各组于胆总管内一次性注射 LPS (1.25 mg/kg) 构建肝内胆管炎大鼠模型。造模后 1 d 开始给药, 连续给药 7 d。给药结束后, 采用试剂盒检测血清 TBIL、DBIL、TBA、IL-6、TNF- α 、CRP 水平和 γ -GT、AKP 活性; HE 和 Masson 染色观察肝脏、回肠和结肠组织病理形态; 透射电镜观察肝组织超微结构; 免疫组化、Western blot 和 RT-qPCR 法检测肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白及 mRNA 表达; Western blot 法检测肠道组织 SCF、c-Ki 蛋白表达。**结果** 与空白组比较, 模型组和 ISCK03 组大鼠肝细胞损伤严重, 大量线粒体、粗面内质网损伤, 肠绒毛纹断裂, 杯状细胞数量减少, 隐窝排列紊乱; 血清 TBIL、DBIL、TBA、IL-6、TNF- α 、CRP 水平和 AKP、 γ -GT 活性升高 ($P < 0.05$); 肠道组织 SCF、c-Kit 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白及 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)。与 ISCK03 组比较, 熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠肝细胞炎症浸润减少, 线粒体破损, 肠绒毛、杯状细胞、隐窝结构趋于恢复; 血清 TBIL、DBIL、TBA、IL-6、TNF- α 、CRP 水平和 AKP、 γ -GT 活性降低 ($P < 0.05$); 肠道组织 SCF、c-Kit 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白及 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 熊去氧胆酸组和大黄灵仙方组大鼠肝细胞少量浸润, 细胞器形态较完整, 肠道杯状细胞排列整齐, 膜较完整; 血清 TBIL、DBIL、TBA、IL-6、TNF- α 、CRP 水平和 AKP、 γ -GT 活性降低 ($P < 0.05$); 肠道组织 SCF、c-Kit 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白及 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** 大黄灵仙方可通过调控 SCF/c-Kit 轴, 抑制 PKC/H-Ras/Raf-1/Erk1/2 通路活化, 发挥抗肝内胆管炎作用。

关键词: 大黄灵仙方; 肝内胆管炎; SCF/c-Kit 信号轴; H-Ras/Raf-1/Erk1/2 通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)06-1866-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.012

Effects of Dahuang Lingxian Formula on inflammatory response in rats with intrahepatic cholangitis based on the SCF/c-Kit signaling axis

WEI Hui-yi^{1,2}, PANG Jiao-an^{1#}, LUO Yan-ping¹, FU Jun¹, LIANG Shu-wei¹, CHEN Hui-fan¹,
HAN Ao¹, ZHANG Zhi-ting¹, YU Yuan^{1*}, LI Min-peng^{1*}

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

收稿日期: 2025-06-29

基金项目: 国家自然科学基金 (82360889); 2024 “岐黄工程” 高层次人才团队培育项目—肝胆相关疾病的中西医防治研究团队 (202411); 广西中医药大学第一附属医院第二批学术团队建设项目 (院字 [2024] 120 号); 广西中医药大学研究生教育创新计划项目 (YCSW2025440)

作者简介: 韦慧怡 (1999—), 女 (壮族), 硕士, 住院医师, 从事中医防治肝胆疾病的研究。E-mail: 2692879439@qq.com

#共同第一作者: 庞尧安 (1994—), 男, 硕士, 主治医师, 从事中医防治胆石病的研究。E-mail: 393511175@qq.com

***通信作者:** 俞渊 (1981—), 男, 博士, 主任医师, 从事中西医防治肝胆疾病的临床与基础研究。E-mail: yuyuandoctor@163.com
李敏朋 (1979—), 男, 硕士, 主任医师, 从事中西医防治肝胆疾病的临床与基础研究。E-mail: minpeng1979@163.com

ABSTRACT: **AIM** To observe the ameliorative effect of Dahuang Lingxian Formula on the inflammatory response in rats with intrahepatic cholangitis. **METHODS** SD male rats were randomly divided into normal group, model group, ISCK03 (SCF/c-Kit inhibitor) group (5 $\mu\text{mol/mL}$), ursodeoxycholic acid + ISCK03 group (0.063 g/kg + 5 $\mu\text{mol/mL}$), Dahuang Lingxian Formula + ISCK03 group (4.8 g/kg + 5 $\mu\text{mol/mL}$), ursodeoxycholic acid group (0.063 g/kg), and Dahuang Lingxian Formula group (4.8 g/kg), with 10 rats in each group. Except for the normal group, rats in all other groups received a single injection of LPS (1.25 mg/kg) into the common bile duct to establish a rat model of intrahepatic cholangitis. Administration began one day after modeling and continued for 7 consecutive days. After treatment, serum levels of TBIL, DBIL, TBA, IL-6, TNF- α , CRP, and the activities of γ -GT and AKP were measured using commercial kits. Pathological morphology of the liver, ileum, and colon tissues was observed by HE and Masson staining. Ultrastructure of liver tissue was examined by transmission electron microscopy. The expressions of PKC, H-Ras, Raf-1, Erk1/2 protein and mRNA in liver tissue were detected by immunohistochemistry, Western blot and RT-qPCR. Western blot was used to detect the protein expressions of SCF and c-Kit in intestinal tissue. **RESULTS** Compared with the normal group, rats in the model group and ISCK03 group showed severe hepatocyte damage, extensive mitochondrial and rough endoplasmic reticulum injury, disrupted intestinal villi, reduced goblet cell count, and disorganized crypt arrangement. Serum levels of TBIL, DBIL, TBA, IL-6, TNF- α , CRP, and the activities of AKP and γ -GT were increased ($P < 0.05$). Protein expressions of SCF and c-Kit in intestinal tissue were decreased ($P < 0.05$), while the protein and mRNA expressions of PKC, H-Ras, Raf-1 and Erk1/2 in liver tissue were increased ($P < 0.05$). Compared with the ISCK03 group, rats in the ursodeoxycholic acid + ISCK03 group and the Dahuang Lingxian Formula + ISCK03 group exhibited reduced inflammatory infiltration in hepatocytes, less mitochondrial damage, and recovery of intestinal villi, goblet cells, and crypt structure. Serum levels of TBIL, DBIL, TBA, IL-6, TNF- α , CRP, and the activities of AKP and γ -GT were decreased ($P < 0.05$). Protein expressions of SCF and c-Kit in intestinal tissue were increased ($P < 0.05$), while the protein and mRNA expressions of PKC, H-Ras, Raf-1 and Erk1/2 in liver tissue were decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, rats in the ursodeoxycholic acid group and the Dahuang Lingxian Formula group showed mild inflammatory infiltration in hepatocytes, relatively intact organelle morphology, neatly arranged intestinal goblet cells, and intact membranes. Serum levels of TBIL, DBIL, TBA, IL-6, TNF- α , CRP, and the activities of AKP and γ -GT were decreased ($P < 0.05$). Protein expressions of SCF and c-Kit in intestinal tissue was increased ($P < 0.05$), while the protein and mRNA expressions of PKC, H-Ras, Raf-1 and Erk1/2 in liver tissue was decreased ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Dahuang Lingxian Formula exerts an anti-intrahepatic cholangitis effect by regulating the SCF/c-Kit axis and inhibiting the activation of the PKC/H-Ras/Raf-1/Erk1/2 pathway.

KEY WORDS: Dahuang Lingxian Formula; intrahepatic cholangitis; SCF/c-Kit signaling axis; H-Ras/Raf-1/Erk1/2 pathway

肝内胆管炎是以胆管上皮炎症损伤、胆管进行性破坏的一类疾病^[1], 在亚洲地区发病率呈逐年上升趋势, 且女性发病率高于男性^[2]。其发病机制复杂, 至今未完全阐明。该病病程迁延, 最终可导致胆汁淤积、肝纤维化乃至胆管癌等危重并发症^[3]。肝内胆管炎被认为是导致肝胆管结石产生的重要因素, 长期的炎症反应可激活氧化应激, 导致脂质水平和胆固醇水平增高, 增加结石发生率^[4]。目前, 熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸是临床上用于治疗肝内胆管炎的一线药物, 但部分患者对其不

应答或应答不佳^[5]。所以, 探索新的治疗模式, 通过抑制炎症反应, 预防结石的形成, 迫在眉睫。

研究发现, 干细胞因子 (stem cell factor, SCF) /酪氨酸激酶受体 (tyrosine kinase receptor, c-Kit) 信号通路与胆固醇结石的形成和调节肠道代谢密切相关^[6]。蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 可介导 H-Ras/Raf/细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated protein kinases, Erk1/2) 信号通路发生炎症级联瀑布反应, 促进胆道炎症纤维化进程, 加快结石形成^[7]。课题组前期研

究发现, 大黄灵仙方可调控 MAPK/NF- κ B、JAK/STAT、Wnt/ β -catenin 等信号通路降低胆管细胞炎症性应激, 调控免疫平衡, 减少炎症因子释放, 有效防治肝内胆管结石^[8-10]。但大黄灵仙方能否通过肠道启动 SCF/c-Kit 轴, 串联 PKC/H-Ras/Raf-1/Erk1/2 信号通路, 抑制肝内胆管炎发生, 从而起到防治肝内胆管结石的形成鲜有报道。因此, 本研究通过 LPS 构建肝内胆管炎大鼠模型, 从调控肠道 SCF/c-Kit 信号轴, 串联 PKC/H-Ras/Raf-1/Erk1/2 炎症通路表达出发, 进一步完善和阐述大黄灵仙方缓解肝内胆管炎的作用机制, 为后期中医学防治肝内胆管结石提供理论学依据。

1 材料

1.1 实验动物 70 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 8~12 周龄, 体质量 180~220 g, 购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004], 饲养于广西中医药大学 SPF 级屏障环境 [实验动物使用许可证号 SYXK (桂) 2024-0004], 环境温度(24±2)℃, 相对湿度40%~70%, 12 h/12 h 明暗交替, 自由饮食饮水。本研究经广西中医药大学实验动物伦理委员会批准(批号 DW20231016-201)。

1.2 药物和试剂 大黄灵仙方由生大黄、泽兰(批号 19110323、19091823) 各 15 g, 威灵仙、金钱草、黄芪(批号 19100653、19091713、19091523) 各 30 g, 郁金、枳壳、柴胡、鸡内金(批号 19120613、19120413、19110333、19110373) 各 12 g, 磁石、芒硝(批号 19091943、18122053) 各 10 g, 炙甘草(批号 1911103) 5 g 组成, 由广西中医药大学第一附属医院中药房根据生药颗粒剂比例换算, 配制成一付相当于 26.4 g 的颗粒剂。熊去氧胆酸(德国 Losan Pharma GmbH 公司, 规格 0.25 g, 货号 L19087A); SCF、c-Kit、PKC、H-Ras、ERK1/2 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司, 货号 26582-1-AP、18696-1-AP、21991-1-AP、18295-1-AP、51068-1-AP); RAF-1 抗体、脂多糖(LPS)、ISCK03(北京索莱宝科技有限公司, 货号 K000318P、L8880、S2070); γ -谷氨酰基转移酶(γ -GT)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、碱性磷酸酶(AKP)、总胆汁酸(TBA) 测试盒(南京建成生物工程研究所, 货号 C009-2-1、C-19-1-1、C019-2-1、E003-2-1、E003-2-1)。

1.3 仪器 5810R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); Epoch2 酶标仪(美国 BioTek 公司); BD23

小型精密恒温箱(德国 BINDER 公司); CKX41 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司); 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司); 1659001 电泳仪、Trans-Blot SD 转膜仪(美国 Bio-Rad 公司); Multiscan MK3 长酶标仪(美国赛默飞公司)。

2 方法

2.1 分组与造模 大鼠适应性喂养 7 周后随机分为空白组、模型组、ISCK03 组、熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组、熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各组参考既往研究造模^[11], 在胆总管一次性注射 1.25 mg/kg LPS 构建肝内胆管炎大鼠模型。

2.2 给药 参照药品说明书剂量和人与大鼠体表面积换算的计算公式, 最终确定大鼠 ISCK03、熊去氧胆酸、大黄灵仙方给药剂量分别为 5 μ mol/mL、0.063 g/kg、4.8 g/kg, ISCK03 腹腔注射给药, 熊去氧胆酸和大黄灵仙方灌胃给药, 空白组、模型组和 ISCK03 组灌胃给予蒸馏水, 灌胃量 2 mL/kg。于造模后 1 d 开始给药, 每天 1 次, 连续 7 d。所有大鼠均在给药结束后, 禁食、禁水 12 h, 随后无菌操作下取材。

2.3 样本采集 给药干预 7 d 后, 采用气麻机, 使用 2.5% 异氟烷吸入麻醉大鼠, 取腹主动脉血 2 mL, 静置 2 h 后, 3 000 r/min 离心 15 min 取血清, 置于-80℃保存。采血后, 取 2 块大小约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的肝组织, 取 2 段回肠和结肠约 1 cm, 一份使用 4% 多聚甲醛固定, 另一份置于液氮中保存。取 0.1 cm³ 肝组织置于电镜保存液中, 4℃保存。

2.4 观察指标

2.4.1 血清肝功能及炎症因子水平检测 取大鼠血清, 采用酶标法试剂盒, 按照操作步骤检测血清 TBIL、DBIL、TBA、AKP、 γ -GT 活性。采用 ELISA 试剂盒, 按照操作步骤检测血清 IL-6、TNF- α 、CRP 水平。

2.4.2 HE、Masson 染色观察肝脏、回肠、结肠病理学改变 肝脏、回肠、结肠组织使用 4% 多聚甲醛固定, 经脱水、浸蜡、包埋、切片、脱蜡后进行 Masson 染色以及 HE 染色, 于光学显微镜下观察病理变化。

2.4.3 透射电镜观察肝脏超微结构 取出于电镜保存液中的肝组织, 经乙醇及丙酮脱水, 环氧树脂包埋, 用钻石刀切制成 70 nm 的超薄切片, 铀铅染色后于透射电镜观察肝细胞中细胞核、内质网、线

粒体形态数量及其他细胞器的超微结构。

2.4.4 免疫组化检测肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白表达 肝组织经 10% 多聚甲醛固定 24 h 后，经脱水、包埋、切片、烤片、脱蜡、水化、抗原修复冷却后，3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶活性，血清封闭，孵育一抗 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 (1 : 500)，孵育二抗，DAB 显色，苏木素复染细胞核，经脱水、透明、封片后镜检，通过 Image J 软件检测阳性表达面积。

2.4.5 Western blot 法检测肠道 SCF、c-Kit 和肝脏 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白表达 取肝脏以及肠道各 30 mg，加 300 μL 裂解液，冷冻研磨，离心后取上清，BCA 法测定蛋白浓度并进行定量，按比例加入 5×上样缓冲液，100 °C 金属浴加热 10 min。将制备好的蛋白样品进行加样、电泳、转膜，使用快速封闭液封闭 PVDF 膜 20 min。加一抗 PKC (1 : 5 000)、H-Ras (1 : 2 000)、Raf-1 (1 : 2 000)、Erk1/2 (1 : 5 000)，4 °C 孵育过夜，TBST 洗膜 3 次，加二抗鼠抗 (1 : 10 000)、兔抗 (1 : 5 000) 孵育 1 h，TBST 洗膜 3 次，通过化学发光成像系统显影，采用 Image J 软件分析各组蛋白条带灰度值，以 GAPDH 为内参计算目的蛋白相对表达。

2.4.6 RT-qPCR 法检测肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 mRNA 表达 取各组肝组织，使用 TRIzol 试剂提取总 RNA，利用 PrimeScript RT Master 混合物逆转录成 cDNA，再使用 SYBR Premix Ex Taq™ 试剂进行 PCR 扩增反应。反应体系共 20 μL，cDNA 模板 2 μL，2×S6 Universal SYBR qPCR Mix 4 μL、正反向引物各 0.4 μL，加无核酸酶水补足至总体积 20 μL。扩增条件为 95 °C 预变性 40 s；95 °C 变性 10 s，60 °C 退火/延伸 30 s，循环 30 次。以 GAPDH 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法检测目的基因相对表达。引物由武汉天一华煜基因科技有限公司设计与合成，序列见表 1。

2.5 统计学分析 通过 GraphPad Prism 10.2 软件进行处理，计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，若方差齐，进一步多重比采用最小显著性差异法 (LSD) 较，若方差不齐则采用 Dunnett's T3 法。P<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠肝脏、回肠、结肠组织病理形态的影响

3.1.1 HE 染色 空白组大鼠肝组织形态正常。模型组、ISCK03 组大鼠肝组织细胞肿胀、变形排列紊乱，形成气球样变；汇管区出现大量不规则胆管增生范围扩大，肝小叶受损严重，假小叶形成，伴炎症细胞浸润。熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠部分肝细胞坏死，部分肝内胆管扩张，肝小叶结构破损；汇管区、中央静脉周围炎性细胞浸润。熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肝组织细胞形态较完整，假小叶结构较完整，炎症细胞浸润减轻，汇管区胆管增生等均有所改善。

表 1 引物序列

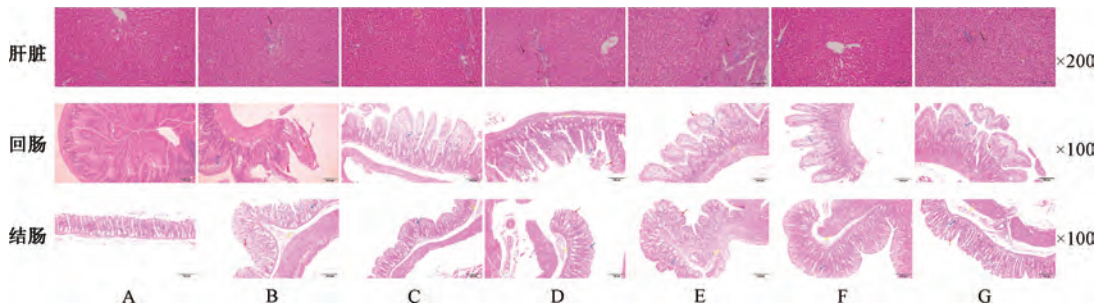
Tab. 1 Primer sequences

基因	序列	产物长度/bp
PKC	正向 5'-GGGATGAAATGCGACACCTG-3'	111
	反向 5'-CTTCAGGTAAATCCGCCCC-3'	
H-Ras	正向 5'-GCCCCTGTAGAAGCGATGAC-3'	144
	反向 5'-CTGTTTCCGGTAGGAGTCTCT-3'	
Raf-1	正向 5'-CAGCAGTTTGCTATCAGCGT-3'	124
	反向 5'-CATTCCGCACATTGACCACAG-3'	
Erk1/2	正向 5'-TCTGTGTCGGATTCCGCCAT-3'	116
	反向 5'-CAGGTCCGTCTCCATGAGGTC-3'	
GAPDH	正向 5'-GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3'	92
	反向 5'-AGCCAGGATGCCCTTTAGT-3'	

空白组回肠、结肠形态正常。模型组、ISCK03 组大鼠肠黏膜有严重损伤，组织结构破碎，杯状细胞排列紊乱，伴有明显水肿，隐窝肿胀，炎性细胞浸润。熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠肠黏膜破坏、水肿充血情况稍有恢复，但依旧有炎症细胞浸润现象，杯状细胞排序较整齐。熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肠黏膜正常，水肿减少，有少量炎症细胞浸润，杯状细胞排列整齐。结果见图 1。

3.1.2 Masson 染色 空白组大鼠肝脏结构完整，未见明显胶原纤维增生。模型组、ISCK03 组大鼠肝脏汇管区可见纤维间隔，肝索排列紊乱、肝小叶结构破坏，形成假小叶。熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠肝脏仍可见肝小叶结构破坏及纤维结缔组织增生，部分假小叶形成，存在蓝色纤维间隔和条索。熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肝脏肝索排列较整齐，纤维增生减少，纤维间隔变窄，仅见少量蓝色胶原沉积。

空白组大鼠回肠、结肠组织肠绒毛纹排序整齐，整体形态完整。模型组、ISCK03 组大鼠回肠、结肠组织肠绒毛纹断裂，上皮和固有层严重破坏，大量炎性细胞浸润，杯状细胞数量少，隐窝排列紊乱。熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03



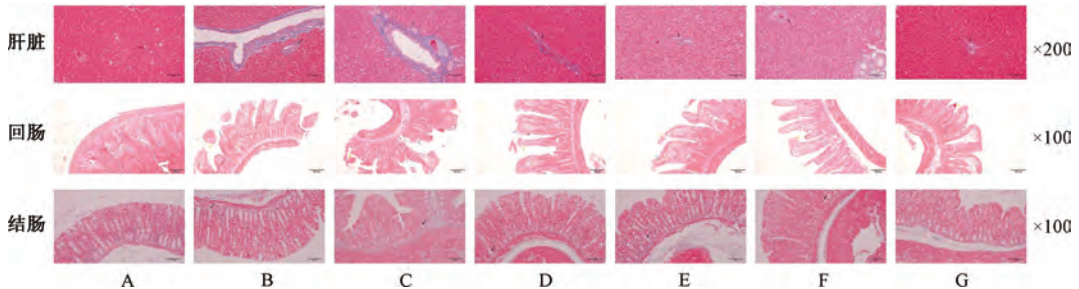
注：A 为空白组，B 为 ISCK03 组，C 为模型组，D 为熊去氧胆酸+ISCK03 组，E 为大黄灵仙方+ISCK03 组，F 为熊去氧胆酸组，G 为大黄灵仙方组。黑色箭头指示气球样变，蓝色箭头指示炎症细胞浸润，红色箭头指示杯状细胞排列紊乱，黄色箭头指示水肿。

图 1 各组大鼠肝脏、回肠、结肠组织 HE 染色

Fig. 1 HE staining in liver, ileum and colon of rats in each group

组大鼠回肠、结肠组织肠绒毛纹少量断裂，固有层局部炎性细胞聚集，杯状细胞较多，隐窝结构趋于恢复。熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠回肠、结

肠组织肠绒毛排序整齐，上皮和固有层趋于完整，少量炎性细胞分布，杯状细胞分布密集，隐窝结构排列清晰完整。结果见图 2。



注：A 为空白组，B 为 ISCK03 组，C 为模型组，D 为熊去氧胆酸+ISCK03 组，E 为大黄灵仙方+ISCK03 组，F 为熊去氧胆酸组，G 为大黄灵仙方组。肝脏中黑色箭头指示胶原沉积；结肠、回肠中黑色箭头指示隐窝紊乱，蓝色箭头指示杯状细胞排列紊乱，黄色箭头指示肠绒毛损伤。

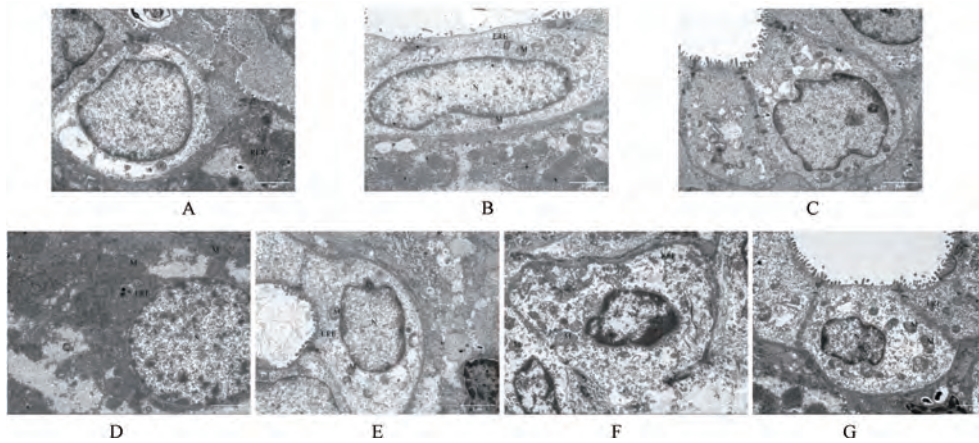
图 2 各组大鼠肝脏、回肠、结肠组织 Masson 染色

Fig. 2 Masson staining in liver, ileum and colon of rats in each group

3.2 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠肝组织超微结构的影响 空白组大鼠肝细胞结构正常，核膜完整，糖原颗粒均匀分布。模型组、ISCK03 组大鼠肝细胞损伤严重，表现为核膜模糊、微绒毛脱落，核内包涵体形成及异染色质聚集；胞质基质溶解，广泛水肿，糖原颗粒分布紊乱；线粒体严重损伤，膜结构模糊、断裂，嵴结构破坏；粗面内质网囊膜破损，可见断裂，并伴核糖体脱颗粒。熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠肝细胞中度损伤，核膜欠完整，染色质及糖原分布稍改善；部分线粒体膜破损、基质外溢，嵴断裂；粗面内质网数量减少，偶见囊膜破损及轻微核糖体脱颗粒。熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肝细胞轻度损伤，胞质基质不均，局部水肿；核膜边界模糊，异染色质增多；线粒体偶见膜模糊及嵴断裂，形成空泡。结果见图 3。

3.3 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠肝组织切片大部分面积呈现大量黄褐色，PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 阳性表达升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 阳性表达降低 ($P < 0.05$)，熊去氧胆酸+ISCK03 组、大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠肝组织 Raf-1 阳性表达降低 ($P < 0.05$)，大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠肝组织 PKC 阳性表达降低 ($P < 0.05$)，见图 4、表 2。

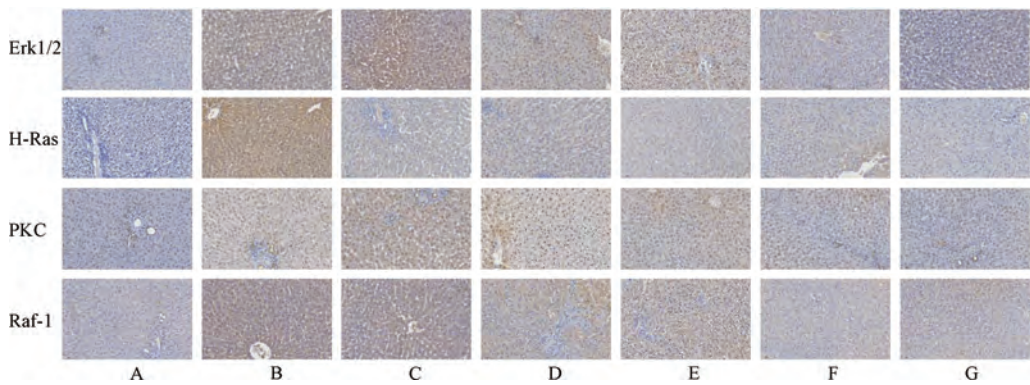
3.4 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠血清 TBIL、DBIL、TBA 水平和 AKP、 γ -GT 活性的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 TBIL、DBIL、TBA 水平和 AKP、 γ -GT 活性均升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组、熊去氧胆



注：A 为空白组，B 为 ISCK03 组，C 为模型组，D 为熊去氧胆酸+ISCK03 组，E 为大黄灵仙方+ISCK03 组，F 为熊去氧胆酸组，G 为大黄灵仙方组。N 为细胞核，M 为线粒体，ERE 为粗面内质网。

图 3 各组大鼠肝组织超微结构 (透射电镜)

Fig. 3 Ultrastructure of liver tissue of rats in each group (transmission electron microscope)



注：A 为空白组，B 为 ISCK03 组，C 为模型组，D 为熊去氧胆酸+ISCK03 组，E 为大黄灵仙方+ISCK03 组，F 为熊去氧胆酸组，G 为大黄灵仙方组。

图 4 各组大鼠肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白免疫组化染色

Fig. 4 Immunohistochemical staining of PKC, H-Ras, Raf-1 and Erk1/2 proteins in liver tissue of rats in each group

表 2 各组大鼠肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 2 Comparison of expressions of PKC, H-Ras, Raf-1 and Erk1/2 in liver tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	Erk1/2	PKC	H-Ras	Raf-1
空白组	0.02±0.05	1.39±1.72	0.23±0.18	14.14±7.10
模型组	36.79±13.25*	17.98±4.05*	19.83±7.99*	49.74±3.85*
ISCK03 组	48.65±10.86	23.88±4.78	27.21±13.59	51.20±5.78
熊去氧胆酸+ISCK03 组	34.29±5.00 ^Δ	13.44±7.00 ^Δ	12.14±3.12 ^Δ	31.68±5.45 ^{#Δ}
大黄灵仙方+ISCK03 组	30.09±4.69 ^Δ	8.00±3.40 ^{#Δ}	8.52±9.42 ^Δ	28.74±4.39 ^{#Δ}
熊去氧胆酸组	5.14±2.11 ^{#Δ}	7.17±3.49 ^{#Δ}	3.88±6.40 ^{#Δ}	15.59±5.65 ^{#Δ}
大黄灵仙方组	1.37±0.92 ^{#Δ}	3.54±3.88 ^{#Δ}	0.78±0.73 ^{#Δ}	15.57±10.30 ^{#Δ}

注：与空白组比较,* $P<0.05$ ；与模型组比较,# $P<0.05$ ；与 ISCK03 组比较,^Δ $P<0.05$ 。

酸+ISCK03 组和大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠血清 TBIL、DBIL、TBA 水平和 AKP、 γ -GT 活性均降低 ($P<0.05$)，而 ISCK03 组各指标无明显变化 ($P>0.05$)；与 ISCK03 组比较，熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组、熊去氧胆酸+ISCK03 组和大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠血清 TBIL、DBIL、TBA 水平和

AKP、 γ -GT 活性均降低 ($P<0.05$)，见表 3。

3.5 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠血清 IL-6、TNF- α 、CRP 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 IL-6、TNF- α 、CRP 水平升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组、熊去氧胆酸+ISCK03 组和大黄灵仙方+

ISCK03组大鼠血清IL-6、TNF- α 、CRP水平均降低 ($P < 0.05$), 而ISCK03组各指标无明显变化 ($P > 0.05$); 与ISCK03组比较, 熊去氧胆酸组、大

黄灵仙方组、熊去氧胆酸+ISCK03组和大黄灵仙方+ISCK03组大鼠血清IL-6、TNF- α 、CRP水平均降低 ($P < 0.05$), 见表4。

表3 各组大鼠血清TBIL、DBIL、TBA水平和AKP、 γ -GT活性比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 Comparison of serum TBIL, DBIL and TBA levels and AKP and γ -GT activities in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	AKP/(U·L ⁻¹)	TBIL/(μ mol·L ⁻¹)	DBIL/(μ mol·L ⁻¹)	γ -GT/(U·L ⁻¹)	TBA/(μ mol·L ⁻¹)
空白组	4.10±0.32	6.24±1.24	6.25±1.25	46.10±6.93	9.80±1.92
模型组	13.50±0.57*	19.59±1.23*	29.37±1.84*	90.20±6.51*	29.60±2.70*
ISCK03组	13.80±0.55	22.34±0.78	32.22±1.14	105.00±8.67	32.90±2.40
熊去氧胆酸+ISCK03组	8.45±0.36 [#] Δ	16.57±1.51 [#] Δ	22.96±2.02 [#] Δ	80.40±5.36 [#] Δ	29.50±1.10 [#] Δ
大黄灵仙方+ISCK03组	6.99±0.14 [#] Δ	13.78±1.04 [#] Δ	17.38±1.09 [#] Δ	69.10±2.30 [#] Δ	22.30±1.37 [#] Δ
熊去氧胆酸组	6.12±0.11 [#] Δ	11.02±1.66 [#] Δ	11.93±1.01 [#] Δ	65.50±4.23 [#] Δ	17.00±3.55 [#] Δ
大黄灵仙方组	5.30±0.20 [#] Δ	9.39±1.45 [#] Δ	9.00±0.98 [#] Δ	63.90±2.09 [#] Δ	16.30±3.56 [#] Δ

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$; 与ISCK03组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

表4 各组大鼠血清IL-6、TNF- α 、CRP水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Comparison of serum IL-6, TNF- α and CRP levels in rats of each group (pg/mL, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-6	TNF- α	CRP
空白组	5.31±1.72	15.86±1.91	5.96±0.45
模型组	29.83±2.86*	37.30±2.02*	20.45±2.17*
ISCK03组	30.56±4.56	39.43±1.50	20.64±2.04
熊去氧胆酸+ISCK03组	22.87±3.37 [#] Δ	31.72±3.09 [#] Δ	13.53±1.77 [#] Δ
大黄灵仙方+ISCK03组	20.14±2.34 [#] Δ	29.75±2.55 [#] Δ	13.13±1.56 [#] Δ
熊去氧胆酸组	8.87±0.94 [#] Δ	24.92±2.45 [#] Δ	10.12±1.46 [#] Δ
大黄灵仙方组	7.61±1.38 [#] Δ	16.53±1.26 [#] Δ	6.46±0.68 [#] Δ

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$; 与ISCK03组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3.6 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠肠道组织SCF、c-Kit和肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠肠道组织SCF、c-Kit蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肠道组织SCF、c-Kit蛋白表达升高 ($P < 0.05$),

肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2蛋白表达降低 ($P < 0.05$); 与ISCK03组比较, 熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组、熊去氧胆酸+ISCK03组和大黄灵仙方+ISCK03组大鼠肠道组织SCF、c-Kit蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见表5、图5。

表5 各组大鼠肠道组织SCF、c-Kit、肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 5 Comparison of protein expressions of SCF and c-Kit in intestinal tissue, and PKC, H-Ras, Raf-1, Erk1/2 in liver tissue of each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	SCF	c-Kit	Erk1/2	PKC	H-Ras	Raf-1
空白组	1.05±0.10	1.11±0.09	0.52±0.08	0.52±0.09	0.56±0.02	0.42±0.10
模型组	0.60±0.07*	0.52±0.06*	1.14±0.13*	0.99±0.09*	1.16±0.10*	0.98±0.08*
ISCK03组	0.48±0.06	0.39±0.03	1.32±0.12	1.18±0.22	1.34±0.18	1.19±0.14
熊去氧胆酸+ISCK03组	0.66±0.07 [#] Δ	0.64±0.15 [#] Δ	1.05±0.14 [#] Δ	0.94±0.09 [#] Δ	1.00±0.11 [#] Δ	0.96±0.09 [#] Δ
大黄灵仙方+ISCK03组	0.67±0.07 [#] Δ	0.65±0.12 [#] Δ	1.04±0.14 [#] Δ	0.92±0.08 [#] Δ	0.98±0.15 [#] Δ	0.93±0.06 [#] Δ
熊去氧胆酸组	0.80±0.09 [#] Δ	0.78±0.12 [#] Δ	0.87±0.13 [#] Δ	0.76±0.05 [#] Δ	0.84±0.18 [#] Δ	0.71±0.12 [#] Δ
大黄灵仙方组	0.93±0.13 [#] Δ	0.95±0.20 [#] Δ	0.73±0.14 [#] Δ	0.63±0.09 [#] Δ	0.68±0.21 [#] Δ	0.59±0.15 [#] Δ

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$; 与ISCK03组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3.7 大黄灵仙方对肝内胆管炎大鼠肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 mRNA表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 mRNA表达升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组大鼠肝组织

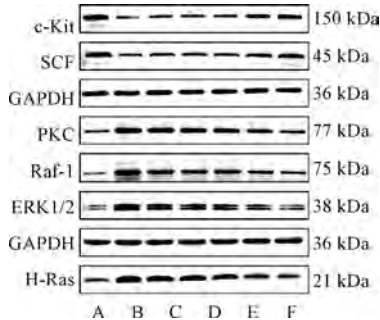
PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 mRNA表达降低 ($P < 0.05$); 与ISCK03组比较, 熊去氧胆酸组、大黄灵仙方组、熊去氧胆酸+ISCK03组和大黄灵仙方+ISCK03组大鼠肝组织PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 mRNA表达降低 ($P < 0.05$), 见表6。

表6 各组大鼠肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

Tab. 6 Comparison of mRNA expressions of PKC, H-Ras, Raf-1 and Erk1/2 in liver tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	Erk1/2	PKC	H-Ras	Raf-1
空白组	1.00±0.09	1.01±0.19	1.00±0.06	1.00±0.04
模型组	2.39±0.16*	2.86±0.53*	5.58±0.08*	4.11±0.16*
ISCK03组	3.15±0.71	4.01±0.38	8.09±0.59	5.47±1.46
熊去氧胆酸+ISCK03组	2.31±0.12 ^Δ	2.75±0.13 ^Δ	4.75±0.41 ^Δ	3.47±0.90 ^Δ
大黄灵仙方+ISCK03组	2.20±0.15 ^Δ	2.33±0.41 ^Δ	3.59±0.60 ^Δ	3.19±0.59 ^Δ
熊去氧胆酸组	1.52±0.06 ^{#Δ}	1.59±0.12 ^{#Δ}	1.32±0.14 ^{#Δ}	2.09±0.18 ^{#Δ}
大黄灵仙方组	1.13±0.14 ^{#Δ}	1.47±0.34 ^{#Δ}	1.29±0.06 ^{#Δ}	1.41±0.38 ^{#Δ}

注：与空白组比较,*P<0.05;与模型组比较,#P<0.05;与ISCK03组比较,ΔP<0.05。



注：A为空白组，B为ISCK03组，C为模型组，D为熊去氧胆酸+ISCK03组，E为大黄灵仙方+ISCK03组，F为熊去氧胆酸组，G为大黄灵仙方组。

图5 各组大鼠肠道组织 SCF、c-Kit 和肝组织 PKC、H-Ras、Raf-1、Erk1/2 蛋白条带图

Fig. 5 Protein bands of SCF and c-Kit in intestinal tissue, and PKC, H-Ras, Raf-1, Erk1/2 in liver tissue of rats in each group

4 讨论

中医认为肝内胆管炎多因湿热壅结，肝胆气机不利，久积发病。大黄灵仙方重在清热利湿、疏肝利胆排石。方中大黄可恢复肠道屏障，降低肝脏炎症应激反应^[12]。柴胡可调节肠道菌群，促进肠肝循环，减少胆汁淤积^[13]。金钱草可降低胆汁中胆固醇含量，抑制结石形成^[14]。LPS 注射入胆管可诱发胆管炎^[15]。本研究结果显示，模型组大鼠呈现典型肝内胆管炎病理特征；大黄灵仙方干预后，肝脏炎性细胞浸润减轻，线粒体、内质网等细胞器损伤减少，能有效缓解肝脏炎症并抑制肝内胆管炎进程。模型组大鼠血清 γ -GT、TBIL、DBIL、AKP、TBA 及炎症因子 IL-6、TNF- α 、CRP 水平升高，提示存在胆道炎症；经大黄灵仙方干预后，以上指标水平降低，表明其能有效减轻肝内胆管炎、促进胆汁排泄。

肝内胆管炎可影响肠道炎症、胆汁流动及菌群组成^[16]。SCF 可快速活化休眠干细胞并调控微环

境^[17]，其通过与 c-Kit 结合调控细胞生长、存活与增殖，胆汁酸代谢紊乱可加剧肠道炎症，激活 SCF/c-Kit 通路可促进胃肠动力，减轻炎症损伤^[18]。化合物 ISCK03 可有效阻断 SCF 诱导的 c-Kit 磷酸化^[19]。本研究结果显示，模型组大鼠 SCF、c-Kit 蛋白表达降低；而熊去氧胆酸+ISCK03 组和大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠 SCF、c-Kit 蛋白表达升高，推测其机制可能与 ISCK03 阻断 c-Kit 受体活化，加剧炎症反应，抑制信号通路及胆汁酸代谢有关。

PKC 参与细胞增殖、分化与凋亡^[7]。活性 H-Ras 蛋白可招募并激活膜上的 Raf 激酶，进而启动 MAPK 磷酸化级联反应^[20]。Erk1/2 是 MAPK 通路的关键激酶^[21]。Raf 可激活 Erk 磷酸化，启动炎症反应^[22]。Franke 等^[23]发现，SCF 与 c-Kit 结合后可激活 MAPK，促使磷酸化 Erk 入核并激活转录因子。Moteiki 等^[24]发现，PKC 参与 MAPK 信号通路激活，可诱导 H-Ras 与 Erk 通路交叉对话，启动炎症级联反应。本研究结果显示，模型组大鼠 PKC、H-Ras、Raf、Erk1/2 蛋白及 mRNA 表达均升高，提示 SCF/c-Kit 通路被抑制后，激活 PKC 磷酸化，进而启动 H-Ras/Raf/Erk1/2 通路，加剧炎症反应。而熊去氧胆酸+ISCK03 组和大黄灵仙方+ISCK03 组大鼠 PKC、H-Ras、Raf、Erk1/2 蛋白及 mRNA 表达降低，SCF、c-Kit 蛋白及 mRNA 表达升高，表明大黄灵仙方能激活 SCF/c-Kit 通路，并抑制下游 PKC/MAPK 信号，从而缓解炎症。进一步说明大黄灵仙方是通过串联 SCF/c-Kit 这一上游“触发信号”与下游 H-Ras/Raf/Erk1/2 “执行通路”，形成其核心药效机制。

综上所述，大黄灵仙方能有效减轻大鼠肝内胆管炎损伤，修复肠道黏膜结构，改善肝细胞线粒体与内质网等超微病变，其作用机制可能与激活 SCF/c-Kit 信号通路，进而抑制 H-Ras/Raf/Erk1/2 通路活化有关。

参考文献:

- [1] 王 坚. 对肝内胆管结石规范性治疗的认知与思考[J]. 中国普通外科杂志, 2025, 34(2): 238-244.
- [2] 王宪波. 原发性胆汁性胆管炎中西医结合诊疗专家共识[J]. 临床肝胆病杂志, 2024, 40(9): 1757-1766.
- [3] Zingone F, Canova C, Forss A, et al. Prevalence of celiac disease in patients with primary biliary cholangitis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Liver Int*, 2025, 45(9): e70293.
- [4] Sharma B, Shukla R, Nagar A, et al. A comparative analysis of gallstones from gallbladder cancer patients and cholelithiasis patients unveiling the association between gallstones and gallbladder cancer[J]. *Med Oncol*, 2025, 42(3): 65.
- [5] Gutt C, Schläfer S, Lammert F. The treatment of gallstone disease[J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2020, 117(9): 148-158.
- [6] Xie Y, Zhan X, Tu J, et al. Atractylodes oil alleviates diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by regulating intestinal inflammation and intestinal barrier via SCF/c-Kit and MLCK/MLC2 pathways[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 272: 113925.
- [7] Li W, Zhu K, Liu Y, et al. Recent advances in PKC inhibitor development: Structural design strategies and therapeutic applications[J]. *Eur J Med Chem*, 2025, 287: 117290.
- [8] 张 曼, 戴建业, 俞 渊, 等. 大黄灵仙方对 LPS 诱导的肝内胆管组织损伤大鼠炎症反应及 Wnt5a-Ca2+-PKC 信号转导通路的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(1): 39-44.
- [9] 付 军, 俞 渊, 庞澆安, 等. 基于 JAK/STAT 信号通路探讨大黄灵仙方干预 Th17/Treg 细胞平衡缓解肝内胆管炎症的作用机制[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(9): 1619-1626.
- [10] 俞 渊, 杨 文, 马天如, 等. 大黄灵仙方调节 p38MAPK 信号通路相关因子减轻胆管细胞炎症反应[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(3): 589-592.
- [11] 黄丽芳, 许 彦, 唐乾利, 等. 脂多糖构建大鼠肝内胆管炎症动物模型的浓度研究[J]. 重庆医学, 2021, 50(17): 2889-2893.
- [12] Qiu J, Xu F, Wei H, et al. Metabolic restoration: Rhubarb polysaccharides as a shield against non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 305(Pt 2): 141151.
- [13] Zhang A, Gao S, Shen C, et al. Bupleuri Radix polysaccharides enhance the efficacy and intestinal absorption of baicalin via regulating intestinal beta-glucuronidase activity in MASH mice[J]. *Phytomedicine*, 2025, 145: 157092.
- [14] Liu S, Luorong Q, Hu K, et al. Aqueous extract of *Lysimachia christinae* Hance prevents cholesterol gallstone in mice by affecting the intestinal microflora[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2021, 31(9): 1272-1280.
- [15] 单佳铃, 程虹毓, 文 乐, 等. TLR/MyD88/NF-κB 信号通路参与不同疾病作用机制研究进展[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(4): 451-455.
- [16] Lee H Y, Crawley S, Hokari R, et al. Bile acid regulates MUC2 transcription in colon cancer cells via positive EGFR/PKC/Ras/ERK/CREB, PI3K/Akt/IκB/NF-κB and p38/MSK1/CREB pathways and negative JNK/c-Jun/AP-1 pathway[J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(4): 941-953.
- [17] Kim J O, Kim H N, Kim K H, et al. Development and characterization of a fully human antibody targeting SCF/c-Kit signaling[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 159: 66-78.
- [18] Zhang Z, Li J, Wan Z, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLa80 alleviates constipation in mice through modulating the stem cell factor (SCF) /c-Kit pathway and the gut microbiota[J]. *Food Funct*, 2025, 16(6): 2347-2362.
- [19] Zhu J, Wang J, Gu M, et al. c-Kit-Mediated PI3K/AKT and Wnt/β-Catenin signaling drives resistance to 5α-reductase inhibitors in benign prostatic hyperplasia[J]. *Prostate*, 2025, 85(16): 1541-1555.
- [20] Martinez F J, Durrant D E, Morrison D K, et al. Structural insights into the BRAF monomer-to-dimer transition mediated by RAS binding[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 486.
- [21] Guo Y J, Pan W W, Liu S B, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1997-2007.
- [22] Yu P, Ye L, Wang H, et al. NSK-01105 inhibits proliferation and induces apoptosis of prostate cancer cells by blocking the Raf/MEK/ERK and PI3K/Akt/mTOR signal pathways[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(3): 2143-2153.
- [23] Franke K, Bal G, Li Z, et al. CREB is activated by the SCF/KIT axis in a partially ERK-dependent manner and orchestrates survival and the induction of immediate early genes in human skin mast cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 4135.
- [24] Moteki H, Ogihara M, Kimura M. Phenylephrine enhances the mitogenic effect of S-allyl-L-cysteine on primary cultured hepatocytes through protein kinase C-induced B-Raf phosphorylation[J]. *Biol Pharm Bull*, 2024, 47(9): 1565-1574.