

基于PPAR α -CYP7A1信号通路探讨金蕾胶囊对胆汁淤积性肝损伤大鼠胆汁酸代谢的影响

刘喜平^{1,2}, 唐静¹, 何树¹, 施丽娟¹, 刘雪枫¹, 景明¹, 李沛清^{1*}, 朱中博^{1*}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃省中药新产品创制工程实验室, 甘肃省中医方药挖掘与创新转化重点实验室, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃兰州 730000)

摘要: **目的** 探讨金蕾胶囊对胆汁淤积性肝损伤 (CLI) 大鼠胆汁酸代谢的影响。**方法** 42只SD大鼠随机分为正常组、模型组、熊去氧胆酸组 (60 mg/kg, 灌胃)、PPAR α 抑制剂组 (1 mg/kg, 腹腔注射) 和金蕾胶囊低、中、高剂量组 (150、300、600 mg/kg, 灌胃), 每组6只, 各组给予相应剂量药物, 连续7 d, 在第5天给药6 h后, 正常组大鼠灌胃给予橄榄油, 其余各组大鼠灌胃给予 α -萘基异硫氰酸酯 (80 mg/kg) 诱导CLI。给药结束后, 检测大鼠血清生化指标, HE染色观察肝组织病理形态变化; 采用液相色谱-质谱 (LC-MS) 靶向代谢组学技术进行胆汁酸代谢组学分析; RT-qPCR和Western blot法检测肝组织PPAR α 、CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1 mRNA和蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠的肝小叶明显损伤, 汇管区存在炎性细胞浸润、肝细胞水肿及胆管上皮增生, 并伴有明显的脂肪空泡形成; 血清 γ -GT、AST、ALP活性及TBA、TBIL、DBIL水平升高 ($P < 0.01$); 差异胆汁酸含量测定结果显示, 模型组大鼠血清中7-酮基石胆酸 (ketoLCA)、脱氧胆酸 (DCA)、甘氨石胆酸 (GLCA) 含量降低 ($P < 0.05$), 而甘氨酸脱氧胆酸 (GCDCA) 含量升高 ($P < 0.05$); 肝组织PPAR α 、CYP7A1、CYP27A1 mRNA和蛋白表达降低 ($P < 0.01$), CYP8B1 mRNA和蛋白表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 金蕾胶囊高剂量组大鼠肝组织病理损伤减轻; 血清 γ -GT、AST、ALP活性及TBA、TBIL、DBIL水平降低 ($P < 0.01$); 肝组织PPAR α 、CYP7A1、CYP27A1 mRNA和蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), CYP8B1 mRNA和蛋白表达降低 ($P < 0.01$); 在差异胆汁酸中, 金蕾胶囊高剂量干预可显著回调DCA、GLCA、牛磺脱氧胆酸含量 ($P < 0.05$), 降低7, 12-diketoLCA、7-ketoLCA含量 ($P < 0.05$)。**结论** 金蕾胶囊能显著改善CLI大鼠的肝损伤, 其机制可能与PPAR α -CYP7A1信号通路介导的调节胆汁酸代谢有关。

关键词: 金蕾胶囊; 胆汁淤积性肝损伤; PPAR α -CYP7A1信号通路; 胆汁酸代谢组学; LC-MS

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1317-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.036

胆汁淤积性肝损伤 (cholestatic liver injury, CLI) 是由胆汁生成、分泌或排泄障碍引起, 导致胆汁在肝内蓄积及胆管损伤, 伴随炎症反应, 可进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝功能衰竭^[1]。目前, 熊去氧胆酸是治疗CLI的一线药物, 但对约1/3患者疗效不佳或出现不良反应^[2]。奥贝胆酸作为替代药物, 因明显皮肤瘙痒的不良反应而应用受限^[3]。因此, 寻找靶向胆汁酸代谢替代途径的药物成为研究重点。基于传统中药的多靶点特性, 部分复方制剂在CLI治疗中展现出潜在优势^[4]。金蕾胶囊由湿生蒿蕾和金钱草组成, 有清热、祛湿、利胆之效^[5], 临床观察发现其对肝内胆汁淤积具有

明确疗效^[6]。实验研究进一步证实其具有利胆、抗炎、镇痛及肝保护作用, 尽管CLI发病机制尚未完全阐明^[7], 胆汁酸代谢异常通常被认为是其关键环节^[8]。

胆固醇7 α -羟化酶 (CYP7A1) 作为胆汁酸合成的限速酶, 调控胆汁酸的合成与排泄, 并在肝保护中起重要作用^[9-10]。过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 可通过调节CYP7A1影响胆汁酸代谢^[11], PPAR α -CYP7A1信号通路在维持胆汁酸稳态及减轻肝损伤中具有关键作用^[12]。然而, 金蕾胶囊是否经该通路发挥CLI保护作用尚不明确。因此, 本研究拟采用 α -萘基异硫氰酸酯 (ANIT)

收稿日期: 2025-11-27

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82460841); 甘肃省高等学校产业支撑计划项目 (2023CYZC-55); 国家岐黄工程第五批全国中医临床优秀人才研修项目 (国中医药人教函 [2022] 239号)

作者简介: 刘喜平 (1973—), 男, 博士, 二级教授, 从事中医方剂的临床应用及作用机理研究。E-mail: lxp257@163.com

* **通信作者:** 李沛清 (1964—), 女, 教授, 从事方剂的配伍优化及作用机理研究。E-mail: 2101512420@qq.com

朱中博 (1994—), 男, 博士, 副教授, 从事中医方剂的物质基础及作用机理研究。E-mail: 451755055@163.com

诱导建立 CLI 大鼠模型, 探讨金蕾胶囊是否通过 PPAR α -CYP7A1 信号通路调节胆汁酸代谢, 从而缓解肝损伤。

1 材料

1.1 动物 42 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 8 周龄, 体质量 200~220 g, 购自斯贝福(北京)生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK(京)2019-0010], 饲养于甘肃中医药大学科研中心 SPF 级屏障环境 [实验动物使用许可证号 SYXK(甘)2021-0004], 环境温度(23 \pm 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 45%~55%, 12 h/12 h 昼夜循环, 自由摄食、饮水, 经过 7 d 环境适应期后开始实验。实验过程严格遵循《甘肃省实验动物福利伦理审查指南》的相关规定执行, 获得甘肃中医药大学伦理委员会批准(伦理编号 2024-585)。

1.2 试剂 ANIT(纯度 \geq 98%, 美国 Macklin 公司, 批号 20240924); 天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、总胆汁酸(TBA)、 γ -谷氨酰基转移酶(γ -GT)、碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司, 批号 20241011、20240910、20240912、20240907、20240911、20240901); 胆汁酸检测试剂盒(深圳绘云生物科技有限公司, 批号 20250102); 核受体(PPAR α)、胆固醇 27-羟化酶 CYP27A1 抗体 [艾博抗(上海)贸易有限公司, 批号 AB314112、AB126785]; CYP8B1、CYP7A1 抗体(成都正能生物技术有限责任公司, 批号 370079、510615); Western blot 凝胶制备试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 批号 P1200-1/P1200-2); 增强型化学发光试剂(ECL)、PPAR α 抑制剂 GW6471(上海皓元生物医药科技有限公司, 批号 P10060、HY-15372); 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司, 批号 20536-1-AP); 蛋白浓度测定试剂盒(西安赫特生物科技有限公司, 货号 WB003)。

1.3 药物 金蕾胶囊(甘肃复兴厚生物医药科技有限公司, 批号 240201, 规格 0.3 g/粒, 每次 5 粒, 每天 2 次, 成人口服每天总剂量为 50 mg/kg)。金蕾胶囊内容物用纯水溶解, 装于无菌玻璃瓶中, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。熊去氧胆酸片(国药准字 H51021463, 四川迪菲特药业有限公司, 批号 420102, 规格 50 mg/片, 成人口服每天 8~10 mg/kg)。

1.4 仪器 ExionLC-AB 6500 Plus 型液相色谱-质谱联用仪(LC-MS, 上海爱博才思分析仪器贸易有

限公司); FLX800T 型全自动酶标仪(美国 Bio-Tek 公司); DYCZ-24DH 型垂直电泳槽(北京六一生物科技有限公司); GelView 6000 plus 型多功能凝胶成像仪(广州博鹭腾生物科技有限公司); 3-18R 型台式高速离心机(湖南可成仪器设备有限公司); CKK41 倒置显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。

2 方法

2.1 造模 参考文献[13]方法, 采用 ANIT 诱导建立 CLI 大鼠模型。模型表现出急性胆道梗阻症状, 包括 ALP、 γ -GT 活性和 TBA 水平升高及肝细胞内 AST、ALT 渗漏。此外, 胆汁酸在肝脏及血液中的异常升高引发胆汁淤积, 进而导致肝脏损伤^[14]。大鼠适应性喂养 7 d 后, 模型组大鼠灌胃给予 ANIT(60 mg/kg)后 48 h, 通过腹主动脉采集血样, 检测血清 ALP、 γ -GT 活性以评价模型是否构建成功。当 ALP、 γ -GT 活性分别超过正常值上限的 1.5、3 倍时, 则可判定模型构建成功^[15]。

2.2 分组与给药 大鼠适应性喂养 7 d 后, 随机分为正常组、模型组、熊去氧胆酸组(60 mg/kg, 灌胃)、PPAR α 抑制剂组(1 mg/kg, 腹腔注射)及金蕾胶囊低、中、高剂量组(150、300、600 mg/kg, 灌胃), 每组 6 只。根据人和大鼠体表面积换算的等效剂量比率^[16], 计算得出金蕾胶囊等效剂量为 300 mg/kg, 设为中剂量。各组给予相应剂量药物, 正常组、模型组及 PPAR α 抑制剂组灌胃或腹腔注射给予等量生理盐水^[17], 连续 7 d, 每天 1 次。第 5 天给药 6 h 后, 正常组灌胃 10 mL/kg 橄榄油, PPAR α 抑制剂组灌胃等量生理盐水并腹腔注射 1 mg/kg GW6471, 其余组单次给予 60 mg/kg ANIT, 并在 2 h 后对大鼠进行麻醉, 在胆总管上进行 V 形切口, 实施胆总管插管术^[18], 并在 90 min 内收集大鼠胆总管的胆汁, 称定质量, 并置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。

2.3 血清生化指标检测 在行胆总管插管术后, 经腹主动脉采血, 室温避光放置 2 h, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm), 取上清液, 根据相关试剂盒说明书进行操作, 检测 γ -GT、AST、ALP 活性及 TBA、TBIL、DBIL 水平。

2.4 HE 染色观察肝组织病理形态 在完成血清样本的采集后, 快速分离大鼠肝组织, 立即用 4% 多聚甲醛(pH 7.4)固定 24 h。固定完成后, 依次以 70%、80%、90%、100% 乙醇梯度脱水, 每级脱水 1 h, 并进行石蜡包埋, 制备成 5 μ m 的连续切片,

37 ℃下过夜烘干。依次用梯度乙醇和二甲苯中进行脱蜡和脱水，再进行苏木素-伊红(HE)染色，封片，晾干后置于显微镜下观察并拍照。

2.5 胆汁酸含量测定

2.5.1 样本处理 准确称量胆汁酸对照品，用甲醇配制质量浓度为1 000 μg/mL的储备液，再用30%甲醇溶液梯度稀释，制备0.5~500 ng/mL的系列标准工作液，于-20 ℃保存。取各组胆汁样品，精确加入600 μL甲醇(-20 ℃)，漩涡振荡60 s，4 ℃、12 000 r/min离心10 min。取400 μL上清液，使用真空浓缩仪将其浓缩至干燥状，加入100 μL 30%甲醇复溶，0.22 μm微孔滤膜过滤，待测。取适量上清液，用30%甲醇稀释50倍，待测。计算胆汁酸含量，公式为胆汁酸含量 = $C \times (0.6 + V/1\ 000) / 4/V$ ；稀释50倍含量胆汁酸含量 = $C \times (0.6 + V/1\ 000) / 4 \times 50/V$ ，其中，*C*为样品质量浓度，*V*为进样量。

2.5.2 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈反相色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)；流动相0.01%甲酸(A)-乙腈(B)，梯度洗脱(0~4 min, 25% B；4~9 min, 25%~30% B；9~14 min, 30%~36% B；14~18 min, 36%~38% B；18~24 min, 38%~50% B；24~32 min, 50%~75% B；32~33 min, 75%~90% B；33~35.5 min, 90%~25% B)；体积流量0.3 mL/min；柱温40 ℃；进样量5 μL。

2.5.3 质谱条件 电喷雾电离(ESI)；负离子扫描；离子源温度500 ℃；喷雾电压-4 500 V，碰撞气压力6 psi(1 psi=6.895 kPa)；气帘气压力30 psi；雾化气、辅助气压力50 psi；多反应监测模式(MRM)。

2.5.4 数据处理 以对照品峰面积为纵坐标，质量浓度为横坐标进行回归，从而揭示在不同浓度条件下对照品代谢物与其峰面积之间的关系。根据已知样品中相应代谢物的峰面积计算其浓度。在浓度计算过程中，若样品物质的浓度结果≤0，则标记为未检测(ND)。对于样本中缺失数据超过50%的代谢物采取删除处理。本研究采用R语言环境中的Ropls统计包对实验数据进行多维模式识别分析，首先通过主成分分析(PCA)考察样本间的自然分布特征，随后运用偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)建立预测模型并筛选组间差异变量，最后采用正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)消除与分类无关的变异干扰，提高模型解释能力。

组间两两比较采用*t*检验或Mann-Whitney-Wilcoxon检验，多组间比较采用单因素方差分析或Kruskal-Wallis检验。当*P*<0.05且VIP值>1时，表示该代谢物差异具有统计学意义。

2.6 RT-qPCR法检测肝组织PPARα-CYP7A1信号通路相关mRNA表达 取肝组织，在液氮中研磨后，加入1 mL TRIzol试剂，依据试剂盒说明书提取总RNA。核酸浓度测定合格后，进行反转录合成cDNA。扩增反应条件为95 ℃预变性5 min；95 ℃ 15 s，55 ℃ 30 s，72 ℃延伸20 s，44个循环。实验重复3次，以β-actin为内参，采用2^{-ΔΔCT}法计算目的基因的相对表达量。引物由兰州柏非生物科技有限公司合成，序列见表1。

表1 引物序列

基因	序列(5'→3')	长度/bp
PPARα	正向 CTTCACGATGCTGTCTCTCT	128
	反向 GATGTCGCAGAAATGGCTTCC	
CYP7A1	正向 TTTGGGGAATTGCCGTGTTG	82
	反向 ACGGAATCAACCCGTTCTCC	
CYP8B1	正向 GTTGCTCTGCCTCTCCTT	186
	反向 TCTGCGTCTCTTAATGATGG	
CYP27A1	正向 AGCATGGAGCAGTGAAGG	102
	反向 GCAAGTGCTAGAGAAGATGTC	
β-actin	正向 CACCCGGAGTACAACCTTC	42
	反向 CCCATACCCACCATCACACC	

2.7 Western blot法检测肝组织PPARα-CYP7A1信号通路相关蛋白表达 取各组大鼠肝组织0.2 g，加入1 mL预冷的RIPA裂解缓冲液(含1%蛋白酶抑制剂PMSF)，研磨破碎后离心，取上清液，BCA法测定蛋白浓度，按目标蛋白分子量配制相应浓度的SDS-PAGE分离胶和浓缩胶。随后进行样品上样、电泳并转至PVDF膜上，使用20%快速封闭液进行处理，TBST缓冲液洗涤3次。加入PPARα、CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1一抗(1:1 000)和β-actin内参抗体(1:5 000)，4 ℃孵育过夜。TBST洗涤后，加入HRP标记山羊抗兔二抗(1:5 000)，室温孵育1 h，TBST洗涤后采用ECL法显影，采用Image J 1.8.0软件分析蛋白条带灰度值。

2.8 统计学分析 通过SPSS 25.0和GraphPad Prism 10软件进行处理，符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示，多组间比较采用单因素方差分析，方差齐时组间两两比较采用LSD检验，方差不齐时采用Dunnett's T3检验。*P*<0.05表示差异

具有统计学意义。

3 结果

3.1 金蕾胶囊对 CLI 大鼠血清 γ -GT、AST、ALP 活性及 TBA、TBIL、DBIL 水平的影响 由表 2 可知,与正常组比较,模型组大鼠血清 γ -GT、AST、

ALP 活性及 TBA、TBIL、DBIL 水平均升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,金蕾胶囊各剂量组及熊去氧胆酸组大鼠血清 γ -GT、AST、ALP 活性及 TBA、TBIL、DBIL 水平降低 ($P < 0.01$)。

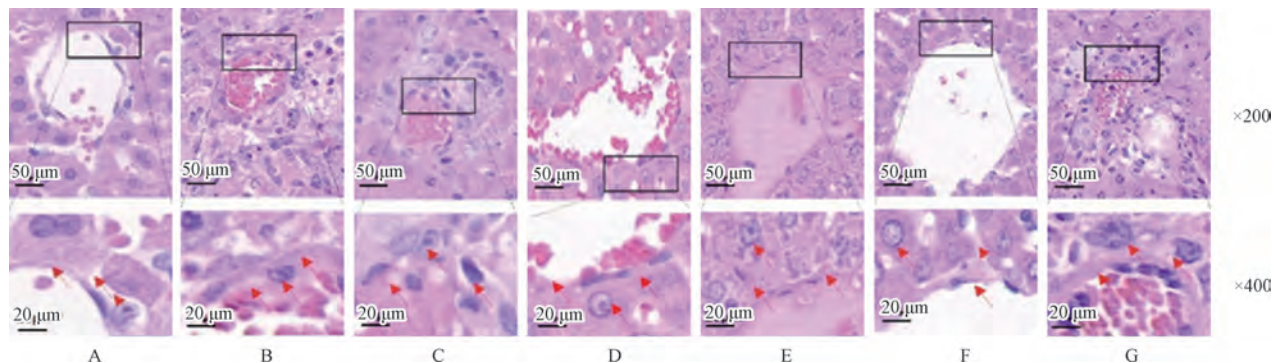
表 2 金蕾胶囊对 CLI 大鼠血清 γ -GT、AST、ALP 活性及 TBA、TBIL、DBIL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TBIL/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	DBIL/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	ALP/ $(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	TBA/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	γ -GT/ $(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	AST/ $(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$
正常组	2.1 \pm 0.3	0.9 \pm 0.2	120.0 \pm 18.0	3.5 \pm 0.6	5.2 \pm 0.8	85.0 \pm 12.0
模型组	38.7 \pm 4.9**	25.6 \pm 3.2**	580.0 \pm 72.0**	68.4 \pm 8.3**	48.6 \pm 6.1**	342.0 \pm 45.0**
金蕾胶囊低剂量组	30.2 \pm 3.8##	19.8 \pm 2.4##	450.0 \pm 55.0##	52.7 \pm 6.5##	36.2 \pm 4.8##	285.0 \pm 38.0##
金蕾胶囊中剂量组	24.6 \pm 3.1##	15.4 \pm 1.9##	380.0 \pm 47.0##	41.3 \pm 5.1##	28.7 \pm 3.6##	235.0 \pm 31.0##
金蕾胶囊高剂量组	15.3 \pm 1.9##	9.7 \pm 1.2##	290.0 \pm 36.0##	26.8 \pm 3.3##	18.9 \pm 2.7##	175.0 \pm 22.0##
熊去氧胆酸组	18.5 \pm 2.3##	12.3 \pm 1.6##	320.0 \pm 40.0##	32.1 \pm 4.2##	22.4 \pm 3.5##	198.0 \pm 26.0##
PPAR α 抑制剂组	36.2 \pm 4.6	23.8 \pm 3.0	550.0 \pm 68.0	64.8 \pm 7.9	45.3 \pm 5.9	328.0 \pm 43.0

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$ 。

3.2 金蕾胶囊对 CLI 大鼠肝组织病理形态的影响 由图 1 可知,正常组大鼠肝细胞索结构规整,中央静脉周围肝细胞形态正常,肝窦间隙清晰可见,未见炎性细胞浸润或病理改变;模型组及 PPAR α 抑制剂组大鼠肝小叶结构受损,汇管区出

现炎性细胞浸润,肝细胞出现水肿,同时伴随着胆管上皮增生,且形成明显的脂肪空泡;金蕾胶囊各剂量组大鼠肝组织炎性细胞浸润、肝细胞水肿及胆管上皮增生情况均显著改善,金蕾胶囊高剂量组在减轻胆管增生方面效果最好。



注:A为正常组,B为模型组,C~E分别为金蕾胶囊低、中、高剂量组,F为熊去氧胆酸组,G为PPAR α 抑制剂组。

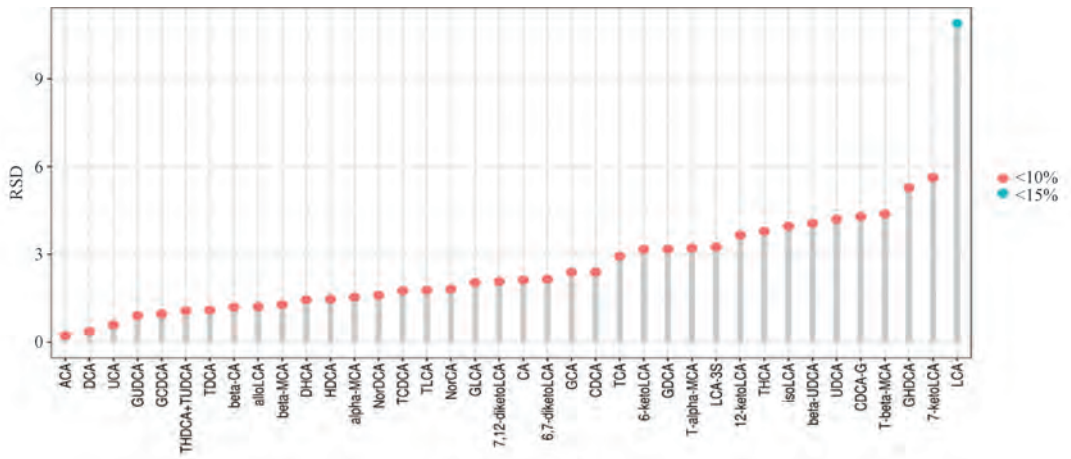
图 1 金蕾胶囊对 CLI 大鼠肝组织病理形态的影响 (HE 染色)

3.3 金蕾胶囊对 CLI 大鼠胆汁酸代谢组学的影响

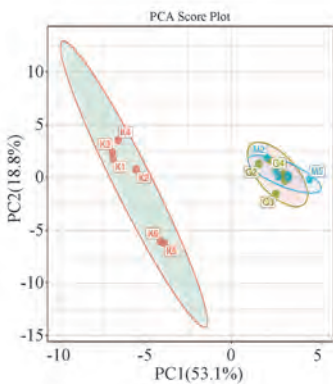
3.3.1 胆汁酸代谢组学轮廓分析 通过 LC-MS 技术对正常组、模型组及金蕾胶囊高剂量组大鼠胆汁中的胆汁酸进行分析。质控 (QC) 样本分析结果表明,所有潜在特征峰的相对标准偏差 (RSD) 均在 15% 以内,表明分析方法具有良好的稳定性和重复性,见图 2A。主成分分析 (PCA) 采用线性变换方法,将原始代谢物数据通过正交转换重构为一组新的不相关变量 (主成分),从而将高维相关变量映射至低维不相关的主成分,结果显示,各组样本间具有良好的一致性,尤其是对照组与模型组、模型组与金蕾胶囊高剂量组之间存在明显分离,见图 2B~2C。基于 PLS-DA 和 OPLS-DA 的降维分析证实,对照组、模型组及金蕾胶囊高剂量组

在 PLS-DA 和 OPLS-DA 得分图上表现出明显的空间分离,见图 2D~2H。通过置换检验评估模型的过拟合情况,结果如图 2I~2J 所示,对照组与模型组的 R^2Y 为 0.968、 Q^2Y 为 0.918;模型组与金蕾高剂量组的 R^2Y 为 0.815、 Q^2Y 为 0.605,均大于 0.5。表明所构建的模型具有较强的解释力和预测能力,并未出现过拟合现象,各组间的代谢差异具有统计学意义。

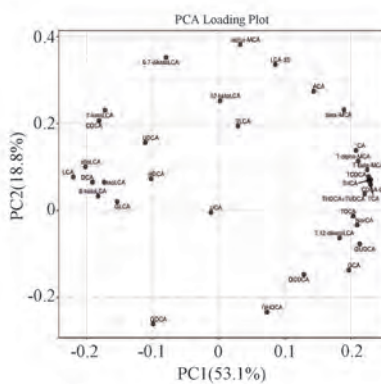
3.3.2 胆汁酸差异代谢物筛选及分析 根据 VIP 值 > 1 及 $P < 0.05$ 的标准,筛选具有显著差异的胆汁酸。结果表明,模型组与正常组比较,具有 18 种差异胆汁酸,包括 4 种初级胆汁酸和 14 种次级胆汁酸;金蕾胶囊高剂量组与模型组比较,具有 10 种差异胆汁酸,包括 2 种初级胆汁酸和 8 种次



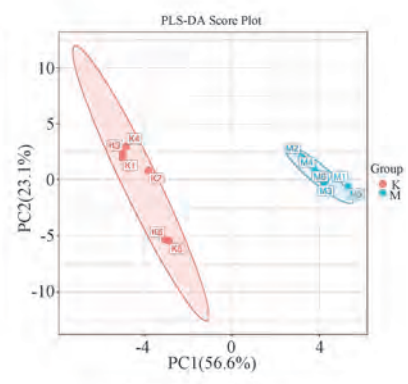
A. 胆汁酸质量控制图



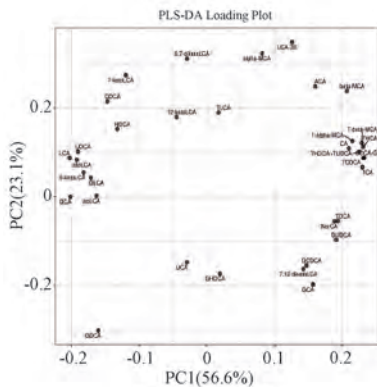
B. PCA得分图



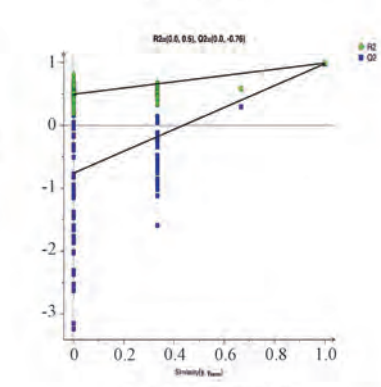
C. PCA载荷图



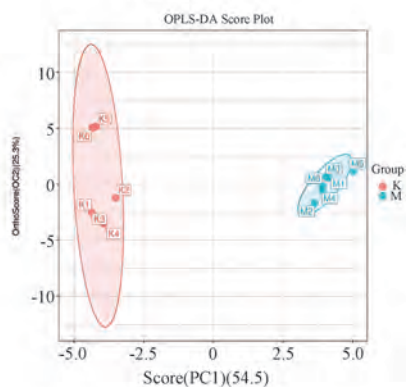
D. PLS-DA得分图



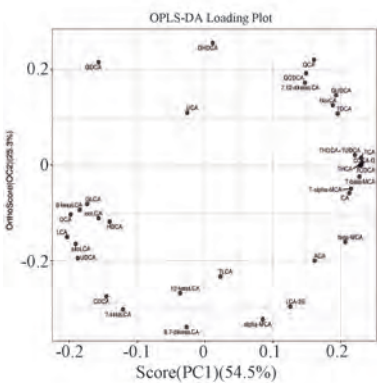
E. PLS-DA 载荷图



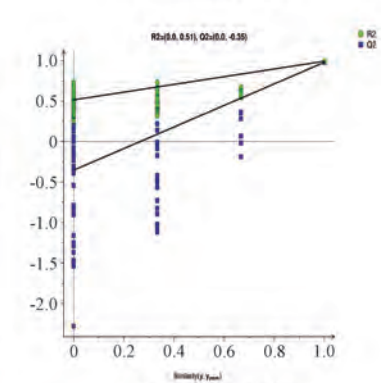
F. PLS-DA置换检验图



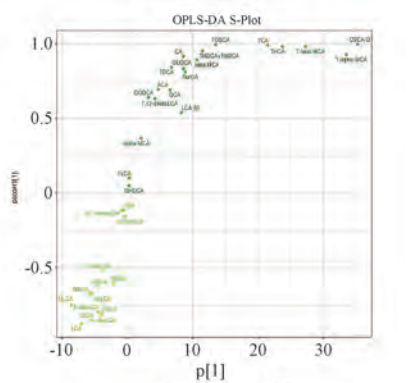
G. OPLS-DA得分图



H. OPLS-DA载荷图



I. OPLS-DA置换检验图



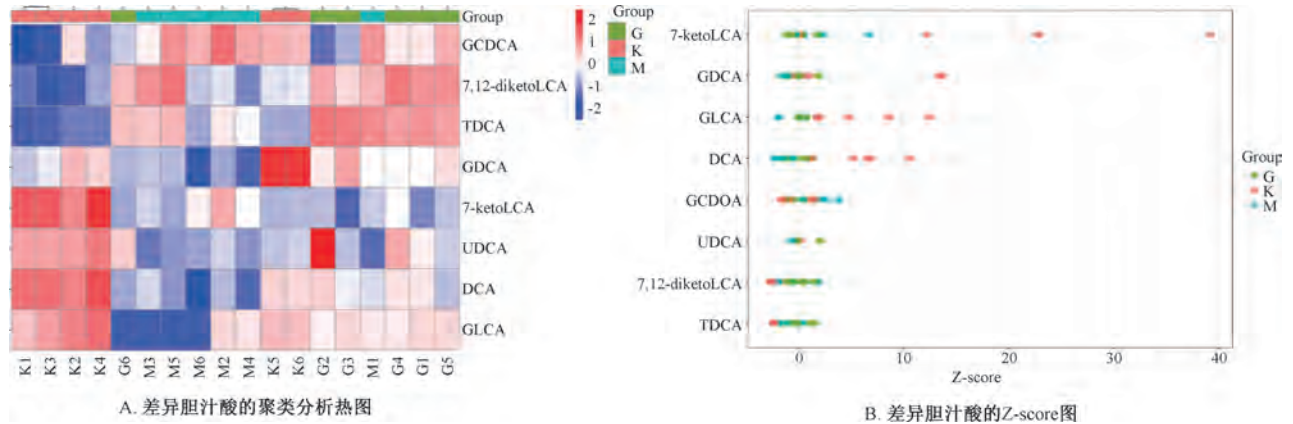
J. OPLS-DA S-plot

注：K为正常组，M为模型组，G为金蕾胶囊高剂量组。

图2 胆汁酸代谢组学的多元统计分析

级胆汁酸。通过聚类分析对3组差异胆汁酸的分布模式进行研究,结果发现各组之间差异显著,且组内聚类表现良好,见图3A。Z-score结果显示,在同一水平下,模型组的不同差异胆汁酸含量最低,见图3B。差异胆汁酸含量测定结果(表3)显示,与正常组比较,模型组大鼠血清中7-酮基石胆酸(7-ketoLCA)、脱氧胆酸(DCA)、甘氨脱氧胆酸(GDCA)、甘氨石胆酸(GLCA)及熊去氧胆酸

(UCDA)含量降低($P<0.05$, $P<0.01$);而7,12-二酮石胆酸(7,12-diketoLCA)、甘氨鹅脱氧胆酸(GCDCA)及牛磺脱氧胆酸(TDCA)含量升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,金蕾胶囊高剂量组DCA及GDCA含量升高($P<0.05$),GCDCA含量降低($P<0.01$);而TDCA含量升高更显著($P<0.05$),7-ketoLCA含量降低更显著($P<0.05$)。



注: K 为正常组, M 为模型组, G 为金蕾胶囊高剂量组。

图3 差异胆汁酸分析

表3 差异胆汁酸含量测定结果 ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	7,12-diketoLCA	7-ketoLCA	DCA	GCDCA
正常组	0.002 0±0.001 0	0.020 0±0.010 0	0.240 0±0.110 0	0.040 0±0.030 0
模型组	0.010 0±0.005 0**	0.003 0±0.002 0*	0.050 0±0.030 0**	0.090 0±0.030 0*
高剂量组	0.009 0±0.003 0	0.001 0±0.000 8#	0.090 0±0.030 0#	0.050 0±0.020 0##
组别	GDCA	GLCA	TDCA	UDCA
正常组	0.080 0±0.090 0	0.003 0±0.002 0	0.040 0±0.020 0	0.040 0±0.020 0
模型组	0.008 0±0.006 0*	0.000 5±0.000 5*	0.410 0±0.320 0*	0.010 0±0.004 0*
高剂量组	0.020 0±0.010 0#	0.000 8±0.000 3	0.880 0±0.350 0#	0.050 0±0.070 0

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.4 金蕾胶囊对 CLI 大鼠肝组织 PPAR α 通路相关 mRNA 表达的影响 由表4可知,与正常组比较,模型组大鼠肝组织 PPAR α 、CYP7A1、CYP27A1 mRNA 表达降低($P<0.01$),CYP8B1 mRNA 表达

升高($P<0.01$);与模型组比较,金蕾胶囊各剂量组和熊去氧胆酸组大鼠肝组织 PPAR α 、CYP7A1、CYP27A1 mRNA 表达升高($P<0.01$),CYP8B1 mRNA 表达降低($P<0.01$)。

表4 金蕾胶囊对 CLI 大鼠肝组织 PPAR α 、CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

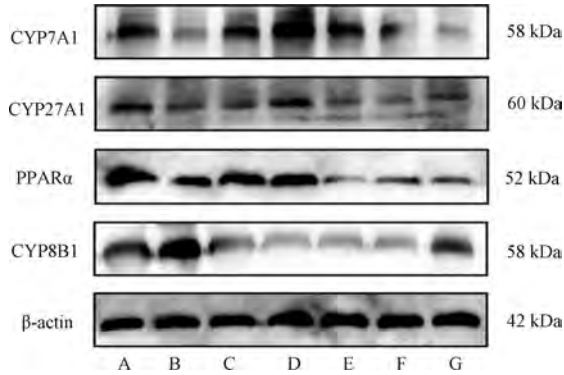
组别	PPAR α	CYP7A1	CYP27A1	CYP8B1
正常组	1.00±0.03	1.00±0.02	1.00±0.03	1.00±0.02
模型组	0.62±0.04**	0.61±0.04**	0.59±0.04**	1.52±0.04**
金蕾胶囊低剂量组	0.91±0.04##	0.89±0.04##	0.88±0.04##	1.04±0.04##
金蕾胶囊中剂量组	1.23±0.05##	1.21±0.05##	1.19±0.05##	1.03±0.04##
金蕾胶囊高剂量组	1.75±0.07##	1.82±0.07##	1.78±0.07##	0.74±0.03##
熊去氧胆酸组	1.82±0.07##	2.05±0.08##	2.03±0.08##	0.84±0.03##
PPAR α 抑制剂组	0.58±0.03	0.52±0.03	0.51±0.03	1.48±0.04

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

3.5 金蕾胶囊对 CLI 大鼠肝组织 PPAR α 通路相关蛋白表达的影响 由图4、表5可知,与正常组比

较,模型组大鼠肝组织 PPAR α 、CYP7A1、CYP27A1 蛋白表达降低($P<0.01$),CYP8B1 蛋白

表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，金蕾胶囊各剂量组和熊去氧胆酸组大鼠肝组织 PPAR α 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，CYP8B1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)，金蕾胶囊高剂量组和熊去氧胆酸组大鼠肝组织 CYP7A1、CYP27A1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为熊去氧胆酸组，D~F 分别为金蕾胶囊高、中、低剂量组，G 为 PPAR α 抑制剂组。

图4 各组大鼠肝组织 PPAR α 、CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1 蛋白条带图

表5 金蕾胶囊对 CLI 大鼠肝组织 PPAR α 、CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	PPAR α	CYP7A1	CYP27A1	CYP8B1
正常组	1.21 \pm 0.05	1.04 \pm 0.05	1.11 \pm 0.01	1.01 \pm 0.02
模型组	0.91 \pm 0.01**	0.81 \pm 0.00**	0.81 \pm 0.01**	1.45 \pm 0.06**
金蕾胶囊低剂量组	0.85 \pm 0.02#	0.82 \pm 0.01	0.81 \pm 0.11	0.88 \pm 0.11###
金蕾胶囊中剂量组	0.84 \pm 0.01###	0.83 \pm 0.04	0.82 \pm 0.03	0.87 \pm 0.11###
金蕾胶囊高剂量组	1.12 \pm 0.02##	1.06 \pm 0.05#	1.07 \pm 0.04##	0.81 \pm 0.02###
熊去氧胆酸组	1.06 \pm 0.01###	1.05 \pm 0.07#	1.04 \pm 0.05#	0.82 \pm 0.03###
PPAR α 抑制剂组	0.82 \pm 0.01	0.73 \pm 0.01	0.73 \pm 0.01	0.97 \pm 0.14

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，### $P < 0.01$ 。

柰酚)、多糖^[24]，具有促进胆汁分泌、抗炎、抗氧化作用，表明其具有多组分、多靶点调节胆汁酸代谢的作用^[25]。现有证据表明，PPAR α -CYP7A1 信号通路具有维持胆汁酸稳态和减轻肝脏损伤的双重关键作用。一方面，PPAR α 激活后可上调 CYP7A1 表达，促进经典胆汁酸合成途径，同时调控 CYP27A1 和 CYP8B1 表达^[26]，分别影响替代合成途径及胆汁酸组成比例，从而减少疏水性胆汁酸的积累，减轻内质网应激与线粒体功能障碍^[27]；该通路还能抑制炎症因子释放及肝星状细胞活化，协同改善胆汁淤积和肝纤维化，最终发挥肝保护作用。另一方面，该通路通过抑制核受体 FXR/SHP 负反馈环路，维持 CYP7A1 活性，避免过度抑制胆汁酸合成^[28]；PPAR α 还可减少炎症介质（如 NF- κ B、TNF- α ）的表达，抑制氧化应激和肝细胞凋

4 讨论

CLI 以肝内胆汁酸异常蓄积为主要特征，可导致肝细胞损伤和炎症反应，临床常表现为 γ -GT、AST、ALP、TBA、TBIL、DBIL 等水平升高^[19]。本研究采用 ANIT 诱导建立 CLI 大鼠模型^[20-21]，结果模型组大鼠出现典型肝组织结构紊乱、炎性细胞浸润及肝功能指标升高，提示模型构建成功。

胆汁酸代谢紊乱是 CLI 发生发展的核心环节^[22]。本研究通过 LC-MS 代谢组学分析发现，模型组大鼠胆汁中多种次级胆汁酸（如 DCA、GCDCA、TDCA 等）含量升高，提示毒性胆汁酸积累与肝损伤密切相关；金蕾胶囊干预后，初级胆汁酸及多种次级胆汁酸（如 7, 12-diketoLCA、DCA、GDCA 等）含量降低，胆汁酸组成趋向正常化，同时肝功能指标和肝组织病理损伤有所改善。金蕾胶囊由湿生篇蓄和金钱草组成，既往临床研究表明其具有利胆退黄、清热解毒功效^[23]。现代药理学研究证实，湿生篇蓄富含的吡啶类成分（如芒果苷、当药醇苷）及金钱草中的黄酮类（如槲皮素、山

亡，从而协同改善肝内胆汁淤积，缓解肝纤维化及损伤进程^[29]。本实验结果显示，金蕾胶囊可上调 PPAR α 、CYP7A1、CYP27A1 mRNA 和蛋白表达，抑制 CYP8B1 表达，表明其通过激活 PPAR α 信号，协同调控经典与替代胆汁酸合成途径，促进疏水性胆汁酸转化与排泄，减少其在肝内蓄积。

本研究明确了金蕾胶囊通过 PPAR α 信号通路调控关键酶表达及胆汁酸代谢的作用，但仍存在一定局限性。首先，中药复方成分复杂，本研究虽发现其整体调控效应，但尚未解析具体哪些活性成分起主导作用及是否存在协同机制；其次，PPAR α 信号通路虽被证实为核心机制，但不能排除其他信号途径的参与。未来研究可结合药物化学分析与分子互作实验，深入解析金蕾胶囊中主要活性成分及其对 PPAR α 信号通路的直接作用靶点；同时，可

整合宏基因组与代谢组学技术,系统考察该复方对肠道菌群-胆汁酸代谢轴的影响,从而更全面阐释其“多成分-多通路-多系统”整合调控机制。

参考文献:

[1] Hirschfield G M, Shiffman M L, Gulamhusein A, et al. Seladelpar efficacy and safety at 3 months in patients with primary biliary cholangitis: ENHANCE, a phase 3, randomized, placebo-controlled study[J]. *Hepatology*, 2023, 78(2): 397-415.

[2] Fang S, Wang T M, Li Y Y, et al. *Gardenia jasminoides* Ellis polysaccharide ameliorates cholestatic liver injury by alleviating gut microbiota dysbiosis and inhibiting the TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 205: 23-36.

[3] De V A, Amato D D, Cristoferi L, et al. Predictors of serious adverse events and nonresponse in cirrhotic patients with primary biliary cholangitis treated with obeticholic acid[J]. *Liver Int*, 2022, 42(11): 2453-2465.

[4] 喻凯凯, 谭爱华, 周 涛. 中医药治疗肝内胆汁淤积症的临床对策及研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2026, 22(1): 238-243.

[5] 曲 馨, 刘越敏, 寇 亮, 等. 金蕾复方研究进展[J]. *中兽医医药杂志*, 2021, 40(6): 43-45.

[6] 王 彤, 张 平, 朱豆豆, 等. 姚成礼教授金钱草治疗胆石症经验[J]. *光明中医*, 2023, 38(3): 450-452.

[7] Fuchs C D, Trauner M. Role of bile acids and their receptors in gastrointestinal and hepatic pathophysiology[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(7): 432-450.

[8] Engin A. Bile acid toxicity and protein kinases[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1275: 229-258.

[9] Zhou C R, Pan X M, Huang L, et al. Fibroblast growth factor 21 ameliorates cholestatic liver injury via a hepatic FGFR4-JNK pathway[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(1): 166870.

[10] Wang J, Zhong M Y, Liu Y X, et al. Branched-chain amino acids promote hepatic Cyp7a1 expression and bile acid synthesis via suppressing FGF21-ERK pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 46(3): 662-671.

[11] Hu W, Zhu J Y, Zhang Q, et al. Cholesterol-27 α -hydroxylase inhibitor nilvadipine can effectively treat cholestatic liver injury in adult offspring induced by prenatal dexamethasone exposure[J]. *Med Comm*, 2025, 6(3): e70110.

[12] Kouno T, Liu X, Kisseleva T, et al. The selective PPAR- δ agonist seladelpar suppresses bile acid synthesis by reducing hepatocyte CYP7A1 through the FGF21 pathway[J]. *J Hepatol*, 2022, 77(S1): S86.

[13] 刘云帆, 李颢玥, 张梦杰, 等. 四逆散对胆汁淤积性肝损伤大鼠胆汁酸转运蛋白的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(5): 657-665.

[14] 吴和霏, 章方玲, 邓昕雨, 等. 芍药苷通过调控肠道菌群改

善 α -异硫氰酸酯诱导胆汁淤积大鼠的作用机制研究[J]. *中草药*, 2022, 53(22): 7091-7101.

[15] 中华医学会肝病学会, 中华医学会消化病学分会, 中华医学会感染病学分会. 胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识(2015) [J]. *中华肝脏病杂志*, 2015, 23(12): 924-933.

[16] Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited[J]. *FASEB J*, 2008, 22(3): 659-661.

[17] Feng S L, Zhang J, Jin H L, et al. A network pharmacology study of the molecular mechanisms of hypericum japonicum in the treatment of cholestatic hepatitis with validation in an alpha-naphthylisothiocyanate (ANIT) hepatotoxicity rat model[J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27: e928402.

[18] 邓昕雨, 吴和霏, 李煜兵, 等. 基于胆汁酸代谢组学探讨芍药苷改善 α -萘异硫氰酸酯诱导胆汁淤积的作用机制[J]. *中草药*, 2024, 55(1): 148-158.

[19] 唐银佩, 朱正望, 马瑞雪, 等. 茵陈蒿汤干预胆汁淤积性肝损伤作用机制研究进展[J]. *中成药*, 2025, 47(9): 2994-2999.

[20] 郭雨欣, 陆忠华. 123例药物性肝损伤患者临床及病理特征的回溯性分析[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2025, 34(9): 1334-1339; 1347.

[21] 金浩源, 王德强, 李浩天, 等. 木犀草素调节炎症因子对胆汁淤积性肝病的干预机制[J]. *内蒙古医学杂志*, 2025, 57(8): 938-943; 1025.

[22] Fickert P, Wagner M. Biliary bile acids in hepatobiliary injury—What is the link? [J]. *J Hepatol*, 2017, 67(3): 619-631.

[23] 李 玥. 湿生扁蕾的利胆有效成分研究[J]. *西北药学杂志*, 2013, 28(4): 346-349.

[24] 肖广远, 张静喆. 金钱草在肝胆疾病中应用[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2013, 15(5): 73-75.

[25] 张旭东, 柳 娜, 芦彦兆, 等. 基于药效学和化学方法的金蕾复方醇提工艺优选[J]. *中国中医药信息杂志*, 2019, 26(5): 73-77.

[26] Zhang C L, Yang H Y, Yi J L, et al. *Fragaria orientalis* attenuates hepatic fibrosis through modulation of FXR/CYP7A1, ERK/p38 MAPK, and TLR4/MyD88/NF- κ B signaling in rats[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2025, 29(5): 73-80.

[27] Zhang L Z, Jiang X Y, Shi J W, et al. Isoastragaloside I attenuates cholestatic liver diseases by ameliorating liver injury, regulating bile acid metabolism and restoring intestinal barrier[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 33(5): 118649.

[28] Du Y Z, Su J, Yan M Q, et al. Polymethoxy flavones in citrus extract has a beneficial effect on hypercholesterolemia rats by promoting liver cholesterol metabolism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 32(2): 117644.

[29] 朱正望, 杨 洋, 赵静涵, 等. 茵陈蒿汤通过 FXR 抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路改善胆汁淤积性肝损伤的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(1): 47-54.