

[药 理]

基于肠-肝轴探讨荣木复肝方对胆汁淤积小鼠的改善作用

徐华明<sup>1,2</sup>, 杨 柳<sup>2</sup>, 王培育<sup>3</sup>, 闫五玲<sup>4</sup>, 郑思嘉<sup>2</sup>, 杨 念<sup>2</sup>, 吕晨晓<sup>2</sup>, 朱平生<sup>5</sup>,  
刘延鑫<sup>1\*</sup>

(1. 河南中医药大学医学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南中医药大学中医药科学院, 河南 郑州 450046;  
3. 河南中医药大学针灸推拿学院, 河南 郑州 450008; 4. 河南中医药大学第三附属医院病理科, 河南  
郑州 450008; 5. 河南中医药大学中医学院, 河南 郑州 450046)

**摘要:** 目的 探讨荣木复肝方改善肝内胆汁淤积 (IC) 小鼠肠、肝损伤的作用。方法 将 60 只雄性 KM 小鼠随机分为空白组 (0.1 mL/kg 生理盐水)、模型组 [0.1 g/kg  $\alpha$ -萘异硫氰酸酯 (ANIT)]、奥贝胆酸 (10 mg/kg 奥贝胆酸) 组及荣木复肝方低、中、高剂量组 (2.8、5.6、11.2 g/kg 荣木复肝方)。除空白组外, 其余各组小鼠于第 1 天口服 ANIT 进行造模, 连续 7 d 灌胃相应药物, 收集血清、肝脏和回肠。生化法检测血清肝功能 (ALT、AST、ALP、TBA、TBIL、DBIL)、脂质 (TC、TG、LDL-C、HDL-C) 水平, HE 染色和 AB-PAS 染色观察肝和肠组织病理, 免疫组化和 Western blot 法检测回肠和肝组织关键靶蛋白法尼醇 X 受体 (FXR) 表达, 免疫组化法检测肝组织细胞角蛋白 19 (CK19) 和肠组织闭锁蛋白 (Occludin) 表达以观察胆管增生反应和肠屏障功能, RT-qPCR 法检测胆汁酸转运体表达。结果 与空白组比较, 模型组小鼠血清 ALT、AST、ALP、TBA、TBIL、DBIL、TC、TG、LDL-C 水平升高 ( $P < 0.01$ ), HDL-C 水平降低 ( $P < 0.01$ ); 胆管细胞增生, 回肠和肝组织病理损伤; 回肠组织杯状细胞数和 Occludin 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ); 肝组织 CK19 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ); 肝和回肠组织 FXR 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ ); 胆脂酸合成酶表达升高 ( $P < 0.01$ ), 转运蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 荣木复肝方可降低小鼠血清 ALT、AST、ALP、TBA、TBIL、DBIL、TC、TG、LDL-C 水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 升高 HDL-C 水平 ( $P < 0.01$ ); 减轻回肠和肝组织病理损伤; 升高回肠组织杯状细胞数和 Occludin 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 降低肝组织 CK19 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 升高肝和回肠组织 FXR 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 降低胆脂酸合成酶表达 ( $P < 0.01$ ), 升高转运蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论 荣木复肝方对 IC 小鼠肠、肝损伤具有改善作用, 其调控机制可能与核受体 FXR 相关。

**关键词:** 荣木复肝方; 胆汁淤积; 肠-肝轴; 法尼醇 X 受体 (FXR); 胆汁酸代谢

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1478-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.008

Improvement effects of Rongmu Fugan Formula on bile stasis in mice based on gut-liver axis

XU Hua-ming<sup>1,2</sup>, YANG Liu<sup>2</sup>, WANG Pei-yu<sup>3</sup>, YAN Wu-ling<sup>4</sup>, ZHENG Si-jia<sup>2</sup>, YANG Nian<sup>2</sup>,  
LÜ Chen-xiao<sup>2</sup>, ZHU Ping-sheng<sup>5</sup>, LIU Yan-xin<sup>1\*</sup>

(1. School of Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 3. School of Acupuncture and Tuina, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 4. Department of Pathology, The Third Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 5. School of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To explore the effects of Rongmu Fugan Formula on improving intestinal liver injury in mice with intrahepatic cholestasis (IC). **METHODS** Sixty male KM mice were randomly divided into blank group (0.1 mL/kg normal saline), model group [0.1 g/kg  $\alpha$ -naphthyl isothiocyanate (ANIT)], oberoic acid

收稿日期: 2025-04-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82074340); 河南省中医药科学研究专项重点项目 (2024ZY1030)

作者简介: 徐华明 (1977—), 男, 博士, 副教授, 从事中西医结合治疗消化疾病的临床、基础研究。E-mail: sirxu@foxmail.com

\* 通信作者: 刘延鑫 (1979—), 男, 博士, 副教授, 从事中西医结合治疗消化疾病的临床、基础研究。E-mail: liuyanxin@126.com

(10 mg/kg oberoic acid) and Rongmu Fugan Formula low, medium and high dose groups (2.8, 5.6 and 11.2 g/kg Rongmu Fugan Formula). Except for the blank group, the other groups of mice were given ANIT on the first day, and then the corresponding drugs were gavaged for 7 days, and the serum, liver and ileum were collected. Levels of serum liver function (ALT, AST, ALP, TBA, TBIL, DBIL) and lipid (TC, TG, LDL-C, HDL-C) were detected by biochemical method. HE staining and AB-PAS staining were used to observe the histopathology of liver and intestine. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression of key target protein farnesol X receptor (FXR) in ileal and liver tissues. Immunohistochemmistry was used to detect the expressions of cytokeratin 19 (CK19) in liver tissue and Occludin in intestinal tissue, so as to observe the bile duct hyperplasia and intestinal barrier function. RT-qPCR was used to detect the expressions of bile acid transporters. **RESULTS** Compared with the blank group, the levels of serum ALT, AST, ALP, TBA, TBIL, DBIL, TC, TG and LDL-C in the model group increased ( $P < 0.01$ ), while the HDL-C level decreased ( $P < 0.01$ ). Bile duct cell proliferation and pathological damage in ileal and liver tissues were observed. The number of goblet cells and the expression of Occludin protein in ileal tissues decreased ( $P < 0.01$ ). The expression of CK19 protein in liver tissue increased ( $P < 0.01$ ). The expressions of FXR protein in liver and ileal tissues decreased ( $P < 0.01$ ). The expressions of bile acid synthesis increased ( $P < 0.01$ ) and the expressions of transporters decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, Rongmu Fugan Formula decreased the levels of serum ALT, AST, ALP, TBA, TBIL, DBIL, TC, TG and LDL-C ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and increased the HDL-C level ( $P < 0.01$ ). It also alleviated pathological damage in ileal and liver tissues; increased the number of goblet cells and the expression of Occludin protein in ileal tissue ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); decreased the expression of CK19 protein in liver tissue ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); increased the expression of FXR protein in liver and ileal tissues ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). It decreased the expressions of bile acid synthesis ( $P < 0.01$ ) and increased the expressions of transporters ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** Rongmu Fugan Formula exerts a protective effect against intestinal and liver injury in IC mice, and its regulatory mechanism may be associated with the nuclear receptor FXR.

**KEY WORDS:** Rongmu Fugan Formula; cholestasis; gut-liver axis; farnesoid X receptor (FXR); bile acid metabolism

胆汁淤积是病毒性肝炎、酒精性肝病、胆囊炎、胰腺炎等多种疾病的共同病理进程<sup>[1]</sup>, 临床病程从轻度到重度不等, 部分患者在10年内发展为肝硬化, 现有药物疗效有限, 具有不良反应<sup>[2]</sup>。中医药治疗肝系疾病历史悠久, 疗效确切。“肝病从肠治”是基本思路, 肝胆主疏泄, 大肠主传导, 两者是疏通和调理气机的重要脏器, 即“肝病宜疏通大肠”<sup>[3]</sup>。肝内胆汁淤积 (intrahepatic cholestasis, IC) 与肝胆湿热、肝气郁结、脾胃失调等因素有关, 中医将其归属于“黄疸”范畴, 认为由湿、热、瘀夹杂日久而成<sup>[4]</sup>。荣木复肝方是课题组传承内经“治肝三法”, 即在甘缓、辛散、酸收的基础上由鳖甲煎丸化裁而来, 全方既活血消微、清热利湿、通利二便以祛邪, 又疏通气机、健脾益气以扶正, 标本兼顾, 可减轻炎症反应和氧化应激, 改善胆汁淤积性肝损伤<sup>[5]</sup>, 亦能降低肝细胞水肿和脂肪变性, 改善小鼠肝纤维化损伤<sup>[6-7]</sup>, 还可通过调控 ABC 转运蛋白、脂肪酸代谢、胰岛素抵抗等

通路来改善小鼠肝纤维化<sup>[8]</sup>。本研究建立 IC 小鼠模型, 观察荣木复肝方改善其肠、肝损伤的作用机制。

## 1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雄性 KM 小鼠, 8 周龄, 体质量 22~25 g, 购自河南省实验动物中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (豫) 2022-0001], 饲养于河南中医药大学动物实验中心, 室温 20~26 ℃, 相对湿度 40%~70%, 12 h/12 h 明暗交替, 给予标准饲料, 自由饮水。研究经河南中医药大学实验动物伦理委员会批准 (伦理号 DWLL202103105)。

1.2 药物 荣木复肝方由醋鳖甲 15 g、佛手柑 10 g、桑葚 15 g、芍药 10 g、三七 5 g、黄连 6 g、黄芩 10 g、虎杖 10 g、白花蛇舌草 15 g、石斛 5 g、大黄 5 g、砂仁 6 g、黄芪 5 g 组成, 由河南中医药大学第三附属医院提供并制成颗粒剂, 超纯水溶解成生药量为 1 g/mL 的药液, 使用前先 37 ℃ 预热再灌胃。奥贝胆酸 (批号 3J28B18980) 购自美国

Bioivison 公司。

1.3 试剂  $\alpha$ -萘异硫氰酸酯 ( $\alpha$ -naphthyl isothiocyanate, ANIT, 上海阿拉丁生物科技有限公司, 货号 N106389); 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒 (深圳达科为生物技术有限公司, 货号 DKW502); 丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、总胆汁酸 (total bile acids, TBA)、直接胆红素 (direct bilirubin, DBIL)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 检测试剂盒 (深圳优品生物技术有限公司, 货号 YPWB0374-96、YPWB0127-96、YPWB0098-96、YPWB0873-96、YPD1004、YPD1003、YPWB0294-96、YPWB0445-96、YPWB0792-96、YPWB0791-96); 法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 抗体 [爱必信 (上海) 生物科技有限公司, 货号 abs122163]; 细胞角蛋白 19 (cytokeratin 19, CK19) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号 1071-1-AP); Occludin 抗体 [万类生物科技 (上海) 有限公司, 货号 WL01996]; AB-PAS 染液 (武汉赛维尔生物技术有限公司, 货号 G1049-20ML); 总 RNA 提取试剂盒、qPCR 逆转录试剂盒、SupRealQ Purple Universal SYBR qPCR Master Mix (U+) 预混液 (南京诺唯赞生物技术有限公司, 货号 RC113、R433、Q412)。

1.4 仪器 KZ-III-FP 型研磨仪 (武汉赛维尔生物技术有限公司); SLAN-96S 型全自动医用 PCR 分析仪 (上海宏石医疗科技有限公司); Centrifuge 5427R 型台式高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); Chemray 240 型全自动生化分析仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司); ASP300S 型脱水机、RM2235 型病理切片机 (德国 Leica 公司); DSP360 型染色封片一体机 [达科为 (深圳) 医疗设备有限公司]。

## 2 方法

2.1 分组、造模与给药 将小鼠随机分为空白组、模型组、奥贝胆酸组和柴木复肝方低、中、高剂量组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各组小鼠于第 1 天口服 ANIT (0.1 g/kg 油溶液) 进行造模, 第 3 天灌胃相应药物, 柴木复肝方低、中、高剂量分别

为 2.8、5.6、11.2 g/kg (按照人与小鼠体表面积换算给药剂量<sup>[9]</sup>, 临床原药材用量为 127 g, 高剂量相当于临床等效剂量的 0.5 倍), 阳性对照组给予 10 mg/kg 奥贝胆酸<sup>[10]</sup>, 空白组给予 0.1 mL/kg 生理盐水, 连续 7 d。最后 1 次给药后禁食 24 h, 收集血清、肝脏、回肠, 用于后续检测。

2.2 血清生化指标检测 取血后静置 2 h, 4 ℃、3 000 r/min 离心 5 min, 分离得到血清, 按照相应生化试剂盒说明书, 通过全自动生化分析仪检测 ALT、AST、ALP、TBA、TBIL、DBIL、TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平。

2.3 HE 染色和 AB-PAS 染色观察组织病理变化 回肠和肝组织经固定、脱水、切片后, 依次进行脱蜡、水化、染色、脱水、透明、封片, 最后在显微镜下观察组织病理损伤。

2.4 免疫组化法检测肝组织 FXR、CK19 和回肠组织 FXR、Occludin 蛋白表达 组织石蜡切片依次经二甲苯脱蜡、乙醇梯度 (100%、95%、80%、70%) 水化后于微波炉中进行抗原修复, 冷却至室温, PBS 冲洗后滴加封闭液覆盖切片, 室温孵育 30 min, 滴加稀释后的一抗 (1:200), PBS 冲洗 3 次, 滴加稀释后的二抗 (1:2 000), 室温孵育 30 min, PBS 冲洗, DAB 显色, 苏木精复染细胞核, 脱水透明, 中性树胶封片, 拍照并分析蛋白表达。

2.5 Western blot 法检测回肠和肝组织 FXR 蛋白表达 组织加裂解缓冲液于冰上静置 30 min 进行裂解, 4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, BCA 法测定蛋白浓度, 调整各组一致后将样品与上样缓冲液混合, 煮沸 5 min 进行变性, 经制胶、上样、电泳、转膜后加 5% 脱脂牛奶封闭 30 min, 加一抗, 4 ℃摇床孵育过夜, 次日加二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜, ELC 法显影, 拍照并分析条带灰度值。

2.6 RT-qPCR 法检测肝组织胆汁酸合成酶和转运体 mRNA 表达 按照试剂盒说明书提取肝组织总 RNA 并检测其浓度, 根据反应体系逆转录为 cDNA, 最后进行 PCR 扩增, 扩增程序为 95 ℃预变性 30 s, 95 ℃退火 10 s, 60 ℃延伸 30 s, 40 次循环。以  $\beta$ -actin 为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算目的基因相对表达。引物由武汉赛维尔生物技术有限公司提供, 序列见表 1。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 27.0 软件进行处理, 符合正态分布的计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 多组间

表 1 引物序列  
Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列	长度/bp
FXR	正向 5'-CTAATGAGGACGACAGCGAAGG-3'	147
	反向 5'-CCTGAGGCATTCTCTGTTTGTGTA-3'	
CYP7A1	正向 5'-GCTAAGGAGACTTCACTCTACACC-3'	169
	反向 5'-TGGTCTTTGCTTTCCCACTTTC-3'	
CYP8B1	正向 5'-CCAAGGACAAGCAGCAAGACC-3'	101
	反向 5'-CCCCAGTAGGGACTAGACAAACC-3'	
SHP	正向 5'-CGTTGCACCTGCATCTCACA-3'	121
	反向 5'-GAGGAAGGCTACTGTCTTGGC-3'	
NTCP	正向 5'-CGGAGATCTTAAGGACAAGGTGC-3'	129
	反向 5'-GCCTTGAGGACGTAGGGTACATAGT-3'	
MRP2	正向 5'-ACTGTTCTTGTGTGGATTCCCT-3'	167
	反向 5'-AGAGACAGGTCTATGGCTGCT-3'	
BSEP	正向 5'-AGTCAATGTTCACTTCCGTT-3'	252
	反向 5'-GCAATAGCAATGCGTTGTTTC-3'	
MDR3	正向 5'-TCTGCTATGGGACTTCTTGGT-3'	206
	反向 5'-CCCACTCTTTGAGAAGCTGTCTAT-3'	
$\beta$ -actin	正向 5'-GTGACGTTGACATCCGTAAGA-3'	287
	反向 5'-GTAACAGTCCCGCTAGAAGCAC-3'	

比较采用单因素方差分析，再进一步两两比较，方差齐时采用 LSD-*t* 法，方差不齐时采用 Games-Howell 检验。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 荣木复肝方对 IC 小鼠肝组织病理损伤的影响 空白组肝脏表面光滑，质地柔软，为红褐色；模型组肝脏暗黄，枯槁无华，表明有胆红素沉积；与模型组比较，各给药组肝脏暗黄得到改善，见图 1。

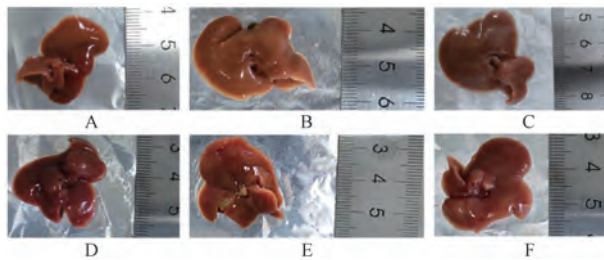
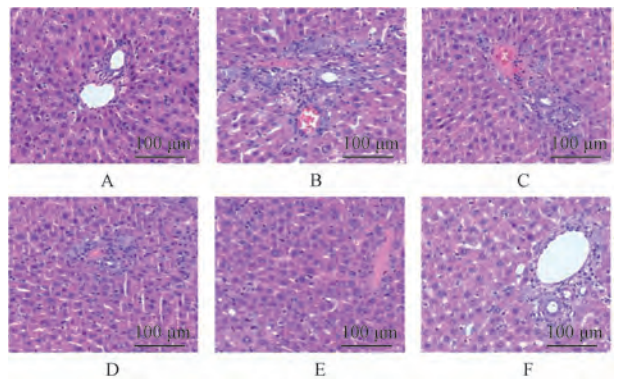


图 1 各组小鼠肝脏形态

Fig. 1 Morphology of liver of mice in each group

HE 染色显示，空白组肝索结构清晰，中央静脉和门管区分布正常；模型组肝窦内可见淋巴细胞、中性粒细胞等炎症细胞浸润，结缔组织增生，胞质内出现空泡，核被挤向一侧；荣木复肝方组炎症细胞浸润减轻，胞质内空泡现象改善，见图 2。

3.2 荣木复肝方对 IC 小鼠血清肝功能、脂质水平的影响 与空白组比较，模型组小鼠血清肝功能



注：A 为空白组，B 为模型组，C~E 分别为荣木复肝方低、中、高剂量组，F 为奥贝胆酸组。

图 2 各组小鼠肝组织 HE 染色

Fig. 2 HE staining of liver tissue of mice in each group

ALT、AST、ALP、TBA、TBIL、DBIL 和脂质 TC、TG、LDL-C 水平升高 ( $P < 0.01$ )，HDL-C 水平降低 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，荣木复肝方高剂量组和奥贝胆酸组小鼠血清 ALT、AST、ALP 水平降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，荣木复肝方中、高剂量组和奥贝胆酸组小鼠血清 TBA、TBIL、DBIL 水平降低 ( $P < 0.01$ )，荣木复肝方各剂量组小鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，HDL-C 水平升高 ( $P < 0.01$ )，见表 2~4。

表 2 各组小鼠血清 ALT、AST、ALP 水平比较 (U/L,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	ALT	AST	ALP
空白组	56.52±2.44	102.95±2.93	199.21±11.28
模型组	135.57±5.82**	329.04±5.85**	302.72±5.36**
荣木复肝方低剂量组	129.97±5.06	317.55±4.59	294.32±5.59
荣木复肝方中剂量组	114.66±2.27	313.49±4.33	288.72±5.29
荣木复肝方高剂量组	111.56±2.38#	232.85±13.98###	278.93±5.82#
奥贝胆酸组	109.44±2.00#	186.90±10.11###	267.11±6.44###

注：与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ ，###  $P < 0.01$ 。

表 3 各组小鼠血清 TBA、TBIL、DBIL 水平比较 ( $\mu\text{mol/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	TBA	TBIL	DBIL
空白组	29.25±2.41	1.51±1.01	0.46±0.07
模型组	145.90±3.58**	86.89±4.91**	60.93±2.82**
荣木复肝方低剂量组	125.40±2.39	68.17±2.51	51.93±2.79
荣木复肝方中剂量组	118.53±1.61###	45.69±1.99###	40.57±1.62###
荣木复肝方高剂量组	97.59±4.63###	28.14±2.02###	28.62±1.85###
奥贝胆酸组	86.38±2.01###	29.82±1.11###	31.55±0.92###

注：与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，###  $P < 0.01$ 。

表4 各组小鼠血清TC、TG、LDL-C、HDL-C水平比较 (mmol/L,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

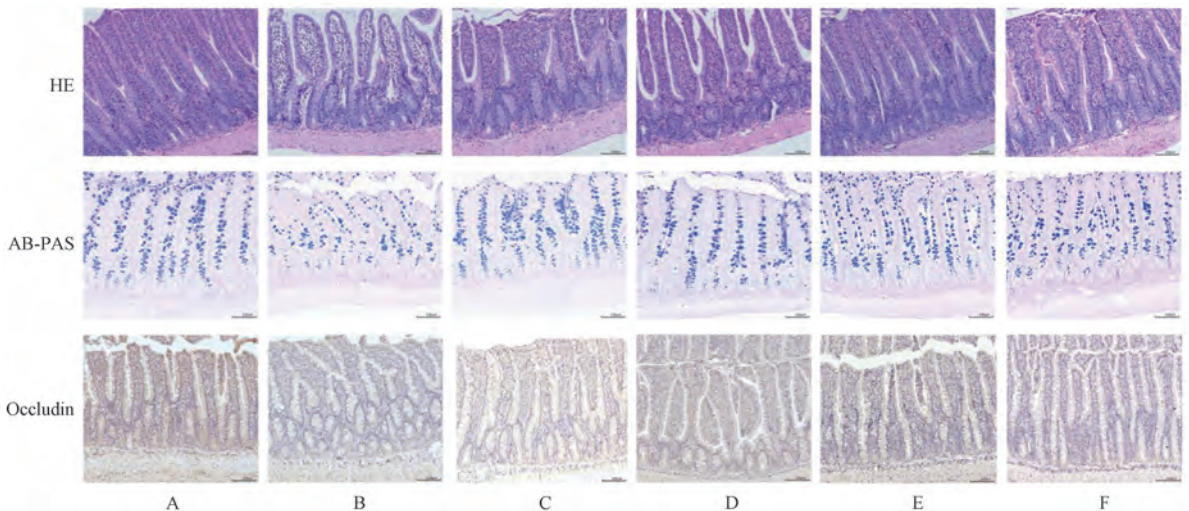
Tab. 4 Comparison of serum TC, TG, LDL-C and HDL-C levels in mice of each group (mmol/L,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
空白组	1.48±0.08	0.38±0.02	1.08±0.03	0.37±0.03
模型组	6.76±0.21**	1.59±0.05**	0.49±0.05**	3.01±0.11**
荣木复肝方低剂量组	5.05±0.14##	1.33±0.04#	0.71±0.02##	1.88±0.04##
荣木复肝方中剂量组	4.31±0.15##	1.21±0.06#	0.78±0.04##	1.72±0.05##
荣木复肝方高剂量组	3.29±0.23##	1.07±0.05##	0.89±0.03##	1.46±0.05##
奥贝胆酸组	3.14±0.17	1.27±0.04	0.91±0.04#	1.26±0.07##

注：与空白组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.3 荣木复肝方对IC小鼠回肠组织损伤的影响 HE染色和AB-PAS染色显示，空白组小鼠肠绒毛和隐窝表面的单层柱状细胞排列紧密，结构清晰，绒毛完整；模型组小鼠回肠黏膜上皮细胞形态损伤，杯状细胞数量减少 ( $P<0.01$ )，绒毛结构不完整，隐窝深度变浅；与模型组比较，各给药组小鼠回肠组

织形态有所恢复，荣木复肝方高剂量组小鼠回肠黏膜上皮细胞形态基本正常，见图3、表5。与空白组比较，模型组小鼠回肠组织Occludin表达降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，荣木复肝方各剂量组和奥贝胆酸组小鼠回肠组织Occludin表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )，见图3、表5。



注：A为空白组，B为模型组，C~E分别为荣木复肝方低、中、高剂量组，F为奥贝胆酸组。

图3 各组小鼠回肠HE染色、AB-PAS染色和Occludin免疫组化染色

Fig. 3 HE staining, AB-PAS staining and Occludin immunohistochemical staining of ileum of mice in each group

表5 各组小鼠回肠组织杯状细胞、Occludin阳性蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

Tab. 5 Comparison of goblet cells and Occludin positive protein expression in ileum of mice in each group ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	杯状细胞	Occludin
空白组	36.77±1.06	25.17±2.56
模型组	8.29±0.51**	5.58±0.61**
荣木复肝方低剂量组	16.38±1.36#	11.76±0.91##
荣木复肝方中剂量组	25.85±2.07##	16.35±1.37##
荣木复肝方高剂量组	31.61±2.75##	18.56±1.56##
奥贝胆酸组	32.08±1.08##	17.76±1.35##

注：与空白组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.4 荣木复肝方对IC小鼠肝组织CK19表达的影响 与空白组比较，模型组小鼠汇管区胆管细胞增

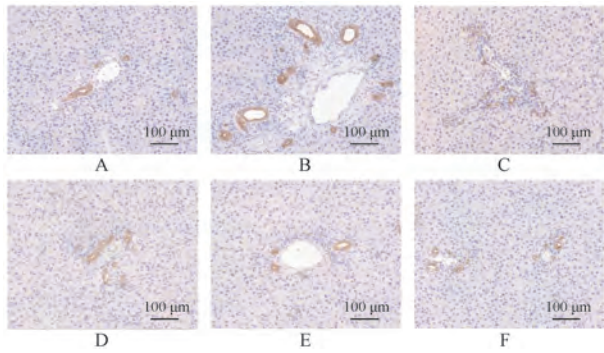
生，CK19表达升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，各给药组小鼠胆管细胞增生减少，CK19表达降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )，见图4、表6。

表6 各组小鼠肝组织CK19阳性蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

Tab. 6 Comparison of CK19 positive protein expression in liver tissue of mice in each group ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	CK19
空白组	1.77±0.06
模型组	8.29±0.51**
荣木复肝方低剂量组	6.38±0.31#
荣木复肝方中剂量组	4.43±0.27##
荣木复肝方高剂量组	3.33±0.15##
奥贝胆酸组	2.98±0.08##

注：与空白组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。



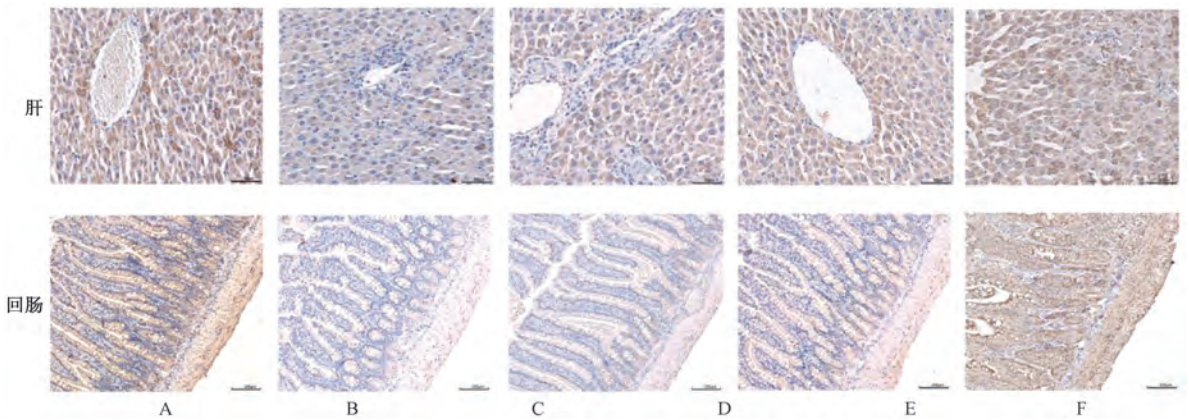
注：A 为空白组，B 为模型组，C~E 分别为荣木复肝方低、中、高剂量组，F 为奥贝胆酸组。

图 4 各组小鼠肝组织 CK19 蛋白免疫组化染色

Fig. 4 Immunohistochemical staining of CK19 protein in liver tissue of mice in each group

3.5 荣木复肝方对 IC 小鼠胆汁酸转运的影响 与空白组比较，模型组小鼠回肠和肝组织 FXR 表达降低 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，荣木复肝方各剂量组和奥贝胆酸组小鼠肝组织 FXR 表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，荣木复肝方高剂量组和奥贝胆酸组小鼠回肠组织 FXR 表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，见图 5~6、表 7。

与空白组比较，模型组小鼠肝组织 FXR、SHP mRNA 表达降低 ( $P < 0.01$ )，胆汁酸合成酶 CYP7A1、CYP8B1 mRNA 表达升高 ( $P < 0.01$ )，转运蛋白 NTCP、MDR3、BSEP、MRP2 mRNA 表达降低 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，荣木复肝方高剂量组和奥贝胆酸组小鼠肝组织 FXR、SHP mRNA 表达升



注：A 为空白组，B 为模型组，C~E 分别为荣木复肝方低、中、高剂量组，F 为奥贝胆酸组。

图 5 各组小鼠回肠和肝组织 FXR 蛋白免疫组化染色

Fig. 5 Immunohistochemical staining of FXR protein in ileum and liver tissue of mice in each group

表 7 各组小鼠回肠和肝组织 FXR 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

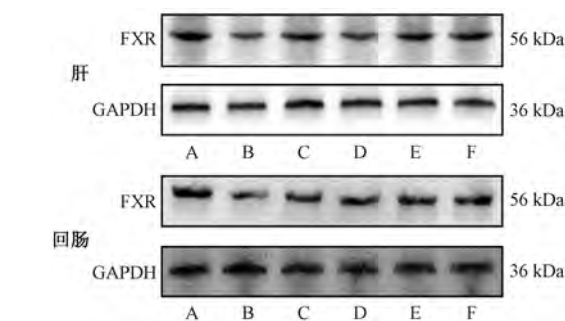
Tab. 7 Comparison of FXR protein expression in ileum and liver tissue of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	肝组织	回肠组织
	FXR/GAPDH	FXR/GAPDH
空白组	1.00±0.12	1.00±0.26
模型组	0.19±0.03**	0.23±0.09**
荣木复肝方低剂量组	0.27±0.04#	0.31±0.06
荣木复肝方中剂量组	0.36±0.07#	0.39±0.05
荣木复肝方高剂量组	0.52±0.11###	0.56±0.09#
奥贝胆酸组	0.73±0.12###	0.82±0.15###

注：与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ ，###  $P < 0.01$ 。

#### 4 讨论

IC 是由于胆汁分泌和排泄障碍所致的临床常见综合征<sup>[11]</sup>，临床表现为黄疸、瘙痒等症状，现有药物熊去氧胆酸和奥贝胆酸易出现不良反应、耐



注：A 为空白组，B 为模型组，C~E 分别为荣木复肝方低、中、高剂量组，F 为奥贝胆酸组。

图 6 各组小鼠回肠和肝组织 FXR 蛋白条带

Fig. 6 FXR protein bands in ileum and liver of mice in each group

高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，荣木复肝方各剂量组和奥贝胆酸组小鼠肝组织 CYP7A1、CYP8B1 mRNA 表达降低 ( $P < 0.01$ )，NTCP、MDR3、BSEP、MRP2 mRNA 表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，见表 8。

表8 各组小鼠肝组织 *FXR*、*SHP*、*CYP7A1*、*CYP8B1*、*NTCP*、*MDR3*、*BSEP*、*MRP2* mRNA 表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )  
Tab.8 Comparison of mRNA expressions of *FXR*, *SHP*, *CYP7A1*, *CYP8B1*, *NTCP*, *MDR3*, *BSEP* and *MRP2* in liver tissues of mice in each group ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	<i>FXR</i> / $\beta$ -actin	<i>SHP</i> / $\beta$ -actin	<i>CYP7A1</i> / $\beta$ -actin	<i>CYP8B1</i> / $\beta$ -actin
空白组	1.001±0.048	1.007±0.039	0.019±0.002	0.126±0.013
模型组	0.116±0.005**	0.344±0.033**	0.998±0.004**	1.032±0.129**
荣木复肝方低剂量组	0.141±0.010	0.356±0.028	0.146±0.006###	0.630±0.023###
荣木复肝方中剂量组	0.147±0.013	0.366±0.008	0.018±0.002###	0.247±0.011###
荣木复肝方高剂量组	0.223±0.012###	0.516±0.029#	0.120±0.003###	0.159±0.005###
奥贝胆酸组	0.250±0.013#	0.544±0.050###	0.063±0.005###	0.151±0.013###
组别	<i>NTCP</i> / $\beta$ -actin	<i>MDR3</i> / $\beta$ -actin	<i>BSEP</i> / $\beta$ -actin	<i>MRP2</i> / $\beta$ -actin
空白组	1.000±0.011	1.000±0.004	1.004±0.033	8.298±0.298
模型组	0.027±0.001**	0.355±0.004**	0.050±0.004**	2.001±0.035**
荣木复肝方低剂量组	0.047±0.001#	0.595±0.012###	0.165±0.004###	3.290±0.070###
荣木复肝方中剂量组	0.045±0.001#	0.609±0.011###	0.218±0.003###	4.513±0.070###
荣木复肝方高剂量组	0.099±0.001###	0.611±0.022###	0.377±0.009###	5.169±0.175###
奥贝胆酸组	0.130±0.002###	0.642±0.010###	0.569±0.029###	7.354±0.192###

注：与空白组比较，\*\*  $P<0.01$ ；与模型组比较，#  $P<0.05$ ，###  $P<0.01$ 。

受不佳<sup>[12]</sup>。中医将IC归属于“黄疸”范畴，认为其病机为脾胃虚弱，浊气停于中焦，又湿热内郁，久而成瘀发黄<sup>[13-14]</sup>。贾春生《〈扁鹊心书〉新论》<sup>[15]</sup>曰：“脾气虚脱，浊气停于中焦，不得升降，故眼目遍身皆黄”，可见IC与脾土损伤密切相关，并且黄疸大多由湿热内蕴引起<sup>[16]</sup>。肝主疏泄、主藏血，胆汁由肝之余气化生而成，肝气疏泄不畅可日久成淤，故活血化瘀、疏肝行气、清热化湿、顾护脾胃是治疗IC的基本法则。

荣木复肝方是以活血化瘀为先行，在传承内经“治肝三法”“因势利导”思想下精心化裁而来。《素问·脏气法时论》云：“肝苦急，宜食甘以缓之……肝欲散，宜食辛以散之。用辛补之，酸泻之”。荣木复肝方正是在传承辛散、甘缓和酸收理论的基础上形成，该方以醋鳖甲为君药，旨在发挥其软坚散结、活血止痛功效，醋制体现酸收之意；桑甚味甘、酸，滋阴养血；三七甘温，归肝、胃经，补气活血；石斛、黄芪味甘，补气益胃；佛手柑、砂仁味辛，具理气之功，肝体阴而用阳，诸药合用，共奏养血活血、疏肝理气功效。《素问阴阳应象大论》云：“其下者，引而截之；其剽悍者，按而收之；其实者，散而泻之”，尽管IC患者有疲乏症状，但还是要给邪以出路。黄连、黄芩、白花蛇舌草和酒制大黄功效清热泻火、利湿退黄、缓和泻下，正所谓“邪去则正安”。

ALT、AST水平升高提示肝损伤，IC发生时胆红素排泄受阻，血清胆红素、ALP水平升高<sup>[17]</sup>。IC会抑制胆汁酸的合成与排泄，导致胆固醇代谢紊乱和脂蛋白异常，从而引发血脂异常，再通过胆

固醇沉积和胆汁成分的改变来进一步加剧IC发展<sup>[18]</sup>。研究发现，IC患者的脂质代谢失调与不良预后有关<sup>[19]</sup>，CK19是胆管上皮细胞的特异性标志物<sup>[20]</sup>，IC发生时胆管上皮细胞代偿性增生，表达升高<sup>[21]</sup>。本研究发现，荣木复肝方可改善肝功能，调节血脂水平，减轻肠、肝病理损伤，抑制CK19表达，从而减轻胆管细胞增生。

“肠-肝轴”是肠道与肝脏之间的双向通信系统，对代谢和肝、肠道等疾病至关重要<sup>[22]</sup>。IC引起毒性胆汁酸水平升高，导致氧化应激、线粒体功能障碍、细胞凋亡，并破坏肠细胞连接，增加肠道通透性，促进细菌和内毒素易位<sup>[23-24]</sup>。Occludin位于上皮和内皮细胞连接处，维护细胞屏障功能<sup>[25]</sup>。FXR是胆汁酸代谢的关键调控因子，广泛存在于肠、肝组织中，其功能受损会导致胆汁酸排泄受阻，从而引发IC<sup>[26-27]</sup>。奥贝胆酸是FXR的长效激动剂<sup>[28]</sup>，故本研究选择其作为阳性对照药物，结果表明，荣木复肝方可恢复肠、肝组织FXR表达，减轻两者病理损伤，恢复后者Occludin表达，改善肠屏障功能。

综上所述，荣木复肝方能改善IC小鼠血清肝功能和脂质水平，减轻胆管增生，调节胆汁酸合成与转运，缓解组织病理损伤和肠道屏障损伤，其调控机制与核受体FXR密切相关。

参考文献：

[1] Tanaka A, Ma X, Takahashi A, et al. Primary biliary cholangitis[J]. *Lancet*, 2024, 404(10457): 1053-1066.  
[2] Alvaro D, Calvaruso V, Carbone M, et al. Quality measures to enhance the management and treatment of primary biliary

- cholangitis: a delphi consensus study[J]. *Liver Int*, 2025, 45(6): e70118.
- [ 3 ] 李 挺. 医学入门[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 82.
- [ 4 ] 杨 柳, 郑思嘉, 杨 念, 等. 胆汁淤积肝病的炎症反应和氧化应激机制及中药干预研究[J/OL]. 中医学报, 1-10(2024-09-29). <https://link.cnki.net/urlid/41.1411.R.20240929.1140.006>.
- [ 5 ] 徐华明, 杨 柳, 刘延鑫, 等. 柴木复肝方调控炎症反应和氧化应激改善胆汁淤积肝损伤的机制研究[J]. 世界中医药, 2025, 20(1): 34-43.
- [ 6 ] 杨 念, 徐华明, 胡文文, 等. 一种治疗慢性肝损伤的中药组合物[J]. 中国中医药现代远程教育, 2017, 15(23): 148-150.
- [ 7 ] Xu H, Yang N, Zhang Z, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 and CD147 in the traditional Chinese medicine "Compound T11" for treatment of chronic liver injury[J]. *Pharmacology*, 2019, 103(3/4): 128-135.
- [ 8 ] 杨 念, 杨 柳, 郑思嘉, 等. 基于非靶代谢组学探讨柴木复肝方对小鼠慢性肝纤维化的干预机制[J]. 中医学报, 2024, 39(10): 2176-2184.
- [ 9 ] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 562.
- [ 10 ] Xin X, Chen C, Cai B Y, et al. Caffeine and EGCG alleviate high-trans fatty acid and high-carbohydrate diet-induced NASH in mice: commonality and specificity[J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 784354.
- [ 11 ] Bhushan S, Sohal A, Kowdley K V. Primary biliary cholangitis and primary sclerosing cholangitis therapy landscape[J]. *Am J Gastroenterol*, 2025, 120(1): 151-158.
- [ 12 ] McNally B B, Carey E J. Cholestatic liver diseases: modern therapeutics[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2025, 19(4): 365-370.
- [ 13 ] 杨 雯, 王 敏, 唐金模. 胆汁淤积性肝病的中医诊治概况[J]. 中西医结合肝病杂志, 2023, 33(5): 452-455.
- [ 14 ] 陈 静, 李娟梅, 吕文良. 中医药治疗原发性胆汁性胆管炎的研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2020, 39(5): 587-593.
- [ 15 ] 贾春生, 王锐卿. 《扁鹊心书》新论[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2023: 195.
- [ 16 ] 王雨三. 近代名医珍本医书重刊大系(第一辑) 治病法轨[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2023: 172.
- [ 17 ] Anderson C M, Welle C L, Ludwig D R, et al. Autoimmune disorders of the liver and biliary tract[J]. *Radiographics*, 2025, 45(4): e240126.
- [ 18 ] Hlušička J, Žák A. Dyslipidaemia in liver diseases[J]. *Folia Biol (Praha)*, 2024, 70(5/6): 239-247.
- [ 19 ] Zheng L, Tian S, Yang C, et al. Hypercholesterolemia is associated with dysregulation of lipid metabolism and poor prognosis in primary biliary cholangitis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2024, 22(6): 1265-1274.
- [ 20 ] Jain R, Fischer S, Serra S, et al. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2010, 18(1): 9-15.
- [ 21 ] Harada K. Sclerosing and obstructive cholangiopathy in biliary atresia: mechanisms and association with biliary innate immunity[J]. *Pediatr Surg Int*, 2017, 33(12): 1243-1248.
- [ 22 ] Tilg H, Adolph T E, Trauner M. Gut-liver axis: pathophysiological concepts and clinical implications[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(11): 1700-1718.
- [ 23 ] Hourì I, Hirschfield G M. Primary biliary cholangitis: pathophysiology[J]. *Clin Liver Dis*, 2024, 28(1): 79-92.
- [ 24 ] Blesl A, Stadlbauer V. The gut-liver axis in cholestatic liver diseases[J]. *Nutrients*, 2021, 13(3): 1018.
- [ 25 ] Liu M, Ji Y L, Hu Y J, et al. *Lactococcus garvieae* aggravates cholestatic liver disease by increasing intestinal permeability and enhancing bile acid reabsorption[J]. *World J Gastroenterol*, 2025, 31(10): 101014.
- [ 26 ] Chiang J Y L, Ferrell J M. Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2022, 548: 111618.
- [ 27 ] Song L, Hou Y, Xu D, et al. Hepatic FXR-FGF4 is required for bile acid homeostasis via an FGFR4-LRH-1 signal node under cholestatic stress[J]. *Cell Metab*, 2025, 37(1): 104-120.
- [ 28 ] Bhushan S, Sohal A, Kowdley K V. Primary biliary cholangitis and primary sclerosing cholangitis therapy landscape[J]. *Am J Gastroenterol*, 2025, 120(1): 151-158.