



DOI:10.12404/j.issn.1671-1815.2405545

引用格式:吴斌,吴忠,魏秀岩.含芩术方剂治疗妊娠期肝内胆汁淤积症的药-方-效关联研究[J].科学技术与工程,2025,25(18):7538-7550.

Wu Bin, Wu Zhong, Wei Xiuyan. The herb-prescription-effect correlation of prescriptions containing *Scutellariae radix* and *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. Science Technology and Engineering, 2025, 25(18): 7538-7550.

医药、卫生

含芩术方剂治疗妊娠期肝内胆汁淤积症的 药-方-效关联研究

吴斌,吴忠,魏秀岩*

(沈阳药科大学生命科学与生物制药学院,沈阳110016)

摘要 探讨了含黄芩-白术药对方剂治疗妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)的应用规律及作用机制。检索维普,万方,中国知网数据库中含黄芩-白术药对方剂治疗 ICP 的文献,利用 R 语言对方剂进行分析并归纳其用药规律及核心方;再运用网络药理学预测核心方抗 ICP 的作用机制,并进行分子对接和实验验证。共纳入 68 首方剂,包含 67 味中药,多为寒性、苦味、归脾经的药物。综合中药数据分析获得“茵陈-大黄-栀子-黄芩-白术-茯苓”为核心方,其中槲皮素、芹菜素等关键活性成分可能作用于蛋白激酶 B1 (serine/threonine kinase B1, AKT1)、BCL-2 相关 X 蛋白(BCL-2 associated X protein, BAX)等核心靶点,参与磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-AKT)、凋亡等多靶点、多通路发挥治疗 ICP 作用。在分子对接中,芹菜素与 11 个核心靶点间的结合效能显著优于槲皮素、 β -谷甾醇。HTR-8/SVneo 细胞实验表明,芹菜素对牛磺胆酸(taurocholic acid, TCA)诱导的细胞凋亡率、Bax/Bcl-2 蛋白表达增加具有显著抑制作用($P < 0.01$),并可促进 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白的表达($P < 0.01$),而 LY294002 预处理可逆转芹菜素的抗凋亡作用和上述蛋白的表达水平。综上,含黄芩-白术药对的核心方可作为 ICP 的临床遣方用药提供参考,其中关键活性成分芹菜素可抑制 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞凋亡而具有治疗 ICP 的潜力,其机制可能与调控 PI3K-AKT 信号通路相关。

关键词 妊娠期肝内胆汁淤积症;黄芩-白术;细胞凋亡;PI3K-AKT 信号通路

中图分类号 R285.5; **文献标志码** A

The Herb-Prescription-Effect Correlation of Prescriptions Containing *Scutellariae radix* and *Atractylodis macrocephalae* Rhizoma in the Treatment of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy

WU Bin, WU Zhong, WEI Xiu-yan*

(School of Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University,
Shenyang 110016, China)

[Abstract] To explore the application regularity and mechanism of formulas containing Huang Qin (*Scutellariae radix*)-Bai Zhu (*Atractylodis macrocephalae* Rhizoma) (HQ-BZ) herb pair in the treatment of ICP (intrahepatic cholestasis of pregnancy). All literature on prescriptions containing HQ-BZ herb pairs against ICP was screened from the VIP, Wanfang, and CNKI databases. Subsequently, the R language was employed to analyze and summarize its medication rules and core prescriptions. Network pharmacology was used to predict the mechanism of core prescriptions against ICP, followed by molecular docking and experimental verification to confirm the potential mechanism. A total of 68 prescriptions were included, involving 67 herbs characterized mainly by cold, bitter, and spleen meridian. The core prescription “*Artemisiae scopariae* Herba-*Rhei radix* et Rhizoma-*Gardeniae fructus*-*Scutellariae radix*-*Atractylodis macrocephalae* Rhizoma-*Poria cocos*” was obtained based on the comprehensive analysis of traditional Chinese medicine data, among which

收稿日期:2024-07-23 修订日期:2025-03-28

基金项目:辽宁省教育厅面上项目(JYTMS20231383)

第一作者:吴斌(1994—),男,汉族,辽宁沈阳人,硕士研究生。研究方向:肝病中药药效学和机制。E-mail:1737826609@qq.com。

*通信作者:魏秀岩(1975—),女,汉族,辽宁沈阳人,博士,副教授。研究方向:中药药效学和机制。E-mail:wei_xiuyan@163.com。

quercetin, apigenin, and other key active components may act on core targets such as AKT1 (serine/threonine kinase B1), BAX (BCL2-associated X protein), and participate in PI3K-AKT (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B), apoptosis, and other multiple targets and pathways to play the role of ICP therapy. The molecular docking results showed that apigenin demonstrated superior binding affinity with the top 11 core targets compared to quercetin and beta-sitosterol. HTR-8/SVneo cell experiments proved that apigenin significantly reduced the apoptosis rate induced by TCA (taurocholic acid) and elevated the protein expression levels of Bax/Bcl-2 ($P < 0.01$), as well as p-PI3K/PI3K, and p-AKT/AKT ($P < 0.01$). Pre-treatment with LY294002 could reverse the anti-apoptosis effects and the expression levels of the aforementioned proteins induced by apigenin. In summary, the core prescription that includes the HQ-BZ can provide references for the clinical prescription of ICP. Apigenin, a key component of core prescription, can inhibit the apoptosis in HTR-8/SVneo cells induced by TCA and has the potential to treat ICP, and its mechanism may be related to the regulation of the PI3K-AKT signaling pathway.

[**Keywords**] intrahepatic cholestasis of pregnancy; *Scutellariae radix-Atractylodis macrocephalae* Rhizoma; cell apoptosis; PI3K-AKT signaling pathway

妊娠期肝内胆汁淤积症 (intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP) 是孕中晚期常见的特异性肝病, 在人群中的发病率为 0.3% ~ 15%, 并以母体瘙痒、黄疸、肝功能损伤及高胆汁酸水平为主特征^[1]。ICP 是围产期并发症及母婴死亡的主要诱因, 其中早产、窒息事件、死产等妊娠不良结局的风险增加与 ICP 胆汁酸水平持续升高相关^[2], 并且 ICP 母体高胆汁酸代谢异常还可引起胎盘绒毛膜滋养细胞的凋亡、侵袭等功能异常, 继而引起胎盘生理功能重构, 但具体机制尚待深入探究^[3]。此外, ICP 的发生与进展还被认为与滋养细胞的氧化应激、细胞凋亡、胎盘微环境及免疫失衡等生物学过程有关, 并涉及多个潜在靶点或信号通路的调控^[4]。然而, 目前以单一靶标为主的基础药物 (如熊去氧胆酸、多烯磷脂酰胆碱等) 难以应对 ICP 繁杂的发病机制^[5], 而中医药的一方多药、一药多效特性对 ICP 的多器官损伤具有潜在的预防和治疗价值。因此, 临床亟待确有疗效的治疗方药或多靶点的活性成分以缓解这种治疗窘境。

“黄芩-白术”药对始于《丹溪心法·金匱当归散论》所著的“安胎圣药”, 多见于当归散、四圣散、安胎饮等临床经典方剂^[6], 并对妊娠期高血压^[7]、妊娠期糖尿病^[8]和复发性流产^[9]等妇产科疾病的治疗作用显著。多项研究表明, 含此药对的方剂对改善 ICP 临床体征、减少妊娠不良结局、抑制滋养细胞凋亡及修复胆汁酸稳态等方面具有显著的损伤保护作用^[10-11]。另外, 中药组方涉及两种中药的应用, 是中药复方中相对固定的最小处方单位, 在中药药性配伍及七情和合实践中具有重要的参考价值^[12]。其中, 药对不仅仅是对单味药功效的深层升华, 更是中药与新方剂配伍的衔接桥梁。以药对为“基药”, 既可探究其在确有疗效方剂中的配伍规律, 又可为治疗 ICP 的新方挖掘和作用机制探究奠定基础^[13]。

因此, 现以中药、活性化合物、靶标的复杂关系

研究为切入点, 基于 R 语言数据挖掘技术、网络药理学和细胞实验等方法, 探究含黄芩-白术药对的方剂治疗 ICP 的核心方及其作用机制, 以期为临床诊疗和新药探索提供参考。

1 材料

1.1 细胞株

人绒毛膜滋养层细胞 (HTR-8/SVneo 细胞) 购自 EK-Bioscience 公司。

1.2 主要试剂和仪器

芹菜素 (纯度 $\geq 98\%$)、PI3K 抑制剂 LY294002、牛磺胆酸钠 (货号分别为 S31423、S43088、S26985, 上海源叶生物科技有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 (货号分别为 XY91070、XY96010, 上海信裕生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒 (货号 CA1210, 北京索莱宝科技有限公司); Annexin V-FITC/PI 试剂盒、超敏 ECL 化学发光试剂盒、BAX 抗体、BCL-2 抗体 (货号分别为 C1062S、P0018S、AB026、AB112, 上海碧云天生物技术有限公司); PI3K 抗体、p-PI3K 抗体、AKT 抗体、p-AKT 抗体 (货号分别为 R22768、341468、R23412、R22961, 成都正能生物技术有限责任公司); GAPDH 抗体 (货号 60004-1-Ig, 武汉三鹰生物技术有限公司)。

二氧化碳培养箱 (HF90 型, 上海力申科学仪器有限公司); 生物安全柜 (HFsafe-1500LC 型, 力新仪器 (上海) 有限公司); 电泳、电转系统 (DYCZ-24DN 型, 北京六一仪器厂); 低温高速离心机 (TGL-16 型, 长沙湘仪离心机仪器有限公司); 流式细胞仪 (CytoFLEX 型, Beckman 公司)。

2 方法

2.1 方剂来源和筛选

以“黄芩-白术”和“妊娠期肝内胆汁淤积症”为检索词, 设定 20100101-20220701 为检索周期, 组合

检索维普(VIP)、万方(Wanfang)、中国知网(CNKI)数据库中的文献资料。文献纳入标准:①符合ICP诊断的随机化临床试验类型文献;②研究以含黄芪-白术药对的中药或中药联合常规西药治疗为干预措施;③研究组的主要结局指标与对照组相比具有统计学意义。文献排除标准:①患者合并除ICP的其他疾病;②中医方药味数 ≤ 3 味或非口服用药;③文献所载处方中药信息缺失;④研究为动物实验、数据挖掘、综述等类型。

2.2 方剂数据库建立

利用 MedRef(V5.0)软件对数据库中检索的文献进行查重和预处理,参考文献[14]对中药进行标准化处置,如将“茵陈”规范为“茵陈”、将“制军”规范为“大黄”后建立ICP数据库。经初步筛选获得275篇相关文献,在符合纳入、排除标准以及人工筛选的基础上,最终确定了68篇文献的方剂建立ICP数据库。

2.3 中药方剂分析

利用 R Studio(V4.1.3)软件对方剂进行频次统计,并基于 arules 包中 Apriori 算法建立关联规则模型,设定支持度 $\geq 40\%$,置信度 $\geq 80\%$,提升度 > 1 进行关联规则分析及可视化。对四气、五味、归经统计运用中医传承计算平台(V3.0)软件的统计分析模块进行分析,并基于肘部法 K-means 算法对高频中药进行潜在方剂挖掘和聚类分析。

2.4 核心方活性化合物与 ICP 靶点筛选

基于中药系统药理学数据库与分析平台(TCM-SP)数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)和 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>),设定口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 为标准筛选茵陈、大黄、栀子、黄芩、白术、茯苓的活性成分,并结合文献补充活性成分后对中药靶点名称进行标准化处置^[15]。以 intrahepatic cholestasis of pregnancy 为检索词,对 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)数据库进行检索获取 ICP 相关靶点。

2.5 核心方治疗 ICP 的活性成分及靶点分析

利用 Venny V2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)获取核心方活性成分潜在靶点与 ICP 相关靶点的交集靶点,并构建“中药-活性成分-交集靶点”可视化图。基于 String(V11.5)数据库(<https://cn.string-db.org/>),分别设定置信度 > 0.900 、Organism 为 Homo sapiens 获取交集靶点蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。再以 Cytoscape(V3.10.1)软件 CytoHubba 插件中最大团中心性(maximal clique centrality,

MCC)、最大邻域分量(maximum neighborhood component, MNC)、度中心性(degree centrality, Degree)、边缘渗透分量(edge percolated component, EPC)、介数中心性(betweenness centrality, Betweenness)、紧密中心性(closeness centrality, Closeness)算法筛选排名前30位基因,并取交集获得核心靶点。

2.6 核心方治疗 ICP 的靶点富集分析

使用 Sangerbox(V3.0)平台(<http://vip.sangerbox.com/>)对核心靶点的潜在机制进行京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)和基因本体(gene ontology, GO)富集分析,并对 KEGG(前15位)和 GO(前10位)条目进行可视化。

2.7 分子对接

选取2.5节的核心靶点与 Degree 值排名前三的关键活性成分进行分子对接验证。检索 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 PDB(<https://www.rcsb.org/>)数据库分别获得活性成分和靶点的3D结构,使用 AutoDock Tools(V1.5.7)软件进行去水、加氢等对接验证和结合能计算,并以结合能 < -5 kcal/mol 进行结合活性筛选^[16],运用 PyMOL 软件对结果进行可视化。

2.8 芹菜素对 HTR-8/SVneo 细胞活性的影响

在2.5节的 PPI Network 中 Degree 值前三的关键活性成分为槲皮素(Degree = 184)、 β -谷甾醇(Degree = 52)、芹菜素(Degree = 44),但与槲皮素、 β -谷甾醇等活性成分相比,芹菜素对滋养细胞更具低毒、无诱变性等特性^[17],且与核心靶点的结合能活性更优,因此选择芹菜素作进一步的机制验证研究。

取置于37℃、5% CO₂、RPMI 1640 培养基中稳定传代后对数生长期的 HTR-8/SVneo 细胞,以 1×10^4 个/孔接种于96孔板,设置空白组(RPMI 1640 完全培养基)、对照组(含0.1% DMSO 的 RPMI 1640 完全培养基培养细胞)、芹菜素组(5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)。24 h 后加入10% CCK-8 溶液继续孵育细胞2 h,酶标仪测定450 nm 波长下的吸光度。

2.9 芹菜素对 TCA 诱导后 HTR-8/SVneo 细胞活性的影响

采用100 $\mu\text{mol/L}$ TCA 作用于 HTR-8/SVneo 细胞24 h,建立 ICP 细胞模型^[18]。实验设置正常对照组(NC)、模型组(TCA)、芹菜素组(API)。TCA 组: HTR-8/SVneo 细胞与100 $\mu\text{mol/L}$ TCA 干预24 h; API 组: HTR-8/SVneo 细胞造模后,加入 API(10、20 $\mu\text{mol/L}$)干预24 h; NC 组加入等量不含 TCA 的完全培养基。按“2.8”项下 CCK-8 法测定细胞活性。

2.10 芹菜素对 TCA 诱导后 HTR-8/SVneo 细胞凋亡的影响

按 2.9 节下分为 NC 组、TCA 组、API 组 (20 $\mu\text{mol/L}$)、LY294002 组 (5 $\mu\text{mol/L}$ ^[19]) 及 LY294002 + API 组处置细胞, PBS 润洗 2 次, 加入缓冲液重悬细胞。5 μL Annexin V-FITC/PI 试剂在室温下避光孵育 15 min, 流式细胞仪加样进行凋亡率测定。

2.11 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 法检测 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、Bax/Bcl-2 表达

HTR-8/SVneo 细胞按 2.10 节下分组处置后, 使用含 2% 蛋白酶抑制剂 RIPA 裂解液提取总蛋白, 以 BCA 法测定蛋白浓度; 经 SDS-PAGE 凝胶电泳、PVDF 转膜、封闭后, 与稀释的一抗 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、Bcl-2、Bax, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 室温孵育二抗 90 min, 滴加 ECL 发光液进行曝光显影。以 GAPDH 为内参, 采用 Image J (V1.48) 软件进行灰度值分析。

2.12 统计分析

数据以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 Graphpad Prism (V 9.4.1) 软件进行数据统计分析, 多组间以 One-way ANOVA 计算 P 值, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 中药频次和四气、五味、归经统计

对符合入排标准的 68 首方剂进行频次统计, 包含 67 味中药, 使用频次共 701 次。19 味高频中药 (频次 ≥ 10 次) 中频次前 6 位的分别为黄芩 (68 次)、白术 (68 次)、茵陈 (66 次)、栀子 (49 次)、茯苓 (44 次)、大黄 (39 次); 四气以寒性为主 (387 次), 次为温性 (161 次); 五味以苦味 (447 次) 最多见, 次为甘味 (329 次); 归经以脾经 (465 次)、肝经 (282 次) 居多, 如图 1 所示。

3.2 中药关联规则和聚类分析

基于 Apriori 算法建模对高频中药进行关联规则分析获取 6 条药物组合 (表 1), R 软件绘制高频中药网络可视图 (图 2)。由图表可见, 各组合 Lift 均 > 1 , 其中茵陈、大黄、栀子、茯苓、甘草与黄芩-白术药对组成核心关联药物。

对 19 味高频中药基于 factoextra 包中 K 均值聚类算法 (K -means clustering algorithm) 进行聚类分析, 并结合肘部法确定 K -means 最佳 K 值。由此可知, 拐点为 4 时可获取最佳聚类个数, 即类似于形成 4 个核心类方, 并利用 fviz_nbclust 函数对基于划分的聚类结果进行可视化 (图 3)。

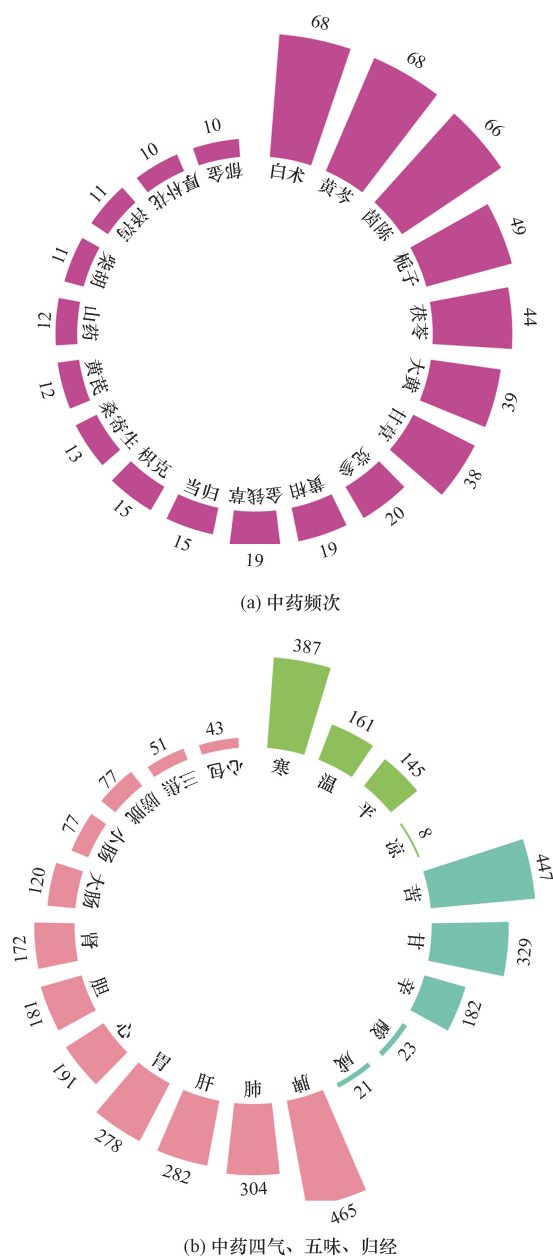


图 1 中药频次、四气、五味、归经统计图

Fig. 1 Statistical diagram of frequency, four qi, five flavors, and meridian tropism of TCMs

表 1 含黄芩-白术药对的药物组合关联规则分析
Table 1 Association rules analysis of TCMs combination containing HQ-BZ

前项	后项	支持度/%	置信度/%	提升度	频次
黄芩,白术,栀子	→茵陈	72.06	97.56	1.03	49
大黄,黄芩,白术	→茵陈	57.35	100	1.03	39
甘草,黄芩,白术	→茵陈	55.88	100	1.03	38
大黄,黄芩,白术,栀子	→茵陈	44.12	100	1.03	30
茯苓,黄芩,白术,栀子	→茵陈	44.12	100	1.03	30
甘草,黄芩,白术,栀子	→茵陈	42.65	100	1.03	29

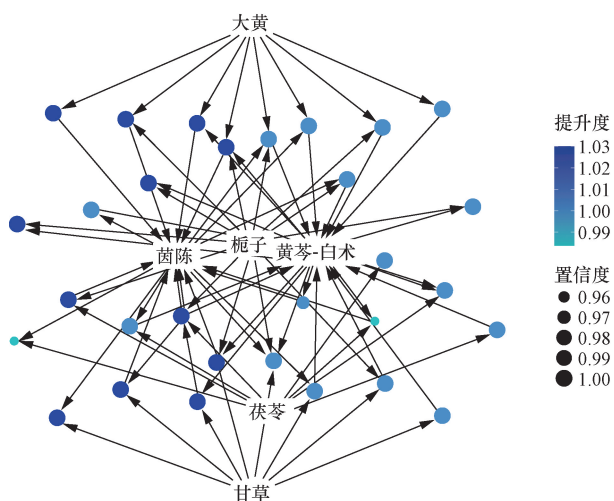


图2 中药关联规则网络图(频次≥10次)
Fig.2 Network diagram of association rules of TCMs (frequency≥10 times)

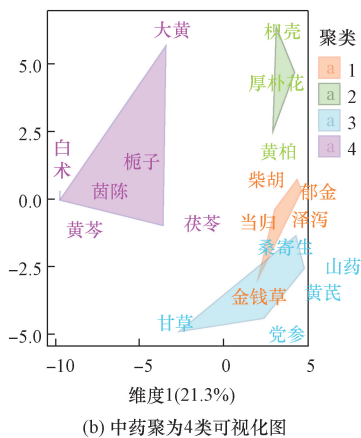
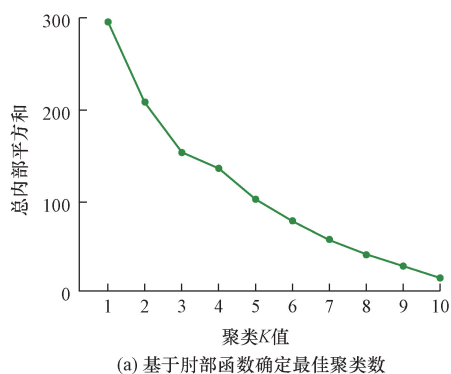


图3 中药方剂聚类分析图
Fig.3 Cluster analysis diagram of TCM prescriptions

3.3 核心方活性成分与 ICP 靶点筛选

综合中药频次、关联规则和聚类分析 3 个维度,最终获得 HQ-BZ 治疗 ICP 的核心方为 茵陈-大黄-栀子-黄芩-白术-茯苓。依据设定的 OB 和 DL 值检索 TCMSP 数据库和文献共获得核心方 87 种候选活性成分(含重复成分),其中茵陈(YC)13种,大黄(DH)14种,栀子(ZZ)13种,黄芩(HQ)36

种,白术(BZ)4种,茯苓(FL)7种(图4)。经 UniProt 数据库标准化处理后,去除重复或无靶点的活性成分,最终获得 81 种活性成分和 258 个靶点,经 GeneCards 数据库检索后获取 1 326 个 ICP 相关靶点。

3.4 核心方治疗 ICP 的活性成分及靶点分析

利用 Venny 获得 123 个核心方治疗 ICP 的交集靶点, Cytoscape 软件构建“中药-活性成分-交集靶点”可视化图(图5)。根据 Degree 值可知,核心方中槲皮素(A)、β-谷甾醇(B)、芹菜素(HQ1)等可能是 ICP 治疗的关键活性成分。利用 String 数据库获得由 123 个节点和 436 个边构建的交集靶点 PPI 网络,经 CytoHubba 插件的 6 种算法分析获得 11 个核心靶点,其分别为:蛋白激酶 B1 (AKT1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma 2, BCL-2)、半胱天冬酶 3 (caspase 3, CASP3)、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL6)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、Jun 原癌基因 (Jun proto-oncogene, JUN)、BCL-2 相关 X 蛋白(BAX)、细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1, CCND1)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF), 如图 6 所示。

3.5 核心方治疗 ICP 的靶点富集分析

基于 Sangerbox 平台设定错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 和 P < 0.05 对核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析,并按基因数进行排序展示。GO 数据库包括生物过程 (biology process, BP)、细胞成分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 等重要部分。其中 BP 主要涉及氧化应激、细胞外刺激、凋亡等过程;CC 主要包

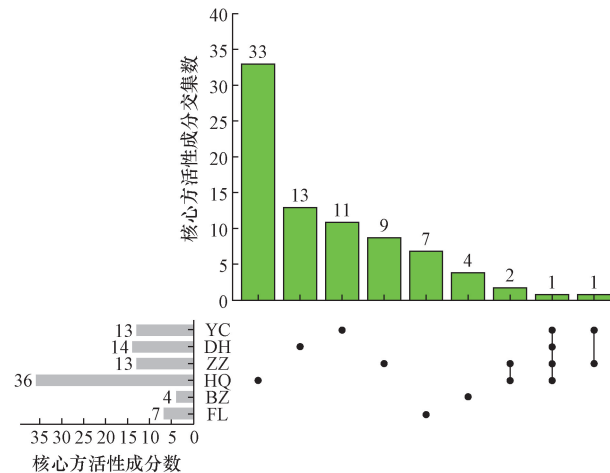
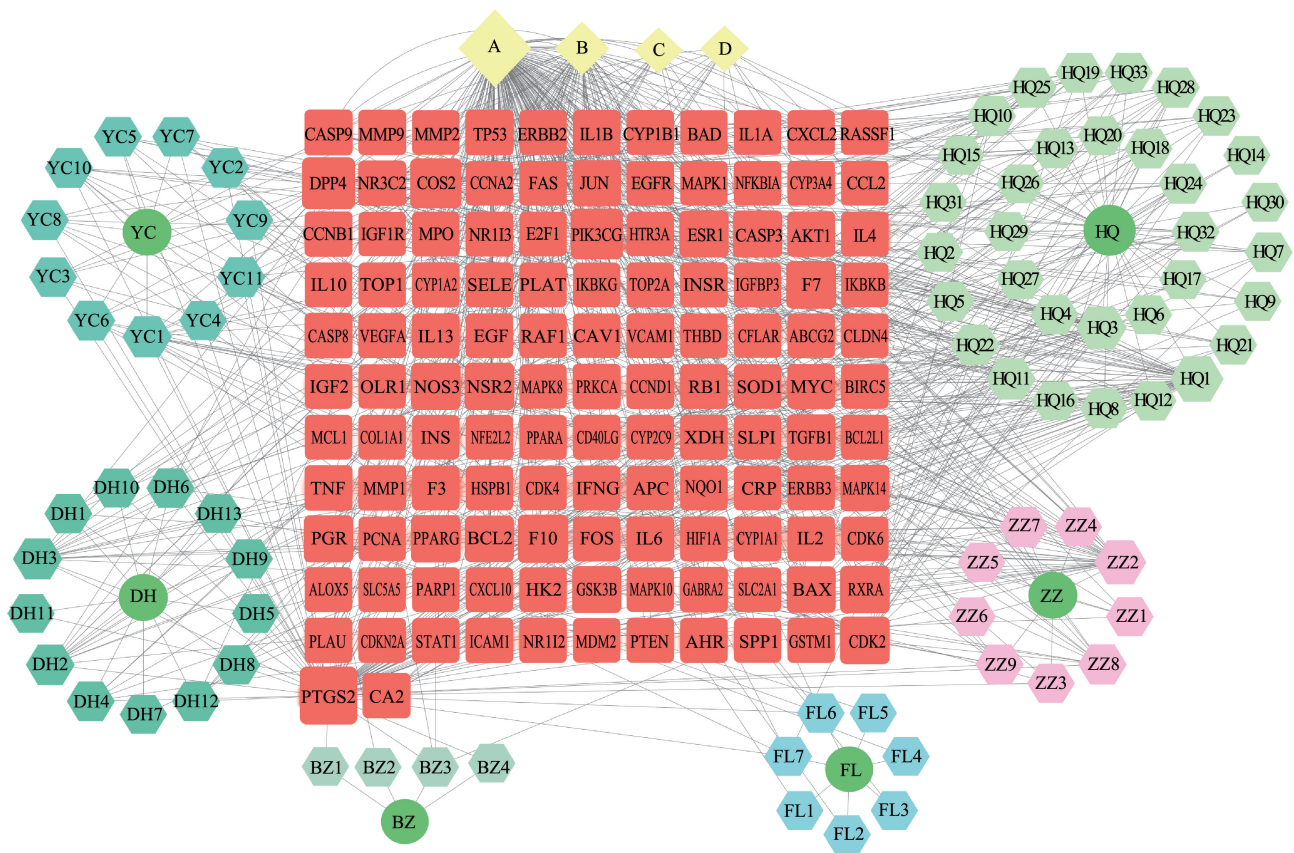


图4 核心方活性成分 Upset 图
Fig.4 Upset diagram of active ingredients of core prescription



正方形表示交集靶点;六边形表示各中药活性成分;黄色表示多中药共同成分;YC 为茵陈;DH 为大黄; ZZ 为栀子;HQ 为黄芩;BZ 为白术;FL 为茯苓

图5 中药-活性成分-交集靶点可视化图

Fig. 5 Visualization diagram of TCM-active component-intersection target

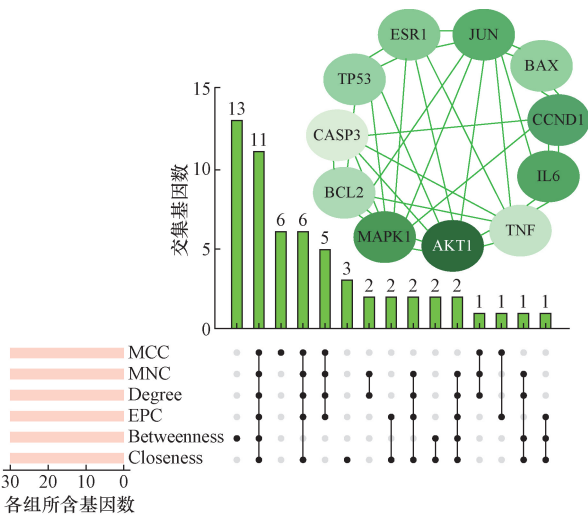


图6 核心靶点 PPI 网络筛选图

Fig. 6 Screening diagram of core target PPI network

括膜筏、线粒体外膜等成分;MF 主要包括 DNA 结合转录因子、蛋白酶、磷酸酶结合等功能(图7)。根据 KEGG 分析揭示,凋亡、PI3K-AKT 信号通路等多种潜在通路可能为核心方抗 ICP 的关键调控途径,如图8所示。

3.6 分子对接

核心方中3个关键活性成分槲皮素(quercetin)、β-谷甾醇(beta-sitosterol)、芹菜素(apigenin)与11个核心靶点的结合能均 < -5 kcal/mol,如图9所示。结果表明,核心方活性成分与核心靶点具有优良结合能力而发挥抗 ICP 的作用。此外,对结合能最低的前4个对接结果进行可视化,如图10所示。

3.7 芹菜素对 HTR-8/SVneo 细胞活性的影响

如表2所示,与0 μmol/L API 比较,HTR-8/SV-neo 细胞经浓度 ≥40 μmol/L API 处理后细胞增殖产生降低趋势,且 API(≥80 μmol/L)时可显著抑制细胞活性(P < 0.05);当 API(5 ~ 20 μmol/L)对 HTR-8/SVneo 细胞活性具有促增殖作用,但 API 浓度为 10、20 μmol/L 时具有统计学意义(P < 0.05, P < 0.01)。故后续实验选择(10、20 μmol/L) API 进行相关研究。

3.8 芹菜素对 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞活性的影响

如表3所示,与 NC 组比较,TCA 组细胞活性显著降低(P < 0.01);与 TCA 组比较,API 可显著改善 HTR-8/SVneo 细胞活性,并在 20 μmol/L 时发挥最

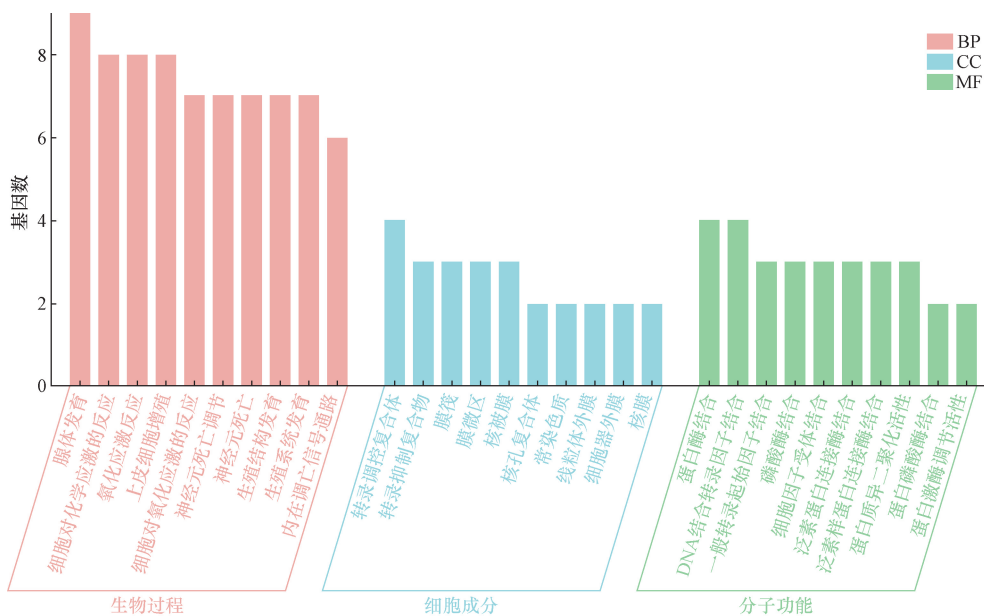


图7 核心靶点 GO 富集分析图

Fig. 7 GO enrichment analysis diagram of core targets

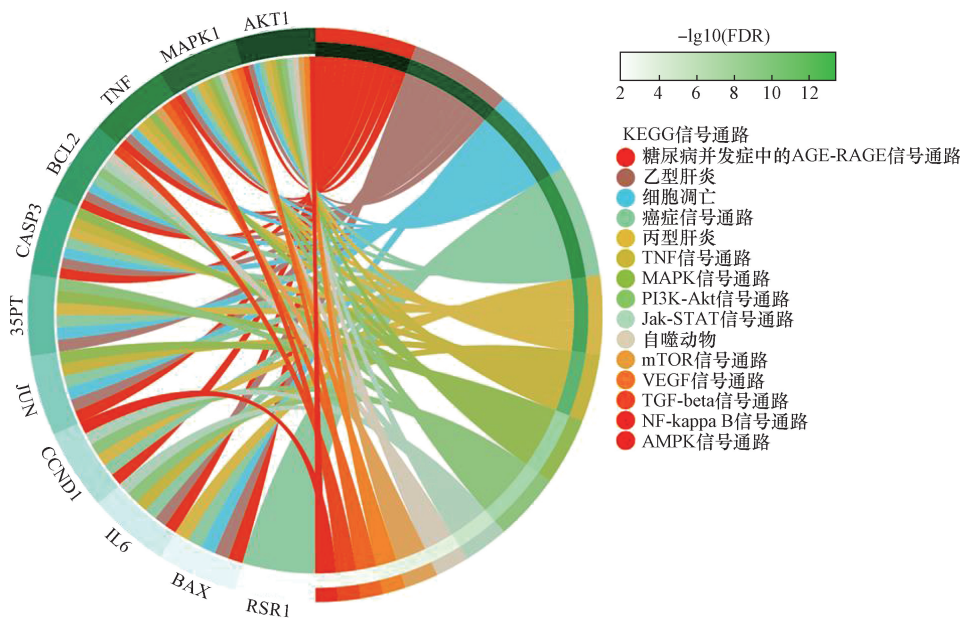


图8 核心靶点 KEGG 富集分析图

Fig. 8 KEGG enrichment analysis diagram of core targets

表2 API 对 HTR-8/SVneo 细胞活性的影响

Table 2 Effect of API on HTR-8/SVneo cell viability

API 浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞活性/%
0	100.00 \pm 0.08
5	100.57 \pm 8.88
10	115.84 \pm 11.09*
20	136.41 \pm 4.50**
40	105.02 \pm 8.30
80	87.57 \pm 3.97*

注:数值为 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$;与 0 $\mu\text{mol/L}$ API 比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。

表3 API 对 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞活性的影响

Table 3 Effect of API on TCA-induced HTR-8/SVneo cell viability

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞活性/%
NC 组	—	100.00 \pm 0.03
TCA 组	100	58.07 \pm 3.28**
10-API 组	10	64.69 \pm 1.50#
20-API 组	20	75.76 \pm 2.08##

注:数值为 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$;—表示 HTR-8/SVneo 细胞培养基未添加实验药物;与 NC 组比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 TCA 组比较,#表示 $P < 0.05$,##表示 $P < 0.01$ 。

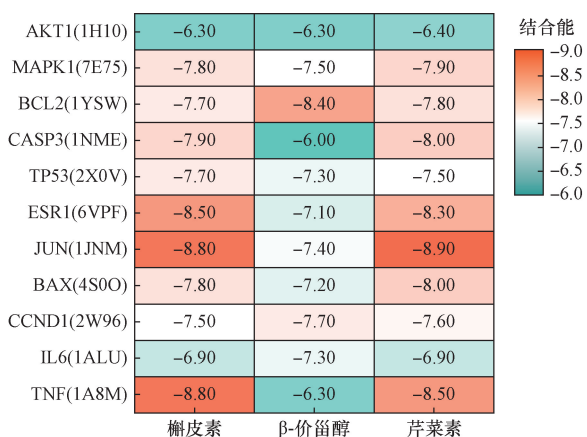


图9 活性成分与核心靶点的分子对接热图
Fig.9 Heatmap of molecular docking of active ingredients and key targets

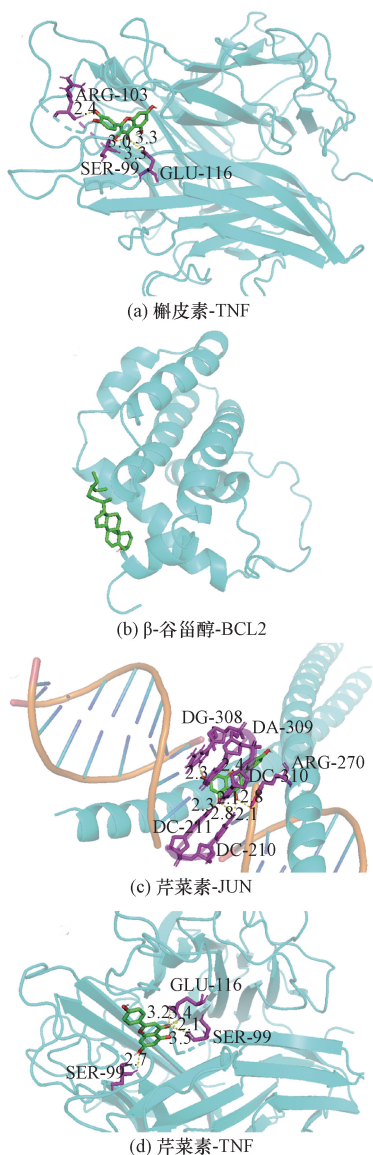


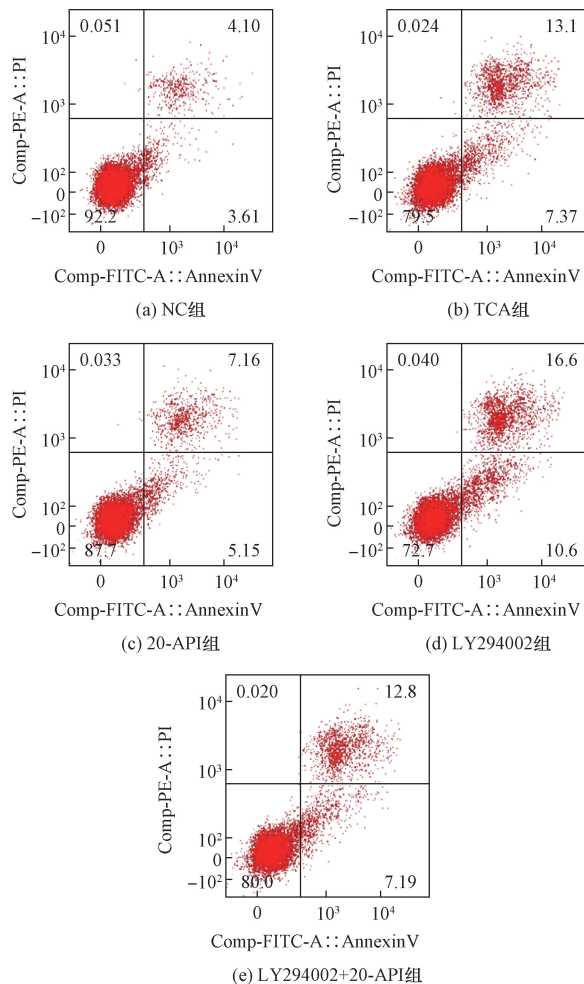
图10 部分分子对接结果可视化图

Fig.10 Visualization diagram of part of molecular docking results

佳保护效应($P < 0.01$)。故选定 $20 \mu\text{mol/L}$ API 为后续实验研究剂量。

3.9 芹菜素对 TCA 诱导后 HTR-8/SVneo 细胞凋亡的影响

如图 11 和表 4 所示, TCA 损伤 HTR-8/SVneo 细胞后凋亡率显著高于 NC 组($P < 0.01$), 经 API 干



数值为 $\bar{x} \pm s, n = 3$

图11 API 对 TCA 诱导后 HTR-8/SVneo 细胞凋亡的影响

Fig.11 Effect of API on TCA-induced apoptosis in HTR-8/SVneo cells

表4 API 对 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞凋亡的影响
Table 4 Effect of API on TCA-induced apoptosis in HTR-8/SVneo cells

组别	浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	细胞凋亡率/%
NC 组	—	7.33 ± 1.52
TCA 组	100	$22.58 \pm 1.87^{**}$
20-API 组	20	$12.33 \pm 3.55^{##}$
LY294002 组	5	25.61 ± 2.92
LY294002 + 20-API 组	5 + 20	$20.72 \pm 2.33^{\blacktriangle}$

注:数值为 $\bar{x} \pm s, n = 3$;与 20-API 组比较, \blacktriangle 表示 $P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle$ 表示 $P < 0.01$; $**$ 表示 $P < 0.01$; — 表示 HTR-8/SVneo 细胞培养基未添加实验药物。

预后细胞凋亡率减少 ($P < 0.01$), 但加入 LY294002 后, API 的抗凋亡作用被逆转 ($P < 0.05$)。

3.10 芹菜素对 HTR-8/SVneo 细胞 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、Bcl-2、Bax 表达的影响

如图 12 和表 5 所示, 与 NC 组相较, TCA 组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白表达减少 ($P < 0.05$), Bax/Bcl-2 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$); 与 TCA 组相较, API 组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$), Bax/Bcl-2 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), LY294002 组 p-PI3K/PI3K、Bax/Bcl-2 蛋白表达减少 ($P < 0.01, P < 0.05$), p-AKT/AKT 蛋白表达减少但无统计学意义 ($P > 0.05$); 而 LY294002 处理后, API 对 p-PI3K/PI3K、Bax/Bcl-2、p-AKT/AKT 的蛋白表达水平被逆转 ($P < 0.01, P < 0.05$)。

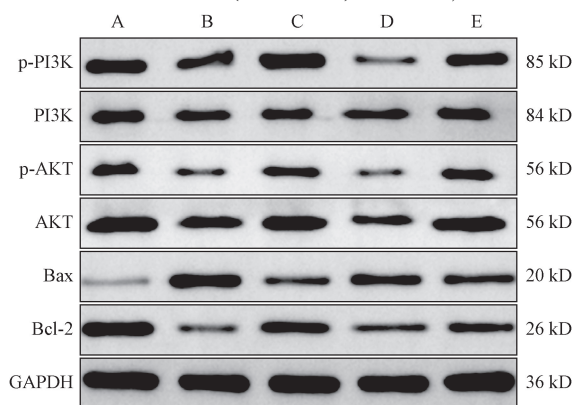


图 12 各组 HTR-8/SVneo 细胞 p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、Bax、Bcl-2 蛋白表达

Fig. 12 p-PI3K, PI3K, p-AKT, AKT, Bax, and Bcl-2 protein expression in HTR-8/SVneo cells of each group

4 讨论

ICP 是一种主要由高胆汁酸所引起滋养细胞功能失调的妊娠期并发症, 可显著增加肝胆疾病、不良围产期结局等风险, 并对女性身心健康和国家“三孩生育政策”的实施产生重要影响^[20]。研究表明^[21], 中药(包括其活性成分)在 ICP 治疗中具有安

全、经济、副作用少的独特优势, 其中黄芩-白术药对具有清热燥湿、健脾益气、安胎等功效, 常作为中医药治疗 ICP 的经典高频药对。然而, 迄今对含黄芩-白术药对治疗 ICP 的方药规律和作用机制的研究较少。因此, 本文研究纳入 68 篇含“黄芩-白术”药对治疗 ICP 的临床试验类文献资料进行方药规律和核心方的 R 语言数据挖掘, 并引入网络药理学、分子对接和体外实验相结合的交叉研究方法, 便于将经验传承和产品转化付诸于真实世界的临床实践环境。

对 68 首 ICP 方剂进行数据挖掘分析表明, 清热类(茵陈、黄芩、栀子)、利水渗湿类(茯苓、泽泻)、补虚类(白术、甘草)等药物频次较高, 并以归脾经、肝经、寒性、苦味的中药为主。ICP 病机之关键为湿热, 在妊娠期间, 由于产妇过多食用滋补油腻之品或少有活动, 机体脾胃运化失常而多湿热内蕴, 故应用清热、渗湿、补虚, 归脾经的药物治 ICP 可谓药证相符。进一步基于 Apriori 算法探究中药治疗 ICP 的药物组合, 其中茵陈、栀子、大黄、茯苓与黄芩-白术药对构成了治疗 ICP 的核心组方药物。此配伍可视为黄疸名方“茵陈蒿汤”和“安胎圣药”的加减方。既往研究也表明^[22], 茵陈具有清解湿热、保肝利胆、抗氧化及抑制炎症应激的效用, 并可有效维持机体中 1 型 T 辅助细胞 (T helper cell 1, Th1)/Th2 的平衡, 从而增强母胎免疫耐受, 显著减少死胎、流产的风险; 栀子提取物通过参与多种胆汁酸转运体和肝-肠-粪便途径, 对胆汁淤积性肝损伤发挥保护作用^[23]; 大黄可调控核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 信号通路, 改善氧化应激损伤和胆汁酸代谢而发挥抗胆汁淤积作用^[24]; 茯苓中的活性成分茯苓多糖, 因其抗炎和抗氧化特性, 对妊娠期肝损伤具有潜在的有益功效^[25]。另外, 基于肘部法 K-means 算法获取 4 个潜在核心类方组合, 其中分组 4 相对独立且更符合医家对 ICP 的诊疗学术思想。方中茵陈、栀子、大黄三者共奏清热祛湿、疏肝益气, 合用黄芩-白术健脾安胎之疗效, 与 ICP 治疗清热利湿为主, 兼以补虚活血、益气健脾、安胎的基

表 5 API 对 HTR-8/SVneo 细胞 p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

Table 5 Effect of API on protein expression levels of PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, Bcl-2, and Bax in HTR-8/SVneo cells

组别	浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT	Bax/Bcl-2
NC 组	—	1.24 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.20 ± 0.01
TCA 组	100	1.11 ± 0.02*	0.40 ± 0.01*	2.76 ± 0.16**
20-API 组	20	1.91 ± 0.07###	0.61 ± 0.06###	0.62 ± 0.02###
LY294002 组	5	0.49 ± 0.13###	0.38 ± 0.12	1.78 ± 0.05#
LY294002 + 20-API 组	5 + 20	1.25 ± 0.01▲▲	0.55 ± 0.07▲	1.09 ± 0.08▲▲

注: 数值为 $\bar{x} \pm s, n=3$; —表示 HTR-8/SVneo 细胞培养基未添加实验药物; 与 NC 组比较, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$; 与 TCA 组比较, # 表示 $P < 0.05$, ### 表示 $P < 0.01$; 与 20-API 组比较, ▲ 表示 $P < 0.05$, ▲▲ 表示 $P < 0.01$ 。

本治则相契合^[26]。因此,基于频数统计、Apriori 算法、K-means 算法最终确定茵陈-大黄-栀子-黄芩-白术-茯苓为治疗 ICP 的核心方,其作用机制和理法方药值得进一步深入探究。

对核心方中药进行网络药理学研究表明,方中槲皮素、 β -谷甾醇、芹菜素等活性成分与大多数 ICP 靶点相互作用,并被确认为核心方的关键活性化合物。既往药理研究表明,槲皮素是一种结构类似雌激素的类黄酮化合物,可对雌激素发挥双向调节作用,并对法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)信号通路相关蛋白表达激活而具有保肝利胆的功能,但因对滋养细胞的毒性而可能限制其临床应用^[27]。 β -谷甾醇作为常见的植物甾醇,可促进产妇分泌 Th1 以维持正常妊娠免疫状态的 Th1/Th2 平衡,并可抑制氨基转移酶活性和炎症介质释放而减轻细胞凋亡^[28-29]。研究表明^[30],芹菜素可对滋养细胞凋亡、氧化应激及肝损伤等生物过程发挥显著保护作用。对生殖系统而言,芹菜素常作为黄芩、女贞子、益母草等保胎中药的有效活性成分,并在妊娠期糖尿病^[31]、子痫前期^[32]等 HTR8-SVneo 细胞模型研究中均显示出潜在的损伤保护效应,这进一步揭示了芹菜素在妊娠期疾病中的潜在治疗价值,但其是否对 TCA 诱导的 ICP 模型尚不明确。本文研究结果表明,芹菜素可改善 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞的活性,发挥对 TCA 致细胞损伤的保护效应,这与既往相关研究结果相似^[32]。另外,利用 Cyto-Hubba 插件获取 MAPK1、BCL2、AKT1、IL-6 等 11 个核心靶点,这可能是 ICP 发生和进展的关键靶标。人类胎盘的发育完全依赖于滋养层细胞的正常分化、增殖和侵袭,而 HTR-8/SVneo 细胞的生理功能受损可导致严重的妊娠并发症。其中 HTR-8/SVneo 细胞经 MAPK1 抑制剂 U0126 处理后,细胞的迁移能力及炎症反应均有所改善,这表明丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路可能参与胎盘的侵袭异常、炎症反应等病理过程^[33-34];AKT1 是 PI3K-AKT 信号通路的关键蛋白,通过啮齿动物和人类滋养层细胞的研究发现,AKT1 与胎盘滋养层细胞的侵袭、凋亡等生理功能有关,其中 AKT1 信号通路失调可导致复发性流产、先兆子痫和不孕等不良围产结局^[35]。此外,分子对接也进一步印证,核心方中的 3 种关键活性化合物与 11 个核心靶点结合良好,具有优良的治疗 ICP 潜力。

ICP 是一种病因复杂的病症,其中高胆汁酸对滋养细胞的毒性和凋亡等机制被视为是 ICP 进展过程中的关键诱因,并对氧化应激、炎症因子释放等

过程起到了显著的促进作用^[36]。本文中研究的 GO 功能富集分析表明,在 BP、CC、MF 方面,ICP 参与凋亡、线粒体外膜和磷酸酶结合等生理和病理过程,这与 ICP 的发病机制相一致^[37]。KEGG 通路富集分析提示,凋亡、PI3K-AKT 等信号通路可能在核心方治疗 ICP 的生物学过程具有关键性作用。研究表明^[38],胎盘滋养细胞凋亡在妊娠期各种生殖疾病的发病机制中发挥了重要作用,若滋养细胞的增殖与凋亡动态平衡被破坏时,则可能引起胚胎发育异常、自然流产等并发症。因此,抑制 HTR-8/SVneo 细胞凋亡是妊娠期疾病的重要干预策略。既往研究表明,由于易感的遗传和环境因素,ICP 患者和动物模型的胎盘滋养细胞均存在过度凋亡,并与胆汁酸水平的异常增加密切相关^[39],这可能是 ICP 产生不良妊娠结局的病理生理机制。因此,利用胆汁酸类似物 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞模拟 ICP 高胆汁酸微环境进行凋亡机制的相关研究。本文研究中,HTR-8/SVneo 细胞经 TCA 诱导后细胞活性显著降低($P < 0.01$),且凋亡率和 Bax/Bcl-2 表达增加($P < 0.01$),经芹菜素干预后细胞活性增加可能是异常凋亡被抑制所引起的。另有研究表明,细胞凋亡的诱导与调控机制需要多种信号途径的共同参与,而 PI3K-AKT 信号通路是其中最重要的信号传导通路,并参与 HTR-8/SVneo 细胞的 AKT 级联激活进程和凋亡相关因子 Bax、Bcl-2 的释放^[40]。既往研究表明,胎盘滋养细胞激活 PI3K-AKT 信号通路后,Bax/Bcl-2 蛋白表达量减少而抑制 HTR-8/SVneo 细胞凋亡,可促进细胞增殖,并改善复发性流产、妊娠期糖尿病等产科并发症^[41-42]。因此,本文研究进一步探究 PI3K-AKT 信号通路在芹菜素对 TCA 诱导 HTR-8/SVneo 细胞凋亡中的作用机制。本研究结果表明,HTR-8/SVneo 细胞经 TCA 诱导后 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白表达降低($P < 0.05$),经芹菜素干预后 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白表达增加($P < 0.01$),Bax/Bcl-2 蛋白表达减少($P < 0.01$),而 PI3K 抑制剂 LY294002 预处理可逆转芹菜素的抗凋亡作用。由此可知,芹菜素对 HTR-8/SVneo 细胞凋亡抑制而具有治疗 ICP 的潜力,其机制可能与激活 PI3K-AKT 信号通路有关。

5 结论

综上所述,运用 R 语言数据挖掘技术对含黄芩-白术药对治疗 ICP 的临床试验类文献进行了方药规律和核心方挖掘,并结合网络药理学和体外实验初步揭示了芹菜素对 HTR-8/SVneo 细胞的抗凋亡作用与 PI3K-AKT 信号通路相关。但由于 ICP 文献处

方、核心方活性成分和靶点信息更新仍在报道,而本细胞实验仅验证了核心方多活性成分中芹菜素的作用机制。因此,还需对其他活性成分和挖掘的中药方进行多方面体内外实验验证及临床研究评价。

参 考 文 献

- [1] Lee R H, Greenberg M, Metz T D, et al. Society for maternal-fetal medicine (SMFM) consult series #53: intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2020, 224(2): B2-B9.
- [2] 林丽娜, 陈晓燕, 丁仙红. 妊娠期肝内胆汁淤积症患者围生儿不良结局及影响因素分析[J]. *中国妇幼保健*, 2023, 38(8): 1471-1474.
Lin Lina, Chen Xiaoyan, Ding Xianhong. Analysis of perinatal adverse outcomes and influencing factors in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2023, 38(8): 1471-1474.
- [3] Zou S, Zou P, Wang Y, et al. ERp29 inhibition attenuates TCA toxicity *via* affecting p38/p53-dependent pathway in human trophoblast HTR-8/SVeno cells [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 676. DOI: 10.1016/j.abb.2019.108125.
- [4] 江杰妮. 妊娠期肝内胆汁淤积症胎盘滋养细胞中 Smac/DIABLO、XIAP 的表达及其与氧化应激、细胞凋亡的关系探讨 [D]. 南充: 川北医学院, 2018.
Jiang Jieni. Investigation on the expression of Smac/DIABLO and XIAP in human placental trophoblasts for those with intrahepatic cholestasis of pregnancy and their relationship with oxidative stress and apoptosis [D]. Nanchong: North Sichuan Medical College, 2018.
- [5] 刘佳琪, 曾常春, 梅武轩. 妊娠期肝内胆汁淤积症发病机制及治疗研究进展 [J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2023, 37(6): 548-552, 456.
Liu Jiaqi, Zeng Changchun, Mei Wuxuan. Progress in pathogenesis and treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Journal of Hubei University of Science and Technology (Medical Sciences Edition)*, 2023, 37(6): 548-552, 456.
- [6] 季顺欣, 冯晓玲. 黄芩、白术为安胎圣药之理论源流考释 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(11): 138-140.
Ji Shunxin, Feng Xiaoling. Research and explanation of the theoretical origin and evolution of Huangqin (*Scutellariae radix*) and Baizhu (*Atractylodes macrocephalae* Rhizoma) as the effective herbs for tocolysis [J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 24(11): 138-140.
- [7] Zhao L, Xiong M, Liu Y. Baicalin enhances the proliferation and invasion of trophoblasts and suppresses vascular endothelial damage by modulating long non-coding RNA NEAT1/miRNA-205-5p in hypertensive disorder complicating pregnancy [J]. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2021, 47(9): 3060-3070.
- [8] Li J, Wang Y, Wu T, et al. Baicalin suppresses high glucose-induced inflammation and apoptosis in trophoblasts by targeting the m-iRNA-17-5p-Mfn1/2-NF- κ B pathway [J]. *Placenta*, 2022, 121: 126-136.
- [9] 余甜. 白术对复发性流产模型小鼠免疫耐受安胎机制研究 [D]. 西安: 陕西中医药大学, 2023.
Yu Tian. Mechanism of immune tolerance of *Atractylodes macrocephala* on recurrent spontaneous abortion mice [D]. Xi'an: Shaanxi University of Chinese Medicine, 2023.
- [10] 曾秋霞, 谭伟兰, 陈霖. 中西医结合治疗妊娠期肝内胆汁淤积症的疗效观察 [J]. *中医临床研究*, 2021, 13(17): 103-105.
Zeng Qiuxia, Tan Weilan, Chen Lin. Effective observation on treating intrahepatic cholestasis of pregnancy in the integrative medicine [J]. *Clinical Journal of Chinese Medicine*, 2021, 13(17): 103-105.
- [11] 杨金玉. 基于 SIRT1 通路探究黄芩苷对胆汁淤积大鼠肝损伤的保护作用机制 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2022.
Yang Jinyu. Exploring the protective mechanisms of baicalin against cholestatic liver injury in rats based on SIRT1 pathway [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2022.
- [12] 王兆军, 张志芳. 近十年来中药药对研究进展 [J]. *内蒙古中医药*, 2023, 42(9): 151-154.
Wang Zhaojun, Zhang Zhifang. Research progress of Chinese medicine pairs in recent ten years [J]. *Inner Mongolia Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2023, 42(9): 151-154.
- [13] 庄培钧, 郝二伟, 李泽宇, 等. 基于文献挖掘技术的海洋中药药对“石决明-牡蛎”应用规律及作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(19): 211-219.
Zhuang Peijun, Hao Erwei, Li Zeyu, et al. Application regularity and mechanism of Chinese marine drug pair *Haliotidis concha-Oyster concha* based on literature mining technology [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2023, 29(19): 211-219.
- [14] 王普. 基于中医传承辅助平台挖掘妊娠期肝内胆汁淤积症的用药规律及证型分布 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2023.
Wang Pu. Explore the medication and symptomatic distribution of traditional Chinese medicine for the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy based on the traditional Chinese inheritance support system (TCMISS) [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2023.
- [15] 何霄, 金学连, 康晓娜, 等. 基于隐结构和网络药理学探讨泛血管疾病用药证型及作用机制 [J]. *科学技术与工程*, 2024, 24(18): 7574-7583.
He Xiao, Jin Xuelian, Kang Xiaona, et al. To explore the drug syndrome types and mechanism of perivascular disease based on hidden structure and network pharmacology [J]. *Science Technology and Engineering*, 2024, 24(18): 7574-7583.
- [16] 李丁艾, 孙兆泉, 尚军. 基于数据挖掘和网络药理学探讨川贝母治疗肺系疾病的核心中药和机制 [J]. *科学技术与工程*, 2023, 23(27): 11550-11561.
Li Dingai, Sun Zhaoquan, Shang Jun. To explore the core Chinese medicine and mechanism of *Fritillariae Cirrhosae Bulbus* in the treatment of pulmonary diseases based on data mining and network pharmacology [J]. *Science Technology and Engineering*, 2023, 23(27): 11550-11561.
- [17] 温晓雅. 滋肾育胎丸质量标准建立及其治疗复发性流产的机制研究 [D]. 宜春: 宜春学院, 2022.
Wen Xiaoya. Study on quality standard of Zishen Yutai Pill and its mechanism in the treatment of recurrent spontaneous abortion [D].

- Yichun: Yichun University, 2022.
- [18] 王芳, 黄荣, 谢恺俐. 妊娠期肝内胆汁淤积症中 Beclin2 通过介导自噬对滋养细胞凋亡的影响[J]. 中华细胞与干细胞杂志, 2021, 11(3): 171-178.
Wang Fang, Huang Rong, Xie Kaili. Effects of Beclin2 on trophoblast apoptosis by mediating autophagy in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Chinese Journal of Cell and Stem Cell, 2021, 11(3): 171-178.
- [19] 高一博. 表皮生长因子通过 KISS-1 调控人胎盘滋养层细胞侵袭的机制研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2022.
Gao Yibo. The molecular mechanism study of epidermal growth factor to regulate human trophoblast cell invasion by downregulating KISS-1 expression[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2022.
- [20] Olujimi P O, Oluwatobi P O, Olamide O O, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with increased risk of hepatobiliary disease and adverse fetal outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. *iLI-VER*, 2023, 2(4): 219-226.
- [21] 甄玉花, 凌静, 杜雪莲. 中医治疗妊娠期肝内胆汁淤积症的进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(15): 201-205.
Zhen Yuhua, Ling Jing, Du Xuelian. Progress of traditional Chinese medicine in treating intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Chinese Medicine Modern Distance Education of China, 2023, 21(15): 201-205.
- [22] 杨旭波. 茵陈蒿汤加味对妊娠期肝内胆汁淤积症患者 Th1/Th2 平衡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(17): 1885-1887, 1891.
Yang Xunbo. Effect of modified Yinchenhaodecoction on Th1/Th2 balance in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2019, 28(17): 1885-1887, 1891.
- [23] 秦莎莎. 栀子提取物改善胆汁淤积性肝损伤的作用机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2023.
Qin Shasha. Study on the mechanism of ameliorated cholestatic liver injury in used gardenia extract[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2023.
- [24] 张英, 侯伟娜, 孙琦, 等. 大黄免煎颗粒对 α -萘异硫氰酸酯诱导的肝内胆汁淤积大鼠氧化应激损伤的修复及核因子 κ B 通路的调节作用研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(6): 680-683.
Zhang Ying, Hou Weina, Sun Qi, et al. Repair of oxidative stress injury and regulation of nuclear factor κ B pathway in rats with α -naphthalene isothiocyanate-induced intrahepatic cholestasis by Dahuang granule prescription [J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2022, 22(6): 680-683.
- [25] 杨娜, 肖颖, 刘静云. 茯苓多糖调控 SIRT1/FOXO3a 通路对妊娠糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2022, 30(8): 1371-1375.
Yang Na, Xiao Ying, Liu Jingyun. Impact of Poria polysaccharides on insulin resistance in gestational diabetic rats by regulating SIRT1/FOXO3a pathway[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2022, 30(8): 1371-1375.
- [26] 刘敏, 徐涛, 陈森, 等. 基于数据挖掘分析妊娠期肝内胆汁淤积症用药规律[J]. 云南中医中药杂志, 2020, 41(2): 25-29.
Liu Min, Xu Tao, Chen Miao, et al. Analyze the drug application regularity in intrahepatic cholestasis of pregnancy based on data mining[J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2020, 41(2): 25-29.
- [27] 吕歆, 张香军, 尚俊梅, 等. 槲皮素通过 FXR 信号通路对胆汁淤积幼鼠的治疗作用及其对 MDR3、MRP2、OATP2 表达的调控研究[J]. 吉林中医药, 2021, 41(7): 924-929.
Lü Xin, Zhang Xiangjun, Shang Junmei, et al. Study on the therapeutic effect of quercetin on cholestatic young rats through the FXR signaling pathway and the regulation of MDR3, MRP2 and OATP2 expression[J]. Jilin Journal of Chinese Medicine, 2021, 41(7): 924-929.
- [28] Liu Y, Li W, Qian J, et al. Serum phytosterols associate with T helper 1 cytokine concentration in pregnant women [J]. Food Science and Nutrition, 2020, 8(7): 3893-3899.
- [29] Abo-Zaid O A, Moawad F S, Ismail E S, et al. β -sitosterol mitigates hepatocyte apoptosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress in thioacetamide-induced hepatic injury in γ -irradiated rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2023, 172: 113602-113608.
- [30] Bi C, Han W, Yu J, et al. Insights into the pharmacological and therapeutic effects of apigenin in liver injuries and diseases [J]. Heliyon, 2023, 9(5): e15609-e15609.
- [31] 陈雪宁, 黄河, 蔡志善, 等. 芹菜素对妊娠期糖尿病大鼠内质网应激 CHOP 信号通路的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(2): 45-50.
Chen Xuening, Huang He, Cai Zhishan, et al. Effect of apigenin on the endoplasmic reticulum stress-CHOP signaling pathway in gestational diabetic rats [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2021, 31(2): 45-50.
- [32] 王光祖, 王少敏, 乔素兰, 等. 芹菜素调节 AMPK/mTOR 通路对子痫前期胎盘滋养细胞自噬的影响研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(8): 1394-1401.
Wang Guangzu, Wang Shaomin, Qiao Sulan, et al. Effects of apigenin on autophagy of placental trophoblast cells in preeclampsia by regulating AMPK/mTOR pathway [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2023, 43(8): 1394-1401.
- [33] Marilyn P, Elena F, Enzo S, et al. Comparing effects and action mechanisms of BPA and BPS on HTR-8/SVneo placental cells [J]. Biology of Reproduction, 2021, 105(5): 1355-1364.
- [34] 崔佳蕾. ATF2、DUSP1 通过调节 MAPK1 在子痫前期患者胎盘组织中的表达及临床意义[D]. 太原: 山西医科大学, 2020.
Cui Jialei. Expression and clinical significance of ATF2 and DUSP1 in placental tissues of patients with preeclampsia by regulating MAPK1 [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2020.
- [35] Kozai K, Moreno-Irusta A, Iqbal K, et al. The AKT1-FOXO4 axis reciprocally regulates hemochorial placentation [J]. Development, 2023, 150(2): 1-11.
- [36] 王海臻. 高胆酸介导的 mTOR 信号通路活化引起内质网应激在妊娠期肝内胆汁淤积症中的作用及机制[D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
Wang Haizhen. mTOR activation triggers the endoplasmic reticulum stress by bile acid in intrahepatic cholestasis of pregnancy [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2019.
- [37] 胡珊, 熊光武. 妊娠胆汁淤积症发病机制的研究进展[J]. 重

- 庆医学, 2019, 48(21): 3729-3734.
- Hu Shan, Xiong Guangwu. Study on progress in pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Chongqing Medicine, 2019, 48(21): 3729-3734.
- [38] 纪龙花, 韩毓, 陈莲芳, 等. LncRNA NEAT1 通过靶向 miR-103a-3p/SDF2 轴调节滋养层细胞增殖、凋亡和侵袭[J]. 现代妇产科进展, 2023, 32(3): 171-176.
- Ji Longhua, Han Yu, Chen Lianfang, et al. LncRNA NEAT1 regulates the proliferation apoptosis and invasion of trophoblast cells by targeting miR-103a-3p/SDF2 axis[J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2023, 32(3): 171-176.
- [39] Wang G, Dong R, Zhao H, et al. The role of ERp29/FOS/EMT pathway in excessive apoptosis of placental trophoblast cells in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Placenta, 2024, 148: 20-30.
- [40] Li Z, Zhou G, Jiang L, et al. Effect of STOX1 on recurrent spontaneous abortion by regulating trophoblast cell proliferation and migration via the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 120(5): 8291-8299.
- [41] 宋亚静, 马玉聪, 杜惠兰. PI3K-AKT 信号通路在复发性流产的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(19): 2876-2880.
- Song Yajing, Ma Yucong, Du Huilan. Research progress of PI3K-AKT signaling pathway in recurrent spontaneous abortion[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2023, 39(19): 2876-2880.
- [42] 胡志兰. 积雪草苷通过 PI3K-Akt 信号通路缓解高糖诱导 HTR-8/SVneo 细胞损伤机制的初步研究[D]. 成都: 西南医科大学, 2024.
- Hu Zhilan. A preliminary study on the mechanism by which asiaticoside alleviates HTR-8/SVneo cell damage through the PI3K-Akt pathway[D]. Chengdu: Southwest Medical University, 2024.