DOI:10.16016/j.2097-0927.202312145

梓醇对肝肺综合征大鼠肝肺损伤的保护作用研究

曾子洋[1],雷雨豪[1],吴宪锋[1],宋艾璘[2],杨纯勇[1],杨智勇[1],李雨捷[1],易 斌[1] 40038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院麻醉科[1];400021 重庆,重庆市中医院麻醉科[2]

[**摘要**] **目的** 探索梓醇通过增强 TGR5 表达和降低肝胆汁酸水平对胆总管结扎术(CBDL)大鼠肺损伤的保护作用。**方法** 将大鼠随机分为三组[Sham 组、CBDL 组和梓醇(Catalpol)组],评估生存率、动脉血氧分压(PO_2)和肺泡-动脉血氧分压差 P(A-a)O_2、肝功能、肝肺组织病理变化差异;进一步分析胆汁酸表达水平和 TGR5 的关系以及相关机制。**结果** 梓醇治疗改善 CBDL 导致的肝功能损伤,提高 CBDL 的生存率和改善了低氧血症;减少了肝、肺血管新生。同时,梓醇通过增强 TGR5 和降低 FXR 的表达,减轻 BAs 水平过高引起肺损伤。**结论** 梓醇通过上调 TGR5 和降低 FXR 的表达,改善 BAs 水平过高引起的肺损伤,发挥对 CBDL 大鼠的肝肺保护作用。

[**关键词**] 肝肺综合征(HPS);梓醇;TGR5; BAs

[**中图法分类号**] R282.71; R285.5; R575 [**文献标志码**] A

Catalpol protects hepatopulmonary syndrome rats against liver and lung injury

ZENG Ziyang[1], LEI Yuhao[1], WU Xianfeng[1], SONG Ailin[2], YANG Chunyong[1], YANG Zhiyong[1], LI Yujie[1], YI Bin[1]

[1]Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Department of Anesthesiology, Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing, 400021, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the protective effect of catalpol by enhancing TGR5 expression and reducing bile acid (BAs) level against liver and lung injury in rats with common bile duct ligation (CBDL). **Methods** Fifty male rats were randomly divided into sham-operation group ($n=10$), CBDL group ($n=20$) and catalpol group ($n=20$). The survival rate, arterial partial pressure of oxygen (PO_2) and alveolar and arterial PO_2 gradient difference [P(A-a)O_2], liver function, and pathological changes in the liver and lungs. The relationship between bile acid level and TGR5 was analyzed. **Results** Catalpol ameliorated liver function damage, improved survival rate and hypoxemia induced by CBDL. It also reduced angiogenesis in the liver and lung. Meanwhile, catalpol mitigated lung injury caused by excessive BAs levels through enhancing TGR5 expression and reducing FXR expression. **Conclusion** The protective effects of catalpol on CBDL lung injury caused by excessive BAs levels through enhancing TGR5 expression and reducing FXR expression.

[**Key words**] hepatopulmonary syndrome; catalpol; TRGR5; bile acids

Supportedby the National Natural Science Foundation of China (82070630, 82100658) and the General Program of Chongqing Science and Technology Commission (cstc2019jcyj-msxmX0667). Corresponding author: YI Bin, E-mail:yibin1974@163.com

[**基金项目**] 国家自然科学基金(82070630,82100658);重庆市科技局面上项目(cstc2019jcyj-msxmX0667)

[**通信作者**] 易 斌,E-mail:yibin1974@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

肝硬化是由肝炎、酒精、药物等损伤因素造成的慢性晚期肝病。中国大约有7000万人患有肝硬化[1]。缺乏早期有效干预来减缓疾病进展,将导致肝硬化和肝肺综合征(HPS)等多器官并发症,甚至死亡[2,3]。HPS表现为肺内血管扩张(TPVD)和肺血管新生(PPA)而出现的全身低氧血症,发生率约在5%-30%的终末期肝硬化患者[4-6]。在HPS中,IPVD和PPA导致通气-血流灌注不匹配和动静脉分流,被认为是引起缺氧血症的主要病理改变[7-8]。研究发现导致IPVD和PPA改变是多种细胞因子共同作用的结果,目前的研究多集中于抑制一氧化氮生成、血管内皮生长因子(VEGF)、胎盘生长因子(PLGF)、缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)和金属蛋白酶(MMPs)在内的多种血管活性物质的作用[6,9-11],但临床试验中用于抑制血管新生的药物并不能显著改善HPS患者的低氧血症,反而降低了HPS患者的生存质量。因此,针对HPS发病机制复杂,损伤因素多样化等原因,急需寻找新的治疗靶点治疗HPS患者肺损伤。

传统中药地黄由于具有"保肝作用",几千年来一直被用于中医临床实践中治疗肝病。梓醇是地黄中提取得到主要活性成分环烯醚萜单糖苷,已被证明对肝脏疾病和相关并发症具有保护作用,前景广阔。梓醇具有多种生物学作用,包括抵抗氧化应激[12-14]、抗炎[15-16]和抑制癌细胞迁移、增殖等作用[17-18],以及保护肝脏免受胆汁淤积性损伤[19]和改善肝纤维化[20]。此外,梓醇已被发现通过抑制VEGF信号通路降低肿瘤血管生成[21]。梓醇可通过抑制核因子κB的活化,降低BAs的高表达状态,改善大鼠牛磺胆酸诱导的急性肝损伤[22]。因此,梓醇在肝脏疾病中具有抗血管生成和调节BAs的作用。

然而,梓醇治疗HPS肝肺损伤的机制尚不清楚,梓醇是否能减轻胆汁淤积诱导的HPS也不清楚。在本研究中,我们特别感兴趣的是探索梓醇对CBDL大鼠肝损伤的保护作用,并研究梓醇对HPS肺的保护作用的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

研究方案和所有实验程序均已批准,并符合重庆市中医院动物研究委员会的方案(2021-DWSY-ZZY)。50只成年无特异性病原体雄性Sprague-Dawle(SD)大鼠(体质量230-330 g)购自第三军大学实验动物中心,饲养在医学实验动物中心内,通风适宜,温度22-25 ℃,每12个小时的明暗循环和自由获得食物和水。在实验开始前,动物适应新环境一周。将大鼠按随机数字表法分为三组:假手术组($n=10$)、CBDL组($n=20$)和梓醇组($n=20$)。所有有创操作均在麻醉下进行:通过小型动物麻醉机(RWD、R500IE,中国)麻醉动物,用2%七氟烷(RWD,R510-22,中国)吸入麻醉,切皮前用0.5%罗哌卡因(阿斯利康,英国)局部浸润,以最大限度地减少痛苦。假手术组大鼠游离胆总管但不结扎,而CBDL组通过我们团队之前报道的改良的胆总管结扎术进行了胆总管结扎(CBDL)[23]。CDBL手术后两周,CBDL组大鼠腹腔内注射梓醇(纯度98%以上,HPLC;CAS#2415-24-9,中国;5.0 mg/kg/d,用生理盐水溶液稀释后注射)三周。所有实验动物的标本在CBDL手术后5周采集。

1.2 实验流程

处死大鼠,从腹主动脉采集动脉血。部分动脉血在15 min内进行标准的血气分析(Radiometer ABL800 FLEX,Copenhagen,Denmark)。其余血液进行天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆汁酸(TBA)、丙氨酸转氨酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP)等肝生化检测,作为肝损伤的证据。在灌注肝素化生理盐水以清除循环中的血液后,对大鼠的肝脏、肺进行解剖。部分组织用于免疫组织化学和免疫荧光,其他组织储存在-80 ℃下。

1.3 苏木精和伊红染色

用4%多聚甲醛灌注后,用10%福尔马林固定肺和肝组织24 h,并包埋在石蜡中。标本切片在分级乙醇溶液中脱水。切片用苏木精和伊红染色,并用光学显微镜检查。

1.4 Masson三色染色(MTS)

应用Masson三色染色测定肝纤维化程度。根据METAVIR评分对肝脏损伤进行分类(F0:无纤维化,F1:汇管区纤维化,但纤维间隔形成,F2:汇管区纤维化,少量纤维间隔形成,F3:大量纤维间形成但无肝硬化,F4:肝硬化[24])。

1.5 免疫组织化学和免疫荧光染色

组织切片的免疫组化染色。首先对4 μm厚的石蜡切片进行脱蜡并进行热介导的抗原修复。切片暴露于3%H_2O_2的溶液中30 min以淬灭内源性过氧化物酶,然后是一抗:兔抗TGR5(1∶100,19003-1-AP,Proteintech),兔抗FXR(1∶100,19666,Abcam)在4 ℃下过夜。用PBS洗涤后,与HRP标记的山羊抗兔IgG(H+L)二

抗孵育 1 h。DAB 染色。苏木精复染细胞核,中性树脂密封。每个切片的 10 个代表性区域由对治疗组不知情的评估员随机选择。Image J 软件(美国)分析每张图片的 *OD* 值并进行统计。

免疫荧光染色,将 4 μm 切片孵育兔抗 CD31 抗体(1∶400, GB11063-2, Servicebio),兔抗 TGR5(1∶100, 19003-1-AP, Proteintech),兔抗 FXR(1∶100, 19666, Abcam)在 4°C 下过夜。用 PBS 洗涤后,二抗 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(H+L)一起孵育。切片用 Cy3 标记的山羊抗兔 IgG (H+L) 和 FITC 标记的山羊抗兔 IgG (H+L) 复染。DAPI(4,6-二脒基-2-苯基吲哚,荧光染色)染色细胞核。使用 Imager. A2(德国蔡司)显微镜检查切片。使用 ImageJ(https://imagej. nih. gov/ij/)对免疫荧光进行定量。对于每个免疫荧光切片,Pannoramic MIDI(3DHISTECH,匈牙利)随机选择了五个区域。通过 Image-Pro Plus 软件(6. 0 版, Media Cybernetics Inc,USA)计算每个高倍视野的 CD31 阳性细胞面积。

1.6 统计分析

本研究采用 SPSS software for Windows, V. 23. 0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) 和 GraphPad PRISM (version 8. 00; GraphPad Software, San Diego, California, USA)。进行数据统计分析。描述性数据如服从正态分布,采用均数±标准差表示;若不服从,则采用中位数及四分位数表示。数值型变量如服从正态分布采用单因素方差分析,当各组间方差齐性时,多重比较采用最小显著差法(Least Significance Difference Method,LSD),否则应用 Dunnett's T3 进行校正;若数值型变量不服从正态分布,采用 Kruskal-Wallis H 检验进行组间比较。本研究中,所有组的观察终点为 CBDL 术后 5 周,采用 Kaplan-Meier 法比较三组大鼠生存率差异。所有统计检验均为双侧,$P<0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 梓醇治疗显著改善 CBDL 大鼠生存率和减轻肝和肺组织纤维化

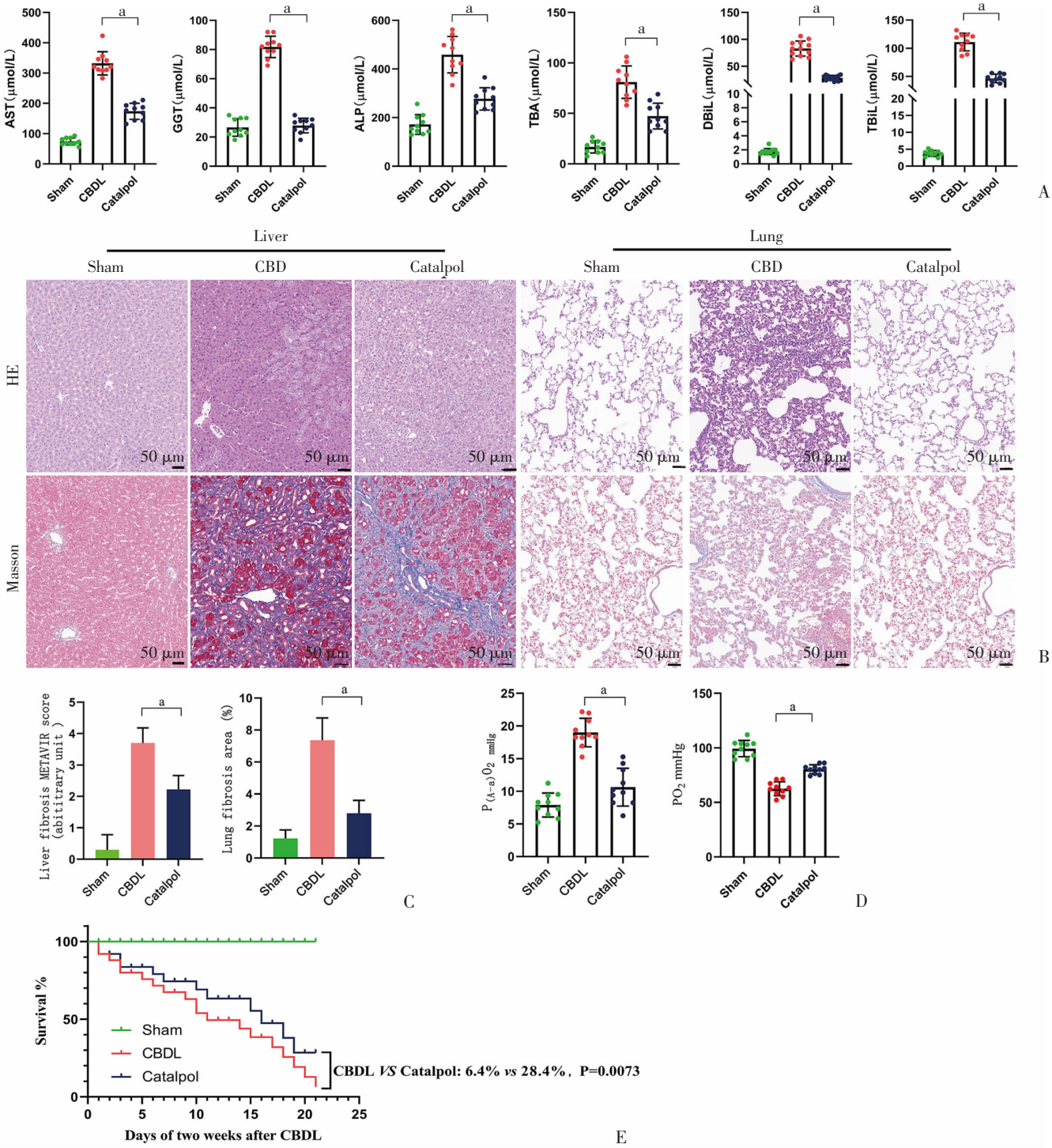
CBDL 大鼠模型被广泛用于 HPS 研究[25]。我们首先分析了梓醇对 CBDL 大鼠肝酶代谢的作用。与 CBDL 组相比,梓醇组的大鼠的血清肝损伤标志物水平(包括 ALT、AST、GGT、TBA 和 TBiL)降低(图 1A)。同时,肝和肺组织 HE 和 Masson 染色表明,梓醇减少 CBDL 诱导的肝和肺损伤。梓醇组 CBDL 大鼠肝、肺纤维化和血管新生显著减少(图 1B)。肝损伤的肝纤维化评分 METAVIR 和肺纤维化面积下降(图 1C)。与 CBDL 组相比,梓醇组动静脉血分压差($P_{(A-a)}O_2$)减小,氧分压(PaO_2)增加(图 1D)。研究表明梓醇治疗有效的逆转了 CBDL 导致的损伤。生存率分析显示梓醇组的生存率明显改善(CBDL vs Catalpol 6. 4% *vs* 28. 4%, $P=0.007\ 3$)(图 1E)。

2.2 梓醇组减少肝肺组织血管新生,降低了血浆胆汁酸水平

由于 CD31 是血管内皮细胞的标志物,因此我们通过观察 CD31 表达变化,评估梓醇组对肝肺组织血管新生的影响。免疫荧光分析结果显示,与 CBDL 组相比,梓醇治疗组 CD31 在肝组织的表达面积下降(Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol:0. 72% *vs* 7. 54% *vs* 3. 19%),在肺组织的表达面积也明显下降(Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol:0. 71% *vs* 5. 87% *vs* 2. 83%)(图 2A)。研究表明梓醇治疗后肝肺组织血管新生减少。我们进一步分析了血浆胆汁酸水平变化,梓醇治疗组的未结合胆汁酸和结合胆汁酸均明显下降,表明梓醇能降低 BAs,减轻 BAs 造成的肝和肺的损伤(胆酸:Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol: 15. 06 ng/mL *vs* 307. 9 ng/mL *vs* 68. 3 ng/mL;牛磺石胆酸:Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol: 0. 19 ng/mL *vs* 1. 58 ng/mL *vs* 0. 91 ng/mL)(图 2B)。

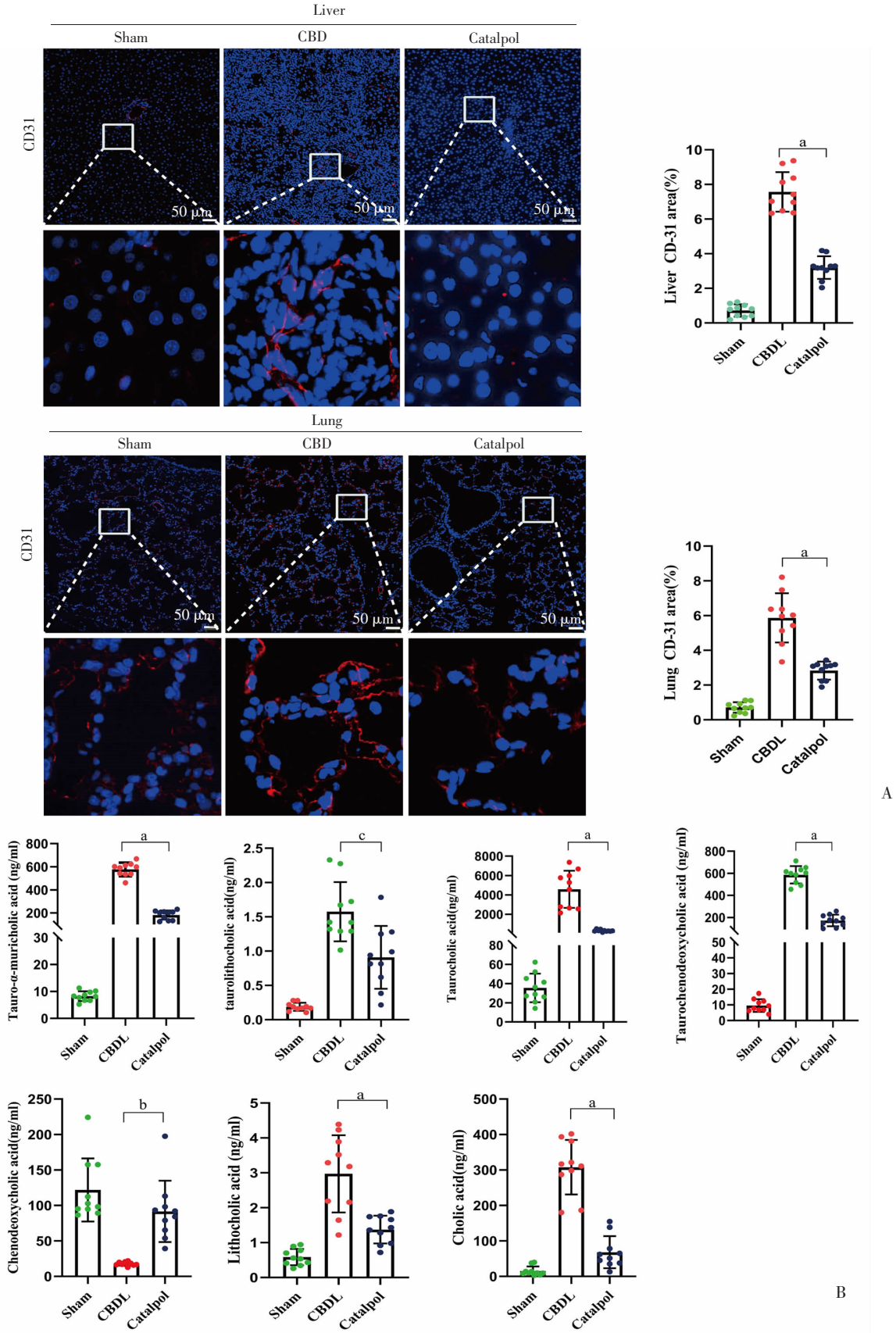
2.3 梓醇通过增强 TGR5 的表达降低胆汁酸水平并抑制 FXR 的表达发挥肝肺保护作用

我们评估了对照组、CBDL 组和梓醇治疗组的胆汁酸受体表达变化。与对照组相比,CBDL 组的 TGR5 表达明显下降,而 FXR 表达上升,梓醇治疗后 TGR5 在肝和肺组织的表达增加,同时 FXR 表达下降(肝 TGR5 蛋白水平:Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol:3 768 ng/mL *vs* 1 242 ng/mL *vs* 2 251 ng/mL;肺 TGR5 蛋白水平:Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol:1 094 ng/mL *vs* 185. 8 ng/mL *vs* 782. 4 ng/mL;肝 FXR 蛋白水平:Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol:304. 9 ng/mL *vs* 956. 6 ng/mL *vs* 550. 7 ng/mL;肺 FXR 蛋白水平:Sham *vs* CBDL *vs* Catalpol:202. 6 ng/mL *vs* 304. 4 ng/mL *vs* 155. 4 ng/mL)(图 3A-I)。



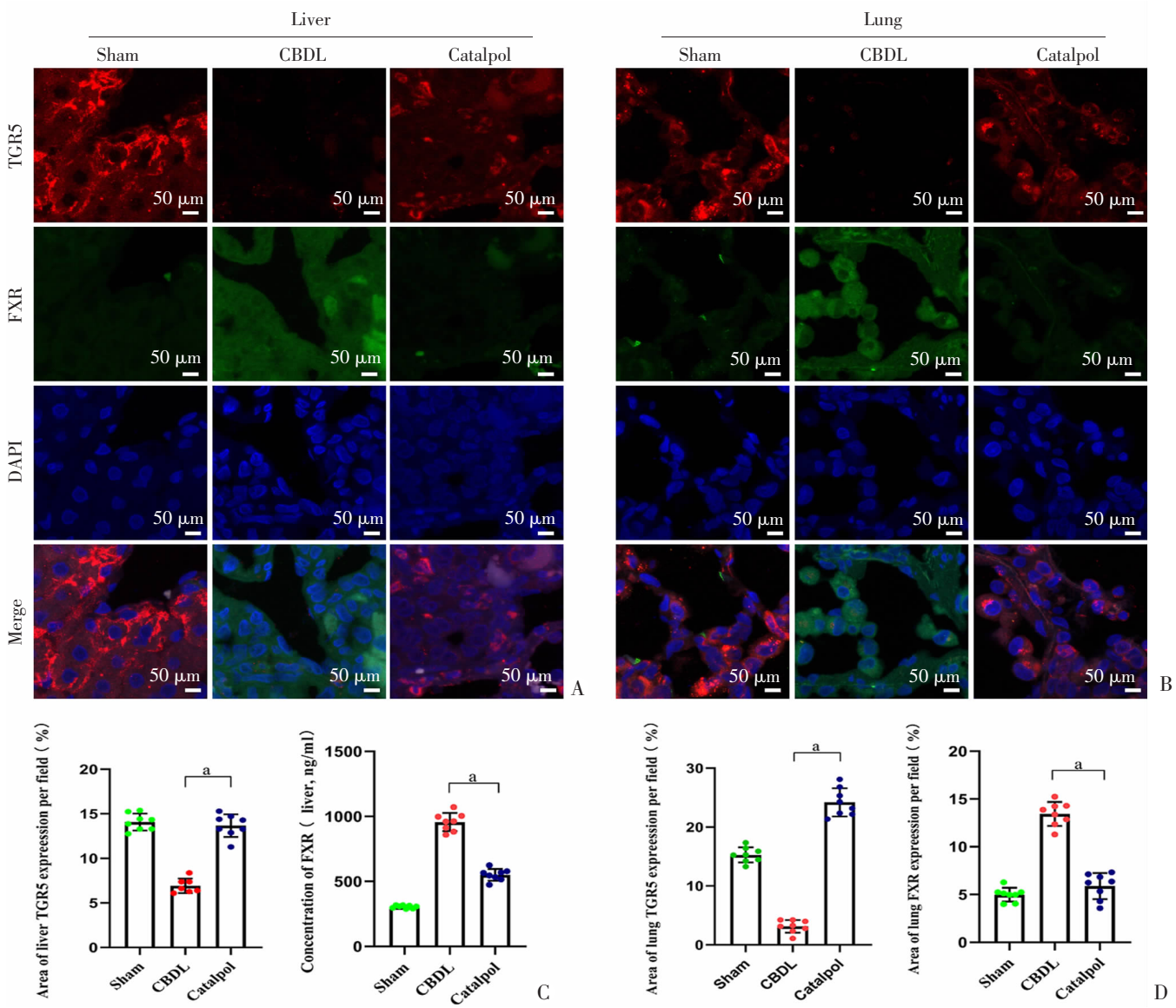
A:梓醇治疗对肝酶代谢的作用。B:对照组、CBDL 组和梓醇治疗组的 HE 和 Masson 染色对比。C:不同处理组的肝纤维化 METAVIR 评分和肺纤维化面积对比。D:不同处理组 P(A-a)O_2 和 PaO_2 对比。E:对照组、CBDL 组和梓醇治疗组的生存率比较。数据以平均值±标准差表示。CBDL 与梓醇干预组相比,a: $P<0.0001$。

图 1 梓醇组改善了 CBDL 大鼠的肝和肺损伤



A：不同处理组的肝和肺组织的 CD31 表达对比。B：不同处理组的结合胆汁酸和非结合胆汁酸水平比较。CBDL 与梓醇干预组相比，a：$P<0.000\ 1$；b：$P<0.001$；c：$P<0.01$

图 2　梓醇减轻 CBDL 大鼠的肝肺血管新生和胆汁酸水平



A、C:激光共聚焦显示不同处理组的 TGR5 和 FXR 在肝组织中的表达变化。B、D:激光共聚焦显示不同处理组的 TGR5 和 FXR 在肺组织中的表达变化,a:$P<0.000\ 1$

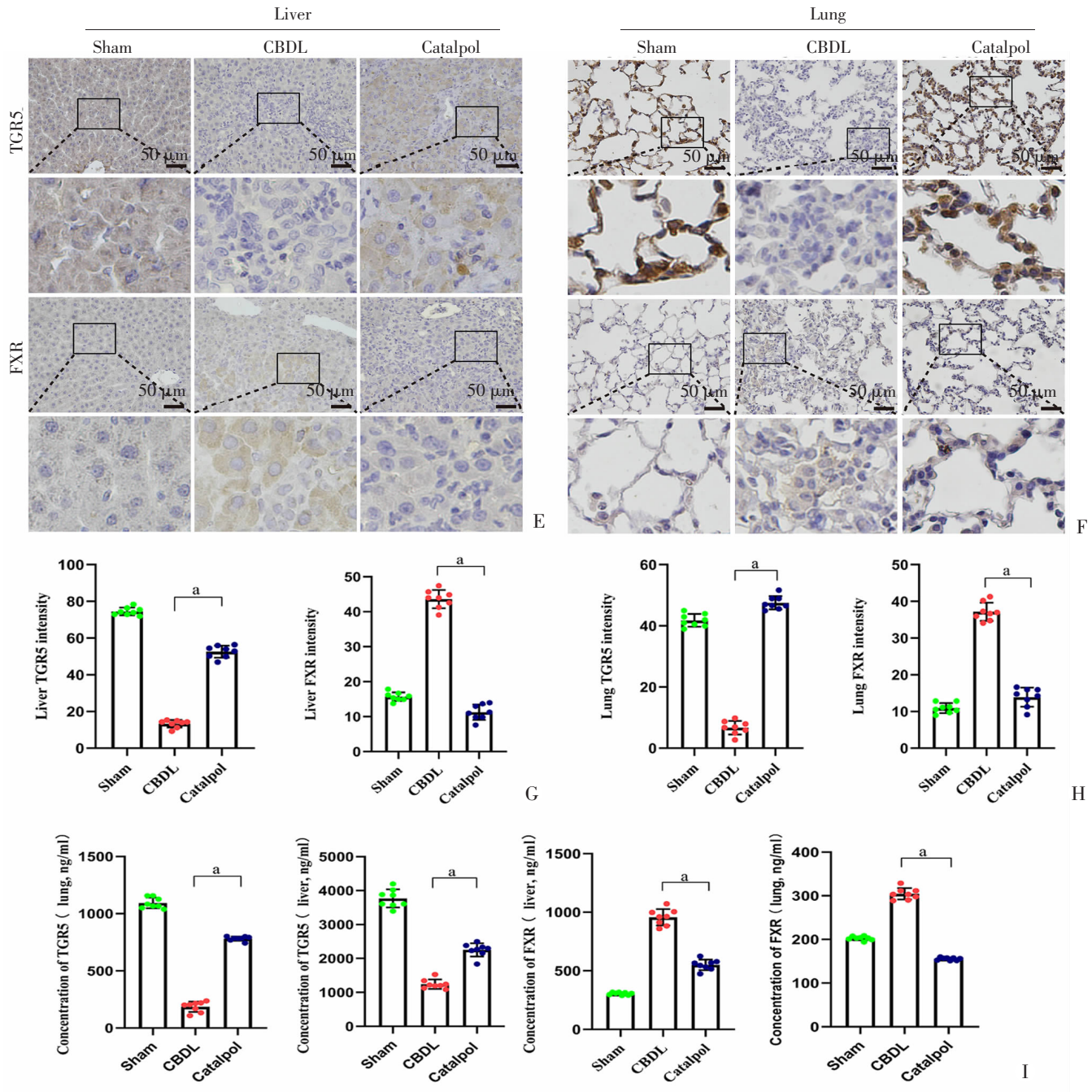
图 3 梓醇刺激肝组织 TGR5 表达

(图 3E~I 续下页)

3 讨论

这项研究证实了梓醇通过增强肝内 TGR5 的表达以降低胆汁酸对 CBDL 大鼠的肝损伤,从而减轻肝源性肺损伤的产生。其次,肺血管内皮细胞表达的 TGR5 直接对肺血管内皮细胞的病理性增殖起到抑制作用,达到改善肺氧合的作用。

CBDL 诱导产生的 HPS 模型是典型的胆汁淤积性肝损伤。胆汁淤积的常见特征是血清和肝脏组织中胆汁酸水平升高。胆汁酸在肝脏中的积累会通过诱导氧化应激和线粒体损伤,导致炎症反应等损害肝细胞,引起肝纤维化、肝硬化。肝硬化进一步加重 BAs 转运功能受损,肝硬化 BAs 的浓度与肺内皮细胞的损伤和障碍的严重程度存在关联[28]。胆汁酸诱导的肺损伤的机制包括为:1)与分泌磷脂酶 A2 途径的相互作用;2)对肺表面活性剂功能和结构的影响;3)对炎症和局部免疫的生物学效应;4)直接的细胞毒性[29]。BAs 可诱导肺泡巨噬细过度炎症反应,如 IL-6、IL-8、IL-1β 和中性粒细胞计数与肺泡胆汁酸水平相关,BAs 促进肺组织胞质磷脂酶 A2 和活性氧的产生。胆总管结扎后的小鼠出现以局部炎症、中性粒细胞浸润和血管生成为特征的肺损伤[30]。胆汁淤积性肝硬化造成BAs在



E、G：免疫组化显示不同处理组的 TGR5 和 FXR 在肝组织中的表达变化。F、H：免疫组化显示不同处理组的 TGR5 和 FXR 在肺组织中的表达变化。I：Elisa 分析显示 TGR5 和 FXR 在肝和肺组织不同处理的表达变化。a：$P<0.000\ 1$

续图 3　梓醇刺激肝组织 TGR5 表达

细胞内、外的浓度异常增高时，胆汁酸也会产生直接的细胞毒性[31]。梓醇已被广泛报道用于治疗各种肝病[26-27]。在本研究中，CBDL 组肝细胞损伤的标志物 ALT、AST、GGT、TBIL 和 TBA 水平明显高于对照组，表明 CBDL 手术对大鼠肝组织造成严重损伤。经过梓醇治疗后大鼠的血清 ALT、AST、GGT、TBIL 和 TBA 等肝损伤标志物水平降低，肝功能得到改善，表明梓醇有效地减少了胆汁淤积大鼠模型中 CBDL 引起的肝损伤。梓醇对胆汁淤积引起的肝细胞损伤具有保护作用。

胆汁淤积的慢性肝病会损伤肾、脑和肺等肝外多个器官系统，HPS 就是慢性肝病导致的肺损伤造成全身低氧血症。因此，针对既能降低胆汁淤积引起的肝

损伤又能改善肺损伤的靶点对治疗 HPS 具有重要意义。TGR5(也被称为 GPBAR1、M-BAR 或 GPCR19)是一种 G 蛋白偶联的胆汁酸膜受体,作为胆汁酸受体的 TGR 存在于多个内皮细胞亚群中,包括脐带、肺动脉和真皮微血管系统的内皮细胞,也在肝、肺脾脏和胃等组织中广泛表达[32-33]。TGR5 介导胆汁酸的全身作用,并与各种器官的炎症反应有关。TGR5 通过抑制多种细胞因子产生来防止胆汁淤积导致的炎症反应,并且激活 TGR5 会通过抑制 Toll 样受体 4(TLR4)和炎症因子的产生发挥抑制炎症作用[34]。此外,TGR5 的激活可抑制 NF-κ B 及其靶标基因以抑制炎症,通过抑制 HSC 活化来减少胆汁淤积引起的肝损伤并减轻肝纤维化[35-36]。本研究通过 Masson 染色证实肝梓醇治疗后肝纤维化明显减少。CBDL 导致肝内 TGR5 表达显著降低而失去抑制炎症的作用,然而梓醇处理后,肝内 TGR5 表达明显恢复,并且梓醇处理的肝和肺组织内的血管新生和肝纤维化的程度均得到明显的降低。同时,与 CBDL 组相比,梓醇处理组的血清未结合胆汁酸和结合胆汁酸水平都明显降低。因此,梓醇能减少 BAs 导致的肝和肺损伤。

法尼类固醇 X 受体(FXR)是一种胆汁酸激活的核受体,在肝脏、肠道、脾脏和肺组织中表达,FXR 参与调节胆固醇和胆汁酸平衡、肝脏葡萄糖生成、脂肪生成、炎症和纤维化相关基因的表达[37]。FXR 和 TGR5 是 BAs 合成的经典和替代途径中的关键酶。抑制 FXR 的表达可以改善 BAs 的代谢紊乱[38]。FXR 激动剂可通过促进 MMP9 和 FAK 的表达增加,诱导内皮细胞增殖迁移和血管新生[39-40]。我们研究发现与 Sham 组相比,CBDL 组 FXR 的表达明显上升,然而梓醇治疗组明显降低 FXR 在肝和肺组织中的表达。表明梓醇可通过激活 TGR5 和抑制 FXR 来调节改善 BAs 代谢稳态,减少血管新生从而改善 HPS 导致的低氧血症。

综上所述,梓醇通过增强 TGR5 的表达和降低 FXR 的水平调节 BAs 的过度表达对 HPS 肺损伤发挥保护作用。因此,梓醇同时激动 TGR5 和抑制 FXR 表达的双重作用是治疗 HPS 低氧血症的潜在药物。

参考文献:

[1] XIAO J, WANG F, WONG N K, *et al*. Global liver disease burdens and research trends: analysis from a Chinese perspective[J]. J Hepatol, 2019, 71(1): 212-221. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.03.004.

[2] GINÈS P, KRAG A, ABRALDES J G, *et al*. Liver cirrhosis [J]. Lancet, 2021, 398(10308): 1359-1376. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01374-X.

[3] HUANG Y F, LIN C S, CHERNG Y G, *et al*. A population-based cohort study of mortality of intensive care unit patients with liver cirrhosis[J]. BMC Gastroenterol, 2020, 20(1): 15. DOI: 10.1186/s12876-020-1163-1.

[4] BENZ F, MOHR R, TACKE F, *et al*. Pulmonary complications in patients with liver cirrhosis[J]. J Transl Int Med, 2020, 8(3): 150-158. DOI: 10.2478/jtim-2020-0024.

[5] SURANI S R, MENDEZ Y, ANJUM H, *et al*. Pulmonary complications of hepatic diseases[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(26): 6008-6015. DOI: 10.3748/wjg.v22.i26.6008.

[6] RAEVENS S, BORET M, FALLON M B. Hepatopulmonary syndrome[J]. JHEP Rep, 2022, 4(9): 100527. DOI: 10.1016/j.jhepr.2022.100527.

[7] WANG D D, YANG C Y, ZENG Z Y, *et al*. Extrahepatic angiogenesis: a potential common pathophysiological basis of multiple organ dysfunction in rats with cholestasis cirrhosis [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2023, 28(10): 272. DOI: 10.31083/j.fbl2810272.

[8] SHENODA B, BOSELLI J. Vascular syndromes in liver cirrhosis[J]. Clin J Gastroenterol, 2019, 12(5): 387-397. DOI: 10.1007/s12328-019-00956-0.

[9] RAEVENS S, GEERTS A, PARIDAENS A, *et al*. Placental growth factor inhibition targets pulmonary angiogenesis and represents a therapy for hepatopulmonary syndrome in mice [J]. Hepatology, 2018, 68(2): 634-651. DOI: 10.1002/hep.29579.

[10] YI H M, AN Y L, LV H J, *et al*. The association of lipopolysaccharide and inflammatory factors with hepatopulmonary syndrome and their changes after orthotopic liver transplantation[J]. J Thorac Dis, 2014, 6(10): 1469-1475. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.10.05.

[11] LIU H Y, GU H J, GU L L, *et al*. CX3CR1 regulates angiogenesis and activation of pro-angiogenic factors and triggers macrophage accumulation in experimental hepatopulmonary syndrome model [J]. Gastroenterol Hepatol, 2021, 44(2): 115-124. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2020.05.021.

[12] ZHANG Y K, WANG C Y, LU J W, *et al*. Targeting of miR-96-5p by catalpol ameliorates oxidative stress and hepatic steatosis in LDLr-/ - mice via p66shc/cytochrome C

cascade[J]. Aging, 2020, 12(3): 2049-2069. DOI: 10.18632/aging.102721.

[13] YAN J T, WANG C Y, JIN Y, *et al*. Catalpol ameliorates hepatic insulin resistance in type 2 diabetes through acting on AMPK/NOX4/PI3K/AKT pathway[J]. Pharmacol Res, 2018, 130: 466-480. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.12.026.

[14] CHEN J, YANG Y W, LV Z Y, *et al*. Study on the inhibitive effect of Catalpol on diabetic nephropathy[J]. Life Sci, 2020, 257: 118120. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118120.

[15] LIU Z G, ZHU P T, ZHANG L, *et al*. Autophagy inhibition attenuates the induction of anti-inflammatory effect of catalpol in liver fibrosis[J]. Biomedecine Pharmacother, 2018, 103: 1262-1271. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.156.

[16] TIAN X, XIONG Q, CHEN L, *et al*. Intervention of catalpol on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao, 2019, 41(6): 746-755. DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.11110.

[17] WU L S, LI H X, CHEN S Y, *et al*. Catalpol inhibits the proliferation, migration and metastasis of HCC cells by regulating miR-140-5p expression[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(1): 29. DOI: 10.3892/mmr.2020.11667.

[18] ZHAO L N, WANG Y S, LIU Q R. Catalpol inhibits cell proliferation, invasion and migration through regulating miR-22-3p/MTA3 signalling in hepatocellular carcinoma[J]. Exp Mol Pathol, 2019, 109: 51-60. DOI: 10.1016/j.yexmp.2019.104265.

[19] GAO X J, XU J J, LIU H B. Protective effects of catalpol on mitochondria of hepatocytes in cholestatic liver injury[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(3): 2424-2432. DOI: 10.3892/mmr.2020.11337.

[20] XIE Z Y, CAO H W, WANG Q, *et al*. Catalpol inhibits hepatic stellate cell activation by reducing the formation and changing the contents of hepatocyte-derived extracellular vesicles[J]. J Cell Commun Signal, 2023, 17(3): 723-736. DOI: 10.1007/s12079-022-00716-9.

[21] ZHU P T, WU Y, YANG A H, *et al*. Catalpol suppressed proliferation, growth and invasion of CT26 colon cancer by inhibiting inflammation and tumor angiogenesis[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95: 68-76. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.08.049.

[22] LIU L, GAO H W, WANG H B, *et al*. Catalpol promotes cellular apoptosis in human HCT116 colorectal cancer cells via microRNA-200 and the downregulation of PI3K-Akt signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2017, 14(3): 3741-3747. DOI: 10.3892/ol.2017.6580.

[23] YANG Y, CHEN B, CHEN Y, *et al*. A comparison of two common bile duct ligation methods to establish hepatopulmonary syndrome animal models[J]. Lab Anim, 2015, 49(1): 71-79. DOI: 10.1177/0023677214558701.

[24] BEDOSSA P, POYNARD T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group[J]. Hepatology, 1996, 24(2): 289-293. DOI: 10.1002/hep.510240201.

[25] FALLON M B, ABRAMS G A, MCGRATH J W, *et al*. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome[J]. Am J Physiol, 1997, 272(4 Pt 1): G779-G784. DOI: 10.1152/ajpgi.1997.272.4.G779.

[26] TIAN X, RU Q, XIONG Q, *et al*. Catalpol attenuates hepatic steatosis by regulating lipid metabolism via AMP-activated protein kinase activation[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 6708061. DOI: 10.1155/2020/6708061.

[27] BHATTAMISRA S K, YAP K H, RAO V, *et al*. Multiple biological effects of an iridoid glucoside, catalpol and its underlying molecular mechanisms[J]. Biomolecules, 2019, 10(1): 32. DOI: 10.3390/biom10010032.

[28] LI Y J, WU X F, WANG D D, *et al*. Serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 as a potential biomarker of hepatopulmonary syndrome[J]. J Clin Transl Hepatol, 2023, 11(5): 1150-1160. DOI: 10.14218/JCTH.2022.00421.

[29] DE LUCA D, ALONSO A, AUTILIO C. Bile acid-induced lung injury: update of reverse translational biology[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2022, 323(1): L93-L106. DOI: 10.1152/ajplung.00523.2021.

[30] MÜNZKER J, HAASE N, TILL A, *et al*. Functional changes of the gastric bypass microbiota reactivate thermogenic adipose tissue and systemic glucose control via intestinal FXR-TGR5 crosstalk in diet-induced obesity[J]. Microbiome, 2022, 10(1): 96. DOI: 10.1186/s40168-022-01264-5.

[31] KLINDT C, REICH M, HELLWIG B, *et al*. The G protein-coupled bile acid receptor TGR5 (Gpbar1) modulates endothelin-1 signaling in liver[J]. Cells, 2019, 8(11): 1467. DOI: 10.3390/cells8111467.

[32] REICH M, DEUTSCHMANN K, SOMMERFELD A, *et al*.

TGR5 is essential for bile acid-dependent cholangiocyte proliferation *in vivo* and *in vitro*[J]. Gut, 2016, 65(3): 487-501. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309458.

[33] DING L L, YANG Q L, ZHANG E Y, *et al*. Notoginsenoside Ft1 acts as a TGR5 agonist but FXR antagonist to alleviate high fat diet-induced obesity and insulin resistance in mice[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(6): 1541-1554. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.03.038.

[34] EL-HANBOSHY S M, HELMY M W, ABD-ALHASEEB M M. Catalpol synergistically potentiates the anti-tumour effects of regorafenib against hepatocellular carcinoma via dual inhibition of PI3K/Akt/mTOR/NF-κB and VEGF/VEGFR2 signaling pathways[J]. Mol Biol Rep, 2021, 48(11): 7233-7242. DOI: 10.1007/s11033-021-06715-0.

[35] BAKR A G, EL-BAHRAWY A H, TAHA H H, *et al*. Diosmin enhances the anti-angiogenic activity of sildenafil and pentoxifylline against hepatopulmonary syndrome via regulation of TNF-α/VEGF, IGF-1/PI3K/AKT, and FGF-1/ANG-2 signaling pathways[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 873: 173008. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173008.

[36] ZHANG J L, LUO B, TANG L P, *et al*. Pulmonary angiogenesis in a rat model of hepatopulmonary syndrome[J]. Gastroenterology, 2009, 136(3): 1070-1080. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.001.

[37] AI Y L, ZHAO Z Y, WANG H Y, *et al*. Pull the plug: Anti-angiogenesis potential of natural products in gastrointestinal cancer therapy[J]. Phytother Res, 2022, 36(9): 3371-3393. DOI: 10.1002/ptr.7492.

[38] TSAI C L, CHANGCHIEN C Y, CHEN Y, *et al*. Survival benefit of statin with anti-angiogenesis efficacy in lung cancer-associated pleural fluid through FXR modulation[J]. Cancers, 2022, 14(11): 2765. DOI: 10.3390/cancers14112765.

[39] KAWUT S M, KROWKA M J, FORDE K A, *et al*. Impact of hepatopulmonary syndrome in liver transplantation candidates and the role of angiogenesis[J]. Eur Respir J, 2022, 60(2): 2102304. DOI: 10.1183/13993003.02304-2021.

[40] MAN S L, LUO C, YAN M Y, *et al*. Treatment for liver cancer: from sorafenib to natural products[J]. Eur J Med Chem, 2021, 224: 113690. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113690.

(**收稿**:2023-12-30;**修回**:2024-01-27)

(编辑 邓强庭)