

复方鳖甲软肝片防治大鼠肝纤维化作用及机制*

杨宇^{1**}, 赵月涵¹, 庄海¹, 郑志强², 江苔², 李龙宽², 陈应强^{1,2***}

(1. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学第三附属医院, 贵州 都匀 558000)

[摘要] 目的: 探讨复方鳖甲软肝片对大鼠肝纤维化的干预作用及机制。方法: SD 成年大鼠随机分为空白对照组(A组)、复方鳖甲软肝片治疗组(B组)、复方鳖甲软肝片干预组(C组)和模型对照组(D组), B、C、D组大鼠采用 CCl₄ 诱导大鼠肝纤维化模型, B组于造模第6周给予复方鳖甲软肝片, C组在造模的同时给予复方鳖甲软肝片;于造模第6、12周检测大鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)等肝功能指标, 造模第12周处死大鼠检测肝脏指数, ELISA 检测大鼠血清透明质酸、层黏连蛋白、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原等肝纤维化指标;提取各组大鼠肝脏 Kupffer 细胞, 免疫荧光染色检测 CD14 表达, 观察 Kupffer 细胞活化情况;实时荧光定量 PCR 及 Western Blot 分别检测 Kupffer 细胞中 TGF-β mRNA 及蛋白表达水平。结果: 经复方鳖甲软肝片干预或治疗后, B、C组大鼠肝脏指数、肝纤维化指标、肝功能指标均优于D组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$);D组 Kupffer 细胞中 CD14 呈阳性, B、C组 CD14 呈阴性;B、C组大鼠 kupffer 细胞中 TGF-β 蛋白及 mRNA 水平显著低于D组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 复方鳖甲软肝片具有抑制肝 Kupffer 细胞活化的作用, 并可能通过抑制其分泌 TGF-β 而发挥抗肝纤维化的作用。

[关键词] 复方鳖甲软肝片; 肝纤维化; 库普弗细胞; 转化生长因子-β; 大鼠, Sprague-Dawley

[中图分类号] R575.2 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2018)12-1380-06

DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.12.004

Effect and Mechanism of Fufang Biejia Ruangan Tablet in
Prevention and Treatment of Rat Hepatic Fibrosis

YNAG Yu¹, ZHAO Yuehan¹, ZHUANG Hai¹, ZHENG Zhiqiang², JIANG Tai², LI Longkuan², CHEN Yingqiang^{1,2}

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. The Third Affiliated Hospital, Guizhou Medical University, Duyun 558000, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To investigate the preventive and therapeutic effects of Fufang Biejia Ruangan Tablet on CCl₄-induced hepatic fibrosis in rats and its action mode. Methods: Sprague-Dawley (SD) adult rats were randomly divided into control group (group A), group B, group C and group D. Rats in groups B, C and D were treated with CCl₄ to induce rat liver fibrosis model. Rats in group C were given with Fufang Biejia Ruangan Tablets at the same time as CCl₄ treatment. Rats in group B were given with Fufang Biejia Ruangan Tablets at 6th week after CCl₄ treatment. At the 6th and 12th week of CCl₄ treatment, serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin (ALB) and total bilirubin (TBIL) were measured and the rats were sacrificed at the 12th week. The liver fibrosis indexes such as serum hyaluronic acid, laminin, type III procollagen and type IV collagen were detected by ELISA. CD14 expression was detected by immunofluorescent staining in Kupffer cells isolated from the livers of each group to observe Kupffer cell activation; transforming growth factor (TGF-β) expression in Kupffer cells and livers was assessed by real-time quantitative

*[基金项目] 贵州省科技厅基金资助项目[黔科合 LH(2014)7150]

** 贵州医科大学 2015 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail:1042410740@qq.com

网络出版时间:2018-12-22 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20181222.1447.004.html>

PCR and Western Blot. **Results:** After treatment with Fufang Biejia Ruangan Tablets, the health status including the liver index, liver fibrosis index and liver function index of rats in group B and C was better than that of rats in group D, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); CD14 expression was positive in Kupffer cells in group D, but negative in group A, B and C. Moreover, the levels of TGF- β at both mRNA protein in kupffer cells in group B and C were significantly lower than those in group D ($P < 0.05$). Taken together, anti-fibrosis effect of Fufang Biejia Ruangan Tablet might impairs TGF- β expression and secretion by Kupffer cells via inhibiting the activation of Kupffer cells.

[**Key words**] Biejia Ruangan tablets; liver fibrosis; Kupffer cells; transforming growth factor- β ; rats, Sprague-Dawley

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是指肝组织内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)因合成增加、降解相对不足而在肝内异常沉积所导致肝脏结构和(或)功能发生异常的一种病理变化。Kupffer细胞位于肝血窦,是定居于组织内的最大的巨噬细胞群体,占全身巨噬细胞总数的80%~90%,可分泌促纤维化因子,如转化生长因子(TGF)- β 、血小板衍生生长因子(PDGF)等一系列细胞因子,这些因子通过旁分泌方式激活肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化为肌成纤维细胞,促进ECM合成,同时增强基质金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)的表达,阻止ECM的降解,使ECM在肝脏沉积,促进纤维化的形成^[1-3]。复方鳖甲软肝片由“鳖甲、赤芍、冬虫夏草、三七、紫河车、连翘、当归、莪术、党参、黄芪、板蓝根”11种中药组成,是首个抗肝纤维化中药制剂,可通过多靶位抑制肝纤维化,产生抗肝纤维化效果^[4]。本实验利用复方鳖甲软肝片混悬剂灌胃肝纤维化模型大鼠,研究Kupffer细胞所分泌TGF- β 的表达,进一步阐明该药物治疗肝纤维化的作用机制,为临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂及仪器

清洁级SD大鼠[SCXK(黔)2012-001]40只,体质量(170 \pm 20)g,由贵州医科大学实验动物中心提供。复方鳖甲软肝片(国药准字Z19991011)购自内蒙古福瑞医疗科技股份有限公司,胎牛血清、高糖DMEM及低糖DMEM购自Gibco公司,链霉素及青霉素购自哈药集团有限公司,胰蛋白酶、多聚赖氨酸、溴酚蓝及L型谷氨酰胺购自Sigma公司,抗TGF- β 抗体及抗 β -actin抗体购自Abcam公司, TaqTM DNA聚合酶、DNA Marker DL15000及DNA Marker DL2000购自TaKaRa公司,其它试剂购自

国药集团化学试剂有限公司。离心机(Anke DL-5-B)购自上海飞鸽公司, -80℃超低温冰箱购自Thermo Scientific公司;PowerPacTM通用电泳仪电源、ChemIDoc XRS高灵敏度化学发光仪、Siemens Advia 1650全自动生化分析仪、MiniOpticon real-time PCR、Mini-PROTEAN[®] 3垂直电泳系统、MJ Mini 48-Well PCR仪及Mini-Sub Cell GT Cell水平电泳仪系统。

1.2 动物分组与模型建立

40只SD大鼠适应性饲养3d后,随机分为4组:空白对照组(A组)、复方鳖甲软肝片治疗组(B组)、复方鳖甲软肝片干预组(C组)和模型对照组(D组),每组10只。按照3 mL/kg剂量,A组皮下注射橄榄油,B组、C组和D组均每周二和周五上午9:00皮下注射等体积CCl₄与橄榄油混合液,共注射12周。B组于造模第6周最后一次注射CCl₄与橄榄油混合液后24h,给予0.54 g/kg复方鳖甲软肝片生理盐水混悬液灌胃,每日1次,持续治疗6周;C组在造模的同时,给予0.54 g/kg复方鳖甲软肝片生理盐水混悬液灌胃,每日1次,共12周。B组、D组造模第6周后,分别随机取2只大鼠处死,行肝脏病理检测,观察造模情况。

1.3 一般情况、部分肝功能及肝纤维化指标测定

各组动物每两周称量体质量,并观察精神状态、饮食、皮毛、大、小便等一般情况。实验第12周,称量体质量后,各组动物腹腔注射0.3 mL/100 g 10%水合氯醛麻醉后眼内眦取血,血液1 500 r/min离心10 min后分离血清,采用全自动生化分析仪检测谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)等肝功能指标,酶联免疫吸附法(ELISA)检测大鼠血清透明质酸、层粘连蛋白、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原等肝纤维化指标。

1.4 肝组织病理学观察

取血后处死,取肝脏称重,测算脏器指数,以

4%多聚甲醛固定,石蜡包埋切片,行 HE 染色,于显微镜下观察肝组织病理学改变。

1.5 Kupffer 细胞 CD14 及 TGF-β 表达检测

上述 A、B、C、D 4 组大鼠实验 12 周,参照文献[5]方法,提取肝脏 Kupffer 细胞,按试剂盒说明书操作检测 Kupffer 细胞大鼠脂多糖/脂多糖结合蛋白复合物受体(CD14)分子表达,以此观察 Kupffer 细胞活化情况。将提取的 Kupffer 细胞按 2.5×10^8 /L 细胞密度接种于 10 cm 培养皿内,用含 10% FBS 的 H-DMEM 培养基,5% CO₂、37 ℃、饱和湿度条件培养,48 h 更换培养液,倒置相差显微镜逐日观察,3 ~ 5 d 后半量换液,以后每 3 d 用含 10% FBS 的 H-DMEM 全量换液,待细胞融合至 80% ~ 90% 后传代。细胞传至第 3 ~ 4 代,提取 Kupffer 细胞的总 RNA 及总蛋白,实时荧光定量 PCR 检测各组 TGF-β mRNA 的表达水平、Western Blot 检测 TGF-β 蛋白表达水平。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计分

析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用重复测量的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

造模第 12 周时,各组大鼠无死亡,B 组、C 组及 D 组造模后大鼠活动、食量较造模前减少,B 组及 D 组毛色晦暗,食欲不佳,小便偏黄,大便黄、稀软,偶尔不成形,C 组一般情况优于 B 组及 D 组。造模前各组大鼠体质量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);实验开始后,各组大鼠体质量均有不同程度的增长,但 B 组、D 组明显小于 A 组($P < 0.05$),C 组与 A 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);B 组治疗后,精神、食量及毛色逐渐好转,小便略黄,大便干结,颗粒状,各项指标逐渐趋近于 A 组;B 组治疗 4 周和 6 周时体质量大于 D 组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠体质量变化($n = 10, \bar{x} \pm s, g$)
Tab. 1 Rat body weight changes in each group

组别	造模前体质量	造模后体质量					
		2 周	4 周	6 周	8 周	10 周	12 周
A	170.20 ± 6.77	230.50 ± 6.22	272.50 ± 7.10 ⁽¹⁾	306.50 ± 8.60 ⁽¹⁾	319.80 ± 8.26 ⁽¹⁾	326.40 ± 8.55 ⁽¹⁾	331.80 ± 8.57 ⁽¹⁾
B	168.40 ± 6.32	220.40 ± 6.54	236.20 ± 6.12	248.30 ± 6.63	272.50 ± 7.11	293.50 ± 7.16 ⁽¹⁾	312.20 ± 7.23 ⁽¹⁾
C	167.30 ± 5.58	224.90 ± 5.29	268.50 ± 6.28 ⁽¹⁾	294.50 ± 6.21 ⁽¹⁾	310.40 ± 7.15 ⁽¹⁾	315.50 ± 7.89 ⁽¹⁾	322.70 ± 7.74 ⁽¹⁾
D	173.50 ± 5.58	216.30 ± 6.15	233.40 ± 6.59	250.60 ± 6.88	265.70 ± 7.34	277.30 ± 7.31	288.60 ± 7.36

⁽¹⁾与 D 组比较, $P < 0.05$

2.2 肝脏指数

造模第 12 周处死大鼠时,A、B、C 组大鼠肝脏湿重、肝脏指数低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 造模第 12 周时各组大鼠肝脏
指数($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Rat liver indexes in each group at 12th
weeks after ClC4 treatment

组别	肝脏湿重(g)	肝脏指数
A	9.01 ± 0.56 ⁽¹⁾	2.72 ± 0.19 ⁽¹⁾
B	9.85 ± 0.76 ⁽¹⁾	3.16 ± 0.64 ⁽¹⁾
C	9.20 ± 0.98 ⁽¹⁾	2.85 ± 0.23 ⁽¹⁾
D	10.13 ± 1.21	3.51 ± 0.33

⁽¹⁾与 D 组比较, $P < 0.05$

2.3 肝纤维化指标

造模第 12 周时,与模型组相比,其他 3 组血清

透明质酸、层黏连蛋白、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明复方鳖甲软肝片可以干预肝纤维化的发展进程。见表 3。

2.4 肝功能指标

造模第 6 周时,B、C、D 组 ALT、AST、TBIL 明显高于 A 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),C 组肝功能指标明显优于 B 组和 D 组,见表 4。B 组经复方鳖甲软肝片治疗后,ALT、AST、TBIL 明显低于 D 组,ALB 明显高于 D 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明复方鳖甲软肝片对肝纤维化有一定的治疗作用,见表 5。

2.5 肝脏组织学观察

造模第 12 周时,光镜下,A 组大鼠肝组织结构呈均质状,肝小叶、门管区等结构清晰;D 组大鼠肝脏切片见肝小叶结构破坏,代之以许多大小不等的肝细胞团,由致密的纤维组织包绕,分割成大小不

表 3 各组大鼠造模第 12 周时肝脏纤维化指标($n=8,\bar{x}\pm s,\mu\text{g/L}$)

Tab.3 Rat liver fibrosis indexes in each group at 12th weeks after ClC4 treatment

项目	组别			
	A	B	C	D
透明质酸	157.28±47.35 ⁽¹⁾	233.45±50.54 ⁽¹⁾	186.63±40.59 ⁽¹⁾	400.35±90.88
层黏连蛋白	50.67±11.29 ⁽¹⁾	75.50±18.45 ⁽¹⁾	60.38±15.32 ⁽¹⁾	116.70±18.22
Ⅲ型前胶原	56.91±12.23 ⁽¹⁾	65.32±14.71 ⁽¹⁾	60.55±11.87 ⁽¹⁾	88.68±13.31
Ⅳ型胶原	40.01±9.91 ⁽¹⁾	58.66±7.63 ⁽¹⁾	57.79±8.84 ⁽¹⁾	76.33±10.64

⁽¹⁾与 D 组比较, $P<0.05$

表 4 各组大鼠造模第 6 周时肝功能指标($n=10,\bar{x}\pm s$)

Tab.4 Rat liver function indexes in each group at 6th weeks after ClC4 treatment

项目	组别			
	A	B	C	D
ALT(U/L)	31.32±8.81	355.13±35.94 ⁽¹⁾	51.62±18.53 ⁽²⁾	371.31±44.22 ⁽¹⁾
AST(U/L)	122.01±21.66	458.61±73.07 ⁽¹⁾	271.33±48.18 ⁽²⁾	488.54±72.66 ⁽¹⁾
ALB(g/L)	37.22±0.58	28.84±0.51 ⁽²⁾	32.53±0.79 ⁽²⁾	26.17±0.56 ⁽²⁾
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	4.33±1.09	12.01±1.38 ⁽¹⁾	8.81±1.44 ⁽²⁾	17.00±1.90 ⁽²⁾

与 A 组相比,⁽¹⁾ $P<0.01$,⁽²⁾ $P<0.05$

表 5 造模第 12 周时各组大鼠肝功能指标($n=8,\bar{x}\pm s$)

Tab.5 Rat liver function indexes in each group at 12th weeks after ClC4 treatment

项目	组别			
	A	B	C	D
ALT(U/L)	37.14±9.91 ⁽¹⁾	51.74±10.87 ⁽¹⁾	47.51±11.58 ⁽¹⁾	421.64±64.44
AST(U/L)	134.55±26.57 ⁽¹⁾	168.14±28.33 ⁽¹⁾	159.23±24.16 ⁽¹⁾	565.58±81.58
ALB(g/L)	34.46±1.79 ⁽²⁾	35.63±1.97 ⁽²⁾	33.25±1.78 ⁽²⁾	24.67±1.38
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	6.41±1.21 ⁽¹⁾	8.17±1.85 ⁽²⁾	7.83±1.53 ⁽²⁾	23.14±1.63

与 D 组相比,⁽¹⁾ $P<0.01$,⁽²⁾ $P<0.05$

等的岛屿状,形成假小叶,假小叶中央部位的肝细胞出现萎缩、坏死;肝细胞索排列紊乱,肝细胞肿胀,核染色较深;可见淋巴细胞及少数中性粒细胞等炎性细胞浸润;B 组经复方鳖甲软肝片治疗后,上述症状均逐渐好转,治疗 6 周后 B 组趋于正常。C 组大鼠肝组织结构接近于 A 组。见图 1。

2.6 Kupffer 细胞

免疫荧光染色呈红色为 CD14 阳性,A、B、C 组中 Kupffer 细胞 CD14 呈阴性,而 D 组中 Kupffer 细胞 CD14 呈阳性,提示肝纤维化过程中 Kupffer 细胞活化,而复方鳖甲软肝方干预或治疗后,Kupffer 细胞活化情况明显改善。见图 2。

2.7 Kupffer 细胞 TGF- β mRNA 及蛋白的表达

与 D 组比较,经复方鳖甲软肝方治疗或干预后,B、C 组 Kupffer 细胞及肝脏中 TGF- β mRNA 及蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),见图 3。

3 讨论

肝纤维化是对慢性肝损伤的愈合反应,为一个可逆的过程。HSC 是肝脏分泌 ECM 的主要细胞,在肝纤维化的发展机制中占有重要的地位。如何控制 HSC 的活性并逆转肝纤维化的进程是抗肝纤维化研究的重点之一。Kupffers 细胞为细胞因子的主要来源,其在肝纤维化病程中对 HSC 细胞的活化增殖、凋亡发挥着重要的调控作用^[6],HSC 激活后可分泌 TGF- β 等细胞因子,通过自分泌进一步维持自身的活化状态并激活临近 HSC,活化的 HSC 增殖,转变为表达 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的肌成纤维细胞,大量合成如 I 型胶原、Ⅲ型胶原、纤维连接蛋白等多种 ECM 成分,导致肝纤维化的发生。

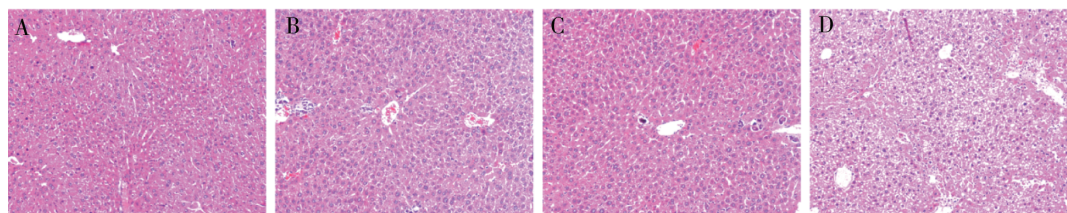


图1 造模第12周时各组大鼠肝脏组织结构(HE, ×20)

Fig.1 HE staining of Rat liver paraffin sections

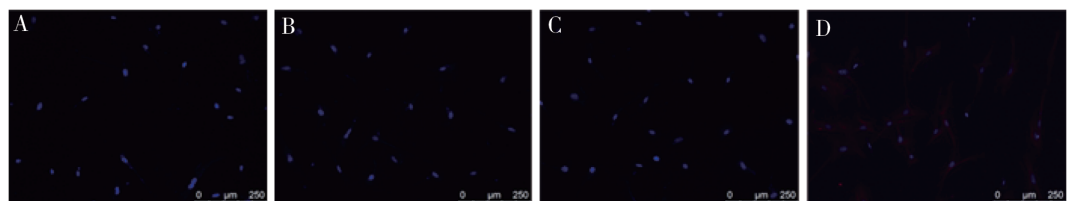
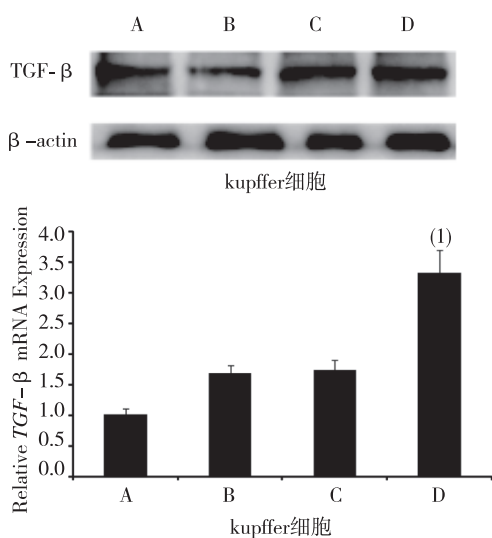


图2 各组大鼠 Kupffer 细胞中 CD14 表达情况(免疫荧光染色, ×40)

Fig.2 CD14 expression in Kupffer cells



⁽¹⁾与 A 组比较, $P < 0.05$

图3 各组大鼠 kupffer 细胞中 TGF-β 蛋白及 mRNA 表达

Fig.3 Effect of Fufang Biejia Ruangan Tablet on the expression of TGF-β protein and mRNA levels in Kupffer cells

TGF-β^[7-9]是目前认为最强的促肝纤维化因子,在肝纤维化的发展中起着关键性的作用。肝纤维化是可以逆转的,抑制活化的肝 Kupffer 细胞是逆转肝纤维化的有效途径^[10-11],因此寻找有效的抑制活化的肝 Kupffer 细胞的药物是治疗肝纤维化的关键。复方鳖甲软肝片以鳖甲为主要成分,辅以我术、赤芍、当归、三七、党参、黄芪、紫河车、冬虫夏草、板蓝根、连翘,能软坚散结,化瘀解毒,益气养

血,减少胶原纤维形成。可用于各种原因引起的肝纤维化,以及早期肝硬化。

本实验从体内外两方面,探讨了复方鳖甲软肝片对肝 Kupffer 细胞分泌的肝纤维化诱导因子 TGF-β 的影响。临床中,透明质酸、层黏连蛋白、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原等是反应肝纤维化重要指标^[12-13],以上研究结果显示,经复方鳖甲软肝片干预/治疗后,大鼠肝纤维化指标(透明质酸、层黏连蛋白、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原)、肝功能指标(ALT、AST、ALB、TBIL)及肝脏指数(体质量、肝脏湿重、肝脏指数)明显优于模型组,说明经过复方鳖甲软肝片干预或治疗后,可以减轻大鼠肝纤维化的程度,对 CCL4 诱导的肝纤维化模型大鼠起到一定的干预或治疗作用。蛋白水平及 mRNA 研究结果显示,复方鳖甲软肝片可以降低模型组中 Kupffer 细胞及肝脏中 TGF-β 蛋白及 mRNA 的表达,提示复方鳖甲软肝片可能通过降低 Kupffer 细胞及肝脏中 TGF-β 蛋白及 mRNA 水平的表达而起到抗肝纤维化的作用。

近年的研究显示^[14-15],CD14 作为内毒素的信号传导分子在单核/巨噬细胞系统中广泛表达,是介导内毒素信号转导,激活单核巨噬细胞的重要受体,与细胞释放炎症介质有关。CD14 阳性的单核/巨噬细胞可能是促纤维生长因子的重要来源,在促进肌成纤维样细胞的增殖和 ECM 的形成及肝纤维化、肝硬化的发生和发展中起重要作用。可见 CD14 的表达上调与肝脏的炎症和纤维化过程均有关。本研究中,空白对照组、复方鳖甲软肝片治疗

组和干预组中 CD14 呈阴性,而模型组中 Kupffer 细胞 CD14 呈阳性,说明肝纤维化过程中 Kupffer 细胞活化,而复方鳖甲软肝片干预或治疗后,Kupffer 细胞活化受到抑制,说明复方鳖甲软肝片通过抑制 CD14 的表达是防治大鼠肝纤维化的作用机制之一。

综上所述,复方鳖甲软肝片具有抑制肝 Kupffer 细胞活化的作用,并可抑制其分泌 TGF-β,从而起到抗肝纤维化的作用,为临床复方鳖甲软肝片治疗肝纤维化的合理用药以及开发治疗肝纤维化更为有效的药物提供可靠的依据。

4 参考文献

[1] 马龙俊. Kupffer 细胞与肝纤维化关系的研究进展[J]. 宜春学院学报, 2015, 37(3):85-87.

[2] WEISKIRCHEN R F. Tacke, cellular and molecular functions of hepatic stellate cells in inflammatory responses and liver immunology[J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2014, 3(6):344-363.

[3] WANG J, LECLERCQ I, BRYMORA J M, et al. Kupffer cells mediate leptin-induced hepatic fibrosis[J]. Gastroenterology, 2009, 137(2):713-723.

[4] 黄灵跃,施维群,孟庆宇. 复方鳖甲软肝片抗肝纤维化的现状及展望[J]. 江西中医药大学学报, 2015, (4):97-99.

[5] 李洋,蔡双明,张莉莉,等. 大鼠原代肝细胞、星状细胞、枯否细胞和肝窦内皮细胞的同步分离与培养[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(4):532-537.

[6] 张玉姣. 肝星状细胞和枯否细胞在肝纤维化过程中的

相互作用[D]. 长春:吉林大学, 2015.

[7] WALTON K L, JOHNSON K E, HARRISON C A. Targeting TGF-β mediated SMAD signaling for the prevention of fibrosis [J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8 (461):1-8

[8] ZHOU L, DONG X, WANG L, et al. Casticin attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation by blocking TGF-β/Smad signaling pathway. [J]. Oncotarget, 2017, 8(34):56267-56280.

[9] 黄艳,黄成,李俊. 肝纤维化病程中 Kupffer 细胞分泌的细胞因子对肝星状细胞活化增殖、凋亡的调控[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(1):9-13.

[10] 谷莉莉,李海. Kupffer 细胞在肝纤维化发生过程中的双向调节作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(9):714-716.

[11] 熊钻,梅玉峰,王春阳,等. 透明质酸、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原、层黏连蛋白对肝硬化的诊断价值分析[J]. 中国处方药, 2018(1):137-138.

[12] 姚丹燕. 透明质酸、Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原、层黏连蛋白和脯氨酸胺酶对肝硬化的诊断价值分析[J]. 中国保健营养, 2017, 27(4):14-16.

[13] 肖蕾,王云莲,艾力江·吐尔逊,等. 血清透明质酸、Ⅳ型胶原、层粘连蛋白与大鼠放射性肝纤维化的相关性研究[J]. 中华全科医学, 2015, 13(1):18-20.

[14] 刘建国,丁艳蕊,杨胜兰,等. 丹酚酸 B 对实验性肝纤维化大鼠肝组织 CD14 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(4):547-551.

[15] 常永丽,巩继平,郭晓妹,等. 异丙酚对严重烫伤早期大鼠肝 NF-κB、CD14 表达及凋亡的影响[J]. 长治医学院学报, 2018,32(3):161-164.

(2018-09-18 收稿,2018-11-17 修回)
中文编辑:周 凌;英文编辑:张启芳

(上接第 1374 页)

[8] CAO X, XU J, YUE D. LncRNA-SNHG16 predicts poor prognosis and promotes tumor proliferation through epigenetically silencing p21 in bladder cancer [J]. Cancer Gene Therapy, 2017, (1):1-15.

[9] SHERR C J, Roberts J M. Living with or without cyclins and cyclinD₁ dependent kinases[J]. Genes Dev, 2004,18 (22):2699-2711.

[10] GALDERISI U, JORI F P, GIORDANO A. Cell cycle regulation and neural differentiation. [J]. Oncogene, 2003, 22(33):5208-19.

[11] BALDIN V, LUKAS J, MARCOTE M J, et al. Cyclin D1 is a nuclear protein required for cell cycle progression in G1 [J]. Genes & Development, 1993, 7(5):812-821.

[12] SEMCZUK A, JAKOWICKI J A. Alterations of pRb1-cyclin D1-cdk4/6-p16(INK4A) pathway in endometrial carcinogenesis. [J]. Cancer Letters, 2004, 203(1):1-12.

[13] CHIKARA S, LINDSEY K, DHILLON H, et al. Enterolactone induces G1-phase cell cycle arrest in nonsmall cell lung cancer cells by downregulating Cyclins and Cyclin-dependent kinases[J]. Nutr Cancer, 2017, 69 (4):652-662.

[14] MEYERSON M, HARLOW E. Identification of G1 kinase activity for cdk6, a novel cyclin D partner. [J]. Molecular & Cellular Biology, 1994, 14(3):2077-86.

[15] XIONG Y, HANNON G J, ZHANG H, et al. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. [J]. Nature, 1993, 366(6456):701-704.

[16] ABBAS T, DUTTA A. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities [J]. Nature Reviews Cancer, 2009, 9(6):400-414.

(2018-09-20 收稿,2018-11-26 修回)
中文编辑:周 凌;英文编辑:赵 毅