

丹防胶囊对免疫性肝纤维化大鼠肝组织 IL-33 和 ST2 表达的影响*

李 璨**, 陆 爽***, 吴 君, 程明亮

(贵州医科大学 感染病学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 目的: 探讨丹防胶囊对免疫性肝纤维化大鼠肝组织白细胞介素 33 (IL-33)、肿瘤发生抑制蛋白 2 (ST2) 表达的影响。方法: 40 只清洁级健康雄性 SD 大鼠按随机数字法平均分为模型组、阴性对照组、丹防组及阳性对照组, 模型组、丹防组、阳性对照组大鼠每只给予腹腔注射 0.5 mL 猪血清制备大鼠免疫性肝纤维化模型, 阴性对照组腹腔注射等量生理盐水; 造模同时, 丹防组予 4.32 g/kg 丹防胶囊灌胃, 阳性对照组予 0.54 g/kg 复方鳖甲软肝片灌胃, 模型组与阴性对照组予等量生理盐水灌胃 (1 次/d), 共 12 周; 12 周末麻醉处死大鼠后行肝组织病理学检查, 免疫组织化学法、Western Blot 检测肝组织中 IL-33、ST2 蛋白表达, Q-PCR 检测肝组织中 IL-33 mRNA 表达水平。结果: 与阴性对照组比较, 模型组肝纤维化明显, 模型组和丹防组 IL-33、ST2 蛋白及 IL-33 mRNA 表达增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 丹防组、阳性对照组肝纤维化程度明显减轻, IL-33、ST2 蛋白及 IL-33 mRNA 表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与阳性对照组相比, 丹防组肝纤维化减轻程度差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 IL-33、ST2 蛋白及 IL-33 mRNA 表达增多, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 丹防胶囊对大鼠免疫性肝纤维化有一定干预作用, 其机制可能与降低肝纤维化大鼠肝组织 IL-33 及 ST2 的表达有关。

[关键词] 肝纤维化; 丹防胶囊; 干预性研究; IL-33; ST2

[中图分类号] R575.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)04-0435-06

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.04.012

Effects of Danfang Capsule on Expression of IL-33 and ST2 in Liver Tissue of Rats with Immune Liver Fibrosis

LI Can, LU Shuang, WU Jun, CHENG Mingliang

(Department of Infectious Diseases, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To explore the effects of Danfang capsule on the expression of Interleukin-33 (IL-33) and Tumorigenicity 2 receptor (ST2) in the liver tissue of rats with immune hepatic fibrosis. **Methods:** Forty clean healthy male SD rats were evenly divided into model group, negative control group, Danfang group and positive control group according to the random number method. The model group, Danfang group and positive control group were intraperitoneally injected with 0.5 mL pig serum/rat to prepare the rat model of immune liver fibrosis, and the negative control group was intraperitoneally injected with the same amount of normal saline. At the same time, the Danfang group was given 4.32 g/kg Danfang capsule gavage, the positive control group was given 0.54 g/kg compound turtle shell soft liver tablets gavage, and the model group and the negative control group were given the same amount of normal saline gavage once a day for a total of 12 weeks. Liver histopathological examination was performed after the rats were anesthetized to death at the end of 12 weeks. The expression

*[基金项目] 贵阳市科技计划项目[筑科合同(2011204)19 号]

** 贵州医科大学 2016 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: lushuang73@163.com

网络出版时间: 2019-04-25 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190425.2119.012.html>

levels of IL-33 and ST2 proteins in liver tissues were detected by immunohistochemical method and Western Blot, and the expression levels of IL-33 mRNA in liver tissues were detected by Q-PCR.

Results: Compared with the negative control group, liver fibrosis was significant in the model group, and the expressions of IL-33, ST2 protein and IL-33 mRNA increased in the model group and the Danfang group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the degree of liver fibrosis was significantly reduced in the Danfang group and the positive control group, and the expressions of IL-33, ST2 protein and IL-33 mRNA decreased ($P < 0.05$). Compared with the positive control group, there was no significant difference in the degree of liver fibrosis reduction in the Danfang group ($P > 0.05$), but the expression of IL-33, ST2 protein and IL-33 mRNA increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Danfang capsule has a certain intervention effect on immune liver fibrosis in rats, and the mechanism may be related to the inhibition of proliferation and activation of HSC by reducing the expression of IL-33 and ST2.

[**Key words**] hepatic fibrosis; Danfang capsule; intervention study; IL-33, ST2

肝纤维化 (hepatic fibrosis, HF) 是由于某些因素损伤肝细胞后发生慢性炎症、坏死, 导致大量的胶原纤维沉积于汇管区和肝小叶内的一种病理性改变, 其发生的中心环节是肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 活化致使细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 的合成和降解失衡^[1]。在 HF 时, 活化的 HSC 可分泌白介素 33 (interleukin-33, IL-33), 并能在 HSC 细胞膜上观察到肿瘤发生抑制蛋白 2 (suppression of tumorigenicity 2, ST2)^[2]。有研究表明, 当发生急性或大规模肝损伤时, IL-33 的释放可能作为组织保护机制的激活物; 而在慢性损伤中, IL-33 则具有促纤维化的作用^[3]。丹防胶囊是一种复方制剂, 前期研究发现其在猪血清诱导的大鼠免疫性 HF 模型中具有抗 HF 作用^[4]。复方鳖甲软肝片则是目前临床上常用、疗效颇佳的抗 HF 药物。因此, 本研究对免疫性 HF 模型大鼠给与丹防胶囊干预治疗, 观察大鼠肝组织 IL-33、ST2 的表达, 探讨丹防胶囊对大鼠免疫性 HF 干预作用的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及药物 40 只清洁级雄性 SD 大鼠 (180 ± 20) g 由贵州医科大学动物实验中心提供 (SYXK 黔 2015 - 0001), 丹防胶囊 (贵阳天阳公司, 自制复方制剂, 尚未进行新药申报), 复方鳖甲软肝片购于内蒙古中蒙药科技公司 (20150123)。本研究获得贵州医科大学伦理委员会批准 (1402050)。

1.1.2 主要试剂 IL-33 抗体 (Abcam ab207737)、ST2 抗体 (武汉三鹰 11920 - 1 - AP)、GAPDH 抗体

(Cell Signaling 14C10)、山羊抗兔二抗 (中杉金桥 ZB - 2301)、引物 (上海生工)、TB Green premix Ex TaqII (Tli RNaseH plus)、TAKARA BIO INC RR820A、总 RNA 提取试剂盒 (TianGen Dp 419)、primeScript t RT reagent kit with gDNA Eraser (TAKARA BIO INC RR047A)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 40 只清洁级雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后按随机数字法平均分为模型组、阴性对照组、丹防组及阳性对照组, 每组 10 只。模型组、丹防组、阳性对照组腹腔注射 0.5 mL/只^[4] 猪血清构建大鼠肝纤维化模型, 阴性对照组腹腔注射生理盐水 0.5 mL/只, 2 次/周, 共 12 周。造模同时, 丹防组每天予 4.32 g/kg^[4] 丹防胶囊灌胃, 阳性对照组予 0.54 g/kg^[4] 复方鳖甲软肝片灌胃, 模型组和阴性对照组予等量生理盐水灌胃, 1 次/d, 共 12 周^[4]。12 周末麻醉处死大鼠, 取各组大鼠肝右叶相同部位肝组织经甲醛固定后石蜡包埋, 行苏木素—伊红 (HE) 染色观察大鼠肝组织病理学改变, 参照文献 [5] 进行纤维化分期; 剩余新鲜肝组织存于 -80 °C 冰箱, 用免疫组化、Western Blot 及 Q-PCR 检测大鼠肝组织中 IL-33、ST2 蛋白及 IL-33 mRNA 的表达。

1.2.2 免疫组织化学法检测肝组织切片 IL-33、ST2 表达 各组石蜡切片经二甲苯脱蜡、不同浓度酒精水化及枸橼酸钠液抗原修复, 一抗 IL-33 (1:1 000)、ST2 (1:300) 4 °C 孵育过夜, 二抗常温孵育 30 min。DAB 试剂染色 3 ~ 5 min、复染 1 ~ 3 min、返蓝 1 min、中性树胶封片, 显微镜下每张切片随机选取 4 个高倍镜观察定位, 利用 Image J 计算平均

光密度值。

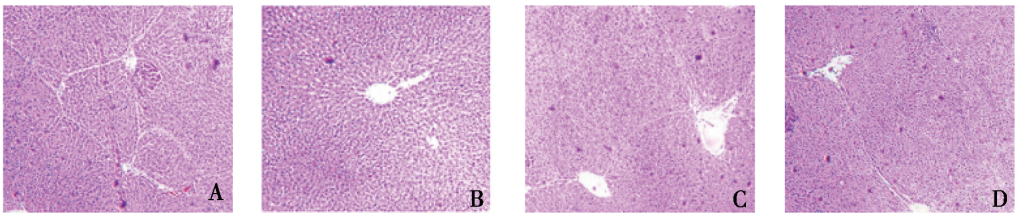
1.2.3 Western Blot 检测肝组织匀浆 IL-33、ST2 蛋白表达 利用超声震碎提取肝组织蛋白,分别配制 8% 和 12% SDS-PAGE 凝胶后电泳及转膜,5% 脱脂奶粉常温封闭 2 h,一抗 IL-33(1:1 000)、ST2(1:2 000)、GAPDH(1:6 000)4 ℃ 孵育过夜,二抗(1:5 000)常温孵育 50 min 后 ELC 曝光,GAPDH 作为内参,Image J 对各组蛋白条带进行灰度值分析。

1.2.4 Q-PCR 检测肝组织 IL-33 mRNA 表达 按照试剂盒说明书提取肝组织总 mRNA,逆转录后加入引物、模板与荧光染料,制备 10 μL 体系样品进行荧光定量实时检测。以 GAPDH 为内参照,每组样本在相同条件(预变性 95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,60 ℃ 60 s,重复 40 个循环)下重复 3 次,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值计算各组大鼠 IL-33 mRNA 相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 Q-PCR 引物序列及序列片段

Tab. 1 Q-PCR primer sequence and sequence fragment

基因	序列(5'-3')	产物(bp)
IL-33	GTCTACTGCATGAGGCTCCG	369
	TGCAGGAAAGGAAGACTCGT	
GAPDH	TTCCAGTATGACTCTACCCAC	128
	TCACCCCATTTGATGTTAGCG	



注:A 为模型组,B 为阴性对照组,C 为丹防组,D 为阳性对照组

图 1 各组大鼠肝组织切片病理学改变(HE, ×40)

Fig. 1 HE staining of liver tissue of rats in each group

2.3 肝组织 IL-33、ST2 蛋白表达

IL-33 定位于细胞核,ST2 定位于细胞质。与阴性对照组比较,模型组和丹防组的 IL-33、ST2 表达增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,丹防组和阳性对照组的 IL-33、ST2 表达下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);与阳性对照组比较,丹防组的 IL-33、ST2 表达增多,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2 和图 2。

2.4 肝组织匀浆 IL-33、ST2 蛋白表达

与阴性对照组比较,模型组及丹防组的 IL-33、ST2 表达增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);与

1.3 统计学方法

实验数据采用 SPSS 22.0 统计软件处理,计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,连续型变量服从正态分布,比较多组结果采用单因素方差分析,齐性方差时两组间采用 LSD 检验,非齐性方差采用 Tamhane T2 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

实验过程中,各组大鼠一般状态良好,正常饮食。实验第 4 周,模型组 1 只大鼠因肺部有出血灶死亡,其余各组大鼠未出现死亡情况。

2.2 肝组织切片病理学改变

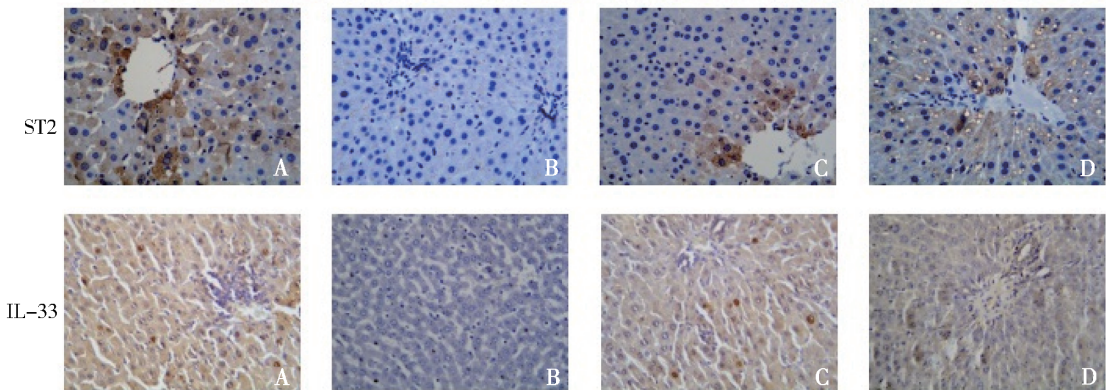
阴性对照组肝组织结构完整清晰,以中央静脉为中心,肝细胞呈放射状排列,在汇管区及肝组织中未见胶原纤维增生。模型组大部分肝实质被破坏,肝细胞不规则排列,汇管区可观察到胶原纤维增生呈条索状延伸至肝实质内形成纤维间隔,分割并破坏肝小叶,部分区域甚至形成假小叶结构。丹防组和阳性对照组的 HF 程度较模型组明显减轻,大部分正常肝小叶结构保留,纤维间隔变细,无假小叶结构形成。丹防组与阳性对照组的 HF 程度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

表 2 各组大鼠肝组织 ST2 及 IL-33 蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Expression of ST2 and IL-33 in liver tissue of rats in each group

组别	n	肝组织	
		ST2	IL-33
模型组	9	39.50 ± 7.50	29.95 ± 3.71
阴性对照组	10	0.80 ± 0.42 ⁽¹⁾	0.62 ± 0.42 ⁽¹⁾
丹防组	10	16.66 ± 1.75 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	4.21 ± 0.85 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾
阳性对照组	10	2.01 ± 0.96 ⁽¹⁾	0.94 ± 0.31 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与模型组比较, $P < 0.05$;⁽²⁾与阴性对照组比较, $P < 0.05$;⁽³⁾与阳性对照组比较, $P < 0.05$



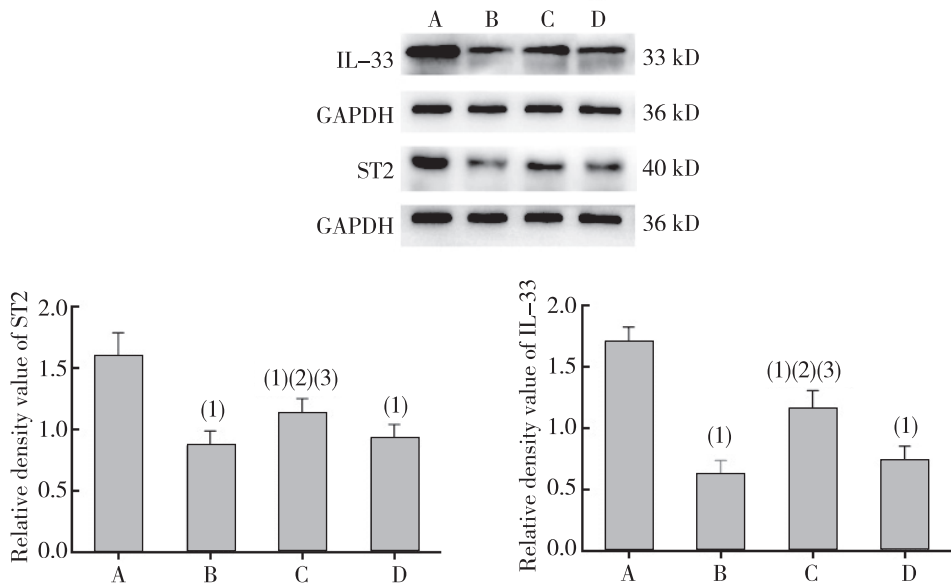
注:A 为模型组,B 为阴性对照组,C 为丹防组,D 为阳性对照组

图 2 各组大鼠肝组织 ST2 及 IL-33 蛋白表达 (HE, ×400)

Fig. 2 Expression of ST2 and IL-33 in liver tissue of rats in each group

模型组比较,丹防组与阳性对照组的 IL-33、ST2 表达下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与阳性对照

组比较,丹防组的 IL-33、ST2 表达增多,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 3。



注:A 为模型组,B 为阴性对照组,C 为丹防组,D 为阳性对照组;⁽¹⁾与模型组比较, $P < 0.05$;

⁽²⁾与阴性对照组比较, $P < 0.05$;⁽³⁾与阳性对照组比较, $P < 0.05$

图 3 各组大鼠肝组织 IL-33 及 ST2 蛋白表达

Fig. 3 Expression of IL-33 and ST2 protein in liver tissue of rats in each group

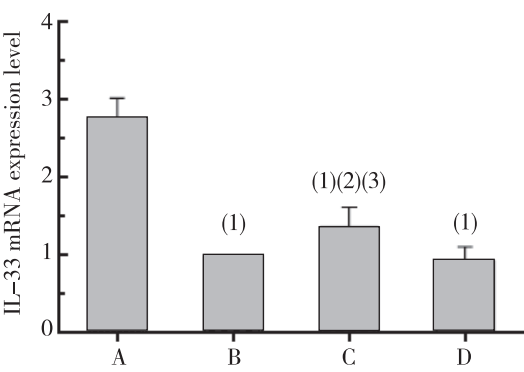
2.5 肝组织 IL-33 mRNA 的表达

与阴性对照组比较,模型组与丹防组的 IL-33 mRNA 表达增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与模型组比较,丹防组与阳性对照组的 IL-33 mRNA 表达下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与阳性对照组比较,丹防组的 IL-33 mRNA 表达增多,

差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 4。

3 讨论

IL-33 最初是在蛛网膜下腔出血后犬脑血管痉挛的研究中发现的,因其高表达而受到关注^[3],广



注：A 为模型组，B 为阴性对照组，C 为丹防组，D 为阳性对照组；⁽¹⁾ 与模型组比较， $P < 0.05$ ；⁽²⁾ 与阴性对照组比较， $P < 0.05$ ；⁽³⁾ 与阳性对照组比较， $P < 0.05$

图 4 各组大鼠肝组织中 IL-33 mRNA 表达
Fig. 4 Expression levels of IL-33 mRNA in liver tissue of rats in each group

泛表达于固有免疫细胞、内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞等，具有细胞因子和转录因子双重功能^[5-7]。当发生急性或大面积肝细胞损伤时，IL-33 的释放作为组织保护机制的因子，可减轻肝细胞的受损程度；然而，在慢性肝组织损伤中，IL-33 则可作为一种肝细胞受损的“预警”因子，表现出促 HF 的作用^[3]。ST2 作为 IL-33 的受体，在未发现其配体 IL-33 前，一直被认为是孤立受体^[5]。研究发现，小鼠和人的 ST2 广泛在心肝脾肾肺脑等多种器官中表达^[8]，也在如 CD4 +、CD8 + T 细胞、T 调节细胞 (Tregs) 等适应性免疫的细胞中表达^[9]。越来越多的研究表明，IL-33/ST2 通路可参与 HF 的发生及发展^[7,10,11]。Sun Z 等^[2,12]发现小鼠和人纤维化肝脏中 IL-33 水平以及 IL-33、ST2 mRNA 表达均高于正常肝脏组织，其表达水平的高低与纤维化的严重程度呈正相关。ST2 在 HF 的发生发展中也具有重要作用。已有研究证明，在没有跨膜型 ST2L 的情况下，肝脏损伤、炎性细胞浸润和纤维化程度降低；此外，ST2L 缺陷小鼠在四氯化碳的作用下，并未观察到胶原蛋白的增加^[2]。研究还发现，在 ST2 缺乏的 HF 小鼠中，HSC 的活化降低^[11]。

目前，中药制剂抗 HF 的研究已获得较多验证，且具有多靶点、副作用相对较小的优点^[13-15]。丹防胶囊是由土鳖、鳖甲、汉防己、丹参、银杏叶、黄芪、三七、龟板及熟大黄 9 种已被证实有较好抗纤维化效果的单方组成的复方制剂^[16-23]，本实验前期的研究发现丹防胶囊对免疫性大鼠 HF 有一定

干预作用，其中以高剂量组效果最显著^[4]。此外，研究还发现丹防胶囊可抑制大鼠肝星状细胞的增殖^[24]。本研究在上述研究基础上，结合其他学者关于 IL-33/ST2 与 HF 关系的研究结论，选择了高剂量丹防胶囊对猪血清诱导的大鼠 HF 进行干预，同时检测各组大鼠肝组织 IL-33 及 ST2 的表达，进一步探讨丹防胶囊对大鼠免疫性 HF 的干预作用是否与 IL-33、ST2 的表达相关。

本研究结果显示，HF 组大鼠肝组织实质被广泛破坏，汇管区可观察到大量胶原纤维增生，有纤维间隔形成，部分区域可见典型假小叶形成，提示已成功复制猪血清诱导的免疫性大鼠 HF 模型。与 HF 组相比，丹防胶囊组、复方鳖甲软肝片组 HF 程度明显减轻，仅少部分汇管区可观察到胶原纤维增生，纤维间隔变细，未见明显假小叶形成。综上提示丹防胶囊对免疫性大鼠 HF 有一定的干预作用。与正常肝组织比较，IL-33 基因及蛋白、ST2 蛋白在 HF 组织中表达增高，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，本研究结果与 Sun Z 等人^[2]的结果一致，提示 IL-33/ST2 参与了 HF 的形成。但经丹防胶囊干预后，IL-33 基因及蛋白、ST2 蛋白的表达较 HF 组明显下降 ($P < 0.05$)，与 Sun Z^[2]发现的在 ST2 缺乏的 HF 小鼠中 HSC 的活化降低及赵雪珂发现的丹防胶囊可抑制大鼠肝星状细胞的增殖的研究结果相结合，提示了丹防胶囊可能通过降低 IL-33、ST2 的表达进而抑制 HSC 的增殖、活化，从而发挥其对 HF 的干预作用。然而，比较丹防组与阳性对照组发现，两组大鼠肝组织病理学改变差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，但丹防组 IL-33 基因及蛋白、ST2 蛋白表达高于阳性对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，提示丹防胶囊除了可以通过影响 IL-33、ST2 的表达进行抗 HF 外，可能还能通过其他信号通路发挥干预作用，需进一步探究丹防胶囊对大鼠免疫性 HF 干预的作用机制。

综上，探究丹防胶囊对 HF 的干预机制可进一步验证中药有效成分抗 HF 在分子水平的作用机制，为今后中药抗 HF 提供有效的理论依据。

4 参考文献

[1] TOKUNAGA Y, OSAWA Y, OHTSUKI T. Selective inhibitor of wnt/ β -catenin/CBP signaling ameliorates hepatitis C virus-induced liver fibrosis in mouse model[J]. SciRep, 2017, 7(1):325.

- [2] SUN Z, CHANG B, GAO M, et al. IL-33-ST2 axis in liver disease: progression and challenge [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 5314213.
- [3] KOTSIU O S, GOURGOULIANIS K I, ZAROGIANNIS S G. IL-33/ST2 axis in organ fibrosis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9(1): 1–15.
- [4] 胡晓会, 吴君, 陆爽. 丹防胶囊对免疫性肝纤维化大鼠的干预作用[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(35): 2783–2788.
- [5] SCHMITS J, OWYANG A, OLDHAM E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines [J]. *Immunity*, 2005, 23(5): 479–490.
- [6] LIEW F Y, PITMAN N I, MCINES I B. Disease-associated functions of IL-33: the new kind in the IL-1 family [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(2): 103–110.
- [7] MARVIE P, LISBONE M, L'HELGOUALC'H A, et al. Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(6): 1726–1739.
- [8] MOLOFSKY A B, SAVAGE A K, LOCKSLEY R M. Interleukin-33 in tissue homeostasis, injury, and inflammation [J]. *Immunity*, 2015, 42(6): 1005–1019.
- [9] GRIESEN AUER B, PACZESNY S. The ST2/IL-33 axis in immune cells during inflammatory diseases [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 475.
- [10] MCHEDLIDZE T, WALDNER M, ZOPF S, et al. Interleukin-33-dependent innate lymphoid cells mediate hepatic fibrosis [J]. *Immunity*, 2013, 39(2): 357–71.
- [11] TAN Z, LIU Q, JIANG R, LV L, et al. Interleukin-33 drives hepatic fibrosis through activation of hepatic stellate cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2018, 15(4): 388–398.
- [12] GAO Y, LIU Y, YANG M, et al. IL-33 treatment attenuated diet-induced hepatic steatosis but aggravated hepatic fibrosis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 33649–33661.
- [13] WANG Q, ZANG W, HAN L, et al. Wenyang huazhuo tongluo formula inhibits fibrosis via suppressing Wnt/ β -catenin signaling pathway in a bleomycin-induced systemic sclerosis mouse model [J]. *Chin Med*, 2018, 13: 4–14.
- [14] 谢君, 谢晓芳, 代良萍, 等. 肝苏颗粒对四氯化碳致肝纤维化大鼠肝功能和病理损伤的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(8): 117–123.
- [15] 马振增, 陆伦根. 肝纤维化药物治疗的新进展 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32(6): 1183–1187.
- [16] 陈冠新, 文彬, 孙海涛, 等. 鳖甲煎丸对 CCl₄ 致大鼠肝纤维化模型中 NF- κ B 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(10): 161–167.
- [17] 张欣. 汉防己碱对牛血清白蛋白致大鼠肝纤维化的治疗作用 [J]. *中国肝脏病杂志: 电子版*, 2016, 8(2): 29–33.
- [18] 彭汝琴, 王绍展, 王媛媛, 等. 丹参素通过 MEK/ERK 信号通路抑制肝纤维化 [J]. *中南药学*, 2017, 15(5): 580–586.
- [19] 叶蕾, 余亚平, 严茂祥, 等. 银杏叶提取物对肝纤维化大鼠肝脏内质网应激相关 c-jun 氨基末端激酶通路的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(1): 293–295.
- [20] 李文新, 车念聪, 王金光, 等. 大黄虫丸加黄芪、水红花子对拮抗大鼠肝纤维化作用的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(12): 5320–5322.
- [21] 邓春兰, 廖一兰, 王馨. 三七及其有效活性成分在保肝方面的研究进展 [J]. *中南药学*, 2015, 13(12): 1292–1295.
- [22] 秦冬梅, 张钰, 李莉. 具有抗肝纤维化作用的植物药研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(11): 958–965.
- [23] 吴晓东, 张峰, 梁瑞峰. 大黄素与丹参素合用对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的保护作用 [J]. *天津中医药*, 2018, 35(2): 143–146.
- [24] 赵雪珂, 陆爽, 谭家武. 丹防胶囊对肝星状细胞 P DGF-B 和 ERK1/2 表达的影响 [J]. *贵阳医学院学报*, 2013, 38(4): 362–365, 378.
- [25] ISHAK K, BAPTISTA A, BIANCHI L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis [J]. *J Hepatol*, 1995, 22(6): 696–699.

(2019-01-07 收稿, 2019-03-16 修回)

中文编辑: 刘平; 英文编辑: 雷妍