

扶正化瘀胶囊对肝纤维化大鼠的防治作用及对结缔组织生长因子表达的影响*

陈 晗^{1,2}, 杨碧伟^{1,2}, 袁 满^{1,2}, 唐 红^{1,2}, 白 浪^{1,2},
刘 聪^{1,2}, 何 敏^{1,2}, 王丽春^{1,2△}

1. 四川大学华西医院 感染性疾病中心(成都 610041);

2. 四川大学华西医院 生物治疗国家重点实验室 感染性疾病研究室(成都 610041)

【摘要】 目的 研究扶正化瘀胶囊在实验性肝纤维化形成中的预防作用及肝纤维化形成后的治疗作用,分析扶正化瘀胶囊对肝纤维化大鼠结缔组织生长因子(CTGF)表达的影响,探讨其可能的作用机制。**方法** 选取Wistar大鼠40只随机分为正常组(8只)、预防组(预防实验组8只和预防对照组8只)和治疗组(治疗实验组8只和治疗对照组8只);除正常组外,其余各组均采用皮下注射CCl₄联合饮用乙醇的方法制备肝纤维模型;预防实验组和治疗实验组分别在造模第4周和造模结束后(第8周)予扶正化瘀方生药0.46 g/kg体质量灌胃。每日1次,共4周;预防对照组和治疗对照组分别于上述时点予生理盐水10 mL/kg体质量灌胃,实验结束后分别采血测定肝功能、肝纤维化指标,对肝组织进行病理学观察,并对肝组织内的CTGF蛋白进行免疫组织化学染色分析。**结果** 造模结束后(第8周),预防实验组较预防对照组的总胆红素(TB)、谷丙转氨酶(ALT)降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。第12周,治疗实验组较治疗对照组的ALT降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),而其余项差异均没有统计学意义。预防实验组较预防对照组的肝纤维化指标透明质酸(HA)降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。治疗实验组较治疗对照组的肝纤维化指标层粘连蛋白(LN)降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),其余项差异没有统计学意义。治疗实验组较治疗对照组的肝组织病理显示其炎症及肝纤维化均明显减轻,治疗实验组肝组织CTGF表达低于治疗对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 扶正化瘀胶囊在实验性肝纤维化造模过程中有预防肝纤维化形成的作用,在实验性肝纤维化形成后具有逆转肝纤维化的治疗作用。肝纤维化大鼠肝组织中CTGF表达明显增加,而扶正化瘀胶囊可抑制CTGF表达,可能是其作用机制之一。

【关键词】 肝纤维化 扶正化瘀胶囊 结缔组织生长因子 免疫组化

Prevention and Therapeutic Effects of Fuzheng Huayu Capsule on Liver Fibrosis and Expression of Connective Tissue Growth Factor in Rats CHEN Han^{1,2}, YANG Bi-wei^{1,2}, YUAN Man^{1,2}, TANG Hong^{1,2}, BAI Lang^{1,2}, LIU Cong^{1,2}, HE Min^{1,2}, WANG Li-chun^{1,2△}. 1. Center of Infectious Diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Division of Infectious Diseases, State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: mindywang0218@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the prevention and therapeutic effects of Fuzheng Huayu Capsule on liver fibrosis in rats and its possible mechanism by regulating the expression of connective tissue growth factor (CTGF). **Methods** Forty Wistar rats were randomly divided into five groups: the normal group, the preventive group (the preventive experimental group and the preventive control group) and the treatment group (the treatment experimental group and the treatment control group). All the rats, except those in the normal group, were given CCl₄ by subcutaneous injection and alcohol by oral administration to establish the model of liver fibrosis; meanwhile the rats in normal group were given same amount of olive oil by subcutaneous injection and water by oral administration. The preventive experimental group and control group were treated with Fuzheng Huayu crude drug 0.46 g/kg body mass through stomach irrigation and saline respectively once a day for four weeks during the modeling process. The treatment experimental group and control group were treated with Fuzheng Huayu crude drug 0.46 g/kg body mass through stomach irrigation and saline respectively once a day for four weeks after the modeling process. Blood was collected for the examination of liver function and serum fibrosis marker. HE staining was used to examine the pathological changes in liver tissue. The expression of CTGF was detected by

* 国家自然科学基金(No. 81200302)资助

△ 通讯作者, E-mail: mindywang0218@163.com

immunohistochemistry. **Results** Compared with the preventive experimental group, total bilirubin (TB), alanine aminotransferase (ALT) and hyaluronic acid (HA) in the preventive control group decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with the treatment control group, ALT and laminin (LN) in the treatment experimental group decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with the treatment control group, the inflammation and hepatic fibrosis in the treatment experimental group alleviated significantly. The expression of CTGF in the treatment experimental group were significantly lower than that in the treatment control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Fuzheng Huayu Capsule showed the prevention and therapeutic effects on experimental liver fibrosis. Meanwhile, Fuzheng Huayu Capsule could inhibit the CTGF expression in liver tissue, which may be one of the molecular mechanisms of these effects.

【Key words】 Hepatic fibrosis Fuzheng Huayu Capsule CTGF Immunohistochemistry

肝纤维化是多种不同病因引起慢性肝损伤后的常见结果^[1,2]。肝纤维化体现了肝脏对慢性损害的修复反应,可最终发展为肝硬化,导致肝功衰竭,门脉高压,甚至肝细胞癌^[3]。肝纤维化或肝硬化最重要的病理特征就是细胞外基质(ECM)组成成分(包括 I 和/或 III 型胶原)的合成增加或降解减少所致的明显的瘢痕组织沉积^[3-5]。扶正化瘀胶囊是临床上治疗肝纤维化的药物之一^[6,7],已有研究表明,它能够通过阻断 Jak/Stat 通路和 TGF- β_1 /Smad 通路,对转化生长因子- β (TGF- β_1) mRNA、肝星状细胞 I 型前胶原和 α -平滑肌肌动蛋白(SMA)的表达进行调节^[8,9],降低慢性乙型肝炎患者血清相关炎症纤维化细胞因子^[10]等途径减轻肝纤维化。而结缔组织生长因子(CTGF)是致肝纤维化的重要细胞因子^[11],扶正化瘀胶囊是否影响其表达尚不明确。本研究通过观察扶正化瘀胶囊在预防实验性肝纤维化形成中的作用及肝纤维化形成后的治疗疗效,以 CTGF 作为靶点,通过 CTGF 表达的变化来探讨其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性健康 Wistar 大鼠 40 只,体质量 180~220 g,购自四川大学实验动物中心。

1.1.2 主要试剂和药物 扶正化瘀胶囊,上海中医药大学肝病研究所;CCl₄、橄榄油、无水酒精、二甲苯、石蜡,成都市科龙化工试剂厂;CTGF 一抗 Anti-CTGF antibody ab6992,英国 abcam 公司;免疫组化染色试剂盒 SP-9001、DAB Kit ZLI-9018,中杉金桥;灭菌蒸馏水、苏木素、伊红、PBS 溶液、生理盐水、100 g/L 水合氯醛,4%(体积分数)甲醛溶液,按标准自行配制;防脱载玻片(多聚赖氨酸处理),武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 分组及处理

40 只 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常组(8 只)和造模组(32 只)。造模组大鼠按 CCl₄ 联合饮用乙醇法构造肝纤维化模型^[12];正常组皮下注射等量橄榄油,正常饮水。造模持续 8 周后处死,采集标本。

预防实验:在造模的第 4 周开始,在造模组中随机选取 16 只大鼠,分为预防实验组(8 只),以 0.46 g/kg 体质量扶正化瘀方生药灌胃(剂量相当于成人每千克体质量用量的 10 倍);预防对照组(8 只)以 10 mL/kg 体质量的生理盐水灌胃;每日 1 次,共 4 周。4 周后(第 8 周)处死,采集标本。

治疗实验:造模结束时(造模开始后的第 8 周),撤除病因刺激,恢复正常膳食,随机分为治疗实验、治疗对照组各 8 只,开始用药。用药种类及剂量同预防组,共 4 周,4 周后(第 12 周)处死。

1.3 标本采集

禁食 12 h 后称重,以 100 g/L 水合氯醛按 3 mL/kg 体质量实施麻醉后,下腔静脉取血 6 mL,分离血清,-20 °C 保存。打开腹腔,取新鲜肝脏称重。取肝右叶组织适量以甲醛液体固定,石蜡包埋,3 μ m 厚连续切片待检。

1.4 检测指标和方法

1.4.1 血清中肝功指标 总胆红素(TB)、谷丙转氨酶(ALT)、白蛋白(ALB)、白蛋白/球蛋白比(A/G);其中 ALT 采用速率法,TB 采用重氮法,ALB 采用溴甲酚绿法测定,A/G 通过间接计算得出。

1.4.2 血清中肝纤维指标 透明质酸(HA)、III 型前胶原肽(PC III)、IV 型胶原蛋白(IV-C)、层粘连蛋白(LN)。HA、PC III、IV-C、LN 采用放射免疫法检测。

1.5 病理及免疫组化

1.5.1 肝脏组织病理学观察 肝组织石蜡切片行常规 HE 染色,比较各组肝组织炎症及纤维化的程度。

1.5.2 肝脏组织中 CTGF 的免疫组织化学染色 取肝组织石蜡切片,采用 SP 法免疫组织化学染色检测 CTGF 表达,DAB 显色,镜下观察 CTGF 蛋白的表达,结果由病理专业医师按以下评分标准进行读片及评分。每个组织标本随机选取 5 个视野,百分率与强度值之和并取均值为该组织标本最终评分。阳性细胞百分率评分:0 分为 0~10% 阳性细胞;1 分为 11%~25% 阳性细胞;2 分为 26%~50% 阳性细胞;3 分为 51%~75% 阳性细胞;4 分为 76%~100% 阳性细胞。阳性染色强度评分:0 分=没有颜色;1 分=黄色;2 分=黄褐色;3 分=深褐色。

1.6 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正态分布计量资料采用方

差分析,非正态分布用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清检测指标

2.1.1 血清肝功能指标 与正常组相比,对照组 TB、ALT、A/G 第 8 周升高($P < 0.05$),第 12 周降低,且第 12 周 TB、A/G 已接近正常水平($P > 0.05$)。而与对照组相比,实验组 TB、ALT 第 8 周数值均有削弱($P < 0.05$),第 12 周进一步降低了 ALT 数值($P < 0.05$),但仍高于正常水平($P < 0.05$)。ALB 在各组、各时点差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组血清肝功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Liver function of different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	TB ($\mu\text{mol/L}$)	ALT (U/L)	ALB (g/L)	A/G
Normal group	8	0.87 \pm 0.35	44.00 \pm 4.69	35.88 \pm 1.08	1.52 \pm 0.17
Preventive experimental group (8 weeks)	8	2.10 \pm 0.63* Δ	108.00 \pm 33.64* $\Delta\Delta$	32.57 \pm 7.92	1.82 \pm 0.25
Preventive control group (8 weeks)	8	3.15 \pm 0.73**	304.80 \pm 34.26**	35.28 \pm 6.72	2.06 \pm 0.31*
Treatment experimental group (12 weeks)	8	1.04 \pm 0.16	55.60 \pm 3.05* $\Delta\Delta$	34.96 \pm 1.79	1.62 \pm 0.13
Treatment control group (12 weeks)	8	1.70 \pm 0.71	77.60 \pm 8.76**	33.10 \pm 2.80	1.47 \pm 0.06

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. normal group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$, vs. control group at the same time point. ALB: Albumin; A/G: Albumin/globulin ratio

2.1.2 血清肝纤维指标 与正常组相比,对照组 HA、PCⅢ、Ⅳ-C 于第 8 周升高($P < 0.05$),第 12 周降低。第 12 周 HA、PCⅢ、Ⅳ-C 接近正常水平($P > 0.05$)。与对照组相比,实验组第 8 周的 HA 降低($P < 0.05$),第 12 周差异不大($P > 0.05$);第 8 周和

第 12 周,实验组与对照组间 PCⅢ、Ⅳ-C 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。无论是对照组还是实验组,第 8 周和第 12 周 LN 水平均高于正常组($P < 0.05$)。实验组第 8 周 LN 水平与对照组相当($P > 0.05$),第 12 周低于对照组($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组血清肝纤维化 4 项指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Fibrogenic indicators of different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	HA (ng/mL)	PCⅢ ($\mu\text{g/L}$)	Ⅳ-C (ng/mL)	LN (ng/mL)
Normal group	8	115.15 \pm 17.85	25.87 \pm 3.38	12.13 \pm 2.15	54.76 \pm 3.92
Preventive experimental group (8 weeks)	8	103.35 \pm 27.91 $\Delta\Delta$	43.27 \pm 9.49*	20.51 \pm 5.62	65.40 \pm 4.11**
Preventive control group (8 weeks)	8	195.28 \pm 61.18*	56.27 \pm 14.85*	24.75 \pm 6.84*	78.83 \pm 9.41**
Treatment experimental group (12 weeks)	8	120.98 \pm 28.42	30.91 \pm 6.36	14.99 \pm 4.54	60.08 \pm 3.84* Δ
Treatment control group (12 weeks)	8	145.01 \pm 30.17	35.89 \pm 10.21	15.68 \pm 5.05	66.59 \pm 2.81**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. normal group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$, vs. control group at the same time point. PCⅢ: Precollagen Ⅲ peptide; Ⅳ-C: Ⅳ-collagen

2.2 病理组织学观察

2.2.1 各组肝组织病理组织学观察 正常组(图 1A):HE 染色镜下观察可见肝组织肝小叶典型结构,小叶呈多边形,小叶内肝细胞排列整齐成肝细胞索,与肝血窦共同以小叶中央静脉为中心向汇管区呈放射状排列,小叶分界不明显。

预防组:预防实验组(图 1B)可见较多肝细胞脂肪变性,肝细胞索严重紊乱,周围肝窦扩张、淤血,纤维组织明显增生并伸向小叶内,可见不完整假小叶

形成。预防对照组(图 1C)可见广泛增生的纤维组织将原有肝小叶分割包绕成大小不等的肝细胞团,形成满布视野的典型假小叶结节,小叶中央静脉缺如,小叶间静脉扩张,汇管区形成较粗的纤维间隔。

治疗组:治疗实验组(图 1D)可见肝细胞索排列明显紊乱,肝血窦明显扩张,可见汇管区细纤维组织间隔形成,但还未破坏小叶结构,中心静脉可见,未见典型假小叶结构形成。治疗对照组(图 1E)肝细胞索排列严重紊乱,仅隐约可见原小叶结构,与预防

对照组(图 1C)相比,其假小叶结构不及前者典型,汇管区纤维增生较细,纤维化程度较前者轻。

2.2.2 CTGF 表达的镜下观察 正常组(图 2A):肝组织内可见少量 CTGF 表达,主要呈放射状位于中央静脉附近的窦周隙处。

预防组:预防组内的两组肝组织内均可见密集的满布视野的 CTGF 表达,但相较于预防对照组

(图 2C),预防实验组(图 2B)的 CTGF 表达密度略低,且染色强度亦更低。

治疗组:治疗实验组内(图 2D)比正常组 CTGF 表达更少,仅可偶见散在的小团块分布且强度较弱。而且,与预防对照组相较,治疗对照组(图 2E)的 CTGF 明显减少,仅较集中地表达于假小叶周围纤维间隔边缘处。

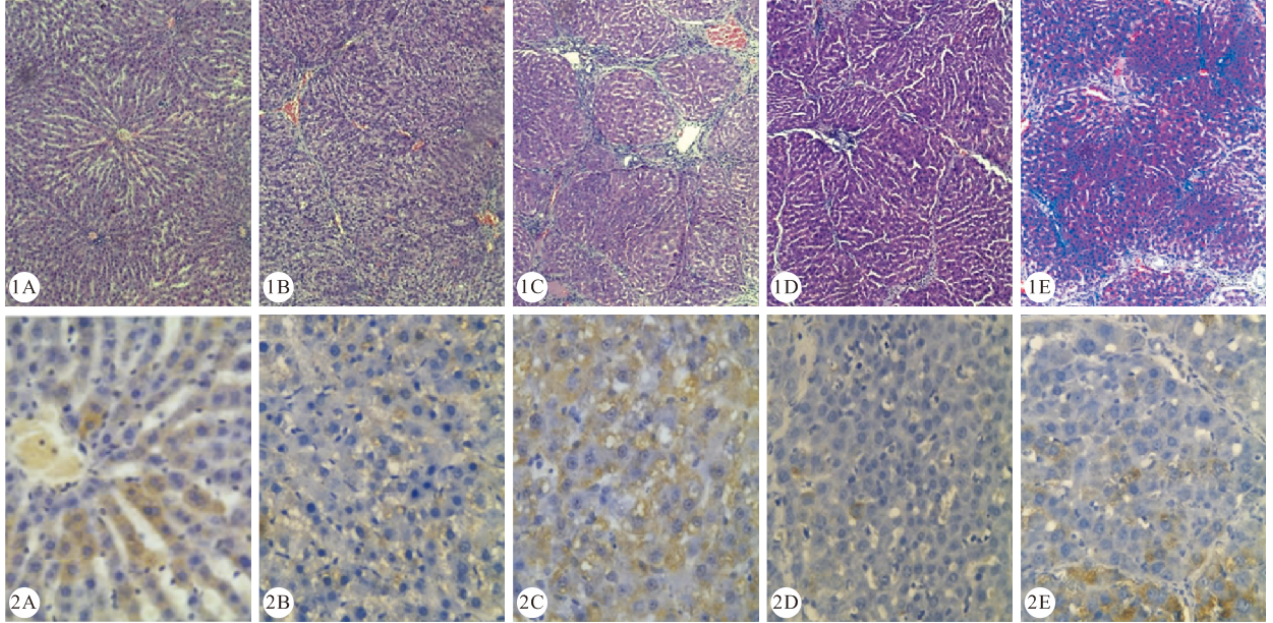


图 1 HE 染色的各组肝组织。×100

图 2 各组肝组织内 CTGF 表达。SP ×400

Fig 1 HE staining of liver tissues. ×100

Fig 2 The expression of CTGF in liver tissues. SP ×400

A: Normal group; B: Preventive experimental group; C: Preventive control group; D: Treatment experimental group; E: Treatment control group

2.2.3 CTGF 表达的定量分析结果 见图 3。与正常组相比,对照组 CTGF 在第 8 周表达增高($P < 0.05$),第 12 周降低,但仍高于正常水平($P < 0.05$)。与对照组相比,治疗组 CTGF 第 8 周的表达下降

($P < 0.05$),第 12 周的表达进一步下降($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 扶正化瘀胶囊的抗炎抗纤维化作用

扶正化瘀胶囊(旧名肝平胶囊、扶正化瘀方、319 方,上海中医药大学肝病研究所研制),由丹参、冬虫夏草、桃仁、松花粉、绞股蓝和五味子 6 味中药组成。对肝纤维化血瘀正虚的基本病机研制,由活血化瘀(桃仁)和益精补虚(冬虫夏草)类药物组成,现经多方向、多途径的研究已证实扶正化瘀胶囊能多环节、多层次、多靶点干预纤维化过程,并已取得明确的临床疗效。

本研究结果显示,预防用药和治疗用药对 ALT 有改善作用,但不能完全纠正 CCl_4 的肝功能损伤作用,并且在肝纤维化发生后扶正化瘀治疗依然对肝功能起到一定的保护作用。预防用药对 LN 无改善作用,治疗用药对 LN 有一定的改善作用,但不能让

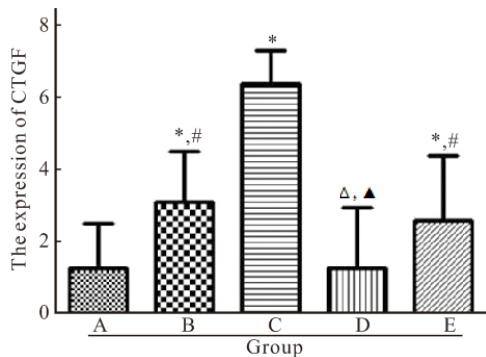


图 3 CTGF 表达定量分析结果

Fig 3 Quantitative analysis of CTGF expression

* $P < 0.05$, vs. A group; Δ $P < 0.05$, vs. E group; \blacktriangle $P < 0.05$, vs. B group; # $P < 0.05$, vs. C group. A, B, C, D, E denote the same as fig 1

其恢复正常水平。而对照组中 TB、A/G、HA、PC III、IV-C 在停止皮下注射 CCl_4 的 4 周后能恢复正常水平,说明用药对改善这些指标并无必要。在实验组中 ALT 在停止皮下注射 CCl_4 的 4 周后下降,这种现象可能源于 CCl_4 刺激撤销后,肝脏炎症反应减轻。ALB 在本实验各组、各时点差异无统计学意义,说明造模及用药对此指标无影响。

肝组织经 HE 染色后镜下观察组织学变化,预防实验组肝细胞的炎症反应、肝细胞索紊乱程度及纤维增生均较预防对照组减轻,表明在预防性使用扶正化癥胶囊时,可使肝纤维化程度明显减轻。治疗对照组肝细胞索排列严重紊乱,隐约可见原小叶结构,而治疗实验组仅肝细胞索紊乱程度不及治疗对照组,可见细纤维组织间隔形成,无肝假小叶形成,体现了扶正化癥胶囊在肝纤维化发生后对逆转纤维化有作用。另外,治疗对照组的假小叶结节不及预防对照组典型,汇管区纤维增生较细,纤维化程度较前者轻,这可能与 CCl_4 纤维化刺激作用撤销后,肝脏的自我恢复作用有关。

3.2 扶正化癥胶囊对 CTGF 表达的影响

肝纤维化是诸多慢性肝病共同的病理过程,也是各类慢性肝病向肝硬化转归中的可逆阶段,其特征是肝脏 ECM 代谢失衡,生成大于降解,并大量沉积于肝组织。目前仍认为,肝星状细胞(HSC)激活并转化为肌成纤维细胞是肝纤维化发生的关键,但纤维化发生的机制还依赖于许多促纤维化或抗纤维化细胞因子的交互作用,其中起关键作用的促纤维化生长因子包括血小板源性生长因子(PDGF)和 $\text{TGF-}\beta_1$ ^[13,14]。因 $\text{TGF-}\beta_1$ 有许多重要功能如抗炎、抗增生、抗血管生成和抗肿瘤生成等,所以通过抑制 $\text{TGF-}\beta_1$ 来治疗肝纤维化不具可行性,而 CTGF 的发现开启了新的研究方向。在肝纤维化过程中,CTGF 通过调控靶细胞对 $\text{TGF-}\beta_1$ 、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)等细胞因子的信号回应而起作用^[15],其中最重要的是协同纤维生成的主要细胞因子 $\text{TGF-}\beta_1$,因此,被证实是 $\text{TGF-}\beta_1$ 生物学作用的下游高效介质^[16]。而与上游控件 $\text{TGF-}\beta_1$ 相比,CTGF 仅介导其局限于纤维化的发生方面的生物学效应,故而作用较为单一。最新研究已证实,在肝纤维化肝组织的窦周区及纤维化邻近的肝细胞中,均查见与肝纤维化程度相关的 CTGF 的过度表达^[17]。人抗 CTGF 抗体 FG-3019 所表现出来的抗纤维化效应,使抗 CTGF 治疗可能在治疗各类纤维增生疾病中

提供新的治疗途径^[18]。CTGF 被认为是肝纤维化产生的“总开关”^[19],抑制 CTGF 表达的治疗较抗 $\text{TGF-}\beta_1$ 治疗更具针对性,而不影响 $\text{TGF-}\beta_1$ 的其它诸如免疫抑制、抗炎等重要生物效应,使之成为近年来肝纤维化诊断及治疗靶点选择的热点^[20]。

本实验中,正常组肝组织内有少量 CTGF 表达,主要呈放射状的位于中央静脉附近的窦周隙处。预防组内的两组肝组织内均可见密集的满视野的 CTGF 表达,尤预防对照组内 CTGF 表达密集且强度高,结合 HE 染色下观察到的该组的高纤维化程度,表明 CTGF 在肝纤维化时表达确实增多;与预防对照组比较,可见预防实验组的 CTGF 表达密度更低,且染色强度亦更低,定量分析两组 CTGF 表达差异也有统计学意义,表明扶正化癥胶囊在预防性使用时可对抗刺激物 CCl_4 的促 CTGF 表达的作用,但尚不能完全抵消。与预防对照组相较,治疗对照组的 CTGF 明显减少,这说明在 CCl_4 刺激撤销后肝脏具有一定的自我修复能力,与早前报道 CCl_4 造模后大鼠肝纤维化可自我发生修复,肝纤维化程度逆转、减轻相符^[21];亦说明 CCl_4 这类促肝纤维化发生的毒素确有刺激 CTGF 发生的作用,其持续存在时可强烈促进 CTGF 表达增强,而撤销后 CTGF 表达可减轻甚至恢复正常。相较于正常组内 CTGF 表达的位置,自我部分恢复后的肝组织(即治疗对照组)内 CTGF 表达的位置发生变化,较集中地表达于假小叶周围纤维间隔边缘,可能与其促进肝胶原合成的作用相关。治疗组内的治疗实验组示比正常组更少的 CTGF 表达,仅可偶见散在的小团块分布且强度较弱,且治疗实验组与治疗对照组间 CTGF 定量分析差异有统计学意义,表明在撤销 CCl_4 的促肝纤维化影响后,在肝脏自我修复及扶正化癥胶囊抗纤维化的共同作用下,CTGF 表达几乎完全被阻断,提示扶正化癥胶囊有较强的抗 CTGF 表达作用,可能是其逆转肝纤维化的作用机制之一。本实验的局限性在于 CCl_4 联合饮用乙醇的方法造模是通过对小鼠肝脏急性毒性刺激引起肝纤维化,而在我国临床上患者发生肝纤维化的原因多为 HBV 或 HCV 病毒引起慢性炎症导致肝纤维化,两者发生肝纤维化的机制和时程均不相同。

综上所述,本实验进一步证实了扶正化癥胶囊有预防肝纤维化形成及治疗肝纤维化的作用。而在纤维化肝损伤中,活化的 HSC 细胞确是 CTGF 的重要来源。但实际上在肝纤维化损伤中肝脏 CTGF 的细胞来源是多样的,可以是肝细胞、成纤维细胞、

肌成纤维细胞、HSC,也可以是血管内皮细胞、单核细胞、炎性细胞、胆管内皮细胞。除目前已研究证实的扶正化瘀胶囊抗肝纤维化的作用机制外,本文还证实其可较强地抑制 CTGF 的表达。这是通过抑制 HSC 增殖、促进活化 HSC 凋亡等间接途径来实现的,还是其具有直接抑制 CTGF 表达的功能? 这个问题还需进一步的分子水平的研究,值得进一步探索。

参 考 文 献

- Hayashi H, Sakai T. Animal models for the study of liver fibrosis: new insights from knockout mouse models. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011; 300(5):G729-G738.
- Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol*, 2011; 6: 425-456. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246.
- Lee Y, Friedman SL. Fibrosis in the liver acute protection and chronic disease. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2010; 97: 151-200. doi: 10.1016/B978-0-12-385233-5.00006-4.
- Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008; 134(6):1655-1669.
- Iredale J. Defining therapeutic targets for liver fibrosis: exploiting the biology of inflammation and repair. *Pharmacol Res*, 2008; 58(2): 129-136.
- Deng X, Liang J, Liu Z, *et al.* Treatment of posthepatic cirrhosis by Fuzheng Huayu Tablet for Reinforcing Qi and Resolving Stasis. *Chin J Integr Med*, 2013; 19(4): 289-296.
- Liu P. Fuzheng Huayu Capsule in the treatment of liver fibrosis: clinical evidence and mechanism of action. *Chin J Integr Med*, 2012; 18(5): 398-400.
- 王卫真, 孟明辉, 孔 丽等. Jak /Stat 信号通路在经典 CCl₄ 大鼠肝纤维化模型中的动态变化及扶正化瘀方对其影响. *临床肝胆病杂志*, 2014; 30(4): 344-348.
- 王清兰, 陶艳艳, 沈 丽等. 扶正化瘀方影响转化生长因子 β_1 / Smad 信号通路的抗纤维化作用机制. *中西医结合学报*, 2012; 10(5): 561-568.
- 薛冬英, 叶 军, 陈 蓓等. 扶正化瘀胶囊对慢性乙型肝炎血清细胞因子和炎症纤维化指标的影响. *药品评价*, 2008; 5(5): 216-218.
- Ferdoushi SL, Paul D, Ghosh CK, *et al.* Correlation of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) with hepatic fibrosis in chronic hepatitis B. *Mymensingh Med J*, 2015; 24(3): 558-563.
- 李 力, 韩 蕾, 温文婷等. 复方鳖甲软肝注射剂对大鼠肝硬化的防治作用. *华西药学杂志*, 2012; 27(1): 38-42.
- Borkham-Kamphorst E, Weiskirchen R. The PDGF system and its antagonists in liver fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015; Oct 30. pii: S1359-6101(15)30005-8. doi: 10.1016/j.cytogfr.2015.10.002.
- Su TH, Kao JH, Liu CJ. Molecular mechanism and treatment of viral hepatitis-related liver fibrosis. *Int J Mol Sci*, 2014; 15(6): 10578-10604.
- Chen CC, Lau LF. Functions and mechanisms of action of CCN matricellular proteins. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009; 41(4): 771-783.
- Rodgers BD, Roalson EH, Thompson C. Phylogenetic analysis of the insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) and IGFBP-related protein gene families. *J Gen Comp Endocrinol*, 2008; 155(1): 201-207.
- Tache D, Bogdan F, Pisoschi C, *et al.* Evidence for the involvement of TGF- β 1-CTGF axis in liver fibrogenesis secondary to hepatic viral infection. *J Morphol Embryol*, 2011; 52(1 Suppl): 409-412.
- Wang Q, Usinger W, Nichols B, *et al.* Cooperative interaction of CTGF and TGF- β in animal models of fibrotic disease. *J Fibrogenesis Tissue Repair*, 2011; 4(1): 4. doi: 10.1186/1755-1536-4-4.
- Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver Int*, 2008; 28(8): 1065-1079.
- Kodama T, Takehara T, Hikita H, *et al.* Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. *J Clin Invest*, 2011; 121(8): 3343-3356.
- 张 磊, 李 俊, 朱鹏里等. 四氯化碳诱导大鼠肝纤维化进展期和恢复期模型的建立. *中国药理学通报*, 2011; 27(12): 1757-1760.

(2015 - 09 - 15 收稿, 2015 - 12 - 30 修回)

编辑 吕 熙