中医研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000214

益气化瘀化痰养阴剂对肝纤维化大鼠 FSP1、PAR-2 表达的影响

高世娇，陈文龙，何　英，曹文富

（重庆医科大学附属第一医院中西医结合科，重庆　400016）

【摘　要】**目的**：观察益气化瘀化痰养阴剂对四氯化碳（CCl_4）诱导的肝纤维化大鼠成纤维细胞特异性蛋白 1（fibroblast-specific protein 1，FSP1）和蛋白酶激活受体-2（protease activated receptor，PAR-2）表达的影响。**方法**：将大鼠随机分为正常组、模型组、秋水仙碱组、益气化瘀化痰养阴剂低、中、高剂量组（分别简称为中药低、中、高剂量组）。正常对照组、模型组灌服生理盐水；秋水仙碱组灌服秋水仙碱 0.1 mg/(kg·d)；中药低、中、高剂量组分别灌服益气化瘀化痰养阴剂[相当于生药 30、60、120 g/(kg·d)]。连续给药 12 周后，观察各组动物的肝组织病理学变化，并检测血清丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）、天门冬氨酸转移酶（aspartate aminotransferase，AST）、透明质酸（hyaluronan，HA）及Ⅳ型胶原（collagen Ⅳ，CⅣ）含量，用实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）和免疫印迹法（Western blot）检测各组大鼠肝组织 FSP1 和 PAR-2 的基因和蛋白表达。**结果**：(1)模型组大鼠与正常组大鼠相比，前者肝组织纤维化程度明显，血清中 ALT、AST、HA、CⅣ含量明显增高（$P<0.05$），肝组织中 FSP1 和 PAR-2 的 mRNA 和蛋白表达亦明显增高（$P<0.05$）。(2)各治疗组与模型组相比，前者肝组织炎性细胞浸润少，肝纤维化程度轻，血清中 ALT、AST、HA、CⅣ含量仅轻度升高（$P<0.05$），肝组织中 FSP1 和 PAR-2 的 mRNA 和蛋白表达亦轻度升高（$P<0.05$）。**结论**：益气化瘀化痰养阴剂能保护肝脏，延缓大鼠肝组织纤维化进程，其机制可能与调控大鼠肝组织 FSP1 和 PAR-2 的基因和蛋白表达有关。

【关健词】益气化瘀化痰养阴剂；肝纤维化；成纤维细胞特异性蛋白 1；蛋白酶激活受体-2

【中图分类号】R563　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2013-01-21

Effects of Yiqi-huayu-huatan-yangyin preparation on the expression of fibroblast-specific protein 1 and protease activated receptor-2 in rats with liver fibrosis

Gao Shijiao, Chen Wenlong, He Ying, Cao Wenfu

(*Department of Integration of Traditional Chinese and Western Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To observe the effects of Yiqi-huayu-huatan-yangyin preparation on the liver histopathology and expression of fibroblast-specific protein 1 (FSP1) and protease activated receptor -2 (PAR-2) in liver fibrosis rats induced by CCl_4. ***Methods***: The SD rats were randomly divided into: normal group, model group, colchicines group and low/moderate /high dosages of Yiqi-huayu-huatan-yangyin preparation group. Rats in normal and model group were fed with normal saline, rats in colchicine group were fed with 0.1 mg/(kg·d) colchicine and rats in low/moderate/high dosages of Yiqi-huayu-huatan-yangyin preparation group were fed with Yiqi-huayu-huatan-yangyin[30, 60, 120 g/(kg·d)] correspondingly. Pathological changes of the liver tissues were observed by light microscopy. Activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) in liver tissues were evaluated by spectrophotometry. Levels of hyaluronic acid (HA), typeⅣ collagen (CⅣ) in serum were determined using ELISA kit. Expression of FSP1 and PAR-2 mRNA and protein in the liver tissues was detected by qRT-PCR and Western blot. ***Results***: (1) Levels of ALT, AST, HA and CⅣ in serum and fibrosis changes were increased significantly in model group compared with those in normal group ($P<0.05$) and the expression of FSP1 and PAR-2 mRNA and protein of liver tissues were increased obviously ($P<0.05$). (2) Inflammatory cell infiltration and liver fibrosis were lighter in treatment groups than in model group. Levels of ALT, AST, HA and CⅣ in serum and expression of FSP1 and PAR-2 mRNA

作者介绍：高世娇，Email：673644837@qq.com，
研究方向：老年病学及风湿免疫病学。

通信作者：何　英，Email：hycjcsy@163.com。

基金项目：国家自然科学基金预研项目（编号：NSFYY-201108）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxb.000214.html

and protein in liver tissues were slightly elevated in treatment groups ($P<0.05$). ***Conclusion***: Yiqi-huayu-huatan-yangyin preparation may protect the liver and delay the development of liver fibrosis by regulating the mRNA and protein expression of FSP1 and PAR-2.
【Key words】Yiqi-huayu-huatan-yangyin preparation; liver fibrosis; fibroblast-specific protein 1; protease activated receptor-2

肝纤维化是各种慢性肝病向肝硬化发展的核心环节。目前认为，肝纤维化是由于各种病因所致的肌成纤维细胞的动员及细胞外基质（extracellular matrix，ECM）的过度沉积所致。现已证实，肝星状细胞（hepatic stellate cells，HSC）大量合成、分泌 ECM 是肝纤维化发展的核心环节和共同通路，许多因素都参与了 HSC 的调控。其中蛋白酶激活受体-2（protease activated receptor，PAR-2）是胰蛋白酶和肥大细胞胰酶的受体，它能刺激 HSC 的增殖与活化，分泌胶原蛋白，从而形成肝纤维化[1]。近年来，大量研究表明，HSC 并非肝纤维化中唯一的关键角色，肝内的上皮细胞可以通过上皮间质转化（epithelial mesenchymal transition，EMT）获得间质细胞的表型及功能，参与纤维化的发生。间质细胞的标志蛋白之一是成纤维细胞特异性蛋白 1（fibroblast-specific protein 1，FSP1）（也称 S100A4 或 MTS-1）[2]，在肝脏受损时，EMT 能促进上皮细胞转化为成纤维细胞发生肝纤维化。中医学认为肝纤维化是气虚血瘀、痰浊凝聚、痰瘀互结的结果，本课题组前期研究证实，益气化瘀化痰养阴剂对大鼠肝纤维化有一定的干预作用，但其作用机制尚不完全明了[3]。因此，本实验进一步研究了益气化瘀化痰养阴剂对 CCl_4 诱导的大鼠肝纤维化的干预机制，为其提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 60 只，SPF 级，体质量 180~220 g，鼠龄 6~7 周，由重庆医科大学实验动物中心提供。许可证号：【SYXK（渝）2007-0001】。

1.2 实验药物

阳性对照组实验药物选用秋水仙碱片（云南望子隆公司，中国）。造模组药物选用 CCl_4 分析纯（Sigma，美国）。中药制备精选黄芪、白术、川芎、姜黄、半夏、海藻、白芍、鳖甲（购自重庆桐君阁药房）按 2:1:1:1:1:1:1:2 比例配伍[3]，常规水煎后过滤取液，浓缩成益气化瘀化痰养阴口服制剂（简称益气化瘀化痰养阴剂）。用药剂量由成人与大鼠用药剂量转换公式（人的用药剂量=6.25 × 鼠的用药剂量）得出，成人通常每日口服约 250 g 生药，故益气化瘀化痰养阴剂中剂量为每毫升含生药 2 g。中药低、中、高剂量组剂量按 1:2:4 配制分装，高压灭菌后 4 ℃保存备用。

1.3 实验试剂

Trizol（碧云天公司，中国），血清丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）、天门冬氨酸转移酶（aspartate aminotransferase，AST）检测试剂盒（博奥森公司，中国），透明质酸（hyaluronan，HA）、Ⅳ型胶原（collagen Ⅳ，C Ⅳ）ELISA 试剂盒（博奥森公司，中国），逆转录试剂盒及 qRT-PCR 试剂盒（TaKaRa 公司，中国），兔抗 FSP1 及兔抗 PAR-2（Abcam 公司，美国）。

1.4 分组及造模

60 只雄性 SD 大鼠随机分为 6 组，正常对照组、模型组、秋水仙碱组及益气化瘀化痰养阴剂低、中、高剂量组（简称中药低、中、高剂量组）各 10 只。对照组大鼠给予普通饲料喂养。其余大鼠按照以下方法建立肝纤维化模型[4]：给予高脂低蛋白饲料（39.5%玉米面+40%面粉+20%猪油+0.5%胆固醇）5 g/[100(g·d)]，背部皮下注射 4%CCl_4 油剂，首次注射剂量为 0.5 ml/100 g 体质量，以后每周 2 次，每次注射剂量为 0.3 ml/100 g 体质量，5%酒精作为唯一饮用水。12 周后，随机选取 2 只大鼠处死，取肝组织行 Masson 染色观察，确定肝纤维化模型是否复制成功。

1.5 给药方法及标本制备

正常对照组、模型组大鼠均以生理盐水灌胃[1 ml/100(g·d)]；秋水仙碱组大鼠以秋水仙碱灌胃[剂量 0.1 mg/(kg·d)]；中药组分别以低、中、高剂量制剂灌胃[1 ml/100(g·d)]，连续灌胃 12 周。最后 1 次用药后 24 h，10%水合氯醛（0.3 ml/kg）腹腔注射麻醉后，腹主动脉取血，分离血清，-20 ℃保存。取部分肝组织用 4%多聚甲醛溶液固定 24 h，待做组织切片。另取部分肝组织于液氮中冷冻后，转移到-70 ℃冰箱保存备用。

1.6 形态学观测

将肝组织行石蜡包埋固定，切片常规脱蜡至水，进行 Masson 复合染色，于光镜下观察。

1.7 肝功能检测

应用全自动生化测定仪检测 ALT、AST 的活性。

1.8 肝纤维化指标检测

按试剂盒说明书操作，ELISA 法检测大鼠血清中 HA、C Ⅳ的含量。

1.9 FSP1、PAR-2 mRNA 检测

用 Trizol 提取大鼠肝组织总 RNA，用紫外分光光度计测定 RNA 浓度。按 RT-PCR 试剂盒说明书取 1 μg 总 RNA 逆转录为 cDNA。然后以 SyBR green 作为荧光标记物，在 Bio-Rad 荧光实时定量 PCR 仪上进行 PCR 反应。由上海生工公司设计、合成大鼠 FSP1、PAR-2 和 β-actin 的引物，见表 1。

表 1　大鼠 FSP1、PAR-2 和 β-actin 的引物

Tab.1　Primers of FSP1、PAR-2 and β-actin

引物	引物序列	扩增产物长度
FSP1	上游引物：5'-ATACTCAGGCAACGAGGGTG-3' 下游引物：5'-CTTCCGGGGCTCCTTATC-3'	247 bp
PAR-2	上游引物：5'-GGTGCTCATTGGCTTTTTCTAC-3' 下游引物：5'-GTGACAGGTGGTGATGTTCAAG-3'	235 bp
β-actin	上游引物：5'-CACCCGCGAGTACAACCTTC-3' 下游引物：5'-CCCATACCCACCATCACACC-3'	207 bp

qRT-PCR 反应条件：预变性 95 ℃ 3 min，变性 95 ℃ 5 s，退火 59 ℃ 30 s，延伸 65℃ 5 s，共 40 个循环。反应结束后，使用 CFX Manager Software 采集数据。数据处理使用 SPSS 17.0 统计软件，使用目的和内参基因的平均 ΔCt，采用相对定量法（$2^{-\Delta\Delta Ct}$）。处理得到的数据用 "$\bar{x} \pm s$" 表示。

1.10　FSP1、PAR-2 蛋白检测

称取 100 mg 肝组织，于 1 ml 组织裂解液中冰浴匀浆 30 min，4 ℃离心后取上清，BCA 试剂盒测定蛋白量。其检测步骤如后：①30 g 蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后，电转移至 PVDF 膜，室温封闭 2 h；②TBS 漂洗，加入一抗 4 ℃过夜；③TBS-Tween 洗膜，加入辣根过氧化酶标记的二抗，室温孵育 2 h；④化学发光法检测各组 FSP1 和 PAR-2 的蛋白表达。目的条带的积分光密度采用凝胶成像分析系统计算，定量分析根据目的条带的值与内参照 β-actin 的值之比进行。

1.11　统计学方法

使用 SPSS 17.0 统计软件包进行数据处理，数据用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组比较用单因素方差分析，组间两两比较用 SNK-q 检验，检验水准 α=0.05。

2　结　果

2.1　一般情况观察

正常对照组大鼠体质量增加明显，进食好，毛发光泽，反应灵敏，活动自如。模型组大鼠体质量增加缓慢且精神差，进食较少，毛发晦暗，活动减少，动作迟缓。秋水仙碱组、益气化瘀化痰养阴剂各剂量组大鼠一般情况较模型组为好。实验过程中，正常组大鼠于实验第 13 周死亡 2 只，模型组大鼠于实验第 1 周、第 14 周各死亡 1 只，秋水仙碱组大鼠于实验第 3 周、第 16 周各死亡 1 只，中药低剂量组大鼠于实验第 8 周、第 17 周各死亡 1 只，中药中、高剂量组大鼠于实验第 20 周各死亡 2 只。死亡大鼠大多毛发晦暗，体型消瘦，解剖后可见肝脏呈暗红色，表面呈颗粒状，考虑可能为 CCl_4 中毒致大鼠死亡。

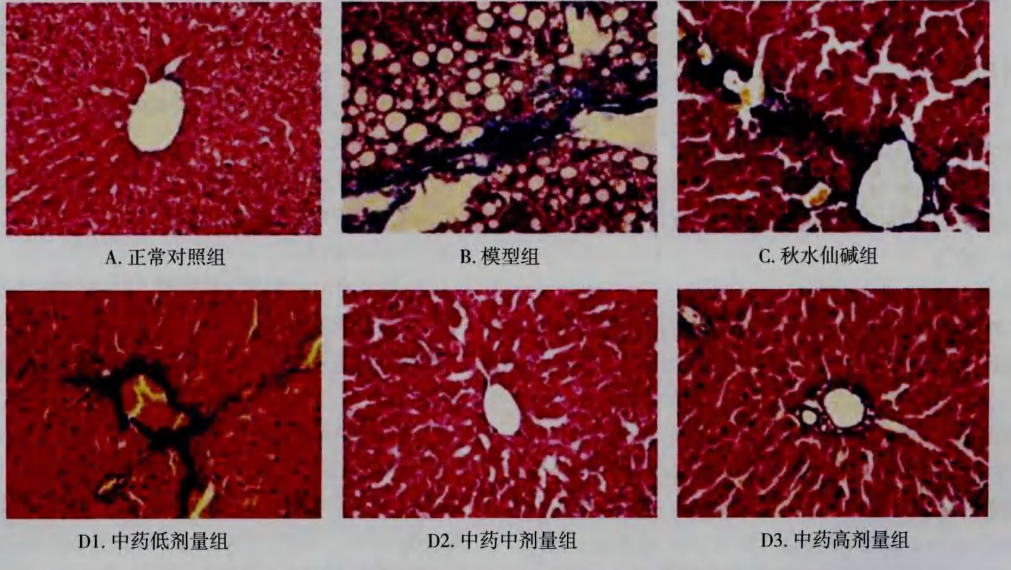
2.2　肝组织病理形态学观察

Masson 染色观察：正常对照组大鼠肝组织结构正常，肝索排列整齐，汇管区无增生、扩大，未见炎性细胞浸润；模型组大鼠肝组织可见脂肪变性，大量胶原纤维沉积，肝小叶结构破坏严重，肝纤维化程度明显；秋水仙碱组、益气化瘀化痰养阴剂各剂量组大鼠肝组织胶原纤维积聚明显较少，肝小叶结构接近正常，肝纤维化程度显著较轻，见图 1。

2.3　肝功能检测

各组大鼠肝功能指标 ALT 值显示：秋水仙碱组及中药低剂量组与模型组比较，P 值分别为 0.004、0.007；中药中、高剂量组与模型组比较，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P 值分别为 0.013、0.019。

各组大鼠肝功能指标 AST 值显示：秋水仙碱组及中药低剂量组与模型组比较，P 值分别为 0.016、0.012；中药中、高剂量组与模型组比较，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P 值分别为 0.033、0.020（表 2）。



A. 正常对照组　B. 模型组　C. 秋水仙碱组

D1. 中药低剂量组　D2. 中药中剂量组　D3. 中药高剂量组

图 1　各组大鼠肝组织形态学变化（Masson 染色，400×）

Fig.1　Pathological changes in rats of each group（Masson staining，400×）

表 2 各组大鼠 ALT、AST、HA、CⅣ检测结果（n=8，$\bar{x}\pm s$）

Tab.2 Effects of ALT, AST, HA and CⅣ on rats in each group（n=8，$\bar{x}\pm s$）

组别	ALT（U/L）	AST（U/L）	HA（μg/L）	CⅣ（μg/L）
正常对照组	31.37 ± 0.92	32.30 ± 0.97	296.26 ± 1.72	5.91 ± 0.25
模型组	85.16 ± 1.37	93.63 ± 1.26	492.07 ± 4.50	14.95 ± 0.41
秋水仙碱组	65.50 ± 1.26[a]	72.39 ± 1.53[a]	390.50 ± 4.84[a]	12.92 ± 0.41[a]
中药低剂量组	72.81 ± 1.63[a]	86.46 ± 1.31[a]	407.90 ± 4.91[a]	12.89 ± 0.53[a]
中药中剂量组	37.80 ± 1.32[ab]	39.79 ± 1.37[ab]	312.93 ± 3.20[ab]	7.94 ± 0.52[ab]
中药高剂量组	37.27 ± 1.19[ab]	39.97 ± 1.38[ab]	312.83 ± 3.73[ab]	8.12 ± 0.36[ab]
F 值	23.77	32.92	29.04	57.21
P 值	0.00	0.00	0.00	0.00

注：a，与模型组比较，P<0.05；b，与中药低剂量组比较，P<0.05

2.4 肝纤维化指标检测

各组大鼠肝纤维化指标 HA 值显示：秋水仙碱组及中药低剂量组与模型组比较，P 值分别为 0.008、0.003；中药中、高剂量组与模型组比较，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P 值分别为 0.014、0.017。

各组大鼠肝纤维化指标 CⅣ值显示：秋水仙碱组及中药低剂量组与模型组比较，P 值分别为 0.006、0.002；中药中、高剂量组与模型组比较，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P 值分别为 0.025、0.014（表 2）。

2.5 肝组织中 FSP1 和 PAR-2 mRNA 表达

各组大鼠肝组织中 FSP1 mRNA 表达显示。秋水仙碱组及中药低剂量组与模型组相比，P 值为 0.011、0.009；中药中、高剂量组与模型组相比，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P 值为 0.023、0.035。

各组大鼠肝组织中 PAR-2 mRNA 表达显示。秋水仙碱组及中药低剂量组与模型组相比，P 值为 0.001、0.003；中药中、高剂量组与模型组相比，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P 值为 0.016、0.005（表 3）。

表 3 各组大鼠肝组织中 FSP1 和 PAR-2mRNA 的表达（n=8，$\bar{x}\pm s$）

Tab.3 Expression of FSP1 and PAR-2 mRNA in rats' liver tissues in each group（n=8，$\bar{x}\pm s$）

组别	FSP1	PAR-2
正常对照组	-	-
模型组	13.445 0 ± 0.266 9	10.734 3 ± 1.146 0
秋水仙碱组	4.166 5 ± 0.048 2[a]	3.996 1 ± 1.122 3[a]
中药低剂量组	4.110 2 ± 0.035 9[a]	3.334 2 ± 0.986 6[a]
中药中剂量组	1.074 4 ± 0.017 5[ab]	1.400 8 ± 0.194 0[ab]
中药高剂量组	1.076 9 ± 0.019 4[ab]	1.358 0 ± 0.207 3[ab]
F 值	167.09	93.99
P 值	0.00	0.00

注：-，无表达；a，与模型组比较，P<0.05；b，与中药低剂量组比较，P<0.05

2.6 肝组织中 FSP1 和 PAR-2 蛋白表达

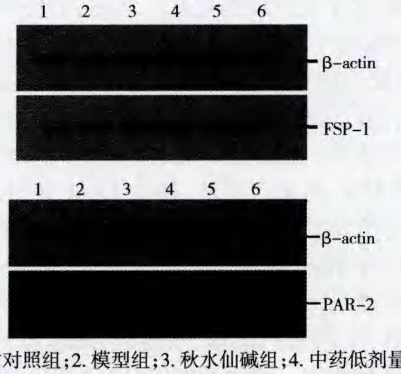
各组大鼠肝组织中 FSP1 和 PAR-2 蛋白表达显示。模型组明显增高；秋水仙碱组、中药低剂量组轻度增高，与模型组比较，P=0.00；中药中、高剂量组与模型组相比，P=0.00；中药中、高剂量组与低剂量组比较，P=0.00（表 4、图 2）。

表 4 各组大鼠肝组织中 FSP1 和 PAR-2 的蛋白表达（n=8，$\bar{x}\pm s$）

Tab.4 Expression of FSP1 and PAR-2 protein in rats' liver tissues in each group（n=8，$\bar{x}\pm s$）

组别	FSP1	PAR-2
正常对照组	0.296 1 ± 0.021 2[a]	0.390 0 ± 0.018 8[a]
模型组	0.677 9 ± 0.032 3	0.621 4 ± 0.031 0
秋水仙碱组	0.413 4 ± 0.021 4[a]	0.430 9 ± 0.020 3[a]
中药低剂量组	0.389 9 ± 0.045 5[a]	0.453 0 ± 0.028 8[a]
中药中剂量组	0.319 6 ± 0.026 5[ab]	0.380 3 ± 0.020 8[ab]
中药高剂量组	0.319 4 ± 0.016 9[ab]	0.380 1 ± 0.016 1[ab]
F 值	194.00	126.00
P 值	0.00	0.00

注：a，与模型组比较，P<0.05；b，与中药低剂量组比较，P<0.05



1. 正常对照组；2. 模型组；3. 秋水仙碱组；4. 中药低剂量组；5. 中药中剂量组；6. 中药高剂量组

图 2 各组大鼠肝组织中 FSP1 和 PAR-2 蛋白表达

Fig.2 Expression of FSP1 and PAR-2 protein in rats' liver tissues in each group

3 讨 论

肝纤维化是指由各种致病因子所致肝内结缔组织异常增生，导致肝内弥漫性细胞外基质过度沉淀的病理过程。肝纤维化是一种可逆的病理过程，但不及时的或不恰当的治疗则易使其发展为肝硬化甚至肝癌，进而引起肝功能衰竭，对患者生命构成威胁。近年来，对肝纤维化的治疗已成为肝病治

疗的重要课题。

EMT 是指上皮细胞失去原有的极性和相互间的黏着力，转化为非极性的、自由移动的间质细胞的病理现象[5]。EMT 并非不可逆，它在一定条件下可以发生间质-上皮转化（mesenchymal-epithelial transitions，MET），从而减轻或延缓肝纤维化的发展，这一特点使其成为抗纤维化治疗的理想的靶点[6]。肝纤维化发生 EMT 时，其标志性蛋白之一 FSP1 表达明显增高。因此，本实验通过检测 FSP1 的表达，观察大鼠肝脏肝纤维化的发生发展情况以及药物对其的影响。

此外，Armbrust 等[7]在研究急慢性肝病和大鼠肝损伤时，发现肥大细胞（mast cell，MC）与肝纤维化的发生、发展密切相关。MC 激活后释放类胰蛋白酶，后者是 PAR-2 的内源性激活剂。肝纤维化形成过程中，MC 类胰蛋白酶能够激活 HSC 细胞膜上的 PAR-2，从而促进 HSC 的增殖及胶原的合成，ECM 增加。研究表明，抑制 PAR-2 的激活，可以有效抑制肝纤维化的发生、发展[8-9]。

有研究发现秋水仙碱能够通过抗炎、抗氧化及降低肝脏内胶原蛋白水平，发挥其抗肝纤维化作用[10-11]，但由于长期使用毒副作用较大，在临床上的使用受到限制，故目前多作为实验性肝纤维化阳性对照药。

中医学并无肝纤维化这一病名，肝纤维化属于中医的“癥积”、“胁痛”等病证范畴，虚损生积、气虚血瘀、湿聚生痰、痰瘀互结是肝纤维化发生发展的关键病机，因此常常以益气化瘀化痰养阴为治疗原则。

研究表明，益气药黄芪、白术能调节肝细胞功能，抑制 HSC 活化与增殖，减少 ECM 沉积，能阻止肝纤维化的发生发展[12-13]。活血化瘀药川芎、姜黄能有效抑制大鼠肝纤维化模型中炎症因子的表达，从而抑制肝纤维化[14-17]。化痰药海藻中的褐藻酸有类似肝素样作用，具有抗凝血、抗血栓、降低血粘度及改善微循环的作用。养阴药鳖甲具有抑制结缔组织增生和提高血浆蛋白的作用[18-20]，进而延缓肝纤维化。

本实验采用 CCl_4 皮下注射法复制大鼠肝纤维化模型。模型组大鼠可见肝内结构紊乱，肝细胞破坏严重，纤维结缔组织增生明显，ALT、AST 活性明显增强，HA、CⅣ含量明显升高，提示肝纤维化模型复制成功。经过秋水仙碱及益气活血化瘀化痰养阴剂干预后，结果显示：秋水仙碱及益气化瘀化痰养阴剂组都可以减轻大鼠肝纤维化程度，抑制 ALT、AST 活性及 HA、CⅣ含量，降低大鼠肝组织 FSP1、PAR-2 基因和蛋白表达，其中中剂量组及高剂量组作用优于其他各组。其作用机理可能为通过降低大鼠肝组织 FSP1 基因和蛋白的表达，进而促进 EMT 发生 MET 转变；降低 PAR-2 的基因和蛋白的表达，减少 ECM 形成，促进 ECM 降解等，从而抑制肝纤维化的发展。

参 考 文 献

[1] Sharma A，Tao X，Gopal A，et al.Protection against acute pancreatitis by activation of protease-activated receptor-2[J].Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol，2005，288(2)：388-395.

[2] Zeisberg M，Yang C，Martino M，et al.Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition[J].J Biol Chem，2007，282(32)：23337-23347.

[3] 李 艳，曹文富.益气化瘀化痰养阴方剂对肝纤维化大鼠 TGF-β1 表达的影响[J].中成药，2012，34(8)：1437-1442.

[4] 华 忠，薛博瑜.四氯化碳致大鼠肝纤维化模型的研究进展[J].国际流行病学传染病学杂志，2009，36(1)：71-73.

[5] Zeisberg M，Neilson EG.Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions[J].J Clin Invest，2009，119(6)：1429-1437.

[6] Mormone E，George J，Nieto N.Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches[J].Chem Biol Interact，2011，193(3)：225-231.

[7] Armbrust T，Batusic D，Ringe B，et al.Mast cells distribution in human liver disease and experimental rat liver fibrosis.Indications for mast cell participation in development of liver fibrosis[J].J Hepatol，1997，26(5)：1042-1054.

[8] Gaca MD，Zhou X，Benyon RC.Regulationof hepatic stellate cell proliferation and collagen synthesis by proteinase-activated receptors[J].J Hepatol，2002，36(3)：362-369.

[9] Wang H，Yosipovitch G.New insights into the pathophysiology of chronic itch in patients with end-stage renal disease，chronic liver disease，and lymphoma[J].Int J Dermatol，2010，49(1)：1-11.

[10] 施光峰，翁心华，徐肇玥，等.秋水仙碱对血吸虫病肝纤维化小鼠肝脏Ⅰ、Ⅲ、Ⅵ型胶原蛋白表达的影响[J].中华传染病杂志，2000，18(3)：180-182.

[11] 梁劲松，梁 健.实验性肝纤维化大鼠血清 PⅢP、CIV、LN、HA、MDA、SOD 水平的研究[J].医学文选，2002，21(6)：760-763.

[12] 李成浩，张红英.黄芪提取物对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用[J].中国实验方剂学杂志，2011，17(20)：217-220.

[13] 高 倩，谭行华，袁冬生.黄芪在治疗慢性乙型肝炎中的药理作用[J].实用肝脏病杂志，2010，13(6)：464-465.

[14] 马 进，郑仕中，陆 茵，等.川芎嗪抑制肝纤维化作用机制的研究进展[J].中国临床药理学杂志，2010，26(5)：395-398.

[15] 樊予惠，朱 琳，华海婴.川芎嗪对人肝星状细胞 TGF-β1 信号传导的影响[J].中国当代医药，2011，18(23)：19-21.

[16] 赵珍东.姜黄素抗肝纤维化作用及机理研究[J].中国实验方剂学杂志，2010，16(3)：122-125.

[17] 张小斌，曾令兰，陈莎燕.姜黄素对肝纤维化模型大鼠肝纤维化组织细胞因子的影响[J].医药导报，2011，30(4)：443-446.

[18] 唐尹萍，刘焱文，许腊英.中药鳖甲提取物抗肝纤维化的实验研究[J].湖北中医药大学学报，2011，13(2)：44-46.

[19] 艾志波，张荣华，闫国和，等.鳖甲煎改良方对大鼠肝纤维化的作用及其机制研究[J].第三军医大学学报，2011，33(3)：274-277.

[20] 程传浩，谢世平，王 勇，等.鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠 MMP-1、TIMP-1 的影响[J].中医研究，2010，23(3)：22-24.

（责任编辑：关蕴良）