

·基础研究·

本文引用:白雪,陆璐,刘振权,边艳琴.黄芪甲苷抗二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠效应研究[J].湖南中医药大学学报,2020,40(1):22-27.

黄芪甲苷抗二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠效应研究

白雪^{1,2},陆璐³,刘振权¹,边艳琴^{4*}

(1.北京中医药大学,北京 100029;2.北京积水潭医院,北京 100035;3.上海中医药大学,上海 201203;

4.上海市光华中西医结合医院,上海 200052)

〔摘要〕目的 探讨黄芪甲苷对二甲基亚硝胺(Dimethylnitrosamine, DMN)诱导肝纤维化大鼠模型的作用。方法 选取27只雄性Wistar大鼠,随机分为正常组、模型组和黄芪甲苷组。模型组和黄芪甲苷组大鼠,采用腹腔注射DMN诱导肝纤维化模型,持续4周。于造模第3周开始,黄芪甲苷组在继续造模的同时予以黄芪甲苷干预,正常组和模型组给予等容量蒸馏水灌胃。4周末(即药物干预两周)处死全部大鼠,观察各组大鼠一般情况、肝组织病理学;检测各组大鼠血清肝功能水平、肝组织中羟脯氨酸(Hydroxyproline,Hyp)含量;免疫组化法检测肝组织 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)蛋白表达情况。结果 与正常组比较,模型组肝脏明显缩小,组织炎症细胞浸润增加,胶原沉积明显增多,肝功能指标明显异常($P<0.01$),提示纤维化形成。与模型组比较,黄芪甲苷可以显著改善肝脏病理,减轻肝脏胶原沉积及肝脏Hyp含量,降低血清ALT、AST、GGT水平及Tbil含量,升高ALB含量,显著抑制肝组织 α -SMA蛋白表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 黄芪甲苷具有显著保肝降酶抗肝纤维化形成作用,其机制可能跟抑制肝星状细胞的活化相关。

〔关键词〕 肝纤维化;二甲基亚硝胺;黄芪甲苷;效应评价

〔中图分类号〕 R285.5;R575

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.01.006

Effects of Astragaloside IV on Dimethylnitrosamine-induced Hepatic Fibrosis in Rats

BAI Xue^{1,2}, LU Lu³, LIU Zhenquan¹, BIAN Yanqin^{4*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China;

3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 4. Shanghai Guanghua

Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai 200052, China)

〔Abstract〕 Objective To investigate the effects of astragaloside IV on dimethylnitrosamine (DMN)-induced hepatic fibrosis in rats. **Methods** A total of 27 male Wistar rats were selected and randomly divided into a normal group, a model group and an astragaloside IV group. Rats in the model group and astragaloside IV group were induced by intraperitoneal injection of DMN for 4 weeks. From the 3rd week of modeling, the astragaloside IV group was treated with astragaloside IV while the modeling was continued. The normal group and the model group were given the same amount of distilled water. At the end of 4 weeks (2 weeks of drug intervention), rats were sacrificed and samples of each group were observed for the general situation, liver histopathology; serum liver function level and hydroxyproline (Hyp) content in liver tissue of each group of rats were detected. The expression of α -SMA protein in liver tissue was detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with the normal group, the liver of the model group was significantly reduced. Tissue inflammation cell infiltration increased. The collagen deposition in the model group increased significantly. Liver function indicators were significantly abnormal ($P<0.01$). These suggested the formation of fibrosis. Compared with the model group, astragaloside IV can significantly improve liver pathology, alleviate liver collagen deposition and liver hydroxyproline content, reduce serum levels of ALT, AST, GGT and TBI contents, increase ALB content, significantly inhibit the expression of α -SMA protein in liver tissue ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Astragaloside IV has significant effects of protecting liver and reducing enzymes on liver fibrosis, and the mechanism may be related to inhibiting the activation of hepatic stellate cells.

〔Keywords〕 hepatic fibrosis; dimethylnitrosamine; astragaloside IV; effect evaluation

〔收稿日期〕 2019-01-19

〔基金项目〕 上海市科学技术委员会专项(15DZ1900104);国家中医药管理局第四批中医(基础)优才(2017)。

〔作者简介〕 白雪,女,在读硕士研究生,研究方向:中药药理学。

〔通讯作者〕 *边艳琴,女,博士,助理研究员,E-mail:xiaobian504@126.com。

肝纤维化是各种慢性肝病引起的细胞外基质的过度增生和沉积,是一种组织损伤愈合反应。肝纤维化进一步发展将导致肝硬化甚至肝癌发生。肝硬化目前仍是我国常见疾病和主要死亡病因之一,也是影响我国人民健康及社会发展的重大、疑难疾病。目前尚无特效的FDA批准的抗肝纤维化的化学或生物药物进入临床应用。

黄芪汤出自《太平惠民和剂局方》,由黄芪六两、炙甘草一两、大枣一枚组成,治“诸虚不足,肢体劳倦,心中烦悸,唇口干渴,食少面黄,或先渴而欲发疮疖,或病痲疽而后渴者”,临床常用其加减配伍治疗各种虚损不足之证。现代研究发现,黄芪汤可显著改善肝纤维动物模型胶原沉积,抑制肝星状细胞活化、减少上皮间质细胞转分化过程,具有显著地抗肝纤维化作用^[1-5]。然而,其起效的物质基础,目前尚不清楚。黄芪甲苷即黄芪苷IV,是黄芪的主要有效成分之一,具有显著地抗细胞氧化损伤^[6-8]、抗细胞凋亡^[9]等作用。黄芪甲苷在慢性肾病^[10-11]、神经系统疾病^[12]、心肌梗死^[13]、慢性萎缩性胃炎^[14]等多种疾病模型中均有研究报道,但在肝纤维化研究中报道较少。本研究通过复制经典的二甲基亚硝胺(Dimethylnitrosamine, DMN)诱导肝纤维化动物模型,来研究黄芪甲苷抗肝纤维化疗效机制,为进一步阐明黄芪汤抗肝纤维化的疗效物质基础提供实验支持。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级Wistar雄性大鼠27只,体质量(190±15)g,购自中国科学院上海实验动物中心。动物许可证号:SCXK(沪)2008-0003。上海中医药大学实验动物中心饲养、造模和观察,自由饮食水。

1.2 药物

黄芪甲苷,购于上海融禾医药科技有限公司产品,质量分数大于98%;使用时用蒸馏水溶解稀释成混悬液。

1.3 主要试剂及设备

DMN购自日本和光纯药工业株式会社,货号:KWM6890;羟脯氨酸(Hydroxyproline, Hyp)标准品购自日本Nakateitesuku Corporation,货号:MIR8282;血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶

(AST)、谷氨酰转酞酶(γ -GT)、白蛋白(ALB)、血清总胆红素(TBil)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;石蜡购自德国Leica;苏木精、伊红染料均购自南京建成生物工程研究所;天狼星红(Sirus Red, SR)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)抗体均购自sigma公司;二甲苯、甲醛、甲醇、无水乙醇等化学试剂均购自中国医药集团上海化学试剂公司;HRP标记的羊抗兔IgG、DAB显色试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司;ASP300自动脱水机、EG1160石蜡包埋机、RM2035轮转切片机、HI1210恒温水浴、HI1220烤片机,均购自德国Leica公司。

2 方法

2.1 动物分组、造模及干预

27只Wistar大鼠适应性喂养3d后,按体质量分层随机分为正常组、模型组、黄芪甲苷组,每组9只。造模方法:参照Ala-Kokko^[15]方法,以2mL/kg剂量腹腔注射0.5%的DMN溶液(以生理盐水稀释),每周连续3d,共持续4周,正常对照组大鼠给予等量生理盐水腹腔注射。从造模第3周开始,黄芪甲苷组在继续造模同时给予黄芪甲苷10mg/kg灌胃治疗(给药剂量参照临床黄芪常用量及课题组前期研究结果^[1],使用前用蒸馏水溶解稀释成混悬液),每日1次,共2周。正常与模型组大鼠以同等体积蒸馏水灌胃。

2.2 检测指标及方法

2.2.1 各组大鼠一般情况 每天观测各组大鼠活动状态,并记录大鼠体质量变化情况。实验结束后记录各组大鼠的体质量、肝质量、脾质量、肝体比、脾体比、腹水及死亡率等。

2.2.2 肝功能检测 检测血清中ALT、AST、GGT活性和ALB和TBil含量。检测程序及方法按照试剂盒说明书进行。

2.2.3 肝组织Hyp含量测定 参照Jamall法^[16]测定肝组织Hyp含量。各标本切取湿肝约100mg,冰盐水冲洗,滤纸吸净水分后,置于预先装有蒸馏水2.5mL,12mol/L盐酸2.5mL安培瓶中,火烤封瓶;然后将安培瓶置于105℃烘箱水解18h;水解结束,待冷却后,滤纸过滤水解液,每个标本取100 μ L的水解液置于5mL玻璃试管中,置于40℃烘箱干燥。干燥后样品+50%异丙醇1.2mL+0.56%氯氨-T工作液

200 μL 混匀,室温放置 10 min,加 ER 溶液 1 000 μL ,混匀,50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 90 min,558 nm 比色待测。

2.2.4 HE 染色观测大鼠肝组织炎症情况 从肝脏最厚一叶切取 1.0 cm \times 1.0 cm 大小肝组织 1 块,切成 0.5 cm 3 大小,10%中性福尔马林固定、脱水、透明、石蜡包埋切片,5 μm 厚切片,经苏木精和伊红染色、中性树胶封片。光学显微镜观测各组大鼠肝组织炎症情况。

2.2.5 SR 染色观测大鼠肝组织胶原增生情况 肝组织经固定、脱水、透明、石蜡包埋切片之后,经 SR 染色、中性树胶封片。光学显微镜观测各组大鼠肝组织胶原增生情况。胶原纤维增生程度分期标准参照 Scheuer P J 分期方法^[7]。

2.2.6 免疫组化检测 石蜡切片,脱蜡预处理后,用 3% H_2O_2 室温避光孵育 10 min 灭活内源性酶,洗涤、封闭、一抗室温孵育 30 min 后,PBS 洗涤 3 次去除多余一抗,滴加显色底物溶液,再次室温孵育 30 min 后,洗掉多余底物溶液,滴加 DAB 显示溶液,然后室温孵育,光镜下控制显色过程;最后蒸馏水洗涤、苏木素复染、酒精脱水,二甲苯透片,晾干,封片。然后镜下读片,拍照,统计分析。

2.3 统计学处理

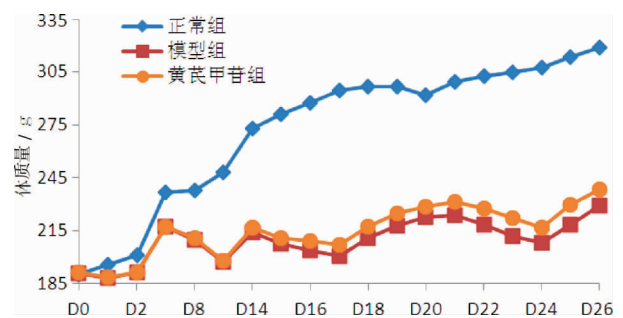
采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以 ANOVA 程序进行单因素方差分析、 q 检验,并用 LSD 进行两两比较,等级资料采用 Ridit 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况

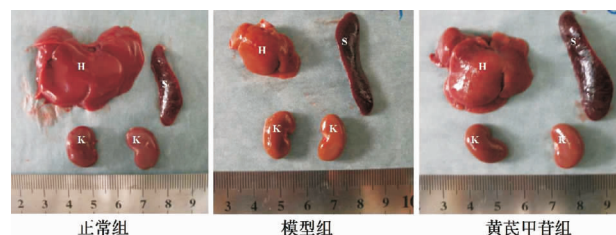
各组大鼠实验中体质量变化情况见图 1。如图所示,随着造模时间的延长,模型组大鼠体质量增长

呈曲线上升趋势;与正常组比较,模型组大鼠体质量明显增长缓慢且低于正常组;与模型组比较,黄芪甲苷组体质量增长明显高于模型组大鼠。杀鼠取材后的实体标本显示(见图 2),正常组大鼠肝脏组织光滑柔软,脾脏组织正常;与正常组比较,模型组大鼠肝脏明显缩小且变硬,组织无光泽,脾脏增大;与模型组比较,黄芪甲苷组大鼠肝组织增大且变柔软有光泽,脾脏较模型组增大。各组大鼠体质量、肝质量、脾质量、肝体比、脾体比情况见图 3。如图 3 所示,与正常组比较,模型组肝体比显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,黄芪甲苷组可以显著提高肝体比值($P < 0.01$),结果与实体标本(如图 2)观测到结果一致。与模型组比较,黄芪甲苷组腹水发生率明显偏低(见图 4);各组大鼠均无死亡发生。



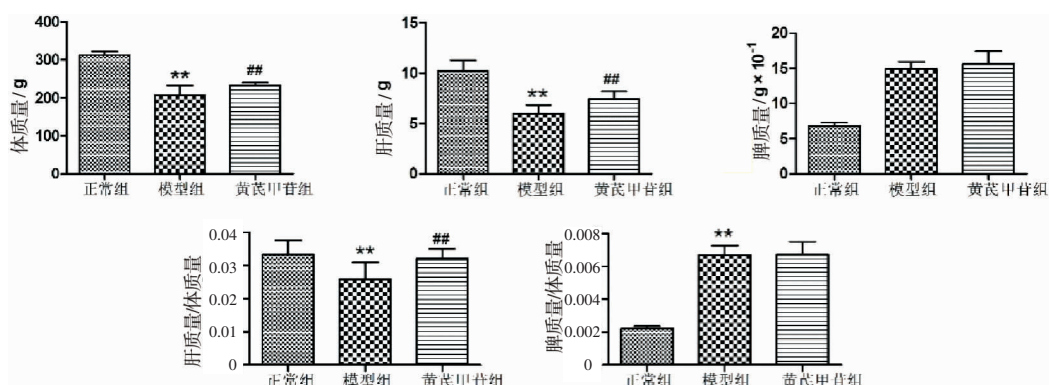
注:D0为造模第0天,D2为造模第2天,以此类推

图1 各组大鼠体质量变化情况



注:H.肝脏;S.脾脏;K.肾脏

图2 各组大鼠取材实体标本



注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;模型组比较,## $P < 0.05$,### $P < 0.01$

图3 各组大鼠一般情况比较

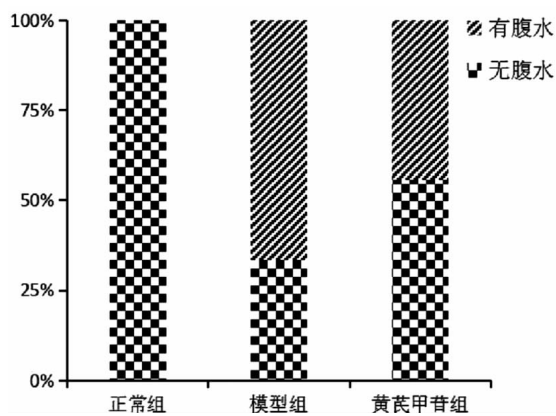
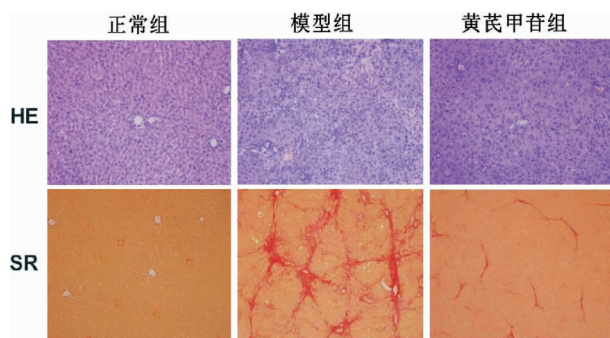


图 4 各组大鼠腹水发生率



注:(HE 染色,×200;天狼猩红染色,×100)

图 5 各组大鼠肝组织病理及胶原增生的光镜观察图

3.2 肝组织病理及胶原增生情况

HE 染色结果显示,模型组大鼠肝脏组织大量的炎细胞浸润,肝细胞肿胀,伴随小叶中心出血及片状坏死,间质纤维组织大量增生,小叶结构被破坏。与模型组比较,黄芪甲苷组炎细胞浸润明显减少,肝细胞肿胀明显减轻,小叶出血及坏死均减轻,结构相对完整,提示黄芪甲苷有显著地抗炎作用。见图 5。SR 染色与正常组比较,模型组增生的纤维组织明显增多,肝小叶结构完全被破坏,弥漫性增生的粗大胶原纤维将肝小叶包绕形成假小叶。与模型组比较,黄芪甲苷组肝组织纤维增生显著减轻,增生的纤维组织形成不连续的纤维间隔,且间隔较模型组明显变窄,提示黄芪甲苷可显著抑制肝脏胶原的生成。见图 5。

3.3 生化检测

与正常组比较,模型组大鼠血清 ALT、AST、GGT 活性和 TBil 含量显著升高 ($P<0.01$),分别是正常组的 3.61、1.83、1.97、2.01 倍;血清 ALB 含量显著降低 ($P<0.01$),是正常组大鼠的 74.7%。与模型组相比,

黄芪甲苷组可显著降低血清 ALT、AST、GGT 活性和 TBil 含量 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),提高 ALB 含量 ($P<0.05$),具有显著地保肝降酶作用。见图 6。

3.4 肝组织 Hyp 含量的变化与胶原沉积变化

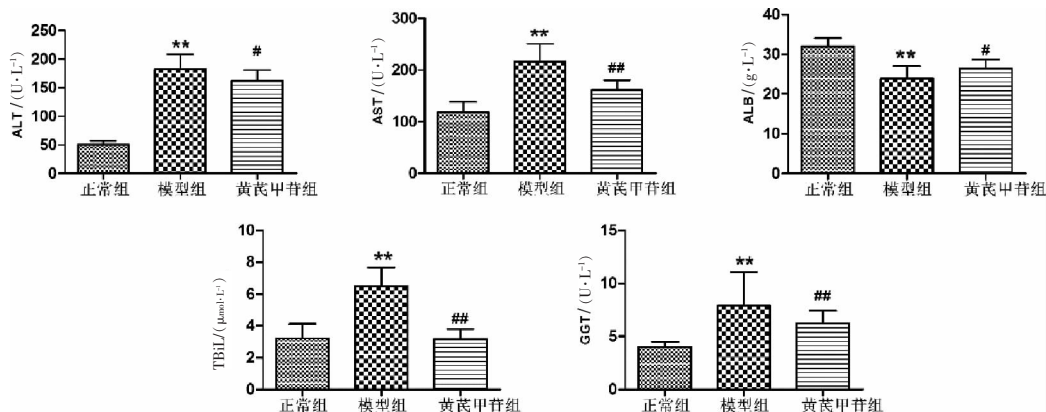
如表 1 结果所示,与正常组比较,模型组大鼠肝组织 Hyp 含量显著增加,是正常组大鼠的 2.35 倍,胶原增生分期主要集中在 III、IV 期,提示造模成功;与模型组比较,黄芪甲苷组显著降低了肝组织 Hyp 含量,胶原增生分期明显降低一个等级,主要集中在 II、III 期,这与肝脏 SR 染色结果基本一致。

3.5 肝组织 α -SMA 蛋白表达

正常组大鼠只有在汇管区周围有少量的 α -SMA 蛋白表达;模型组大鼠肝组织 α -SMA 蛋白表达增加。见图 7。

4 讨论

黄芪的主要化学成分有黄酮类、皂苷类、黄芪多糖、生物碱、葡萄糖醛酸及多种微量元素等^[18]。黄芪甲苷属于皂苷类化合物,是黄芪的主要活性成分。



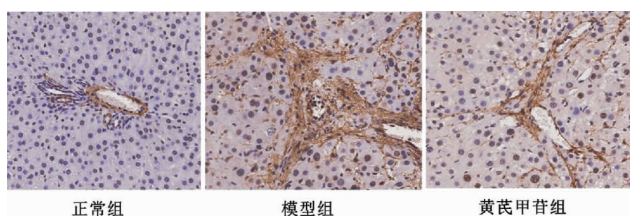
注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

图 6 各组大鼠肝功能测定结果比较柱形图

表1 各组大鼠 Hyp 含量和胶原沉积比较($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	Hyp/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 湿肝)	胶原增生程度分期/例				
		0	I	II	III	IV
正常组	181.78 \pm 43.45	9	0	0	0	0
模型组	427.90 \pm 129.46**	0	0	1	5	3
黄芪甲苷组	281.77 \pm 62.88 [#]	0	0	4	5	0

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

图7 各组大鼠肝组织 α -SMA 表达的光镜图(免疫组化, $\times 200$)

本研究结果显示,黄芪甲苷可以显著抑制 DMN 诱导肝纤维化大鼠的肝脏炎症反应,降低肝脏胶原沉积及肝脏 ALT、AST、GGT 活性和 TBil 含量,升高 ALB 含量,抑制肝组织 α -SMA 蛋白表达,具有显著地保肝降酶抗肝纤维化作用。

DMN 诱导肝纤维化大鼠模型是研究肝纤维化的经典动物模型,因其肝组织胶原沉积特征与人类肝纤维化病理组织特征非常相似,且成模时间短,染毒后不易恢复等特征,成为大家研究肝纤维化的首选动物模型之一。Hyp 是胶原组织中特有的氨基酸,约占胶原氨基酸总量的 13%。通过检测肝组织中 Hyp 含量,可以间接反应肝组织中胶原组织的表达水平,提示组织中纤维化水平。本研究通过复制经典 DMN 诱导的肝纤维化大鼠模型,发现黄芪甲苷可以显著改善 DMN 诱导大鼠肝组织炎症反应及胶原纤维增生,可以显著降低肝组织 Hyp 含量,提示黄芪甲苷可以显著抑制 DMN 诱导肝纤维大鼠肝组织胶原的沉积,减轻肝脏炎症反应,进而改善肝脏功能。

α -SMA 蛋白被认为是肌成纤维细胞的标志物。众所周知,静止期的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)不表达 α -SMA,当 HSC 受到各种致纤维化因素刺激活化后,转化为肌成纤维细胞,高表达 α -SMA,并分泌大量胶原蛋白沉积在细胞外基质中。因此, α -SMA 的表达部位常常与胶原沉积位置一致,不仅可以反映 HSC 活化情况,也可以间接表征纤维化发

生的情况,是研究肝纤维化发生与否的重要指标。本研究结果显示,黄芪甲苷可显著抑制 DMN 诱导的肝纤维化大鼠肝组织 α -SMA 蛋白,提示黄芪甲苷具有明显的抗肝纤维化作用,其作用机制可能跟抑制 HSC 细胞活化相关。

黄芪甲苷作为黄芪的主要有效成分,研究发现其具有显著地抗氧化作用^[19],可以显著减少丙二醛(MDA)、过氧化物酶(MPO)、炎性细胞因子水平,增加超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等水平;可通过上调 Wnt/ β -catenin^[20],可阻断 TGF- β /Smad^[21]通路下调转化生长因子(TGF)- β 1 表达,从而减弱肾脏纤维化的发生;它也可以通过抑制 MAPK 和 NF- κ B 通路,抑制 TGF β 1 诱导的肾脏成纤维化过程^[22],提示黄芪甲苷具有明显的抗炎抗纤维化作用,但大多数的研究主要集中在肺纤维化、肾脏纤维化和心肌纤维化^[23],而对肝脏纤维化的研究报道很少。本研究结果从整体动物实验出发,借用经典肝纤维化动物模型研究,发现黄芪甲苷可抑制肝脏炎症及胶原增生,具有显著地抗肝纤维化作用,其机制可能跟抑制 HSC 细胞的活化相关。本研究将为黄芪甲苷临床用于抗纤维化,尤其是肝纤维化治疗提供数据支持。然而,本研究结果仅对黄芪甲苷抗肝纤维化的疗效做了初步探索,深入的抗肝纤维化机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 全欣,陈高峰,陆雁,等.基于均匀设计分析黄芪汤活性组分抗二甲亚硝胺大鼠肝纤维化的配伍作用[J].中国中西医结合杂志,2011,31(10):1389-1393.
- [2] 闫晓风,刘平,孙明瑜,等.黄芪汤对二甲亚硝胺诱导大鼠肝纤维化模型作用的机制[J].世界华人消化杂志,2010,18(23):2410-2415.
- [3] 姚东升,孙明瑜,刘平,等.黄芪汤治疗肝纤维化的研究进展[J].山西中医学院学报,2012,13(3):146-148.
- [4] 张贵彪,宋雅楠,董姝,等.黄芪汤和茵陈蒿汤改善大鼠肝纤维化的效果及分子机制——差异基因表达谱的比较分析[J].中华中医药学刊,2015,33(9):2103-2108.
- [5] 张贵彪,孙明瑜,宋雅楠,等.基于基因表达谱分析黄芪汤改善大鼠肝纤维化的分子机制研究[J].中华中医药杂志,2014,29(5):1634-1639.
- [6] 李媛,靳晓飞,周晓红,等.黄芪甲苷对脑缺血/再灌注损伤大鼠细

- 胞自噬的影响[J].中国病理生理杂志,2018,34(11):2037-2042.
- [7] 史楠,张燕,李晋峰,等.黄芪甲苷调控 LC3/mTOR 自噬通路在大鼠脑缺血再灌注损伤中的作用[J].检验医学与临床,2018,15(22):3363-3366.
- [8] 张博雅,王超,董阳,等.黄芪甲苷对心肌钙离子通道中活性氧引起的直接氧化作用的影响[J].黑龙江医学,2018,42(11):1042-1043,1056.
- [9] 崔伟,王高频,卢美丽,等.黄芪甲苷通过激活 PI3K/AKT 通路抑制内皮细胞内质网应激介导的细胞凋亡的研究[J].中药药理学与临床,2018,34(5):39-44.
- [10] 马可可,鞠营辉,陈清青,等.黄芪甲苷对 2 型糖尿病肾病大鼠肾组织 PI3K/Akt/FoxO1 信号调控的影响[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(2):74-81.
- [11] 陆振强.羟基红花黄色素 A 联合黄芪甲苷对慢性肾脏病的保护作用[J].南京中医药大学学报,2018,34(6):589-592.
- [12] 李娟,常子嵩,姚遥,等.黄芪甲苷对阿尔茨海默病小鼠模型认知功能和脑内神经炎症的影响[J].南京中医药大学学报,2018,34(6):597-601.
- [13] 苏宁,卢芬萍,朱明明,等.黄芪甲苷联合羟基红花黄色素 A 对小鼠心肌梗死的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(2):98-103.
- [14] 赵唯含,史瑞,杨美娟,等.黄芪甲苷、人参皂苷 Rg₁ 对慢性萎缩性胃炎大鼠 Hedgehog 信号通路的调控影响[J].环球中医药,2017,10(12):1428-1433.
- [15] ALA-KOKKO L, PIHLAJANIEMI T, MYERS JC, et al. Gene expression of type I, III and IV collagens in hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine in the rat[J]. The Biochemical Journal, 1987, 244(1):75-79.
- [16] JAMALL I S, FINELLI V N, QUE HEE S S. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues[J]. Analytical biochemistry, 1981,112(1):70-75.
- [17] SCHEUER P J. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment[J]. Journal of hepatology, 1991, 13(3):372-374.
- [18] 吴娇,王聪.黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J].新乡医学院学报,2018,35(9):755-760.
- [19] CHEN T, WANG R, JIANG W, et al. Protective Effect of Astragaloside IV Against Paraquat-Induced Lung Injury in Mice by Suppressing Rho Signaling[J]. Inflammation, 2016, 39(1):483-492.
- [20] WANG L, CHI Y F, YUAN Z T, et al. Astragaloside IV inhibits the up-regulation of Wnt/beta-catenin signaling in rats with unilateral ureteral obstruction[J]. Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 2014, 33 (5):1316-1328.
- [21] WANG L, CHI Y F, YUAN Z T, et al. Astragaloside IV inhibits renal tubulointerstitial fibrosis by blocking TGF-beta/Smad signaling pathway in vivo and in vitro[J]. Experimental Biology and Medicine (Maywood), 2014, 239(10):1310-1324.
- [22] CHE X, WANG Q, XIE Y, et al. Astragaloside IV suppresses transforming growth factor-beta1 induced fibrosis of cultured mouse renal fibroblasts via inhibition of the MAPK and NF-kappa B signaling pathways[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2015, 464(4):1260-1266.
- [23] 张静静.黄芪甲苷对心肌成纤维细胞 CTGF、FN 表达影响及机制研究[D].济宁:济宁医学院,2018.

(本文编辑 杨瑛)