

·实验研究·

本文引用:代炆璋,林丽,陈媛媛,丁凯欣,石伟,柏兆方,肖小河.六味五灵片对硫代乙酰胺诱导的大鼠肝纤维化的保护作用[J].湖南中医药大学学报,2022,42(9):1413-1418.

## 六味五灵片对硫代乙酰胺诱导的大鼠肝纤维化的保护作用

代炆璋<sup>1,2</sup>,林丽<sup>2</sup>,陈媛媛<sup>2</sup>,丁凯欣<sup>2</sup>,石伟<sup>2</sup>,柏兆方<sup>2</sup>,肖小河<sup>1,2\*</sup>

(1.湖南中医药大学药学院,湖南长沙410208;2.中国人民解放军总医院第五医学中心肝病医学部,北京100039)

**〔摘要〕**目的 研究六味五灵片对硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的大鼠肝纤维化的保护作用。方法 将SD大鼠随机分为对照组(N组),模型组(M组),阳性对照药扶正化瘀胶囊组(Y组),六味五灵片低、中、高剂量组(LL组、LM组、LH组)和辅料组(F组)。除N组外,其余各组采用腹腔注射3% TAA(150 mg·kg<sup>-1</sup>)造模。Y组(405 mg·kg<sup>-1</sup>)、LL组(202.5 mg·kg<sup>-1</sup>)、LM组(405 mg·kg<sup>-1</sup>)、LH组(810 mg·kg<sup>-1</sup>)和F组持续干预6周后检测血清谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)以及层粘连蛋白(laminin, LN)水平;RT-PCR测定肝纤维化大鼠肝组织中 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)的mRNA表达量;HE、Masson、Sirius red染色观察各组大鼠肝组织病理形态学和肝组织纤维化程度。结果 与N组相比,M组出现肝组织结构异常、炎性细胞浸润和胶原沉积,各项生化指标加重。与M组相比,LL组、LM组、LH组和Y组明显改善大鼠肝组织结构异常、炎性细胞浸润和胶原沉积;显著降低了血清中肝损伤指标ALT、AST、ALP以及肝纤维化指标LN的水平( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ );显著抑制了肝组织中 $\alpha$ -SMA mRNA的表达( $P<0.01$ );F组ALT、AST、ALP、LN水平及 $\alpha$ -SMA mRNA的表达没有变化。结论 六味五灵片对TAA诱导的大鼠肝纤维化具有一定的防治作用,其机制可能与抑制肝星状细胞的活化有关。

**〔关键词〕** 六味五灵片;硫代乙酰胺;肝纤维化;肝星状细胞;层粘连蛋白

**〔中图分类号〕** R285.5

**〔文献标志码〕** A

**〔文章编号〕** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.09.001

### Protective effects of Liuwei Wuling Tablet on hepatic fibrosis induced by thioacetamide in rats

DAI Wenzhang<sup>1,2</sup>, LIN Li<sup>2</sup>, CHEN Yuanyuan<sup>2</sup>, DING Kaixin<sup>2</sup>, SHI Wei<sup>2</sup>, BAI Zhaofang<sup>2</sup>, XIAO Xiaohu<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Department of Hepatology, The Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China)

**〔Abstract〕 Objective** To study the protective effects of Liuwei Wuling Tablet on thioacetamide (TAA)-induced hepatic fibrosis in rats. **Methods** SD rats were randomly divided into control group (N group), model group (M group), positive control drug Fuzheng Huayu Capsule group (Y group), Liuwei Wuling Tablet low-dose (LL), medium-dose (LM) and high-dose (LH) groups, and the excipient group (F group). All experimental groups except the N group were intraperitoneally injected with 3% TAA (150 mg/kg) to establish the model. Y group (405 mg/kg), LL group (202.5 mg/kg), LM group (405 mg/kg), LH group (810 mg/kg), F group were continued to intervene for 6 weeks. The levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and laminin (LN) were detected. The expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) mRNA in liver tissue of hepatic fibrosis rats were

**〔收稿日期〕** 2022-02-16

**〔基金项目〕** 国家自然科学基金重点项目(81930110)。

**〔第一作者〕** 代炆璋,男,硕士研究生,研究方向:中药药理学。

**〔通信作者〕** \*肖小河,男,博士,研究员, E-mail: pharmacy\_302@126.com。

detected by RT-PCR. The pathomorphology and fibrosis degrees of liver tissue were observed with HE, Masson and Sirius red staining. **Results** Compared with the N group, the abnormal hepatic lobule structure, inflammatory cell infiltration and collagen deposition were shown and the biochemical indexes were aggravated in the M group. Compared with the M group, the abnormal hepatic lobule structure, inflammatory cell infiltration and collagen deposition were improved in LL group, LM group, LH group and Y group; the content of liver injury index ALT, AST, ALP and hepatic fibrosis index LN in serum of LL group, LM group, LH group and Y group significantly reduced ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ); the expression of  $\alpha$ -SMA mRNA in liver tissue was significantly inhibited ( $P<0.01$ ); the levels of ALT, AST, ALP, LN and the expression of  $\alpha$ -SMA mRNA did not change in the F group. **Conclusion** Liuwei Wuling Tablet has a certain preventive and therapeutic effect on TAA-induced hepatic fibrosis in rats, and its mechanism may be related to the inhibition of hepatic stellate cells activation.

[**Keywords**] Liuwei Wuling Tablet; thioacetamide; hepatic fibrosis; hepatic stellate cells; laminin

肝纤维化一个严重的公共卫生问题,一般是指肝脏受到各种慢性炎症损伤时出现肝内结缔组织异常增生,导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积的一种代偿性病理过程,如不及时干预,会逐渐发展成为肝硬化甚至肝癌<sup>[1-2]</sup>。因此,治疗肝纤维化对预防肝硬化及肝癌具有重要意义。然而,目前市面尚无有效治疗肝纤维化的药物<sup>[3-4]</sup>。

中药复方制剂具有多成分、多靶点、多环节的作用特点,近年来在抗肝纤维化方面发挥了综合治疗的特色和优势,如扶正化瘀胶囊、鳖甲软肝胶囊、六味五灵片等,具有疗效高、副作用小、费用低等优点<sup>[5-7]</sup>。六味五灵片由五味子、女贞子、连翘、莪术、苜蓿菜、灵芝孢子粉等中药组成,有研究证实,六味五灵片在临床上具有良好的抗肝纤维化效果<sup>[8]</sup>。本课题组前期研究也发现,六味五灵片可以通过阻止核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)p65的活化和核因子 $\kappa$ B抑制蛋白(inhibitor  $\kappa$ B binding protein, I $\kappa$ B) $\alpha$ 的磷酸化发挥对胆管结扎(bile duct ligation, BDL)和四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)诱导的肝纤维化动物模型的保护作用<sup>[9-11]</sup>。有进一步药理研究表明,该方中木脂素类成分可以抑制肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)-T6细胞增殖,单体成分五味子乙素(Sin B)已被证明可以通过抑制TGF- $\beta$ /Smad信号通路阻断HSC的激活,减轻大鼠肝纤维化的进展<sup>[12-15]</sup>。由于肝纤维化、肝硬化的病理生理机制复杂,不同的动物实验模型并不能体现全部的肝纤维化成因,为了更全面地反映人类肝纤维化的病程发展特点,本研究拟通过硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导建立大鼠肝纤维化模型,探讨六味五灵片对TAA诱导的大鼠肝纤维化的保护作用,为六味五灵片抗肝纤

维化的开发利用提供科学基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级SD大鼠,雌雄各半,体质量(200 $\pm$ 20)g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司(合格证号:NO.110324200101925524);饲养于解放军总医院第五医学中心动物实验中心,自由进食及饮水,每天12h光照/黑暗处理,温度20~25℃,相对湿度为55%~65%。相关动物实验通过中国人民解放军第五医学中心动物伦理委员会审查(伦理编号:IACUC-2020-0033),动物饲养与管理均符合《中华人民共和国实验动物管理条例》要求。

### 1.2 实验药物与试剂

六味五灵片及空白片(辅料片),由山东世博金都药业有限公司提供(批号:200301);扶正化瘀胶囊(批号:191003)由上海黄海制药有限公司提供;硫代乙酰胺(批号:200326335X)购自南京化学试剂有限公司;羧甲基纤维素钠(批号:20200410,化学纯)、乌来糖(批号:20190419,化学纯)均购自国药集团化学试剂有限公司;氯化钠注射液(批号:2007173204)由石家庄四药有限公司生产;谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)测定试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

### 1.3 主要仪器

超低温冰箱(青岛海尔股份有限公司,型号:DW-86L728J);震板仪(海门其林贝尔公司,型号:QB-9002);酶标仪(美国伯腾仪器公司,型号:BioTek Epoch);研磨仪(上海静信实业发展有限公司,型号:

Tissuelyser-24);高速低温离心机(美国 Sigma 公司,型号:3-18K);荧光定量 PCR 仪(美国赛默飞公司,型号:Quantstudio 6 Flex);手掌离心机(杭州奥盛公司,型号:MINI6K);震荡器(美国 Scientific Industries 公司,型号:Vortex-Genie 2)。

#### 1.4 动物造模及给药

将 70 只 SD 大鼠适应性喂养一周后随机分为 7 组,设置正常对照组(N 组)、模型组(M 组)、阳性对照药扶正化瘀胶囊组(Y 组)、六味五灵片低剂量组(LL 组,202.5 mg·kg<sup>-1</sup>)、六味五灵片中剂量组(LM 组,405 mg·kg<sup>-1</sup>)、六味五灵片高剂量组(LH 组,810 mg·kg<sup>-1</sup>)和辅料组(F 组),每组 10 只,以 1 mL/100 g 给药,剂量设置参照文献和临床给药剂量<sup>[7-8]</sup>。用 TAA 诱导化学性损伤肝纤维化模型,除 N 组外,其余各组采用腹腔注射 3% 硫代乙酰胺(TAA,150 mg·kg<sup>-1</sup>)溶液,每周 3 次连续 2 周,第 3 周后每周 2 次,直至实验结束。N 组注射等体积的相同溶剂;第 3 周开始,Y 组、LL 组、LM 组、LH 组、F 组每天灌胃相应剂量的药物,治疗药物混悬于 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶液中;N 组和 M 组则灌胃等体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠,共给药 6 周。

#### 1.5 动物一般情况观察

对实验大鼠的外观体征、行为活动、体质量变化进行观察记录。

#### 1.6 样本收集

第 6 周给药结束时,禁食不禁水 12 h,称重后腹腔注射乌来糖(30%,0.7 mg·kg<sup>-1</sup>)对大鼠进行麻醉,下腔静脉取血,1300 g 离心 10 min,收集血清用于后续指标检测;取肝组织,称重,将肝大小叶分离,大叶固定在 10% 中性福尔马林固定液中用于 HE、Sirius red、Masson 染色,小叶保存在 -80 °C 冰箱用于后续实验。

#### 1.7 血清生化指标检测

采用酶标仪法检测血清中 ALT、AST、ALP 水平;ELISA 法测定血清中 LN 的水平。

#### 1.8 肝脏组织中 mRNA 的表达水平检测

取出保存于 -80 °C 冰箱中的肝组织,称取 30 mg 肝组织于 EP 管中,按说明加入 1 mL Trizol 试剂于匀浆仪中提取总 RNA 后将其逆转录为 cDNA。取 cDNA 模板 0.3 μL,加入 Mix 5 μL,DEPC 处理水 4.2 μL,正

反引物各 0.25 μL,共 10 μL 体系。置于荧光 PCR 仪上进行分析,反应条件为 95 °C 3 min,95 °C 3 s,60 °C 30 s,95 °C 15 s,60 °C 1 min,95 °C 15 s。得到各样本 Ct 值,并以 GAPDH 为内参,运用公式 2<sup>-ΔΔCt</sup> 计算靶基因的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 目的基因引物序列

目的基因		序列(5'-3')
α-SMA	正向	GAACACGGGCATCATCACCAA
	反向	CAAGGTCGGATGCTCCTCTG
GAPDH	正向	GCATCCTGCACCACCAACT
	反向	GCACTGATGGCATGGACTGT

#### 1.9 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6.0 软件进行统计学分析,所有实验数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示;采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行多组间比较。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

#### 2.1 动物一般状况观察

N 组大鼠状态良好,行动自如,皮毛光泽较好,饮食和排便正常,体质量明显增加。M 组大鼠精神明显萎靡,摄食减少,活动迟缓,皮毛欠光泽;与 M 组比较,LL 组、LM 组、LH 组及 Y 组摄食量增加,精神萎靡和活动迟缓状况改善明显。

#### 2.2 大鼠血清中 ALT、AST、ALP 水平的变化

与 N 组相比,M 组大鼠血清中 ALT、AST、ALP 水平显著升高( $P < 0.001$ );与 M 组相比,Y 组、LL 组、LM 组、LH 组血清 ALT、AST、ALP 水平均明显下降( $P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$ ),且具有一定的剂量依赖性,但 F 组 ALT、AST、ALP 水平同 M 组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。详见表 2。

表 2 六味五灵片对 TAA 诱导的化学性肝纤维化大鼠血清中 ALT、AST、ALP 的影响(U·L<sup>-1</sup>)

组别	ALT	AST	ALP
N 组	37.87±7.76	54.87±5.88	1.16±0.35
M 组	73.78±23.97 <sup>###</sup>	121.40±37.30 <sup>###</sup>	2.88±0.85 <sup>###</sup>
Y 组	48.98±15.52 <sup>**</sup>	60.55±16.43 <sup>***</sup>	1.91±0.81 <sup>**</sup>
LL 组	50.51±11.30 <sup>*</sup>	60.76±9.40 <sup>***</sup>	1.75±0.65 <sup>***</sup>
LM 组	44.63±10.54 <sup>**</sup>	45.49±8.63 <sup>***</sup>	1.61±0.28 <sup>***</sup>
LH 组	39.25±9.67 <sup>***</sup>	38.29±5.08 <sup>***</sup>	1.58±0.35 <sup>***</sup>
F 组	79.70±27.97	99.26±34.17	2.62±0.73

注:与 N 组相比,<sup>###</sup> $P < 0.001$ ;与 M 组相比,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ,<sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ 。

### 2.3 大鼠血清中 LN 水平的变化

与 N 组相比, M 组大鼠血清中 LN 的含量明显上升( $P<0.001$ ), 说明 TAA 诱导的大鼠化学性肝纤维化实验造模成功; 与 M 组相比, Y 组及 LL 组、LM 组、LH 组大鼠血清中 LN 的含量显著降低( $P<0.01$  或  $P<0.001$ ), F 组大鼠血清中 LN 的水平同 M 组相比, 无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表 3。

表 3 六味五灵片对 TAA 诱导的化学性肝纤维化大鼠血清中 LN 的影响

组别	LN( $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
N 组	88.64±14.07
M 组	237.95±27.63 <sup>###</sup>
Y 组	166.13±41.51 <sup>**</sup>
LL 组	167.97±26.95 <sup>***</sup>
LM 组	151.97±28.68 <sup>***</sup>
LH 组	131.72±36.61 <sup>***</sup>
F 组	203.85±37.57

注:与 N 组相比,<sup>###</sup> $P<0.001$ ;与 M 组相比,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ,<sup>\*\*\*</sup> $P<0.001$ 。

### 2.4 肝纤维化大鼠肝脏形态及病理变化

与 N 组相比, M 组和 F 组大鼠的肝组织粘连严重, 颜色暗沉无光泽, 质地明显变硬, 表面粗糙, 呈现明显的弥散性粗颗粒状, 边缘钝化。LL 组、LM 组、LH 组和 Y 组大鼠肝脏各叶逐渐分离, 粘连减轻, 质地变柔软并具有一定的光泽。HE 染色的结果显示, 与 N 组相比, M 组和 F 组大鼠肝组织结构异常, 肝索排列紊乱, 肝细胞核形态改变, 炎性细胞及坏死细胞增多; 与 M 组相比, LL 组、LM 组、LH 组及 Y 组大鼠肝脏内肝细胞坏死和炎性细胞浸润均有明显改善, 且呈现一定的量效关系。Masson 和 Sirius red 染色结果显示, 与 N 组相比, M 组和 F 组大鼠肝组织可见较多纤维结缔组织增生, 自汇管区周围向外延伸, 有明显的假小叶形成; 与 M 组相比, Y 组、LL 组、LM 组、LH 组肝组织胶原纤维组织增生及纤维化程

度均有一定程度的改善, LM 组、LH 组改善尤为明显, 虽然也存在一定的胶原纤维组织增生, 但无胶原纤维间隔包绕, 程度较模型组明显减轻, F 组较 M 组没有明显变化, Sirius red 定量分析结果与上述一致( $P<0.001$ )。详见图 1、表 4。

表 4 六味五灵片对 TAA 诱导的化学性肝纤维化大鼠肝组织 Sirius red 定量分析结果

组别	CVF/%
N 组	5.09±1.83
M 组	17.97±4.87 <sup>###</sup>
Y 组	8.74±1.99 <sup>***</sup>
LL 组	10.51±1.68 <sup>***</sup>
LM 组	8.73±1.60 <sup>***</sup>
LH 组	7.08±2.11 <sup>***</sup>
F 组	21.10±7.33

注:与 N 组相比,<sup>###</sup> $P<0.001$ ;与 M 组相比,<sup>\*\*\*</sup> $P<0.001$ 。

### 2.5 对大鼠肝组织中 $\alpha$ -SMA mRNA 表达的影响

与 N 组相比, M 组大鼠的肝组织中  $\alpha$ -SMA mRNA 的表达水平明显升高( $P<0.001$ )。与 M 组相比, LL 组、LM 组、LH 组及 Y 组均明显抑制肝组织中  $\alpha$ -SMA mRNA 的表达( $P<0.01$ ), 但 F 组  $\alpha$ -SMA mRNA 的水平同 M 组相比, 无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表 5。

表 5 六味五灵片对 TAA 诱导的化学性肝纤维化大鼠肝组织中  $\alpha$ -SMA mRNA 的影响

组别	$\alpha$ -SMA mRNA 相对表达/%
N 组	1.00±0.15
M 组	1.44±0.11 <sup>###</sup>
Y 组	1.17±0.12 <sup>**</sup>
LL 组	1.16±0.21 <sup>**</sup>
LM 组	1.16±0.20 <sup>**</sup>
LH 组	1.16±0.16 <sup>**</sup>
F 组	1.53±0.25

注:与 N 组相比,<sup>###</sup> $P<0.001$ ;与 M 组相比,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

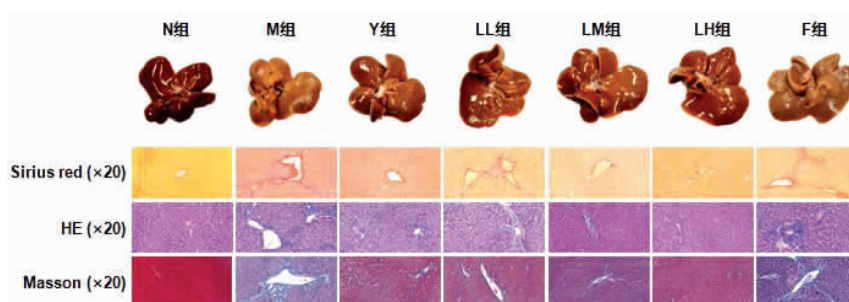


图 1 六味五灵片对 TAA 诱导的化学性肝纤维化大鼠肝组织病理学变化的影响

### 3 讨论

肝纤维化本质是机体对肝实质损伤的一种修复反应,在肝细胞被各种炎症因子侵袭后,由肝细胞、免疫细胞以及血小板分泌的诸如 TGF- $\beta$ 1 等细胞因子刺激 HSC 持续增殖和趋化,进而转变为成纤维细胞,导致大量的 ECM 沉积,诱发肝纤维化<sup>[16-18]</sup>。由于肝纤维化发病机制复杂,单一环节或单一靶点的干预及治疗很难取得理想的疗效,所以临床上仍缺乏特异有效的药物用于治疗肝纤维化。六味五灵片在临床上是保肝降酶的常用中药复方制剂,具有多成分、多环节、多靶点的作用特点,因此,针对病理机制复杂的肝纤维化有着独特的优势。TAA 是一种肝毒素,有证据表明,单剂量给予 TAA 可导致肝脏炎症反应和肝纤维化的发生,可造成明确的肝损伤<sup>[19]</sup>。TAA 作为最普遍的肝毒性药物之一,已被广泛应用于肝纤维化动物模型的诱导<sup>[20-21]</sup>。与其他实验模型相比,TAA 诱导的肝纤维化会产生与人类相似的难以逆转的纤维化,是测试潜在抗纤维化药物的理想模型<sup>[19]</sup>。课题组前期在 BDL 和 CCL<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化动物模型上发现了六味五灵片逆转肝纤维化的作用,但肝纤维化的发病机制复杂,为了更全面地反映人类肝纤维化的病程发展特点,进一步证实六味五灵片抗肝纤维化的作用,本实验选择了 TAA 诱导的肝纤维化大鼠模型作为实验对象,对六味五灵片抗肝纤维化的作用进行了研究。

肝纤维化继发于肝损伤,因此当肝纤维化发生时,会导致血清中 ALT、AST、ALP 等评价肝损伤程度的生化指标升高<sup>[22-26]</sup>。在本研究中,造模 8 周后,模型组大鼠肝脏均出现了损伤和纤维化,血清 ALT、AST、ALP 水平显著升高。经不同剂量的六味五灵片和扶正化瘀胶囊治疗后,以上血清生化指标及肝组织病理损伤状况均得到不同程度的改善,且呈现出一定剂量的剂量依赖性。LN 作为一种膜糖蛋白,是基底膜的主要构成成分,实验研究发现,它与肝纤维化的形成有重要关系,是肝纤维形成的主要基质<sup>[27-28]</sup>。在正常情况下,肝组织中 LN 的含量很低,主要分布在肝胆管和血液中<sup>[27]</sup>。但当肝纤维化病情不断发展时,机体血清中的 LN 含量随着合成量的增加而不断增强,并大量沉积在肝窦血管壁上,使肝窦腔变窄,

肝窦毛细血管化,进一步导致肝纤维化发生。因此, LN 可以作为早期肝纤维化的诊断指标<sup>[28]</sup>。本实验中模型组 LN 含量显著增加,说明肝组织纤维化程度加重,六味五灵片和扶正化瘀胶囊可以降低肝组织中 LN 含量,并且具有一定的剂量依赖性,效果明显,表明六味五灵片可以改善 TAA 诱导的大鼠肝纤维化。作为 HSC 激活的主要标记物, $\alpha$ -SMA 蛋白在 HSC 的持续激活状态下表达增加,促使大量以胶原蛋白 I 为主要成分的 ECM 产生和沉积,导致肝纤维化的发生<sup>[29-32]</sup>。本实验中六味五灵片和扶正化瘀胶囊可以降低 TAA 导致的肝组织中  $\alpha$ -SMA mRNA 表达水平的增加,提示六味五灵片可能通过抑制 HSC 的激活,改善 TAA 诱导的大鼠肝纤维化。

综上所述,本实验研究证明了六味五灵片可能通过抑制 HSC 的激活发挥对 TAA 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用,为六味五灵片增加新适应症以及中药制剂抗肝纤维化的开发提供了一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] HUANG Y, DENG X, LIANG J. Modulation of hepatic stellate cells and reversibility of hepatic fibrosis[J]. *Experimental Cell Research*, 2017, 352(2): 420-426.
- [2] 周翔,顾达,童聪,等.鳖甲煎丸对 CCL<sub>4</sub> 诱导小鼠肝纤维化的治疗作用机制研究[J]. *陕西中医*, 2022, 43(2): 151-156.
- [3] PAN X Q, MA X, JIANG Y X, et al. A comprehensive review of natural products against liver fibrosis: Flavonoids, quinones, lignans, phenols, and acids[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 2020: 7171498.
- [4] FAGONE P, MANGANO K, PESCE A, et al. Emerging therapeutic targets for the treatment of hepatic fibrosis[J]. *Drug Discovery Today*, 2016, 21(2): 369-375.
- [5] SCHUPPAN D, ASHFAQ-KHAN M, YANG A T, et al. Liver fibrosis: Direct antifibrotic agents and targeted therapies[J]. *Matrix Biology*, 2018, 68/69: 435-451.
- [6] 蒋云霞,罗伟生.中药复方胶囊制剂治疗肝纤维化研究近况[J]. *湖南中医杂志*, 2020, 36(7): 165-166.
- [7] 王彩霞.扶正化瘀胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的临床效果[J]. *医学理论与实践*, 2019, 32(21): 3459-3460.
- [8] 刘慧敏.六味五灵片抗肝纤维化的药效评价及机制研究[D].承德:承德医学院, 2017: 2-30.
- [9] LIU H M, ZHANG Z F, HU H, et al. Protective effects of Li-uwewuling Tablets on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2018,

- 18(1): 212.
- [10] 侯曼婷,丁凯欣,何婷婷,等.六味五灵片联合常规药物治疗慢性乙型肝炎肝纤维化及肝硬化有效性和安全性的Meta分析[J].中国中药杂志,2022,47(1):224-234.
- [11] 吴继良.六味五灵片抗肝纤维化临床疗效观察[J].中国肝脏病杂志(电子版),2011,3(3):8-10.
- [12] CHEN Y C, LIAW C C, CHENG Y B, et al. Anti-liver fibrotic lignans from the fruits of *Schisandra arisanensis* and *Schisandra sphenanthera*[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(3): 880-885.
- [13] HUANG H C, LIN Y C, FAZARY A E, et al. New and bioactive lignans from the fruits of *Schisandra sphenanthera*[J]. *Food Chemistry*, 2011, 128(2): 348-357.
- [14] CHEN Q S, ZHANG H, CAO Y, et al. Schisandrin B attenuates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in rats by regulation of Nrf2-ARE and TGF- $\beta$ /Smad signaling pathways[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2017, 11: 2179-2191.
- [15] 艾永强,左晓彬,王得运,等.六味五灵片防治肝损伤的药理与临床研究进展[J].中成药,2020,42(4):1000-1004.
- [16] 姜娜,平键,徐列明.肝星状细胞的活化机制:探寻肝纤维化新的诊断指标和治疗靶点[J].临床肝胆病杂志,2019,35(3):640-643.
- [17] 丁倩.肝素结合性表皮生长因子对肝星状细胞胶原代谢及迁移的影响[D].石家庄:河北医科大学,2014:2-28.
- [18] PAYUSHINA O V, TSOMARTOVA D A, CHERESHNEVA Y V, et al. Regulatory effect of mesenchymal stromal cells on the development of liver fibrosis: Cellular and molecular mechanisms and prospects for clinical application[J]. *Biology Bulletin Reviews*, 2021, 11(1): 54-66.
- [19] LALEMAN W, VANDER ELST I, ZEEGERS M, et al. A stable model of cirrhotic portal hypertension in the rat: Thioacetamide revisited[J]. *European Journal of Clinical Investigation*, 2006, 36(4): 242-249.
- [20] AKHTAR T, SHEIKH N. An overview of thioacetamide-induced hepatotoxicity[J]. *Toxin Reviews*, 2013, 32(3): 43-46.
- [21] JANG J H, KANG K J, KIM Y H, et al. Reevaluation of experimental model of hepatic fibrosis induced by hepatotoxic drugs: An easy, applicable, and reproducible model[J]. *Transplantation Proceedings*, 2008, 40(8): 2700-2703.
- [22] 黎明高.肝脏疾病诊断中采取血清ALT、AST、GGT检测的临床应用[J].中外医学研究,2018,16(11):179-181.
- [23] 任敏霞,吴素香,詹淑玉,等.白芍总苷及其所含主要成分芍药苷和芍药内酯苷对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中华中医药学刊,2020,38(5):244-247,283.
- [24] 陈苑红,陈国权.葛根提取物对CCl<sub>4</sub>致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国民族民间医药,2021,30(18):8-11.
- [25] EMINLER A T, AYYILDIZ T, IRAK K, et al. AST/ALT ratio is not useful in predicting the degree of fibrosis in chronic viral hepatitis patients[J]. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2015, 27(12): 1361-1366.
- [26] 黄洁春,吕志平,刘强,等.红背叶根提取物对四氯化碳致小鼠肝损伤的作用研究[J].陕西中医,2011,32(1):113-115.
- [27] 蔡利超.血清肝纤四项与肝功能联合检测对慢性乙型肝炎纤维化的诊断价值[J].河南预防医学杂志,2019,30(12):903-904,927.
- [28] 董文婧,吕春燕,彭捷,等.肝纤四项检测在慢性乙型肝炎感染者中的临床价值分析[J].医学理论与实践,2019,32(2):260-262.
- [29] 黄祥磊.血清中LN、CIV、PIIIP和HA应用于肝纤维化及肝硬化患者诊断的临床研究[J].智慧健康,2021,7(32):4-6.
- [30] ZHOU W C, ZHANG Q B, QIAO L. Pathogenesis of liver cirrhosis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20 (23): 7312-7324.
- [31] PRADERE J P, KLUWE J, DE MINICIS S, et al. Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice[J]. *Hepatology*, 2013, 58(4): 1461-1473.
- [32] 韩安邦,张健,路迎冬,等.芪苈强心胶囊对心肌梗死大鼠心肌纤维化及TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路的影响[J].北京中医药大学学报,2017,40(1):41-47.

(本文编辑 苏维)