

彭孟云, 陈然, 朱晓宁, 等. 参仁活血颗粒对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 TGF- β 1/Smad 信号通路的影响[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(5): 631-636.

Peng MY, Chen R, Zhu XN, et al. Effect of Shenren Huoxue granules on the TGF- β 1/Smad signaling pathway in CCl₄-induced liver fibrosis in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(5): 631-636.

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2019.05.013

参仁活血颗粒对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 TGF- β 1/Smad 信号通路的影响

彭孟云¹, 陈然², 朱晓宁¹, 汪静^{1*}

(1. 西南医科大学附属中医医院肝胆病科, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学, 四川 泸州 646000)

【摘要】 目的 观察参仁活血颗粒对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 TGF- β 1/Smad 信号通路的影响, 探讨参仁活血颗粒治疗肝纤维化的作用机制。**方法** 50 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组、模型组和参仁活血颗粒低、中、高剂量组, 正常组予以生理盐水 1 mL/kg 腹腔注射, 模型组及参仁活血颗粒各组予以 40% 四氯化碳 0.2 mL/100 g 腹腔注射, 2 次/周, 连续 8 周, 于第 4 周起分别予以参仁活血颗粒, 低剂量组每日 1.575 g/(kg · bw)、中剂量组每日 3.15 g/(kg · bw)、高剂量组每日 6.3 g/(kg · bw) 剂量灌胃, 连续 4 周, 于第 8 周牺牲大鼠。HE 染色及 Masson 染色检测大鼠肝纤维化程度; 免疫组化检测大鼠肝 collagen I、collagen III、TGF- β 1 的表达; real-time PCR 和 Western blot 检测大鼠肝 TGF- β 1、Smad3、Smad7 的表达。**结果** 模型组与正常组相比可见肝小叶结构破坏, 纤维明显增多, 形成大小不一的假小叶; 而参仁活血颗粒各剂量组较模型组肝纤维化程度明显改善, 以参仁活血颗粒高剂量组疗效最显著。②模型组大鼠肝 collagen I、collagen III、TGF- β 1、Smad 3 表达较正常组明显升高 ($P < 0.05$), Smad7 表达明显降低 ($P < 0.05$), 而参仁活血颗粒各剂量组 collagen I、collagen III、TGF- β 1、Smad3 表达较模型组降低 ($P < 0.05$), Smad7 表达较模型组升高, 以参仁活血颗粒高剂量组疗效最好 ($P < 0.05$)。**结论** 参仁活血颗粒能显著改善大鼠肝纤维化, 其机制可能与其能下调大鼠肝组织中 TGF- β 1、Smad3 的表达、上调 Smad7 的表达, 从而减少 Collagen I、Collagen III 的合成相关。

【关键词】 肝纤维化; TGF- β 1/Smad 信号通路; 参仁活血颗粒; 作用机制

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 05-0631-06

Effect of Shenren Huoxue granules on the TGF- β 1/Smad signaling pathway in CCl₄-induced liver fibrosis in rats

PENG Mengyun¹, CHEN Ran², ZHU Xiaoning¹, WANG Jing^{1*}

(1. Department of Hepatobiliary Diseases, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China. 2. Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan)

Corresponding author: WANG Jing. E-mail: lywj68@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of a Chinese traditional medicine prescription, Shenren Huoxue (SRHX) granules, on the TGF- β 1/Smad signaling pathway in rats with CCl₄-induced liver fibrosis and to explore the underlying mechanism. **Methods** Fifty male SD rats were randomly divided into five groups: control group, model group, low-dose SRHX, middle-dose SRHX and high-dose SRHX groups. The control group was given saline 1 mL/kg; the model group and SRHX granules groups were given 40% carbon tetrachloride (CCl₄) 0.2 mL/100 g by intraperitoneal injection twice a week for 8 weeks. From the fourth week, the SRHX groups were given low-dose (1.575 g/(kg · bw)/d), middle-dose (3.15 g/(kg · bw)/d) and high-dose (6.3 g/(kg · bw)/d) SRHX by gastric gavage for 4 weeks and euthanized at

【基金项目】 四川省科技厅-泸州市人民政府-泸州医学院联合科研专项 (14JC0146)。

Funded by the Science and Technology Department of Sichuan Province-Luzhou Government-Luzhou Medical College (14JC0146)。

【作者简介】 彭孟云 (1990—) 女, 硕士, 研究方向: 中西医结合防治肝纤维化。Email: 371963233@qq.com

【通信作者】 汪静 (1968—) 女, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中西医结合防治肝病。Email: lywj68@126.com

week 8. HE staining and Masson staining were used to detect the degree of liver fibrosis in rats. Immunohistochemistry was used to detect the expression of collagen I, collagen III and TGF- β 1. Real-time PCR and western blot were used to detect the expression of TGF- β 1, Smad3 and Smad7 in rat liver tissues. **Results** Compared with the control group, the liver of the model group showed destruction of liver lobular structure, inflammatory cell infiltration, significantly increased fibers and pseudolobule formation ($P < 0.05$). Compared with the model group, the degree of liver fibrosis was significantly improved and the high-dose of SRHX granules was the most effective ($P < 0.05$). The expressions of collagen I, collagen III, TGF- β 1 and Smad3 in the model group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$), while the expression of Smad7 was significantly lower than the control group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expressions of collagen I, collagen III, TGF- β 1 and Smad3 in all SRHX groups were decreased while the expression of Smad7 was increased. The high-dose of SRHX granules was better effective ($P < 0.05$). **Conclusions** SRHX granules can improve the pathological changes of liver tissue in SD rats with hepatic fibrosis and alleviate the degree of liver fibrosis and liver inflammation in hepatic fibrosis in rats. The mechanism may be related to SRHX granules decreasing the synthesis of collagen I and collagen III by decreasing the expression of TGF- β 1 and Smad3 and upregulating the expression of Smad7.

[Keywords] hepatic fibrosis; TGF- β 1/Smad signaling pathway; Shenren Huoxue granules; mechanism

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是指各种致病因子长期反复刺激肝,导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积于肝的一种慢性肝损伤的修复反应,是导致肝硬化、肝癌等终末期肝病的主要原因^[1]。转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 1被认为是 HSCs 激活过程中最重要的因子,在肝纤维化形成中发挥重要作用,Smad 蛋白(drosophila mothers against decapentaplegic protein)是 TGF- β 1 信号传至核内关键的下游信号分子, TGF- β 1 通过激活下游介质 Smad2 和 Smad3 发挥其促肝纤维化的作用,研究表明四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导的肝纤维化小鼠中 Smad2/3 表达明显升高^[2]。而 Smad7 作为 TGF- β 1/Smad 信号通路的负调控因子,主要通过与 Smad3 竞争性抑制中断 TGF- β 1 信号转导以抑制肝纤维化进展,敲除 Smad7 基因可促进小鼠肝纤维化的发生^[3],表明 TGF- β 1/Smad 信号通路及相关的细胞因子在肝纤维化中发挥重要作用。

中医并无“肝纤维化”这一病名,常将其隶属“积聚”范畴。全国名中医孙同郊教授根据数十年治疗肝纤维化的临床经验,认为气虚血瘀是本病的基本病机,以补气扶正、活血化瘀为基本治疗,在此基础上自拟了具有益气活血化瘀功效的参仁活血颗粒用于治疗肝纤维化,临床疗效显著。本研究采用参仁活血颗粒治疗肝纤维化大鼠,观察参仁活血颗粒对肝纤维化大鼠 TGF- β 1/Smad 信号通路的调节作用,探讨参仁活血颗粒治疗肝纤维化的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 周龄清洁级雄性 SD 大鼠 50 只,体重(200 $\pm$ 20) g,购自西南医科大学实验动物中心【SCXK(川) 2018-065】,饲养于西南医科大学动物实验中心【SYXK(川) 2018-065】,标准饲料喂养,自由饮水。大鼠均分笼饲养,每笼 5 只,光照与黑暗各 12 h 交替处理,湿度为 50% ~ 60%,温度为 20 ~ 22°C,适应性喂养 1 周。

1.1.2 实验药物和试剂

参仁活血颗粒由西南医科大学附属中医医院制剂室制备(规格:10 g/袋,批号:20150814);四氯化碳(批号:2016062301)购自成都市科龙化工试剂厂;TGF- β 1 抗体、Smad3 抗体、Smad7 抗体、Collagen I 抗体及 Collagen III 抗体均购自美国 Abcam 公司;总 RNA 提取试剂盒(离心柱型)购自北京天根生化科技有限公司;逆转录试剂盒购自康为世纪生物科技有限公司;SYBR Green Real-time PCR Master Mix 购自日本 Toyobo 公司;RIPA 裂解液(强)及 PMSF 购自碧云天生物技术公司。

1.1.3 主要设备与仪器

超低温冰箱(美国 Thermo 公司);正置荧光显微镜(日本 Nikon 公司);高速低温离心机(美国 Sigma 公司);实时荧光定量 PCR 仪(德国 Eppendorf 公司);PCR 扩增仪、全能型蛋白转印系统、凝胶扫描成像系统及荧光化学发光图像分析仪均来自美国 Bio-Bod 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组、造模及给药

50 只雄性 SD 大鼠随机分为参仁活血颗粒低剂量组、参仁活血颗粒中剂量组、参仁活血颗粒高剂量组、正常组及模型组,每组 10 只,均予以标准饲料

喂养,均正常自由活动和饮用自来水。正常组腹腔注射生理盐水 1 mL/kg,2 次/周,共 8 周;模型对照组及中药各组均给予 40%四氯化碳 0.2 mL/100 g,腹腔注射,2 次/周,共 8 周。于第 4 周开始分别给予参仁活血颗粒低[每日 1.575 g/(kg·bw)]、中[每日 3.15 g/(kg·bw)]、高[每日 6.3 g/(kg·bw)]剂量灌胃,于第 8 周牺牲。

1.2.2 肝病理学与免疫组化观察

取新鲜肝固定脱水包埋后切片,HE 染色及 Masson 染色观察大鼠肝纤维化程度。免疫组化检测大鼠肝 TGF-β1、collagen I、collagen III 的表达。

1.2.3 Real-time PCR 检测大鼠肝 TGF-β1、Smad3、Smad7 mRNA 的表达

引物由上海生工生物公司合成,TGF-β1 (120 bp)上游 5' ATTCCTGGCGTTACCTTGG3',下游 5' AGCCCTGTATTCCGTCTC CT3'; Smad3 (110 bp)上游 5' GAGACATTCCACGCTTCACA3',下游 5' GCTGCATTCCGGTTAACATT3'; Smad7 (128 bp)上游 5' GTGGC ATACTGGGAGGAGAA3',下游 5' TTGTTGTCCGAATTGAGCTG3'; β-actin (150 bp)上游 5' CCCATCTATGAGGGTTACGC3',下游 5' TTT AATGTCACGCACGATTTC3'。提取肝组织 RNA,1%琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,逆转录为 cDNA,按 SYBR Green Real-time PCR Master Mix 试剂盒进行 Real-time PCR,反应条件:95℃ 15 s(变性)、55℃ 10 s(退火)、72℃ 20 s(延伸),循环 40 次,目的基因的表达量使用 2^{-ΔΔct}法计算。

1.2.4 Western blot 检测大鼠肝 TGF-β1、Smad3、Smad7 蛋白的表达

100 mg 的肝组织加入 900 μL 配置好的 RIPA 裂解液提取总蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度,蛋白热变性后经 SDS-PAGE 电泳分离并转膜到 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭 1 h, TBST 摇洗膜,加入稀

释好的一抗 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜,稀释好的二抗常温孵育 1 h, TBST 洗膜,于 PVDF 膜正面加适量 HRP substrate 显影液,在 BioRad GelDocXR 仪器上进行信号检测,利用 Gel-Pro Analyzer 软件分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计分析软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,服从正态分布且方差齐者,采用完全随机设计单因素方差分析方差不齐者,采用非参数统计检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

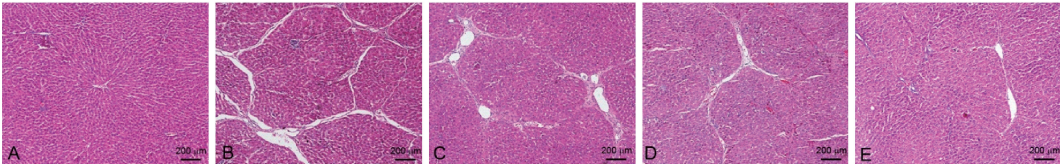
2 结果

2.1 HE 染色及 Masson 染色观察大鼠肝病理改变

正常组大鼠肝小叶结构清晰、完整,肝细胞排列整齐,未见细胞坏死。模型组大鼠肝小叶结构严重破坏,肝细胞排列错乱,存在不同程度的小叶内坏死、碎屑样坏死及桥接坏死,大量胶原沉积,假小叶形成。参仁活血颗粒低、中剂量组肝小叶结构分别呈中-重度、轻-中度破坏,肝细胞排列不整齐,存在不同程度的炎性细胞浸润及细胞坏死,纤维结缔组织增生,其中低剂量组胶原较多沉积,中剂量组胶原沉积较前减少。而高剂量组可见部分接近正常的肝小叶结构,少量纤维结缔组织增生,纤维化程度较模型组明显改善。(图 1、图 2)。

2.2 各组大鼠肝 TGF-β1、collagen I、collagen III 的表达

正常组大鼠肝 TGF-β1、collagen I、collagen III 无阳性表达意义,模型组大鼠肝 collagen I、collagen III 及 TGF-β1 较正常组显著表达,而参仁活血颗粒各剂量 TGF-β1、collagen I、collagen III 表达均较模型组降低,且表达程度与剂量呈负相关,以参仁活血颗粒高剂量组疗效最显著(图 3、图 4、图 5)。



注:A 正常组;B 模型组;C 中药低剂量组;D 中药中剂量组;E 中药高剂量组。(下同)

图 1 各组大鼠肝 HE 染色

Note. A. Control group. B. Model group. C. Low-dose SRHX group. D. Middle-dose SRHX group. E. High-dose SRHX group. (The same in the following figures)

Figure 1 Pathological changes in liver tissues of the rats in each group(HE staining)

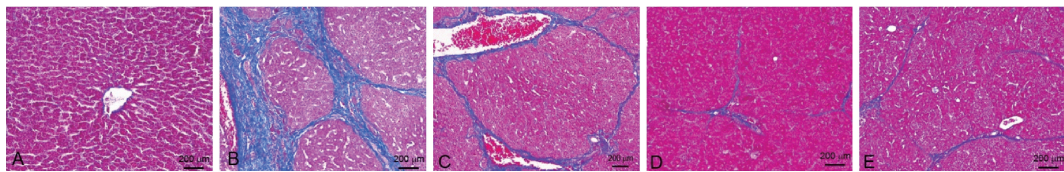


图 2 各组大鼠肝 Masson 染色

Figure 2 Liver fibrosis in the rats of different groups (Masson staining)

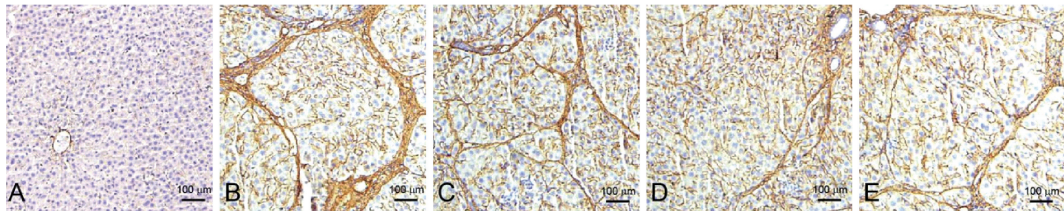


图 3 各组大鼠肝 collagen I 的表达

Figure 3 Expression of collagen I in liver tissues of the rats in each group

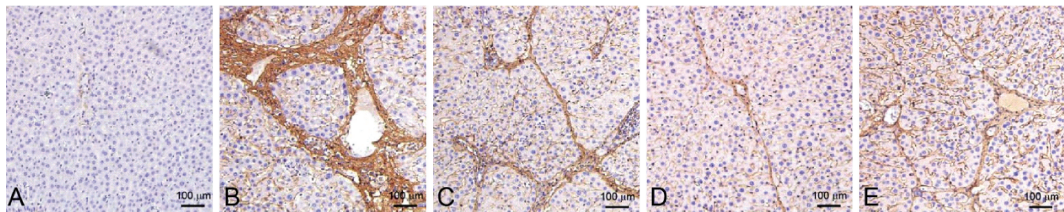


图 4 各组大鼠肝 collagen III 的表达

Figure 4 Expression of collagen III in liver tissues of the rats in each group

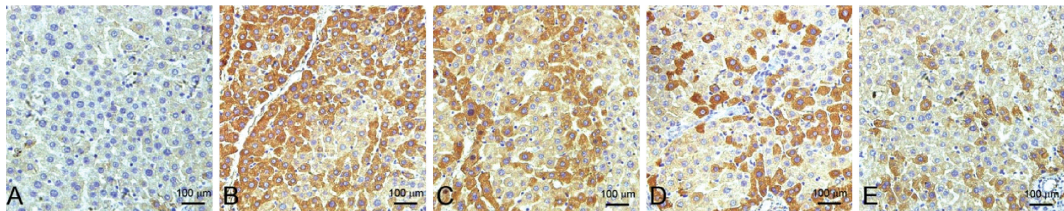


图 5 各组大鼠肝 TGF-β1 的表达

Figure 5 Expression of TGF-β1 in liver tissues of the rats in each group

2.3 各组大鼠肝 TGF-β1、Smad3、Smad7 mRNA 表达

与正常组比较,模型组大鼠肝组织 TGF-β1、Smad3 mRNA 的表达明显升高而 Smad7 mRNA 的表达明显降低 ($P < 0.05$);参仁活血颗粒各剂量组 TGF-β1、Smad3 mRNA 的表达较模型组均不同程度降低,以高剂量组效果最佳 ($P < 0.05$)。而参仁活血颗粒各剂量组 Smad7 mRNA 的表达较模型组明显升高,呈现出与剂量成正相关的上调趋势,以高剂量组表达升高最为显著 ($P < 0.05$)。(见图 6)

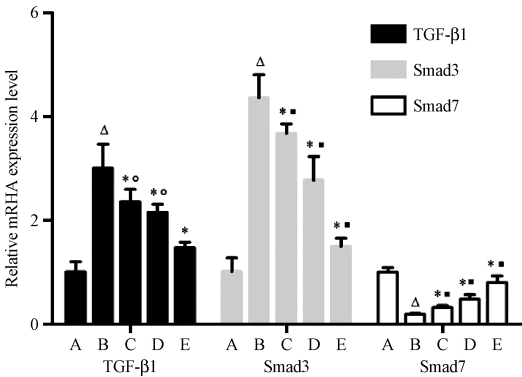
2.4 各组大鼠肝 TGF-β1、Smad3、Smad7 蛋白的表达

与正常组相比,模型组大鼠肝组织中 TGF-β1 蛋白的表达明显增加 ($P < 0.05$),与模型组相比,参

仁活血颗粒各剂量组大鼠肝组织中 TGF-β1 蛋白的表达减少 ($P < 0.05$),但参仁活血颗粒高、中、低剂量组之间比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与正常组相比,模型组大鼠肝组织中 Smad3 蛋白的表达明显升高而 Smad7 蛋白的表达显著下降 ($P < 0.05$);参仁活血颗粒各剂量组大鼠肝组织中 Smad3 蛋白的表达较模型组降低而 Smad7 蛋白的表达较模型组明显升高,以参仁活血颗粒高剂量组疗效最佳 ($P < 0.05$)。(见图 7)

3 讨论

肝纤维化是肝对各种慢性损伤如肝炎、自身免疫反应、过敏反应、代谢综合征和炎症等的修复反应,以富含 I 型胶原的 ECM 在肝内大量合成并沉积



注:与正常组比较, $\Delta P < 0.05$ 。与模型组比较, $* P < 0.05$ 。处理间比较, $^{\circ} P > 0.05$ 。处理间比较, $^{\blacksquare} P < 0.05$ 。(下同)

图 6 各组大鼠肝 TGF- β 1、Smad 3、Smad 7 mRNA 表达水平

Note. Compared with the normal group, $\Delta P < 0.05$. Compared with the model group, $* P < 0.05$. Compared between treatments, $^{\circ} P > 0.05$. Compared between treatments, $^{\blacksquare} P < 0.05$. (The same in the following figure)

Figure 6 Expression of TGF- β 1, Smad 3 and Smad 7 mRNA in liver tissues of the rats in each group

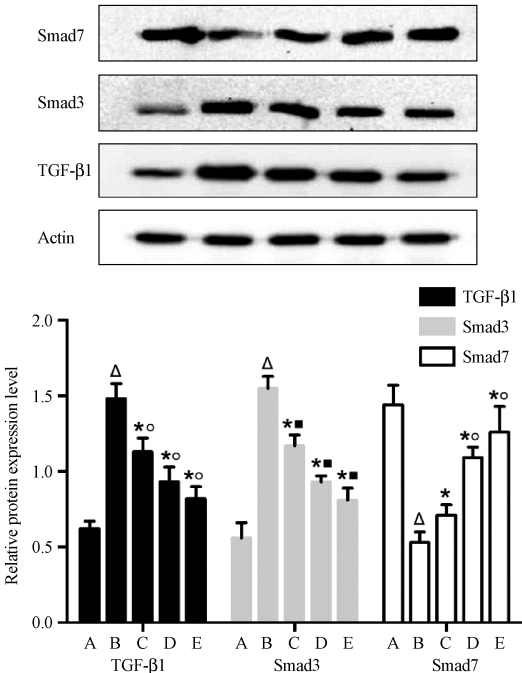


图 7 各组大鼠肝 TGF- β 1、Smad 3、Smad 7 蛋白表达

Figure 7 Expression of TGF- β 1, Smad 3 and Smad 7 proteins in liver tissues of the rats

为其主要特征,而 ECM 主要来源于肝星状细胞的激活^[4-5]。在各种肝损伤致病因素或血小板衍生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、TGF- β 、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α) 和白介素 1 (interleukin, IL-1) 等炎症细胞因子的刺激下,

HSCs 激活是肝纤维化发生发展的关键环节^[6-7],导致大量 collagen I、collagen III 和纤维连接蛋白、透明质酸等 ECM 成分的产生,最终导致肝纤维化,其中 collagen I 的沉积量与肝纤维化的严重程度呈正相关。本研究采用 CCl₄ 成功构建大鼠肝纤维化模型,模型组大鼠存在大量胶原沉积,纤维间隔增多增宽,假小叶形成, collagen I 及 collagen III 蛋白表达明显升高,而经参仁活血颗粒治疗后,肝胶原沉积减少,肝炎症及纤维化程度明显降低, collagen I、collagen III 蛋白的表达较模型组明显降低,以高剂量组疗效最佳,表明参仁活血颗粒具有治疗大鼠肝纤维化的作用。

TGF- β 1 是目前发现的最重要的致肝纤维化的细胞因子^[8],正常情况下肝 TGF- β 1 的表达极少,而肝损伤时其表达明显增加。Smad 作为 TGF- β 1 信号传递的关键下游蛋白,将细胞外信号传至核内,调节核内靶基因的转录,从而发挥 TGF- β 1 的生物效应^[9]。TGF- β 1 先后与 T β R II、T β R I 结合,激活 T β R II 磷酸化激酶, T β R I 随之磷酸化活化,活化的 T β R I 催化其下游信号分子 Smad2/3 蛋白磷酸化,活化的 Smad2/3 蛋白构象发生改变,与 Smad 4 结合形成异源寡聚物转运至细胞核内,增加金属蛋白酶组织抑制剂 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP) 及胶原纤维等的表达,从而激活 HSCs^[10]; Smad7 对 TGF- β 1 信号转导起负调控作用,通过同 Smad2/3 与 Smad4 竞争性的结合 T β R I 从而有效阻断 TGF- β 1 信号转导发挥抗纤维化的作用。经 BMP-7 转染日本血吸虫诱导的肝纤维化小鼠模型中, α -SMA、TGF- β 1、Smad2、及 Smad3 的表达均降低,而 Smad7 的表达明显升高^[11]。Smad3 基因敲除小鼠肝纤维化相关因子、胶原蛋白表达明显下降, Smad7 表达则呈增长趋势^[12]。Smad7 基因敲除大鼠的 HSCs 数目增多, ECM 大量沉积,而 Smad7 蛋白表达增加可以抑制 HSC 增殖及 I 型胶原的产生,抑制肝纤维化的进展^[3, 13-14]。因此, TGF- β 1/Smad 信号通路在大鼠肝纤维化的发生发展中起着重要作用,抑制该信号通路及相关细胞因子的表达可能成为治疗肝纤维化的关键点。

中医药在防治肝纤维化的发生发展方面取得了一些重要进展。Yang 等^[15]采用复方鳖甲软肝片治疗 CCl₄ 诱导的肝纤维化大鼠,结果显示该药物能有效抑制 TGF- β /Smad 信号通路的激活,从而达到治疗肝纤维化的目的。Li 等^[16]研究发现由冬虫夏草菌丝体多糖 (CS-PS), 绞股蓝总皂苷和苦杏仁苷组成 CGA 中药配方能显著改善 DMN 诱导的大鼠肝

纤维化,其作用机制可能与 CGA 中药配方能显著降低 DMN 诱导的纤维化肝组织中 α -SMA、TGF- β 1、T β RI、p-T β RI、p-T β RII、p-Smad2 和 p-Smad3 蛋白质表达水平相关。Wang 等^[17]发现扶正化瘀方能显著降低 MCD 构建的脂肪性肝炎纤维化小鼠 TGF- β 1、Smad3 和 Smad4 的表达,并进一步上调 Smad7 的表达,其机制可能与扶正化瘀方抑制 TGF- β 1/Smad 通路中涉及的细胞因子的表达从而中断肝纤维发生中的正反馈环相关。本次实验结果显示,参仁活血颗粒能显著降低肝纤维大鼠肝 TGF- β 1 及 Smad3 的表达,上调 Smad7 的表达,说明 TGF- β 1/Smad 信号通路是参仁活血颗粒治疗肝纤维的作用机制之一。进一步分析研究结果,发现参仁活血颗粒中、高剂量组之间 TGF- β 1、Smad7 mRNA 的表达差异有统计学意义($P < 0.05$),而两组之间 Smad7 蛋白表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。这可能是由于 DNA 中遗传信息的表达必须经过中介产物,即转移到 mRNA 上,才被用于指导蛋白质的生物合成,而 mRNA 将遗传信息转移到蛋白质合成系统中,需经形成起始物、活化氨基酸、合成肽链的起始部分、肽链的延伸和终止、蛋白质的加工多个步骤最终才能完成蛋白质的合成,若此过程中任一条件受干扰均可影响蛋白的合成,导致蛋白合成受阻所致。通过本次研究,可得出结论:参仁活血颗粒具有显著的抗肝纤维化的疗效,其机制可能与参仁活血颗粒抑制 TGF- β 1、Smad3 的表达,上调 Smad7 的表达,抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路激活,减少 HSCs 的生成,从而减少 collagen I 及 collagen III 等细胞外基质的合成相关。

参 考 文 献(References)

- [1] Dongiovanni P, Romeo S, Valenti L. Hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver: role of environmental and genetic factors [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(36): 12945–12955.
- [2] Lee JH, Jang EJ, Seo HL, et al. Sauchinone attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation through TGF- β /Smad signaling pathway [J]. Chem Biol Interact, 2014, 224: 58–67.
- [3] Hamzavi J, Ehnert S, Godoy P, et al. Disruption of the Smad7 gene enhances CCl₄-dependent liver damage and fibrogenesis in mice [J]. J Cell Mol Med, 2008, 12(5B): 2130–2144.
- [4] Altamirano-Barrera A, Barranco-Fragoso B, Méndez-Sánchez N. Management strategies for liver fibrosis [J]. Ann Hepatol, 2017, 16(1): 48–56.
- [5] Ballestri S, Nascimbeni F, Romagnoli D, et al. Type 2 diabetes in non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus infection-liver: the “musketeer” in the spotlight [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(3): 355.
- [6] Lakner AM, Steuerwald NM, Walling TL, et al. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis [J]. Hepatology, 2012, 56(1): 300–310.
- [7] Oakley F, Meso M, Iredale JP, et al. Inhibition of inhibitor of kappaB kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerated recovery from rat liver fibrosis [J]. Gastroenterology, 2005, 128(1): 108–120.
- [8] Dooley S, Dijke PT. TGF-beta in progression of liver disease [J]. Cell Tissue Res, 2012, 347(1): 245–256.
- [9] Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22 (Suppl 1): S79–84.
- [10] Liu B, Zhang X, Zhang FC, et al. Aberrant TGF-beta1 signaling contributes to the development of primary biliary cirrhosis in murine model [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(35): 5828–5836.
- [11] Chen BL, Peng J, Li QF, et al. Exogenous bone morphogenetic protein-7 reduces hepatic fibrosis in Schistosoma japonicum-infected mice via transforming growth factor-beta/Smad signaling [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(9): 1405–1415.
- [12] Latella G, Vetusch A, Sferri R, et al. Targeted disruption of Smad3 confers resistance to the development of dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in mice [J]. Liver Int, 2009, 29(7): 997–1009.
- [13] 杨小艳, 杨勇, 郑勇, 等. 外源 Smad7 转染肝星状细胞及对转化生长因子 α 1 和 I、III 型胶原 mRNA 表达的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(50): 9887–9891.
Yang XY, Yang Y, Zheng Y, et al. Effect of exogenous Smad7 gene transfected hepatic stellate cells on mRNA expression of transforming growth factor beta 1, collagen I and collagen III [J]. J Clin Rehab Tissue Engin Res, 2009, 13(50): 9887–9891.
- [14] 周玉平, 慕永平, 陈佳美, 等. Smad7 蛋白表达调控在抗肝纤维化研究中的应用前景 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2016, 26(1): 63–65.
Zhou YP, Mu YP, Chen JM, et al. Application prospect of Smad7 protein expression regulation in anti-fibrosis research [J]. Chin J Int Trad West Med Liver Dis, 2016, 26(1): 63–65.
- [15] Yang FR, Fang BW, Lou JS. Effects of Fufang Biejia Ruangan pills on hepatic fibrosis in vivo and in vitro [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(32): 5326–5333.
- [16] Li XM, Peng JH, Sun ZL, et al. Chinese medicine CGA formula ameliorates DMN-induced liver fibrosis in rats via inhibiting MMP2/9, TIMP1/2 and the TGF- β /Smad signaling pathways [J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(6): 783–793.
- [17] Wang RQ, Mi HM, Li H, et al. Modulation of IKK β /NF- κ B and TGF- β 1/Smad via Fuzheng Huayu recipe involves in prevention of nutritional steatohepatitis and fibrosis in mice [J]. Iran J Basic Med Sci, 2015, 18(4): 404–411.