

护肝片对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤肝阴虚证的保护作用

梁增荣¹, 龙梓¹, 陈少锐², 钟婉华¹, 崔升森^{1*}

(1. 广东药学院 中药学院, 广州 510006; 2. 中山大学 药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**研究护肝片对四氯化碳(CCl₄)致大鼠慢性肝损伤肝阴虚证的保护作用。**方法:**将42只Wistar大鼠分为5组:溶剂对照组($n=10$)、模型组($n=8$)、一贯煎组(相当于生药 $6.75\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $n=8$)、护肝片高、低剂量组($0.81, 0.27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $n=8$),除溶剂对照组外,其余各组均皮下注射40% CCl₄花生油溶液,每次 $3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,每周2次,连续5周,第6周改为每周注射1次,第5、6周同时灌胃给予温热中药(相当于生药 $18\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每日1次,造模共6周,建立慢性肝损伤肝阴虚证的大鼠模型。第6周后开始给予相应的药物灌胃治疗,每日1次,连续2周至第8周末。末次给药后处死动物,采集大鼠血清和肝组织标本,检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)、醛固酮(ALD)、白蛋白(ALB);肝组织匀浆超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA);肝组织羟脯氨酸(Hyp);HE染色法对肝组织病理学形态检查;Western blot方法检测肝组织中还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NADPH oxidase, NOX)NOX2的蛋白表达。**结果:**与溶剂对照组比较,模型组大鼠血清ALT,ALD和肝组织Hyp,MDA显著升高($P<0.01$),血清ALB和肝组织SOD显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,护肝片高、低剂量组均能显著降低大鼠血清ALT水平和肝组织MDA,Hyp的含量($P<0.01, P<0.05$);护肝片高剂量组显著降低血清ALD水平($P<0.05$),升高血清中ALB含量($P<0.05$)和肝组织中SOD活性($P<0.05$),降低肝组织中NOX2的蛋白表达($P<0.05$)。病理结果显示护肝片高、低剂量组明显减轻慢性肝损伤且一定程度降低纤维化水平。**结论:**护肝片能保肝降酶,对慢性肝损伤有明显的保护作用。

[关键词] 四氯化碳; 温热中药; 肝损伤; 肝纤维化; 护肝片

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)24-0137-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015240137

Effect of Hupan Tablets on Chronic Hepatic Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats Model of Yin-deficiency Syndrome of Liver LIANG Zeng-rong¹, LONG Zi¹, CHEN Shao-rui², ZHONG Wan-hua¹, CUI Sheng-miao^{1*} (1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Hupan tablets on chronic hepatic injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in rat models of yin-deficiency syndrome of liver. **Method:** Forty-two Wistar rats were divided into five groups: dissolvent control group ($n=10$), model group ($n=8$), Yiguanjian decoction group (equivalent to crude drugs $6.75\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $n=8$), Hupan tablets high-dose group ($0.81\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $n=8$) and low-dose group ($0.27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $n=8$). Except the dissolvent group, all the other groups were injected with 40% CCl₄ peanut oil solution, twice per week and $3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ each time, for 5 weeks, but one time per week in week 6. In week 5 and week 6, the rats were also orally taking interior warming drugs (crude drugs $18\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) once per day. After modeling for 6 weeks, rat models of yin-deficiency syndrome of liver with chronic hepatic injury was induced. From week 6, the rates received corresponding drug lavage treatment, once a day and for 2 to 8 consecutive weeks. Rats were sacrificed after the last administration, and the serum and liver tissue were taken. Serum alanine aminotransferase (ALT), aldosterone (ALD), albumin (ALB), hydroxyproline (Hyp) in liver tissues, malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) in liver tissues were determined. Pathological

[收稿日期] 20150407(006)

[基金项目] 广东药学院重点培养教师计划项目

[第一作者] 梁增荣, 硕士, 从事中药制剂研究与开发, Tel:18814099723, E-mail:253120348@qq.com

[通讯作者] * 崔升森, 博士, 教授, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel:020-39352169, E-mail:cuishengmiao@qq.com

change of liver was determined and observed by hematoxylin-eosin staining. The protein expression of reduced from of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase 2 (NOX2) in liver was analyzed by westernblot. **Result:** Compared to dissolvent group, the model group increased significantly the serum ALT, ALD as well as Hyp in liver tissues, significantly increased MDA ($P < 0.01$), and significantly reduced the level of serum ALB and SOD in liver tissues ($P < 0.01$). Compared to model group, the level of serum ALT, MDA and Hyp in liver tissue in Hugan tablets high-dose and low-dose group were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Hugantablets high-dose group could significantly reduce ALD level ($P < 0.05$), increase the level of ALB ($P < 0.05$) and hepatic SOD activity ($P < 0.05$), and reduce the protein expression of NOX2 in liver tissue ($P < 0.05$). The pathological results showed that Hugan tablets high and low dose groups could significantly reduce chronic liver injury and to a certain extent reduce the level of fibrosis. **Conclusion:** Hugan tablets can protect liver and lower transaminase, showing significant protective effect on chronic liver injury.

[**Key words**] carbon tetrachloride; interior warming drugs; hepatic injury; liver fibrosis; Hugan tablets

二至丸出自明代吴旻辑的《扶寿精方》,为平补肝肾的代表方,具有益肝肾,补阴血,壮筋骨,乌须发的功效,由女贞子和墨旱莲组成,现代药理表明二至丸在保肝降酶,抗衰老,调节免疫机能等方面有较好的作用,临床上多用于妇科疾病,泌尿系统疾病,皮肤病等^[1-2]。二至丸结合活血化瘀等药使用,具有治疗慢性肝损伤所致纤维化的优势^[1-3],故护肝片是在二至丸配方的基础上加入白芍、姜黄等药物制备而成的片剂。本实验制备四氯化碳(CCl_4)结合温热中药所致慢性肝损伤肝阴虚证的大鼠模型,并在此病证结合模型上,探索护肝片对肝脏的保护作用,同时为护肝药物或抗肝纤维化药物的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级Wistar大鼠42只,雌雄各半,雌性体重(100~138g),雄性体重(110~182g),由中山大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(粤)2011-0029。饲养于中山大学实验动物中心屏障环境,普通饲料喂养,自由饮水。

1.2 药物 温热中药:干姜、黑顺片、肉桂,购自四川新荷花中药饮片股份有限公司,以上药材由广东药学院中药学院药用植物与中药鉴定教研室李书渊教授鉴定为正品。干姜、黑顺片、肉桂(1:1:1)复方提取,附子先煎1h,再下肉桂、干姜共煎20min,煎液浓缩至每1mL含生药1.2g。一贯煎:川楝子,当归,沙参,麦冬,枸杞子,生地黄,购自广州医药集团采芝林药店,川楝子,当归,沙参,麦冬,枸杞子,生地黄(1:1.8:1.8:1.8:4:3.6)复方提取,浓缩至每1mL含生药0.9g。女贞子,墨旱莲,白芍,姜黄等药材,购自安国市一方中药材有限公司。护肝片:女贞子,墨旱莲与白芍(2:2:1)复方提取物,加入姜黄提取物及

其他药物再加入辅料,制备成片剂。

1.3 试剂 CCl_4 (天津市百世化工有限公司,批号20130829),羟脯氨酸(Hyp)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、考马斯亮蓝蛋白试剂盒(均购自南京建成生物工程研究所,批号分别为20140711,20140714,20140710,20140725),还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX2)抗体(Upstate, Millipore, USA),丙氨酸氨基转移酶(ALT),白蛋白(ALB),醛固酮(ALD)ELISA试剂盒(均由上海蓝基生物科技有限公司提供,批号均为20140813)。

1.4 仪器 Bio-Tek型酶标仪(美国Bio-Tek公司),5417R型台式冷冻高速离心机(德国Epdorff公司),PL303101型电子天平(Metter-Toled公司),WFZ800-D3B型紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),Biospec型手持式组织匀浆器(Biospec公司),BIO-RAD型电泳电转仪(美国BIO-RAD公司),ImageQuant LAS 4000 mini型化学发光成像仪(美国通用电器公司)。

2 方法

2.1 动物造模,分组及给药 将42只Wistar健康大鼠适应性饲养3d后,将动物分为①溶剂组,②模型组,③一贯煎组,④护肝片高剂量组,⑤护肝片低剂量组,每组动物均为雌雄各半,除①($n = 10$)外,其余各组大鼠($n = 8$)每周2次sc 40% CCl_4 花生油溶液,每次3 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续5周,第6周改为每周注射1次。第5,6周增加用上述温热中药按容积15 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,ig每日1次,共2周。溶剂组大鼠ig给予等量的溶剂。第7,8周,护肝片组将护肝片剂置研钵中研磨成细粉,以0.05%羧甲基纤维素钠制成混悬液给药(④给予片剂0.81

$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, ⑤为 $0.27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$); 一贯煎水提液给药容积 $7.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$; 溶剂组及模型组 *ig* 给予等量的溶剂。给药每日 1 次, 连续 2 周。第 8 周, 末次给药后处死动物, 经腹腔静脉取血, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 低温 ($2 \sim 8 \text{ }^\circ\text{C}$) 离心 15 min , 取上层血清备用。取肝脏、称重, 将左叶置于 10% 福尔马林固定。另取肝脏组织先快速冻存于液氮中, 后转移置 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱备用。

2.2 对大鼠的状态、体重和肝脏指数观察 观察溶剂对照组、模型组和给药各组大鼠的毛发, 活动, 大便, 饮水量等并在第 6, 8 周末称大鼠体重。计算肝脏指数。

$$\text{肝脏指数} = \frac{\text{肝脏重}}{\text{体重}} \times 100\%$$

2.3 血清指标和肝脏指标检测 血清样品用 ELISA 试剂盒测定 ALT, ALB, ALD; 称取肝组织后加入生理盐水, 冰浴中用匀浆器制备 10% 匀浆液, 用考马斯亮蓝法测定肝组织匀浆总蛋白含量, 用 TBA 法检测 MDA, 黄嘌呤氧化酶法检测 SOD; 另取肝组织称重后, 用样本碱水解法检测 Hyp。以上均按试剂盒说明书操作。

2.4 肝组织病理检查观察 肝组织以 10% 的甲醛固定, 做常规组织切片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 观察肝组织病理学改变。

2.5 肝组织 NOX2 蛋白表达检测 肝组织浸在含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液 $300 \mu\text{L}$ 中, 先把

组织剪碎, 后用手持组织匀浆机中迅速在冰上进行匀浆, 再在冰上静置裂解 30 min 。然后 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min , 取上清蛋白定量后, 先以 10% 的 SDS-PAGE 凝胶进行电泳, 后取凝胶与 PVDF 膜接触, 30 V 电转过夜, 并以 5% 血清白蛋白封闭液进行封闭, 依次孵育 NOX2 一抗, 二抗后, 在化学发光成像仪里显影, 用 Quantity One 软件对条带进行灰度分析。以 tubulin 作为内参。

2.6 统计处理 所有数据表示为 $\bar{x} \pm s$ 的形式, SPSS 10.0 统计软件分析, 做单因素方差分析并 LSD 方法两两比较检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠状态、体重和肝脏指数的影响 溶剂组大鼠在以对照溶剂灌胃过程中, 人为造成 1 只雌性大鼠死亡, 其余大鼠体形肥胖, 饮食正常, 健康活泼, 毛色光泽, 二便正常。与溶剂组比较, 模型组大鼠消瘦, 饮食减少, 舌红少津, 疲倦易困, 竖毛少泽, 尿液色黄, 大便干结。一贯煎组及护肝片高、低剂量组大鼠的状态相对于模型组有所改善。第 8 周护肝片高剂量组大鼠体重增长速度较为明显, 但与模型组比较无显著性差异。与溶剂组比较, 模型组肝脏指数显著升高, 但一贯煎组及护肝片高、低剂量组与模型组比较没有显著性差异。一贯煎为治肝肾阴虚的代表方, 一贯煎组能改善大鼠状态, 表明护肝片也对肝肾阴虚证有所改善。见表 1。

表 1 护肝片对 CCl_4 致慢性肝损伤大鼠体重及肝脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Hupan tablets on weight and liver index in rats with chronic hepatic injury induced by CCl_4 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g		肝脏指数/%
			第 6 周	第 8 周	
溶剂	9	-	315.4 ± 47.5	348.4 ± 47.1	2.62 ± 0.18
模型	8	-	289.6 ± 47.3	312.5 ± 46.7	$3.39 \pm 0.32^{2)}$
一贯煎	8	6.75	297.6 ± 48.9	320.5 ± 52.8	3.17 ± 0.38
护肝片	8	0.27	279.0 ± 34.9	309.5 ± 47.6	3.26 ± 0.26
	8	0.81	295.0 ± 57.9	325.1 ± 63.9	3.13 ± 0.21

注: 与溶剂组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 和模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

3.2 对大鼠血清生化指标的影响 与溶剂组比较, 模型组大鼠血清 ALT 和 ALD 水平显著升高 ($P < 0.01$), ALB 水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 一贯煎组降低血清 ALT 和 ALD 水平 ($P < 0.05$); 护肝片低剂量组 ALT 明显降低 ($P < 0.05$); 护肝片高剂量组血清 ALT, ALD 水平显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), ALB 水平显著升高 ($P < 0.05$)。表明护肝片对肝损伤肝阴虚证大鼠有所改善, 对肝细胞具有保护作用。见表 2。

3.3 对大鼠肝组织匀浆 MDA 含量, SOD 活性和肝组织 Hyp 含量的影响 与溶剂组比较, 模型组大鼠肝脏 MDA 和 Hyp 含量明显升高 ($P < 0.01$), SOD 活性显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 一贯煎组肝脏 MDA, Hyp 含量显著降低 ($P < 0.01$) 和 SOD 活性升高 ($P < 0.05$); 护肝片低、高剂量组肝脏 MDA, Hyp 含量明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 护肝片高剂量组 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$)。表明护肝片具有清除自由, 抗脂质过氧化, 对肝纤维化有一定减轻作用。见表 3。

表 2 护肝片对 CCl₄ 致慢性肝损伤大鼠血清 ALT, ALB 和 ALD 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Hupan tablets on levels of serum ALT, ALB and ALD in rats with chronic hepatic injury induced by CCl₄ ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	ALB/g·L ⁻¹	ALD/ng·L ⁻¹
溶剂	9	-	40.7 ± 13.3	43.9 ± 12.9	76.9 ± 19.0
模型	8	-	131.4 ± 30.4 ²⁾	28.7 ± 9.3 ²⁾	121.2 ± 30.8 ²⁾
一贯煎	8	6.75	100.4 ± 24.3 ³⁾	35.4 ± 7.7	91.1 ± 23.8 ³⁾
护肝片	8	0.27	103.9 ± 22.9 ³⁾	35.0 ± 12.8	98.5 ± 34.1
	8	0.81	85.3 ± 28.1 ⁴⁾	38.7 ± 7.5 ³⁾	91.5 ± 29.1 ³⁾

表 3 护肝片对 CCl₄ 致慢性肝损伤大鼠肝组织匀浆 SOD, MDA 和肝组织 Hyp 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of Hupan tablets on contents of Hyp, MDA and activity of SOD in liver tissue of rats with chronic hepatic injury induced by CCl₄ ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	MDA/μmol·g ⁻¹	Hyp/μg·g ⁻¹
溶剂	9	-	111.2 ± 27.1	0.62 ± 0.11	119.2 ± 31.1
模型	8	-	64.2 ± 21.3 ²⁾	1.37 ± 0.38 ²⁾	295.1 ± 50.6 ²⁾
一贯煎	8	6.75	93.4 ± 26.1 ³⁾	0.85 ± 0.25 ⁴⁾	222.1 ± 54.1 ⁴⁾
护肝片	8	0.27	87.1 ± 23.9	1.05 ± 0.34 ³⁾	234.8 ± 36.9 ⁴⁾
	8	0.81	94.6 ± 29.9 ³⁾	0.91 ± 0.19 ³⁾	209.4 ± 51.7 ⁴⁾

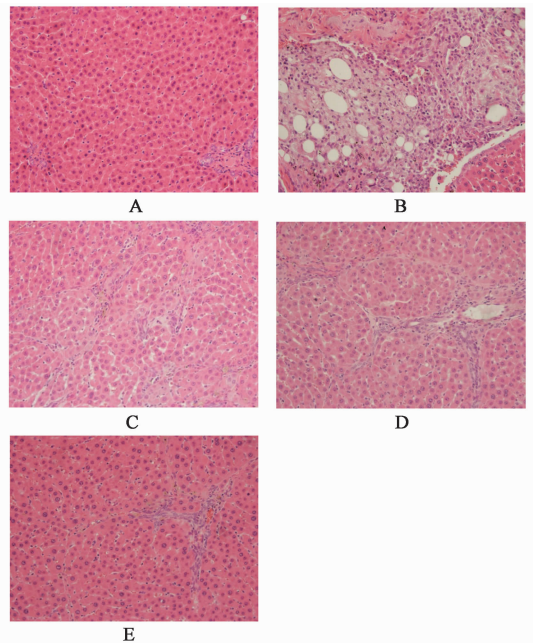
3.4 对大鼠肝组织病理学的影响 病理切片结果表明,溶剂组大鼠肝组织结构正常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝索、肝血窦排列整齐,肝小叶结构完整,未见肝细胞变性、坏死等病理变化。模型组大鼠肝小叶正常结构被破坏,肝索排列紊乱,肝细胞脂肪变性,呈现大量大小不等排列无规则的空泡样结构,伴有不同程度的肝细胞坏死及炎性细胞浸润,有大量纤维组织增生。护肝片高、低剂量组及一贯煎组肝细胞坏死,变性及炎性细胞浸润程度均有所减轻,汇管区有少量的纤维增生,但未向肝小叶延伸。见图 1。

3.5 对大鼠肝组织 NOX2 蛋白表达的影响 由图 2 可见,模型组大鼠肝脏 NOX2 蛋白表达明显升高,与溶剂组比较具有显著性差异 ($P < 0.05$); 给予高剂量护肝片,减少了 NOX2 的蛋白表达 ($P < 0.05$)。

4 讨论

慢性肝损害是由于长期受如病毒,酒精,化学毒物等因素造成的肝脏损伤,长期发展为肝纤维化,甚至诱发肝硬化和肝癌。在对此疾病的防治上,中医药凭借其多层次、多靶点的药理学的优势,吸引国内外学者的关注^[4]。

CCl₄ 是最常用于诱发实验动物肝损伤和肝纤维化的毒物。中医理论认为温热中药易伤津耗液,本研究参考文献^[5,6],在大鼠慢性 CCl₄ 肝损伤模型的基础上结合温热中药附子、肉桂、干姜复方灌胃,认为制作成肝阴虚证动物模型。本实验模型大鼠呈

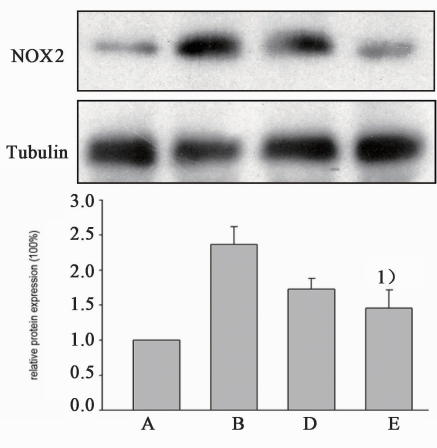


A. 溶剂组; B. 模型组; C. 一贯煎 6.75 g·kg⁻¹ 组; D. 护肝片 0.27 g·kg⁻¹ 组; E. 护肝片 0.81 g·kg⁻¹ 组(图 2 同)

图 1 护肝片对 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤肝组织病理改变的影响(HE, ×200)

Fig.1 Effects of Hupan tablets on histologic results of liver tissues in rats with chronic hepatic injury induced by CCl₄ (HE, ×200)

被毛疏松无光泽,消瘦,烦躁不安等阴虚症状和体征,且大鼠血清 ALD 含量升高,有报道^[7]认为阴虚证醛固酮增多。一贯煎为治肝肾阴虚的代表方,“以方测证”佐证了该肝阴虚证动物模型的合理



与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$

图 2 护肝片对 CCl_4 致大鼠慢性肝损伤肝组织 NOX2 蛋白表达的影响(蛋白印迹检测)

Fig.2 Effects of Hupan tablets on protein levels of NOX2 in liver tissue of rats with chronic hepatic injury induced by CCl_4 (Western blot)

性^[8]。慢性肝损伤造成肝纤维化,发病至后期,肝肾阴虚,瘀阻肝络等证候显著,文献报道^[9-10],滋补肝肾、活血通络要在肝纤维化早期同时兼顾治疗效果更理想。本实验动物模型突出了护肝片病证同治的特点。

CCl_4 肝损伤使血中 ALT 含量升高和蛋白合成受到影响,所致脂质过氧化物(MDA)能间接反映细胞损伤的程度,而 SOD 活力则能反映机体清除氧自由基的能力,慢性 CCl_4 肝损伤致纤维化形成,而 Hyp 可作为纤维化程度的指标之一^[11]。本研究结果表明,护肝片高、低剂量给药后不同程度地提高大鼠血清中 ALB,降低 ALT,减轻肝损伤程度,使肝功能有所改善;降低肝脏中 MDA 含量和提高其 SOD 活力,减少自由基对肝脏的损害;降低了肝组织的 Hyp,表明护肝片具有减轻纤维化作用。病理结果显示,表明护肝片具有保护肝细胞结构完整,抑制肝纤维化,改善肝组织病理形态学的作用。有研究表明 NADPH 氧化酶(NOX)及其产生的活性氧簇(ROS)引起的氧化应激在肝损伤、纤维化中起关键作用,NOX 家族中的 NOX1,NOX2,NOX4 在 CCl_4 诱导肝纤维化的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)中的 mRNA 水平明显高于静息态 HSC 中的水平^[12]。作为经典吞噬型 NOX 的 NOX2 同时在炎症细胞、肝星状细胞、肝细胞中高表达^[13-14]。我们选取关键性的 NOX2 作为研究对象,发现护肝片能降低在病理刺激下 NOX2 蛋白的表达,可能是其

抗氧化作用的重要原因。

综上,笔者推测护肝片可能通过降低氧化酶的产生,抑制脂质过氧化反应,清除自由基防止肝损伤并减轻纤维化形成产生肝保护作用。本实验为复方中药的肝保护作用提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 蔡秀江,黄美艳,丁安伟,等.二至丸考源及药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):272-275.
- [2] 徐瑾,罗玲英,吴铁荣.二至丸的临床应用与剂量关系研究[J].亚太传统医药,2011,7(1):131-136.
- [3] 蔡秀江,丁安伟,姚卫峰,等.二至丸临床应用研究[J].吉林中医药,2011,31(8):793-795.
- [4] Zhang L, Schuppan D. Traditional Chinese Medicine (TCM) for fibrotic liver disease: Hope and Hype[J]. J Hepatol, 2014, 61(1):166-168.
- [5] 欧阳取长,石林阶.肝阴虚证大鼠模型的初步研究[J].湖南中医学院学报,1999,19(2):25-27.
- [6] 樊蔚虹,岳广欣,李素香,等.长期应激致肝肾阴虚证动物模型研制[J].中国中医基础医学杂志,2001,7(9):67-69.
- [7] 唐树德,沈家麟.阴虚火旺与肾素、血管紧张素系统关系的初步探讨[J].陕西中医,1984,5(2):43-44.
- [8] 陶庆,孙明瑜,冯琴,等.基于以方测证的四氯化碳所致大鼠肝纤维化模型的证型探讨[J].中国中西医结合杂志,2009,29(3):246-250.
- [9] 黄长乐,赵文霞.中医药治疗肝纤维化进展[J].中医临床研究,2014,6(2):146-147.
- [10] 张永,王伟芹,孙玉莉,等.柔肝抑纤饮加用二至丸抗小鼠肝纤维化形成的对比研究[J].中华中医药学刊,2008,26(7):1479-1481.
- [11] 罗亦灵,石磊,王颖钰,等.复方龙葵颗粒对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2014(1):105-109.
- [12] Paik Y H, Iwaisako K, Seki E, et al. The nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NOX) homologues NOX1 and NOX2/gp91 (phox) mediate hepatic fibrosis in mice [J]. Hepatology, 2011, 53(5):1730-1741.
- [13] 余珊珊,朱莹. NADPH 氧化酶家族成员促肝纤维化的研究进展[J].世界华人消化杂志,2014,22(19):2710-2715.
- [14] 冷丽丽,唐圣松. NADPH 氧化酶 NOX 家族的组织分布及生理功能[J].国际病理科学与临床杂志,2008,28(1):19-23.

[责任编辑 聂淑琴]