

归芍颗粒对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化的保护作用

翟巧利¹, 陈象青², 姜玲^{1,2*}, 魏伟^{1*}

- (1. 安徽医科大学 临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 抗炎免疫药物安徽省协同创新中心, 合肥 230032;
2. 安徽医科大学 附属省立医院, 合肥 230001)

[摘要] **目的:** 观察归芍颗粒(Guishao granules, GG)对四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导的SD大鼠肝纤维化的作用。**方法:** 90只雄性SD大鼠, 除正常组15只不造模外, 其余大鼠背部*ih* CCl₄ (1 mL·kg⁻¹), 每周2次, 共13周制备肝纤维化模型, 随机分为5组, 分别为模型组, GG低、中、高剂量组(3.5, 7.0, 14 g·kg⁻¹)和秋水仙碱组(0.1 mg·kg⁻¹), 每组15只。13周后, 测定大鼠肝脏指数; 取部分肝组织做苏木素-伊红(HE)和马松三色(Masson)染色; 取血测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)的活性; 放射免疫法检测血清中透明质酸(HA)和层粘连蛋白(LN)的水平; 分光光度法检测大鼠肝脏中羟脯氨酸(Hyp)含量; 免疫组化法检测肝脏中 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达水平。**结果:** 与正常组比较, 模型组大鼠肝损伤, 肝纤维化程度明显, 肝纤维化大鼠血清中ALT, AST和HA, LN水平明显升高, 肝组织中Hyp的含量明显升高, 肝组织中 α -SMA蛋白的表达明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$); GG能明显改善大鼠肝损伤, 减轻肝纤维化程度, 同时显著降低肝纤维化大鼠血清中ALT, AST和HA, LN水平, GG能降低肝组织中Hyp的含量, 抑制肝组织中 α -SMA蛋白的表达($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:** GG可以明显改善CCl₄诱导的大鼠肝纤维化, 其作用机制可能与GG抑制肝星状细胞活化有关。

[关键词] 归芍颗粒; 肝纤维化; 四氯化碳; 保护作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)07-0150-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016070150

Protective Efficacy of Guishao Granules on Hepatic Fibrosis Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

ZHAI Qiao-li¹, CHEN Xiang-qing², JIANG Ling^{1,2*}, WEI Wei^{1*}

- (1. Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immune Medicine of Education Ministry, Collaborative Innovation Center of Anti-inflammatory and Immune Medicine of Anhui Province, Hefei 230032, China;
2. The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the efficacy of Guishao granules (GG) on hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in SD rats. **Method:** In 90 male SD rats, 15 of them were used as the normal group, and other rats were used to induce hepatic fibrosis models by subcutaneously injecting with CCl₄ (1 mL·kg⁻¹), two times/week for a total of 13 weeks. The rats were randomly divided into model group, GG low dose group, middle dose group, high dose group (3.5, 7.0, 14 g·kg⁻¹) and colchicine group (0.1 mg·kg⁻¹), $n = 15$ in each group. After 13 weeks, liver indexes of the rats were detected; partial liver tissues were taken for hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson staining. Blood was taken to measure the activities of serum alanine

[收稿日期] 20150609(013)

[基金项目] 安徽省自然科学基金项目(1308085MH170)

[第一作者] 翟巧利, 硕士, 从事临床药理学研究, Tel: 18856040868, E-mail: 839285070@qq.com

[通讯作者] *姜玲, 硕士, 主任药师, 从事临床药学与药事管理学研究, Tel: 0551-62283366, E-mail: ahslyyj@126.com;

*魏伟, 博士, 教授, 从事抗炎免疫药理学研究, Tel: 0551-5161208, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn

aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). Levels of hyaluronic acid (HA) and laminin (LN) in serum were detected by radioimmunoassay. The levels of hydroxyproline (Hyp) in liver of rats were measured by spectrophotometric method and the expression of α -smooth muscle actin (α -SMA) in liver was detected by immunohistochemistry method. **Result:** Compared with the normal group, liver injury and hepatic fibrosis were obvious in the rats of model group; the levels of ALT, AST, HA and LN in the serum were significantly increased in the rats with liver fibrosis; the level of Hyp in liver tissues were significantly increased; and the expression of α -SMA protein in liver tissues was significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). GG could significantly improve liver injury of rats, reduce hepatic fibrosis, significantly reduce the levels of ALT, AST, HA, and LN in the serum of model rats, decrease the level of Hyp in liver tissues, and inhibit the expression of α -SMA protein in liver tissues of the model rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** GG could significantly attenuate hepatic fibrosis induced by CCl_4 in rats, and its mechanism may be associated with inhibiting the activation of hepatic stellate cells.

[**Key words**] Guishao granules; hepatic fibrosis; carbon tetrachloride; protective efficacy

肝纤维化是继发于多种原因引起的慢性肝脏损伤后的组织修复过程,是各种慢性肝脏疾病发展为肝硬化和肝癌的共同病理过程^[1]。肝纤维化的病因包括肝炎病毒(乙型和丙型肝炎病毒)、酒精、有毒物、免疫损伤等^[2]。肝纤维化长期得不到改善会发展为终末期疾病—肝硬化,其通常认为是不可逆的。通过早期的抗纤维化治疗或消除病因,肝纤维化可以预防或逆转^[3]。尽管很多化合物在体内和体外实验中被证实有抗纤维化活性,但临床上并无理想的治疗药物。因此,寻找防治肝纤维化有效药物是目前备受关注的问题。

肝纤维化的特点是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过度沉积,导致肝实质和肝脏结构的破坏。肝星状细胞(HSCs)的激活、增殖及转化分化在肝纤维化过程中发挥关键作用。激活的HSCs是ECM产生的主要来源,促纤维化因子可刺激HSCs分泌ECM,其表型特征是 α -SMA的表达上调^[4]。到目前为止,一些中药已经用于治疗肝纤维化,并且在临床应用中证明有效^[5]。中药包含多种成分,多个活性部位共同发挥作用。中药复方抗纤维化的特点是多环节、多靶位,与化学合成药物往往仅作用在单一环节或靶位比较有其独特的优势。归芍颗粒(Guishao granules, GG)来源于陈士铎的《石室秘录》,由5种中药饮片组成,包括当归、芍药、炒栀子、甘草和金银花。课题组前期研究表明白芍总苷与当归提取物合用对四氯化碳(CCl_4)和D-半乳糖胺诱导的化学性肝损伤和卡介苗加脂多糖诱导的免疫性肝损伤小鼠均具有保护作用^[6-7]。但GG对肝纤维化是否有作用尚不清楚,本研究首次探讨GG对 CCl_4 诱导大鼠肝纤维化是否具有保护作用。

1 材料

1.1 动物 90只雄性SD大鼠,体重150~180g,由安徽省立医院实验动物中心提供,动物置于明暗各12h,25℃,湿度60%±10%的条件下饲养,整个过程大鼠自由饮水、摄食。大鼠适应性饲养1周后开始实验。

1.2 药物及试剂 归芍颗粒(GG,安徽省立医院院内制剂,批号141013),秋水仙碱片(西双版纳版纳药业有限责任公司,批号140507),临用前用0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液配制成相应浓度; CCl_4 (天津市光复科技发展有限公司,批号130601),CMC-Na(国药集团化学试剂有限公司,批号F20080523),丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)测试盒和羟脯氨酸(Hyp)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为C009-2, C0010-2, A030-2),透明质酸(HA)和层粘连蛋白(LN)试剂盒(北京北方生物技术研究所,批号分别为20130520, 20131020),马松三色(Masson)染色试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司,批号MST-8004),免疫组化检测试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号SP-9000),兔抗大鼠多克隆 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)抗体(美国Proteintech公司,批号23081-1-AP)。

1.3 仪器 M200型多功能酶标仪(瑞士TECAN集团),ZSXH-625型恒温水浴箱(上海智城分析仪器制造有限公司),ALC-210.4型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],Mikro220R型冷冻高速离心机(德国Hettich公司),BX41型光学显微镜(日本Olympus公司),IX71型荧光显微镜(日本Olympus公司)。

2 方法

2.1 GG 的制备 GG 的药味组成、比例以及剂量与古方相同,本研究中将人的剂量按体表面积换算成大鼠剂量。GG 中 5 种中药饮片经安徽中医药大学王桐生教授鉴定为正品。GG 的制备由安徽省立医院制剂室完成。按 5:5:3:3:9 比例分别称取当归、白芍、甘草、炒栀子和金银花,粉碎成粗颗粒。当归、白芍用 8 倍量 70% 乙醇,浸泡 0.5 h,回流 2 次,每次 1 h;过滤,合并滤液,回收乙醇并减压浓缩。金银花、甘草、炒栀子用 8 倍量的水,浸泡 0.5 h,煎煮 2 次,每次 1 h;将提取液浓缩至 1 mL 浓缩液相当于 2 g 药材,再将浓缩液在 70% 乙醇的环境下进行醇沉,醇沉 24 h,抽滤,滤液回收乙醇并减压浓缩。将上述 2 种浓缩液混合,继续浓缩成稠膏状时,放入烤箱,在 80 °C 条件下烘成干膏。将浸膏粉和淀粉、微晶纤维素辅料按 1:0.6:0.6 比例混合,以 70% 乙醇为润湿剂制成软材,过 10 目筛制粒,60 °C 烘干即可。GG 临用前用 0.5% CMC-Na 溶液配制成相应溶液。

2.2 分组、给药及取材 大鼠背部 *ih* CCl₄ (灭菌橄榄油 1:1 稀释), 1 mL·kg⁻¹, 每周 2 次制备肝纤维化模型。大鼠随机分为 6 组 ($n = 15$), 分别为正常组, 模型组, GG 低、中、高剂量组 (3.5, 7.0, 14 g·kg⁻¹) 和秋水仙碱 (colchicine, Col) 组 (0.1 mg·kg⁻¹)。除正常组外, 其余各组大鼠 *ih* CCl₄, 正常组 *ih* 等量橄榄油, 共 13 周。从第 9 周开始, 除正常组和模型组外, 其余各组每天 *ig* 相应的药物, 正常组和模型组 *ig* 等量 0.5% CMC-Na, 共 5 周。13 周后, 所有大鼠称重后 *ip* 水合氯醛麻醉。收集腹主动脉血并离心 (3 000 r·min⁻¹, 15 min, 室温) 取上清, -80 °C 保存备用。称量肝湿重, 每个肝脏取相同部位于 10% 中性福尔马林中固定。其余肝脏分装后于 -80 °C 保存备用。

2.3 计算肝脏指数 肝脏指数的计算根据如下公式。

$$\text{肝脏指数} = \text{肝脏质量} / \text{大鼠体重} \times 100\%$$

2.4 苏木素-伊红 (HE) 和 Masson 染色 10% 福尔马林固定 24 h 后, 样本用石蜡进行包埋, 并用切片机切成 4 μm 薄片。然后用 HE 和 Masson 染色评价肝组织病理和纤维化改变。

2.5 血清 ALT 和 AST 水平测定 根据试剂盒说明书, 赖氏法检测血清 ALT 和 AST 活性。酶标仪测定 510 nm 波长处的吸光度 *A*, 查标准曲线, 求得相应的 ALT 和 AST 活性单位。

2.6 血清 HA 和 LN 水平测定 根据试剂盒说明书, 放射免疫法测定血清 HA 和 LN 的含量。γ-放射免疫分析仪测定放射性计数, 计算百分结合率。以标准浓度和对应的百分结合率作标准曲线, 样品中 HA 和 LN 的含量可以从标准曲线上查出。

2.7 肝组织 Hyp 含量测定 根据试剂盒说明书进行肝组织 Hyp 含量测定。酶标仪测定 550 nm 波长处的 *A*, 按公式计算 Hyp 含量。

2.8 免疫组化测定肝脏 α-SMA 的表达 取实验大鼠肝脏进行 α-SMA 免疫组化检查。肝脏石蜡切片常规脱蜡水化, 枸橼酸缓冲液进行抗原修复。3% 过氧化氢避光孵育 10 min 以灭活内源性过氧化氢酶, 山羊血清封闭 15 min。α-SMA 抗体 1:500 稀释, 4 °C 孵育过夜。二抗和辣根酶标记链霉卵白素各孵育 30 min 后, DAB 显色。PBS 代替一抗作为阴性对照。采集视野 (×100 倍) 图像, 采用 Image-Pro Plus 软件分别对切片免疫组化染色的阳性表达进行半定量分析, 测定组织中蛋白染色平均积分吸光度 *IA*。

2.9 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计分析软件统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用单因素方差分析进行组间比较及方差分析, 有序定性资料采用非参数检验方法进行组间比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对肝纤维化大鼠肝脏指数的影响 13 周结束时, 大鼠有不同程度死亡。与正常组比较, 模型组大鼠的肝脏指数显著增加 ($P < 0.05$)。与模型组比较, GG 各组大鼠的肝脏指数显著降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

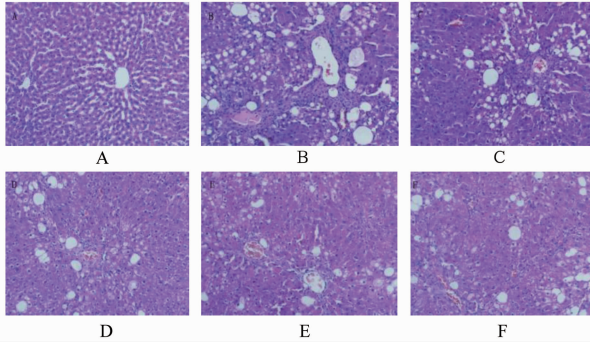
表 1 GG 对肝纤维化大鼠肝脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	<i>n</i>	肝脏指数/%
正常	-	8	3.25 ± 0.39
模型	-	15	4.84 ± 0.52 ¹⁾
GG	3.5	13	4.22 ± 0.26 ²⁾
	7.0	8	4.01 ± 0.53 ²⁾
	14.0	11	3.73 ± 0.46 ²⁾
Col	1.0 × 10 ⁻⁴	10	3.49 ± 0.35 ²⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 ~ 4, 图 4 同)。

3.2 对肝纤维化大鼠肝组织病理的影响 HE 染色和 Masson 染色观察大鼠肝组织病理学变化。正常组大鼠肝小叶结构完整, 中央静脉及静脉窦状隙

无扩张,肝细胞索呈放射性规则排列,无炎症、坏死及纤维化;相反,模型组大鼠肝小叶结构破坏,由汇管区伸出较粗大的胶原纤维条索分割、包绕肝小叶形成假小叶,肝细胞可见明显脂肪变性、坏死、胶原沉积伴炎性细胞浸润;与模型组比较,GG 组肝组织形态和结构明显改善,只有少量不完整的假小叶形成,可见少量胶原沉积和炎性细胞浸润,见图 1,2。



A. 正常组;B. 模型组;C. GG 3.5 g·kg⁻¹组;D. GG 7.0 g·kg⁻¹组;E. GG 14.0 g·kg⁻¹组;F. Col 组(图 2~4 同)

图 1 GG 对大鼠肝组织形态和结构的影响 (HE, ×200)

Fig.1 Effects of GG on liver morphology and structure in rats (HE, ×200)

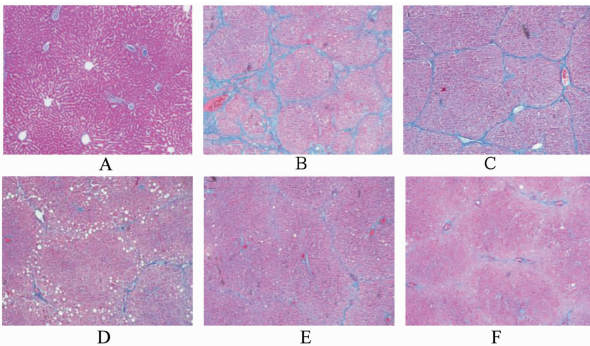


图 2 GG 对大鼠肝脏胶原沉积的影响 (Masson, ×100)

Fig.2 Effects of GG on collagen deposition in rats liver (Masson, ×100)

3.3 对肝纤维化大鼠血清 ALT 和 AST 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清 ALT 和 AST 水平明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,GG 各组大鼠血清 ALT 水平明显降低($P < 0.05$),GG 中、高剂量组血清 AST 水平明显升高($P < 0.05$),但 GG 低剂量组血清 AST 水平与模型组比较差异无显著性。见表 2。

3.4 对肝纤维化大鼠血清 HA 和 LN 水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清 HA 和 LN 水平显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,GG (7.0, 14 g·kg⁻¹)组血清 HA 水平显著降低($P < 0.05$),但 GG 低剂量组血清 HA 水平与模型组比较差异无显

表 2 GG 对肝纤维化大鼠血清 ALT 和 AST 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of GG on serum levels of ALT and AST in liver fibrosis rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
正常	-	8	46.54 ± 11.92	46.20 ± 8.24
模型	-	15	163.55 ± 30.02 ¹⁾	154.19 ± 29.48 ¹⁾
GG	3.5	13	109.98 ± 11.52 ²⁾	100.09 ± 12.66
	7.0	8	92.69 ± 9.15 ²⁾	83.35 ± 9.71 ²⁾
	14.0	11	69.60 ± 7.85 ²⁾	68.61 ± 11.32 ²⁾
Col	1.0 × 10 ⁻⁴	10	63.11 ± 11.73 ²⁾	51.50 ± 9.65 ²⁾

著性。与模型组比较,GG 高剂量组血清 LN 水平显著降低($P < 0.05$),但 GG 低、中剂量组血清 LN 水平与模型组比较差异无显著性。见表 3。

表 3 GG 对肝纤维化大鼠血清 HA 和 LN 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of GG on serum levels of HA and LN in liver fibrosis rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	HA/μg·L ⁻¹	LN/μg·L ⁻¹
正常	-	8	58.93 ± 9.56	33.62 ± 5.86
模型	-	15	125.84 ± 22.79 ¹⁾	77.15 ± 15.82 ¹⁾
GG	3.5	13	108.69 ± 10.96	63.23 ± 11.39
	7.0	8	88.28 ± 8.30 ²⁾	53.78 ± 9.66
	14.0	11	71.60 ± 7.53 ²⁾	44.99 ± 7.63 ²⁾
Col	1.0 × 10 ⁻⁴	10	66.75 ± 8.47 ²⁾	34.18 ± 6.51 ²⁾

3.5 对肝纤维化大鼠肝组织 Hyp 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝组织 Hyp 含量显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,GG 各组大鼠肝组织 Hyp 含量明显降低($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 GG 对肝纤维化大鼠肝组织 Hyp 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of GG on Hyp content of liver tissue in liver fibrosis rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	Hyp/mg·g ⁻¹
正常	-	8	0.19 ± 0.04
模型	-	15	0.72 ± 0.09 ¹⁾
GG	3.5	13	0.52 ± 0.07 ²⁾
	7.0	8	0.31 ± 0.05 ²⁾
	14.0	11	0.27 ± 0.03 ²⁾
Col	1.0 × 10 ⁻⁴	10	0.20 ± 0.04 ²⁾

3.6 对肝组织中 α-SMA 蛋白表达的影响 正常组大鼠肝组织 α-SMA 的表达呈弱阳性,模型组大鼠肝组织 α-SMA 的表达呈强阳性;GG 低、中、高剂量给药对大鼠肝脏 α-SMA 的表达有不同程度的降低作用,作用效果明显,与模型组大鼠比较差异有显著性

($P < 0.05$)。见图 3, 4。

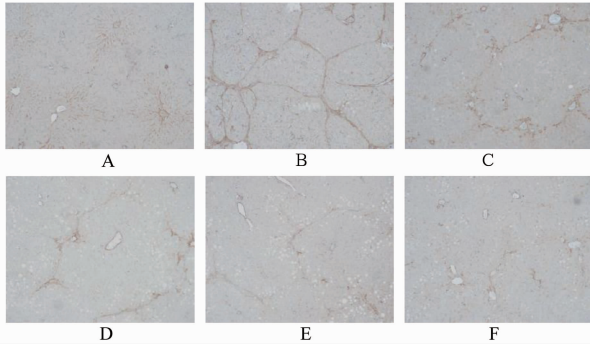


图 3 GG 对肝组织中 α -SMA 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 100$)
Fig. 3 Effect of GG on expression of α -SMA in liver tissue (IHC, $\times 100$)

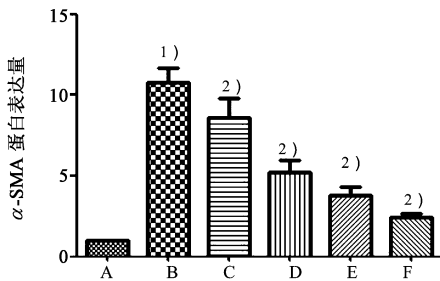


图 4 GG 对肝组织中 α -SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Fig. 4 Effect of GG on expression of α -SMA in liver tissue ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

4 讨论

肝纤维化多发生于慢性肝脏疾病,其最大的特点是由于肝星状细胞的激活、增殖及转化导致细胞外基质的过度沉积^[8]。肝纤维化可进一步发展为肝硬化、肝衰竭和门脉高压,需要进行肝移植。据估计,肝癌不仅是第 5 个常见的癌症还是第 3 个最常见的癌症死亡原因^[9]。然而,预防肝纤维化或控制其进展是目前的一个难题。近年来,人们把目光聚集在中药抗纤维化的作用研究上。

有实验结果表明,某些中药及其化合物具有抗肝纤维化作用。中药复方可充分发挥多种活性成分的作用,从而提高疗效。因此,中医临床实践的特点是中药复方的应用而不是单一中药的应用。GG 是由 5 种中药饮片组成的复方,君药是当归,臣药是白芍。有文献报道,当归的主要成分阿魏酸以及白芍的主要成分芍药苷均有改善肝损伤的作用^[10-11]。

CCl_4 诱导的肝纤维化广泛用于动物纤维化模型的制备。单剂量给予 CCl_4 可导致脂肪变性、坏死的肝细胞损伤,长期给药可导致肝纤维化、肝硬化和肝癌^[12]。 CCl_4 在肝细胞内质网中经细胞色素

$\text{P450}_2\text{E}_1$ 代谢产生自由基 (CCl_3^+),导致脂质过氧化和膜损伤。本研究采用皮下注射 CCl_4 诱导大鼠肝纤维化。给药 8 周后,HE 染色和 Masson 染色发现大鼠肝脏发生损伤和纤维化,说明肝纤维化模型制备成功。

血清 ALT 和 AST 水平可反映肝脏损伤程度,是评价肝功能的指标。当肝细胞损伤时,胞质内 ALT, AST 释放入血导致血清转氨酶水平升高^[13]。本研究发现,GG 中、高剂量组大鼠血清 ALT 和 AST 水平显著下降,表明 GG 可明显改善肝功能。这与病理结果是相一致的,HE 和 Masson 染色发现,GG 中、高剂量组的肝组织形态和结构明显改善,只有少量不完整的假小叶形成,可见少量胶原沉积和炎性细胞浸润,肝纤维化程度显著降低。

肝纤维化时 ECM 大量生成并沉积于肝脏,影响肝脏的结构和功能。ECM 的主要成分有蛋白多糖、粘连蛋白、胶原蛋白、纤连蛋白和基质细胞蛋白^[14]。HA 是一种聚合多糖,由激活的肝星状细胞合成。血清 HA 水平是肝纤维化的直接生物指标,可反映肝纤维化的形成和纤维化程度。LN 是基底膜主要多糖之一,由肝细胞和血管内皮细胞合成。血清 LN 水平可反映肝纤维化的进展与严重程度。本研究发现,GG ($7.0, 14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组血清 HA 水平显著降低,GG ($14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组血清 LN 水平显著降低,表明 GG 对 CCl_4 诱导的肝纤维化有很好的改善作用。

Hyp 是组成机体胶原蛋白的一种特有氨基酸,几乎所有 Hyp 都存在于胶原中。因此 Hyp 含量的测定已经成为研究组织胶原代谢的重要方法。胶原是器官纤维化时 ECM 的主要成分,所以测定肝组织中 Hyp 含量能反应肝纤维化的程度^[15]。本研究发现,GG 治疗后,肝纤维化大鼠肝组织中 Hyp 含量显著降低。表明 GG 可明显减轻肝纤维化程度。

α -SMA 的表达已被认为是 HSC 激活的显著特征之一,成为肝纤维化的一个重要的评价指标。本研究中,笔者用免疫组化法检测大鼠肝组织中 α -SMA 的表达。结果发现,模型组 α -SMA 的表达明显增多,而 GG 各组 α -SMA 的表达明显减少。因此,笔者得出 GG 的抗纤维化作用与抑制 HSCs 的激活有关。表达明显增多,而 GG 各组 α -SMA 的表达明显减少。因此,笔者得出 GG 的抗纤维化作用与抑制 HSCs 的激活有关。

总之,笔者的研究结果证明 GG 可改善 CCl_4 诱导的大鼠肝纤维化。其抗纤维化作用与抑制 HSCs 的激活有关,表明 GG 是一个有前景的抗肝纤维化

的候选药物。有待进一步研究 GG 抗纤维化的作用机制。

[参考文献]

[1] Bracht T, Schweinsberg V, Trippler M, et al. Analysis of disease-associated protein expression using quantitative proteomics-Fibulin-5 is expressed in association with hepatic fibrosis [J]. *J Proteome Res*, 2015, 14 (5) : 2278-2286.

[2] Chen M S, Zhang J H, Wang J L, et al. Anti-fibrotic effects of neferine on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in mice [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43 (2) : 231-240.

[3] Zhao Y P, Guo D M, Liu H, et al. Apparent diffusion coefficient measurements and Gd-DTPA enhanced-imaging in staging hepatic fibrosis in rats [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8 (2) : 2197-2204.

[4] Su T H, Kao J H, Liu C J. Molecular mechanism and treatment of viral hepatitis-related liver fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15 (6) : 10578-10604.

[5] Xie H, Hou W, Yang Y, et al. Effects of Shenqi Neijin powder on activation and apoptosis of hepatic stellate cells in rats with hepatic fibrosis [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8 (2) : 2226-2232.

[6] 陈象青, 王钦茂, 方华武, 等. 白芍总苷和当归提取物对小鼠免疫性肝损伤的保护作用 [J]. *承德医学院学报*, 2004, 21 (1) : 8-10.

[7] 陈象青, 王钦茂, 方华武, 等. 白芍总苷与当归提取物合用对实验性肝炎的保护作用 [J]. *安徽中医学院*

学报, 2002, 21 (3) : 44-47.

[8] Giannitrapani L, Soresi M, Bondi M L, et al. Nanotechnology applications for the therapy of liver fibrosis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20 (23) : 7242-7251.

[9] Hung W L, Tsai M L, Sun P P, et al. Protective effects of garcinol on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats [J]. *Food Funct*, 2014, 5 (11) : 2883-2891.

[10] Xu T, Pan Z, Dong M, et al. Ferulic acid suppresses activation of hepatic stellate cells through ERK1/2 and Smad signaling pathways *in vitro* [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 93 (1) : 49-58.

[11] Zhao Y, Ma X, Wang J, et al. Paeoniflorin alleviates liver fibrosis by inhibiting HIF-1 α through mTOR-dependent pathway [J]. *Fitoterapia*, 2014, 99 : 318-327.

[12] Wang R, Yu X Y, Guo Z Y, et al. Inhibitory effects of salvianolic acid B on CCl₄-induced hepatic fibrosis through regulating NF- κ B/I κ B signaling [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 144 (3) : 592-598.

[13] Zhang J, Xu L, Zhang L, et al. Curcumin attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury and mitochondrial dysfunction in mice [J]. *J Nutr*, 2014, 144 (8) : 1211-1218.

[14] Hernandez-Gea V, Friedman S L. Pathogenesis of Liver Fibrosis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6 (6) : 425-456.

[15] 杨成林, 周语平. 理肺化纤方对肺纤维化大鼠的防治作用和对肺功能及血清、组织羟脯氨酸含量的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17 (9) : 194-198.

[责任编辑 周冰冰]