

肝乐颗粒对肝纤维化大鼠 TGF- β_1 /Smad 信号通路的调控作用

张家富^{1*}, 姜辉¹, 高家荣¹, 赵林², 刘晓闯¹

(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 合肥 230031;

2. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230038)

[摘要] 目的:明确肝乐颗粒对转化生长因子(TGF)- β_1 /Smad 信号通路的干预作用,探讨其防治肝纤维化的分子学机制。方法:SD 大鼠随机分为正常组,模型组,肝乐颗粒(1.5,3.0,6.0 g·kg⁻¹)和秋水仙碱(1.0 × 10⁻⁴g·kg⁻¹)。采用 50% 四氯化碳每周 2 次,连续 12 周皮下注射的方法,诱导肝纤维化大鼠模型。造模第 7 周起,给药组分别灌胃给予相应剂量的肝乐颗粒和秋水仙碱,每天 1 次,连续 6 周。末次给药 8 h 后,处置大鼠,取固定部位肝脏组织,苏木素-伊红(HE)和马松(Masson)染色观察肝脏病理组织学损伤程度,免疫组化和蛋白质免疫印迹(Western blot)检测肝组织中 I 型胶原(Collagen I),Smad2, TGF- β_1 或 TGF- β I 型受体(T β R I)蛋白的表达,实时定量荧光 PCR(Real-time PCR)检测肝组织中 Collagen I, Smad2, TGF- β_1 mRNA 的表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠肝纤维化损伤程度,肝组织中 Collagen I, TGF- β_1 , Smad2, T β R I 蛋白及 mRNA 的表达明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,肝乐颗粒中、高剂量组不仅可减轻肝组织病理损伤程度,减少胶原沉积,还可显著降低 Collagen I, TGF- β_1 , Smad2, T β R I 蛋白及 mRNA 的表达($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:肝乐颗粒对肝纤维化大鼠具有一定的保护作用,其机制可能与调控 TGF- β_1 /Smad 信号通路,从而抑制 HSC 活化,减少细胞外基质过度沉积有关。

[关键词] 肝乐颗粒; 肝纤维化; 活性生长因子- β_1 /Smad 信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0169-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060169

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1129.024.html>

[网络出版时间] 2016-12-28 11:29

Regulation of Ganle Granules on TGF- β_1 /Smad Signaling Pathways in Rats with Hepatic Fibrosis

ZHANG Jia-fu^{1*}, JIANG Hui¹, GAO Jia-rong¹, ZHAO Lin², LIU Xiao-chuang¹

(1. The First Hospital Affiliated to Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

2. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To study the regulation effect of Ganle granules (GLG) on transforming growth factor (TGF- β_1) /Smad signaling pathways in rats with hepatic fibrosis, and to explore its possible mechanisms for prevention and treatment of hepatic fibrosis. **Method:** The SD rats were randomly divided into normal group, model group, GLG (1.5, 3.0, 6.0 g·kg⁻¹) groups and colchicine (Col, 0.1 mg·kg⁻¹) group. The hepatic fibrosis rat models were induced by subcutaneous injection of CCl₄ (50%) twice each week for 12 weeks continuously. Then different doses of GLG (1.5, 3.0, 6.0 g·kg⁻¹) and colchicines (0.1 g·kg⁻¹) were administrated via gavage once a day for 6 weeks from week 7 after modeling. 8 h after the last administration, rats were sacrificed, and their liver samples were taken to observe the pathological and histological degree of liver fibrosis by HE and Masson. Moreover, the protein expression levels of Collagen I, TGF- β_1 and Smad2 or T β R I in the liver tissues were determined by immunohistochemistry and Western blot. The mRNA expression levels of Collagen I, Smad2, and

[收稿日期] 20160801(006)

[基金项目] 安徽省卫生计生委中医药科研项目(2014zy09)

[通讯作者] * 张家富,副主任中药师,从事中药制剂开方面的研究, Tel:0551-62838559, E-mail: 24540416@qq.com

T β R I in liver tissues were detected by the real-time fluorescent quantitative PCR. **Result:** As compared with the normal group, the pathological and histological degree of liver fibrosis, as well as protein and mRNA expression levels of Collagen I, TGF- β_1 , Smad2, and T β R I in model group were obviously increased in model group ($P < 0.01$). As compared with model group, GLG middle and high doses not only obviously improved histopathological changes, but also effectively reduced the protein and/or mRNA expression levels of Collagen I, TGF- β_1 , Smad2, and T β R I ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** GLG has protective effect on liver fibrosis rats and its mechanism may be related to regulating the TGF- β_1 /Smad signaling pathways, inhibiting HSC activation, and reducing excessive extracellular matrix deposition.

[**Key words**] Ganle granules; liver fibrosis; TGF- β_1 /Smad signaling pathway

肝纤维化是肝脏中胶原蛋白等细胞外基质(extracellular matrix)增生与降解失衡,ECM;进而导致肝脏内纤维结缔组织异常沉积的可逆性病理过程,是一切慢性肝病的共同病理学基础,是肝硬化形成的必经阶段,已成为严重危害人类健康的世界性问题^[1-3]。诸多研究表明,肝星状细胞(hepatic stellate cell,HSC)激活是肝纤维化的核心事件,转化生长因子(transforming growth factor,TGF)- β_1 /Smad信号通路在肝星状细胞的激活转化过程中起到关键作用;在TGF- β_1 作用下,HSC转化为成纤维细胞,增加合成和分泌胶原等ECM;同时HSC又以自分泌和旁分泌方式,上调TGF- β 的表达,加速肝纤维化的进展;此外,TGF- β_1 还能抑制ECM的降解^[4-7]。课题组前期研究表明,肝乐颗粒对化学性肝纤维化大鼠具有很好的保护作用,但具体机制尚不明确^[8]。本课题在前期研究的基础上,以TGF- β_1 /Smad信号通路为切入点,探讨肝乐颗粒对肝纤维化大鼠发挥保护作用的分子学机制,以期为其临床应用提供药理学实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,雄性,体重180~220g,由安徽医科大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(皖)2011-0002,室温18~22℃,相对湿度(40~60)%,动物自由进食、饮水。本实验方案经安徽中医药大学第一附属医院动物伦理委员会批准(编号2013AH-059)。

1.2 药物及试剂 肝乐颗粒,由柴胡、黄芪、薏苡仁、白芍、白术、猪苓、茯苓、泽兰、板蓝根组成,安徽中医药大学第一附属医院院内制剂,批号20121109;秋水仙碱(西双版纳药业有限责任公司,批号120707),四氯化碳(CCl₄,汕头市西陇化工厂,批号12020);兔抗鼠TGF- β , I型胶原(Collagen I),Smad2,TGF- β I型受体(T β RI)单克隆抗体(美国Bioworld公司,批号分别为AE99292Ra,ab34710,

Q15796,G2506);逆转录试剂盒(美国Thermo公司,批号00125205)。

1.3 仪器 JW-3021HR型高速台式冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司),AE2000型显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司),PIKOREAL 96型实时荧光定量PCR(Real-time PCR)仪(美国Thermo公司);EPS300型电泳仪,VE-180型电泳槽及VE-186型转膜仪(Tanon公司)。

2 方法

2.1 模型制备与给药^[9] SD大鼠随机分为正常组、模型组、肝乐颗粒(1.5,3.0,6.0 g·kg⁻¹)组和阳性药秋水仙碱(1.0×10⁻⁴ g·kg⁻¹)组,每组10只。除正常组外,其余各组分别每周2次给予大鼠背部皮下注射50% CCl₄(1.0 mL·kg⁻¹),持续12周,正常组给予相应花生油。造模后第7周,各给药组分别给予相应药物进行灌胃(ig),每天1次,连续6周。末次给药后,禁食8h后处死动物,取相应部位标本进行检测。

2.2 肝组织病理学检查 取固定部位肝组织置于10%的甲醛溶液中,常规苏木素-伊红(HE)和马松(Masson)染色,光镜下观察肝组织损伤程度。Masson染色后,采用半定量标准判断胶原纤维增生程度。分级标准^[10]:无明显胶原纤维增生即表示为“-”;胶原纤维明显增多,从汇管区或中央静脉呈星状向外延伸,无纤维隔形成表示为“+”;胶原纤维明显增多并形成相互不连接的纤维隔表示为“++”;胶原纤维相互连接成完全的纤维隔,分割肝实质表示为“+++”。

2.3 免疫组化测定肝脏组织中TGF- β_1 , Collagen I及Smad2蛋白的表达 采用S-P法进行免疫组织化学染色,按说明书进行具体操作。光镜下观察、拍照,采用JD-801软件测定其平均积分吸光度IA,进行半定量分析。

2.4 Real-time PCR测定肝组织TGF- β_1 , Collagen

I, Smad2 mRNA 的含量 称取大鼠肝脏组织 100 mg, 采用 Trizol 法及时抽提 RNA, 42 °C 水浴 1 h, 合成第一链 cDNA。取上述反转录产物 1 μL 作为荧光定量模板, 反应体系为 20 μL。TGF-β₁ 上游引物为 5'-CTAATGCTGGACCGCAACAAC-3', 下游引物 5'-CACTGCTTCCCGAATGTCTGA-3', 产物长度 99 bp; Collagen I 上游引物为 5'-TACAGCAGCTTG TGGATG-3', 下游引物 5'-TTGAGTTTGGGTGTGTT GGTC-3', 产物长度 259 bp; Smad2 上游引物为 5'-AGCAGGAATTGAGCCACAGAGT-3', 下游引物 5'-GACAGGGGAGAGAGTGGTAGGAG-3', 产物长度 151 bp。扩增条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火延伸 30 s, 40 个循环。反应结束后, 由电脑软件自动分析读取 C_t 值, 采用相对定量法分析, 待测基因 mRNA 相对表达量 = 2^{-ΔΔC_t}。

2.5 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 检测肝组织中 Collagen I, TβRI 及 Smad2 蛋白表达 称取肝组织 100 mg, 加入 RIPA 细胞裂解液, 提取总蛋白。SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 一抗、二抗孵育, 洗膜后进行 ECL 发光化学发光, X 光片曝光、定影, 通过凝胶成像系统扫描分析定影后条带吸光度值。并采用

GraphPad Prism5.0 软件分析计算每个蛋白条带灰度值与内参照 β-肌动蛋白 (β-actin) 的灰度值的比值, 以蛋白相对表达量进行校对表示。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件处理, 数据以表示, 组间比较采用 *t* 检验; 等级资料采用 Ridit 分析, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对肝纤维化大鼠病理组织学变化的影响 光镜下正常组大鼠肝组织结构完整, 膜清晰, 核仁明显, 胞质丰富, 无胶原纤维增生沉积; 模型组大鼠出现大量的脂肪变性, 部分细胞核消失, 并形成空泡, 以汇管区为中心, 纤维增生性改变较明显; 与模型组比较, 不同剂量肝乐颗粒干预后, 肝脏损伤程度呈现好转趋势。见图 1。

Masson 染色主要用于观察胶原纤维增生情况, 以蓝色为阳性表达。光镜下有少量细小的蓝色胶原纤维出现在正常大鼠肝脏汇管区周围, 未见纤维增生; 大量蓝色胶原纤维增生出现在模型组大鼠肝脏中, 且形成粗大的纤维间隔, 将肝小叶分隔成大小不等的假小叶; 给予肝乐颗粒和秋水仙碱 *ig* 干预后, 各给药组胶原纤维增生情况明显减少。见表 1, 图 2。

表 1 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织胶原纤维增生影响的半定量分析

组别	剂量/g·kg ⁻¹	胶原纤维增生程度				
		-	±	+	++	+++
正常	-	9	1	0	0	0
模型	-	0	0	1	6	3
肝乐颗粒	1.5	0	0	3	5	2
	3.0	0	1	5	3	1
	6.0	0	2	5	3	0
秋水仙碱	1.0 × 10 ⁻⁴	0	3	4	2	1

3.2 对肝组织中 CollagenI, TGF-β₁ 及 Smad 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组中 CollagenI, TGF-β₁ 及 Smad2 蛋白表达水平显著升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 中、高剂量肝乐颗粒和秋水仙碱组大鼠肝组织中 CollagenI, TGF-β₁ 及 Smad2 蛋白表达水平显著下降 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见图 3~6。

3.3 对肝纤维化大鼠肝组织中 Collagen I, TGF-β₁ 及 Smad2 的 mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组肝组织中 TGF-β₁, Collagen 及 Smad2 mRNA 表达显著升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 中、高剂量肝乐颗粒可显著降低肝组织中 TGF-β₁, Collagen 及 Smad2 mRNA 表达显著减少 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

见图 7。

3.4 对纤维化大鼠的 Collagen I, TβR I 及 Smad2 蛋白的表达影响 与正常组比较, 模型组大鼠肝脏 Collagen I, TβR I 及 Smad2 蛋白表达明显升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 肝乐颗粒中、高剂量 Collagen I, TβR I 及 Smad2 蛋白表达显著下降 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见图 8。

4 讨论

肝乐颗粒又名肝乐冲剂, 是我院用于治疗急慢性肝炎, 肝纤维化, 肝硬化活动期的特色制剂, 具有疏肝理脾, 活血解毒, 兼以扶正、利胆、退黄之功效,

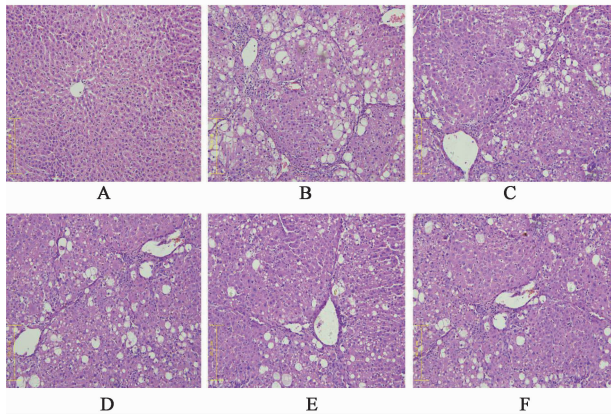


图 1 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织病理组织学改变的影响(HE, ×200)
A. 正常组; B. 模型组; C. 肝乐颗粒 1.5 g·kg⁻¹组; D. 肝乐颗粒 3.0 g·kg⁻¹组; E. 肝乐颗粒 6.0 g·kg⁻¹组; F. 秋水仙碱组(图 2~8 同)

Fig. 1 Effect of Ganle granules on histopathologic degree of liver fibrosis in rats with hepatic fibrosis(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Ganle granules on histopathologic degree of liver fibrosis in rats with hepatic fibrosis(HE, ×200)

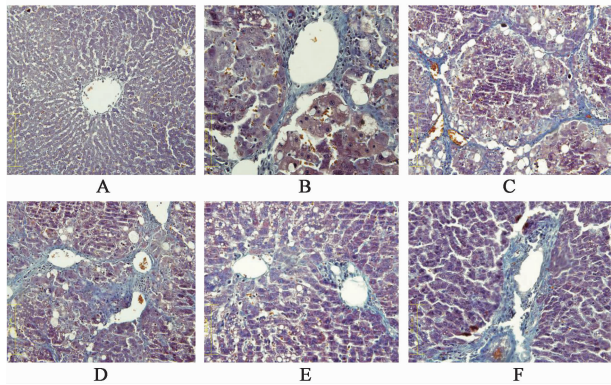


图 2 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织胶原纤维增生的影响(Masson, ×200)

Fig. 2 Effect of Ganle granules on collagen hyperplasia in rats with hepatic fibrosis(Masson, ×200)

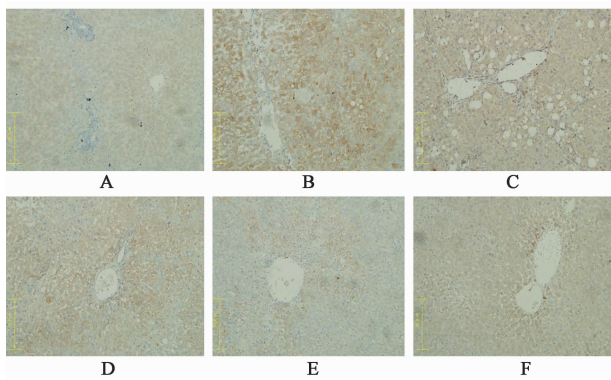


图 3 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织 Collagen I 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 3 Effect of Ganle granules on proteins expression of Collagen I in rats with hepatic fibrosis(IHC, ×200)

疗效确切,具有广阔的应用价值与开发前景^[11]。肝纤维化是一种常见病,多发病,目前尚缺乏理想的治

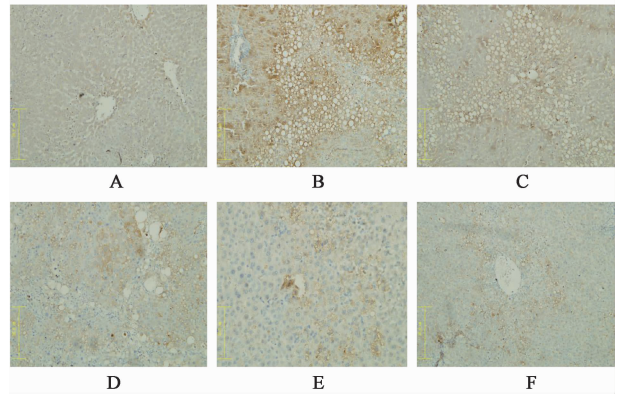


图 4 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织 TGF-β₁ 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 4 Effect of Ganle granules on proteins expression of TGF-β₁ in rats with hepatic fibrosis(IHC, ×200)

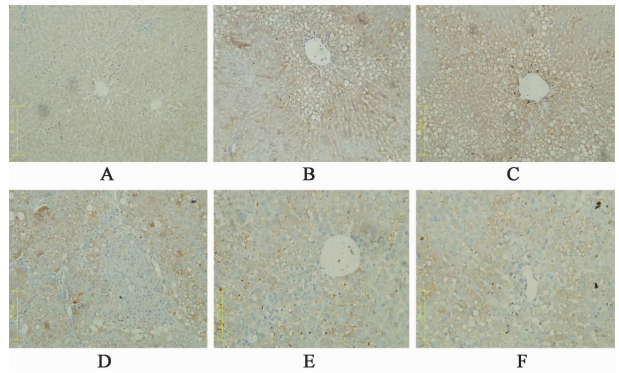
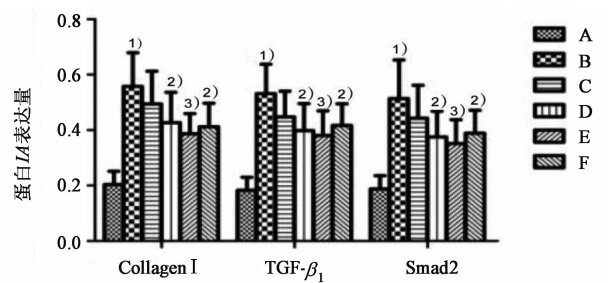


图 5 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织 Smad2 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 5 Effect of Ganle granules on proteins expression of Smad2 in rats with hepatic fibrosis(IHC, ×200)



与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (图 7, 8 同)

图 6 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织中 Collagen I, TGF-β₁ 及 Smad2 蛋白表达影响的半定量分析($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 Semi quantitative analysis about effect of Ganle granules on proteins expression of Collagen I, TGF-β₁, Smad2 in rats with hepatic fibrosis($\bar{x} \pm s, n = 6$)

疗药物。本实验发现,给予不同剂量肝乐颗粒干预 6 周后,各组胶原纤维增生情况明显减少,肝纤维化大鼠肝脏损伤程度呈现好转趋势,提示肝乐颗粒对肝纤维化具有一定的保护作用。

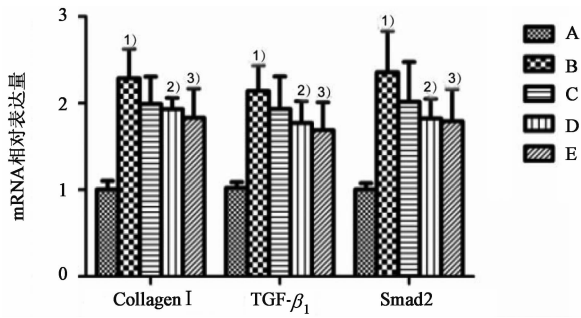


图 7 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠肝组织中 Collagen I, TGF-β₁ 及 Smad2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 7 Effect of Ganle granules on mRNA expression of Collagen I, TGF-β₁, Smad2 in rats with hepatic fibrosis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

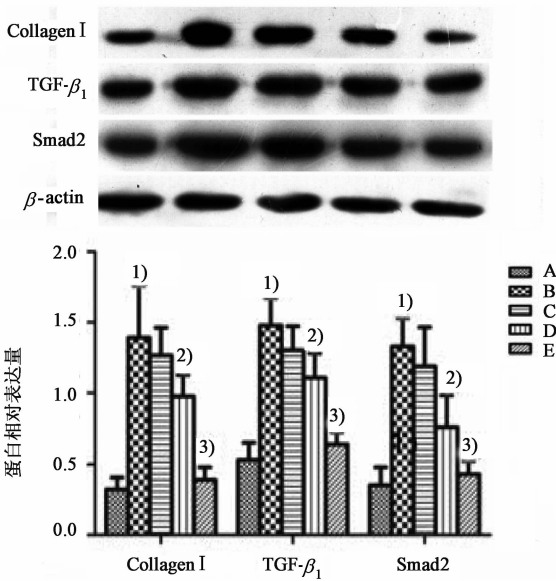


图 8 肝乐颗粒对纤维化大鼠的 Collagen I, TβR I 及 Smad2 蛋白表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 8 Effect of Ganle granules on proteins expression of Collagen I, TβR I, Smad2 in rats with hepatic fibrosis ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

肝星状细胞的活化是肝纤维化的核心事件和肝纤维化形成的细胞学基础。肝星状细胞激活后会产生 ECM,其主要成分是 Collagen I。TGF-β₁/Smad 信号通路在 HSC 激活过程中发挥关键作用。TGF-β₁ 具有调节免疫、诱导细胞分化、促进 ECM 形成等多种作用,是促进 HSC 激活和 ECM 合成的主要细胞因子之一^[12-15]。其中 Smads 蛋白的表达作为 TGF-β 唯一的受体后蛋白,在肝纤维化过程中发挥着重要的作用,影响肝纤维化的发生与发展^[16-17]。TGF-β₁/Smad 信号通路在病理因子刺激下,激活 TβR I, TβR I 磷酸化后激活 Smad2,活化 TGF-β₁/Smad 信号通路中靶基因的转录,引起肝纤维化的发生。Latella 等^[18]研究发现 Smad2 缺失能够对肝纤维化起到一定的抑制作用。而肝乐颗粒能有效减少

Smad2 的激活是下调 Collagen I 表达的关键步骤。在 TGF-β₁/Smad 信号通路中,TGF-β₁ 是导致肝纤维化的重要细胞因子。TGF-β₁ 在促进 HSC 活化增殖、ECM 过度合成中起重要作用^[19-22],TGF-β₁ 通过抑制肝细胞 DNA 的合成来抑制肝细胞再生和诱导肝细胞凋亡,抑制 TGF-β₁ 能够促进肝实质细胞的再生,同时对肝纤维化进程产生抑制作用。因此,在 TGF-β₁/Smad 信号通路传导过程中抑制 TGF-β₁ 的产生和阻断 TGF-β 受体能有效的治疗肝纤维化。本研究发现,给予肝乐颗粒干预后,不仅可显著减少 TGFβ, TβR I, Smad2 蛋白的表达,还可抑制胶原纤维(尤其是 Collagen I)在肝脏的沉积。

综上所述,肝乐颗粒具有一定的抗肝纤维化作用,其机制可能与调控 TGF-β₁/Smad 信号通路,从而抑制 HSC 的增殖、减少 ECM 的过度沉积有关。

[参考文献]

[1] 张泽高,肖琳,詹欣宇,等. 维药小茴香抗肝纤维化作用及对 TGF-β/smad 信号转导通路的影响[J]. 中国肝脏病杂志,2014,6(1):32-37.

[2] 黄苗,刘欣,董蕾,等. 太白楸木对 CCl₄ 诱导肝纤维化大鼠的干预作用[J]. 中国中药杂志,2015,40(21):4251-4255.

[3] Frank Tacke, Christian Trautwein. Mechanisms of liver fibrosis resolution [J]. J Hepatol, 2015, 63 (4) : 1038-1039.

[4] 吕佩瑜. 桃叶珊瑚苷对 TGF-β₁ 诱导人肝星状细胞活化及细胞外基质沉积的影响[D]. 长沙:中南大学,2014.

[5] 姜辉,尚莉丽,徐松龄,等. 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):167-170.

[6] Cédric Coulouarn. Modulating the activation of hepatic stellate cells; A cunning way for metastatic cells to create a permissive soil for seeding in the liver? [J]. Hepatology,2015,61(1):37-40.

[7] 尚立芝,王付,王琦,等. 柴胡疏肝散对肝纤维化大鼠 TGF-β₁/Smad 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(12):125-128.

[8] 姜辉,夏伦祝,汪永忠,等. 肝乐颗粒对肝纤维化大鼠细胞因子的影响[J]. 中国中医药科技,2011,18(1):13-14.

[9] Duval F, Moreno-Cuevas J E, Gonzalez-Garza M T, et al. Liver fibrosis and mechanisms of the protective action of medicinal plants targeting inflammation and the immune response [J]. Int J Infla, 2015, doi:10.1155/2015/943497.

[10] 姜辉,高家荣,张家富,等. 三七总皂苷对肝纤维化大

- 鼠的保护作用及机制[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(3):71-74.
- [11] 曹承楼, 杨素霞, 张国梁, 等. 肝乐冲剂治疗慢性病毒性肝炎肝郁脾虚证疗效观察[J]. 河南中医, 2007, 27(10):28-29.
- [12] 蔡晓波, 范建高, 田丽艳, 等. 糖基化终末产物对活化肝星状细胞合成前胶原及致纤维化细胞因子的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2010, 26(4):403-406.
- [13] Sugawara K, Kizaki K, Herath C B, et al. Transforming growth factor beta family expression at the bovine fetomaternal interface[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2010, 8(1):357-365.
- [14] 张建伟, 李培潮, 苏东毅, 等. 基于转化生长因子- β /Smads 信号传导通路研究鳖甲煎丸防治肝纤维化的作用机制[J]. 甘肃中医学院学报, 2015, 32(1):6-9.
- [15] LI G M, LI D G, XIE Q, et al. Effects of silencing connective tissue growth factor on rat transforming growth factor beta/Smads signal[J]. *Chin J Hepatol*, 2008, 16(11):840-843.
- [16] 杨婷, 谢汝佳, 罗新华, 等. 丹芍化纤胶囊对肝纤维化大鼠肝脏 Smads 分子表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(9):1807-1812.
- [17] ZHANG B B, CAI W M, TAO J, et al. Expression of Smad proteins in the process of liver fibrosis in mice infected with *Schistosoma japonicum* [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2013, 31(2):89-94.
- [18] Latella G, Vetuschi 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.
- [19] 林红, 蔡钢, 杨百京, 等. 黄芪后处理对大鼠肝纤维化中的影响及 TGF- β_1 /Smad2、p38MAPK 作用[J]. 世界科学技术, 2014, 16(2):410-415.
- [20] 朱碧红, 张慧芳, 陈永平, 等. 大鼠肝纤维化组织中 TGF- β_1 的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(2):150-152.
- [21] Kayalar O, Oztay F. Retinoic acid induced repair in the lung of adult hyperoxic mice, reducing transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) mediated abnormal alterations [J]. *Acta Histochemica*, 2014, 116(5):810-819.
- [22] 王伟芹, 孙建光, 高占华, 等. 中医药对肝纤维化 TGF- β_1 /Smads 信号转导通路的调控作用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2014, 12(8):161-163.

[责任编辑 周冰冰]