

· 药理 ·

氧化苦参碱通过免疫调节保护刀豆蛋白 A 诱导的小鼠免疫性肝损伤

桑秀秀^{1,2}, 王睿林³, 韩延忠¹, 崔鹤蓉^{1,2}, 尹萍²,
贺兰芝², 刘慧敏^{1,2}, 刘士敬³, 肖小河^{2*}, 柏兆方^{2*}

(1. 承德医学院, 河北承德 067000; 2. 解放军第 302 医院 全军中医药研究所, 北京 100039;
3. 解放军第 302 医院 中西医结合肝病诊疗与研究中心, 北京 100039)

【摘要】 目的: 本文旨在研究氧化苦参碱(OMT)对刀豆蛋白 A(ConA)所致小鼠免疫性肝损伤的保护作用。方法: Balb/C 小鼠随机分为 5 组, 分别为正常组, 模型组, 氧化苦参碱低、高剂量(60, 120 mg·kg⁻¹)组和双环醇(156 mg·kg⁻¹)阳性药组。连续给药 5 d, 末次给药 30 min 后, 除正常组外, 其余各组均尾静脉注射 ConA(15 mg·kg⁻¹)建立肝损伤模型。造模 8 h 后, 检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶(AST), 总胆红素(TBIL)的表达。采用 Luminex 多因子检测的方法, 检测血清干扰素- γ (IFN- γ), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 白细胞介素-4(IL-4), IL-6, IL-10, IL-27 表达, 苏木精-伊红(HE)染色观察肝组织病理改变。流式细胞术检测小鼠脾淋巴细胞 CD4⁺IL-17A 的表达, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺调节性 T 细胞(Treg)亚群的比例。结果: 与正常组比较, ConA 模型组 ALT, AST, TBIL 表达明显增高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 双环醇和 OMT 低高剂量组均可明显降低 ALT 活性($P < 0.05$, $P < 0.01$)。OMT 高剂量可明显抑制 AST 表达($P < 0.05$), OMT 低高剂量均可抑制 TBIL 表达($P < 0.05$), 其余各组无统计学差异。各给药组均能不同程度缓解肝脏病理改变, 减少炎症细胞浸润。OMT 高剂量组血清 IL-10, IL-27 水平与模型组比较显著升高($P < 0.05$)。流式细胞术检测结果显示, OMT 高剂量组可明显降低 CD4⁺IL-17A 表达($P < 0.05$), 上调 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg 比例($P < 0.05$)。结论: OMT 对 ConA 诱导小鼠免疫性肝损伤具有较好的保护作用, 抑制 CD4⁺IL-17A 的表达, 上调 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg 比例可能是其主要的作用机制。

【关键词】 氧化苦参碱; 刀豆蛋白 A; 白细胞介素; 调节性 T 细胞

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2017)06-0125-06

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060125

【网络出版地址】 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1133.032.html>

【网络出版时间】 2016-12-28 11:33

Oxymatrine Protects Against Liver Injury Induced by ConA in Mice Through Suppressing Host Immune Response

SANG Xiu-xiu^{1,2}, WANG Rui-lin³, HAN Yan-zhong¹, CUI He-rong^{1,2}, YIN Ping², HE Lan-zhi²,
LIU Hui-min^{1,2}, LIU Shi-jing³, XIAO Xiao-he^{2*}, BAI Zhao-fang^{2*}

(1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China; 2. China Military Institute of Chinese Medicine,
302 Military Hospital, Beijing 100039, China;
3. Integrated Medicine Center, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the immunomodulatory effect of oxymatrine on concanavalin A

【收稿日期】 20160722(014)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81330090)

【第一作者】 桑秀秀, 硕士, 从事临床中医学研究, Tel: 18633040170, E-mail: sangxiaoxiu@163.com

【通讯作者】 * 肖小河, 研究员, 博士生导师, 从事临床中医学研究, Tel: 010-66933322, E-mail: pharmacy302xxh@126.com;

* 柏兆方, 博士, 助理研究员, 从事中药药理学研究, Tel: 010-66933322, E-mail: baizf2008@126.com

(ConA) -induced liver injury in mice. **Method:** In the present study, Balb/C mice were randomly divided into five groups: normal group, model group, low and high-dose oxymatrine groups ($60, 120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and bicyclol group ($156 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). The mice in the treated groups were administered with oxymatrine (intraperitoneally) or bicyclol (orally) for 5 consecutive days. 30 min after the last medication, all the mice except the normal group were injected with $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of ConA intravenously to establish liver injury models. 8 hours later, blood samples were taken to test the levels of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and total bilirubin (TBIL) in serum, and the liver tissues were taken for HE-staining to evaluate the histopathology changes. The expression levels of serum cytokines interferon- γ (IFN- γ), tumour necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and interleukin-27 (IL-27) were measured by luminex. Spleen lymphocytes were isolated and the expression levels of $\text{CD4}^+ \text{IL-17A}$ and the percentage of $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{FoxP3}^+ \text{Treg}$ were tested by flow cytometry. Results showed that, after con-A injection, the expression levels of ALT, AST and TBIL were increased ($P < 0.05, P < 0.01$) as compared with the normal group. As compared with the model group, bicyclol and oxymatrine ($60, 120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) could markedly decrease the activity of ALT ($P < 0.05, P < 0.01$); oxymatrine at $120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ could significantly decrease the levels of AST ($P < 0.05$), and oxymatrine at both $60, 120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ could decrease the levels of TBIL ($P < 0.05$). There were no statistical differences in other groups. All treatment groups could relieve the liver pathological changes to different degrees, and reduce the infiltration of inflammatory cells. After treatment with high dose OMT, the levels of IL-10 and IL-27 were significantly increased ($P < 0.05$). Flow cytometry results revealed that high dose OMT could significantly decrease the expression levels of $\text{CD4}^+ \text{IL-17A}$ ($P < 0.05$) and up-regulate the percentage of $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{foxP3}^+ \text{Treg}$ cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** oxymatrine could alleviate ConA-induced liver injury by inhibiting the expression of IL-17A and promoting the proliferation of Treg cells.

[**Key words**] oxymatrine; concanavalin A; interleukin; Tregs

肝脏作为机体的代谢和解毒器官,含有大量免疫细胞。其中,T淋巴细胞在病毒性和自身免疫性肝炎的发病中发挥着重要作用^[1-2]。刀豆蛋白 A (ConA)作为植物刀豆提取物,是一种植物凝集素,可以促进 T 细胞增殖分裂,引起肝脏 T 细胞活化分泌多种细胞因子,造成肝脏免疫性损伤,该模型可模拟人类自身免疫性肝炎^[1,3]。ConA 造成的肝损害特征是在短时间内大量的免疫细胞向肝聚集,同时血清转氨酶水平迅速升高,导致肝组织细胞大量坏死和凋亡。多种细胞因子[如干扰素- γ (IFN- γ),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6)等]参与了该模型的发病过程,为研究自身免疫性肝炎的稳定模型^[4]。

氧化苦参碱是中药山豆根中提取的主要有效生物碱类成分,具有明显的抗病毒、免疫调节和抗炎作用^[5-6]。研究表明,氧化苦参碱可以通过抑制肝星状细胞的活化及转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)的表达,抑制肝纤维化^[7],通过增强肝脏抗氧化活性显著降低以卡介苗加脂多糖诱发的小鼠肝损伤的肝匀浆中丙二醛(MDA)的含量,提高谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性抑制小鼠肝脏损伤^[8]。本研究采

用 ConA 诱导的小鼠急性免疫性肝损伤模型,进一步探讨氧化苦参碱对免疫性肝损伤的治疗作用及相关的免疫学机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级雄性 Balb/C 小鼠,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001。本研究获得解放军 302 医院伦理委员会批准(编号 IACUC-2015-035),所有实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

1.2 药物及试剂 氧化苦参碱(纯度为 98%)购自中国食品药品检定研究院;天门冬氨酸氨基转移酶(AST),丙氨酸氨基转移酶(ALT),总胆红素(TBIL)试剂盒(南京建成公司,批号分别为 20160224, 20160409, 20160122); CD3 (percp/cy5.5), CD8(PE/cy7),脾淋巴细胞分离液及细胞染液(北京达科为生物技术有限公司,批号分别为 100328,100722,33R021410,420201); IL-17A (Alexa Flour647), CD25(APC)(美国 BD 公司,批号分别为 560184, 557192); ConA(美国 Sigma 公司,批号 slbp2641v); FoxP3 (PE), FoxP3 染液(美国

eBioscience 公司,批号分别为 4271536,4305639)。

1.3 仪器 Synerge H1 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司),Nikon E200 型光学显微镜(上海尼康仪器有限公司),Canto II 型流式细胞仪(美国 BD 公司),Luminex200 型流式荧光检测仪(美国 Life 公司)。

2 方法

2.1 小鼠免疫性肝损伤模型制备及分组 60 只小鼠,随机分为 5 组,每组 12 只,分别为正常组,ConA 模型组,双环醇阳性药组,ConA 模型的氧化苦参碱低、高剂量组。根据预实验的结果及参考文献[9]氧化苦参碱腹腔注射 $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 及 $120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,双环醇灌胃(*ig*) $156 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,正常组给予生理盐水 *ig*。连续给药 5 d,末次给药 30 min 后,尾静脉注射 ConA $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 建立免疫性肝损伤模型^[10]。于造模 8 h 后,小鼠眼眶取血,制备血清样品, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存。

2.2 血清生化指标检测 取血清,按照说明书所述方法检测 ALT,AST,TBIL 的表达。(转氨酶检测以生理盐水稀释 5 倍)。

2.3 组织学检测 取相同部位的肝脏组织,用 4% 多聚甲醛进行固定,包埋。进行苏木素-伊红(HE)染色,观察肝脏组织形态学变化情况。

2.4 血清酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 血清细胞因子检测采用 Luminex 多因子检测方法检测小鼠血清细胞因子的表达,Luminex 200 仪器读数,绘制标准曲线计算相应浓度。

2.5 流式细胞仪检测脾脏 T 淋巴细胞和细胞因子

2.5.1 分离脾脏 无菌取脾脏,用 200 目尼龙网分离研磨组织,加入淋巴细胞分离液 4 mL,覆盖 1640 培养基 $400 \mu\text{L}$, $800 \times g$ 离心 30 min,分离小鼠淋巴

细胞。加入磷酸盐缓冲液(PBS) 1 mL,制备细胞悬液。

2.5.2 细胞内细胞因子刺激 取 1×10^7 个/mL 细胞 $100 \mu\text{L}$ 于 1 mL 1 640 培养基(10% FBS)培养。同时加入 PMA $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,离子霉素 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为细胞因子刺激剂,加入莫能菌素 $2.85 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 阻止细胞因子释放,置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱培养 6 h。

2.5.3 细胞表面及胞内染色 取细胞悬液 $100 \mu\text{L}$,以染液洗涤 3 次,加入 CD3,CD8 荧光抗体进行细胞表面标记,细胞固定破膜后加入 IL-17A 抗体标记胞内因子。Treg 染色以 CD3,CD4 和抗 CD25 抗体进行表面标记,避光孵育 30 min 固定、破膜后加入抗 FoxP3,避光孵育 30 min,洗涤后以 1% 多聚甲醛 $400 \mu\text{L}$ 重悬,固定待测。

2.6 统计学分析 实验结果以 SPSS 13.0 统计分析软件包进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数的比较采用 One-way ANOVA 分析,以 $P < 0.05$ 为差异在统计学意义。

3 结果

3.1 对 ConA 小鼠血清生化指标的影响 与正常组比较,模型组小鼠的血清中 ALT,AST,TBIL 明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。各给药组与模型组比较,双环醇和氧化苦参碱低、高剂量小鼠血清中 ALT 水平均显著低于模型组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。氧化苦参碱高剂量组小鼠血清中 AST 水平显著低于模型组($P < 0.05$),而氧化苦参碱低剂量组 AST 水平与模型组比较无统计学差异。氧化苦参碱低、高剂量组血清 TBIL 水平显著低于模型组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 氧化苦参碱对 ConA 小鼠 ALT,AST,TBIL 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table1 Effect of oxymatrine on serum levels of ALT, AST and TBIL in mice injected with ConA ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	TBIL/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常	-	14.72 ± 5.09	32.93 ± 14.41	3.23 ± 1.34
模型	-	$1057.47 \pm 129.35^{2)}$	$366.48 \pm 54.48^{2)}$	$8.22 \pm 1.66^{1)}$
双环醇	156	$716.35 \pm 86.94^{3)}$	355.11 ± 75.87	6.92 ± 1.25
氧化苦参碱	60	$646.24 \pm 86.18^{3)}$	283.78 ± 79.70	$5.21 \pm 1.21^{3)}$
	120	$163.01 \pm 48.76^{4)}$	$128.91 \pm 41.58^{3)}$	$5.02 \pm 1.22^{3)}$

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2,图 2 同)。

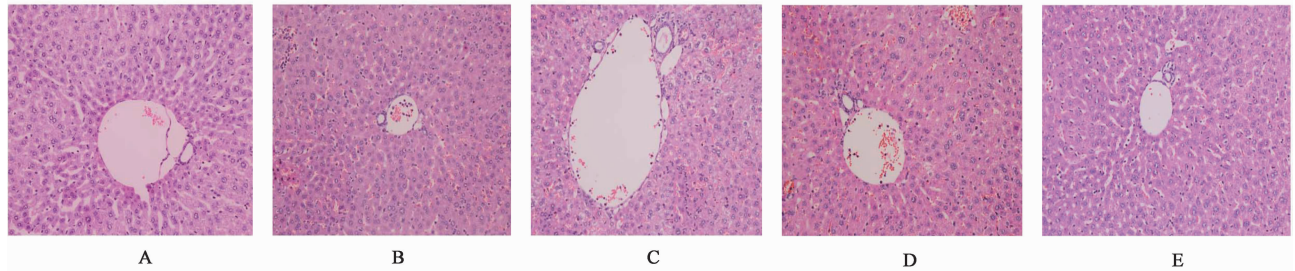
3.2 对 ConA 所致小鼠肝损伤病理的影响 光镜下见正常组肝组织结构清晰,汇管区未见炎细胞浸润,肝细胞呈条索状整齐排列,肝窦无扩张及瘀血;ConA 模型组小鼠肝组织出现明显病变,汇管区炎性

细胞浸润明显,肝血窦充血明显,可见淋巴细胞聚集;双环醇组和氧化苦参碱低、高剂量组部分肝组织可见散在点状坏死,肝血窦充血与模型组比较有所缓解,肝细胞损伤程度较模型组明显减轻,炎性细胞

浸润显著减少。而氧化苦参碱低剂量组对肝损伤的缓解作用不明显。见图 1。

3.3 对 ConA 诱导肝损伤小鼠血清细胞因子的影响 与正常组比较, ConA 模型组小鼠 TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-4 表达均明显上调 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 氧化苦参碱给药组血清细胞因子与模型组

比较无统计学差异。与正常组, 比较 ConA 模型组 IL-10 表达明显上调 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氧化苦参碱高剂量组 IL-10 表达显著升高 ($P < 0.05$)。IL-27 水平正常组与模型组之间无统计学差异, 氧化苦参碱高剂量组与模型组比较显著升高 ($P < 0.05$)。见表 2。



A. 正常组; B. 模型组; C. 双环醇组; D. 氧化苦参碱 60 mg·kg⁻¹组; E. 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹组

图 1 氧化苦参碱对 ConA 诱导肝损伤小鼠的影响 (HE, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of oxymatrine on ConA-induced liver damage in mice (HE, $\times 200$)

表 2 氧化苦参碱对 ConA 诱导肝损伤小鼠血清细胞因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of oxymatrine on serum cytokines in mice injected with ConA ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

ng·L⁻¹

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TNF- α	IFN- γ	IL-6
空白	-	14.92 \pm 3.62	78.63 \pm 40.44	2.99 \pm 6.29
模型	-	49.74 \pm 13.27 ¹⁾	4 023.18 \pm 437.58 ²⁾	607.96 \pm 299.83 ¹⁾
氧化苦参碱	120	55.39 \pm 8.87	3 511.86 \pm 1103.11	963.44 \pm 333.98

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-4	IL-10	IL-27
空白	-	0.28 \pm 0.47	0.21 \pm 0.07	24.01 \pm 11.80
模型	-	28.44 \pm 13.05 ²⁾	70.02 \pm 22.06 ²⁾	28.23 \pm 23.45
氧化苦参碱	120	22.76 \pm 4.49	120.22 \pm 45.97 ³⁾	85.09 \pm 73.73 ³⁾

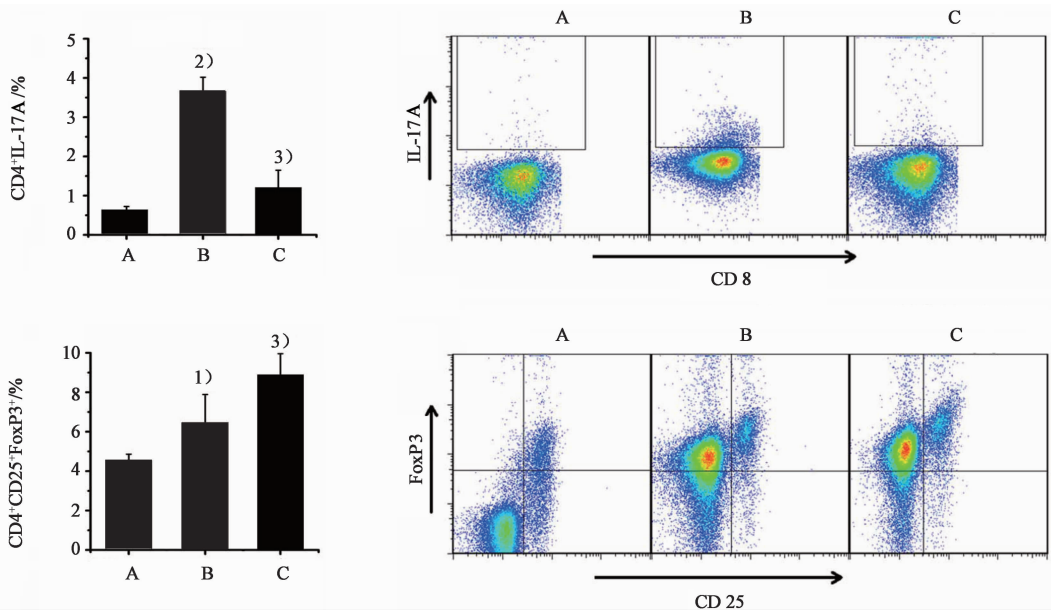
3.4 对 ConA 诱导小鼠脾脏 Treg/Th17 细胞相关细胞因子产生的影响 与正常组比较, ConA 模型组 CD4⁺IL-17A 表达显著增高 ($P < 0.01$), 氧化苦参碱组与模型组比较显著降低 ($P < 0.05$)。ConA 损伤后, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg 细胞模型组与正常组比较表达增高, 且有统计学差异 ($P < 0.05$), 氧化苦参碱高剂量组与模型组比较 Treg 比例明显上调 ($P < 0.05$)。见图 2。

4 讨论

ConA 诱导的肝损伤模型, 特点是 T 淋巴细胞介导的肝脏特异性损伤, 能较好地模拟人类自身免疫性肝炎, 已被广泛应用^[1]。参与 ConA 诱导肝损伤的免疫细胞: CD4⁺T 淋巴细胞接受抗原刺激后可以分化为 Th1 (TNF- α , IFN- γ) 型, Th2 (IL-4, IL-6, IL-10) 型, Th17A 型和调节性 T 细胞。Th1 型细胞因子, 主要促进细胞免疫反应, 清除细胞内病毒; Th2 型细胞因子, 参与体液免疫应答, 杀灭细胞外病原

体; Th17 细胞通过释放炎症介质 IL-17A 诱导自身免疫反应^[11]。而 Treg 是一类不同于 Th1 和 Th2 型的 T 淋巴细胞亚群。Treg 细胞不仅可以以细胞间接触发挥免疫抑制作用, 还能通过分泌抑制性细胞因子 TGF- β_1 和 IL-10 发挥其免疫抑制功能, 在维护机体免疫平衡中发挥了重要作用^[12-13]。

本研究建立在 ConA 诱导的小鼠急性肝损伤的基础上, 造模前 30 min 腹腔注射低高剂量氧化苦参碱进行干预治疗。氧化苦参碱低剂量组可明显抑制 ConA 小鼠 ALT 及 TBIL 的升高, 而对肝脏病理损伤, AST 缓解不显著。氧化苦参碱高剂量组可明显抑制 ConA 引起的肝损伤小鼠血清中 ALT, AST 和 TBIL 水平的升高, 减轻肝脏病理损伤, 说明氧化苦参碱可以抑制 ConA 诱导小鼠急性肝损伤。而双环醇通过下调 IFN- γ 基因表达和 TNF- α 的释放实现对 ConA 诱导肝损伤的保护作用^[14]。



A. 正常组; B. 模型组; C. 氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 组

图 2 小鼠注射 ConA 后脾脏淋巴细胞 Treg/Th17 细胞相关细胞因子产生的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 2 Changes of splenic Tregs Th17 after mice administration with ConA ($\bar{x} \pm s, n=5$)

本课题组采用 Luminex 多因子检测方法对正常组、模型组和氧化苦参碱 120 mg·kg⁻¹ 治疗组中血清细胞因子进行了检测,结果显示给予氧化苦参碱干预治疗后,小鼠血清 IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-4 等细胞因子表达与模型组比较均没有显著差异。结果提示氧化苦参碱不能抑制 ConA 诱导的小鼠血清 TNF- α , IFN- γ 和 IL-6 等炎症因子的升高。Th17 细胞通过分泌 IL-17A, TNF- α 等炎症相关细胞因子参与机自身免疫疾病。IL-17A 作为 Th17 细胞分泌的特征性细胞因子^[15]在 ConA 诱导的免疫性肝损伤中显著升高,且 IL-17A 水平与肝损伤程度正相关^[16]。IL-27 由活化的抗原提呈细胞如树突状细胞所产生,能够通过 STAT1 抑制 CD4⁺ T 细胞向 Th17 细胞分化^[17-19]。本实验中氧化苦参碱组高剂量组 IL-27 水平明显高于模型组,而 IL-17A 表达明显降低,提示氧化苦参碱可能通过促进 IL-27 的分泌抑制了 Th17 的分化。CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ Treg 细胞能动态调节机体的免疫平衡,通过分泌抑制性细胞因子 IL-10 抑制自身免疫反应发生^[20]。IL-10 是一种有效的抗炎性因子,通过与 IL-10 受体结合,可下调促炎性因子的表达,发挥抗炎作用^[21-22]。实验中氧化苦参碱高剂量组 CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ Treg 细胞,IL-10 水平与模型组比较显著升高,表明氧化苦参碱可以促进 ConA 小鼠体内 Treg 的分化产生抗炎因子 IL-10,发挥免疫抑制功能,从而减轻肝脏损伤。

本实验通过同时检测 ConA 小鼠 Th1, Th2,

Th17, Treg 细胞及相关细胞因子的表达,探讨了氧化苦参碱可能的免疫学调节作用。氧化苦参碱组对小鼠 IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-4 等炎症因子表达与模型组无统计学差异。而 IL-27 表达升高, IL-17A 表达降低,提示氧化苦参碱可以通过促进 IL-27 的分泌抑制了 Th17 的分化从而降低了 IL-17A 的表达。与模型组比较,氧化苦参碱组抗炎因子 IL-10 表达, Treg 比例显著升高,提示氧化苦参碱可以促进小鼠体内 Treg 的分化分泌 IL-10 发挥免疫抑制功能,从而抑制小鼠肝脏免疫损伤。

[参考文献]

[1] ZHANG S, LIANG R, LUO W, et al. High susceptibility to liver injury in IL-27 p28 conditional knockout mice involves intrinsic interferon- γ dysregulation of CD4⁺ T cells [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4): 1620-1631.

[2] LUO Q, ZHU L, DING J, et al. Protective effect of galangin in concanavalin A-induced hepatitis in mice [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9:2983-2992.

[3] 郑晨宏, 谢晓华. 刀豆蛋白 A 诱导肝损伤模型中免疫细胞及因子研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2016, 37(2): 191-194.

[4] 胡水清, 黄依雯, 秦伟, 等. ConA 诱导小鼠肝损伤模型的发病机制 [J]. *中国血液流变学杂志*, 2007, 17(1): 159-162.

[5] 任衍菊, 张玉萍, 金敏, 等. 氧化苦参碱体外抗乙型肝炎病毒作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(14): 175-179.

- [6] 马悦,张启伟,王智民,等. 复方苦参注射液研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23):342-345.
- [7] 沈祥春,杨钰萍,徐旖旎,等. 基于 TGF- β -Smads 信号的氧化苦参碱干预急性心肌梗死诱发实验性大鼠心肌纤维化的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(5): 632-636.
- [8] 史丽娟,石磊,宋光耀. 氧化苦参碱肝脏药理作用的研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014(2):448-451.
- [9] 程钢,秦媛媛,程迪,等. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用及其抑制凋亡的作用机制[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(3): 387-392.
- [10] 王恒孝,任霞,温培娥,等. 淫羊藿苷对 ConA 诱导的小鼠肝脏损伤保护机理的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(10): 900-903.
- [11] LI X, LIU X, TIAN L, et al. Cytokine-mediated immunopathogenesis of hepatitis B virus infections[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2016, 50(1): 41-54.
- [12] Nakamura K, Kitani A, Fuss I, et al. TGF-beta 1 plays an important role in the mechanism of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell activity in both humans and mice[J]. J Immunol, 2004, 172(2): 834-842.
- [13] 潘桃. 调节性 T 细胞在肝再生增强因子免疫抑制机制中的作用研究[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(11):1194-1198.
- [14] 李敏. 双环醇抗肝细胞损伤的免疫学机制[D]. 北京:中国协和医科大学, 2004.
- [15] 施沛青,朱书,钱友存. IL-17 的信号传导及功能研究[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(4): 345-357.
- [16] YAN S, WANG L, LIU N, et al. Critical role of interleukin-17/interleukin-17 receptor axis in mediating ConA-induced hepatitis[J]. Immunol Cell Biol, 2012, 90(4): 421-428.
- [17] 潘涛,张伟,陈长水. Th17 细胞分化和功能调控研究的新进展[J]. 免疫学杂志, 2010, 26(9): 819-822.
- [18] 夏思源,赵立青,吴震洲,等. IL-27:保持免疫平衡的重要因子[J]. 生命科学, 2010, 22(6): 539-545.
- [19] 刘丽华,单保恩. IL-27 及其免疫调节作用研究进展[J]. 免疫学杂志, 2010, 26(1): 81-86.
- [20] Dons E M, Raimondi G, Cooper D K, et al. Induced regulatory T cells: mechanisms of conversion and suppressive potential [J]. Hum Immunol, 2012, 73(4): 328-334.
- [21] 周建光,杨梅. IL-10 与自身免疫性疾病关系的研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(17):2743-2745.
- [22] 王珺平,唐国都. STAT3 介导的 IL-10 抗炎性反应研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(1):52-54.

[责任编辑 周冰冰]