

膈下逐瘀汤对大鼠纤维化肝脏组织 谷胱甘肽抗氧化系统的影响

杨婧¹, 贾彦^{1*}, 王蔚¹, 戚基萍², 刘宏¹, 代巧妹¹

(1. 黑龙江中医药大学基础医学院, 哈尔滨 150040;

2. 哈尔滨医科大学附属第一医院, 哈尔滨 150001)

[摘要] **目的:**观察膈下逐瘀汤对大鼠纤维化肝脏组织氧化应激及谷胱甘肽(Glutathione, GSH)抗氧化系统的影响。**方法:**60只大鼠随机分为空白组、正常组、模型组、膈下逐瘀汤组。以猪血清腹腔注射(0.5 mL/只, 2次/周)制备免疫性大鼠肝纤维化模型,同时各组大鼠分别给予生理盐水或膈下逐瘀汤(生药 7.37 g·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃共 12 周。采用分光光度法检测肝组织丙二醛(MDA)和 GSH 含量,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基(glutamate-cysteine ligase catalytic subunit, GCLc)mRNA 表达,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测转录因子 NF-E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2), GCLc 表达和糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)磷酸化。**结果:**与模型组比较,膈下逐瘀汤显著抑制了纤维化肝脏组织 MDA 含量($P < 0.05$),增加了 GSH 含量($P < 0.05$),上调了 GCLc 和 Nrf2 表达($P < 0.05$),提高了 GSK-3 β 磷酸化水平($P < 0.05$)。**结论:**膈下逐瘀汤通过活化 Nrf2 信号通路增强机体肝脏 GSH 抗氧化系统进而缓解大鼠纤维化肝脏组织氧化应激。

[关键词] 肝纤维化; 膈下逐瘀汤; 氧化应激; 谷胱甘肽; 糖原合成酶激酶-3 β

[中图分类号] R575;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0121-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017170121

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.0959.024.html>

[网络出版时间] 2017-05-26 9:59

Effects of Gexia Zhuyutang on Glutathione Antioxidant System in Liver Tissue of Rat with Hepatic Fibrosis

YANG Jing¹, JIA Yan^{1*}, WANG Wei¹, QI Ji-ping², LIU Hong¹, DAI Qiao-mei¹

(1. School of Basic Medical Science, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this study was to investigate the effects of Gexia Zhuyutang on oxidative stress and glutathione (GSH) antioxidant system in liver tissues of rats with hepatic fibrosis. **Method:** A total of 60 rats were randomly divided into blank group, normal group, model group, and Gexia Zhuyutang group. The hepatic fibrosis model of rats was established by intraperitoneal injection of porcine serum twice weekly (0.5 mL/rat), and Gexia Zhuyutang (crude drug 7.37 g·kg⁻¹·d⁻¹) or normal saline was simultaneously administered daily by gavage for 12 weeks. Malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels in liver tissues were determined by colorimetric method. Real-time PCR was used to analyze glutamate-cysteine ligase catalytic subunit (GCLc) mRNA expression, and Western blot was used to analyze the glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) phosphorylation and

[收稿日期] 20170406(002)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81603418);黑龙江省自然科学基金项目(H2016062, D200820);黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目(UNPYSCT-2016075)

[第一作者] 杨婧,副教授,博士,从事肝纤维化的发病机制和防治研究, Tel:0451-82195940, E-mail: yangjingdx@sina.com

[通讯作者] *贾彦,教授,硕士,从事中医药防治肝纤维化的基础研究, Tel:0451-82195940, E-mail: jy570@sohu.com

GCLc protein expression in the liver. **Result:** As compared with the model group, Gexia Zhuyutang significantly inhibited MDA content and increased GSH content in fibrotic liver tissues, up-regulated GCLc expression, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) protein expression, and increased GSK-3 β phosphorylation level. **Conclusion:** Gexia Zhuyutang exhibited remarkable antioxidant activities in livers tissue of the porcine serum rat model, which may be correlated with the enhancement of the glutathione antioxidant system *via* activating Nrf2 signaling pathway.

[**Key words**] hepatic fibrosis; Gexia Zhuyutang; oxidative stress; glutathione; glycogen synthase kinase-3 β

肝纤维化是由乙型肝炎和脂肪肝等慢性肝脏疾病引起的肝脏创伤愈合反应^[1],由于肝纤维化具有可逆性,逆转肝纤维化可以阻断其向肝硬化或肝癌的进展^[2]。越来越多的证据表明氧化应激是启动肝脏损伤和促进纤维化发展的主要机制^[3],而抑制氧化应激亦可改善肝纤维化^[4]。近年来肝纤维化的病理生理机制研究取得了较大进展,但尚缺乏特异有效的临床治疗药物^[5]。中医药在防治肝纤维化具有较好的疗效和优势,特别是以活血化癥法为主的抗肝纤维化治疗学研究取得较大成绩^[6]。膈下逐瘀汤是载于《医林改错》治疗膈膜以下、上腹部血瘀积块等病的名方。韩曼珠等^[7]临床研究发现,膈下逐瘀汤联合拉米夫定治疗乙型肝炎肝硬化的效果优于单用拉米夫定。笔者前期研究发现,膈下逐瘀汤对猪血清诱导的免疫性肝纤维化大鼠有显著的保护作用,减少了纤维化肝脏组织胶原含量和肝星状细胞活化^[8-10]。在此基础上,本研究提出“膈下逐瘀汤改善大鼠纤维化肝脏组织氧化应激的作用是通过增强谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 抗氧化系统而实现的”假说,为了验证这一假说,笔者观察了膈下逐瘀汤对猪血清诱导的大鼠肝脏氧化应激损伤的保护作用及 GSH 抗氧化系统在此保护作用中所扮演的角色,为验证假说提供了实验依据。本研究探讨了膈下逐瘀汤治疗肝纤维化的抗氧化机制,并初次发现谷胱甘肽抗氧化系统介导了膈下逐瘀汤的抗纤维化作用,为膈下逐瘀汤临床治疗肝纤维化提供了实验数据。

1 材料

1.1 动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只,雄性,实验初始体重 190 ~ 210 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK 京 2002-0003。本研究经齐齐哈尔医学院实验动物伦理委员会批准,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 膈下逐瘀汤由当归-桃仁-甘草-红花-五

灵脂-川芎-牡丹皮-赤芍-乌药-香附-枳壳-延胡索 6:6:6:6:4:4:4:4:4:4:3:3:2 组成。中药饮片购自齐齐哈尔市中医医院中药房。经齐齐哈尔医学院医药科学研究所牛英才研究员鉴定均为符合 2015 年版《中国药典》一部规范的合格中药饮片。中药饮片加入 10 倍量水,浸泡 2 h,煎沸 30 min,过滤取煎液,药渣加入 8 倍量水,煎沸 30 min,合并 2 次煎煮液后过滤,滤液浓缩至含生药 1.5 g·mL⁻¹,膈下逐瘀汤按人与大鼠体表面积折算的等效剂量 (7.37 g·kg⁻¹) 给药^[8-11]。浓缩水煎液 4 ℃ 保存备用。猪血清购自上海纬群生物技术有限公司 (批号 20081214)。

1.3 试剂 OxiSelect™ TBARS Assay Kit (美国 Cell Biolabs Inc 公司,批号 STA-330); Glutathione GSH Assay Kit (美国 Cayman 公司,批号 705002)。细胞浆蛋白与核蛋白抽提试剂盒 (碧云天生物科技有限公司,批号 P0028); 谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基 (glutamate-cysteine ligase catalytic subunit, GCLc) 抗体 (英国 Abcam 公司,批号 ab55435); Lamin B (批号 #12586S), 磷酸化糖原合成酶激酶 (p-GSK-3 β), (批号 #55589P), 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体 (批号 2118S) 均购自美国 Cell Signaling 公司。Super Signal® West Pico Chemiluminescent Substrate (美国 Thermo 公司,批号 PH203837)。总 RNA 提取试剂 RNaiso Reagent (批号 B13031), SYBRExScript™ RT-PCR Kit (批号 DRR031A) 均购自大连宝生物工程有限公司。引物序列为 GCLc 上游引物 5'-GGCAAGATACCTTTATGACCAGTT-3', 下游引物 5'-TGCAGCACTCAAAGCCATAA-3', 180 bp; GAPDH 上游引物 5'-GACAACCTTGGCATCGTGGA-3', 下游引物 5'-ATGCAGGGATGATGTTCTGG-3', 133 bp。以上引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

1.4 仪器 S1000™ Thermal Cycler PCR (美国 Bio-Rad 公司), Stratagene Mx3005P 型实时荧光定量聚

合酶链式反应 (Real-time PCR) 仪 (美国 Agilent 公司), JY-SCZ2 和 JY-ZY5 电泳系统 (北京君意东方电泳设备有限公司), ELX800 型全自动酶标仪 (美国 BioTek 公司), Smart Chemi™ Image Analysis System (北京赛智创业科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 60 只大鼠随机分为 4 组, 即空白组、正常组、模型组、膈下逐瘀汤组。模型组和膈下逐瘀汤组大鼠以猪血清腹腔注射 (0.5 mL/只, 2 次/周)^[12], 空白组和正常组大鼠腹腔注射等体积生理盐水, 连续 12 周。同时空白组和模型组大鼠灌胃给予生理盐水, 而正常组和膈下逐瘀汤组大鼠灌胃给予膈下逐瘀汤 (生药 7.37 g·kg⁻¹·d⁻¹), 连续给药 12 周。

2.2 分光光度法检测丙二醛 (MDA) 含量 按照 Cell Biolabs Inc 公司 TBARS 检测试剂盒说明书操作检测肝组织匀浆取上清中 MDA 含量。

2.3 分光光度法检测 GSH 含量 按照 Cayman 公司 Glutathione Assay Kit 说明书操作检测肝组织匀浆取上清 GSH 含量。

2.4 Real-time PCR 检测大鼠 GCLc mRNA 表达 采用 Trizol Reagent 试剂盒提取大鼠肝脏组织总 RNA, 采用 PrimeScript™ RT Reagent Kit 将总 RNA 逆转录为 cDNA。反应条件: 95 ℃ 预变性 30 s, 维持 2 min, 降至 60 ℃, 持续 30 s; 升温至 72 ℃, 维持 20 s, 循环 40 次。采用 SYBR™ Premix Ex Taq™ 试剂盒在 Stratagene Mx3005P Real-time PCR 仪上分析 C_t 值, 采用 2^{-ΔΔC_t} 方法对 GCLc mRNA 表达进行相对定量。

2.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 法检测大鼠转录因子 NF-E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2), GCLc 蛋白表达和糖原合酶激酶-3β (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β) 磷酸化 采用蛋白提取试剂盒抽提取大鼠肝脏组织细胞核和细胞浆蛋白质, SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白后, 转膜至 PVDF 膜上, 脱脂奶粉 4 ℃ 封闭过夜, 加入一抗 (1:1 000) 37 ℃ 孵育 2 h, 加入相应二抗 (1:2 000) 37 ℃ 温孵育 1.5 h, 进行化学发光反应、显影和定影。Western blot 条带灰度值采用 AlphaEaseFC 图像分析软件分析。

2.6 统计学分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS 19.0 统计软件中的单因素方差分析处理实验数据, 组间差异用 SNK 检验。显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

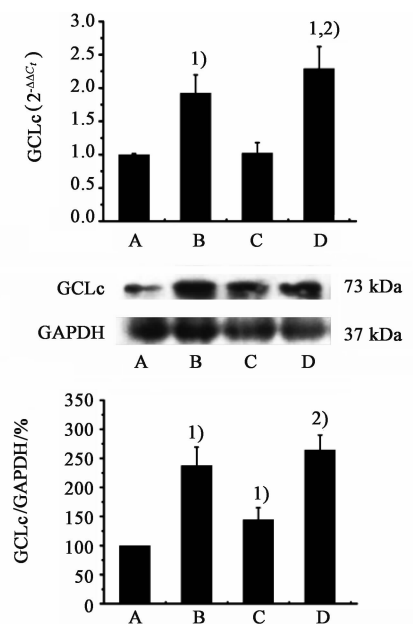
3.1 膈下逐瘀汤对纤维化肝脏组织的氧化应激抑制的影响 与空白组比较, 模型组大鼠肝组织中 MDA 含量显著增加 (P < 0.05), 而正常组 MDA 含量无显著性变化。与模型组比较, 膈下逐瘀汤组大鼠肝组织 MDA 含量显著降低 (P < 0.05)。见表 1。

表 1 膈下逐瘀汤对大鼠纤维化肝脏组织 MDA, GSH 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MDA	GSH
空白	-	4.28 ± 0.58	4.88 ± 0.76
正常	7.37	4.55 ± 0.67	8.88 ± 0.87 ¹⁾
模型	-	10.56 ± 1.08 ¹⁾	5.76 ± 0.78
膈下逐瘀汤	7.37	8.20 ± 1.25 ²⁾	9.30 ± 1.05 ^{1,2)}

注: 与空白组比较¹⁾ P < 0.05; 与模型组比较²⁾ P < 0.05 (图 1, 2 同)。

3.2 膈下逐瘀汤对肝脏组织肌 GSH 抗氧化系统增强的影响 与空白组比较, 正常组和膈下逐瘀汤组大鼠肝脏组织中 GSH 含量, GCLc mRNA 和蛋白表达均显著增加 (P < 0.05), 而模型组 GSH 含量和 GCLc mRNA 无显著性变化。与模型组比较, 膈下逐瘀汤组大鼠肝脏组织中 GSH 含量, GCLc mRNA 和蛋白表达显著增加 (均 P < 0.05)。见表 1, 图 1。



A. 空白组; B. 正常组; C. 模型组; D. 膈下逐瘀汤组 (图 2 同)

图 1 膈下逐瘀汤对大鼠纤维化肝脏组织肌 GSH 抗氧化系统的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Fig. 1 Effect of Gexia Zhuyutang on GSH antioxidant system in liver tissue of rat with hepatic fibrosis ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

3.3 膈下逐瘀汤对 GSK-3 β 活化和上调了 Nrf2 表达的影响 与空白组比较,正常组、模型组、膈下逐瘀汤组大鼠肝脏组织 GSK-3 β 磷酸化水平和 Nrf2 蛋白表达显著增加(均 $P < 0.05$)。与模型组比较,膈下逐瘀汤组大鼠肝脏组织中 GSK-3 β 磷酸化水平和 Nrf2 蛋白表达显著增加(均 $P < 0.05$)。见图 2。

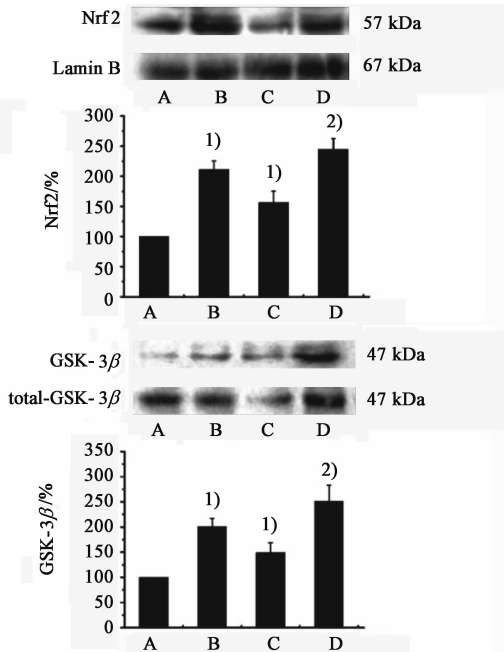


图 2 膈下逐瘀汤对大鼠纤维化肝脏组织中 Nrf2 蛋白表达和 GSK-3 β 磷酸化水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Fig.1 Effect of Gexia Zhuyutang on Nrf2 protein expression and GSK-3 β phosphorylation in liver tissue of rat with hepatic fibrosis ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

4 讨论

本研究结果显示膈下逐瘀汤显著抑制纤维化肝脏组织氧化应激,其抗氧化活性呈猪血清刺激依赖性,对正常肝脏组织的 MDA 含量无显著性影响。膈下逐瘀汤提高正常肝脏组织和纤维化肝脏组织的 GSH 抗氧化系统,其机制可能与激活 Nrf2 信号通路有关。膈下逐瘀汤介导的 GSH 抗氧化系统增强和 Nrf2 信号通路活化之间的因果关系需要将来在基因敲除动物模型中进一步验证。本研究的另一局限性是仅仅观察了膈下逐瘀汤一个剂量的效应,虽然更大的剂量可能会产生更强的疗效,但是本研究结果显示临床等效剂量的膈下逐瘀汤在免疫性大鼠肝纤维化模型显示较强的抗氧化活性。将来进一步借助现代药理方法从微观的角度探索研究膈下逐瘀汤剂量与功效的关系,为临床筛选最佳剂量、节约患者医药费用和减少服药带来的不良反应具有重要意义。

乙型肝炎是我国当前流行广泛和危害性严重的一种常见疾病^[13]。临床上,乙型肝炎循环免疫复合物多为阳性^[14],由于感染人乙肝病毒的动物模型难以复制^[15],本研究采用的猪血清诱导免疫性肝纤维化模型对中医药防治免疫损伤性肝纤维化有效方剂的筛选、验证和机制研究均具有理论和现实意义。

中医临床研究发现,气滞血瘀与气虚血瘀是肝纤维化的主要证型,分别占病例的 27% 和 23%^[16]。纤维化肝脏的气机升降失常导致血的输布运行障碍是瘀血形成的病理基础^[17],血瘀的本质是纤维结缔组织的增生和微循环障碍^[18],活血化瘀类中药在抗肝纤维化治疗中一直得到广泛的应用^[19]。膈下逐瘀汤出自清代《医林改错》,具有活血化瘀,行气止痛之功效。麻飞玲等^[20]临床研究显示膈下逐瘀汤可改善患者血清透明质酸,层粘连蛋白,Ⅱ型前胶原肽和 4 型胶原等肝纤维化指标。笔者在前期研究也显示,膈下逐瘀汤通过抑制肝星状细胞活化而发挥抗肝纤维化的药理作用^[8],但其抑制肝星状细胞活化的机制尚不清楚。MDA 是脂质过氧化的终产物,反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度,是机体氧化应激的重要指标之一^[21]。鉴于氧化应激在肝星状细胞中扮演的重要角色,本研究观察了膈下逐瘀汤的抗氧化活性。结果显示,膈下逐瘀汤抑制了猪血清诱导的纤维化肝脏组织的氧化应激状态。

GSH 作为哺乳动物细胞内最主要的非蛋白巯基和含量最丰富的低相对分子质量多肽,可清除生物体氧自由基或脂质过氧化物^[22]。GSH 的生物合成是在谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -glutamylcysteine synthetase, γ -GCS)和 GSH 合成酶催化下将底物谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸按顺序合成。 γ -GCS 是合成 GSH 的关键限速酶,该酶由催化亚基和调节亚基组成,而 GCLc 是 γ -GCS 最重要的催化亚基单位,含有 γ -GCS 所有底物的结合位点和催化功能,在 GSH 的合成中起决定性作用^[23]。本研究发现,膈下逐瘀汤增加了正常肝脏组织和纤维化肝脏组织的 GSH 含量和 GCLc mRNA 和蛋白表达,表明 GSH 抗氧化系统在膈下逐瘀汤抗氧化活性中发挥了重要作用。

谷氨酸-半胱氨酸连接酶的基因的启动子中含有抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)序列,是一种由 Nrf2 调控的Ⅱ相酶^[24]。在抗氧化剂诱导的情况下,Nrf2 核转位进入细胞核,与 ARE 结合,启动 ARE 调控的Ⅱ相解毒酶及抗氧化酶基因表达,增强机体的抗氧化能力^[25]。Meakin 等^[26]研究发现,Nrf2 基因敲除小鼠对四氯化碳所致

纤维化程度明显加重。GSK-3 β 参与Nrf2信号通路负性调节,WANG等^[27]研究发现GSK-3 β 通过磷酸Nrf2的568位酪氨酸介导Nrf2出细胞核,抑制Nrf2信号通路活化。GSK-3 β 的Ser9位点磷酸化导致GSK-3 β 失去活性,通过GSK-3 β 磷酸可以激活细胞内Nrf2信号通路^[27]。本研究发现,膈下逐瘀汤增加了正常肝脏组织和纤维化肝脏组织的GSK-3 β 磷酸化水平而导致GSK-3 β 活性减少,进而诱导了Nrf2核转位,上调了下游GCLc等II相解毒酶基因表达,合成了抗氧化剂GSH。

综上所述,膈下逐瘀汤对猪血清所致的肝脏组织氧化应激具有抑制作用,其机制可能与增加Nrf2调控的GSH抗氧化系统有关。

[参考文献]

[1] Martin D J, Weideman R, Crook T, et al. Relationship of hepatic fibrosis, cirrhosis, and mortality with cholecystectomy in patients with hepatitis C virus infection [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 28 (2):181-186.

[2] Salazar-Montes A M, Hernández-Ortega L D, Lucano-Landeros M S, et al. New gene therapy strategies for hepatic fibrosis [J]. *World J Gastroentero*, 2015, 21 (13):3813-3825.

[3] Yamamoto H, Kanno K, Ikuta T, et al. Enhancing hepatic fibrosis in spontaneously hypertensive rats fed a choline-deficient diet: a follow-up report on long-term effects of oxidative stress in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2016, 23 (5):260-269.

[4] SHI H, SHI A, DONG L, et al. Chlorogenic acid protects against liver fibrosis *in vivo* and *in vitro* through inhibition of oxidative stress [J]. *Clin Nutr*, 2016, 35 (6):1366-1373.

[5] HUANG Y, DENG X, LIANG J. Modulation of hepatic stellate cells and reversibility of hepatic fibrosis [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 352(2):420-426.

[6] 程无为. 不同活血化癥法分阶段辨证干预乙肝肝纤维化临床研究 [J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(8):108-109.

[7] 韩曼珠,王芬,李丽,等. 拉米夫定联合膈下逐瘀汤对乙型肝炎肝硬化治疗的临床疗效评价 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24(15):3706-3708.

[8] 贾彦,杨婧,刘宏,等. 膈下逐瘀汤逆转猪血清诱导大鼠肝纤维化的作用及机制研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(5):220-224.

[9] 杨婧,贾彦,刘宏,等. 膈下逐瘀汤对大鼠纤维化肝组织 α -SMA和TGF- β 表达的影响 [J]. *中国中医基础*

医学杂志, 2012, 18(2):158-160.

[10] 代巧妹,贾彦,刘宏,等. 膈下逐瘀汤抗大鼠免疫性肝纤维化的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17 (22):187-190.

[11] 卢文艺,刘莲,黄蔚,等. 加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠抗氧化作用及脂联素表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(10):97-101.

[12] 战跃福,梁贤文,韩向君,等. 大鼠肝纤维化基质金属蛋白酶抑制剂-1 mRNA表达与弥散加权成像表现扩散系数的相关性 [J]. *中南大学学报:医学版*, 2017, 42(2):161-167.

[13] 王宇飞,王波,孙国栋,等. 社区乙型肝炎表面抗原阳性人群血清流行病学特征分析 [J]. *中国全科医学*, 2017, 20(2):191-195.

[14] ZHANG T Y, YUAN Q, ZHAO J H, et al. Prolonged suppression of HBV in mice by a novel antibody that targets a unique epitope on hepatitis B surface antigen [J]. *Gut*, 2016, 65(4):658-671.

[15] Moreno-Cugnon L, Esparza-Baquer A, Larruskain A, et al. Characterization and genotyping of the DRB1 gene of the major histocompatibility complex (MHC) in the Marmota monax, animal model of hepatitis B [J]. *Mol Immunol*, 2015, 63(2):505-512.

[16] 宫爱民,曹玉,董秀娟,等. 120例肝纤维化患者舌面象特征分析 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(10):1646-1651.

[17] 吴颖,金玺. 肝硬化代偿期肝纤维化指标与中医证型相关研究 [J]. *实用中医内科杂志*, 2017, 31(3):8-11.

[18] 宁天一,程嘉艺,王婷婷. 血府逐瘀汤对不可预见性刺激致血瘀的作用及机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(4):110-114.

[19] 侯著丰. 乙肝肝纤维化实施不同活血化癥法分阶段辨证治疗效果观察 [J]. *中医临床研究*, 2015, 7 (11):85-86.

[20] 麻飞玲,谢冬梅,孙黎明. 膈下逐瘀汤联合恩替卡韦片对瘀血阻络型慢乙肝患者血清肝纤维化指标的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2015, 42(2):344-346.

[21] WU F. Quantum mechanical investigation of mode-specific tunneling upon fundamental excitation in malonaldehyde [J]. *J Phys Chem A*, 2016, 120(22):3849-3854.

[22] ZHANG Z Z, Lee E E, Sudderth J, et al. Glutathione depletion, pentose phosphate pathway activation, and hemolysis in erythrocytes protecting cancer cells from vitamin C-induced oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(44):22861-22867.

[23] Jain S K, Huning L, Micinski D. Hydrogen sulfide

- upregulates glutamate-cysteine ligase catalytic subunit, glutamate-cysteine ligase modifier subunit, and glutathione and inhibits interleukin-1 β secretion in monocytes exposed to high glucose levels [J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2014, 12(5):299-302.
- [24] Hiramatsu K, Tsuneyoshi T, Ogawa T, et al. Aged garlic extract enhances heme oxygenase-1 and glutamate-cysteine ligase modifier subunit expression *via* the nuclear factor erythroid 2-related factor 2-antioxidant response element signaling pathway in human endothelial cells[J]. *Nutr Res*, 2016, 36(2):143-149.
- [25] LU C, ZOU Y, LIU Y, et al. Rosmarinic acid counteracts activation of hepatic stellate cells *via* inhibiting the ROS-dependent MMP-2 activity; involvement of Nrf2 antioxidant system [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 318(1):69-78.
- [26] Meakin P J, Chowdhry S, Sharma R S, et al. Susceptibility of Nrf2-null mice to steatohepatitis and cirrhosis upon consumption of a high-fat diet is associated with oxidative stress, perturbation of the unfolded protein response, and disturbance in the expression of metabolic enzymes but not with insulin resistance [J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(17):3305-3320.
- [27] WANG T, ZHANG J, XIAO A, et al. Melittin ameliorates CVB3-induced myocarditis *via* activation of the HDAC2-mediated GSK-3 β /Nrf2/ARE signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 480(1):126-131.
- [责任编辑 邹晓翠]

《中国实验方剂学杂志》2014—2016 年度优秀审稿专家名单

田元祥教授(中国中医科学院中医临床基础医学研究所)
刘春生教授(北京中医药大学)
沈祥春教授(贵阳医学院药学院)
王长虹教授(上海中医药大学)
倪艳教授(山西省中医药研究院)
倪健教授(北京中医药大学)
赵艳玲研究员(解放军 302 医院)
李孝栋教授(福建中医药大学)
康文艺教授(河南大学)
张艳教授(辽宁中医药大学)
任钧国研究员(中国中医科学院西苑医院)
蔡宇教授(暨南大学药学院)
王冰副教授(上海中医药大学)
袁子民副教授(辽宁中医药大学)
张华副教授(山东中医药大学)

获奖的优秀审稿专家是在 2014—2016 年度一贯积极支持编辑部工作,能认真负责、按时完成审稿任务,且审稿数量较多的专家,由责任编辑推荐,编委会年会通过并颁发了获奖证书及奖金。