

鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织 TGF- β_1 /smad 通路的影响

程新燕*

(广西壮族自治区人民医院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究鬼针草总黄酮(TFB)对肝纤维化大鼠肝组织中转化生长因子 β_1 /smad(TGF- β_1 /smad)通路表达的影响。方法:四氯化碳(CCl₄)复制肝纤维化大鼠模型,随机分为5组:模型组、阳性药秋水仙碱组(0.2 mg·kg⁻¹)、TFB低、中、高剂量组(60, 120, 240 mg·kg⁻¹),并设正常组,连续灌胃30 d。检测大鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、门冬氨酸转氨酶(AST)和总胆红素(TBil)的水平,以及测定肝组织中透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、III型前胶原(PCIII)和羟脯氨酸(Hyp)的含量。免疫组化检测肝组织中转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)阳性细胞的表达,Western blot法测定肝组织中smad2和smad3表达,Masson染色观察肝组织病理学变化。结果:与模型组比较,TFB可有效降低肝纤维化大鼠血清中AST,ALT,TBil水平($P < 0.01$),降低肝组织中HA, LN, PCIII和Hyp含量($P < 0.01$);TGF- β_1 阳性细胞数量明显减少($P < 0.01$),以及肝组织中smad2和smad3有效地下调($P < 0.01$),并减轻肝纤维化病变。结论:鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠具有防治作用,其机制可能与调节TGF- β_1 /smad通路而抑制胶原生成有关。

[关键词] 鬼针草; 总黄酮; 肝纤维化; TGF- β_1 /smad通路; 胶原

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0253-05

[doi] 10.11653/syjf2013210253

Effect of Total Flavonoids of *Bidens bipinnata* on TGF- β_1 /smad Pathway of Liver Tissue in Rats with Liver Fibrosis

CHENG Xin-yan*

[收稿日期] 20130319(005)

[基金项目] 广西研究生教育创新计划项目(2011105981002M173)

[通讯作者] *程新燕,主管药师,硕士,从事治疗肝损伤药物研究工作, Tel:13977184535, E-mail:chengxinyan201210@163.com

- [2] 尚远宏,徐晓玉. 中药及其提取物对脑缺血保护作用的实验研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8):1109.
- [3] 刑景根,皋聪,李瑞. 蝙蝠葛苏林碱对小鼠和大鼠脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 1998, 14(1):18.
- [4] 张予阳,于庆海,游松,等. 银杏内酯对小鼠和大鼠脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(6):667.
- [5] 李小凤,孙圣刚,董萼塘. 大鼠可逆性局灶性脑缺血模型复制方法的改进[J]. 华中医学杂志, 2000, 24(4):192.
- [6] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社, 2010:998.
- [7] 刘宗涛,刘江,李继斌. 等. 安宫牛黄丸对实验性大鼠脑缺血模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23):288.
- [8] Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurological examination[J]. Stroke, 1986, 17:472.
- [9] 赵虹,张秋娟,汪涛,等. 中风解毒方对急性脑缺血大鼠脑梗死面积和神经功能缺损的影响[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(6):54.
- [10] 王丽萍,白雪,杨思进. 祛风药治疗缺血性中风的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2006, 4(2):146.
- [11] 李金环,张聪恪. 消痰通络丸对急性脑梗死模型大鼠生化指标的影响[J]. 中医药临床杂志, 2007, 19(5):445.

[责任编辑 李玉洁]

(The People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China)

[Abstract] Objective: To study the effect of the total flavonoids of *Bidens bipinnata* (TFB) on the TGF- β_1 /smad pathway of liver tissue in rats with liver fibrosis. **Method:** Liver fibrosis in rats was established by CCl₄, and then the rats were randomly divided into five groups: model group, colchicine group (0.2 mg·kg⁻¹), low-, medium-and high-dosage groups of TFB (60, 120, 240 mg·kg⁻¹), as well as the normal group was set up. The drugs were given to rats daily for 30 consecutive days. The activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and total bilirubin (TBil) in serum were examined, and the levels of hyaluronic acid (HA), laminin (LN), precollagen III (PCIII) and hydroxyproline (Hyp) in hepatic tissue were examined. The transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) -immunoreactive cells were determined by immunohistochemical assay, and the expression of smad2 and smad3 in hepatic tissue was determined by Western blot. In addition, the hepatic pathological changes were observed by Masson staining. **Result:** Compared with model group, TFB effectively decreased the activities of AST, ALT and TBil in rats with liver fibrosis ($P < 0.01$), the contents of HA, LN, PCIII and Hyp in homogenate were decreased ($P < 0.01$). The quantity of TGF- β_1 -immunoreactive cells was reduced ($P < 0.01$). The smad2 and smad3 protein level was down-regulated in hepatic tissue ($P < 0.01$). Moreover, liver fibrosis was alleviated. **Conclusion:** TFB has protective effect on the CCl₄-induced liver fibrosis in rats, the mechanism may be implicated in regulating the TGF- β_1 /smad pathway to inhibit collagenation.

[Key words] *Bidens bipinnata*; total flavonoids; liver fibrosis; TGF- β_1 /smad pathway; collagen

研究表明,鬼针草含有皂苷、生物碱、黄酮苷等生物活性物质^[1]。鬼针草及其活性成分具有改善肝功能、提高机体的免疫能力、抗菌消炎等药理功效^[2-3]。本实验采用四氯化碳(CCl₄)复制大鼠肝纤维化模型,Masson染色观察肝组织病理学改变和生物化学法检测有关指标,并应用免疫组织化学法和Western blot法检测鬼针草总黄酮治疗后肝纤维化大鼠肝脏组织中内源性肿瘤坏死因子- β_1 (TGF- β_1)、smad2和smad3表达。以TGF- β_1 /smad通路为研究对象,探讨鬼针草总黄酮抗肝纤维化作用机制,为其早期应用于肝病治疗提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 健康SD大鼠,雌雄各半,体重(200±20)g,由广西医科大学实验动物中心提供。动物饲养于符合医学实验动物环境设施要求的饲养环境中。饲养环境通风良好,室温18~25℃,相对湿度40~70%,12h光照昼夜循环。试验动物生产许可证号SCXK(桂)2003-0003,试验动物使用许可证号SCXK(桂)2009-0002。

1.2 药物与试剂 鬼针草(*Bidens bipinnata* L.)系菊科鬼针草属一年生草本植物,经广西中医院研究院鉴定。由广西医科大学药理实验室提供。CCl₄(化学纯,杭州辉煌化工有限公司,批号20120814),秋水仙碱片(西双版纳药业有限责任公司,批号120706)。丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶

(AST)、总胆红素(TBil)、透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、III型前胶原(PCIII)和羟脯氨酸(Hyp)试剂盒,均购于南京建成生物工程研究所,批号20120918。TGF- β_1 蛋白抗体(Bioworld Technology, Inc, USA,批号BS1256)。DAB显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号20120903)。SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(碧云天生物技术研究所,批号DZ12091)。多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology,批号SC-127432)。HRP标记的兔抗羊IgG抗体(Santa Cruz Biotechnology,批号SC-1256)。预染蛋白Marker(Fermentas公司,批号SM1209)。

1.3 仪器 DFM-96型多管放射免疫计数器(众成机电技术公司),WBZ-2型微波真空干燥机(贵阳新奇微波工业有限责任公司),722S型紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),5810型高速低温离心机(德国Eppendorf公司),4590型包埋机(日本Finetechnical公司),DDL-5型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),2235型病理组织切片仪(德国Leitz公司),DMR+550型病理图像分析仪(德国莱卡公司),酶标仪(美国Thermo Forma公司),垂直电泳仪、转膜及显影设备(Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 鬼针草总黄酮提取^[4] 鬼针草干燥粗粉1000g,加80%乙醇9000mL,回流3次,每次6h,趁热

过滤,滤液经旋转蒸发仪减压浓缩,将浓缩物溶解后,高速离心 10 min,重复 3 次,所得沉淀物加适量 95% 乙醇溶解后过滤,滤液用 1:3 石油醚萃取,弃上层醚相,萃取液用旋转蒸发仪浓缩,再经蒸发皿用水浴蒸发至析出沉淀,沉淀重结晶即得鬼针草总黄酮。Sevage 法除去蛋白质,经检测为黄酮类化合物即可使用,含量为 52.6%。

2.2 肝纤维化大鼠模型的建立 参照文献[4]方法,大鼠随机分成正常组及肝纤维化模型组。肝纤维化模型组采用花生油配成的 50% CCl₄ 溶液 1 mL·kg⁻¹, ig, 2 次/周,每周称体重以调整给药剂量。正常组 ig 等容积生理盐水,2 次/周。分别于造模后 5,6,7 周抽取模型组大鼠 2 只及正常对照组大鼠 1 只,进行病理学检查,监测肝纤维化形成的情况。

2.3 分组及给药 将肝纤维化大鼠 50 只,随机分为 5 组($n=10$),模型组、阳性药秋水仙碱组(0.2 mg·kg⁻¹, ig)、TFB 低、中、高剂量组(60, 120, 240 mg·kg⁻¹, ig),并设正常组($n=10$),连续 ig 30 d。除正常组外,其余各组均以 50% CCl₄ 花生油溶液 ig,2 次/周。每周称体重,调整造模剂量及用药剂量。

2.4 检测指标 末次给药后取材,检测大鼠血清 ALT,AST,TBil 的水平,以及测定肝组织 HA, LN, PCIII, Hyp 的含量;Masson 染色观察肝组织病理学

变化,免疫组化检测肝组织中 TGF- β_1 阳性细胞的表达;Western blot 法测定肝组织中 smad2 和 smad3,应用 Image Analysis Software 分析,结果以目标蛋白灰度/内参灰度表示。所有实验操作步骤均严格按照试剂盒说明书进行。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对肝纤维化大鼠肝功能的影响 与正常对照组比较,模型组大鼠血清 ALT,AST,TBil 水平均显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组比较秋水仙碱组和鬼针草总黄酮高、中、低剂量组肝纤维化大鼠血清 ALT,AST,TBil 水平明显降低($P < 0.01$),其中鬼针草总黄酮低剂量组高于秋水仙碱组($P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对肝纤维化大鼠肝组织 HA, LN, PCIII 及 Hyp 的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝组织中 HA, LN, PCIII 和 Hyp 含量显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,秋水仙碱组和鬼针草总黄酮各组大鼠肝组织中 HA, LN, PCIII 和 Hyp 含量明显减少($P < 0.01$),其中鬼针草总黄酮低剂量组高于秋水仙碱组($P < 0.01$)。见表 2。

表 1 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝功能的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	TBil/ μ mol·L ⁻¹
正常	-	52.46 ± 6.81 ¹⁾	48.05 ± 7.61 ¹⁾	1.43 ± 0.42 ¹⁾
模型	-	184.32 ± 22.43	97.34 ± 12.52	3.95 ± 1.06
秋水仙碱	0.2	85.64 ± 12.86 ¹⁾	64.58 ± 9.37 ¹⁾	1.61 ± 0.67 ¹⁾
鬼针草总黄酮	60	113.64 ± 17.39 ¹⁾	82.36 ± 10.19 ¹⁾	2.43 ± 0.49 ^{1,2)}
	120	93.27 ± 11.85 ¹⁾	69.27 ± 9.85 ¹⁾	1.86 ± 0.74 ¹⁾
	240	76.82 ± 9.26 ^{1,2)}	56.81 ± 8.36 ^{1,2)}	1.57 ± 0.37 ^{1,2)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与秋水仙碱组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织 HA, LN, PCIII, Hyp 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

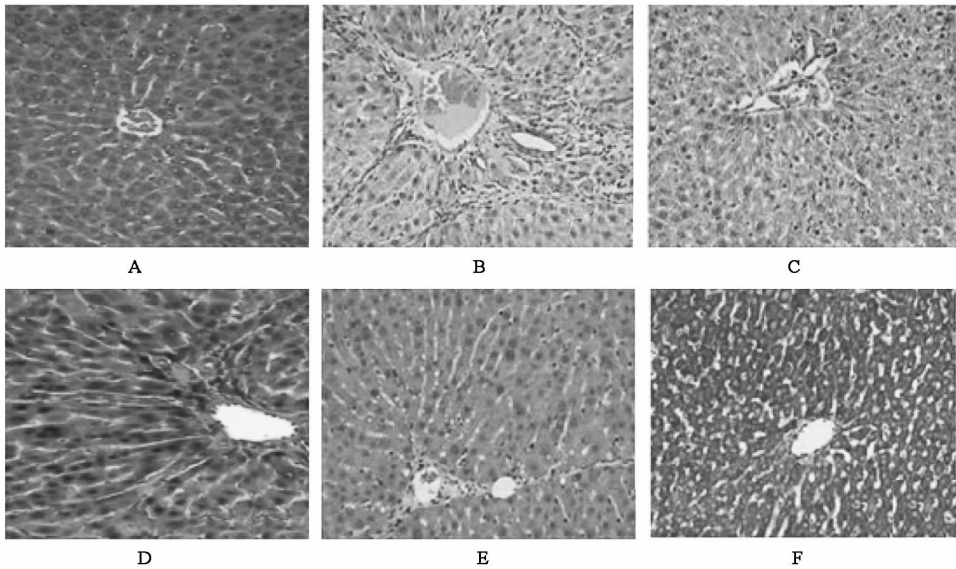
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	HA/U·mg ⁻¹	LN/U·mg ⁻¹	PCIII/nmol·mg ⁻¹	Hyp/mg·L ⁻¹
正常	-	102.9 ± 15.46 ¹⁾	72.65 ± 13.38 ¹⁾	18.53 ± 2.41 ¹⁾	3.25 ± 0.49 ¹⁾
模型	-	263.5 ± 30.83	219.83 ± 25.62	82.71 ± 9.35	11.46 ± 1.82
秋水仙碱	0.2	158.4 ± 22.66 ¹⁾	102.75 ± 19.71 ¹⁾	36.95 ± 7.38 ¹⁾	6.21 ± 0.75 ¹⁾
鬼针草总黄酮	60	205.7 ± 29.62 ¹⁾	181.46 ± 24.65 ¹⁾	73.64 ± 8.43 ¹⁾	8.74 ± 1.06 ¹⁾
	120	167.4 ± 24.59 ¹⁾	118.72 ± 20.37 ¹⁾	40.82 ± 8.15 ¹⁾	6.69 ± 0.81 ¹⁾
	240	141.6 ± 21.35 ^{1,2)}	94.81 ± 23.34 ^{1,2)}	39.58 ± 5.62 ^{1,2)}	5.87 ± 0.62 ^{1,2)}

3.3 对肝纤维化大鼠肝组织病变的影响 正常大鼠肝组织显示小叶间和汇管区基本无胶原纤维分

布,中央静脉及肝窦内有轻微胶原纤维分布,在显微镜下基本不见红黄及绿色的胶原纤维,肝小叶结构

正常,未见纤维增生。肝纤维化大鼠可见汇管区和小叶间有大量粗大增生的胶原纤维,肝小叶被重新分割,组织切片中有大量假小叶形成,胶原纤维呈宽带状,互相连接,细胞变性坏死明显。鬼针草高剂量

组及秋水仙碱组肝组织胶原纤维明显减少,肝小叶结构也有所恢复,仍有部分点状细胞坏死。中、低剂量鬼针草组肝组织胶原纤维明显减少,肝小叶结构也有所恢复,细胞坏死明显。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 秋水仙碱 0.2 mg·kg⁻¹组;D. 鬼针草总黄酮 60 mg·kg⁻¹组;
E. 鬼针草总黄酮 120 mg·kg⁻¹组;F. 鬼针草总黄酮 240 mg·kg⁻¹组(图 2 同)

图 1 大鼠肝组织病理组织学观察(Masson 染色×200)

3.4 对肝纤维化大鼠肝组织 TGF-β₁ 表达的影响
与正常组比较,肝纤维化模型组大鼠肝脏中 TGF-β₁ 阳性细胞数明显增多(P < 0.01)。与模型组比较,秋水仙碱组和鬼针草总黄酮各组有效地减少 CCl₄ 致肝纤维化大鼠的肝脏中 TGF-β₁ 阳性细胞数(P < 0.01),其中鬼针草总黄酮低剂量组高于秋水仙碱组(P < 0.01),高剂量组低于秋水仙碱组(P < 0.01)。见表 3。

表 3 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织 TGF-β₁ 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	TGF-β ₁ 阳性细胞	
		/A	/个/mm ⁻²
正常	-	0.18 ± 0.023 ¹⁾	10.42 ± 1.26 ¹⁾
模型	-	0.97 ± 0.164	56.89 ± 8.47
秋水仙碱	0.2	0.45 ± 0.073 ¹⁾	29.31 ± 4.26 ¹⁾
鬼针草总黄酮	60	0.76 ± 0.102 ¹⁾	40.63 ± 6.75 ¹⁾
	120	0.48 ± 0.079 ¹⁾	31.26 ± 4.84 ¹⁾
	240	0.31 ± 0.056 ^{1,2)}	21.07 ± 3.29 ^{1,2)}

3.5 对肝纤维化大鼠肝组织中 smad2 和 smad3 表达的影响
与正常组比较,肝纤维化模型组大鼠肝脏组织中 smad2 和 smad3 蛋白水平明显上调(P <

0.01)。与模型组比较,秋水仙碱组和鬼针草总黄酮各组分有效地下调肝纤维化大鼠的肝脏中 smad2 和 smad3 蛋白水平(P < 0.01),其中鬼针草总黄酮低剂量组高于秋水仙碱组(P < 0.01),高剂量组低于秋水仙碱组(P < 0.01)。见图 2,表 4。

表 4 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织中 smad2 和 smad3 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) 相对灰度

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	smad2	smad3
正常	-	0.11 ± 0.02 ¹⁾	0.08 ± 0.01 ¹⁾
模型	-	0.77 ± 0.13	0.68 ± 0.12
秋水仙碱	0.2	0.45 ± 0.09 ¹⁾	0.29 ± 0.06 ¹⁾
鬼针草总黄酮	60	0.63 ± 0.15 ¹⁾	0.54 ± 0.11 ¹⁾
	120	0.44 ± 0.12 ¹⁾	0.36 ± 0.08 ¹⁾
	240	0.23 ± 0.04 ^{1,2)}	0.17 ± 0.07 ^{1,2)}

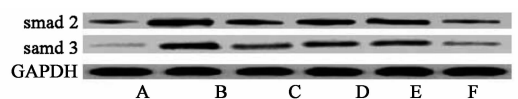


图 2 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠肝组织中 smad 靶蛋白的影响

4 讨论

肝细胞发生损伤后,炎症因子聚集于病灶,激活

肝星状细胞(HSC)转化为成纤维细胞,释放大量细胞外基质(ECM),造成胶原沉淀并造成肝纤维化的发生、发展^[6]。Hyp 是构成胶原蛋白的氨基酸重要成分之一,故肝组织中 Hyp 的含量可作为衡量胶原组织代谢的特异性指标,与肝纤维化进展有相关性^[7]。本实验结果显示,肝纤维化大鼠肝组织中 Hyp 的含量明显增高,提示大鼠肝纤维化早期已发生胶原蛋白代谢障碍。鬼针草总黄酮的治疗显著降低 Hyp 的含量,说明总黄酮有效地恢复肝组织的代谢功能。Masson 特异性染色表明鬼针草总黄酮有效缓解肝纤维化病情。此外,鬼针草总黄酮各组中肝纤维化大鼠血清中升高的 ALT, AST 的浓度明显得到恢复,提示鬼针草总黄酮有效地改善肝纤维化大鼠肝功能。

HA 可较准确地反映肝内生成的纤维量及肝细胞受损的状况。LN 也可以反映肝纤维化的严重程度。PCIII 的水平与肝纤维化病变程度有密切的关系,它可以反映肝纤维合成的状况和炎症状况,其含量会随损伤程度而逐渐增加^[9]。因此,逆转或缓解胶原蛋白过度生成是抗肝纤维化治疗的有效措施之一。本实验中,模型大鼠肝脏 HA, LN 和 PCIII 的含量明显增加,提示该组织中发生胶原代谢异常。经鬼针草总黄酮治疗后,HA, LN 和 PCIII 的含量有效地减少,推测通过调节胶原代谢途径增强机体清除胶原沉积能力是抗肝纤维化的分子机制之一。

TGF- β_1 在肝纤维化形成中有关键作用,其主要参与并调节细胞分化增殖、ECM 的表达,黏附转移以及免疫效应^[10-13]。smads 蛋白是 TGF- β 活化最重要的信号转导因子,其中 smad2 和 smad3 传递促肝纤维化信号。本实验结果显示,肝纤维化大鼠肝组织中 TGF- β_1 阳性细胞明显增多,诱导了 smad2 和 smad3 蛋白的表达,最终导致肝纤维化的发生和转归。给予鬼针草总黄酮治疗后,肝纤维化大鼠病情得到有效缓解,表现为肝脏组织中 TGF- β_1 表达显著下调,减少内源性 smad2 和 smad3 蛋白表达,提示鬼针草总黄酮的抗纤维化机制可能与其调节 CCl₄ 致纤维化大鼠肝脏组织中 TGF- β_1 /smads 信号转导通路而发挥抗纤维化作用有关。

[参考文献]

[1] Tomczykowa M, Leszczyńska K, Tomczyk M, et al. Composition of the essential oil of *Bidens tripartita* L. roots and its antibacterial and antifungal activities[J]. J

- Med Food, 2011,14(4):428.
- [2] Zhong M M, Chen F H, Yuan L P, et al. Protective effect of total flavonoids from *Bidens bipinnata* L. against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice[J]. J Pharm Pharmacol, 2007,59(7):1017.
- [3] Suzigan M I, Battochio A P, Coelho K L, et al. An aqueous extract of *Bidens pilosa* L. protects liver from cholestatic disease: experimental study in young rats[J]. Acta Cir Bras,2009,24(5):347.
- [4] Yuan L P, Chen F H, Ling L, et al. Protective effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis[J]. J Ethnopharmacol, 2008,116(3):539.
- [5] Huang Q F, Zhang S J, Zheng L, Protective effect of isoorientin-2''-O- α -L-arabinopyranosyl isolated from *Gypsophila elegans* on alcohol induced hepatic fibrosis in rats[J]. Food Chem Toxicol,2012,50(6):1992.
- [6] Afdhal N H, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review [J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99(6):1160.
- [7] Gu Y, Zhao J, Yao X M, et al. Effects of bicyclol on immunological liver fibrosis in rats[J]. J Asian Nat Prod Res, 2010,12(5):388.
- [8] Baohua Y, Li L. Effects of SIRT6 silencing on collagen metabolism in human dermal fibroblasts[J]. Cell Biol Int, 2012,36(1):105.
- [9] Karna E, Szoka L, Palka J A. The mechanism of hydralazine-induced collagen biosynthesis in cultured fibroblasts[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2013,386(4):303.
- [10] Lee J J, Park S K, Kwon O S, et al. Genetic polymorphism at codon 10 of the transforming growth factor- β_1 gene in patients with alcoholic liver cirrhosis [J]. Korean J Hepatol, 2011,17(1):37.
- [11] Ruehl M, Erben U, Kim K, et al. Extracts of *Lindera obtusiloba* induce antifibrotic effects in hepatic stellate cells via suppression of a TGF-beta-mediated profibrotic gene expression pattern [J]. J Nutr Biochem, 2009,20(8):597.
- [12] 王付,尚立芝,苗小玲,等. 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝功能、肝纤维化指标及病理变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5):177.
- [13] 高溪,陈桂敏,梁振钰,等. 芪蚣抗纤方中活血化瘀药对肝纤维化大鼠转化生长因子- β_1 及 Smad2/3 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):260.

[责任编辑 李玉洁]