

肾气丸对 DMN 大鼠肝纤维化干预作用研究

王高强¹, 刘成², 罗明^{1*}

(1. 第二军医大学东方肝胆外科医院, 中西医结合科, 上海 200438;
2. 上海市公共卫生临床中心, 中医科, 上海 201508)

[摘要] **目的:**以二甲基亚硝胺(DMN)大鼠肝纤维化模型为载体,以肾气丸为研究对象,探讨肾气丸对 DMN 大鼠肝纤维化的干预作用。**方法:**每周前 3 d 连续 ip DMN(10 mg·kg⁻¹)4 周制备大鼠肝纤维化模型。造模 2 周末 DMN 处理组大鼠随机分为肾气丸组和模型组(各 10 只)。第 3 周的第 1 d 起,在继续造模的同时,肾气丸组给予成人 70 kg 体重的 10 倍量 ig (1.029 g·kg⁻¹),给药 2 周。4 周末处死全部大鼠,留取肝组织样本和血清,观察大鼠肝功能、肝组织羟脯氨酸(Hyp)及肝组织病理变化,实时定量 PCR 法观察肝组织肝细胞生长因子(HGF)、平滑肌肌动蛋白(α -SMA) mRNA 表达变化。**结果:**DMN 造模 4 周,引起大鼠肝功能紊乱,与正常组比较,4 周模型组大鼠血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性及总胆汁酸(TBA)含量显著升高($P < 0.01$),血清白蛋白(ALB)含量显著下降($P < 0.01$)。肝组织羟脯氨酸含量显著升高,为正常组的 4.58 倍($P < 0.01$),HGF mRNA 表达显著下降($P < 0.01$), α -SMA mRNA 水平显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,肾气丸组大鼠血清 ALB 含量显著升高,血清 ALT、AST 活性及 TBA 含量显著降低。肾气丸显著降低肝组织羟脯氨酸含量($P < 0.05$),同时显著降低 α -SMA mRNA 表达($P < 0.01$),升高 HGF mRNA 水平($P < 0.05$)。**结论:**肾气丸对 DMN 肝纤维化有较好的疗效,为肝病从肾论治提供了实验依据。

[关键词] 肾气丸; 二甲基亚硝胺; 肝纤维化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0227-05

Intervention Effect of Shenqi Wan on Dimethylnitrosamine-induced Liver Fibrosis in Rats

WANG Gao-qiang¹, LIU Cheng², LUO Ming^{1*}

(1. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Second Military Medical University Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Shanghai 200438, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the intervention effect of Shenqi Wan on dimethylnitrosamine (DMN) -induced liver fibrosis in rats. **Method:** DMN (10 mg·kg⁻¹) was administrated intraperitoneally to DMN-treated rats for the first three days per week for 4 weeks, at the second weekend, DMN rats were randomly divided into Shenqi Wan group ($n = 10$) and modle group ($n = 10$). At the first day of the third week, both groups continued to receive weekly DMN treatment for another 2 weeks in addition to daily administration of Shenqi Wan. At the end of the experiment, all rats were sacrificed. Liver tissue specimens and serum were remained to observe liver function, liver tissue hydroxyproline (Hyp) and liver histopathological changes of rats, expression changes of liver tissue hepatocyte growth factor (HGF), smooth muscle actin (α -SMA) mRNA were observed by real-time quantitative PCR. **Result:** Liver dysfunction was based on DMN modeling for four weeks, compared

[收稿日期] 20120617(002)

[基金项目] 上海市卫生局中医药课题(2008L005A)

[第一作者] 王高强, 医学硕士, 住院医师, 主要从事中医药防治肝硬化、肝癌的基础与临床研究, Tel: 021-81875153, E-mail: wanggaoqiang2003@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 罗明, 医学博士, 副教授, 长期从事肝癌的中西医结合治疗研究, Tel: 021-81875151, E-mail: luoming6425@sohu.com

with normal group, the serum aspartate aminotransferase (ALT) and alanine aminotransferase (AST) activity and total bile acid (TBA) content in the fourth week model group were significantly increased ($P < 0.01$), serum albumin (ALB) were significantly decreased ($P < 0.01$), liver hydroxyproline content was significantly increased 4.58 fold ($P < 0.01$), HGF mRNA expression was decreased significantly ($P < 0.01$), α -SMA mRNA levels were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with model group, serum ALB content in Shenqi Wan group was significantly increased, the serum aspartate aminotransferase (ALT) and alanine aminotransferase (AST) activity and TBA content were significantly decreased. Shenqi Wan could significantly reduce liver tissue hydroxyproline content ($P < 0.05$). Shenqi Wan could significantly reduce α -SMA mRNA expression ($P < 0.01$), and elevated HGF mRNA level ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shenqi Wan has a good effect for liver fibrosis and provides an experimental basis for liver disease treatment from kidney.

[**Key words**] Shenqi Wan; DMN; liver fibrosis

肝纤维化是指由各种致病因子所致肝内结缔组织异常增生,导致肝内弥漫性细胞外基质过度沉积的病理过程^[1-2],它不是一个独立的疾病,许多慢性肝脏疾病均可引起肝纤维化。迄今为止,尚无针对肝内纤维结缔组织增生的抗肝纤维化的生物或化学药物问世,而我国中医药抗肝纤维化治疗具有明显优势。

“肝藏血,肾藏精,肝肾同源”,肾为先天之本,肝病从“补肾”开始,基于此理论,我们选择具有“温补肾阳,化气行水”之功的肾气丸为代表,观察其对 DMN 肝纤维化大鼠的干预作用。

1 材料

1.1 动物 Wistar 雄性大鼠 30 只,SPF 级,体重(180 ± 20)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物许可证号 SCXK(沪)2007-0006。上海市公共卫生临床中心实验动物中心恒温饲养、造模和观

察,自由饮食。

1.2 药物与试剂 肾气丸(上海童涵春堂制药有限公司,批号 110302),二甲基亚硝胺(DMN, Wako 公司,批号 149-05882),肝功能测定试剂盒(血清总胆红素检测试剂盒(SCR 法,批号 20110529),血清白蛋白检测试剂盒(溴酚绿法,批号 20110406),血清丙氨酸转氨酶检测试剂盒(酶学速率法,批号 20110508);血清天冬氨酸转氨酶检测试剂盒(酶学速率法,批号 20110520)均购自南京建成生物工程研究所;羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)对照品(日本ナカティテスク株式会社,批号 MIR8282),总 RNA 抽提试剂盒(W7001,上海华舜生物工程有限公司,批号 74106),逆转录试剂盒(Fermentas,批号 K162),SYBR Premix Ex Taq (DRR041A, Takara 公司,批号 BK6002)。引物由上海生工生物工程有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 Real-time PCR 反应所用引物序列

基因	基因库序列号	上游引物	下游引物
18S rRNA	X0117	5'-GTAACCCGTTGAACCCATT-3'	5'-CCATCCAATCGGTAGTAGCG-3'
HGF	NM_000601	5'-AGCGTTGGGATTCTCAGTAT-3'	5'-GCAGTAGCCAACTCGGA-3'
α -SMA	BI282702	5'-CGAGAGGACGTTGTTAGCATAGAG-3'	5'-GGGCATCCACGAAACCA-3'

1.3 仪器 UV2102C 型紫外-可见光分光光度计(上海 UNICO 仪器有限公司),XHF-1 型高速分散器(上海金达生化仪器厂),5417R 型低温高速离心机(Eppendorf 公司,德国),DK-S22 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司),CP225D 型电子天平(Sartorius 公司,德国),LX70 型病理及免疫组化图片拍照系统为倒置光学显微镜(Olympus 公司,日本),Mylyder 型梯度 PCR 仪 Bio-Rad 公司,美国),ASP300 型自动脱水机,EG1160 型石蜡以埋

机, RM2035 型轮转切片机, HI1220 型烤片机(均为 LEICA 公司,德国)。

2 方法

2.1 肝纤维化模型制备 大鼠 DMN 肝纤维化按照 Liu. C 方法造模^[3],每周前 3 d ip DMN 共 4 周。正常大鼠 ip 等量生理盐水。

2.2 分组与给药 30 只大鼠随机分为正常组(10 只)和 DMN 处理组(20 只),造模 2 周末,20 只模型大鼠随机分为模型组和肾气丸组,每组 10 只。肾气

丸组于继续造模的同时按成人 70 kg 体重用量的 10 倍 $1.029 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,以 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 大鼠体重的容量 ig 给药,每天 1 次,连续 2 周。

2.3 样品采集和处理 实验第 4 周末处死全部大鼠。大鼠用 2% 戊巴比妥钠以 $2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重剂量腹腔注射麻醉后,仰卧位固定,打开腹腔,观察肝脾的色、质、形态等情况。经下腔静脉采血,摘取肝脾,称重,自肝右叶切取 $1.0 \text{ cm} \times 0.8 \text{ cm} \times 0.3 \text{ cm}$ 肝组织 1 块,10% 中性福尔马林固定,脱水、包埋;留取肝组织作羟脯氨酸 (hydroxyproline, Hyp) 含量测定。血液 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h 后, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min,分离血清,检测肝功能指标。

2.4 观察指标

2.4.1 一般情况 包括大鼠的死亡情况,体重、肝脏大体形态、肝脏及脾脏质量等。计算肝/体比[肝重/体重(%)]、脾/体比[脾重/体重(%)]。

2.4.2 血清肝功能检测 肝功能指标 ALT,AST 活性及 ALB,TBIL 含量按照试剂盒说明书操作。

2.4.3 肝组织胶原染色及增生程度分期 按照肝组织胶原纤维增生程度分期分级采用 Scheuer P J^[4]方法。0 期:正常肝脏,无明显胶原纤维增生;I 期:胶原纤维增生,中央静脉和门脉区有少量星状胶原纤维束放射散,但无间隔形成;II 期:胶原纤维增生,中央静脉和门脉区结缔组织变厚,由此向四周伸出纤维索,形成不完全间隔;III 期:胶原纤维大量增生,有个别菲薄的完全间隔形成,或较厚的不完全间隔即将形成假小叶;IV 期:完全纤维间隔,假小叶形成。

2.4.4 肝组织 Hyp 含量测定 采用 Jamall^[5]方法。

2.4.5 肝细胞生长因子(HGF)、平滑肌肌动蛋白(α -SMA)基因表达检测 采用 Real-time PCR 方法。提取肝组织总 RNA,通过 Smart Plus 测定 RNA 浓度,稀释至 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,进行 RNA 逆转录反应。逆转录后产物采用 SYBR-Green 方法扩增,反应体系为 SYBR-Green $10 \text{ } \mu\text{L}$,引物 $12 \text{ } \mu\text{L}$,双蒸水 $418 \text{ } \mu\text{L}$,模板 $2 \text{ } \mu\text{L}$,两步法 PCR 扩增,预变性 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$,10 s,PCR 反应,40 个循环, $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 s, $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 20 s,以 18 s 作为参照基因。采用 Comparative-Delta delta Ct 法分析结果。最终结果以正常组 N1 作为对照,计算其他各样本相对于 N1 的比值,作相对定量分析,最终结果以相对定量比值表示。

2.5 统计方法 数据采用 SPSS 18.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 One-way ANOVA 程序进行单因素方差分析并用 LSD 进行两两比较, $P < 0.05$

为显著性差异。等级资料采用 Ridit 分析。

3 结果

3.1 大鼠的死亡率、体重等变化 造模的第 4 周,模型组大鼠死亡 2 只,解剖大鼠发现:大鼠食管、胃无明显损伤,非造模所致死亡,而肝脏充血明显,考虑为 DMN 致大鼠肝衰竭所致。肾气丸组无死亡。正常组大鼠体重增加平稳,每天增长约 $6 \sim 10 \text{ g}$,模型组大鼠体重增长相对缓慢,每天平均长 $3 \sim 5 \text{ g}$,后期体重有所下降。造模第 1 周起,模型组大鼠体重即显著低于正常组。药物干预后,肾气丸组体重略有升高,但与模型组比较无显著性差异。

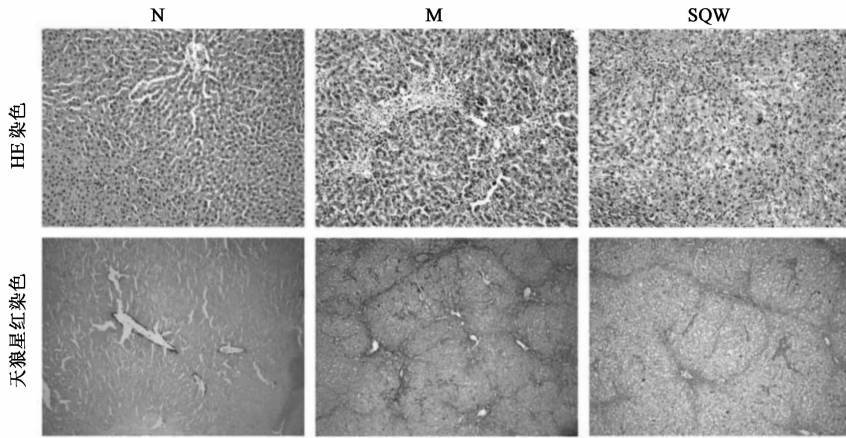
3.2 大鼠肝脏和脾脏形态观察 正常大鼠肝脏颜色红润,质地较脆,造模结束时,模型组大鼠肝脏缩小明显,只有 $3 \sim 5 \text{ g}$ 重,而正常大鼠肝脏 $10 \sim 12 \text{ g}$,色泽暗黄,表面呈小颗粒状,质地较硬、韧。肾气丸组大鼠肝脏色泽红润,表面较光滑,无明显结节状改变,质地较柔软。正常大鼠脾脏红暗红,模型大鼠脾脏暗红颜色加重,充血,增大,巨脾形成,肾气丸组可以明显减轻肝、脾质量。

3.3 大鼠肝组织病理学变化 HE 染色表明:正常组大鼠肝脏结构正常,肝细胞索由中央静脉放射状排列,肝小叶周围及汇管区周围有少量炎症细胞。模型组肝小叶结构破坏明显,中央静脉偏移,肝小叶周围出现大量的炎性细胞,结缔组织。肾气丸组大鼠肝小叶结构相对完整,小叶间炎性细胞及结缔组织相对减轻。见图 1。

肝组织天狼星红染色及胶原分级:正常组大鼠中央静脉壁及汇管区有少量纤维。造模 4 周时弥漫性增生的胶原纤维分割肝小叶形成较粗大的完全间隔,肝小叶结构异常,形成假小叶。与模型组比较,肾气丸组的胶原纤维增生显著减轻,纤维间隔窄(图 1),纤维增生分级显著降低。

4 周模型大鼠肝组织胶原纤维增生程度分期为 II 期 4 只、III 期 2 只,4 周模型大鼠为 III 期 3 只,IV 期 5 只,肝纤维化占 62.5%;肾气丸组中 II 期占 30%,III 期占 60%,IV 期占 10%;与 4 周模型对照组比较,肾气丸组胶原纤维增生程度显著降低($P < 0.05$),见表 2。

3.4 大鼠肝组织羟脯氨酸含量的变化 与正常大鼠比较,模型组大鼠肝组织 Hyp 含量显著升高($P < 0.01$),达正常组的 5.28 倍。与模型组比较,肾气丸组 Hyp 含量显著降低($P < 0.05$),可以降低至模型组 30%。见表 2。



N. 正常组; M. 模型组; SQW. 肾气丸 1.029 g·kg⁻¹ 组

图 1 各组大鼠肝组织病理学变化 [(HE, ×200) 和 (天狼星红染色, ×100)]

表 2 肾气丸对大鼠肝组织胶原分期及 Hyp 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	Hyp/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	胶原增生程度分期样本数/只					Radit 值
				0	I	II	III	IV	
正常	10	-	150.36 ± 30.48 ^{1,2)}	10	0	0	0	0	0.410 7
模型	8	-	792.72 ± 129.16 ²⁾	0	0	0	3	5	0.625 0
肾气丸	10	1.029	554.30 ± 158.27	0	0	3	6	1	0.892 9

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与肾气丸组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

3.5 大鼠肝功能的变化 与正常组比较,造模 4 周后大鼠血清 ALT、AST 活性、TBIL 含量显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),大鼠血清 ALB 含量逐渐降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,肾气丸汤组大鼠血

清 ALT、AST 活性显著降低 ($P < 0.01$),ALB 含量显著升高 ($P < 0.05$);肾气丸对血清 TBIL 含量降低有一定降低作用,但不显著。见表 3。

表 3 肾气丸对大鼠肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	ALB/g·L ⁻¹	TbIL/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常	10	-	32.99 ± 7.06 ²⁾	95.15 ± 31.51 ²⁾	42.57 ± 3.95 ²⁾	4.79 ± 1.54 ²⁾
模型	8	-	1 195.86 ± 178.08 ¹⁾	2 303.74 ± 189.69 ¹⁾	14.97 ± 1.66 ¹⁾	217.34 ± 59.00 ¹⁾
肾气丸	10	1.029	72.50 ± 13.33 ²⁾	211.03 ± 48.44 ²⁾	26.17 ± 2.0 ²⁾	184.00 ± 12.14

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

3.6 大鼠肝组织 HGF 及 α -SMA mRNA 的表达 肝组织实时定量 PCR 结果表明:与正常组比较,模型组 HGF mRNA 表达显著降低 ($P < 0.01$),与模型组比较,肾气丸显著升高 HGF mRNA 表达 ($P < 0.05$)。模型组 α -SMA mRNA 表达较正常组显著升高 ($P < 0.01$),肾气丸显著降低 α -SMA mRNA 表达 ($P < 0.01$)。见表 4。

表 4 肾气丸对肝组织 HGF 及 α -SMA mRNA 的相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	HGF	α -SMA
正常	-	1.03 ± 0.04 ²⁾	0.99 ± 0.02 ²⁾
模型	-	0.39 ± 0.05 ³⁾	6.49 ± 1.32 ³⁾
肾气丸	1.029	0.58 ± 0.08 ¹⁾	2.35 ± 0.89 ²⁾

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

4 讨论

DMN 肝纤维化模型是一种经典的肝纤维化模型,该模型具有稳定、造模周期短、实验方法简单、便于复制等特点,广泛应用于肝纤维化实验研究,是一

种良好的研究载体。本研究 Hyp 含量检测表明,模型组大鼠 Hyp 增加到正常的 5.28 倍,与文献报道基本一致^[3],表明造模成功。

“肝肾同源”是中医基础理论重要命题,肝病可以从“补肾”论治。肝肾两脏在临床上无论虚证还是实证,其补泻原则皆是二者兼顾的。正如《医宗必读》所说:“东方之木,无虚不可补,补肾即所以补肝,北方之水,无实不可泻,泻肝即所以泻肾。”基于此理论,我们选择具有“温补肾阳,化气行水”之功的肾气丸为代表,观察其对 DMN 肝纤维化大鼠的干预作用。结果表明:肾气丸不但显著改善肝功能状况,而且还降低肝组织 Hyp 含量及胶原分级状况。此研究结果不但为肝肾同源存在的科学性提供了实验依据,而且扩大了肾气丸的临床应用范围。

肾气丸出自 2 000 年前医圣张仲景的《金匮要略》,是至今仍在中医临床被广泛使用的名方之一,古代医学称肾气丸为“千古补肾之祖方”^[6]。方中干地黄为补肾精之良药,更有山药之助,补益肾精之效更佳;山茱萸味酸入肝,以实肝气。附子大辛大热,温阳补火;桂枝辛甘而温,与酒共奏温通心脉之效,更与附子合用,大大增强温补心火、蒸腾气化之力;茯苓、泽泻合桂枝增强肾及膀胱蒸腾气化之能,以温化痰饮,给水湿出路。牡丹皮凉肝活血,轻清心火,合生地黄,以防血热过甚。蜜可解附子之毒,兼有和药性之用,故炼之和丸^[7]。大量的临床实践和实验研究表明,中药通过多途径、多层次、多靶点的作用,能够延缓、遏制肝纤维化甚至肝硬化这一复杂进程^[8]。肝纤维化的用药有着自身的规律和特点,在治疗肝纤维化的过程中,应当重视对补虚药和活血化痰药的使用^[9]。现代药理研究表明:肾气丸可提高组织的超氧化物歧化酶活性,有改善垂体-肾上腺皮质功能、延缓衰老、恢复精力之作用。张瑞^[10]等认为肾气丸可能通过阻碍成纤维细胞、巨噬细胞等合成分泌 PDGF-BB 的过程,减少 PDGF-BB 刺激成纤维细胞产生胶原酶及各种炎性细胞的浸润,从而抑制成纤维细胞的增殖及胶原沉积。本研究肝功能结果表明:模型组 ALB 含量显著降低,HGF mRNA 表达显著降低,提示:肝纤维化病机中存在“正气不足”,肾气丸对提高肝组织 ALB 含量及 HGF mRNA 表达均有提高作用。表明肾气丸对扶助“正气”具有一定的作用,这也可能是其发生效应的物质基础。因为有研究表明:体内 HGF 一部分来源于肾脏^[11],而 HGF 则可以显著改善肝纤维化^[12]。

肝纤维化起病隐匿,发展缓慢,久病及肾。其基本病机大体上可归纳为气阴虚损、瘀血阻络、湿热内蕴等,针对基本病机的益气、养阴、化痰和清热利湿法是治疗肝纤维化的基本治法^[13]。肾气丸治脾肾

阳虚,故取其温补肾阳、化气行水。其中附子、桂枝补肾阳以助脾阳,熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、丹皮、茯苓滋补肾阴,助肝木滋养^[14]。然而,从现代研究水平来看,虽然肾气丸有良好的疗效,但药物组成众多,哪一味中药在起关键作用,至今尚不明确,也是我们下一步研究的主要方向。

[参考文献]

- [1] Bataller R, Brenner D A. Liver fibrosis [J]. J Clin Invest, 2005, 115:209.
- [2] Friedman S L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. Gastroenterology, 2008, 134(6): 1655.
- [3] Liu C, Sun M, Yan X, et al. Inhibition of hepatic stellate cell activation following Yinchenhao decoction administration to dimethylnitrosamine-treated rats [J]. Hepatol Res, 2008, 38(9):919.
- [4] Scheuer P J. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment [J]. J Hepatol, 1991, 13(3):372.
- [5] Jamall I S, Finelli V N, Que Hee S S. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues [J]. Anal Biochem, 1981, 112(1):70.
- [6] 赵宇昊,高忠英,史成和,等. 金匮肾气丸主治证候与君药辨析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12):112.
- [7] 齐方洲,岳仁宋,杨国正,等. 肾气丸组方治法新论[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18:315.
- [8] 张媛辉,刘俊田. 中药抗肝纤维化作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(6):66.
- [9] 刘鸣昊,薛博瑜. 近 5 年来肝纤维化中医证治用药规律的文献研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):279.
- [10] 张瑞,宋建平,李瑞琴,等. 金匮肾气丸对肺纤维化大鼠肺组织中血小板衍生长因子 BB 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):173.
- [11] Galimi F, Cottone E, Vigna E, et al. Hepatocyte growth factor is a regulator of monocyte-macrophage function [J]. J Immunol, 2001, 166(2):1241.
- [12] Huang H P, Chang M H, Chen Y T, et al. Persistent elevation of hepatocyte growth factor activator inhibitors in cholangiopathies affects liver fibrosis and differentiation [J]. Hepatology, 2012, 55(1):161.
- [13] 龙爱华,刘平,李风华. 不同配比黄芪汤干预大鼠胆汁淤积性肝硬化作用观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(7):28.
- [14] 孟庆芳,李太峰,崔延昌. 中成药为主治疗早期肝纤维化疗效分析[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(6):364.

[责任编辑 聂淑琴]