

撤药析方分析五灵胶囊配伍及组方成分抗肝纤维化作用

胡咏武, 王胜春*, 皇甫孟军, 田卫斌

(第四军医大学西京医院药剂科, 西安 710032)

[摘要] 目的: 探讨五灵胶囊(Wuling Capsule, WL)组方成分和撤药组在方中的效应及对全方功效的影响。方法: 采用四氯化碳多次注射, 饮用 10% 乙醇溶液并以高脂低蛋白饲料饲养制备小鼠肝纤维化模型, 分别给予试验药物治疗 10 d, 酶法测定各实验组小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、胆碱酯酶(CHE); 体外培养大鼠肝星状细胞株 HSC-T6 细胞并采用转化生长因子(TGF-1)诱导其活化, 研究撤药组及组成成分对 HSC-T6 表达 Ras/ERK, TGF-1/Smad 信号通路蛋白的影响, Western blot 检测 -SMA, Ras, Collagen, ERK, p-ERK, T R, T R, Smad2/3 蛋白的表达。结果: WL 组成成分和撤药组降低肝纤维化小鼠血清 ALT 和增加 CHE 活性, 柴胡和灵芝无降 ALT 作用, 各撤药组及组成成分对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 -SMA, Collagen, ERK, p-ERK, T R, T R, Smad2/3 蛋白具有差异性生物学效应。结论: 组方配伍对 WL 治疗纤维化小鼠作用产生相加的影响, 抑制对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 ERK 和 TGF-1/Smad 信号通路蛋白表达, 继而影响 HSC-T6 转录和合成 COL-。

[关键词] 五灵胶囊; 撤药析方; 组方配伍; 肝星状细胞

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0163-05

Analysis of Anti-hepatic Fibrosis Effects of WuLing Capsules Compatibility and Ingredients by Herbal with Drawal Analysis

HU Yong-wu, WANG Sheng-chun*, HUANGFU Meng-jun, TIAN Wei-bin

(Department of Pharmacy, Xijing Hospital, The Forth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] Objective: To investigate the action of Wuling Capsules prescription ingredients and herbal withdrawal prescription and their effects on function of the original prescription. **Method:** The mouse model of hepatic fibrosis was established by multiple subcutaneous injection of carbon tetrachloride drinking 10% alcohol water solution, feeding hyperliposis-low protein diet and treated with experiment drugs for 10 days. The activities of ALT and CHE in serum of mice were detected by enzyme method. HSC-T6 cell was activated by transforming growth factor-beta1 in vitro, effects of the prescription ingredients and withdrawal drug compatibility on the expression of

[收稿日期] 2009-10-22

[基金项目] 陕西科学技术研究发展计划项目(2006K15-G2(6))

[通讯作者] * 王胜春, Tel: (029) 84775477-8405; E-mail: wangshen@fmmu.edu.cn

[2] 谢肄聪, 唐方. 广藿香对肢体缺血 - 再灌注大鼠肠上皮细胞膜流动性的保护作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29: 639.

[3] 谢肄聪, 唐方. 广藿香挥发油对肠屏障功能的保护作用[J]. 中草药, 2009, 40: 942.

[4] Yassin MM, Barros DSa AA, Parks TG, et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury alters gastrointestinal structure and function [J]. Br J Surg, 1997, 84: 1425.

[5] 胡海燕, 彭劲甫, 黄世亮, 等. 分子蒸馏技术用于广藿香

油纯化工艺的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29: 320.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 272.

[7] 邢建峰, 封卫毅, 侯家玉. 小鼠胃排空及小肠推进实验方法的探讨[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26: 50.

[8] 王贺玲, 李岩, 白菡, 等. 理气中药对鼠胃肠动力的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12: 1136.

[9] 朱金照, 张捷, 张志坚. 藿香提取液对大鼠小肠一氧化氮合酶分布的影响[J]. 福建医药杂志, 2002, 24: 99.

Ras/ERK and TGF- β /Smad signaling pathway protein in HSC-T6 cell were observed. The expression of α -SMA, Ras, Collagen I, ERK, p-ERK, T R α , T R β , Smad2/3 were determined by western blotting. **Result:** The activity of ALT in serum of hepatic fibrosis mice was decreased by WuLing Capsules, prescription ingredients and withdrawal drug compatibility groups, while *Bupleurum chinensis DC* and *Ganoderma* group had no effects. WuLing Capsules, prescription ingredients and withdrawal drug group had different biological effect on the protein expression of α -SMA, Collagen, ERK, p-ERK, T R α , T R β , Smad2/3 in HSC-T6 cell induced by TGF- β 1. **Conclusion:** Prescription ingredients compatibility produces additive effects on WuLing Capsules therapy for hepatic fibrosis mice, they inhibit the protein expression of ERK and TGF- β 1/Smad signaling pathway in HSC-T6 by TGF- β 1 activation, subsequently influence the transcription and synthesis of collagen I in HSC-T6.

[Key words] Wuling Capsules; herbal withdrawal analysis; prescription ingredient compatibility; hepatic stellate cell

五灵胶囊 (Wuling Capsules, WL) 是治疗慢性肝炎的中药新药, 临床应用疗效显著^[1]。药理学研究表明^[2-3]; WL 能对抗化学物质所致的慢性肝损伤, 具有良好的抗肝组织纤维化、增强机体体液和细胞免疫作用。WL 组成成分为柴胡、五味子、丹参和灵芝, 通过撤药分析法^[4]在全方抗纤维化药效评价的基础上, 分别从方中撤出一味药物后进行动物和细胞学实验, 用以判断撤出的药味对原方功效影响, 本实验采用体内肝纤维化小鼠实验和转化生长因子 (Transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 诱导鼠肝星状细胞系 (HSC-T6) 表达 Ras/ERK、TGF- β /Smad 信号通路转录合成细胞外基质成分蛋白实验, 探讨五灵胶囊复方配伍内涵。

1 材料与方

1.1 动物和细胞 昆明种小白鼠, 体重 18 ~22 g, 雄性, 由第四军医大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(军)2002-005。实验室温度 (23 \pm 2 $^{\circ}$ C), 相对湿度 45% ~65%。大鼠肝星状细胞株 HSC-T6 购自长沙万百生物技术发展中心。

1.2 试验分组与药物剂量设计 按撤药析方法依次撤出一味药而分组, 五灵胶囊全方为一组, 依次撤出灵芝、柴胡、丹参分别为一组, 组成成分柴胡、五味子、丹参、灵芝各自一组, 对照组和 CCl $_4$ 共 9 组为体内试验组; 依据五灵胶囊长毒小剂量 (1.2 g \cdot kg $^{-1}$) 的 1.7 倍 (含生药 9.86 g), 受试各药物组小鼠体内给药剂量参照五灵胶囊给药剂量均为 10 g \cdot kg $^{-1}$ (以生药计)。体外实验分组细胞外调节激酶 (ERK) 阻断剂 PD98059 和 ERK + TGF- β 1 阳性试验组; 对照组和 TGF- β 1 组; 五灵胶囊组和五灵胶囊 + TGF- β 1 组; 五灵胶囊各撤药组; 组成成分组。体外试验各药

物试验组剂量依 MTT 法测定 IC $_{50}$ 浓度 100 mg \cdot L $^{-1}$ 。柴胡 + 丹参 + 五味子剂量配比为 1 : 1 : 1; 五味子 + 丹参剂量配比为 1 : 1; 全方配伍柴胡、丹参、灵芝、五味子剂量配比 1 : 1 : 0.5 : 1, 试验用药从药材公司购进。上述各药物组分和配伍组分别用 75% 乙醇提取, 回收乙醇得稠膏比重 1.35。柴胡提取物每克稠膏含生药 7.27 g; 五味子提取物每克稠膏含生药 2.24 g; 丹参提取物每克稠膏含生药 2.50 g; 灵芝提取物每克稠膏含生药 10.24 g; 五味子 + 丹参提取物每克稠膏含生药 2.26 g; 柴胡 + 丹参 + 五味子提取物每克稠膏含生药 3.42 g。

1.3 体外试验用药剂量与配制 按处方量分别称取五味子稠膏 2.23 g, 丹参 2 g, 柴胡 0.69 g, 灵芝 0.49 g, 五味子 + 丹提取物 2.21 g, 五味子 + 丹参 + 柴胡 1.46 g, 五灵胶囊 1.0 g, 加二甲基亚砷 (DMSO) 溶解制成 0.5 g \cdot mL $^{-1}$ 储备液备用。

1.4 试剂与仪器 四氯化碳 (CCl $_4$, 天津试剂二厂, 批号 20060912); 五灵胶囊 (西京医院药剂科, 批号 080601); 二甲基亚砷 (DMSO, 郑州派尼化学试剂厂, 批号 200801129); DMEM/F12 (USA. GIBCO 公司, 批号 1344177); 胎牛血清 (天津灏洋, 批号 20081010) 转化生长因子- β 1 ((transforming growth factor, TGF- β 1, USA. Roche 公司, 批号 1205209 H14406); PD98059: (USA. Promega, 批号 41539903); 丙氨酸氨基转移酶 (ALT, 批号 090521)、胆碱酯酶 (CHE, 批号 080751) 试剂盒 (中生北控生物); Mouse Ant α -平滑肌动蛋白 (α -Smooth muscle Anti, α -SMA, 批号 BM002. clone IA4)、Rabbit Anti-型胶原 (CollagenType I, COL-1, 批号 I1906)、细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular-signal regulated

proten kinase, ERK1/2, 批号 C1307)、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylaton extracellular regulated proten kinases, p-ERK1/2, 批号 G2508)、型 TGF-1 受体 (TGF- receptor type , T R , 批号 D2407)、型 TGF- 受体(TGF- receptor type , T R , 批号 D1107)、山羊抗小鼠、兔 HRP 标记 IgG (USA. Santa Cruz, 批号 78039、72756); Rabbt Anti-Smad2/3(Boster, 批号 20080710); HRP 化学发光底物(批号 0727402)、聚偏二氟乙烯(PVDF 膜, USA. Mllpore, 批号 K8KN6294L); BCA 蛋白定量试剂盒、RPAI 组织细胞裂解液(上海碧云天, NbP0013); MD-100Mini PROTEAN 电泳仪、TRANS-BLOT SD 半干/湿转膜系统(USA. Bio-Red)。

1.5 对肝纤维化小鼠血清 ALT、CHE 的影响 取健康昆明种小鼠 90 只, 适应环境 3 d 后开始试验, 随机分 9 组, 每组 10 只, 正常组 sc 生理盐水 2 mL·kg⁻¹, 其余各组小鼠 sc 2.07 mol·L⁻¹ CCl₄ 香油溶液 2 mL·kg⁻¹ 制备肝纤维化模型, 每隔 3 d 1 次, 共 3 次, 同时饲以高脂低蛋白饲料和饮用 10% 乙醇溶液, 于末次注射后次日, 正常组、模型组 ig 蒸馏水 10 mL·kg⁻¹, 各试验组 ig 剂量均为生药 10 g·kg⁻¹, 五灵胶囊 2 g·kg⁻¹。柴胡组给予柴胡 1.3 g·kg⁻¹, 丹参组给予丹参 4.0 g·kg⁻¹, 五味子组给予五味子 4.5 g·kg⁻¹, 灵芝组给予灵芝 0.97 g·kg⁻¹, 五味子 + 丹参撤药组给予五味子与丹参 4.42 g·kg⁻¹, 柴胡 + 丹参 + 五味子撤药组给予柴胡 + 丹参 + 五味子 2.92 g·kg⁻¹ 连续给药 10 d; 同时各试验组小鼠继续隔 3 d sc 2.07 mol·L CCl₄ 香油溶液 2 mL·kg⁻¹, 正常组 sc 生理盐水, 饲养条件同上, 末次给药后小鼠禁食给水, 12 h 后眼眶采血、离心, 取血清测定。

1.6 HSC-T6 细胞培养及传代 HSC-T6 细胞用 10% FBS-DMEM/F12 培养液, 接种细胞密度为 1 × 10⁵ ~1 × 10⁶, 置 37 , 5% CO₂ 培养箱中培养, 细胞贴壁 85% ~95% 时, 用 EDTA-Type 消化, 每 3 ~4 d 传代 1 次, 取对数生长期细胞用于试验。

1.7 分组给药及蛋白定量 接种 HSC-T6 于培养瓶内, 待细胞长至 70% 融合时, 同步化处理 12 h; 分 12 组依次为: 对照组、TGF-1 组、100 μmol·L⁻¹ PD98059 (PD) 组、PD98059 + TGF-1 (PT) 组、五味子组、丹参组、柴胡组、灵芝组, 五味子 + 丹参组、五味子 + 丹参 + 柴胡组、五灵胶囊 + TGF-1 组、五灵胶囊组。对照组和 TGF-1 组加 1% FBS-DMEM/

F12 培养液, 各试验药物组分别加入各药物溶液 0.1 g·L⁻¹, 培养 24 h, 除对照组、PD98059 组、五灵组外, 余下各药物组于试验结束前 12 h 时均加 0.1 μg·L⁻¹ TGF-1 至试验结束。弃上清用 PBS 洗涤, 除尽水分, 加适量 RIPA 组织细胞裂解液, 收集于 EP 管中, 4 静置 30 min、离心、BCA 蛋白定量。

1.8 Western blot 检测 调整蛋白量 30 μg 蛋白/泳道, 经 10% SDS-PAGE 电泳, 半干转膜、封闭, 分别与 -SMA, COL- , ERK, p-ERK, T R , T R , Smad2/3 一抗(1 500 ~1 000) 杂交, 4 过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1 5 000), 化学发光、显影、压片、灰度扫描: 蛋白含量水平 = 试验组目的蛋白表达灰度值/TGF-1 组目的蛋白表达灰度值的比值。

1.9 统计学处理 数据采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析, 实验结果以 (珉±s) 表示, 采用 One-Way ANOVA 分析, a=0.05 为显著检验水准。

2 结果

2.1 对小鼠血清及肝匀浆 ALT、CHE 的影响 与正常组比较, 模型组小鼠血清 ALT 活性明显升高, CHE 活性显著降低 (P < 0.05)。与模型组比较, WL、组成成分和撤方配伍组降低肝纤维化小鼠血清 ALT 活性, 同时增加 CHE 活性, 柴胡和灵芝无降 ALT 效应 (P < 0.05), 见表 1。

表 1 撤药析方对肝纤维化小鼠血清 ALT、CHE 的影响 (U·L⁻¹, 珉±s, n = 10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ALT	CHE
正常	—	4.42 ±1.82 ¹⁾	665.43 ±45.21 ¹⁾
模型	—	21.60 ±1.77	350.98 ±55.24
五味子	4.5	10.97 ±9.33 ¹⁾	686.32 ±48.60 ¹⁾
丹参	4.0	14.45 ±6.84 ¹⁾	796.10 ±52.43 ¹⁾
柴胡	1.3	21.50 ±3.42	785.47 ±38.31 ¹⁾
灵芝	0.97	17.13 ±3.32	728.50 ±32.90 ¹⁾
五 + 丹	4.42	14.43 ±3.95 ¹⁾	696.90 ±43.82 ¹⁾
五 + 丹 + 柴	2.92	12.38 ±7.49 ¹⁾	650.38 ±56.90 ¹⁾
WL	2	13.83 ±2.23 ¹⁾	755.90 ±54.51 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ P < 0.05

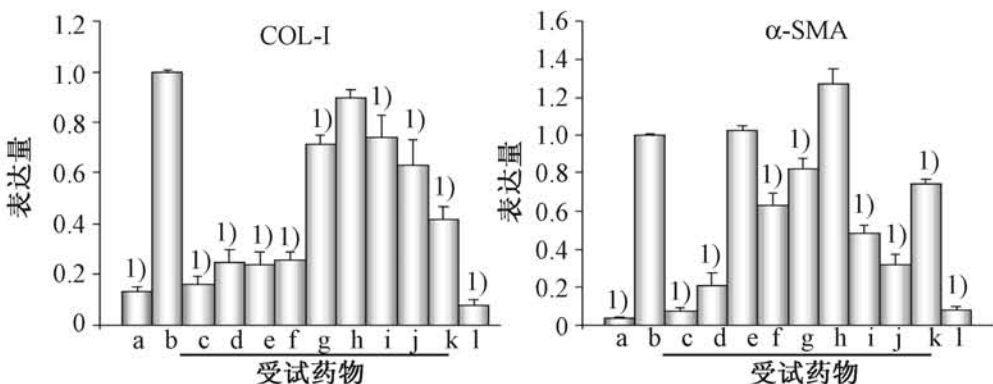
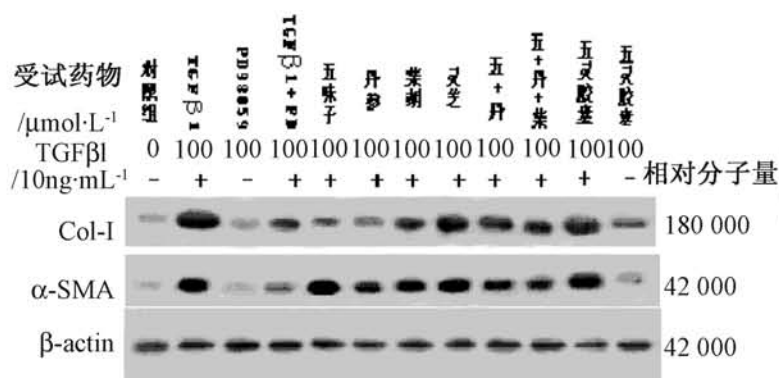
2.2 对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 COL- , -SMA 蛋白的影响 与对照组比较, TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 COL- , -SMA 蛋白明显增加 (P < 0.05)。与 TGF-1 组比较, PD98059 组与 PT 组明显降低 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 COL- (P < 0.05), WL、组成

成分和撤药组明显降低 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 COL-1 和 α -SMA ($P < 0.05$), 灵芝无降 COL-1 作用, 五味子、灵芝无降 α -SMA。见图 1。

2.3 对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 Ras, ERK, p-ERK 蛋白的影响 与对照组比较, TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 Ras、ERK、p-ERK 蛋白显著上调 ($P < 0.05$)。与 TGF-1 组比较, PD98059 明显下调 HSC-T6 表达 Ras 蛋白 ($P < 0.05$), 但 PD98059 对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 Ras 无影响; PD98059 明显下调 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 ERK, p-ERK ($P < 0.05$)。

WL、组成成分及撤药组对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 Ras, ERK, p-ERK 作用见图 2。

2.4 对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 T β R I、T β R II、Smad2/3 蛋白的影响 与对照组比较, TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 T β R I、T β R II、Smad2/3 蛋白明显上调 ($P < 0.05$)。与 TGF-1 组比较, PD98059 组与 PT 组 T β R I、T β R II、Smad2/3 蛋白表达明显下调 ($P < 0.05$); 各试验药物组均明显下调 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 T β R I、T β R II、Smad2/3 ($P < 0.05$), 图 3。



注: a = 对照组; b = TGF-1 组; c = PD98059 组; d = PD + TGF-1 组; e = 五味子; f = 丹参; g = 柴胡; h = 灵芝; i = 五味子 + 丹参; j = 五味子 + 丹参 + 柴胡; k = 五灵 + TGF-1; l = 五灵; 与 TGF-1 比较, ¹⁾ $P < 0.05$ (下同)

图 1 WL 组成成分及撤药组对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 COL-1, α -SMA 蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

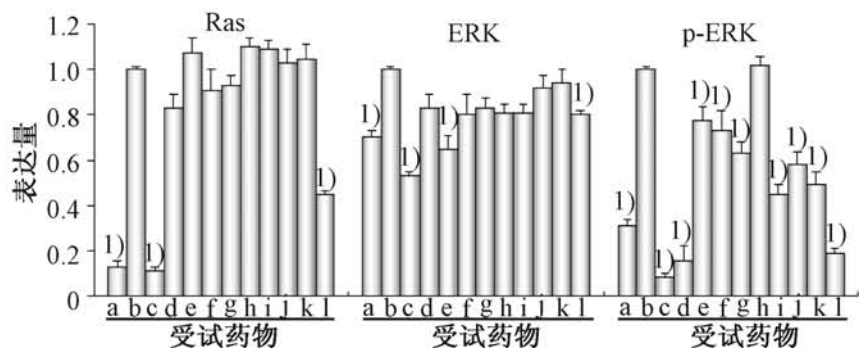
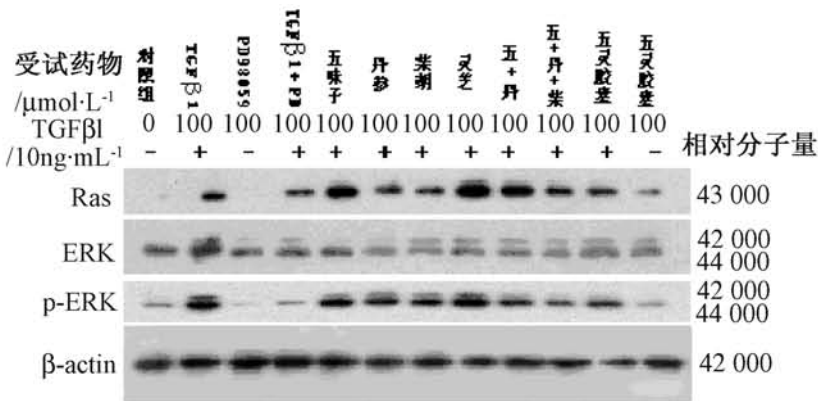


图 2 WL 组成成分及撤药组对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 Ras, ERK, p-ERK 蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

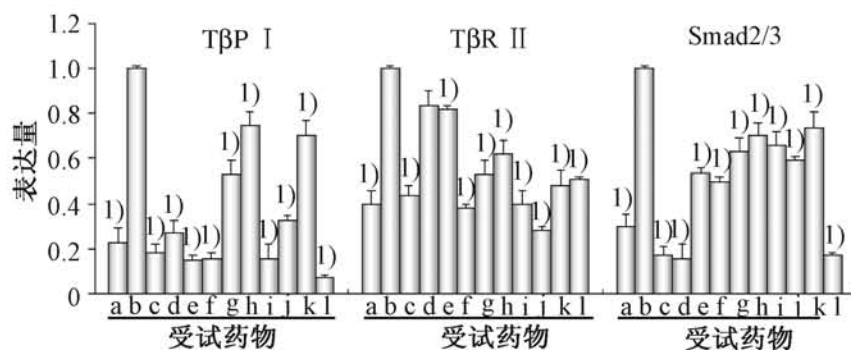
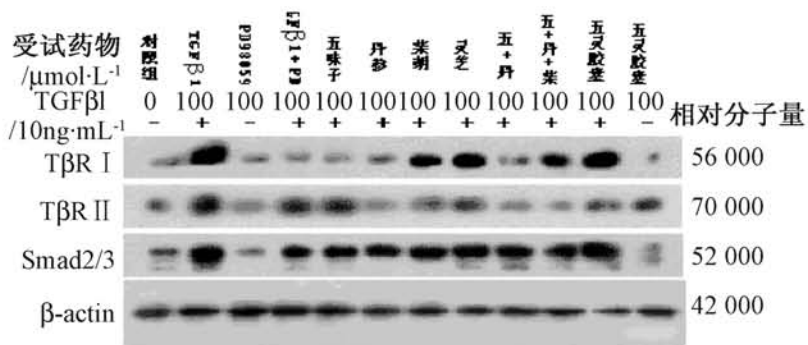


图 3 WL 组成成分及撤药组对 TGF-1 诱导 HSC-T6 表达 T β R I, T β R II, Smad2/3 蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3 讨论

实验采用撤药分析法分组, 通过肝纤维化小鼠体内降酶和鼠肝星状细胞激活后信号通路关键分子的研究, 以探讨 WL 组分及撤药组在方中的效应和对全方功效的影响。肝纤维化小鼠血清 ALT 值升高, 反映肝功合成功能的胆碱酯酶下降。WL 组成

柴胡、灵芝对 ALT 无明显作用, 递减撤药五 + 丹 + 柴、五 + 丹、五味子降低 ALT 酶作用和增加 CHE 活性无明显差异, 从就降酶而言五味子作用就可代替 3 撤药组, 各药相加并不加强对酶水平的影响。WL 中五味子量只有 2.8 g, 与 10 g 五味子的作用相当, 提示组方配伍对 WL 的降酶作用产生相加影响。

肝脏炎症损伤过程中, HSC 活化发生表型转变而具有肌成纤维细胞(MFB)的特性,使细胞外基质(ECM)-胶原蛋白合成增加,细胞收缩性增强,在肝纤维性的形成中发挥关键作用, HSC 活化是肝纤维化形成过程的中心环节^[6], α -SMA 是其活化的标志^[7]。TGF- β 1 可通过激活 Ras/ERK 信号通路促进 HSC 活化,并可调节 ECM 合成和沉积。阻断 ERK 信号通路,可降低肝脏内胶原合成^[8]。该文结果显示 TGF- β 1 诱导 HSC-T6 的 Ras, ERK, p-ERK 表达及 COL-1 含量明显增加,而 PD98059 则显著降低 p-ERK 的表达和 COL-1 的含量。WL 能够明显下调 Ras, ERK, p-ERK 的表达,提示 WL 可能通过影响 ERK 信号通路发挥治疗作用。除灵芝外, WL 组分及撤药组均可明显下调 p-ERK 表达和 COL-1 的含量。

TGF- β /Smad 信号通路在肝脏损中亦具有重要作用, TGF- β 1 先与 T β R 结合,形成复合物与 T β R 结合,磷酸化 Smad2, Smad3 与 Smad4 形成异聚体复合物积聚核内选择性地促进了靶基因转录^[7],在转录水平刺激 α 2(I) 胶原表达^[9]。试验显示 TGF- β 1 诱导 HSC-T6 活化, α -SMA 表达增加, T β R1, T β R2, Smad2/3 表达增加。本文结果显示 Ras/ERK 通路的阻断剂 PD98059 亦可显著抑制 T β R1, T β R2, Smad2/3 表达,提示在 HSC 内存在 ERK 与 Smad 信号传递途径的相互调节。WL 对 T β R1 和 T β R2 均有明显的抑制作用,表明 WL 对 TGF- β /Smad 信号通路有调控作用。撤去灵芝撤方配伍组(五+丹+柴)降低 TGF- β 1 激活 HSC 表达 T β R1 和 T β R2 作用较 WL 强,撤去灵芝和柴胡的撤方配伍组(五+丹)作用同前,下调 Smad3/2 表达各试验组之间无明显差异,提示柴胡、灵芝在抑制 TGF- β /Smad 信号通路刺激 α 2(I) 胶原表达作用要明显弱于五味子和丹参。五味子+丹参+柴胡和五味子+丹参撤方组对 T β R1 和 T β R2 磷酸化作用要较 WL 强,柴胡本身作用较弱,但配伍后其作用明显增强。

综上, WL 和撤药组对 TGF- β 1 激活 HSC 的 Ras/ERK, TGF- β /Smad 信号通路蛋白表达有明显的作用,这种作用将影响 HSC 内 COL-1 转录和分泌,

也就决定肝内 ECM 胶原蛋白代谢在肝纤维化进程中产生影响。药物组分中五味子和丹参相互配伍对两条信号通路的较强,柴胡要相对较弱,灵芝基本无效应,但灵芝在方中的效应在于增加免疫作用并调整 Th0 细胞向 Th1 和 Th2 转化过程另文发表。

[参考文献]

- [1] 孙利,周永新,连建奇.五灵胶囊治疗慢性肝炎的临床随访观察[J].第四军医大学学报,2000,21(7):905.
- [2] 蒋永培,田卫斌,刘明义,等.五灵胶囊对实验性肝硬化大鼠的影响[J].中国药房,2001,12(1):19.
- [3] 王胜春,张英志,胡咏武.五灵胶囊对 LPS 诱导枯否细胞释放细胞因子的影响[J].第四军医大学学报,2004,25(21):1947.
- [4] 赵辉平,王胜春,胡咏武.五灵胶囊对肝纤维化大鼠肝组织 TGF- β /Smad 及 Ras/ERK 信号通路蛋白的影响[J].胃肠病学和肝病杂志,2009,18(5):392.
- [5] 宋小莉,高艳青,牛欣,等.复方配伍实验设计方法评述[J].中西医结合学报,2003,1(3):177.
- [6] Guyot C, Lepreux S, Combe C, et al. Hepatic fibrosis and cirrhosis: the α 2(I) fibroblastic cell subpopulations involved[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2006, 38(2): 135.
- [7] Verrecchia F, Mauviel A. Transforming-growth-factor-beta signaling through the smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation [J]. J Invest Dermatol, 2002, 118(2): 211.
- [8] Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor β and the liver [J]. Hepatol, 2001, 34: 859.
- [9] Tsukada S, Westwick JK, Ikejima K, et al. Smad and p38 MAPK signaling pathways independently regulate α 2(I) collagen gene expression in unstimulated and transforming growth factor beta-stimulated hepatic stellate cells [J]. J Biol Chem, 2005, 280(11): 10055.
- [10] Dooley, Delvoux B, Streckert M, et al. Transforming growth factor-signal transduction in hepatic stellate cells via Smad2/3 phosphorylation, a pathway that is abrogated during in vitro progression to myofibroblasts, factor-signal transduction during transdifferentiation of hepatic stellate cells [J]. FEBS Lett, 2001, 502(1-2): 4.