

扶正祛邪方抗 ConA 模型小鼠肝损伤的作用机制

刘俊红, 朱平生*, 朱正望, 王治英
(河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] **目的:** 探讨扶正祛邪方通过对刀豆蛋白 A (ConA) 模型小鼠肝组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 凋亡因子 (Fas), 凋亡因子配体 (FasL), 巨噬细胞 (CD68) 表达的影响从而发挥对肝损伤的保护作用。**方法:** 将 60 只小鼠随机分为正常组、模型组、双环醇组 ($62.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、扶正祛邪方低、中、高剂量组 ($50.3, 67.0, 83.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。正常组和模型组给予等体积纯水, 连续 7 d。末次给药前禁食 12 h, 给药 2 h 后, 正常组尾静脉注射磷酸盐缓冲液 (PBS), 其余各组尾静脉注射 ConA ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 造模。注射 6 h 后取材, 免疫组化观测肝组织中 TNF- α , FasL, CD68 表达情况。**结果:** 与正常组比较, 模型组肝组织中 TNF- α , Fas, FasL, CD68 表达均显著升高 ($P < 0.01$), 说明肝损伤模型复制成功; 与模型组比较, 双环醇组肝组织中 TNF- α , FasL, CD68 表达均显著降低 ($P < 0.01$); 扶正祛邪方中、高剂量组肝组织中 TNF- α , Fas, FasL, CD68 表达均显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:** 扶正祛邪方可通过抑制 Kupffer 细胞和 Fas/FasL 系统的活化, 有效减少 ConA 模型小鼠肝细胞凋亡。

[关键词] 扶正祛邪方; 刀豆蛋白; 肝损伤; 免疫组化; 作用机制

[中图分类号] R2-0; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0070-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192040

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190702.1657.004.html>

[网络出版时间] 2019-07-04 09:03

Mechanism of Fuzheng Quxie Prescription Against Liver Injury of ConA Model Mice

LIU Jun-hong, ZHU Ping-sheng*, ZHU Zheng-wang, WANG Zhi-ying
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect of Fuzheng Quxie prescription on liver injury by influencing the expressions of tumor necrosis factor (TNF) - α , apoptosis factor (Fas), apoptosis factor ligand (FasL), and macrophages (CD68) in the liver tissues of concanavalin A (ConA) model mice. **Method:** The sixty mice were randomly divided into normal group, model group, bicyclol group ($62.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), and low, medium and high-dose Fuzheng Quxie prescription groups ($50.3, 67.0, 83.8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). The normal group and the model group were given the equal volume of pure water for 7 d. They were fasted for 12 hours before the last administration. At 2nd hour after the last administration, phosphate buffer (PBS) was injected into the caudal vein of the normal group, and ConA ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) was injected into the caudal vein of the other groups for modeling. The animals were put to death six hours later after the injection, and the expressions of TNF- α , Fas, FasL and CD68 in liver tissues were observed by immunohistochemistry. **Result:** Compared with normal group, the expressions of TNF- α , Fas, FasL and CD68 in the liver tissues of the model group were significantly increased ($P < 0.01$), indicating the successful replication of the liver injury model. The expressions of TNF- α , FasL and CD68 in liver tissues of the bicyclol group were significantly decreased compared with the model group ($P < 0.01$). The expressions of TNF- α , FasL and CD68 in liver tissues were significantly decreased in medium and high-dose Fuzheng Quxie prescription groups ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** Fuzheng Quxie prescription can

[收稿日期] 20190402(004)

[基金项目] 河南省高校科技创新团队支持计划项目(16IRTSTHN023);河南中医学院科技创新团队项目(2015XCXTD01)

[第一作者] 刘俊红, 副主任医师, 从事中西医结合治疗心脑血管疾病研究, E-mail: ljh9095@sohu.com

[通信作者] *朱平生, 博士, 教授, 从事中医药防治肝胆病方向研究, E-mail: zhupingsheng@126.com

effectively reduce the apoptosis of liver cells in ConA model mice by inhibiting Kupffer cells and Fas/FasL system activation.

[**Key words**] Fuzheng Quxie prescription; canavalin ConA; liver injury; immunohistochemical; mechanism

肝损伤是临床的常见疾病,可由病毒感染、过量饮酒、自身免疫性疾病或药物等多种因素引起,临床预后多不佳,甚至可能诱发肝衰竭等,严重损害人类健康^[1]。目前,现代医学还未发现治疗肝损伤的特异性药物,寻找一种安全而又疗效好的药物迫在眉睫。刀豆蛋白 A(ConA)是一种广泛使用的有丝分裂原,可以激活 T 细胞,而肝脏则是其在体内诱导毒性的靶器官^[2]。ConA 与肝窦有很好的亲和性,小鼠静脉注射 ConA 后,T 淋巴细胞随循环系统进入肝窦并在局部增殖,释放多种细胞因子。在 ConA 导致的肝损伤模型中,肝脏中的 Kupffer 细胞以及淋巴细胞或者单核细胞通过炎症反应参与损伤过程。和其他肝损伤模型相比,ConA 导致的肝损伤具有肝脏特异性和靶向性,被认为是一种更接近于人类自身免疫性肝病和病毒性肝炎病理进展的动物模型^[3-4],与自身免疫性肝病和人类病毒性肝炎非常相似。扶正祛邪方是临床经验方,常用于治疗急慢性肝损伤、病毒性肝炎等疾病,疗效确切。因此,本研究以扶正祛邪方为受试药,以 ConA 致肝损伤小鼠模型为研究对象,探讨扶正祛邪方的作用。

1 材料

1.1 动物 18~22 g Balb/c 小鼠 60 只,SPF 级,雄性,合格证号 SCXK(鲁)2014-0007,济南朋悦实验动物繁育有限公司。本实验获得河南中医药大学动物伦理委员会批准。

1.2 药物及试剂 白术、巴戟天、西洋参各 10 g,赤芍、虎杖、生薏仁、土茯苓、败酱草各 30 g,黄芪 15 g,砂仁 6 g;购自张仲景大药房。药物制备:常规水煎,浓缩至含生药量 $3.4 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,4 °C 冷藏备用;免疫组化肿瘤坏死因子- α (TNF- α),凋亡因子(Fas),凋亡因子配体(FasL),巨噬细胞(CD68)一抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号 BA0048,BA0049,BA0131,BA0461);快速免疫组化试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司,批号 180812);ConA(美国 Sigma 公司,批号 20180506)。

1.3 仪器 BX63 型全电动智能显微镜, Olympus PM-30 型控制系统, IX70 型相机(日本 Olympus 公司);HPIAS-1000 型高清晰彩色病理图文分析系统(同济大千屏影像公司)。

2 方法

2.1 动物分组 Balb/c 雄性小鼠 60 只,随机均分为正常组、模型组、双环醇组和扶正祛邪方低、中、高剂量组,每组 10 只。

2.2 给药方法 各治疗组分别按成人临床用量的 15 倍($50.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),20 倍($67.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),25 倍($83.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),给予扶正祛邪方溶液^[5],双环醇组按 $62.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予双环醇溶液;空白组和模型组给予等体积纯水,20 mL \cdot kg⁻¹ 每天 1 次,连续给药 7 d。

2.3 造模^[6-7] 小鼠末次给药前禁食 12 h,给药 2 h 后,各组动物尾静脉注射 ConA($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)造模,空白组尾静脉注射无菌磷酸盐液(PBS)。

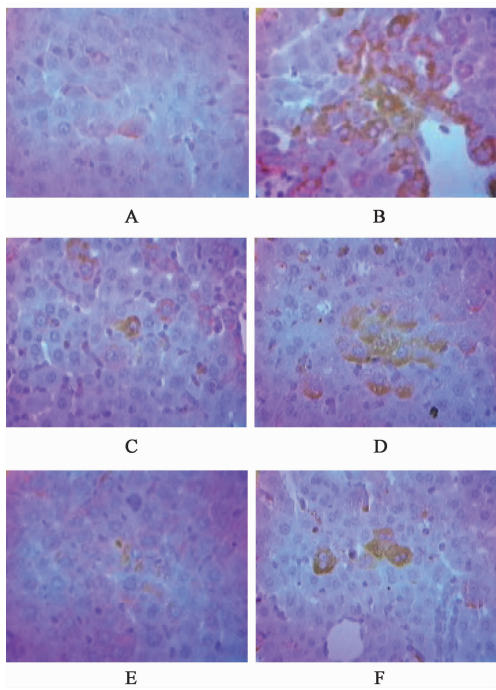
2.4 免疫组化检测肝组织中 TNF- α , Fas, FasL, CD68 的表达 ConA 注射 6 h 后杀鼠取材,切取肝右叶最厚处约 $1 \times 0.5 \times 0.2 \text{ cm}$ 肝组织 2 块,甲醛固定、脱水、包埋、切片。根据免疫组化试剂盒说明书检测肝组织中 TNF- α , Fas, FasL, CD68 的表达情况。

2.5 统计学方法 实验中的数据采用 SPSS 21.0 软件统计处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对各组小鼠肝组织中 TNF- α 表达的影响 正常组汇管区个别肝细胞胞浆中有少量表达,模型组汇管区及肝窦旁肝细胞胞浆中表达显著增多,各给药组表达明显减少。与正常组比较,模型组肝组织中的 TNF- α 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,双环醇组、扶正祛邪方中、高剂量组肝组织中的 TNF- α 水平均显著降低($P < 0.01$);各给药组间比较,扶正祛邪方高剂量组肝组织中的 TNF- α 水平显著减少($P < 0.01$),说明扶正祛邪方高剂量能更好的降低肝组织中的 TNF- α 水平。见图 1,表 1。

3.2 对各组小鼠肝组织中 Fas, FasL 表达的影响 正常组肝组织中 FasL 不表达,而 Fas 散在的少量表达;模型组肝组织 Fas, FasL 均明显增多,表达广泛且呈弥漫性分布,在淋巴细胞浸润区周围较明显。Fas 抗原主要是在肝细胞浆内表达的棕黄色颗粒,不规则的散在分布于肝细胞表面及肝窦内皮细胞表面;FasL 在胞浆大量表达,胞膜表达较少。FasL



A. 正常组; B. 模型组; C. 双环醇组; D. 扶正祛邪方低剂量组; E. 扶正祛邪方中剂量组; F. 扶正祛邪方高剂量组(图 2~4 同)

图 1 扶正祛邪方对各组小鼠肝组织中 TNF- α 表达情况的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of Fuzheng Quxie prescription on TNF- α expression in liver tissues of mice in each group (IHC, $\times 400$)

表 1 扶正祛邪方对各组小鼠肝组织中 TNF- α , Fas, FasL, CD68 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Fuzheng Quxie prescription on TNF- α , Fas, FasL, CD68 expression in liver tissues of mice in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α	Fas	FasL	CD68
正常	10	-	360.48 \pm 111.21	710.48 \pm 194.15	0	90.78 \pm 22.03
模型	8	-	6 380.22 \pm 1 224.22 ¹⁾	4 421.29 \pm 1 281.59 ¹⁾	2 160.45 \pm 461.58 ¹⁾	2 135.09 \pm 517.46 ¹⁾
双环醇	10	0.062 5	4 656.03 \pm 1 285.93 ³⁾	4 391.70 \pm 1 091.23	1 618.54 \pm 366.09 ³⁾	1 328.47 \pm 370.34 ³⁾
扶正祛邪方	8	50.3	5 937.53 \pm 1 316.48	3731.20 \pm 995.51	2 143.79 \pm 499.61	1 889.35 \pm 499.72
	10	67.0	4 717.90 \pm 1 251.61 ³⁾	3 626.48 \pm 936.76	1 741.10 \pm 509.08 ²⁾	1 598.93 \pm 439.84 ²⁾
	10	83.8	1 775.15 \pm 496.12 ³⁾	2 088.71 \pm 567.42 ³⁾	1 196.00 \pm 353.67 ³⁾	994.04 \pm 265.31 ³⁾

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

各给药组间比较,扶正祛邪方高剂量组肝组织中的 CD68 水平显著减少($P < 0.01$),说明扶正祛邪方高剂量能更好的降低肝组织中的 CD68 水平。见图 4, 表 1。

4 讨论

近年来,中医药对于肝损伤的治疗取得了一定的进展,受到越来越广泛的关注。中医学认为,本病的病因多为素体虚弱,或情志失调,或饮食不当,或体虚劳倦,复外感湿热邪毒所致。本病发生的关键在于脏腑和气血的虚损,主要涉及肝、脾、肾三脏。

集中表达于中央静脉周围,肝小叶中也存在大量表达。连续切片观察发现, FasL 不仅在淋巴细胞表达,在肝细胞也有大量表达。与正常组比较,模型组肝组织中的 Fas, FasL 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,双环醇组肝组织中的 Fas 水平差异无统计学意义,而 FasL 水平显著降低($P < 0.01$);扶正祛邪方高剂量组肝组织中的 Fas, FasL 水平显著降低($P < 0.01$);扶正祛邪方中剂量组肝组织中的 Fas 水平差异无统计学意义,而 FasL 水平明显降低($P < 0.05$);扶正祛邪方低剂量组肝组织中的 Fas, FasL 水平差异无统计学意义。说明扶正祛邪方高剂量能更好的降低肝组织中的 Fas, FasL 水平。见图 2, 3 及表 1。

3.3 对各组小鼠肝组织中 CD68 表达的影响 正常组肝组织中 CD68 细胞(巨噬细胞)轻度表达,主要在汇管区附近的肝窦内,少量在中央静脉周围的肝窦内表达;模型组肝组织中的表达则明显增多,尤其是中央静脉周围的肝窦内(阳性 Kupffer 细胞胞浆呈棕黄色,星形或梭形)。与正常组比较,模型组肝组织中的 CD68 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,双环醇组、扶正祛邪方中、高剂量组肝组织中的 CD68 水平均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);

虽然发病原因很多,但其病理性质总属本虚标实,病机为湿热瘀阻。故立益气健脾,清热利湿,解毒化瘀之治法。方中西洋参有补气养阴,清热生津之功,可以通过平衡机体免疫反应从而提高机体免疫力,也可以保护肝脏,增强肝脏解毒功能^[8];黄芪补气升阳,大补脾胃之元气,具有保护肝脏,促进免疫细胞功能,增强免疫调节等作用^[9-10];白术益气健脾燥湿,有明显的促进免疫、抗氧化、抗肿瘤、增强免疫活性的作用^[11-12];薏苡仁渗利湿热,健脾益气,能抗肿瘤、抗炎、增强机体免疫功能等^[13-14]。综合本方药物的功效与现代药理,扶正与祛邪兼顾,表明该方有

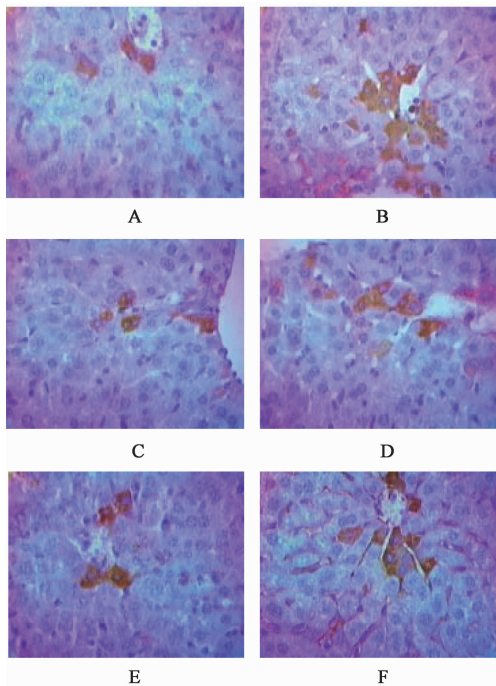


图 2 扶正祛邪方对各组小鼠肝组织中 Fas 表达情况的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 2 Effect of Fuzheng Quxie prescription on Fas expression in liver tissues of mice in each group(IHC, ×400)

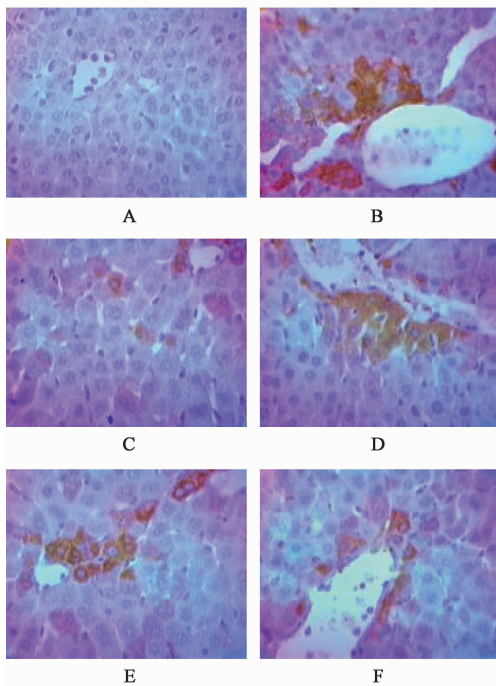


图 3 扶正祛邪方对各组小鼠肝组织中 FasL 表达情况的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 3 Effect of Fuzheng Quxie prescription on FasL expression in liver tissues of mice in each group(IHC, ×400)

保肝抗炎,调节免疫功能等作用。中西合参,该方无论从中医组方和药效,还是从现代药理学的中药研

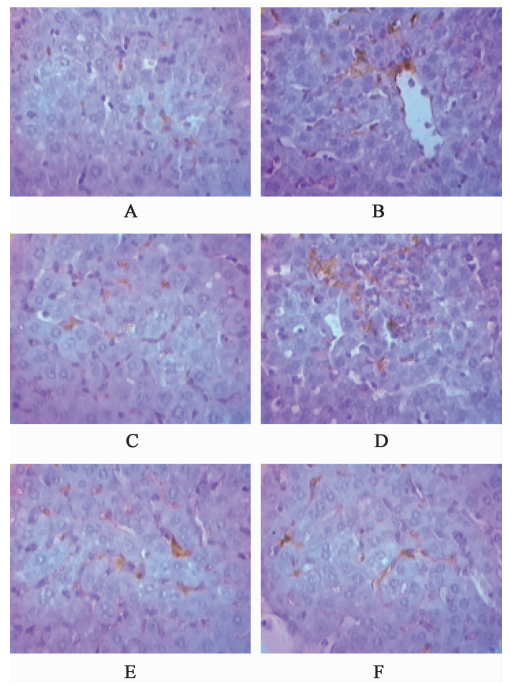


图 4 扶正祛邪方对各组小鼠肝组织中 CD68 表达情况的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 4 Effect of Fuzheng Quxie prescription on CD68 expression in liver tissues of mice in each group(IHC, ×400)

究,均恰中本病的病理机制,符合衷中参西的组方理论。

细胞凋亡与细胞毒性 T 细胞(CTL)有关,而 CTL 介导的肝细胞凋亡是早期肝损伤的机制之一^[15]。ConA 诱导的肝损伤在形态学上主要表现为肝细胞的凋亡和坏死,且以凋亡的表现更为突出。因此,本实验采用 ConA 复制肝损伤动物模型可以更好的模拟此病理进程。FasL 是肿瘤坏死因子(TNF)超家族中的一员,是一种 II 型跨膜糖蛋白,主要集中在活化的 T 淋巴细胞表面^[16],尤其是 CD₄⁺Th1 亚群。此外,其也可以表达在例如眼、睾丸等一些免疫豁免区。与 FasL 相应的受体为 Fas(CD95),可以接收 FasL 传达的死亡信号,Fas 与 Fas 配体(FasL)结合,从而诱导表达 Fas 的细胞凋亡^[17]。Fas 广泛分布于全身的淋巴细胞、胆道细胞、卵巢细胞、内皮细胞、皮肤组织细胞等,在某些活化的细胞中也会有少量的表达^[18]。而 Fas 和穿孔素通路是 T 细胞介导的细胞毒性作用的两个重要机制^[19]。Fas 过程可以分为 2 个步骤,首先效应细胞(T 细胞)通过 T 细胞受体(TR)识别携带可致敏抗原靶细胞的组织相容性抗原(MHC),并激活表达 FasL,成为 CTL;然后靶细胞表面的 Fas 特异性的结合 FasL,激活靶细胞内的死亡过程,从而杀死受感染的

细胞^[20]。

本研究采用免疫组化观察了 FasL 在正常小鼠肝组织和 ConA 诱导的肝损伤模型中的表达,在正常小鼠肝组织中没有发现 FasL 的表达;而在 ConA 诱导的肝损伤模型中,FasL 的表达增加。连续切片观察表明,FasL 不仅在淋巴细胞中表达,而且也较多的在肝细胞表达。说明该模型所诱导的肝损伤与 Fas/FasL 系统密切相关。

实验中观察到 ConA 诱导肝损伤时主要在肝细胞上表达 FasL,而表达 FasL 的 T 细胞较少,说明 Fas 系统的激活不仅取决于 CTL,还依赖于肝细胞本身,这表明除了众所周知的由 CTL 介导的免疫病理^[19]之外,ConA 诱导的肝损伤机制还有其他的的可能性^[21],细胞表面的 Fas 与其自身分泌的 FasL 相结合,导致细胞凋亡(自分泌模式);细胞外可溶性的 FasL 结合其他肝细胞表面的 Fas,导致细胞凋亡(旁分泌模式);通过膜结合方式表达在肝细胞表面的 FasL,与肝细胞表面的 Fas 结合,引起肝细胞间的相互杀伤;其机制与酒精性肝炎相似。此外,表达在细胞表面的 FasL 可以杀死 Fas⁺ 的肝细胞,如 T 细胞,这在肿瘤逃避机体的免疫中也很常见。

通过本研究可以发现,尾静脉注射 ConA 的小鼠肝组织损伤严重,Fas 和 FasL 抗原阳性细胞数量较多,表达较强;但提前给予扶正祛邪方和双环醇后,小鼠肝组织损伤明显减轻,Fas 和 FasL 抗原阳性细胞的数量明显减少,与模型组相比,扶正祛邪方中、高剂量组对 FasL 的抑制均有统计学意义,以扶正祛邪方高剂量组最为显著。说明扶正祛邪方可以抑制 Fas/FasL 的表达,防止肝细胞被 CTL 杀伤,从而阻止 ConA 诱导的肝细胞凋亡,这可能是扶正祛邪方治疗肝损伤的作用机制之一。

在 ConA 诱导的肝损伤模型中,与 Fas/FasL 系统介导的肝细胞凋亡相比,TNF- α 介导的肝细胞凋亡则更为重要^[22-23]。从本实验可以发现,TNF- α 在正常组汇管区一些肝细胞的胞浆中有少量的表达,而模型组小鼠肝组织汇管区及肝窦附近的肝细胞胞浆中表达显著增加,明显不同于正常组;与模型组相比,扶正祛邪方高、中剂量组均能明显降低小鼠肝组织中 TNF- α 的表达。

CD68 抗原是巨噬细胞 (M ϕ) 在多种组织中的标记物,可用于识别肝脏中的枯否细胞 (KC)^[24-26]。浸润的 M ϕ 和 KC 同属于 CD68 阳性细胞^[27],实验中通过免疫组化染色发现,位于血管中,胞质比较丰富,呈类圆形或卵圆形的为浸润的 M ϕ ;而 KC 多是

星形或梭形,位于肝窦内^[28]。本实验通过 CD68 来检测 KC 的数量和分布,结果发现 CD68 细胞在正常组小鼠肝组织中有轻度表达,主要分布在汇管区附近的肝窦内,位于中央静脉周围的肝窦则非常少见。与正常组相比,模型组肝组织中则明显增多,尤其是在中央静脉周围的肝窦内更为明显 (KC 呈星形或梭形,胞浆为棕黄色),两组间有显著的差异。而与模型组比较,扶正祛邪方高、中剂量组和双环醇组都有明显降低小鼠肝组织中 CD68 表达的作用,其中扶正祛邪方高剂量最为明显。

由此可见,扶正祛邪方可通过抑制 Kupffer 细胞和 Fas/FasL 系统的活化,从而有效减少 ConA 模型小鼠肝细胞凋亡。

[参考文献]

- [1] 卢春远,林兴,黄权芳,等. 山芝麻酸甲酯对 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤的作用及其机制的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):141-147.
- [2] 赵燕平,冯彩珠,付昌隆,等. 破壁灵芝孢子粉对 ConA 诱导免疫性肝损伤模型小鼠血清 ALT、AST 水平及肝组织炎症程度的影响[J]. 浙江中西医结合杂志,2017,27(9):760-762,831.
- [3] 汪蕾,Nuriza R,高天慧,等. 印尼姜黄对刀豆球蛋白 A 所致小鼠肝损伤的保护作用及其影响 TGF- β_1 /Smad 通路的机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):127-133.
- [4] Christen U. Animal models of autoimmune hepatitis[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2018,1865(5):970-981.
- [5] 蔡庆春,朱平生. 扶正祛邪方抗 Con A 模型小鼠肝损伤的凋亡机制[J]. 中国中医基础医学杂志,2015,21(8):952-954,969.
- [6] 赵晨翔,张雅敏,刘宏胜,等. 山茱萸总苷对刀豆蛋白 A 诱导免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中华中医药学刊,2017,35(8):1968-1971.
- [7] 赵晨翔,张雅敏,刘宏胜,等. 保肝合剂对急性免疫性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中成药,2017,39(6):1144-1148.
- [8] 林红强,李平亚,刘金平. 野生西洋参鉴别、化学成分及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(12):2157-2162.
- [9] 王珏,李琴,李颖. 黄芪总皂苷对 CCl₄ 诱导急性肝损伤小鼠保护作用及机制初探[J]. 中药药理与临床,2018,34(6):70-73.
- [10] 赵延龙. 中药黄芪的临床应用及药理作用分析[J]. 中医临床研究,2018,10(11):128-129.
- [11] 钱隆,刘洋,李冰心,等. 白术多糖可能通过 Toll 样受

- 体 4 信号通路缓解环磷酸腺苷诱导的雏鹅肝脏损伤 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(2): 764-774.
- [12] SUN W J, MENG K, QI C H, et al. Immune-enhancing activity of polysaccharides isolated from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. Carbohydr Polym, 2015, 126: 91-96.
- [13] 李颖硕, 汪琼, 杨楠楠, 等. 薏苡化学成分及药理活性研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(7): 114-121.
- [14] 梁欣妍, 丁筑红. 薏苡仁油对消化系统肿瘤的药理作用及临床应用 [J]. 实用医学杂志, 2017, 33(1): 159-161.
- [15] 张辉艳, 张绪清. 糖皮质激素阻止肝衰竭发生与发展的机制 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2016, 25(5): 481-484.
- [16] 王海颖, 张晋军, 张艳敏, 等. 芍药红花煎剂对肝损伤细胞氧自由基及凋亡因子影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(6): 1348-1350.
- [17] 廖纬琳, 陈国忠, 苏洪佳, 等. 七方胃痛颗粒对胃癌细胞中 Fas/FasL 通路的影响 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(8): 1804-1807.
- [18] Erdogan M, Kulaksizoglu M, Ganidagli S, et al. Fas/Fas L gene polymorphism in patients with Hashimoto's thyroiditis in Turkish population [J]. J Endocrinol Invest, 2017, 40(1): 77-82.
- [19] 郭存丽, 毕玉美, 刘钊, 等. 肝细胞肝癌患者外周血 CD8⁺T 淋巴细胞凋亡相关机制探讨 [J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(14): 2151-2155.
- [20] 霍亮, 骆杨, 许家亮. 肝细胞癌中 Ki-67 和 FasL 的表达关系及临床意义 [J]. 肝脏, 2018, 23(12): 1119-1123.
- [21] 伏建峰, 史清海, 路西春. 细胞凋亡及其相关因素在酒精性肝病中的作用 [J]. 肝脏, 2006, 11(1): 59-60.
- [22] Hermenean A, Mariasiu T, Navarro-González I, et al. Hepatoprotective activity of chrysin is mediated through TNF- α in chemically-induced acute liver damage: an *in vivo* study and molecular modeling [J]. Exp Ther Med, 2017, 13(5): 1671-1680.
- [23] 李可英, 刘英, 周永芹. 自身免疫性肝炎的相关免疫病理机制 [J]. 生命的化学, 2018, 38(4): 534-542.
- [24] 刘莹, 刁波, 王刚, 等. 大鼠肝纤维化进程中原代 Kupffer 细胞吞噬能力及表型变化特征研究 [J]. 免疫学杂志, 2019, 35(3): 213-218.
- [25] 朱雪, 李珂, 陈宪海, 等. 玉屏风散对煤烟相关可吸入颗粒物致肺损伤模型小鼠免疫功能的干预作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 103-109.
- [26] Alfonso R N, Melania G H, Beatriz M F, et al. Phenotypic characterization of macrophages from rat kidney by flow cytometry [J]. J Vis Exp, 2016, doi: 10.3791154599.
- [27] Gomez P E, Klapproth K, Schulz C, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors [J]. Nature, 2015, 43(9): S64-S64.
- [28] 王建文, 张一帆, 李玉凤, 等. Colgalt2 基因敲除小鼠 Kupffer 细胞形态及亚型差异 [J]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2016, 8(2): 58-62.

[责任编辑 孙丛丛]