

4-羟基苯并噁唑-2-酮对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的改善作用及机制研究[△]

黄秀昆*, 孙雪梅, 朱勋帅, 刘林, 林兴, 林军[#](广西医科大学药学院, 南宁 530021)

中图分类号 R575;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)06-0747-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.06.06

摘要 目的:观察4-羟基苯并噁唑-2-酮(HBOA)对四氯化碳(CCl₄)诱导大鼠肝纤维化的改善作用及其机制。方法:将雄性SD大鼠随机分为正常对照组、模型组、秋水仙碱组(阳性对照,0.4 mg/kg)和HBOA低、中、高剂量组(50、75、100 mg/kg),每组12只。除正常对照组大鼠灌胃等体积生理盐水外,其余各组大鼠均灌胃50% CCl₄-橄榄油溶液(2 mL/kg,首剂量加倍),每周2次,连续12周,复制肝纤维化模型。自建模第9周起,各给药组大鼠均灌胃相应药物,正常对照组和模型组大鼠均灌胃等体积0.6%羧甲基纤维素钠溶液,每天1次,连续4周。末次给药后,检测各组大鼠血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-10的含量以及肝组织中核因子 κ B p65(NF- κ B p65)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-6、细胞间黏附因子1(ICAM-1)蛋白的表达水平。结果:与正常对照组比较,模型组大鼠肝组织中NF- κ B p65阳性表达明显增多,且其血清ALT、AST、IL-1 β 含量以及肝组织中NF- κ B p65、TNF- α 、IL-6、ICAM-1蛋白表达水平均显著升高,血清IL-10含量显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,各给药组大鼠肝组织中NF- κ B p65阳性表达均有不同程度的减弱,且其血清ALT、AST、IL-1 β 含量以及肝组织中NF- κ B p65、TNF- α 、IL-6、ICAM-1蛋白表达水平均显著降低,血清IL-10含量均显著升高($P<0.05$)。结论:HBOA对CCl₄致大鼠肝纤维化具有一定的改善作用,其作用机制可能与其阻断NF- κ B信号通路继而减轻炎症反应以及下调ICAM-1蛋白的表达有关。

关键词 4-羟基苯并噁唑-2-酮;肝纤维化;核因子 κ B信号通路;炎症因子;细胞间黏附因子;大鼠

Study on Improvement Effect and Mechanism of 4-hydroxy-2-benzoxazolone on Carbon Tetrachloride-induced Hepatic Fibrosis in Rats

HUANG Xiukun, SUN Xuemei, ZHU Xunshuai, LIU Lin, LIN Xing, LIN Jun (College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the improvement effect and mechanism of 4-hydroxy-2-benzoxazolone (HBOA) on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. METHODS: Male SD rats were randomly divided into normal control group, model group, colchicine group (positive control, 0.4 mg/kg) and HBOA low-dose, medium-dose and high-dose groups (50, 75, 100 mg/kg), with 12 rats in each group. Except for normal control group was given constant volume of normal saline intragastrically, other groups were given 50% CCl₄-olive oil solution (2 mL/kg, initial dose double) intragastrically, twice a week, for consecutive 12 weeks, to induce hepatic fibrosis model. Since the 9th week of modeling, administration groups were given relevant medicine intragastrically. Normal control group and model group were given constant volume of 0.6% Carboxymethylcellulose sodium solution intragastrically, once a day, for consecutive 4 weeks. After last administration, the serum contents of ALT, AST, IL-1 β and IL-10, the protein expression of NF- κ B p65, TNF- α , IL-6 and ICAM-1 in liver tissue were determined. RESULTS: Compared with normal control group, the positive expression of NF- κ B p65 in liver tissue was increased significantly in model group; serum contents of ALT, AST and IL-1 β as well as protein expression of NF- κ B p65, TNF- α , IL-6 and ICAM-1 in liver tissue were increased significantly, while serum content of IL-10 was decreased significantly ($P<0.05$). Compared with model group, the positive expression of NF- κ B p65 in liver tissue were decreased to different extents in administration groups; serum contents of ALT, AST and IL-1 β as well as protein expression of NF- κ B p65, TNF- α , IL-6 and ICAM-1 in liver tissue were decreased significantly, while serum content of IL-10 was increased significantly ($P<0.05$). CONCLUSIONS: HBOA can improve carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats, and the mechanism of which may be associated with relieving inflammatory reaction by blocking NF- κ B signaling pathway and down-regulating the protein expression of ICAM-1.

KEYWORDS 4-hydroxy-2-benzoxazolone; Hepatic fibrosis; NF- κ B signaling pathway; Inflammatory factors; ICAM; Rats

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81660106)

* 硕士研究生。研究方向:中药药理学。电话:0771-5302433。

E-mail:hxk615386@163.com

[#] 通信作者:教授,博士。研究方向:中药药理学。电话:0771-

5302433。E-mail:junlin898@126.com

肝纤维化是一种动态的双向进程,具有恢复和重塑的内在能力,其主要机制与肝细胞的重复损伤、炎症反应的激活以及肝星状细胞的活化、增殖有关^[1]。其中,肝细胞损伤和炎症反应可刺激肝星状细胞分泌大量细胞

外基质(ECM),导致胶原沉积,进一步激化肝纤维化进程^[1];同时当受到持续性损伤时,肝会产生一系列慢性炎症反应促进肝纤维化的形成,并促使肝纤维化最终进展为肝硬化^[2]。近年来,肝硬化的病死率逐年增高,已成为全球患者发病和死亡的主要原因之一^[3]。因此,探索减轻肝损伤、抑制慢性炎症反应的方法对进一步阐明肝纤维化的机制具有非常重要的临床意义。

老鼠筋(*Acanthus ilicifolius* L.)是一种重要的药用红树林植物,我国民间主要用以治疗急慢性肝炎、淋巴结肿胀、肝脾肿大、胃痛、咳嗽、哮喘等症^[4]。本课题组前期研究发现,老鼠筋的药理活性成分主要为老鼠筋生物碱,具有显著的抗炎、镇痛和保肝作用^[5]。4-羟基苯并噁唑-2-酮(4-hydroxy-2-benzoxazolone,以下简称“HBOA”)是老鼠筋生物碱中的活性单体之一。为了进一步明确该化合物对肝的保护作用,本研究拟建立四氯化碳(CCl₄)诱导的大鼠肝纤维化模型,探讨其抗肝纤维化的可能机制,以期为其后续深入研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

7100型全自动血生化分析仪(日本Hitachi公司);BX53型正置显微镜(日本Olympus公司);5810R型高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);SpectraMaxPlus384型连续光谱扫描式酶标仪(香港分子仪器有限公司);Odyssey型双色红外荧光扫描成像系统(美国Licor公司);SWB-20L-1型恒温摇床、MP-300V型电泳仪(美国Major Science公司)。

1.2 药品与试剂

HBOA原料药(由广西医科大学药学院药物化学教研室合成,纯度:99.4%);秋水仙碱片(阳性对照,云南植物药业有限公司,批号:20160901,规格:0.5 mg);羧甲基纤维素钠、CCl₄均购自西陇化工股份有限公司;丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为C009-3、C010-3);白介素1 β (IL-1 β)、IL-10酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为CK-E30418R、CK-E30651R);兔GAPDH单克隆抗体(美国Abcam公司,批号:ab181602);山羊抗兔IgG二抗(美国LI-COR Biosciences公司,批号:P/N926-32211);兔细胞核因子 κ B p65(NF- κ B p65)单克隆抗体(美国Cell Signaling Technology公司,批号:8242s);兔抗大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)抗体、兔IL-6多克隆抗体、兔细胞间黏附因子1(ICAM-1)多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司,批号分别为PB0082、A00102-2、BA2189);通用型链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶连结(SP)检测试剂盒(含正常山羊血清封闭液、生物素标记的山羊抗兔IgG二抗和辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液,北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:SP-9000);十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液、RIPA

裂解液、二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物科技有限公司,批号分别为P0015、P0013B、P0010S);三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(TBST)溶液(北京索莱宝科技有限公司,批号:T1082);聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(德国Merck Millipore公司,批号:IS-EQ00010);苏木精、伊红染液以及二氨基联苯胺溶液均由广西医科大学实验中心免疫组化实验室配制;其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

SPF级雄性SD大鼠77只,5周龄,体质量为(180 \pm 20)g,由广西医科大学实验动物中心提供[动物使用许可证号:SYXK(桂)2014-0003]。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

所有大鼠均在标准环境下适应性饲养1周,其中12只大鼠设为正常对照组,灌胃等体积生理盐水;其余65只大鼠均灌胃50%CCl₄-橄榄油溶液(2 mL/kg,首剂量加倍),每周2次,连续12周以复制肝纤维化模型^[6]。造模第8周,随机选取5只造模大鼠的肝组织进行苏木精-伊红(HE)染色,行病理学检查,若大鼠肝细胞水肿明显、脂肪变性广泛,肝窦和汇管区可见炎症细胞浸润和纤维组织增生等病理改变,则表明模型复制成功。将其余60只大鼠随机分为模型组、秋水仙碱组(0.4 mg/kg,剂量设置参考本课题组前期研究结果^[7];以水为溶剂)以及HBOA低、中、高剂量组(50、75、100 mg/kg,剂量设置参考本课题组前期研究成果^[7];以0.6%羧甲基纤维素钠溶液为溶剂,并于临用前配制),每组12只。自造模第9周开始,各给药组大鼠均灌胃相应药物,正常对照组和模型组大鼠均灌胃等体积0.6%羧甲基纤维素钠溶液,每天1次,连续4周。

2.2 标本的采集及处理

末次给药后,用10%水合氯醛麻醉大鼠,于腹主动脉取血,以35 000 r/min离心15 min后,分离血清。取血后处死大鼠,取肝适量,用生理盐水清洗干净。上述样品均置于-80℃冰箱中保存,备用。

2.3 大鼠血清中ALT、AST、IL-1 β 、IL-10含量的检测

采用速率法以全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中ALT、AST含量,采用ELISA法以酶标仪检测各组大鼠血清中IL-1 β 、IL-10含量,严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.4 大鼠肝组织中NF- κ B p65、TNF- α 、IL-6、ICAM-1蛋白表达的检测

采用免疫组化法检测大鼠肝组织中NF- κ B p65蛋白的表达情况,参照SP检测试剂盒及相应抗体说明书操作:将大鼠肝组织切片(厚度约为4~5 μ m),经常规脱蜡、水化后,行高压抗原热修复,滴加正常山羊血清封闭液,室温封闭20 min,甩除多余液体,滴加NF- κ B p65单克隆抗体(1:1 000),4℃孵育过夜,以磷酸盐缓冲液

(PBS, pH 7.4, 下同)清洗3次,每次5 min;滴加相应生物素标记的山羊抗兔IgG二抗(1:10 000),滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液适量,室温孵育30 min,以PBS清洗3次,每次5 min,用二氨基联苯胺溶液显色,用水清洗,经苏木精复染、脱水、透明、干燥后,以中性树脂封片,置于显微镜下观察(棕黄色区域为NF-κB p65表达阳性),每张切片随机选取5个高倍视野(×400),采用Image Pro-plus 6.0软件分析并计算其平均光密度,以表示NF-κB p65蛋白的表达量。

采用蛋白免疫印迹法(Western blotting)检测大鼠肝组织中TNF-α、IL-6、ICAM-1蛋白的表达。使用RIPA裂解液提取大鼠肝组织蛋白后,采用BCA法检测其蛋白含量并调节蛋白浓度,按体积比4:1的比例加入5×SDS-PAGE蛋白上样缓冲液,于95℃变性8 min,取变性后的蛋白样品20 μg进行SDS-PAGE电泳,并于电泳后以湿转法转移至PVDF膜上,用5%脱脂奶粉室温封闭1 h,分别加入相应一抗[TNF-α(1:500)、IL-6(1:400)、ICAM-1(1:200)、GAPDH(1:10 000)],4℃孵育过夜,以TBST溶液清洗3次,每次5 min;加入相应二抗(均为1:10 000),室温孵育1 h后,取出,以TBST溶液清洗3次,每次5 min,置于荧光扫描成像系统上成像,采用Image Pro-plus 6.0软件分析蛋白条带灰度值,以GAPDH为内参,计算目的蛋白的相对表达量。

2.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠血清ALT、AST、IL-1β、IL-10含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清ALT、AST、IL-1β含量均显著升高,IL-10含量显著降低,差异均有统计学意义(P<0.05);与模型组比较,各给药组大鼠血清ALT、AST、IL-1β含量均显著降低,IL-10含量均显著升高,差异均有统计学意义(P<0.05),详见表1。

表1 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠血清ALT、AST、IL-1β、IL-10含量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 1 Effects of HBOA on serum contents of ALT, AST, IL-1β and IL-10 in carbon tetrachloride-induced liver fibrosis rats($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	ALT, U/L	AST, U/L	IL-1β, ng/L	IL-10, ng/L
正常对照组	69.67±3.01	128.33±9.22	5.13±0.40	25.09±0.88
模型组	1 200.17±240.34*	1 228.67±347.75*	17.10±1.94*	10.00±0.93*
秋水仙碱组	289.33±19.08*	370.83±62.20*	8.85±0.44*	13.00±1.09*
HBOA低剂量组	310.33±25.23*	450.17±29.64*	11.17±1.02*	13.49±0.51*
HBOA中剂量组	257.67±35.93*	397.00±61.69*	8.83±0.57*	15.16±1.20*
HBOA高剂量组	224.50±38.79*	244.50±66.65*	7.94±0.11*	24.01±0.86*

注:与正常对照组比较,*P<0.05;与模型组比较,*P<0.05

Note: vs. normal control group, *P<0.05; vs. model group, *P<0.05

3.2 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织NF-κB p65蛋白表达的影响

正常对照组大鼠肝组织中NF-κB p65蛋白呈极弱阳性表达,仅有少量分布于肝窦周围、肝细胞及汇管区血管壁,且显色较浅。与正常对照组比较,模型组大鼠肝小叶、肝窦周围、肝细胞、血管壁等均可见深着色阳性表达区,汇管区、纤维间隔区亦可见片状融合,且其NF-κB p65蛋白表达量显著升高,差异有统计学意义(P<0.05)。与模型组比较,各给药组大鼠肝组织着色区缩小、显色变浅,且其NF-κB p65蛋白表达量均显著降低,差异均有统计学意义(P<0.05),详见图1、表2。

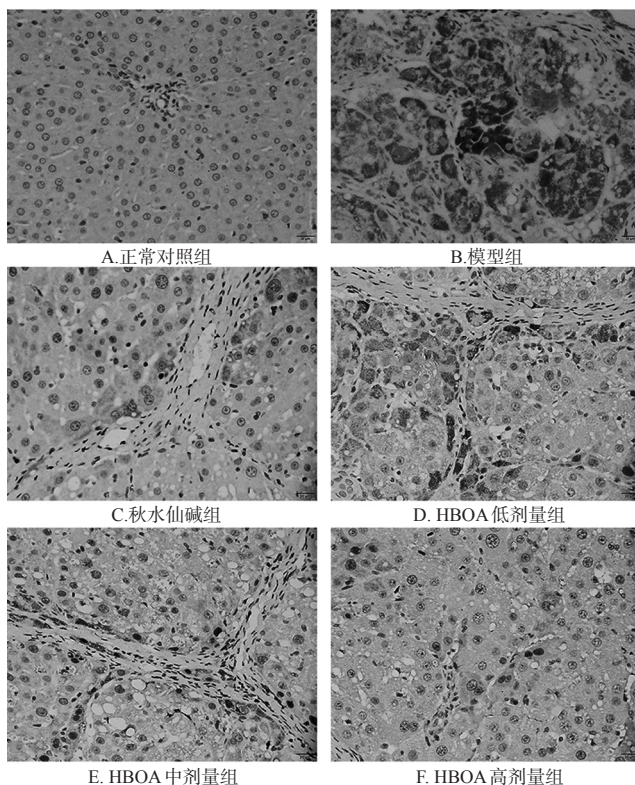


图1 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织NF-κB p65蛋白表达的影响(免疫组化法,×400)

Fig 1 Effects of HBOA on the protein expression of NF-κB p65 in liver tissue of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis rats (immunohistochemical method, ×400)

3.3 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织TNF-α、IL-6、ICAM-1表达的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠肝组织TNF-α、IL-6、ICAM-1蛋白的相对表达量均显著升高,差异均有统计学意义(P<0.05)。与模型组比较,各给药组大鼠肝组织TNF-α、IL-6、ICAM-1蛋白的相对表达量均显著下降,差异均有统计学意义(P<0.05),详见图2、表2。

4 讨论

肝纤维化是各种慢性肝损伤向肝硬化发展的中间阶段,也是肝应对损伤的自我修复过程,其病理过程是

表2 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织中NF-κB p65、TNF-α、IL-6、ICAM-1蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab 2 Effects of HBOA on the protein expression of NF-κB p65, TNF-α, IL-6 and ICAM-1 in liver tissue of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis rats($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	NF-κB p65	TNF-α	IL-6	ICAM-1
正常对照组	0.136±0.124	0.35±0.14	0.32±0.17	0.22±0.11
模型组	3.293±0.201 [*]	1.38±0.17 [*]	1.27±0.12 [*]	1.47±0.13 [*]
秋水仙碱组	1.324±0.151 [#]	0.67±0.12 [#]	0.72±0.14 [#]	0.58±0.14 [#]
HBOA低剂量组	2.037±0.172 [#]	0.89±0.15 [#]	0.98±0.16 [#]	0.93±0.18 [#]
HBOA中剂量组	1.307±0.205 [#]	0.71±0.13 [#]	0.87±0.13 [#]	0.76±0.12 [#]
HBOA高剂量组	0.896±0.125 [#]	0.54±0.19 [#]	0.60±0.13 [#]	0.50±0.17 [#]

注:与正常对照组比较,*P<0.05;与模型组比较,#P<0.05

Note: vs. normal control group, *P<0.05; vs. model group, #P<0.05

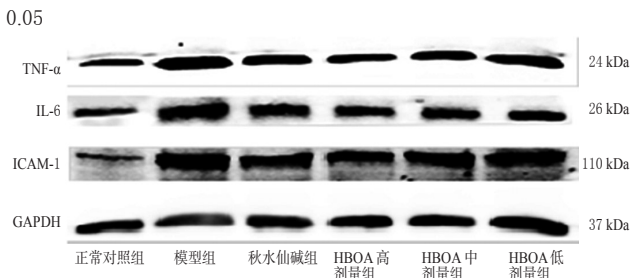


图2 HBOA对CCl₄致肝纤维化大鼠肝组织中TNF-α、IL-6、ICAM-1蛋白表达的影响

Fig 2 Effects of HBOA on the protein expression of TNF-α, IL-6 and ICAM-1 in liver tissue of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis rats

在各种致病因子的刺激下,肝星状细胞被激活并大量分泌ECM,使得ECM的合成与降解失衡,导致其在肝内过度沉积,从而引发肝损伤^[8]。本课题组前期研究表明,老鼠筋镇痛、抗炎及保肝作用的主要活性物质为老鼠筋生物碱,其中活性单体HBOA具有一定的保肝活性,但确切的作用机制尚不清楚^[9-10]。有研究表明,秋水仙碱对大鼠肝纤维化具有明显的改善作用,可作为相关研究的阳性对照药物^[11]。因此,本研究以秋水仙碱为阳性对照,通过CCl₄诱导复制大鼠肝纤维化模型,初步探讨了老鼠筋活性单体HBOA对大鼠肝纤维化的改善作用及其可能机制。

对肝细胞受损程度进行评价的常用指标包括ALT、AST等。在致病因子的作用下,肝细胞会促使其内部的ALT和AST释放入血,引起血清转氨酶含量的升高,且不同肝脏疾病所致ALT、AST升高的程度也有所差异,故对其进行定量分析可有助于肝疾病的诊断以及病情严重程度的评估^[12-14]。蒋征奎等^[15]研究表明,降低由CCl₄致肝纤维化大鼠血清中ALT、AST等的含量可有助于缓解其肝损伤。本研究结果显示,与正常对照组比较,模型组大鼠血清ALT、AST含量均显著升高,差异均有统计学意义,提示大鼠肝脏受到了损伤。经HBOA干

预后,大鼠血清ALT、AST含量均较模型组显著下降,差异均有统计学意义。这提示HBOA可改善CCl₄引起的肝损伤,对肝脏具有一定的保护作用。

IL-1β是一种促炎因子,可促进肝星状细胞的激活,从而进一步促进肝纤维化的形成^[16];IL-10是一种抗炎因子,通过调控炎症反应来缓解肝损伤^[17];IL-6由活化的肝星状细胞分泌,可反馈性地刺激肝星状细胞的增殖,使后者处于持续活化的状态,故IL-6是肝星状细胞活化的重要标志之一^[18]。同时,IL-6和TNF-α是炎症反应的重要介质,当肝组织存在活动性炎症时,肝细胞可持续分泌TNF-α、IL-6,从而加重肝细胞的炎症反应,进一步加重肝损伤^[19-20]。本研究结果显示,与正常对照组比较,模型组大鼠血清IL-1β以及肝组织TNF-α、IL-6含量均显著升高,血清IL-10含量显著降低,差异均有统计学意义;经HBOA干预后,各给药组大鼠血清IL-1β以及肝组织TNF-α、IL-6含量均显著降低,血清IL-10含量均显著升高,差异均有统计学意义。这提示HBOA可通过抑制促炎因子、上调抗炎因子的表达来减轻大鼠的炎症反应,降低其肝损伤程度。

NF-κB由p65、p50两个亚单位构成的异源二聚体,在调节免疫应答和炎症反应中具有重要作用^[21]。在肝纤维化的发展过程中,肝星状细胞中NF-κB信号通路持续活化,并伴有NF-κB p65蛋白表达的持续增强,进而进一步加剧了各种炎症因子的浸润、胶原合成及ECM分泌的增加^[22-23]。NF-κB信号通路可被TNF-α、IL-1β等因子诱导激活,因此可通过抑制IL-1β、TNF-α的分泌、下调NF-κB p65蛋白的表达等途径来改善肝纤维化症状^[24-26]。本研究结果表明,正常对照组大鼠肝组织中NF-κB p65的表达量极少;模型组大鼠肝组织中NF-κB p65的表达则明显增高;经HBOA干预后,大鼠肝组织中NF-κB p65的表达受到了明显抑制。这提示HBOA可能通过抑制NF-κB信号通路来发挥其抗肝纤维化的作用。

ICAM-1是反映机体免疫活性和炎症反应严重程度的主要指标之一;当炎症发生时,ICAM-1的表达将会增强,且与肝细胞炎症严重程度呈正相关^[27]。有研究认为,肝组织中ICAM-1表达水平与肝组织炎症损伤程度密切相关,其可能是抗纤维化的作用靶点之一^[28-30]。本研究结果显示,与正常对照组比较,模型组大鼠肝组织中ICAM-1蛋白的相对表达量显著升高,差异有统计学意义;经HBOA干预后,各给药组大鼠肝组织中ICAM-1蛋白的相对表达量均显著下降,差异均有统计学意义。这提示HBOA可通过下调ICAM-1蛋白的表达来降低肝纤维化的程度。

综上所述,HBOA对CCl₄致大鼠肝纤维化具有一定的改善作用,其作用机制可能与其阻断NF-κB信号通路继而减轻炎症反应以及下调ICAM-1蛋白的表达有关。但肝纤维化发病机制复杂,其具体作用机制还有待进一步

步挖掘。

参考文献

- [1] CHEN RJ, WU HH, WANG YJ. Strategies to prevent and reverse liver fibrosis in humans and laboratory animals[J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(10):1727-1750.
- [2] SENOO T, SASAKI R, AKAZAWA Y, et al. Geranylgeranylacetone attenuates fibrogenic activity and induces apoptosis in cultured human hepatic stellate cells and reduces liver fibrosis in carbon tetrachloride-treated mice[J]. *BMC Gastroenterol*, 2018. DOI: 10.1186/s12876-018-0761-7.
- [3] MOKDAD AA, LOPEZ AD, SHAHRAZ S, et al. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis[J]. *BMC Med*, 2014. DOI: 10.1186/s12916-014-0145-y.
- [4] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编: 下册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 231.
- [5] WAI KK, LIANG Y, ZHOU L, et al. The protective effects of *Acanthus ilicifolius* alkaloid A and its derivatives on pro- and anti-inflammatory cytokines in rats with hepatic fibrosis[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2015, 62(4): 537-546.
- [6] 樊惠. HBOA 及其衍生物的合成及保肝作用的研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2011.
- [7] 韦明中. 老鼠筋生物碱 A 对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠细胞外基质及相关细胞因子表达的影响[D]. 南宁: 广西医科大学, 2016.
- [8] FRIEDMAN SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(4): 2247-2250.
- [9] 彭兴, 龙盛京. 老鼠筋的化学成分研究[J]. *中草药*, 2006, 37(7): 971-973.
- [10] 刘林, 林军, 侯软玲, 等. 老鼠筋对大鼠中毒性肝纤维化的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2009, 26(5): 708-711.
- [11] 孙嘉临, 王先化. 秋水仙碱对实验性大鼠肝纤维化的影响[J]. *中国现代医生*, 2012, 50(14): 1-2.
- [12] DAVERN TJ. Drug-induced liver disease[J]. *Clin Liver Dis*, 2012, 16(2): 231-245.
- [13] KUBO S, MATSUZAKI K, SEKI T, et al. Severe acute hepatitis in a printing company worker: a case study[J]. *J Occup Health*, 2015, 57(1): 87-90.
- [14] AMADID H, SCHIODT FV. Hypoxic hepatitis[J]. *Ugeskr Laeger*, 2014, 176(4A): V08130501.
- [15] 蒋征奎, 王学方. 茯苓皮水提取物对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的改善作用[J]. *中国药房*, 2017, 28(22): 3065-3068.
- [16] 姜辉, 汪永忠, 刘晓闯, 等. 三七总皂苷对肝纤维化大鼠细胞因子的影响[J]. *中药材*, 2013, 36(7): 1123-1127.
- [17] WANG YH, LI RK, FU Y, et al. Exemestane attenuates hepatic fibrosis in rats by inhibiting activation of hepatic stellate cells and promoting the secretion of interleukin 10[J]. *J Immunol Res*, 2017. DOI: 10.1155/2017/3072745.
- [18] DONG W, LV B, WEI F, et al. Recombinant bovine pancreatic trypsin inhibitor protects the liver from carbon tetrachloride-induced chronic injury in rats[J]. *Pharm Biol*, 2013, 51(10): 1298-1303.
- [19] 李刚, 陈金春, 付荣权, 等. 前列腺素 E₁ 治疗肝硬化对 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 的影响[J]. *海峡药学*, 2012, 24(6): 73-75.
- [20] 尹连红, 于浩, 彭金咏. 四氯化碳诱导肝损伤的分子机制及中药干预的研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2015, 32(9): 1147-1155.
- [21] VALLABHAPURAPU S, KARIN M. Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system[J]. *Ann Rev Immunol*, 2009. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132641.
- [22] OAKLEY F, TEOH V, CHING-A-SUE G, et al. Angiotensin II activates I κ B kinase phosphorylation of RelA at Ser536 to promote myofibroblast survival and liver fibrosis[J]. *Gastroenterology*, 2009, 136(5): 2334-2344.
- [23] 李伟伟, 王全楚, 宋新文, 等. 核因子- κ B p65 在人肝纤维化组织中的表达[J]. *中华消化杂志*, 2013, 33(2): 127-128.
- [24] WANG F, LIU S, TAIPING U, et al. NF- κ B inhibition alleviates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via suppression of activated hepatic stellate cells[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(1): 95-99.
- [25] WAN C, JIN F, DU Y, et al. Genistein improves schistosomiasis liver granuloma and fibrosis via dampening NF- κ B signaling in mice[J]. *Parasitol Res*, 2017, 116(4): 1165-1174.
- [26] WANG RQ, MI HM, LI H, et al. Modulation of IKK β /NF- κ B and TGF- β ₁/Smad via Fuzheng Huayu recipe involves in prevention of nutritional steatohepatitis and fibrosis in mice[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2015, 18(4): 404-411.
- [27] 王秀芳. 拉米夫定联合护肝片对老年肝硬化患者肝功能、免疫功能及血清 TIMP-1、ICAM-1、TGF- β ₁、MMP-1 的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(3): 602-604.
- [28] 肖艳菊, 罗和生, 吕鹏. 黏附分子在沙利度胺所致大鼠肝纤维化中的作用机制[J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(32): 3372-3376.
- [29] 张鑫雨, 胡凤爱, 李得志. 黄芪对梗阻性黄疸幼鼠肝细胞 TNF- α 及 ICAM-1 表达的影响及意义[J]. *滨州医学院学报*, 2015, 38(1): 18-21.
- [30] 朱仁武, 顾叶春, 姜阳贵, 等. 丹红注射液对肝缺血-再灌注损伤大鼠 ICAM-1 表达的影响[J]. *浙江医学*, 2015, 34(6): 477-480.

(收稿日期: 2018-06-11 修回日期: 2018-12-29)

(编辑: 张元媛)