

# 红丝线多糖对鼠源肝星状HSCs-T6细胞增殖的抑制作用及其机制研究

何思陆<sup>1\*</sup>, 郭小葆<sup>1</sup>, 徐灵源<sup>1</sup>, 焦爱军<sup>2#</sup> (1.右江民族医学院附属医院药剂科, 广西百色 533000; 2.广西医科大学药学院, 南宁 530021)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0485-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.17

**摘要** 目的:研究红丝线多糖(PRP)对鼠源肝星状HSCs-T6细胞的增殖抑制作用及其机制。方法:用质量浓度为0(空白对照)、50、100、200 μg/ml的PRP分别培养鼠源肝星状HSCs-T6细胞24、48 h后,采用MTT法测定细胞活力并计算细胞增殖抑制率,采用免疫组化法测定细胞上清液中羟脯氨酸(Hyp)的含量;培养48 h后,采用免疫组化法测定细胞中 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)的表达水平,采用Western blot法测定细胞转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )和信号传导蛋白(Smad3)的蛋白表达水平。结果:与空白对照比较,50、100、200 μg/ml PRP均可抑制HSCs-T6细胞增殖,培养24、48 h后细胞的增殖抑制率分别为39.84%~69.31%、45.16%~82.93%,且与培养时间和质量浓度呈正相关;各质量浓度PRP培养24 h后细胞上清液中Hyp含量为178.36~93.25 μg/ml,48 h后为131.94~68.74 μg/ml,与培养时间和质量浓度呈负相关;PRP培养48 h后TGF- $\beta_1$ 、Smad3的蛋白表达水平降低( $P<0.01$ )。结论:PRP对大鼠肝星状HSCs-T6细胞的增殖有抑制作用,其机制可能与其使内源性TGF- $\beta$ 通路失活从而减少胶原蛋白的生成有关。**关键词** 红丝线多糖;肝星状HSCs-T6细胞;增殖抑制率;胶原蛋白;细胞转化生长因子 $\beta$ 通路

## Study on Inhibitory Effect of *Lycianthes biflora* Polysaccharide on the Proliferation of Hepatic Stellate HSCs-T6 Cells in Rats and Its Mechanism

HE Silu<sup>1</sup>, GUO Xiaobao<sup>1</sup>, XU Lingyuan<sup>1</sup>, JIAO Aijun<sup>2</sup> (1.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Guangxi Baise 533000, China; 2.College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study inhibitory effect of *Lycianthes biflora* polysaccharide on the proliferation of hepatic stellate HSCs-T6 cells in rats and its mechanism. METHODS: After treated with 0 (blank control), 50, 100, 200 μg/ml *L. biflora* polysaccharide for 24 and 48 h, the activity of hepatic stellate HSCs-T6 cells in rats was determined by MTT assay and inhibitory rate of cell proliferation was calculated; the content of Hyp in supernatant was detected by immunohistochemical assay. After 48 h, the expression of cellular  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) was measured by immunohistochemical assay; both transforming growth factor  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) and Smad3 were measured by Western blot assay. RESULTS: Compared to blank control, 50, 100 and 200 μg/ml *L. biflora* polysaccharide could inhibit the proliferation of HSCs-T6 cells; cell inhibitory rates were 39.84%~69.31% and 45.16%~82.93% respectively after treated for 24 and 48 h, which were positively associated with time and concentration. The contents of Hyp in supernatant were 178.36~93.25 μg/ml and 131.94~68.74 μg/ml respectively after treated with different concentrations of PRP for 24 and 48 h, which were negatively associated with time and concentration. The protein level of TGF- $\beta_1$  and Smad3 decreased after treated with *L. biflora* polysaccharide for 48 h ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: *L. biflora* polysaccharide can inhibit the proliferation of hepatic stellate HSCs-T6 cells in rats, and its mechanism is associated with the inactivation of endogenous TGF- $\beta$  pathway for reducing collagen production.

**KEYWORDS** *Lycianthes biflora* polysaccharide; Hepatic stellate HSCs-T6 cells; Inhibitory rate of proliferation; Collagen; TGF- $\beta$  pathway

肝纤维化(Liver fibrosis)系指肝脏组织中弥散性细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)过度表达和累积的结果,是慢性肝病发展的共同病理过程<sup>[1]</sup>。肝星状细胞群(Hepatic stellate cells, HSCs)不受控制的激活与增殖是ECM沉积和肝纤维化发生的重要因素之一<sup>[2]</sup>。因此,有效抑制HSCs的增殖或减少ECM的生成是抗肝纤维化的重要策略之一。研究发现,转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )为最强的促纤维化细胞因子之一,而

TGF- $\beta$ 信号通路的关键传导分子为Smad蛋白<sup>[3]</sup>。Smad蛋白家族在信号转导通路发挥不同的生理功能,其中Smad3主要介导细胞内TGF- $\beta$ 的信号传导<sup>[4]</sup>。因此,调控肝细胞内TGF- $\beta_1$ /Smad3分子可有效缓解肝纤维化病情。

壮药红丝线系爵床科红丝线草属植物 *Peristrophe roxburghiana* (Schult) Brem. 的干燥全草,具有行气止血、清热解毒的功效<sup>[5]</sup>。国内已有文献报道,红丝线提取物对化学性肝纤维化大鼠具有保肝作用<sup>[6]</sup>。然而到目前为止,尚未见有关红丝线对HSCs作用的研究报道。在本试验中,笔者拟采用体外稳定培养的鼠源肝星状HSCs-T6细胞为受试细胞,以TGF- $\beta$ 通路为研究目标,探讨红丝线中主要活性成分红丝线多糖(PRP)

\* 副主任药师。研究方向:肝损伤、临床药学。电话:0776-2837654。E-mail:hesilu168@sina.com

# 通信作者:副教授,硕士。研究方向:中药新产品研制。电话:0771-5312625。E-mail:jaj8899@yahoo.com.cn

对HSCs-T6细胞增殖的影响,为PRP用于抗肝硬化提供试验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

H1650-W台式高速离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);1860R双光束紫外-可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司);ESCO垂直流超净工作台(北京五洲东方科技发展有限公司);BBD6220 CO<sub>2</sub>培养箱(美国Thermo Fisher公司);IX71-A21PH倒置显微镜(日本Olympus公司);DHP-9402电热恒温培养箱[德创科仪(北京)科技有限公司];DMR+550病理图像分析仪(德国Leica公司);Fluoroskan Ascent FL酶标仪(美国Thermo Forma公司);GelDoc XR+凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。

### 1.2 药品与试剂

胰蛋白酶(北京索莱宝科技有限公司,批号:90090620);MTT(南京建成生物工程研究所,批号:G020-500);羟脯氨酸(Hyp)酶联免疫试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:A030-2); $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)抗体、生物素标记二抗(武汉博士德公司,批号:BM0005、BA1025);二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:ZLI-9018);TGF- $\beta$ <sub>1</sub>、信号传导蛋白Smad3、磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)抗体(南京建成生物工程研究所,批号:BA0294、BA4559、PB0141);蛋白裂解液(北京赛驰生物科技有限公司)。

### 1.3 细胞与药材

鼠源肝星状HSCs-T6细胞由广西医科大学科学实验中心馈赠,其表型为SV40转HSC的嵌合型;红丝线中药材购自玉林药材市场,经右江民族医学院生药学教研室刘春荣副教授鉴定为爵床科红丝线草属植物 *Peristrophe roxburghiana* (Schult) Brem.的全草。

## 2 方法

### 2.1 PRP的制备及纯度测定

称取干燥的红丝线全草粗粉1 kg,分别加80%乙醇(10 L)回流提取3次,每次2 h,过滤,将滤液减压至无醇味。将药渣分别加入8 000 ml蒸馏水煮3次,每次2 h,经纱布过滤,合并滤液,以离心半径为8 cm、5 000 r/min离心15 min,收集上清液,用微波真空干燥器浓缩,得浓缩液500 ml,再以氯仿-正丁醇(4:1)多次萃取(即Sevag法),除去蛋白质。提取液置于4℃冰箱中过夜,以离心半径为8 cm、5 000 r/min离心15 min,过滤,收集滤液并加入4倍量95%乙醇,使乙醇终浓度为70%,醇沉24 h,抽滤,收集药渣,药渣依次用乙醚、无水乙醇、丙酮洗涤5次,所得固体产物为粗多糖。将粗多糖溶于水,加样到经磷酸盐缓冲液(PBS, pH=8.0)处理的CM52型树脂层析柱中,静置12 h,用蒸馏水以流速3 ml/min洗脱,合并洗脱液,真空干燥后即得白色粉末状PRP。用葡萄糖作对照品,采用苯酚-硫酸法显色,经紫外-可见分光计测得PRP纯度达90.16%。

### 2.2 细胞培养

HSCs-T6细胞复苏后,以含20%胎牛血清(FBS)的DMEM高糖培养液培养细胞3 d进行传代,当传至5代时可将细胞用于试验。取对数生长期细胞,消化,离心,稀释细胞至密度为 $2 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup>,分装于冻存管中,置于-80℃环境中保存,备用。

### 2.3 测试液的制备

精确称取10 mg PRP,加入10 ml DMEM高糖培养液制备成1 mg/ml的母液,然后分别稀释成质量浓度为200、100、50  $\mu$ g/ml的溶液(剂量设置基于前期预试验),于4℃环境下保存,备用。

### 2.4 指标检测

2.4.1 MTT法测定细胞增殖抑制率 HSCs-T6细胞孵化贴壁后,接种于96孔培养板中,每孔120  $\mu$ l,每个质量浓度设3个复孔,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱内培育。待细胞生长良好后,分别加入质量浓度为200、100、50  $\mu$ g/ml的PRP测试液30  $\mu$ l,分别培养细胞24、48 h后,每孔加入MTT 40  $\mu$ l,继续培养4 h;同时设置空白对照(不含PRP的测试液)。显微镜观察孔板底部出现紫色结晶时终止试验,加二甲基亚砜(DMSO)120  $\mu$ l每孔调零,用酶标仪于580 nm波长处测定各孔光密度(OD)值。按以下公式计算PRP对HSCs-T6细胞的增殖抑制率:增殖抑制率(%)=(OD<sub>空白对照</sub>-OD<sub>药物干预</sub>)/OD<sub>空白对照</sub>×100%。

2.4.2 免疫组化法测定细胞上清液中Hyp含量 待接种细胞贴壁且生长状态良好时,以0(空白对照)、200、100、50  $\mu$ g/ml的PRP培养细胞24、48 h后,移液器收集上清液,按试剂盒说明书操作测定细胞上清液中Hyp含量,每个质量浓度重复3次。

2.4.3 免疫组化法测定细胞中 $\alpha$ -SMA的表达 按“2.4.2”项下分组培养细胞48 h后,制备各组细胞的爬片,4%多聚甲醛固定后经90%乙醇脱水,3%双氧水灭活;再经抗原修复后,5%牛血清白蛋白(BSA)封闭1 h。细胞经 $\alpha$ -SMA一抗(1:400)在37℃下孵育1 h,再加入二抗在37℃下孵育1 h,DAB常规显色以及苏木素细胞核复染,其中棕黄色细胞为阳性细胞。光镜下选取5个视野,计算非重叠的平均阳性细胞数(即代表 $\alpha$ -SMA蛋白水平),每组试验重复3次。

2.4.4 Western blot法测定细胞中TGF- $\beta$ <sub>1</sub>、Smad3蛋白表达 按“2.4.2”项下方法培养细胞48 h后,RIPA裂解液提取各组细胞总蛋白,采用二辛可酸(BCA)法进行蛋白定量。以每组40  $\mu$ g蛋白上样量进行电泳分离。蛋白经过聚偏氟乙烯(PVDF)膜湿法转移后,5%脱脂奶粉溶液封闭1 h,进行TGF- $\beta$ <sub>1</sub>、Smad3蛋白水平测定。一、二抗稀释倍数及孵育时间分别为1:200(过夜)、1:1 000(2 h);化学发光法检测目标蛋白。以GAPDH为内参,以目标蛋白与内参蛋白灰度值的比值表示目标蛋白的相对表达量。

### 2.5 统计学方法

采用SPSS 13.0进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析法,经Tukey post-hoc检验进行组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 PRP对HSCs-T6细胞的增殖抑制作用测定结果

与空白对照比较,50、100、200  $\mu$ g/ml PRP培养细胞24、48 h后,细胞的增殖抑制率升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),且与PRP的质量浓度和培养时间呈正相关。不同质量浓度PRP培养细胞24 h后细胞的增殖抑制率为39.84%~69.31%,48 h后增殖抑制率为45.16%~82.93%,详见表1。

### 3.2 Hyp含量测定结果

与空白对照比较,50、100、200  $\mu$ g/ml PRP培养细胞24、48 h后,细胞中Hyp含量减少( $P < 0.01$ ),且与PRP质量浓度和培养时间呈正相关,结果详见表2。

### 3.3 $\alpha$ -SMA蛋白表达水平测定结果

表1 不同质量浓度 PRP 培养 HSCs-T6 细胞 24、48 h 后的增殖抑制率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 1 Inhibitory rate of HSCs-T6 cells after treated with different concentrations of PRP for 24 and 48 h( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

| 药物质量浓度, $\mu\text{g/ml}$ | 24 h               | 48 h                |
|--------------------------|--------------------|---------------------|
| 0(空白对照)                  | 0.12 $\pm$ 0.04    | 0.19 $\pm$ 0.08     |
| 50                       | 39.84 $\pm$ 7.26*  | 45.16 $\pm$ 8.36*   |
| 100                      | 52.75 $\pm$ 8.47** | 63.29 $\pm$ 8.97**  |
| 200                      | 69.31 $\pm$ 9.13** | 82.93 $\pm$ 10.14** |

注:与空白对照比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

Note: vs. blank control, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

表2 不同质量浓度 PRP 培养 HSCs-T6 细胞 24、48 h 后细胞中 Hyp 的含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \mu\text{g/ml}$ )

Tab 2 Content determination of Hyp in HSCs-T6 cells after treated with different concentrations of PRP for 24 and 48 h( $\bar{x} \pm s, n=3, \mu\text{g/ml}$ )

| 药物质量浓度, $\mu\text{g/ml}$ | 24 h                | 48 h                |
|--------------------------|---------------------|---------------------|
| 0(空白对照)                  | 219.74 $\pm$ 43.12  | 328.52 $\pm$ 69.75  |
| 50                       | 178.36 $\pm$ 27.09* | 131.94 $\pm$ 26.42* |
| 100                      | 130.57 $\pm$ 24.15* | 105.67 $\pm$ 22.67* |
| 200                      | 93.25 $\pm$ 20.31*  | 68.74 $\pm$ 18.21*  |

注:与空白对照比较, \* $P < 0.01$

Note: vs. blank control, \* $P < 0.01$

空白对照中棕黄色的 $\alpha$ -SMA 阳性细胞数量较多。与空白对照比较, 50、100、200  $\mu\text{g/ml}$  PRP 培养细胞 48 h 后, 棕黄色的 $\alpha$ -SMA 阳性细胞数逐渐减少( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 结果详见表3、图1。

表3 不同质量浓度 PRP 培养 HSCs-T6 细胞 48 h 后细胞中  $\alpha$ -SMA 蛋白表达测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 3 The expression of  $\alpha$ -SMA protein in HSCs-T6 cells after treated with different concentrations of PRP for 48 h( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 药物质量浓度, $\mu\text{g/ml}$ | 免疫阳性细胞, 个/ $\text{mm}^2$ |
|--------------------------|--------------------------|
| 0(空白对照)                  | 89.26 $\pm$ 18.52        |
| 50                       | 65.74 $\pm$ 13.94*       |
| 100                      | 42.59 $\pm$ 11.24**      |
| 200                      | 30.18 $\pm$ 9.23**       |

注:与空白对照比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

Note: vs. blank control, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

### 3.4 TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白表达水平测定结果

空白对照细胞中 TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白表达水平较高, 表现为活跃表达的生理状态。与空白对照比较, 50、100、200  $\mu\text{g/ml}$  PRP 培养细胞 48 h 后, 细胞中 TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白水平降低( $P < 0.01$ ), 且呈一定的量-效关系, 结果详见表4、图2。

## 4 讨论

HSCs 过度激活增殖的是肝纤维化发生发展过程中的关键病因<sup>[7]</sup>。研究表明, 各种致纤维化因素均与 HSCs 密切相关。因此, 抑制 HSCs 的增殖有助于抗肝纤维化的防治<sup>[8]</sup>。本研究 MTT 试验结果显示, 空白对照的 HSCs-T6 细胞增殖速度快、分化能力强; PRP 作用后能明显抑制 HSCs-T6 细胞的增殖, 表现出有效的抑制作用。此结果提示, 抑制 HSCs 增殖是 PRP 减轻肝纤维化的潜在活性。Hyp 是胶原蛋白以及纤维组织的主要成分之一, 当其大量生成沉积在肝细胞时, 将加重并诱导纤

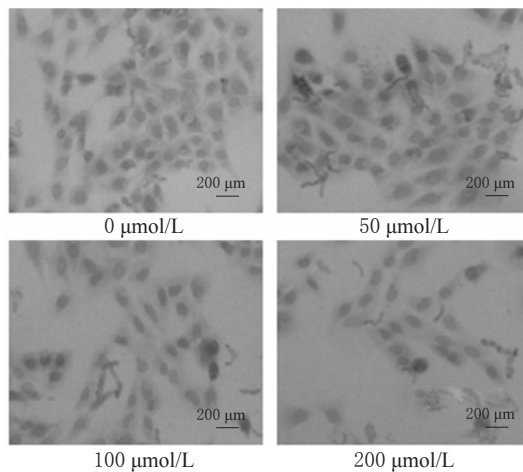


图1 不同质量浓度 PRP 培养 48 h 后  $\alpha$ -SMA 蛋白表达显微镜图  
Fig 1 Micrography of  $\alpha$ -SMA protein expression in HSCs-T6 cells after treated with different concentrations of PRP for 48 h

表4 不同质量浓度 PRP 培养 HSCs-T6 细胞 48 h 后细胞中 TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白表达测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 4 The expression of TGF- $\beta_1$ , Smad3 protein in HSCs-T6 cells after treated with different concentrations of PRP for 48 h( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 药物质量浓度, $\mu\text{g/ml}$ | TGF- $\beta_1$ /GAPDH | Smad3/GAPDH      |
|--------------------------|-----------------------|------------------|
| 0(空白对照)                  | 1.2 $\pm$ 0.07        | 1.4 $\pm$ 0.11   |
| 50                       | 0.36 $\pm$ 0.04*      | 0.58 $\pm$ 0.07* |
| 100                      | 0.25 $\pm$ 0.05*      | 0.32 $\pm$ 0.08* |
| 200                      | 0.21 $\pm$ 0.03*      | 0.29 $\pm$ 0.04* |

注:与空白对照比较, \* $P < 0.01$

Note: vs. blank control, \* $P < 0.01$

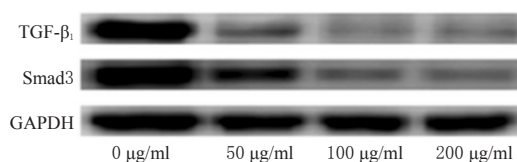


图2 不同质量浓度 PRP 培养 48 h 后 HSCs-T6 细胞中 TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白表达电泳图

Fig 2 Electrophoretogram of the expression of TGF- $\beta_1$ , Smad3 protein in HSCs-T6 cells after treated with different concentrations of PRP for 48 h

维化的形成<sup>[9]</sup>;  $\alpha$ -SMA 的聚合导致蛋白纤维的形成, 并作为活化标志蛋白在肝组织 HSCs 激活与增殖过程中发挥着正向调节作用, 可加速肝纤维化的发展<sup>[10]</sup>。本试验结果显示, PRP 作用后, HSCs-T6 细胞中 Hyp 含量减少、 $\alpha$ -SMA 表达下调。此结果提示, 减少 HSCs 胶原蛋白的合成释放, 能抑制纤维化进程, 这可能是 PRP 抗肝纤维化的作用机制之一。TGF- $\beta_1$  执行多种细胞的增殖、分化、凋亡及免疫调节等生理效应<sup>[11]</sup>; 而 Smad3 承担着 TGF- $\beta$  通路信号向胞内传递的作用, 是激活 HSCs 的活化因子, 进而促使肝纤维化发展<sup>[12]</sup>。因此, 调控 HSCs 中 TGF- $\beta$  通路是防治肝纤维化的有效途径。本研究 Western blot 试验结果显示, 空白对照的 HSCs-T6 细胞中 TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白水平异常增加, 处于过度表达生理状态。PRP 作用后, TGF- $\beta_1$ 、Smad3 蛋白表达下调, 提示 PRP 抑制 TGF- $\beta$  信号通路也是其抗 HSCs-T6 细胞增殖的作用机制之一。

# 黄芩苷对人骨肉瘤MG63细胞凋亡及MMPs表达的影响

沈志华\*,郭菁菁(绍兴市中心医院药剂科,浙江 绍兴 312030)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0488-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.18

**摘要** 目的:研究黄芩苷对人骨肉瘤MG63细胞凋亡及基质金属蛋白酶(MMPs)表达的影响。方法:以0(空白对照)、5、10、20、40、80、160、320  $\mu\text{g/ml}$ 黄芩苷处理MG63细胞24 h后,检测细胞存活率和细胞中MMP-2、MMP-9的表达量,计算半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ ),观察细胞凋亡情况。结果:与空白对照比较,黄芩苷处理MG63细胞后细胞存活率降低,凋亡细胞数量增加,细胞中MMP-2和MMP-9表达量降低,并以320  $\mu\text{g/ml}$ 黄芩苷处理时细胞中MMP-2和MMP-9表达量下降具有统计学意义( $P < 0.05$ ); $\text{IC}_{50}$ 为 $(40.21 \pm 9.20) \mu\text{g/ml}$ ,各作用效应均呈浓度依赖性。结论:黄芩苷可抑制MG63细胞增殖,诱导其凋亡,较高质量浓度时可抑制细胞中MMP-2、MMP-9的表达。

**关键词** 黄芩苷;人骨肉瘤MG63细胞;基质金属蛋白酶;细胞凋亡

## Effects of Baicalin on Human Osteosarcoma MG63 Cells Apoptosis and the Expression of MMPs

SHEN Zhihua, GUO Jingjing (Dept. of Pharmacy, Shaoxing Municipal Central Hospital, Zhejiang Shaoxing 312030, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects of baicalin on human osteosarcoma MG63 cells apoptosis and the expression of MMPs. METHODS: Treated with 0 (blank control), 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320  $\mu\text{g/ml}$  baicalin for 24 h, the survival rate, the expression amount of MMP-2 and MMP-9 were detected, and  $\text{IC}_{50}$  was calculated. Cell apoptosis was observed. RESULTS: Compared with blank control group, after treated with baicalin, survival rate of MG63 cells decreased, while apoptotic amount increased, the expression amount of MMP-2 and MMP-9 decreased; there was statistical significance in the expression amount decrease of MMP-2 and MMP-9 in MG63 cells after treated with 320  $\mu\text{g/ml}$  baicalin ( $P < 0.05$ );  $\text{IC}_{50}$  was  $(40.21 \pm 9.20) \mu\text{g/ml}$ , all responses were in concentration-dependent manner. CONCLUSIONS: Baicalin can inhibit the proliferation of MG63 cells, induce cell apoptosis, and inhibit the expression of MMP-2 and MMP-9 in cells under high concentration.

**KEYWORDS** Baicalin; Human osteosarcoma MG63 cells; Matrix metalloproteinase; Cell apoptosis

综上所述,PRP对HSCs-T6细胞的增殖有一定的抑制作用,其机制可能与其使内源性TGF- $\beta$ 通路失活从而减少胶原蛋白的生成有关。

### 参考文献

- [1] Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(2):209.
- [2] Yin C, Evason KJ, Asahina K, et al. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(5):1 902.
- [3] Baghy K, Iozzo RV, Kovalszky I. Decorin-TGF- $\beta$  axis in hepatic fibrosis and cirrhosis[J]. *J Histochem Cytochem*, 2012, 60(4):262.
- [4] Breitkopf K, Godoy P, Ciuculan L, et al. TGF- $\beta$ /Smad signaling in the injured liver[J]. *Z Gastroenterol*, 2006, 44(1):57.
- [5] 朱华,张可锋,高雅.红丝线生药学研究[J]. *中国药业*, 2008, 17(16):65.
- [6] 黄俊敏,李志超.红丝线草对大鼠肝纤维化的作用研究[J]. *四川中医*, 2012, 30(12):54.

- [7] 马官英,张庆月,钟瑞华,等.金银花总黄酮对氧化应激中肝星状细胞的保护作用[J]. *中国药房*, 2014, 25(31):2 895.
- [8] Troeger JS, Mederacke I, Gwak GY, et al. Deactivation of hepatic stellate cells during liver fibrosis resolution in mice[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(4):1 073.
- [9] Lee HS, Shun CT, Chiou LL, et al. Hydroxyproline content of needle biopsies as an objective measure of liver fibrosis: emphasis on sampling variability[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(7):1 109.
- [10] Dong R, Luo Y, Zheng S.  $\alpha$ -SMA overexpression associated with increased liver fibrosis in infants with biliary atresia[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2012, 55(6):653.
- [11] Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2004, 30(2):193.
- [12] Warburton D, Shi W, Xu B. TGF- $\beta$ -Smad3 signaling in emphysema and pulmonary fibrosis: an epigenetic aberration of normal development[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304(2):83.

\* 副主任药师。研究方向:临床药学、药事管理。E-mail: zh9992@sina.com

(收稿日期:2015-08-12 修回日期:2015-09-29)

(编辑:林 静)