

藤茶总黄酮对小鼠肝纤维化的改善作用

李木松¹, 王利兵², 李雯³

(1. 保定市人民医院肝五科, 河北保定 071000; 2. 唐山市工人医院肝胆外科, 河北保定 071000;
3. 保定市人民医院药剂科, 河北保定 071000)

摘要:【目的】探讨藤茶总黄酮(TF)对小鼠肝纤维化的改善作用及机制。【方法】从45只小鼠中随机抽取8只设为正常组, 其余37只构建肝纤维化模型。将成功造模的24只小鼠随机分为肝纤维化组、TF组、TF+激活剂组, 每组8只。TF组给予300 mg/kg TF灌胃; TF+激活剂组给予300 mg/kg TF、5 mg/kg尼日菌素钠盐灌胃; 正常组、肝纤维化组给予等体积生理盐水灌胃。1次/d, 连续干预10周。给药结束后, 生化检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平, 酶联免疫吸附分析(ELISA)检测肝组织白细胞介素18(IL-18)、白细胞介素1 β (IL-1 β)含量, 免疫组织化学染色法检测肝组织 α -平滑肌蛋白(α -SAM)表达, 马松(Masson)染色法观察肝组织纤维化程度, 蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测肝组织核苷酸结合寡聚化结构域样受体3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、Caspase-1蛋白表达。【结果】与正常组比较, 肝纤维化组血清ALT、AST水平, 肝组织IL-18、IL-1 β 含量, α -SAM阳性染色面积百分比, 肝组织NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白相对表达量升高($P < 0.05$), Masson染色结果显示, 肝纤维化组可观察到大量增生性胶原纤维, 肝小叶结构被严重破坏; 与肝纤维化组比较, TF组、TF+激活剂组血清ALT、AST水平, 肝组织IL-18、IL-1 β 含量, α -SAM阳性染色面积百分比, 肝组织NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白相对表达量降低($P < 0.05$), Masson染色结果显示, TF组、TF+激活剂组肝脏胶原纤维沉积、纤维性增生及假小叶形成有所减少, 纤维间隔缩小, 而TF组效果优于TF+激活剂组。【结论】TF可改善肝纤维化小鼠肝功能, 减轻炎症反应及肝纤维化程度, 其机制可能与抑制NLRP3炎症小体通路有关。

关键词: 藤茶总黄酮; 肝纤维化; 炎症小体; 凋亡; 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2022)03-0625-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.03.027

Improving Effect of Tengeha Flavonoids in Mice with Liver Fibrosis

LI Mu-Song¹, WANG Li-Bing², LI Wen³

(1. The Fifth Dept. of Liver, Baoding People's Hospital, Baoding 071000 Hebei, China; 2. Dept. of Hepatobiliary Surgery, Tangshan Workers' Hospital, Baoding 071000 Hebei, China; 3. Dept. of Pharmacy, Baoding People's Hospital, Baoding 071000 Hebei, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of improvement and the mechanism of Tengeha flavonoids (TF) on liver fibrosis in mice. **Methods** Eight mice were randomly selected from 45 mice as the normal group, and a liver fibrosis model was constructed in the remaining 37 mice. The 24 successfully modeled mice were randomly divided into liver fibrosis group, TF group and TF + activator group, with 8 mice in each group. The TF group was given 300 mg/kg TF by intragastrical gavage; the TF + activator group was given 300 mg/kg TF and 5 mg/kg Nigericin sodium salt by intragastrical gavage; the normal group and liver fibrosis group were given equal volume of normal saline by intragastrical gavage. Intervention was performed once per day for 10 continuous weeks. After administration, serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels were determined by biochemical methods, contents of interleukin 18 (IL-18) and interleukin 1 β (IL-1 β) in liver tissue were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), α -smooth muscle protein (α -SAM) expression in liver tissue was detected by immunohistochemical staining, the fibrosis degree of liver tissue was observed by Masson staining, and the protein expression of nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 3

收稿日期: 2021-02-04

作者简介: 李木松(1976-), 男, 副主任医师; E-mail: kdx18188@163.com

通讯作者: 王利兵(1973-), 男, 硕士研究生, 副主任医师; E-mail: haitong1333@163.com

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(编号: 20201490)

(NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing CARD (ASC) and Caspase-1 in liver tissue was detected by Western Blot. **Results** Compared with the normal group, the levels of serum ALT and AST, the contents of IL-18 and IL-1 β in liver tissue, the percentage of positive staining area of α -SAM, and the relative protein expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in liver tissue in liver fibrosis group were increased ($P < 0.05$). Masson staining results showed that, a large number of hyperplastic collagen fibers were seen in the hepatic fibrosis group, and the hepatic lobule structure was severely damaged. Compared with the liver fibrosis group, the levels of serum ALT and AST, the contents of IL-18 and IL-1 β in liver tissue, the percentage of α -SAM positive staining area, and the relative protein expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in liver tissue were decreased in TF group and TF+ activator group ($P < 0.05$). Masson staining results showed that the liver collagen fiber deposition, fibrous hyperplasia and pseudolobule formation were decreased in TF group and TF+ activator group, and fibrous septum was reduced. The effect of TF group was superior to that of TF+ activator group. **Conclusion** TF exerts effect in improving the liver function, reducing the inflammatory response and the degree of liver fibrosis in mice with liver fibrosis, and its mechanism may be related to the inhibition of NLRP3 inflammasome pathway.

Keywords: Tengeha flavonoids(TF); liver fibrosis; inflammasome; apoptosis; mice

肝纤维化是多种病因及慢性刺激所致的肝脏疾病共有的肝内结缔组织异常增生,具有可逆性,早期确诊并采取抗纤维化治疗可能逆转该病变过程,反之则可能发展为肝硬化或肝细胞癌,转变为不可逆性过程^[1]。目前,抗肝纤维化的治疗以抑制炎症或脂质过氧化、肝星状细胞的增生活化,及促进胶原降解为主。西医学对肝纤维化治疗研究较早,但其治疗通常针对抗病毒、抑制自身免疫、改善胆汁淤积等肝细胞损伤诱因,难以从该病复杂的病理机制入手获取整体治疗效果^[2]。因此,积极探求更为有效的肝纤维化治疗方法具有重要的研究意义。藤茶总黄酮(Tengeha flavonoids, TF)提取自葡萄科显齿蛇葡萄茎叶,具有抑菌消炎、降血脂、抗氧化、降血糖、保肝护肝等药理作用^[3]。本课题组前期实验结果表明,TF可改善肝纤维化小鼠病情,但其对该病的肝保护作用及可能的机制尚不明确,因此,本研究通过建立肝纤维化小鼠模型,探讨TF对其肝保护作用的机制,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 45只SPF级雄性ICR小鼠,5周龄,体质量(20 ± 2)g,购自北京维泰瑞技术服务发展有限公司,许可证号:SCXK(京)2019-0013。实验单位:河北智同生物制药股份有限公司。常

规饲养于笼中,自由摄食、饮水,维持室温22~24℃,相对湿度40%~60%。

1.2 药物、试剂与仪器 藤茶总黄酮(TF,纯度 $\geq 98\%$,西安欣禄生物科技有限公司生产,批号:XL180614)。尼日菌素钠盐(纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司,批号:28643-80-3);花生油(山东鲁花集团);谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)检测试剂盒,白细胞介素18(IL-18)、白细胞介素1 β (IL-1 β)酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒(上海瑞番生物科技有限公司);兔抗鼠 α -平滑肌蛋白(α -SAM)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、Caspase-1等一抗(美国Santa cruz公司);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白(IgG)(北京中杉金桥生物技术有限公司)。CX23光学显微镜(日本奥林巴斯株式会社);UniCel DxC 800全自动生化分析仪(美国Beckman Coulter有限公司);Synergy H4多功能酶标仪(美国Bio-Tek公司);Gene GENIUS凝胶成像系统(英国Syngene公司)。

1.3 分组与模型建立 从45只小鼠中随机抽取8只设为正常组,其余37只小鼠随机分为肝纤维化组(13只)、TF组(12只)、TF+激活剂组(12只),建立肝纤维化模型。造模方法^[4]: CCl₄与花生油等体积配制成CCl₄花生油溶液,给予小鼠背部皮下注射,2次/周,共12周。首次皮下注射CCl₄花生油

溶液 0.5 mL/100 g, 之后注射剂量为 0.3 mL/100 g。正常组同法、同量注射花生油。造模结束后, 观察小鼠精神状态、活动量、饮食量等一般状态, 处死后采用苏木素-伊红(HE)染色法观察肝脏病理变化, 如观察到有增生性胶原纤维、肝小叶结构被破坏则判断建模成功。肝纤维化组、TF组、TF+激活剂组各有5只、4只、4只因未观察到上述肝脏病理变化而建模失败, 将其数据剔除, 最终肝纤维化组、TF组、TF+激活剂组每组均纳入8只小鼠。

1.4 干预方法 成功造模后次日开始干预。根据前期实验确定TF、尼日菌素钠盐适用于肝纤维化小鼠的剂量。TF组给予300 mg/kg TF灌胃, 1次/d; TF+激活剂组给予300 mg/kg TF、5 mg/kg 尼日菌素钠盐灌胃, 1次/d; 正常组、肝纤维化组给予等体积生理盐水灌胃, 1次/d。连续干预10周。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 取材 末次干预后4 h, 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉小鼠, 取腹主动脉血5 mL, 离心后冷冻保存。血液采集完毕, 颈椎脱臼处死小鼠, 迅速解剖、分离肝脏, 清除周围脂肪, 生理盐水漂洗至肝脏变色以尽可能除去残留红细胞, 切取4 mm左右厚度组织块用40 g/L多聚甲醛固定用于免疫组织化学染色及马松(Masson)染色, 其余组织迅速保存于液氮中用于ELISA检测及蛋白免疫印迹(Western Blot)检测。

1.5.2 检测血清肝功能指标 应用全自动生化分析仪检测血清AST、ALT水平, 严格按照小鼠AST、ALT试剂盒说明书要求设计检测步骤。

1.5.3 检测肝组织炎症因子指标含量 取肝组织, 用磷酸盐缓冲液(PBS)匀浆后, 采用ELISA法检测肝组织IL-18、IL-1 β 含量, 具体操作步骤按照IL-18、IL-1 β 试剂盒说明书进行, 应用酶标仪检测490 nm波长处的吸光度(OD)值。以标准品浓度和OD值绘制标准曲线, 根据标准曲线计算IL-18、IL-1 β 含量。

1.5.4 免疫组织化学染色法检测肝组织 α -SAM表达 取40 g/L多聚甲醛中固定的肝脏组织, 制石蜡切片, 切片厚度5 μ m; 浸入二甲苯I、II溶液中脱蜡10 min; 3% H₂O₂溶液使内源性酶失活, 常温孵育25 min; 微波修复抗原, 冷却后以体积分数5%胎牛血清封闭; 加入兔抗鼠 α -SAM一抗(1:200稀释), 4 $^{\circ}$ C孵育过夜; PBS溶液摇床洗涤切片,

加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:800稀释), 常温孵育60 min; PBS洗涤, 滴加3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色液, 梯度乙醇脱水干燥, 中性树脂胶封片。光学显微镜下随机选取5个不相邻切片观察染色结果, 应用ImageJ 2x软件扫描, α -SAM表达水平以阳性染色面积百分比表示。

1.5.5 Masson染色法观察肝纤维化病变 石蜡切片常规脱蜡后, 浸入苏木精染液染色10 min, 蒸馏水漂洗干净染液; 1%盐酸酒精分化液分化5 s, 蒸馏水充分水洗; Masson染液染色8 min, 蒸馏水冲洗干净染液; 0.2%冰醋酸溶液、1%磷钼酸溶液分别浸洗3 min、5 min; 苯胺蓝液复染5 min; 0.2%冰醋酸溶液处理2 min; 常规乙醇、二甲苯透明, 中性树脂封片, 光学显微镜下观察肝纤维化病变。

1.5.6 Western Blot法检测肝组织NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达 取肝组织, 眼科剪充分剪碎, PBS匀浆后移至离心管, 放射免疫沉淀分析(RIPA)裂解液提取蛋白, 二喹啉甲酸(BCA)试剂盒定量; 取50 μ g样本按比例与上样缓冲液混合, 沸水浴5 min, 离心取上清, 电泳后湿转至硝酸纤维素膜上; 50 g/L脱脂牛奶封闭2 h; 加入兔抗小鼠NLRP3、ASC、Caspase-1一抗, 4 $^{\circ}$ C摇床孵育过夜; TBST洗膜, 加入山羊抗兔IgG二抗(1:1 000), 室温孵育2 h; TBST洗膜, 电化学发光(ECL)法显色、曝光, 应用凝胶成像系统进行分析。结果以待测目的蛋白/内参GAPDH灰度值表示目的蛋白相对表达量。重复3次取均值。

1.6 统计方法 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用LSD-*t*分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况及肝脏大体解剖比较 正常组小鼠皮毛光滑, 反应敏捷, 性情温和, 食欲正常, 体质量稳定增长, 解剖后可观察到肝脏表面细腻、光滑, 体积正常; 肝纤维化组小鼠皮毛蓬乱、无光泽, 动作迟缓, 易暴躁、恐慌, 体质量明显降低, 解剖后可观察到肝脏表面粗糙, 与周围组织黏连, 体积增大; TF组、TF+激活剂组小鼠皮毛、反应、性情、体质量等状态较肝纤维化组改善, 肝表面颗粒感与增大程度较肝纤维化组减轻, 而TF组整体效果优于TF+激活剂组。各

组小鼠肝脏大体形态见图1。

2.2 各组小鼠血清ALT、AST水平比较 表1结果显示：与正常组比较，肝纤维化组血清ALT、AST水平升高($P < 0.05$)；与肝纤维化组比较，TF组、TF+激活剂组血清ALT、AST水平降低($P < 0.05$)；与TF组比较，TF+激活剂组血清ALT、AST水平升高($P < 0.05$)。

2.3 各组小鼠肝组织IL-18、IL-1 β 含量比较 表2结果显示：与正常组比较，肝纤维化组肝组织IL-18、IL-1 β 含量升高($P < 0.05$)；与肝纤维化组比较，TF组、TF+激活剂组肝组织IL-18、IL-1 β 含量降低($P < 0.05$)；与TF组比较，TF+激活剂组

肝组织IL-18、IL-1 β 含量升高($P < 0.05$)。

2.4 各组小鼠肝组织 α -SAM表达比较 图2结果显示，正常组、肝纤维化组、TF组、TF+激活剂组 α -SAM阳性染色面积百分比分别为(0.62 ± 0.05)%、(4.03 ± 0.67)%、(1.94 ± 0.35)%、(2.71 ± 0.62)%。与正常组比较，肝纤维化组肝组织 α -SAM阳性染色面积百分比升高($P < 0.05$)；与肝纤维化组比较，TF组、TF+激活剂组肝组织 α -SAM阳性染色面积百分比降低($P < 0.05$)；与TF组比较，TF+激活剂组肝组织 α -SAM阳性染色面积百分比升高($P < 0.05$)。

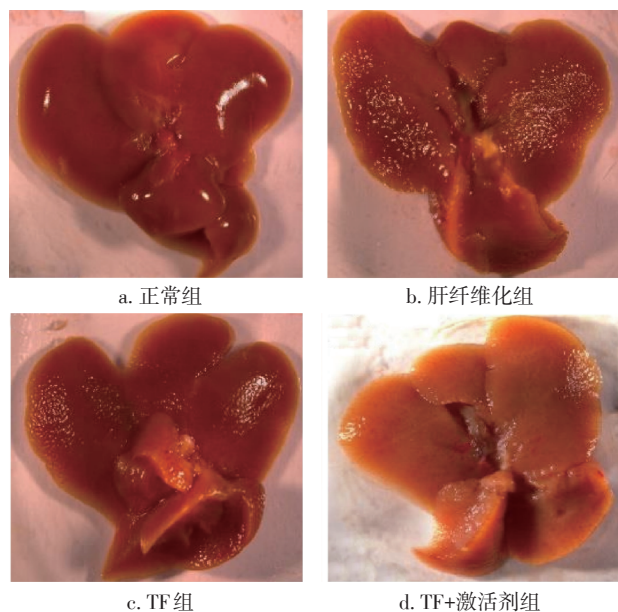


图1 各组小鼠肝脏大体变化比较

Figure 1 Comparison of macroscopical features of liver in mice of various groups

表1 各组小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平比较

组别	鼠数/只	ALT	AST
正常组	8	49.56 ± 5.27	150.29 ± 22.57
肝纤维化组	8	286.94 ± 25.50^{①}	414.36 ± 58.80^{①}
TF组	8	132.26 ± 19.87^{①②}	253.62 ± 31.14^{①②}
TF+激活剂组	8	196.30 ± 22.31^{①②③}	202.24 ± 25.01^{①②③}
F值		205.383	75.071
P值		< 0.001	< 0.001

① $P < 0.05$ ，与正常组比较；② $P < 0.05$ ，与肝纤维化组比较；③ $P < 0.05$ ，与TF组比较

表2 各组小鼠肝组织IL-18、IL-1 β 含量比较
Table 2 Comparison of IL-18 and IL-1 β contents in mice of various groups ($\bar{x} \pm s$, $pg \cdot mL^{-1}$)

组别	鼠数/只	IL-18	IL-1 β
正常组	8	135.71 ± 16.93	68.57 ± 9.01
肝纤维化组	8	426.51 ± 58.39^{①}	545.59 ± 91.23^{①}
TF组	8	259.23 ± 30.16^{①②}	231.63 ± 36.20^{①②}
TF+激活剂组	8	334.66 ± 42.21^{①②③}	320.68 ± 49.01^{①②③}
F值		75.780	104.492
P值		< 0.001	< 0.001

① $P < 0.05$ ，与正常组比较；② $P < 0.05$ ，与肝纤维化组比较；③ $P < 0.05$ ，与TF组比较

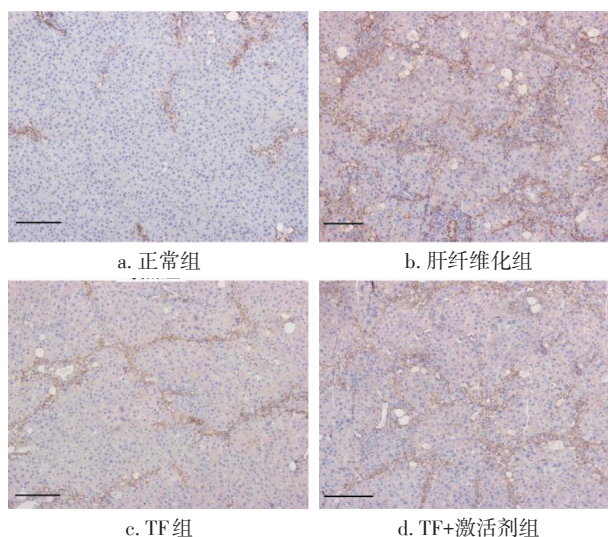


图2 各组小鼠肝组织 α -SAM表达比较(免疫组织化学染色法, $\times 200$, 标尺50 μm)

Figure 2 Comparison of α -SAM expression in mouse liver tissue of various groups (by immunohistochemical staining, $\times 200$, scale 50 μm)

2.5 各组小鼠肝组织纤维化情况比较 图3结果显示: 正常组肝脏结构正常, 未观察到明显纤维组织增生及肝小叶形成; 肝纤维化组可观察到大量增生性胶原纤维, 肝小叶结构被严重破坏; TF组、TF+激活剂组肝脏胶原纤维沉积、纤维性增生及假小叶形成较肝纤维化组有所减少, 纤维间隔较肝纤维化组缩小, 而TF组效果优于TF+激活剂组。

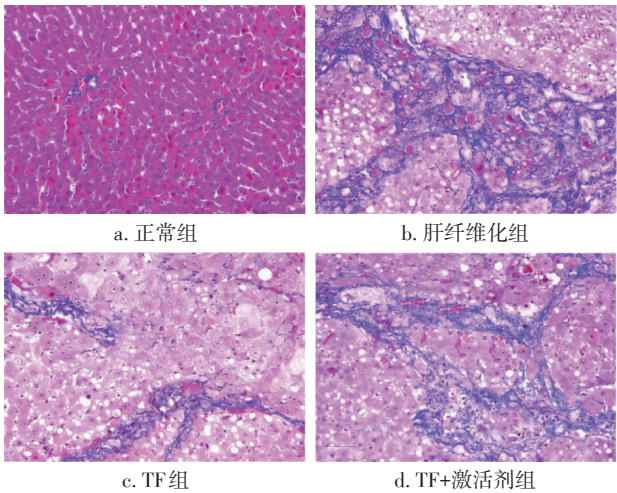


图3 各组小鼠肝脏组织纤维化情况比较(Masson染色, ×200, 标尺50 μm)
Figure 3 Comparison of liver fibrosis in mice of various groups (by Masson staining, ×200, scale 50 μm)

2.6 各组小鼠肝组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达比较 图4、表3结果显示: 与正常组比较, 肝纤维化组肝组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白相对表达量升高($P<0.05$); 与肝纤维化组比较, TF组、TF+激活剂组肝组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白相对表达量降低($P<0.05$); 与TF组比较, TF+激活剂组肝组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白相对表达量升高($P<0.05$)。

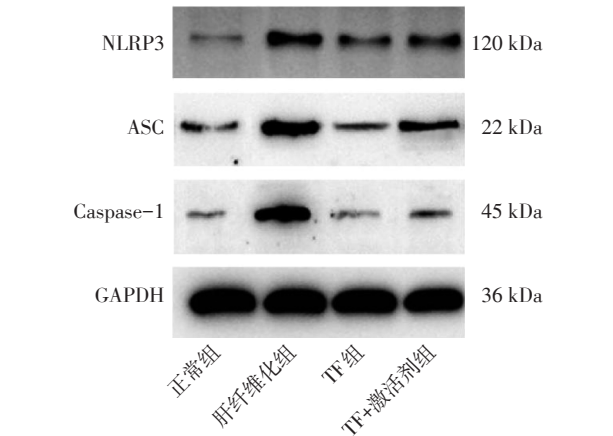


图4 各组小鼠肝组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白的 Western Blot 电泳条带
Figure 4 Western Blot bands of NLRP3, ASC and Caspase-1 proteins in mouse liver tissues of various groups

表3 各组小鼠肝组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达比较				
Table 3 Comparison of protein expression of NLRP3, ASC and Caspase-1 in mouse liver tissues of various groups				
组别	鼠数/只	NLRP3 相对表达量	ASC 相对表达量	Caspase-1 相对表达量
正常组	8	0.09 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.05 ± 0.01
肝纤维化组	8	0.53 ± 0.06 ^①	0.64 ± 0.07 ^①	0.66 ± 0.08 ^①
TF组	8	0.24 ± 0.03 ^{①②}	0.29 ± 0.03 ^{①②}	0.13 ± 0.02 ^{①②}
TF+激活剂组	8	0.36 ± 0.05 ^{①②③}	0.40 ± 0.05 ^{①②③}	0.26 ± 0.04 ^{①②③}
F值		156.394	142.314	276.204
P值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

① $P<0.05$, 与正常组比较; ② $P<0.05$, 与肝纤维化组比较; ③ $P<0.05$, 与TF组比较

3 讨论

肝纤维化是一种病程较长的进展性疾病, 以肝实质修复损伤, 细胞外基质合成、分解失衡, 间质成分持续被激活, 纤维结缔组织过度沉积等为主要病理变化^[5]。遏制并逆转肝纤维化过程, 对于临床治疗慢性肝病、预防肝硬化具有关键作

用。随着对中医学研究的不断深入, 多种中药如藤茶具有较为满意的肝纤维化防治效果。藤茶总黄酮(TF)是藤茶中含量最多的化合物, 被认为是极具肝脏疾病治疗潜力的活性成分^[6]。藤茶中总黄酮含量约44.0%, 以蛇葡萄素、杨梅素、二氢杨梅素等为代表, 既往研究^[7]证实, 其除抗微生物、抗

炎、抗氧化、抗肿瘤等常规作用外,还具有降糖、解酒、抗皮肤老化、保肝、保护心血管与神经系统等药理活性。

肝星状细胞是细胞外基质的主要来源,其激活是肝纤维化发生的核心环节,该细胞具有促炎、促纤维化及可收缩性,可分泌细胞外基质成分如 α -SMA。 α -SMA表达增加是肝星状细胞激活的主要标志物,与肝纤维化进程密切相关^[8]。本研究结果显示,TF组血清ALT、AST水平,肝组织IL-18、IL-1 β 含量及 α -SMA阳性染色面积百分比均低于肝纤维化组,且Masson染色结果显示TF组肝脏胶原纤维沉积、纤维性增生及假小叶形成有所减少,纤维间隔缩小,提示TF可保护肝纤维化小鼠肝功能,减轻炎症反应及肝纤维化程度。

Nod样受体是细胞中重要的模式识别受体,NLRP3是主要的Nod样受体类型,被激活后与Caspase-1、ASC组成炎症小体^[9]。炎症小体属于一种可激活炎症反应的多蛋白复合物,在先天性免疫及炎症相关疾病进程中扮演着重要角色。NLRP3炎症小体是先天免疫系统的重要组成部分,可响应微生物感染与细胞损伤,具有抗微生物及免疫调节作用,通过介导Caspase-1激活和促炎细胞因子IL-1 β /IL-18的分泌,导致细胞焦亡^[10]。近年来研究^[11-12]发现,炎症反应是肝纤维化及肝损伤的常见病因,而NLRP3炎症小体的激活是其中关键的分子机制。NLRP3炎症小体存在于树突状细胞、中性粒细胞、枯否细胞等内源性免疫细胞以及肝星状细胞、肌成纤维细胞、肝细胞等非免疫细胞中,当被致病因素刺激时,肝脏细胞中NLRP3炎症小体活化,进而诱发肝纤维化。因此推测,开发NLRP3炎症小体抑制剂或许可阻断肝纤维化进程,防止病情恶化。尼日菌素钠盐是Streptomyces hygroscopicus衍生而来的抗生素,通过充当H⁺、K⁺、Pb²⁺的离子载体发挥生物学作用,可激活NLRP3炎症小体以诱导炎症及免疫刺激过程^[13]。本研究采用尼日菌素钠盐干预后发现,其使用可在一定程度上减弱TF对肝纤维化的治疗作用,故推测TF可能是通过抑制NLRP3炎症小体通路发挥保肝作用。

综上所述,TF可改善肝纤维化小鼠肝功能,减轻炎症反应及肝纤维化程度,其可能通过抑制

NLRP3炎症小体通路来实现。

参考文献:

- [1] PAROLA M, PINZANI M. Liver fibrosis: pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues[J]. Mol Aspects Med, 2019, 65: 37-55.
- [2] MANKA P, ZELLER A, SYN W K. Fibrosis in chronic liver disease: an update on diagnostic and treatment modalities[J]. Drugs, 2019, 79: 301-308.
- [3] 杨毛毛, 罗花彩, 徐伟, 等. 藤茶总黄酮固体脂质纳米粒抗肝癌活性及其药动学研究[J]. 中成药, 2020, 42(9): 2249-2254.
- [4] 陈刚, 李宏波, 邱少敏. CCL₄皮下注射制备大鼠肝纤维化模型的研究[J]. 现代医学, 2010, 38(3): 225-229.
- [5] ŠMÍD V. Liver fibrosis[J]. Vnitř Lek, 2020, 66(4): 61-66.
- [6] 张文涛, 吴尚文, 黄丽贞, 等. 食蟹猴CCL₄急性肝损伤模型建立及藤茶总黄酮对其保护作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(5): 861-865.
- [7] 李宇, 刘翠君, 艾伦强, 等. 利川市藤茶黄酮成分研究[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(4): 100-104.
- [8] 迟鹏宇, 郑卫海, 李伟, 等. 枸杞多糖抑制小鼠肝纤维化组织中 α -SMA和I型胶原蛋白的表达[J]. 职业与健康, 2020, 36(6): 38-42.
- [9] LIU T, ZHOU Y T, WANG L Q, et al. NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3 (NLRP3) contributes to inflammation, pyroptosis, and mucin production in human airway epithelium on rhinovirus infection [J]. J Allergy Clin Immunol, 2019, 144(3): 777-787.
- [10] SUN L, MA W, GAO W, et al. Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(8): 542.
- [11] ZHAO J, HAN M, ZHOU L, et al. TAF and TDF attenuate liver fibrosis through NS5A/P9, TGF β 1/Smad3, and NF- κ B/NLRP3 inflammasome signaling pathways[J]. Hepatol Int, 2020, 14(1): 145-160.
- [12] SCHUSTER-GAULS, GEISLER L J, MCGEOUGH M D, et al. ASK1 inhibition reduces cell death and hepatic fibrosis in an Nlrp3 mutant liver injury model[J]. JCI Insight, 2020, 5(2): e123294.
- [13] LEULMI N, SIGHEL D, DEFANT A, et al. Nigericin and grisorixin methyl ester from the Algerian soil-living Streptomyces yousseoufiensis SF10 strain: a computational study on their epimeric structures and evaluation of glioblastoma stem cells growth inhibition[J]. Nat Prod Res, 2019, 33(2): 266-273.

【责任编辑: 侯丽颖】