

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.33.001

· 基础研究 ·

凉血活血方对肝星状细胞 LX-2 增殖和凋亡的影响 *

李 录^{1#} 马力天^{1,2#} 杨明会³ 周 刚¹ 张 毅² 刘卓锋² 周咏春⁴
吴德喜¹ 白 杨¹ 郑 瑾^{2,3△}(1 第四军医大学学员旅 陕西 西安 710032; 2 第四军医大学唐都医院中医科暨中西医结合肿瘤科 陕西 西安 710032;
3 解放军总医院中医院 北京 10085; 4 第四军医大学西京医院放疗科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨凉血活血方(Liang Xue Huo Xue Fang)对肝星状细胞 LX-2 增殖和凋亡的影响。**方法:**体外培养肝星状细胞 LX-2, 分别将凉血活血方(浓度为 1.125, 2.228, 3.31, 4.37, 5.41 mg·mL⁻¹), 作用于 LX-2 细胞后 24 h, 48 h 用 MTT 比色法检测细胞的增殖情况, 选取合适的药物浓度(4, 8, 12, 16 mg·mL⁻¹), 用流式细胞术检测加药 24 h 后细胞的凋亡率。**结果:**① MTT 法显示不同浓度凉血活血方作用 LX-2 细胞 24 h, 48 h 后, 除 24 h, 1.125 mg·mL⁻¹ 和 2.228 mg·mL⁻¹ 外, 其余组增殖抑制率均明显高于正常对照组(P<0.05)。② 流式细胞术检测显示, 凉血活血方浓度为 4, 8, 12, 16 mg·mL⁻¹ 时, 可明显促进 LX-2 细胞凋亡。**结论:**凉血活血方能抑制 LX-2 细胞的增殖, 可能与其促进细胞凋亡有关。

关键词:凉血活血方; LX-2 细胞; 增殖; 凋亡**中图分类号:**R575.2; R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)33-6401-03

Effect of Liang Xue Huo Xue Fang on the Proliferation and Apoptosis of LX-2 Cells*

LI Lu^{1#}, MA Li-tian^{1,2#}, YANG Ming-hui³, ZHOU Gang¹, ZHANG Yi²,LIU Zhuo-feng², ZHOU Yong-chun⁴, WU De-xi¹, BAI Yang¹, ZHENG Jin^{2,3△}

(1 The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 2 Department of integrated traditional and western medicine of Oncology, Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 3 Institute of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of People's Liberation Army, Beijing, 100853, China; 4 Department of Radiation Oncology, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of Liang Xue Huo Xue Fang on the proliferation and apoptosis of LX-2 cells. **Methods:** LX-2 cells were treated with different concentrations of Xue Huo Xue Fang (1.125, 2.228, 3.31, 4.37, 5.41 mg·mL⁻¹). Cell proliferation was measured by MTT after LX-2 cells were treated with Liang Xue Huo Xue Fang for 24 h, 48 h. Then, cell apoptosis was detected at 24 h by flow cytometry in a appropriate drug concentration (4, 8, 12, 16 mg·mL⁻¹). **Results:** ① Except 1.125 mg·mL⁻¹ and 2.228 mg·mL⁻¹ in 24 h, cell proliferation in other centration groups was dramatically inhibited by Liang Xue Huo Xue Fang (P<0.05), and the inhibition rate was higher than control group. ② Liang Xue Huo Xue Fang could promote apoptosis of LX-2 cells at 4, 8, 12, 16 mg·mL⁻¹. **Conclusion:** Liang Xue Huo Xue Fang can inhibit the proliferation and apoptosis of LX-2 cells.

Key words: Liang Xue Huo Xue Fang; LX-2 cell; Proliferation; Apoptosis**Chinese Library Classification:** R575.2; R285.5 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2014)33-6401-03

前言

肝纤维化(Liver Fibrosis, LF)是各种慢性肝病向肝硬化发展过程中引起细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)过度沉积的病理过程,是一种损伤修复反应^[1,2]。以往人们认为肝纤维化是不可逆的,然而随着研究的深入和大量临床证据表明,肝纤维化是一种可逆的损伤修复过程^[3]。多种因素可导致肝纤维化的

发生,包括病毒性肝炎、慢性酒精中毒、自身免疫性肝病、机械损伤等^[4]。肝纤维化是一个非常复杂的损伤修复过程,其中心环节是肝星状细胞(Hepatic Stellate Cells, HSCs)的激活^[5],活化的 HSCs 可分泌细胞外基质参与肝纤维化的形成并进一步导致肝内结构的重建和假小叶的形成^[6]。因此,抑制细胞外基质的过度沉积是抗肝纤维化的重要环节^[7]。在中医学里,并没有肝纤维化这一病名,其病因复杂,因此各医家侧重点也不同,湿、热、疫、

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81072973);省级中医药临床研究课题(Lc70)

作者简介:李录(1992-),男,本科,电话:18700916632, E-mail:450427540@qq.com;

马力天(1991-),男,本科,主要从事肿瘤基础研究, E-mail:malitian1234@163.com

△ 通讯作者:郑瑾,博士,主治医师,从事中医药对癌前病变及肿瘤治疗的机理研究,电话:029-84717481, E-mail:zjddln@163.com

(收稿日期:2014-05-14 接受日期:2014-06-12)

毒是其主要病因,大量的研究表明,中药对肝纤维化有较好的疗效^[7-11],副作用小。针对此,我们选择凉血活血方(Liang Xue Huo Xue Fang),以人肝星状细胞 LX-2 为靶细胞,用 MTT 法观察不同剂量药物对其增殖的影响,用流式细胞术观察药物对细胞凋亡的影响,为进一步研究其导致 LX-2 凋亡的机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

MTT 试剂(晶彩生物有限公司)、Bio-rad 酶联免疫检测仪、DMEM 高糖培养基(Gibco)、四季青胎牛血清。LX-2 细胞来自第四军医大学细胞工程学研究中心,美国 Becton Dickinson 公司流式细胞仪,750 g 多功能粉碎机、渗滤柱、旋转蒸发仪、循环水式多用真空泵。

1.2 LX-2 细胞的培养及传代

用含 10 %胎牛血清、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素、1 % L-谷氨酰胺的高糖 DMEM 培养基将 LX-2 细胞培养于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5 % CO_2 的细胞孵箱中,每天换液 1 次。在倒置显微镜下观察细胞密度为 80 %~90 %时,以胰酶 37 $^{\circ}\text{C}$ 消化 2~3 min 传代。

1.3 实验药物的制备

精选当归 10 g、赤芍 10 g、生地 10 g、丹皮 10 g、桃仁 10 g、川芎 10 g、黄芩 10 g、金银花 10 g、连翘 10 g、西洋参 10 g、麦冬 10 g、五味子 6 g、百合 10 g、贝母 6 g、紫苑 10 g、甘草 10 g(购自西安市诚信药材行)。制备过程:1)提挥发油:①用 750 g 多功能粉碎机将凉血活血方中当归、川芎、连翘粉碎,过 1 号筛,直至全部粉碎完毕。②先将凉血活血方中当归、川芎、连翘按 1:1:1 的比例加入渗滤柱中,第 1 次加入 1500 mL 的石油醚,以 60 滴/min 的速度开始滴,直至滴完,然后再加入 2 次石油醚,每次 500 mL,以同样的滴速滴完;③将渗滤出的石油醚+药油装入 1000 mL 的烧瓶中,每次 500 mL,用旋转蒸发仪进行蒸发,直至石油醚全部回收完成,将留下的挥发油装入玻璃瓶中,密闭备用。④将渗滤柱中的药粉倒出,使石油醚挥发完毕,干药粉保存备用。2)熬药:每剂 250 g 加水 500 mL,按传统煎药法文火煎煮 30 min 取药液,以恒温水浴锅浓缩成含生药 1.25 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的汤剂,真空包装,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。以上工作由第四军医大学唐都医院药剂科中药制作车间完成。

1.4 药物浓度的选择及稀释

一个 60 kg 的病人,其体液量占总重量的 20 %,即 12 L,按照每日一副,即药物总量为 152 g,因此假定病人将药物全部吸收,即其体内浓度为:152 g/12 L=12.67 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,但是药物不可能被全部吸收,所以在我们进行 MTT 实验时,选择药物浓度为:1.125,2.228,3.31,4.37,5.41 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。在用流式细胞术检测细胞凋亡时,选择药物浓度为:4,8,12,16 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

由于 1.25 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的药物很粘稠,所以在加药时要进行稀释,其稀释方法为:将 100 μL 的凉血活血药物溶于 1000 μL 的培养基中(含 10 % FBS 和双抗),稀释后药物浓度为:113.63 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。药物稀释后,用 0.22 μm 孔径的滤器对其进行过滤除菌。

1.5 MTT 法检测 LX-2 细胞的增殖情况

对数生长期的 LX-2 细胞,1000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,用高糖 DMEM(含 10 %胎牛血清)将细胞浓度调为 $1\times 10^5 \text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ 细

胞悬液后,接种于 96 孔培养板,每孔加细胞悬液 200 μL ,放在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5 % CO_2 的细胞培养箱中,待细胞贴壁长至底面积的 70~80 %后,更换培养基,并且每孔分别加入过滤后的凉血活血药物,使终浓度达到 1.125,2.228,3.31,4.37,5.41 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;每一浓度设 4 个复孔,另设空白对照组,此外,设立单加药物、培养基,不加细胞的对照组(观察药物是否会和 MTT 反应)。单独作用 24,48 h 后,去培养基,每孔加 20 μL ,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ MTT 溶液,孵育 4 h,每孔加入二甲亚砜 180 μL ,在微型混合器上振荡 10 min 后于全自动酶标仪上测定 490 nm OD 值。实验重复 3 次,取均值计算增殖抑制率。增殖抑制率=(1-药物组 OD 值/对照组 OD 值) $\times 100\%$ 。

1.6 流式细胞术检测细胞的凋亡情况

取对数生长期的 LX-2 细胞,1000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,用高糖 DMEM(含 10 %胎牛血清)将细胞浓度调为 $1\times 10^6 \text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ 细胞悬液后,接种于 6 孔板。每孔加细胞悬液 2 mL,放在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5 % CO_2 的细胞培养箱中,待细胞贴壁长至底面积的 70~80 %后,更换培养基,并且每孔分别加入过滤后的凉血活血药物,使终浓度达到 4,8,12,16 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。使用 Becton Dickinson 公司流式细胞仪,按照说明书收集加药后 24 h 的细胞上清和贴壁细胞(悬浮细胞直接收集到离心管中,贴壁细胞用胰酶消化),细胞数不少于 5×10^5 个。常规离心(1000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),离心 5 min,用 PBS 将细胞洗 3 遍,离心,倒掉上清后混匀。根据 Annexin V-FITC/PI 双标记试剂盒说明,取 195 μL 细胞悬液,加入 5 μL Annexin V-FITC 混匀,室温反应 10 min,PBS 洗细胞 1 次,再以 190 μL 稀释的结合缓冲液重悬,加 10 μL 碘化丙啶染色液(PI),轻轻混匀,随即用流式细胞仪分析。

1.7 统计学分析

采用单因素方差分析(one-factor ANOVA)比较各组均数之间的差别有无统计学意义。采用 Dunnett-t 检验实验组与对照组均数差别的多重比较。流式细胞仪分析采集软件:BD FACSDiva Software,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 凉血活血方对 LX-2 细胞增殖的影响

凉血活血方对 LX-2 细胞有抑制作用(图 1),在 24 h,MTT 检测较低剂量的凉血活血方(1.125,2.228 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)可以使细胞活性增加,这可能是因为细胞对低剂量短时间的药物产生应激,细胞的代谢增加,因此其光密度值高于空白对照组。但是当药物作用时间延长到 48 h 后其表现出抑制作用。其余各组在一定程度上,随药物浓度和作用时间的增加,抑制率也增加($P<0.05$)。

2.2 凉血活血方对 LX-2 细胞凋亡的影响

用 Annexin V/PI 双染色法检测细胞凋亡。细胞凋亡早期,细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)从细胞膜内侧翻转到细胞膜的表面,暴露在细胞外环境中。Annexin V 是一种 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白,能与 PS 高亲和力特异性结合,将 Annexin V 标记荧光,利用流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生。碘化丙啶(Propidine iodide, PI)是一种核酸染料,它不能通过完整的细胞膜,但在细胞凋亡的中晚期和死细胞,PI 能透过细胞膜而使细胞核红染。因此,联合使用 Annexin V 与 PI,可以将早晚期凋亡细胞和死细胞区分开。结果显示(图 2),细胞凋亡率($\text{B2}+\text{B4}$)随药物浓度增加逐渐增加,其中 B4 为早期凋亡,B2 为

晚期凋亡,即,凉血活血方可促进细胞凋亡,并且与药物剂量有关。

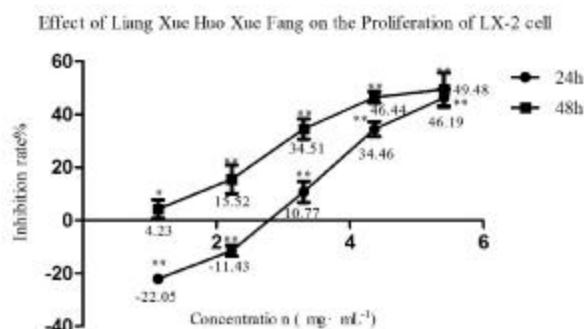


图 1 凉血活血方对 LX-2 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effect of Liang Xue Huo Xue Fang on the Proliferation of LX-2 cells

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与相应时段空白对照组相比

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared to blank control group in the same time scale

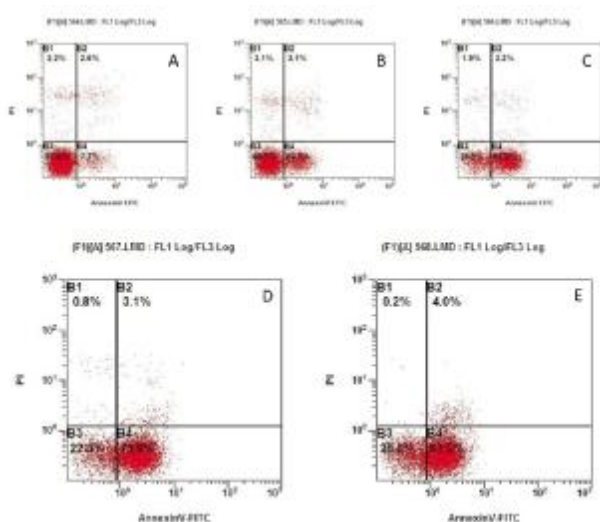


图 2 24 h 凉血活血方对 LX-2 细胞凋亡的影响

Fig. 2 Apoptosis of LX-2 cells treated by Liang Xue Huo Xue Fang in 24 h

注: A: 空白对照组; B: $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; C: $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; D: $12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; E: $16 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. B1: 死细胞; B2: 晚期凋亡; B3: 活细胞; B4: 早期凋亡

Note: A: Control; B: $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; C: $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; D: $12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; E: $16 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. B1: dead cells; B2: late apoptosis; B3: living cells; B4: early apoptosis

3 讨论

肝纤维化是一个非常复杂的过程,肝星状细胞(HSC)的激活、增殖在其中发挥着重要作用。目前认为 HSC 是产生 ECM 的重要细胞^[4]。多种因素与 HSC 的活化有关,包括转化生长因子 β (TGF β 1)^[12,13]、血小板衍生因子(PDGF)^[12,14]、胰岛素样生长因子(IGF-1)^[15]、表皮生长因子(EGF)^[16,17]、成纤维细胞生长因子(FGF)^[18]等。激活的 HSC 改变为成肌纤维细胞(myofibroblast, MFB)^[4]。在活化状态下,HSC 可以大量合成 ECM,ECM 的大量沉积导致肝纤维化。HSC 的激活是肝纤维化的中心环节,因此,大多数抗肝纤维化的药物都以 HSC 为靶细胞。祖国医学中并

无本病的具体病名,而是依据其临床表现将其归入“胁痛、积聚”等范畴,认为本病的发生多由“气滞血瘀”导致,在治疗上强调“活血化瘀”^[19]。中医学认为,肝体阴用阳,性喜调达,恶抑郁,主藏血,各种原因导致的肝气调达不畅,日久则必生瘀血。目前,已经有大量的实验和临床研究证实中药对肝纤维化有着较好的疗效,且已有益气活血方在临床使用,取得较好的抗肝纤维化效果。在本文中,我们使用凉血活血方(当归、赤芍、生地、丹皮、桃仁、川芎、黄芩、金银花、连翘、西洋参、麦冬、五味子、百合、贝母、紫菀、甘草)以人肝星状细胞 LX-2 为靶细胞,来观察该方剂对细胞凋亡和增殖的影响。当归,归肝经,重在引药至肝所。赤芍、丹皮、桃仁、川芎均有活血化瘀的作用,余药皆具凉血养阴之用,众药合用,共奏活肝之瘀血,养肝之阴之功。

在药物制备方面,我们没有选择含药血清制备法,而是将熬好的药材稀释后经 $0.22 \mu\text{m}$ 孔径的滤器对其进行过滤除菌直接作用于细胞,这样做主要是出于以下考虑:①我们的最终目的希望能够从中制备出可以用于注射的复方药物。②传统的含药血清制备法中,老鼠的肝脏会对药物进行代谢,制备出的含药血清实际上是老鼠代谢后的产物,而并不完全是药物本身,尽管鼠和人很相似,但我们无法明确药物在体内究竟发生了哪些变化。

我们研究发现,不同浓度的凉血活血方可明显促进肝星状细胞 LX-2 细胞凋亡,且细胞凋亡率与药物剂量相关。而从 MTT 的结果中可以看到(图 1),药物作用 24 h 后,较低剂量的凉血活血方($1.125, 2.228 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)可以使细胞活性增加,但是当药物作用时间延长到 48 h 后其表现出抑制作用。这可能是由于,当低剂量药物作用时,细胞因受到刺激产生某种方式的代偿,细胞代谢增强,线粒体活性增加,产生较多的琥珀酸脱氢酶使外源性的 MTT 还原生成较多的蓝紫色结晶甲瓖,但随着药物作用时间的延长,细胞活性最终受到抑制。我们的研究表明,凉血活血方可以有效地抑制 LX-2 细胞增殖,促进 LX-2 细胞凋亡,为将来更进一步的研究提供实验参考。

致谢:真诚感谢第四军医大学军事预防医学系放射医学教研室郭国祯主任,王晋副教授,感谢他们在实验平台、技术等多方面给予的指导和帮助,感谢第四军医大学细胞工程学研究中心边惠洁教授给予 LX-2 细胞系。

参考文献 (References)

- [1] Friedman S L. Liver fibrosis -- from bench to bedside [J]. J Hepatol, 2003, 38 (Suppl 1): S38-S53
- [2] Farazi PA, Depinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(9): 674-687
- [3] Fallowfield JA, Kendall TJ, Iredale JP. Reversal of fibrosis: no longer a pipe dream[J]. Clin Liver Dis, 2006, 10(3): 481-497
- [4] Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, et al. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(13): 5060-5065
- [5] Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22 (Suppl 1): S79-S84
- [6] Kisseleva T, Brenner DA. Anti-fibrogenic strategies and the regression of fibrosis[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2011, 25(2): 305-317
- [7] Li JP, Gao Y, Chu SF, et al. Nrf2 pathway activation contributes to anti-fibrosis effects of ginsenoside Rg1 in a rat model of alcohol- and CCl₄-induced hepatic fibrosis [J]. Acta Pharmacol Sin, 2014 [Epub ahead of print]

(下转第 6556 页)

- palliative care services: Prevalence and patterns[J]. Palliat Med, 2003, 17: 310-314
- [17] Portenoy RK, Thaler HT, Komblith AB, et al. Symptom prevalence, characteristics and distress in a cancer population [J]. Qual Life Res, 1994, 3: 183-189
- [18] Cella D. The Functional Assessment of Cancer Therapy-Anemia (FACT-AN) Scale: A new tool for the assessment of outcomes in cancer anemia and fatigue[J]. Semin Hematol, 1997, 34: 13-19
- [19] Cella D, Eton DT, Fairclough DL, et al. What is a clinically meaningful change on the Functional Assessment of Cancer Therapy-Lung (FACT-L) questionnaire? Results from Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) study 5592 [J]. J Clin Epidemiol, 2002, 55: 285-295
- [20] Yellen SB, Cella DF, Webster K, et al. Measuring fatigue and other anemia-related symptoms with the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) measurement system[J]. J Pain Symptom Manage, 1997, 13: 63-74
- [21] Bonomi AE, Cella DF, Hahn EA, et al. Multilingual translation of the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) quality of life measurement system[J]. Qual Life Res, 1996, 5: 309-320
- [22] Reuter K, Härter M. Screening for mental disorders in cancer patients -discriminant validity of HADS and GHQ-12 assessed by standardized clinical interviews[J]. Int J Methods Psychiatr Res, 2001, 10: 86-96
- [23] Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group [J]. Am J Clin Oncol, 1982, 5: 649-655
- [24] Hann DM, Jacobsen PB, Martin SC, et al. Quality of life following bone marrow transplantation for breast cancer: A comparative study [J]. Bone Marrow Transplantation, 1997, 19: 257-264
- [25] Bladgen SP, Charman SC, Sharples LD, et al. Performance status score: Do patients and their oncologists agree [J]. Br J Cancer, 2003, 89: 1022-1027
- [26] Corless IB, Nicholas PK, Nokes KM. Issues in cross-cultural quality-of-life research[J]. J Nurs Sch, 2001, 33: 15-20
- [27] Jones PS, Lee JW, Phillips LR, et al. An adaptation of Brislin's translation model for cross-cultural research [J]. Nurs Res, 2001, 50: 300-304
- [28] Conill C, Verger E, Henriquez I, et al. Symptom prevalence in the last week of life[J]. J Pain Symptom Manage, 1997, 14: 328-31
- [29] Cooley ME, Short TH, Moriarty HJ. Symptom prevalence, distress, and change over time in adults receiving treatment for lung cancer[J]. Psychooncology, 2003, 12: 694-708
- [30] Donnelly S, Walsh D. The symptoms of advanced cancer [J]. Semin Oncol, 1995, 22(2 Suppl 3): 67-72
- [31] Gift AG, Jablonski A, Stommel M, et al. Symptom clusters in elderly patients with lung cancer[J]. Oncol Nurs Forum, 2004, 31: 203-212
- [32] Feyer P, Kleeberg UR, Steingraber M, et al. Frequency of side effects in outpatient cancer care and their influence on patient satisfaction a prospective survey using the PASQOC questionnaire[J]. Support Care Cancer, 2008, 16(6): 567-575
- [33] Karakoc T, Yurtsever S. Relationship between social support and fatigue in geriatric patients receiving outpatient chemotherapy[J]. Eur J Oncol Nurs, 2010, 14: 61-67
- [34] Lee YH, Tsai YF, Lai YH, et al. Fatigue experience and coping strategies in Taiwanese lung cancer patients receiving chemotherapy [J]. J Clin Nurs, 2008, 17: 876-83

(上接第 6403 页)

- [8] Zhang L, Schuppan D. Traditional Chinese Medicine (TCM) for fibrotic liver disease: Hope and hype[J]. J Hepatol, 2014, 61(1): 166-168
- [9] Zhang L, Wu T, Chen J M, et al. Danshensu inhibits acetaldehyde-induced proliferation and activation of hepatic stellate cell-T6 [J]. Journal of Chinese Integrative Medicine, 2012, 10(10): 1155-1161
- [10] Yu BB, Dai LL, Li X, et al. Effect of danshensu on activation of JNK pathway in hepatic stellate cells (HSCs) induced by IL-1 beta [J]. Chinese Journal of Hepatology, 2009, 17(6): 451-454
- [11] 马力天,任秦有,白杨,等. 丹参联合 β -榄香烯对肝星形细胞 LX-2 增殖和凋亡的影响[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(34): 6626-6629
- Ma Li-tian, Ren Qin-you, Bai Yang, et al. Effect of beta-Elementene Combined with Radix Salviae Miltiorrhizae on the Proliferation and Apoptosis of LX-2 cell[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(34): 6626-6629
- [12] Klironomos S, Notas G, Sfakianaki O, et al. Octreotide modulates the effects on fibrosis of TNF-alpha, TGF-beta and PDGF in activated rat hepatic stellate cells[J]. Regul Pept, 2014, 188: 5-12
- [13] Yoshida K, Matsuzaki K. Differential Regulation of TGF-beta/Smad Signaling in Hepatic Stellate Cells between Acute and Chronic Liver Injuries[J]. Front Physiol, 2012, 3: 53
- [14] Shah R, Reyes-Gordillo K, Arellanes-Robledo J, et al. TGF-beta1 up-regulates the expression of PDGF-beta receptor mRNA and induces a delayed PI3K-, AKT-, and p70 (S6K) -dependent proliferative response in activated hepatic stellate cells [J]. Alcohol Clin Exp Res, 2013, 37(11): 1838-1848
- [15] Wu BR, Zheng YL, Sang XL, et al. Role of the IGF-1/PI3K pathway and the molecular mechanism of Fuzhenghuayu therapy in a spontaneous recovery rat model of liver fibrosis[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2013, 21(9): 674-678
- [16] Huang G, Besner GE, Brigstock DR. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor suppresses experimental liver fibrosis in mice[J]. Lab Invest, 2012, 92(5): 703-712
- [17] Kang M, Choi S, Jeong SJ, et al. Cross-talk between TGFbeta1 and EGFR signalling pathways induces TM4SF5 expression and epithelial-mesenchymal transition[J]. Biochem J, 2012, 443(3): 691-700
- [18] Tsai SM, Wang WP. Expression and function of fibroblast growth factor (FGF) 7 during liver regeneration [J]. Cell Physiol Biochem, 2011, 27(6): 641-652
- [19] 杨倩, 冯玉彦, 蒋树林, 姚希贤. 瘀血论治慢性肝纤维化经验 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 03: 168-171
- Yang Qian, Feng Yu-yan, Jiang Shu-lin. Experiences of Professor Yao Xixian in Treating Chronic Hepatic Fibrosis Based on Blood Stasis Theory [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2007, 03: 168-171