

· 基础研究 ·

大黄廑虫丸对 H_2O_2 诱导大鼠肝星状细胞氧化应激的影响

龚正华¹ 郑洁² 梁悦² 王凤卿³ 欧鹏程³ 胡国信³

摘要 目的 研究大黄廑虫丸对 H_2O_2 诱导大鼠肝星状细胞氧化应激的影响,并探讨其分子机制。方法 制备大鼠大黄廑虫丸血清和正常血清;将肝星状细胞(HSCs)分为正常血清低浓度 H_2O_2 (50 nmol/L)组、大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组、正常血清高浓度 H_2O_2 (100 μ mol/L)组和大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组,应用化学荧光和流式细胞术检测细胞内活性氧(ROS)水平。蛋白质免疫印迹实验中,将 HSCs 分为正常血清组、大黄廑虫丸血清组、正常血清低浓度 H_2O_2 (50 nmol/L)组和大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组,以检测 ROS 生成相关分子 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 的表达。结果 正常血清高浓度 H_2O_2 组和大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组细胞内均有较强 ROS 荧光,但两组之间差异无统计学意义($P>0.05$);大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组细胞的 ROS 荧光强度明显弱于正常血清低浓度 H_2O_2 组($P<0.01$);与正常血清组比较,正常血清低浓度 H_2O_2 组 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$);与正常血清低浓度 H_2O_2 组比较,大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 蛋白表达下调($P<0.01$)。结论 大黄廑虫丸可能通过调控 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 等分子,参与拮抗 H_2O_2 诱导的氧化应激,阻止 ROS 的生成,并最终抑制 HSCs 活化、增殖,防治肝纤维化。

关键词 大黄廑虫丸;肝星状细胞;氧化应激;肝纤维化

Effect of Dahuang Zhechong Pill on H_2O_2 Induced Oxidative Stress of Hepatic Stellate Cells GONG Zheng-hua¹, ZHENG Jie², LIANG Yue², WANG Feng-qing³, OU Peng-cheng³, and HU Guo-xin³
1 Department of Ultrasound Imaging, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen (518036); 2 Department of Traditional Chinese Medicine, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen (518036); 3 Department of Infectious Disease, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen (518036)

ABSTRACT Objective To study the effect of Dahuang Zhechong Pill (DHZCP) on H_2O_2 induced oxidative stress in rat hepatic stellate cells (HSCs), and to observe its molecular mechanism. Methods The rat DHZCP serum and normal serum were prepared. HSCs were divided into four groups, i.e., normal serum with low concentration of H_2O_2 (50 nmol/L), DHZCP serum with low concentration of H_2O_2 , normal serum with high concentration of H_2O_2 (100 μ mol/L), and DHZCP serum with high concentration of H_2O_2 . Intracellular reactive oxygen species (ROS) were measured by chemiluminescence and flow cytometry. HSCs were divided into normal serum group, DHZCP serum group, normal serum with low concentration of H_2O_2 (50 nmol/L) group, and DHZCP serum with low concentration of H_2O_2 group in Western Blot experiment. Expressions of RAC1, p67^{phox}, p22^{phox}, and p-ERK were detected. Results Strong ROS fluorescence was found in both normal serum with high concentration of H_2O_2 group and DHZCP serum with high concentration of H_2O_2 group, but no significant difference was found between the two groups ($P>0.05$). The fluorescence intensity of ROS in the DHZCP serum with low concentration of H_2O_2 group

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81473473); 深圳市科技创新委员会资助项目(No. JCYJ20160428173252471); 深圳市“三名工程”资助项目(No. SZSM201512026)

作者单位: 1. 北京大学深圳医院超声影像科(深圳 518036); 2. 北京大学深圳医院中医科(深圳 518036); 3. 北京大学深圳医院感染科(深圳 518036)

通讯作者: 胡国信, Tel: 0755-83923333, E-mail: huguoxin8228@126.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20190211. 124

was significantly lower than the normal serum with low concentration of H_2O_2 group ($P < 0.01$). Compared with the normal serum group, the protein levels of RAC1, $p67^{phox}$, $p22^{phox}$, and p-ERK were significantly increased in normal serum with low concentration of H_2O_2 group ($P < 0.01$). Compared with normal serum with low concentration of H_2O_2 group, the protein expressions of RAC1, $p67^{phox}$, $p22^{phox}$, and p-ERK were down-regulated in the DHZCP serum with low concentration of H_2O_2 group ($P < 0.01$). Conclusion By regulating RAC1, $p67^{phox}$, $p22^{phox}$, and p-ERK, DHZCP participated in antagonizing H_2O_2 induced oxidative stress, prevented ROS production, and ultimately inhibited HSCs activation and proliferation, thus preventing liver fibrosis.

KEYWORDS Dahuang Zhechong Pills; hepatic stellate cell; oxidative stress; liver fibrosis

肝纤维化是肝组织内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分过度增生与异常沉积、导致肝脏结构或功能异常的病理变化,是慢性肝病向肝硬化发展的共同病理过程。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的活化、增殖是肝纤维化发生的中心事件。氧化应激是机体或细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)过度产生和/或抗氧化防御功能减弱,造成组织、细胞损伤的一种状态,与肝纤维化、HSCs 活化密切相关。抑制肝脏氧化应激及其导致的 HSCs 活化是当前抗肝纤维化治疗的有效策略^[1]。

抗肝纤维化的药物如秋水仙碱、青霉胺等,因其治疗毒性不良反应较大,临床应用受限,中医药治疗肝纤维化有其独特优势^[2,3]。当前,中医古方大黄廬虫丸在肝纤维化、肝硬化的临床治疗应用越来越广泛,并被纳入《肝纤维化中西医结合诊疗指南》^[4]。然而这些研究多集中在临床观察和动物实验研究,分子机制不明确,对于氧化应激造成的肝纤维化作用尚未涉及。本实验将应用 H_2O_2 刺激细胞,模拟细胞内氧化应激状态,观察大黄廬虫丸对氧化应激和 ROS 生成作用,检测相关分子的变化,探究其抗肝纤维化机制,为其临床防治肝纤维化提供新的实验依据。

材料与方法

1 动物 雄性 8 周龄 SD 大鼠 30 只,体重 (220 ± 20) g,由广东省医学实验动物中心提供,许可证号 SYXK(粤)2013-0002。所有动物于北京大学深圳医院科教楼,清洁级环境中普通饲料喂养,自由进食,环境温度 $18 \sim 22^\circ\text{C}$,湿度 $40\% \sim 60\%$,12 h 昼夜交替光照。实验开始前适应性饲养 1 周。遵循国家有关实验动物保护与使用规范。

2 细胞株 永生化 HSC-T6,在含 10% 南美胎牛血清(Gibco,货号:10270-106)、100 U/mL 青霉素(Gibco,货号:15140-122)和 100 mg/mL 链霉素(Gibco,货号:15140-122)的高糖 DMEM(Gibco)培

养基中,置于 5% CO_2 培养箱(Thermo), 37°C 培养。

3 药物 大黄廬虫丸购自西安正大制药有限公司(货号:61021089)。每丸含 12 味中药配方,每 88 g 生药中含大黄 20 g 地黄 20 g 廬虫 2 g 白芍 8 g 蛭 3 g 桃仁 8 g 黄芩 4 g 虻虫 3 g 甘草 6 g 水蛭 4 g 苦杏仁 8 g 干漆 2 g。所有的药物干燥并研磨成粉末,将粉末和蜂蜜混合制成药丸。

4 主要试剂及仪器 分析纯 30% H_2O_2 (深圳市福海化玻仪器有限公司,货号:7722-84-1); ROS 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所, E004); PVDF 膜和增强化学发光剂(Millipore, 美国), Western Blot 试剂(上海碧云天生物技术有限公司试剂套装),使用一抗 Rac-1 (Santa Cruz Biotechnology, 美国, sc-95, 1:500), $p67^{phox}$ (Abcam, 美国, ab175293, 1:1 000), $p22^{phox}$ (Abcam, 美国, ab75941, 1:1 000), p-ERK1/2 (Cell Signal Technology, 货号:9101, 1:1 000), ERK1/2 (Cell Signal Technology, 货号:137F5, 1:1 000), β -actin (上海碧云天生物技术有限公司, 货号:AA128, 1:1 000), 二抗(上海碧云天生物技术有限公司, 货号:A0181、A0208、A0216, 1:1 000)。0.25% 胰蛋白酶(Gibco, 美国, 货号:25200-072)。细胞培养箱(Thermo Fisher Scientific, 美国), 荧光相差倒置显微镜(Olympus, 日本), 蛋白免疫印迹所用电泳槽、湿转槽、电泳仪等(Bio-Rad, 美国), 流式细胞仪(Thermo Fisher Scientific)和化学发光成像系统(上海天能科技有限公司)。

5 实验动物血清制备 大黄廬虫丸血清参照课题组前期制备方法^[5]。大黄廬虫丸用生理盐水在临用前制成混悬液,每天按 4.3 g/kg 剂量分上、下午两次灌胃给药,每次 4 mL,连续给药 10 d。正常血清组大鼠给予等量生理盐水灌胃。采血时间为末次灌胃后 1 h,以乙醚麻醉大鼠,无菌状态下打开大鼠心脏经右心房抽血, 4°C $12\ 000 \times g$ 离心 15 min,血清经 56°C 灭活 30 min 后置于 -20°C 冰箱内保存备用。

6 荧光检测细胞 ROS 水平 HSCs 以 1×10^5 个接种于 35 mm 细胞培养皿中,贴壁后细胞密度约 30%。细胞贴壁 12 h 后分 4 组给予处理:正常血清低浓度 H_2O_2 组(15%正常血清培养 24 h,然后 15%正常血清 +50 nmol/L H_2O_2 继续培养 24 h)、大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组(15%大黄廑虫丸血清培养 24 h,然后 15%大黄廑虫丸血清 +50 nmol/L H_2O_2 继续培养 24 h)、正常血清高浓度 H_2O_2 组(15%正常血清培养 48 h,然后 100 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 刺激 30 min)和大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组(15%大黄廑虫丸血清培养 48 h,然后 100 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 刺激 30 min)。每组设 3 平行,在检测 ROS 前,参照操作说明书,将 DCFH-DA 稀释于培养基,工作浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,PBS 换洗培养基 2 遍,显微镜下观察荧光。

7 流式细胞术检测 ROS 水平 参照上述细胞 ROS 荧光检测的细胞培养和处理方式,将细胞分 4 组,不同处理组设 3 个复孔。在检测 ROS 前,参照操作说明书,将 DCFH-DA 稀释于培养基,工作浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,PBS 换洗培养基 2 遍,胰蛋白酶消化细胞 2~3 min,加入培养基终止消化,制成细胞悬液,1 000 $\times g$ 离心收集细胞,用 PBS 洗涤 2~3 次,离心收集细胞沉淀物用于流式细胞术检测。

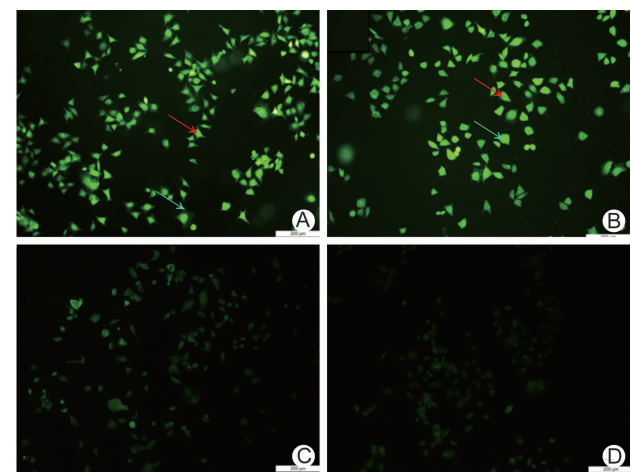
8 Western Blot 检测蛋白表达 HSCs 以 1×10^5 个接种于 35 mm 细胞培养皿中,贴壁后细胞密度约 30%。细胞贴壁 12 h 后分 4 组给予处理:正常血清组(15%正常血清培养 48 h),大黄廑虫丸血清组(15%大黄廑虫丸血清培养 48 h),正常血清低浓度 H_2O_2 组(15%正常血清培养 24 h,然后 15%正常血清 +50 nmol/L H_2O_2 继续培养 24 h)、大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组(15%大黄廑虫丸血清培养 24 h,然后 15%大黄廑虫丸血清 +50 nmol/L H_2O_2 继续培养 24 h)。HSCs 用细胞裂解液制备总蛋白,BCA 检测蛋白浓度并稀释统一浓度,95 $^{\circ}\text{C}$ 煮蛋白 5 min,依据需要检测的蛋白分子量,用 SDS-PAGE 胶分离蛋白,湿转法将蛋白转至 PVDF 膜上,封闭液室温封闭 1 h,4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育 Rac-1 (1:500),p67^{Phox} (1:1 000),p22^{Phox} (1:1 000),p-ERK1/2 (1:1 000),ERK1/2 (1:1 000), β -actin (1:1 000)一抗过夜,洗膜后常温摇床对应二抗(1:1 000)孵育 1 h,洗膜后化学发光剂显影,天能化学发光系统成像、并对蛋白条带进行灰度扫描以定量。 β -actin 作为内参。

9 统计学方法 使用 SPSS 19.0 统计软件,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据间比较采用 t 检验,

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 化学荧光法检测各组 HSCs 内 ROS 荧光强度比较(图 1) 以 100 $\mu\text{mol/L}$ 的高浓度 H_2O_2 处理 HSCs 30 min,细胞 ROS 生成主要集中在细胞核(图 1A,B)。以 50 nmol/L 的低浓度 H_2O_2 处理细胞 24 h,生成 ROS 在细胞浆和细胞核均可见(图 1C,D),其强度较 100 $\mu\text{mol/L}$ 的高浓度 H_2O_2 刺激明显减弱。



注:A 为正常血清高浓度 H_2O_2 组;B 为 大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组;C 为正常血清低浓度 H_2O_2 组;D 为 大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组;红色箭头指示细胞中心为细胞核,浅绿色箭头指示细胞外围为细胞浆

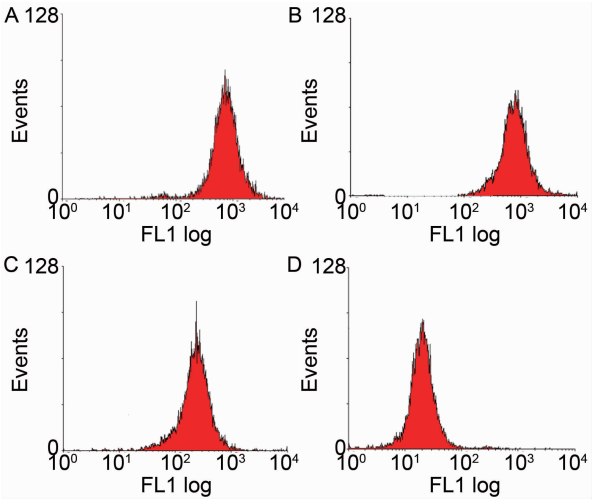
图 1 各组 HSCs 内 ROS 荧光强度比较

2 流式细胞术检测各组 ROS 的荧光强度比较(图 2,表 1) 正常血清高浓度 H_2O_2 组和大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组细胞内均有较强 ROS 生成,荧光强度大,但两组之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与正常血清高浓度 H_2O_2 组比较,正常血清低浓度 H_2O_2 组生成荧光显著减少($P < 0.01$);大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2 组细胞的 ROS 荧光强度也明显弱于大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组和正常血清低浓度 H_2O_2 组($P < 0.01$)。

表 1 流式细胞术检测各组 ROS 的荧光强度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	荧光强度
正常血清高浓度 H_2O_2	3	778.55 $\pm$ 35.97
大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2	3	799.28 $\pm$ 41.42
正常血清低浓度 H_2O_2	3	191.23 $\pm$ 37.47 *
大黄廑虫丸血清低浓度 H_2O_2	3	40.40 $\pm$ 42.12 $\Delta\Delta$

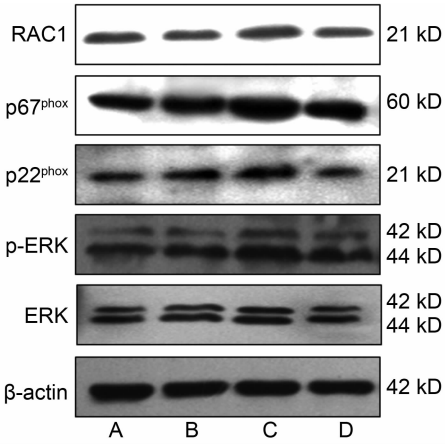
注:与正常血清高浓度 H_2O_2 组比较,* $P < 0.01$;与 大黄廑虫丸血清高浓度 H_2O_2 组比较, $\Delta P < 0.01$;与正常血清低浓度 H_2O_2 组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$



注:A 为正常血清高浓度 H₂O₂ 组;B 为大黄廔虫丸血清高浓度 H₂O₂ 组;C 为正常血清低浓度 H₂O₂ 组;D 为大黄廔虫丸血清低浓度 H₂O₂ 组

图2 流式细胞术检测各组 HSCs 内 ROS 荧光强度比较

3 低浓度 H₂O₂ 刺激下各组 HSCs 内的蛋白表达比较(图 3,表 2) 正常血清组和大黄廔虫丸血清组 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与正常血清组比较,正常血清组低浓度 H₂O₂ 组 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 蛋白表达水平均显著升高($P<0.01$);与正常血



注:A 为正常血清组;B 为大黄廔虫丸血清组;C 为正常血清低浓度 H₂O₂ 组;D 为大黄廔虫丸血清低浓度 H₂O₂ 组

图3 各组 HSCs 内的蛋白表达比较

清组低浓度 H₂O₂ 组比较,大黄廔虫丸血清低浓度 H₂O₂ 组 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 蛋白表达下调($P<0.01$),但与大黄廔虫丸血清组比较,p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 蛋白表达升高($P<0.01$)。

讨 论

大黄廔虫丸为张仲景《金匱要略》中的著名方剂,由大黄、廔虫、水蛭、虻虫、蛭蟥、苦杏仁、黄芩、地黄、桃仁、干漆、白芍和甘草十二味药组成。具有活血化瘀、补肾益气、兼清泻湿热解毒之功。

大黄廔虫丸在临床广泛用于肝纤维化、肝硬化等肝脏疾病。临床研究证实大黄廔虫丸能显著改善肝功能指标和肝纤维化症状,提高患者治疗有效率和预后质量^[6,7]。动物实验发现大黄廔虫丸通过调节 α -SMA、IFN- γ 和 TGF- β 的表达,防治 CCl₄ 诱导大鼠肝纤维化^[8,9]。肝纤维化与氧化应激密切相关^[10,11],大黄廔虫丸在 HSCs 的氧化应激过程中发挥怎样的作用,其机制如何,鲜有文献报告。

本研究发现 50 nmol/L H₂O₂ 可产生低浓度 ROS,并诱导细胞持续 DNA 损伤修复过程;100 μ mol/L H₂O₂ 短时间刺激可产生较高浓度 ROS,对细胞造成 DNA 快速损伤,并促使细胞凋亡,甚至致死。课题组前期研究发现,15% 大鼠血清培养 HSCs,与胎牛血清常规培养的增殖曲线基本一致;另外,在 50 nmol/L H₂O₂ 低浓度持续刺激下,与 15% 正常血清比较,15% 含大黄廔虫丸血清显著抑制 HSCs 增殖^[5]。由此本研究选择 15% 为体外药物浓度,而未设置不同用药剂量。本课题组还检测了 5%、10%、15% 和 20% 大黄廔虫丸血清对细胞凋亡的影响,与正常大鼠血清比较,差异无统计学意义。

ROS 主要来源于黄嘌呤氧化酶、线粒体呼吸链、脂质过氧化物酶、细胞色素 p450 酶和 NADPH 氧化酶系统^[12]。高浓度的 ROS 具有细胞毒性,可诱导 DNA 损伤,细胞凋亡、甚至导致死亡。而低浓度 ROS 则可作为细胞第二信使,对各种生理刺激产生应答,广泛地参与细胞生长、分裂、分化、迁移、凋亡等生理过程。同样,ROS 在 HSCs 的活化和增殖发挥重要的调

表2 各组 HSCs 内蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RAC1	p67 ^{phox}	p22 ^{phox}	p-ERK
正常血清	3	0.45 $\pm$ 0.05	1.02 $\pm$ 0.09	0.38 $\pm$ 0.03	0.76 $\pm$ 0.09
大黄廔虫丸血清	3	0.42 $\pm$ 0.07	0.92 $\pm$ 0.05	0.40 $\pm$ 0.04	0.73 $\pm$ 0.07
正常血清低浓度 H ₂ O ₂	3	0.87 $\pm$ 0.06 *	1.84 $\pm$ 0.12 *	0.75 $\pm$ 0.08 *	1.22 $\pm$ 0.12 *
大黄廔虫丸血清低浓度 H ₂ O ₂	3	0.43 $\pm$ 0.05 Δ	1.24 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta$	0.43 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta$	0.93 $\pm$ 0.09 $\Delta\Delta$

注:与正常血清组比较,* $P<0.01$;与大黄廔虫丸血清组比较, $\Delta P<0.01$;与正常血清低浓度 H₂O₂ 组比较, $\Delta P<0.01$

节作用^[13]。 H_2O_2 是常见的 ROS, 可作为第二信使激活包括 ERK1/2、JNK1/2、p38 和 ERK5 等信号通路, 促进 HSCs 活化、增殖, 进而形成肝纤维化^[14]。本研究分别采用 H_2O_2 高浓度短时刺激和低浓度长时刺激 HSCs, 探索大黄廬虫丸血清与正常血清对于细胞内 ROS 的影响, 通过化学荧光实验和流式细胞术发现, 高浓度短时间 H_2O_2 刺激细胞产生高水平 ROS, 两组血清培养细胞未见明显差异。低浓度 H_2O_2 长时间刺激下, 细胞内持续存在低水平 ROS, 并且大黄廬虫丸血清组 ROS 水平较正常血清组低。

NADPH 氧化酶 (NOX) 家族能够精确调节产生 ROS, 介导细胞内众多信号通路的转导, 包括 TGF- β 、PDGF 和瘦素等, 从而促进肝纤维化发生、发展。NOX 家族是由 7 个亚基组成跨膜复合体, Paik YH 等^[15] 研究发现 p22^{phox}、p40^{phox}、p47^{phox}、p67^{phox} 和 Rac1 在 CCl₄ 诱导肝纤维化的 HSCs 中 mRNA 水平较静息状态明显升高。本研究发现, H_2O_2 持续刺激下, 细胞内 ROS 生成相关分子 Rac1、p67^{phox} 和 p22^{phox} 蛋白表达增加, 大黄廬虫丸血清抑制这些分子的表达。因此, 大黄廬虫丸可能通过抑制 ROS 生成相关分子的表达, 而减少细胞内 ROS 的生成。

MAPK 信号通路是 HSCs 细胞活化的重要通路。本研究发现持续低水平 H_2O_2 作用能刺激 p-ERK 蛋白表达升高, 提示低水平 ROS 可能激活 p-ERK 信号通路, 使 HSCs 处于活化增殖状态, 大黄廬虫丸血清能抑制 p-ERK 表达, 可能与阻碍 ROS 生成有关, 并最终抑制 HSCs 活化。

综合本研究结果, 推测大黄廬虫丸可能通过调控 RAC1、p67^{phox}、p22^{phox} 和 p-ERK 等分子, 参与拮抗 H_2O_2 诱导的氧化应激, 阻止 ROS 的生成, 并最终抑制 HSCs 活化、增殖, 防治肝纤维化。然而, 其更详尽的机制尚需进一步研究。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] Wang P, Koyama Y, Liu X, et al. Promising therapy candidates for liver fibrosis[J]. Front Physiol, 2016, 7: 47.
- [2] Luk JM, Wang X, Liu P, et al. Traditional Chinese herbal medicines for treatment of liver fibrosis and cancer: from laboratory discovery to clinical evaluation[J]. Liver Int, 2007, 27(7): 879–890.
- [3] Zhao CQ, Zhou Y, Ping J, et al. Traditional Chinese medicine for treatment of liver diseases: progress, challenges and opportunities[J]. J Integr Med, 2014, 12(5): 401–408.
- [4] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(11): 866–870.
- [5] Gong ZH, Deng CW, Xiang TX, et al. Effects of Dahuang Zhechong Pills on long non-coding RNA growth arrest specific 5 in rat models of hepatic fibrosis[J]. J Tradit Chin Med, 2018, 38(2): 190–196.
- [6] 邓丽宁, 侯宏波, 李纯平, 等. 大黄廬虫丸联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝纤维化的临床研究[J]. 天津医药, 2008, 36(4): 292–294.
- [7] 谢永财, 胡国信, 彭雁忠, 等. 大黄廬虫丸联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的效果观察[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(8): 1502–1507.
- [8] 于震, 杨丽, 罗海燕, 等. 大黄廬虫丸对肝纤维化大鼠肝 α -SMA 表达的动态观察[J]. 基层医学论坛, 2011, 15(16): 490–492.
- [9] 钟伟超, 周楚莹, 高磊, 等. 大黄廬虫丸对小鼠酒精性肝纤维化损伤的保护作用[J]. 中成药, 2017, 39(12): 2475–2480.
- [10] Lam P, Cheung F, Tan HY, et al. Hepatoprotective effects of Chinese medicinal herbs: A focus on anti-inflammatory and anti-oxidative activities[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(4): 465.
- [11] Crosas-Molist E, Fabregat I. Role of NADPH oxidases in the redox biology of liver fibrosis[J]. Redox Biol, 2015, 6: 106–111.
- [12] Linhart K, Bartsch H, Seitz HK. The role of reactive oxygen species (ROS) and cytochrome P-450 2E1 in the generation of carcinogenic etheno-DNA adducts[J]. Redox Biol, 2014, 3: 56–62.
- [13] Schumacker PT. Reactive oxygen species in cancer cells: live be the sword, die by the sword[J]. Cancer cell, 2006, 10(3): 175–171.
- [14] Zhang J, Wang X, Vikash V, et al. ROS and ROS-mediated cellular signaling[J]. Oxid Med Cell Longev, 2016: 4350965.
- [15] Paik YH, Iwaisako K, Seki E, et al. The nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NOX) homologues NOX1 and NOX2/gp91(phox) mediate hepatic fibrosis in mice[J]. Hepatology, 2011, 53(5): 1730–1741.

(收稿: 2018-06-12 在线: 2019-05-17)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶