

大黄灵仙颗粒对兔肝损伤胆石症的干预及调控 EGR-1 表达作用的研究

王 兵, 唐乾利, 王 宇, 俞 渊, 黄 欣, 吕 震, 刘 明, 王 澍

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:81470198); 广西科学研究与技术开发计划项目(编号:桂科攻 14123006-3)

作者单位: 530023 南宁, 广西中医药大学第一附属医院急诊科(王 兵), 外一科(俞 渊), 男性科(黄 欣); 533000 百色, 右江民族医学院/桂西高发防治重点实验室(唐乾利, 王 宇, 吕 震, 刘 明, 王 澍); 530001 南宁, 广西中医药大学(吕 震, 刘 明)

作者简介: 王 兵(1987-), 男, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 中西医结合胆石病的防治。E-mail: wbggyx@163.com

通讯作者: 唐乾利(1961-), 男, 医学博士, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 中西医结合胆石病防治及创面修复等。E-mail: htmgx@163.com

[摘要] **目的** 通过构建慢性肝损伤性胆石症模型, 利用大黄灵仙颗粒药物干预, 探究 EGR-1 在防治肝损伤胆石症过程中的表达变化。**方法** 利用腹腔注射 CCl_4 -橄榄油溶液构建兔慢性肝损伤模型, 同时予高热量、高胆固醇致石饲料, 建立兔慢性肝损伤胆石症模型。模型构建成功后, 治疗组采用大黄灵仙颗粒 $0.4 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 进行干预, 其余各组大白兔均正常饮食。用药 12 周后, 麻醉后取肝脏组织, 分别通过 RT-PCR、免疫组化等方法进行检测。**结果** (1) 免疫组化结果: 与各模型组相比, 喂食大黄灵仙颗粒剂的各治疗组大白兔 EGR-1 的阳性表达明显减少, 表现为肝脏汇管区及肝窦的肝细胞胞浆上棕褐色颗粒沉积表达明显减少, 说明用药后可减少 EGR-1 蛋白的阳性表达使受损肝功能得到改善。(2) RT-PCR 结果: 各治疗组的 EGR-1 mRNA 的表达量均有不同程度降低 (P 均 < 0.05), 说明大黄灵仙颗粒可通过减少 EGR-1 mRNA 表达量有效减轻肝损伤。**结论** 大黄灵仙颗粒可以有效预防结石的形成, 减少慢性肝损伤性胆石症动物模型 EGR-1 的 mRNA 与蛋白的表达量, 具有减轻肝损伤及改善肝功能的作用。

[关键词] 慢性肝损伤; 胆石症; EGR-1; 基因; 蛋白

[中图分类号] R 575.6⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2016)11-0959-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2016.11.01

A study of Dahuanglingxian granule on treating liver fibrosis cholelithiasis in rabbit model by intervening and regulating the expression of EGR-1 WANG Bing, TANG Qian-li, WANG Yu, et al. Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression of EGR-1 in the prevention and treatment of liver fibrosis cholelithiasis in rabbit model by using Dahuanglingxian granule. **Methods** The rabbit model of chronic liver fibrosis was established by intra-peritoneal injection of CCl_4 -olive oil, and given high-calorie diet and high-cholesterol diet; After the rabbit model was successfully established, the treatment group was treated with Dahuanglingxian granules $0.4 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, and the other groups were on normal diet. The liver tissues of all the rabbits were tested by PCR and immunochemistry staining 12 weeks after the treatment. **Results** (1) Immunochemistry staining: Compared with that in the model group, the positive expression of EGR-1 reduced obviously, and the less brown particles were observed in the cytoplasm and membrane of live cells in sinusoids and hepatic duct area in the treatment group, suggesting the positive effects of Dahuanglingxian granules on liver damage. (2) Results of RT-PCR: The mRNA levels of EGR-1 in the groups treated with Dahuanglingxian granules were decreased ($P < 0.05$), indicating that this drug could effectively reduce the live damage by reducing the mRNA levels of EGR-1. **Conclusion** Dahuanglingxian granules can effectively prevent the formation of cholelithiasis, reduce the mRNA and protein expression of EGR-1 in rabbit model of liver fibrosis cholelithiasis, and decrease the liver damage and improve the liver function.

[Key words] Chronic liver injury; Cholelithiasis; EGR-1; Gene; Protein

慢性肝损伤是一种由多因素介导的复杂生物学过程,其损伤的结果是肝细胞发生凋亡和坏死。引起损伤的因素是多方面的^[1],肝损伤与胆结石形成紧密相关,肝脏不仅仅是唯一产生正常胆汁的器官,同时也是产生致石性胆汁的场所,其根源在于肝细胞是致石性胆汁形成的中心环节^[2]。胆结石的形成同样对肝脏产生损害,这种相互作用的结果形成恶性循环可能是导致胆结石根治困难的原因之一。早期转录生长因子(EGR-1)是重要的核转录因子,其可编码多种蛋白,在调控细胞的生长、分化、发育、增殖及炎症反应等方面发挥着重要作用,尤其是与肝细胞密切相关^[3]。EGR-1表达增高促使众多炎症介质表达,加剧肝细胞炎症反应,导致肝细胞受损并引起胆汁成分代谢的改变从而导致致石性胆汁形成。致石性胆汁在促成核因子(如坏死组织、糖蛋白、自由基等)作用或胆道梗阻、胆汁淤滞环境下加快结晶析出,经过复杂的理化反应最终形成结石。本实验利用新西兰大白兔建立慢性肝损伤性胆石症模型,通过复制出该疾病在人体罹患相应疾病下的模型,继而更好地揭示慢性肝损伤性胆石症的发生、发展过程中肝细胞、胆汁成分改变及 EGR-1 在基因与蛋白水平的调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康雄性新西兰大白兔 50 只,4 月龄,体重为 2.5 kg(右江民族医学院动物中心提供,实验动物使用许可证:SYXK 桂 2011-0010)。大白兔单笼饲养,保持室内温度在 20~24℃,湿度控制在 42%~60%,适应性喂养 7 d 后进行实验。

1.1.2 实验药物 (1)四氯化碳(由天津市进丰化工有限公司生产,500 ml/瓶);(2)橄榄油(由成都市科龙化工试剂厂生产,批号:20130513,规格 500 ml/瓶);(3)水合氯醛(成都市科龙化工试剂厂,批号:2014031102,规格 250 g/瓶);(4)胆固醇(由上海通用药业股份有限公司生产,批准文号:国药准字 H31021290);(5)胆酸(购自德国 sigma 公司,code:101335972,规格:100 g/瓶);(6)大黄灵仙颗粒制剂(由广西中医药大学第一附属医院中心药房提供,药物组成及剂量如下:生大黄 150 g,威灵仙 300 g,芒硝 100 g,金钱草 300 g,枳壳 120 g,鸡内金 100 g,泽兰 150 g,柴胡 120 g,郁金 120 g,磁石 120 g,黄芪 300 g,甘草 50 g)。上药按照广西壮族自治区药品监督管理局文件(桂药监注[2002]175 号,桂药监注[2003]88 号)批准的医院内制剂制作颗粒剂。由于上药为成人 1 个月

的用量,按照药效等量公式计算出用于大白兔则为 0.4 g/(kg·d)。

1.1.3 主要实验试剂及仪器 (1)总 RNA 提取试剂盒 TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit(大连宝生物工程有限公司, Lot: AK501);(2) Real Master Mix SYBR Green(大连宝生物工程有限公司, Lot: A5901-1, code: RR820);(3) TaKaRa 反转录试剂盒(大连宝生物工程有限公司, code: DRR037A);(4) PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)(大连宝生物工程有限公司, code: RR047A);(5) EGR-1 Antibodies 一抗(武汉博士德生物工程有限公司, 货号: BA0082);(6) SV0002-兔 IgG 两步法免疫组化检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司, 批号: 10A23C02);(7) RT-PCR 仪, 7500fast(右江民族医学院附属医院);(8) 倒置荧光多功能显微成像系统 OLYMPUS IX73 + DP80(右江民族医学院科学实验中心)。

1.2 实验方法

1.2.1 肝损伤性胆石症大白兔模型的构建

1.2.1.1 实验分组 将 50 只雄性新西兰大白兔按照随机数字表法随机分为 3 组:空白对照组(正常组)10 只,肝纤维化胆石症组 20 只,肝硬化胆石症组 20 只。

1.2.1.2 模型构建 各组大白兔常规饲养 1 周后,将 CCl₄ 与橄榄油分别制成 20%、25% 的 CCl₄-橄榄油溶液,肝纤维化胆石症组予 20% 的 CCl₄-橄榄油溶液 0.2 ml/kg 腹腔注射,肝硬化胆石症组予 25% 的 CCl₄-橄榄油溶液 0.3 ml/kg 腹腔注射,每 4 d 一次,连续 12 周。同时,肝纤维化胆石症组、肝硬化胆石症组同时投以高胆固醇、高热量饲料(普通饲料加入 1.2% 胆固醇、0.1% 胆酸、5% 蔗糖及 3.5% 鱼肝油,鸡蛋适量)。空白对照组正常饮食,不予任何处理。造模过程中死亡总数为 12 只,其中正常组为 0 只,肝纤维化胆石症组死亡 5 只,肝硬化胆石症组死亡 7 只,考虑均由四氯化碳毒性致死,对死亡的大白兔立即取肝脏行病理检查,发现均有不同程度的肝损伤存在,肝硬化胆石症组较为明显,但尚未达到肝纤维化诊断标准。

1.2.2 中药对正常组及慢性肝损伤性胆石症组的干预及评判

1.2.2.1 中药干预方法 病理观察提示肝纤维化、肝硬化病理改变,肝纤维化胆石症组、肝硬化胆石症组随机处死解剖后发现胆囊或胆管结石形成后,将正常组、肝纤维化胆石症组和肝硬化胆石症组分

别在各自组内随机分为两组, Y 代表喂食大黄灵仙颗粒剂。分为正常组 5 只、正常组 + Y 5 只、肝纤维化胆石症组 7 只、肝纤维化胆石症组 + Y 8 只、肝硬化兔胆石症组 6 只、肝硬化胆石症组 + Y 7 只, 共计 38 只。其中正常组 + Y、肝纤维化胆石症组 + Y、肝硬化胆石症组 + Y 为治疗组, 每天灌胃中药制剂大黄灵仙颗粒剂 0.4 g/(kg · d), 其余各组为对照组, 灌胃等量生理盐水, 各组大白兔均正常饲料饲养。用药过程中未出现大白兔死亡。

1.2.2.2 中药药效评定标准 病理观察提示肝纤维化、肝硬化病理改变减缓或改善, EGR-1 的基因与蛋白表达相应指标明显降低。

1.2.3 标本采集 用药 12 周后, 用浓度为 10% 的水合氯醛按 4 ml/kg 通过耳缘静脉将大白兔麻醉, 切取相同部位肝组织, 大小约为 5 mm × 5 mm × 10 mm, 投入至 10% 的福尔马林固定液中, 固定 24 h 后送检行病理及免疫组化检查; 另取体积为 0.8 cm³ 的肝脏组织, 迅速放入液氮罐中, 尽快转移至 -80 °C 超低温冰箱中保存备用, 以行 RT-PCR 检测; 取完标本后用空气栓塞法处死大白兔。

1.3 观察指标

1.3.1 免疫组化行 EGR-1 的蛋白表达检测 通过标本固定, 脱水透明, 石蜡包埋, 切片使厚度在 4 μm (每份标本切取 2 张), 展片, 捞片、烘片脱去溶化组织间隙的石蜡。取另一部分切片, 加入 3% H₂O₂ 放置 10 min 以灭活过氧化物酶; 高压锅煮沸 3 min, 抗原热修复处理; 加封闭液室温静置 20 min; 分别加入 1:200 比例稀释的一抗 4 °C 过夜; 将聚合 HRP 标记抗兔 IgG (SV-0002) 滴加至切片, 37 °C 环境中孵育 30 min; DAB 显色, 复染, 脱水, 透明, 封片。

1.3.2 RT-PCR 行 EGR-1 的基因表达检测 (1) 引物序列设计具体见表 1。(2) 总 RNA 提取、反转录反应。扩增设置: 预变性 95 °C 30 s, 持续一个循环; PCR 扩增按 95 °C 5 s, 60 °C 34 s, 持续 40 个循环; 终延伸 60 °C 30 s, 持续一个循环。(3) 扩增后根据 Ct 值依次计算各基因的相对表达量, 采用荧光相对定量分析法, 即 2^{-ΔΔCt} 法计算结果。

表 1 Real-time PCR 引物序列

名称	引物序列
EGR-1	上游引物: 5'-CATGATCCCGACTACCTGTTT-3'
	下游引物: 5'-CTTGATGTTGGAGAGTGGAGTG-3'
GAPDH (内参基因)	上游引物: 5'-CCACTTTGTGAAGCTCATTTCCT-3'
	下游引物: 5'-TCGTCTCTCTCTGCTGCTCT-3'

1.4 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行数

据分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 方差齐时采用单因素方差分析, 组间数据比较采用 LSD 法统计, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物干预 12 周后各组结石情况 见表 2。

表 2 药物干预 12 周后各组结石情况 (单位: 个/只)

组别	动物数	结石例数	结石数目
正常组	5	0	0
正常 + Y	5	0	0
肝纤维化胆石症组	7	4	5/3/3/2
肝纤维化胆石症组 + Y	8	2	3/2
肝硬化胆石症组	6	5	7/5/4/4/3
肝硬化胆石症组 + Y	7	2	4/3

2.2 免疫组化结果 EGR-1 蛋白阳性表达为棕褐色颗粒状沉积, 主要位于肝细胞胞浆内, 细胞膜上会有少许表达。正常组、正常组 + Y 染色为阴性, 肝小叶结构完整, 肝细胞索排列整齐, 肝血窦正常, 两者无明显差异。肝纤维化胆石症组光镜下可见肝小叶汇管区棕褐色颗粒状沉积较为明显, 肝细胞索排列稍紊乱, 伴胆管内少许胆汁淤积 (见图 1)。肝纤维化胆石症组 + Y 在光镜下可见肝小叶汇管区肝细胞胞浆内棕褐色颗粒状沉积少许, 肝细胞索排列稍规则, 细胞边界较为清楚, 阳性表达较肝纤维化胆石症组减少, 胆管内未见明显胆汁淤积 (见图 2)。肝硬化胆石症组在光镜下可见肝小叶汇管区肝细胞胞浆内棕褐色颗粒状沉积最为明显, 肝细胞索排列极紊乱, 假小叶依然清晰可见, 抗原抗体结合表达呈强阳性, 个别胆管内少许胆汁淤积 (见图 3)。肝硬化胆石症组 + Y 在光镜下可见大量肝细胞胞浆内棕褐色颗粒状沉积较多, 肝细胞索排列稍规则, 与周边细胞边界少模糊, 肝血窦间隙增大, 抗原阳性表达较肝硬化胆石症组明显减少, 胆管内偶见胆汁淤积 (见图 4)。

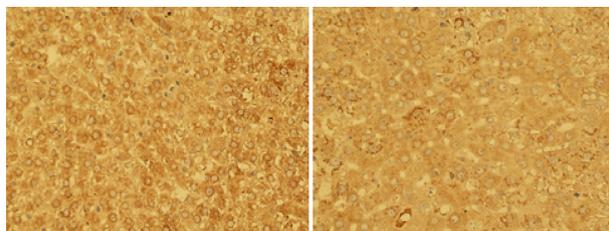


图 1 肝纤维化胆石症组 400× 图 2 肝纤维化胆石症组 + Y 400×

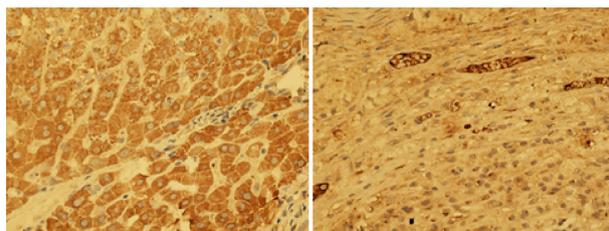


图 3 肝硬化胆石症组 400× 图 4 肝硬化胆石症组 + Y 400×

2.3 RT-PCR 检测结果

2.3.1 扩增曲线与溶解曲线 在连续用药 12 周后,对各组大白兔 EGR-1、GAPDH mRNA 进行 RT-PCR 测定,分别得出扩增曲线和溶解曲线。扩增曲线的基数期均稳定在同一水平,拐点清晰,整体平行性良好,Ct 值稳定在 16~28 之间;溶解曲线呈平稳单峰,未见异常双峰(见图 5,6)。

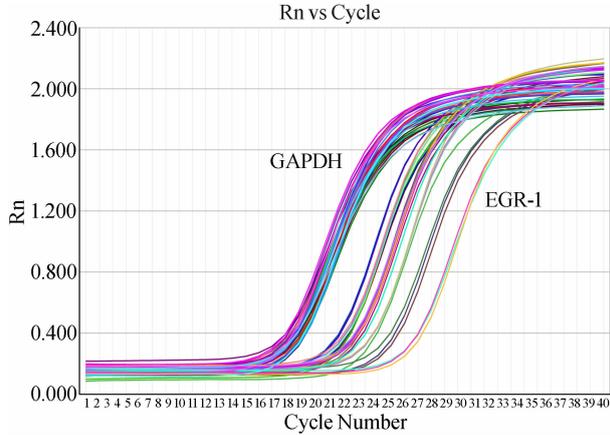


图 5 EGR-1 与 GAPDH 扩增曲线

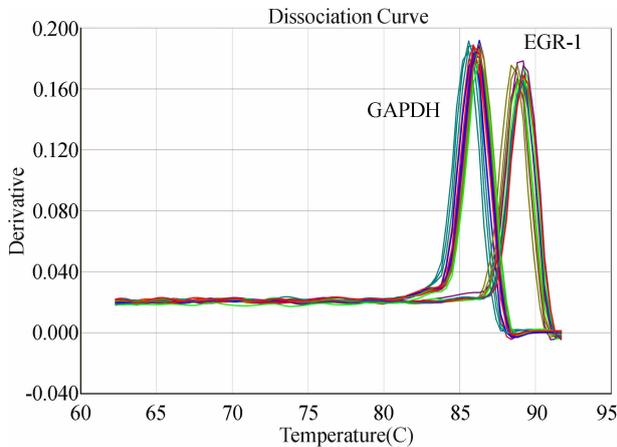


图 6 EGR-1 与 GAPDH 溶解曲线

2.3.2 各组大白兔 EGR-1 mRNA 表达量比较 在用大黄灵仙颗粒剂干预 12 周后,测定 EGR-1 mRNA 的表达与内参基因 GAPDH mRNA 对比后的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值(见表 3)。经统计,差异有统计学意义($F=858.813$,

表 3 各组大白兔 EGR-1 mRNA 表达量比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	动物数	EGR-1/GAPDH
正常组	5	4.81 ± 0.30
正常组 + Y	5	4.06 ± 1.42 [#]
肝纤维化胆石症组	7	18.41 ± 1.73
肝纤维化胆石症组 + Y	8	9.21 ± 0.71 [▲]
肝硬化胆石症组	6	96.95 ± 6.20
肝硬化胆石症组 + Y	7	51.28 ± 4.86 [*]

注:与正常组相比,[#] $P > 0.05$;与肝纤维化胆石症组相比,[▲] $P < 0.01$;与肝硬化胆石症组相比,^{*} $P < 0.01$

$P < 0.001$);正常组与正常 + Y 相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);肝纤维化胆石症组与肝纤维化胆石症 + Y 相比,差异有统计学意义($P < 0.01$);肝硬化胆石症组与肝硬化胆石症 + Y 相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 早期转录生长因子(EGR-1)广泛存在于多种细胞中,作为重要的核转录因子,促进细胞从静止期进入增殖期,对细胞的分化、增殖具有重要作用,受到广泛刺激后可快速诱导和表达,其转录可诱导多种下游目的基因的表达,引起细胞表达改变和凋亡,在炎症和肿瘤发病过程中起着关键作用^[4,5]。大量炎症相关性疾病的发生、发展均有 EGR-1 直接或间接的参与,其对启动及放大炎症反应的部分环节起到至关重要作用,并能介导组织细胞凋亡^[6]。EGR-1 可通过细胞因子,如细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞间黏附分子(VCAM-1)、白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等诱导多种炎性蛋白的表达,启动炎症的发生;并能诱导某些细胞因子受体,如趋化因子受体(CCR)、CXCR 的表达而加重炎症^[7,8]。EGR-1 可诱导编码 EGR-1 基因表达的某些促炎性因子显著增加,如巨噬细胞炎性蛋白-2(MIP-2)、单核细胞趋化蛋白(MCP)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、干扰素诱生蛋白(IP)以及受激活调节正常 T 细胞表达和分泌因子(RAN-TES)等,经过一系列复杂的调控过程,进而引起肝细胞炎症及肝细胞损害^[9,10]。EGR-1 还可调控各种生长因子,如血小板衍生生长因子(PDGF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和血管紧张素转化酶(ACE)等。有研究表明肝细胞 EGR-1 蛋白表达水平与肝细胞损害程度呈正相关^[11]。综上所述 EGR-1 能通过特定的信号途径参与损伤相关的基因表达,是多种复杂信号网络的交汇点,通过调控一系列细胞周期中与细胞生长增殖分化相关的基因表达而参与细胞生长调控过程,具有促进细胞增生和组织修复的功能。

3.2 EGR-1 不仅能够放大炎症反应,还能使肝细胞受损,分泌“致石性胆汁”,二者共同作用导致胆汁淤积,加快晶体析出,进而形成结石,同时结石的形成又会继续加重肝损伤,形成恶性循环。胆道炎症是胆结石的基本病理特征,胆道纤维化是结石形成的必要前提,上皮-间叶样表型转化(EMT)是胆道纤维化的必经途径,TGF- β 1/Smads 信号通路是致 EMT 的主要路径^[12]。前期研究结果表明胆结石的形成与炎症关系密切,大黄灵仙颗粒具有较好的预防胆

结石形成的作用,其机制可能与大黄灵仙方具有减轻肝细胞损伤、稳定胆固醇及胆汁酸代谢相关酶的表达以及炎性改变作用有关^[13,14]。本次研究中发现灌胃大黄灵仙颗粒的大白兔例数及结石数目均较对照组有不同程度减少,部分结石逐渐变小,结石多呈不规则形状,大小不一,较少或者泥沙样结石排出。

3.3 本次实验过程中,在400倍光镜下我们发现,经12周治疗后,肝纤维化胆石症组+Y与肝硬化胆石症组+Y大白兔的肝细胞胞浆内棕褐色颗粒状沉积明显减少,加速肝细胞修复,同时促进淤积的胆汁排出。随着大白兔肝损伤程度的逐步加重,EGR-1 mRNA表达量也呈上升趋势,与平行对照组相比,用药后的肝纤维化胆石症组、肝硬化胆石症组以及正常组的EGR-1 mRNA的表达量均有不同程度降低。其中正常组+Y的表达降低不明显,差异无统计学意义,说明大黄灵仙颗粒剂对正常组实验动物仅有预防作用。另外两组变化则较为明显,肝纤维化胆石症组+Y平均表达量为(9.21±0.71),与肝纤维化胆石症组相比明显降低($P < 0.01$);肝硬化胆石症组+Y平均表达量为(51.28±4.86),与肝硬化胆石症组相比明显降低($P < 0.05$),差异均具有统计学意义,说明大黄灵仙颗粒剂能改善肝功能,促进损伤肝脏修复。RT-PCR结果显示,EGR-1 mRNA与内参基因相比整体平行性良好,根据曲线图计算的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值可得知大黄灵仙颗粒剂能够降低EGR-1 mRNA的表达量,肝损伤越重,降低的程度越低,说明二者关系密切相关。因此,我们考虑可以尝试通过大黄灵仙颗粒调控慢性肝损伤动物模型EGR-1的表达及其所属信号转导通路,改善肝脏功能,修复肝脏损伤,促进正常肝细胞再生,减少“致石性胆汁”分泌,从而为慢性肝损伤性胆石症的预防及治疗提供实验基础和理论依据。

参考文献

- 1 Ferro JM, Oliveira S. Neurologic manifestations of gastrointestinal and liver diseases[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*,2014,14(10):487.
- 2 Zhang Y, Wang F, Zong G, et al. Risk factor analysis of postopera-

tive complications in gastric carcinoma patients complicated with liver cirrhosis[J]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*,2015,18(1):30-32.

- 3 Li H, Li J, Jia S, et al. miR675 upregulates long noncoding RNA H19 through activating EGR-1 in human liver cancer[J]. *Oncotarget*,2015,6(31):31958-31984.
- 4 Zhang Y, Xu N, Xu J, et al. E2F1 is a novel fibrogenic gene that regulates cholestatic liver fibrosis through the Egr-1/SHP/EID1 network[J]. *Hepatology*,2014,60(3):919-930.
- 5 许志毅,唐国都,张瑜红,等.低分子肝素对急性坏死性胰腺炎并肝损伤P-选择素和E-选择素表达的影响[J]. *中国临床新医学*,2012,5(5):413-417.
- 6 Gokuladhas K, Jayakumar S, Rajan B, et al. Exploring the potential role of chemopreventive agent, hesperetin conjugated pegylated gold nanoparticles in diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in male wistar albino rats[J]. *Indian J Clin Biochem*,2016,31(2):171-184.
- 7 李瑞雄,杨维珍,蒋仕伍.多层螺旋CT血管造影在肝硬化血管改变及侧支循环中的应用价值[J]. *中国临床新医学*,2015,8(10):922-925.
- 8 Lai S, Yuan J, Zhao D, et al. Regulation of mice liver regeneration by early growth response-1 through the GGPPS/RAS/MAPK pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2015,64:147-154.
- 9 田图磊,洪汝涛,徐德祥,等. Egr-1在大鼠酒精性脂肪肝中的表达及水飞蓟素对其干预作用[J]. *安徽医药*,2013,17(1):23-26.
- 10 Yu F, Ji S, Su L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells inhibit activation of hepatic stellate cells in vitro and ameliorate rat liver fibrosis in vivo[J]. *J Formos Med Assoc*,2015,114(2):130-138.
- 11 Martínez Gómez JM, Ong LC, Lam JH, et al. Maternal antibody-mediated disease enhancement in Type I interferon-Deficient mice leads to lethal disease associated with liver damage[J]. *PLoS Negl Trop Dis*,2016,10(3):e0004536.
- 12 Cheng X, He S, Yuan J, et al. Lipoxin A4 attenuates LPS-induced mouse acute lung injury via Nr2-mediated E-cadherin expression in airway epithelial cells[J]. *Free Radic Biol Med*,2016,93:52-66.
- 13 王兵,秦军,俞渊,等.慢性肝损伤兔胆石症动物模型的构建[J]. *右江民族医学院学报*,2015,37(2):171-174.
- 14 俞渊,唐乾利,黄欣,等.大黄灵仙胶囊防治兔胆石病的代谢组学及超微病理研究[J]. *中华中医药杂志*,2013,28(11):3359-3362.

[收稿日期 2016-04-27][本文编辑 黄晓红]