

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.07.012

矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠免疫细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平的影响\*曹庆生<sup>1</sup>, 李志超<sup>2△</sup>, 韩立旺<sup>1</sup>, 张永华<sup>1</sup>, 张艳莉<sup>1</sup>, 胡颖杰<sup>1</sup>, 李红莉<sup>2</sup>, 张文亚<sup>2</sup>

1. 河北省唐山市玉田县医院病理科, 河北唐山 064100, 2. 河北省唐山市玉田县

中医医院疼痛科, 河北唐山 064100

**摘要:**目的 观察矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )水平的影响,探讨矮地茶黄酮是否通过影响机体免疫功能达到防治肝纤维化的效果。**方法** 将 60 只 SD 大鼠按随机原则分为 5 组(正常组,模型组,矮地茶黄酮高、中、低剂量组),每组 12 只。采用腹腔注射二甲基亚硝胺制备大鼠肝纤维化模型,矮地茶黄酮高、中、低剂量组通过灌服不同剂量矮地茶黄酮进行干预。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组大鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)、IV 型胶原(IV-C)、III 型前胶原(PCIII)水平。肝脏常规取材,病理学观察各组大鼠肝脏形态学变化,免疫组织化学方法分析波形蛋白(Vimentin)、 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达情况,并进行相关性分析。**结果** 矮地茶黄酮高、中剂量组大鼠血清中血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、HA、LN、IV-C、PCIII 水平、肝脏纤维化分级及  $\alpha$ -SMA、Vimentin 表达较模型组均明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 矮地茶黄酮能通过降低固有免疫细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平,影响机体免疫功能,进而抑制肝星状细胞增殖与活化,使细胞外基质降解增加,生成减少,进而阻止肝纤维化的发生与发展。

**关键词:**矮地茶黄酮; 肝纤维化; 免疫功能; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-1 $\beta$ 

中图法分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)07-0904-05

**Effect of flavonoids of Ardisia japonica on levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  of immune cytokines in hepatic fibrosis rats\***CAO Qingsheng<sup>1</sup>, LI Zhichao<sup>2△</sup>, HAN Liwang<sup>1</sup>, ZHANG Yonghua<sup>1</sup>,  
ZHANG Yanli<sup>1</sup>, HU Yingjie<sup>1</sup>, LI Hongli<sup>2</sup>, ZHANG Wenya<sup>2</sup>

1. Department of Pathology, the Hospital of Yutian County, Tangshan, Hebei 064100, China;

2. Department of Pain, Yutian County Hospital of Tradition Chinese

Medicine, Tangshan, Hebei 064100, China

**Abstract: Objective** To observe the effect of the flavonoids of Ardisia japonica on serum TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  levels in hepatic fibrosis rats, and to explore the mechanism of the flavonoids of Ardisia japonica in preventing and treating hepatic fibrosis. **Methods** Sixty SD rats were randomly divided into 5 groups (normal group, model group, and high-dose, medium-dose and low-dose groups), 12 in each group. After the model of hepatic fibrosis rats induced by dimethylnitrosamine, the flavonoids of Ardisia japonica low-dose, medium-dose and high-dose groups were intervened by different concentrations of the flavonoids of Ardisia japonica. The level of TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、HA、LN、IV-C and PCIII in serum of rats in each group was detected by ELISA. Liver samples were collected routinely, and morphological changes of liver were observed in each group. Immunohistochemistry was used to analyze the expression level of Vimentin and  $\alpha$ -SMA, and the correlation was analyzed. **Results**

Compared with the model group, the serum TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、HA、LN、IV-C、PCIII levels, the grading of liver fibrosis, and  $\alpha$ -SMA、Vimentin expression levels were significantly lower in flavonoids of Ardisia japonica high-dose, medium-dose groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The flavonoids of Ardisia japonica can affect the immune function by reducing the levels of innate immune cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , thus inhibiting the proliferation and activation of hepatic stellate cells, increasing the degradation of extracellular matrix, and reducing the

\* 基金项目:河北省人才工程培养经费资助科研项目(A201901133)。

作者简介:曹庆生,男,副主任医师,主要从事实验病理学和诊断病理学研究。△ 通信作者,E-mail:727606838@qq.com。

本文引用格式:曹庆生,李志超,韩立旺,等.矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠免疫细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平的影响[J].检验医学与临床,

generation of extracellular matrix, thus preventing the occurrence and development of liver fibrosis.

**Key words:** flavonoids of *Ardisia japonica*; hepatic fibrosis; immune function; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin- $1\beta$

肝脏受到各种慢性损伤时,可刺激免疫调控细胞分泌大量免疫调控因子,使肝星状细胞活化、增殖,合成大量胶原,导致细胞外基质肝内大量沉积,纤维化形成。同时,活化的肝星状细胞也可通过自分泌和旁分泌作用于免疫调控细胞,维持自身活化并激活临近肝星状细胞。因此,免疫调控在肝纤维化的发生、发展中发挥着重要作用<sup>[1-2]</sup>。由于肝纤维化机制复杂,西医治疗肝纤维化缺乏显著效果的药物。我国是传统中药大国,利用中药治疗肝病历史悠久,且中草药来源广泛、种类繁多。中药黄酮类有抗炎、抗氧化、调节炎症因子、保肝的作用,在肝纤维化预防和治疗方面具有多靶点、费用低、不良反应小等优势,已成为目前新药研究的热点<sup>[3-4]</sup>。矮地茶为紫金牛科植物紫金牛 *Ardisia japonica* (Hornst.) BL. 的干燥全草,我国南方各省均有分布,《本草纲目》中记载有“解毒破血”的功效,临床治疗咳嗽、咳痰、慢性支气管炎、利尿祛湿、湿热黄疸等。现代研究表明,矮地茶具有黄酮类(槲皮素)、香豆素(岩白菜素和异岩白菜素)、挥发油等化合物,具有祛痰止咳、免疫调节、抗炎、抗病毒、降血糖等功效<sup>[5]</sup>。前期研究已证实,矮地茶黄酮对四氯化碳所致急性肝损伤有保护作用,对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化具有降酶、保肝、抗氧化等功效<sup>[6]</sup>。因此,本文通过观察矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) 水平的影响,同时观察肝纤维化其他指标,如血清透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)、IV型胶原(IV-C)、III型前胶原(PCIII)水平,肝脏纤维化分级以及肝脏波形蛋白(Vimentin)、 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达情况,并进行对比及相关性分析,探讨矮地茶黄酮能否通过影响机体免疫功能达到防治肝纤维化的效果。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 60只SPF级斯泼累格·多雷(SD)大鼠由桂林医学院动物实验中心提供,并在动物实验中心完成肝纤维化模型制备及药物干预,许可证号:SCXK2013-0001。

**1.2 药物与试剂** 矮地茶购自桂林六合路药材市场并由张可锋教授鉴定,制备成矮地茶黄酮。矮地茶黄酮制备方法:取矮地茶全草1kg,粉碎后加入60%乙醇回流提取2次,每次1.5h,提取液过滤后,减压回收乙醇,浓缩成矮地茶黄酮浸膏。浸膏加蒸馏水充分混匀,盐酸调节pH值为5,D102型大孔吸附树脂纯化,流速3mL/min,静置12h后,分别用35%乙醇(2

倍树脂体积)、70%乙醇(4倍树脂体积)洗脱,流速2.5mL/min,收集70%乙醇洗脱液,测定其总黄酮浓度为71.2%(硝酸铝络合分光光度法)。TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 、HA、LN、IV-C、PCIII检测试剂盒购自晶美生物工程有限公司;Vimentin、 $\alpha$ -SMA一抗购自深达生物技术有限公司。

**1.3 模型制备及药物干预** 将SD大鼠按随机原则分为5组(正常组,模型组,矮地茶黄酮高、中、低剂量组),每组12只。参考高雅等<sup>[7]</sup>方法构建肝纤维化模型:用蒸馏水将二甲基亚硝胺稀释为0.5%,按2mL/kg的剂量腹腔注射,隔天1次,共8周。同时,矮地茶黄酮组按600、400、200mg/kg灌胃给药,正常组、模型组灌服等量蒸馏水,均每天1次。

**1.4 观察指标** 禁食、禁饮后,于大鼠眼球取血,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 、HA、LN、IV-C、PCIII水平。剖开腹腔取肝左叶标本,常规取材脱水制片,显微镜下观察各组大鼠肝脏纤维化程度,诊断标准参考《慢性乙型肝炎防治指南(2015年更新版)》<sup>[8]</sup>,免疫组织化学方法检测各组大鼠肝脏Vimentin、 $\alpha$ -SMA表达情况。免疫组织化学结果判定标准:Vimentin、 $\alpha$ -SMA以细胞质呈棕黄色为阳性细胞。按染色强度打分:无色0分,浅黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分;再按阳性细胞比例打分:阴性0分,<10%为1分,10%~50%为2分,>50%~75%为3分,>75%为4分,二者相加,给出得分。

**1.5 统计学处理** 应用SPSS18.0统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著差法,计数资料以只数或率表示,采用 $\chi^2$ 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ , $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 水平的影响** 实验结束时,正常组无死亡,模型组死亡3只,矮地茶黄酮高、中、低剂量组分别死亡2、2、1只。模型组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 水平明显高于正常组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );矮地茶黄酮高、中剂量组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 水平明显低于模型组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );矮地茶黄酮低剂量组大鼠血清中血清中TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 水平与模型组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

**2.2 矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠血清HA、LN、**

Ⅳ-C、PCⅢ水平的影响 模型组大鼠血清 HA、LN、Ⅳ-C、PCⅢ水平明显高于正常组,矮地茶黄酮高、中剂量组大鼠血清中血清 HA、LN、Ⅳ-C、PCⅢ水平明显低于模型组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );矮地茶黄酮低剂量组大鼠血清 HA、Ⅳ-C、PCⅢ水平与模型组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),矮地茶黄酮低剂量组大鼠血清 LN 水平低于模型组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠血清 HA、LN、Ⅳ-C、PCⅢ水平的影响( $\bar{x}\pm s$ )

| 分组        | <i>n</i> | HA(μg/L)                  | LN(μg/L)                 | Ⅳ-C(μg/L)                 | PCⅢ(μg/L)                |
|-----------|----------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 正常组       | 12       | 143.17±64.36              | 21.53±5.04               | 79.69±18.11               | 11.53±2.32               |
| 模型组       | 9        | 361.79±188.72             | 65.55±14.39              | 223.87±51.18              | 121.26±48.46             |
| 矮地茶黄酮低剂量组 | 10       | 283.19±101.03             | 44.13±16.22 <sup>a</sup> | 220.38±34.40              | 104.88±22.76             |
| 矮地茶黄酮中剂量组 | 10       | 243.81±89.43 <sup>a</sup> | 46.47±15.22 <sup>a</sup> | 146.77±37.74 <sup>a</sup> | 55.13±21.83 <sup>a</sup> |
| 矮地茶黄酮高剂量组 | 11       | 198.99±65.58 <sup>a</sup> | 39.06±17.59 <sup>a</sup> | 106.29±36.44 <sup>a</sup> | 22.30±14.85 <sup>a</sup> |

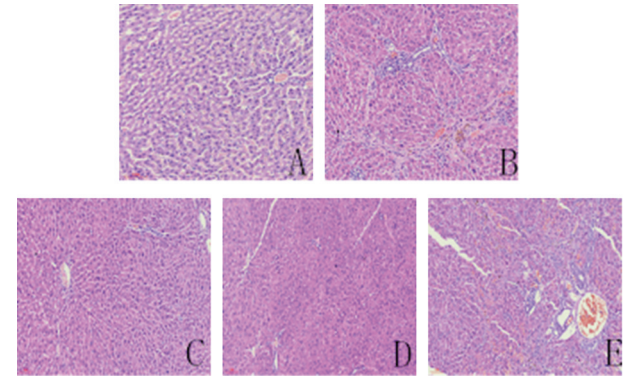
注:与模型组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

2.3 各组大鼠肝脏病理形态学比较 正常组大鼠肝脏颜色红润,光滑,柔软,有光泽;模型组大鼠肝脏颜色灰黄,光滑度下降,表面结节状,边缘不规则,质地硬,缺少光泽;各用药组大鼠肝脏颜色、质地、光滑度优于模型组。显微镜观察观察病理切片,正常大鼠肝细胞结构完整,无变性坏死,肝窦有出血,汇管区无炎细胞浸润及纤维组织增生;模型组大鼠肝细胞排列紊乱,结构不完整,肝细胞变性坏死,汇管区内毛细血管数量明显增多,大量炎症细胞浸润,纤维增生明显,部分有假小叶形成。矮地茶黄酮高剂量组、矮地茶黄酮中剂量组大鼠肝组织结构较完整,肝细胞变性坏死轻、汇管区毛细血管增生不明显,纤维化程度轻,小叶结构较完整,纤维化程度与模型组比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。矮地茶黄酮低剂量组部分大鼠肝组织结构紊乱,变性坏死不明显,汇管区毛细血管数量增多,炎细胞浸润和纤维化程度改善不明显,有假小叶形成,纤维化程度与模型组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 3 及图 1。

| 表 3 矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠肝脏纤维化程度的影响( <i>n</i> ) |          |    |    |    |    |    |
|----------------------------------------|----------|----|----|----|----|----|
| 分组                                     | <i>n</i> | S0 | S1 | S2 | S3 | S4 |
| 正常组                                    | 12       | 12 | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 模型组                                    | 9        | 0  | 0  | 4  | 3  | 2  |
| 矮地茶黄酮低剂量组                              | 10       | 0  | 0  | 5  | 3  | 2  |
| 矮地茶黄酮中剂量组                              | 10       | 1  | 7  | 2  | 0  | 0  |
| 矮地茶黄酮高剂量组                              | 11       | 3  | 6  | 2  | 0  | 0  |

| 表 1 矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠血清 TNF-α、IL-1β 的影响( $\bar{x}\pm s$ , pg/mL) |          |                          |                         |
|-------------------------------------------------------------|----------|--------------------------|-------------------------|
| 分组                                                          | <i>n</i> | TNF-α                    | IL-1β                   |
| 正常组                                                         | 12       | 25.75±4.49               | 27.83±7.88              |
| 模型组                                                         | 9        | 90.89±14.03              | 85.44±27.19             |
| 矮地茶黄酮低剂量组                                                   | 10       | 81.90±12.15              | 72.30±16.94             |
| 矮地茶黄酮中剂量组                                                   | 10       | 46.90±9.93 <sup>a</sup>  | 41.50±8.86 <sup>a</sup> |
| 矮地茶黄酮高剂量组                                                   | 11       | 35.00±11.20 <sup>a</sup> | 39.27±6.13 <sup>a</sup> |

注:与模型组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为矮地茶黄酮高剂量组;D 为矮地茶黄酮中剂量组;E 为矮地茶黄酮低剂量组。

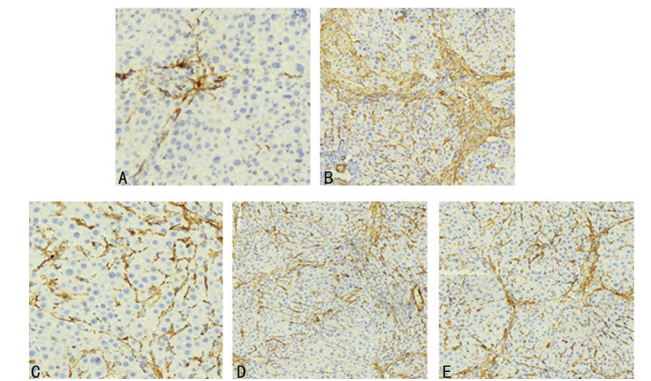
图 1 各组大鼠肝脏病理形态学比较(HE 染色,×200)

2.4 各组大鼠肝脏中 Vimentin、α-SMA 表达情况 利用 Vimentin 染色观察各组大鼠肝脏细胞外基质增生情况,模型组大鼠肝脏汇管区 Vimentin 弥漫阳性,染色范围及强度均高于正常组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,矮地茶黄酮高剂量组、矮地茶黄酮中剂量组大鼠肝脏细胞外基质明显降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),矮地茶黄酮低剂量组大鼠肝脏细胞外基质降低不明显,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 4 及图 2。利用 α-SMA 染色标记活化的肝星状细胞,观察各组大鼠肝脏活化的肝星状细胞增生情况,模型组大鼠肝脏染色范围及强度明显高于正常组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,矮地茶黄酮高剂量组、矮地茶黄酮中剂量组大鼠肝脏活化的肝星状细胞明显降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),矮地茶黄酮低剂量组大鼠肝脏活化的肝星状细胞降低不明显,差异无统计学意义( $P>$

0.05)。见表 4 及图 3。

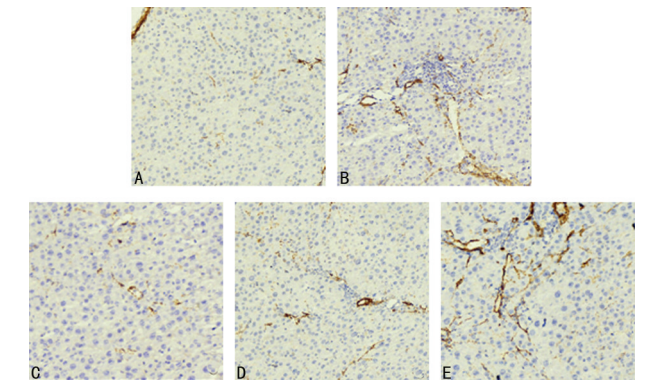
| 表 4 矮地茶黄酮对肝纤维化大鼠肝脏中 Vimentin、<br>α-SMA 表达的影响( $\bar{x} \pm s$ ) |    |                        |                        |
|-----------------------------------------------------------------|----|------------------------|------------------------|
| 分组                                                              | n  | Vimentin               | α-SMA                  |
| 正常组                                                             | 12 | 0.50±0.52              | 0.58±0.51              |
| 模型组                                                             | 9  | 4.78±1.48              | 4.33±1.50              |
| 矮地茶黄酮低剂量组                                                       | 10 | 3.10±1.52 <sup>a</sup> | 3.70±1.34              |
| 矮地茶黄酮中剂量组                                                       | 10 | 2.10±1.20 <sup>a</sup> | 2.10±1.29 <sup>a</sup> |
| 矮地茶黄酮高剂量组                                                       | 11 | 1.73±1.10 <sup>a</sup> | 2.00±1.09 <sup>a</sup> |

注：与模型组比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ 。



注：A 为正常组；B 为模型组；C 为矮地茶黄酮高剂量组；D 为矮地茶黄酮中剂量组；E 为矮地茶黄酮低剂量组。

图 2 各组大鼠肝脏中 Vimentin 的表达情况(×200)



注：A 为正常组；B 为模型组；C 为矮地茶黄酮高剂量组；D 为矮地茶黄酮中剂量组；E 为矮地茶黄酮低剂量组。

图 3 各组大鼠肝脏中 α-SMA 的表达情况(×200)

**2.5 TNF-α、IL-1β 与肝纤维化各指标的相关性分析** 模型组中，血清 TNF-α、IL-1β、HA、LN、IV-C、PCⅢ水平，肝 α-SMA、Vimentin 的表达水平与肝纤维化分级均呈正相关( $r=0.906、0.814、0.811、0.748、0.811、0.935、0.748、0.686$ ，均  $P<0.05$ )；血清 TNF-α 水平与 IL-1β、HA、IV-C、PCⅢ水平呈正相关( $r=0.740、0.797、0.746、0.898$ ，均  $P<0.05$ )，与肝 α-SMA、Vimentin 的表达水平呈正相关( $r=0.898、0.704$ ，均  $P<0.05$ )，血清 TNF-α 水平与 LN 水平无相关性( $r=0.545$ ， $P>0.05$ )；血清 IL-1β 水平与 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平呈正相关( $r=0.854、0.887、$

$0.996、0.904$ ，均  $P<0.05$ )，与肝 α-SMA、Vimentin 的表达水平呈正相关( $r=0.799、0.781$ ，均  $P<0.05$ )。

矮地茶黄酮组中，血清 TNF-α、IL-1β、HA、LN、IV-C、PCⅢ水平，肝 α-SMA、Vimentin 的表达水平与肝纤维化分级均呈正相关( $r=0.934、0.922、0.627、0.500、0.917、0.870、0.799、0.729$ ，均  $P<0.05$ )；血清 TNF-α 水平与 IL-1β、HA、LN、IV-C、PCⅢ水平呈正相关( $r=0.922、0.645、0.515、0.957、0.941$ ，均  $P<0.05$ )，与肝 α-SMA、Vimentin 的表达呈正相关( $r=0.804、0.712$ ，均  $P<0.05$ )；血清 IL-1β 水平与 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平呈正相关( $r=0.665、0.548、0.927、0.862$ ，均  $P<0.05$ )，与肝 α-SMA、Vimentin 的表达呈正相关( $r=0.851、0.733$ ，均  $P<0.05$ )。

3 讨 论

肝纤维化的发病机制复杂。有研究表明，肝纤维化的发生、发展与人体免疫系统功能紊乱密切相关，如作为机体重要的固有免疫细胞-巨噬细胞，在肝星状细胞的增殖、活化中发挥着重要作用，而肝星状细胞的增殖、活化在肝纤维化发生、发展中发挥核心作用；巨噬细胞受到外界有害因素刺激时，其受体能将其识别并产生应答，分泌大量转化诱导因子 β1、TNF-α、IL-1β 等炎症因子，进一步活化肝星状细胞为成纤维细胞，产生细胞外基质，导致细胞外基质沉积，巨噬细胞分泌的转化诱导因子 β1、白细胞介素等还能够维持成纤维细胞的增殖与分化<sup>[9-10]</sup>。除巨噬细胞外，肝脏中的自然杀伤(NK)细胞和 NKT 细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞等对肝星状细胞的活化、增殖亦起着重要的调控作用<sup>[11]</sup>。总之，免疫细胞在损伤因子的刺激下，产生各种免疫因子，并通过刺激肝星状细胞，进而影响肝纤维化，在肝纤维化的发生与发展中发挥着重要作用。降低促纤维化免疫因子分泌、增加抑制纤维化免疫因子分泌，可能是防治肝纤维化的一个新的契机。中医药对机体免疫调节具有很好的疗效，深入研究其与免疫调节的作用及机制具有重要意义。

王磊等<sup>[12]</sup>利用清热利湿的茵陈蒿汤治疗二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化，发现其能够有效逆转大鼠肝纤维化，证实二甲基亚硝胺诱导的肝纤维化大鼠的主要中医方证为湿热、瘀热内蕴兼气虚，因此，本研究在制备肝纤维化模型时采用二甲基亚硝胺进行腹腔注射。结果显示，模型组大鼠血清 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平明显升高，细胞外基质增加，肝脏出现纤维化、提示二甲基亚硝胺诱导肝纤维化模型成功，α-SMA 表达表达增加证实肝星状细胞活化在二甲基亚硝胺诱导肝纤维化的形成中发挥了重要作用。模型组大鼠血清 TNF-α、IL-1β 水平明显升高，证实二甲基亚硝胺诱导的肝纤维化大鼠中存在着免疫系统功

能紊乱,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  与肝纤维化分级正相关,与肝纤维化血清学标志物 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平正相关,与肝  $\alpha$ -SMA、Vimentin 的表达正相关,提示 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  在肝纤维化的发生、发展中发挥着重要作用,具体机制可能为促进肝星状细胞的增殖与活化,使细胞外基质降解减少,生成增加,最终导致肝纤维化。矮地茶黄酮高、中剂量组大鼠肝脏纤维化明显得到改善,胶原纤维生成较少,活化的肝星状细胞亦低于模型组,肝纤维化标志物 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平降低,均提示矮地茶黄酮对二甲基亚硝胺诱导的肝纤维化有较好的防治作用。矮地茶黄酮低剂量组大鼠肝脏纤维化改善不明显,胶原纤维生成、肝星状细胞活化、肝纤维化标志物 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平较模型组变化不明显,亦提示矮地茶黄酮对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化的防治作用与剂量有关。治疗组中,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平低的大鼠,其肝纤维化级别也较低,肝纤维化标志物 HA、LN、IV-C、PCⅢ水平降低,Vimentin 的表达水平降低,肝星状细胞活化的标志物  $\alpha$ -SMA 表达水平亦降低,提示矮地茶黄酮能通过降低固有免疫细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平,影响机体免疫功能,进而抑制肝星状细胞增殖与活化,使细胞外基质降解增加、生成减少,进而阻止肝纤维化的发生与发展。

参考文献

[1] 马会会,夏超明.肝星状细胞活化相关信号通路的研究进展[J].中西医结合肝病杂志,2019,29(4):380-382.

[2] 姜娜,平键,徐列明.肝星状细胞的活化机制—探寻肝纤

维化新的诊断指标和治疗靶点[J].临床肝胆病杂志,2019,35(3):640-643.

[3] 肖政华,杨辉,雷伟,杨君,等.扶肝化纤汤对肝纤维化大鼠 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的影响[J].山东大学学报(医学版),2019,57(6):51-60.

[4] 韦淇元,唐秀能,黄仁彬.中草药黄酮类化合物治疗肝纤维化分子信号通路的研究进展[J].中国药房,2019,30(6):842-846.

[5] 童家赟,梁之桃,赵中振,等.本草著作中紫金牛属药物基原考[J].中国中药杂志,2017,42(2):396-404.

[6] 李志超,曹庆生,吴卫,等.矮地茶黄酮抗二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化作用及机制研究[J].中兽医医药杂志,2019,38(2):17-21.

[7] 高雅,李豪,钟明利,等.扛板归总黄酮抗肝纤维化作用及其机制研究[J].华西药学杂志,2015,30(2):181-183.

[8] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学会.慢性乙型肝炎防治(2015 年更新版)[J].临床肝胆病杂志,2015,31(12):1941-1960.

[9] 刘鸣昊,贾涵婷,张丽慧,等.芪珠方对肝纤维化模型大鼠 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的作用[J].时珍国医国药,2019,30(3):571-573.

[10] 唐诗慧,张丽,方步武.蒿鳖养阴软坚方对 TGF- $\beta$ 1 诱导的肝纤维化的作用[J].天津医科大学学报,2018,24(5):381-384.

[11] 邢直直.肝纤维化的免疫相关机制[J].中国免疫学杂志,2017,33(3):472-476.

[12] 王磊,刘平,慕永平,等.二甲基亚硝胺大鼠肝纤维化中医方证研究[J].中医杂志,2006,47(12):929-932.

(收稿日期:2020-07-23 修回日期:2020-12-27)

(上接第 903 页)

[3] KWON H J,CHOI J Y,LEE M S,et al. Acupuncture for the sequelae of Bell's palsy:a randomized controlled trial[J]. Trials,2015,16:246.

[4] KWON H J,KIM J I,LEE M S,et al. Acupuncture for sequelae of Bell's palsy:a randomized controlled trial protocol[J]. Trials,2011,12:71-87.

[5] WU S H,TAI C J. Current research in acupuncture treatment for Bell's palsy[J].J Acupun Tradit Med,2017,1:1-4.

[6] XIA F,HAN J,LIU X,et al. Prednisolone and acupuncture in Bell's palsy:study protocol for a randomized,controlled trial[J]. Trials,2011,12:158-171.

[7] 王新宇,姜岳波.《针灸循证临床实践指南》面神经炎针灸治疗方案的进一步探讨[J].中国针灸,2014,34(6):602-604.

[8] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会神经肌肉病学组,中华医学会神经病学分会肌电图与临床神经生理学组.中国特发性面神经麻痹诊治指南[J].中华神经科杂志,2016,49(2):84-86.

[9] EVISTON T J,CROXSON G R,KENNEDY P G,et al.

Bell's palsy:aetiology,clinical features and multidisciplinary care[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry,2015,86(12):1356-1361.

[10] ÖKSÜZ CE,KALAYCIOĞLU A,UZUN Ö,et al. The efficacy of acupuncture in the treatment of Bell's palsy sequelae[J].J Acupunct Meridian Stud,2019,12(4):122-130.

[11] ZHAO Y,FENG G D,GAO Z Q. Advances in diagnosis and non-surgical treatment of Bell's palsy[J]. J Otol,2015,10(1):7-12.

[12] FABRIN S,ESPOSTO D S,MILAN M B,et al. Acupuncture technique applied to the facial nerve branches in Bell's palsy[J]. J Neurol Transl Neurosci,2016,4:1064-1069.

[13] POURMOMENY A A,ZADMEHR H,HOSSAINI M. Measurement of facial movements with Photoshop software during treatment of facial nerve palsy[J]. J Res Med Sci,2011,16(10):1313-1318.

(收稿日期:2020-09-11 修回日期:2020-12-22)