

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.16.004

吴茱萸碱对小鼠肝纤维化的影响

孙建超¹, 张 艺², 张娜佳¹, 娄方方³

1. 贵州省临床检验中心, 贵州贵阳 550002; 2. 贵州医科大学, 贵州贵阳 550002;

3. 贵州省人民医院检验科, 贵州贵阳 550002

摘要:目的 探究吴茱萸碱对小鼠肝纤维化的影响及作用机制。方法 32 只 SPF 级 C57BL/6J 小鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组, 每组 8 只。采用 10% 四氯化碳 (CCL₄) 在模型组、吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组中复制小鼠肝纤维化模型。每周 1、3、5 按 0.5 mL/kg 的剂量经腹腔注射 10% CCL₄, 重复 12 周。造模过程中, 吴茱萸碱低剂量组给予吴茱萸碱溶液 20 mg/(kg·d)、吴茱萸碱高剂量组给予吴茱萸碱溶液 25 mg/(kg·d) 进行灌胃干预, 模型组和对照组只注射 10% CCL₄ 混合溶剂。造模结束后, 小鼠摘眼球采集血液标本, 检测血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平; 取肝组织, 制备肝组织匀浆, 检测丙二醛 (MDA) 水平; 免疫组化法检测肝组织中 III 型胶原蛋白 (Col-III)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 表达情况; 免疫印迹法检测肝组织中增殖细胞核抗原 (PCNA) 蛋白、细胞基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 表达情况。结果 与模型组比较, 吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 ALT、AST、MDA 水平均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 免疫组化法检测结果显示, 与模型组比较, 吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 Col-III 及 α -SMA 表达下调; 免疫印迹法检测结果显示, 与模型组比较, 吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 PCNA 蛋白表达下调, MMP-9 表达上调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 吴茱萸碱对于 CCL₄ 诱导小鼠肝纤维化有一定的保护作用, 其作用机制可能与降低 MDA 水平, 抑制机体氧化应激反应, 抑制肝星状细胞活化并下调 PCNA 蛋白、Col-III、 α -SMA 表达, 上调 MMP-9 表达有关。

关键词: 肝纤维化; 吴茱萸碱; III 型胶原蛋白; α -平滑肌肌动蛋白; 增殖细胞核抗原; 细胞基质金属蛋白酶-9

中图法分类号: R575

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)16-2320-05

Effect of evodiamine on liver fibrosis in mice

SUN Jianchao¹, ZHANG Yi², ZHANG Najia¹, LOU Fangfang³

1. Guizhou Provincial Center for Clinical Laboratory, Guiyang, Guizhou 550002, China; 2. Guizhou

Medical University, Guiyang, Guizhou 550002, China; 3. Department of Clinical

Laboratory, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of evodiamine on liver fibrosis in mice.

Methods A total of 32 cases of SPF C57BL/6J mice were divided into control group, model group, evodiamine low-dose group and evodiamine high-dose group according to the random number table method, with 8 mice in each group, with 10% carbon tetrachloride (CCL₄) copy of liver fibrosis mice model in model group, evodiamine low-dose group and evodiamine high-dose group. Every Monday, Wednesday and Friday, 10% CCL₄ was injected intraperitoneally at a dose of 0.5 mL/kg body weight for 12 weeks. During the molding process, the evodiamine low-dose group was given 20 mg/(kg·d) and the evodiamine high-dose group was given 25 mg/(kg·d) fro gavage intervention, the model group and the control group were given only solvent. After the modeling, the eyeballs of the mice were collected and the contents of serum glutamate aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected. Liver tissue was collected and liver tissue homogenate was prepared for detection of malondialdehyde (MDA) content. Type III collagen (Col-III) and α -smooth muscle actin (α -SMA) were detected by immunohistochemistry. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) protein and cell matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were detected by Western blotting.

Results Compared with the model group, the levels of ALT, AST and MDA in the evodiamine low-dose group and the evodiamine high-dose group decreased significantly, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The results of immunohistochemistry showed that the expression of Col-III and α -SMA in the evodiamine low-dose group and the evodiamine high-dose group decreased significantly compared with those in

作者简介: 孙建超, 男, 主管技师, 主要从事免疫学方面的研究。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230727.1724.008.html\(2023-07-28\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230727.1724.008.html(2023-07-28))

the model group. Western blotting results showed that compared with the model group, the expression of PCNA protein down-regulated and the expression of MMP-9 up-regulated in the evodiamine low-dose group and the evodiamine high-dose group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Evodiamine has a certain protective effect on CCL4-induced liver fibrosis in mice, and its mechanism may be related to reducing MDA content, inhibiting oxidative stress, inhibiting the activation of hepatic stellate cells, down-regulating the expression of PCNA protein, Col-III and α -SMA, and up-regulating the expression of MMP-9.

Key words: liver fibrosis; evodiamine; type III collagen; α -smooth muscle actin; proliferating cell nuclear antigen; cell matrix metalloproteinase-9

肝纤维化是病理损伤、病毒性肝炎、非酒精性脂肪肝、酒精性肝炎等众多疾病的共同病理过程,遗传性新陈代谢失调、药物损伤、胆汁淤积性疾病、免疫功能失调等均可导致肝纤维化^[1]。因此,肝纤维化是对急、慢性肝损伤的创伤应答反应,该反应几乎是所有终末期肝病及其并发症的基础,包括门静脉高压、腹水、肝性脑病、合成功能障碍和代谢能力受损等,长期的肝脏损伤导致细胞外基质(ECM)增生、肝纤维化形成^[2]。研究表明,肝纤维化是可逆的肝脏损伤过程^[3],及时有效的干预可阻止肝脏向肝硬化或肝癌进展。因此,研究肝纤维化的发病机制及有效的干预措施对肝纤维化的防治具有重要的临床意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物 32 只 C57BL/6J 小鼠均购自贵州医科大学动物实验中心,SPF 级实验室饲养,按照随机数字表法分为对照组、模型组、吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组,每组 8 只,自由饮水,普通饮食。

1.2 主要试剂 吴茱萸碱;丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司);3 型胶原蛋白(Col-III)单克隆抗体(美国 Abcam 公司); α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)单克隆抗体(美国 Abcam 公司);细胞基质金属蛋白酶-9(MMP-9)单克隆抗体(美国 Abcam 公司);增殖细胞核抗原(PCNA)单克隆抗体(美国 Abcam 公司);BCA 蛋白定量试剂盒(南京巴傲得生物科技有限公司);增强型化学发光(ECL)试剂(德国 Millipore 公司)。

1.3 方法

1.3.1 小鼠肝纤维化造模流程 参考文献[4],采用 10% 四氯化碳(CCL4)在模型组、吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组中复制小鼠肝纤维化模型;橄榄油:CCL4=9:1 配制 10% CCL4 混合溶剂;吴茱萸碱的溶剂为吐温,配制吐温:二甲基亚砷(DMSO):生理盐水=1:1:18 的混合溶剂;每周 1、3、5 按 0.5 mL/kg 的剂量经腹腔注射 10% CCL4,每周小鼠称重,调整药物剂量,重复 12 周。造模过程中,吴茱萸碱低剂量组给予吴茱萸碱溶液 20 mg/(kg·d),吴茱萸碱高剂量组给予吴茱萸碱溶液 25 mg/(kg·d)进行灌胃干预。模型组和对照组只注射 10% CCL4 混合溶剂。

1.3.2 小鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平检测 小鼠摘眼球采集

血液标本,以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清。ALT、AST 均采用 Siemens Advia 1650 全自动生化分析仪按试剂盒说明书要求进行检测。

1.3.3 小鼠肝组织 MDA 水平检测 取小鼠肝组织,制备肝组织匀浆,采用硫代巴比妥酸法检测 MDA 水平,严格按照试剂盒说明书要求操作。

1.3.4 免疫组化法检测 肝组织切片经脱蜡、抗原修复、封闭、一抗孵育、二抗孵育、显色后,每张切片随机选取 5 个低倍视野($\times 100$),采用免疫组化法检测 Col-III、 α -SMA 表达情况。

1.3.5 PCNA 蛋白、MMP-9 水平检测 取小鼠肝组织,制备肝组织匀浆,采用免疫印迹法按试剂盒说明书提取蛋白并定量。取 20 μ g 蛋白,变性处理后进行聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳,转 PVDF 膜,一抗 PCNA(1:1 000)、MMP-9(1:5 000),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。二抗(1:20 000)室温孵育 1 h, TBST 缓冲液清洗后暗室内 ECL 试剂显色、曝光。通过 Image J 软件进行灰度分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计数资料以例数或百分率表示。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,多组间两两比较采用 SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血清 ALT、AST 水平比较 与模型组比较,吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组小鼠血清 ALT、AST 水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

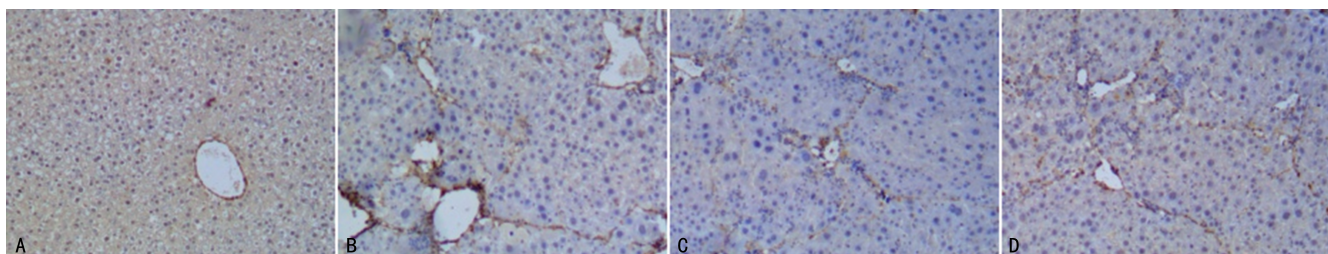
2.2 各组小鼠肝组织 MDA 水平比较 对照组、模型组、吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 MDA 水平分别为(0.857 \pm 0.044)、(1.394 \pm 0.047)、(0.993 \pm 0.021)、(0.911 \pm 0.03) nmol/mg,与模型组比较,吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组小鼠肝组织 MDA 水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 各组小鼠肝组织免疫组化法检测结果 对照组小鼠肝组织中 Col-III 可见于汇管区和中央脉管壁表达,但量极少,染色较淡;模型组 Col-III 表达广泛,呈弥漫性,主要表达在中央静脉周围及纤维组织增生的汇管区的纤维间隔、肝窦壁、血管内皮细胞和胆管上皮细胞细胞质,形成宽而粗大的纤维条索。吴茱萸碱

低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 Col-III 阳性表达部位与模型组一致,但表达面积和强度有所减少和减弱。见图 1。

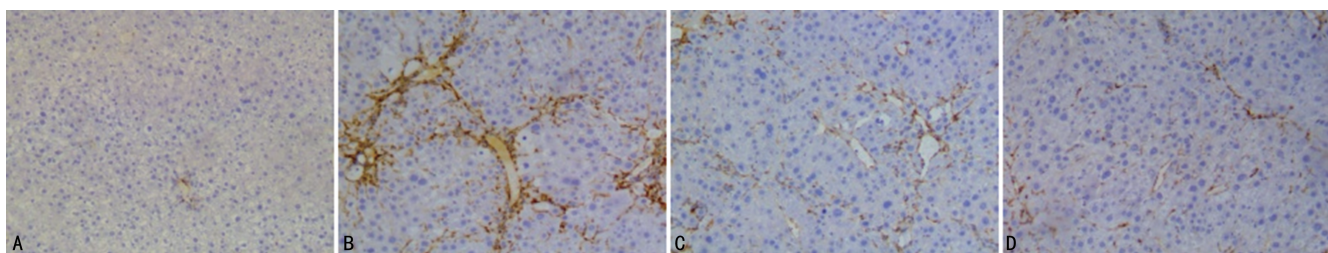
对照组小鼠肝组织中 α -SMA 仅在肝内动脉、静脉、胆管壁表达。模型组小鼠 α -SMA 除在血管壁表

达外,主要在纤维间隔及汇管区的成纤维母细胞细胞质处表达明显,且呈梭形或长椭圆形。吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 α -SMA 阳性表达部位与模型组一致,但表达面积和强度有所减少和减弱。见图 2。



注:A为对照组;B为模型组;C为吴茱萸碱低剂量组;D为吴茱萸碱高剂量组。

图 1 各组小鼠肝组织 Col-III 表达情况



注:A为对照组;B为模型组;C为吴茱萸碱低剂量组;D为吴茱萸碱高剂量组。

图 2 各组小鼠肝组织 α -SMA 表达情况

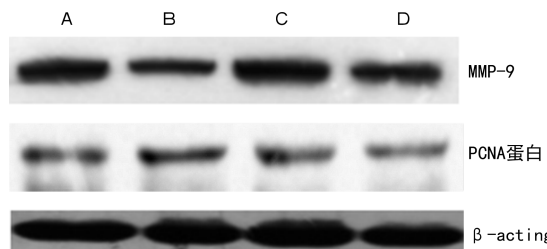
表 1 各组小鼠血清 ALT、AST 水平($\bar{x} \pm s$, IU/L)

组别	n	ALT	AST
对照组	8	36.73 \pm 7.15	172.59 \pm 47.76
模型组	8	7 185.73 \pm 598.05	3 850.80 \pm 197.45
吴茱萸碱低剂量组	8	1 261.20 \pm 141.80*	2 125.75 \pm 22.98*
吴茱萸碱高剂量组	8	1 253.21 \pm 166.16*	1 982.87 \pm 169.15*

注:与模型组比较,* $P < 0.05$ 。

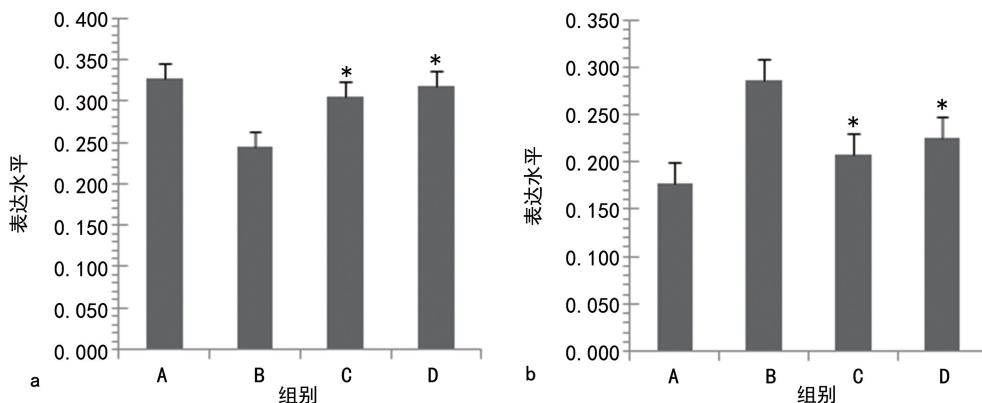
2.4 各组小鼠肝组织免疫印迹法检测结果 与模型组比较,吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组小鼠肝组织 MMP-9 表达上调,PCNA 蛋白表达下调,差异

均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3、4。



注:A为对照组;B为模型组;C为吴茱萸碱低剂量组;D为吴茱萸碱高剂量组。

图 3 免疫印迹法检测各组小鼠肝组织 MMP-9、PCNA 蛋白表达情况



注:a为MMP-9表达情况比较;b为PCNA蛋白表达情况比较;A为对照组;B为模型组;C为吴茱萸碱低剂量组;D为吴茱萸碱高剂量组;与模型组比较,* $P < 0.05$ 。

图 4 各组小鼠肝组织 MMP-9、PCNA 蛋白表达情况

3 讨 论

吴茱萸为《神农本草经》所记载的一味中药,药性辛、苦、热,有小毒。其功效主要为助阳止泻、散寒止痛、温中止呕。吴茱萸碱为吴茱萸主要活性成分之一,有广泛的药理活性,对心血管系统^[5]、内分泌系统^[6]、免疫系统^[7]等均有较强的调节作用,表明吴茱萸碱在抗氧化应激损伤方面有重要作用。

肝纤维化是所有慢性肝损伤长期刺激转归的必经之路,一旦进入肝硬化阶段则难以逆转。经过大约 40 年的基础、转化和临床研究的稳步进展,人们对肝硬化和终末期肝病的发病机制有了深入的认识^[8]。肝纤维化因其较高的发病率及病死率严重威胁人类健康,全球约 1 亿人口受到肝纤维化的影响^[9]。肝纤维化的显著特点为肝组织内大量 ECM 成分过度增生及异常沉淀^[10],其特征是纤维 ECM 产生和降解不平衡,导致间质胶原及其他基质成分积聚。肝纤维化的发生、发展与机体氧化应激反应紧密相关,机体氧化应激状态刺激肝星状细胞(HSC)活化及炎症细胞与细胞因子、肝巨噬细胞等多种因素,参与肝细胞损伤及肝小叶结构的重构。其中 HSC 的活化是肝组织内纤维胶原积累的关键因素^[11],是肝纤维胶原的主要来源。研究表明, α -SMA 是 HSC 活化的重要标志, α -SMA 在 HSC 中表达的强度与 HSC 的活化程度呈正相关^[12]。肝组织中的胶原主要分为 I、III、IV 和 VI 型等,其中以 I 型胶原蛋白(Col-I)、Col-III 最多,占肝脏 ECM 总量的 95% 以上,因此,Col-I、Col-III 是肝纤维化、肝硬化时 ECM 的主要成分^[13]。本研究中免疫组化法检测结果显示,吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组纤维间隔及汇管区的 Col-III、 α -SMA 表达面积和强度与模型组比较均有所减少和减弱,表明吴茱萸碱在抑制 HSC 的活化及抑制肝组织内纤维胶原积累方面有较好的作用。

基质金属蛋白酶(MMPs)是一类结构相似的锌依赖性内肽酶家族,MMP-9 是 MMPs 家族的主要成员之一。MMP-9 能够水解胶原蛋白、蛋白聚糖、弹性蛋白及纤连蛋白,通过降解 ECM 参与许多生物过程,在肝纤维化、肿瘤等多种疾病的发生、发展中有重要作用^[14-15]。MMP-9 更是为数不多的可以降解 IV 型胶原等多种基质胶原的蛋白酶^[16]。国内外诸多文献报道了 MMP-9 与肝纤维化发生、发展的关系,认为 MMP-9 可作为肝纤维化程度及肝细胞状态的可靠评价指标^[17-19]。本研究结果表明,与模型组比较,吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组肝组织中 MMP-9 表达上调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。王豫萍等^[20]研究发现蓝莓果浆在猪血清诱导大鼠免疫性肝纤维化损伤中可增加肝组织 MMP-9 表达。因此,MMP-9 在降解 ECM 进而抑制肝纤维化中起重要作用,可能与吴茱萸碱的防护肝纤维化、水解 ECM、防止肝组织内纤维胶原积累的功能有关。

肝纤维化是伴随着肝细胞的不断损伤与修复的过程。DONATO 等^[21-22]研究了慢性肝炎和肝硬化患者的肝脏组织标本 PCNA 蛋白表达水平,发现其能反映慢性病毒性肝炎患者的肝细胞增殖率,与肝病的严重性相关。胡沛臻等^[23]研究表明,在慢性肝炎、肝细胞不典型增生、肝细胞肝癌中,病情严重程度与 PCNA 蛋白表达量增加相关,即 PCNA 蛋白的表达水平与组织的分化程度呈负相关。本研究结果表明,与模型组比较,吴茱萸碱低剂量组、吴茱萸碱高剂量组 PCNA 蛋白表达下调,差异有统计学意义($P < 0.05$),可能与吴茱萸碱能抑制肝细胞过度增殖,减轻肝细胞损伤有关。

综上所述,吴茱萸碱对 CCL4 诱导小鼠肝纤维化有显著防护效果,可能与吴茱萸碱抑制肝组织氧化应激反应,同时抑制 HSC 活化,提高 MMP-9 表达,降低肝组织周围 Col-III 水平,同时下调 PCNA 蛋白表达有关。

参考文献

- [1] FRIEDMAN S L, PINZANI M. Hepatic fibrosis 2022: Unmet needs and a blueprint for the future[J]. *Hepatology*, 2022, 75(2): 473-488.
- [2] AYDIN M M, AKÇALI K C. Liver fibrosis[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2018, 29(1): 14-21.
- [3] PAROLA M, PINZANI M. Liver fibrosis: pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues[J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 37-55.
- [4] WANG H, LAFDIL F, WANG L, et al. Hepatoprotective versus oncogenic functions of STAT3 in liver tumorigenesis[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(2): 714-724.
- [5] RANG W Q, DU Y H, HU C P, et al. Protective effects of evodiamine on myocardial ischemia: reperfusion injury in rats[J]. *Planta Med*, 2004, 70(12): 1140-1143.
- [6] YANG Y, RAN X, WANG H, et al. Evodiamine relieve LPS-induced mastitis by inhibiting AKT/NF- κ B p65 and MAPK signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2022, 45(1): 129-142.
- [7] YE C, ZHANG N, ZHAO Q, et al. Evodiamine alleviates lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation and fibrosis by activating apelin pathway[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(6): 3406-3417.
- [8] ZHANG X F, ZHU X, CHEN J N, et al. Clinicopathological features of congenital hepatic fibrosis[J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2022, 51(10): 1027-1029.
- [9] SANCHEZ-VALLE V, CHAVEZ-TAPIA N C, URIBE M, et al. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review [J]. *Curr Med Chem*, 2012, 28(19): 4850-4860.
- [10] BATALLER R. Liver fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(2): 209-218.
- [11] WU J, ZERN M A. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis[J]. *Gastroenterol*, 2000, 35(9): 665-672.

- poietic stem cell transplantation[J]. *J Infect Chemother*, 2016, 22(8):505-514.
- [3] YANG M, CHOI S J, LEE J, et al. Serum procalcitonin as an independent diagnostic markers of bacteremia in febrile patients with hematologic malignancies[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12):e225765.
- [4] AZZINI A M, DORIZZI R M, SETTE P, et al. A 2020 review on the role of procalcitonin in different clinical settings: an up date conducted with the tools of the evidence based laboratory medicine[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(9):610.
- [5] 魏泽庆, 沈萍, 陈云波, 等. Mohnarin2011 年度报告: 血流感染细菌构成及耐药性[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(24):5497-5502.
- [6] 冯丹, 张永甜, 邱婷婷, 等. 313 例血液病患者造血干细胞移植术后 100 天内感染的临床特征[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(2):602-608.
- [7] RUSSO R, TEIXEIRA M, LEVIN A S, et al. Bloodstream infection in hematopoietic stem cell transplantation outpatients: risk factors for hospitalization and death[J]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2018, 61:3.
- [8] 湛玉晓, 樊文娟, 杨阳, 等. 河南省某三甲医院 342 例次造血干细胞移植术后感染病原菌分布和耐药性分析[J]. *河南预防医学杂志*, 2022, 33(5):359-361.
- [9] LINSCHIED P, SEBOEK D, NYLEN E S, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue[J]. *Endocrinology*, 2003, 144(12):5578-5584.
- [10] SAATMANN N, ZAHARIA O P, LOENNEKE J P, et al. Effects of blood flow restriction exercise and possible applications in type 2 diabetes[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2021, 32(2):106-117.
- [11] KOROMANI F, GHATAN S, VANHOEK M, et al. Type 2 diabetes mellitus and vertebral fracture risk[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2021, 19(1):50-57.
- [12] 李珊珊, 鲍会章, 贾玫, 等. 降钙素原对造血干细胞移植术后患者感染的诊断价值[J/CD]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2021, 15(5):321-326.
- [13] SAITO N, SUGIYAMA K, OHNUMA T, et al. Efficacy of polymyxin bimmobilized fiber hemoperfusion for patients with septic shock caused by Gram-negative bacillus infection[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3):e173633.
- [14] LEMAITRE N, LIANG X, NAJEEB J, et al. Curative treatment of severe gram-negative bacterial infections by a new class of antibiotics targeting LpxC [J]. *mBio*, 2017, 8(4):e00674-17.
- [15] LEMARIE J, BARRAUD D, GIBOT S, et al. Host response biomarkers in sepsis: overview on sTREM-1 detection[J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1237:225-239.
- [16] IGNACIO M S, FRANCISCO J R, RODOLFO P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio as predictors of survival after heart transplantation[J]. *ESC Heart Fail*, 2018, 5(1):149-156.
- [17] WOELFINGER P, HAUPTROCK B, KRIEGE O, et al. Pre-transplant platelet-to-lymphocyte ratio predicts outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):18948.

(收稿日期:2023-03-28 修回日期:2023-07-02)

(上接第 2323 页)

- [12] REYNAERT H, ROMBOUITS K, JIA Y, et al. Somatostatin at nanomolar concentration reduces collagen I and III synthesis by, but not proliferation of activated rat hepatic stellate cells[J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 146(1):77-88.
- [13] KOVALOVICH K, DEANGELIS R A, LI W, et al. Increased toxin-induced liver injury and fibrosis in interleukin-6-deficient mice[J]. *Hepatology*, 2000, 31(1):149-159.
- [14] LIPKA D, BORATYŃSKI J. Metalloproteinases. Structure and function[J]. *Postepy Hig Med Dosw(Online)*, 2008, 62:328-336.
- [15] ZENG Y D, GAO M Q, LIN D T, et al. Prognostic and immunological roles of MMP-9 in pan-cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022:2592962
- [16] POLETTE M, NAWROCKI-RABY B, GILLES C, et al. Tumour invasion and matrix metalloproteinases[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2004, 49(3):179-186.
- [17] HAN Y P, YAN C L, ZHOU L, et al. A matrix metalloproteinase-9 activation cascade by hepatic stellate cells in trans-differentiation in the three-dimensional extracellular matrix[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(17):12928-12939.
- [18] ROSSI E, ADAMS L A, BULSARA M, et al. Assessing liver fibrosis with serum marker models[J]. *Clin Biochem Rev*, 2007, 28(1):3-10.
- [19] LEROY V, MONIER F, BOTTARI S, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid[J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(2):271-279.
- [20] 王豫萍, 程明亮, 关丽, 等. 蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠 HGF 表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(8):1051-1054.
- [21] DONATO M F, AROSIO E, MONTI V, et al. Proliferating cell nuclear antigen assessed by a computer-assisted image analysis system in patients with chronic viral hepatitis and cirrhosis[J]. *Dig Liver Dis*, 2002, 34(3):197-203.
- [22] DONATO M F, AROSIO E, NINNO E, et al. High rates of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with high liver cell proliferative activity[J]. *Hepatology*, 2001, 34(3):523-528.
- [23] 胡沛臻, 张传山, 马福成, 等. 肝细胞肝癌组织中 P21WAF1/CIP1 与 PCNA 的表达及意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2002, 10(2):145-148.

(收稿日期:2022-10-15 修回日期:2023-04-11)