

药物治疗肝纤维化现状

朱颖炜, 朱 焱, 林 勇, 谢渭芬

朱颖炜, 朱 焱, 林勇, 谢渭芬, 中国人民解放军第二军医大学附属长征医院消化内科 上海市 200003
项目负责人: 林勇, 200003, 上海市凤阳路 415 号, 中国人民解放军第二军医大学附属长征医院消化内科. linyongmd@yahoo.com.cn
电话: 021-63610109-73253
收稿日期: 2004-11-29 接受日期: 2004-12-21

摘要

肝纤维化为一动态过程, 可以逆转, 是发展为肝硬化的中间过程, 阻断、抑制或逆转肝纤维化是治疗慢性肝病的一个十分重要的目标。随着肝纤维化的细胞分子生物学机制研究不断取得突破, 近年来从肝纤维化发生、发展的不同环节入手研制抗肝纤维化药物, 抗肝纤维化药物研究不断取得进展。本文对目前药物治疗肝纤维化现状作一综述。

朱颖炜, 朱焱, 林勇, 谢渭芬. 药物治疗肝纤维化现状. 世界华人消化杂志 2005;13(3):367-370
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/367.asp>

0 引言

肝纤维化 (hepatic fibrosis) 是肝脏对慢性损伤的一种修复反应, 是慢性肝病共有的病理改变, 其特征是以胶原为主的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 在肝内过多沉积。肝脏炎症激活肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 导致胶原生成、沉积形成肝纤维化, 进一步发展到肝硬化。一般认为肝硬化为不可逆阶段, 肝纤维化为一动态过程, 属可逆性病变, 因此, 阻断、抑制或逆转肝纤维化是治疗慢性肝病的一个十分重要的目标。目前, 肝纤维化的药物治疗主要集中在 1、抑制肝脏炎症; 2、抑制 HSC 激活、增生和诱导 HSC 凋亡; 3、降解肝脏 ECM^[1-2]。现综述如下。

1 抑制肝脏炎症

干扰素 (interferon, IFN) 是由病毒等诱导剂作用于寄生细胞而产生的一类具有生物活性的糖蛋白, 有抗病毒、抗肿瘤和调节免疫反应等活性, 可分为 α 、 β 、 γ 和复合干扰素, 其中 α 、 β 的化学结构相同, 称为抗病毒干扰素, 又称为 I 型干扰素, IFN- α 又分为 IFN- α 2 a、1 b、2 b; IFN- γ 的化学结构与 IFN- α 、 β 不同, 受体亦不相同, 但生物活性与 I 型干扰素相类似, 称为 II 型干扰素; 复合干扰素是一种新型干扰素, 是应用基因重组技术, 对干扰素各种亚型进行重组而得到的非天然干扰素。目前临床上主要使用的是 α 、 γ 和复合干扰素。实验与临床研究表明, IFN 在抗病毒的同时, 还具有抗炎症和肝纤维化的作用。Madro *et al*^[3] 在动物实验中用 IFN- α 治

疗四氯化碳诱导的肝纤维化小鼠, 结果显示, 能改善肝功能、降低肝纤维化程度。Abe *et al*^[4] 评价用 IFN- α 2b 治疗 80 例丙型肝炎患者, 1 a 后血清 P III P、IV 型胶原水平明显下降 ($P < 0.05$), 肝活检亦显示肝纤维化程度有明显改善, 对治疗后血清 ALT 正常的患者效果更好。Weng *et al*^[5] 在动物实验中用高、中、低三种不同剂量的 IFN- γ 治疗四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠, 结果显示三种不同剂量的 IFN- γ 均有抗肝纤维化作用, 且所用剂量越高, 效果越好。研究发现, HSC 活化早期 IL-10 增加, 对缺乏 IL-10 的小鼠予以四氯化碳, 引起更严重的肝损害, 表明 IL-10 有抗纤维化活性, 机制可能为减少 I 型胶原的表达和增加间质胶原酶。体外研究表明 IL-13 能激活成纤维细胞形成胶原^[6-7], Chiaramonte *et al*^[8] 证实 IL-13 在血吸虫引起肝纤维化的过程中高表达, IL-13 拮抗剂能改善血吸虫性肝纤维化大鼠纤维化程度。

拉米夫定 (lamivudine) 是核苷类抗病毒药, 对乙型肝炎病毒有较强的抑制作用, 长期应用可显著改善肝脏炎症, 并减轻或阻止肝纤维化的进展。Jin *et al*^[9] 研究 101 例 ALT 异常、乙型肝炎病毒 e 抗原阳性、肝组织符合病理评价要求患者, 口服拉米夫定 1 a 后肝脏组织学活动指数 (histological activity index, HAI)、坏死炎症和纤维化积分。结果表明, 治疗后 53.5% (54/101) 患者肝组织学改善, HAI 积分由治疗前的 8.0 ± 4.7 下降至治疗后的 5.2 ± 3.3 ($P < 0.01$); 51.5% (52/101) 患者坏死炎症程度改善, 坏死炎症积分由 5.9 ± 3.8 下降至 3.6 ± 2.5 ; 31.7% 患者纤维化改善, 纤维化积分由 2.1 ± 1.2 下降至 1.6 ± 1.2 ($P < 0.01$), 无论治疗结束后是否发生 HBeAg 血清转换, 患者的肝组织学均有明显改善。亦有研究表明, 拉米夫定治疗慢性乙肝患者, 可以减缓疾病的进展, 减低 Child-Pugh 评分, 减低肝细胞肝癌的发生率, 可引起 YMDD 变异。马洛替酯 (malotilate) 属二巯戊环衍生物, 是肝脏蛋白合成的诱导剂, 也是一种抗炎药物, 能促进肝细胞蛋白质的合成, 研究表明其通过抑制炎症递质的产生, 可阻止由四氯化碳、二甲基亚硝胺及酒精引起的实验性肝纤维化肝脏 ECM 合成和沉积, 抑制 P III P 血清水平和肝内羟脯氨酸含量, 减轻肝脏炎症和纤维化。临床确切效果尚需进一步证实。Nomura *et al*^[10] 体外研究马洛替酯对外周血单核细胞的毒性作用, 结果表明, 导致乳酸脱氢酶的异常增高, 可能是马洛替酯的代谢产物起作用, 引起的肝脏损害和慢性活动性肝炎引起的程度一致。

2 抑制HSC激活、增生和诱导HSC凋亡

已有研究表明在肝纤维化进程中活化的HSC是ECM的主要来源.HSC存在于肝细胞、巨噬细胞和肝窦内皮细胞之间的Disse间隙内,储存了人体80%的视黄醇,HSC激活后,丧失视黄醇,合成多种ECM成分^[11].细胞凋亡(apoptosis)是一种由基因调控的,具有特征性的细胞主动死亡过程.通过神经生长因子途径、死亡因子/死亡因子受体途径、活性氧途径等诱导HSC凋亡,活化的肝巨噬细胞通过半胱氨酸9和相互作用的受体蛋白途径有效的诱导HSC凋亡,HSC在肝纤维化形成过程中起重要作用^[2].

IFN- α 治疗四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠,能减轻肝纤维化程度,HSC数明显减少,凋亡的HSC数量增加,细胞的凋亡指数增加,表明IFN- α 在体内可诱导HSC凋亡,这可能亦是IFN- α 抗肝纤维化的作用机制之一.Saile *et al*^[12]用IFN- α 作用于原代活化的小鼠HSC,结果显示,IFN- α 可能通过激活JAK2途径诱导HSC的凋亡.

血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitor agent, ACE-I)对改善肝纤维化有一定的作用^[13],培哚普利(perindopril, PE)是一个前体药,在体内水解为其活性代谢物培哚普利拉(perindoprilat),是一种竞争性的ACE-I,有研究表明,PE治疗实验性肝纤维化小鼠,可明显降低血清HA、LN和III型胶原的水平,下调TGF- β 和SMA的表达,起到抗纤维化作用^[14].体外研究表明,通过AT-1受体可诱导HSC的活化、增生和上调TGF- β 1的表达^[15].氯沙坦(losartan)是一种非肽类血管紧张素II 1型(AT-1)受体拮抗剂,可能通过减少AT-1受体和TGF- β 阻止肝纤维化的进展.用氯沙坦治疗四氯化碳诱导的肝纤维化小鼠,可明显降低血清HA和PC III的水平,肝纤维化程度明显改善^[16],Ramalho *et al*^[17]用氯沙坦治疗胆管结扎肝纤维化小鼠,结果表明,可增加门脉的血流量,减少IV型胶原和HSC的活化,抑制肝纤维化程度.

生长抑素八肽(octreotide, 奥曲肽)是一种人工合成的八肽环状化合物,具有与天然内源性生长抑素类似的作用.Wang *et al*^[18]用奥曲肽治疗四氯化碳诱导的肝纤维化小鼠,治疗组HA、LN和PC III水平比对照组明显降低($P < 0.05$),肝纤维化分级评分亦明显改善($P < 0.05$),表明奥曲肽能抑制HSC的激活,改善肝纤维化.有研究表明,生长抑素(somatostatin)既能抑制HSC的激活,亦能诱导HSC凋亡.Pan *et al*^[19]用生长抑素作用于活化的小鼠HSC,结果表明,生长抑素浓度在 10^{-6} – 10^{-9} 间可抑制HSC的增生,浓度在 10^{-6} – 10^{-7} 间可促进其凋亡($P < 0.05$ – 0.01).

有研究表明,内皮素-1(endothelin-1)在肝损伤后高表达,其通过内皮素A、B受体刺激TGF- β 1和胶原的合成,激活HSC收缩,调节肝内血流^[20].实验研究显示波沙坦(bosentan)一种内皮素A和B受体拮抗剂,能减少实验性肝纤维化HSC活化,抑制胶原的合成^[21–22].

研究表明,选择性的 Na^+/H^+ 交换抑制剂通过抗氧化

作用可抑制HSC的激活、增生和胶原沉积而减轻胆管结扎、二乙基亚硝胺所致的大鼠肝纤维化程度.坎利酸内脂(canrenone)是醛固酮竞争性抑制剂螺内脂的活性代谢物,能阻断 Na^+/H^+ 交换,能减少TGF- β 诱导的I、IV型胶原的合成及抑制HSC的激活,有一定的抗肝纤维化作用^[23].

胶毒霉素(gliotoxin)是一种真菌的代谢物,Deke *et al*^[24]研究表明,胶毒霉素可以减少活化的HSC,逆转硫代乙醇胺诱导的小鼠肝纤维化,但不能改善肝功能,并减少肝细胞的数量.小剂量的胶毒霉素可以通过改变细胞膜通透性和细胞色素C的释放诱导活化的人HSC凋亡,较大剂量的胶毒霉素导致活化的人HSC死亡^[25–26].

松弛肽(relaxin)是一种参与分娩过程的天然多肽类激素,能减少胶原合成,增加基质降解,抑制肝纤维化的发展.体外研究表明,松弛肽能减少HSC中 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, SMA)的水平,减少胶原的含量和合成,增加胶原酶的活性^[27–28].

来氟米特(leflunomide, LEF)又称雷抑素,是异恶唑的衍生物,有研究表明,其能降低四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠血清ALT、AST、HA和PC III水平,减少羟脯氨酸的含量、TGF- β 1和一氧化氮水平,有一定抗纤维化作用^[29],LEF在体内半衰期可达10–16 d,临床效果有待进一步验证.

有研究表明,交感神经系统调节活化的HSC成为肌成纤维样细胞,用去甲肾上腺素治疗多巴胺 β -羟化酶缺乏的鼠,可导致HSC的增生,上调TGF- β 活性并增加胶原合成,加重肝纤维化^[30–31].Nakade *et al*^[32]研究表明脑池内的一种促肾上腺皮质激素释放因子受体拮抗剂能降低四氯化碳诱导的肝损伤小鼠的血清ALT水平,防止肝纤维化的形成,切除交感神经后这种影响被终止.交感神经拮抗剂可能具有抗肝纤维化作用.

己酮可可碱(pentoxifylline)是甲基黄嘌呤的衍生物,磷酸二酯酶的抑制剂,在生物体内能抑制HSC的激活和前胶原的合成,Raetsch *et al*^[33]研究表明己酮可可碱可抑制胆管结扎肝纤维化小鼠I型胶原的合成,转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)活性下降了60–70%,而MMP-1活性提高了2倍,故其有良好的抗纤维化作用.

水飞蓟素(silymarin)是从菊科植物水飞蓟果实中提取分离得到的一种具有抗氧化性的黄酮类化合物,具有明显保护和稳定肝细胞膜的作用.其能抑制胆管结扎肝纤维化大鼠模型I型前胶原的合成和TIMP-1的活性,具有抗纤维化效果,对酒精性肝病亦有积极疗效^[34–36].在人的对照性实验研究中,有效性未得到确认.

维生素E是一种很强的抗氧化剂,能抗脂质过氧化、抗氧化应激并减少HSC的增生和胶原的合成.对改善实验性肝纤维化有明显效果,亦有研究表明其对非酒精性脂肪肝患者也有较好疗效^[37].

3 降解肝脏ECM

肝纤维化的特征是ECM在肝内过多沉积,因此,促进ECM

的降解是抗肝纤维化的又一重要途径, 通过降解 ECM, 可以逆转肝纤维化的进程, 促进肝功能的恢复. 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)是肝脏 ECM 的主要降解酶, 而组织基质金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitors of matrix metalloproteinase, TIMP)和其作用相反, MMP 和 TIMP 的平衡是阻止 ECM 沉积的一个重要因素, TIMP 通过抑制 MMP 可阻止活化的 HSC 凋亡, 通过调节 MMP 和 TIMP 的比率, 可调节 ECM 的沉积, 有助于促进肝纤维化的逆转^[38-39].

Ninomiya *et al*^[40]用 IFN- α 治疗 27 例慢性丙型肝炎患者, 测定患者血清 MMP-1、MMP-2 和 TIMP-1、TIMP-2 的水平并比较治疗前后肝组织学, 经 6 mo 治疗后, 治疗组 9 例患者 MMP-1/TIMP-1 比率明显提高, 肝纤维化程度均得到改善, 对照组 MMP-1/TIMP-1 比率下降, 且 TIMP-2 水平明显提高, TIMP-1 水平有增加趋势, 未改善肝纤维化, 表明 IFN- α 可通过提高 MMP-1/TIMP-1 改善肝纤维化程度.

此外, 有研究表明肝纤维化发生发展过程中有病态血管生成, 影响肝灌注, 加重肝纤维化^[41]. 血管他丁(Angiostatin)是一种内皮依赖性血管舒张的负性调节剂, 纤维蛋白溶解原的水解片段, 能抑制血管的生成^[42]. Vogten *et al*^[43]在动物实验中研究血管他丁对四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠的治疗作用, 发现治疗组比对照组病态血管的数量减少了 69% ($P < 0.001$), 肝纤维化区域减少了 $63 \pm 0.1\%$ ($P < 0.001$), 未影响细胞的增生, 认为血管他丁抗纤维化作用可能是抑制了肝病态血管的生成.

4 药物联合治疗

药物联合治疗因其多环节、多靶点、多成分的药理学作用, 理论上能有更加好的抗纤维化效果, 目前已有联合治疗的方案, 但疗效和机制有待进一步研究.

有研究表明 IFN 和利巴韦林合用可减缓、甚至逆转一些丙型肝炎患者的肝损害, 增加肝炎患者的应答率和改善肝纤维化. Afif *et al*^[44]用 IFN- α 和利巴韦林联合治疗 52 例初治和 79 例复治丙型肝炎患者, 治疗后完全应答率分别达到了 37% 和 22%, 肝纤维化和肝脏炎症程度有明显改善 ($P < 0.05$).

Selimoglu *et al*^[45]用 IFN- α 和拉米夫定联合治疗慢性乙型肝炎儿童患者, 可明显降低血清 ALT 水平, HAI 亦明显下降 ($P < 0.005$), 但应答率无明显差异.

总之, 近年来, 关于肝纤维化药物治疗的研究有不少报道, 但临床尚无抗肝纤维化的特效药物, 随着肝纤维化的细胞分子生物学机制研究不断取得突破, 从肝纤维化发生、发展的不同环节入手研制抗肝纤维化药物, 将会为肝纤维化药物治疗开辟新的前景.

5 参考文献

- Iredale JP. Cirrhosis: new research provides a basis for rational and targeted treatment. *BMJ* 2003;327:143-147
- Dodig M, Mullen KD. New mechanism of selective killing of activated hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003;38:1051-1053
- Madro A, Slomka M, Celinski K, Chibowski D, Czechowska G, Kleinrok Z, Karpinska A. The influence of interferon alpha on the rat liver injured by chronic administration of carbon tetrachloride. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska* 2002;57:55-60
- Abe S, Tabaru A, Ono M, Tai M, Narita R, Moriyama A, Otsuki M. High-dose interferon-alpha therapy lowers the levels of serum fibrogenesis markers over 5 years in chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2003;25:22-31
- Weng HL, Cai WM, Liu RH. Animal experiment and clinical study of effect of gamma-interferon on hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2001;7:42-48
- Chiaromonte MG, Mentink-Kane M, Jacobson BA, Cheever AW, Whitters MJ, Goad ME, Wong A, Collins M, Donaldson DD, Grusby MJ, Wynn TA. Regulation and function of the interleukin 13 receptor alpha 2 during a T helper cell type 2-dominant immune response. *J Exp Med* 2003;197:675-679
- Fallon PG, Richardson EJ, McKenzie GJ, McKenzie AN. Schistosome infection of transgenic mice defines distinct and contrasting pathogenic roles for IL-4 and IL-13: IL-13 is a profibrotic agent. *J Immunol* 2000;164:2585-2591
- Chiaromonte MG, Cheever AW, Malley JD, Donaldson DD, Wynn TA. Studies of murine schistosomiasis reveal interleukin-13 blockade as a treatment for established and progressive liver fibrosis. *Hepatology* 2001;34:273-282
- Jin RH, Lang ZW, Yao GB, Guo XH. Liver histological changes after lamivudine treating in chronic hepatitis B patients with HBeAg positive. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2003;11:555-557
- Nomura F, Ohnishi K, Ohto M. Detection of malotilate toxicity in vitro with peripheral blood mononuclear cells as targets. A preliminary report. *J Hepatol* 1990;11:65-69
- Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 2001;21:427-436
- Saile B, Eisenbach C, El-Armouche H, Neubauer K, Ramadori G. Antiapoptotic effect of interferon-alpha on hepatic stellate cells(HSC): a novel pathway of IFN-alpha signal transduction via Janus kinase 2(JAK2) and caspase-8. *Eur J Cell Biol* 2003;82:31-41
- Yoshiji H, Kuriyama S, Fukui H. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitors may be an alternative anti-angiogenic strategy in the treatment of liver fibrosis and hepatocellular carcinoma. Possible role of vascular endothelial growth factor. *Tumour Biol* 2002;23:348-356
- Li X, Meng Y, Yang XS, Zhang ZS, Wu PS, Zou JL. Perindopril attenuates the progression of CCl4-inducing rat hepatic fibrosis. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004;12:32-34
- Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshiji J, Ikenaka Y, Noguchi R, Nakatani T, Tsujinoue H, Fukui H. Angiotensin-II type 1 receptor interaction is a major regulator for liver fibrosis development in rats. *Hepatology* 2001;34:745-750
- Wei HS, Li DG, Lu HM, Zhan YT, Wang ZR, Huang X, Zhang J, Cheng JL, Xu QF. Effects of AT1 receptor antagonist, losartan, on rat hepatic fibrosis induced by CCL(4). *World J Gastroenterol* 2000;6:540-545
- Ramvalho LN, Ramvalho FS, Zucoloto S, Castro-e-Silva Junior O, Correa FM, Elias Junior J, Magalhaes JF. Effect of losartan, an angiotensin II antagonist, on secondary biliary cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2002;49:1499-1502
- Wang ZR, Li DG, Chen XM, Huang X, Wei HS, Wang YQ, Xu QF, Lu HM. Therapeutic effects of octreotide on hepatofibrosis-induced with carbon tetrachloride in rats. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2003;11:408-411
- Pan Q, Li DG, Lu HM, Lu LY, Wang YQ, Xu QF. Antiproliferative and proapoptotic effects of somatostatin on activated hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:1015-1018
- Moore K. Endothelin and vascular function in liver disease. *Gut* 2004;53:159-161
- Sogni P, Moreau R, Gomola A, Gadano A, Cailmail S, Calmus Y, Clozel M, Lebrec D. Beneficial hemodynamic effects of bosentan, a mixed ET(A) and ET(B) receptor antagonist, in portal hypertensive rats. *Hepatology* 1998;28:655-659

- 22 van Giersbergen PL, Popescu G, Bodin F, Dingemanse J. Influence of mild liver impairment on the pharmacokinetics and metabolism of bosentan, a dual endothelin receptor antagonist. *J Clin Pharmacol* 2003;43:15-22
- 23 Caligiuri A, De Franco RM, Romanelli RG, Gentilini A, Meucci M, Failli P, Mazzetti L, Rombouts K, Geerts A, Vanasia M, Gentilini P, Marra F, Pinzani M. Antifibrogenic effects of canrenone, an antialdosteronic drug, on human hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2003;124:504-520
- 24 Dekel R, Zvibel I, Brill S, Brazovsky E, Halpern Z, Oren R. Gliotoxin ameliorates development of fibrosis and cirrhosis in a thioacetamide rat model. *Dig Dis Sci* 2003;48:1642-1647
- 25 Kweon YO, Paik YH, Schnabl B, Qian T, Lemasters JJ, Brenner DA. Gliotoxin-mediated apoptosis of activated human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2003;39:38-46
- 26 Orr JG, Leel V, Cameron GA, Marek CJ, Haughton EL, Elrick LJ, Trim JE, Hawksworth GM, Halestrap AP, Wright MC. Mechanism of action of the antifibrogenic compound gliotoxin in rat liver cells. *Hepatology* 2004;40:232-242
- 27 Williams EJ, Benyon RC, Trim N, Hadwin R, Grove BH, Arthur MJ, Unemori EN, Iredale JP. Relaxin inhibits effective collagen deposition by cultured hepatic stellate cells and decreases rat liver fibrosis in vivo. *Gut* 2001;49:577-583
- 28 Bennett RG, Kharbanda KK, Tuma DJ. Inhibition of markers of hepatic stellate cell activation by the hormone relaxin. *Biochem Pharmacol* 2003;66:867-874
- 29 Yao HW, Li J, Chen JQ, Xu SY. Inhibitory effect of leflunomide on hepatic fibrosis induced by CCl₄ in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2004;25:915-920
- 30 Oben JA, Roskams T, Yang S, Lin H, Sinelli N, Torbenson M, Smedh U, Moran TH, Li Z, Huang J, Thomas SA, Diehl AM. Hepatic fibrogenesis requires sympathetic neurotransmitters. *Gut* 2004;53:438-445
- 31 Oben JA, Roskams T, Yang S, Lin H, Sinelli N, Li Z, Torbenson M, Thomas SA, Diehl AM. Norepinephrine induces hepatic fibrogenesis in leptin deficient ob/ob mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;308:284-292
- 32 Nakade Y, Yoneda M, Yokohama S, Tamori K, Nakamura K, Watanobe H, Kono T, Makino I, Terano A. Central injection of astressin inhibits carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Eur J Pharmacol* 2003;460:135-138
- 33 Raetsch C, Jia JD, Boigk G, Bauer M, Hahn EG, Riecken EO, Schuppan D. Pentoxifylline downregulates profibrogenic cytokines and procollagen I expression in rat secondary biliary fibrosis. *Gut* 2002;50:241-247
- 34 Jia JD, Bauer M, Cho JJ, Ruehl M, Milani S, Boigk G, Riecken EO, Schuppan D. Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha1(I) and TIMP-1. *J Hepatol* 2001;35:392-398
- 35 Lucena MI, Andrade RJ, de la Cruz JP, Rodriguez-Mendizabal M, Blanco E, Sanchez de la Cuesta F. Effects of silymarin MZ-80 on oxidative stress in patients with alcoholic cirrhosis. Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2002;40:2-8
- 36 Lieber CS, Leo MA, Cao Q, Ren C, DeCarli LM. Silymarin retards the progression of alcohol-induced hepatic fibrosis in baboons. *J Clin Gastroenterol* 2003;37:336-339
- 37 Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2348-2350
- 38 McCrudden R, Iredale JP. Liver fibrosis, the hepatic stellate cell and tissue inhibitors of metalloproteinases. *Histol Histopathol* 2000;15:1159-1168
- 39 Nie QH, Duan GR, Luo XD, Xie YM, Luo H, Zhou YX, Pan BR. Expression of TIMP-1 and TIMP-2 in rats with hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2004;10:86-90
- 40 Ninomiya T, Yoon S, Nagano H, Kumon Y, Seo Y, Kasuga M, Yano Y, Nakaji M, Hayashi Y. Significance of serum matrix metalloproteinases and their inhibitors on the antifibrogenetic effect of interferon-alfa in chronic hepatitis C patients. *Intervirology* 2001;44:227-231
- 41 Jung SP, Siegrist B, Wang YZ, Wade MR, Anthony CT, Hornick C, Woltering EA. Effect of human Angiostatin protein on human angiogenesis in vitro. *Angiogenesis* 2003;6:233-240
- 42 Cao Y, Xue L. Angiostatin. *Semin Thromb Hemost* 2004;30:83-93
- 43 Vogten JM, Drixler TA, Te Velde EA, Schipper ME, Van Vroonhoven TJ, Voest EE, Borel Rinkes IH. Angiostatin inhibits experimental liver fibrosis in mice. *Int J Colorectal Dis* 2004;19:387-394
- 44 Arif A, Levine RA, Sanderson SO, Bank L, Velu RP, Shah A, Mahl TG, Gregory DH. Regression of fibrosis in chronic hepatitis C after therapy with interferon and ribavirin. *Dig Dis Sci* 2003;48:1425-1430
- 45 Selimoglu MA, Aydogdu S, Unal F, Zeytinoglu A, Yuce G, Yagci RV. Alpha interferon and lamivudine combination therapy for chronic hepatitis B in children. *Pediatr Int* 2002;44:404-408