

化瘀通络中药鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠PDGF及Ras信号转导通路的影响

张艺凡, 王飞, 李风华, 孙玉凤, 张岩, 郭沛然, 何莉莉, 朱雅娜

背景资料
肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是多种原因引起的慢性肝损伤所至的病理改变, 是由于各种病原侵袭, 引起肝脏的损害和炎症反应, 同时激活免疫系统, 诱导纤维组织增生所致, 是慢性肝病向肝硬化发展的共同病理过程。

张艺凡, 河北省石家庄市第一医院中西医结合科 河北省石家庄市 050011
王飞, 河北省沧州市中西医结合医院消化内科 河北省沧州市 061001
李风华, 孙玉凤, 郭沛然, 何莉莉, 朱雅娜, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000
张岩, 河北省石家庄市第三医院保健科 河北省石家庄市 050011
张艺凡, 主要从事消化系统疾病的研究。
河北省自然科学基金资助项目, No. C2009001143
作者贡献分布: 课题由孙玉凤与张艺凡设计; 研究过程由张艺凡、李风华、王飞及郭沛然操作完成; 课题资料查找与数据统计由张艺凡、张岩、何莉莉及朱雅娜共同完成; 论文写作由张艺凡与王飞完成; 孙玉凤审校。
通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。
sunyefey@163.com
电话: 0311-66002951
收稿日期: 2014-05-10 修回日期: 2014-06-06
接受日期: 2014-07-05 在线出版日期: 2014-09-28

Influence of Biejiajian pill on PDGF and Ras signaling pathways in hepatic fibrosis in rats

Yi-Fan Zhang, Fei Wang, Feng-Hua Li, Yu-Feng Sun, Yan Zhang, Pei-Ran Guo, Li-Li He, Ya-Na Zhu

Yi-Fan Zhang, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the First Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Fei Wang, Department of Gastroenterology, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Cangzhou 061001, Hebei Province, China
Feng-Hua Li, Yu-Feng Sun, Pei-Ran Guo, Li-Li He, Ya-Na Zhu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Yan Zhang, Department of Health, the Third Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Supported by: Hebei Provincial Natural Science Foundation, No. C2009001143
Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyefey@163.com
Received: 2014-05-10 Revised: 2014-06-06
Accepted: 2014-07-05 Published online: 2014-09-28

Abstract

AIM: To explore the anti-fibrotic mechanism of

Biejiajian pill, a traditional Chinese medicine for activating blood circulation and eliminating stasis, in rats with hepatic fibrosis.

METHODS: Hepatic fibrosis was induced in rats by subcutaneous injection of CCl_4 . SD rats were randomly divided into five groups: a control group, a model group, low-, medium- and high-dose Biejiajian pill treatment groups. The three treatment groups were given Biejiajian pill 0.55, 1.10, and 2.20 g/(kg·d), respectively, while the normal control group and model group were treated with equal volume of normal saline by gavage. At the 11th week, hepatic pathological changes were observed. The immunohistochemical technique was applied to analyze the expression of extracellular signal regulated kinase 1 (ERK1) in hepatic tissue. RT-PCR was applied to analyze the expression of platelet derivative growth factor (PDGF) and Ras mRNAs in hepatic tissue.

RESULTS: Compared with the control group, the expression levels of ERK1 protein and PDGF and Ras mRNAs increased significantly in the model group (0.19 ± 0.001 vs 0.71 ± 0.018 , 0.12 ± 0.000 vs 0.42 ± 0.006 , 0.12 ± 0.000 vs 0.44 ± 0.017 , $P < 0.05$). Compared with the model group, Biejiajian pill significantly improved hepatic pathological changes and decreased the expression of ERK1 protein and PDGF and Ras mRNAs, and the efficacy of high-dose Biejiajian pill was the best.

CONCLUSION: Biejiajian pill can improve hepatic pathological changes in rats with hepatic fibrosis possibly *via* mechanisms associated with activating the Ras/ERK signaling pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Chinese traditional medicine for promoting blood circulation and removing stasis; Biejiajian pill; Platelet derivative growth

同行评议者
赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院生理学教研室

factor; Ras; Extracellular signal regulated kinase

Zhang YF, Wang F, Li FH, Sun YF, Zhang Y, Guo PR, He LL, Zhu YN. Influence of Biejiajian pill on PDGF and Ras signaling pathways in hepatic fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(27): 4060-4067 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4060.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i27.4060>

摘要

目的: 探讨化瘀通络中药对肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)的可能作用机制。

方法: 四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)皮下注射的方法建立HF大鼠模型, 将其随机分为对照组、模型组、中药低、中、高剂量组。造模开始时中药低、中、高剂量组大鼠分别给予化瘀通络中药鳖甲煎丸0.55、1.10、2.20 g/(kg·d)灌胃, 正常对照组及模型组给予等体积的生理盐水灌胃, 共6 wk。成模后继续灌胃5 wk。于第11周末, 观察各组大鼠肝脏病理形态学变化; RT-PCR法检测肝组织中血小板衍生生长因子(platelet derivative growth factor, PDGF)、Ras基因表达水平; 免疫组织化学方法检测肝组织细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK1)蛋白表达。

结果: 与对照组相比, 模型组大鼠肝组织PDGF、Ras、ERK1蛋白表达明显升高(0.190 ± 0.001 vs 0.710 ± 0.018 , 0.120 ± 0.000 vs 0.420 ± 0.006 , 0.120 ± 0.000 vs 0.440 ± 0.017 , $P < 0.05$); 与模型组相比, 化瘀通络中药鳖甲煎丸能够显著减轻HF大鼠肝脏组织病理损害, 下调PDGF、Ras、ERK1蛋白的表达, 其中以高剂量组效果最为显著。

结论: 鳖甲煎丸可明显减轻HF的病理损害, 这一作用的实现可能是通过PDGF介导的Ras/ERK信号转导通路实现的。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 化瘀通络中药; 鳖甲煎丸; 血小板衍生生长因子; Ras; 细胞外信号调节激酶

核心提示: 本研究选用化瘀通络中成药鳖甲煎丸对肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)大鼠进行干预, 通过分析各组大鼠肝脏病理形态学变化, 肝组织血小板衍生生长因子(platelet derivative growth factor)、Ras基因表达水平及细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase)蛋白含量

的变化, 探讨化瘀通络中成药鳖甲煎丸对HF的治疗作用及其可能作用机制, 为临床治疗以气阴两虚、瘀血阻络为基本病因病机的HF提供实验依据。

张艺凡, 王飞, 李风华, 孙玉凤, 张岩, 郭沛然, 何莉莉, 朱雅娜. 化瘀通络中药鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠PDGF及Ras信号转导通路的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(27): 4060-4067 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4060.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i27.4060>

0 引言

近年来, 随着肝病的发生率逐年上升, 我国已成为全球晚期肝病发病率最高的国家, 这对国民经济的发展和人民健康造成了严重影响。肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是各种慢性肝病发展成肝硬化的一个动态过程, 是肝脏纤维结缔组织过度沉积的结果^[1,2]。因此, 寻找防治和延缓HF发生的有效途径和方法具有重要意义。近几十年来, 开展的中医药抗HF的大量研究, 显示了中医药抗HF的多途径、多层次、多靶点的综合优势, 可见其具有较大的潜力和广阔前景^[3-6], 众多研究^[7-11]证实鳖甲煎丸治疗HF可取的良好疗效。本实验通过观察化瘀通络中药鳖甲煎丸对HF大鼠血清学指标的影响, 对肝组织血小板衍生生长因子(platelet derivative growth factor, PDGF)介导的Ras/磷酸化细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)信号转导通路的影响, 探讨其对HF的可能作用机制, 为该药的临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级健康♂SD大鼠48只, 体质量280-320 g, 由河北医科大学实验动物中心提供(证书号: 1104167)。鳖甲煎丸由鳖甲胶、阿胶、桃仁、蜂房、鼠妇虫、土鳖虫、党参、射干、硝石、柴胡、黄芩等药物组成, 由武汉中联药业集团股份有限公司提供, 药物批准文号: 国药准字: Z42020772。DNA Marker、反转录及PT-PCR扩增试剂盒(TaKaRa宝生物公司); PCR引物(上海捷瑞生物工程有限公司鉴定并合成); 免疫组织化学染色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司); 抗ERK1抗体(武汉博士德公司); HPIAS-1000型全自动彩色病理图像分析系统(武汉千屏)等。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模: 清洁级健康♂SD大鼠48

研究前沿
治疗HF的关键就是减少肝星状细胞的活化和促进其凋亡, 对这些细胞因子和传导通路的研究便成为治疗HF的靶点。

相关报道
中医药抗HF具有多途径、多层次、多靶点的综合优势, 具有较大的潜力和广阔前景。众多动物实验及临床研究证实鳖甲煎丸治疗HF可取的良好疗效。

只, 体质量280-320 g, 适应性饲养1 wk后, 按体质量随机分为对照组(Control)、模型组(Model)、中药鳖甲煎丸低剂量组, 简称ZY(L)、中剂量组, 简称ZY(M)、高剂量组, 简称ZY(G)。模型组、中药各组每只大鼠均于实验第1天皮下注射40%四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)^[12-14]花生油5 mL/kg, 以后每3天注射3 mL/kg, 同时, 中药低、中、高剂量组大鼠分别给予鳖甲煎丸0.55、1.10、2.20 g/(kg·d)灌胃, 1次/d。于实验第4周末开始, 随机处死模型组大鼠观察肝脏病理学改变, 实验第6周末造模成功。造模成功后给予中药各组大鼠继续灌胃5 wk, 1次/d。整个实验过程中, 模型组大鼠给予蒸馏水灌胃共1 wk。正常组大鼠皮下注射等量花生油, 并给予蒸馏水灌胃, 1次/d, 共6 wk, 6 wk停止皮下注射花生油继续给予蒸馏水灌胃5 wk。

1.2.2 标本收集: 于实验第11周末, 禁食12 h, 麻醉, 摘取肝脏, 留取肝组织置于4%多聚甲醛固定液, 应用HE染色观察各组大鼠肝脏病理形态学变化; 留取肝组织液氮速冻后置-80℃低温冰箱保存, 免疫组织化学方法检测肝组织ERK1蛋白的表达; RT-PCR法检测肝组织中PDGF、Ras基因表达。

1.2.3 病理形态学观察: 4%多聚甲醛固定肝组织24 h, 不同梯度乙醇逐级脱水, 二甲苯透明, 浸蜡, 石蜡包埋, 常规病理切片, 进行HE染色, 观察大鼠肝脏病理学改变。

1.2.4 免疫组织化学检测ERK1蛋白表达: 石蜡切片, 常规脱蜡, 抗原修复, 滴加一抗、二抗, DAB显色, 用HPIAS-1000型全自动医学图像分析系统进行分析, 每张切片随机选取5个视野, 测定肝组织中ERK1的棕黄色阳性表达颗粒的平均吸光度(A)值。

1.2.5 RT-PCR测定肝组织中PDGF、Ras基因表达: 按照TRIzol试剂说明书提取肝组织总RNA, 检测纯度与含量。以GAPDH为内参, 引物序列及PCR产物片段大小为: Ras上游引物: 5'-TGCCTGGACGACATGCTCTATG-3', 下游引物: 5'-GGCAGGATACTCATTGTCTGGT-3', 扩增片段为386 bp; PDGF上游引物: 5'-GTCCAGGTGAGGTTAGAGG-3', 下游引物: 5'-CACGGAGGAGAACAAAGAC-3', 扩增片段为209 bp; GAPDH上游引物: 5'-CCTTCATTGACCTCAACTAC-3', 下游引物: 5'-GGAAGGCCATGCCAGTGAGC-3', 扩增片段为594 bp。取每个

标本的扩增产物6 μL于1%的含GV核酸染料的琼脂糖凝胶电泳, 应用Quantity One凝胶图象分析软件对目的电泳条带进行分析, 以相应的内参电泳条带作为参照, 结果以两者之积分A的比值表示。

统计学处理 应用SPSS13.0统计分析软件进行统计分析, 所有计量资料正态分布者用mean±SD表示, 采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 实验大鼠的一般情况 正常组大鼠体质量呈进行性增长, 饮食正常、反应敏捷、眼光有神、毛发有光泽、粪便麦粒状、尿量正常。其余各组大鼠一般状况较差, 反应迟钝、皮毛松弛、毛色暗淡、潮湿成缕, 其中模型组个别大鼠出现双目失明, 且脾气急躁易怒、易激惹、形体消瘦、粪便时而不成形。实验过程中, 除正常组外, 其余各组均有死亡情况, 其中模型组死亡3只, 中药高剂量组死亡1只, 低、中剂量组各死亡2只。死亡原因可能与皮下注射 CCl_4 部位不当、药物注射过深, 引起肌肉坏死、皮肤破溃导致全身感染等因素有关。

2.2 病理形态学观察 肉眼观察正常组大鼠肝脏呈淡红色, 光滑、柔软、有光泽, 包膜完整, 切面整齐。余组大鼠肝脏呈深红色, 颜色暗红, 体积较小, 或肝脏颜色发白, 表面略呈细小颗粒状, 毛糙质脆, 切面有沙粒感。

HE染色示: 正常组大鼠肝脏肝小叶结构完整, 肝板呈条索状, 肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列, 肝细胞多为单核, 无炎细胞浸润; 模型组大鼠肝细胞肿胀变大, 胞浆疏松出现颗粒, 肝细胞广泛坏死, 可见大量脂肪变性, 肝脏汇管区扩大及炎细胞浸润, 肝小叶结构破坏, 汇管区纤维结缔组织增生明显, 将肝小叶包绕成大小不等的肝细胞团, 部分形成假小叶。中药各剂量组肝小叶结构较清晰, 肝窦轻度扩张, 结构较正常, 肝细胞中度坏死, 部分脂肪变性, 汇管区纤维结缔组织中度增生, 假小叶形成明显较少, 其中以中药高剂量组效果最明显(图1)。

2.3 各组大鼠肝组织ERK1蛋白表达的比较 正常组大鼠肝组织中ERK1呈棕黄色弱阳性表达, 主要可见于小叶中央静脉周围、汇管区及肝索Disse腔间隙中, 高倍镜下观察可见ERK1位于Disse间隙的肝星状细胞胞质中, 肝细胞未见表

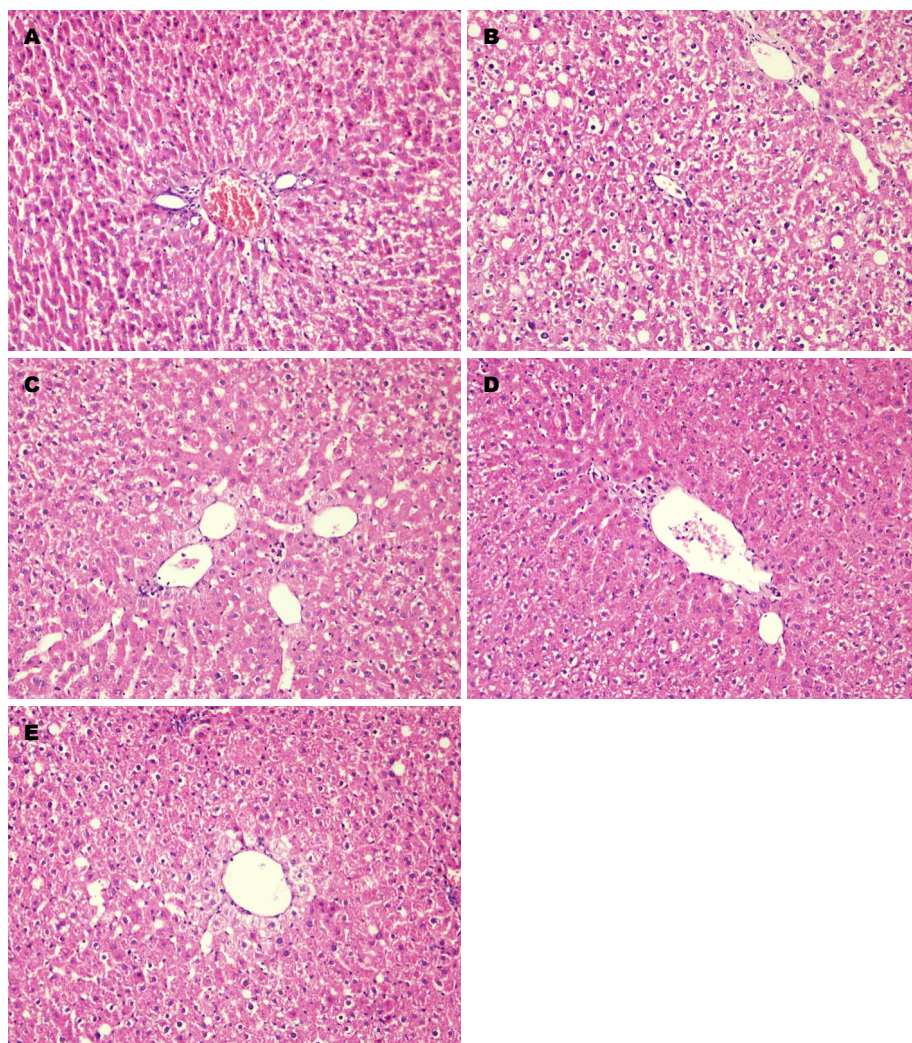


图 1 各组大鼠肝脏HE染色($\times 200$). A: 对照组; B: 模型组; C: 低剂量组; D: 中剂量组; E: 高剂量组.

表 1 各组大鼠肝组织ERK1蛋白含量的比较 (mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	ERK1
对照组	6	0.19 \pm 0.001
模型组	6	0.71 \pm 0.018 ^a
低剂量组	7	0.53 \pm 0.007 ^{ac}
中剂量组	6	0.49 \pm 0.019 ^{ac}
高剂量组	6	0.31 \pm 0.008 ^{acdeg}

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组; ^e $P < 0.05$ vs 低剂量组;

^g $P < 0.05$ vs 中剂量组. ERK1: 细胞外信号调节激酶1.

达; 模型组肝组织中ERK1表达明显增多、增强, 汇管区、小叶中央静脉周围及肝小叶内均可见大量星芒状、条索状ERK1阳性表达, 高倍镜下可见肝星状细胞胞质、胞核为ERK1阳性表达的分布区域; 其余中药各剂量组阳性染色程度较模型组明显减轻, 纤维隔内间质细胞及炎细

创新盘点

本研究选用化瘀通络中成药鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠进行干预, 发现鳖甲煎丸可明显降低肝组织中血小板衍生生长因子(platelet derivative growth factor, PDGF)及Ras蛋白基因的表达水平, 明显减少大鼠肝组织细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK1)的表达, 显著改善大鼠抗肝纤维化能力, 这可能是通过PDGF介导的Ras/ERK1/2信号途径实现的, 此可能为其治疗肝纤维化的作用机制之一.

胞阳性染色程度减轻, ERK1阳性细胞数目减少, 其中中药高剂量组ERK1阳性程度最低, 中药低剂量组ERK1阳性程度较高、中剂量组稍高, 但较模型组较低($P < 0.05$)(表1, 图2).

2.4 各组大鼠肝组织PDGF、Ras基因表达的比较 与正常组相比, 其余各组PDGF mRNA、Ras mRNA表达均升高($P < 0.05$), 其中模型组表达最高, 中药低剂量组次之, 中药中剂量组再次之, 中药高剂量组表达最低($P < 0.05$); 与模型组相比, 余各组肝组织PDGF mRNA、Ras mRNA表达均较低; 中药各剂量组之间比较均有统计学意义($P < 0.05$), 其中, 中药低剂量组表达较高, 中药中剂量组次之, 中药高剂量组肝组织PDGF mRNA、Ras mRNA表达最低(表2, 图3, 4).

3 讨论

我国约有3000万以上慢性肝病患者, 其中

应用要点
本研究采用四氯化碳皮下注射的经典方法复制肝纤维化大鼠模型,应用化瘀通络中成药鳖甲煎丸对其进行干预,探讨化瘀通络中成药鳖甲煎丸对肝纤维化的治疗作用及其可能作用机制,为临床治疗以气阴两虚、瘀血阻络为基本病因病机的肝纤维化提供实验依据。

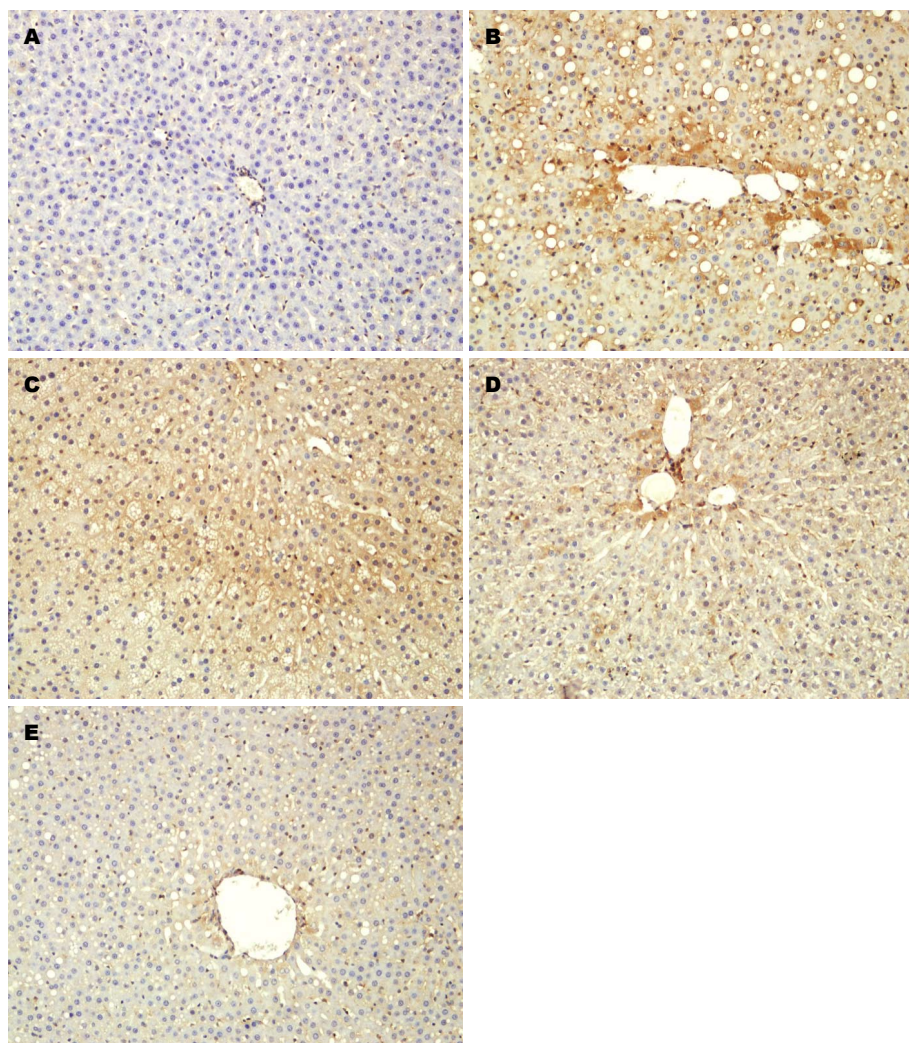


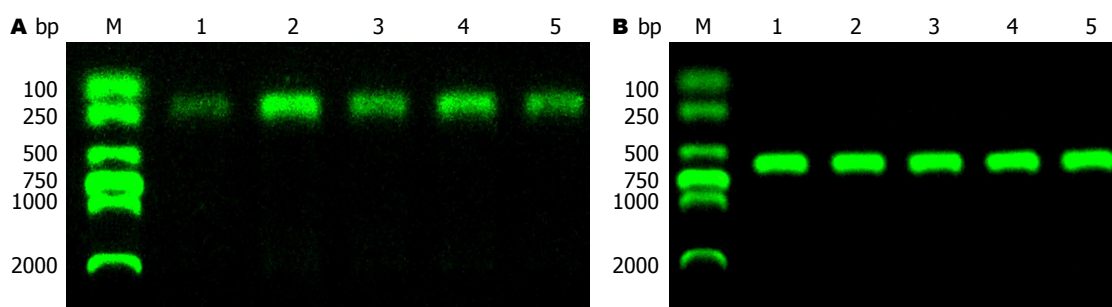
图2 各组大鼠肝组织ERK1蛋白表达($\times 200$)。A: 对照组; B: 模型组; C: 低剂量组; D: 中剂量组; E: 高剂量组。

25%-40%最终发展为肝硬化乃至肝癌, 每年死于晚期肝硬化和肝癌的患者可高达50多万例, 我国已成为全球晚期肝病发病率最高的国家, 这对国民经济的发展和人民健康造成了严重影响。任何病因导致的慢性肝病都存在HF, 如: 肝炎病毒、酒精、药物与毒物、代谢和遗传、自身免疫性肝病等各种损伤因素^[15]长期刺激, HF是各种慢性肝病发展为肝硬化的共同必经途径。肝硬化的治疗效果不甚理想, 代偿期肝硬化10年生存率为68%, 失代偿期肝硬化5年生存率仅为14%, 早期诊断并阻抑甚至逆转HF, 能明显改善慢性肝病的预后, 防止及延缓肝硬化及肝癌的发生, 目前已成为肝病学界关注的重大课题。

中医学并无HF病名, 常将本病归属于“胁痛”“癥积”“鼓胀”等范畴。大多数学者认为, 感受湿热疫毒是形成HF的常见病因, 其基

本病理因素有湿、热、瘀、毒、虚等, 以气阴两虚、瘀血阻络为基本病机。依据其病机特点, 结合多年临床用药经验, 运用活血化痰通络、软坚散结中成药鳖甲煎丸治疗HF, 方中鳖甲胶为君药, 化痰通络、软坚消癥之力强; 硝石、大黄、土鳖虫、蜣螂、鼠妇为攻逐之品, 以助破血消癥之力; 柴胡、黄芩、白芍三药和少阳而条肝气; 厚朴、射干、葶苈子、半夏行郁气而消痰癖; 干姜、桂枝温中, 与黄芩相伍, 辛开苦降而调解寒热; 人参、阿胶补气养血而扶正气; 桃仁、牡丹、凌霄花、蜂房化痰通络而去肝血, 以瞿麦、石韦利水祛湿。综合诸药, 乃攻补兼施、寒温并用之剂, 对于痞母内结, 症瘕积聚, 有攻邪不伤正、气畅血行, 癥积内消之功。

PDGF是重要的促HF因子^[16-18], 他对肝星状细胞的活化、增殖及趋化均有明显作用。PDGF是一种多肽类调节因子。他的合成主要是体内



同行评价
本研究有一定的
临床意义, 设计合
理, 统计学方法应
用得当, 结论可
信, 讨论全面。

图 3 各组大鼠PDGF基因表达的比较. A: 各组大鼠PDGF基因表达; B: 各组大鼠内参基因表达. M: Marker; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 低剂量组; 4: 中剂量组; 5: 高剂量组. PDGF: 血小板衍生生长因子.

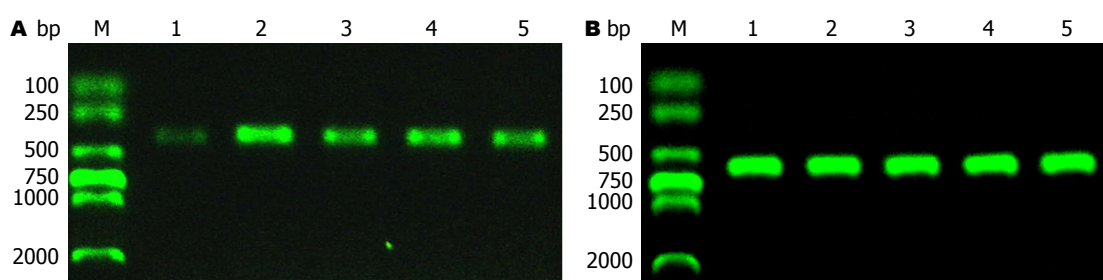


图 4 各组大鼠Ras基因表达的比较. A: 各组大鼠Ras基因表达; B: 各组大鼠内参基因表达. M: Marker; 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 低剂量组; 4: 中剂量组; 5: 高剂量组.

表 2 各组大鼠肝组织PDGF、Ras基因表达的比较 (mean \pm SD)

分组	n	PDGF	Ras
对照组	6	0.12 \pm 0.000	0.12 \pm 0.000
模型组	6	0.42 \pm 0.006 ^a	0.44 \pm 0.017 ^a
低剂量组	7	0.27 \pm 0.014 ^{ac}	0.32 \pm 0.008 ^{ac}
中剂量组	6	0.22 \pm 0.012 ^{ace}	0.25 \pm 0.005 ^{ace}
高剂量组	6	0.18 \pm 0.003 ^{aceg}	0.19 \pm 0.152 ^{aceg}

^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组; ^e $P < 0.05$ vs 低剂量组;
^g $P < 0.05$ vs 中剂量组. PDGF: 血小板衍生生长因子.

单核/巨噬细胞. 生理状态下, 他贮存于血小板 α 颗粒中, 肝脏受损时, 激活的肝星状细胞、血小板浸润的炎细胞等均可分泌PDGF. PDGF-A、PDGF-B可通过二硫键形成二聚体: PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB 3种形式, 其中最强的促肝星状细胞分裂增殖的因子是PDGF-BB^[19]. PDGF受体(PDGFR)是一种跨膜糖蛋白, 属于受体蛋白酪氨酸激酶家族, HF时, PDGF与细胞膜上相应受体结合后引起构象变化, 促使两个受体分子形成二聚体, 使细胞内结构域酪氨酸残基酶磷酸化, 进而对其蛋白质底物进行磷酸化等多种细胞内效应, 从而将信号传入细胞内, 经级联式放大效应调控细胞的生命活

动, 包括靶细胞的分裂增殖^[20]. PDGFR与具有“SH02结构域”形似结构的不同底物结合后使其活化, 启动下游蛋白质级联磷酸化反应信号转到通路.

Ras蛋白是一类分子量为21 kDa的三磷酸鸟苷(GTP)酶蛋白, 与Rho、Rab等亚型均属于Ras蛋白超家族成员^[21]是多信号通路汇合点之一. ERK是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 有ERK1/2亚型^[22], 属于MAPK家族, PDGF可增加ERK活性^[23-29]. 蛋白酪氨酸激酶受体如血管内皮生长因子受体可激活Ras/ERK信号转导通路, 当生长因子与相应受体结合后, 受体磷酸化, 招募Grb2, Grb2与鸟嘌呤核苷酸交换因子通过SH2结构域形成复合物. Ras-GTP募集Raf激酶, Raf激酶被磷酸化后激活, Raf蛋白激活-催化MEK1、MEK2-MEK蛋白激活催化磷酸化ERK蛋白酪氨酸及苏氨酸残基-ERK1/2激活^[30]. 磷酸化Ets-1、C-jun、C-myc及C-fos的转录因子及一些调控细胞周期的蛋白, 阻止细胞凋亡, 刺激细胞生长.

本研究通过对纤维化大鼠肝脏PDGF、Ras、ERK1含量的检测发现, 化瘀通络中药可明显降低肝组织中PDGF mRNA的含量并减少Ras蛋白mRNA的表达, 明显减少大鼠肝组织ERK1的表达, 显著改善大鼠抗HF能力, 可能是

通过PDGF介导的Ras/ERK1/2信号途径实现的,此可能为其治疗HF的作用机制之一。

4 参考文献

- Qian H, Shi J, Fan TT, Lv J, Chen SW, Song CY, Zheng ZW, Xie WF, Chen YX. Sophocarpine attenuates liver fibrosis by inhibiting the TLR4 signaling pathway in rats. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1822-1832 [PMID: 24587659 DOI: 10.3748/wjg.v20.i7.1822]
- Liu T, Wang P, Cong M, Xu Y, Jia J, You H. The CYP2E1 inhibitor DDC up-regulates MMP-1 expression in hepatic stellate cells via an ERK1/2- and Akt-dependent mechanism. *Biosci Rep* 2013; 33: e00041 [PMID: 23577625 DOI: 10.1042/BSR20130033]
- Zou YH, Yang Y, Li J, Wu Q, Li WP, Lu JT, Roberts MS. Potential therapeutic effects of a traditional Chinese formulation, BJ-JN, on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *J Ethnopharmacol* 2008; 120: 452-457 [PMID: 18951966 DOI: 10.1016/j.jep.2008.09.023]
- 倪春艳, 郑仕中, 陆茵, 张雪娇, 马进, 王爱云. 以瘦素为靶点中药单体成分防治肝纤维化研究策略及进展. *中草药* 2011; 42: 1837-1841
- Yuan LP, Chen FH, Ling L, Bo H, Chen ZW, Li F, Zhong MM, Xia LJ. Protective effects of total flavonoids of *Bidens bipinnata* L. against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 1393-1402 [PMID: 18812033 DOI: 10.1211/jpp.60.10.0016]
- 刘兆风, 胡金芳, 马洁, 刘静, 王晶晶, 申秀萍. 丹参滴丸对CCl4诱导的大鼠肝纤维化的影响及其作用机制. *中草药* 2012; 43: 1991-1996
- 孙玉凤, 李媛, 李风华, 张艺凡, 张玉, 任荣. 鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠TGFβ1/smad信号通路的影响. *中草药* 2013; 44: 3364-3367
- 陈嘉, 顾丰华, 刘翔, 董文心. 鳖甲煎丸对猪血清所致大鼠免疫性肝纤维化的治疗作用. *上海中医药大学学报* 2013; 27: 69-73
- 缪京翔. 鳖甲煎丸抗乙肝后肝纤维化作用的机制研究. *河南中医* 2010; 30: 457-459
- 王宇涵, 孙玉凤, 王卜, 张艺凡, 王会青. 鳖甲煎丸及罗格列酮药物血清对大鼠肝星状细胞TβR 和Smad-3mRNA表达的影响. *河北中医药学报* 2013; 28: 3-4
- 陈嘉, 顾丰华, 刘翔, 董文心. 鳖甲煎丸对非酒精性脂肪性肝炎大鼠模型肝纤维化的治疗作用. *世界临床药物* 2013; 34: 162-167
- Quillin RC, Wilson GC, Nojima H, Freeman CM, Wang J, Schuster RM, Blanchard JA, Edwards MJ, Gandhi CR, Gulbins E, Lentsch AB. Inhibition of acidic sphingomyelinase reduces established hepatic fibrosis in mice. *Hepatology* 2014 May 4. [Epub ahead of print] [PMID: 24796378 DOI: 10.1111/hepr.12352]
- Kim KY, Choi I, Kim SS. Progression of hepatic stellate cell activation is associated with the level of oxidative stress rather than cytokines during CCl4-induced fibrogenesis. *Mol Cells* 2000; 10: 289-300 [PMID: 10901167]
- Deng YR, Ma HD, Tsuneyama K, Yang W, Wang YH, Lu FT, Liu CH, Liu P, He XS, Diehl AM, Gershwin ME, Lian ZX. STAT3-mediated attenuation of CCl4-induced mouse liver fibrosis by the protein kinase inhibitor sorafenib. *J Autoimmun* 2013; 46: 25-34 [PMID: 23948302 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.07.008]
- Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-1835 [PMID: 8502273]
- Yoshiji H, Noguchi R, Kuriyama S, Ikenaka Y, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Masaki T, Fukui H. Imatinib mesylate (STI-571) attenuates liver fibrosis development in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G907-G913 [PMID: 15618280 DOI: 10.1152/ajpgi.00420.2004]
- Tsai TH, Shih SC, Ho TC, Ma HI, Liu MY, Chen SL, Tsao YP. Pigment epithelium-derived factor 34-mer peptide prevents liver fibrosis and hepatic stellate cell activation through down-regulation of the PDGF receptor. *PLoS One* 2014; 9: e95443 [PMID: 24763086 DOI: 10.1371/journal.pone.0095443]
- Liu Y, Wen XM, Lui EL, Friedman SL, Cui W, Ho NP, Li L, Ye T, Fan ST, Zhang H. Therapeutic targeting of the PDGF and TGF-beta-signaling pathways in hepatic stellate cells by PTK787/ZK22258. *Lab Invest* 2009; 89: 1152-1160 [PMID: 19668241 DOI: 10.1038/labinvest.2009.77]
- Seki N, Toh U, Kawaguchi K, Ninomiya M, Koketsu M, Watanabe K, Aoki M, Fujii T, Nakamura A, Akagi Y, Kusukawa J, Kage M, Shirouzu K, Yamana H. Tricin inhibits proliferation of human hepatic stellate cells in vitro by blocking tyrosine phosphorylation of PDGF receptor and its signaling pathways. *J Cell Biochem* 2012; 113: 2346-2355 [PMID: 22359269 DOI: 10.1002/jcb.24107]
- Friedman SL. Closing in on the signals of hepatic fibrosis. *Gastroenterology* 1997; 112: 1406-1409 [PMID: 9098030 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70158-6]
- Goldfinger LE. Choose your own path: specificity in Ras GTPase signaling. *Mol Biosyst* 2008; 4: 293-299 [PMID: 18354782 DOI: 10.1039/b716887j]
- Murata S, Maruyama T, Nowatari T, Takahashi K, Ohkohchi N. Signal transduction of platelet-induced liver regeneration and decrease of liver fibrosis. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 5412-5425 [PMID: 24686514 DOI: 10.3390/ijms15045412]
- Pinzani M, Marra F, Caligiuri A, DeFranco R, Gentilini A, Failli P, Gentilini P. Inhibition by pentoxifylline of extracellular signal-regulated kinase activation by platelet-derived growth factor in hepatic stellate cells. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1117-1124 [PMID: 8937713 DOI: 10.1111/j.1476-5381.1996.tb16012.x]
- Gebhard C, Akhmedov A, Mocharla P, Angstenberger J, Sahbai S, Camici GG, Lüscher TF, Tanner FC. PDGF-CC induces tissue factor expression: role of PDGF receptor alpha/beta. *Basic Res Cardiol* 2010; 105: 349-356 [PMID: 19795151 DOI: 10.1007/s00395-009-0060-0]
- Masamune A, Kikuta K, Satoh M, Kume K, Shimosegawa T. Differential roles of signaling pathways for proliferation and migration of rat pancreatic stellate cells. *Tohoku J Exp Med* 2003; 199: 69-84 [PMID: 12705352 DOI: 10.1620/tjem.199.69]
- Novosyadlyy R, Dudas J, Pannem R, Ramadori G, Scharf JG. Crosstalk between PDGF and IGF-I receptors in rat liver myofibroblasts: implication for liver fibrogenesis. *Lab Invest* 2006; 86: 710-723 [PMID: 16619003 DOI: 10.1038/labinvest.3700426]

- 27 Pratsinis H, Kletsas D. PDGF, bFGF and IGF-I stimulate the proliferation of intervertebral disc cells in vitro via the activation of the ERK and Akt signaling pathways. *Eur Spine J* 2007; 16: 1858-1866 [PMID: 17763874 DOI: 10.1007/s00586-007-0408-9]
- 28 Lin J, Chen A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma by curcumin blocks the signaling pathways for PDGF and EGF in hepatic stellate cells. *Lab Invest* 2008; 88: 529-540 [PMID: 18332871 DOI: 10.1038/labinvest.2008.20]
- 29 Sun WY, Song Y, Hu SS, Wang QT, Wu HX, Chen JY, Wei W. Depletion of β -arrestin2 in hepatic stellate cells reduces cell proliferation via ERK pathway. *J Cell Biochem* 2013; 114: 1153-1162 [PMID: 23192415 DOI: 10.1002/jcb.24458]
- 30 Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1213-1226 [PMID: 17112607 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.10.005]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。