

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2021.01.007

• 实验研究 •

下瘀血汤调控 ACE2 介导的 RAS 自稳抑制肝纤维化实验研究^{*}

加秀凤^{1,2} 谢纪文¹ 朱 锐^{1△}¹华中科技大学同济医学院附属协和医院中医科,武汉 430022²湖北中医药大学基础医学院,武汉 430065

摘要 目的 探讨下瘀血汤是否通过恢复或重建肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的自稳平衡抑制肝纤维化进展。**方法** 将 27 只 Wistar 雄性大鼠随机分为 5 组,即正常组、模型组、去除病因组、下瘀血汤组和氯沙坦钾组。除正常组外,各实验组大鼠背部皮下注射 2.5 mL/kg 40% 四氯化碳橄榄油混悬液造模,并以下瘀血汤及氯沙坦钾干预肝纤维化进展,应用 HE 染色、Masson 三色胶原染色和超微病理学方法观察肝脏组织结构的改变,采用免疫组织化学染色法检测各组 AT1R、TGF- β 1 表达,采用 RT-PCR 及 Western-blot 法检测 RAS 相关因子的基因和蛋白表达。**结果** ①HE 染色、Masson 三色胶原染色和超微病理学结果均显示去除病因组、下瘀血汤组、氯沙坦钾组和模型组肝纤维化程度依次加重。②RT-PCR 及 Western-blot 结果显示,与正常组相比,其他组 RAS 相关分子 ACE2、ACE、Ang II、AT1R 及 TGF- β 1 的 mRNA 及蛋白表达均升高;除去除病因组 TGF- β 1 基因表达差异无统计学意义($P>0.05$)之外,其他组间比较均具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,去除病因组、下瘀血汤组、氯沙坦钾组 RAS 相关分子 ACE2、ACE、Ang II、AT1R 及 TGF- β 1 的 mRNA 及蛋白表达均显著降低($P<0.05$)。③与氯沙坦钾组比较,下瘀血汤组 ACE2 的 mRNA 及蛋白表达显著升高($P<0.05$),而 Ang II 及 TGF- β 1 的 mRNA 及蛋白表达显著降低($P<0.05$)。**结论** 下瘀血汤可能通过增加 ACE2 的表达,抑制 ACE、Ang II 和 TGF- β 1 的表达,使 RAS 中促进肝纤维化的经典通路 ACE-Ang II-AT1R 转变为抑制肝纤维化的 ACE2-Ang(1-7)-Mas 受体轴为主导,从而抑制肝纤维化。

关键词 下瘀血汤;血管紧张素转化酶 2;肾素-血管紧张素系统;肝纤维化

中图分类号 R285.5 **文献标志码** A

Experimental Study of Xiayuxue Decoction on Self-regulation of RAS by Targeting ACE2 with Hepatic Fibrosis

JIA Xiufeng^{1,2}, XIE Jiwen¹, ZHU Rui¹

¹Department of Traditional Chinese Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

²Basic Medical College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Abstract Objective To explore whether Xiayuxue decoction attenuates hepatic fibrosis via recovering or rebuilding the self-regulation and balance of the renin-angiotensin system(RAS). **Methods** Twenty-seven SPF male Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, removing disease cause group, Xiayuxue decoction group and the losartan potassium group. Hepatic fibrosis was induced in rats with subcutaneously injection of 40% CCl₄ dissolved in olive oil(2.5 mL/kg). Liver pathology was detected using HE staining, Masson trichromatic

^{*}国家自然科学基金资助项目(No. 81102692);湖北省自然科学基金项目(No. 2019CFB711);武汉市青年科技晨光计划项目(No. 2017050304010279)

[△]通信作者, Corresponding author, E-mail: zhurui19830108@163.com

collagen staining and electron microscope. The expression of Ang II, AT1R, TGF- β 1, ACE and ACE2 in the liver tissue was evaluated with immunohistochemical staining, RT-PCR and Western-blot, respectively. **Results** ① In terms of the results of HE staining, Masson trichromatic collagen staining and ultrastructural pathology, the degree of liver fibrosis was gradually aggravated in the removing disease cause group, Xiayuxue decoction group, losartan potassium group and model group. ② The results of RT-PCR and Western-blot showed that the mRNA and protein expression of RAS related molecular ACE2, ACE, Ang II, AT1R and TGF- β 1 in other groups were significantly higher than those in the normal group ($P < 0.05$), except for no significant difference in gene expression of TGF- β 1 in the removing disease cause group ($P > 0.05$). Compared with the model group, the mRNA and protein expression of ACE2, ACE, Ang II, AT1R and TGF- β 1 are significantly decreased in removing disease cause group, Xiayuxue decoction group and losartan potassium group ($P < 0.05$). ③ Compared with the losartan potassium group, the mRNA and protein expression of ACE2 in Xiayuxue decoction group were significantly increased ($P < 0.05$), while the mRNA and protein expression of Ang II and TGF- β 1 were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Xiayuxue decoction may upgrade the expression of ACE2, inhibit the expression of ACE, Ang II and TGF- β 1, and convert the classical pathway ACE-Ang II-AT1R promoting liver fibrosis to ACE2-Ang(1-7)-Mas receptor axis, thus recovering and rebuilding the self-regulation and balance of RAS and exerting the anti-hepatic fibrosis effects.

Key words Xiayuxue decoction; angiotensin-converting enzyme 2; renin-angiotensin system; hepatic fibrosis

肝纤维化是继发于各种原因所致慢性肝损伤的共有病理改变,此时肝脏内的稳态平衡被破坏,表现为肝星状细胞被激活,转变为肌成纤维细胞,并引起细胞外基质过度沉积^[1-2]。如不进行积极有效的治疗干预,肝纤维化将进一步发展为肝硬化甚至肝癌^[3]。尽管有研究证实肝纤维化的可逆性,目前仍缺乏确切有效的药物阻止或逆转肝纤维化进展。鉴于肝硬化的难治性及肝癌的凶险性,寻找和研发延缓、阻断或逆转肝纤维化的药物成为当前研究的热点。虽然去除病因在肝纤维化治疗中具有重要作用,然而仅仅去除病因并不能阻止纤维化进展,更不能完全代替抗纤维化治疗^[4]。

本课题组前期研究及有关文献资料均显示 RAS 经典的 ACE-Ang II-AT1R 通路活化能促进肝纤维化进程^[5-6]。而有研究发现 RAS 中存在经典通路以外的血管紧张素转换酶 2(ACE2)介导的 ACE2-Ang(1-7)-Mas 受体轴,其主要通过 ACE2 将 Ang II 降解而生成 Ang(1-7),而 Ang(1-7)已知在体内具有与 Ang II 相互拮抗的生物学效应^[7]。故以 ACE2 为干预靶点,增强 ACE2-Ang(1-7)-Mas 通路在 RAS 中的作用,抑制 ACE-Ang II-AT1R 通路的作用,恢复或重建 RAS 的自稳平衡成为肝纤维化防治的新亮点。

“肝主藏血”的生理特性决定了病理状态下易致肝血瘀阻,故“从瘀论治”是中医治疗肝纤维化的关键^[8-9]。下瘀血汤是《金匮要略》中的经典方剂,后世将该方变通运用于肝纤维化的治疗,每获良效^[10-11]。然而,下瘀血汤治疗肝纤维化的作用机制尚不明确。

鉴于 RAS 在肝纤维化发生发展过程中的重要作用,本研究以四氯化碳(CCl_4)诱导肝纤维化的大鼠模型,探讨经方下瘀血汤是否通过恢复或重建 RAS 的自稳平衡抑制肝纤维化,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 27 只,体重 249~274 g,购自湖北省疾病预防控制中心实验动物中心,饲养于华中科技大学实验动物中心屏障系统,环境温度 20~24℃,湿度 40%~70%,12 h 光照循环,自由饮食。

1.2 药物与试剂

下瘀血汤中药颗粒购自华润三九药业有限公司(生产批号:1201001S),按照原方(大黄 10 g,桃仁 10 g,土鳖虫 6 g)比例溶解于大鼠日常饮用水中以灌胃治疗,最终药物浓度为 320 mg/mL。 CCl_4 分析纯购自 Sigma Chemical 公司;抗 Ang II 抗体(sc-20718)购自美国 Santa Cruz 生物技术有限公司;抗 ACE 抗体(ab11734)、抗 TGF- β 1 抗体(ab92486)、抗 ACE2 抗体(ab108252)、抗 AT1R 抗体(ab124505)均购自英国 Abcam 生物技术有限公司;RNA 提取试剂盒(D9108A)、逆转录试剂盒(DRR036A)、PCR 试剂盒(DRR420A)均购自中国大连 TaKaRa 生物技术有限公司;Western-blot 试剂盒、BCA 试剂盒、蛋白裂解液、免疫组化试剂盒购自谷歌生物技术有限公司。

1.3 主要仪器

电子天平及高速低温台式离心机(上海精密科学

仪器有限公司)、RCR 扩增仪(StepOne™ Thermocycler, 美国)、逆转录 PCR 仪(Masterglyce, 德国)、可调式微量加样器(Eppendorf, 德国)、常规透射电子显微镜(FEI Tecnai G2 12 型)等。

1.4 实验方法

1.4.1 造模及动物分组

将 27 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠随机分为 5 组, 即正常组、模型组、去除病因组、下瘀血汤组、氯沙坦钾组, 除正常组 3 只外, 其余每组 6 只。除正常组外, 各实验组大鼠背部皮下注射 2.5 mL/kg 40% CCL₄ 橄榄油混悬液造模, 每周 2 次, 共 8 周。每周称重 1 次, 根据大鼠体重调整 CCL₄ 的用量。造模 4 周后, 停止给去除病因组注射 CCL₄ 混悬液, 而其他实验组于继续造模的同时分别给予相应药物(10 mL · kg⁻¹ · d⁻¹) 灌胃干预, 每周干预 5 天后休息 2 天。

于第 8 周干预结束后, 用 10% 水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠, 打开腹腔, 取肝脏组织分别以 4% 多聚甲醛固定以备 HE 染色、Masson 三色胶原染色及免疫组织化学染色检测; 每组随机选 1 例肝组织标本以 2.5% 戊二醛固定, 以备肝脏超微结构观察; 取新鲜肝组织标本, 放置于 -80℃ 冰箱保存, 以待 RT-PCR 检测 Ang II、AT1R、TGF-β1、ACE 和 ACE2 的基因表达; 各引物序列来源于 Gene Bank, PCR 引物由中国大连 Takara 生物工程有限公司提供, 具体见表 1。Western-blot 检测 Ang II、AT1R、TGF-β1、ACE 和 ACE2 的蛋白表达。

表 1 PCR 引物序列及扩增片段

基因名称	引物序列 (5'→3')	扩增片段 长度(bp)
TGF-β1	F: CATTGCTGTCCCGTGCAGA	103
	R: AGGTAACGCCAGGAATTGTTGCTA	
AT1R	F: AGTCCTGTTCCACCCGATCAC	196
	R: TCAGACACTATTCGAAATCCACTTG	
ACE2	F: AATCGTAGGCTCTGGGCTTGG	198
	R: TTCGATCAACTGGTTTCGGTTGTA	
ACE	F: TGCCTCAGCCTGGGACTTCTA	99
	R: CCCATTTTCGTGGTGGGCTA	
Ang II	F: GCTTGTCTGGGCTGGAGCTA	109
	R: ACCCAGGTCAGGATGCAGAA	

1.4.2 检测方法与主要步骤

HE 染色: 将组织切片经脱蜡、苏木素液染色冲洗、脱水、透明并烘干后, 于普通光学显微镜下观察肝组织的病理变化并拍照。

Masson 三色胶原染色: 将切片脱蜡、Masson 复合染色液染色、浸洗, 然后苯胺蓝染色, 最后经脱水、

透明、封片烘干后于光学显微镜下观察。

超微病理学观察: 组织取材后经锇酸固定、梯度脱水、包埋、聚合, 切片染色后, 在透射电子显微镜下观察, 拍照记录。

免疫组织化学: 组织切片经常规脱蜡、封闭, 室温孵育, 加一抗、二抗孵育, DAB 显色, 苏木紫复染、脱水、透明、封片后, 于光镜下观察拍照。

RT-PCR 检测: 将肝组织经匀浆、离心、沉淀后, 行 RNA 的浓度和纯度测定, 经逆转录、扩增反应后导出数据。

Western-blot 检测: 提取肝组织匀浆蛋白, 测定蛋白质浓度, 经电泳、转膜、封闭及杂交后行蛋白检测及分析。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件对实验结果进行分析处理, 计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HE 染色结果

HE 染色可见: 正常组(图 1A)肝组织内肝小叶结构正常、清晰, 肝细胞索排列正常, 即由中央静脉向四周呈放射状排列。其他组肝细胞排列紊乱, 还可见不同程度脂肪变性及炎性细胞浸润, 且图 1 中 B~E 病变程度依次加重, 纤维组织增生增多, 纤维间隔粗大, 肝细胞变性坏死增多加重, 肝小叶结构逐渐被假小叶替代。下瘀血汤组(图 1C)肝细胞脂肪变性比氯沙坦钾组(图 1D)程度轻, 肝细胞坏死及炎性细胞浸润较少, 胆管扩张不明显且胆管内皮细胞坏死脱落不明显。模型组(图 1E)可见汇管区和中央静脉区肝细胞大面积脂肪变性和片状坏死, 伴有大量炎性细胞浸润, 纤维组织增生, 纤维间隔粗大, 正常肝小叶结构被破坏, 大胆管扩张变形, 小胆管增生, 中央静脉区可见少量胆汁淤积。见图 1。

2.2 Masson 三色胶原染色结果

Masson 染色可见: 正常组(图 2A)肝组织内无胶原纤维增生, 其他组均可见不同程度胶原纤维形成, 且图 2 中 B~E 逐渐加重。去除病因组(图 2B)仅在汇管区有极少量胶原纤维形成, 肝小叶间未见纤维组织增生, 但并未见假小叶形成, 下瘀血汤组(图 2C)可见中央静脉和汇管区纤维组织增生, 小叶间静脉、动脉及胆管受压程度比氯沙坦钾组(图 2D)轻, 模型组(图 2E)可见肝细胞弥漫性变性、坏死, 汇管区可见大

量胶原纤维增生,增生的胶原纤维形成纤维分隔,重新分割、包绕肝组织而形成假小叶。见图 2。

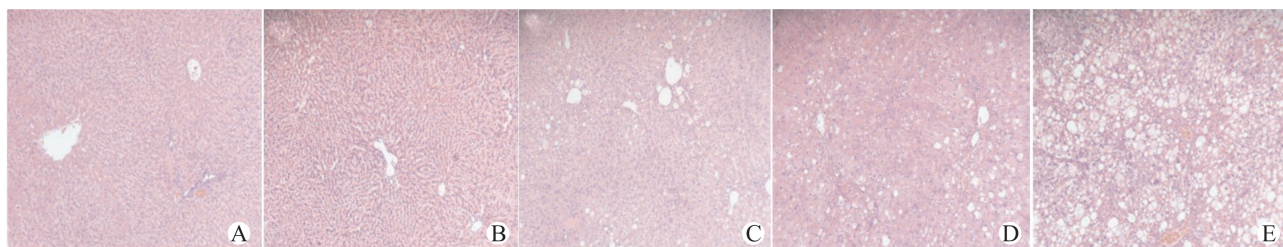
2.3 电镜超微病理学结果

电镜结果显示:正常组(图 3A)肝细胞有丰富的微绒毛,肝细胞核圆形,居中,核膜清晰,线粒体丰富,粗面内质网丰富,排列紧密,糖原颗粒丰富,仅偶见少量脂滴,无胶原纤维沉积,肝血窦整齐,内皮细胞完整。其他组均可见肝细胞微绒毛减少及不同程度脂肪变性,脂滴大小不同,可相互融合,将细胞核挤压至细胞一侧,肝细胞核固缩;粗面内质网扩张、空泡化;核糖体脱落;线粒体肿胀模糊;Disse 间隙增宽,间隙内可见不同程度胶原纤维沉积。去除病因组(图 3B)可见轻度脂肪变性,胶原纤维沉积。下瘀血汤组(图 3C)肝细胞脂肪变性较轻,细胞结构大致正常,内质网轻度扩张,仅少量胶原纤维沉积。氯沙坦钾组(图 3D)可见肝细胞呈弥漫性脂肪变性,纤维化程度比下瘀血

汤组重,局部呈弥漫性纤维沉积,内质网扩张明显,线粒体模糊。模型组肝细胞正常结构被破坏,粗面内质网扩张呈空泡化,核糖体脱落,线粒体肿胀模糊,Disse 间隙增宽,间隙内可见广泛胶原纤维沉积,并形成纤维束,甚至可见肝细胞与肝细胞之间大量胶原纤维沉积(图 3E);模型组肝细胞严重脂肪变性,甚至可见脂滴相互融合(图 3F)。见图 3。

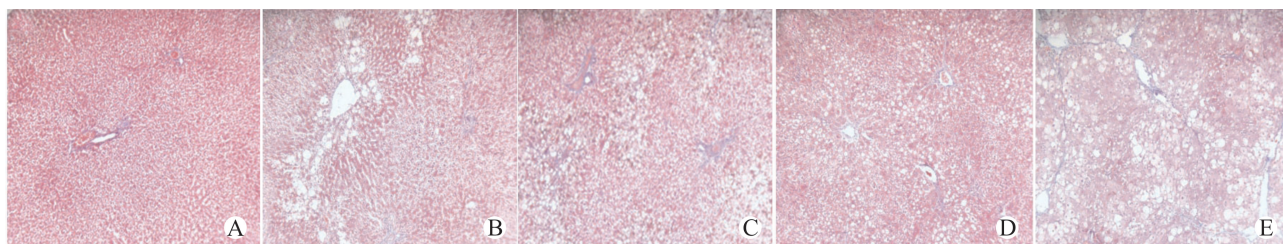
2.4 免疫组织化学染色结果

光镜下正常肝组织中 AT1R、TGF- β 1 蛋白阳性染色很弱;而去除病因组、下瘀血汤组及氯沙坦钾组 AT1R、TGF- β 1 表达逐渐增多,多见于中央静脉及门静脉周围的细胞;模型组 AT1R、TGF- β 1 表达最多,分布范围广,其中汇管区周围细胞、肝窦内皮细胞、纤维间隙、中央静脉细胞及部分肝细胞内均可见 TGF- β 1 阳性表达,着色深染。见图 4 及图 5。



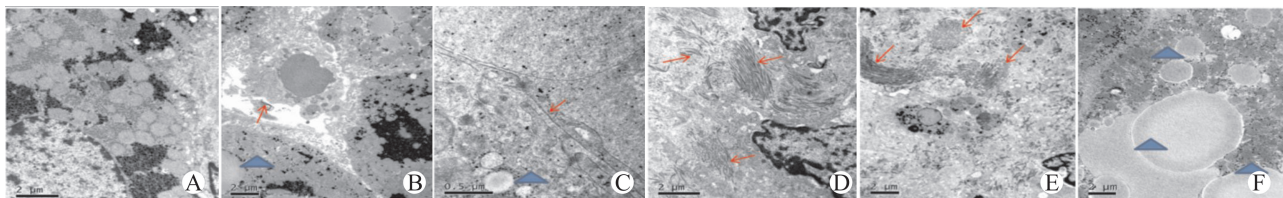
A: 正常组;B: 去除病因组;C: 下瘀血汤组;D: 氯沙坦钾组;E: 模型组。

图 1 HE 染色结果($\times 200$)



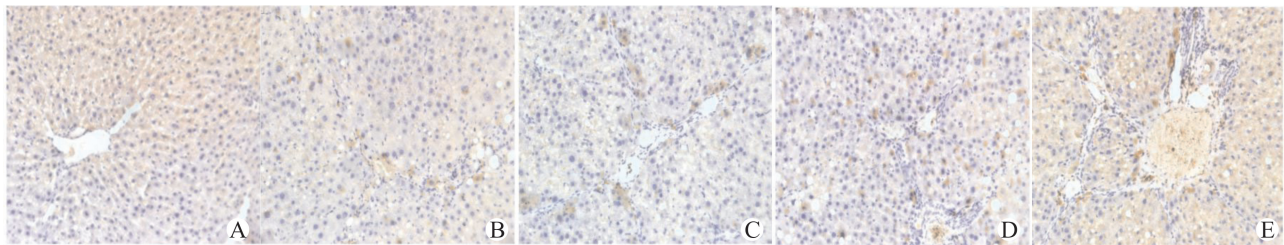
A: 正常组;B: 去除病因组;C: 下瘀血汤组;D: 氯沙坦钾组;E: 模型组。

图 2 Masson 染色结果($\times 200$)



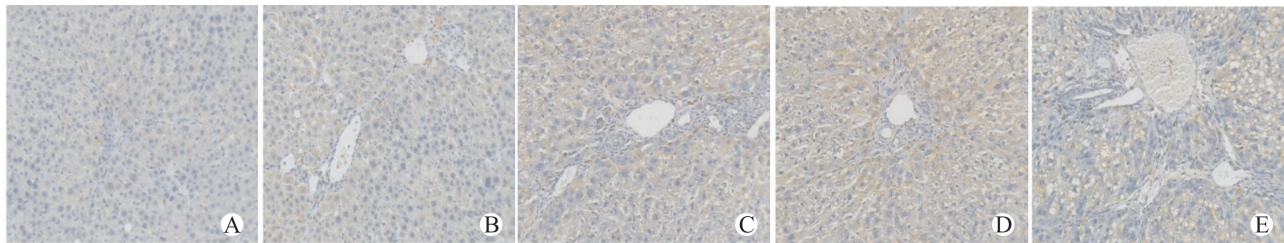
A: 正常组;B: 去除病因组;C: 下瘀血汤组;D: 氯沙坦钾组;E: 模型组。—: 胶原纤维;▲: 脂肪变性;左下角 μm 为图片标尺。

图 3 电镜结果



A: 正常组;B: 去除病因组;C: 下瘀血汤组;D: 氯沙坦钾组;E: 模型组。

图 4 AT1R 在各组中的表达情况(DAB 染色×200)



A: 正常组;B: 去除病因组;C: 下瘀血汤组;D: 氯沙坦钾组;E: 模型组。

图 5 TGF-β1 在各组中的表达情况(DAB 染色×200)

2.5 RT-PCR 检测结果

与正常组相比,其他组 RAS 各分子(ACE2、ACE、Ang II、AT1R)及 TGF-β1 的 mRNA 表达显著增高,除去除病因组 TGF-β1 mRNA 表达差异无统计学意义($P>0.05$)之外,其他各组间比较均具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,去除病因组、下瘀血汤组、氯沙坦钾组 RAS 各分子及 TGF-β1 的 mRNA 表达显著降低($P<0.05$)。与去除病因组相比,下瘀血汤组、氯沙坦钾组 RAS 分子(ACE、Ang II、AT1R)及 TGF-β1 的 mRNA 表达显著增高($P<0.05$)。与去除病因组相比,下瘀血汤组 ACE2 mRNA 表达显著升高($P<0.05$),氯沙坦钾组 ACE2 mRNA 表达差异无统计学意义($P>0.05$)。与氯沙坦钾组相比,下瘀血汤组 ACE2 mRNA 表达显著升高($P<0.05$),Ang II 及 TGF-β1 的 mRNA 表达显著降低

($P<0.05$),而 ACE、AT1R 的 mRNA 表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.6 Western-blot 检测结果

与正常组相比,其他组 RAS 各分子(ACE2、ACE、Ang II、AT1R)及 TGF-β1 蛋白表达显著升高($P<0.05$)。与模型组相比,去除病因组、下瘀血汤组、氯沙坦钾组 RAS 各分子及 TGF-β1 蛋白表达显著降低($P<0.05$)。与去除病因组相比,下瘀血汤组、氯沙坦钾组 RAS 分子(ACE2、ACE、Ang II)及 TGF-β1 蛋白表达显著增高($P<0.05$)。与去除病因组相比,下瘀血汤组 AT1R 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$),氯沙坦钾组 AT1R 蛋白表达显著降低($P<0.05$)。与氯沙坦钾组相比,下瘀血汤组 ACE2、AT1R 蛋白表达显著升高($P<0.05$),而 ACE、Ang II 和 TGF-β1 的蛋白表达显著降低($P<0.05$)。见表 3。

表 2 各组 RAS 各分子及 TGF-β1 的 mRNA 表达结果

组别	ACE2 mRNA	ACE mRNA	Ang II mRNA	AT1R mRNA	TGF-β1 mRNA
正常组	0.4150±0.2077	0.7783±0.4442	1.2583±0.5300	1.8867±0.3283	1.9650±0.4133
模型组	7.5283±1.4724*	7.3367±0.2034*	7.3717±0.1566*	8.3800±0.6321*	8.1117±1.7062*
去除病因组	2.5717±1.2105*△	2.7367±1.0448*△	3.4417±1.2105*△	3.6450±0.6670*△	2.9550±0.3528△
下瘀血汤组	5.3517±0.5567*△▲□	5.5267±0.8370*△▲	4.6467±0.3326*△▲□	6.6633±1.0173*△▲	4.4150±1.2948*△▲□
氯沙坦钾组	3.1000±0.4969*△	6.1933±0.4771*△▲	6.0867±0.4130*△▲	6.4683±0.8726*△▲	4.7350±0.5910*△▲

与正常组比较* $P<0.05$;与模型组比较△ $P<0.05$;与去除病因组比较▲ $P<0.05$;与氯沙坦钾组比较□ $P<0.05$

表 3 各组 RAS 各分子及 TGF-β1 的蛋白表达结果

组别	ACE2	ACE	Ang II	AT1R	TGF-β1
正常组	0.3405±0.0831	0.3235±0.0353	0.1298±0.0115	0.4144±0.0505	0.2691±0.0256
模型组	0.8665±0.0578*	1.1106±0.1079*	0.5528±0.0640*	0.7932±0.0384*	1.0592±0.2131*
去除病因组	0.5349±0.0310*△	0.4558±0.0225*△	0.1683±0.0121*△	0.6380±0.0230*△	0.3882±0.0732*△
下瘀血汤组	0.7305±0.0160*△▲□	0.5582±0.0288*△▲□	0.2250±0.0167*△▲□	0.6402±0.0263*△□	0.4479±0.0360*△▲□
氯沙坦钾组	0.6411±0.0207*△▲	0.6841±0.0833*△▲	0.2885±0.0076*△▲	0.5351±0.0336*△▲	0.6008±0.0696*△▲

与正常组比较* $P<0.05$;与模型组比较 $\Delta P<0.05$;与去除病因组比较 $\blacktriangle P<0.05$;与氯沙坦钾组比较 $\square P<0.05$

3 讨论

RAS 失衡与肝纤维化的发生发展密切相关,有关临床及实验研究均证实肝纤维化过程中肝内 RAS 分子有不同程度的上调^[12-13]。为揭示经方下瘀血汤潜在的抗肝纤维化机制与 RAS 自稳的相关性,本研究通过观察下瘀血汤对 RAS 促进肝纤维化的经典通路 ACE-Ang II-AT1R 和抑制肝纤维化的 ACE2-Ang(1-7)-Mas 通路中相关因子以及促肝纤维化分子 TGF-β1 表达的影响,以探索下瘀血汤是否通过恢复或重建 RAS 的自稳平衡延缓肝纤维化进展。本研究结果发现,下瘀血汤可以缓解 CCL₄ 诱导的大鼠肝纤维化进程,且 HE 染色、Masson 染色及超微病理学结果均显示下瘀血汤组肝纤维化程度比氯沙坦钾组轻,其缓解肝纤维化的效果优于氯沙坦钾。

本研究结果还显示,CCL₄ 诱导的肝纤维化大鼠 ACE2、ACE、Ang II、AT1R 和促肝纤维化分子 TGF-β1 的基因及蛋白表达均高于正常大鼠,而去除病因组、下瘀血汤组与氯沙坦钾组 ACE2、ACE、Ang II、AT1R 和 TGF-β1 基因及蛋白的表达高于正常组而低于模型组,说明下瘀血汤与氯沙坦钾可以通过调控 RAS 及 TGF-β1 的表达抑制肝纤维化进展。电镜结果显示下瘀血汤组肝纤维化程度比氯沙坦钾组轻;且与氯沙坦钾组相比,下瘀血汤组 ACE2 的基因及蛋白表达显著升高,ACE、Ang II 的蛋白表达显著降低,Ang II 的基因表达也显著降低。据此初步推测下瘀血汤通过增强抑制肝纤维化进展的 ACE2-Ang(1-7)-Mas 通路,抑制促进肝纤维化进展的 ACE-Ang II-AT1R 通路,调控 RAS 自稳平衡来抑制肝纤维化。

有研究报道,血管紧张素 II 受体阻滞剂(替米沙坦)能上调胆总管结扎术诱导的肝纤维化大鼠 ACE2 的表达且高于模型组^[13],另有研究显示 ACEI 类 RAS 阻滞剂能上调 CCL₄ 诱导的肝纤维化大鼠 ACE2 的表达且高于模型组^[14]。然而本研究结果发现,氯沙坦钾组 ACE2 基因及蛋白表达均低于模型组,这可能与模

型制备方法或实验周期的不同导致肝纤维化程度不同有关。

此外,本研究增加去除病因组以探索去除病因能否阻断或逆转肝纤维化进展,结果发现去除病因后大鼠肝纤维化进展减慢,但并未发现逆转,说明去除病因对肝纤维化治疗非常重要,然而仅仅去除病因并不能阻断肝纤维化进一步发展,仍需进行有效的干预治疗方能逆转肝纤维化。

综上所述,经方下瘀血汤可能通过调控 ACE2 介导的 RAS 自稳平衡抑制肝纤维化进展,其有关深层机制还待进一步研究与挖掘。

参 考 文 献

[1] Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2011, 25(2): 195-206.

[2] Roskams T. Relationships among stellate cell activation, progenitor cells, and hepatic regeneration[J]. Clin Liver Dis, 2008, 12(4): 853-860, ix.

[3] Maillard E. Epidemiology, natural history and pathogenesis of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Radiother, 2011, 15(1): 3-6.

[4] Popov Y, Schuppan D. Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies[J]. Hepatology, 2009, 50(4): 1294-1306.

[5] Pereira RM, dos Santos RA, da Costa Dias FL, et al. Renin-angiotensin system in the pathogenesis of liver fibrosis[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(21): 2579-2586.

[6] Zhu R, Yang L, Shen L, et al. ANG II-AT₁ receptor pathway is involved in the anti-fibrotic effect of β-elemene[J]. J Huazhong Univ Sci Technol(Med Sci), 2009, 29(2): 177-181.

[7] Ferrario CM. ACE2: more of Ang-(1-7) or less Ang II? [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2011, 20(1): 1-6.

[8] 彭勃. 从痰论治肝纤维化体会[J]. 江苏中医药, 2007, 39(5): 4.

2020,18(10):74-75.

- [8] 项东. 腹腔镜结直肠癌根治术治疗结直肠癌的临床疗效观察[J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26(15): 100-101.
- [9] 韩惠萍, 张丽娇, 董洁晨, 等. 复方谷氨酰胺肠溶胶囊联合葛根芩连汤防治晚期结直肠癌 FOLFIRI 方案化疗相关性腹泻疗效及对肠黏膜通透性和免疫细胞因子的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(33): 3667-3670, 3739.
- [10] 雷霄, 王红兵. 扶脾益肠汤联合扶正和祛邪胶囊对结肠癌术后疗效及对机体免疫功能的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(21): 2378-2380.
- [11] 王峰, 徐静. 扶脾益肠汤配合 FOLFOX4 方案治疗结肠癌的效果及对患者细胞免疫功能的影响[J]. 海南医学, 2019, 30(6): 706-709.
- [12] 薛海燕, 焦婵媛, 姚军. 肉苁蓉总苷药理作用的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(4): 486-488.
- [13] 李玥. 浅谈复方丹参方的组成及药理药效研究[J]. 药品评价, 2020, 17(4): 25-26.
- [14] 邓颂, 王爱萍, 陈曦, 等. 黄芪白术汤下调 miR-31-5 p/STAT3 环路抑制结肠炎相关性结肠癌进程[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(9): 1308-1313.

(收稿日期: 2020-11-02)

(上接第 29 页)

- [9] 朱锐, 刘建国, 张喆, 等. 肝纤维化诊治研究进展[J]. 湖北中医学院学报, 2007, 9(4): 61-63.
- [10] 朱锐, 沈霖, 张喆. 经方下瘀血汤的临床应用[J]. 中西医结合研究, 2011, 3(4): 211-213.
- [11] 慕永平, 刘平, 刘莺, 等. 下瘀血汤对进展期大鼠肝纤维化的抑制作用及其方证探讨[J]. 中医杂志, 2006, 43(3): 215-218.
- [12] Paizis G, Cooper ME, Schembri JM, et al. Up-regulation of components of the renin-angiotensin system in the bile duct-ligated rat liver[J]. Gastroenterology, 2002, 123(5): 1667-1676.
- [13] Yi ET, Liu RX, Wen Y, et al. Telmisartan attenuates hepatic fibrosis in bile duct-ligated rats[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(12): 1518-1524.
- [14] El-Demerdash E, Salam OM, El-Batran SA, et al. Inhibition of the renin-angiotensin system attenuates the development of liver fibrosis and oxidative stress in rats[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008, 35(2): 159-167.

(收稿日期: 2020-10-24)