

柔肝化纤颗粒含药血清对肝星状细胞中 Wnt3 α / β -catenin

信号通路及下游蛋白表达的影响

吴姗姗¹ 张文富² 吕艳杭³ 罗艺徽¹ 王振常^{1*}

1. 广西中医药大学附属国际壮医医院 广西南宁 530201

2. 广西中医药大学第一附属医院 广西南宁 530022

3. 福建省龙岩市中医院 福建龙岩 364030

摘要: 目的: 通过研究柔肝化纤颗粒含药血清对肝星状细胞(HSC-T6) Wnt/ β -catenin 信号通路及下游靶基因表达的影响, 探讨柔肝化纤颗粒抗肝纤维化的作用机制。方法: 用柔肝化纤颗粒含药血清培养 HSC-T6 细胞, 24 小时后采用 RT-PCR、Western Blot 法检测 HSC-T6 细胞 Wnt/ β -catenin 信号分子 Wnt3 α 、 β -catenin、GSK-3 β 、Coll a1、 α -SMA mRNA 和蛋白表达, ELLSA 检测下游靶基因 TIMP-1、MMP-2、MMP-9 的表达水平。结果: 与模型组相比, 柔肝化纤颗粒低、中、高组 Wnt3 α 、 β -catenin、Coll a1、 α -SMA mRNA 及蛋白表达水平显降低 ($P<0.05$), GSK-3 β mRNA 及蛋白表达量增加 ($P<0.05$), 且柔肝化纤颗粒高剂量组表达明显 ($P<0.05$)。同时, 柔肝化纤颗粒可抑制 TIMP-1 ($P<0.05$), 可促进 MMP-2、MMP-9 的表达 ($P<0.05$), 高剂量柔肝化纤颗粒组表达显著 ($P<0.05$)。结论: 柔肝化纤颗粒抗肝纤维化的作用可能与调控 HSC-T6 细胞中 Wnt3 α / β -catenin 信号通路及下游蛋白表达有关。

关键词: 肝星状细胞; 柔肝化纤颗粒; Wnt3 α / β -catenin; 肝纤维化

肝纤维化是由病毒感染、血吸虫病和酒精性中毒等因素所致慢性肝损伤而引起肝细胞发生坏死或炎症, 细胞外基质 (ECM) 过度生成并沉积, 肝内纤维结缔组织增生过多而降解减少, 造成肝损伤^[1]。作为肝硬化早期演变的重要标志, 肝纤维化亦是多个不同类型慢性肝病的共同病理产生的前提, 但本质上是可逆自我修复过程^[2]。若肝损伤持续, 可引起肝小叶网状纤维结构塌陷, 随后纤维增生、改建, 不能恢复为正常肝小叶结构, 肝细胞再生形成“假小叶”及结节, 进而发展为肝硬化和随后的门脉高压、肝性脑病和肝衰竭, 并导致肝癌风险增加, 最终导致器官衰竭和死亡。因此有效控制甚至逆转肝纤维化具有重要意义。

肝星状细胞 (Hepatic stellate cell, HSCs) 活化是肝纤维化的中心环节, Wnt3 α / β -catenin 信号通路在肝纤维化逆转中通过调节 HSCs 的增殖、多种生长因子表达发挥作用^[3]。阻断 Wnt3 α / β -catenin 信号通路可抑制 HSCs 增殖、活化^[4]。研究证实^[5,6], 中医药可从多方位、多靶点、多部位等方面发挥抗肝纤维化的作用。本室长期采用柔肝化纤颗粒

治疗肝纤维化取得较好的临床疗效。研究发现 [7-10], 柔肝化纤颗粒可通过调控 FS、TGF- β 1、PKC α 信号通路抑制 HSC 的增殖、活化以发挥抗肝纤维化作用。本研究采用构建肝纤维化体外模型 HSC-T6 细胞旨在探讨柔肝化纤颗粒对 Wnt3 α / β -catenin 信号通路的调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与细胞

研究所选的研究材料为购买于广西医科大学实验动物研究所 (动物实验合格证为 SCXK 桂 2018-0001) 的 10 只清洁级成龄 SPF 级 Wistar 大鼠, 每只大鼠的体重均在 150g 至 180g 的区间。饲养环境保持清洁, 自由饮水, 常规饲料喂养。HSC-T6 细胞株: 购买于上海谷研实业有限公司。

1.1.2 药物

柔肝化纤颗粒的药方组成有橘红 12g, 黑枣 15g, 鸡内金 15g, 黄精 20g, 枸杞子 20g, 虎杖 20g, 生牡蛎 30g, 鳖甲 30g, 泽兰 30g, 生黄芪 45g, 薏苡仁 45g。取自广西中医

药大学附属国际壮医医院药剂科，供应商为江苏江阴天有限公司，药物的换算按照说明书的标准，1g颗粒剂=6g原药材。秋水仙碱的供应商为北京盛世康普化工技术研究所（生产批号：170821）。

1.1.3 含药血清制备

共计10只雄性SPF级Wistar大鼠，每只大鼠体重均在 (150 ± 30) g，将其随机分成空白组（5只）、给药组（5只）。对给药组的大鼠以灌胃的方式给予0.2mL/kg、0.4mL/kg、0.8mL/kg柔肝化纤颗粒。对空白组、模型组的大鼠以灌胃的方式给予相同体积的0.5%生理盐水，给药频次为1日2次，持续3天时间，第3天完成给药之后的0.5h、1h、1.5h（给药前禁食不禁水12h），以及当日完成最后1次给药之后过1h，以 $3\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 10%水合氯醛对大鼠进行麻醉，实施腹主动脉采血，将所得血液样本放置在室温条件下2h，再以3000r/min的速率对其进行持续10min的离心处理，后严格无菌操作将血清分离出来，以等比例的方法混合上述3个时间点的血清，以0.22 μm 微孔滤膜实施过滤除菌操作，在56 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行30min的灭活处理，后对样本进行分装，放置在-80 $^{\circ}\text{C}$ 的温度条件下妥善保存备用。需要使用时，根据所需浓度要求，应用DMEM不完全液对其进行稀释。

1.1.4 大鼠肝星状细胞系HSC-T6的培养

复苏后的HSC-T6细胞被接种于添加了10%胎牛血清的RPMI-1640培养基中，以吹打的方式将其混匀，确保细胞分布均匀，随后转移至25cm²的培养瓶内。细胞培养条件与环境为37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂细胞培养箱，设置 $2 \times 10^5/\text{mL}$ 的初始接种密度。待细胞覆盖面积与培养箱之比>90%，可以1:3的比例进行传代，再进入下一实验环节。

1.1.5 柔肝化纤颗粒大鼠含药血清浓度的筛选

设置空白血清组：DMEM培养基+空白血清；含药血清组：DMEM培养基+含药血清，每组分别设置并使用不同浓度的血清，浓度分为8个梯度，分别为0%、2%、4%、6%、8%、10%、15%、20%。以2)所述方法作为操作流程指引，将细胞接种在96孔板上，各质量浓度梯度所设复孔数量>3个，待细胞完全贴壁，将细胞培养液小心、细致地去除，以PBS进行2次洗涤。含药血清组分别添加相应差异浓度的100 μL 含药血清培养液，空白血清组分别添加100 μL 的含空白血清培养液。随后，所有样本被重新置入细胞培养箱中，经历24h、48h、72h的连续孵育周期。

1.1.6 分组及干预

①空白组：不做任何处理；②TGF- β 1组：加入10ng/ml重组人TGF- β 1处理细胞24h；③TGF- β 1+秋水仙碱含药血清对照组：加入10ng/ml重组人TGF- β 1及含药血清对照；④TGF- β 1+柔肝化纤颗粒含药血清组：加入10ng/ml重组人TGF- β 1及柔肝化纤颗粒低剂量含药血清；⑤TGF- β 1+柔肝化纤颗粒中剂量含药血清对照组：加入10ng/ml重组人TGF- β 1及柔肝化纤颗粒中剂量含药血清对照；⑥TGF- β 1+柔肝化纤颗粒高剂量含药血清对照组：加入10ng/ml重组人TGF- β 1及柔肝化纤颗粒高剂量含药血清对照。

1.1.7 实时荧光定量RT-PCR

样本RNA的提取应用TRIzol法进行。利用紫外分光光度计对提取的RNA进行纯度与浓度的精确测量；使用逆转录试剂盒将RNA转化为cDNA，为后续的PCR反应准备模板。设计并合成目的基因引物、将SYBR green I染料加入其中，以实时荧光定量PCR技术实现目的基因的高效扩增。具体PCR反应条件设定为：首先，95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30s，以充分打开DNA双链；随后进行40个循环的扩增，每个循环包括95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5s，60 $^{\circ}\text{C}$ 退火及延伸30s，确保了PCR反应的高效与特异性。完成扩增后，进行溶解曲线分析，以验证扩增产物的特异性。最后，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法进行数据的统计分析，以准确量化目的基因的表达水平。所检测的基因序列详情见表1。

1.1.8 Western blot

将各组细胞妥善收集、冰浴裂解，以BCA试剂盒测定其中的蛋白浓度水平，以15 μg 作为上样量的基准，配平所得样品，将样品放置在100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下持续10min的金属浴，实现蛋白变性。依照实验设计流程与具体要求，首先将各组预处理的蛋白样品精准加入到SDS-PAGE凝胶中，通过电泳实现蛋白质的有效分离。随后，将分离得到的蛋白条带转移至固相膜上，利用5%的脱脂牛奶在室温下进行非特异性位点的封闭；置目的蛋白-抗于4 $^{\circ}\text{C}$ 的低温环境下进行长时间的过夜孵育；次日，在TBST缓冲液下充分洗涤，去除未结合的抗体分子，随后在室温条件下，将HRP标记的二抗添加至膜上，进行1h的温和孵育，以增强信号的检测强度；以ECL化学发光法显影，以凝胶成像系统捕捉蛋白条带的图像，利用图像分析软件处理各条带的灰度值、计算目的蛋白与内参蛋白的相对表达量。

表 1 实时荧光定量 RT-PCR 检测的基因序列

引物设计	序列 (5' -3')	退火温度	产物长度	基因序列
Wnt3 α-F	GACCTTGAGGCCACGTTACA	59.97	90	NM_001414349.1
Wnt3 α-R	TTGGGCTCGCAGAAGTTAGG	60.04		
β-catenin-F	AGCTGACTGATGGAGCTTCG	59.82	179	NM_001190466.1
β-catenin-R	GCCGCCTTTACATTCCAACC	59.83		
GSK-3 β-F	CAGGACATTTCACCCCAGGA	59.30	188	NM_001347232.1
GSK-3 β-R	AGGTGTGTCTCGCCCATTTG	60.81		
Coll a1-F	AGTGGTTTGGATGCTGCCAA	60.11	170	NM000088.3
Coll a1-R	GCACCATCATTTCCACGAGC	59.90		
α-SMA-F	CTCTTAAGAAGGACGGGGC	59.82	141	NM000344.3
α-SMA-R	CAGAATCATGCTCTGGCCT	59.89		
β-actin-F	TATCTGGCCTCACTGTCCA	59.96	130	NM031144.3
β-actin-R	AAGGGTGTA AACGCAGCTCA	60.48		

1.1.9 ELLSA 检测 HSC-T6 培养液上清液 TIMP-1、MMP-2、MMP-9 的表达水平

复苏后的 HSC-T6 细胞被接种于添加了 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 以吹打的方式将其混匀, 确保细胞分布均匀, 随后转移至 25cm² 的培养瓶内。细胞在设定为 37℃、5%CO₂ 条件的细胞培养箱中进行培养, 初始接种密度设定为 2 × 10⁵/mL。将其在 6 孔板中进行接种, 3 孔重复, 以试剂盒对其中的 TIMP-1、MMP-2、MMP-9 进行检测 (每组细胞均放置在匀浆器中进行匀浆操作, 后在 11000r · min⁻¹ 的条件下进行 1h 的离心, 取上层清液, 以试剂盒说明书所述步骤作为操作基准, 测定样本所含 TIMP-1、MMP-2、MMP-9 的量)。

1.2 统计学分析

本研究中, 所有获取的数据均采用 SPSS 26.0 专业统计分析软件进行深入处理与解析。在数据表达方面, 以均数 ± 标准差 (Mean ± SD) 的形式, 以直观展现数据的集中趋

势与离散程度。对于两组数据间的差异性检验, 运用 t 检验, 以比较组间差异。当涉及多组数据的对比分析时, 以单因素方差分析 (Anova) 与 LSD 进行检验, 当所得 P < 0.05 时, 则认为指标的组间差异明显。

2 结果

2.1 柔肝化纤颗粒对活化 HSC-T6 细胞 Wnt3 α、β-catenin、GSK-3 β、Coll a1、α-SMA mRNA 的影响

相较于空白组, 模型组中 Wnt3 α、β-catenin、Coll a1、α-SMA 的 mRNA 表达量明显增多 (P<0.05), GSK-3 β 的 mRNA 表达量明显走低 (P<0.05)。处于秋水仙碱、柔肝化纤颗粒含药血清添加的情况下, 治疗组的 Wnt3 α、β-catenin、Coll a1、α-SMA 的 mRNA 相对表达量明显少于模型组 (P<0.05), 同时 GSK-3 β 的 mRNA 相对表达量则显著上升 (P<0.05)。值得注意的是, 上述基因的表达量随剂量的增多而呈现越来越明显的变化 (P<0.05)。具体如下表 2 所示。

表 2 各组对 Wnt3 α、β-catenin、GSK-3 β、Coll a1、α-SMA mRNA 在 HSC 细胞中表达水平 (±S)

组别	Wnt3 α	β-catenin	GSK-3 β	Coll a1	α-SMA
空白组	1.01 ± 0.02	1.02 ± 0.05	1.03 ± 0.04	1.04 ± 0.05	1.06 ± 0.09
模型组	1.82 ± 0.13*	1.60 ± 0.10*	0.38 ± 0.08*	1.80 ± 0.07*	1.94 ± 0.15*
秋水仙碱组	1.46 ± 0.11*#	1.18 ± 0.15#	0.52 ± 0.15*#	1.34 ± 0.17*#	1.24 ± 0.11*#
柔肝化纤颗粒低剂量组	1.72 ± 0.08*	1.54 ± 0.11*#	0.48 ± 0.13*#	1.62 ± 0.08*#	1.80 ± 0.16*#
柔肝化纤颗粒中剂量组	1.36 ± 0.11*#	1.30 ± 0.07*#	0.76 ± 0.11*#	1.18 ± 0.08*#	1.56 ± 0.12*#
柔肝化纤颗粒高剂量组	0.80 ± 0.18*#	0.90 ± 0.10*#	1.02 ± 0.16#	0.84 ± 0.11*#	1.24 ± 0.11*#

注: 与空白组相比, *P<0.05; 与模型组相比, #P<0.05

2.2 柔肝化纤颗粒对活化 HSC-T6 细胞 Wnt3 α、β-catenin、GSK-3 β、Coll a1、α-SMA 蛋白的影响

模型组 Wnt3 α、β-catenin、Coll a1、α-SMA 的蛋白相对表达量及增幅均明显多于空白组 (P<0.05), 该组

GSK-3 β 蛋白相对表达则明显少于空白组 ($P<0.05$)。在治疗组中,使用秋水仙碱、柔肝化纤颗粒含药血清处理后,观察到 Wnt3 α 、 β -catenin、Coll a1、 α -SMA 蛋白的表达量相对于模型组显著降低 ($P<0.05$),同时 GSK-3 β 蛋白表

达量则显著增加 ($P<0.05$)。剂量-效应分析显示,上述指标的表达量变化程度随剂量增加而加大 ($P<0.05$)。具体如下表 3 所示。

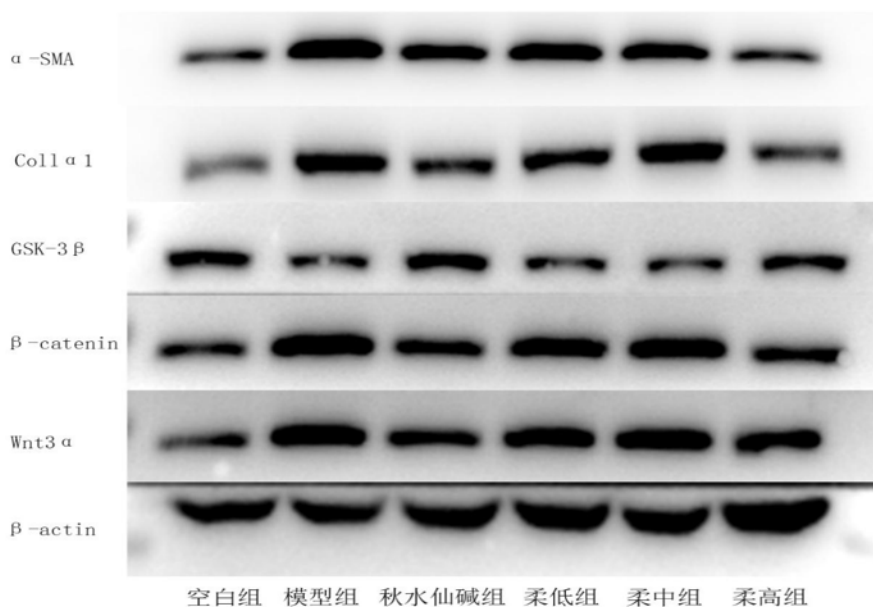


图 1 柔肝化纤颗粒对 Wnt3 α 、 β -catenin、GSK-3 β 、Coll a1、 α -SMA 在 HSC 细胞中表达水平的影响

表 3 各组对 Wnt3 α 、 β -catenin、GSK-3 β 、Coll a1、 α -SMA 蛋白在 HSC 细胞中表达水平 ($\pm S$)

组别	Wnt3 α	β -catenin	GSK-3 β	Coll a1	α -SMA
空白组	1.06 \pm 0.09	1.04 \pm 0.05	1.06 \pm 0.09	1.02 \pm 0.04	1.06 \pm 0.09
模型组	2.00 \pm 0.15*	1.88 \pm 0.19*	0.40 \pm 0.10*	1.74 \pm 0.15*	1.76 \pm 0.11*
秋水仙碱组	1.40 \pm 0.07*#	1.34 \pm 0.11*#	0.86 \pm 0.17*#	1.28 \pm 0.08*#	1.26 \pm 0.11*#
柔肝化纤颗粒低剂量组	1.76 \pm 0.11*#	1.72 \pm 0.15*#	0.52 \pm 0.08*#	1.72 \pm 0.08*	1.70 \pm 0.10*
柔肝化纤颗粒中剂量组	1.36 \pm 0.09*#	1.48 \pm 0.08*#	0.72 \pm 0.08*#	1.47 \pm 0.11*#	1.50 \pm 0.07*#
柔肝化纤颗粒高剂量组	1.00 \pm 0.16#	1.22 \pm 0.11*#	1.08 \pm 0.13#	0.92 \pm 0.21*#	1.21 \pm 0.09*#

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$

2.3 ELLSA 检测 HSC-T6 培养液上清中 Coll a1、 α -SMA、TIMP-1、MMP-2 的表达

在 TIMP-1、MMP-9 的表达水平的对比上,模型组高于对照组 ($P<0.05$);在 MMP-2 的表达水平上,模型组相较于对照组,明显更低 ($P<0.05$)。在治疗组中,使用秋水仙碱、柔肝化纤颗粒含药血清处理后,TIMP-1、MMP-9 的表达水平相较于模型组有明显下降 ($P<0.05$),MMP-2 表达上升 ($P<0.05$)。且上述表达水平的变化程度随药物剂量增多而越来越明显 ($P<0.05$),具体数据详列于表 4。

表 4 各组对 HSC-T6 培养液上清液 TIMP-1、MMP-2、MMP-9 表达的影响 ($\pm S$)

组别	MMP-9 ($\mu g/mL$)	TIMP-1 ($\mu g/mL$)	MMP-2 ($\mu g/mL$)
空白组	8.46 \pm 0.38	0.64 \pm 0.02	15.80 \pm 0.84
模型组	5.68 \pm 0.36*	1.76 \pm 0.06*	12.20 \pm 1.30*
秋水仙碱组	10.04 \pm 0.79*#	0.81 \pm 0.06*#	15.00 \pm 1.00*#
柔肝化纤颗粒低剂量组	7.02 \pm 0.36*#	1.26 \pm 0.03*#	17.40 \pm 1.52*#
柔肝化纤颗粒中剂量组	7.92 \pm 0.55#	0.87 \pm 0.07*#	20.00 \pm 2.24*#
柔肝化纤颗粒高剂量组	11.34 \pm 0.79*#	0.61 \pm 0.06*#	23.00 \pm 1.58*#

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$

3 讨论

作为人体肝脏病理性修复慢性损伤的反应, 肝纤维化亦是不同类型慢性肝病转变为肝硬化的重要环节, 密切影响着慢性肝病患者的治疗与预后。肝纤维化会出现于多种慢性肝病, 起因包括肝炎病毒、酒精、药物、血吸虫等。在我国传统医学的发展进程中, 尚无明确表述“肝纤维化”、“肝硬化”的疾病名称, 而是以具体症状、体征等关键信息作为依据, 将该病归类于“积聚”、“胁痛”、“黄疸”等。肝纤维化在组织学上是可逆的, 相关研究已明确, 肝纤维化甚至早期肝硬化是可以逆转的。但肝纤维化病因复杂, 缺乏有效治疗手段, 发病率亦逐年增高。探寻肝纤维化特异性药物, 对抑制肝纤维化进程具有重要意义。而中医药在抗肝纤维化方面具有多靶点、毒副作用小等独特的优势。柔肝化纤颗粒有帮助补充并强化机体正气、平衡阴阳状态、促进血液循环、化解瘀阻、消解肿块等多方面之功效。前期临床研究显示^[11-13], 柔肝化纤颗粒用于治疗慢性病毒性肝炎、肝硬化、肝癌, 特色突出, 效果确切。

由多项相关研究可知^[14], Wnt3 α/β -catenin 信号通路受到多器官的纤维化反应而实现激活, β -catenin 作为关键促纤维化分子之一, 能够对细胞上皮间质的转化、迁移、黏附等环节发挥调控作用。一旦该信号通路实现激活, GSK-3 β 进入磷酸化状态, β -catenin 因此在细胞质中持续堆积, 达到一定程度后迁移至细胞核内。在细胞核中, β -catenin 与特定靶基因相互作用, 激活 Wnt 信号, 调节细胞的活动过程如迁移、增殖、侵袭等。处于抑制作用下的 β -catenin 的 mRNA 与蛋白质表达, Wnt3 α/β -catenin 信号通路将难以完成激活, 肝星状细胞 (HSC) 增殖与活化抑制的活动由此出现^[15]。由本文开展的实验研究可见, 柔肝化纤颗粒含药血清能够对肝星状细胞 (HSC) 内 β -catenin 的表达发挥有效的抑制作用, 且这一抑制作用呈现剂量依赖性, 还可降低 GSK-3 β 的表达。这些发现共同表明, 柔肝化纤颗粒主要通过调控 HSC (肝星状细胞) 内 β -catenin 的表达水平、抑制 GSK-3 β 的磷酸化过程, 有效干预了 Wnt3 α/β -catenin 信号通路的激活状态, 直接减缓了 HSC 的增殖速度和活化程度, 从而对肝纤维化进程产生了显著的抑制效果。

大量研究证明^[16,17], 无论是在肝纤维化的发生发展亦或是逆转中, HSCs 都发挥着重要的作用。肝纤维化的形成主要取决于 ECM 的合成与降解之间的动态平衡, 当合成大于

降解时, 肝内胶原纤维增加, 纤维化逐渐形成, 如果降解大于合成, 纤维化可逐渐逆转。肝内胶原主要由 ECM 构成, ECM 主要来源于 HSCs, HSCs 的活化是肝纤维化发生的主要诱因, 其活化会使 EMC 中 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 上调及大量分泌 I 型胶原, 最终导致纤维组织沉积和瘢痕形成。正常情况下 HSCs 处于静止状态, 当肝脏受到炎症或机械性刺激等损伤时, 静止的 HSCs 被活化, 活化后的 HSCs 通过增生和分泌 ECM 参与肝纤维化的形成, 期间将多种不同类型的细胞因子、趋化因子分泌出来, 使其对炎症反应发挥介导作用; 分泌的组织金属蛋白酶抑制剂 (Tissue inhibitor of metalloproteinases TIMPs) 会将 TIMPs 与基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 之间维持的动态平衡进行阻隔, 使其失衡, 且对 MMPs 促进 ECM 降解的过程进行干扰, ECM 因此而进入异常堆积的状态, 人体原本正常的肝脏结构受其影响而陷入异常, 引起肝纤维化。金属基质蛋白酶 (MMPs) 家族, 作为关键的基质降解酶类型之一, 能够高效分解细胞外基质 (ECM) 中的胶原蛋白等成分, 其中 MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9 等构成部分在组织重塑和疾病发展中扮演着重要角色。根据本文研究及分析结果可知, Wnt3 α/β -catenin 信号通路能够精细调控多种 MMPs 的表达, 影响 ECM 的代谢平衡; 而柔肝化纤颗粒能够显著上调肝星状细胞 (HSCs) 中 MMP-2 和 MMP-9 的表达水平, 同时抑制 TIMP-1 的活性。TIMP-1 通常作为 MMPs 的自然抑制剂, 其过度表达会导致 MMPs 活性降低, 从而影响 ECM 的正常降解。通过促进 MMPs 的表达和抑制 TIMP-1, 柔肝化纤颗粒能够有效恢复 MMPs 与 TIMPs 之间的动态平衡, 加速 ECM 的降解, 进而发挥其显著的抗肝纤维化作用。

总结本文研究可得结论: 在 β -catenin 的表达过程中, 柔肝化纤颗粒会对其发挥明显的抑制作用, 从而实现 Wnt3 α/β -catenin 信号通路激活受阻, 下游靶基因 TIMP-1、MMP-2、MMP-9 亦同时受到影响而难以实现表达, 从而帮助恢复 TIMPs 与 MMPs 的动态平衡, 推进抗肝纤维化的治疗干预进程。

参考文献:

[1] Løgstrup BB. Heart Failure in Rheumatic Disease: Secular Trends and Novel Insights. *Rheum Dis Clin North Am*. 2023 Feb;49(1):67-79.

[2] Regina J, Racine G, Moalic A, Moret Bochatay M.

Insuffisance cardiaque à haut débit [High-output heart failure]. Rev Med Suisse. 2022 Sep 7;18(794):1656–1661.

[3] Kerov A, Meier A, Wigger O, Linka A. CME: Herzinsuffizienz – Überblick, Klinik, Diagnostik und Therapie [CME: Heart Failure– Overview, Clinical Manifestation, Diagnosis and Management]. Praxis (Bern 1994). 2022 Apr;111(5):260–269.

[4] Li JY, Li XC, Tang YL. Upregulation of miR-128 Mediates Heart Injury by Activating Wnt/ β -catenin Signaling Pathway in Heart Failure Mice. Organogenesis. 2021 Oct 2;17(3–4):27–39.

[5] 田珺莹, 唐嘉利, 黄兰, 等. 中药干预 TGF- β 1/Smads 信号通路对酒精性肝纤维化的调控作用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2022,43(09):92–96.

[6] 唐燕, 梁瀚云, 司马玲, 等. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨双术抗纤方改善四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的作用及机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2024,35(03):334–341.

[7] 吕艳杭. 基于 PKC α /Nrf2/ROS 通路探讨柔肝化纤颗粒抗肝纤维化大鼠的作用 [D]. 广西中医药大学, 2022.

[8] 杨删, 王婷, 王振常. 柔肝化纤颗粒对肝纤维化大鼠 FS 表达的影响 [J]. 广西中医药, 2011,34(04):55–57.

[9] 王振常, 朱智德, 杨删, 等. 柔肝化纤颗粒对肝纤维化大鼠 ACT A 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2012,23(11):2705–2707.

[10] 王振常, 杨删, 黄晶晶, 等. 柔肝化纤颗粒对 CCl₄ 诱导的肝纤维化大鼠肝脏 MMP-2、TIMP-2 的影响 [J]. 疑难病杂志, 2014,13(01):74–76+82.

[11] 吕艳杭, 吴姗姗, 王振常, 等. 柔肝化纤解毒颗粒联合 TACE 治疗原发性肝癌疗效及对其血清指标和免疫功能的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2022,37(04):2386–2390.

[12] 段桂姣, 郝蔷薇, 吕艳杭, 等. 柔肝化纤颗粒联合恩替卡韦治疗 180 例慢性乙型肝炎肝纤维化患者的临床疗效分析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021,27(12):1920–1924.

[13] 吕艳杭, 吴姗姗, 王振常, 等. 柔肝化纤颗粒治疗乙型肝炎肝硬化腹水的临床疗效及对肝纤维化、氧化应激水平的影响 [J]. 西部中医药, 2021,34(03):19–24.

[14] Le Dour C, Macquart C, Sera F, et al. Decreased Wnt/ β -catenin signalling contributes to the pathogenesis of dilated cardiomyopathy caused by mutations in the lamin a/C gene. Hum Mol Genet. 2017 Jan 15;26(2):333–343.

[15] Wang Q, Ma E, Wo D, Chen J, et al. Huoxin pill prevents acute myocardial ischaemia injury via inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. J Cell Mol Med. 2021 Dec;25(24):11053–11062.

[16] Hsu S, Fang JC, Borlaug BA. Hemodynamics for the Heart Failure Clinician: A State-of-the-Art Review. J Card Fail. 2022 Jan;28(1):133–148.

[17] Ryan JJ, Ryan JT. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: An Explanation for Unexplained Dyspnea. JACC Heart Fail. 2023 Feb;11(2):250–251.

作者简介:

吴姗姗 (1992—), 女, 广西南宁人, 硕士, 主治医师, 研究方向: 肝纤维化、肝硬化中西医结合防治基础与临床。

通讯作者: 王振常 (1972—), 男, 广西忻城人, 硕士 / 博士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 肝纤维化、肝硬化中西医结合防治基础与临床。

基金项目:

广西中医药大学 2021 年校级科研项目 – 重点项目, 项目编号: 2021MS042; 广西壮族自治区中医药管理局 2022 年自筹经费科研课题, 项目编号: GXZYA20220157。