

截断逆挽方对慢加急性肝衰竭大鼠死亡受体途径的影响

穆凌云 李金霞 张秋云 陈煜 高连印 杜宇琼

【摘要】 目的 观察“截断逆挽方”对慢加急性肝衰竭大鼠 JNK 信号通路死亡受体途径的影响。方法 SPF 级 Wistar 雄性大鼠 70 只,随机分为正常组、模型组、截断逆挽方组和 SP600125 组,各组大鼠给予猪血清腹腔注射 13 周,联合 D 氨基半乳糖/脂多糖 (D-galactosamine/lipopolysaccharide,D-GalN/LPS)急性攻击,构建慢加急性肝衰竭大鼠模型,截断逆挽方组在急性攻击前给予截断逆挽方连续灌胃 3 天,SP600125 组于急性攻击前半小时腹腔注射。各组大鼠均在急性攻击后 4、8、12 小时平行取材。用免疫组化法 (Immunohistochemical detection,IHC)检测肝组织中半胱氨酸蛋白酶-8 (Cysteine Proteinase-8,Caspase-8)、Caspase-3、脂肪酸合成酶 (Fatty acid synthase ,Fas)的表达量,用蛋白印迹法 (Western Blot,WB)检测肝组织中 Fas 配体 (Fas ligand,FasL)的表达量。结果 与正常组相比,模型组各时间点 Caspase-3、Caspase-8、Fas、FasL 表达增多,差异有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组相比,截断逆挽方组及 SP600125 组在 4 小时和 8 小时表达减少,差异有统计学意义 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$),12 小时较模型组升高,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 截断逆挽方可以有效降低 Caspase-3、Caspase-8、Fas、FasL 的表达量,阻断死亡受体途径,减少模型大鼠肝细胞凋亡。

【关键词】 慢加急性肝衰竭; 截断逆挽方; 细胞凋亡; 死亡受体途径
【中图分类号】 R259 【文献标识码】 A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.04.007

Effect of JieDuan NiWan prescription on death receptor pathway in acute-on-chronic liver failure rat model MU lingyun, LI jinxia, ZHANG qiuyun, et al. Capital Medical University School of Traditional Chinese Medicine & Beijing Key laboratory of TCM Collateral Disease Theory Research, Beijing

基金项目:首都中医药研究专项(14ZY01)
作者单位:100069 北京,首都医科大学中医药学院[穆凌云(硕士研究生)、李金霞(硕士研究生)、张秋云、高连印、杜宇琼];中医络病研究北京市重点实验室[穆凌云(硕士研究生)、张秋云、高连印、杜宇琼];首都医科大学附属佑安医院人工肝中心(陈煜)
作者简介:穆凌云(1992-),女,2014 级在读硕士研究生。研究方向:中医药防治肝胆证治规律。E-mail:mu-mu920308@163.com
通信作者:张秋云(1962-),女,博士,教授,博士生导师。研究方向:中医内科肝病。E-mail:zhangqiuyun8202@aliyun.com

100069, China

Corresponding author: ZHANG qiuyun, E-mail: zhangqiuyun8202@aliyun.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of *Jieduan Niwan* (JDNW) on the death receptor pathway of JNK signaling pathways in acute-on-chronic liver failure (ACLF) rats, and study its mechanism. **Methods** 70 SPF male Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, *Jieduan-Niwan* prescription group and JNK inhibitor SP600125 group. Except normal group, other groups were given intraperitoneal injection with porcine serum for 13 weeks combined with D-galactosamine / lipopolysaccharide (D-GalN/LPS) acute attack to induce the model of ACLF, JDNW group intragastric administration for 3 days before acute attack, SP600125 group was intraperitoneal injection half an hour before acute attack. The rats were sacrificed in 4, 8, 12h after acute attack. Caspase-3, Caspase-8, Fas in liver tissue was detected by immunohistochemical method, the expression of FasL in liver tissue was detected by Western Blot. **Results** Compared with normal group, the expression of Caspase-3, Caspase-8, Fas, FasL were increased ($P < 0.05$) in model group at different time points; compared with the model group, JDNW group and SP600125 group was reduced at 4h and 8h ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), while that was higher than model group at 12h, result had not statistically significant ($P > 0.05$). Both JDNW group and SP600125 group can reduce the expression of Caspase-3, Caspase-8, Fas, FasL, and the mechanism was similar. **Conclusion** The prescription of *Jieduan-Niwan* can effectively reduce the expression of Caspase-3, caspase-8, Fas, FasL, the mechanism may be related to blocking the death receptor pathway of JNK signaling pathway.

【Key words】 Acute-on-Chronic Liver Failure; *Jieduan Niwan* formula; Apoptosis; Death receptor pathways

慢加急性肝衰竭 (acute-on-chronic liver failure, ACLF) 是在慢性肝病的基础上, 较短时间内发生急性或亚急性肝功能失代偿的临床症候群^[1]。细胞凋亡又称程序性细胞死亡, 是维持生物体内环境稳定和保证机体正常发育的主动死亡进程^[2], 过度细胞凋亡可以导致肝组织细胞大量死亡, 并破坏其生理结构及功能。作为参与细胞凋亡的重要信号传导途径之一, 死亡受体途径的传导机制是细胞表面的死亡受体接受胞外信号, 经由胞质内的死亡结构域 (death domain, DD) 进一步传递, 介导细胞凋亡。本研究通过观察截断逆挽方对 ACLF 模型大鼠肝组织半胱氨酸蛋白酶-8 (Cysteine proteinase-8, Caspase-8)、Caspase3、脂肪酸合成酶 (Fatty acid synthase, Fas) 及 Fas 配体 (Fas ligand, FasL) 表达的影响, 探讨该方对肝细胞凋亡的部分作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

Wistar 雄性大鼠 70 只, SPF 级, 体质量 (180 ~ 200) g, 购于中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心, 首都医科大学动物房 SPF 级饲养, 每笼三只, 不控制水食, 室温 18 ~ 23℃, 湿度为

(50.0 ± 2.0)%, 每隔 12 小时开灯照明。

1.2 主要试剂

猪血清 (北京平睿生物有限公司, 批号: 20140713); D-GalN (Inalco, 批号: P29/14/221); LPS (Sigma, 批号: 109K4075); 小鼠超敏二步法试剂盒 (中杉金桥, 批号: PV-9005), 兔二步法检测试剂盒 (中杉金桥, 批号: PV-9001), DAB 试剂盒 (中杉金桥, 批号: ZLI-9018); Caspase-8 p18 antibody (Santa Cruz, 批号: sc-5263); Caspase-3 (P12) antibody (普益华, 批号: BA3968); Anti-Fas antibody (Abcam, 批号: ab82419); Anti-Fas Ligand antibody (Abcam, 批号: ab15285); Beta-tubulin rabbit polyclonal antibody (Proteintech, 批号: 10094-1-AP), Beta-actin rabbit polyclonal antibody (CST, 批号: 4967S); 封闭用羊血清原液 (中杉金桥, 批号: ZLI-9021); RegeRuler Prestained Protein Ladder (Fermentas, 批号: 26616)。

1.3 主要药物

截断逆挽方组成: 苦味叶下珠 30 g、瓜蒌 30 g、金钱草 30 g、生黄芪 30 g、槲寄生 30 g、三七 6 g、莪术 6 g、丹参 20 g、生地黄 20 g、黑附片 15 g, 药材购自北京同仁堂药店, 浓煎, 生药量为 4.34 g/mL, 4℃ 保存备用, 使用前 37℃ 水浴加热。

1.4 主要仪器

Eclipse 80i 共聚焦荧光显微镜 (Nikon); Universal 320R 低温离心机 (Hettich); 1-14 高速离心机 (Sigma); F6/10 超细匀浆器 (Fluko); Model680 酶标仪 (Bio-Rad); 165-8003 垂直电泳仪 (Bio-Rad); 电泳电源 (Bio-rad, Powerpac universal power supply 164-5070); 170-3930 湿转电转仪 (Bio-Rad); Odyssey2.1 红外荧光扫描成像系统 (LI-COR); EM-1400 高衬度投射电子显微镜 (JEOL)。

1.5 方法

1.5.1 大鼠模型的建立 ACLF 大鼠模型建立方法

(1)免疫阶段: Wistar 雄性大鼠 70 只, 随机分为正常对照组 6 只和处理组 64 只, 处理组腹腔注射猪血清每次一只、一周两次注射 0.5 mL, 正常组大鼠注射等量生理盐水, 共 13 周, 造模过程中无死亡。于 13 周末随机抽取 1 只处理组大鼠处死, 取肝组织做病理观察, 根据《肝纤维化中西医结合诊疗指南》^[3] 判定免疫型肝纤维化造模是否成功。造模成功后, 将处理组随机分为模型组、截断逆转方组及 SP600125 组, 各 21 只。(2)急性攻击阶段: 模型组、截断逆转方组及 SP600125 组同时给予 D-GalN 800 mg/kg 联合 LPS 100 μg/kg 腹腔注射造成急性攻击, 建立 ACLF 模型。

1.5.2 分组与给药方法 急性攻击前, 截断逆转方组给予截断逆转方浓缩液 21.7 g/(kg·d) 连续灌胃三天, 正常组及模型组给予同等剂量生理盐水灌胃。各组大鼠分别于急性攻击 4 小时、8 小时、12 小时进行平行取材, 每组每个时间点 7 只。大鼠麻醉后腹主动脉取血, 摘取肝右叶同一部分置于 10% 福尔马林溶液固定, 余下部分于液氮中快速冻存。

1.5.3 IHC 法检测肝组织中 Caspase-3、Caspase-8、Fas 蛋白的表达 10% 福尔马林固定肝组织后进行石蜡包埋、切片, 常规脱蜡、水化, 微波抗原修复, 10% 正常羊血清封闭 1 小时, Caspase-3 多克隆抗体 (1:50)、Caspase-8 多克隆抗体 (1:200)、Fas 多克隆抗体 (1:50) 4℃ 过夜孵育, PBS 洗涤后滴加 HRP 标记二抗 37℃ 孵育 1 小时, Caspase-3、Caspase-8、FasDAB 分别显色 2 分钟、4 分钟、90 秒, 苏木素复染。每组每个时间点观察三张切片, 随机选取 10 个高倍视野进行拍摄, 并运用 NIKON NIS-Elements BR 软件进行阳性表达的标示及积分光密度值 (IOD) 检测。

1.5.4 WB 法检测肝组织中 FasL 蛋白的表达 取

出冻存肝组织样品, 在冰上操作, 每组每个时间点取 5 支进行匀浆、蛋白定量, 按照蛋白定量试剂盒说明书步骤测定蛋白浓度。每支上样蛋白 84 μg, 经 10% SDS-聚丙烯酰胺电泳分离后 300 mA 电转 1 小时至 0.22 μm NC 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 1 小时, FasL 抗体 (1:500) 4℃ 孵育过夜, TBST 洗涤, 加山羊抗兔二抗 (1:5000) 室温孵育 1 小时, 红外荧光扫描成像系统 Oddsey 扫膜。以 β-actin 作为参照蛋白, 使用 ImageJ2x 软件获得目的蛋白条带的灰度值, 通过灰度比较的方法来确定目的蛋白相对于内参的表达量, 以分析样本之间目的蛋白表达量差异。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行统计分析, 经正态检验呈正态分布, 计量数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 经方差齐性检验, 方差齐采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, 方差不齐用 Tamhane's T2 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义, P<0.01 表示有极显著差异。

2 结果

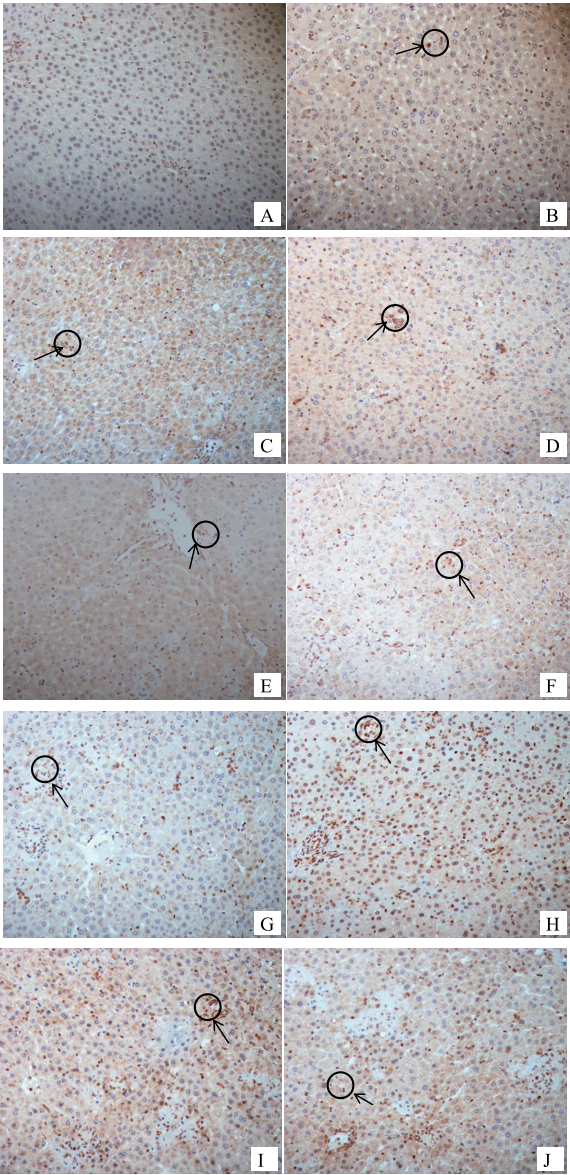
2.1 截断逆转方对 ACLF 大鼠肝组织 Caspase-3 蛋白表达的影响

Caspase-3 被染成棕褐色, 在细胞质表达。与正常组相比, 模型组各时间点表达增多, 4 小时 Caspase-3 表达明显增多, 随着时间延长逐渐增多, 8 小时达到高峰, 12 小时较前减少, 经 LSD 检验差异有统计学意义 (P<0.01); 与模型组相比, 在 4、8 小时截断逆转方组及 SP600125 组 Caspase-3 蛋白表达明显降低, 经 LSD 检验差异具有统计学意义 (P<0.05), 而 12 小时其表达经 LSD 检验无统计学意义 (P>0.05); 同时 Caspase-3 蛋白表达减少, 证明截断逆转方可以有效减慢细胞凋亡的进程, 抑制蛋白表达, 减少肝细胞凋亡, 其作用机制与 JNK 抑制剂 SP600125 相似。详见表 1、图 1。

表 1 各组大鼠 Caspase-3 表达 IOD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	Caspase-3 表达 IOD 值		
		4 小时	8 小时	12 小时
正常组	3	3.71±2.14	3.71±2.14	3.71±2.14
模型组	9	25.08±6.56 ^a	34.81±13.36 ^{ad}	47.90±32.83 ^{ad}
截断逆转方组	9	13.69±3.38 ^c	15.76±7.75 ^{cd}	29.56±7.98 ^d
SP600125 组	9	14.39±3.97 ^d	18.97±2.41 ^{cd}	24.14±6.40 ^d

注: 与正常组比较, ^aP<0.05, 与对应时间点模型组比较, ^bP<0.05, ^cP<0.01; 与同一处理组前一时间点比较, ^dP<0.01。



注: A. 正常组; B. 截断逆挽方 4 小时组; C. 模型 4 小时组;
D. SP600125 4 小时组; E. 截断逆挽方 8 小时组;
F. 模型 8 小时组; G. SP600125 8 小时组; H. 截断逆挽方 12 小时组;
I. 模型 12 小时组; J. SP600125 12 小时组

图 1 免疫组化法检测大鼠肝组织 Caspase-3 蛋白表达(×200)

2.2 截断逆挽方对 ACLF 大鼠肝组织 Caspase-8 蛋白表达的影响

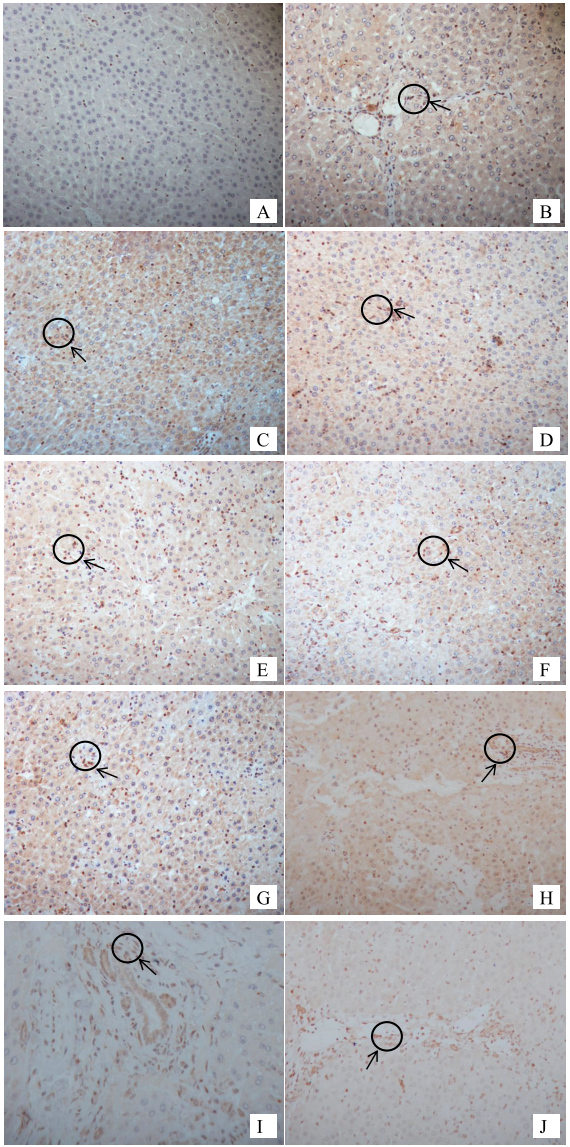
Caspase-8 被染成棕褐色,在细胞核表达。与正常组相比,模型组 4 小时 Caspase-8 表达明显增多,随着时间延长表达逐渐增多,至 8 小时达到高峰,12 小时表达则较前减少,经 LSD 检验具有统计学明显差异($P<0.01$);与 4、8 小时模型组相比,截断逆挽方组及 SP600125 组 Caspase-8 蛋白表达明显降低,经 Tamhane's T2 检验差异具有统计学意义($P<0.05$),至 12 小时表达略高,整体趋势随着时间的推

移而逐渐升高。提示截断逆挽方可以抑制 Caspase-8 的表达,其作用同 JNK 抑制剂 SP600125 相似。详见表 2、图 2。

表 2 各组大鼠 Caspase-8 表达 IOD 值比较($\bar{x}\pm s$)

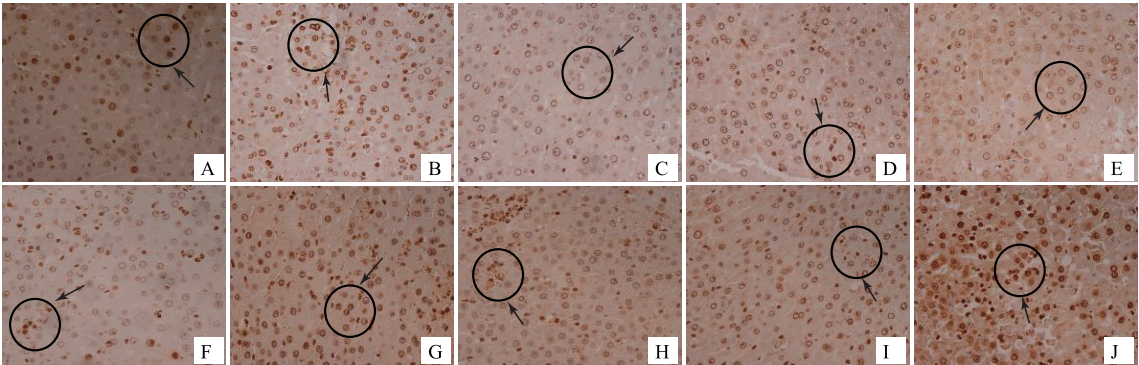
组别	样本量	Caspase-8 表达 IOD 值		
		4 小时	8 小时	12 小时
正常组	3	3.82±0.94	3.82±0.94	3.82±0.94
截断逆挽方组	9	9.38±4.92 ^a	14.03±5.23 ^{ad}	32.82±11.13 ^{ad}
模型组	9	20.02±8.60 ^{bc}	24.55±8.96 ^{cd}	35.08±21.65 ^d
SP600125 组	9	9.60±1.95 ^b	11.30±6.14 ^{cd}	10.82±2.88 ^d

注:与同一时间点模型组比较,^a $P<0.01$;与同一时间点正常组比较,^b $P<0.05$ 、^c $P<0.01$;与同一处理组上一时间点比较,^d $P<0.01$ 。



注: A. 正常组; B. 截断逆挽方 4 小时组; C. 模型 4 小时组;
D. SP600125 4 小时组; E. 截断逆挽方 8 小时组;
F. 模型 8 小时组; G. SP600125 8 小时组; H. 截断逆挽方 12 小时组;
I. 模型 12 小时组; J. SP600125 12 小时组

图 2 免疫组化法检测大鼠肝组织 Caspase-8 蛋白表达(×200)



注:A. 正常组;B. 截断逆挽方 4 小时组;C. 模型 4 小时组;D. SP600125 4 小时组;E. 截断逆挽方 8 小时组;F. 模型 8 小时组;G. SP600125 8 小时组;H. 截断逆挽方 12 小时组;I. 模型 12 小时组;J. SP600125 12 小时组

图3 免疫组化法检测大鼠肝组织 Fas 蛋白表达(×200)

2.3 截断逆挽方对 ACLF 大鼠肝组织 Fas 蛋白表达的影响

Fas 蛋白被染成棕褐色,在细胞核表达。与正常组相比,模型组 4 小时 Fas 表达明显增多,且随着时间的延长其表达逐渐增多,至 8 小时达到高峰,12 小时表达则较前减少,经 LSD 检验差异具有统计学意义($P<0.01$);与模型组相比,在 4、8 小时截断逆挽方组及 SP600125 组 Fas 蛋白表达明显降低,经 LSD 检验差异具有统计学意义($P<0.01$),而至 12 小时其表达则略高于模型组,其表达随着时间的推移呈现逐渐升高的趋势。结果提示截断逆挽方及 SP600125 可以有效抑制 FasL 蛋白的表达,减少肝细胞凋亡,与 SP600125 作用大致相似。详见表 3、图 3。

表 3 各组大鼠 Fas 表达 IOD 值比较($\bar{x}\pm s$)

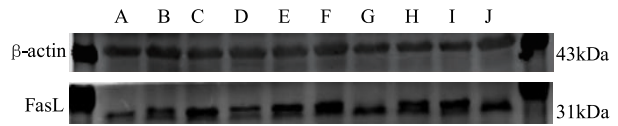
组别	样本量	Fas 表达 IOD 值		
		4 小时	8 小时	12 小时
正常组	3	14.66±6.37	14.66±6.37	14.66±6.37
模型组	9	19.73±4.82 ^a	57.30±28.25 ^{ad}	17.76±4.73 ^{ad}
截断逆挽方组	9	21.39±1.97 ^c	27.68±3.60 ^{cd}	32.02±4.17 ^d
SP600125 组	9	15.96±6.06	19.62±5.20 ^{cd}	23.26±3.03 ^d

注:与同一时间点模型组比较,^a $P<0.01$;与同一时间点正常组比较,^b $P<0.05$ 、^c $P<0.01$;与同一处理组上一时间点比较,^d $P<0.05$ 。

2.4 截断逆挽方对 ACLF 大鼠肝组织 FasL 蛋白表达的影响

与正常组相比,模型组 4 小时 FasL 蛋白表达增多,至 8 小时达到高峰,12 小时表达减少,经 LSD 检验具有显著统计学差异($P<0.01$);截断逆挽方组 4、8 小时 FasL 蛋白表达较模型组少,而 12 小时表达较多,整体呈现逐渐升高的趋势。与模型组相比,SP600125 组 4 小时($P<0.05$)、8 小时($P<0.01$) FasL 蛋白表达较少,经 LSD 检验差异具有统计学意

义,而 12 小时($P>0.05$)经 Tamhane's T2 检验差异具有统计学意义,蛋白呈持续增高表达。结果提示截断逆挽方可以有效抑制 FasL 蛋白的表达,减少肝细胞凋亡,作用机制与 SP600125 大致相似。



注:A. SP600125 12 小时组;B. 模型 12 小时组;C. 截断逆挽方 12 小时组;D. SP600125 8 小时组;E. 模型 8 小时组;F. 截断逆挽方 8 小时组;G. P600125 4 小时组;H. 模型 4 小时组;I. 截断逆挽方 4 小时组;J. 正常组

图4 Western Blot 法检测各组大鼠肝组织 FasL 蛋白表达情况

表 4 各组大鼠 FasL 表达 IOD 值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	Fas 表达 IOD 值		
		4 小时	8 小时	12 小时
正常组	5	1.01±0.82	1.01±0.82	1.01±0.82
模型组	15	1.37±1.04 ^a	2.53±0.68 ^{ad}	4.28±3.57 ^d
截断逆挽方组	15	2.24±0.78 ^c	2.27±0.59 ^{cd}	3.85±1.21 ^d
SP600125 组	15	1.25±0.56 ^b	1.52±0.38 ^{cd}	3.91±3.07 ^c

注:与同一时间点模型组比较,^a $P<0.01$;与同一时间点正常组比较,^b $P<0.05$ 、^c $P<0.01$;与同一处理组上一时间点比较,^d $P<0.01$ 。

3 讨论

ACLF 可在短期内出现较高死亡率,28 天内死亡率可高达 15%^[4],临床多采用内科常规治疗、人工肝及肝移植等措施,但治疗效果均不理想。近些年来,中医药对 ACLF 的干预研究在临床实践和基础研究方面均取得了很大进展,为中医药参与治疗并不断提高疗效奠定了良好的基础。JNK 抑

制剂 SP600125 可以对 JNK 信号通路产生特异性地抑制作用,目前已有相关动物实验证实 SP600125 可以直接抑制 c-Jun 磷酸化并且在一定程度上干预治疗动物疾病模型^[5-6]。据此,有望为中医药临床治疗 ACLF 提供新的分子作用靶点。

笔者课题组前期实验研究结果表明^[7-9]:截断逆挽方可改善肝细胞超微结构损伤、降低 ACLF 大鼠死亡率;也可以降低血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 及肝组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和肿瘤坏死因子受体 (TNFR1) 的含量,即可通过阻断 TNF- α /TNFR1 途径减轻肝细胞凋亡。肝细胞凋亡主要通过两种途径介导:线粒体途径和死亡受体途径。且李金霞等^[10]已证实截断逆挽方可以减轻肝细胞超微结构损伤程度以及抑制 Bid、CytC 蛋白的表达,与阻断线粒体途径有关。死亡受体途径又称外源性凋亡途径,由胞外信号诱导细胞凋亡,凋亡介导的通路主要有三条^[11]: Fas/FasL 途径、TNFR 途径、TRAIL 途径。死亡受体属于 TNFR 超家族,已知存在于哺乳动物细胞表面的至少有 8 种: TNFR1、TNFR2、Fas、DR3、DR4、DR5、DcR1 和 DcR2^[12]。Fas/FasL 诱导细胞凋亡是细胞表面的 Fas 蛋白被激活后,启动了 Fas 配体 FasL 的表达,FasL 与 Fas 结合后,诱导 Fas 胞内的死亡区形成三聚体并活化,然后募集胞浆内 Fas 相关死亡结构域蛋白,形成并激活死亡信号复合物^[13],引起 Caspase-8 激活,启动下游 Caspase 蛋白级联反应,诱导细胞凋亡。此外, Caspase-8 还可以激活 Bid、Bax 等 Bcl-2 家族蛋白,促进 CytC 释放,通过线粒体途径诱导细胞凋亡。吴文秀等^[14]证实截断逆挽方可以有效降低肝细胞 Caspase-3、Caspase-8 表达量,减轻肝细胞凋亡和坏死。

本实验中,与正常组相比,模型组在 4~8 小时 Fas、FasL、Caspase-3、Caspase-8 表达均呈现逐渐升高趋势,提示 Fas 与 FasL 结合,并激活下游 Caspase-3、Caspase-8 蛋白发生级联反应,高峰出现在急性攻击后 8 小时。12 小时 Fas、FasL、Caspase-3、Caspase-8 表达均较 8 小时降低,但仍高于正常组,这可能与 8~12 小时肝细胞发生大量死亡有关,此时细胞凋亡活动减少。截断逆挽方组及 SP600125 组在 4 小时、8 小时 Fas、FasL、Caspase-3、Caspase-8 表达量均较模型组减少,4~12 小时呈现持续升高表达。以上结果表明截断逆挽方及 SP600125 可以在 4、8 小时有效减少 Fas、FasL、Caspase-3、Caspase-8 的表达。

但 12 小时模型组蛋白表达减少,而给药组表达量却持续增多,提示 ACLF 大鼠急性攻击后可能出现肝细胞大量死亡,凋亡活动减少。

上述结果提示截断逆挽方可以有效降低 ACLF 大鼠肝组织蛋白 Fas、FasL、Caspase-3、Caspase-8 的含量,抑制死亡受体信号途径上关键蛋白表达,其作用机制与 JNK 抑制剂 SP600125 相似。

综上分析,降低肝组织蛋白 Fas、FasL、Caspase-3、Caspase-8 表达,干预 JNK 信号通路相关死亡受体途径从而减少肝细胞凋亡,可能是截断逆挽方减轻 ACLF 模型大鼠肝细胞损伤的部分作用机制。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志,2013,16(3):210-216.
- [2] 赵美玲,季宇彬,毕明刚. 细胞凋亡的死亡受体途径[J]. 黑龙江医药,2013,26(2):196-199.
- [3] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志,2006,14(11):866-870.
- [4] Blasco-Algora S, Masegosa-Ataz J, Gutiérrez-García M L, et al. Acute-on-chronic liver failure: Pathogenesis, prognostic factors and management[J]. World Journal of Gastroenterology, 2015, 21(42):12125.
- [5] 王漫. JNK 抑制剂 SP600125 对 AD 脑内突触损害和炎症反应治疗作用及其机制研究[D]. 西安:第四军医大学,2015.
- [6] 刘艺芳,张明子,王友彬,等. JNK 激酶抑制剂 SP600125 对大鼠皮瓣缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 世界临床药物,2016,(9):599-603.
- [7] 吴文秀,崔利娟,张秋云. 截断逆挽方降低慢加急性肝衰竭大鼠死亡率的机制探讨[J]. 中医药导报,2012,18(1):6-11.
- [8] 崔利娟,党泽方,张秋云. 截断逆挽方对慢加急性肝衰竭大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的影响[J]. 中医药导报,2013,19(1):8-11.
- [9] 崔利娟,吴文秀,邢金丽,等. 截断逆挽方对慢加急性肝衰竭大鼠血清及肝组织 TNF- α 含量及肝组织 TNFR1 表达的影响[J]. 北京中医药,2013,32(2):134-138.
- [10] 李金霞,穆凌云,张秋云,等. 截断逆挽方对慢加急性肝衰竭大鼠线粒体凋亡途径的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2016,23(4):45-48.
- [11] 骆泓洁,彭伟,元小冬. 死亡受体途径的研究进展[J]. 人人健康,2016,2:25-31.
- [12] 赵彦超,顾耘. 细胞凋亡通路研究进展[J]. 现代医学,2013,41(4):285-288.
- [13] 赵美玲,季宇彬,毕明刚. 细胞凋亡的死亡受体途径[J]. 黑龙江医药,2013,26(2):196-199.
- [14] 吴文秀,崔利娟,陈煜,等. 截断逆挽方对慢加急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡指数及 caspase8、caspase3 表达的影响[J]. 北京中医药,2012,31(1):62-64.

(收稿日期:2016-12-17)

(本文编辑:王馨瑶)