

线粒体在肝细胞凋亡中的作用及中药对其保护作用

张雪娇, 郑仕中*, 陆茵, 倪春艳, 马进, 王爱云

南京中医药大学药学院 临床药学教研室, 江苏 南京 210029

摘要: 肝细胞凋亡在肝纤维化中有着非常重要的作用, 而许多促细胞凋亡信号作用于线粒体, 能够改变线粒体通透性, 继而导致其蛋白释放入胞质, 由此构成线粒体介导的凋亡途径。中药及其有效成分能够从抗氧化、稳定线粒体膜流动性、抑制线粒体膜通透性转变及维持线粒体膜电位稳定等方面发挥线粒体保护作用, 从而减少肝细胞的凋亡而发挥抗肝纤维化的作用。现就肝细胞凋亡的线粒体途径及中药保护进行综述。

关键词: 肝纤维化; 细胞凋亡; 线粒体; 中药; 细胞色素 C

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)07-1441-05

Effect of mitochondria on hepatocyte apoptosis and protection of Chinese materia medica

ZHANG Xue-jiao, ZHENG Shi-zhong, LU Yin, NI Chun-yan, MA Jin, WANG Ai-yun

Department of Clinical Pharmacy, College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Key words: hepatic fibrosis; cell apoptosis; mitochondria; Chinese materia medica; cytochrome C

现代观点认为肝纤维化的发生是一个动态过程, 是肝脏对损伤的一种创伤愈合反应。肝细胞约占肝脏细胞总量的 80%, 是肝内数量最多、体积密度最大的细胞群。虽然肝细胞不是肝脏细胞外基质 (ECM) 的细胞学来源, 但是肝细胞损伤在肝纤维化发生中仍然具有重要作用。近年来, 肝细胞损伤尤其是肝细胞凋亡在肝纤维化中的作用受到广泛关注, 成为肝纤维化治疗的靶点。目前肝细胞的凋亡主要有外源性途径和内源性途径^[1], 但两种途径都伴随着线粒体结构和功能的改变, 因此, 弄清线粒体在肝细胞凋亡中的作用机制具有重要的意义。而中药对肝损伤的肝细胞线粒体具有确切的保护作用, 且实现该作用是多靶点、多途径的。

1 线粒体与肝细胞的凋亡

肝细胞的线粒体很多, 每个细胞大约有 1 000 个, 遍布于胞质内。线粒体作为细胞内主要的 ATP 生产中心, 在人的衰老、癌症的细胞凋亡、信号转导过程中起着非常重要的作用^[2]。近年来, 线粒体被认为是细胞凋亡的调控中心^[3-4], 在肝细胞凋亡中

的作用主要表现在以下两个方面: 一是在凋亡信号的刺激下, 线粒体膜电位消失, 膜的通透性和完整性受到破坏, 线粒体上的膜透过性转换孔 (mitochondria permeability transition pore, MPTP) 开放, 导致促凋亡蛋白的释放, 如细胞色素 C (cytochrome C)、Smac/Diablo (second mitochondria-derived activator of caspase direct IAP-binding protein with low pI)、丝氨酸蛋白酶 (Omi/Htr A2)、核酸内切酶 G (endonuclease G, Endo G) 和凋亡诱导因子 (apoptosis inducing factor, AIF) 等, 随后引起典型的凋亡变化; 二是对 Bcl-2 家族蛋白的广泛研究表明, 它们主要通过调节线粒体的功能来调控细胞的凋亡^[5]。

1.1 细胞色素 C (Cyt C)

Cyt C 是线粒体呼吸链的重要组成部分, 它是由两个无活性的前体分子合成的: 前细胞色素 C 和亚铁血红素。大量实验研究发现 Cyt C 从线粒体释放到细胞浆是多种细胞凋亡的共同表现, 而 Cyt C 基因敲除的细胞能对刺激因素诱导的凋亡具有明显的耐受

收稿日期: 2010-10-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873424); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK200856); 江苏省针灸学重点实验室开放课题 (KJA200801); 教育部博士点博导基金 (20103237110010); 江苏省六大人才基金 (2009-B-010); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 张雪娇 (1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治肿瘤与肝纤维化的机制。

Tel: (025)86798154 E-mail: zhangxuejiao198715@126.com

***通讯作者** 郑仕中 Tel: (025)86798154 E-mail: nytws@163.com

性。Cyt C 是线粒体介导的细胞凋亡途径中不可缺少的重要因子,在凋亡过程中起着关键作用^[6]。史洪涛等^[7]应用高脂饮食诱导大鼠脂肪肝模型,并用 TUNEL 法检测肝细胞凋亡变化,发现对照组肝组织中阳性肝细胞较少见,而随着脂肪肝程度以及肝细胞炎症、坏死的加重,其肝细胞凋亡指数明显增高,同时 Western blotting 显示高脂饮食组与对照组相比, Cyt C 蛋白表达明显增加。由此可见线粒体-Cyt C 途径与肝细胞凋亡密切相关,其在肝细胞中的凋亡机制可能是:当受到凋亡信号刺激后, Cyt C 释放到细胞浆中,与凋亡蛋白酶激活因子 (Apaf-1) 的羧基端 WD-40 重复序列结合,同时胞浆中的 dATP 和 (或) ATP 与 Apaf-1 的核苷酸结合结构域结合,从而促进 Apaf-1 构象变化并发生同源寡聚化。Apaf-1 与 procaspase-9 结合而使 procaspase-9 募集。Cyt-C、dATP、Apaf-1 和 procaspase-9 组成聚合体,称为凋亡体 (apoptosome)。凋亡体使 procaspase-9 激活, procaspase-9 一旦激活就能激活其下游的 procaspase-3 进入内源性和外源性凋亡途径的最后通路,最终导致肝细胞死亡^[8]。Cyt C 不仅可以直接介导凋亡,还可以通过干扰电子传递链的运输、阻断能量合成、促进活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生等方式参与肝细胞凋亡过程。陈德昌等^[9]用烫伤和内毒素“二次打击”大鼠模型来观察大黄对肝细胞线粒体功能的影响,结果发现大黄可明显提高脓毒症大鼠细胞内 ATP 水平,减少肝细胞内 Cyt C 的丢失,表明大黄能改善肝细胞线粒体的呼吸功能。杨宝山等^[10]在复方甘草酸苷 (SNMC) 对小鼠暴发性肝功能衰竭 (FLF) 保护作用中发现, SNMC 对小鼠 FLF 有明显的保护作用,其机制可能是通过稳定线粒体膜抑制 Cyt C 释放及其随后的 caspase-3 的活化,从而阻断肝细胞凋亡而实现的。此外,甘草次酸可以降低脂质在肝细胞中的累积,并可抑制游离脂肪酸引起的肝细胞凋亡,减少由高脂饮食诱导的大鼠肝脏脂质毒性及肝损伤,抑制线粒体膜电位降低及 Cyt C 释放,降低游离脂肪酸诱导的氧化应激,从而发挥肝损伤保护作用^[11]。

1.2 Smac/Diablo

Smac 是从 HeLa 细胞中分离出的一种新型线粒体蛋白质,命名为第 2 个线粒体衍生的半胱氨酸蛋白酶激活剂 (second mitochondria-derived activator of caspase, Smac),同时从 293T 细胞中分离出一种与低等电点 (pI) 的 caspase 的抑制因子 (inhibitors

of apoptosis proteins, IAPs) 直接结合蛋白 (Diablo)。经对比分析, Smac 与 Diablo 完全等同,合并称 Smac/Diablo。陈森等^[12]在内毒素诱导体外肝细胞凋亡的实验中发现,随着内毒素对肝细胞作用时间的延长,肝细胞的凋亡率呈进行性增高,同时免疫组化半定量还显示, Smac 蛋白随凋亡率的增高而显著增加,说明 Smac 蛋白在肝细胞凋亡中具有重要的作用,其作用是通过抑制凋亡抑制蛋白 IAPs 实现的。IAPs 是细胞内一类独特的抗凋亡蛋白家族,研究证明, Smac/Diablo N 端的 1~55 位氨基酸是一个典型的线粒体定位序列 (MTS),含有 MTS 的 Smac/Diablo 是前体分子,其不能与 IAP 结合,受到凋亡刺激时, MTS 被移除,成为仅含原序列的 56~239 位共 184 个氨基酸的蛋白^[13]。成熟的 Smac/Diablo 能够从线粒体释放到胞质,与 IAPs 分子特异性结合,解除 IAPs 对 caspase 的阻碍作用,激活各级 caspase 级联反应,从而促进肝细胞凋亡。大黄素 (emodin) 是大黄、虎杖等多种中药的有效成分之一^[14-15],对肝癌、乳腺癌、肺癌及前列腺癌等多种肿瘤细胞均具有较强的抑制和杀伤效应,研究发现,大黄素既可促进肝癌细胞 Cyt C 和 Smac 的转录合成,又可促进 Cyt C 和 Smac 从线粒体膜间隙向细胞质内的释放,通过线粒体 caspase 依赖凋亡通路诱导肝癌细胞凋亡。

1.3 Omi/Htr A2

Omi/Htr A2 是一功能类似于 Smac/Diablo 的线粒体因子,属于丝氨酸水解酶家族,在内质网中合成,位于线粒体膜间隙,在凋亡信号的刺激下 Omi/Htr A2 与 Cyt C、Smac 一起释放入胞浆并经过自身酶切转变为成熟形式^[16]。李向利^[17]在探讨方剂槲芪散对大鼠肝癌前病变组织相关凋亡蛋白酶表达的影响时发现, Omi/Htr A2、Cyt C、caspase-3 在槲芪散大、小剂量治疗组和槲寄生总碱组高表达,结果提示当病变肝细胞的线粒体受到槲芪散等中药刺激时,引起线粒体膜通透性发生改变, MPTP 开放导致促凋亡蛋白 Omi/Htr A2 等从线粒体向细胞质释放。成熟的 Omi/Htr A2 与 IAP 相结合从而解除 IAPs 对 caspases 的抑制作用,进而引起 caspase 相继被激活并发生 caspase 级联放大反应,从而加速凋亡的进程^[18]。Omi/Htr A2 除了通过促进 caspase 活化参与肝细胞凋亡过程外,还可以直接依靠其自身的丝氨酸蛋白酶活性酶切除 IAPs,促发凋亡反应。左国营等^[19]从黑蕊虎耳草地上部分分离纯化得

到一个新的岩白菜素没食子酸酯,通过1维和2维核磁共振波谱鉴定结构为11-氧-(4-氧甲基没食子酰)岩白菜素,且该化合物对丙型肝炎丝氨酸蛋白酶具有抑制活性。

1.4 Endo G

Endo G是一种非caspase依赖的凋亡物质,其是线粒体非特异性核酸酶,由核基因编码,在细胞质中翻译成前体蛋白,随后转运至线粒体中切割掉N端48个氨基酸变为成熟体。李密^[20]在研究大黄素对大鼠肝癌细胞凋亡时发现,大黄素干预后肝癌细胞凋亡明显增加,加入caspase抑制剂,并不能阻断凋亡。进一步的研究发现,大黄素干预后肝细胞Endo G mRNA表达明显上调,证实大黄素能促进非caspase依赖凋亡途径的主要效应分子Endo G的表达。由此可以得出Endo G诱导肝细胞凋亡的机制:在凋亡因素刺激下,MPTP开放,导致线粒体外膜膜电位降低,外膜破裂,膜间隙内的Endo G与Cyt C、Smac/Diablo等一起释放入胞质,再易位至细胞核,切割细胞核染色质DNA,产生以核小体DNA长度为基数的DNA片段,直接导致肝细胞凋亡^[21]。

1.5 AIF

Susin等^[22]研究发现,当存在广谱caspase抑制剂Z-VAD-FMK时,鼠肝细胞线粒体膜间隙组分仍存在有促凋亡活性,经过对银染的SDS-PAGE电泳条带的蛋白样品进行胰酶消化、串联质谱分析,推测出其EST序列,并进行计算机检索,最终鉴定出这种活性蛋白,命名为AIF。AIF是定位于线粒体膜间隙中的一种氧化还原酶,含有线粒体定位信号序列,具有很强的促凋亡活性。AIF前体蛋白在胞浆中合成后,通过其N端的线粒体定位信号(mitochondrial localization sequence, MLS)有效地穿入线粒体膜间隙,然后在102位甘氨酸处水解掉MLS,其余部分与黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)结合,并重新折叠成为具有促凋亡潜能的成熟AIF分子。肝细胞在死亡信号或细胞应激的刺激下,MPTP开放,释放AIF到细胞质溶质中,具有核定位信号序列的AIF便进入细胞核内,引起染色质的初步凝集和DNA大量片段化(约50 kb),进而引发不依赖于caspase的细胞凋亡途径。AIF的促凋亡作用还在于可导致线粒体肿胀,改变线粒体外膜的通透性,释放入胞浆的AIF再作用于其他的线粒体,使之通透性增加而进

一步促进AIF的释放,形成正反馈促进细胞凋亡,同时还能促进Cyt C等的释放。

2 Bcl-2 家族蛋白

在研究线粒体和细胞凋亡关系的同时,也揭示了细胞凋亡调控家族Bcl-2蛋白与线粒体的关系^[23]。将Bcl-2转基因表达于重症肝炎模型小鼠的肝细胞,可以保护小鼠肝脏功能^[24-25],可见肝细胞是否发生凋亡主要受Bcl-2家族的调控。根据功能和结构可将Bcl-2基因家族分为两类:一类是抗凋亡因子(anti-apoptotic),如Bcl-2、Bcl-xl、Bcl-w、Mcl-1;一类是促凋亡因子(pro-apoptotic),如Bax、Bak、Bad、Bid、Bim^[26]。叶伟东^[27]用二甲基亚硝胺建立的肝纤维化SD大鼠模型研究发现,模型组肝组织Bax的表达较正常组明显增高,Bcl-2的表达水平与正常组相当,无明显差异。Takehara等^[28]发现抗凋亡因子Bcl-xl敲除后,动物体内肝细胞和体外培养的原代肝细胞均可发生自发性凋亡,进一步实验发现Bcl-xl敲除小鼠在肝细胞持续凋亡6个月后形成肝纤维化,由此可见Bcl-2家族蛋白是肝细胞凋亡的决定性因素之一。研究发现肝细胞线粒体膜上存在Bcl-2家族蛋白物质,许多Bcl-2家族蛋白由位于C端的疏水氨基酸锚定在线粒体外膜,蛋白则朝向胞浆面,为其他凋亡调节蛋白提供连接位点。其次,Bcl-2家族成员可以影响MPTP的开放,以及Cyt C和AIF的释放;促凋亡蛋白Bax等则可以促进MPTP的功能,增加Cyt C和AIF的释放,从而介导肝细胞凋亡的发生^[29]。张建军等^[30]通过观察茵陈术附汤对阴黄证大鼠肝细胞凋亡及Bcl-2和Bax表达的影响,发现茵陈术附汤能通过促进Bcl-2表达和抑制Bax表达阻断阴黄证大鼠肝细胞凋亡。韦新等^[31]在用CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤模型中发现,牛磺酸治疗组肝细胞凋亡指数明显降低,Bcl-2表达增强,Bax表达降低,与模型组比较差异有显著性。庆慧等^[32]在观察清热祛湿益气方对刀豆蛋白A(Con A)诱导的急性肝损伤模型小鼠肝细胞凋亡相关蛋白表达的影响中发现,清热祛湿益气方不同剂量可下调模型小鼠肝组织Bax的表达,并可上调Bcl-2的表达。此外,莪术可以降低Bcl-2在肝细胞上的表达量,柴芍六君子汤可以在一定程度上拮抗莪术对肝细胞线粒体的损伤及升高Bcl-2在肝细胞的表达。

3 加强中药对线粒体保护作用的研究

线粒体是重要的细胞器之一,其对肝细胞的凋

亡起着重要的作用,因此保护线粒体从而干预肝细胞的凋亡,防止肝纤维化的发生和发展,成为治疗肝纤维化的重要靶点。中药因其具有多环节、多层次、多靶点等特点,在肝纤维化的治疗中扮演着日益重要的角色。

目前,中药对肝纤维化中肝细胞线粒体的保护主要有以下几个方面^[33]:(1)抗氧化作用,线粒体是机体产生 ROS 的主要部位,一旦氧化还原平衡体系发生紊乱,脂质过氧化产物就会通过与线粒体膜脂、线粒体蛋白以及线粒体 DNA (mtDNA) 相互作用,导致线粒体损伤。蒋树林等^[34]提取肝纤维化模型鼠肝组织线粒体,以丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)为指标,观察不同浓度丹参提取物对线粒体脂质过氧化的作用,随着丹参提取物浓度增加,同一时刻内线粒体反应液 MDA 产生逐渐减少,SOD 活性逐渐升高。(2)稳定线粒体膜流动性,水飞蓟素对小鼠肝线粒体内、外膜流动性均具有较强的调节作用,其既能通过恢复膜脂质浅层流动性,缓解脂质过氧化造成的膜脆性增大,使膜柔顺性增加;又能通过恢复膜深层流动性增强膜屏障作用,减少脂质过氧化产物等毒性物质进入膜内,从而保护肝线粒体^[35]。(3)抑制线粒体膜通透性转变的发生,Ca²⁺和谷胱甘肽(GSH)是调节 MPTP 孔开放的关键性细胞因子,研究发现川芎嗪通过清除自由基、抗脂质过氧化,拮抗 Ca²⁺、促进能量合成、改善微循环等起到保护线粒体膜结构的作用^[36];野西瓜正丁醇萃取物能降低线粒体膜电位,开放 MPTP 孔道造成细胞内 Ca²⁺超载,诱导 HepG2 细胞凋亡^[37]。(4)维持线粒体膜电位稳定,在细胞凋亡过程中,线粒体膜电位是最早出现的细胞内反应之一,一旦发生线粒体膜电位耗散,细胞就会进入一种不可逆的凋亡过程。魏常胜等^[38]在探讨活血化瘀中药丹柴四君子汤对大鼠肝硬化模型肝线粒体的影响时,发现活血化瘀中药抗肝纤维化的作用机制之一在于能通过改善血液动力学、血流学障碍,增加肝供血、供氧,保证电子传递链的正常功能,稳定线粒体膜电位,提高 ATP 合成酶的活力,从而促进肝细胞新陈代谢,减轻肝细胞损伤,延缓肝纤维化进程。

4 结语与展望

经线粒体途径引起的肝细胞凋亡是一个非常复杂的过程,每一个环节,每一个细胞因子、蛋白是如何发挥作用的还有待于进一步研究。目前,中药

对肝细胞线粒体内 Cyt C、Bcl-2 家族蛋白的研究较为广泛,而对 Endo G、凋亡诱导因子的表达等的研究相对较少。随着线粒体在肝细胞凋亡机制中研究的深入,将经线粒体途径引起的肝细胞凋亡运用于肝纤维化的治疗,以及使中药在此过程中发挥作用,有待于广大中医药工作者的不断努力。

参考文献

- [1] Jin Z, El-Deiry W S. Overview of cell death signaling pathways [J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4: 139-163.
- [2] Newmeyer D, Ferguson M S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death [J]. *Cell*, 2003, 112(4): 481-490.
- [3] Lin H H, Hsu H L, Yeh N H. Apoptotic cleavage of NuMA at the C-terminal end is related to nuclear disruption and death amplification [J]. *Biomed Sci*, 2007 (14): 681-694.
- [4] 武晓丹,金哲雄,宛春雷,等. 仙鹤草醋酸乙酯有效部位体外诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡及其机制研究 [J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(2): 119-122.
- [5] Wang Y, Zhang B. Bcl-xl prevents staurosporine- induced hepatocyte apoptosis by restoring protein kinase B/mitogen-activated protein kinase activity and mitochondria integrity [J]. *Cell Physiol*, 2008, 215(3): 676-683.
- [6] Caroppi P, Sinibaldi F. Apoptosis and human diseases: mitochondrion damage and lethal role of released cytochrome C as proapoptotic protein [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(31): 4058-4065.
- [7] 史洪涛,李 陶,陈东风,等. 线粒体—细胞色素 C 途径在非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞凋亡中的作用 [J]. *重庆医学*, 2007, 36(8): 701-703.
- [8] 唐美岸,何振华. 线粒体在肺纤维化发病机制中的作用及进展 [J]. *中国实用医药*, 2010, 5(2): 241-243.
- [9] 陈德昌,李红江,乔 林,等. 大黄对创伤后脓毒症大鼠肝细胞线粒体功能的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2002, 9(1): 9-11.
- [10] 杨宝山,马英骥,陈立艳,等. 复方甘草酸苷对小鼠暴发性肝功能衰竭保护作用及机制研究 [J]. *中华传染病杂志*, 2005, 23(1): 19-23.
- [11] Wu X D, Zhang L Y, Gurley E, et al. Prevention of free fatty acid-Induced hepatic lipotoxicity by 18-glycyrrhetic acid through lysosomal and mitochondrial pathways [J]. *Hepatology*, 2008, 47(6): 1905-1915.
- [12] 陈 淼,田德英,陈安群,等. 促凋亡蛋白 Smac 和 Caspase 9 在内毒素诱导体外肝细胞凋亡 [J]. *临床基础*, 2008, 25(10): 709-711.
- [13] 张 卓,罗云萍. 增强凋亡的哺乳动物新型线粒体蛋

- 白质-Smac/Diablo [J]. 生命的化学, 2003, 23(6): 419-421.
- [14] Wang X Y, Cai S G, Wu Y F, *et al.* Inhibition of emodin on LPS-induced nitric oxide generation by suppressing PLC- γ phosphorylation in rat peritoneal macrophages [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(3): 189-194.
- [15] 王春光, 刘北忠, 金丹婷, 等. 大黄素对裸鼠体内 K562 细胞移植瘤的抑制作用及其与调控 Caspase-3 和 Caspase-9 表达的关系 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 751-756.
- [16] Vanloo G, Vangurp M, Depuydt B, *et al.* The serine protease Omi/HtrA2 is released from mitochondria during apoptosis Omi/interacts with caspase-inhibitor XIAP and induces enhanced caspase activity [J]. *Cell Death Differ*, 2002, 9(1): 20-26.
- [17] 李向利, 丰平, 刘树红, 等. 槲芪散及其君药槲寄生对肝癌前病变线粒体和相关凋亡蛋白酶表达的影响 [A]. 中华中医药学会全国第十四次肝胆病学术会议论文汇编 [C]. 上海: 中华中医药学会, 2010.
- [18] Suzuki Y, Takabashi-Niki K, Akagi T, *et al.* Mitochondrial protease Omi/HtrA2 enhances caspase activation through multiple pathways [J]. *Cell Death Differ*, 2004, 11: 208-216.
- [19] 左国营, 李正全, 陈丽蓉, 等. 黑蕊虎耳草中岩白菜素没食子酸酯类及其对丙型肝炎丝氨酸蛋白酶的抑制作用 [J]. 云南植物研究, 2007, 29(4): 486-488.
- [20] 李密. 大黄素对 CBRH-7919 细胞凋亡及凋亡诱导因子-核酸内切酶 G mRNA 表达的影响 [D]. 长沙: 中南大学, 2009.
- [21] Gulluzzi L, Joza N, Tasdemir E, *et al.* No death without life: vital functions of apoptotic effectors [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(7): 1113-1123.
- [22] Susin S A, Lorenato H K, Zamzami N, *et al.* Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor [J]. *Nature*, 1999, 67(18): 441-446.
- [23] Wong W W, Puthalakath H. Bcl-2 family proteins: the sentinels of the mitochondrial apoptosis pathway [J]. *IUBMB Life*, 2008, 60(6): 390-397.
- [24] 张玥, 周植星, 江振洲, 等. 治疗慢性乙型肝炎的核苷类药物研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(2): 120-124.
- [25] Qian T, Nieminen A L, Herman B, *et al.* Mitochondrial permeability transition in pH-dependent reperfusion injury to rat hepatocytes [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: 1783-1792.
- [26] Bras M, Queenan B, Susin S A. Programmed cell death via mitochondria: different modes of dying [J]. *Biochemistry*, 2005, 70(2): 231-239.
- [27] 叶伟东. 肝纤维化大鼠肝脏 Bcl-2、Bax、PCNA 的表达及意义 [A]. 2005 年浙江省感染病、肝病学术会议论文汇编 [C]. 杭州: 浙江省医学会感染病学、肝病学会, 2005.
- [28] Takehara T, Tatsumi T, Suzuki T, *et al.* Hepatocyte-specific disruption of Bcl-XL leads to continuous hepatocyte apoptosis and liver fibrotic responses [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127: 1189-1197.
- [29] Chen Q Y, Lu G H. Curcumin induces mitochondria pathway mediated cell apoptosis in A549 lung adenocarcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(5): 1285-1292.
- [30] 张建军, 何敢想, 张赤志. 茵陈术附汤对阴黄证大鼠细胞凋亡及 Bcl-2 及 Bax 表达的影响 [J]. 中西医结合学报, 2003, 1(2): 116-118.
- [31] 韦新, 梁健, 毛德文, 等. 牛磺酸对大鼠肝细胞凋亡的作用 [J]. 广西医学, 2004, 26(7): 945-946.
- [32] 庆慧, 黄霞, 刘惠霞, 等. 清热祛湿益气方对肝损伤细胞凋亡相关蛋白表达的影响 [J]. 中医杂志, 2009, 50(9): 839-841.
- [33] 毛德文, 邱华, 刘洁. 中草药对肝损伤中肝细胞线粒体的保护机制 [J]. 中国药房, 2005, 16(22): 1745-1747.
- [34] 蒋树林, 姚希贤, 吕涛. 丹参抑制大鼠肝纤维化线粒体脂质过氧化 [J]. 世界华人消化杂志, 2002, 10(11): 1253-1256.
- [35] 吴东方, 彭仁秀, 叶丽萍, 等. 水飞蓟素对小鼠肝细胞微粒体及线粒体膜流动性的影响 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9): 870.
- [36] 鹿中华, 王锦权, 陶晓根, 等. 川芎嗪对脓毒症大鼠肝细胞线粒体保护作用的实验研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(2): 85-88.
- [37] 季宇彬, 刘光达, 于蕾, 等. 野西瓜正丁醇萃取物对 HepG2 细胞线粒体膜电位和 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(增刊): 216-218.
- [38] 魏常胜, 王宇, 薛建国, 等. 丹柴四君子汤对大鼠肝硬化中肝线粒体保护作用的实验研究 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2004, 10(9): 623.