

氧化苦参碱对 TGF- β 1 诱导的 PANC-1 细胞 Smad3/Gli1 通路相关因子表达的影响

李嫚华^{1,2}, 许威², 张青², 向晓辉^{2*}, 夏时海^{2*}

1. 锦州医科大学武警后勤学院附属医院 研究生培养基地, 辽宁 锦州 121000

2. 武警后勤学院附属医院 消化二科/肝胆胰脾中心, 天津 300162

摘要: 目的 研究氧化苦参碱(OM)对接受转化生长因子- β 1(TGF- β 1)刺激的人胰腺导管癌 PANC-1 细胞中 Smad3/Gli1 通路相关因子表达的影响。方法 以 TGF- β 1 刺激 PANC-1 细胞模拟胰腺纤维化模型,并观察给予 OM 干预对 Smad3/Gli1 通路相关因子表达的影响。通过细胞转染技术将 Gli1 及 Smad3 的 RNA 干扰质粒转染入 PANC-1 细胞;通过 Western blotting 技术检测 Smad3、Gli1 和 α -SMA 的蛋白表达,ELISA 技术检测纤连蛋白(FN)和 I 型胶原(CoL-I)在细胞培养上清中的表达。结果 与对照组相比,PANC-1 细胞接受 TGF- β 1 刺激后 Smad3、Gli1 和 α -SMA 的蛋白表达显著升高;与 TGF- β 1 组相比,OM 和 TGF- β 1 共同处理组 Smad3、Gli1 和 α -SMA 的蛋白表达显著降低。转染 Smad3 干扰质粒后,Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达显著下降。与 TGF- β 1 组比较,转染 Gli1 干扰质粒后加 TGF- β 1 组 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达显著降低。结论 OM 可能通过调节 PANC-1 细胞 TGF- β 1/Smad3/Gli1 通路发挥抗胰腺纤维化作用。

关键词: 氧化苦参碱;胰腺纤维化;PANC-1 细胞;TGF- β 1/Smad3/Gli1 信号通路;纤连蛋白;I 型胶原

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)24-5200-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.022

Effects of oxymatrine on expression of related molecules in Smad3/Gli1 signaling pathway in PANC-1 cells induced by TGF- β 1

LI Man-hua^{1,2}, XU Wei², ZHANG Qing², XIANG Xiao-hui², XIA Shi-hai²

1. Postgraduate Training Base in Affiliated Hospital of Logistics University of People's Armed Police Force, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China

2. Department of Hepatopancreatobiliary and Splenic Medicine, Affiliated Hospital, Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of oxymatrine (OM) on expression of related molecules in Smad3, Gli1 signaling pathway in PANC-1 cells induced by TGF- β 1. **Methods** TGF- β 1-induced PANC-1 cells were used to establish the pancreatic fibrosis model *in vitro*, and observe the effects of OM pretreatment on the related molecular expression of Smad3/Gli1. Gli1 and Smad3 RNA interference plasmids were transfected into PANC-1 cells. The protein expression levels of Smad3, Gli1 and α -SMA were measured by Western blotting. The levels of fibronectin (FN) and type I collagen (CoL-I) in the supernatant of cell culture were detected by ELISA. **Results** Compared with the control group, the protein expressions of Smad3, Gli1 and α -SMA increased significantly in PANC-1 cells after treated with TGF- β 1. The expressions of Gli1, α -SMA, FN, and CoL-I in PANC-1 cells decreased significantly after Gli1 RNA interference plasmid transfection compared with TGF- β 1 induced group. The expression of Smad3, Gli1, α -SMA, FN, and CoL-I also decreased significantly in PANC-1 cells after Smad3 RNA interference plasmid transfection compared with TGF- β 1 group. **Conclusion** OM could prevent pancreatic fibrosis by regulating TGF- β 1/Smad3/Gli1 signaling pathway in PANC-1 cells.

Key words: oxymatrine; pancreatic fibrosis; PANC-1 cells; TGF- β 1/Smad3/Gli1 signaling pathway; fibronectin; type I collagen

胰腺纤维化是慢性胰腺炎、胰腺癌等胰腺疾病的共同病理生理过程^[1-2],控制胰腺纤维化的病程进

展,对于治疗慢性胰腺炎和胰腺癌等疾病具有重要意义,但至今胰腺纤维化具体分子机制尚不清楚。

收稿日期: 2017-06-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81500489);天津市自然科学基金联合资助青年项目(15JCQNJC45600);武警后勤学院附属医院种子基金重点项目(FYZ201508)

作者简介: 李嫚华(1990—),女,河北保定人,硕士。Tel: 15712519617 E-mail: lmh910924@163.com

*通信作者 夏时海 E-mail: xshhc@sina.com

向晓辉 E-mail: xiaohuixiang@163.com

转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 是目前已知的最强效的致纤维化细胞因子。TGF- $\beta 1$ 的生物学功能通过其受体 TGF- β 受体和下游的信号转导因子 Smad 蛋白实现^[3]。因此,接受 TGF- $\beta 1$ 刺激的人胰腺导管癌细胞株 PANC-1 常被用于体外模拟胰腺纤维化模型。近年研究发现, Hedgehog/Gli 信号通路参与胰腺纤维化过程^[4-6]。Gli 还可以经其他信号通路激活,其中最重要的就是 TGF- $\beta 1$ /Smad 信号通路。

本课题组前期以胰腺星状细胞为研究对象,证实氧化苦参碱 (oxymatrine, OM) 对 TGF- $\beta 1$ 介导的胰腺纤维化过程存在干预作用,这一作用可能是通过 TGF- $\beta 1$ 受体下游的信号转导因子 Smad 蛋白实现的^[7]。Gli 通路被认为参与器官纤维化过程,在 PANC-1 细胞存在 Gli1 通路的表达,但 Gli1 通路在 PANC-1 细胞的作用及其机制尚不清楚。为此,本实验拟利用体外 PANC-1 细胞实验,探索在胰腺纤维化过程中 OM 对 TGF- $\beta 1$ 诱导的 PANC-1 细胞 Smad3/Gli1 通路相关分子表达的影响,阐明 OM 干预胰腺纤维化的机制。

1 材料

1.1 细胞株

人胰腺导管癌细胞株 PANC-1 购自中国科学院上海生命科学院细胞资源中心 (传代数为 50 代)。

1.2 药品与试剂

青链霉素混合液 (Solarbio 公司); 胎牛血清 (Gibco 公司); DMEM 培养基购自 HyClone 公司,用于细胞常规培养; TGF- $\beta 1$ (批号 ab155613) 购自 Sigma 公司; OM 购自 Sigma 公司 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 ab143141, 厂家 Abcam 公司); Gli1 (批号 25733-1-AP) 购自 Proteintech 公司,单克隆抗体按照 1:500 的效价用 TBST 液配制; α -平滑肌动蛋白 (α -SMA, 批号 55137-1-AP, Proteintech 公司), 单克隆抗体按照 1:1 000 的效价用 TBST 液配制; β -actin (批号 6008-1-Ig, Proteintech 公司), 单克隆抗体按照 1:1 000 的效价用 TBST 液配制; 山羊抗兔二抗 (批号 SA00001-2, Proteintech 公司), 按照 1:10 000 的效价用 TBST 液配制; 山羊抗小鼠二抗 (批号 SA00001-1, Proteintech 公司); ECL 显色试剂盒购自沈阳万类公司 (批号 16060320, Wanleibio 公司); BCA 蛋白定量试剂盒购自北京鼎国昌盛技术有限责任公司 (批号 PC0001, Solarbio 公司); 转染试剂购于 Roche 公司 (批号 11062400e); Smad3 干扰质粒购于 GenePharma 公司 (批号

A5092); Gli1 干扰质粒购于 GenePharma 公司 (批号 A6812)。

2 方法

2.1 TGF- $\beta 1$ 、OM 处理细胞

PANC-1 细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基、37 °C、相对湿度为 95% 的 5%CO₂ 孵育箱常规培养后,用 0.25% 胰酶消化,铺种到 6 孔板里,十字摇匀,待细胞生长面积达 70%~80%,细胞饥饿 4 h。将细胞分为对照组 (常规培养)、TGF- $\beta 1$ 组、TGF- $\beta 1$ +OM 组、OM 组。在 4 孔中分别加入相应的 TGF- $\beta 1$ (10 ng/mL)、OM (10 μ g/mL), 12 h 后提取蛋白。

2.2 干扰质粒

2.2.1 构建 Smad3、Gli1 干扰质粒 根据 GenBank 报告的 Smad3 cDNA 全长序列 (NM-005902.3)、Gli1 cDNA 全长序列 (NM-001160045.1), 各设计 2 组 shRNA (分别命名为 Smad3-682、Smad3-1113 和 Gli1-1091、Gli1-2244)。Smad3-682 靶序列: 5'-GAGAGTAGAG-ACCGTTCT-3', 正义链: 5'-CACCGAGAGTAGAGACACCAAGTTCTTTCAAG-AGAAGAACTGGTGTCTCTACTCTCTTTTTTTG-3'; 反义链: 5'-GATTCATATTACCCCTTTTATTTTGC-CCGTCCTTAAGGACTTACCATTGGACTTTCAAG-CGC-3'; Smad3-1113 靶序列: 5'-GGCTGCTC-TCCAATGTCAACA-3', 正义链: 5'-CACCGGC-TGCTCTCCAATGTCAACATTCAAGAGATGTTG-ACATTGGAGAGCAGAATTTTTTTG-3', 反义链: 5'-GATCCAAAAAAGGCTGCTCTCCAATGTCAA-CATCTCTTGAATGTTG-ACATGACATTGGAGAG-CAGCC-3'; Gli1-1091 靶序列: 5'-GCAGTAAAG-CCT-TCAGCAATG-3', 正义链: 5'-CACCG-CAGTAAAGCCTTCAAGAGACATTGCTGAAGGC-TTTACTGCTTTTTTTG-3', 反义链: 5'-GATCCAAA-AAAGCAGTAAAGCCTTCAGCAATGTCTCTTGA-ACATTGCTGAAGGCTTTACTGC-3'; Gli2244 靶序列: 5'-GGACTTCCCACCTACTGATAC-3', 正义链: 5'-CACCGGACTTCCCACCTACTGATACTTCAAG-AGAGTATCAGTAGGTGGGAAGTCCTTTTTTTG-3', 反义链: 5'-GATCCAAAAAAGGACTTCCCACC-TACTGATACTCTTGAAGTATCAGTAGGTGGG-AAGTCC-3'。

pGPU6/GFP/Neo-shRNA 载体的构建按照如下体系进行: 10 $\times$ T4 Ligation Buffer 4 μ L,

pGPU6/GFP/Neo (Bbs I+BamH I) 1 μ L, shRNA 模板 1 μ L, T4 DNA 连接酶 0.5 μ L, ddH₂O 11.5 μ L, 22 $^{\circ}$ C、1 h。每个连接反应挑取 6 个菌落, 接种到含 50 μ g/mL Kanamycin 的 LB 培养基中。使用碱裂解法抽提质粒, 所得质粒用 BamH I、Pst I 分别酶切鉴定。

2.2.2 Smad3、Gli1 干扰质粒转染细胞 取 PANC-1 细胞铺 6 孔板, DMEM 培养基常规培养, 待细胞生长面积至 70%~80%。在 200 μ L/孔的 DMEM 无血清培养基中加入 shRNA, 柔和混匀。加入转染试剂, 柔和混匀, 静置 15~20 min。将上述 3 种混合物加到含有细胞和培养基的空皿中, 摇匀, 4~6 h 后更换培养基。24~36 h 后进行转染后蛋白检测。

2.3 Western blotting 测定 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达

取 6 孔板 PANC-1 细胞加适量预冷的蛋白裂解液 RIPA, 匀浆, 12 000 r/min 离心 15 min, 上清转入新管, BCA 法测定蛋白的量, 用三蒸水调至等浓度, 加 6 $\times$ SDS 上样缓冲液, 沸水浴 5 min 备用。以 β -actin 为内参, 8% SDS-PAGE 电泳分离后, 电转至 PVDF 膜上。PVDF 膜经封闭液封闭 3 h 后, 分别加入小鼠抗人 Smad3、Gli1、 α -SMA 单克隆抗体作为一抗, 4 $^{\circ}$ C 过夜。用辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠作为二抗, 室温结合 3 h。TBST 缓冲液洗涤后, 加入化学发光剂, ECL 发光法检测蛋白表达, 采用 ImageJ 图像分析系统进行灰度分析。

2.4 ELISA 法测定纤连蛋白 (FN) 和 I 型胶原 (Col-I) 在细胞培养上清的表达

取 6 孔板细胞培养上清, 2 000 r/min, 离心 20 min, 收集上清。标准品孔分别加入稀释至浓度为

48、24、12、6、3、0 ng/mL 各 50 μ L, 样品孔加样 50 μ L。标准品孔、样品孔均加入生物素抗原工作液 50 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 洗涤。标准品孔、样品孔均加入亲和素-HRP, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 洗涤。加入显色剂 A、B 各 50 μ L, 37 $^{\circ}$ C, 避光显色 10 min。每孔均加入终止液 50 μ L, 终止反应。450 nm 波长依序测量各孔的吸光度。根据浓度和吸光度值算出标准曲线的回归方程, 通过标本的吸光度值在标准曲线上计算其浓度。

2.5 统计学处理

实验结果计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 GraphPad Prism 6 统计学软件分析处理数据结果, 多组间比较使用单因素方差分析。

3 结果

3.1 OM 对 TGF- β 1 诱导的 PANC-1 细胞中 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达的影响

与对照组比较, TGF- β 1 组 PANC-1 细胞 Smad3、Gli1 和 α -SMA 的蛋白表达量显著增多 ($P < 0.05$)。与 TGF- β 1 组比较, PANC-1 细胞给予 OM 后可显著地抑制 TGF- β 1 刺激引起的 Smad3、Gli1 和 α -SMA 的蛋白表达量升高 ($P < 0.05$)。结果见图 1。结果表明 PANC-1 细胞受到 TGF- β 1 刺激后 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达量显著增加, 提示 TGF- β 1 通过 Smad3 和 Gli1 促进纤维化发生。OM 对 TGF- β 1 刺激的 PANC-1 细胞中 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达起到抑制作用, 提示 OM 可能通过 TGF- β 1/Smad3/Gli1 信号通路发挥抗纤维化作用。

3.2 Smad3 干扰质粒抑制 TGF- β 1 诱导的 PANC-1 细胞中 Smad3、Gli1、 α -SMA、FN 和 Col-I 的表达

PANC-1 细胞分为 4 组: shNC 组 (未转染对照)、

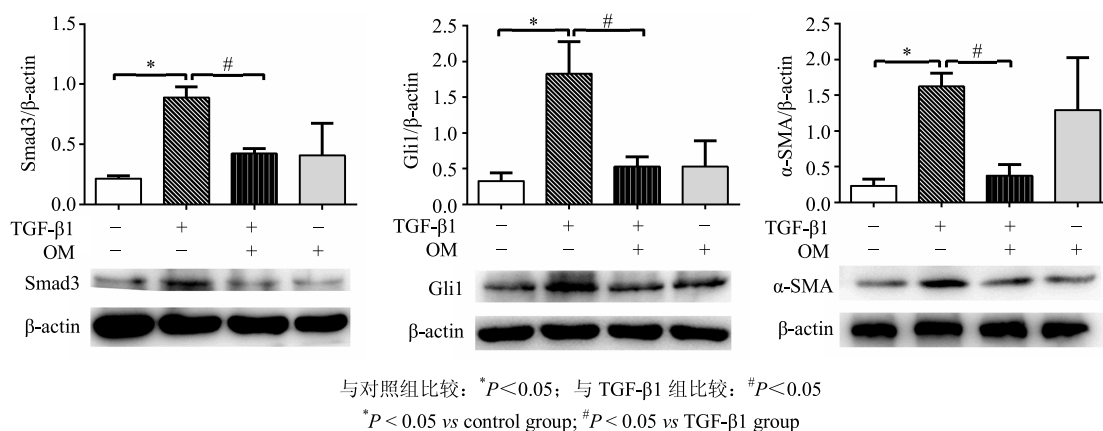
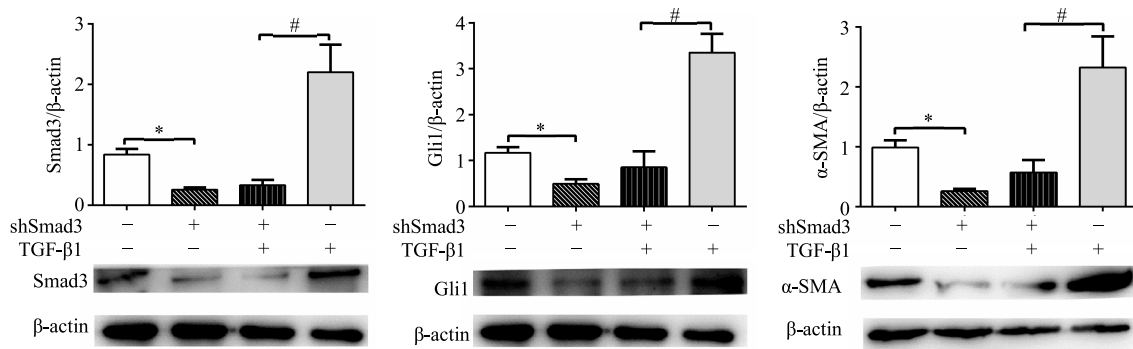


图 1 OM 对 TGF- β 1 诱导的 PANC-1 细胞中 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 1 Effects of OM on protein expression of Smad3, Gli1, and α -SMA in PANC-1 cells induced by TGF- β 1 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

shSmad3 组、shSmad3+TGF- β 1 组、TGF- β 1 组。PANC-1 细胞转染 Smad3 干扰质粒后,与 shNC 组相比 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$)。shSmad3+TGF- β 1 组与 TGF- β 1 组比较 Smad3、Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$)。如图 2 和 3 所示,结果提示,Smad3 干扰质粒对 PANC-1 细胞中 Gli1 基础表达水平起到

抑制作用,对于接受 TGF- β 1 刺激的 PANC-1 细胞中 Gli1 表达起到抑制作用,由此推测 Gli1 可能位于 Smad3 下游。Smad3 干扰质粒对 PANC-1 细胞中 α -SMA、FN 和 CoL-I 基础表达水平起到抑制作用;对于接受 TGF- β 1 刺激的 PANC-1 细胞中 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达起到抑制作用,由此推测,特异性抑制 Smad3 对于纤维化可能起到抑制作用。



与 shNC 组比较: * $P < 0.05$; 与 TGF- β 1 组比较: # $P < 0.05$, 图 3 和 4 同

* $P < 0.05$ vs shNC group; # $P < 0.05$ vs TGF- β 1 group, Fig.3 and 4 are same

图 2 Smad3 干扰质粒对 TGF- β 1 诱导的 PANC-1 细胞中 Smad3、Gli1、 α -SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effects of Smad3 RNA interference plasmid on protein expression of Smad3, Gli1, and α -SMA in PANC-1 cells induced by TGF- β 1 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

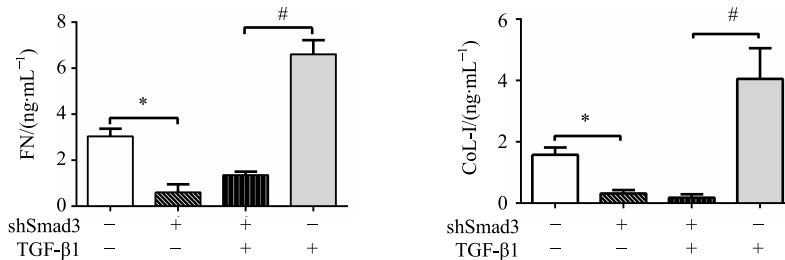


图 3 Smad3 干扰质粒对 TGF- β 1 诱导的 PANC-1 细胞培养上清液中 FN 和 CoL-I 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effects of Smad3 RNA interference plasmid on levels of FN and CoL-I in PANC-1 cell culture supernatant induced by TGF- β 1 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.3 Gli1 干扰质粒对 TGF- β 1 刺激的 PANC-1 细胞中 Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达的影响

PANC-1 细胞分为 4 组: shNC 组(未转染对照)、shGli1 组、shGli1+TGF- β 1 组、TGF- β 1 组。PANC-1 细胞转染 Gli1 干扰质粒后,与 shNC 组相比 Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达显著下降 ($P < 0.05$)。shGli1+TGF- β 1 处理组与 TGF- β 1 组比较 Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达显著下降 ($P < 0.05$)。如图 4 所示,结果提示, Gli1 干扰质粒对 PANC-1 细胞中 Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 基础表达水平起到抑制作用;对于接受 TGF- β 1 刺激的 PANC-1 细胞中 Gli1、 α -SMA、FN 和 CoL-I 表达起到抑制作

用。由此推测,特异性抑制 Gli1 对于纤维化可能起到抑制作用。

4 讨论

胰腺纤维化是各种原因所致慢性胰腺炎及胰腺癌结缔组织增生的共同病理特征^[8]。因此,胰腺癌细胞具有胰腺纤维化的一些标志物, α -SMA 和细胞外基质 (ECM) 是纤维化的重要特征^[9]。PANC-1 细胞具有胰腺纤维化标志物: FN 和 Col^[10-11]。本实验中, PANC-1 细胞经 TGF- β 1 处理后 α -SMA 显著升高,提示 PANC-1 细胞向成纤维细胞的转变。本实验中,OM 和 TGF- β 1 共处理组与 TGF- β 1 组相比, Smad3、Gli1 和 α -SMA 表达显著降低。说明胰腺纤

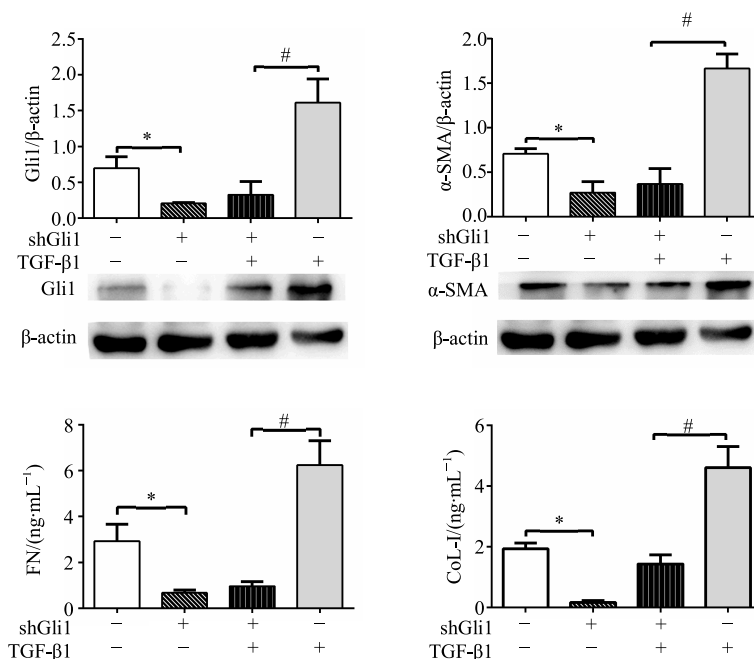


图4 Gli1 干扰质粒对 TGF-β1 诱导的 PANC-1 细胞中 Gli1 和 α-SMA 蛋白表达以及上清液中 FN 和 CoL-I 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
 Fig. 4 Effects of Gli1 RNA interference plasmid on protein expression of Gli1 and α-SMA, levels of FN and CoL-I in PANC-1 cell culture supernatant induced by TGF-β1 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

维化过程中 OM 对 TGF-β1 诱导的 PANC-1 细胞 Smad3/Gli1 通路相关分子表达存在干预作用。

胰腺纤维化是在多种转录因子参与下发生、发展的,其中 TGF-β1 是胰腺纤维化中最为重要的促纤维化因素,TGF-β1/Smad3 是最为经典的信号通路。González 等^[12]用 L-精氨酸诱导大鼠慢性胰腺炎模型,组织病理显示胰腺组织发生明显的纤维化,模型组 α-SMA、FN 和 Col 表达显著高于对照组;研究者发现模型组血清中 TGF-β1、发生纤维化胰腺组织中 Smad3 表达量明显高于对照组。本实验使用外源性的 TGF-β1 诱导,α-SMA 表达显著升高,提示细胞纤维化的发生;Smad3 表达显著升高,说 TGF-β1/Smad3 信号通路启动,并参与到纤维化过程。转染 Smad3 干扰质粒后可以明显抑制 TGF-β1 刺激 PANC-1 细胞中 α-SMA、FN 和 CoL-I 表达升高。

Hedgehog/Gli 信号通路参与胚胎发育、毛发周期和多种肿瘤的发生,参与到多种器官纤维化^[13-15],在胰腺纤维化中同样起到十分重要的作用。Wang 等^[16]通过二丁基二氯化锡 (DDC) 诱导大鼠慢性胰腺炎模型,模型组 Gli1 的蛋白、RNA 表达明显高于对照组。Jung 等^[17]通过转基因技术使得 Ihh、Shh 在斑马鱼中过表达,诱导胰腺发生纤维化,同时 Gli1 表达显著升高。Tsang 等^[18]通过蛙皮素诱导大

鼠慢性胰腺炎模型,与对照组比较,模型组 Gli1 的表达显著升高,给予大黄酸 (Rhein) 治疗组大鼠纤维化程度显著改善,胰腺组织 Gli1 表达显著下降。以上研究提示 Gli1 参与到胰腺纤维化过程。在本实验中,使用外源性 TGF-β1 诱导 PANC-1 细胞后 Gli1 表达显著升高;转染 Gli1 干扰质粒后可以明显抑制 TGF-β1 刺激 PANC-1 细胞中 α-SMA、FN 和 CoL-I 表达升高,提示特异性抑制 Gli1 可能抑制细胞纤维化的发生。

Dennler 等^[19]对持续表达 TGF-β1 的 K5-TGF-β1 小鼠敲除 Smad3 基因,检测 Gli1 表达明显下降。在本实验中,转染 Smad3 干扰质粒后可使 TGF-β1 诱导 PANC-1 细胞中 Gli1 表达明显降低,提示 Gli1 可能位于 Smad3 的下游,在 PANC-1 细胞中,TGF-β1 通过 Smad3 影响到 Gli1 促纤维化作用的发挥。

研究结果表明,OM 有较强的抗肝纤维化、抗特异性肺间质纤维化、抗肾纤维化、和抗皮肤纤维化作用^[20-22]。陈源文等^[23]通过对接受 TGF-β1 刺激肝星状细胞给予 OM 干预发现,OM 组中 TGF-β1、TβRI、TβR II 和 Smad3 表达显著低于 TGF-β1 组,说明 OM 能抑制纤维化关键因子 TGF-β1 表达,发挥抗纤维化作用。前期研究也发现 OM 有抗胰腺纤维化的作用^[7]。本实验中 OM 对接受 TGF-β1 刺激

的 PANC-1 细胞中 Smad3、Gli1 和 α -SMA 蛋白表达起到抑制作用。由此提示, OM 可能通过 TGF- β 1/Smad3/Gli1 信号通路发挥抗纤维化作用。本研究为揭示 OM 的抗胰腺纤维化机制提供参考, 值得进一步深入研究。

志谢: 武警后勤学院张文成教授对文章给予悉心指导。

参考文献

- [1] Shi C, Washington M K, Chaturvedi R, *et al.* Fibrogenesis in pancreatic cancer is a dynamic process regulated by macrophage-stellate cell interaction [J]. *Lab Invest*, 2014, 94(4): 409-421.
- [2] Gao X, Cao Y, Staloch D A, *et al.* Bone morphogenetic protein signaling protects against cerulein-induced pancreatic fibrosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89114.
- [3] 孙玉凤, 李媛, 李风华, 等. 鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠 TGF- β 1/samd 信号通路的影响 [J]. *中草药*, 2013, 44(23): 3364-3367.
- [4] Bhanot U K, Möller P. Mechanisms of parenchymal injury and signaling pathways in ectatic ducts of chronic pancreatitis: implications for pancreatic carcinogenesis [J]. *Lab Invest*, 2009, 89(5): 489-497.
- [5] Zhou X, Liu Z, Jang F, *et al.* Autocrine Sonic hedgehog attenuates inflammation in cerulein-induced acute pancreatitis in mice via upregulation of IL-10 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e44121.
- [6] Mathew E, Collins M A, Fernandez-Barrena M G, *et al.* The transcription factor GLI1 modulates the inflammatory response during pancreatic tissue remodeling [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(40): 27727-27743.
- [7] 陈凯, 荣亚梅, 曹卫丽, 等. 氧化苦参碱对 TGF- β 1 刺激的胰腺星状细胞 Smad 通路相关因子表达的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(12): 1883-1889.
- [8] Patel M, Fine D R. Fibrogenesis in the pancreas after acinar cell injury [J]. *Scand J Surg*, 2005, 94(2): 108-111.
- [9] Apte M V, Haber P S, Darby S J, *et al.* Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: Implications for pancreatic fibrogenesis [J]. *Gut*, 1999, 44(4): 534-541.
- [10] Tsang S W, Bian Z X. Anti-fibrotic and anti-tumorigenic effects of rhein, a natural anthraquinone derivative, in mammalian stellate and carcinoma cells [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(3): 407-414.
- [11] Tsang S W, Zhang H J, Chen Y G, *et al.* Eruberin A, a natural flavanol glycoside, exerts anti-fibrotic action on pancreatic stellate cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(6): 2433-2446.
- [12] González A M, Garcia T, Samper E, *et al.* Assessment of the protective effects of oral tocotrienols in arginine chronic-like pancreatitis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 301(5): G846-G855.
- [13] Kramann R, Schneider R K, DiRocco D P, *et al.* Perivascular Gli1+ progenitors are key contributors to injury-induced organ fibrosis [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(1): 51-66.
- [14] Kumar V, Mondal G, Dutta R, *et al.* Co-delivery of small molecule hedgehog inhibitor and miRNA for treating liver fibrosis [J]. *Biomaterials*, 2016, 76: 144-156.
- [15] Schneider R K, Mullally A, Dugourd A, *et al.* Gli1 (+) mesenchymal stromal cells are a key driver of bone marrow fibrosis and an important cellular therapeutic target [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(6): 785-800.
- [16] Wang L W, Lin H, Lu Y, *et al.* Sonic hedgehog expression in a rat model of chronic pancreatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(16): 4712-4717.
- [17] Jung I H, Jung D E, Park Y N, *et al.* Aberrant Hedgehog ligands induce progressive pancreatic fibrosis by paracrine activation of myofibroblasts and ductular cells in transgenic zebrafish [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e27941.
- [18] Tsang S W, Zhang H, Lin C, *et al.* Rhein, a natural anthraquinone derivative, attenuates the activation of pancreatic stellate cells and ameliorates pancreatic fibrosis in mice with experimental chronic pancreatitis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82201.
- [19] Dennler S, André J, Alexaki I, *et al.* Induction of sonic hedgehog mediators by transforming growth factor-beta: Smad3-dependent activation of Gli2 and Gli1 expression *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(14): 6981-6986.
- [20] Fu L, Xu Y, Tu L, *et al.* Oxymatrine inhibits aldosterone-induced rat cardiac fibroblast proliferation and differentiation by attenuating smad-2, -3 and -4 expression: An *in vitro* study [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1): 241.
- [21] Yang J, Hou Y, Ji G, *et al.* Targeted delivery of the RGD-labeled biodegradable polymersomes loaded with the hydrophilic drug oxymatrine on cultured hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 52(1): 180-190.
- [22] Zhao H W, Zhang Z F, Chai X, *et al.* Oxymatrine attenuates CCl₄-induced hepatic fibrosis via modulation of TLR4-dependent inflammatory and TGF- β 1 signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 36: 249-255.
- [23] 陈源文, 吴建新, 陆汉明. 氧化苦参碱对转化生长因子- β 1 促肝星状细胞活化及跨膜信号转导影响 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2005, 14(1): 31-35.