樟芝提取物 Fr.3 抑制 TGF-β1 诱导的肝纤维化机制

孙 青[1]，耿 燕[*1]，杜 妍[1]，许正宏[1,2]
（1. 江南大学 药学院，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214122）

摘要：探讨樟芝菌丝体正己烷提取物 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的肝星状细胞（CFSC-8B）活化的影响及作用机制。采用 TGF-β1 诱导 CFSC-8B 活化，通过 MTT、WST-1、小室迁移、qRT-PCR 及 western blotting 法检测 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导后的 CFSC-8B 细胞增值、迁移及细胞外基质的变化，并研究了其对 TGF-β1 介导的 Smad、PI3K、MAPK 信号通路中相关蛋白质表达的影响。Fr.3 组分的 IC_{50} 值为 54.56 μg/mL；在细胞存活率 80%以上范围内，Fr.3 组分（<20 μg/mL）可显著抑制 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞增值及迁移、明显下调 ECM 中的相关基因的表达水平及降低 α-*SMA*、*Col1*、p-Smad2、p-ERK、p-P38 及 p-AKT 的蛋白质表达水平。樟芝菌体正己烷提取物 Fr.3 可通过调控 TGF-β1 介导的 Smad、PI3K、MAPK 信号通路来抑制肝纤维化。

关键词：肝星状细胞；肝纤维化；TGF-β1；樟芝；信号通路
中图分类号：R 285　**文章编号**：1673-1689(2019)03-0054-07　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.03.008

Study of Mechanisms of Extract Fraction 3 from *Antrodia camphorata* Attenuating TGF-β1-Induced Liver Fibrosis

SUN Qing[1]，*GENG Yan*[*1]，*DU Yan*[1]，*XU Zhenghong*[1,2]
（1. School of Pharmaceutical Science，Jiangnan University，Wuxi 214122，China；2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology，Ministry of Education，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract：To investigate the effects of hexane extract fraction 3（Fr.3）from *Antrodia camphorata* on hepatic stellate cells（HSCs）activation induced by TGF-β1，as well as mechanisms of its anti-fibrotic action in vitro. We established a cell model of liver fibrosis by using CFSC-8B stimulated by TGF-β1. Cell proliferation，cell migration，extracellular matrix （ECM）production and protein expression in the TGF-β1 signaling pathways were detected by the MTT，WST-1 assay，cell migration assay，qRT-PCR and western blotting analyses. The IC_{50} value of Fr.3 was 54.56 μg/mL and we found that less than 20 μg/mL of Fr.3 might be safe for CSFC-8B cells. Fr.3 （< 20 μg/mL） significantly inhibited CFSC-8B cell proliferation and migration stimulated by TGF-β1. Fr.3 also

收稿日期：2016-03-09
基金项目：国家自然科学基金项目（31201020）。
* **通信作者**：耿 燕（1984—），女，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事天然药物筛选及分子机制方面的研究。
E-mail：gengyanjnu@163.com
引用本文：孙青，耿燕，杜妍，等. 樟芝提取物 Fr.3 抑制 TGF-β1 诱导的肝纤维化机制[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(03)：54-60.

downregulated α-*SMA*, *Col1*, *Col3* and *Fn* mRNA expression. Mechanistically, Fr.3 blocked TGF-β1 induced protein expression of α-SMA, Col1, p-Smad2, p-ERK, p-P38 and p-AKT. Fr.3 from *A. camphorata* exhibits anti-hepatic fibrosis activity through negatively modulating TGF-β1/Smad/PI3K/MAPK signaling pathways in CFSC-8B cells.

Keywords: hepatic stellate cell, liver fibrosis, TGF-β1, *Antrodia camphorata*, signaling pathways

樟芝(*Antrodia camphorata*),俗称牛樟菇、牛樟芝、红樟芝等,属于担子菌纲、非褶菌目、多孔菌科、薄孔菌属,是一种仅寄生于台湾牛樟树腐朽树干内的珍稀药食用真菌,素有“台湾森林之红宝石”、“灵芝之王”之美誉[1]。在台湾民间,樟芝被用来解酒保肝已有悠久历史,且国内外药理实验表明,樟芝菌丝体及发酵液具有抗肿瘤[2]、抗炎[3]、保肝[4-5]等多种活性。樟芝成分复杂,含有多糖类、三萜类、酚类及琥珀酸类等物质。据文献报道,樟芝中的三萜类物质 Antcin K 可显著抑制肝癌细胞的粘附、迁移、侵袭[6]、琥珀酸衍生物 Antrodin B 具有抗肝纤维化活性[7-8]、Antrodin C 具有抗乳腺癌活性[9]。因此,樟芝具有良好的研究价值及应用前景,尤其是在肝病治疗上。

肝脏是机体重要的器官,具有物质代谢、生物转化、解毒等功能,在受到各种致病因素和刺激因子的侵袭后发生肝脏损伤和炎症反应。肝脏在遭受持续性损伤时会反复自我修复进而形成肝纤维化,主要特征为肝星状细胞(HSCs)的激活以及细胞外基质(ECM)异常积累,特征标志为平滑肌肌动蛋白(α-SMA)。静息状态的 HSCs 是存储脂滴和维生素 A 的主要场所,在活化时脂滴丢失,HSCs 分泌大量的胶原(I,III,IV 型)、纤维连接蛋白(Fn)、透明质酸等[10]。TGF-β1 是刺激肝星状细胞激活进而发生增值和分化的重要细胞因子之一,可以上调 α-SMA 和 ECM 的表达水平[11-13]。TGF-β1 可以激活多个信号通路,参与肝纤维化的发生,如 Smad、PI3K、MAPK 信号通路,调节肝星状细胞的激活、增值、迁移以及凋亡[14-16]。我国是一个肝病高发国家,积极防治肝纤维化能有效降低肝硬化及肝癌发病率。

本课题组前期从樟芝菌体正己烷提取物中经硅胶柱层析分离得到 5 个组分(Fr.1、Fr.2、Fr.3、Fr.4 和 Fr.5),并发现 Fr.2 组分能有效抑制 PDGF-BB 诱导的肝纤维化[7],课题组随后对 Fr.2 组分做了进一步分离及活性分析,发现其抗肝纤维化活性主要来自化合物 Antrodin B[8]。作者主要对 Fr.3 组分抑制 TGF-β1 诱导的肝纤维化活性进行了研究,同时通过检测 ECM 的表达及其相关信号通路中蛋白质表达水平的变化来探究作用机制,为樟芝抗肝纤维化的进一步研究提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验器材

1.1.1 材料与试剂 大鼠肝星状细胞 CFSC-8B:购自中南大学湘雅中心实验室细胞库;TGF-β1:购自美国 PeproTech 公司;RPMI-1640 培养基、胎牛血清(FBS):购自美国 Gibco 公司;胰酶-EDTA 消化液、青霉素-链霉素(100×)、10% SDS、pH 8.8 的 1.5 mol/L Tris-HCl、pH 6.8 的 1 mol/L Tris-HCl:购自碧云天公司;MTT 及 SB431542 [8]:购自美国 Sigma 公司;WST-1 细胞增殖试剂盒、Trizol、FastStart Universal SYBR Green Master、细胞裂解液:购自美国 Roche 公司;MAPK 信号通路中抗体、p-AKT 及 p-Smad2 抗体:购自 Cell Signaling Technology 公司;Collagen I 抗体:购自 Abcam 公司;α-Actin 抗体:购自 Santa Cruz 公司;其他试剂购自国药集团化学有限公司。樟芝菌粉中物质提取方法见文献[7]。

1.1.2 仪器 旋转蒸发仪:德国 Heidolph 公司;中低压柱层析:Grace 公司;Multiskan MK3 型酶标仪:德国 Eppendorf 公司;CO_2 细胞培养箱:Thermo 公司;倒置显微镜:Nikon 公司;RT-PCR 仪、化学发光成像仪:Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 Fr.3 组分的制备方法 3 L 烧杯中加入 500 g 樟芝菌粉与 2.5 L 甲醇混合,室温浸提 12 h,布氏漏斗过滤,重复浸提 3 次,收集澄清的滤液,经旋转蒸发仪旋转蒸发得甲醇提取物;800 mL 去离子水复溶甲醇提取物,等体积与正己烷混合萃取 3 次,收集正己烷相,旋转蒸发后得正己烷提取物;利用中低压柱层析仪分离樟芝正己烷提取物,条件为:40 g

硅胶柱,流速 20 mL/min,检测波长为 254 nm,流动相为正己烷、乙酸乙酯梯度洗脱,在乙酸乙酯洗脱比例为 13%时收集馏分并旋转蒸发得组分 Fraction 3(Fr.3)。

1.2.2 CFSC-8B 细胞培养与传代 培养基:RPMI-1640 培养基+含 10%胎牛血清 (FBS)+1%抗生素(100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素)。

培养条件:置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养。

细胞传代:细胞贴壁生长,长至 80%~90%时胰酶消化,加培养基终止消化后悬浮细胞,接种传代,选取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.3 MTT 法检测 Fr.3 组分作用 CFSC-8B 后细胞活力的影响 胰酶消化对数生长期的细胞后加培养基悬浮,以 5×10^3 个/孔的细胞密度铺于 96 孔板,每孔 100 μL,24 h 后换含有不同质量浓度 Fr.3 组分(0、5、10、20 μg/mL)的培养基作用细胞 24 h,每组 6 个平行,弃去培养液,随后每孔加入含 0.5 mg/mL MTT 的培养基 100 μL,孵育 4 h,弃去废液,每孔再加 150 μL DMSO,用酶标仪在 570 nm 处测 OD 值[8]。

$$细胞存活率=\frac{药物组\ OD\ 值-空白组\ OD\ 值}{对照组\ OD\ 值-空白组\ OD\ 值}\times100\%$$

1.2.4 WST-1 法检测 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞增值 将处于对数生长期的细胞以 5×10^3 个/孔的密度铺于 96 孔板中培养 24 h,用含有体积分数 0.5% FBS 的培养基同步化细胞 24 h,加含不同质量浓度的 Fr.3 组分(0、5、10、20 μg/mL)及 SB431542(2 μmol/L)预作用细胞 1 h,换含有不同质量浓度的 Fr.3 组分,SB431542 及 TGF-β1 培养基共同孵育 24 h,每孔加入 10 μL WST-1 培养 1 h,用酶标仪在 450 nm 处测 OD 值。

$$细胞增值率=\frac{药物组\ OD\ 值-空白组\ OD\ 值}{对照组\ OD\ 值-空白组\ OD\ 值}\times100\%$$

1.2.5 细胞小室迁移实验检测 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8 细胞迁移 取 2×10^5 个/mL 的对数生长期细胞悬液 100 μL,加入 8 μm 孔径的聚碳酸酯微孔滤膜 Transwell 小室(Millipore 公司),小室放入预先加有 500 μL 含 10% FBS 细胞培养基的 24 孔板中。孵育 4~5 h 后,加入不同质量浓度的 Fr.3 及 SB431542(2 μmol/L)预作用 1 h,换含有不同质量浓度的 Fr.3 组分、SB431542 及 TGF-β1 培养基继续培养 24 h。取出滤膜,用棉签擦去上室内表面细胞,用质量分数 4%多聚甲醛固定迁移至滤膜外表面的细胞 30 min,质量分数 0.1%的结晶紫染色,显微镜拍照,用体积分数 33%的醋酸脱色 10 min,洗脱液在酶标仪上于 570 nm 处测定 OD 值,间接反映细胞数。

1.2.6 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的肝纤维化 ECM 相关基因的表达 采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,将 RNA 逆转录为 cDNA,采用 SYBR Green 进行荧光定量 PCR 反应,用 $2^{-\Delta\Delta t}$ 法定量分析 ECM 相关基因的表达水平。相关基因为:*α-SMA*、Collagen I (Col1)、Collagen III (Col3)、*Fibronectin*(Fn)[7]。

1.2.7 蛋白免疫印迹(Western Blotting)法检测 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的相关蛋白的表达的影响 细胞加药作用后,预冷的 PBS 润洗细胞,每皿加入 100 μL 蛋白裂解液(含蛋白酶及磷酸酶抑制剂),在冰上裂解 30 min,将细胞刮下收集于 1.5 mL 离心管中,12 000 *g*,4℃离心 10 min,取蛋白质上清液,BCA 试剂盒测样品的蛋白质浓度。经 10%的 SDS-PAGE 电泳湿法转膜至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭后,分别孵育一抗和二抗,ECL 试剂盒(Thermo)显色拍照,用 Image J 软件分析蛋白质条带灰度值,定量检测 *α-SMA*、*Col1* 以及 Smad、MAPK、PI3K 信号通路相关蛋白质的表达水平。

1.2.8 数据统计 用 One-Way ANOVA 统计学分析实验结果,每组数据以平均值±标准偏差表示。$p<0.05$,与空白对照组相比;极显著水平表示为 $^{***}p<0.001$;与模型组相比,极显著水平表示为 $^{\#\#\#}p<0.001$。

2 结果与分析

2.1 Fr.3 组分体外抗肝纤维化活性评价

2.1.1 Fr.3 组分的制备 樟芝菌粉(500 g)与 2.5 L 甲醇室温浸提 12 h,过滤,重复浸提 3 次,收集滤液旋转蒸发后得到甲醇提取物,以水复溶至 800 mL,与正己烷等体积萃取得正己烷提取物 44.36 g。通过硅胶柱层析法分离樟芝正己烷相,在乙酸乙酯洗脱比例为 13%时收集馏分得组分 Fraction 3 (Fr.3) 共 2.2 g,在樟芝菌粉中的得率为 0.64%,Fr.3 组分为黄色油状物,溶于甲醇。

2.1.2 Fr.3 组分对 CFSC-8B 细胞活力的影响 将不同质量浓度的 Fr.3 组分(3、6、10、15、20、30、60

μg/mL)与 CFSC-8B 细胞共孵育 24 h,利用 MTT 方法检测细胞存活率。如图 1 所示,Fr.3 组分在低于 20 μg/mL 时对 CFSC-8B 细胞无明显毒性,细胞存活率均在 80%以上,但在高质量浓度 60 μg/mL 的 Fr.3 作用下,CFSC-8B 细胞存活率显著被抑制,抑制率达到 72.75%,有明显的毒副作用,Fr.3 组分的 IC_{50} 值为 54.56 μg/mL。因此,选择 Fr.3 组分作用质量浓度在 0~20 μg/mL 时与 CFSC-8B 细胞孵育 24 h 进行后续研究。

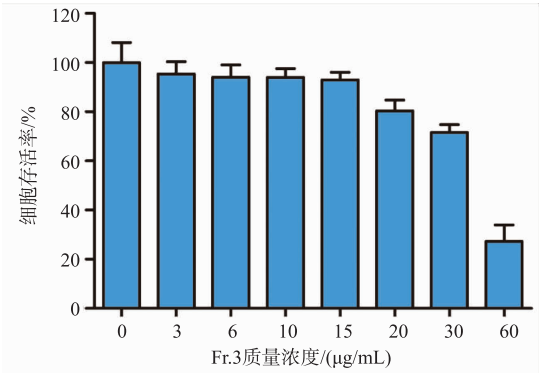
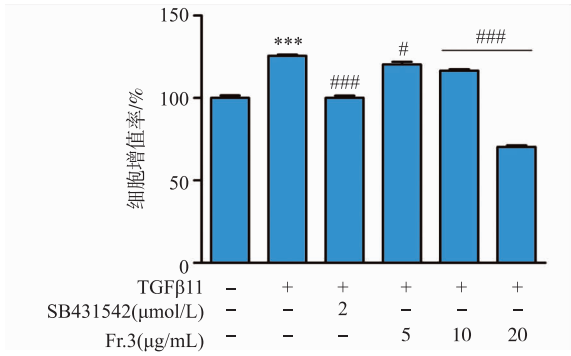


图 1 Fr.3 对 CFSC-8B 细胞存活率的影响

Fig. 1 Effect of Fr.3 on cell viability in CFSC-8B cells

2.1.3 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞迁移及细胞增值的影响 Geng 等通过实时荧光定量和蛋白免疫印迹法确定 TGF-β1 活化 CFSC-8B 细胞的最佳作用质量浓度和时间分别为 10 ng/mL 和 24 h[8]。在此基础上通过 WST-1 法检测 Fr.3 组分(0、5、10、20 μg/mL)作用于 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞后,其细胞增值活性的变化见图 2。TGF-β1 显著诱导细胞增值,Fr.3 作用后可以显著抑制 TGF-β1 诱导的增值作用(###p<0.001)。



与对照组相比,***p<0.001;与 TGF-β1 诱导组相比,###p<0.001,#p<0.05

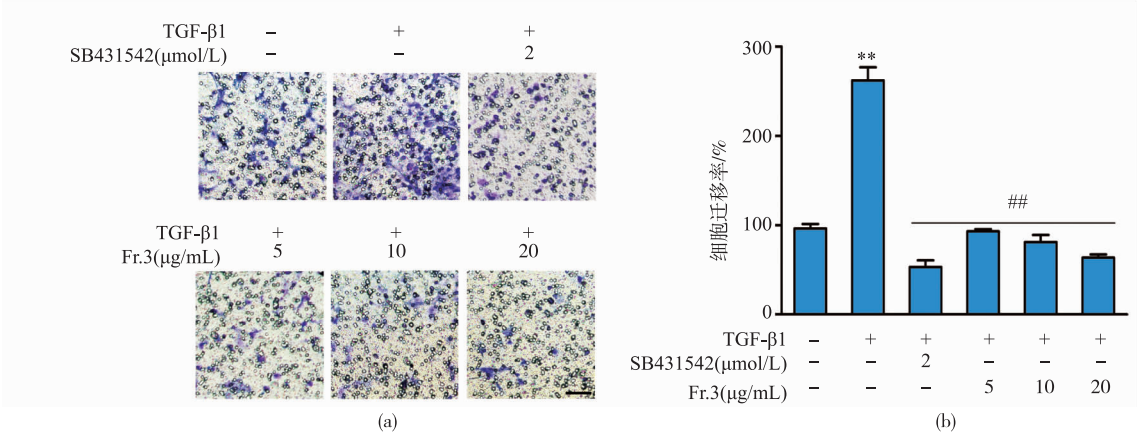
图 2 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞增值的影响

Fig. 2 Effects of Fr.3 on TGF-β1 induced cell proliferation in CFSC-8B cells

2.1.4 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞迁移影响 通过小室迁移法检测细胞增值,考察 Fr.3 组分(0、5、10、20 μg/mL)抗肝纤维化活性,见图 3。与空白组相比,TGF-β1 诱导后细胞迁移率显著增加(**p<0.01),Fr.3 组分作用活化的细胞后,显著抑制细胞迁移(##p<0.01),且具有明显的剂量依赖关系,20 μg/mL Fr.3 组分抑制率与阳性药物 SB431542 抑制率相当。

2.2 Fr.3 组分改善 TGF-β1 诱导的肝纤维化作用机制初步探讨

2.2.1 Fr.3 组分下调 TGF-β1 诱导的肝纤维化细胞 ECM 中相关基因的表达水平 TGF-β1 诱导的肝纤维化细胞活化后,ECM 异常积累,在基因水平上,*α-SMA*、*Col1*、*Col3*、*Fn* 转录水平升高。采用 qRT-PCR 技术进一步检测 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的

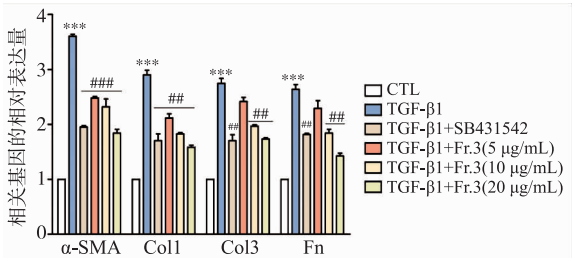


与对照组相比,**p<0.01;与 TGF-β1 诱导组相比,##p<0.01

图 3 Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞迁移的影响(标尺:100 μm)

Fig. 3 Effects of Fr.3 on TGF-β1 induced cell migration in CFSC-8B cells(Scale bar,100 μm)

CFSC-8B 相关基因表达水平的影响，结果见图 4。TGF-β1 作用于 CFSC-8B 细胞后可显著上调 α-SMA、Col1、Col3、Fn 基因的表达水平(***p<0.001)。Fr.3 组分作用后显著降低基因的表达 (###p<0.001)，且具有剂量相关性。



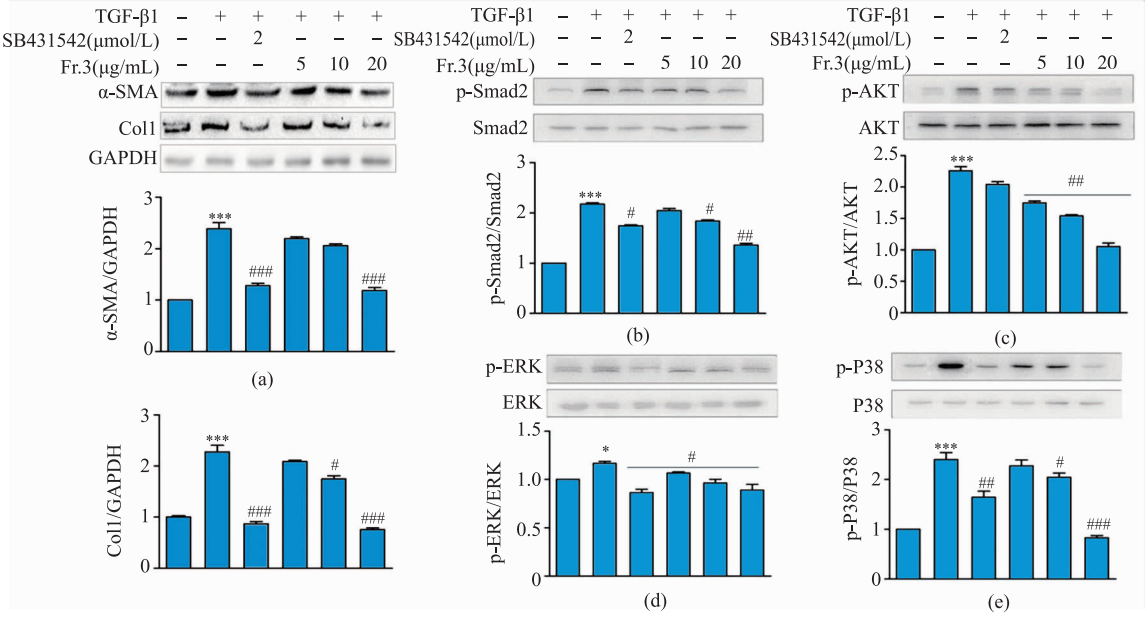
与对照组相比，***p<0.001；与 TGF-β1 诱导组相比，###p < 0.001，##p<0.01。

图 4　Fr.3 组分对 TGF-β1 诱导的 α-SMA、Col1、Col3 及 Fn mRNA 的相对表达量的影响

Fig. 4　Effect of Fr.3 on the expression of α-SMA, Col1, Col3 and Fn mRNA induced by TGF-β1

2.2.2　Fr.3 组分降低 TGF-β1 诱导的 α-SMA、Col1 的表达并下调 Smad、PI3K、MAPK 通路中相关蛋白质磷酸化表达水平　通过 Western blotting 法检测在 TGF-β1 的诱导下，不同质量浓度的 Fr.3 组分作用于 CFSC-8B 后，ECM 中 α-SMA、Col1 蛋白质表达情况，见图 5(a)。TGF-β1 作用于 CFSC-8B 细胞后可显著诱导 α-SMA、Col1 的蛋白质表达 (###p<0.001)，而 Fr.3 组分作用后降低其表达水平(***p<0.001)。因此，Fr.3 组分可以降低 TGF-β1 诱导的肝星状细胞 ECM 的积累。

TGF-β1 可以介导 Smads 的信号通路从而影响肝纤维化的发展[17]，如图 5(b)所示，Fr.3 组分可以显著抑制 TGF-β1 介导的 Smad 信号通路中 Smad2 的磷酸化表达水平(##p<0.01)；磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶(PI-3K/AKT)信号通路可通过激活 AKT 进入肝星状细胞核，调节相关基因的转录水平[18]，如图 5 (c)，Fr.3 组分还可以显著抑制 TGF-β1 介导的 PI3K 信号通路中 AKT 的磷酸化表达水平 (##p<0.01)；丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路由 Ras/ERK、JNK/SAPK 和 P38 三条途径组成[19]，也是肝纤维化进程中的主要通路之一，如图 5(d)-(e)所示，在 MAPK 信号通路中，TGF-β1 可以显著诱导 p-ERK 及 p-P38 蛋白质的表达 (***p<0.001)，Fr.3 组分作用后磷酸化表达水平降低 (###p<0.001)，但 p-JNK 无影响。因此，Fr.3 组分通过调控多个 TGF-β1 诱导的信号通路中的蛋白表达水平抑制肝纤维化。



与对照组相比，***p<0.001，*p<0.05；与 TGF-β1 诱导组相比，###p<0.001，##p<0.01 ，#p<0.05

图 5　Fr.3 对 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞中 α-SMA、Col1、p-Smad2、p-AKT、p-ERK 及 p-P38 及蛋白质表达的影响

Fig. 5　Effect of Fr.3 on expression of α-SMA, Col1, p-Smad2, p-AKT, p-ERK and p-p38 in CFSC-8B cells stimulated by TGF-β1

3 结 语

Lu 等研究表明,樟芝菌粉对乙醇诱导的肝损伤有保护作用[20],Song 等通过建立四氯化碳诱导的大鼠肝损伤模型,证明樟芝发酵液有保肝活性[21],并且 Geng 等从樟芝菌粉正己烷提取物中分离出具有抗肝纤维化活性的化合物 Antrodin B[8]。有研究表明,肝纤维化是可逆的过程[22],合理治疗可以逆转肝纤维化的进程,从而达到缓减甚至治愈肝纤维化的目的。抑制 HSC 的活化,使其从活化状态转变为静息状态,是研究抗肝纤维化药物的重要方向之一。

作者以樟芝菌粉中分离得到 Fr.3 组分为研究对象,在已建立的 TGF-β1 诱导的细胞肝纤维化模型上,进行了 Fr.3 组分体外抗肝纤维化活性及作用机制的研究。研究表明,Fr.3 组分可显著抑制 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞增值及细胞迁移,质量浓度为 20 μg/mL Fr.3 组分与阳性药物 SB431542(2 μg/mL)相比,抑制细胞增值及细胞迁移效果相当;Fr.3 组分能有效抑制 TGF-β1 诱导的 CFSC-8B 细胞 ECM 中 *α-SMA*、*Col1*、*Col3*、*Fn* 的基因转录及 *α-SMA* 和 *Col1* 的蛋白质表达水平。

为研究 Fr.3 组分抗肝纤维化活性机制,考察了 Fr.3 组分作用后,对 TGF-β1 诱导的 Smad、MAPK 以及 PI3K/AKT 信号通路中相关磷酸化蛋白质的表达水平的影响。研究表明:Fr.3 组分可以显著下调 TGF-β1 诱导的 Smad2、AKT、ERK 及 p38 磷酸化蛋白质表达水平,而 Smad、PI3K、MAPK 信号通路,与肝星状细胞的激活、增值、迁移等有关[14-16]。综上所述,Fr.3 组分通过调控 Smad、PI3K、MAPK 信号通路,抑制细胞增值、迁移及 ECM 的积累,进而抑制肝纤维化。王静等在建立的 PDGF-BB 诱导的肝纤维化模型基础上,研究了樟芝提取物 Fr.2 组分通过调控 MAPK 信号通路的转导来抑制肝纤维化[7],因此樟芝不同提取物 Fr.2、Fr.3 组分都能有效抑制肝纤维化细胞的增值、迁移,Fr.2、Fr.3 组分可能是通过调控多种信号通路综合作用抑制肝纤维化。

后期需要对樟芝提取物 Fr.3 组分进一步分离纯化,分析鉴定 Fr.3 组分中主要活性化合物,并且建立四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化模型,评价其体内抗肝纤维化活性,同时结合体外细胞模型,研究其抗肝纤维化作用机制,为治疗肝纤维化的研究提供理论依据。

参考文献:

[1] WU S H,RYVARDEN L. *Antrodia camphorata* ("niu-chang-chih"),new combination of a medicinal fungus in Taiwan[J]. **Botanical Bulletin Academia Sinica Taipei**,1997,38(4):273-276.

[2] HUANG T H,CHIU Y H,CHAN YL,et al. *Antrodia cinnamomea* alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity and enhances chemo-sensitivity of line-1 lung carcinoma xenografted in BALB/cByJ mice[J]. **Oncotarget**,2015,6(28):25741-25754.

[3] LI M H,WU H C,YAO H J,et al. *Antrodia cinnamomea* extract inhibits Th17 cell differentiation and ameliorates imiquimod-induced psoriasiform skin inflammation[J]. **The American Journal of Chinese Medicine**,2015,43(7):1401-1417.

[4] LU Z M,TAO W Y,XU H Y,et al. Further studies on the hepatoprotective effect of *Antrodia camphorata* in submerged culture on ethanol-induced acute liver injury in rats[J]. **Natural Product Research**,2011,25(7):684-695.

[5] HUANG G J,DENG J S,HUANG S S,Hepatoprotective effects of eburicoic acid and dehydroeburicoic acid from *Antrodia camphorata* in a mouse model of acute hepatic injury[J]. **Food Chemistry**,2013,141(3):3020-3027.

[6] HUANG Y L,CHU Y L,HO C T,et al. Antcin K,an active triterpenoid from the fruiting bodies of basswood-cultivated *Antrodia cinnamomea*,inhibits metastasis via suppression of integrin-mediated adhesion,migration,and invasion in human hepatoma cells [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2015,63(18):4561-4569.

[7] WANG Jing,GENG Yan,SUN Qing,et al. Inhibitory effects of extract fraction 2 from *Antrodia cinnamomea* on the activation of CFSC-8B cells induced by PDGF-BB[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2014,33(9):917-923.(in Chinese)

[8] GENG Y,WANG J,SUM Q,et al. Identification of antrodin B from *Antrodia camphorata* as a new anti-hepatofibrotic compound using a rapid cell screening method and biological evaluation[J]. **Hepatology Research**,2016,46(3):E15-25.

[9] KUMAR K J,VANI M G,CHUEH P J,et al. Antrodin C inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis of breast cancer cells via suppression of Smad2/3 and β-catenin signaling pathways[J]. **Plos One**,2015,10(2):e0117111.

[10] BATALLER R,BRENNER D A. Liver fibrosis[J]. **Journal of Clinical Investigation**,2005,115(2):209-218.

[11] GRESSNER A M,WEISKIRCHEN R,BREITKOPF K,et al. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis [J]. **Frontiers in Bioscience**,2002,7(1-3):793-807.
[12] DE MINICIS S,SEKI E,UCHINAMI H,et al. Gene expression profiles during hepatic stellate cell activation in culture and in vivo[J]. **Gastroenterology**,2007,132(5):1937-1946.
[13] SEKI E,DE MINICIS S,OSTERREICHER C H,et al. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis [J]. **Nature medicine**,2007,13(11):1324-1332.
[14] MENG X M,TANG P M,LI J,et al. TGF-beta/Smad signaling in renal fibrosis[J]. **Frontiers in Physiology**,2015,6:82.
[15] WANG Y. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates hepatic stellate cell apoptosis[J]. **World Journal of Gastroenterology**,2008,14(33):5186-5191.
[16] GABELE E,REIF S,TSUKADA S,et al. The role of p70S6K in hepatic stellate cell collagen gene expression and cell proliferation[J]. **The Journal of Biological Chemistry**,2005,280(14):13374-13382.
[17] CHENG K,YANG N,MAHATO R I. TGF-beta1 gene silencing for treating liver fibrosis[J]. **Molecular Pharmaceutics**,2009,6(3):772-779.
[18] UENO Y,FRANCIS H,GLASER S,et al. Taurocholic acid feeding prevents tumor necrosis factor-alpha-induced damage of cholangiocytes by a PI3K-mediated pathway[J]. **Experimental Biology and Medicine**,2007,232(7):942-949.
[19] POULOS J E,WEBER J D,BELLEZZO J M,et al. Fibronectin and cytokines increase JNK,ERK,AP-1 activity and transin gene expression in rat hepatic stellate cells[J]. **The American Journal of Physiology**,1997,273(4):G804-811.
[20] LU Z M,TAO W Y,ZOU X L,et al. Protective effects of mycelia of *Antrodia camphorata* and *Armillariella tabescens* in submerged culture against ethanol-induced hepatic toxicity in rats[J]. **Journal of Ethnopharmacology**,2007,110(1):160-164.
[21] SONG T Y,YEN G C. Protective effects of fermented filtrate from *Antrodia camphorata* in submerged culture against CCl4-induced hepatic toxicity in rats[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2003,51(6):1571-1577.
[22] BENYON R C,IREDALE J P. Is liver fibrosis reversible?[J]. **Gut**,2000,46(4):443-446.

会　议　消　息

会议名称:第二十届全国有机分析及生物分析学术研讨会

会议时间:2019 年 11 月 22-25 日

会议地点:海南省海口市

主 办 方:中国化学会

承 办 方:1、中国化学会有机分析专业委员会;2、海南师范大学;3、热带药用植物化学教育部重点实验室;4、海南省化学化工学会

会议主题:有机及生物分析新时代新作为

大会主席:潘远江　　预计规模:250　　联系人:陈光英

电子邮箱:chgying123@163.com

电　　话:13178920563

地　　址:海南省海口市龙昆南路 99 号

会议内容:本次会议以“有机及生物分析新时代新作为”为主题,展示近年来有机分析与生物分析及相关研究领域的新成就和新进展,探讨有机分析与生物分析领域所面临的机遇、挑战及未来发展方向,促进和活跃我国有机分析与生物分析以及交叉领域科学和技术事业的发展。