

异甘草酸镁对紫杉醇所致肝损伤的保护机制

陈力川¹, 曹玉珠¹, 苑通¹, 陈文星^{1,2}, 王爱云^{1,2}, 陆茵^{1,2*}

(1. 南京中医药大学, 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210023;
2. 南京中医药大学江苏省中医药防治肿瘤协同创新中心, 南京 210023)

[摘要] **目的:**初步探讨异甘草酸镁对紫杉醇所导致的肝损伤的保护作用和机制。**方法:**以正常人肝细胞 LO2 作为研究对象,分为空白组和不同质量浓度(2.5, 5, 10, 20 mg·L⁻¹)异甘草酸镁组,采用噻唑蓝(MTT)比色法检测不同质量浓度紫杉醇对 LO2 细胞的损伤作用以及不同质量浓度异甘草酸镁对 LO2 细胞活力的影响,再检测异甘草酸镁干预紫杉醇损伤 LO2 细胞的作用,利用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒测定天门冬氨酸氨基转移酶(AST),丙氨酸氨基转移酶(ALT)等指标检测 LO2 肝细胞损伤程度,用流式细胞术检测异甘草酸镁对 LO2 细胞周期,细胞凋亡的影响,并提取相关蛋白采用蛋白免疫印迹(Western blot)法进行凋亡相关蛋白的检测。**结果:**与溶剂组比较,1 mg·L⁻¹紫杉醇具有明显的抑制 LO2 细胞增殖的作用($P < 0.01$);异甘草酸镁 5, 10, 20 mg·L⁻¹均具有一定的促进 LO2 细胞增殖的作用($P < 0.05, P < 0.01$),但对细胞形态无明显影响;异甘草酸镁 5, 10, 20 mg·L⁻¹均具有降低紫杉醇对 LO2 细胞损伤的作用($P < 0.05, P < 0.01$);异甘草酸镁 5, 10, 20 mg·L⁻¹均具有降低紫杉醇所诱导的 LO2 细胞凋亡相关蛋白表达($P < 0.05, P < 0.01$)和 G₂/M 期阻滞的作用。**结论:**异甘草酸镁可以有效地逆转紫杉醇对体外培养的肝细胞 LO2 所造成的损伤作用,其机制可能是干预细胞周期,并对紫杉醇所诱导的肝细胞凋亡具有抑制作用。

[关键词] 异甘草酸镁; 紫杉醇; 保护肝损伤; 细胞周期; 细胞凋亡

[中图分类号] R22;R24;R256;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)13-0131-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181326

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180412.1057.014.html>

[网络出版时间] 2018-04-12 17:14

Protective Mechanism of MgIG on Liver Injury Induced by Paclitaxel

CHEN Li-chuan¹, CAO Yu-zhu¹, YUAN Tong¹, CHEN Wen-xing^{1,2}, WANG Ai-yun^{1,2}, LU Yin^{1,2*}

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jiangsu Provincial Key Laboratory of Efficacy and Safety Evaluation of TCM, Nanjing 210023, China;

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of TCM, Nanjing University of TCM, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect and mechanism of magnesium isoglycyrrhizinate (MgIG) on liver injury induced by paclitaxel. **Method:** Normal human hepatocytes LO2 were used as the research object and were divided into blank group and MgIG groups (2.5, 5, 10, 20 mg·L⁻¹). Methylthiazolotetrazolium (MTT) assay was used to detect the effect of different concentrations of paclitaxel on injuries of LO2 cells and effect of MgIG on LO2 cell viability. Then the effect of MgIG on LO2 cell injuries induced by paclitaxel was detected, with aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and other indexes to detect the degree of LO2 injuries by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA). The effect of MgIG on cell cycle and apoptosis of LO2 cells was detected by flow cytometer. Western blot was used to detect the protein expression of apoptosis

[收稿日期] 20180102(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673725);江苏省中药药效与安全性评价重点实验室-正大天晴联合基金项目(JKLPSE201501);2014年江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(KYLX_0972)

[第一作者] 陈力川,在读硕士,从事肿瘤药理方向研究,E-mail:13852295223@163.com

[通信作者] *陆茵,博士生导师,教授,从事中药及其复方抗肿瘤研究,Tel:025-85811239,E-mail:luyingreen@126.com

related protein. **Result:** As compared with blank group, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ paclitaxel had obvious inhibitory effect on the proliferation of LO2 cells ($P < 0.01$); $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ MgIG had certain effect on promoting the proliferation of LO2 cells ($P < 0.05, P < 0.01$), but had no significant effect on the cell morphology; $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ MgIG can reduce the damage of paclitaxel on LO2 cells ($P < 0.05, P < 0.01$); $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ MgIG can reduce apoptosis related protein and G_2/M arrest in LO2 cells induced by paclitaxel ($P < 0.05, P < 0.01$).

Conclusion: MgIG can effectively reverse the LO2 damage induced by paclitaxel *in vitro*, and the mechanism may be related to the intervention on cell cycle and the depression on paclitaxel-induced apoptosis of liver cells.

[**Key words**] magnesium isoglycyrrhizinate injection (MgIG); paclitaxel; protection of liver injury; cell cycle; apoptosis

天然广谱抗癌药物紫杉醇,是以红豆杉属植物为主要原料提取的一种二萜类化合物。临床上的使用表明紫杉醇对耐药患者的晚期卵巢癌、晚期乳腺癌、恶性胸腺癌、淋巴瘤等肿瘤有着显著的疗效,尤其是对乳腺癌和卵巢癌具有特殊疗效^[1-4],因此紫杉醇被公认是广谱的,活性较强的抗癌药物。

虽然紫杉醇在临床应用中具有很好的疗效,但是随着紫杉醇在临床中越来越多的使用,有关其不良反应的报道也逐渐增多。大量的临床研究表明紫杉醇在杀伤肿瘤细胞的同时,不可避免地会对正常组织细胞产生一定的毒副作用,尤其对患者肝脏存在较大的毒副作用^[5-6]。而肝脏作为人体主要的毒性代谢器官,承担着大量药物的代谢和激活作用,故同时承担着大量药物的直接或间接的毒性反应^[7-8]。肿瘤患者使用的紫杉醇在发挥药物作用的同时,往往也会造成一定程度的肝脏损伤。因此为减轻使用紫杉醇而造成的肝损伤,可以考虑在治疗的同时使用保肝药物对肝脏进行保护。课题组前期通过临床文献^[9-14]调研发现异甘草酸镁在多种化疗药物所诱导的肝损伤中均显示出很好的疗效,并且相较于其他保肝药物,异甘草酸镁具有保肝效应、促进肝细胞再生能力^[9]、增强肝脏解毒功能^[10]、抗炎活性^[11-12]、提高机体免疫力^[13]且不良反应少而轻等优势^[14],但机制目前尚不清晰。因此,阐明异甘草酸镁保护化疗所致肝损伤的作用机制,为临床应用异甘草酸镁提供物质基础,是目前急需解决的事情。目前的研究显示,紫杉醇的毒副作用主要通过诱导肝细胞凋亡以及阻滞细胞周期^[15-17]。因此本研究拟开展进一步的体外相关机制研究,旨在阐明异甘草酸镁对紫杉醇所致肝损伤的保护机制,为临床应用提供扎实的研究基础。

1 材料

1.1 细胞 人正常肝细胞株 LO2 细胞(中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库)。

1.2 药物及试剂 紫杉醇(阿拉丁试剂有限公司,批号 P106869);异甘草酸镁(南京正大天晴公司,批号 151201204);RPMI-1640 培养基,胰酶(美国 Gibco 公司,批号分别为 1567145, J130025);胎牛血清(以色列 Bioind 公司,批号 1418110);青霉素、链霉素(江苏扬州制药厂,批号分别为 870111, 8901022),噻唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司,批号 021005);丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 A059-2, C010-2);细胞裂解液(RIPA),苯甲基磺酰氟(PMSF)溶液(碧云天生物技术研究所,批号分别为 P0013B, ST506-2);蛋白浓度检测试剂盒(美国 Thermo 公司,批号 23228);半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)抗体(美国 CST 公司,批号 9662p);聚酰甘二磷酸核糖聚合酶(PARP)抗体,p-PARP 抗体(美国 CST 公司,批号分别为 9542p, 9625p);B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 59348, 199677);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体,羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(H+L)-辣根过氧化物酶(HRP)(美国 Bioworld 公司,批号分别为 AP0063, BS13278)。

1.3 仪器 3131 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo Scientific 公司);Countess 型自动细胞计数仪(美国 Invitrogen 公司);Axion A1 型蔡司倒置荧光显微镜,Observer Z1 型活细胞工作站(德国 Zeiss 公司);Synergy HT 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司);Mini Protean 3 Cell 型电泳仪、转膜仪,ChemiDoc™ XRS + 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司);BD FACSCanto II 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 LO2 细胞贴壁生长于含 10% 胎牛

血清的 RPMI-1640 完全培养基中,培养于 37 °C 5% CO₂, 20% O₂, 95% 湿度条件下的细胞培养箱中,并在常规培养的培养基中添加青霉素,链霉素以防止细胞感染细菌,隔天换液,融合度达 80% ~ 90% 时传代。

2.2 MTT 法检测细胞活性 取对数生长期的 LO2 细胞制成细胞悬液,用自动细胞计数仪对细胞悬液计数后,将细胞密度调整为 5 × 10⁴ 个/mL。在 96 孔板中每孔加入细胞悬液 200 μL,再于 37 °C 5% CO₂ 的培养条件下继续培养 12 h,紫杉醇处理组加入不同质量浓度(0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 mg · L⁻¹)紫杉醇进行处理,异甘草酸镁处理组加入不同质量浓度(2.5, 5, 10, 20 mg · L⁻¹)异甘草酸镁进行处理,分溶剂组[二甲基亚砜(DMSO)]和药物处理组,每组设置 3 个复孔,培养 12 h 后去除含药物的培养基,每孔 100 μL 培养基加质量浓度为 5 g · L⁻¹ 的 MTT 10 μL,在 37 °C 5% CO₂ 的培养环境下孵育 4 h;弃上清加 DMSO 150 μL,酶标仪 490 nm 处检测吸光度 A,确定不同浓度紫杉醇和异甘草酸镁对细胞增殖率影响。

2.3 ELISA 试剂盒检测细胞上清中 ALT, AST 水平 取对数生长期 LO2 肝细胞制成细胞悬液接种于 6 孔板中,设置空白组,模型组(加药物 1 mg · L⁻¹ 紫杉醇处理),异甘草酸镁处理组(5, 10, 20 mg · L⁻¹),培养 12 h 后收集细胞上清液,1 000 r · min⁻¹ 离心 3 min,将细胞上清液加到预热的基质液中混匀,37 °C 水浴 30 min,再加入 2,4-二硝基苯肼液混匀后 37 °C 水浴 20 min,最后加入 0.4 mol · L⁻¹ 氢氧化钠液混匀,室温条件下放置 10 min,在 505 nm 波长测吸光度 A,与标曲比对计算 AST, ALT 水平。

2.4 流式细胞仪检测细胞周期 取对数生长期 LO2 肝细胞制成细胞悬液接种于 6 孔板中,设置空白组,模型组(加药物 1 mg · L⁻¹ 紫杉醇处理),异甘草酸镁处理组(5, 10, 20 mg · L⁻¹),培养 12 h。到达检测时间点后,用无乙二胺四乙酸(EDTA)的胰酶消化,1 000 r · min⁻¹ 离心 3 min,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,加入 Binding Buffer 使细胞重悬,加入 Annexin V-FITC 充分混匀,再加 Propidium Iodide 混匀,室温下避光反应 15 ~ 20 min,使用流式细胞仪进行检测。

2.5 蛋白免疫印迹法检测 Bcl-2, Bax, Caspase-3, PARP, cleaved-PARP 蛋白表达 按总蛋白提取试剂盒说明提取药物处理 6 h 后的 LO2 细胞总蛋白,用 BCA 蛋白测定试剂盒进行定量,并调整蛋白浓度,

聚丙烯酰胺凝胶电泳处理蛋白样品,再转至 PVDF 膜,后封闭,一抗(1:1 000)孵育 4 °C 过夜,洗膜后二抗(1:1 万)室温孵育 1 h,洗涤,加 ECL 工作液后于凝胶成像仪下曝光成像,用 Bio-Rad 凝胶成像系统检测目标蛋白的表达情况,并采用 Image J 软件对免疫印迹条带扫描后进行灰度值分析。

2.6 统计学分析 采用 GraphPad Prism5 软件分析统计,数据用 $\bar{x} \pm s$ 来表示,采用单因素方差分析(One-way Analysis)进行组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同质量浓度紫杉醇对肝细胞增殖率的影响 与溶剂组比较,紫杉醇能够抑制 LO2 肝细胞的体外增殖活性,在紫杉醇质量浓度为 2 mg · L⁻¹ 时表现出较为显著的抑制作用($P < 0.01$),在质量浓度 ≤ 1 mg · L⁻¹ 时对细胞生长有轻微的抑制作用,且这种抑制作用呈现剂量相关性。为了保证细胞不会由于受紫杉醇直接毒性作用的影响而凋亡,选取 1 mg · L⁻¹ 作为后续实验的干预质量浓度。见表 1。

表 1 不同质量浓度紫杉醇对 LO2 细胞增殖率的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Effect of paclitaxel in different concentrations on LO2 cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg · L ⁻¹	12 h 增殖率/%
溶剂	-	100.01 ± 1.20
紫杉醇	0.125	83.09 ± 2.55 ²⁾
	0.25	83.79 ± 2.25 ²⁾
	0.5	79.57 ± 6.53 ²⁾
	1	79.85 ± 3.04 ²⁾
	2	26.50 ± 2.20 ²⁾
4	7.66 ± 0.78 ²⁾	

注:与溶剂组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 不同质量浓度异甘草酸镁对肝细胞增殖率的影响 与溶剂组比较,在异甘草酸镁质量浓度为 2.5, 5, 10, 20 mg · L⁻¹ 的作用下,LO2 肝细胞增殖能力得到明显的促进($P < 0.05, P < 0.01$),且药物对 LO2 肝细胞增殖活性的促进作用随质量浓度增高而加强;但是当质量浓度达到 40 mg · L⁻¹ 时异甘草酸镁对 LO2 肝细胞增殖能力没有明显的促进作用,因此接下来选用 5, 10, 20 mg · L⁻¹ 的异甘草酸镁进行后续实验。见表 2。

3.3 异甘草酸镁对紫杉醇所致肝细胞损伤的保护作用 与空白组比较,紫杉醇能抑制 LO2 肝细胞的体外增殖活性,但在加入紫杉醇后再加入异甘草酸镁能够降低紫杉醇对 LO2 肝细胞体外增殖活性的

表 2 不同质量浓度异甘草酸镁对 LO2 肝细胞增殖率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Effect of magnesium isoglycyrrhizinate (MgIG) treatments in different concentrations on LO2 cell ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	12 h 增殖率/%
溶剂	0	100.00 \pm 7.09
异甘草酸镁	2.5	110.93 \pm 10.22 ¹⁾
	5	118.58 \pm 4.15 ²⁾
	10	112.53 \pm 7.40 ¹⁾
	20	114.43 \pm 6.45 ²⁾
	40	99.89 \pm 3.25

抑制作用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并且这种改善作用呈现剂量相关性。除此之外, 与只用紫杉醇处理的模型组比较, 实验组在使用了异甘草酸镁后, LO2 细胞的 ALT, AST 水平有所下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 且随着异甘草酸镁用药质量浓度的增大而下降水平增多, 在异甘草酸镁质量浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时效果最好 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 不同质量浓度异甘草酸镁对紫杉醇致肝细胞损伤的保护作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3 Protection of MgIG treatments against LO2 cell injury induced by paclitaxel ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	12 h 增殖率/%	ALT/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	-	97.50 \pm 3.82	6.90 \pm 1.87	3.02 \pm 0.24
紫杉醇	1	71.83 \pm 11.74 ²⁾	20.01 \pm 1.60 ²⁾	9.82 \pm 0.56 ²⁾
异甘草酸镁	5	86.04 \pm 6.15 ³⁾	15.45 \pm 2.10 ³⁾	8.47 \pm 0.52 ³⁾
	10	86.21 \pm 5.44 ³⁾	13.40 \pm 1.79 ⁴⁾	6.48 \pm 0.98 ⁴⁾
	20	89.79 \pm 8.29 ⁴⁾	12.09 \pm 2.59 ⁴⁾	6.11 \pm 0.40 ⁴⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与紫杉醇组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 4, 5 同)。

3.4 异甘草酸镁干预紫杉醇对 LO2 细胞周期的阻滞作用 与空白组比较, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 紫杉醇处理后 LO2 肝细胞出现明显的 G_2/M 期阻滞, 而经过不同质量浓度异甘草酸镁处理的实验组与 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 紫杉醇处理的模型组比较, 随异甘草酸镁质量浓度的增大, LO2 肝细胞的 G_0/G_1 期, S 期比例有所上升, G_2/M 期细胞比例明显下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并且呈现出剂量相关性。见表 4。

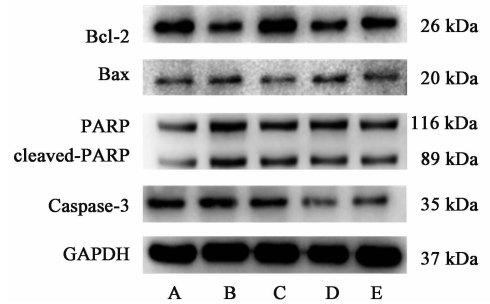
3.5 异甘草酸镁干预紫杉醇对 LO2 细胞中 Bcl-2, Bax, Caspase-3, PARP, cleaved-PARP 蛋白表达的影响 与空白组比较, 紫杉醇促进了 LO2 细胞中 Bax, Caspase-3, cleaved-PARP 蛋白的表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 降低 Bcl-2 蛋白表达的水平 ($P < 0.05$)。而给予异甘草酸镁后能够一定程度的降低紫杉醇诱导

表 4 不同质量浓度异甘草酸镁对紫杉醇致 LO2 细胞周期阻滞的干预作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 4 MgIG affect cell cycle arrest on LO2 cell induced by paclitaxel ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	G_0/G_1	S	G_2/M	%
空白	0	58.55 \pm 1.00	14.33 \pm 0.72	27.13 \pm 0.98	
紫杉醇	1	4.50 \pm 0.17 ¹⁾	9.70 \pm 0.36 ¹⁾	85.80 \pm 0.26 ¹⁾	
异甘草酸镁	5	6.90 \pm 0.26 ³⁾	11.53 \pm 0.15 ³⁾	81.57 \pm 0.25 ³⁾	
	10	15.37 \pm 0.32 ⁴⁾	10.17 \pm 0.15	74.47 \pm 0.21 ⁴⁾	
	20	18.24 \pm 1.70 ⁴⁾	11.68 \pm 0.69 ⁴⁾	70.08 \pm 2.09 ⁴⁾	

的 LO2 细胞 Bax, Caspase-3, cleaved-PARP 的表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并且提高细胞内 Bcl-2 的表达水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 1, 表 5。



A. 空白组; B. 紫杉醇组; C. 异甘草酸镁 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; D. 异甘草酸镁 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; E. 异甘草酸镁 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组

图 1 不同质量浓度异甘草酸镁改变紫杉醇对 LO2 细胞中 Bcl-2, Bax, Caspase-3, PARP, cleaved-PARP 蛋白表达电泳

Fig. 1 Effect of MgIG treatments on intracellular expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase-3, PARP, cleaved-PARP induce by paclitaxel

4 讨论

紫杉醇作为一个具有抗癌活性的二萜生物碱类化合物, 其新颖复杂的化学结构, 广泛而显著的生物活性, 全新独特的作用机制, 使其成为 20 世纪下半叶举世瞩目的抗癌明星和研究重点, 并作为临床常用治疗肿瘤的药物之一, 在肝癌、乳腺癌^[18]等多种肿瘤的治疗中广泛应用。但随着使用的增多, 也越来越多的暴露出一定的毒副作用, 大量文献表明紫杉醇对机体多种器官都有损伤, 如肝功能指标升高, 心脏毒性, 神经毒性^[19], 过敏反应, 骨髓抑制^[20]等。其中对肝脏损伤尤为严重, 常常会造成肝细胞损伤, 胆汁淤积, 或混合模式的损伤^[21-22]等。而本实验使用的异甘草酸镁是一种肝细胞保护剂, 具有抗炎, 保护肝细胞膜及改善肝功能的作用, 在与紫杉醇合用后可以减轻紫杉醇造成的肝损伤作用。在本实验中, 一定药物浓度范围内的异甘草酸镁可促进 LO2 肝细胞的增殖活性, 并可以降低紫杉醇对 LO2 细胞

表 5 不同质量浓度异甘草酸镁改变紫杉醇对 LO2 细胞中 Bcl-2, Bax, Caspase-3, PARP, cleaved-PARP 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Effect of MgIG treatments on intracellular expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase-3, PARP, cleaved-PARP induce by paclitaxel ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	Bcl-2/GAPDH	Bax/GAPDH	leaved-PARP/GAPDH	Caspase-3/GAPDH
空白	0	0.798 ± 0.005	0.440 ± 0.033	0.221 ± 0.007	0.653 ± 0.007
紫杉醇	1	0.564 ± 0.020 ¹⁾	0.547 ± 0.039 ¹⁾	0.460 ± 0.021 ²⁾	0.727 ± 0.006
异甘草酸镁	5	0.887 ± 0.009 ⁴⁾	0.387 ± 0.005 ³⁾	0.418 ± 0.035	0.676 ± 0.015
	10	0.652 ± 0.005	0.474 ± 0.005	0.404 ± 0.018	0.456 ± 0.029 ³⁾
	20	0.693 ± 0.008 ³⁾	0.422 ± 0.018 ³⁾	0.369 ± 0.033 ³⁾	0.492 ± 0.033 ³⁾

的损伤作用且可降低紫杉醇诱导的 LO2 细胞凋亡和 G₂/M 期阻滞作用,降低 LO2 肝细胞的凋亡和细胞坏死,到达保护肝脏的作用。

综上所述,本课题首次研究了异甘草酸镁对紫杉醇致肝损伤的保护作用,从细胞周期,凋亡反应多个角度和层次考察了异甘草酸镁发挥可能的机制。但纵观本研究,仍然存在一定的局限性与不足,还需要进一步的体内实验研究和后续工作使研究得以延伸。

[参考文献]

[1] 黄维,董嘉尧,周成宇,等. 紫杉醇同步放疗在中晚期乳腺癌细胞增殖抑制中的作用及并发症预防对策[J]. 海南医学院学报,2016,22(14):1594-1596.

[2] 户波,靳红勋. 注射用紫杉醇临床应用分析[J]. 中国实用医药,2015,10(10):166-168.

[3] 李梅. 紫杉醇临床应用中的护理体会[J]. 内蒙古中医药,2014,33(15):157-157.

[4] CAI L, XU G, SHI C, et al. Telodendrimer nanocarrier for co-delivery of paclitaxel and cisplatin: a synergistic combination nanotherapy for ovarian cancer treatment [J]. Biomaterials, 2015, 37: 456-468.

[5] 袁小笋. 紫杉醇药物不良反应的临床观察[J]. 中国医药指南, 2016, 14(7): 194.

[6] 陈卓,蒋常春,唐小川. 紫杉醇不良反应及合理用药探析[J]. 肿瘤药学, 2012, 2(1): 73-74, 80.

[7] 杨佼,吕文良. 药物性肝损伤临床研究及治疗进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(12): 1359-1363.

[8] 杨永平. 肿瘤临床治疗中应关注肝脏[J]. 医学与哲学, 2011, 32(4): 13-15.

[9] XU Q, WANG J, CHEN F, et al. Protective role of magnesium isoglycyrrhizinate in non-alcoholic fatty liver disease and the associated molecular mechanisms [J]. Int J Mol Med, 2016, 38(1).

[10] HUANG X, QIN J, LU S. Magnesium isoglycyrrhizinate protects hepatic L02 cells from ischemia/reperfusion induced injury [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(8): 4755-4764.

[11] TANG G H, YANG H Y, ZHANG J C, et al. Magnesium isoglycyrrhizinate inhibits inflammatory response through STAT3 pathway to protect remnant liver function [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(43): 12370-12380.

[12] XIE C, LI X, WU J, et al. Anti-inflammatory activity of magnesium isoglycyrrhizinate through inhibition of phospholipase A₂/arachidonic acid pathway [J]. Inflammation, 2015, 38(4): 1639-1648.

[13] XU J, LIU J, PENG C, et al. Effect of magnesium isoglycyrrhizinate on allergy contact dermatitis (ACD) in mice [J]. China J Chin Mater Med, 2010, 35(10): 1311-1314.

[14] QU B, XING R, WANG H, et al. Multiple effects of magnesium isoglycyrrhizinate on the disposition of docetaxel in docetaxel-induced liver injury [J]. Xenobiotica, 2017, 47(4): 290-296.

[15] 崔洪泉,蒋秀芳. 紫杉醇的药理作用及其临床应用[J]. 中医杂志, 2003, 44(Z2): 60-61.

[16] 谢宝芬,潘柏良. 紫杉醇的药理与临床研究进展[J]. 中国药业, 2008, 17(15): 76-78.

[17] Noh H J, Kim K A, Kim K C. p53 down-regulates SETDB1 gene expression during paclitaxel induced-cell death. [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 446(1): 43-48.

[18] 焦延娜,韩淑燕. 抗癌中药单体对肿瘤细胞自噬的调控[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 206-214.

[19] Kramer R, Bielawski J, Kistner-Griffin E, et al. Neurotoxic 1-deoxysphingolipids and paclitaxel-induced peripheral neuropathy [J]. FASEB J, 2015, 29(11): 4461.

[20] John P, Butler H, Saif M W. Congestive heart failure secondary to gemcitabine nab-paclitaxel in patients with pancreatic cancer [J]. Anticancer Res, 2014, 34(12): 7267-7270.

[21] Ceci G, Bella M, Melissari M, et al. Fatal hepatic vascular toxicity of DTIC. Is it really a rare event? [J]. Cancer, 1988, 61(10): 1988-1991.

[22] Asbury R F, Rosenthal S N, Descalzi M E, et al. Hepatic veno-occlusive disease due to DTIC [J]. Cancer, 1980, 45(10): 2670-2674.

[责任编辑 周冰冰]