

· 药理 ·

## 血府逐瘀汤对大鼠肝组织内 CYPs, UGTs 和 GSTs 基因表达的影响

杨秀芬<sup>1\*</sup>, 樊星花<sup>2</sup>, 石卫州<sup>1</sup>, 程允相<sup>1</sup>, 邹凯杰<sup>1</sup>

(1. 广西中医药大学药学院药理学教研室, 南宁 530001;  
2. 广西柳州市工人医院药学部, 广西 柳州 545005)

**[摘要]** 目的: 研究血府逐瘀汤对大鼠肝组织内药物代谢酶细胞色素 P450 (CYPs, cytochrome P450), 谷胱甘肽-S-转移酶 GSTs, glutathione S transferase) 和尿甘二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGTs, UDP-glucuronosyl transferase) 基因表达的影响。方法: 将 25 只大鼠随机分为 5 组, 每组 5 只。大鼠按 3.51, 7.02, 14.04 g·kg<sup>-1</sup> 分别 ig 给予血府逐瘀汤水提物, 空白组给等体积纯净水, 连续给药 15 d, 苯巴比妥钠于第 13 天按 80 mg·kg<sup>-1</sup> 腹腔注射, 连续 3 d。取 200 mg 左右肝脏, 用逆转录-实时荧光定量 PCR 法检测肝组织内的 CYP 基因 CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1, CYP2C11, CYP2E1, CYP3A1, CYP3A2, CYP4A1, CYP7A1, CYP17A1, CYP27A1, GST 基因 GSTA2, GSTM1, GSTp1 和 UGT 基因 UGT1A1, UGT2B1 的表达情况。结果: 与空白组比较, 苯巴比妥钠组 (阳性组) 可明显诱导 CYP2B1, CYP3A1, CYP3A2, GSTA2 和 UGT2B1 基因表达 (84.57, 5.44, 5.11, 7.76, 13.27 倍,  $P < 0.01$ ); 血府逐瘀汤 3.51, 7.02 g·kg<sup>-1</sup> 分别诱导 GSTA2 和 CYP1A1 的基因表达 (1.54 倍,  $P < 0.05$ ; 57.92 倍,  $P < 0.05$ ); 14.04 g·kg<sup>-1</sup> 明显抑制 CYP2C11 的基因表达 (55%,  $P < 0.05$ ); 3.51, 7.02, 14.04 g·kg<sup>-1</sup> 3 个剂量对 GSTM1 有明显的抑制作用 (53%, 55%, 51%,  $P < 0.05$ ); 血府逐瘀汤对 CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1, CYP3A1, CYP3A2, CYP4A1, CYP7A1, CYP17A1, CYP27A1, GSTp1, UGT1A1 和 UGT2B1 的基因表达无明显影响。结论: 血府逐瘀汤可明显诱导 CYP1A1, GSTA2 基因的表达, 对 CYP2C11, GSTM1 的基因有明显的抑制作用, 而对其余的亚型无显著影响。提示临床上与 CYP1A1 及 CYP2C11 的底物合用时, 要注意药物代谢性相互作用, 且其可能参与肝脏对毒物、致癌物以及其他物质的解毒和排泄, 对多种恶性肿瘤的发生可能起到一定的作用。

**[关键词]** 血府逐瘀汤; 细胞色素 P450; 谷胱甘肽-S-转移酶; 尿甘二磷酸葡萄糖醛酸转移酶; 基因表达; 肝组织

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0159-06

**[doi]** 10.11653/syfy2013230159

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130924.1446.016.html>

**[网络出版时间]** 2013-09-24 14:46

## Effect of Xuefu Zhuyu Decoction on Gene Expression of CYPs, UGTs and GST in Liver Tissues of Rats

YANG Xiu-fen<sup>1\*</sup>, FAN Xing-hua<sup>2</sup>, SHI Wei-zhou<sup>1</sup>, CHENG Yun-xiang<sup>1</sup>, ZOU Kai-jie<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Guangxi University  
of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

2. Department of Pharmacy, Liuzhou Worker's Hospital, Liuzhou 545005, China)

**[Abstract]** **Objective:** To examine the effects of Xuefu Zhuyu decoction (XFZYD) on the expression of cytochrome P450 (CYPs) genes, glutathione S-transferase (GSTs) genes and UDP-glucuronosyl transferase

**[收稿日期]** 20130312(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81060353); 教育部“新世纪优秀人才支持计划人选”项目(教技函 2010-14 号, NCET-10-0093)

**[通讯作者]** \* 杨秀芬, 医学博士, 教授, 硕士研究生导师, 从事中药对生物转化酶的影响和以酶为靶点的药物研究与开发, Tel: 0771-2279423, E-mail: xiufenyang@163.com

(UGTs) genes in liver tissues of male Sprague-Dawley rats. **Method:** Twenty-five rats were divided randomly into 5 groups, 5 animals each. Three active dose groups, which were administered with XFZYD by gastrogarage for 15 days at the dose of 3.51, 7.02 and 14.04 g·kg<sup>-1</sup>, respectively. The control group and positive group received the same volume of water per kg body weight. From 13<sup>th</sup> day, the positive group received Phenobarbital sodium at the dose of 80 mg·kg<sup>-1</sup> by peritoneal injection for 3 days. About 200 mg livers were removed, the levels of genes expression of CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1, CYP2C11, CYP3A1, CYP3A2, CYP4A1, CYP7A1, CYP17A1, CYP27A1, GSTA2, GSTM1, GSTp1, UGT1A1 and UGT2B1 in liver tissues of rats were examined by Quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (quantitative real time RT-PCR) assays. **Result:** Compared with the contro group I, phenobarbital sodium (the positive group) significantly increased mRNA expressions of CYP2B1, CYP3A1, CYP3A2, GSTA2 and UGT2B1 (84.57-fold, 5.44-fold, 5.11-fold, 7.76-fold, 13.27-fold,  $P < 0.01$ , respectively). CYP1A1 (57.92-fold,  $P < 0.01$ ) and GSTA2 (1.54-fold  $P < 0.05$ ) were dramatically induced by XFZYD at the dose of 7.02, 3.51 g·kg<sup>-1</sup>, respectively. While CYP2C11 (55%,  $P < 0.05$ ) was significantly inhibited by XFZYD at the dose of 14.04 g·kg<sup>-1</sup>, a inhibitory tendency was found on expression of GSTM1 ( $P < 0.05$ ) at the dose of 3.51, 7.02, 14.04 g·kg<sup>-1</sup> (53%, 55%, 51%, respectively), however, XFZYD had no significant effect on the expression of CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1, CYP3A1, CYP3A2, CYP4A1, CYP7A1, CYP17A1, CYP27A1, GSTp1, UGT1A1 and UGT2B1. **Conclusion:** XFZYD can significantly induced the expression of CYP1A1 and GSTA2 gene, but significantly inhibited CYP2C11 and GSTM1 genes, which indicated that when XFZYD is administrated with the substrate of CYP1A1 and CYP2C11, more attention should be paid on drug interactions, XFZYD may affect detoxication and excretion of toxicants, acarcinogens and other substances, and may play a role in the occurrence of malignant tumor.

[**Key words**] Xuefu Zhuyu decoction; CYPs; GSTs; UGTs; gene expression; liver tissue

人类肝脏中与药物代谢密切相关的有 I 相和 II 相代谢酶, I 相酶中的细胞色素 P450 (CYP450s) 负责大部分药物的代谢,许多因素如药物或环境致癌物、化学毒物的成分和结构等可以造成 CYP450 酶活性的差异,从而引起人体内许多药物的代谢和效应差异<sup>[1]</sup>。II 相酶主要参与药物的结合代谢,加速致癌物的排泄而预防肿瘤<sup>[2]</sup>,药物代谢酶被抑制或被诱导是导致药物代谢性相互作用和引起不良反应的主要原因。血府逐瘀汤来源于清代医学家王清任所著的《医林改错》,为活血化瘀方中具有代表性的方剂,由桃仁、红花、当归、生地黄、赤芍、川芎、柴胡、枳壳、桔梗、牛膝、甘草等 11 味药组成,主要用于胸痛、头痛、呃逆、不寐等症<sup>[3]</sup>。有研究表明,血府逐瘀汤具有改善心功能、抗心律失常、抑制血小板聚集,改善血液流变学及微循环作用,且具有抗缺氧、镇痛、抗炎、降血脂、增强免疫功能等多种药理作用<sup>[4]</sup>。虽然对血府逐瘀汤的药理作用机制研究较多,但对其对药物代谢酶的影响等方面的研究尚少见。因此,研究血府逐瘀汤对代谢酶的影响,从而进一步预测血府逐瘀汤在临床上与其他药物的相互作用,对于提高药物临床疗效,减少药物不良反应的发

生具有极其重要的意义。

## 1 材料

**1.1 药品和试剂** 血府逐瘀汤:桃仁(云南,批号 110721)、红花(新疆,批号 110701)、当归(甘肃,批号 110411)、生地黄(山西,批号 110621)、川芎(四川,批号 110726)、赤芍(四川,批号 110708)、柴胡(甘肃,批号 110615)、枳壳(江西,批号 110707)、牛膝(河南,批号 110701)、桔梗(浙江,批号 110509)、甘草(内蒙,批号 11613),均于 2011 年 8 月 1 日购于广西南宁生源中药饮片有限责任公司,经广西中医药大学药学院中药鉴定教研室何报作教授鉴定。注射用苯巴比妥钠(上海新亚药业有限公司,批号 110304),TRIZOL 试剂(Invitrogen life technologies),无 RNA 酶的水,无 RNA 酶的糖原(Invitrogen life technologies),甲醛上样染液(Ambion 公司),RNA 酶抑制剂(Epicentre),MMLV 反转录酶(Epicentre),10 × RT 缓冲液(Epicentre),2.5 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP 混合液(HyTest Ltd),Oligo(dT)<sub>18</sub>(上海生工生物工程有限公司),2 × PCR master mix(Superarray),TE(Tris-HCl,EDTA 华美生物工程公司),Gold View 染料(上海赛百胜基因技术有限公司),琼脂糖(生工

生物工程有限公司)。

**1.2 仪器** 洁净工作台(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),DK-8D 型电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司),Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems),TaKaRa PCR Thermal Cycler (宝生物工程有限公司),引物设计软件:Primer 5.0,ABI PRISM7900 system (Applied Biosystems)。

**1.3 动物** SD 雄性大鼠,体重 180 ~ 220 g,SPF 级,许可证号 SCXK(桂)2009-0002,由广西医科大学实验动物中心提供。

**2 方法**

**2.1 药物煎煮** 桃仁 12 g,红花 9 g,当归 9 g,生地黄 9 g,川芎 4.5 g,赤芍 6 g,柴胡 3 g,枳壳 6 g,牛膝 9 g,桔梗 4.5 g,甘草 6 g,第 1 次加 10 倍质量的水,浸泡 40 min,煎煮 1 h,过滤煎液,药渣再加 8 倍量的水,煎煮 1 h,过滤煎液,合并 2 次煎液,浓缩至一定体积,至生药量为 1.404 g·mL<sup>-1</sup>,置于 4 °C 冰箱,待用<sup>[6]</sup>,用时用蒸馏水配至所需浓度。

**2.2 动物给药** 将 25 只大鼠随机分为 5 组,每组 5 只。给药剂量根据人临床使用剂量来换算,通过每 1 kg 体重占有体表面积相对比值计算所得,高、中、低剂量为临床换算剂量的 2,1,0.5 倍,血府逐瘀汤 14.04,7.02,3.51 g·kg<sup>-1</sup> 3 个剂量,ig 给药,空白组和苯巴比妥钠组(阳性组)给予 ig 纯净水,1 次/d,饲养至第 12 日,阳性组 ip 80 mg·kg<sup>-1</sup> 的苯巴比妥钠,1 次/d,连续 3 d。禁食不禁水 24 h 后脱颈椎处死,剖腹迅速取出肝组织约 200 mg 放入液氮中速冻,后迅速转移至 -80 °C 冰箱保存备用(用于总 RNA 提取和基因表达分析)。

**2.3 总 RNA 的提取**<sup>[7-8]</sup> 取 100 mg 组织样品,按 TRIZOL 试剂盒说明书提取。获得的 RNA 溶液保存于 -70 °C。使用 NanoDrop® ND-1000 测定 RNA 浓度和纯度,甲醛变性琼脂糖凝胶电泳以判断 RNA 的完整性。

**2.4 样品 RNA 的 cDNA 合成**<sup>[7-8]</sup> 配制退火混合物:1 μg RNA,1 μL 0.5 g·L<sup>-1</sup> Oligo(dT)<sub>18</sub>,加无 RNA 酶的 H<sub>2</sub>O 至总体积 10 μL,混合液在 70 °C 水浴 3 min,降到 37 °C 放置 10 min。RT 反应液:2 μL 10 × RT 缓冲液,4 μL 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP 混合液、1 μL RNA 酶抑制剂和 1 μL MMLV 反转录酶,混合后 37 °C 恒温 1 min。加 10 μL 的 RT 反应液到 10 μL 退火混合物中,37 °C 水浴 60 min,加热至 95 °C 维持 5 min。得 RT 终溶液即为 cDNA 溶液,置冰浴待用。

**2.5 引物设计**<sup>[7-8]</sup> 引物设计软件 Prime5.0,由上海康成生物工程有限公司合成。各对引物基本情况见表 1。

**表 1 用于 RT-real time PCR 的靶基因 CYPs, GSTs 和 UGTs mRNAs 检测的引物信息表**

基因	引物序列(5'→3')	产物 /bp	外显子
GAPDH	F:GGAAAGCTGTGGCGTGAT	308	1
NM_017008	R:AAGGTGGAAGAATGGGAGTT		1
CYP1A1	F:GGGTGTAGCACCTTCATTTAC	206	7
NM_012540	R:GTTTCAGAGGCAACTTGGACTA		7
CYP1A2	F:5'GGTGGGAATCGGTGGCTAATGT	96	2
NM_012541	R:TTGCTGCTCTTCACGAGGTTG		2
CYP2B1	F:TATCTTGCTCCTCCTTGCTCT	240	3
NM_001134844	R:TGGGATGGGAAAGAGGAGTG		4
CYP2C11	F:GCACAATCCGCAGTCTGAGTT	226	6
NM_019184	R:AGCATCCGTGTAGGGCATCT		7
CYP2E1	F:GTGGTCTGCATGGCTACA	151	2
NM_031543	R:ACCTCCGCACATCCTTCC		3
CYP3A1	F:TGGCTGGAGAATGAACTTAGGA	119	1
NM_013105	R:TAGAGGAGCACCAGGACGAC		1
CYP3A2	F:AAAAGTGTGGTGCCTACAGC	294	6,7
NM_153312	R:AAATCCACTCGGTGCTTATGC		9,10
CYP4A1	F:ATGGCAGTTCAGGTGGAT	288	5
NM_175837	R:CCATTCTGGCAAGTAAGAGGAT		7,8
CYP7A1	F:GGCATCTCAAGCAAACCCAT	246	3
NM_012942	R:GCTGTGCGGATATTCAAGGAT		5
CYP17A1	F:GCACAATCCTGAGGTGAAGA	130	5,6
NM_012753	R:ACGCAGCACTTCTCGGATA		6
CYP27A1	F:AAGGAGCACCGAGACCACA	98	2
NM_178847	R:AGCATCCGCTGATTCAAACTAT		3
GSTA2	F:CAACTACATCGCCACCAAAAT	133	4
NM_017013	R:TTGCTCTGGGGACATATTAC		5
GSTM1	F:ACGCCTTCCCAAACCTGA	160	7
NM_017014	R:CTCCCTGTGAGTGCCAGTGTA		8
GSTp1	F:GGTCGCTCTTTAGGGCTTTATG	80	4,5
NM_012577	R:AGGTCTCCACCCCATCATT		5
UGT1A1	F:GACCCTGAATGTCTGGAAATG	284	4
NM_012683	R:CAATGAAGACCACCGTCAACAC		5
UGT2B1	F:TGGCATCTATGAGGCAATCTAC	164	5
NM_173295	R:TGACAATCTTCAAGGCAGTGAG		5

**2.6 实时定量 PCR**<sup>[7-8]</sup>

**2.6.1 DNA 模板的制备** 针对每一需要测量的基因和管家基因,选择一确定表达该基因的 cDNA 模板(所有样本经 RT 后的 cDNA 各取 2 μL 混样)进行

PCR 反应:5  $\mu\text{L}$  2  $\times$  Master Mix,0.5  $\mu\text{L}$  10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PCR 特异引物 F,0.5  $\mu\text{L}$  10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PCR 特异引物 R,2  $\mu\text{L}$  cDNA,加水至总体积为 8  $\mu\text{L}$ 。轻弹管底将溶液混合,5 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  短暂离心,设置 PCR 反应:95  $^{\circ}\text{C}$ ,10 min;40 个 PCR 循环(95  $^{\circ}\text{C}$ ,10 s;60  $^{\circ}\text{C}$ ,60 s(收集荧光));PCR 产物与 100 bp DNA ladder 在 2% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色,检测 PCR 产物是否为单一特异性扩增条带;将 PCR 产物进行 10 倍梯度稀释:设定 PCR 产物浓度为 1,分别稀释为  $1 \times 10^{-1}$ , $1 \times 10^{-2}$ , $1 \times 10^{-3}$ , $1 \times 10^{-4}$ , $1 \times 10^{-5}$ , $1 \times 10^{-6}$ , $1 \times 10^{-7}$ , $1 \times 10^{-8}$ , $1 \times 10^{-9}$ ,这几个梯度浓度的 DNA。

**2.6.2 Real Time PCR 反应** 将所有 cDNA 样品分别配置 Realtime PCR 反应体系。系配置如下:5  $\mu\text{L}$  2  $\times$  Master Mix,0.5  $\mu\text{L}$  10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PCR 特异引物 F,0.5  $\mu\text{L}$  10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PCR 特异引物 R,加水至总体积为 8  $\mu\text{L}$ ,轻弹管底将溶液混合,5 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  短暂离心。将 8  $\mu\text{L}$  混合液加到 384-PCR 板对应的每个孔中,再加入对应的 2  $\mu\text{L}$  cDNA,小心粘上 Sealing Film 封口膜,并短暂离心混合,在设置 PCR 程序前将准备好的 PCR 板放在冰上;将上述 384-PCR 板置于 Realtime PCR 仪上进行 PCR 反应,所有的指标均按以下程序进行:95  $^{\circ}\text{C}$ ,10 min;40 个 PCR 循环(95  $^{\circ}\text{C}$ ,10 s;60  $^{\circ}\text{C}$ ,60 s(收集荧光)),为了建立 PCR 产物的熔解曲线,扩增反应结束后,按(95  $^{\circ}\text{C}$ ,10 s;60  $^{\circ}\text{C}$ ,60 s;95  $^{\circ}\text{C}$ ,15 s);并从 60  $^{\circ}\text{C}$  缓慢加热到 99  $^{\circ}\text{C}$ (仪器自动进行-Ramp Rate 为 2%)。

**2.7 统计学处理** 各样品的目的基因和管家基因分别进行 Real time PCR 反应。根据绘制的梯度稀释 DNA 标准曲线,各样品目的基因和管家基因的浓度结果直接由机器生成。每个样品的目的基因浓度除以其管家基因的浓度,即为此样品此基因的校正后的相对含量。应用 SPSS 17.0 软件进行统计,组间比较采用 ANOVA 检验中的 Dunnett-*t* 检验,所有数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示。

### 3 结果

**3.1 扩增曲线和标准曲线** 图 1 表示 CYP1A1 基因随 PCR 循环增加荧光强度变化的典型扩增曲线和标准曲线。A:溶解曲线,B:扩增曲线:标准报告信号(荧光强度)随 PCR 循环数量的变化而变化。C:CYP1A1 cDNA 拷贝数(*X*)的对数值随 Ct(*Y*)变化的校准曲线为: $\hat{Y} = -3.149X + 26.147$ ,相关系数为 0.998 9。CYP1A2,CYP2B1,CYP2C11,CYP2E1,CYP3A1,CYP3A2,CYP4A1,CYP7A1,CYP17A1,

CYP27A1,GSTA2,GSTM1,GSTp1,UGT1A1 和 UGT2B1 基因也得到相似的扩增曲线和校准曲线(略)。

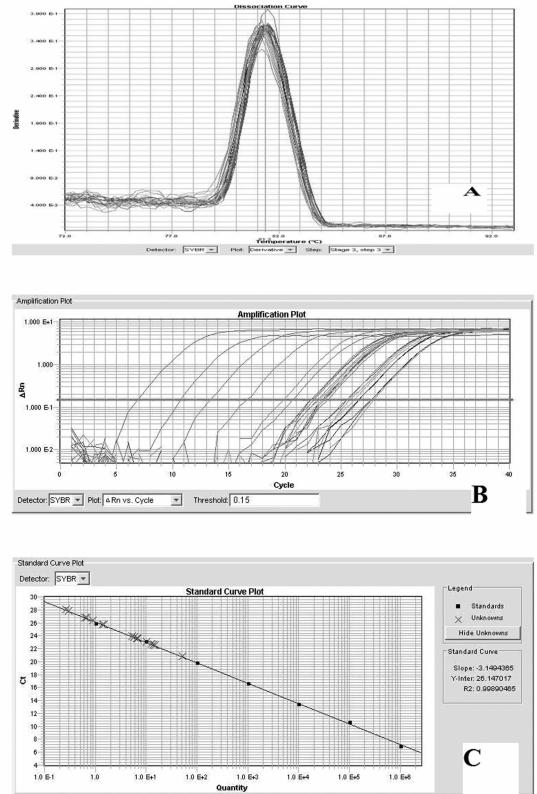


图 1 CYP1A1 基因溶解曲线(A),扩增曲线(B),标准曲线(C)

**3.2 苯巴比妥钠对大鼠肝组织内 CYPs,UGTs 和 GSTs 基因表达的影响** 与空白组相比,苯巴比妥钠组(阳性组)可明显诱导肝组织内的 CYP2B1,CYP3A1,CYP3A2,GSTA2 和 UGT2B1 基因表达( $P < 0.01$ ),分别为空白组的 84.57,5.44,5.11,7.76,13.27 倍。见表 2。

**3.3 血府逐瘀汤对大鼠肝组织内 CYPs,UGTs 和 GSTs 基因表达的影响** 与空白组比较,血府逐瘀汤 3.51,7.02  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  明显诱导 GSTA2,CYP1A1 的基因表达( $P < 0.05$ ),为空白组的 1.54,58.92 倍,血府逐瘀汤 14.04  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  明显抑制 CYP2C11 的基因表达( $P < 0.05$ ),为空白组的 55%,血府逐瘀汤 3.51,7.02,14.04  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  对 GSTM1 有明显的抑制作用( $P < 0.05$ ),分别为空白组的 53%,55%,51%。血府逐瘀汤 3 个剂量组 CYP1A2,CYP2B1,CYP2E1,CYP3A1,CYP3A2,CYP4A1,CYP7A1,CYP17A1,CYP27A1,GSTP1,UGT1A1,UGT2B1 的基因表达无显著影响,见表 3~4。

表 2 苯巴比妥钠对大鼠肝组织内 CYP2B1, CYP3A1, CYP3A2, GSTA2 和 UGT2B1 基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	CYP2B1	CYP3A1	CYP3A2	GSTA2	UGT2B1
空白	-	0.35 ± 0.20	2.01 ± 1.19	4.23 ± 2.38	1.89 ± 0.54	0.37 ± 0.15
苯巴比妥钠	80	29.60 ± 9.17 <sup>1)</sup>	10.94 ± 1.85 <sup>1)</sup>	21.60 ± 3.64 <sup>1)</sup>	14.66 ± 2.66 <sup>1)</sup>	4.91 ± 0.96 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ 。

表 3 血府逐瘀汤对大鼠肝组织内 CYPs 基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CYP1A1	CYP1A2	CYP2B1	CYP2C11	CYP2E1	CYP3A1
空白	-	0.003 ± 0.002	3.75 ± 2.00	0.35 ± 0.20	1.95 ± 0.87	4.04 ± 2.90	2.01 ± 1.19
血府逐瘀汤	3.51	0.038 ± 0.025	2.48 ± 0.57	0.17 ± 0.09	1.39 ± 0.43	4.42 ± 2.10	1.79 ± 0.92
	7.02	0.147 ± 0.155 <sup>1)</sup>	5.53 ± 1.76	0.20 ± 0.10	1.86 ± 0.29	6.88 ± 1.31	2.41 ± 0.34
	14.04	0.020 ± 0.022	2.45 ± 0.65	0.16 ± 0.10	1.07 ± 0.42 <sup>1)</sup>	5.33 ± 3.64	1.97 ± 1.35

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CYP3A2	CYP4A1	CYP7A1	CYP17A1	CYP27A1
空白	-	4.23 ± 2.38	0.92 ± 1.12	0.045 ± 0.036	0.065 ± 0.043	0.22 ± 0.12
血府逐瘀汤	3.51	4.81 ± 2.30	0.74 ± 0.15	0.030 ± 0.027	0.074 ± 0.027	0.20 ± 0.05
	7.02	4.34 ± 1.03	1.50 ± 0.18	0.031 ± 0.016	0.062 ± 0.026	0.23 ± 0.30
	14.04	5.92 ± 4.32	0.94 ± 0.17	0.039 ± 0.021	0.071 ± 0.013	0.19 ± 0.07

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  (表 4 同)。

表 4 血府逐瘀汤对大鼠肝组织内 GSTs 和 UGTs 基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	GSTA2	GSTM1	GSTP1	UGT1A1	UGT2B1
空白	-	1.89 ± 0.54	5.86 ± 3.00	0.059 ± 0.028	1.68 ± 0.78	0.37 ± 0.15
血府逐瘀汤	3.51	2.92 ± 0.56 <sup>1)</sup>	3.10 ± 0.94 <sup>1)</sup>	0.065 ± 0.020	2.06 ± 0.73	0.35 ± 0.11
	7.02	3.07 ± 1.32	3.20 ± 0.15 <sup>1)</sup>	0.089 ± 0.035	1.99 ± 0.57	0.32 ± 0.14
	14.04	2.73 ± 1.32	2.94 ± 0.78 <sup>1)</sup>	0.060 ± 0.014	2.10 ± 0.8	0.35 ± 0.21

## 4 讨论

**4.1 血府逐瘀汤对大鼠肝脏 CYPs 基因表达的影响** CYP1A1 和 CYP1A2 参与许多前致癌物、某些类固醇激素和少数药物的代谢<sup>[9-10]</sup>。CYP2B1 是花生四烯酸的主要代谢酶,可被苯巴比妥等药物诱导,在一些损伤进程(如癌症、抽烟造成的损害、激素变化等)中起一定的作用<sup>[11]</sup>。CYP2C 主要参与外源性物质代谢(尤其是药物)外,还参与某些内源性物质如花生四烯酸、维生素和类固醇的代谢<sup>[12]</sup>。经 CYP2E1 代谢的底物达 70 多种,其中有大部分为前致癌物质和前毒物(芳香核化合物、亚硝胺、醇等),小部分为临床上使用的药物(茶碱、氨苯砜、对乙酰氨基酚等)<sup>[13]</sup>。CYP3A 家族酶催化约 60% 临床应用药物的代谢,包括大环内酯类抗生素、免疫抑制剂、抗抑郁药以及 HIV 抑制剂等。CYP4A1, CYP7A1, CYP17A1 及 CYP27A1 主要参与内源性物质如花生四烯酸、内固醇激素、胆汁酸等物质的合成与代谢。如 CYP17A1 和 CYP19 参与糖皮质激素和性激素的合成,抑制 CYP17A1 和 CYP19 可以起到

抗前列腺素癌和乳腺癌的作用<sup>[14]</sup>。苯巴比妥钠是 CYP2B1, CYP3A1, CYP3A2, GSTA2, UGT2B1 的诱导剂,本研究发现苯巴比妥钠明显诱导 CYP2B1, CYP3A1, CYP3A2, GSTA2, UGT2B1 基因的表达,说明本实验的结果真实可靠。研究表明,血府逐瘀汤对 CYP1A2, CYP2B1, CYP2E1, CYP3A1, CYP3A2, CYP4A1, CYP7A1, CYP17A1, CYP27A1 基因表达无明显影响,提示血府逐瘀汤与以上主要药物代谢酶代谢的药物合用时可能不会产生代谢性药物相互作用、对内源性物质的合成与代谢的主要酶类的影响可能也不大。但可能会加速 CYP1A1 相关的底物代谢;抑制 CYP2C11 的底物代谢。

### 4.2 血府逐瘀汤对大鼠肝脏 GSTs 基因表达的影响

GST 催化还原型谷胱甘肽与一系列亲电子化合物结合,对进入体内的亲电子致癌物、外源性毒物起解毒和保护作用<sup>[7,8]</sup>, GSTM1 和 GSTP1 的主要作用是催化谷胱甘肽(GSH)与许多包括环境致癌物在内的亲电子和疏水化合物间的反应,缺乏 GSTM1 和 GSTP1 基因的个体不具备这种解毒功能,与乳腺癌,

胃癌等易感性相关<sup>[15-16]</sup>。GSTA 的异常表达与结直肠癌、卵巢癌等癌症的发病风险增加有关,而作为其亚型之一的 GSTA2 的研究尚未广泛展开。我们的实验发现血府逐瘀汤对 GSTP1 基因表达无显著影响,但能显著抑制 GSTM1 的基因,而对 GSTA2 基因有诱导作用,提示若长期使用血府逐瘀汤可能会对体内某些肿瘤的发生发展产生影响。

**4.3 血府逐瘀汤对大鼠肝脏 UGTs 基因表达的影响** UGT 催化大多数药物(吗啡、乙酰水杨酸和非甾体类抗炎药物等)以及广泛存在的作为食物和空气污染物而进入体内的各种潜在的致癌和致畸外源物进行解毒<sup>[13]</sup>。对内源性物质代谢的影响:UGT1 家族主要参与胆红素的代谢,UGT1A1 被证明是催化体内胆红素葡萄糖醛酸结合反应的唯一酶,UGT2 家族则主要参与类固醇的代谢<sup>[17]</sup>。本研究结果显示,血府逐瘀汤对大鼠肝脏 UGT1A1 和 UGT2B1 基因的表达无显著影响。

[致谢] 上海康成生物工程有限公司为实验的 RT-real time PCR 提供技术服务。

#### [参考文献]

[ 1 ] Guengerich F P. Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity [J]. AAPS, 2006, 8 (1):E101.

[ 2 ] Moon Y T, Wang X, Moris M E. Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism [J]. Toxicol In Vitro, 2006, 20:187.

[ 3 ] 张飞. 方剂学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:1279.

[ 4 ] Lee J J, Hsu W H, Yen T L, et al. Traditional Chinese medicine, Xue-Fu-Zhu-Yu decoction (血府逐瘀汤), potentiates tissue plasminogen activator against thromboembolic stroke in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134 (3):824.

[ 5 ] 高冬, 陈文元, 林薇, 等. 血府逐瘀汤促血管新生中 VEGF 通路的作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (17):2622.

[ 6 ] 于斌, 赵安斌, 陈静蕊, 等. 血府逐瘀汤对大鼠糖尿病性心肌病的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26

(11):2136.

[ 7 ] 杨秀芬, 廖梅春, 杨子明, 等. 三七对大鼠肝组织内 CYP 和 GST 基因表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(18):2390.

[ 8 ] 杨秀芬, 钟正贤, 廖梅春, 等. 蛇葡萄素与苯并芘合用对大鼠肝组织内 CYP 和 GST 基因表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(7):860.

[ 9 ] Ahmi O A, Ripp S L. Evaluation of models for predicting drug-drug interactions due to induction [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2010, 6(11):1399.

[ 10 ] Yang X F, Wang N P, Zeng F D. Tobacco-smoking-related factors, cytochrome P-450 polymorphisms, cytochrome P-450 inhibitors and lung cancer [J]. Asian J Pharmacodyn Pharmacok, 2007, 7(1):49.

[ 11 ] Beltrán-Ramírez O, Pérez R M, Sierra-Santoyo A V, et al. Cancer prevention mediated by caffeic acid phenethyl ester involves Cyp2b1/2 modulation in hepatocarcinogenesis [J]. Toxicol Pathol, 2012, 40 (3):466.

[ 12 ] 张庆柱. 分子药理学 [M]. 北京:高等教育出版社, 2007:120.

[ 13 ] 曾苏. 药物代谢学 [M]. 杭州:浙江大学出版社, 2008:7.

[ 14 ] Yasser Rehman, Jonathan E Rosenberg. Abiraterone acetate; oral androgen biosynthesis inhibitor for treatment of castration-resistant prostate cancer [J]. Drug Des Devel Ther, 2012, 6:13.

[ 15 ] 黄雪, 唐国都, 姜海行, 等. 代谢酶基因 CYP1A1、GSTM1 和广西人群胃癌遗传易感性的关系 [J]. 中国现代医学杂志, 2012, 22(18):27.

[ 16 ] Amanda B Spurdle, Paul Fahey, Xiaoqing Chen, et al. Pooled analysis indicates that the GSTT1 deletion, GSTM1 deletion, and GSTP1 Ile105Val polymorphisms do not modify breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 122(1):281.

[ 17 ] 刘志强. 阻塞性黄疸大鼠肝内麻醉药代谢相关 II 相酶 UGT1A1, 1A6, 2B1 mRNA 表达的研究 [D]. 上海:第二军医大学, 2005:11.

[责任编辑 聂淑琴]