

藏药郎庆阿塔对肝纤维化大鼠胶原代谢的影响

薛娟^{1,2}, 彭蕴茹^{2*}, 丁永芳², 黄一平², 王新敏³

(1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏省中医药研究院, 南京 210028;
3. 南京中医药大学江苏省方剂高技术研究重点实验室, 南京 210046)

[摘要] **目的:**观察藏药郎庆阿塔对肝纤维化大鼠胶原代谢的影响。**方法:**采用复合因素(皮下注射 40% CCl₄/橄榄油溶液 + 高脂低蛋白复合饲料喂养 + 给予 5% 乙醇饮水)构建大鼠肝纤维化模型,造模 6 周后,于第 7 周开始分组给药,设置正常对照组、模型组、阳性药组[复方鳖甲软肝片(0.55 g·kg⁻¹)]、郎庆阿塔高、中、低剂量组(按生药量计为 11.4, 5.7, 2.85 g·kg⁻¹),分别 ig 给药 7 周。实验末期,取肝组织,HE 染色观察肝脏组织的病理学变化,Masson 染色观察肝组织内纤维化程度,免疫组化法检测肝组织中金属蛋白酶组织抑制因子 I(TIMP-I)的表达水平,荧光定量 PCR(RTFQ PCR)法测定药物对肝纤维化大鼠肝组织中 I 型胶原蛋白(CoL-I) mRNA 表达的影响。**结果:**郎庆阿塔高、中剂量对肝纤维化大鼠肝纤维组织增生、肝组织炎症活动度均有显著的改善作用($P < 0.05$),免疫组化结果表明,郎庆阿塔能明显降低肝纤维化大鼠肝组织中 TIMP-I 的表达水平($P < 0.01$),高剂量组阳性率(4.80 ± 0.92)与模型组(8.60 ± 1.52)相比显著下降;此外,郎庆阿塔还能剂量依赖性降低 CoL-I mRNA 表达水平,其中高剂量组与模型组相比较有显著性差异($P < 0.01$)。**结论:**郎庆阿塔能明显改善肝纤维组织增生,降低肝组织中 TIMP-I 和 CoL-I mRNA 的表达,发挥其抗肝纤维化作用。

[关键词] 郎庆阿塔; 金属蛋白酶组织抑制因子 I; I 型胶原, 荧光定量 PCR

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0260-06

Effect of Langqing Ata on Metabolism of Collagen in Rat Hepatic Fibrosis Model

XUE Juan^{1,2}, PENG Yun-ru^{2*}, DING Yong-fang², HUANG Yi-ping², WANG Xin-min³

(1. Department of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;
(2. Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;
(3. Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of TCM Formulae,
Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Langqing Ata (LQAT) on the metabolism of collagen in rat hepatic fibrosis model. **Method:** Composite factors (subcutaneous injection of 40% CCl₄/olive oil solution + high-fat and low-protein compound feed + give 5% ethanol drinking water) were used to establish rat liver fibrosis model. Except the normal control group, the model rats were divided into five groups as model group, Fufang Biejia Ruangan table group (0.55 g·kg⁻¹) and LQAT groups at three doses (11.4, 5.7, 2.85 g·kg⁻¹ respectively). The rats were orally treated with corresponding decoctions once a day for 7 weeks. At the end of the dosing cycle, rats were sacrificed and livers were collected and then were dyed by hematoxylin-eosin staining to observe the pathological changes. The degree of fibrosis in liver tissue was observed by Masson staining. The expression levels of tissue inhibitor of metal protease 1 (TIMP-I) in liver tissue were detected by immunohistochemistry method. The expression levels of type 1 collagen (CoL-I) mRNA in livers were measured by Real-time fluorescence quantitative PCR (RTFQ PCR). **Result:** The fiber tissue proliferation and liver inflammation activity on the hepatic fibrosis

[收稿日期] 20120619(012)

[第一作者] 薛娟, 硕士研究生, Tel: 025-52362105, E-mail: 332510294@qq.com

[通讯作者] * 彭蕴茹, 博士, 副研究员, 从事中药药理及药代研究, Tel: 025-85637847, E-mail: pengyunru@126.com

could be ameliorated by the high and middle dose groups ($P < 0.05$ - $P < 0.01$). The immunohistochemical results showed that LQAT significantly reduced the expression levels of TIMP-I in livers ($P < 0.01$). Results also showed the dose-dependent inhibition of LQAT on the expression levels of CoL-I mRNA in livers, and the high dose group showed significant difference ($P < 0.01$) compared with the model group. **Conclusion:** LQAT played the role of anti-liver fibrosis by significantly improving hepatic fibrous tissue proliferation, and reducing the expression of TIMP-I and CoL-I mRNA.

[**Key words**] Langqing Ata; TIMP-I; CoL-I; RTFQ PCR

郎庆阿塔是我国藏医药经典验方,由牛黄、西红花、五灵脂、余甘子、印度獐牙菜等 10 余味药组成,已有 580 多年的用药史。现代研究证实其对肝硬化、肝腹水有良好的疗效^[1-2]。本课题组前期已通过动物实验证明其药效明确,但其作用机制尚未阐明。由于胶原代谢在肝纤维化发病中占有重要作用^[3-7],为了对郎庆阿塔的抗肝纤维化作用机制进行科学阐释,本文以前期药理学研究为基础,从实验的角度探讨了郎庆阿塔对肝纤维化大鼠胶原代谢的影响,从而为进一步阐明其作用机制提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠,清洁级,雄性,体重 150 ~ 180 g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。饲养环境为清洁级,饲养合格证号 SYXK(苏)2007-0026。

1.2 供试品 郎庆阿塔处方由人工牛黄、西红花、五灵脂、余甘子、印度獐牙菜、木香、沉香、石榴子、烈香杜鹃、冬葵果、甘草按 1:10:10:10:10:5:2:10:3:10:1 比例组成,取沉香和烈香杜鹃提取挥发油,药液过滤,滤液和药渣另器存放备用;其余药味(除人工牛黄)加水提取 3 次,过滤,滤液和上述药液合并,减压浓缩至相对密度 1.05 ~ 1.10(60 ℃)的浸膏,静置,取上清液,药液继续浓缩至相对密度 1.25 ~ 1.30(60 ℃)的浸膏,加入人工牛黄及上述挥发油,搅拌均匀,即得。主要质控指标:胆酸含量 $\geq 1.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;其他应符合现行《中国药典》附录浸膏剂项下的各项规定。含生药 2.605 5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,江苏省中医药研究院中药制剂研究室提供,批号 20110608。

1.3 阳性对照药 复方鳖甲软肝片,0.5 g/片,内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限公司出品,批号 20110204。

1.4 试剂 四氯化碳(CCl_4 ,分析纯,南京化学试剂有限公司生产),10%中性磷酸福尔马林液(新鲜配制),金属蛋白酶组织抑制因子 I(TIMP-I)单克隆抗体(Santa Cruz 公司),抗兔/鼠通用型免疫组化检测试剂盒(Dako 公司),TRIZOL PLUS(总 RNA 提取试

剂, Biouniquer), BU-SuperScript RT KIT (Biouniquer),Oligo primer(南京金斯瑞生物科技有限公司), Agarose (Biowest), 0826-Tris-500G (Generay Biotech), EDTA Na_2 (Amresco), 冰乙酸(天津博迪化工股份有限公司),即用型 Tag 酶 PCR 试剂盒(GENERay), DL 2 000 DNA Marker (TaKaRa), EB(Sigma), SYBR[®] Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)。

1.5 仪器 Hypercenter XP 型组织脱水机(Shandon,英国), Histocentre 2 型包埋机(Thermo Shandon,英国), MICROM-340E 型切片机(Microm,德国), BX51 型显微镜(Olympus,日本), SN-695B 型智能放免 γ 测量仪(日环,中国), 752s 型紫外-可见分光光度计(棱光,中国), TE212-L 电子天平(Sartorius,德国), 移液枪(Eppendorf,德国), SIM-F140 制冰机(SANYO,日本), 低温冰箱(Haier,中国), 全自动生化分析仪(日立,日本), NanoDrop ND-1000(Thermo Fisher Scientific,美国), MilliQ 纯水仪(MILLIPORE,美国), 台式低温冷冻离心机(Beckman,美国), Veriti 96 well Thermal Cycler(Applied Biosystems,美国), Bio-RAD Mini-SUB[®] CELL GT(Bio-RAD,美国), P70D20TJ-D3 微波炉(Galanz,中国), 3UV Transilluminator(UVP,美国), 7500 Real Time PCR System(Applied Biosystems,美国)。

2 方法

2.1 建立大鼠肝纤维化模型 采用复合因素构建大鼠肝纤维化模型^[2]:皮下注射 40% CCl_4 /橄榄油溶液,首剂量为 5 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,以后每周注射 2 次,每次剂量 3 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重,持续 6 周。造模 1 ~ 2 周给予高脂低蛋白复合饲料(猪油 20% + 胆固醇 0.5% + 玉米粉 79.5%)喂养,3 ~ 6 周以玉米粉及 0.5% 胆固醇混合制备而成的饲料喂养,6 周造模期间用 5% 乙醇作为唯一饮料。

2.2 动物分组及给药 将模型大鼠随机分为模型组、阳性药(复方鳖甲软肝片)组、郎庆阿塔高、中、

低剂量组,另设正常对照组。各组大鼠于第 7 周开始灌胃给药。郎庆阿塔高、中、低剂量组灌胃给予郎庆阿塔药液 11.4, 5.7, 2.85 g·kg⁻¹, 阳性药组灌胃给予复方鳖甲软肝片 0.55 g·kg⁻¹, 正常及模型组均灌胃给予等容积的蒸馏水,所有大鼠灌胃容积均为 10 mL·kg⁻¹,每日 1 次,连续灌胃给药 7 周。

2.3 肝脏病理组织学检查^[8-10] 每组随机取 10 只大鼠的肝脏组织,取肝右叶同一部位组织标本经 10% 中性磷酸福尔马林液固定,石蜡切片,HE 染色,光镜下观察各组大鼠肝组织的病理改变情况,并采用 Masson 染色观察肝组织内纤维化程度,Masson 染色胶原纤维呈绿色。结果判断及评分标准:①纤维化增生程度分级评分:肝组织内除中心静脉及汇管区周围外,不见纤维组织为 -, 出现少量散在纤维分布为 +, 出现大量纤维组织呈网格状分布为 ++, 介于二者之间为 +++;②炎症活动度分级评分:肝组织内无炎症细胞浸润为 -, 汇管区及周围有少量炎症细胞浸润,偶见少数肝细胞呈现点状坏死为 +, 肝组织内见中度炎症细胞浸润,且可见肝细胞变性及点灶状坏死为 ++, 有大量炎症细胞浸润且出现片状肝细胞坏死为 +++。

2.4 肝脏组织中 TIMP-I 的表达 取肝右叶同一部位组织标本放入 10% 中性磷酸福尔马林液中固定,石蜡包埋切片,进行 TIMP-I 免疫组织化学染色。石蜡切片脱水,微波修复,3% H₂O₂ 灭活内源性过氧化物酶,滴加一抗,4 ℃ 过夜,滴加二抗,37 ℃ 孵育 0.5 h, DAB 显色,苏木素复染,脱水、透明、封片。在全自动图像分析系统上,采用 HPIAS-2000 型图像分析软件进行定量分析,随机选取每张切片 5 个视野测定阳性细胞染色面积与所占视野面积的百分比,取平均数值作为阳性细胞面积比,阳性染色面积越大,则表达产物越多。

2.5 测定各组大鼠 CoL-I mRNA 表达情况^[11]

2.5.1 提取总 RNA 实验结束,随机每组取 3 只大鼠处死,取肝脏组织 50 mg,应用 TRIZOL PLUS (总 RNA 提取试剂)提取大鼠肝脏组织总 RNA,按照 TRIZOL PLUS (总 RNA 提取试剂)操作说明进行。采用 NanoDrop ND-1000 测定总 RNA 浓度及纯度, A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.8 ~ 2.0。

2.5.2 引物设计与合成 引物设计与合成由南京金斯瑞生物科技有限公司完成。引物序列见表 1。

2.5.3 逆转录反应 采用 20 μL 逆转录反应体系,通过 Veriti 96 well Thermal Cycler 扩增仪按照 BU-

表 1 内参基因以及目的基因引物序列

引物	序列
GAPDH	上游 5'-CTGCACCACCAACTGCTTAG-3'
	下游 5'-GGATGCAGGGATGATGTTCT-3'
Collagen-I	上游 5'-GCCAAGAAGACATCCCTGAA-3'
	下游 5'-CTTCTGGCGAAAGGACAG-3'

SuperScript RT KIT 逆转录反应说明书进行合成 cDNA,反应条件为:① 30 ℃, 10 min。② 42 ℃, 60 min。③ 70 ℃, 15 min。④ 4 ℃, 5 min。采用 NanoDrop ND-1 000 测定 cDNA 浓度及纯度, A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.8 ~ 2.0, 并调整浓度。

2.5.4 检测 cDNA 采用 20 μL 反应体系,以 GAPDH 为目的基因,采用即用型 Taq 酶 PCR 试剂盒进行扩增,反应条件为:① 94 ℃, 5 min。② [94 ℃, 30 s; 55 ℃, 30 s; 72 ℃, 30 s] × 30 cycles。③ 72 ℃, 5 min。④ 4 ℃。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,EB 染色,在 3UV Transilluminator 紫外透射下可见条带。

2.5.5 RTFQ PCR 采用 20 μL 反应体系,按照 SYBR® Green PCR Master Mix 操作说明书在 7500 Real Time PCR System 上进行 PCR 反应。反应条件为:① 95 ℃, 10 min。② [95 ℃, 15 s; 60 ℃, 1 min] × 40 cycles。通过熔解曲线判断 PCR 反应的特异性。实验以模型组为参照,其余各组 mRNA 的相对表达量用模型组的 2^(-ΔΔCt) 倍表示。

2.6 统计学分析 TIMP-I 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,病理分级数据采用 Radit 分析。RTFQ PCR 数据采用 SAS 统计软件,One-way ANOVA 方差分析。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 HE 染色及 Masson 染色法观察各组大鼠肝组织病理学变化情况 由表 2 ~ 3 可知,阳性药组病变情况比模型组有一定减轻,个别例与正常组基本相似,其余各例与模型组改变类似,但肝组织内纤维化增生程度及炎症活动度均较模型组明显好转。郎庆阿塔高、中剂量组各例与模型组相比,肝组织内纤维化增生程度及炎症活动度均明显减轻,个别例肝组织改变与正常组接近。

HE 染色观察病理改变发现,正常对照组大鼠肝组织均未见明显的病理改变,而模型组 10 只大鼠均病变显著,肝组织小叶结构被破坏,可见大量纤维组织增生、穿插,将肝组织分割为大小不等的圆形或椭圆形假小叶,肝组织内见大量炎症细胞浸润,以汇

管区为重,局部见小片状肝细胞坏死。郎庆阿塔高剂量组相较于模型组明显好转(图1)。

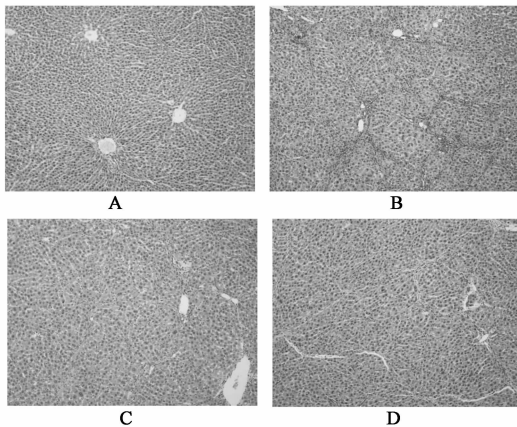
表2 各组大鼠肝纤维组织增生情况($n=10$)

组别	剂量 $/g \cdot kg^{-1}$	增生程度分级 /只				Radit 分析
		-	+	++	+++	
正常对照	-	10	0	0	0	$P < 0.05$
模型	-	0	0	1	9	
复方鳖甲软肝片	0.55	0	2	3	5	$P < 0.05$
郎庆阿塔	11.4	0	4	2	4	$P < 0.05$
	5.7	0	2	4	4	$P < 0.05$
	2.85	0	1	4	5	

注:各组均与模型组进行比较,以 Radit 分析法统计各组结果(表3同)。

表3 各组大鼠肝组织炎症活动度情况($n=10$)

组别	剂量 $/g \cdot kg^{-1}$	炎症分级/只				Radit 分析
		-	+	++	+++	
正常对照	-	10	0	0	0	$P < 0.05$
模型	-	0	0	4	6	
复方鳖甲软肝片	0.55	0	5	3	2	$P < 0.05$
郎庆阿塔	11.4	0	5	2	3	$P < 0.05$
	5.7	0	4	3	3	$P < 0.05$
	2.85	0	2	3	5	



A. 正常对照;B. 模型组;C. 复方鳖甲软肝片 $0.55 g \cdot kg^{-1}$ 组;
D. 郎庆阿塔 $11.4 g \cdot kg^{-1}$ 组(图2同)

图1 各组大鼠病理组织切片(HE染色, $\times 100$)

Masson 染色可见,正常对照组大鼠肝组织内除中心静脉及小胆管周围见环形的胶原纤维外,其余处未见胶原纤维。而模型组大鼠肝组织内可见大量纤维组织增生、穿插,将肝组织分割成多个大小不等

的假小叶,病变显著。郎庆阿塔高剂量组及阳性药组相较于模型组明显好转,仅少量胶原纤维存在(见图2)。

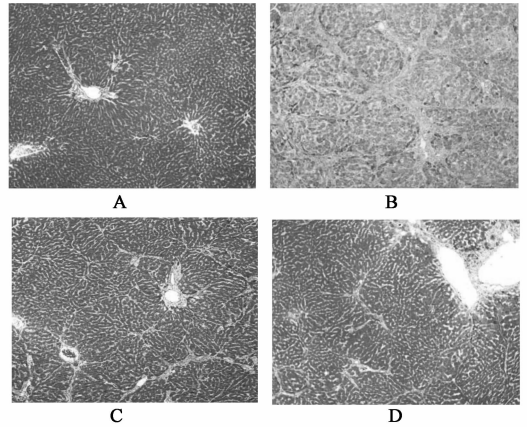


图2 各组大鼠病理组织切片(Masson染色, $\times 100$)

3.2 免疫组化法检查大鼠肝组织 TIMP-I 表达情况 通过光镜观察免疫组化切片发现,正常对照组肝组织中 TIMP-I 呈现轻微表达,而模型组表达明显增强,主要分布在纤维组织增多的区域及汇管区,与模型组比较,各给药组对造模大鼠肝组织中增加的 TIMP-I 表达水平有明显抑制作用。见表4。

表4 郎庆阿塔对肝纤维化模型大鼠肝脏组织 TIMP-I 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TIMP-I 阳性率/%
正常对照	-	$0.85 \pm 0.11^{(2)}$
模型	-	8.60 ± 1.52
复方鳖甲软肝片	0.55	$4.70 \pm 0.82^{(2)}$
郎庆阿塔	11.4	$4.80 \pm 0.92^{(2)}$
	5.7	$5.90 \pm 0.88^{(1)}$
	2.85	7.30 ± 1.82

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 荧光定量 PCR 法测定各组大鼠 CoL-I mRNA 表达情况

3.3.1 GAPDH 琼脂糖凝胶电泳图 以 cDNA 为模板扩增 GAPDH,检测 cDNA 的扩增效率以及引物的特异性。GAPDH 能特异性地表达,并且,条带清晰,亮度较亮,证明所提 RNA 质量较好,引物特异性较好,可用于 RTFQ PCR 扩增。见图3。

3.3.2 RTFQ PCR 扩增曲线 扩增曲线重叠性较好,说明复孔间差异较小,实验均一性较好。指数期斜率基本一致,证明内参以及目的基因扩增效率几乎一致,可以采用 $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ 方法进行相对定量。见图4。

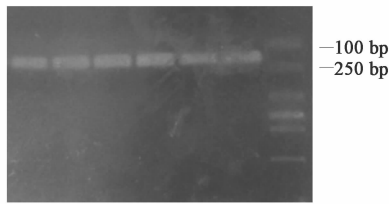


图 3 GAPDH 琼脂糖凝胶电泳图

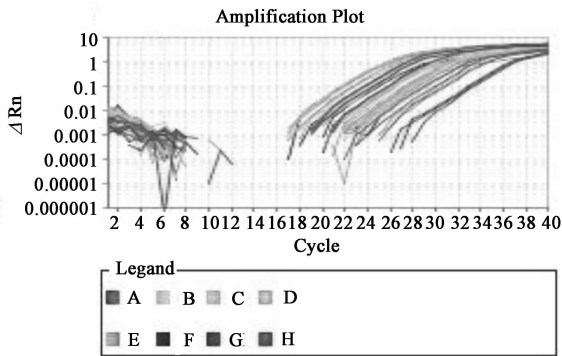


图 4 RT-FQPCR 扩增曲线

3.3.3 CoL-I mRNA 相对表达量 郎庆阿塔高、中、低剂量组呈现剂量依赖性关系;各组中,阳性药组、高剂量组效果较好,与模型组相比有显著性差异 ($P < 0.01$),结果表明,高剂量郎庆阿塔能明显抑制肝纤维化大鼠 Collagen-I mRNA 的表达。见表 5。

表 5 各组 Collagen-I mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	CoL-I mRNA 相对表达量
正常对照	-	$0.020 \pm 0.01^{2)}$
模型	-	1.00 ± 0.00
复方鳖甲软肝片	0.55	$0.31 \pm 0.13^{1)}$
郎庆阿塔	11.4	$0.23 \pm 0.13^{1)}$
	5.7	0.52 ± 0.17
	2.85	0.83 ± 0.15

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$ 。

4 讨论

肝纤维化(HF)是慢性肝病向肝癌发展的必经阶段,因此,阻断并逆转肝纤维化的发生、发展,对预防肝癌具有重大而深远的意义。

国内外研究表明,肝纤维化主要病理改变为肝细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成大于降解而过度沉积,纤维增生并形成假小叶分割肝组织,常伴有肝腹水、肝硬化的发生。而肝脏 ECM 以胶原

为主要成分,正常肝脏胶原等细胞外基质的生成与降解保持动态平衡,肝纤维化时 I 型胶原增生最为显著,因此 I 型胶原的表达情况与肝纤维化的程度关系比较密切。本研究发现,模型组大鼠 I 型胶原 mRNA 表达量明显增强,而经郎庆阿塔治疗后的大鼠 I 型胶原 mRNA 表达量显著下降,表明本方具有良好的抗肝纤维化作用。

TIMP 是一组具有抑制基质金属蛋白酶活性的多功能因子家族,其中以 TIMP-I 的抑制活性尤为重要。TIMP1 主要通过两方面促进肝纤维化发展:一方面通过抑制胶原酶的降解活性,抑制间质性胶原为主的 ECM 降解,导致纤维胶原沉积于细胞外;另一方面它可通过抑制激活的 HSC 凋亡,从而持续产生 ECM 和大量 TIMP-I^[12]。如此产生的净效应导致大量纤维胶原越来越多地沉积于肝细胞外间质,而不能被胶原酶降解,从而加重纤维化乃至肝硬化。因此,TIMP-I 的表达量与肝纤维化程度有密切关系。本实验通过免疫组化研究证实郎庆阿塔在治疗肝纤维化过程中抑制了 TIMP-I 的表达。这表明郎庆阿塔可能通过抑制 TIMP-I 的表达,间接促进沉积胶原的降解与肝星状细胞的凋亡,从而发挥其抗肝纤维化作用。

由于胶原代谢在肝纤维化形成与发展过程中起着至关重要的作用,因此,寻求干预胶原合成代谢和/或降解代谢的方法是阻断和逆转肝纤维化发生、发展的有效手段。本文通过研究发现,郎庆阿塔能明显降低肝纤维化大鼠肝组织中 TIMP-I 的表达水平,并能剂量依赖性地降低 CoL-I mRNA 表达水平,表明其抗肝纤维化作用机制与其促进胶原降解、抑制胶原沉积密切相关。在当前国际上对于肝纤维化治疗手段非常有限的背景下,本方展示出了良好的治疗前景,这将为防治肝纤维化提供新的药物治疗手段。

[致谢] 江苏省中医药研究院中药制剂研究室舒雯老师,细胞与分子生物学实验室卢悟广老师对本实验的指导与帮助。

[参考文献]

[1] 徐晶晶,彭蕴茹,沈明勤,等. 藏药郎庆阿塔对四氯化碳所致肝纤维化大鼠的治疗作用[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1145.
[2] 彭蕴茹,丁永芳,黄一平,等. 藏药郎庆阿塔治疗肝纤维化的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 189.

鬼针草总黄酮对大鼠内毒素性急性肺损伤的影响

赵喜兰^{1*}, 刘秋鹤²

(1. 漯河医学高等专科学校, 河南 漯河 462002;

2. 漯河医学高等专科学校第二附属医院, 河南 漯河 462300)

[摘要] 目的: 观察鬼针草总黄酮对大鼠内毒素性急性肺损伤(ALI)的抗炎和抗氧化作用, 探讨其对 ALI 保护作用的机制。方法: 120 只大鼠随机分为正常对照组(生理盐水), 模型组, 地塞米松组(5 mg·kg⁻¹, ip), 鬼针草总黄酮低、中、高剂量组(100, 150, 200 mg·kg⁻¹, ip), 每组 20 只。给药 3 d, 末次 ip 给药 1 h 后, ip 内毒素诱导 ALI 模型, 6 h 后处死, 观察每组肺泡灌洗液白细胞和蛋白含量、肺组织核转录因子(NF-κB)p65 表达以及肿瘤坏死因子(TNF-α)、白细胞介素(IL-6)、白细胞介素(IL-10)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量以及中性粒细胞髓过氧化物酶(MPO)活性。结果: 与对照组比较, 模型组的肺泡灌洗液白细胞、蛋白含量显著增加($P < 0.05 \sim P < 0.01$); 鬼针草总黄酮中、高剂量组肺组织 NF-κB p65 表达为(38.46 ± 4.56)%, (31.39 ± 4.18)%, MDA 含量为(1.73 ± 0.19), (1.46 ± 0.15) nmol·mg⁻¹, TNF-α 含量为(259.33 ± 37.48), (211.46 ± 32.69) μg·L⁻¹, IL-6 含量为(287.46 ± 100.18), (223.55 ± 93.49) ng·L⁻¹, MPO 活性为(2.69 ± 0.57), (2.43 ± 0.38) U·g⁻¹, 与模型组比较均明显降低($P < 0.05 \sim P < 0.01$); IL-10 含量为(16.73 ± 3.87), (17.28 ± 3.58) μg·L⁻¹, SOD 为(69.46 ± 9.84, 73.24 ± 8.39) U·mg⁻¹, 与模型组比较均明显升高($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。结论: 鬼针草总黄酮能减轻 LPS 诱发急性肺损伤所致肺血管通透性, 减少炎症渗出, 降低氧化应激损伤程度。

[关键词] 鬼针草总黄酮; 急性肺损伤; 脂多糖; 炎症因子; 氧化应激

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0265-04

Effect of Total Flavones of *Bidens bipinnata* on Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury in Rats

ZHAO Xi-lan^{1*}, LIU Qiu-he²

[收稿日期] 20120703(010)

[通讯作者] * 赵喜兰, 硕士, 副教授, 从事药物制剂研究, Tel: 13938025819, E-mail: xilanzhao68@163.com

- [3] Georges P C, Hui J J, Gombos Z, et al. Increased stiffness of the rat liver precedes matrix deposition; implications for fibrosis [J]. AM J Physiol-Gastr 1, 2007, 293(6): G1147.
- [4] 高玉萍, 王宁萍. 藏药松石丸对大鼠实验性肝纤维化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 47.
- [5] 更登. 藏药久美 70 味松石丸对实验性大鼠肝硬化的影响[J]. 中国民族民间医药杂志, 2002(54): 39.
- [6] 张媛辉, 刘俊田. 中药抗肝纤维化作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(6): 66.
- [7] 刘鸣昊, 薛博瑜. 近 5 年来肝纤维化中医证治用药规律的文献研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 279.
- [8] 王付, 尚立芝, 苗小玲, 等. 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝功能、肝纤维化指标及病理变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 177.
- [9] 青献春, 刘炳辰, 裴香萍, 等. 软肝散结胶囊抗大鼠肝纤维化实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 149.
- [10] 李文胜, 陈骏, 文家萍, 等. 冷饭团对实验性肝纤维化的防治作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 199.
- [11] 张林军, 刘光辉, 黄东华, 等. 清纤方抗实验性大鼠肝纤维化的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 75.
- [12] Cheng C C, Lin N N, Lee Y F, et al. Effects of Shugan-Huayu powder, a traditional Chinese medicine, on hepatic fibrosis in rat model [J]. Chinese Journal of Physiology, 2010, 53(4): 223.

[责任编辑 聂淑琴]