

两头尖提取物抗猪血清诱导大鼠肝纤维化的作用研究

李孝波¹, 郝瑞春¹, 邓晓鹏², 程生辉¹, 郭继龙¹, 梁锐¹, 门九章^{1*}

(1. 山西中医学院, 太原 030024; 2. 山西省中西医结合医院, 太原 030013)

[摘要] **目的:** 观察两头尖提取物对猪血清免疫诱导大鼠肝纤维化模型的干预作用。**方法:** SD 大鼠 68 只随机分为 5 组, 即空白组、模型组、两头尖提取物组 (以下简称提取物组)、两头尖原药组 (以下简称原药组)、扶正化瘀组 (以下简称扶正组)。采用猪血清腹腔注射法制备大鼠肝纤维化模型, 0.5 mL/只, 每周 2 次, 连续注射 15 周。第 15 周模型成功后, 开始灌胃给药, 扶正组给予扶正化瘀胶囊 (0.525 g·kg⁻¹), 原药组给予两头尖煎液 (0.7 g·kg⁻¹), 提取物组给予两头尖提取物 (0.071 g·kg⁻¹), 模型组与空白组灌服等量生理盐水, 日 1 次, 疗程 8 周。大鼠于第 23 周末处死取材, 分别测定血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT), 天冬氨酸氨基转移酶 (AST), 白蛋白 (Alb), 透明质酸 (HA), 层黏蛋白 (LN), III 型前胶原 (PC III), IV 型胶原 (CIV) 含量与肝组织中羟脯氨酸 (Hyp) 含量。HE 染色与 Masson 法检测肝组织病理; 免疫组化法 (SABC 法) 测定肝组织中 I 型胶原 (col-I)、III 型胶原 (col-III) 表达。**结果:** 提取物组、原药组血清 ALT, AST, Alb, HA, PC III, CIV 水平, 肝组织 Hyp 含量分别为 (79.77 ± 14.68), (75.20 ± 11.21), (168.22 ± 19.46), (173.72 ± 18.52) U·L⁻¹, (27.40 ± 1.78), (26.95 ± 2.14) g·L⁻¹, (52.36 ± 5.12), (43.29 ± 3.56), (51.63 ± 6.41), (52.18 ± 4.79), (14.92 ± 2.26), (13.93 ± 1.88) μg·L⁻¹, (1.04 ± 0.12), (1.15 ± 0.06) mg·g⁻¹。与模型组相比, 提取物组、原药组可显著降低血清 ALT, AST, HA, PC III, CIV 水平与肝组织 Hyp 含量 ($P < 0.05$), 升高血清 Alb 水平 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 提取物组、原药组炎症活动度、纤维化程度显著减轻。I 型胶原、III 型胶原表达面积和强度明显为弱, 纤维间隔染色淡, 无典型假小叶形成。显色指数结果显示, 提取物组、扶正组肝组织中 col-I, col-III 表达均明显减少。**结论:** 采用猪血清免疫法可成功制备肝纤维化大鼠模型, 两头尖原药及其提取物具有良好的抗肝纤维化作用, 且提取物抗肝纤维化作用基本等同于两头尖原药, 推测其作用机制为抑制 ECM 合成并促进 ECM 降解有关。

[关键词] 肝纤维化; 两头尖; 猪血清

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0201-06

Protective Effect of Extracts from Rhizoma Anemones Raddeanae on Hepatic Fibrosis Induced by Porcine Serum in Rats

LI Xiao-bo¹, HAO Rui-chun¹, DENG Xiao-peng², CHENG Sheng-hui¹,
GUO Ji-long¹, LIANG Rui¹, MEN Jiu-zhang^{1*}

(1. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China;

2. Shanxi Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Taiyuan 030013, China)

[Abstract] **Objective:** To study protective effect of extracts from Rhizoma Anemones Raddeanae (RAR) on hepatic fibrosis induced by pig blood serum in rats. **Method:** Sixty-eight SD rats were randomly divided into 5 groups, the normal group, the model group, the RAR group, the extraction of RAR group (EXRAR group), the Fuzheng Huayu group (FZHY group). Rats were intraperitoneally injected with 0.5 mL of porcine serum twice a week to establish immunological liver fibrosis model for 15 successive weeks. The model group was treated with distilled water, the RAR group was treated with RAR decoctum (0.7 g·kg⁻¹), the EXRAR group was treated

[收稿日期] 20120715(002)

[基金项目] 山西省基础研究项目自然科学基金项目(2008011073-2)

[第一作者] 李孝波, 讲师, 博士, 从事经典方证经验研究, Tel: 0351-2272628, E-mail: lixiaobo33@126.com

[通讯作者] * 门九章, 教授, 博士生导师, 享受国务院特聘专家, 从事疑难病方证经验研究, Tel: 0351-2272628, E-mail: zydrxb@163.com

with the extraction of RAR ($0.071 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), the FZHY group were treated with Fuzheng Huayu gelatin capsule ($0.525 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The course of treatment lasted 8 weeks. At the end of 23th weeks. Alanine amino transferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin (Alb), hyaluraic acid (HA), laminin (LN), type III pro collagen (PC III), collagen IV (C IV) in serum and hydroxyproline (Hyp) content in liver homogenate were assayed. HE stain and Masson stain were used to examine the histopathological change. The expression of collagen I (col-I), collagen III (col-III) were detected by SABC. **Result:** Compared with the model group, content of ALT, AST, HA, PC III, CIV, Hyp decreased and the content of Alb increased in EXRAR group, RAR group ($P < 0.05$). compared with the model group, level of inflammation activity and fibrosis level was reduced significantly in EXRAR group and RAR group. Immunohistochemistry result indicated that the expression of col-I, col-III in EXRAR group, RAR group depressed obviously, dyeing iw as tasteless in interval, and area was asystematic. There was no false flocculus to form. Coloration exponent result indicated that the expression of col-I, col-III in EXRAR group, RAR group decreased. **Conclusion:** RAR and it's extraction has a significant effect on anti-fibrosis, furthermore, RAR's extraction has the same effect. The possible mechanism is related to inhibiting the composition of ECM and encouraging the degradation of ECM.

[**Key words**] Rhizoma Anemones Raddeanae (RAR); hepatic fibrosis (HF); porcine serum

两头尖,又名竹节香附,毛茛科植物多被银莲花的干燥根茎。其味辛性热,具有祛风湿、消痈肿之功效,历来医家临床多用于风寒湿痹。近代经国内诸多学者^[1-2]研究发现该药尚有抗肿瘤活性,拓宽了该药的应用范围,但是关于两头尖抗肝纤维化的报道尚未见到。山西已故名老中医学家门纯德先生曾在多年临床实践中运用两头尖治疗肿瘤,尤其在治疗肝癌方面取得良好疗效。本课题组重点结合肝炎,肝硬化、肝癌 3 个病理阶段紧密相关的规律,根据肝纤维化病人体质多表现为瘀、食、痰、毒实证的特点,病变分型多以郁为主证的病机,将两头尖创造性的应用于肝纤维化防治,临床疗效确切。本实验采用猪血清诱导大鼠肝纤维化模型,观察两头尖提取物对猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型的干预作用。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 68 只,雄性,体重 180 ~ 220g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司(中国医学科学院实验动物研究所),动物合格证号 SCXK(京)2009-0007。饲养于温度 23 °C 左右,相对湿度 60% ± 10% 的环境。动物自由进食与饮水,喂标准颗粒饲料,常规饲养 3 d 后使用。

1.2 药品 两头尖(*Anemone vaddeana* Regel),中国亳州市京皖中药饮片厂(GMP 认证号皖 G0138),经山西中医学院中药系李会芳老师鉴定为正品;两头尖提取物制备方法:按照文献方法^[3],称取两头尖粗粉,首先乙醚脱脂,接着乙醇微波提取,条件为 60% 乙醇,10 倍量,微波提取 8 min,30 s 为一个间

隔;最后通过水饱和正丁醇萃取法进一步精制。1 g 两头尖提取物折合生药量为 9.87 g,经与购置自中国药品生物制品检定所的竹节香附素 A 对照品对照,两头尖总皂苷占生药百分比为 2.66%;扶正化痰胶囊:上海黄海制药有限责任公司 批号 100121。

1.3 试剂 猪血清,购自北京燕生政博生物科技有限责任公司,批号 091109;羟脯氨酸(Hyp)测试盒(消化法),购自南京建成生物工程研究所,批号 20091013;肝功能检测试剂盒购自卫生部上海生物制品研究所 批号 0005218;透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)、IV 型胶原(C IV)、III 型前胶原(PC III)放射免疫试剂盒购自北京北方生物技术研究所,批号 080304;即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒、兔抗大鼠 I 型胶原多克隆抗体(rabbit anti-collagen type I)、兔抗大鼠 III 型胶原多克隆抗体(rabbit anti-collagen type III)均购自武汉博士德生物工程有限公司,批号 SA1022。

1.4 仪器 TGL-16 高速台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),KDC-40 低速台式离心机(安徽科大创新股份有限公司中佳分公司),DR-HW-1 电热恒温水浴箱(北京西城区医疗器械厂制造),DW-40L262-40 °C 低温保存箱(青岛海尔),AU-400 全自动生化分析仪(Olympus 公司),GC-2012 γ 放射免疫计数器(安徽科大创新股份有限公司中佳分公司)。

2 方法

2.1 猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型 参考文献方法^[4],将 68 只 SD 大鼠随机分为 5 组:空白组、模

型组、两头尖提取物组(以下简称提取组),两头尖原药组(以下简称原药组)、扶正化瘀组(以下简称扶正组),其中造模组 20 只,其余 4 组均 12 只。除空白组外,余组均应用猪血清 ip 制备大鼠肝纤维化模型,0.5 mL/只(8 周后将剂量增加为 0.6 mL/只),每周 2 次,连续注射 15 周,空白组大鼠 ip 等量生理盐水。结合动物行为学改变特征,从第 9 周开始,每周随机抽取模型组动物 1~2 只,麻醉后肝脏取材,4% 中性甲醛固定 24 h 后常规处理切片,经 HE 染色与 Masson 染色判定模型是否成功。模型成功后继续猪血清 ip 以维持模型,0.6 mL/只,隔 10 d 1 次,至实验结束。

2.2 分组及给药方案 于第 15 周开始灌胃给药,扶正组给予扶正化瘀胶囊(0.525 g·kg⁻¹),原药组给予两头尖煎液(0.7 g·kg⁻¹),提取物给予两头尖提取物(0.071 g·kg⁻¹),模型组与空白组灌服等量生理盐水,每日 1 次,疗程 8 周。每周称重 1 次并调整用药剂量。

2.3 动物取材与标本处理 于 23 周末实验取材前 1 天,清点动物只数,称重后禁食。以 2% 戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹)麻醉动物并消毒,沿腹部正中中线剪开剑突至肛门之间的腹前壁,再沿最低位肋骨分别向左右两侧剪开侧腹壁至脊柱两旁,充分暴露腹腔与肝脏。迅速下腔静脉取血,于室温静置 3 h 后,3 000 r·min⁻¹,10 min 离心取上清,-40 ℃ 冻存。采集血液毕,迅速摘取大鼠肝脏,准确称取(100 ± 10)mg 湿肝,编号后分装于 EP 管中。同时于 15 min 内小心切取肝脏右叶大小为 1.0 cm × 1.0 cm × 0.2 cm 左右的组织浸于 4% 中性甲醛中固定。

2.4 指标观察及测定

2.4.1 血清 ALT,AST,Alb,HA,LN,PCⅢ,CⅣ测定 检测方法均按照相应试剂盒说明书严格进行。

2.4.2 肝组织中 Hyp 含量的测定 检测方法均按照相应试剂盒说明书严格进行。

2.4.3 肝脏病理学检查 肝脏组织固定 24 h 后,脱水,二甲苯透明,浸蜡,包埋,切片,分别行常规 HE 染色与胶原纤维特殊染色的三色染色法(Masson 法)。光镜下观察肝组织结构、肝细胞炎症反应及纤维组织增生情况并记录。参照中华肝脏学会肝纤维化组制定的标准^[5]对炎症活动度、纤维化程度进行量化评分,判断胶原纤维增生程度。同一切片不同视野病变程度存在差异时,以较高视野为准进行评定。

2.4.4 肝组织中 col-I,col-Ⅲ表达的测定 根据

周庚寅^[6]方法并参考《博士德即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒说明书》进行。镜下观察以细胞间或细胞内出现的棕黄色物质为阳性结果,每张切片选取四周及中央区域共 5 个视野拍照进行,运用 Image-pro-plus7.0 软件进行计算机图像分析。通过显微摄影系统摄取图像输入图像分析系统进行灰度变换,自动记录着色面积和视野内肝组织总面积,阳性率 = 着色面积/总面积 × 100%,每张组织切片随机选取四周和中央区域及胶原纤维最多的视野(包括汇管区),取平均值作为该切片的阳性率^[7]。

2.5 统计学处理 计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SAS 9.0 统计软件分析,组间均数比较采用单因素方差分析检验, $P < 0.05$ 即认为有统计学意义。

3 结果

3.1 模型制备及大鼠死亡情况 本次实验至第 15 周经 HE 染色与 Masson 染色判定模型成功。从第 9 周开始,先后共处死大鼠 10 只用于判定模型。给药期间共计死亡 4 只,其中模型组 1 只,原药组 2 只,提取组 1 只。模型组大鼠死亡前活动度明显降低,进食减少,腹部膨胀明显、肝脏质地较硬,暗褐色,考虑为病死;提取组大鼠死亡原因为灌胃不当,误入气管所致;原药组大鼠有 1 只肝脏明显肿胀瘀血,考虑为急性猝死,1 只为大鼠争斗咬伤后感染致死。

3.2 各组大鼠血清 ALT,AST,Alb 的变化 与正常组相比,模型组血清 ALT,AST 明显升高,Alb 显著降低($P < 0.05$)。与模型组相比,扶正化瘀胶囊(扶正)组、两头尖煎液(原药)组、两头尖提取物(提取)组血清 ALT,AST 水平均下降($P < 0.05$),Alb 水平明显升高($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 各组大鼠血清 HA,LN,PCⅢ,CⅣ的变化 与正常组相比,模型组血清中 HA,LN,PCⅢ,CⅣ均明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,除提取组 LN 无差异外,各给药组血清中 HA,LN,PCⅢ,CⅣ水平均下降($P < 0.05$);与扶正组相比,原药组 HA 减低($P < 0.05$)。见表 2。

3.4 各组大鼠肝组织中 Hyp 含量的变化 正常组相比,模型组肝组织中 Hyp 含量增高,($P < 0.05$);与模型组相比,扶正组、提取组、原药组 Hyp 含量下降,($P < 0.05$),且提取组、原药组要显著低于扶正组($P < 0.05$)。见表 2。

3.5 各组大鼠肝组织病理的变化

3.5.1 HE 染色 正常组大鼠肝脏肝小叶结构完整,肝细胞排列整齐,核仁清晰,无明显变性坏死,以中央静脉为中心向周围呈放射状排列成规则的索状

表 1 各组大鼠血清 ALT, AST, Alb 的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	Alb/g·L ⁻¹
正常	12	-	63.12 ± 7.76	124.63 ± 14.87	31.27 ± 1.83
模型	9	-	124.42 ± 12.05 ¹⁾	233.75 ± 16.68 ¹⁾	24.14 ± 1.15 ¹⁾
扶正化瘀胶囊	12	0.525	83.19 ± 9.64 ²⁾	164.75 ± 21.22 ²⁾	27.02 ± 1.06 ²⁾
两头尖煎液	10	0.7	75.20 ± 11.21 ²⁾	173.72 ± 18.52 ²⁾	26.95 ± 2.14 ²⁾
两头尖提取物	11	0.071	79.77 ± 14.68 ²⁾	168.22 ± 19.46 ²⁾	27.40 ± 1.78 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 各组大鼠血清 HA, LN, PCⅢ, CⅣ 的变化及肝组织中 Hyp 含量变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	HA/μg·L ⁻¹	LN/mg·L ⁻¹	PCⅢ/μg·L ⁻¹	CⅣ/μg·L ⁻¹	Hyp/mg·g ⁻¹
正常	12	-	41.08 ± 4.94	55.49 ± 4.36	45.95 ± 3.47	12.08 ± 1.78	0.87 ± 0.14
模型	9	-	78.15 ± 5.31 ¹⁾	79.15 ± 5.17 ¹⁾	77.42 ± 8.62 ¹⁾	19.69 ± 2.71 ¹⁾	3.46 ± 0.89 ¹⁾
扶正化瘀胶囊	12	0.525	51.47 ± 3.26 ²⁾	65.42 ± 5.68 ²⁾	50.83 ± 6.28 ²⁾	13.84 ± 1.84 ²⁾	1.63 ± 0.25 ²⁾
两头尖煎液	10	0.7	43.29 ± 3.56 ²⁾	62.09 ± 3.74 ^{2,3)}	52.18 ± 4.79 ²⁾	13.93 ± 1.88 ²⁾	1.15 ± 0.06 ^{2,3)}
两头尖提取物	11	0.071	52.36 ± 5.12 ²⁾	76.02 ± 5.11	51.63 ± 6.41 ²⁾	14.92 ± 2.26 ²⁾	1.04 ± 0.12 ^{2,3)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与扶正化瘀胶囊组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 3 ~ 5 同)。

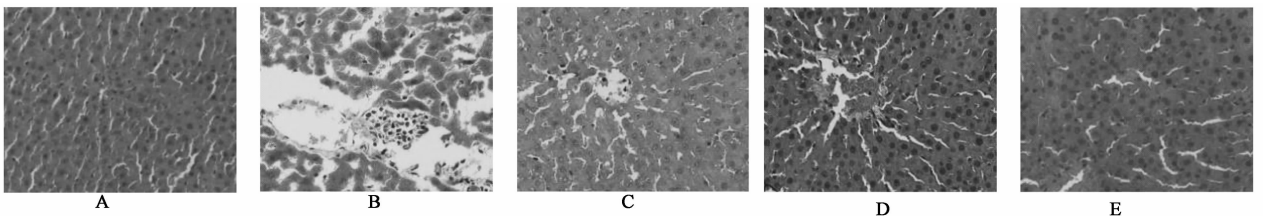
结构,肝窦无扩张出血,汇管区及中央静脉血管壁清晰可见,管壁无增厚,管周无胶原纤维,未见炎细胞浸润与胶原纤维增生;模型组大鼠肝组织正常肝小叶结构完全被破坏,肝索排列紊乱,大鼠纤维结缔组织增生明显,增多的胶原纤维形成线条状纤维间隔,可见假小叶形成。部分肝细胞出现萎缩、肿胀变性,甚至点状坏死,汇管区扩大,炎性细胞及坏死细胞增多;扶正组、原药组、提取组 3 组大鼠表现均轻于模型组,大鼠肝组织结构均有不同的改善,肝索排列基本正常,肝小叶样结构较正常,无假小叶形成,肝细胞可见到部分的萎缩变性,肝细胞坏死、炎性细胞浸润少见,胶原纤维增生不典型。见图 1。

3.5.2 Masson 染色 正常组大鼠肝脏组织中肝小叶结构完整,肝细胞索排列整齐,仅在汇管区血管周围有少量呈绿色的胶原纤维分布,无明显胶原增生;模型组大鼠肝脏汇管区与中央静脉周围呈绿色的胶原纤维明显增多,沿着汇管区或炎症坏死区向外延伸,形成厚薄不一的纤维间隔,多位于汇管区和血管

周围,分割包绕肝小叶,有明显的假小叶形成;扶正组、原药组、提取组表现均轻于模型组,虽然也存在一定的胶原纤维组织增生,但无胶原纤维间隔包绕,程度较模型组明显为轻,仅在部分血管周围有绿色胶原纤维增多趋势。

3.5.3 各组大鼠肝组织炎症活动度、纤维化程度的变化 与正常组相比,模型组肝组织炎症活动度、纤维化程度增高 ($P < 0.05$);与模型组相比,扶正组、提取组、原药组炎症活动度、纤维化程度减轻 ($P < 0.05$);与扶正组相比,原药组改善程度有差异 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.6 各组大鼠肝组织 col-I, col-Ⅲ 表达的变化 正常组多呈低水平表达,染色程度淡,表达部位局限,或少见于汇管区、肝窦、中央静脉管壁;模型组呈高水平表达,染色着色呈深褐色,表达部位弥漫,广泛分布于纤维组织增生的汇管区、狄氏间隙、肝窦壁、血管内皮细胞和胆管上皮细胞,呈条索状分布,纤维间隔包绕形成假小叶;各给药组表达介于正常组



A. 正常组;B. 模型组;C. 扶正化瘀胶囊组(0.525 g·kg⁻¹);
D. 两头尖煎液组(0.7 g·kg⁻¹);E. 两头尖提取物组(0.071 g·kg⁻¹) (图 2 ~ 3 同)

图 1 两头尖提取物对肝纤维化大鼠病理组织学改变的影响 (HE, ×400)

表3 各组大鼠肝组织炎症活动度、纤维化程度的变化($\bar{x} \pm s$)分

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	炎症活动度	纤维化程度
正常	12	-	0.11 ± 0.27	1.05 ± 0.83
模型	9	-	8.34 ± 3.47 ¹⁾	12.57 ± 4.43 ¹⁾
扶正化痰胶囊	12	0.525	4.56 ± 1.61 ²⁾	7.48 ± 1.75 ²⁾
两头尖煎液	10	0.7	3.36 ± 1.54 ²⁾	6.09 ± 1.88 ^{2,3)}
两头尖提取物	11	0.071	4.47 ± 2.08 ²⁾	6.73 ± 1.07 ²⁾

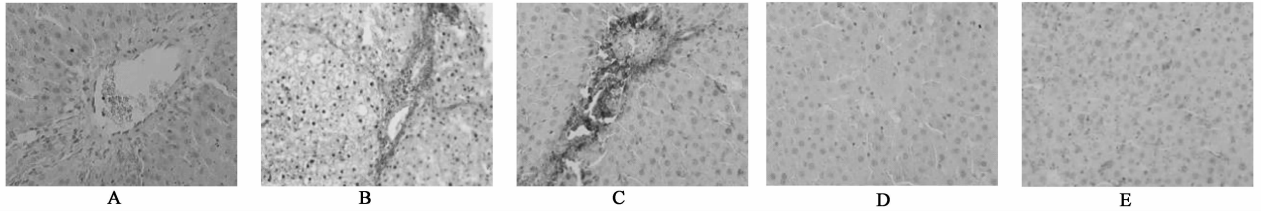


图2 两头尖提取物对肝纤维化大鼠肝组织 col-I 的影响 (SABC, ×400)

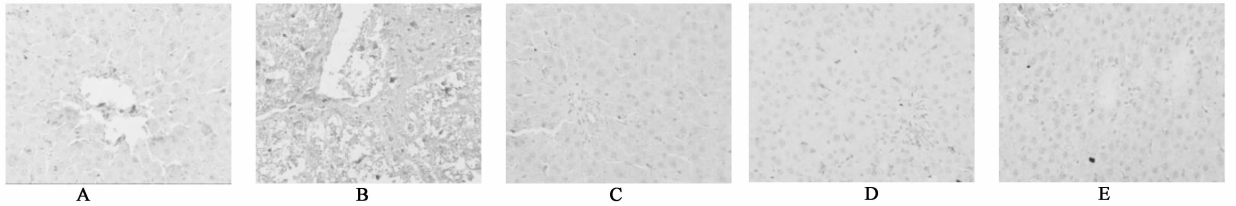


图3 两头尖提取物对肝纤维化大鼠肝组织 col-III 的影响 (SABC, ×400)

表4 各组大鼠肝组织 col-I、col-III 表达的变化($\bar{x} \pm s$) %

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	col-I	col-III
正常	12	-	2.72 ± 1.26	2.16 ± 1.46
模型	9	-	15.35 ± 3.26 ¹⁾	11.68 ± 1.54 ¹⁾
扶正化痰胶囊	12	0.525	7.39 ± 2.17 ²⁾	5.95 ± 3.23 ²⁾
两头尖煎液	10	0.7	5.27 ± 3.90 ²⁾	6.04 ± 1.35 ²⁾
两头尖提取物	11	0.071	7.72 ± 2.47 ²⁾	7.10 ± 1.89 ²⁾

4 讨论

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是慢性肝病重要的病理特征,肝纤维化的实质是对各种因素所致的慢性肝损伤的一种修复反应,是发生修复反应时因细胞外基质合成、降解与沉积不平衡而引起的病理过程,是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、细胞、细胞因子相互影响、共同作用的结果^[8]。肝纤维化以ECM代谢失衡,生成超过降解并大量沉积于肝组织为特征。因此,从ECM代谢角度探讨药物抗肝纤维化的疗效及其机制具有重要意义。本研究结果显示,猪血清诱导的肝纤维化模型大鼠具有显著的慢性肝损伤及肝纤维化表现。运用两头尖提取物进行干预治疗后,与模型组相比,除提取组LN无差

与模型组之间,表达面积和强度较模型组显著为弱,纤维间隔染色淡,无典型假小叶形成。见图2~3。

将染色结果按照换算为显色指数,比较各组对肝组织col-I, col-III的表达的影响。与正常组相比,模型组肝组织col-I, col-III表达明显增高($P < 0.05$);与模型组相比,扶正组、提取组、原药组肝组织中col-I, col-III表达明显减少($P < 0.05$),组间无显著性差异。见表4。

异外,提取物组与原药组血清ALT, AST, HA, LN, PCⅢ, CⅣ水平均显著降低, Alb水平显著增高。肝组织中Hyp含量显著下降。肝组织中I, Ⅲ型胶原的免疫组化研究结果也显示,提取组、原药组、扶正组大鼠肝组织中I, Ⅲ型胶原表达则相对较弱,经量化统计,其阳性总面积减少,平均灰度值增加。以上结果与相关文献报道^[9-11]是基本一致的,这也证实了两头尖提取物确实具有较好的降酶、护肝作用,且能减轻肝组织纤维化的病变程度,表明该药可抑制I、Ⅲ型胶原的合成,具有显著抗肝纤维化作用,推测其减轻肝纤维化程度的作用机制与抑制ECM的生成及促进ECM的降解密切相关。

[参考文献]

- [1] 任风芝,张雪霞,牛桂云,等. 两头尖的抗肿瘤活性成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(12): 1775.
- [2] 张嘉岷,曹莉,吴争. 竹节香附中三萜类成分的抗肿瘤活性研究[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(3): 191.
- [3] 李会芳,李孝波,闫菁华,等. 正交设计法优化两头尖总皂苷微波提取工艺[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(3): 553.

甘肃产藏药五脉绿绒蒿总黄酮 对小鼠实验性肝损伤的保护作用

王志旺^{1,2}, 王瑞琼¹, 郭玫^{1,3*}, 邵晶^{1,3}, 任远^{1,2}

(1. 甘肃中医学院药学系, 兰州 730000; 2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 兰州 730000;
3. 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究甘肃产藏药五脉绿绒蒿总黄酮对小鼠实验性肝损伤的保护作用。方法:取小鼠 55 只,按性别体重随机分为 5 组;各组分别灌胃五脉绿绒蒿总黄酮(0.300, 0.150, 0.075 g·kg⁻¹)以及对对照液 20 mL·kg⁻¹;末次给药 1 h 后,模型对照组及各给药组腹腔注射四氯化碳(CCl₄) 15 mg·kg⁻¹、扑热息痛(AP) 150 mg·kg⁻¹或硫代乙酰胺(TAA) 500 mg·kg⁻¹, 16 h 后采集标本,测定血清丙氨酸转氨酶(ALT)与天冬氨酸转氨酶(AST)、肝组织中丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性。结果:0.150~0.300 g·kg⁻¹的甘肃产藏药五脉绿绒蒿总黄酮能降低 CCl₄, TAA 或 AP 诱发肝损伤小鼠的血清 ALT 和 AST($P < 0.01$),提高 CCl₄ 或 TAA 诱发肝损伤小鼠肝组织 SOD 与 GSH-Px 的活性($P < 0.05$, $P < 0.01$),降低 CCl₄ 或 AP 诱发肝损伤小鼠肝组织 MDA 的含量($P < 0.01$);同时在 0.075~0.300 g·kg⁻¹,甘肃产藏药五脉绿绒蒿总黄酮的肝损伤保护作用显示出一定的量-效关系。结论:甘肃产藏药五脉绿绒蒿总黄酮对 CCl₄, AP, TAA 造成的小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 五脉绿绒蒿; 总黄酮; 急性肝损害

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0206-04

Study on Liver Protection of Total Flavones of *Meconopsis quintuplinervia* from Gansu Province in Mice

WANG Zhi-wang^{1,2}, WANG Rui-qiong¹, GUO Mei^{1,3*}, SHAO Jing^{1,3}, REN Yuan^{1,2}

(1. Pharmacy Department of Gansu College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Lanzhou 730000, China;
2. Key Laboratory of Pharmacology and Toxicology for TCM of Gansu Province, Gansu College

[收稿日期] 20120710(010)

[基金项目] 2010 年度中医药英才基金(2010 年甘肃省中医药科研立项课题)(GZK-2010-52);甘肃省中医药管理局基金项目(GZK-2008-31)

[第一作者] 王志旺,副教授,硕士,从事中藏药药理与毒理学研究, Tel: 13893224972, E-mail: wzw0933@126.com.

[通讯作者] * 郭玫,教授,硕士生导师,从事中藏药有效成分与质量标准研究, Tel: 0931-8765394, E-mail: guomeig@sina.com

- [4] 都广礼,刘平,王磊,等. 下瘀血汤抗猪血清免疫性肝纤维化方证相关的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(6): 30.
- [5] 中华肝脏学会肝纤维化组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识[J]. 中华肝病杂志, 2002, 10(5): 327.
- [6] 周庚寅. 组织病理学技术[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2006: 39.
- [7] 赵治友,林庚庭,张俊杰,等. 加味桃核承气汤对四氯化碳肝纤维化大鼠 α -SMA 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(11): 1034.
- [8] 姚光弼. 临床肝脏病学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [9] 代巧妹,贾彦,刘宏,等. 膈下逐瘀汤抗大鼠免疫性肝纤维化的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 187.
- [10] 陈少丽,都广礼,丁娜,等. 下瘀血汤全药与组分处方抗猪血清肝纤维化的比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 154.
- [11] 李萍,彭百承,杨政腾,等. 余甘子抗免疫性肝纤维化大鼠的作用(II) [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 139.

[责任编辑] 聂淑琴