

# 制何首乌及大黄酚对小鼠肝细胞凋亡的影响

卫培峰\*, 吴艳艳, 焦晨莉

(陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046)

**[摘要]** 目的:研究制何首乌、大黄酚对小鼠肝脏细胞凋亡的影响。方法:制何首乌、大黄酚按一定剂量 ig 小鼠,1 次/d,连续 4 周,检测转氨酶,用 AnnexinV-FITC 细胞凋亡检测试剂盒给予凋亡细胞染色,利用流式细胞仪检测细胞凋亡的情况。结果和结论:制何首乌组、大黄酚组均能提高小鼠肝细胞凋亡率,与空白对照组比较有显著差异。

**[关键词]** 制何首乌;大黄酚;小鼠;细胞凋亡

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0172-02

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,临床应用有生首乌和制首乌之别。制首乌现代中医常用于治疗高脂血症。文献报道表明生首乌有明显毒性而制首乌毒性甚小<sup>[1]</sup>。但是近年有关于服用制首乌导致不良反应的报道。前期研究发现,制首乌及蒽醌类主要成分之一大黄酚有诱导大鼠肝细胞凋亡的作用<sup>[2]</sup>。本试验以小鼠为研究对象,观察制首乌及大黄酚对小鼠肝细胞凋亡的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** 小鼠 36 只,雌雄各半。由第四军医大学实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK 军 2007-007 号。

**1.2 药物和试剂** 制首乌(购自西安市药材公司,并经陕西中医学院中药教研室鉴定);大黄酚(制首乌中提取);0.2 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液(pH7.4);细胞凋亡 AnnexinV-FITC 检测试剂盒(购自南京凯基生物科技发展有限公司,批号 081125)。

**1.3 仪器** 高速冷冻离心机(CT22G II);电子天平(BS124S);流式细胞仪(TMB4-Accuric 6)。

## 2 方法

**2.1 分组及给药** 小鼠称重后随机分为制首乌(6.67 g·kg<sup>-1</sup>,相当于人常规用量的 10 倍)组、大黄酚(88 μg·kg<sup>-1</sup>,相当于人常规用量的 10 倍)组、空白对照组,每组 12 只,空白对照组给予蒸馏水,均

ig,1 次/d,连续 4 周。

**2.2 血液生化检测** 小鼠摘眼球取血,用生化分析仪以终点法检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)和门冬氨酸氨基转移酶(AST)。

**2.3 单细胞悬液的制备** 处死小鼠后,立即取出肝脏,肝组织块置于 200 目的钢丝网上,用注射器针芯轻轻研磨过滤,并用 PBS 向下冲洗细胞,离心收集细胞,经 400 目网过滤,PBS 洗涤制成单细胞悬液<sup>[3]</sup>。

**2.4 细胞凋亡检测** 细胞凋亡检测采用 AnnexinV-FITC 细胞凋亡检测试剂盒,按试剂盒说明书进行操作,室温、避光反应 5~15 min 后,在 1 h 内上流式细胞仪观察和检测。

**2.5 统计学方法** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 *t* 检验进行组间比较;*P* < 0.05 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠血清转氨酶的影响** 见表 1。结果可见,制首乌组、大黄酚组 ALT,AST 值与空白对照组比较均无显著差异。

表 1 制何首乌和大黄酚对小鼠转氨酶的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>
空白对照	-	27.58 ± 7.41	30.18 ± 8.26
制首乌	6.67	30.21 ± 7.87	33.46 ± 8.79
大黄酚	8.8 × 10 <sup>-7</sup>	31.47 ± 8.34	35.05 ± 9.02

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05(表 2 同)。

**3.2 制何首乌和大黄酚对小鼠肝细胞凋亡的影响** 见表 2。结果可见,制首乌组、大黄酚组肝脏细胞凋亡率明显升高,与空白对照组比较有显著差异(*P* < 0.05)。

## 4 讨论

近年来关于服用制首乌导致肝脏损害不良反应

[收稿日期] 2009-10-22

[基金项目] 陕西省科技厅资助(SJ08-ZT02)

[通讯作者] \*卫培峰,副教授,博士, Tel: 13992027646, E-mail: weipeifeng@163.com

表 2 制首乌和大黄酚对小鼠肝脏细胞凋亡的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g · kg <sup>-1</sup>	凋亡率/%
空白对照	-	14.67 ± 8.81
制首乌	6.67	26.65 ± 17.32 <sup>1)</sup>
大黄酚	8.8 × 10 <sup>-7</sup>	23.27 ± 10.65 <sup>1)</sup>

的报道有增多趋势,并有试验表明,制何首乌长期灌胃对动物肝脏有一定的损害<sup>[4]</sup>;因此对制何首乌是否可致肝损害以及其发生机制进行研究,有着非常重要的积极意义。

药物诱导肝细胞凋亡/经典途径为半抗原机制,即药物或其代谢产物与肝脏特异蛋白质结合成为抗原,当肝细胞死亡或破坏时,此种蛋白释放到细胞外,并分解成一种肽段,进而激活作为效应细胞的 CD8 T 细胞,产生细胞毒性反应,通过 Fas 或穿孔素介导肝细胞凋亡<sup>[5]</sup>。本试验结果显示,制首乌及大黄酚组能诱导小鼠肝细胞凋亡,与大鼠试验结果一致。大黄酚是否制首乌促肝细胞凋亡的主要成分,

制首乌及其主要成分大黄酚是否通过半抗原机制而诱导了肝细胞凋亡还有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 彭晓波. 何首乌的研究与应用[J]. 中国现代药物应用,2008,2(19):117.
- [2] 卫培峰,党艳丽,焦晨莉. 何首乌不同成分与肝细胞凋亡的相关性研究[J]. 陕西中医. 2009,30(2):238.
- [3] 黄向华. 杂色曲霉素对小鼠肝脏细胞凋亡和增殖影响的研究[J]. 中国实验动物学杂志,2002,12(2):109.
- [4] 胡锡琴,杨晓青,刑玉瑞,等. 制何首乌致肝损害的实验研究[J]. 陕西中医,2006,27(5):625.
- [5] Andrade B, Lucena M I, Alonso A, et al. HLA class II genotype influences the type of liver injury in drug induced idiosyncratic liver disease[J]. Hepatology,2004,39(6):1603.

[责任编辑 何伟]