

维药昆仑雪菊多糖对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的预防作用及机制研究^Δ

赵文惠^{1*}, 曾 诚¹, 秦冬梅^{2#}(1.新疆医科大学中心实验室, 乌鲁木齐 830004; 2.石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)31-4407-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.31.23

摘要 目的:研究维药昆仑雪菊多糖(KSCP)对四氯化碳(CCl₄)所致小鼠急性肝损伤的预防作用及机制。方法:将96只小鼠随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、联苯双酯滴丸组(阳性对照,1.5 mg/10 g)和KSCP低、中、高剂量组(0.3、0.6、1.2 mg/10 g),每组16只,ig给药,每天1次,连续10 d。除正常组外,其余各组小鼠均ip 1% CCl₄菜籽油溶液诱导肝损伤。造模24 h后,检测各组小鼠血清中谷氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素1(IL-1)的水平和肝组织中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化物(SOD)的水平,计算小鼠肝、脾指数,观察肝组织病理变化并进行病理评分,检测肝组织中凋亡相关基因Caspase-3、Bcl-2、Bax蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组小鼠血清中ALT、AST、TNF-α、IL-1水平和肝组织中MDA水平以及肝、脾指数均明显升高($P < 0.01$),肝组织中SOD水平明显降低($P < 0.01$);肝组织发生肝细胞坏死、变性和炎症细胞浸润等病理变化,病理评分明显增加($P < 0.01$);肝组织中Caspase-3蛋白表达水平以及Bcl-2/Bax比值均明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组小鼠上述指标均明显改善($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:KSCP对CCl₄所致小鼠急性肝损伤有一定预防作用,其机制可能与抗氧化、抗炎及调节凋亡相关蛋白的表达有关。

关键词 维药; 昆仑雪菊多糖; 急性肝损伤; 预防作用; 抗炎; 细胞凋亡; 小鼠

Study on the Preventive Effect and Mechanism of Wei Medicine Kunlun Snow Chrysanthemum Polysaccharides on Carbon Tetrachloride-induced Acute Liver Injury in Mice

ZHAO Wenhui¹, ZENG Cheng¹, QIN Dongmei² (1. Central Laboratory of Xinjiang Medical University, Urumqi 830004, China; 2. College of Pharmacy, Shihezi University, Xinjiang Shihezi 832002, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the preventive effect and mechanism of Wei medicine Kunlun snow chrysanthemum polysaccharides (KSCP) on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury in mice. **METHODS:** 96 mice were randomly divided into normal group (normal saline), model group (normal saline), Biphenyl diester dropping pill (positive control, 1.5 mg/10 g) and KSCP low-dose, medium-dose, high-dose groups (0.3, 0.6, 1.2 mg/10 g), 16 in each group, with intragastric administration, once a day, for 10 d. Except for normal group, mice in other groups were intraperitoneally injected 1% CCl₄ rapeseed oil solution to induce liver injury. After 24 h of modeling, the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), tumor necrosis factor α (TNF-α), interleukin 1 (IL-1) in serum, levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) in liver tissue were detected; the liver, spleen indexes were calculated. Pathological changes of liver tissue were observed, pathological scoring was conducted. The protein expressions of apoptosis-related genes Caspase-3, Bcl-2, Bax in liver tissue were detected. **RESULTS:** Compared with normal group, levels of ALT, AST, TNF-α, IL-1 in serum, MDA level in liver tissue and liver, spleen indexes in model group were obviously increased ($P < 0.01$); SOD level in liver tissue was decreased ($P < 0.01$); pathological changes in hepatocellular necrosis, degeneration and inflammatory cell infiltration, and pathological score in model group was obviously increased ($P < 0.01$); caspase-3 protein expression and Bcl-2/Bax ratio in liver tissue in model group were obviously decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, above-mentioned indexes in each administration group were obviously improved ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **CONCLUSIONS:** KSCP has certain preventive effect on CCl₄-induced acute liver injury in mice, and its mechanism may be associated with anti-oxidation, anti-inflammation and regulation of apoptosis-related protein expressions.

KEYWORDS Wei medicine; Kunlun snow chrysanthemum polysaccharides; Acute liver injury; Preventive effect; Anti-inflammation; Cell apoptosis; Mice

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81560680)

* 硕士研究生。研究方向:药物分析与新药开发。E-mail: wh-zhao2006@163.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:天然药物及制剂研究。E-mail: dongmeiqinli@163.com

齐名的稀有高寒野生植物,具有清热解毒、活血化瘀、化湿的功效^[1]。KSC在新疆资源丰富,在新疆达坂城、皮山县、策勒县等地区均有广泛种植^[2]。根据现有文献报道,昆仑雪菊多糖(Kunlun snow chrysanthemum polysaccharides, KSCP)具有提高机体免疫力、抑制肿瘤细胞生长、抗氧化、抗炎等多种生物活性^[3-4],而且新疆KSC中多糖含量约为13.86%,远高于其他品种菊花^[5]。本课题组前期预试验结果表明,KSCP对过氧化氢(H₂O₂)致大鼠肝细胞IAR20损伤具有明显的保护作用,但有关KSCP对急性肝损伤的保护作用机制尚不明确。因此,本课题组拟采用四氯化碳(CCl₄)诱导小鼠急性肝损伤,通过观察小鼠血清和肝组织中相关生化指标的变化、肝组织病理变化以及肝细胞凋亡情况等,考察KSCP对肝损伤的预防作用,并初步考察其作用机制,为今后KSCP防治急性肝炎的临床应用提供一定的药理依据。

1 材料

1.1 仪器

H1 酶标仪(美国 Bio Tek 公司);5417R 冷冻离心机[艾本德(上海)国际贸易有限公司];BDS-FL 荧光倒置显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);DS-U3 数码显微成像系统(日本尼康株式会社)。

1.2 药品与试剂

KSCP(新疆医科大学实验中心自制,批号:20150822,纯度:>97%);联苯双酯滴丸(北京协和药厂,批号:20140908,规格:1.5 mg×500 丸);谷氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)比色法试剂盒和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1(IL-1)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20150513、20150407、20150321、20150411、20150302、20150310);兔抗 Caspase-3、Bcl-2、Bax(凋亡相关蛋白)、 β -肌动蛋白(β -actin)一抗和山羊抗兔二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF 级健康 KM 小鼠 96 只,♀,7~9 周龄,体质量 18~22 g,购自新疆医科大学实验动物中心,动物生产许可证号:SYXK(新)2003-0001。将小鼠置于(20±2)℃、自然光照条件下适应性喂养 5 d 后进行实验,饲养期间小鼠自由进食、饮水。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

取 KM 小鼠 96 只,按照随机数字表法分为正常组、模型组、联苯双酯滴丸组(1.5 mg/10 g,按体表面积法根据人临床等效剂量换算而得)和 KSCP 低、中、高剂量组(0.3、0.6、1.2 mg/10 g),每组 16 只。各给药组大鼠每天 ig 给药 1 次,连续 10 d,正常组和模型组小鼠 ig 等体积生理盐水。于实验第 10 天,将所有小鼠隔夜禁食 12 h 后

称质量,除正常组外的其余各组小鼠 ip 1% CCl₄ 菜籽油溶液诱导急性肝损伤,正常组小鼠 ip 不含 CCl₄ 的菜籽油溶液。

2.2 生化指标及肝、肾指数检测

末次给药 24 h 后,称定小鼠体质量。随机选 8 只小鼠麻醉后取血,离心制备血清;剩余 8 只小鼠麻醉后取肝、脾组织,用生理盐水清洗后用滤纸拭干,称肝、脾质量,计算肝、脾指数[肝、脾质量(g)/小鼠体质量(10 g)]。将肝组织和生理盐水以 1:7 的比例制备组织匀浆液。检测血清中 ALT、AST、TNF- α 、IL-1 水平和肝组织中 MDA、SOD 水平,具体操作按照相应试剂盒说明书进行。

2.3 肝组织病理学观察

摘取小鼠相同部位的肝组织,生理盐水冲洗,滤纸拭干后,用 10% 中性甲醛溶液固定、梯度乙醇(50%~100%)脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后,制成 5 μ m 厚切片。将切片在二甲苯中脱蜡后,采用苏木精-伊红(HE)染色,脱水,中性树脂封片。于 400 倍显微镜下观察肝组织病理学变化,并进行评分。评分标准^[6]如下:未见肝细胞变性、坏死、肿胀或炎症细胞浸润,且肝小叶结构完整,计 1 分;肝细胞局限性变性或坏死、肿胀及偶见炎症细胞浸润,且肝细胞结构有所改变,计 2 分;肝细胞弥散性变性、肿胀及局限性炎症细胞浸润,肝小叶结构改变,计 3 分;肝细胞发生水样变性肿大、胞质变稀,个别细胞发生酸性坏死,肝小叶结构严重破坏,计 4 分。

2.4 肝组织中 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达

采用 Western blot 法检测小鼠肝组织中 Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达。取小鼠肝组织,用组织裂解液裂解后提取总蛋白,采用二喹啉甲酸(BCA)法进行蛋白定量后,制胶,灌 10% 分离胶(电压为 110 V)和 5% 浓缩胶(电压为 80 V),上样,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。然后在 150 mA 条件下用聚偏二氟乙烯膜(PVDF)转膜 2 h,用封闭液将膜进行封闭处理,用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。分别加入相应一抗(1:1 000),4℃ 孵育过夜,然后在室温下加入山羊抗兔二抗(1:2 000),孵育 2 h,用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。暗室曝光、显影,采用 AlphaView SA 3.4.0.0 凝胶图像分析软件,以 β -actin 为内参,以目标蛋白条带灰度值与 β -actin 条带灰度值的比值表示目标蛋白的相对表达量。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和独立样本 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠生化指标检测结果

3.1.1 血清中肝细胞损伤指标 与正常组比较,模型组小鼠血清中 AST、ALT 水平明显升高(*P*<0.01);与模型组比较,各给药组小鼠血清中 AST、ALT 水平均明显降

低($P<0.01$),结果见表1。

表1 各组小鼠血清中ALT、AST、TNF- α 和IL-1水平检测结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Tab 1 Results of ALT, AST, TNF- α , IL-1 levels in serum of mice in each group($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/10 g	ALT, U/L	AST, U/L	TNF- α , pg/mL	IL-1, pg/mL
正常组		28.62 \pm 3.77	52.52 \pm 7.33	133.45 \pm 16.31	162.36 \pm 23.44
模型组		52.42 \pm 7.16**	181.26 \pm 35.19**	258.53 \pm 37.83**	436.51 \pm 51.88**
联苯双酯滴丸组	1.5	31.82 \pm 2.29 [#]	61.33 \pm 8.29 [#]	161.33 \pm 17.92 [#]	205.40 \pm 22.59 [#]
KSCP低剂量组	0.3	48.39 \pm 4.41 [#]	146.52 \pm 32.33 [#]	225.59 \pm 25.88 [#]	355.26 \pm 33.14 [#]
KSCP中剂量组	0.6	36.78 \pm 5.02 [#]	96.82 \pm 14.52 [#]	187.95 \pm 14.67 [#]	266.38 \pm 27.58 [#]
KSCP高剂量组	1.2	31.17 \pm 1.94 [#]	56.36 \pm 7.55 [#]	153.28 \pm 13.38 [#]	213.19 \pm 25.61 [#]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

Note: vs. normal group, ** $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

3.1.2 血清中炎症相关指标 与正常组比较,模型组小鼠血清中TNF- α 、IL-1水平明显升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠血清中TNF- α 、IL-1水平均明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且KSCP的作用具有量效关系,结果见表1。

3.1.3 肝组织中氧化应激指标 与正常组比较,模型组小鼠肝组织中MDA水平明显升高、SOD水平明显降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠肝组织中MDA水平均明显降低、SOD水平均明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且KSCP的作用具有量效关系,结果见表2。

表2 各组小鼠肝组织中MDA、SOD水平测定结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Tab 2 Results of MDA and SOD levels in liver tissue of mice in each group($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/10 g	MDA,mmol/mL	SOD,U/mL
正常组		3.45 \pm 1.49	75.72 \pm 14.51
模型组		8.54 \pm 2.62**	22.53 \pm 6.59**
联苯双酯滴丸组	1.5	3.48 \pm 1.19 [#]	91.47 \pm 7.66 [#]
KSCP低剂量组	0.3	7.94 \pm 1.22 [#]	31.57 \pm 8.72 [#]
KSCP中剂量组	0.6	5.62 \pm 1.74 [#]	49.32 \pm 11.32 [#]
KSCP高剂量组	1.2	3.77 \pm 1.35 [#]	86.94 \pm 9.47 [#]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

Note: vs. normal group, ** $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

3.2 各组小鼠肝、脾指数测定结果

与正常组比较,模型组小鼠的肝、脾指数明显升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠的肝、脾指数均明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且KSCP的作用具有量效关系,结果见表3。

3.3 各组小鼠肝组织病理学观察结果

与正常组比较,模型组小鼠肝组织发生肝细胞坏死、变性和炎症细胞浸润,在肝小叶间及肝窦处见到肿胀血管,病理评分明显升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠肝组织的肝细胞变性、坏死、炎症细胞浸润以及血管肿胀程度均得到减轻,肝小叶结构得以恢复,病理评分明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),病理观察

表3 各组小鼠肝、脾指数测定结果($\bar{x}\pm s, n=8$)

Tab 3 Determination results of liver, spleen indexes of mice in each group($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/10 g	肝指数,mg/10 g	脾指数,mg/10 g
正常组		344.11 \pm 37.35	25.68 \pm 4.24
模型组		436.82 \pm 45.26**	32.52 \pm 5.28**
联苯双酯滴丸组	1.5	333.24 \pm 35.26 [#]	26.75 \pm 4.11 [#]
KSCP低剂量组	0.3	392.08 \pm 25.08 [#]	30.81 \pm 4.95 [#]
KSCP中剂量组	0.6	362.65 \pm 34.79 [#]	28.49 \pm 3.15 [#]
KSCP高剂量组	1.2	327.55 \pm 42.74 [#]	27.25 \pm 3.96 [#]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

Note: vs. normal group, ** $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$

结果见图1。正常组、模型组、联苯双酯滴丸组和KSCP低、中、高剂量组小鼠肝组织病理评分依次为(1.03 \pm 0.35)、(3.52 \pm 0.69)、(2.18 \pm 0.24)、(3.27 \pm 0.51)、(2.65 \pm 0.35)、(2.21 \pm 0.21)分($n=8$)。

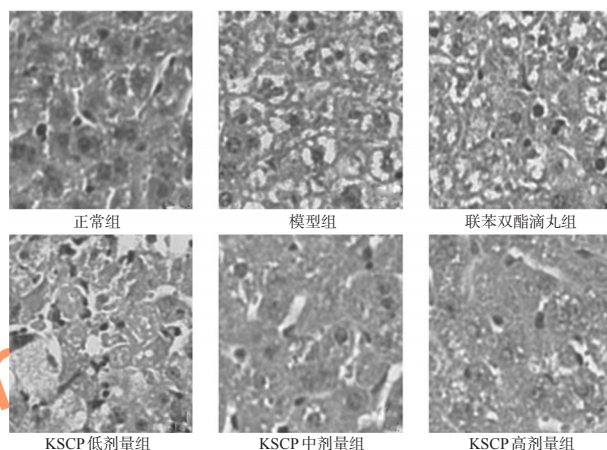


图1 各组小鼠肝组织病理学观察结果(HE染色, $\times 400$)

Fig 1 Pathological observation results of liver tissues of mice in each group(HE staining, $\times 400$)

3.4 各组小鼠肝组织中Caspase-3、Bcl-2和Bax蛋白表达测定结果

与正常组比较,模型组小鼠肝组织中Caspase-3蛋白表达水平明显升高($P<0.01$),Bcl-2/Bax比值明显降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠肝组织中Caspase-3蛋白表达水平明显降低($P<0.01$),Bcl-2/Bax比值明显升高($P<0.01$),且KSCP的作用具有量效关系,结果见图2、图3。

4 讨论

肝损伤疾病是世界范围内的常见病和多发病,发病率高、治疗难度大、易恶化,是近年来临床治疗的重点和难点^[7]。肝损伤主要是指肝细胞损伤,是多种肝疾病共有的病变结果,药物、毒物、病毒等多种因素都可以诱导肝损伤。长期的肝损伤会导致脂肪肝、肝硬化、肝纤维化甚至肝癌。由于肝损伤的发病机制尚未完全阐明,尚缺乏特效的治疗药物。因此,寻找和开发疗效确切的保肝、护肝药物已成为全世界肝病研究者所关注的焦点。

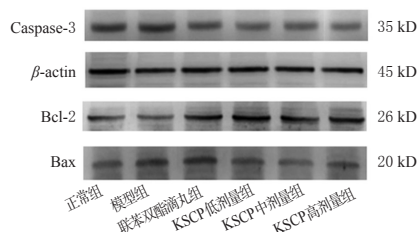
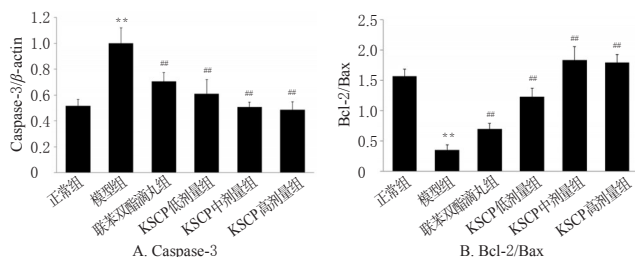


图2 各组小鼠肝组织中Caspase-3、Bcl-2、Bax蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophoresis charts of protein expressions of Caspase-3, Bcl-2, Bax in liver tissue of mice in each group



注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$

Note: vs. normal group, ** $P < 0.01$; vs. model group, ## $P < 0.01$

图3 各组小鼠肝组中凋亡相关蛋白表达的测定结果
Fig 3 Results of apoptosis-related proteins expression in liver tissue of mice in each group

联苯双酯滴丸为我国创制的一种治疗肝炎的降酶药物,临床应用多年,疗效确切,故本研究以其为阳性药物。

目前,采用CCl₄外源性化合物诱导动物化学性肝损伤为建立动物急性肝损伤模型的经典方法,具有操作简便、病理模拟性、重复性好等优点^[6-9]。CCl₄在引起肝细胞损伤时,破坏了细胞膜的结构,导致肝细胞内的多种酶可透过肝细胞膜到肝窦状隙而进入血液,使血中的多种酶活性增高^[10-11]。其中ALT、AST是肝组织中的主要功能酶,可从损伤和坏死的肝细胞质或线粒体中释放到血液,其水平的高低在一定程度上反映了肝细胞损害的程度^[12]。氧化应激指标MDA为自由基引起的脂质过氧化过程中生成的一种醛类物质,其含量可以反映脂质氧化的程度;而SOD的主要作用在于清除体内自由基,从而保护细胞不受毒性氧自由基的损伤,其含量可反映体内氧化应激损伤程度^[13]。TNF- α 主要由单核细胞/巨噬细胞分泌,其水平与机体的炎症严重程度呈正相关,是炎症细胞因子网络的关键^[14]。IL-1是人类最早发现的细胞因子,也是炎症介质网络的主要成分,在炎症反应中起重要作用^[15]。肝细胞凋亡是一个级联反应,发生在枯否细胞、星状细胞、肝实质细胞、内皮细胞等各种类型细胞中。Caspase-3是内源性和外源性凋亡信号通路共同活化的关键酶。Bcl-2和Bax是主要的细胞凋亡调控基因,Bcl-2可抑制细胞凋亡,Bax可促进细胞凋亡,Bcl-2与Bax的比例决定了细胞凋亡发生的可能性。

本课题组前期预实验结果显示,当KSCP给药剂量

在0.3~1.2 mg/10 g范围时,对CCl₄所致肝损伤小鼠的肝细胞凋亡具有较明显的抑制作用;当KSCP低于0.3 mg/10 g时,对肝细胞凋亡无抑制作用;而当KSCP高于1.2 mg/10 g时凋亡抑制作用反而下降,故在本研究中设置给药剂量为0.3~1.2 mg/10 g。本研究结果显示,KSCP能降低CCl₄所致肝损伤小鼠血清中ALT、AST水平,提示KSCP对小鼠肝损伤具有一定的改善作用,而肝组织病理学观察结果也证实了其能够减轻小鼠肝组织中肝细胞肿大、炎症浸润以及坏死严重程度;同时,KSCP可降低小鼠肝组织中MDA的水平,升高SOD水平,提示其可提高机体的氧化应激水平;并且KSCP还可降低细胞中炎症因子TNF- α 、IL-1水平,间接发挥其保肝作用;此外,KSCP可上调肝细胞中抑凋亡相关蛋白Bcl-2的表达,下调促凋亡蛋白Caspase-3和Bax的表达,增加Bcl-2/Bax的比值,提示KSCP可能通过抑制肝细胞凋亡从而发挥其保肝作用。

综上所述,KSCP对CCl₄所致急性肝损伤小鼠有较好的保护作用,其机制可能与抗氧化、抗炎及抑制细胞凋亡相关,但更多的药理作用机制有待进一步证实。

参考文献

- [1] 新疆植物志编辑委员会.新疆植物志:第5卷[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:93.
- [2] 范灵婧,倪鑫炎,吴纯洁,等.菊花多糖的结构特征及其对NF- κ B和肿瘤细胞的活性研究[J].中草药,2013,44(17):2364-2371.
- [3] Jing S, Zhang X, Yan LJ. Antioxidant activity, antitumor effect, and antiaging property of proanthocyanidins extracted from Kunlun Chrysanthemum flowers[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, doi: 10.1155/2015/983484.
- [4] 阿赛古丽.昆仑雪菊化学成分分析和多糖的提取及活性研究[D].兰州:甘肃农业大学,2014.
- [5] Jing S, Chai W, Guo G, et al. Comparison of antioxidant and antiproliferative activity between Kunlun Chrysanthemum flowers polysaccharides (KCCP) and fraction PII separated by column chromatography[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, doi: 10.1016/j.jchromb.2016.01.004.
- [6] Xie XP, Tang F, Yang Z, et al. MicroRNA-derived fragment length polymorphism assay[J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep09356.
- [7] 李静,韩俊洋,张露,等.新疆奎屯地区砷暴露致肝损伤现状调查[J].新疆医科大学学报,2015,38(2):231-234.
- [8] 李小丽,王楷扬,胡建辉,等.葡萄籽原花青素对CCl₄诱导小鼠氧化性肝损伤的保护作用及其机制研究[J].中国药房,2016,27(13):1752-1755.
- [9] 张石蕾,赵军,刘涛,等.烟花苷对刀豆蛋白A致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].新疆医科大学学报,2016,39(12):1559-1562.
- [10] 徐博,沈楠,安英,等.汉防己多糖对急性酒精性肝损伤小鼠氧化应激及肝细胞凋亡的影响[J].中国药房,2017,28

蒙药五味沙棘散对吸烟致小鼠肺部炎症的改善作用及机制研究^Δ

包桂兰^{1*}, 王秀枝^{1,2}, 梁凤娟¹, 刘佳¹, 刘铮¹(1.内蒙古民族大学药物化学与药理学研究所, 内蒙古通辽 028000; 2.乌兰察布市中心医院药剂科, 内蒙古乌兰察布 012000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)31-4411-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.31.24

摘要 目的:研究蒙药五味沙棘散(WSP)对吸烟所致小鼠肺部炎症的改善作用及其机制。方法:将30只ICR小鼠随机分为空白组(生理盐水)、模型组(生理盐水)和WSP组(2 g/kg)。模型组和WSP组小鼠采用被动吸烟法复制肺部炎症损伤模型,并于造模的同时每天ig相应药物1次,连续28 d。给药结束后,采用酶联免疫吸附法检测小鼠肺泡灌洗液(BALF)中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6和IL-10水平;苏木精-伊红染色后光镜下观察小鼠肺组织病理变化;Western blot法检测小鼠肺组织中细胞外信号调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)、磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)、磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)、核因子 κ B p65(NF- κ B p65)和磷酸化NF- κ B p65(p-NF- κ B p65)蛋白表达。结果:与空白组比较,模型组小鼠BALF中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平明显升高($P < 0.01$),肺组织发生明显炎症病变,肺组织中p-ERK1/2、p-p38 MAPK、p-NF- κ B p65蛋白表达水平明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较,WSP组大鼠BALF中TNF- α 、IL-1 β 水平明显降低($P < 0.05$),肺组织炎症损伤明显改善,肺组织中p-p38 MAPK和p-NF- κ B p65蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。结论:WSP可能通过阻断p38 MAPK、NF- κ B p65蛋白的磷酸化来抑制炎症因子TNF- α 和IL-6的高表达,从而发挥其对吸烟所致小鼠肺部炎症损伤的改善作用。

关键词 蒙药;五味沙棘散;吸烟;炎症;小鼠

Study on the Improvement Effect and Mechanism of Meng Medicine Wuwei Shaji Powder on Smoke-induced Lung Inflammation in Mice

BAO Guilan¹, WANG Xiuzhi^{1,2}, LIANG Fengjuan¹, LIU Jia¹, LIU Zheng¹(1.Medicinal Chemistry and Pharmacology Institute, Inner Mongolia University for Nationalities, Inner Mongolia Tongliao, 028000, China; 2.Dept. of Pharmacy, Wulanchabu Central Hospital, Inner Mongolia Wulanchabu 012000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the improvement effect and mechanism of Meng medicine Wuwei Shaji powder (WSP) on smoke-induced lung inflammation injury in mice. **METHODS:** ICR mice were randomly divided into blank group (normal saline), model group (normal saline) and WSP group (2 g/kg). Mice in model group and WSP group received passive smoking to induce model of lung inflammation injury, and intragastrically administrated relevant medicine when modeling, once a day, for 28 d. After administration, enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-10 levels in bronchoalveolar lavage fluids (BALF); the pathological changes of lung tissue were observed by optical microscope after hematoxylin-eosin staining; Western blot was adopted to detect the protein expressions of extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2), phosphorylated ERK1/2 (p-ERK1/2), p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK), phosphorylated p38 MAPK (p-p38 MAPK), nuclear factor kappaB p65 (NF- κ B p65) and phosphorylated NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65) in lung tissue of mice. **RESULTS:** Compared with blank group, TNF- α , IL-1 β , IL-6 levels in BALF in model group were obviously increased ($P < 0.01$); lung tissue showed significant inflammatory lesions; and the protein expressions of p-ERK1/2, p-p38

- (7):885-888.
- [11] Dai HJ, Li DW, Wang YX, *et al.* Induction of heat shock protein 27 by bicyclol attenuates d-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791(1):482-490.
- [12] 冯海容, 郑轶, 常海茹, 等. 紫叶李果实总黄酮对大鼠酒精性肝损伤的保护作用机制研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(10):1332-1337.
- [13] 韦玲, 黄权芳, 林兴. 满天星染料木黄酮对小鼠急性肝损伤的保护作用及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(4):102-106.
- [14] Yuan K, Zhang X, Lv L, *et al.* Fine-tuning the expression of microRNA-155 controls acetaminophen-induced liver inflammation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 40(11):339-346.
- [15] 庄敏之, 王亚平, 郑昕, 等. 护肝解毒方对药物性肝损伤及相关炎症因子作用研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2016, 24(1):26-28.

^Δ 基金项目:内蒙古自治区自然科学基金面上项目(No.2016MS-0813)

* 教授, 硕士生导师, 硕士。研究方向:中蒙药抗炎免疫药理及心血管药理学。E-mail: bgl-6891@163.com

(收稿日期:2017-06-10 修回日期:2017-09-21)
(编辑:林静)