

## 单剂量顺铂对大鼠肾间质纤维化指标的影响<sup>△</sup>

陆斯斯<sup>1\*</sup>, 钟小斌<sup>2#</sup>, 杨玉芳<sup>1,2#</sup>, 邹小琴<sup>1</sup>, 梁雪艳<sup>1</sup>, 蔡果珍<sup>1</sup>(1.广西医科大学第一附属医院药学部, 南宁 530021; 2.广西医科大学再生医学研究中心, 南宁 530021)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0298-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.03

**摘要** 目的:探讨单剂量顺铂对大鼠肾间质纤维化指标的影响。方法:将72只SD大鼠随机分为正常组和顺铂组,每组36只。正常组与顺铂组大鼠于实验第1天分别单次腹腔注射等体积生理盐水、顺铂5 mg/kg,于实验第8、14、30、50、60、90天分别处死6只大鼠,测定血清尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平,检测肾小管间质损伤程度、肾小管间质纤维化相对面积和肾组织中 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、I型胶原(Col I)和转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )表达情况。结果:与正常组比较,顺铂组大鼠各时间点血清BUN和Cr水平、肾小管间质损伤指数、肾小管间质纤维化相对面积和肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 表达水平均明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。在顺铂组中,在第8~90天内,大鼠血清BUN水平无明显变化,血清Cr水平、肾小管间质损伤指数、肾小管间质纤维化相对面积和肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 表达水平均呈先升高后降低趋势。结论:临床剂量的顺铂单次给药可诱导大鼠肾间质纤维化,其机制可能与其肾组织中TGF- $\beta_1$ 表达有关。

**关键词** 顺铂;肾间质纤维化; $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白;I型胶原蛋白;转化生长因子- $\beta_1$ ;大鼠

### Effects of Single Dose of Cisplatin on Renal Interstitial Fibrosis Indicators in Rats

LU Sisi<sup>1</sup>, ZHONG Xiaobin<sup>2</sup>, YANG Yufang<sup>1, 2</sup>, ZOU Xiaoqin<sup>1</sup>, LIANG Xueyan<sup>1</sup>, CAI Guozhen<sup>1</sup> (1.Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2.Center for Regenerative Medicine, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To discuss the effects of single dose of cisplatin on renal interstitial fibrosis indicators in rats dynamically. METHODS: 72 SD rats were randomly divided into normal group and cisplatin group, with 36 rats in each group. Normal group and cisplatin group were given equal volume of normal saline and cisplatin 5 mg/kg intraperitoneally on the first day, respectively. Each 6 rats were sacrificed on 8th, 14th, 30th, 50th, 60th, 90th day. The serum levels of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) were determined, and the degree of renal tubulointerstitial injury and relative area of renal tubulointerstitial fibrosis were evaluated. The expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), type I collagen (Col I) and transforming growth factor  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) were determined in renal tissue. RESULTS: Compared with normal group, the serum levels of BUN and Cr, renal tubulointerstitial injury indexes, relative area of renal tubulointerstitial fibrosis, and the expression of  $\alpha$ -SMA, Col I and TGF- $\beta_1$  in renal tissue were increased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). In cisplatin group, within the 8th-90th days, serum level of BUN in rats had no significant change; serum level of Cr, renal tubulointerstitial injury indexes, renal tubulointerstitial fibrosis, the expression of  $\alpha$ -SMA, Col I and TGF- $\beta_1$  in renal tissue increased first and then decreased. CONCLUSIONS: A single dose of clinical dose of cisplatin can induce renal interstitial fibrosis in rats, and its mechanism may be related to the expression of TGF- $\beta_1$  in renal tissue.

**KEYWORDS** Cisplatin; Renal interstitial fibrosis;  $\alpha$ -SMA; Col I; TGF- $\beta_1$ ; Rat

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81560729、81260598);广西医疗卫生适宜技术与开发基金资助项目(No.S201302-03);广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(No.S2017016)

\* 硕士研究生。研究方向:药源性肾疾病的防治。电话:0771-5356154。E-mail:LSS644820@163.com

#a 通信作者:主任药师。研究方向:药源性肾疾病的防治。电话:0771-5356154。E-mail:gxzhxb@aliyun.com

#b 通信作者:主任药师。研究方向:药源性肾疾病的防治。电话:0771-5356154。E-mail:yyf-69@163.com

顺铂是治疗实体瘤最常用和最有效的化疗药物之一,同时也是联合化疗中最常用的抗肿瘤药物<sup>[1-2]</sup>,但肾毒性是顺铂的主要不良反应之一<sup>[3-4]</sup>。顺铂的肾毒性主要表现为肾小管及肾小管间质的损伤,有报道称连续用药可发展为肾间质纤维化<sup>[5]</sup>。肾间质纤维化的特征是成纤维细胞和(或)肾小管上皮细胞转分化为肌成纤维细胞,并合成大量细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)<sup>[6]</sup>。 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)是肌成纤维细胞的标记物<sup>[7]</sup>。此外,转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )是最重要的促纤维化细

胞因子之一<sup>[8]</sup>。肾间质纤维化形成的主要原因是ECM合成和降解失衡,造成其大量积聚,I型胶原(Col I)是ECM重要成分之一<sup>[9]</sup>。

有报道,单次临床常用剂量的顺铂(换算成大鼠剂量)可引起大鼠急性肾损害<sup>[10]</sup>,但急性肾损害之后是否可引起肾间质纤维化的研究却鲜有报道。本实验单次给予大鼠腹腔注射临床常用剂量的顺铂,通过观察不同时间点大鼠肾间质纤维化指标的变化情况,探讨单剂量顺铂对大鼠肾间质纤维化的影响。

## 1 材料

### 1.1 仪器

7100型全自动生化分析仪(日本Hitachi公司);CX-31型正置显微镜(日本Olympus公司);TDL-5A型离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

注射用顺铂(冻干型,齐鲁制药有限公司,批号:3040101DBDB,规格:每支10 mg);尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:C013-2、C011-1);戊巴比妥钠(德国Merck公司,批号:P11011,规格:每瓶5 g,纯度:>99%);兔源 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 的多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司);通用型链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结(SP)检测试剂盒[北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:SP-9000,组分:封闭用正常山羊血清工作液、生物素标记山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)和辣根过氧化物酶标记的链酶素卵白素工作液]。

### 1.3 动物

SD大鼠,♂,SPF级,体质量为(200±20)g,6~7周龄,由广西医科大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(桂)2014-0002。

## 2 方法

### 2.1 分组与给药

72只大鼠适应性饲养1周后,随机分为正常组和顺铂组,每组36只。正常组大鼠于实验第1天单次腹腔注射等体积生理盐水。顺铂组大鼠于实验第1天单次腹腔注射顺铂5 mg/kg(用生理盐水将注射用顺铂配制质量浓度为0.5 mg/mL的顺铂溶液)。实验期间大鼠自由摄食饮水。

### 2.2 大鼠体质量测定

分别于给药前及实验第8、14、30、50、60、90天称量所有大鼠的体质量。

### 2.3 标本采集及处理

分别于实验第8、14、30、50、60、90天处死大鼠,每个时间点处死6只。大鼠处死前禁食不禁水12 h,以戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射麻醉,腹主动脉取血5 mL,以离心半径为10 cm、3 000 r/min离心15 min,分离血清,于-80℃保存,用于检测血清BUN和Cr水平。然后取出左侧肾脏,剥离包膜,置于4%甲醛中固定,石蜡包埋切片,用于检测肾小管间质损伤、肾小管间质纤维化和肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 表达水平。

### 2.4 血清BUN和Cr的检测

采用全自动生化分析仪测定血清BUN和Cr水平。

### 2.5 肾小管间质损伤评分

取肾组织切片经苏木精-伊红(HE)染色后,于400倍镜下单盲依序分别选取左上、左下、右上、右下、中间5个肾小管视野,依据肾小管上皮细胞空泡变性、肾小管扩张、肾小管萎缩、红细胞管型、蛋白管型、间质水肿、间质纤维化、间质炎性细胞浸润等8项标准进行肾小管间质损伤评分,计算其均值作为该标本的肾小管间质损伤指数<sup>[11]</sup>,肾小管间质损伤评分标准见表1。

表1 肾小管间质损伤评分标准

Tab 1 Renal tubulointerstitial injury scoring criteria

分值	肾小管上皮细胞空泡变性	肾小管扩张	肾小管萎缩	红细胞管型	蛋白管型	间质水肿	间质纤维化	间质炎性细胞浸润
0	无变性	无	无	无	无	无(肾小管间无间隙)	无	无
1	轻度局灶变性	轻度(相应视野内<25%)	轻度(相应视野内<25%)	轻度(偶见)	轻度(偶见)	轻度(轻度局灶小管分离)	轻度(相应视野内<25%)	轻度(轻度局灶细胞浸润)
2	中度局灶或轻度弥漫变性	中度(相应视野内25%~50%)	中度(相应视野内25%~50%)	中度(相应视野内<10%的肾小管)	中度(相应视野内<10%的肾小管)	中度(轻度弥漫或局灶中度肾小管分离)	中度(相应视野内25%~50%)	中度(轻度弥漫或局灶中度细胞浸润)
3	广泛或中度弥漫以上变性	重度(相应视野内>50%)	重度(相应视野内>50%)	重度(相应视野内>10%的肾小管)	重度(相应视野内>10%的肾小管)	重度(重度肾小管分离)	重度(相应视野内>50%)	重度(重度细胞浸润)

### 2.6 肾小管间质纤维化评价

肾组织切片经Masson染色后,于400倍镜下随机选取5个互不重叠的肾小管间质视野,分别测量每个视野中肾小管间质纤维化的相对面积,取平均值进行半定量分析<sup>[12]</sup>。

### 2.7 肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I和TGF- $\beta_1$ 表达的检测

采用免疫组化SP法检测肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I和TGF- $\beta_1$ 表达水平。肾组织石蜡切片常规脱蜡至水,用3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>去除内源性过氧化物酶,置于0.01 mol/L枸橼酸

盐缓冲液中高压修复,滴加正常山羊血清封闭非特异性抗原,分别滴加兔源 $\alpha$ -SMA(1:3 000)、Col I(1:1 000)、TGF- $\beta_1$ (1:3 000)多克隆抗体,4℃过夜,滴加二抗(生物素标记的山羊抗兔IgG),37℃孵育15 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗3次,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉菌卵白素工作液,37℃孵育15 min,PBS洗3次。用显色剂二氨基联苯胺(DAB)显色、脱水、透明、封片。每张切片随机拍摄5个高倍视野照片,采用Image Pro-plus 6.0图像分析软件,计算其平均光密度值后求平均值。

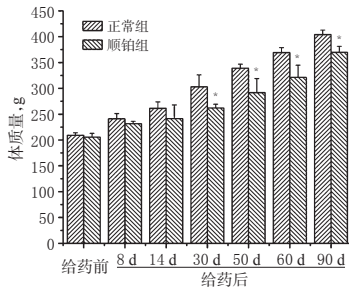
## 2.8 统计学方法

应用SPSS 20.0软件进行数据分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,同一时间点两组间比较采用独立样本 $t$ 检验,组内不同时间点比较采用方差分析(ANOVA)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 大鼠体质量

顺铂组大鼠实验第8、14、30、50、60、90天的体质量均低于正常组相同时间点,其中第30、50、60、90天的体质量降低差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明顺铂给药后可降低大鼠的体质量。两组大鼠各时间点的体质量测定结果见图1。



注:与正常组相同时间点比较, \* $P < 0.05$

Note: vs. normal group at same time point, \* $P < 0.05$

图1 两组大鼠给药前后各时间点的体质量测定结果

Fig 1 Determination results of body weight of rats in 2 groups at each time point before and after administration

### 3.2 血清BUN和Cr水平

正常组大鼠给药后各时间点血清BUN和Cr水平无明显变化。顺铂组大鼠实验第8、14、30、50、60、90天的血清BUN和Cr水平均明显高于正常组相同时间点( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。随着时间的延长,顺铂组大鼠血清

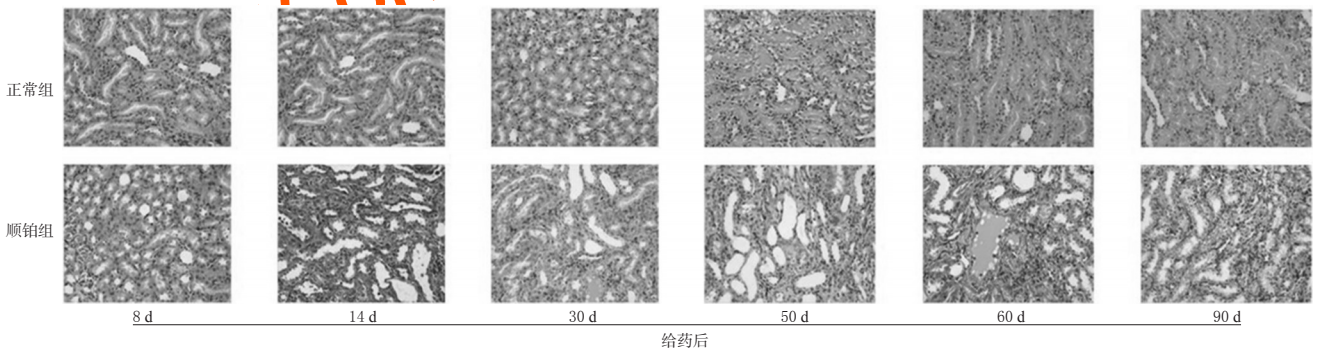
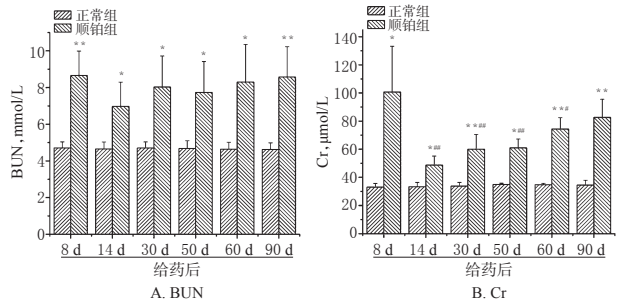


图3 两组大鼠给药后各时间点肾组织HE染色图片( $\times 400$ )

Fig 3 HE staining of renal tissues of rats in 2 groups at each time points after administration ( $\times 400$ )

8、14、30、50、60、90天的肾小管间质损伤指数均明显高于正常组相同时间点( $P < 0.01$ )。随着时间的延长,顺铂组大鼠的肾小管间质损伤指数呈先升高后降低的趋势,第50天时达最高值,第60、90天突然下降,且第60天的肾小管间质损伤指数明显低于第50天( $P < 0.05$ ),第60天与第90天比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组大鼠给药后各时间点肾小管间质损伤指数测定结果见

BUN水平无明显变化;Cr水平于第8天急剧升高,与第8天比较,除第90天外其余各时间点的血清Cr水平明显降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。两组大鼠给药后各时间点血清BUN和Cr水平测定结果见图2。



注:与正常组相同时间点比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与顺铂组第8天比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

Note: vs. normal group at same time point, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; vs. cisplatin group at 8th day, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

图2 两组大鼠给药后各时间点血清BUN和Cr水平测定结果

Fig 2 Determination results of serum levels of BUN and Cr of rats in 2 groups at each time points after administration

### 3.3 肾小管间质损伤

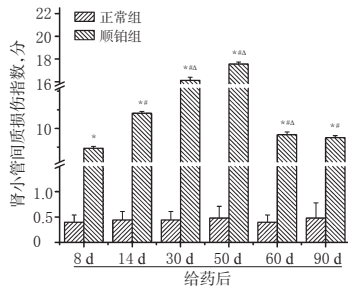
HE染色发现,正常组大鼠给药后各时间点的肾组织结构未见异常。顺铂组大鼠在实验第8天,肾间质可见少量炎症细胞浸润,肾小管上皮细胞空泡变性,局部可见肾小管上皮细胞脱落,出现蛋白管型、红细胞管型;随着时间的延长,肾组织的损伤呈先加重后减轻的趋势,逐渐出现肾小管扩张、萎缩,在皮质髓质区有纤维组织增生,第60、90天时肾小管间质损伤开始减轻。两组大鼠给药后各时间点肾组织HE染色图片见图3。

通过肾小管间质损伤指数分析发现,顺铂组实验第

图4。

### 3.4 肾小管间质纤维化

Masson染色发现,正常组大鼠给药后各时间点的肾组织结构未见异常纤维增生。顺铂组大鼠实验第8天可见纤维组织增生,随着时间的延长,肾间质纤维增生程度呈先加重后减轻的趋势。两组大鼠给药后各时间点肾组织Masson染色图片见图5。



注:与正常组相同时间点比较,\* $P<0.05$ ;与顺铂组第8天比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与顺铂组前一时间点比较,<sup>Δ</sup> $P<0.05$

Note: vs. normal group at same time point, \* $P<0.05$ ; vs. cisplatin group at 8th day, <sup>#</sup> $P<0.05$ ; vs. the previous time point of cisplatin group, <sup>Δ</sup> $P<0.05$

图4 两组大鼠给药后各时间点肾小管间质损伤指数测定结果

Fig 4 Renal tubulointerstitial injury indexes of rats in 2 groups at each time points after administration

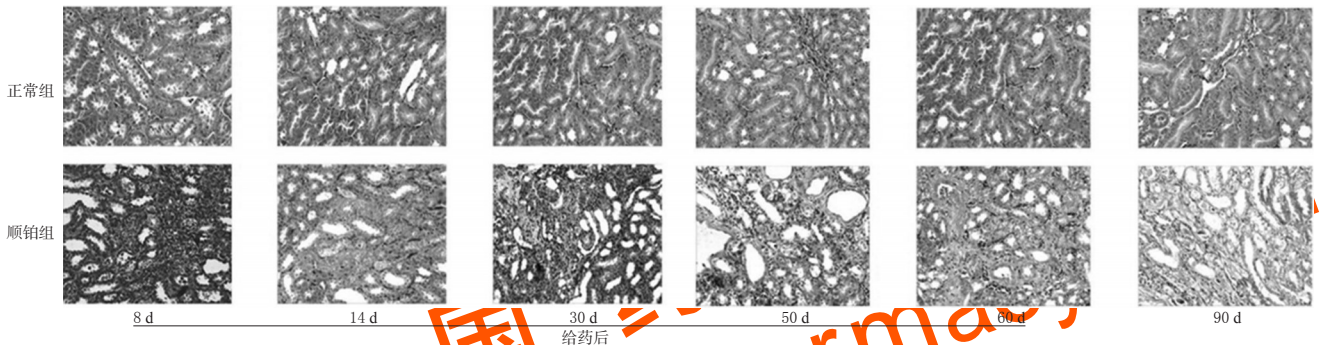
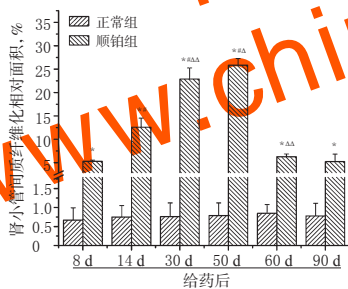


图5 两组大鼠给药后各时间点肾组织Masson染色图片(×400)

Fig 5 Masson staining of renal tissues of rats in 2 groups at each time point after administration (×400)



注:与正常组相同时间点比较,\* $P<0.05$ ;与顺铂组第8天比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与顺铂组前一时间点比较,<sup>Δ</sup> $P<0.05$ ,<sup>ΔΔ</sup> $P<0.01$

Note: vs. normal group at same time point, \* $P<0.05$ ; vs. cisplatin group at 8th day, <sup>#</sup> $P<0.05$ ; vs. the previous time point of cisplatin group, <sup>Δ</sup> $P<0.05$ , <sup>ΔΔ</sup> $P<0.01$

图6 两组大鼠给药后各时间点肾小管间质纤维化相对面积测定结果

Fig 6 Relative area of renal tubulointerstitial fibrosis of rats in 2 groups at each time points after administration

TGF- $\beta_1$ 表达水平均呈先升高后降低趋势,均于第50天达最高值。与第8天比较,顺铂组大鼠第30和50天的 $\alpha$ -SMA表达水平明显升高( $P<0.05$ ),其余各时间点差异均无统计学意义( $P>0.05$ );第50天的Col I和TGF- $\beta$

通过肾小管间质纤维化相对面积的半定量分析发现,顺铂组实验第8、14、30、50、60、90天的肾小管间质纤维化相对面积明显大于正常组相同时间点( $P<0.05$ );随着时间的延长,肾小管间质纤维化相对面积呈先增加后减小趋势,第50天时达最高值,第60、90天突然下降,且第60天的肾小管间质纤维化相对面积明显小于第50天( $P<0.05$ ),第60天与第90天比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。两组大鼠各时间点肾小管间质纤维化相对面积测定结果见图6。

### 3.5 肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 表达

$\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 主要在肾小管上皮细胞的胞质中表达。正常组大鼠给药后各时间点肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 均呈低水平表达,且各时间点差异无统计学意义( $P>0.05$ )。顺铂组大鼠实验第8、14、30、50、60、90天肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、TGF- $\beta_1$ 表达水平均明显高于正常组相同时间点( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。随着时间的延长,顺铂组大鼠肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I、

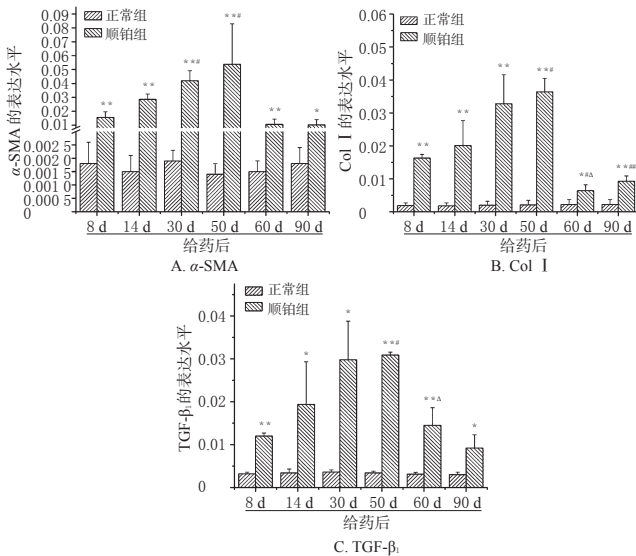
$\beta_1$ 表达水平明显升高( $P<0.05$ ),第60和90天的Col I表达水平明显降低( $P<0.05$ )。两组大鼠各时间点肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I和TGF- $\beta_1$ 表达的测定结果见图7。

### 4 讨论

流行病学研究发现全球终末期肾病发病率不断升高。肾间质纤维化是各种慢性肾病的共同阶段,最终发展为终末期肾病。顺铂是肾损伤的主要药物之一,随着全球恶性肿瘤的发病率不断升高,顺铂作为临床最常用化疗药物之一,其引起肾损伤的患者势必不断增加。本课题组的研究和文献[13-14]报道均证实顺铂单次临床剂量换算成的大鼠剂量可引起大鼠急性肾损伤,然而大鼠急性肾损伤过后是否发展为肾间质纤维化等的研究较少。本实验给予SD大鼠单次腹腔注射顺铂5 mg/kg(由成人常用的单次临床剂量换算),观察肾损伤急性期后不同时间点的肾功能和肾间质纤维增生情况。

在本实验中,大鼠体质量测定结果发现顺铂可降低大鼠的体质量,其中实验第30、50、60、90天的体质量明显降低( $P<0.05$ )。说明随着时间的延长,顺铂降低大鼠的体质量的程度逐渐加重。

与正常组大鼠比较,顺铂组大鼠给药后各时间点的血清BUN和Cr等肾功能指标显著升高( $P<0.05$ 或 $P<$



注:与正常组相同时间点比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与顺铂组第8天比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与顺铂组前一时间点比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: vs. normal group at same time point, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; vs. cisplatin group at 8th day, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; vs. the previous time point of cisplatin group, <sup>Δ</sup> $P < 0.05$

图7 两组大鼠给药后各时间点肾组织中 $\alpha$ -SMA、Col I和TGF- $\beta_1$ 表达的测定结果

Fig 7 Expression of  $\alpha$ -SMA, Col I and TGF- $\beta_1$  in renal tissue of rats in 2 groups at each time points after administration

0.01),提示顺铂对大鼠肾功能损伤一直存在,在第60天甚至在第90天仍未恢复正常。

HE染色显示,给药后各时间点顺铂组大鼠的肾组织均出现损伤,而且随着时间的延长,肾间质损伤逐渐加重;实验第60天时肾间质损伤较前面的时间点有所减轻,但之后直到第90天肾间质损伤并没有进一步的改善,且仍显著高于正常组。

Masson染色发现,给药后各时间点顺铂组大鼠的肾间质均出现纤维增生;且随着时间的延长,纤维增生逐渐加重;实验第60天的肾间质纤维增生较前面时间点的有所减轻,但之后直到第90天纤维增生没有进一步的减少,且仍显著高于正常组。

Col I是间质中重要的ECM。 $\alpha$ -SMA是肌成纤维母细胞的标记分子,肌成纤维母细胞是ECM合成的主要细胞。 $\alpha$ -SMA在肾组织中表达升高,说明肾小管上皮细胞向肌成纤维母细胞转分化,从而增加Col I的合成<sup>[5]</sup>。本实验的免疫组化检测发现,顺铂组大鼠给药后肾组织的 $\alpha$ -SMA和Col I水平显著高于正常组,且随着时间的延长,这些指标的水平逐渐升高;虽然在实验第60天较其前面时间点有所降低,但之后直至第90天没有进一步降低。这些指标的变化与Masson染色结果的变化相一致。以上结果说明单次顺铂剂量(由成人单次临床剂量换算成)可诱导大鼠肾间质纤维化。有报道大鼠腹腔注射单剂量顺铂6 mg/kg,第7天胶原沉积逐渐增加,第14天可见明显肾间质纤维化<sup>[16]</sup>,多次给药可加重

肾间质纤维化<sup>[5]</sup>。以上报道与本实验结果相似。

TGF- $\beta_1$ 是目前公认的最重要的致纤维化细胞因子之一,其在肾纤维化的发展过程中起着关键作用。TGF- $\beta_1$ 能够促进肾小管上皮细胞 $\alpha$ -SMA的表达, $\alpha$ -SMA能够促进成纤维细胞分泌胶原蛋白,从而使肾间质中的ECM成分沉积,最终导致肾纤维化<sup>[17-18]</sup>。在本实验中,大鼠顺铂暴露后,肾组织TGF- $\beta_1$ 水平在各时间点均显著高于正常组;而且随着时间的延长,TGF- $\beta_1$ 水平逐渐升高,虽然第60天时TGF- $\beta_1$ 水平较前有所下降,但之后直至第90天没有进一步降低。TGF- $\beta_1$ 水平与HE染色结果、Masson染色结果、 $\alpha$ -SMA以及Col I等的水平变化情况相一致。

综上所述,临床单剂量顺铂可诱导大鼠肾间质纤维化,其机制可能与其上调肾组织中TGF- $\beta_1$ 表达有关。

### 参考文献

- [1] SHEN DW, POULIOT LM, HALL MD, et al. Cisplatin resistance: a cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes[J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3): 706-721.
- [2] 李向平,马菲,张印坡. 等. 灯盏花素对肾损害模型小鼠肾脏TGF- $\beta_1$ 、Col-IV表达的影响[J]. *中国药房*, 2013, 24(3): 213-215.
- [3] 谭书想. 常见铂类抗肿瘤药物耐药机制和不良反应的比较分析[J]. *中南药学*, 2015, 13(5): 517-520.
- [4] 杨慧海,王露露,范超,等. 中药有效成分减轻顺铂肾毒性研究进展[J]. *上海中医药杂志*, 2017, 51(5): 98-101.
- [5] 杨桂染,刘娜,杨艳梅. 顺铂致肾损伤大鼠Ⅲ型胶原表达的变化[J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19(36): 4671-4672.
- [6] SHAN G, ZHOU XJ, XIA Y, et al. Astragalus membranaceus ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting tubular epithelial-mesenchymal transition in vivo and in vitro[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(5): 1611-1616.
- [7] 陈建,曾莉,陈刚,等. 抗纤灵方对Ang II诱导肾纤维化小鼠肾组织 $\alpha$ -SMA和I型胶原的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(2): 739-742.
- [8] 王水华,陈帮明,刘永芳,等. 排毒保肾丸对5/6肾切除大鼠肾纤维化的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(1): 81-87.
- [9] KIM SI, NA HJ, DING Y, et al. Autophagy promotes intracellular degradation of type I collagen induced by transforming growth factor (TGF)- $\beta_1$ [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(15): 11677-11688.
- [10] MOUSTAFA FE, SOBH MA, ABOUELKHEIR M, et al. Study of the effect of route of administration of mesenchymal stem cells on cisplatin-induced acute kidney injury in sprague dawley rats[J]. *Int J Stem Cells*, 2016, 9(1): 79-89.
- [11] 卢涛,朱春玲. 低分子量肝素对大鼠肾纤维化的预防作用[J]. *贵阳医学院学报*, 2015, 40(9): 943-946, 953.
- [12] 王琳娜,陈常勇,陈小永,等. 依那普利对单侧输尿管梗阻

# 芒柄花素包合物脂质体的制备及质量评价<sup>△</sup>

廖灿城<sup>1\*</sup>, 郭波红<sup>1#</sup>, 许丹翹<sup>1</sup>, 吴秀君<sup>2</sup>, 易军<sup>1</sup>, 黄泽贤<sup>1</sup> (1. 广东药科大学药学院, 广州 510006; 2. 广东省妇幼保健院药学部, 广州 510010)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0303-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.04

**摘要** 目的: 制备芒柄花素(FMN)包合物脂质体, 并评价其质量。方法: 以薄膜分散法制备FMN包合物脂质体, 考察所制脂质体的外观形态、粒径、Zeta电位、包封率以及体外释放行为。结果: 所制FMN包合物脂质体的粒径为(255.34 ± 12.87) nm, Zeta电位为(25.32 ± 3.51) mV、包封率为(81.63 ± 0.79)% (n=3)、24 h的累积释放度为56.12%。结论: 本方法成功制得具有良好缓释效果的FMN包合物脂质体, 且质量符合相关标准。

**关键词** 芒柄花素; 包合物; 脂质体; 质量评价

## Preparation and Quality Evaluation of Formononetin Inclusion Compound Liposome

LIAO Cancheng<sup>1</sup>, GUO Bohong<sup>1</sup>, XU Danqiao<sup>1</sup>, WU Xiujun<sup>2</sup>, YI Jun<sup>1</sup>, HUANG Zexian<sup>1</sup> (1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Dept. of Pharmacy, Guangdong Health Center for Women and Children, Guangzhou 510010, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare Formononetin (FMN) inclusion compound liposome and evaluate its quality. METHODS: FMN inclusion compound liposome was prepared by film dispersion method. The morphology, particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency and *in vitro* release properties were studied. RESULTS: The particle size, Zeta potential and encapsulation efficiency of prepared FMN inclusion compound liposome were (255.34 ± 12.87) nm, (25.32 ± 3.51) mV, (81.63 ± 0.79)%, respectively (n=3). The 24 h accumulative release rate of prepared FMN inclusion compound liposome was 56.12%. CONCLUSIONS: FMN inclusion compound liposome with good sustained-release effect is prepared successfully and in line with related quality standard.

**KEYWORDS** Formononetin; Inclusion compound; Liposome; Quality evaluation

1994年, McCormack B等<sup>[1]</sup>首次提出环糊精可应用于脂质体中。近年来, 环糊精已广泛应用于脂质体、纳米粒等给药体系中, 上述给药体系均可提高难溶性药物的溶解度, 改善药物生物利用度, 同时增加药物的稳定性

以及减轻药物的刺激性<sup>[2-3]</sup>。

芒柄花素(7-羟基-4'-甲氧基异黄酮, FMN)是一种异黄酮类化合物, 具有较好的抗肿瘤作用, 目前该药已被应用于乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌等治疗, 还被

大鼠肾组织胰岛素样生长因子-1表达及肾小管上皮细胞转分化的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(26): 22-26.

[13] LIU X, HUANG Z, ZOU X, et al. Possible mechanism of PNS protection against cisplatin-induced nephrotoxicity in rat models[J]. *Toxicol Mech Methods*, 2015, 25(5): 347-354.

[14] 周金玲, 杨玉芳, 黄振光, 等. 三七总皂苷通过HIF-1 $\alpha$ /BNIP3途径增强线粒体自噬保护大鼠顺铂肾损害[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(3): 196-200.

[15] 孙辽, 余学清, 祝胜郎, 等. AGEs对肾小管上皮细胞转分化、I型胶原合成及smad信号通路的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(12): 2429-2433.

[16] 陈涵枝, 刘殿阁, 丁弘, 等. Ets-1在大鼠顺铂相关性肾病基质重塑中的作用[J]. 现代医学, 2008, 36(5): 301-305.

[17] YUASA T, YANO R, IZAWA T, et al. Calponin expression in renal tubulointerstitial fibrosis induced in rats by cisplatin[J]. *J Toxicol Pathol*, 2014, 27(1): 97-103.

[18] ZHOU X, ZHANG J, XU C, et al. Curcumin ameliorates renal fibrosis by inhibiting local fibroblast proliferation and extracellular matrix deposition[J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 126(4): 344-350.

△ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81403111)

\* 硕士研究生。研究方向: 药物新型给药系统。电话: 020-39352117。E-mail: 347331778@qq.com

# 通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 药物新剂型。电话: 020-39352117。E-mail: guobohong@gdpu.edu.cn

(收稿日期: 2017-09-08 修回日期: 2017-12-15)

(编辑: 邹丽娟)