

文章编号: 1007- 2985(2010) 05- 0104- 03

野鸦椿水提物对大鼠抗肝纤维化的影响^{*}

高 辉^{1,2}, 钟 飞², 李春艳², 吕江明², 彭英福²

(1. 吉首大学林产化工工程湖南省重点实验室, 湖南 张家界 427000 2 吉首大学医学院药理教研室, 湖南 吉首 416000)

摘 要: 50 只大鼠随机分为正常组、模型组、秋水仙碱组以及野鸦椿高、低剂量组, 除正常组外余灌胃给予 CCl_4 每周 2 次, 共 8 周造成慢性肝纤维化模型, 第 4 周开始秋水仙碱组给秋水仙碱 0.1 mg/kg 野鸦椿高、低剂量组分别给野鸦椿水提物 1 mL/kg 和 0.2 mL/kg 连续 5 周, 模型组及对照组给等体积生理盐水. 给药结束后, 处死动物取血、分离血清, 检测 HA、LN 及 PIIIIP 含量. 结果发现, 野鸦椿高、低剂量组 HA、LN、PIIIIP 均明显低于模型组, 高剂量组 HA、LN 浓度与秋水仙碱组没有显著性差异, PIIIIP 则高于秋水仙碱组, 而低于低剂量组. 结果表明: 野鸦椿水提物具有抗慢性肝纤维化的作用, 并存在一定的量效关系.

关键词: 野鸦椿水提物; 肝纤维化

中图分类号: R965.1

文献标志码: B

肝纤维化是慢性肝病的共同病理学改变, 也是各种慢性肝脏疾病向肝硬化发展的必经阶段. 研究表明: 肝纤维化是一种可逆的病理阶段, 只要在肝纤维化阶段进行合理治疗, 就可以逆转肝纤维化的进程, 从而达到缓解甚至治愈. 野鸦椿 (*Euscaphis japonica*) 为省沽油科野鸦椿属植物, 是一种落叶小乔木, 分布于我国的暖温带地区. 果实主要含异槲皮苷、矢车菊素-3-木糖-葡萄糖苷、紫云英苷、山柰酚-3-葡萄糖苷及槲皮素-3-葡萄糖苷等.

湘西地区使用其果实治疗肝炎、肝硬化历史悠久, 取得了一定的疗效. 目前, 关于野鸦椿的肝纤维化保护作用尚未见报道, 本实验主要观察野鸦椿对四氯化碳 (CCl_4) 所致大鼠慢性肝纤维化的保护作用.

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

SD 雄性大鼠 50 只, 体重 (150 ± 10) g 由吉首大学动物中心提供.

采集来自湖南吉首地区的野鸦椿成熟果实, 制成每毫升含生药 4 g 的水提物. 秋水仙碱, 昆明制药有限公司, 批号 070732 CCl_4 分析纯, 北京化工厂, 批号 20080209 透明质酸 (HA) 放免试剂盒, 批号 20090101; 层粘连蛋白 (LN) 放免试剂盒, 批号 20090108 II 型前胶原蛋白肽 (PIIIIP) 放免试剂盒, 批号 20090105 以上放免试剂盒均购自上海海研医学生物技术有限公司.

1.2 仪器与设备

TGL-16G 低温高速离心机 (上海医用分析仪器厂); GC-911 型 γ 放射免疫计数器 (中国科技大学科技实业总公司).

* 收稿日期: 2010-08-10

基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目 (10C1098); 林产化工工程湖南省重点实验室开放基金资助项目 (JDZ201001); 湖南省中医药管理局资助项目 (2010085); 吉首大学医学院资助项目

作者简介: 高 辉 (1977-), 男, 安徽来安人, 吉首大学医学研究所讲师, 硕士, 主要从事抗肝纤维化药物研究.

1.3 方法

1.3.1 动物模型建立及药物处理 将实验大鼠随机分成 5 组, 每组 10 只, 即正常组、模型组、秋水仙碱组以及野鸦椿高、低剂量组。造成大鼠肝纤维化模型方法: 各组动物均饮用 350 mg/L 苯巴比妥溶液 2 周, 随后模型组及各给药组灌胃给予 CCl_4 - 橄榄油溶液 (CCl_4 与 橄榄油的容积比为 1: 1), 首次每只大鼠给 0.08 mL, 以后按 2 mL/kg 给予, 每周 2 次, 每周称重 1 次, 调整剂量, 总计给 CCl_4 - 橄榄油溶液 8 周。^[1-2] 正常组给等体积橄榄油。

给 CCl_4 - 橄榄油溶液第 4 周开始给药, 秋水仙碱组给秋水仙碱 0.1 mg/kg, 野鸦椿高、低剂量组分别给野鸦椿水提物 1 mL/kg 和 0.2 mL/kg。以上药物使用时均用生理盐水稀释成 2 mL 灌胃给药, 连续 5 周, 模型组及对对照组给等体积生理盐水。

1.3.2 指标检测 给药结束后, 各组大鼠腹主动脉取血, 离心取血清, 放免法检测 HA、LN、PIIIP。

1.4 统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验数据采用方差分析, 组间比较用 q 检验, 统计由 SPSS12.0 完成。

2 结果与分析

模型组大鼠血清 HA、LN 及 PIIIP 浓度显著高于正常组, 野鸦椿高、低剂量组均明显低于模型组; 野鸦椿高剂量组 HA、LN 浓度与秋水仙碱组没有显著性差异, PIIIP 则高于秋水仙碱组, 而低剂量组 HA、LN 及 PIIIP 均高于秋水仙碱组; 组间比较野鸦椿高剂量组 HA、LN 及 PIIIP 均显著低于低剂量组, 见表 1。

表 1 野鸦椿水提物对肝纤维化大鼠血清 HA、LN 及 PIIIP 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	HA / ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	LN / ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	PIIIP / ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常组	84.2 ± 12.86	23.49 ± 4.93	17.43 ± 2.16
模型组	330.36 ± 47.07 ^a	49.76 ± 8.54 ^a	39.82 ± 4.35 ^a
秋水仙碱组	164.94 ± 23.55	26.28 ± 5.14	21.61 ± 3.37
野鸦椿低剂量组	185.35 ± 28.15 ^{abc}	42.35 ± 7.93 ^{abc}	32.01 ± 4.18 ^{abc}
野鸦椿高剂量组	161.66 ± 22.53 ^{abd}	28.29 ± 5.65 ^{abd}	25.93 ± 3.63 ^{abd}

注 a 表示与正常组比较 $p < 0.01$; b 表示与模型组比较 $p < 0.01$; c 表示与秋水仙碱组比较 $p < 0.01$; d 表示与野鸦椿低剂量组比较 $p < 0.01$; e 表示与正常组比较 $p < 0.05$; f 表示与秋水仙碱组比较 $p < 0.05$ 。

3 讨论

HA、LN、PIIIP 都是肝细胞外基质代谢过程中的一部分, 都是肝纤维化和基质沉积相关的直接指标。HA 对反映肝病程度和肝纤维化程度较敏感, 而且在几项血清学指标中特异性最高^[3]; LN 血清水平与肝纤维化程度及门脉-肝静脉压力梯度有关^[4]; PIIIP 可作为活动性肝纤维化的指标。

因此 3 项联用具有较高的敏感性和特异性。野鸦椿水提物高、低剂量组均可显著降低大鼠血清 HA、LN、PIIIP 的水平, 且高剂量组三者水平均低于低剂量组, 显示出一定的剂量依赖性。病理切片也显示野鸦椿水提物高、低剂量组肝细胞的炎症水肿、胶原纤维沉积等情况要好于模型组, 这些都说明野鸦椿水提物具有良好的抗肝纤维化作用。

CCl_4 致肝纤维化与其在肝细胞内质网中经细胞色素 P450 依赖性混合功能氧化酶的代谢, 生成活泼的三氯甲基自由基和氯自由基有关, 这些自由基可与细胞内和细胞膜的大分子发生共价结合, 使酶的功能丧失, 细胞膜脂质过氧化, 损伤肝细胞^[1]。如长期反复多次给予 CCl_4 , 引起肝细胞坏死及组织炎症, 并刺激胶原纤维增生, 并逐渐加重形成肝硬化。野鸦椿水提物富含黄酮类物质, 体外实验表明具有很强的自由基清除能力, 其抗肝纤维化作用可能与清除 CCl_4 在肝内代谢产生的大量自由基有关。此外, 有研究表明野鸦椿含有多种抗炎成分^[5], 因此也可能通过抑制肝损伤时炎症反应而发挥抗肝纤维化作用。

参考文献:

[1] 徐淑云. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1350-1351.

- [2] RAM REZ F C, HAK M S, THARALSON E M, et al Feasibility and Safety of String Wireless Capsule Endoscopy in the Diagnosis of Esophageal Varices [J]. Am J Gastroenterol 2005, 100(5): 1 065– 1 071.
- [3] YAO J L, GAO Z L The Base and the Research of the Diagnosis in Viral Hepatitis [J]. Chinese Journal of Modern Medicine, 1998, 8(7): 4– 6
- [4] JIA J D, YIN S S The Progress of Diagnosis and Cure in Cirrhosis of the Liver [J]. Journal of Clinical Internal Medicine, 2002, 19(4): 244– 246
- [5] 董 玫, 张秋霞, 广田满. 野鸦椿酯类化合物抗炎症活性与结构的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004 16(4): 290– 293

Effects of Water Extracts from *Euscaphis Japonica* on Hepatic Fibrosis in Rats

GAO Hui^{1,2}, ZHONG Fei², LI Chun-yan², LV Jiang-ming², PENG Ying-fu²

(1. Hunan Province Key Laboratory of Forest Products and Chemical Industry Engineering Jishou University, Zhangjiajie 427000, Hunan China; 2. Department of Pharmacology, Medical College of Jishou University, Jishou 416000, Hunan China)

Abstract Fifty rats were randomly divided into normal group, model group, Colchicine group, high and low dose *Euscaphis Japonica* groups. Hepatic fibrosis models were established by CCl₄ twice a week via intragastric administration for 8 weeks, except normal groups. Colchicine (0.1 mg/kg) had been administered to the Colchicine group, water extracts from *Euscaphis Japonica* (1 mL/kg or 0.2 mL/kg) had been administered to the high and low dose *Euscaphis Japonica* groups from the fourth week. Five weeks later, all rats were killed to draw blood and separate serum, and then all serum samples were analysed. The results showed that the levels of HA, LN and PIII P in the high and low dose *Euscaphis Japonica* groups were significantly lower than those in the model groups; there were no significant differences of HA, LN concentration between the high dose group and Colchicine group, and the level of PIII P in high dose group was higher than that in Colchicine group but lower than in low dose group. It is concluded that water extracts from *Euscaphis Japonica* can be used to treat hepatic fibrosis in a dose-dependent manner.

Key words water extracts from *Euscaphis Japonica*; hepatic fibrosis

(责任编辑 向阳洁)