

灵芪蠲肝胶囊对大鼠肝星状细胞增殖及 TIMP-1 表达的影响

李 烨, 邓存良, 彭 颖(泸州医学院附属医院, 四川 泸州 646000)

摘要: **目的** 观察不同浓度的灵芪蠲肝胶囊含药血清对血小板衍化生长因子(PDGF)诱导的大鼠肝星状细胞-T6 (HSC-T6) 增殖和组织金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)蛋白量表达的影响, 探讨其可能的抗肝纤维化机制。 **方法** 灵芪蠲肝胶囊高、中、低剂量组按含药血清浓度 $200 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别作用于 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ PDGF 刺激的 HSC-T6, 24 h、48 h、72 h 后, 用 CCK-8 法测定各组 HSC-T6 的吸光度值, 透射电镜观察各组细胞超微结构的变化, 免疫印迹法检测 24 h 时各组细胞中 TIMP-1 蛋白量的表达。 **结果** 灵芪蠲肝胶囊含药血清可明显抑制 HSC-T6 的增殖, 各组药物在各时间点对 HSC-T6 的抑制作用随血清中药物浓度增加呈逐渐增强趋势; 同时各药物血清组 HSC-T6 中 TIMP-1 蛋白表达量均明显减少(均 $P < 0.01$)。 **结论** (1)灵芪蠲肝胶囊可以抑制 PDGF 诱导的 HSC-T6 增殖, 且作用具有剂量依赖性; (2)灵芪蠲肝胶囊能降低 TIMP-1 在活化的 HSC-T6 中的表达, 从而减少其对基质金属蛋白酶(MMPs)的抑制, 实现抗肝纤维化作用。

关键词: 灵芪蠲肝胶囊; 肝纤维化; 血清药理学; 血小板衍化生长因子; 组织金属蛋白酶抑制剂-1

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0155-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.013

Effects of *Lingqi Juangan* Capsule on Proliferation of Hepatic Stellate Cells and Expression of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in Rats

LI Ye, DENG Cunliang, PENG Ying(Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000 Sichuan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of serum containing *Lingqi Juangan* Capsule (LJC) at different concentrations on the proliferation of hepatic stellate cell-T6 (HSC-T6) and the expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1(TIMP-1) proteins in HSC-T6 induced by platelet-derived growth factor(PDGF). **Methods** The drug-containing serum was obtained by intragastric administration of high-, middle- and low-dose LJC decoction to the SD rats respectively. HSC-T6 induced by $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ PDGF was incubated at $200 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ of the drug serum containing different doses of LJC. After 24, 48, and 72 hours, the proliferation of HSC-T6 was measured by cell counting Kit-8 (CCK-8) and the growth curve was made. The ultrastructure of HSC-T6 was observed under transmission electron microscope. After 24 hours, the expression of TIMP-1 of HSC-T6 in each group was measured by Western blotting. **Results** LJC-containing serum had an obvious effect on inhibiting the proliferation of HSC-T6, and the effect was dose-dependant at each time point. The expression of TIMP-1 was increased in each drug-containing serum group($P < 0.01$). **Conclusion** LJC can inhibit the proliferation of HSC-T6 in a dose-dependent manner, and its anti-hepatic fibrosis mechanism is related with the decrease of TIMP-1 expression in activated HSC, and with alleviating the inhibition to MMPs.

Keywords: *Lingqi Juangan* Capsule; Hepatic fibrosis; Seropharmacology; Platelet-derived growth factor; Tissue inhibitor of metalloproteinase-1

收稿日期: 2012-07-25

作者简介: 李烨, 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 慢性肝病及肝纤维化研究。Email: liye723@sina.com。通讯作者: 邓存良, 硕士生导师, 教授, 研究方向: 慢性肝病及肝纤维化研究。Email: dengcunl64@vip.sina.com。

基金项目: 中国肝炎防治基金会“王宝恩肝纤维化研究基金”(XJS003); 四川省科技厅资助项目(2006Z08-087)。

肝纤维化以肝星状细胞(HSC)的过度增殖及所分泌的细胞外基质(ECM)过度沉积为特征。目前研究表明,肝纤维化甚至早期肝硬化均是可逆的^[1-2]。因此阻抑激活的HSC增殖是治疗慢性肝损伤和肝纤维化的重要策略。血小板衍化生长因子(PDGF)是目前已知多肽生长因子中对HSC作用最强的有丝分裂原^[3]。近年来研究还发现,PDGF可通过上调组织金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)抑制胶原酶的作用以减少ECM的降解。灵芪薏肝胶囊是我院根据验方筛选研制的用于治疗肝病的中药复方制剂,以灵芝、黄芪等中药配伍而成。本实验拟从分子水平探讨灵芪薏肝胶囊对肝纤维化的治疗机制,为进一步研究中医药治疗肝纤维化打下基础。

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级健康雄性SD大鼠25只,体质量300~350 g,由泸州医学院动物实验基地提供,动物合格证号:SCLY201008。

1.2 细胞株 大鼠肝星状细胞株(HSC-T6),购于上海中医药大学肝病研究所,由美国加利福尼亚旧金山总医院肝病中心实验室Friedman教授建立。

1.3 药物 灵芪薏肝胶囊,由泸州医学院制剂室制备。灵芝450 g切成粗块,煎煮、滤过;当归160 g提取挥发油,药渣与黄芪1000 g、大青叶640 g加水煎煮、滤过;合并当归挥发油与灵芝提取液,制成胶囊共1000粒。复方鳖甲软肝片,内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限公司,批号:20100310。

1.4 试剂及仪器 PDGF-BB,美国PEPROTECH公司;CCK-8试剂盒(C0038)、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(P0012A),上海碧云天生物技术公司;兔抗大鼠TIMP-1单克隆抗体,美国ABCAM公司;Mini-P3垂直电泳仪,美国Biorad公司;JEM-1400电镜,日本电子株式会社;Gel Doc 1000凝胶成像系统,美国Biorad公司。

1.5 方法

1.5.1 动物分组 SD大鼠25只,随机分为5组:正常血清对照组(A组),复方鳖甲软肝片(B组),灵芪薏肝胶囊低剂量组(C1组)、中剂量组(C2组)、高剂量组(C3组),每组5只。

1.5.2 药液制备 A组:生理盐水;B组:按成人剂量的2.5倍($1.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),用蒸馏水配成 $0.15\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的药液;C1、C2、C3组:分别按成人剂量的2.5倍($2.125\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、5倍($4.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、10倍($8.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),用蒸馏水配成 $0.2125\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.425\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.85\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$

的药液。

1.5.3 血清采集及处理:均按 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,每天1次,共7 d。末次灌胃前12 h禁食,不禁水。末次给药后1 h,以3%戊巴比妥钠($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)行腹腔麻醉,经腹主动脉采血、静置、离心、灭活、除菌。

1.5.4 HSC-T6 复苏及培养 从 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 液氮罐中取出冻存的HSC-T6复苏,置于含10%胎牛血清的高糖DMEM培养瓶中于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中培养。根据细胞生长情况1~2 d换液1次,3~4 d细胞铺满培养瓶底、亚融合90%后进行传代。

1.5.5 CCK-8 法检测 各组含药血清对PDGF诱导的HSC-T6增殖的影响 细胞按 $5\times 10^4/\text{mL}$ 接种于96孔培养板中,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$,分为5组,每组5复孔,共接种3板,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。细胞90%融合后,弃上清液,换无血清高糖DMEM培养液,置培养箱中培养24 h,使细胞同步于G0期。弃每孔的上清液,按前述实验分组分别加入5种含20%不同药物血清+PDGF(终浓度 $10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)的高糖DMEM培养基各 $100\text{ }\mu\text{L}$,继续培养。分别于共培养后24 h、48 h、72 h各取1板,吸去培养基,含细胞的25孔均加入CCK-8试剂 $10\text{ }\mu\text{L}/\text{孔}$,以只加培养液无细胞的空白孔调零,在细胞培养箱中继续孵育约2 h。分光光度计检测波长为450 nm的吸光度(absorbance, A)值。

1.5.6 透射电镜(TEM)观察 含药血清作用后HSC-T6超微结构的改变 HSC-T6以 $5\times 10^5/\text{mL}$ 接种于50 mL培养瓶中,按前述方法进行干预处理,于第24, 48, 72 h各取2瓶,收集细胞悬液于离心管中,常温下离心,吸尽上清液,加入预冷的2.5%戊二醛固定液 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 固定2 h。倒掉戊二醛, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液漂洗5 min,3次;倒掉剩余液体,加入1%锇酸 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 固定3 h。丙酮梯度脱水,包埋,切片,染色,观察并照相记录。

1.5.7 免疫印迹法检测 含药血清作用24 h后TIMP-1蛋白表达量 按前述方法干预处理细胞并抽提得到细胞总蛋白,行SDS-PAGE电泳, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、恒流390 mA转移2 h至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭。加入一抗(TIMP-1稀释度为1:200),同时加入内参抗体(小鼠抗大鼠 β -actin,稀释浓度为1:1000),孵育过夜。洗膜后,加入稀释度1:2000的二抗孵育1 h。ECL显色剂显色,BioRad凝胶摄像分析系统自动显影曝光,凝胶定量分析软件Quantity One 4.4.0分析其灰度值,表示TIMP-1蛋白的相对表达水平。

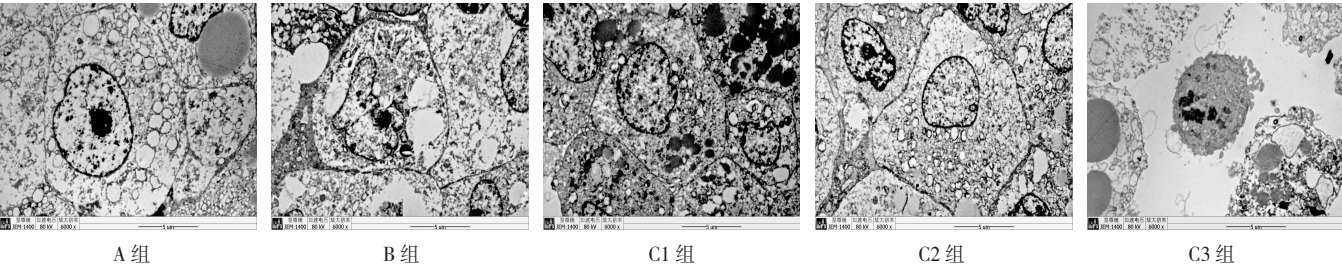
1.6 统计学处理方法 计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 各组间比较用单因素方差分析, 多样本均数两两比较用 SNK-q 检验, 应用 SPSS16.0 统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 共培养后 HSC-T6 光镜下的形态改变 与各组含药血清共培养 24 h 后, 倒置显微镜下, 正常血清对照组的细胞形态正常, 呈星型、梭型、多边形, 胞质丰富, 核膜完整, 细胞间突触连接明显, 有的融合成片状。与正常血清对照组比较, 复方鳖甲软肝片组及灵芪薏肝胶囊高、中、低剂量组可见较多散在细胞, 且细胞体积变小, 胞体皱缩, 可见弥散的较小细胞组织; 随着灵芪薏肝胶囊各组血清中药物浓度增加和培养时间延长, 可见细胞总数减少,

细胞变小, 由星芒状变为圆形或长圆形, 细胞间隙较宽, 细胞内出现大量空泡, 且胞体皱缩更加明显, 弥散的较小细胞组织增多。

2.2 HSC-T6 透射电镜下超微结构的改变 见图 1。与各组含药血清共培养 24 h 后, 电镜下可见: 正常血清对照组细胞核形态正常, 核膜结构清晰, 染色质分布正常。细胞器丰富, 有大量线粒体及内质网, 可见大脂滴。复方鳖甲软肝片组及灵芪薏肝胶囊高、中、低剂量组可见大量不同程度的坏死和凋亡细胞, 其细胞体积变小, 核膜消失, 胞质内空泡增多, 细胞器较少, 细胞核染色质固缩, 形态不规则, 可见核碎裂。同一时间点, 上述改变在复方鳖甲软肝片组及灵芪薏肝胶囊高剂量组最明显, 灵芪薏肝胶囊中剂量组次之, 灵芪薏肝胶囊低剂量组最轻; 且培养时间越长, 改变越显著。



A 组: 细胞核形态正常, 结构清晰, 染色质分布正常, 细胞器丰富, 可见大脂滴。B 组: 细胞水肿, 细胞核形态不规则, 细胞质略显均匀化改变, 细胞器较少。C1 组: 细胞核正常, 细胞器较少, 少量线粒体固缩, 少量水肿, 脂滴明显, 可见胶原。C2 组: 细胞水肿明显, 细胞核大, 染色质分布欠均匀, 细胞器较少, 略显水肿。C3 组: 细胞固缩, 细胞核崩解, 细胞器少。

图 1 共培养 24 h 各组 HSC-T6 的超微结构观察(TEM, ×6000)
Figure 1 Ultrastructure of HSC-T6 in each group after culture for 24 hours(TEM, ×6000)

2.3 对 HSC-T6 细胞增殖抑制的影响 见表 1。与正常血清对照组比较, 各给药组在 24, 48, 72 h 均可明显抑制 HSC-T6 的增殖(均 $P < 0.05$); 灵芪薏肝胶囊低剂量组在 24, 48 h 无抑制作用($P > 0.05$), 在 72 h 均可抑制 HSC-T6 的增殖(均 $P < 0.05$)。24 h 时, 复方鳖甲软肝片组、灵芪薏肝胶囊高剂量组较灵芪薏肝胶囊中剂量组抑制明显(均 $P < 0.05$); 复方鳖甲软肝片组、灵芪薏肝胶囊高剂量组的组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。48 h 时, 复方鳖甲软肝片组、灵芪薏肝胶囊高剂量组较灵芪薏肝胶囊中、低剂量组抑制明显(均 $P < 0.05$); 复方鳖甲软肝片组与灵芪薏肝胶囊高剂量组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 灵芪薏肝胶囊中、低剂量组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。72 h 时, 复方鳖甲软肝片组与灵芪薏肝胶囊各剂量组各组抑制作用比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。灵芪薏肝胶囊各剂

量组在各时间点对 HSC-T6 的抑制作用随血清中药物浓度增加呈逐渐增强趋势。

2.4 TIMP-1 蛋白表达 见图 2、表 2。与正常血清对照组比较, 复方鳖甲软肝片组、灵芪薏肝胶囊各

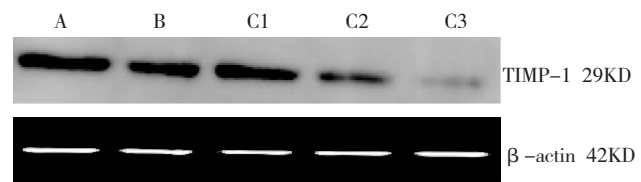
表 1 各组含药血清对 HSC-T6 增殖(A 值)情况的影响($n=5, \bar{x}\pm s$)

Table 1 The influence of drug-containing serum on HSC-T6 proliferation in each group($\bar{x}\pm s$)

组别	A 值 24 h	A 值 48 h	A 值 72 h
正常血清对照组	1.550 ± 0.065	1.311 ± 0.650	1.039 ± 0.103
复方鳖甲软肝片组	1.102 ± 0.115 ^{◆◆}	0.903 ± 0.714 ^{◆◆}	0.601 ± 0.111 [*]
灵芪薏肝胶囊低剂量组	1.522 ± 0.128 ^{◆◆◆}	1.153 ± 0.183 ^{◆◆◆}	0.753 ± 0.210
灵芪薏肝胶囊中剂量组	1.335 ± 0.106 ^{◆◆}	1.090 ± 0.106 ^{◆◆}	0.719 ± 0.116 [*]
灵芪薏肝胶囊高剂量组	1.241 ± 0.205 [◆]	0.909 ± 0.191 ^{◆◆}	0.641 ± 0.110 [*]

注: 与正常血清对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与复方鳖甲软肝片组比较, [◆] $P < 0.05$; 与灵芪薏肝胶囊低剂量组比较, ^{◆◆} $P < 0.05$; 与灵芪薏肝胶囊中剂量组比较, ^{◆◆◆} $P < 0.05$; 与灵芪薏肝胶囊大剂量组比较, ^{◆◆◆◆} $P < 0.05$ 。

剂量组 TIMP-1 蛋白均减少(均 $P < 0.01$); 与复方鳖甲软肝片组比较, 灵芪薏肝胶囊低剂量组 TIMP-1 蛋白表达量增高 ($P < 0.05$), 灵芪薏肝胶囊中剂量组 TIMP-1 蛋白表达量降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 灵芪薏肝胶囊低剂量组 TIMP-1 蛋白表达量明显降低($P < 0.01$); 灵芪薏肝胶囊高、中剂量组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。



A. 正常血清对照组; B. 复方鳖甲软肝片组; C1. 灵芪薏肝胶囊低剂量组; C2. 灵芪薏肝胶囊中剂量组; C3. 灵芪薏肝胶囊高剂量组

图2 含药血清作用24 h后各组TIMP-1蛋白量的表达
Figure 2 The expression of TIMP-1 in each group detected by Western blot after treatment for 24 hours

表2 含药血清作用24 h后对各组TIMP-1蛋白表达量的影响($n=5, \bar{x} \pm s$)

Table 2 The relative expression of TIMP-1 in each group after treatment for 24 hours

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	灰度值
正常血清对照组		1.373 ± 0.175
复方鳖甲软肝片组	1.5	1.094 ± 0.043 ^{●**}
灵芪薏肝胶囊低剂量组	2.125	1.174 ± 0.0392 ^{▲◆*}
灵芪薏肝胶囊中剂量组	4.25	1.077 ± 0.207 ^{●**}
灵芪薏肝胶囊高剂量组	8.50	1.045 ± 0.300 ^{▲◆*}

注: 与正常血清对照组比较, $*P < 0.01$; 与复方鳖甲软肝片组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与灵芪薏肝胶囊低剂量组比较, $\bullet P < 0.05$; 与灵芪薏肝胶囊中剂量组比较, $\blacklozenge P < 0.05$; 与灵芪薏肝胶囊高剂量组比较, $*P < 0.05$ 。

3 讨论

肝纤维化是肝脏受到损伤时以胶原蛋白为主的细胞外基质的合成与降解失衡以及多条细胞信号转导通路和一系列细胞信号分子网络共同控制的结果。HSC 的活化、增殖及胶原产生的增加是肝纤维化形成和发展的中心环节, 是防治肝纤维化的重要靶点。中医中药以其对肝纤维化的良好预防和治疗效果及低毒性反应等特点已引起国内外学者的广泛关注^[4]。但中医药抗纤维化的机理研究, 尤其是利用中药血清药理学和分子生物学方法, 阐明中医药对相关细胞因子和信号蛋白表达的调控作用的分子生物学机理的研究仍显不足。灵芪薏肝胶囊含灵芝、当归、黄芪、大青叶等药物, 本课题前期研究结果表明灵

芪薏肝胶囊能调节蛋白代谢、抗脂质过氧化, 稳定肝细胞膜, 减少 NO 产生, 调节细胞外基质的代谢, 具有保肝、抗纤维化作用^[5-8]。

PDGF 是 sis 原癌基因的表达产物, 其分子由两条多肽链组成, 分别为分子量 18 kD 的 A 链(PDGF-A)与 16 kD 的 B 链(PDGF-B)。PDGF 是重要的促肝纤维化因子^[9-10]。PDGF 能够促进肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)产生胶原, 尤其是 I 型和 III 型胶原。PDGF 还可通过上调 TIMP-1 来抑制胶原酶活性, 以减少已分泌 ECM 的降解。在本实验中, CCK-8 法检测细胞增殖抑制的结果显示, 在 24 h、48 h 和 72 h 等同一时间点, 灵芪薏肝胶囊高、中、低含药血清组的 A 值随血清中药物浓度增加而逐渐降低, 同一含药血清组的 A 值随时间延长也呈降低趋势, 高剂量组药物血清抑制作用与复方鳖甲软肝片相似, 低、中剂量组随药物浓度和作用时间增加在 72 h 时抑制作用与复方鳖甲软肝片和高剂量组相似。光镜下观察细胞的大体形态和透射电镜下细胞的超微结构也直观地显示, 灵芪薏肝胶囊含药血清可以显著抑制用 PDGF 诱导后的 HSC-T6 细胞增殖, 且抑制效果随药物浓度增加和作用时间延长而增强。

TIMPs 是基质金属蛋白酶(MMPs)的内源性抑制系统。它是一组低分子量的糖蛋白, 存在于多种组织中。TIMP-1 在肝脏中主要由 Kuffer 细胞、HSC 及肌纤维母细胞产生, 以活化的 HSC 表达最强。肝脏 ECM 的代谢主要由 MMPs 和 TIMPs 相互调节, 即 MMPs 促进 ECM 的降解, 而 TIMPs 通过抑制 MMPs, 阻止 ECM 的降解。此外, TIMPs 还可抑制 HSC 的凋亡而促进肝纤维化的持续发展, 与肝纤维化的发生发展密切相关。在本实验中, 作用 24 h 后, 灵芪薏肝胶囊各剂量组 TIMP-1 蛋白量的表达明显低于正常血清对照组, 且呈浓度依赖性, 表明灵芪薏肝胶囊在抑制 HSC-T6 增殖的同时 TIMP-1 蛋白的表达也相应地减少, 由此推断, 灵芪薏肝胶囊药物血清可能是一种直接或间接干扰 PDGF 分子功能的非特异性抑制剂, 通过抑制肝纤维化关键性效应细胞 HSC-T6 增殖, 降低了 TIMP-1 蛋白的表达, 从而减少其对 MMPs 的抑制, 抑制了肝纤维化的发生和发展。

参考文献:

[1] Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury[J]. Seminars in liver disease, 2001, 21: 427.
[2] Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis - role of hepatic stellate cell activation[J]. MedGenMed, 2002, 4(3): 27.

- [3] Yoshiji H, Noguchi R, Kuriyama S, et al. Imatinib mesylate (STI-571) attenuates liver fibrosis development in rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 288(5): G907-913.
- [4] GUO SG, Zhang W, Jiang T, et al. Influence of serum collected from rat perfuse with compound Biejia Ruangan drug on hepatic stellate cells [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2004, 10(10): 1487-1494.
- [5] 李万平, 李晓冰, 黄新武, 等. 灵芪薏肝液对肝纤维化细胞外基质的作用研究[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(9): 2194-2195.
- [6] 李万平, 李晓冰, 黄新武, 等. 灵芪薏肝液对急性肝损伤内毒素和氧自由基的作用[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(3): 657-658.
- [7] 唐坤华, 陈枫, 邓存良, 等. 灵芪薏肝液抗四氯化碳实验性大鼠肝纤维化的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16(20): 3076-3079.
- [8] 刘剑, 李万平, 李晓冰, 等. 灵芪薏肝液对大鼠急性肝损伤影响[J]. *泸州医学院学报*, 2008, 31(1): 29-31.
- [9] Godichaud S, Si-Tayeb K, Auge N, et al. The grape-derived polyphenol resveratrol differentially affects epidermal and platelet-derived growth factor signaling in human liver myofibroblasts [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38: 629-637.
- [10] Borkham-Kamphorst E, Meurer SK, Gressner AM, et al. Disruption of intermolecular disulfide bonds in PDGF-BB dimers by N-acetyl-L-cysteine does not prevent PDGF signaling in cultured hepatic stellate cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 4: 1711-1718.

(编辑: 邓响潮)

含碘中药复方对 AIT 大鼠甲状腺组织凋亡调控蛋白 Fas、FasL、Bcl-2、Bax 的影响

张 兰¹, 邹晓宁², 姜维娜¹, 杨斌婕², 樊程程² (1. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: 目的 观察中药复方中不同剂量含碘中药(海藻、昆布)复方对实验性自身免疫性甲状腺炎(AIT)大鼠甲状腺自身抗体(TGAb、TPOAb)、凋亡调控蛋白 Fas、FasL、Bcl-2、Bax 的影响, 并筛选中药复方中含碘中药的最佳剂量。方法 取 SD 雌性大鼠 75 只, 随机分为正常对照组, 模型组, 含碘中药复方低、中、高剂量组。酶联免疫法检测各组大鼠甲状腺抗体水平; 免疫组化法检测各组大鼠甲状腺组织凋亡调控蛋白 Fas、FasL 和 Bcl-2、Bax 的变化。结果 含碘中药复方各剂量组与模型组比较, 甲状腺自身抗体水平均降低, 甲状腺组织 Fas、FasL、Bax 的表达均减少, Bcl-2 的表达增多, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 含碘中药复方中、高剂量组与低剂量组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 但中、高剂量组组间比较无明显差异($P > 0.05$)。结论 含碘中药复方能够通过降低甲状腺自身抗体水平, 抑制凋亡调控蛋白 Fas、FasL、Bax 的表达, 增加 Bcl-2 的表达, 起到治疗 AIT 的作用。

关键词: 含碘中药复方; 自身免疫性甲状腺炎; Fas; FasL; Bcl-2; Bax; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0159-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.014

Effect of Iodine-Containing Chinese Herbal Recipe on Apoptosis-regulation Protein Fas/FasL and Bcl-2/Bax in Thyroid Tissue of Autoimmune Thyroiditis Rats

ZHANG Lan¹, ZOU Xiaoning², JIANG Weina¹, YANG Binjie², FAN Chengcheng² (Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032 Liaoning, China)

Abstract: Objective To observe the effects of compound recipe having different doses of iodine-containing Chinese herbs(Surgassum and Thallus Laminariae et Eckloniae) on autoantibody and apoptosis-regulated proteins Fas, FasL, Bcl-2, Bax of experimental autoimmune thyroiditis (AIT) rats for the exploration of its therapeutic mechanism, and

收稿日期: 2012-10-06

作者简介: 张兰, 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 中西医结合防治糖尿病及其慢性并发症和甲状腺相关疾病。Email: zxn1987118@163.com。

基金项目: 辽宁省自然科学基金计划(20092038)。