

均确证 β -AP诱导的皮质神经元死亡是典型的细胞凋亡,黑海参多糖对 β -AP诱导的皮质神经元凋亡有明显的保护作用。

黑海参多糖与肝素一样,都是酸性粘多糖,因此,我们从研究结果推测,神经元细胞上可能存在酸性粘多糖的特异性受体,酸性粘多糖对神经元的保护作用是通过受体介导的。目前,受体的分离纯化及黑海参多糖的分子作用机制研究正在进行之中。

参考文献

1 Frank, M L, *et al.* Nature Genetics, 1995, 9 21

- 2 Barger, S W, *et al.* Nature, 1997, 388 878
- 3 Yan G M, *et al.* International Symposium of Alzheimer's disease. Osaka, Japan, 1996
- 4 唐孝礼,等. 中药材, 1999, 22(5): 223
- 5 Yan G M, *et al.* Mol Pharmacol, 1995, 47 248
- 6 Yan G M, *et al.* J Neurochem, 1995, 65 2425
- 7 Yan G M, *et al.* J Pharmacol Exp Ther, 1995, 274: 983
- 8 Yan G M, *et al.* Brain Res, 1994, 656 43
- 9 黎明涛,等. 生物化学与生物物理学报, 1997, 29 (5): 495
- 10 Bains J S, *et al.* Brain Res Brain Res Rev, 1997, 25 (3): 335
- 11 颜光美. 中山医科大学学报, 1998, 19 (1): 1

(1999-06-29收稿)

阿魏酸钠和当归醇沉物对免疫性肝损伤的干预作用[△]

湖北医科大学药理教研室(武汉 430071) 李颖* 彭仁修[△]

摘要 阿魏酸钠(SF)及当归醇沉物(ESA)对卡介苗加脂多糖致小鼠免疫性肝损伤有保护作用,二者均降低肝损伤小鼠血清ALT和谷胱甘肽S转移酶活性,并增加肝细胞浆中谷胱甘肽还原酶活性,同时ESA降低肝细胞浆中丙二醛含量,提示当归的护肝作用与抗脂质过氧化有关。ESA在护肝的同时尚能明显抑制小鼠脾脏指数的增加,提示ESA更广泛的护肝机制。

关键词 阿魏酸钠 当归醇沉物 免疫性肝损伤 谷胱甘肽还原酶

Protective Effects of Sodium Ferulate and Ethanol Sediments from Danggui (*Angelica sinensis*) on Immunological Liver Injury

Department of Pharmacology, Hubei University of Medical Sciences (Wuhan 430071) Li Ying and Peng Renxiu

Abstract Sodium ferulate (SF) and ethanol sediments from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels (ESA) showed their protective effects on the immunological liver injury induced by lipopolysaccharide (LPS) in bacillus calmette-guerin (BCG) primed mice. They both suppressed serum ALT and glutathione S-transferase activity, and increased glutathione-reductase activity in hepatic cytosol in liver damaged mice. ESA also reduced the level of malondialdehyde (MDA), a product of lipid peroxidation, in hepatic cytosol. All these effects reminded that antioxidation was an important mechanism for *A. sinensis* to antagonize immunological liver injury. That ESA decreased the spleen index in liver damaged mice also reminded that there may be some other protective mechanisms of *A. sinensis*.

Key words sodium ferulate (SF) ethanol sediments from *Angelia sinensis* (Oliv.) Diels (ESA) immunological liver injury glutathione-reductase

当归单体成分阿魏酸钠(SF)对多种化学性肝损伤有保护作用^[1],但未见当归作用于免疫性肝损伤报道,已知当归醇沉物(ESA)有免疫活性^[2],但未见对肝损伤作用报道,本文用卡介苗加脂多糖的方法制造小鼠免疫性肝损伤模型,观察SF及ESA的影响,以期更全面认识当归对肝损伤的干预作用。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂:卡介苗(BCG)由卫生部兰州生物制品所提供,细菌脂多糖(LPS)购自Sigma公司,血清型Salmonella Typhimurium. 2,4-二硝基氯苯(CDNB),氧化型谷胱甘肽(GSSG),还原型谷胱甘肽(GSH)和还原型辅酶II(NADPH)为Sigma公司产品,硫代巴比妥钠(TBA),5,5'-二巯-2,2'-二硝基苯甲酸(DTNB),阿魏酸钠(Sodium Ferulate, SF)片、

* Address: Li Ying, Department of Pharmacology, Hubei University of Medical Sciences, Wuhan

李颖 男,29岁,湖北医科大学药理教研室讲师,药理学硕士学位,专业方向为生化药理,主要从事药物代谢、肝损伤及肝保护方面的工作。

[△]湖北省教委资助项目

地塞米松 (DEX)注射液均为市售产品,当归 *Angelica sinensis* Diels 醇沉物 (ESA)本实验室制备^[2]。

1.2 动物及处理:参照文献^[3]选用 5周龄的雄性小鼠(昆明种),体重(12±0.5 g),由湖北省医科院提供,分成 6组,每组 5~10只。每只小鼠尾 iv BCG 1 mg, 12 d后再尾 iv LPS 4μg以制造免疫性肝损伤模型。制造模型同时给药,阿魏酸钠 (SF)组、小剂量当归醇沉物 (ESA1)组和大剂量当归醇沉物 (ESA2)组分别 ig SF 100 mg/kg sc ESA 250和 500 mg/kg 共 12 d, DEX 组在注射 LPS 30 min前 ip DEX 3 mg/kg 1次,生理盐水 (NS)为对照。注射 LPS后 6 h小鼠断头取血,并摘取肝脏、胸腺和脾脏。2~3个脏脏合为一个标本,在冰 NS中剪碎、漂洗后经超速离心 105 000 g×60 min(4℃)制备细胞浆 (S105)。部分小鼠肝脏经 10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE染色,光镜观察。

1.3 指标及测定方法:改良金氏法^[4]测定血清丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT)。按 Habig 等方法^[5]以 CDNB为底物测定血清谷胱甘肽 S转移酶 (glutathione S-transferase, GST)活性。TBA 比色法^[6]测定丙二醛 (MDA)。按文献方法^[7]以 NADPH为底物,测定谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GSH-Re)活性。以 H₂O₂为底物,用 DTNB 显色法^[8]测定谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)活性。脏器指数为该脏器占动物体重的百分比。

1.4 统计方法:用 Duncan's *q* 检验进行多组数据间对比。

2 结果

2.1 对血清 ALT (sALT)和 GST (sGST)的影响:与 NS组比,模型组的 sALT 升高 25% ($P < 0.05$),表明肝损伤模型制造成功。SF ESA1 ESA2 组的 sALT 分别较模型组降低 37%、46%和 69% (均 $P < 0.05$),表明 SF 和 ESA 均能有效对抗 BCG+ LPS 小鼠免疫性肝损伤,其效应均不弱于免疫抑制剂 DEX 对模型组 sALT 31%的降幅。上述 3 个给药组中,ESA2组的降 sALT 作用均强于另两个给药组 (均 $P < 0.05$),且将 sALT 降至 NS 组水平,提示 ESA 降 sALT 作用的剂量依赖趋势 (表 1)。

与此同时免疫性肝损伤使 sGST 升高 32% (与 NS 组比 $P < 0.05$),与文献报道 sGST 在化学性肝损伤中强烈的升高^[4]一致, SF ESA1 ESA2 分别使模型的 sGST 降低 72%、88%和 84% (均 $P < 0.05$),其效应均与 DEX 接近,且达到与 NS 组相似

的水平 (表 1)。

表 1 SF 和 ESA 对免疫性肝损伤小鼠血清 ALT 和 GST 活性的影响

分组	<i>n</i>	剂量 (mg/kg)	sALT (U%)	sGST (μmol/L/min)
NS	8	—	205.4±64.6	23.9±8.8
Model	10	—	730.0±373.0	100.5±81.7
SF	10	100	458.9±199.7 [△]	28.1±26.8 [△]
ESA1	10	250	397.4±103.6 [△]	12.1±4.9 [△]
ESA2	5	500	226.0±19.8 [▲]	16.1±6.3 [△]
DEX	9	3	501.2±172.0 [△]	24.7±19.8 [△]

与 NS 组比较: * $P < 0.05$; 与 Model 组比较: $\Delta P < 0.05$; 与 Model 或 SF 或 ESA1 或 DEX 组比较: $\blacktriangle P < 0.05$

2.2 对肝细胞浆谷胱甘肽相关酶和 MDA 的影响:模型组肝细胞浆 MDA 较 NS 组升高 78% ($P < 0.05$),表明 BCG+ LPS 肝损伤中严重的脂质过氧化作用。与模型组比 SF ESA1 组肝细胞浆 GSH-Re 活性分别升高 44%和 45% (均 $P < 0.05$), GSH-Px 较模型组分别升高 10.5%和 33%,虽未出现统计学意义,但可提示 SF 和 ESA 均有增加抗氧化酶活性的作用,其中 ESA 尚能显著降低模型组引起的肝细胞浆中 MDA 的上升 ($P < 0.05$),其作用强于 SF ($P < 0.05$),这也与 ESA 升高上述两酶活性较 SF 更明显相对应。DEX 虽可通过免疫抑制作用阻止肝损伤^[3],但并不影响肝细胞浆谷胱甘肽相关酶活性及 MDA,表明其不通过抗氧化作用参与护肝 (表 2)。

表 2 SF 和 ESA 对免疫性肝损伤小鼠肝细胞浆脂质过氧化产物 MDA 和 GSH 相关酶的影响

分组	<i>n</i>	MDA (nmol/mg)	GSH-Re (nmol/min/mg)	GSH-Px (nmol/min/mg)
NS	9	0.29±0.03	48.2±4.4	35.9±5.2
Model	10	0.53±0.17	43.0±3.6	30.6±7.5
SF	10	0.59±0.35	62.1±5.1 [△]	33.8±12.3
ESA1	10	0.22±0.16 [▲]	62.2±11.7 [△]	40.7±7.6
DEX	9	0.75±0.33	47.8±9.0	41.5±18.4

与 NS 组比较: * $P < 0.05$

与 NS 或 Model 组或 DEX 组比较: $\Delta P < 0.05$

与 Model 或 SF 或 DEX 组比较: $\blacktriangle P < 0.05$

n 为动物例数,每 2~3 例合一个超速离心标本

2.3 脏器指数变化及组织学改变:免疫性肝损伤引起脾脂指数显著增大 ($P < 0.05$)的结果与文献一致^[3,9]。ESA 显著阻止肝损伤小鼠脾指数的增大 ($P < 0.05$)与 DEX 相似。SF 则对脾指数的增加无显著影响,与此同时胸腺指数皆无显著变化,表明 BCG+ LPS 肝损伤与胸腺关系不大 (表 3)。

病理切片见模型组肝细胞普遍肿大,有片状的

变性坏死,中央小静脉充血,肝窦内见大量的红细胞瘀积。ESA与 SF组的损伤都有不同程度减轻,仅见局部细胞肿胀,小面积变性,尤其未见到大量红细胞瘀积于肝窦

表 3 SF和 ESA对免疫性肝损伤小鼠免疫脏器指数的影响

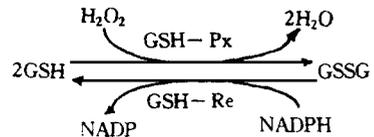
分组	n	脾脏指数	胸腺指数
NS	9	0.420± 0.173	0.23± 0.087
Model	10	0.617± 0.147	0.19± 0.082
SF	10	0.540± 0.190	0.244± 0.081
ESA1	10	0.504± 0.064 [△]	0.179± 0.046
DEX	9	0.453± 0.102 [△]	0.183± 0.059

与 NS组比较: * P < 0.05; 与 Model组比较: [△] P < 0.05

3 讨论

当归的成分 SF和 ESA均显著降低 BCG+ LPS免疫性肝损伤小鼠血清 ALT,表明其良好的抗肝损伤效应。有报道血清 GST作为化学性肝损伤敏感指标与血清 ALT改变有良好的平行关系^[4],实验发现在免疫性肝损伤中血清 GST同步升高,且上升比例更大,说明血清 GST也是免疫性肝损伤的敏感指标,SF和 ESA降低血清 ALT的同时抑制了血清 GST的上升,进一步证实它们对 BCG+ LPS免疫性肝损伤的保护作用。

已知 BCG+ LPS所致肝损伤的机制为巨噬细胞(M ϕ)介导的免疫性肝损伤,激活的 M ϕ 释放多种免疫效应分子如活性氮、活性氧和细胞因子等^[3,10],最终都导致组织严重的过氧化损伤,本实验显示该模型肝细胞浆脂质过氧化产物 MDA明显升高,证明肝细胞内脂质过氧化是本模型的重要终末肝损伤机制。谷胱甘肽相关酶在机体清除过氧化产物的过程中起重要作用,如下所示:



SF和 ESA均升高肝损伤小鼠肝细胞浆内 GSH-Re和 GSH-Px活性,提示 SF和 ESA通过抗氧化实现其抗肝损伤效应。ESA在提高抗氧化相关酶活性时降低了肝细胞浆 MDA,从而进一步证实其抗脂质过氧化机制。而已证明对化学性肝损伤有较好抗脂质过氧化作用的 SF^[1]则未能降低免疫性肝损伤肝细胞浆中 MDA,提示 SF的作用弱于 ESA。BCG+ LPS肝损伤小鼠脾脏指数增大,有认为此时脾脏中活化的巨噬细胞亦通过分泌细胞因子参与肝损伤^[3],ESA抗肝损伤同时有与免疫抑制剂 DEX相似的减小脾脏指数的作用,结合 ESA中的主要成分当归多糖^[2]有多种免疫学活性^[11],提示 ESA尚通过免疫机制在发生终末脂质过氧化损伤之前阻断了肝损伤的发生。由于多重有效机制,ESA抗免疫性肝损伤作用既优于单纯的免疫抑制剂 DEX,也优于主要起抗氧化作用的 SF。本结果提示在当归中可能找到更为有效的对抗免疫性肝损伤的成分,尤其是作为制备当归注射液废弃部分的 ESA仍具有不可忽视的药理活性。

参考文献

- 汪晖,等.中国药理学报,1994,15:81
- 夏雪雁,等.中草药,1999,30(2):112
- Nagakawa J, et al. Gastroenterology, 1990, 99:758
- 汪晖,等.中国药理学报,1993,14(5):41
- Habig W H, et al. J Biol Chem, 1974, 249:7130
- Uchiyama M, et al. Analyt Biochemistry, 1978, 86:271
- Carlberg I, et al. J Biol Chem, 1975, 250:5475
- 夏亦明,等.卫生研究,1987,16(4):29
- 许建明,等.中国药理学通报,1997,13(2):186
- Wang G S, et al. Biochem Pharmacol, 1995, 49(8):1277
- 王亚平,等.中西医结合杂志,1990,11(1):60

(1999-05-20收稿)

紧急通知

我刊关于“摘要”及“参考文献”的编写要求

根据国家标准要求,我刊自 2000年第 7期起,将对“摘要”及“参考文献”作如下规定:

1 根据国家标准“文摘编写规则”(GB6447-86)的要求,摘要有 2种基本写法:1)报道性摘要一般用于实验性科技论文;2)指示性摘要多用于综述性、资料性或评论性文章。

报道性摘要必须包括目的、方法、结果、结论四个要素(来稿要分项写清楚),重点在后三项内容,宜写得详细,字数在 400字之内。指示性摘要则突出第一项,后三项可简写,字数一般在 200字左右。

编写摘要请注意以下几点:1)要着重反映新内容和作者特别强调的观点;2)要排除在本学科领域已成常识的内容,不要简单地重复题名中已有的信息;3)要用第三人称的写法,不必使用“本文”、“作者”等作为主语,应采用“对……进行了研究”等记述方法;4)结构严谨,表达简明,一般不分段落。缩略语、代号等除了相邻专业的读者也能清楚理解的以外,在首次出现处必须加以说明。

另外,英文摘要中所有作者都需要提供英文单位名称。

2 参考文献写法按 GB7714-87规定

期刊:作者[3人全写,3人以上写 3位作者,后加等],杂志名(缩写,但不要加缩写点),年,卷(期):起始页

《中草药》杂志编辑部