

- [4] Chen L, Cai B C, Lu Y M, *et al.* A comparison between brucine and isobrucine *N*-oxide on cytotoxicity on tumor cell and anti-oxidative damage action [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 1998, 14(6): 349-351.
- [5] Sihorkar Vyas S P. Potential of polysaccharide anchored liposomes in drug delivery, targeting, and immunization [J]. *J Pharm Sci*, 2001, 4(2): 138-158.
- [6] Budai M, Szogyi M. Liposomes as drug carrier systems. Preparation, classification, and therapeutic advantages of liposomes [J]. *Acta Pharm Hung*, 2001, 71(1): 114-118.
- [7] Wang J S, Zhu J B. Preparation of azithromycin liposome and its entrapment efficiency determination [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2004, 35(6): 499-502.
- [8] Zhang J, Yang J, Wu J L, *et al.* Preparation of isoliquiritigenin liposome and its inhibitive effects on proliferation of human cervical cancer cells *in vitro* [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2004, 9(11): 1268-1272.
- [9] Liu J W, Ji G, Wei D Z. *Pharmacology of Experimental Method—New Technology and Methodology* (药理实验方法学—新技术与新方法) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- [10] Cheng L, Zhou X J. Review on anticancer mechanism of some plant alkaloid [J]. *Chin Tradit Herb Drug* (中草药), 2004, 35(2): 216-221.
- [11] Leanne E, Karen A G, Andreas L, *et al.* Chromatographic analysis and pharmacokinetics of liposome-encapsulated doxorubicin in non-small cell lung cancer patients [J]. *J Pharm Sci*, 1993, 82: 627.
- [12] Lu Q Z, Zhang C. Pharmacokinetics of fluoroful temperature-sensitive liposome in rabbits [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2002, 23(11): 1227-1229.
- [13] Yin W, Wang T S, Yin F Z, *et al.* Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine and brucine *N*-oxide extracted from seeds of *Strychnos nux-vomica* [J]. *EUR J Ethnopharmacol*, 2003, 88(3-4): 205-214.

槲皮素对血吸虫肝纤维化小鼠肝组织 c-fos、c-jun mRNA 和转化生长因子 $\beta 1$ 表达的抑制作用

徐 标, 韩春荣

(华中科技大学同济医学院附属协和医院 感染科, 湖北 武汉 430022)

摘 要:目的 研究槲皮素对小鼠血吸虫病肝纤维化的治疗作用及其机制, 并与吡喹酮的作用进行对比。方法 80 只小鼠随机分为 4 组。其中 3 组小鼠于感染日本血吸虫 8 周后, 分别以槲皮素 30 mg/(kg · d) 治疗 8 周, 以吡喹酮 500 mg/(kg · d) 治疗 2 d 及不作任何治疗 (模型组), 第 4 组小鼠作为正常组。应用 HE 染色法、RT-PCR 及免疫组化染色, 观察和分析槲皮素及吡喹酮治疗前后各组小鼠肝组织病理改变及 c-fos 和 c-jun mRNA、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 和 I、III 型胶原表达的变化。结果 槲皮素治疗后小鼠肝纤维化程度减轻, 与模型组相比, 肝组织中 c-fos、c-jun mRNA 以及 TGF- $\beta 1$ 和 I、III 型胶原表达均明显降低 ($P < 0.01$), 与吡喹酮组相比, c-jun mRNA、I 和 III 型胶原表达明显降低 ($P < 0.05$), 而 c-fos mRNA 和 TGF- $\beta 1$ 表达无显著改变。结论 槲皮素对小鼠血吸虫病肝纤维化具有较好的治疗作用, 其远期抗肝纤维化效果优于吡喹酮。

关键词:槲皮素; 日本血吸虫; 肝纤维化; c-fos; c-jun; 转化生长因子- $\beta 1$

中图分类号:R287.86

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)03-0393-06

Inhibition of quercetin on expressions of c-fos, c-jun mRNA, and TGF- $\beta 1$ in liver tissue of hepatic fibrosis mice infected by schistosome

XU Biao, HAN Chun-rong

(Department of Infectious Diseases, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Abstract: Objective To study the therapeutical effects and mechanisms of quercetin on hepatic fibrosis in schistosome-infected mice and compare the effects with praziquantel. **Methods** Eighty mice were divided into four groups; among them three groups were infected by *Schistosoma japonica*. After 8 weeks, one group was treated with quercetin 30 mg/(kg · d) for 8 weeks, one group was treated with praziquantel 500 mg/(kg · d) for 2 d and the other was taken as model group without any treatment. The fourth group was taken as normal group. HE staining, RT-PCR, and immunohistochemical technique were used to observe the expression of hepatic c-fos and c-jun mRNA, and the changes of hepatic TGF- $\beta 1$, type I, and type III collagen in mice infected by *S. japonica* before and after treatments. **Results** Quercetin obviously

收稿日期: 2005-07-15

作者简介: 徐 标 (1979—), 男, 湖北武汉人, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科在读硕士, 主要从事肝纤维化防治研究, 已完成两项省级课题。Tel: (027) 85351482 E-mail: xubiao110@126.com

relieved the degree of hepatic fibrosis, significantly reduced the expression of c-fos, c-jun mRNA, TGF- β 1, type I, and type III collagen compared to the model group ($P < 0.01$), and the expression of c-jun mRNA, type I, and type III collagen compared to the group treated with praziquantel ($P < 0.05$), whereas no difference in the level of c-fos mRNA and TGF- β 1 between the two groups. **Conclusion** Quercetin has better therapeutical effects on hepatic fibrosis in schistosome-infected mice and surpasses praziquantel in long term.

Key words: quercetin; *Schistosoma japonica* Katsurada; liver fibrosis; c-fos; c-jun; TGF- β 1

血吸虫病肝纤维化是血吸虫病最严重的并发症和主要致死原因之一。在血吸虫病肝纤维化形成过程中转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1) 表达进行性增强,诱导肝星状细胞(HSC)激活增殖及转化,促进胶原等细胞外基质(ECM)合成,从而参与了血吸虫病肝纤维化的病变进程^[1]。近年研究亦发现肝纤维化时过度表达的即早基因 c-fos 与 c-jun 产物可形成同/异二聚体的核转录因子(AP-1),其 DNA 结合活性能促进包括 TGF- β 1 在内的多种促肝纤维化炎性细胞因子的基因转录^[2,3]。目前研究发现槲皮素有保护肝损伤及抗纤维化作用^[4],但未见其抗血吸虫病肝纤维化的作用研究。本实验研究槲皮素对血吸虫病肝纤维化小鼠肝组织中 c-fos、c-jun mRNA、TGF- β 1 和 I、III 型胶原表达的影响,观察肝组织病理变化,并与传统杀虫药吡喹酮的作用对比,以评估和探讨槲皮素抗日本血吸虫病肝纤维化的作用及其机制。

1 材料

1.1 实验药物:槲皮素(质量分数 99%),成都超人植化开发有限公司提供(批号 041008);吡喹酮粉末由同济医学院寄生虫教研室提供。

1.2 主要试剂及仪器:一步法逆转录聚合酶链反应试剂盒购自日本 TaKaRa 公司(批号 DDR031A)。c-fos 引物(购于 TaKaRa 公司,产物 382 bp):上游 5'-GGCTCTCCTGTCAACACACA-3';下游 5'-CC-GCTTGGAGTGATCTGTC-3'。c-jun 引物(购于 TaKaRa 公司,产物 382 bp):上游 5'-CA-GTCTGAAGCCGCACCTCC-3';下游 5'-GTTG-CTGAGGTTGGCGTAGACC-3'。 β -actin 引物(内参照物,购于 TaKaRa 公司,产物 246 bp):上游 5'-GTGGGCCCGGTGTAGGCACCA-3';下游 5'-GG-TTGGCCTTAGGGTTCAGG-3'。Trizol 试剂购于 GibcoBrl 公司;DNA 酶购自美国 Promega 公司;琼脂糖购自华美生物工程公司。兔抗小鼠 TGF- β 1、I 型及 III 型胶原抗体、SABC 试剂盒[包括正常山羊血清封闭液、生物素化山羊抗兔 IgG、SABC 试剂(链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物)、抗原修

复液、复合消化液]、DAB 显色试剂盒等,均购自武汉博士德生物工程有限公司。Chemi-Imager5500 自动电泳凝胶成像分析仪为 Alphainnotech 公司产品,PCR 热循环仪为美国 PE 公司产品。

2 方法

2.1 血吸虫病肝纤维化小鼠模型的建立及动物分组:雌性昆明小鼠 80 只,20~25 g,4~6 周龄(购自同济医学院动物实验中心),将小鼠随机分为 4 组,每组 20 只。模型组,每只小鼠人工感染日本血吸虫尾蚴(购自武汉市血吸虫病防治研究所,下同)25 条,感染 8 周后以生理盐水 ig 8 周,每只 1 mL/d;吡喹酮治疗组,同模型组感染尾蚴 8 周后用吡喹酮(溶于生理盐水)ig 治疗 2 d,剂量为 500 mg/(kg·d),每只 1 mL/d;槲皮组,同法感染尾蚴 8 周后用槲皮素(溶于生理盐水)ig 治疗 8 周,剂量为 30 mg/(kg·d)^[5],每只 1 mL/d;正常组,未感染血吸虫尾蚴,正常方法饲养 16 周。第 16 周末分别取各组小鼠肝组织作病理学检测、RT-PCR 检测和免疫组化分析。

2.2 肝组织切片 HE 染色光镜检查:常规石蜡切片经 HE 染色后光镜下观察肝组织的病理变化,评定肝纤维化级别。其标准依病情轻重分 3 级,“+”为汇管区有轻度纤维组织增生,并向外伸展;“++”为较明显的纤维组织增生,并包绕肝小叶或与邻近汇管区纤维组织相互衔接;“+++”肝组织纤维化,纤维组织沿门静脉分支高度增生,肝组织被挤压。

2.3 RT-PCR 检测肝组织 c-fos、c-jun mRNA 表达及免疫组化检测 TGF- β 1 和 I、III 型胶原表达

2.3.1 RNA 抽提及 RT-PCR 分析:按 Trizol 说明书抽提肝组织总 RNA,溶于 20 μ L DEPC- H_2O ,加入 DNA 酶 2.5 μ L,10 $\times$ 反应缓冲液 2.5 μ L,37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min,65 $^{\circ}$ C 水浴 10 min,消化 RNA 中残余 DNA,在分光光度计下测 A_{260}/A_{280} 值,计算 RNA 得率,调整 RNA 浓度。按逆转录试剂盒说明书的操作步骤转录成 cDNA。聚合酶链反应参照试剂盒操作手册方法进行,反应条件:c-fos、 β -actin: 94 $^{\circ}$ C 1 min,94 $^{\circ}$ C 45 s,56 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 1 min (34

循环), 72 ℃ 5 min, 结束; c-jun: 94 ℃ 1 min, 94 ℃ 45 s, 62.8 ℃ 45 s, 72 ℃ 45 s (34 循环), 72 ℃ 5 min, 结束。在 100 V, 35 mA 下, PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳 50 min。电泳结果经电泳凝胶成像分析仪扫描成像。用 Multi-Analyst 软件包进行半定量分析。单位肝组织的 c-fos 及 c-jun mRNA 相对水平用 c-fos 及 c-jun 条带吸光度与 β -actin 条带吸光度比值表示。

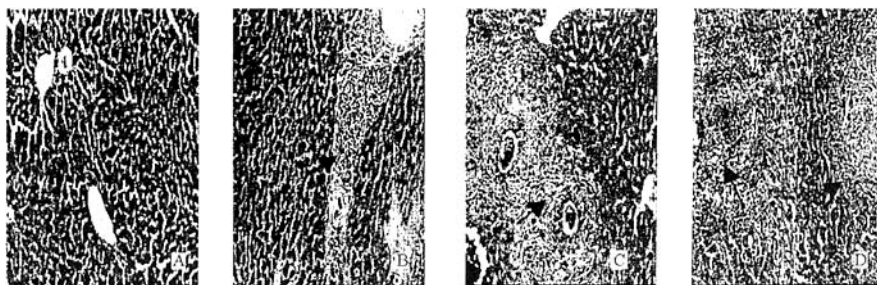
2.3.2 免疫组化染色: 采用链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物法。3% H_2O_2 室温 10 min 灭活内源性酶, 蒸馏水洗, 2 min $\times$ 3 次, 滴加复合消化液, 室温消化 5 min, 0.01 mol/L PBS 洗, 2 min $\times$ 3 次, 滴加正常山羊血清封闭液, 室温孵育 10 min, 甩去多余液体, 分别滴加兔抗小鼠 TGF- β 1, 兔抗小鼠 I 型和 III 型胶原, 37 ℃ 孵育 30 min, 0.01 mol/L PBS 洗, 2 min $\times$ 3 次, 滴加生物素化山羊抗兔 IgG, 37 ℃ 孵育 20 min, 0.01 mol/L PBS 洗, 2 min $\times$ 3 次, 滴加 SABC 试剂, 37 ℃ 孵育 20 min, 0.01 mol/L PBS

洗, 5 min $\times$ 4 次, DAB 显色, 镜下控制反应时间, 蒸馏水洗。脱水, 透明, 封片, 显微镜下观察。采用 MPZAS-500 多媒体彩色病理图文分析系统, 计算平均积分吸光度。

2.4 统计学处理: RT-PCR 与免疫组化结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SAS 软件行方差分析, 两两比较采用 q 检验。肝脏纤维化程度为等级资料, 用 Ridit 分析。

3 结果

3.1 肝组织普通病理变化: 光镜下, 正常组小鼠肝组织未见任何病变。模型组、吡喹酮组及槲皮素组与正常组相比, 肝组织病理学观察发现众多慢性虫卵肉芽肿, 其虫卵周围包绕梭形细胞和胶原纤维, 亦可见少部分急性虫卵肉芽肿, 汇管区有大量炎性细胞浸润; 肉芽肿和小静脉周围的胶原纤维束向肝小叶周围延伸, 见图 1。但在病变程度和范围上, 吡喹酮组比模型组明显减轻 ($P < 0.01$); 槲皮素组比模型组、吡喹酮组均明显减轻 ($P < 0.01, 0.05$)。根据肝纤维化程度级别标准, 统计结果见表 1。



A-正常组 B-槲皮素组 C-吡喹酮组 D-模型组 $\rightarrow$ 表示虫卵结节及纤维组织

A-normal group B-quercetin group C-praziquantel group D-model group $\rightarrow$ indicates schistosoma egg nodes and fibrosis tissue

图 1 肝组织 HE 染色结果 ($\times 100$)

Fig. 1 Results of HE staining of liver tissue ($\times 100$)

表 1 各组小鼠肝纤维化程度

Table 1 Degree of liver fibrosis of mice in every groups

组别	肝纤维化程度				差异显著性
	-	+	++	+++	
正常	20	0	0	0	**
槲皮素	0	11	8	1	** Δ
吡喹酮	0	5	7	8	**
模型	0	0	2	18	

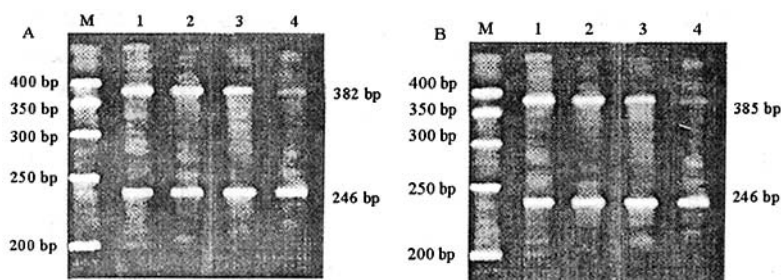
与模型组比较: ** $P < 0.01$; 与吡喹酮组比较: $\Delta P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs praziquantel group

3.2 肝组织中 c-fos、c-jun mRNA 的表达: 槲皮素组与模型组相比, 小鼠肝组织 c-fos、c-jun mRNA 表达下降非常显著 ($P < 0.01$); 与吡喹酮组相比, c-fos mRNA 虽有所下降, 但差异不显著 ($P >$

0.05), 而 c-jun mRNA 表达下降显著 ($P < 0.05$); 但两者表达水平仍比正常组高 ($P < 0.01$)。吡喹酮组肝组织中 c-fos、c-jun mRNA 表达比模型组显著下降 ($P < 0.05$), 但其水平仍比正常组高 ($P < 0.01$)。结果见图 2 与表 2。

3.3 肝组织中 TGF- β 1、I 和 III 型胶原水平的变化: 正常组肝内未见明显 TGF- β 1 阳性着色。吡喹酮组、模型组肝内 TGF- β 1 呈棕黄色, 呈片状分布于虫卵肉芽肿内及其周围汇管区、肝血窦。槲皮素组肝内 TGF- β 1 分布区域同上, 但着色少而浅。正常组肝内无明显胶原着色。镜下见吡喹酮组、模型组肝内 I、III 型胶原呈棕黄色, 密集片状, 主要分布在虫卵肉芽



M-Marker 1-模型组 2-吡喹酮组 3-槲皮素组 4-正常组

M-Marker 1-model group 2-praziquantel group 3-quercetin group 4-normal group

图 2 各组小鼠肝组织中 c-fos (A) 和 c-jun (B) mRNA 表达

Fig. 2 Expression of c-fos (A) and c-jun (B) mRNA in liver tissue of mice in every group

表 2 各组小鼠肝组织中 c-fos 和 c-jun mRNA 表达
($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 2 Expression of c-fos and c-jun mRNA in liver tissue of mice in every groups ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	c-fos mRNA	c-jun mRNA
正常	—	0.190 1±0.040 2**	0.180 2±0.050 1**
槲皮素	30	0.651 1±0.055 1**▲▲	0.680 3±0.031 2**▲▲△
吡喹酮	500	0.721 3±0.084 1**▲▲	0.740 2±0.080 2**▲▲
模型	—	0.814 0±0.090 1	0.832 1±0.091 1

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与正常组比较:▲▲ $P<0.01$; 与吡喹酮组比较: △ $P<0.05$, 下同* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; ▲▲ $P<0.01$ vsnormal group; △ $P<0.05$ vs praziquantel group, Table 3 is same

肿内及汇管区。槲皮素组肝内虫卵肉芽肿普遍较小,胶原分布较模型组减少。槲皮素组与模型组相比, TGF- β 1、I 和 III 型胶原水平下降非常显著 ($P<0.01$); 与吡喹酮组相比, TGF- β 1 水平虽有下降,但差异不显著, I、III 型胶原水平下降显著 ($P<0.05$); 但三者水平仍比正常组高 ($P<0.01$)。吡喹酮组肝组织中 TGF- β 1、I 和 III 型胶原水平比模型组有显著下降 ($P<0.05$), 但仍比正常组高 ($P<0.01$)。结果见图 3 和表 3。

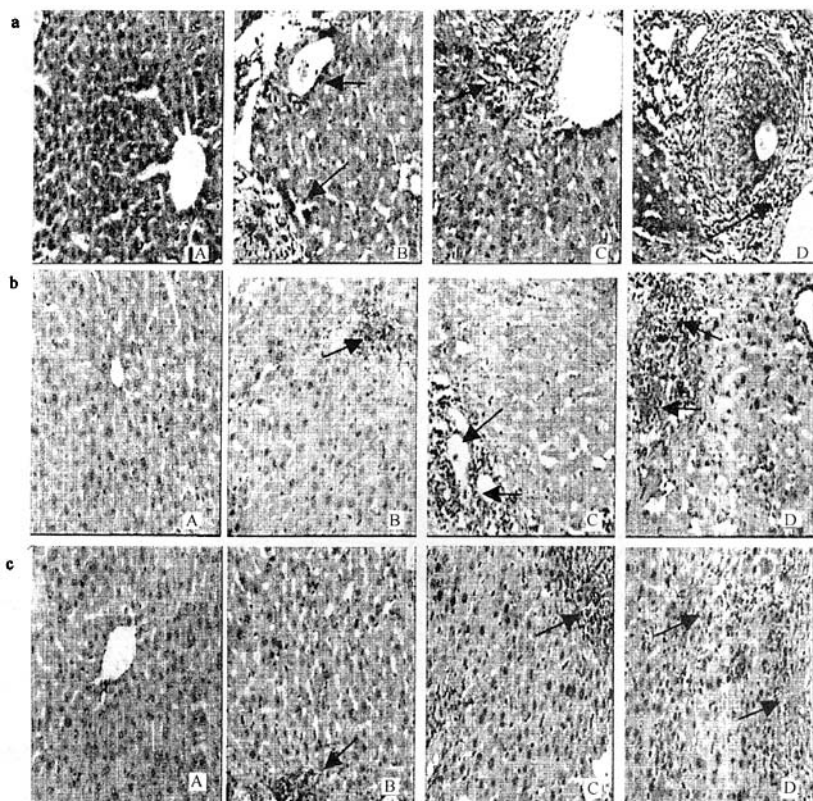
4 讨论

槲皮素及其衍生物是在许多植物中多以苷的形式存在的黄酮类化合物,具有抗炎、抗血小板聚集、抗氧自由基、扩张血管等多种生物活性。近来研究表明,槲皮素浓度依赖性抑制血小板衍生生长因子 (PDGF)、促 HSC6 细胞增殖和 TGF- β 1 刺激的胶原合成及 I 型胶原 mRNA 的表达,提示其抑制 PDGF 和 TGF- β 1 对 HSC 的作用可能对肝纤维化有抑制作用^[6]。

血吸虫病肝纤维化是在虫卵肉芽肿基础上产生的,其核心机制是在可溶性虫卵抗原刺激下,巨噬细胞与淋巴细胞产生 PDGF、TGF- β 1 等各种细胞因

子刺激 HSC 活化、增殖、转化成肌成纤维细胞,并大量合成以 I、III 型胶原为主的 ECM。各种炎性细胞因子、脂质过氧化物等均能通过细胞内信号传导途径激活早期反应基因 c-fos 和 c-jun^[7],其表达产物形成同源或异源二聚体的转录激活蛋白 (AP-1)。TGF- β 1 和白细胞介素-6 (IL-6) 等前炎性细胞因子基因启动子区域均存在 AP-1 结合位点, c-fos 及 c-jun 基因表达上调, AP-1DNA 结合活性增高,可加速 HSC 中 TGF- β 1 和 IL-6 的转录及翻译,从而增加 ECM 的合成^[8]。本研究显示,模型组小鼠肝组织 c-fos 与 c-jun mRNA、TGF- β 1 表达明显增强,槲皮素、吡喹酮治疗后 c-fos 与 c-jun mRNA、TGF- β 1 表达明显下降。由于槲皮素具有抗炎、抗氧化、抑制 TGF- β 1 刺激胶原合成作用,因而推测其可通过调节核转录因子 c-fos 与 c-jun 的表达及 AP-1DNA 结合活性,抑制 TGF- β 1 过度表达及其对 HSC 作用而产生抗肝纤维化作用。而吡喹酮则可因杀死血吸虫成虫后,减少了由其毒性代谢产物而诱导的各种炎性细胞因子的产生,从而减轻对 c-fos、c-jun 基因的激活效应,由此减少 TGF- β 1 表达而发挥抗肝纤维化作用。

目前国内外肝病学者普遍认为,肝纤维化是可以逆转的,而肝硬化是不可逆转的^[9]。目前认为肝窦毛细血管化是肝纤维化的最基本、最初始特征。研究发现日本血吸虫尾蚴感染 8 周后,慢性虫卵肉芽肿形成,肝窦出现毛细血管化^[10]。因此,此时尚处于血吸虫病肝纤维化病变的早期阶段。对血吸虫病肝纤维化已形成的患者若早期应用抗纤维化治疗,可能有利于肝纤维化的逆转。本研究以日本血吸虫尾蚴感染小鼠 8 周后建立肝纤维化病变早期模型,应用大剂量槲皮素治疗血吸虫病肝纤维化,并同传统抗血吸虫药——吡喹酮进行作用对比。研究发现,经槲



A-正常组 B-槲皮素组 C-吡喹酮组 D-模型组

A-normal group B-quercetin group C-praziquantel group D-model group

图 3 各组小鼠肝组织中 TGF-β1 (a)、I 型胶原 (b) 和 III 型胶原 (c) 的表达 (×200)

Fig. 3 Expression of TGF-β1 (a), collagen I (b), and collagen III (c) in liver tissue of mice in every groups (×200)

表 3 各组小鼠肝组织中 TGF-β1 和 I、III 型胶原表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Expression of TGF-β1, types I and III collagen in liver tissue of mice in every groups ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	积分吸光度值		
		TGF-β1	I 型胶原	III 型胶原
正常	—	0.087 0±0.005 3**	0.090 2±0.003 1**	0.075 8±0.016 3**
槲皮素	30	0.154 4±0.031 7***▲▲	0.168 3±0.023 6***▲▲▲	0.142 4±0.022 4***▲▲▲
吡喹酮	500	0.178 5±0.020 4***▲▲	0.190 2±0.020 1***▲▲	0.163 2±0.021 5***▲▲
模型	—	0.221 9±0.012 9	0.214 0±0.027 1	0.186 2±0.021 7

皮素治疗后血吸虫病肝纤维化程度有较大改善,但仍未恢复正常。吡喹酮治疗后肝纤维化程度虽有改善,c-fos mRNA、TGF-β1 表达与槲皮素组比较亦无差异,但反映肝纤维化的指标 I、III 型胶原仍明显高于槲皮素组,即整体改善程度仍不及槲皮素治疗组。此结果亦提示槲皮素抗血吸虫病肝纤维化机制存在多样性。另一方面,吡喹酮远期抗血吸虫病肝纤维化作用不如槲皮素明显,此可能为给药时慢性虫卵肉芽肿已形成,而吡喹酮只能杀死成虫,对虫卵及其肉芽肿无作用,不能阻止肝纤维化的继续发展所致。刘文琳等^[11]亦发现吡喹酮一次性杀虫治疗后,

血吸虫虫卵所致的肝纤维化仍可继续发展,其远期抗肝纤维化效果有限,抗肝纤维化的药物治疗很有必要。本研究表明,槲皮素可降低血吸虫病肝纤维化小鼠肝脏 c-fos、c-jun mRNA、TGF-β1 表达而发挥抗血吸虫病肝纤维化作用,具有作用早、疗效持久的优势,其远期效果优于吡喹酮。槲皮素作为一种纯天然成分,不良反应少,待抗血吸虫病肝纤维化作用机制进一步明确后,其临床应用价值会更大。

References:

- [1] Zeng J, Yang Z, Li D, et al. Changes in expression of TGF-β1, Smad3, and Smad7 and their significance in experimental hepatic fibrosis model of *Schistosomiasis japonica* in rabbit

- [1]. *Chin J Schisto Control* (中国血吸虫病防治杂志), 2004, 16(4): 269-273.
- [2] Wu Z, Zhou Q, Lan Y, *et al.* AP-1 Complexes mediate oxidized LDL-induced overproduction of TGF- β (1) in rat mesangial cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2004, 22(4): 237-247.
- [3] Torres L, Garcia-Trevijano E R. Induction of TIMP-1 expression in rat hepatic stellate cells and hepatocytes: a new role for homocysteine in liver fibrosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1455(1): 12-22.
- [4] Lee E S, Lee H E, Shin J Y, *et al.* The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55(8): 1169-1174.
- [5] Pavanato A, Tunon M J, Sanchez-Campos S, *et al.* Effects of quercetin on liver damage in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis [J]. *Dig Dis Sci*, 2003, 48(4): 824-829.
- [6] Kang L P, Qi L H, Zhang J P, *et al.* Effect of genistein and quercetin on proliferation, collagen synthesis, and type I procollagen mRNA levels of rat hepatic stellate cells [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2001, 22(9): 793-796.
- [7] Tong L, Toliver-Kinsky T, Rassin D, *et al.* Hyperoxia increases AP-1 DNA binding in rat brain [J]. *Neurochem Res*, 2003, 28(1): 111-115.
- [8] Wang X D. Chronic alcohol intake interferes with retinoid metabolism and signaling [J]. *Nutr Rev*, 1999, 57(2): 51-59.
- [9] Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, *et al.* Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery [J]. *Keio J Med*, 2001, 50(2): 58-65.
- [10] Wang X L, Zhang L M, Tang F X, *et al.* Ultrastructural dynamic observation on murine schistosomal hepatic fibrosis [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis* (中国寄生虫学与寄生虫病杂志), 2002, 20(4): 216-219.
- [11] Wu W L, Zhou X Z, Huang Y Y, *et al.* Long efficacy of pyquion on *Schistosomiasis japonica* [J]. *Chin J Infect Dis* (中华传染病杂志), 2004, 22(4): 238-241.

羌花根乙醇提取物的镇痛活性

郑维发, 石 枫, 王 莉

(徐州师范大学 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

摘 要:目的 阐明羌花根乙醇提取物 (EERD) 的镇痛活性及其可能的机制。方法 通过研究 EERD 对佐剂性关节炎 (AA) 大鼠的痛觉反应和足肿胀的影响; 对 AA 大鼠炎性组织中前列腺素 E_2 (PGE $_2$) 和白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的形成及 SOD 和过氧化氢酶 (CAT) 的活性的影响; 血清和脑组织中 NO 和诱导型 NO 合酶 (iNOS) 水平的影响以及对 AA 大鼠 c-Fos 蛋白表达的影响来评价 EERD 的镇痛活性。结果 EERD 能明显减轻 AA 大鼠的痛觉反应和抑制足肿胀, 能显著抑制炎症组织中 PGE $_2$ 和 IL-1 β 的形成并提高 SOD 和 CAT 的活性, 能明显降低 AA 大鼠脑组织中 iNOS 的活性从而降低 NO 的水平。EERD 可显著抑制 AA 大鼠脊髓 c-Fos 蛋白的表达。结论 EERD 具有显著的镇痛作用, 其镇痛机制可能是通过抑制 PGE $_2$ 和 IL-1 β 的形成、降低脑组织 iNOS 的活性从而减少 NO 的生成, 以及增强 SOD 和 CAT 的活性以抑制脂质过氧化反应来实现的。

关键词: 羌花根乙醇提取物 (EERD); 镇痛活性; 佐剂性关节炎 (AA)

中图分类号: R286.75

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)03-0398-05

Analgesic activity of ethanol extracts from root of *Daphne genkwa*

ZHENG Wei-fa, SHI Feng, WANG Li

(Key Laboratory for Biotechnology on Medicinal Plants of Jiangsu Province, Xuzhou

Normal University, Xuzhou 221116, China)

Abstract: **Objective** To elucidate the analgesic activity of the ethanol extracts from the root of *Daphne genkwa* (EERD). **Methods** The analgesic activity of EERD was evaluated by the effects on adjuvant-induced nociceptive response and paw swelling, the formation of PGE $_2$ and IL-1 β in adjuvant arthritis (AA) rats, the activities of SOD and CAT, the levels of NO/iNOS in serum and brain tissue as well as by the effects on c-Fos protein expression in spinal cord of AA rats. **Results** EERD at used doses significantly delayed the adjuvant-induced nociceptive response and eased the paw swelling in AA rats. EERD also evidently inhibited the production of PGE $_2$ and IL-1 β , and enhanced the activities of SOD and CAT in the tissue of paws being injected by adjuvant. Furthermore, it remarkably reduced the content of NO and inac-

收稿日期: 2005-07-14

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (03049); 江苏省高校自然科学基金重点项目 (02KJA360002); 江苏省药用植物生物技术重点实验室开放基金 (KJS02114)

作者简介: 郑维发 (1962—), 男, 安徽南陵人, 博士, 教授, 主要从事天然产物成分化学及其药理与毒理学研究。

Tel: (0516) 3403179 Fax: (0516) 3403179 E-mail: yyzw@xznz.edu.cn