

别隐品碱抗肝纤维化作用

肖俐^{1,3}, 曾建国^{1,2,3*}, 刘林¹, 王宇红¹, 钟明³, 贺晓华³, 刘薇²

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

2. 湖南农业大学, 湖南 长沙 410128

3. 湖南省中药提取工程研究中心, 湖南 长沙 410331

摘要: **目的** 探讨别隐品碱(allocriptopine)对实验性肝纤维化的防治作用。**方法** 采用CCl₄复合因素诱导大鼠肝纤维化与血吸虫致小鼠肝纤维化模型, 观察别隐品碱在造模同时(预防给药)和造模后(治疗给药)给药对脏器指数、肝功能、纤维化血清指标、脂质过氧化指标、肝组织胶原(CoI、CoIII)及羟脯氨酸(Hyp)表达的影响, 并进行肝脏病理学检查。

结果 对CCl₄所致肝纤维化大鼠模型, 各剂量别隐品碱预防给药均能不同程度地降低肝指数及CoI表达($P<0.05$ 、 0.01), 其中高剂量明显降低CoIII表达($P<0.01$), 中剂量明显降低脾指数、丙氨酸氨基转移酶(AST)的量($P<0.05$); 别隐品碱治疗组大鼠的肝指数、天冬氨酸氨基转移酶(ALT)的量、CoIII表达明显降低($P<0.05$ 、 0.01); 预防给药与造模后给药均不同程度地减轻模型大鼠肝纤维化程度。对血吸虫致肝纤维化小鼠模型, 别隐品碱预防给药显著降低小鼠ALT的量与Hyp水平($P<0.05$), 高剂量别隐品碱治疗给药能明显降低肝指数, 降低血清PCIII、碘透明质酸(HA)、ALT的量($P<0.05$ 、 0.01), 中剂量组肝指数、PCIII、HA的量明显降低($P<0.05$); 治疗给药组大鼠肝脏病变明显减轻。**结论** 别隐品碱对实验性肝纤维化大鼠有较好的保护肝细胞、改善肝功能、抗肝纤维化作用。

关键词: 别隐品碱; 肝纤维化; CCl₄; 血吸虫; 脂质过氧化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)06-1158-06

Effect of allocriptopine on antagonizing hepatic fibrosis

XIAO Li^{1,3}, ZENG Jian-guo^{1,2,3}, LIU Lin¹, WANG Yu-hong¹, ZHONG Ming³, HE Xiao-hua³, LIU Wei²

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

3. Herb Extract Engineering Research Center, Changsha 410331, China

Abstract: Objective To investigate the prophylactic and therapeutic effects of allocriptopine on experimental hepatic fibrosis.

Methods Experimental hepatic fibrosis models were induced by injection of tetrachloride in combination with the drinking of 5% alcohol to rats and *Schistosoma japonicum* infection to mice. The effects of allocriptopine anti-hepatic fibrosis were evaluated by comparing the liver and spleen indexes, tissue biochemical indices (ALT, AST), lipid peroxidation indices (GSH-P_x, MDA, SOD), serum fibrosis indices (HA, PCIII LN), the expression level of Hyp and collagen type I, III (CoI, CoIII), and the liver pathology before and after allocriptopine intervention. **Results** In CCl₄-induced liver fibrosis model rats, compared with model group, the liver index and the expression level of CoI were obviously decreased in allocriptopine prophylactic groups ($P<0.05$, 0.01), high-dose prophylactic allocriptopine could significantly reduce the expression level of CoIII ($P<0.01$), middle-dose prophylactic allocriptopine could obviously reduce the spleen index, the content of AST ($P<0.05$); in allocriptopine therapeutic group, the liver index, the content of ALT, and the expression level of CoIII were significantly decreased ($P<0.05$, 0.01). In *S. japonicum*-induced liver fibrosis model mice, prophylactic allocriptopine could reduce the content of ALT and the expression level of Hyp ($P<0.05$); the liver index, the contents of PCIII, HA, and ALT were significantly decreased in high-dose allocriptopine therapeutic group ($P<0.05$, 0.01), the liver index, the contents of PCIII, and HA were obviously decreased in middle-dose allocriptopine therapeutic group ($P<0.05$); In addition, the hepatic histopathology was also improved in varying degrees after allocriptopine intervention. **Conclusion** Allocriptopine has certain effects on anti-injury for hepatocyte, ameliorating liver function, and prohibiting hepatic fibrosis.

Key words: allocriptopine; hepatic fibrosis; CCl₄; *Schistosoma japonicum*; lipid peroxidation

收稿日期: 2010-12-18

基金项目: 科技部国际科技合作计划(2009DFA31270)

作者简介: 肖俐(1986—), 女, 湖南益阳人, 在读硕士研究生, 研究方向为天然活性成分的研究与开发。

Tel: 18229805364 E-mail: 285697674@qq.com

*通讯作者 曾建国 Tel: 13808453398 Fax: (0731)84673824 E-mail: ginkgo@world-way.net

别隐品碱 (allocryptopine) 为从罂粟科植物博落回中提取得到的异喹啉类生物碱^[1], 具有抗菌、杀虫杀蛆、抗心律失常、抗心肌梗死等药理活性^[2-5]。有文献记载, 对多种药物导致的肝损伤, 博落回显示出良好的改善肝功能的作用, 并能显著增强 T、B 淋巴细胞功能^[6]。本课题组前期研究表明, 博落回总生物碱对血吸虫所致肝纤维化有一定的防治作用^[7], 动物实验表明别隐品碱对急性肝损伤有保护作用, 能明显改善损伤的肝细胞形态^[8]。在此基础上, 本实验建立 CCl₄ 复合因素诱导的大鼠肝纤维化与小鼠血吸虫肝纤维化两种模型, 观察别隐品碱对实验性肝纤维化的防治作用, 并初步探讨其可能的作用机制, 为其研发及应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

雄性 SD 大鼠, 136 只, 体质量 (180±20) g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 合格证号 0047485。ICR 小鼠, 224 只, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 由上海中医药大学实验动物中心提供, 合格证号 0047461。

1.2 药品与试剂

别隐品碱 (质量分数为 98%), 湖南省中药提取工程研究中心提供, 批号 080615; 秋水仙碱, 云南吴邦制药有限公司, 批号 080709, 规格 0.5 mg/片; CCl₄, 长沙湘科精细化工厂生产, 分析纯; 吡喹酮, 南京制药厂有限公司生产, 批号 20070606; 碘透明质酸 (HA)、碘层粘连蛋白 (LN)、碘 III 型胶原 N 端肽 (PCIII) 放射免疫分析药盒、考马斯亮蓝蛋白、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-P_x) 由北京科美东雅生物技术有限公司提供; 丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 试剂盒由长春汇丽生物技术有限公司提供; 羟脯氨酸 (Hyp) 试剂盒由 Santa Cruz 公司提供; 丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 由南京建成生物工程研究所提供; 兔抗鼠 I 型胶原 (CoI) 及 III 型胶原 (CoIII) 抗体、SABC 试剂盒、DAB 显色试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供。

1.3 仪器

TG16—WS 台式高速离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; 752B 紫外可见分光光度计, 天津市普瑞斯仪器有限公司; RT—1904C 半自动生化分析仪, 深圳雷杜生命科学股份有限公司; Shandon325 型石蜡切片机, 英国 Shandon 公司; LEICA DM LB2

型双目显微镜, 德国 Leica 公司; MIAS 医学图像分析系统, 北航公司; Motic B5 显微摄像系统, 麦克奥迪实业集团公司。

2 方法

2.1 对 CCl₄ 致大鼠肝纤维化模型的影响

2.1.1 分组、造模及给药 136 只大鼠按体质量分层, 随机分成 7 组: 对照组, 模型组, 秋水仙碱 (0.2 mg/kg) 组, 别隐品碱高、中、低剂量 (80、40、20 mg/kg) 预防给药组, 别隐品碱 (40 mg/kg) 治疗给药组。模型组大鼠 40 只, 其余各组均 16 只。除对照组外, 其余各组大鼠首次背部 sc 40% CCl₄ 花生油剂 5 mL/kg, 之后 sc 40% CCl₄ 花生油剂 3 mL/kg, 每周 2 次, 连续 8 周, 建立肝纤维化模型。秋水仙碱组与别隐品碱预防给药组在造模的同时 ig 给药 8 周; 别隐品碱治疗组于 8 周造模后 ig 给药 4 周。除对照组给予蒸馏水外, 其余各组以 5% 乙醇为饮用水 (注射 CCl₄ 前 1 天把乙醇换成清水)。

2.1.2 样本采集及指标检测 别隐品碱治疗组于给药 4 周后, 其余各组于造模 8 周后处死动物。处理前, 各大鼠禁食不禁水 12 h, 称体质量, 用水合氯醛麻醉, 取血, 分离血清, 放免法检测血清 PCIII、LN、HA 的水平; 用半自动生化分析仪检测血清 ALT、AST 的水平。取肝、脾称质量, 计算肝、脾指数; 取肝组织, 以 4% 多聚甲醛的 PBS 溶液固定, 免疫组化染色观察肝组织中 CoI、CoIII 及 Hyp 的表达, 用 MIAS 医学图像分析系统检测 CoI、CoIII 积分吸光度均值与 Hyp 的目标总面积; 取肝组织匀浆, 按试剂盒说明检测脂质过氧化物指标 (GSH-P_x、MDA、SOD); 取肝左叶, 10% 甲醛固定, 酒精逐级脱水, 石蜡包埋, HE 染色和 VG 染色, 在 LEICA DM LB2 型双目显微镜 (×400) 下观察肝组织病理形态变化。

2.2 对血吸虫致小鼠肝纤维化模型的影响

2.2.1 分组、造模及给药 从 224 只小鼠中按体质量随机抽取 28 只, 雌雄各半, 不做任何处理, 正常方法饲养 14 周, 作为对照组。余下小鼠经腹部皮肤感染血吸虫尾蚴 (24 条/只) 后, 按体质量分层, 随机分成 7 组: 模型组, 吡喹酮 (200 mg/kg) 组, 秋水仙碱 (0.2 mg/kg) 组, 别隐品碱 (30 mg/kg) 预防给药组, 别隐品碱高、中、低剂量 (30、15、7.5 mg/kg) 治疗给药组, 每组 28 只。模型组于感染 6 周后 ig 生理盐水 20 mL/kg; 吡喹酮组于感染 6 周后 ig 吡喹酮 200 mg/kg, 共 3 d, 杀灭成虫后改用生理

盐水 20 mL/kg, 直至第 14 周; 别隐品碱预防给药组于感染第 1 天开始 ig 相应剂量的别隐品碱, 直至第 8 周; 别隐品碱治疗给药组及秋水仙碱组于感染 6 周后 ig 吡喹酮 200 mg/kg, 共 3 d, 之后给予相应剂量的别隐品碱或秋水仙碱, 直至第 14 周。

2.2.2 样本采集及指标检测 别隐品碱预防给药组于给药第 8 周末, 其余各组于给药第 14 周末将小鼠称质量后处死 (模型组于第 8 周末随机处理 4 只小鼠), 取血, 分离血清, 检测 PCIII、LN、HA、ALT、AST 的量; 取肝脏称质量, 计算肝指数; 取肝组织, 检测 CoI、CoIII 及 Hyp 表达, HE 染色和 VG 染色观察肝组织病理学改变。

2.3 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, SPSS 15.0 统计软件进行统计学处理。组间差异采用 t 检验。

3 结果

3.1 对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠的影响

3.1.1 预防给药对肝纤维化大鼠各指标的影响 与模型组比较, 别隐品碱各剂量组大鼠肝指数、CoI 表达均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 高剂量组 CoIII 表达明显降低 ($P < 0.01$); 中剂量组脾指数、AST 的量明显降低 ($P < 0.05$)。见表 1。病理检查结果显示, 模型组大鼠肝脏呈明显脂肪变性, 肝细胞坏死, 炎细胞浸润, 汇管区周围纤维化, 小叶内纤维增生, 部分伴假小叶形成。预防给予别隐品碱后, 大鼠肝组织病理损伤得到不同程度的减轻, 见图 1。

表 1 别隐品碱预防给药对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Effect of pretreatment with allocryptopine on CCl₄-induced hepatic fibrosis model rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	肝指数/ (mg·g ⁻¹)	脾指数/ (mg·g ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	PCIII/ (ng·mL ⁻¹)	LN/ (ng·mL ⁻¹)	HA/ (ng·mL ⁻¹)
对照	—	2.37±0.04**	0.17±0.02**	37.22±9.30*	132.06±22.39**	9.75±1.33**	23.66±6.42**	168.58±35.12*
模型	—	4.15±0.54	0.22±0.02	50.42±6.46	199.28±27.60	16.70±4.41	45.32±8.76	317.01±136.58
别隐品碱	80	3.27±0.49*	0.21±0.03	48.79±11.37	158.99±75.20	13.67±4.52	32.22±11.80	254.84±29.86
	40	3.04±0.15**	0.19±0.02*	43.29±8.84	153.42±38.78*	15.56±4.19	32.59±10.93	278.39±86.11
	20	3.30±0.48*	0.21±0.05	53.28±8.45	187.35±33.86	16.44±3.60	33.93±12.28	298.79±68.94
秋水仙碱	0.2	3.06±0.38**	0.21±0.03	39.04±10.96	137.49±38.34**	11.95±1.90*	30.20±9.52*	171.97±71.12*

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	CoI	CoIII	Hyp 目标 总面积/mm ²	GSH-Px/ (U·mg ⁻¹)	SOD/ (U·mg ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)
对照	—	14.90±9.32**	13.11±8.00**	0.25±0.11**	551.90±122.53	394.57±53.33	1.21±0.26
模型	—	105.08±31.92	64.02±17.26	0.54±0.18	391.68±131.69	325.78±72.68	1.81±0.66
别隐品碱	80	36.91±14.38**	23.44±13.02**	0.34±0.19	401.71±145.66	381.95±180.55	1.14±0.59
	40	48.19±34.92*	47.03±34.15	0.38±0.24	397.65±114.92	380.98±210.54	1.56±0.84
	20	60.85±36.43*	71.89±32.65	0.48±0.45	374.72±198.07	374.01±116.02	1.87±0.82
秋水仙碱	0.2	32.72±15.60**	28.92±13.49**	0.33±0.13*	438.33±133.26	389.12±191.57	1.47±0.98

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下表同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, following tables are same

3.1.2 治疗给药对肝纤维化大鼠各指标的影响 与模型组比较, 别隐品碱治疗给药组大鼠肝指数、血清 ALT 的量及 CoIII 表达显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 见表 2。病理检查结果显示, 模型组大鼠肝脏呈现间质炎细胞浸润, 纤维组织增生局限在汇管区, 小叶内纤维增生; 别隐品碱治疗给药组大鼠肝组织炎细胞浸润和纤维组织增生程度较模型组有所减轻, 见图 1。

3.2 对血吸虫致肝纤维化小鼠的影响

3.2.1 预防给药对肝纤维化小鼠各指标的影响

与模型组比较, 别隐品碱预防给药组小鼠血清 ALT、肝脏 Hyp 表达显著降低 ($P < 0.05$), 但其余指标差异不显著, 见表 3。病理检查结果显示, 别隐品碱预防给药组与模型组病理形态无明显差异, 见图 2。

3.2.2 治疗给药对肝纤维化小鼠各指标的影响 与模型组比较, 别隐品碱高剂量治疗组肝指数, PCIII、HA、ALT 的量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 中剂量组肝指数、PCIII、HA 的量明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。见表 4。病理检查结果显示, 模型组肝内汇管区及虫卵肉芽肿周围纤维增生明显, 大部分虫卵芽肿出

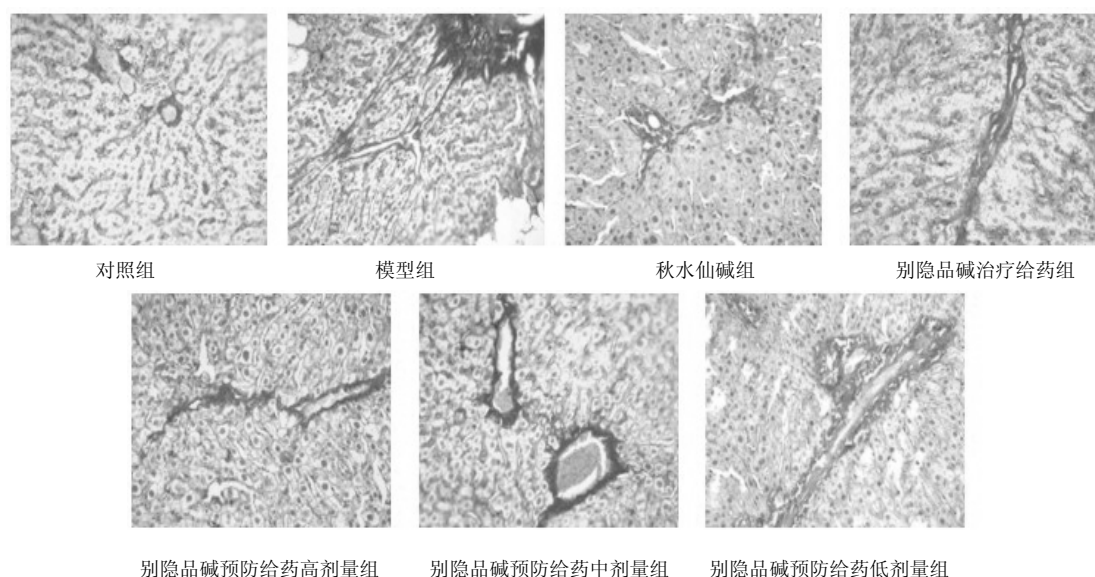


图 1 别隐品碱对肝纤维化大鼠肝组织病理形态的影响 (VG 染色)

Fig. 1 Effect of allocriptopine on liver pathology in hepatic fibrosis rats (VG staining)

表 2 别隐品碱治疗给药对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of treatment with allocriptopine on CCl₄-induced liver fibrosis model rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组 别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	肝指数/ (mg·g ⁻¹)	脾指数/ (mg·g ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	PCIII/ (ng·mL ⁻¹)	LN/ (ng·mL ⁻¹)	HA/ (ng·mL ⁻¹)
模型	—	3.99±0.47	0.18±0.03	49.74±6.07	127.60±26.43	17.85±5.65	35.15±9.13	324.62±42.62
别隐品碱	40	3.05±0.44**	0.17±0.03	38.72±7.98*	117.83±42.22	14.86±3.88	26.34±13.15	272.10±79.78

组 别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	CoI	CoIII	Hyp 目标 总面积/mm ²	GSH-Px/ (U·mg ⁻¹)	SOD/ (U·mg ⁻¹)	MDA/ (nmol·mg ⁻¹)
模型	—	121.83±93.59	127.53±62.55	0.54±0.24	401.98±160.09	418.50±66.73	3.92±1.65
别隐品碱	40	45.93±20.01	25.86±8.86**	0.46±0.15	468.66±113.77	435.99±61.58	2.43±0.81

表 3 别隐品碱预防给药对血吸虫致肝纤维化小鼠的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of pretreatment with allocriptopine on *S. japonicum*-induced liver fibrosis model mice ($\bar{x} \pm s$)

组 别	动物/ 只	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	肝指数/ (mg·g ⁻¹)	PCIII/ (ng·mL ⁻¹)	LN/ (ng·mL ⁻¹)	HA/ (ng·mL ⁻¹)	AST/ (U·mL ⁻¹)
模型	4	—	8.31±0.90	57.87±19.31	68.48±8.70	931.90±206.63	280.68±41.58
别隐品碱	6	30	8.32±1.43	44.61±14.24	63.27±12.74	928.86±62.06	235.80±79.98

组 别	动物/只	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	ALT/ (U·mL ⁻¹)	CoI	CoIII	Hyp 目标总面积/mm ²
模型	4	—	132.32±24.12	60.38±21.99	54.65±25.82	0.53±0.27
别隐品碱	6	30	77.96±29.55*	38.44±15.17	42.73±10.71	0.23±0.10*

现坏死病灶及纤维化,肝细胞变性,大量炎性细胞浸润;别隐品碱治疗组肝脏病变较模型组明显减轻,见图2。

4 讨论

肝纤维化是多种病因引起的慢性肝病的共同病

理基础,其中肝星状细胞(HSC)的激活及随后的增殖、迁移、收缩和细胞外基质(ECM)分泌的增加是引起肝纤维化的关键^[9-10]。已证实肝纤维化是可逆病变^[11],因此能否阻止或逆转肝纤维化是慢性肝病对因治疗之外的重要环节。近年来中药提取物

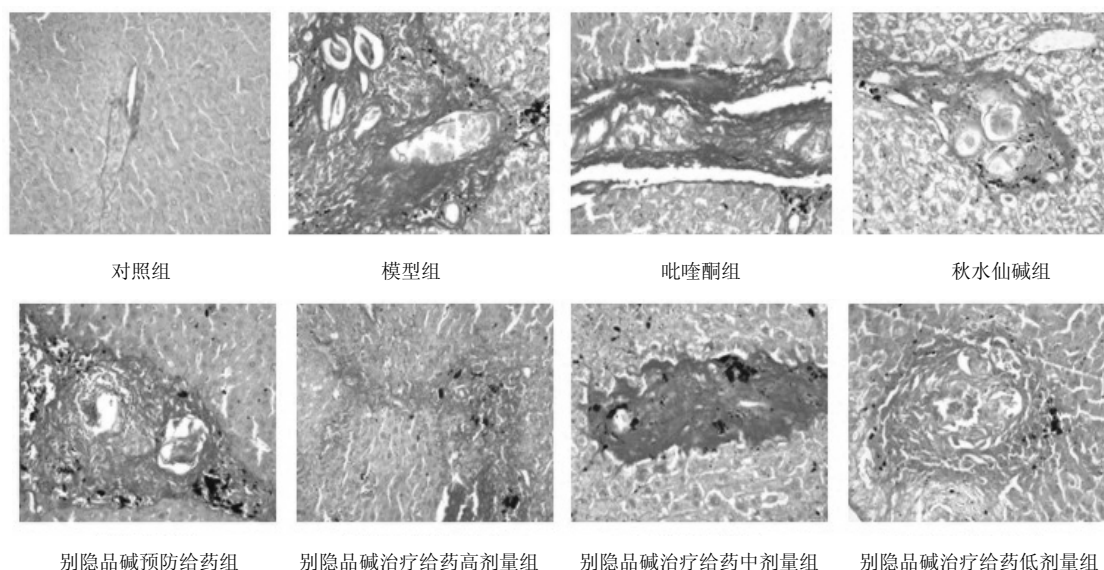


图2 别隐品碱对肝纤维化小鼠肝组织病理形态的影响 (VG染色)

Fig. 2 Effect of allocryptopine on liver pathology in hepatic fibrosis mice (VG staining)

表4 别隐品碱治疗给药对血吸虫致肝纤维化小鼠的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 4 Effect of treatment on *S. japonicum*-induced liver fibrosis model mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	肝指数/ (mg·g ⁻¹)	PCIII/ (ng·mL ⁻¹)	LN/ (ng·mL ⁻¹)	HA/ (ng·mL ⁻¹)	AST/ (U·mL ⁻¹)
对照	—	4.29±0.37**	19.88±8.30**	37.04±10.75**	119.04±43.11**	231.1±38.2**
模型	—	6.60±1.04	52.32±12.39	79.89±19.15	1343.88±382.12	346.7±63.8
别隐品碱	30	5.22±0.69*	32.56±8.83**	60.65±10.340	830.60±286.45*	283.6±46.1
	15	5.44±0.59*	34.89±10.74*	61.92±12.23	918.19±225.56*	287.4±47.3
	7.5	5.70±0.36	36.88±12.72	64.26±6.93	974.84±147.28	291.3±24.7
吡喹酮	200	5.75±0.86	46.22±8.40	72.16±10.25	1210.50±354.97	315.4±53.5
秋水仙碱	0.2	5.36±0.46*	30.68±8.87**	58.14±9.58*	768.60±208.72**	262.9±32.2*

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·mL ⁻¹)	CoI	CoIII	Hyp 目标总面积/mm ²
对照	—	59.9±19.9**	15.67±4.67**	22.85±14.74*	0.10±0.08**
模型	—	130.5±42.7	60.38±22.00	54.65±25.82	0.69±0.44
别隐品碱	30	85.7±20.7*	37.32±20.23	34.34±22.67	0.30±0.12
	15	89.4±45.1	40.79±18.45	38.90±13.71	0.46±0.26
	7.5	93.2±30.9	52.64±35.54	46.49±31.18	0.46±0.17
吡喹酮	200	99.9±38.1	43.89±18.90	40.38±22.15	0.59±0.34
秋水仙碱	0.2	62.4±23.0**	24.62±8.59**	27.94±8.27*	0.25±0.15*

在防治肝纤维化上取得了较大成绩,一些单体如苦参碱、川芎嗪、甘草甜素等已试用于临床^[12]。本课题组以民间草药博落回为原药材,经酸提碱沉、大孔树脂富集、有机溶剂重结晶后得到质量分数为98%的别隐品碱,进而采用CCl₄复合因素诱导的大鼠肝纤维化及小鼠血吸虫肝纤维化模型,分别进行了别隐品碱预防给药和治疗给药对实验性肝纤维

化防治作用的研究。

当肝细胞损伤时,细胞结构和功能被破坏,大量肝内酶(ALT、AST等)释放入血,因而血清中ALT、AST的量可敏感地反映肝细胞损伤程度;CoI、CoIII是ECM中的主要成分,其水平可反映肝纤维化的程度,并与病变程度呈正相关^[13]。本实验采用CCl₄复合因素造模8周后,经血清肝纤维化标志

物、肝组织胶原表达、肝组织形态学等检测,证实肝纤维化模型复制成功。经别隐品碱预防给药后,肝指数、CoI 表达显著降低,大鼠肝脏病变得不同程度的改善,预防给药高剂量组大鼠 CoIII 表达显著降低,预防给药中剂量组脾指数、AST 的量明显降低。别隐品碱治疗给药组 ALT 的量、肝指数及 CoIII 表达显著降低。说明别隐品碱对 CCl₄ 所致慢性肝细胞损伤有保护作用,能显著改善肝脏充血肿大,抑制或逆转肝纤维化,且中剂量效果最佳。

血吸虫尾蚴感染小鼠后,沉积于肝组织内的大量成熟虫卵刺激机体,宿主对其释放的可溶性抗原产生病理性免疫应答,使结缔组织大量增生,引起肉芽肿形成和肝脏胶原蛋白沉积而致肝纤维化^[14-15]。在本实验中,小鼠感染尾蚴 6 周后,模型组小鼠各指标较对照组发生明显变化,肝组织病理表现为有较多的虫卵沉积、虫卵肉芽肿形成、肝内汇管区及虫卵肉芽肿周围纤维增生明显,表明肝纤维化形成。经吡喹酮杀虫、用别隐品碱治疗后,小鼠肝指数、血清 HA 与 PCIII 的量明显降低,肝脏病变得明显改善;别隐品碱预防给药组血清 ALT 的量、Hyp 表达明显降低,但肝组织病理形态与模型组无明显差异。HA 是由间质细胞合成的糖胺多糖,PCIII 是 CoIII 的前体,主要在活化的 HSC 合成与释放,二者均能很好地反映慢性肝病炎症过程和纤维化程度^[16]。Hyp 是胶原合成的前体物质,是胶原中的特征性氨基酸^[17]。用吡喹酮杀虫后,别隐品碱治疗给药能不同程度地改善肝脏充血肿大、保护肝细胞、减轻炎症、抑制 HSC 活性,从而减少 ECM 沉积,具有一定的保肝及逆转肝纤维化作用,且高、中剂量别隐品碱治疗效果优于低剂量。别隐品碱预防给药对肝细胞有一定保护作用,但效果不明显,可能是由于别隐品碱对血吸虫成虫的杀灭作用较弱,造成其持续排卵,从而持续刺激肝脏,造成进一步的纤维化病变等缘故。

综上所述,别隐品碱具有较好的抗肝细胞损伤、促进肝功能恢复、抗肝纤维化的作用,其抗肝纤维化作用机制可能与其保护肝细胞,减少胶原的合成,抑制胶原纤维的增生,从而阻止肝纤维化的发生与发展有关。

致谢: 本实验在湖南中医药大学第一附属医院中药药理(心血管)实验室完成;湖南中医药大学王宇红教授、中南大学湘雅医学院陶立坚教授在本研究中给予的大力支持及悉心指导。

参考文献

- [1] 罗忠勇,曾建国,黄敬,等. RP-HPLC 法测定小果博落回中 7 种异喹啉类生物碱 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1188-1190.
- [2] 刘谟焱,李泱,文毅,等. 别隐品碱抗心律失常作用及其单相动作电位的作用 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2006, 5(1): 48.
- [3] Turabekova M A, Vinogradova V I, Rasulev B F, et al. Antiparasitic activity of certain isoquinoline alkaloids and their hypothetical complexes with oligonucleotides [J]. *Chem Nat Comd*, 2008, 44(3): 341-345.
- [4] 曾建国. 别隐品碱在农药杀菌剂中的应用 [P]. 中国专利: 101401579A, 2009-04-08.
- [5] Wang G X, Zhou Z, Jiang D X, et al. *In vivo* anthelmintic activeety of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) Fedde against *Dactylogyrus intermedius* in *Carassius auratus* [J]. *Vet Parasitol*, 2010, 171(3/4): 305-313.
- [6] 杨军,王静,刘信顺. 博落回的药效研究 [J]. 中药材, 1999, 22(2): 88-93.
- [7] 曾建国,钟明,姚利. 博落回总生物碱或其盐在抗血吸虫致肝纤维化治疗中的应用 [P]. 中国专利: 101297870A, 2008-11-05.
- [8] 曾建国,钟明,姚利. 别隐品碱及其盐在抗肝纤维化中的应用 [P]. 中国专利: 101327221A, 2009-12-24.
- [9] 杨凤蕊,娄建石,方步武. 蒿鳖养阴软坚方抗 CCl₄ 复合因素所致大鼠肝纤维化的作用 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 530-534.
- [10] Tsukada S, Parsons C J, Rippe R A. Mechanisms of liver fibrosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 364(1/2): 33-60.
- [11] Pinzani M, Rombouts K. Liver fibrosis from the bench to clinical targets [J]. *Dig Liver Dis*, 2004, 36(4): 231.
- [12] 徐标,韩春荣. 中草药活性成分抗肝纤维化作用及机理研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(1): 99-100.
- [13] Li C H, Piao D M, Xu W X, et al. Morphological and serum hyaluronic acid, laminin and type IV collagen changes in dimethylnitrosamine induced hepatic fibrosis of rat [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(48): 7620.
- [14] 景英霞,邵筱. 血吸虫病肝纤维化的发病机理与治疗进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2010, 5(4): 304-309.
- [15] 谌辉,张景辉,刘文琪. 姜黄素抗血吸虫病肝纤维化及其机制的实验研究 [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1274-1277.
- [16] 罗瑞虹,杨绍基,谢俊强. 肝纤维化血清标志物的诊断意义 [J]. 中华肝病杂志, 2001, 9(6): 148-150.
- [17] Camacho V R, Silveira T R, Oliveira J R, et al. Relationship between serum concentrations of type III procollagen, hyaluronic acid and histopathological findings in the liver of HCV-positive blood donors [J]. *Arg Gastroenterol*, 2007, 44(2): 118-122.