

藏药佐太中汞在小鼠体内的蓄积

赵 静^{1,2,3}, 杜玉枝^{1,2}, 魏立新^{1,2*}, 牛翠英^{1,2,3}, 张吉余^{1,2,3}

(1. 中国科学院藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院西北高原生物研究所青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810001; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 目的 探索给予 KM 小鼠不同剂量和不同时间的佐太, 汞在体内的蓄积情况。方法 KM 小鼠随机分为空白组, 佐太低、中、高剂量组 (42 d, 6.07、60.70、606.97 mg/kg; 14 d, 606.97 mg/kg), 给药后, 测定小鼠脑 (嗅球、皮层、海马、下丘脑、脑干、小脑)、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、脾脏、血清、肌肉中汞含量。结果 与空白组相比, 给予 42 d 低剂量佐太, 能够显著增加小鼠海马、小脑、肺脏、肾脏、肝脏、血清中汞含量; 给予 42 d 中剂量佐太, 能够显著增加小鼠嗅球、皮层、海马、脑干、小脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、脾脏、血清中汞含量; 给予 42、14 d 高剂量佐太, 能够显著增加小鼠嗅球、皮层、海马、下丘脑、脑干、小脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、脾脏、肌肉、血清中汞含量。结论 小鼠灌胃佐太, 汞在不同组织中产生蓄积, 且表现出剂量和时间依赖性, 提示佐太及其复方制剂不宜过量、长期使用。

关键词: 佐太; 汞; 蓄积; 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-4528(2017)07-1351-05

doi:10.3969/j.issn.1001-4528.2017.07.005

Mercury accumulation of Tibetan medicine Zuotai in mice

ZHAO Jing^{1,2,3}, DU Yu-zhi^{1,2}, WEI Li-xin^{1,2*}, NIU Cui-ying^{1,2,3}, ZHANG Ji-Yu^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the mercury accumulation in KM mice after being given Zuotai at different doses and time. **METHODS** KM mice were randomly divided into blank group, Zuotai low-, middle- and high-dose (6.07, 60.70 and 606.97 mg/kg, 42 d; 606.97 mg/kg, 14 d) groups. The mercury contents in brain (olfactory bulb, cortex, hippocampus, hypothalamus, brain stem, cerebellum), heart, lung, kidney, liver, spleen, serum, muscle of mice were measured after administration. **RESULTS** Compared with the blank group, Zuotai at low-dose significantly increased the mercury contents in hippocampus, cerebellum, lung, kidney, liver and serum of mice after 42-day treatment; Zuotai at middle-dose markedly increased the mercury contents in olfactory bulb, cortex, hippocampus, brain stem, cerebellum, heart, lung, kidney, liver, spleen and serum of mice after 42-day treatment; the mice treated with high-dose of Zuotai for 42, 14 days significantly increased the mercury contents in olfactory bulb, cortex, hippocampus, hypothalamus, brain stem, cerebellum, heart, lung, kidney, liver, spleen, muscle and serum. **CONCLUSION** Mercury can be accumulated in different tissues of mice after intragastric administration of Zuotai in a dose- and time-dependent manner, which suggests that Zuotai and its compound preparations should not be used in high-dose and long-term.

KEY WORDS: Zuotai; mercury; accumulation; mice

收稿日期: 2016-10-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81374063); 青海省重点实验室发展专项 (2014-Z-Y02); 中国科学院“西部之光”重点项目 (Y529021211)

作者简介: 赵 静 (1990—), 女, 硕士, 从事藏药药理学研究。Tel: (0971) 6143765, E-mail: zhaojing240026@163.com

* 通信作者: 魏立新 (1967—), 男, 研究员, 从事藏药药理学、毒理学研究。Tel: (0971) 6143668, E-mail: lxwei@nwpb.cas.cn

藏医药是广泛吸收、融合中医学、天竺药和大食医药学等医药体系理论的基础上,通过长期实践所形成的独特的医药体系,迄今已有上千年的历史,是我国较为完整的、较有影响的民族医药之一^[1]。佐太是藏语“仁青欧曲佐珠钦木”的简称,也叫“甘露精王”,是珍宝类藏成药中核心的成分^[2]。藏医认为,含佐太的复方制剂在用于治疗各种中毒、中风、麻痹病、阳痿、高血压、神经系统及心血管障碍、肝胆胃肠疾病和肿瘤等方面往往能够发挥独特的功效^[3-4]。

藏药佐太在炮制过程加入了大量重金属原料,尤其是水银^[5-6],同时,现代理化分析发现藏药佐太主要成分为硫化汞(mercuric sulfide, HgS)^[7-8]等。为此,目前医学界对佐太及含佐太的复方制剂的安全性产生了严重质疑。前期的动物实验表明,给予大鼠和小鼠佐太,汞主要在肾脏和肝脏中产生蓄积^[9-10];病理组织学观察发现, KM 小鼠给予 6.67 mg/kg 佐太 4.5 个月时,小鼠肾、肝组织学结构出现轻微变化,停药后可恢复正常^[11-12]。但是目前对于佐太毒性作用机制仍不明确,对于不同脑区、心脏、肺、肌肉等组织中汞蓄积的研究仍鲜有报道。为此,本研究以 KM 小鼠为受试动物,给予不同剂量和不同时间的佐太,测定不同脑区(嗅球、皮层、海马、下丘脑、脑干、小脑)、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、脾脏、血清、左大腿肌肉中的总汞水平,从而揭示佐太中汞在小鼠体内蓄积情况,为其临床安全用药提供参考依据。

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级 KM 小鼠,雄性,体质量 22~25 g, 购买于甘肃中医学院实验动物中心,许可证号 SYXK(甘)2015-0005。所有实验动物饲养于 SPF 级动物房内,恒温恒湿环境,机械通风,人工光照,昼夜循环 12 h,食物和饮水自由获取。

1.2 药品和试剂 佐太(于 2010 年 7 月 5 日购自西藏自治区藏药厂,无批号,用 2% 淀粉溶液促悬); 2% 淀粉浆制备:将 2 g 食用淀粉和 100 mL 蒸馏水加入 500 mL 烧杯中,煮沸冷却即可;汞标准溶液(1 mg/mL,国家有色金属及电子材料分析测试中心);硝酸(AR,白银良友化学试剂有限公司);重铬酸钾(Merck K38320565 939 for analysis, max. 0.000 001% Hg);高纯氧(纯度≥99.99%,西宁劳谦气体商贸有限公司)。

1.3 仪器 超纯水仪(Milli-QReference,美国 Millipore 公司);1/10 万电子天平(ME204,瑞士

Mettler-Toledo 公司);高速冷冻离心机(Sigma 3K-15,德国 Sigma 公司);恒温磁力搅拌器(85-2A,金坛市科析仪器有限公司);全自动固液相直接测汞仪(DMA-80,意大利 Milestone 公司);微量移液器(100 μL,美国 Thermo Electron 公司)。

2 方法

2.1 动物分组和给药方式 50 只雄性 KM 小鼠适应环境 1 周后随机分为 5 组,每组 10 只,分别为空白组、佐太低剂量[42 d, 6.07 mg/kg(临床等效剂量)]组、佐太中剂量[42 d, 60.70 mg/kg(临床 10 倍等效剂量)]组、佐太高剂量[42 d, 606.97 mg/kg(临床 100 倍等效剂量)]组、佐太高剂量短期给药组[灌胃给予 28 d 淀粉后,给予 14 d 佐太 606.97 mg/kg],每日灌胃给药 1 次,给药体积为 10 mL/kg。

2.2 总汞水平测定 末次给药结束后,小鼠禁食 12 h,摘眼球取血,收集到的血样放入促凝管中,室温放置 1 h 后,4 ℃、4 000 r/min 离心 10 min,取血清置于 1.5 mL EP 管内,-80 ℃保存待测。同时剖取全脑、全心、全肺、左右肾脏、肝左外侧叶、全脾、左大腿肌肉组织,其中取出全脑后,置于冰台上,分离称取全嗅球、左大脑皮层、大脑双侧海马、全下丘脑、全脑干、全小脑组织,置于 EP 管内,-80 ℃保存待测。测定方法:精密称取各组织或用移液器准备吸取 100 μL 血清,置于样品舟中,采用 DMA-80 测汞仪,测汞法直接测定总汞水平,每次测量上样量不超过 0.1 g,超过 0.1 g 的组织分为多次测量后取平均值。

2.3 统计分析 所有实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 21.0 统计软件分析。根据数据是否符合正态分布,分析采用 one-way ANOVA 分析,Post Hoc 分析采用 Tukey 法,或者采用 Kruskal-Wallis 单因素 ANOVA 分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 汞在小鼠不同脑区内的蓄积 如表 1 所示,与空白组相比,佐太低、中、高剂量组小鼠海马、小脑中汞含量显著增加($P < 0.01$),佐太中、高剂量组小鼠嗅球、皮层、脑干中汞含量显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),佐太高剂量组小鼠下丘脑中汞含量显著增加($P < 0.01$);与空白组相比,佐太高剂量短期给药组小鼠各脑区中汞含量均显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但与佐太高剂量组相比,各脑区中汞含量均显著偏低,其中在海马、下丘脑中有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表1 小鼠给予佐太后汞在不同脑区中的蓄积情况 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 1 Mercury accumulation in different brain areas of mice after the administration of Zuotai ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	给药 时间/d	嗅球/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	皮层/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	海马/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	下丘脑/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脑干/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	小脑/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白组	-	-	3.84 ± 1.09	1.96 ± 0.33	1.98 ± 0.27	5.07 ± 2.24	2.00 ± 0.52	1.79 ± 0.44
佐太低剂量组	6.07	42	3.75 ± 1.80 ^{##}	1.95 ± 0.55 ^{##}	3.03 ± 0.66 ^{***}	5.04 ± 0.84 ^{##}	2.04 ± 0.59 ^{##}	2.78 ± 0.59 ^{***}
佐太中剂量组	60.70	42	7.82 ± 2.73 ^{***}	2.64 ± 0.45 ^{*##}	8.74 ± 1.65 ^{***}	7.51 ± 4.01	3.00 ± 0.69 ^{*##}	3.68 ± 0.60 ^{***}
佐太高剂量组	606.97	42	17.16 ± 4.51 ^{**}	7.85 ± 4.16 ^{**}	20.97 ± 3.27 ^{***}	14.85 ± 6.58 ^{**}	7.52 ± 2.10 ^{**}	12.81 ± 7.62 ^{**}
佐太高剂量短期给药组	606.97	14	13.05 ± 3.54 ^{**}	4.14 ± 0.99 ^{**}	13.57 ± 3.49 ^{**}	8.60 ± 2.74 [*]	6.02 ± 1.96 ^{**}	8.22 ± 3.64 ^{**}

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与佐太高剂量短期给药组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

3.2 佐太汞在小鼠主要器官中的蓄积 如表2所示,与空白组相比,佐太低、中、高剂量组小鼠肺脏、肾脏、肝脏中汞含量显著增加($P < 0.01$),佐太中、高剂量组小鼠心脏、脾脏中汞含量显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与空白组相比,佐

太高剂量短期给药组小鼠主要器官中汞含量均显著增加($P < 0.01$),与佐太高剂量组相比,佐太高剂量短期给药组小鼠心脏和肝脏中汞含量均值偏高,其余组织中偏低,但均无显著性差异($P > 0.05$)。

表2 小鼠给予佐太后汞在主要器官中的蓄积情况 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 2 Mercury accumulation in major organs of mice after the administration of Zuotai ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	给药时 间/d	心脏/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肺脏/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肾脏/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肝脏/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脾脏/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白组	-	-	0.48 ± 0.18	1.17 ± 0.19	10.94 ± 2.86	12.87 ± 3.89	19.20 ± 6.52
佐太低剂量组	6.07	42	0.55 ± 0.10	1.98 ± 0.26 ^{**}	43.86 ± 8.17 ^{**}	22.12 ± 5.54 ^{**}	27.59 ± 10.66
佐太中剂量组	60.70	42	1.63 ± 0.45 ^{**}	3.90 ± 0.76 ^{**}	180.65 ± 64.84 ^{**}	85.55 ± 32.43 ^{**}	33.00 ± 16.24 [*]
佐太高剂量组	606.97	42	4.86 ± 0.94 ^{**}	11.34 ± 2.85 ^{**}	504.97 ± 128.00 ^{**}	153.53 ± 34.27 ^{**}	61.06 ± 28.82 ^{**}
佐太高剂量短期给药组	606.97	14	4.97 ± 0.81 ^{**}	10.25 ± 2.34 ^{**}	430.97 ± 133.02 ^{**}	156.18 ± 42.68 ^{**}	48.49 ± 16.40 ^{**}

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.3 佐太汞在小鼠血清中的蓄积 如表3所示,与空白组相比,佐太低、中剂量组小鼠血清中汞含量显著增加($P < 0.01$),佐太高剂量组和其短期给药组小鼠血清和肌肉中汞含量显著增加

($P < 0.05, P < 0.01$);与佐太高剂量短期给药组相比,佐太高剂量组小鼠血清中汞含量显著增加($P < 0.01$),肌肉中也有所增加,但无显著性差异($P > 0.05$)。

表3 小鼠给予佐太后汞在血清和肌肉中的蓄积情况 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 Mercury accumulation in the serum and muscle of mice after the administration of Zuotai ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	给药时间/d	血清/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	肌肉/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白组	-	-	0.27 ± 0.01	1.67 ± 0.45
佐太低剂量组	6.07	42	0.41 ± 0.02 ^{***}	1.69 ± 0.58 [#]
佐太中剂量组	60.70	42	1.18 ± 0.21 ^{***}	1.54 ± 0.39 [#]
佐太高剂量组	606.97	42	2.29 ± 0.64 ^{***}	2.99 ± 0.73 ^{**}
佐太高剂量短期给药组	606.97	14	1.50 ± 0.21 ^{**}	2.33 ± 0.69 [*]

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与佐太高剂量短期给药组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

4 讨论

汞俗称水银,是一种在常温下呈液态的重金属,其对人体的毒性很大程度上取决于其存在形式,如甲基汞具有很强的神经毒性,很容易被人体吸收;HgS难溶于水和有机溶剂,不易被人体吸收^[13-15]。佐太是由水银、硫磺等材料经过复杂炮制工艺形成的一种含HgS的黑色粉末状藏药^[5,7-8],因此主要成分为HgS的佐太毒性不同于甲基汞、氯化汞等其他汞化合物。为此,本实验主要研究佐

太在小鼠不同组织器官中蓄积情况,为科学评价佐太的毒性作用提供一定的实验依据。本研究通过给予小鼠不同剂量和时间的佐太后检测小鼠嗅球、皮层、海马、下丘脑、脑干、小脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、脾脏、血清、左大腿肌肉中总汞含量,较之前期相关报道,能够更加全面具体地分析汞在小鼠组织中的蓄积情况。

研究表明,KM小鼠灌胃给予佐太后,汞能在不同组织(或器官)中产生不同程度的蓄积。

除心脏、肝脏和肌肉外,表现出一定的剂量依赖性,均是佐太高剂量组 > 佐太高剂量短期给药组 > 佐太中剂量组 > 佐太低剂量组 > 空白组。佐太高剂量给药情况下,除心脏和肝脏外,均是给药 42 d 小鼠组织中汞蓄积含有量高于给药 14 d,表明同剂量给药情况下,佐太汞蓄积具有一定的时间依赖性,时间越长汞蓄积的越多,提示佐太不宜高剂量、长时间的服用,同时也间接证明了含佐太成方制剂传统服药周期(一般为1个月或2个月之内)和服药方式剂量(通常2 d 服1粒或3 d 服一粒)具有一定的科学性和合理性^[11]。

佐太汞在主要器官中蓄积情况与前期的动物实验结果相同^[6-9],给予动物一定剂量的佐太,汞主要是在肾脏和肝脏中产生蓄积。佐太低、中、高和佐太高剂量短期给药组小鼠肾脏中汞含有量相对空白组的生长值分别为3.01、15.51、45.16、38.39倍,肝脏中分别为0.72、5.65、10.93、11.14倍,表明肾脏和肝脏中汞蓄积明显,并与给药剂量成正比,说明作为机体主要代谢器官的肾脏和肝脏,也是佐太汞蓄积的主要靶器官。血清中汞含有量的实验结果表明,灌胃给予低剂量佐太,小鼠血清中就会出现汞的蓄积,可能是由于汞可以通过胃肠道吸收进入静脉血流,从而只要灌胃给予佐太,小鼠血清就可检测出其蓄积。而与血清不同的是,只有在高剂量给药情况下,肌肉中才会产生一定的汞蓄积,且蓄积程度不高,即与器官相比不易发生汞的蓄积。

目前,有关汞毒性方面的研究大多都是关于各种不同形式汞的吸收、分布、代谢、排泄方面,有关汞在脑部分布和代谢方面的研究仍较少,尤其是佐太汞在该方面的报道迄今尚未见到。脑是中枢神经系统的重要组成部分,其结构极为复杂,且不同脑区往往具有不同的功能,而汞在脑部的分布、蓄积和代谢对于某些疾病(如抑郁症、焦虑症、老年性痴呆等神经疾病)的研究具有重要的科学意义^[16-18]。从佐太汞在小鼠不同脑区中的蓄积量可以看出,其可穿透血脑屏障,在脑组织的不同脑区中产生不同程度的蓄积,并且进入脑后在小脑和海马中的蓄积程度最高,这与佐太对神经系统产生的作用是否有直接或间接的联系值得作进一步的研究。

综上所述,给予一定剂量的佐太能够不同程度地增加 KM 小鼠嗅球、皮层、海马、下丘脑、脑干、小脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、脾脏、肌

肉、血清中汞含有量,且表现出一定的剂量依赖性和时间依赖性,故使用佐太及含佐太的复方制剂时应该控制用药剂量,且周期不宜过长。此外,服用佐太在体内产生的汞蓄积对机体是否造成损伤,有待从分子生物学水平进行更深入的研究,以便更好地了解佐太毒性。

参考文献:

- [1] 王智森,赵正平,赵献超,等. 基础藏药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2011: 6-7.
- [2] Zhao X Y, Sun M, Wang J X, et al. Characterization of tibetan medicine zuota by multiple techniques[J]. *Bioinorg Chem Appl*, 2013, 2013: 198545.
- [3] 兰 科. 简述藏药佐太[J]. 中国民族医药杂志, 1999, 5(S1): 86.
- [4] 曾 勇, 何毓敏, 刘 颖, 等. 藏药“佐塔”对中枢神经系统的部分药理作用研究[J]. 四川中医, 2005, 23(11): 36-37.
- [5] 索 朗. 佐塔的炮制[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(5): 40.
- [6] 王 章. 再述藏药精华“佐塔”[J]. 健康天地: 学术版, 2010, 4(9): 84-85.
- [7] 阎立峰, 马小科, 朱清时. 藏药佐太无机成分分析[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 159-160.
- [8] 蓝高武, 陈忠杰, 李文虎, 等. 藏药“佐塔”的成分分析[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3209-3211.
- [9] 李向阳, 冯伟力, 马祁生, 等. 藏药佐太中的汞在大鼠体内吸收和排泄的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 290-292.
- [10] 张国英, 王东平, 李 岑, 等. 藏药佐太中汞的长期蓄积性实验研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2146-2147.
- [11] 朱洪梅, 魏立新, 杜玉枝, 等. 藏药佐太长期给药对小鼠毒性的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(8): 2022-2024.
- [12] 李 岑, 王东平, 多 杰, 等. 藏药佐太安全性研究及其复方当佐的临床安全观察初探[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2573-2582.
- [13] Clarkson T W. Mercury[J]. *Annu Rev Public Health*, 1983, 4: 375-380.
- [14] Liu S H, Lin-Shiau S Y. Studies on mercury-induced myotonia in the mouse diaphragm[J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1991, 319: 86-100.
- [15] Chuu J J, Young Y H, Liu S H, et al. Neurotoxicity of mercury sulfide in the vestibular ocular reflex system of guinea pigs[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2001, 364(3): 249-258.
- [16] Wang Q, Yang X, Zhang B, et al. The anxiolytic effect of cinabrar involves changes of serotonin levels[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 565(1): 132-137.
- [17] Lakshmana M K, Desiraju T, Raju T R. Mercuric chloride-induced alterations of levels of noradrenaline, dopamine, sero-

nin and acetylcholine esterase activity in different regions of rat brain during postnatal development [J]. *Arch Toxicol*, 1993, 67 (6): 422-427.
[18] Heyer N J, Echeverria D, Farin F M, et al. The association be-

tween serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR), self-reported symptoms, and dental mercury exposure [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2008, 71(19): 1318-1326.

鳖甲煎丸对大鼠肝星状细胞中 NF- κ B 信号通路的影响

陈冠新¹, 文彬², 孙海涛¹, 孙嘉玲¹, 徐薇¹, 安海燕¹, 贺松其^{1*}

(1. 南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515; 2. 中国人民解放军第四五八医院中医科, 广东 广州 510602)

摘要: 目的 研究鳖甲煎丸(鳖甲胶、阿胶、蜂房等)对大鼠肝星状细胞(HSC-T6)中核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路中NF- κ B、p65、p50、I κ B及靶基因表达的影响。方法 使用鳖甲煎丸药物血清培养HSC-T6细胞24h后,采用qPCR检测p65、p50、血管内皮生长因子(VEGF)、基质金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)mRNA的表达,免疫荧光法检测p65的表达,Western blot检测NF- κ B抑制蛋白 α (I κ B α)、NF- κ B抑制蛋白 β (I κ B β)及 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达。结果 与空白对照组及阴性对照组相比,鳖甲煎丸的中、高剂量组及阳性对照组p65、VEGF、TIMP-1 mRNA的表达显著降低,各组间p50 mRNA的表达无显著差异,但免疫荧光显示p65在细胞质中的表达降低。同时,鳖甲煎丸能显著上调I κ B α 的蛋白表达,并能明显下调 α -SMA的表达,具有剂量依赖性,但对I κ B β 的表达无显著影响。结论 鳖甲煎丸对肝纤维化的治疗作用可能与影响NF- κ B信号通路、抑制下游靶基因的表达有关。

关键词: 鳖甲煎丸; 肝星状细胞; NF- κ B; I κ B; α -SMA; VEGF; TIMP-1

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-4528(2017)07-1355-06

doi:10.3969/j.issn.1001-4528.2017.07.006

Effects of Biejiajian Pills on NF- κ B signaling pathway in hepatic stellate cells in rats

CHEN Guan-xin¹, WEN Bin², SUN Hai-tao¹, SUN Jia-ling¹, XU Wei¹, AN Hai-yan¹, HE Song-qi^{1*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Traditional Chinese Medicine Department of No. 458 Hospital of PLA, Guangzhou 510602, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effects of Biejiajian Pills (*Colla Carapacis Trionycis*, *Asini Corii Colla*, *Nidus Vespae*, etc.) on NF- κ B, p65, p50 and I κ B in NF- κ B signaling pathway and target gene expression in HSC-T6 cells of rats. **METHODS** HSC-T6 cells were cultured with Biejiajian Pills drug serum for 24 hours, the expressions of p65, p50, VEGF and TIMP-1 mRNA were determined by qPCR; the expression of p65 was measured by immunofluorescence; the expressions of I κ B α , I κ B β and α -SMA were determined by Western blot. **RESULTS** The Biejiajian Pills middle-, high-dose and positive control groups showed significantly lower expressions of p65, VEGF and TIMP-1 mRNA as compared with the blank control group and negative control group, the expressions of

收稿日期: 2016-11-03

基金项目: 国家自然科学基金资助课题 (81373807)

作者简介: 陈冠新 (1990—), 男, 硕士生, 从事肝病证的临床与实验研究。E-mail: 164515260@qq.com

* 通信作者: 贺松其 (1968—), 男, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事肝病证的临床与实验研究。Tel: (020) 61648247,

E-mail: hesongqijz@126.com