

网络出版时间: 2019-7-31 9:53 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.r.20190729.1513.054.html>

# 探讨蛭昆一号制剂对小鼠骨髓抑制的保护作用及其分子机制

靳艳玲<sup>1</sup>, 刘国彦<sup>2</sup>, 张宇海<sup>2</sup>, 洪裕玲<sup>2</sup>, 刘磊<sup>2</sup>, 李龙<sup>2</sup>, 叶兰<sup>1</sup>

(1. 贵州医科大学基础医学院机能实验室, 贵州 贵阳 550025;

2. 厦门大学药学院, 厦门大学附属中山医院胃肠外科, 福建 厦门 361101)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.08.027

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2019)08-1179-05

中国图书分类号: R-332; R289.5; R322.2; R446.11; R392.

12; R979.1

**摘要:**目的 探讨蛭昆一号制剂对小鼠骨髓抑制损伤的保护作用及机制。方法 60只 $\delta$  BALB/c小鼠随机分为正常对照组、5-氟尿嘧啶(5-Fu)模型组、阳性对照组(rhG-CSF)、蛭昆一号制剂低、中、高剂量组。除正常组外,其余各组腹腔注射5-Fu 1次,建立骨髓抑制模型,给药7d后血常规分析,ELISA检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-2水平,Western blot测定脾脏组织中p-JAK2、p-STAT5磷酸化水平。结果 给予蛭昆一号制剂后,小鼠腹泻症状减轻,体质量升高( $P < 0.05$ ),白细胞、血小板和淋巴细胞均升高( $P < 0.05$ );ELISA检测显示,蛭昆一号制剂中、高剂量组血清IL-2含量高于模型组( $P < 0.05$ ),TNF- $\alpha$ 含量低于模型组( $P < 0.05$ );Western blot检测显示,与模型组比较,蛭昆一号制剂各剂量组小鼠脾脏组织JAK2、STAT5磷酸化水平上调( $P < 0.05$ )。结论 蛭昆一号制剂对5-Fu致小鼠骨髓抑制损伤有保护作用,其分子机制可能与蛭昆一号制剂增加JAK2、STAT5磷酸化水平,促进IL-2产生,减少TNF- $\alpha$ 分泌有关。

**关键词:** 蛭昆一号制剂; 骨髓抑制; 5-氟尿嘧啶; 炎症; p-JAK2; p-STAT5

化学疗法和放射疗法是癌症的主要治疗方法,治疗过程中会破坏健康细胞<sup>[1]</sup>,损害造血系统<sup>[2]</sup>,严重者可出现骨髓抑制<sup>[3]</sup>。5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)是临床常用一线化疗药,作用机制主要是抑制胸苷酸合成酶,以干扰DNA合成,达到抗癌作用<sup>[4]</sup>。临床治疗中,5-Fu常规剂量持续使用不仅杀伤癌细胞,严重者还抑制骨髓造血功能,引起骨髓抑制严重损伤<sup>[5]</sup>。蛭昆一号制剂主要由昆布、黄芪、女贞子、茯苓等中草药组成,具有软坚散结、养血

活血、清热利湿、益气健脾之功效。

JAK/信号转导子和转录活化子(signal transducer and activators of transcription, STAT)信号通路与细胞生长、增殖、分化和成熟关系密切,其中JAK2/STAT5与红系细胞的分化成熟密切相关<sup>[6]</sup>。已有研究证明,JAK2/STAT5信号通路参与骨髓抑制后的缺血反应,促进造血系统恢复,减轻不良反应<sup>[7]</sup>。本研究拟建立骨髓抑制模型,探究蛭昆一号制剂对5-Fu造模小鼠骨髓造血功能的影响,阐述其减轻小鼠骨髓抑制的作用及其作用机制,同时为中药复方制剂治疗肿瘤化疗药所致骨髓抑制提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** SPF级健康 $\delta$  BALB/c小鼠60只,6~8周龄,体质量(18~22)g,购自厦门大学实验动物中心,许可证号:SCXK(沪)2017-0005。

**1.2 药物与试剂** 蛭昆制剂由昆布、牡蛎、黄芪、女贞子、茯苓等中药组成(已申请专利)。蛭昆一号制剂,为蛭昆复方制剂的一号制剂,简称蛭昆一号制剂,由昆布、黄芪、女贞子、茯苓等中草药组成。昆布、黄芪、茯苓、女贞子(安徽健诚中药饮片有限公司);5-Fu(天津金耀药业有限公司);重组人粒细胞刺激因子(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF)购自厦门特宝生物工程股份有限公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒、IP细胞裂解液(生工生物工程股份有限公司); $\beta$ -actin、JAK2、p-JAK2、STAT5、p-STAT5抗体(Cell Signaling Technology公司);TNF- $\alpha$ 、IL-2的ELISA试剂盒(深圳市达科为生物工程有限公司)。

**1.3 仪器** ChemiDoc TM XRS+型凝胶成像仪、ImageLab图像分析系统;全自动血球分析仪BC-2300(上海恒盛医疗器械有限公司);DYY-7C型电泳仪(北京市六一仪器厂);iMark酶标仪(美国伯乐公司)。

**1.4 模型的建立及分组给药** 参照文献<sup>[8]</sup>进行骨髓抑制模型造模。将小鼠随机分为6组,即正常对照组(Control)、模型组(Model)、阳性对照组(rhG-CSF)、蛭昆一号制剂组低(Low)、中(Medium)、高(High)3个剂量,每组10只。模型组小鼠腹腔注射

收稿日期: 2019-05-10, 修回日期: 2019-06-18

基金项目: 厦门市海洋经济发展专项资金(No. 17GYY001NF01), 黔科合字J字[2008]2281

作者简介: 靳艳玲(1993-),女,硕士生,研究方向: 神经药理学, E-mail: 1329629069@qq.com;

叶兰(1975-),女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向: 神经药理学, 通讯作者, E-mail: 469612112@qq.com

5-Fu 250 mg · kg<sup>-1</sup> ( 对照组腹腔注射等容积生理盐水) 造模 24 h 后开始给药, 连续 7 d。按文献<sup>[9]</sup> 计算小鼠蛭昆一号制剂的等效剂量为 200 mg · kg · d<sup>-1</sup>, 并以此将蛭昆一号制剂分为低、中、高剂量组, 灌胃剂量分别为 133、200、300 mg · kg · d<sup>-1</sup>, 灌胃体积为 20 mL · kg<sup>-1</sup>; 阳性对照组每只小鼠腹腔注射 rhG-CSF 250 μg · kg · d<sup>-1</sup>, 体积为 10 mL · kg · d<sup>-1</sup>。

**1.5 一般情况观察及体质量测定** 每天观察小鼠的精神状态, 进食量, 每日给药前测量一次体重。

**1.6 外周血细胞计数** 各组小鼠最后一次给药 24 h (d 7) 后取眼球血。用全自动血细胞分析仪检测外周血白细胞、血小板、淋巴细胞及单核细胞含量。

**1.7 ELISA 法检测 TNF-α 和 IL-2 含量** 各组小鼠最后一次给药 24 h (d 7) 后, 取眼球血于 EP 管中, 室温放置 0.5 h, 4 °C 放置 2 h, 3 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 2 次, 取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书操作。

**1.8 Western blot 法检测相关蛋白表达** 各组小鼠最后一次给药 24 h (d 7) 后, 将小鼠颈椎脱臼处死, 提取小鼠脾脏组织蛋白, 用于 p-JAK2 和 p-STAT5 的检测, 将提取的蛋白采用 BCA 法进行蛋白定量。制样后 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 5% BSA 封闭 2 h, 加入一抗 β-actin (1 : 5 000)、JAK2 (1 : 500)、p-JAK2 (1 : 500)、STAT5 (1 : 500)、p-STAT5 (1 : 500) 4 °C 孵育过夜, TBST 漂洗, 加入山羊抗兔二抗 (1 : 5 000), 室温孵育 1 h, 漂洗, 加入 ECL 工作液, 在凝胶成像仪上显色, 用凝胶图像处理系统分析条带的灰度值。

**1.9 统计学分析** 采用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行统计学分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组数据进行方差齐性检验, 组间比较采用 Dunnett 法。

## 2 结果

**2.1 一般情况观察** 正常组小鼠活动正常, 粪便正常。模型组小鼠 7 d 呈明显的消瘦状态, 体质量不同程度减轻, 粪便为水样粪便。蛭昆一号制剂低、中、高剂量及阳性对照组 (rhG-CSF) 小鼠腹泻症状改善 (Fig 1)。

**2.2 体质量变化** Tab 1 结果显示, 与模型组相比,

蛭昆一号制剂低剂量组及阳性对照组小鼠体质量差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 中、高剂量组效果不明显。

**2.3 骨髓抑制小鼠外周血象** Tab 2 结果显示, 与模型组相比, 蛭昆一号制剂及 rhG-CSF 组外周血白细胞、淋巴细胞均明显升高 ( $P < 0.05$ )。蛭昆一号制剂中、高剂量血小板均明显升高 ( $P < 0.01$ )。蛭昆一号制剂及 rhG-CSF 组外周血淋巴细胞比率均明显降低 ( $P < 0.05$ )。

Tab 1 Effects of Likun preparation No. 1 on body weight of mice with myelosuppression ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Group	Before model	Day 7
Control	23.33 ± 1.25	24.31 ± 1.29
Model	23.19 ± 1.25	19.86 ± 0.93 <sup>##</sup>
rhG-CSF	24.08 ± 1.36	22.10 ± 2.51*
Low	23.83 ± 1.39	22.39 ± 1.16**
Medium	23.73 ± 0.83	21.60 ± 1.38
High	22.77 ± 1.32	21.14 ± 2.14

<sup>##</sup>  $P < 0.01$  vs control; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs model

**2.4 各组小鼠血清 TNF-α 和 IL-2 水平** Tab 3 的 ELISA 结果显示, 与正常组比较, 模型组 IL-2 含量明显下降, TNF-α 含量明显上调; 与模型组比较, 蛭昆一号制剂中、高剂量组 IL-2 含量升高 ( $P < 0.05$ ), 低剂量组及阳性对照组效果不明显; 蛭昆一号各剂量组及阳性对照组 TNF-α 含量明显下降 ( $P < 0.05$ )。

**2.5 小鼠脾脏组织中 p-JAK2、p-STAT5 蛋白表达变化** Fig 2 的 Western blot 检测结果显示, 模型组小鼠脾脏组织 p-JAK2、p-STAT5 蛋白表达减少 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 蛭昆一号制剂各剂量组脾脏组织 p-JAK2、p-STAT5 蛋白表达明显上调 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

临床上, 造血功能障碍的治疗主要是通过直接输血治疗或应用一些具有骨髓抑制保护的药物, 如粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、促红细胞生成素等, 但这些治疗药物需要不断重复给药, 会引起不良反应, 如外周白细胞减少症和骨髓抑制。本实验中, 腹腔注射 5-Fu, 模型组小鼠出现腹泻、体质量下降等症状, 外周血细胞 (白细胞、淋巴细胞、血小板) 数均明显降低, 表明 DNA 受损, 骨髓抑制形成, 这些均

Tab 2 Effects of Likun preparation No. 1 on peripheral blood cells of 5-Fu injected mice with hematopoietic injury ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Group	WBC / × 10 <sup>9</sup> · L <sup>-1</sup>	MO / %	LY / × 10 <sup>9</sup> · L <sup>-1</sup>	PLT / × 10 <sup>9</sup> · L <sup>-1</sup>
Control	3.3 ± 0.5	0.5 ± 0.3	3.2 ± 0.7	938.6 ± 45.9
Model	1.1 ± 0.4 <sup>##</sup>	1.4 ± 0.5 <sup>##</sup>	1.0 ± 0.3 <sup>##</sup>	76.1 ± 31.3 <sup>##</sup>
rhG-CSF	1.8 ± 0.9*	0.7 ± 0.4**	1.8 ± 0.9*	110.6 ± 46.3
Low	1.5 ± 0.4*	0.7 ± 0.5**	1.5 ± 0.4*	93.4 ± 38.2
Medium	2.2 ± 0.5**	0.6 ± 0.3**	2.2 ± 0.5**	159.6 ± 38.9**
High	1.8 ± 0.6*	0.5 ± 0.2**	1.8 ± 0.5**	159.5 ± 24.7**

<sup>##</sup>  $P < 0.01$  vs control; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs model

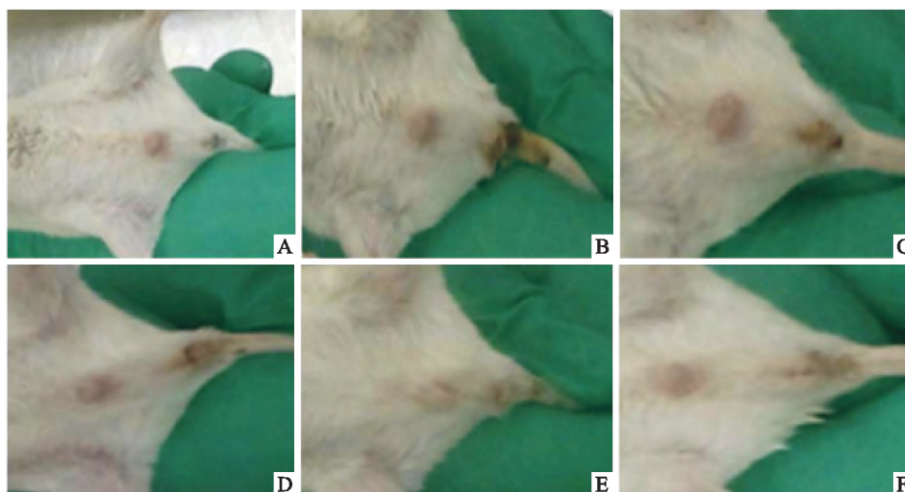


Fig 1 The anal status photo of mouse

A: Control; B: Model; C: rhG-CSF; D: Likun preparation No. 1 low dose; E: Likun preparation No. 1 medium dose; F: Likun preparation No. 1 high dose.

Tab 3 ELISA analysis of TNF- $\alpha$  and IL-2 expression in mouse serum( $\bar{x} \pm s$   $n = 10$ )

Group	TNF- $\alpha$	IL-2
Control	71.48 $\pm$ 4.68	2 313.92 $\pm$ 113.12
Model	188.25 $\pm$ 4.50 <sup>##</sup>	1 834.09 $\pm$ 97.36 <sup>#</sup>
rhG-CSF	80.07 $\pm$ 5.82 <sup>**</sup>	1 538.82 $\pm$ 78.71
Low	86.52 $\pm$ 4.05 <sup>**</sup>	1 821.94 $\pm$ 104.27
Medium	82.07 $\pm$ 2.56 <sup>**</sup>	2 128.69 $\pm$ 61.52 <sup>*</sup>
High	85.62 $\pm$ 3.44 <sup>**</sup>	2 096.20 $\pm$ 60.81 <sup>*</sup>

<sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model

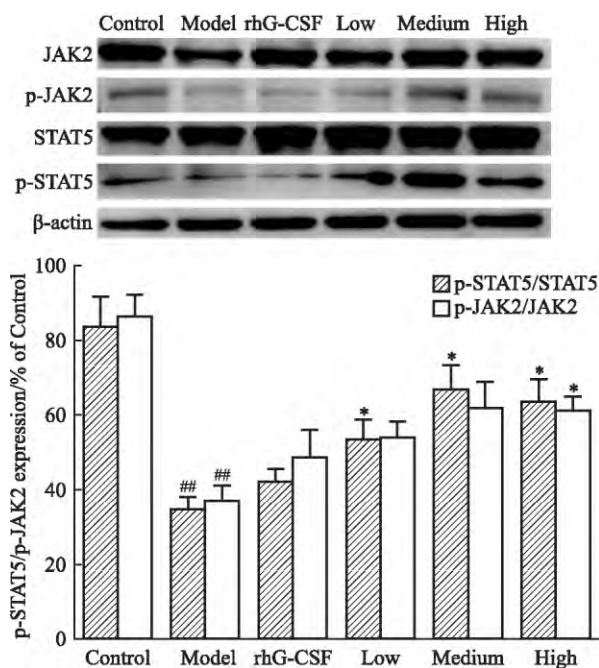


Fig 2 Western blot analysis of target protein in mouse spleen( $\bar{x} \pm s$   $n = 10$ )

<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs model

蛎昆一号制剂主要由昆布、黄芪、贞子和茯苓组成,其主要成分分别为昆布多糖、黄芪多糖、女贞子多糖、茯苓聚糖。其中昆布多糖能预防高血压、糖尿病、抗肿瘤和保护血管内皮细胞<sup>[10]</sup>;黄芪多糖能促进小鼠骨髓造血细胞系统恢复<sup>[11]</sup>;女贞子多糖具有抗实体肿瘤作用,提高机体免疫力<sup>[12]</sup>;茯苓聚糖具有抗炎、抗氧化和免疫调节活性<sup>[13]</sup>。前期研究发现,蛎昆一号制剂能提高骨髓造血功能,增强小鼠免疫功能<sup>[14]</sup>。本研究中,蛎昆一号制剂各剂量组给药后,骨髓抑制小鼠的外周血淋巴细胞、血小板均有明显升高,表明蛎昆一号制剂可促进骨髓造血功能的恢复。造血细胞的增殖和分化受可溶性多肽-细胞因子的调节,包括白细胞介素、干扰素、G-CSF和促红细胞生成素<sup>[15]</sup>。由IL-2调节的造血细胞活化与STAT5和JAK2的激活有关。IL-2通过调节骨髓中T细胞的活性,来帮助维持红细胞生成<sup>[16]</sup>。但是,长期化疗/放疗严重损害造血系统,并导致来自宿主细胞促炎症因子TNF- $\alpha$ 释放,异常TNF- $\alpha$ 的分泌可直接抑制骨髓造血功能。小鼠血清ELISA结果显示,蛎昆一号制剂给药后,造血功能障碍的小鼠血清中TNF- $\alpha$ 下调、IL-2上调,进一步说明蛎昆一号制剂能一定程度上增强小鼠细胞免疫功能,产生抗肿瘤作用。

JAK/STAT途径广泛参与细胞增殖、分化、凋亡、免疫调节等过程<sup>[17]</sup>。5-Fu引起骨髓抑制,导致细胞增殖和分化进程停滞。本实验检测p-JAK2和p-STAT5的蛋白表达。结果显示,5-Fu引起p-JAK2和p-STAT5蛋白表达降低,表明与造血密切相关的JAK2/STAT5信号转导通路也受到了抑制。中、高剂量的蛎昆一号制剂治疗后,促进了p-JAK2和p-

提示以250 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> 5-Fu制备骨髓抑制模型是可行的。

STAT5 的表达,表明蛎昆一号制剂激活了 JAK2/STAT5 信号通路。由于 JAK2/STAT5 与红系细胞分化发育关系最为密切<sup>[6]</sup>,我们推测蛎昆一号制剂可能具有促进骨髓造血细胞红系分化的作用。总之,该研究的结果表明 蛎昆一号制剂对 5-Fu 诱导的小鼠骨髓抑制有保护作用,其作用机制与 JAK2/STAT5 途径的激活有关。

#### 参考文献:

- [1] Wang Y, Liu L, Pazhanisamy S K, et al. Total body irradiation causes residual bone marrow injury by induction of persistent oxidative stress in murine hematopoietic stem cells [J]. *Free Radic Biol Med* 2010 **48**(2): 348–56.
- [2] Mauch P, Constone L, Greenberger J, Knosp W. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995 **31**(5): 1319–39.
- [3] Khwaja A, Bjorkholm M, Gale Rosemary E, et al. Acute myeloid leukaemia [J]. *Nat Rev Dis Primers* 2016 **10**(2): 16010.
- [4] Longley D B, Harkin D P, Johnston P G. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies [J]. *Nat Rev Cancer* 2003 **3**(5): 330–8.
- [5] Justino P F, Melo L F, Nogueira A F, et al. Treatment with *Saccharomyces boulardii* reduces the inflammation and dysfunction of the gastrointestinal tract in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice [J]. *Brit J Nutr* 2014 **111**(9): 1611–21.
- [6] Quaiser T, Dittrich A, Schaper F, et al. A simple work flow for Biologically inspired model reduction-application to early JAK-STAT Signaling [J]. *BMC Syst Biol* 2011 **5**(5): 30.
- [7] Ouyang J, Pan X, Lin H, et al. GKN2 increases apoptosis, reduces the proliferation and invasion ability of gastric cancer cells through down-regulating the JAK/STAT signaling pathway [J]. *Am J Transl Res* 2017 **9**(2): 803–11.
- [8] Brenet F, Kermani P, Spektor R, et al. TGF- $\beta$  restores hematopoietic homeostasis after myelosuppressive chemotherapy [J]. *J Exp Med* 2013 **210**(3): 623–39.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [9] Chen Q. Research Methods in Pharmacology of Chinese Materia Medica [M]. Beijing: People's Medical Publishing House 2011.
- [10] 王新璠, 杨晓梅, 苏丽万, 等. 海带多糖对脂多糖致慢性炎症大鼠血管内皮的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2018 **34**(5): 651–6.
- [10] Wang J J, Yang X M, Su L W, et al. Protective effects of iaminarin on vascular endothelium in rats with chronic inflammation induced by LPS [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2018 **34**(5): 651–6.
- [11] 夏星, Dao Nguyen. 黄芪多糖对丝裂霉素 C(MMC) 致骨髓抑制小鼠骨髓及脾脏造血祖细胞的生成作用的影响 [J]. 中国药理学通报 2003 **19**(7): 812–4.
- [11] Xia X, Dao Nguyen. Effects of astragalus polysaccharide(APS) on murine bone marrow and spleen progenitor cells in MMC-in myelosuppression [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2003 **19**(7): 812–4.
- [12] Zhang Y, Mukwaya E, Pan H, et al. Combination therapy of Chinese herbal medicine *Fructus Ligustri Lucidi* with high calcium diet on calcium imbalance induced by ovariectomy in mice [J]. *Pharm Biol* 2015 **53**(7): 1082–5.
- [13] Ríos J L, Andújar I, Recio M C, et al. Lanostanoids from fungi: a group of potential anticancer compounds [J]. *J Nat Prod* 2012 **75**(11): 2016–44.
- [14] 靳艳玲, 刘国彦, 莫善列, 等. 海洋中药蛎昆一号制剂对 5-Fu 化疗后所致动物骨髓抑制的功效研究 [J]. 医学信息, 2018 **31**(21): 51–5.
- [14] Jin Y L, Liu G Y, Mo S L, et al. Efficacy of marine Chinese medicine Likun preparation No. 1 on animal bone marrow suppression induced by 5-Fu chemotherapy [J]. *Med Information*, 2018 **31**(21): 51–5.
- [15] Song Y, Jin S I, Cui L H, et al. Immunomodulatory effect of stichopus japonicus acid mucopolysaccharide on experimental hepatocellular carcinoma in rats [J]. *Molecules* 2013 **18**(6): 7179–93.
- [16] McGinley L M, Sims E, Lunn J S, et al. Human cortical neural stem cells expressing insulin-like growth factor-I: a novel cellular therapy for Alzheimer's disease [J]. *Stem Cells Transl Med* 2016 **5**(3): 379–91.
- [17] 贺宏英, 吴绥生. JAK/STAT 信号转导途径研究新进展 [J]. 新医学 2009 **40**(12): 827–30.
- [17] He H Y, Wu S S. New progress of JAK/STAT signaling pathway [J]. *New Med* 2009 **40**(12): 827–30.

## Protective effect of Likun preparation No. 1 on bone marrow suppression in mice and its molecular mechanism

JIN Yan-ling<sup>1</sup>, LIU Guo-yan<sup>2</sup>, ZHANG Yu-hai<sup>2</sup>, HONG Yu-ling<sup>2</sup>, LIU Lei<sup>2</sup>, LI Long<sup>2</sup>, YE Lan<sup>1</sup>

(1. Functional Laboratory, Basic Medical College,

Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences,

Xiamen University; Dept of Gastroenterology, Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen Fujian 361101, China)

**Abstract: Aim** To explore the protective effect of Likun preparation No. 1 on bone marrow suppression injury in mice and the possible mechanism. **Methods** Sixty male BALB/c mice were randomly divided into normal control group, 5-Fu model group, positive con-

trol group (rhG-CSF) and Likun preparation No. 1 groups with low, medium and high doses. Myocardial inhibition was established by intraperitoneal injection of 5-fluorouracil once. After seven days of administration, blood routine analysis was performed. Serum levels of

网络出版时间: 2019-7-31 9:53 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.r.20190729.1513.056.html>

◇ 研究简报 ◇

## 吡啶查尔酮类化合物对小鼠肝纤维化的作用

金凡<sup>1</sup>, 朱盼虎<sup>1</sup>, 李家明<sup>1,2</sup>, 黄元政<sup>1</sup>, 刘万冬<sup>1</sup>

(安徽中医药大学 1. 药学院, 2. 安徽省中医药科学院药物化学研究所, 安徽 合肥 230038)

## Effect of pyridine chalcone on liver fibrosis in mice

JIN Fan<sup>1</sup>, ZHU Pan-hu<sup>1</sup>, LI Jia-ming<sup>1,2</sup>, HUANG Yuan-zheng<sup>1</sup>, LIU Wan-dong<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine; 2. Dept of Medicinal Chemistry, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230038, China)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.08.028

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2019)08-1183-02

中国图书分类号: R-332; R329.24; R347; R575.202; R916.4

关键词: 肝纤维化; 脂联素; HSC-T6; 激动剂; 小鼠; CCl<sub>4</sub>**Key words:** liver fibrosis; adiponectin; HSC-T6; agonist; mice; CCl<sub>4</sub>

脂联素是脂肪组织分泌的一种脂肪细胞因子<sup>[1]</sup>, 为脂联素受体内源性激动剂, 可通过结合 AdipoR1 和 AdipoR2 经腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)途径来调节细胞能量利用<sup>[2]</sup>。研究发现, 脂联素可以限制活化的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的增殖和迁移, 具有强烈的抗肝纤维化活性<sup>[3]</sup>。HSC的活化是肝纤维化疾病形成的重要环节, 高糖高脂状态对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导的肝纤

维化有促进作用<sup>[4]</sup>。若可以有效抑制HSC的活化增殖, 便能在一定程度上改善肝纤维化状况。CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化的机制是引起实质炎症和肝细胞坏死, 同时产生相关细胞因子, 促进HSC的增殖活化等。

有研究报道, 天然有机化合物查尔酮类在体外可抑制HSC-T6细胞胶原的合成<sup>[5]</sup>。AdipoRon为Okada-Iwabu等<sup>[6]</sup>报道的首个脂联素受体激动剂, 课题组前期根据AdipoRon合成了一系列能够改善小鼠肝纤维化的查尔酮类化合物。在此基础上, 进一步合成两个新的吡啶查尔酮类化合物H7和H8(Fig 1), 研究其对小鼠肝纤维化的作用。

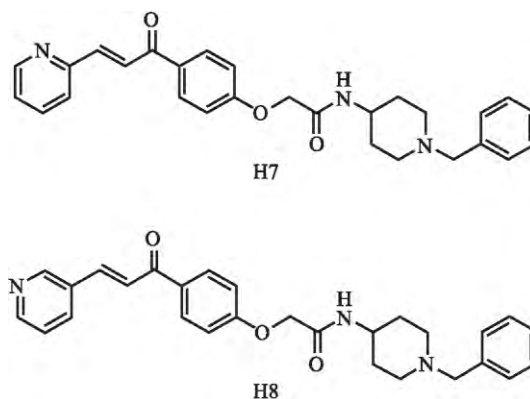


Fig 1 Structure of H7 and H8

收稿日期: 2019-04-15, 修回日期: 2019-05-24

基金项目: 安徽省重大科技专项资助项目(No 15czz01077)

作者简介: 金凡(1993-), 男, 硕士生, 研究方向: 药物化学设计与合成, E-mail: 2280925161@qq.com;

李家明(1964-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 药物化学设计与合成, 通讯作者, Tel: 0551-68129147, E-mail: lijiaming2017@sina.com

TNF- $\alpha$  and IL-2 were detected by ELISA. The expression of p-JAK2 and p-STAT5 protein in spleen tissues were determined by Western blot. **Results** After given the Likun preparation No. 1, the symptoms of diarrhea in mice were alleviated, body weight increased ( $P < 0.05$ ), and white blood cells, platelets and lymphocytes also increased ( $P < 0.05$ ). ELISA test showed that the serum level of IL-2 in Likun preparation high-dose group was higher than that in model group ( $P < 0.05$ ), and the TNF- $\alpha$  content was lower than that in model group ( $P < 0.05$ ). Western blot analysis showed

## 1 材料与方法

**1.1 材料** HSC-T6细胞, 购自南京凯基生物科技发展有限公司; Balb/c  $\delta$ 小鼠 50只, (18~22)g, 购自南京大学模式动物研究所, 实验动物许可证号: SYXY(苏)2016-0012。化合物 AdipoRon、H7 和 H8, 由本实验室合成。

that compared with model group, the expression of p-JAK2 and p-STAT5 protein in spleen of mice in Likun preparation group was up-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The Likun preparation No. 1 has protective effect on 5-Fu-induced myelosuppression in mice. The molecular mechanism may be related to the up-regulation of p-JAK2 and p-STAT5 protein expression, the promotion of IL-2 production and the reduction of TNF- $\alpha$  secretion.

**Key words:** Likun preparation No. 1; myelosuppression; 5-fluorouracil; inflammation; p-JAK2; p-STAT5