要作用。

PBP_{39}蛋白在国外一直是研究的重点[4]，Denoel等[5]都很好的研究及揭示其良好的免疫原性和保护性。本研究成功地获得了PBP_{39}重组蛋白，这将解决从天然细菌内提取费时、费力、产量低和纯度不理想的难题，同时用该蛋白免疫小鼠产生了较高的抗体水平，抗体亚型分类显示以细胞免疫为主，虽没有产生明显的保护力主要是因为布氏菌为胞内寄生菌。所以仍可作为布氏杆菌新型疫苗的候选分子。

参考文献：

[1] Schurig G G, Sriranganathan N, Corbel M J. Brucellosis vaccines: past, present and future[J]. Vet Microbiol, 2002, 90(1-4): 479-496.

[2] Davis D S, Elzer P H. Brucella vaccines in wildlife[J]. Vet Microbiol, 2002, 90(1-4): 533-544.

[3] Al Mariri A, Tibor A, Mertens P, *et al*. Protection of BALB/c mice against Brucella abortus 544 challenge by vaccination with bacterioferritin or P39 recombinant proteins with CpG oligodeoxynucleotides as adjuvant[J]. Infect Immun, 2001, 69(8): 4816-4822.

[4] Denoel P A, Vo T K, Tibor A, *et al*. Characterization, occurrence, and molecular cloning of a 39-kilodalton Brucella abortus cytoplasmic protein immunodominant in cattle[J]. Infect Immun, 1997, 65(2): 495-502.

[5] Denoel P A, Vo T K, Weynants V E, *et al*. Identification of the major T-cell antigens present in the Brucella melitensis B115 protein preparation Brucellergene OCB[J]. J Med Microbiol, 1997, 46(9): 801-806.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2005)09-0820-01

护肝胶囊对乙醇诱发大鼠急性肝损伤的保护作用

Hugan capsule protects against acute alcohol-induced liver injury in mice

梁 鑫[1]，武向伟[1]，方廖琼[2]，吴开平[2]，魏 泓[2]（[1]西南师范大学生命科学学院，重庆 400715；[2]第三军医大学基础医学部实验动物学教研室，重庆 400038）

近年来，乙醇对人体的损害，尤其是对肝脏的损伤作用日益引起人们的重视，对乙醇诱发的肝损伤有较好的保护作用的保健食品和药品的筛选和开发成为目前的研究热点[1]。我们用Wistar大鼠制作乙醇急性肝损伤模型，研究了我们开发的一种护肝胶囊的作用。

1 材料与方法

1.1 受试物

护肝胶囊（批号20030312），主要成分为羊肝提取物和葛根素，内容物为溶于水的棕黄色粉末。

1.2 实验动物分组与处理

雌性Wistar大鼠60只，体质量160～200 g，购自第三军医大学实验动物中心。采用乙醇急性肝损伤模型，将大鼠随机均分为5组，设低、中、高3个剂量组及阴性对照组和模型对照组。3个剂量组每日灌胃给予受试物，阴性对照组和模型对照组给予蒸馏水，按10 ml/kg每天1次经口灌胃，连续30 d。结束时将模型对照组和3个剂量组1次灌胃给予50%乙醇（分析纯）12 ml/kg（折合乙醇的剂量约为4 800 mg/kg），阴性对照组给予蒸馏水，禁食16 h后处死。从受试大鼠肝部取材苏丹Ⅲ脂肪染色，按要求进行镜检和评分，检测肝匀浆丙二醛（malonaldehyde, MDA）、还原型谷胱甘肽（reduced glutathione hormone, GSH）和甘油三酯（triglyceride, TG）的含量。

1.3 肝组织脂肪染色观察方法和评分标准

每例肝组织在40倍物镜下连续观察50个视野。每个视野按含脂滴的肝细胞稀少，为0分；不超过1/4，为1分；不超过1/2，为2分；不超过3/4，为3分；肝组织几乎被脂滴代替，为4分的标准进行计分。所有视野分数的平均值作为该例肝组织的脂肪染色评分。

1.4 所用试剂

丙二醛（MDA）及还原型谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所，甘油三酯（TG）检测试剂盒购自四川省迈克科技有限责任公司，无水乙醇（分析纯）购自重庆川东化工有限公司。

1.5 数据处理

结果数据用$\bar{x} \pm s$表示，两组间比较用t检验。

2 结果

2.1 对大鼠肝匀浆MDA、GSH、TG含量的影响

由表1可见，受试物3个剂量组的肝匀浆MDA和TG含量与模型对照组比较均显著降低（$P<0.05$，$P<0.01$），GSH含量与模型对照组比较有显著升高（$P<0.01$），且均呈剂量-效应关系。

（下转824页）

作者简介：梁 鑫（1978-），男，四川省盐亭县人，硕士研究生，主要从事保健食品开发及动物生化制药方面的研究。E-mail: liangxin13@yahoo.com.cn

通讯作者：魏 泓，E-mail: weihong@mail.tmmu.com.cn

收稿日期：2004-12-20；修回日期：2005-02-18

列，即可用来转染适当的包装细胞如293或911细胞，得到表达外源基因的重组腺病毒，该方法简化了实验步骤，缩短了载体构建周期。

实验成功构建了携带人survivin基因的重组腺病毒载体，并获得了较高的病毒滴度，这对利用构建的重组腺病毒转染树突状细胞，希望能在靶部位获得长期而高效的表达，达到携带肿瘤抗原基因的目的奠定了基础。

参考文献：

[1] Zeis M, Siegel S, Wagner A, *et al*. Generation of cytotoxic responses in mice and human individuals against hematological malignancies using survivin-RNA-transfected dendritic cells[J]. J Immunol, 2003, 170(11): 5391－5397.

[2] Heiser A, Maurice M A, Yancey D R, *et al*. Human dendritic cells transfected with renal tumor RNA stimulate polyclonal T-Cell responses against antigens expressed by primary and metastatic tumors[J]. Cancer Res, 2001, 61(8): 3388－3393.

[3] Ambrosini G, Adida C, Altieri D C. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. Nat Med, 1997, 3(8): 917－921.

[4] Altieri D C. Validating survivin as a cancer therapeutic target[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(1): 46－54.

[5] Schmitz M, Diestelkoetter P, Weigle B, *et al*. Generation of survivin specific CD8-T effector cells by dendritic cells pulsed with protein or selected peptides[J]. Cancer Res, 2000, 60(17): 4845－4849.

[6] 张 华，寿成超. 人源分泌型血管内皮细胞生长因子受体flt-1(Ⅰ－Ⅳ区)的基因克隆及其腺病毒载体的构建和表达[J]. 生物化学与生物物理进展，2002，29(4)：625－630.

[7] Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha[J]. Exp Med Volume, 1994, 179(4): 1109－1118.

[8] Olie R A, Simoes Wust A P, Baumann B, *et al*. A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy[J]. Cancer Res, 2000, 60(11): 2805－2809.

（编辑 薛国文）

（上接820页）

表1 对肝匀浆MDA、GSH、TG含量的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别（$n=12$）	MDA（mmol/g）	TG（mmol/g）	GSH（μmol/g）
阴性对照组	0.99±0.22	1.55±0.33	1.92±0.30
模型对照组	2.31±0.29##	1.95±0.33##	0.95±0.31##
88（mg/kg）	1.63±0.39**	1.69±0.21*	1.64±0.32**
175（mg/kg）	1.49±0.21**	1.54±0.33**	1.75±0.32**
350（mg/kg）	1.36±0.27**	1.50±0.19**	1.86±0.52**

与阴性对照组比较，##：$P<0.01$；与模型组比较，*：$P<0.05$，**：$P<0.01$

2.2 肝脏组织脂肪染色评分结果

表2 大鼠肝脏组织病理学检查结果（$\bar{x} \pm s$）

组别（$n=12$）	阴性对照组	模型对照组	88（mg/kg）	175（mg/kg）	350（mg/kg）
脂肪染色得分	0.42±0.51	3.00±0.74##	2.13±1.11*	2.11±0.83*	2.03±0.72*

与阴性对照组比较，##：$P<0.01$；与模型组比较，*：$P<0.05$

由表2可见：受试物各剂量组肝细胞脂肪变性评分较模型对照组显著性降低（$P<0.05$），说明能减轻急性乙醇中毒导致的肝细胞脂肪变性和细胞内的脂滴沉积。

3 讨论

乙醇是一种典型的肝毒物质，短时和长期大量摄入都会导致肝损伤作用。乙醇大量进入机体后可被脱氢氧化为乙醛和乙酸盐，导致三羧酸循环障碍和脂肪酸氧化减弱，使脂肪在肝细胞中沉积，同时血清中TG也明显升高。乙醛和乙醇代谢过程能导致氧化应激和脂质过氧化，同时消耗肝细胞的GSH和维生素E等抗氧化剂。此外，还有报道在乙醇性肝损伤动物模型和人类乙醇性肝病中发现其肝组织和血清肿瘤坏死因子-α等细胞因子明显增加[2]。不少研究表明，乙醇诱发急性肝损伤模型以肝和血中的某些化学指标改变为其主要特征，如MDA和TG显著升高、GSH明显降低、肝组织脂滴显著增加等，而血清转氨酶和肝组织结构改变却不明显[3]。

研究对乙醇性肝损伤有保护作用的药剂和保健食品是近年来备受关注。葛根是我国传统的解酒中药之一，研究认为其主要有效成分是葛根素的主要作用方式是清除自由基和抗氧化[4]。哺乳动物胚胎及幼仔肝脏用物理方法分离的低分子提取物能促进肝细胞DNA合成，加快肝细胞再生，文献[5]报道牛肝提取物对四氯化碳诱发小鼠急性肝损伤有保护作用。而羊肝提取物和葛根素对大鼠乙醇急性肝损伤的保护作用少见报道。我们选取了两者的混合物为主要原料，开发成胶囊剂以期作为一种对乙醇性肝损伤有保护作用的保健食品。实验结果表明该护肝胶囊能使乙醇诱发的急性肝损伤大鼠的脂肪代谢异常明显减轻并缓解乙醇造成的过氧化作用。而各项相关毒理实验也表明其安全性良好，具有深入开发应用的价值，其对慢性乙醇性肝损伤的保护作用也值得研究。

关键词：乙醇；急性肝损伤；护肝胶囊

中图法分类号：R975.5 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] 张会香，刘邻渭，杨世军. 解酒药剂及保健食品的研究进展[J]. 天然产物研究与开发，2002，14(2)：83－86.

[2] Kishore R, Hill J R, McMullen M R, *et al*. ERK1/2 and Egr-1 contribute to increased TNF-α production in rat Kupffer cells after chronic ethanol feeding[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002, 282(1): G6－G15.

[3] 唐云安，刘玉清，王国钦. 肝损伤动物模型研究进展[J]. 卫生毒理学杂志，2002，16(4)：236－238.

[4] 宋浩亮，陈士林，黄梦雨，等. 葛根素对酒醉小鼠行为学及抗氧化作用的研究[J]. 现代中药研究与实践，2003，17(3)：36－37.

[5] 陈冠敏，黄宗锈，何 聆，等. 牛肝提取物对四氯化碳诱发小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 卫生毒理学杂志，2001，15(3)：189－190.

（编辑 栾 嘉）