doi:10.11659/jjssx.11E018116

·基础研究·

土大黄煎剂对肝癌小鼠的抗肿瘤作用分析

杨晓鹤,李泽斌,叶 翔,蔡 丹,文 艺,贺气志 (长沙医学院基础医学院,湖南 长沙 410219)

[摘 要] **目的** 探讨不同浓度的土大黄煎剂对肝癌小鼠的缓解疗效,为中药土大黄治疗肝癌提供理论依据。**方法** 将小鼠随机分为5组:阴性对照组,阳性对照组,土大黄高、中、低剂量(300、240、200 mg/kg)组。除阴性对照组外的其余4组建立肝癌H22肿瘤模型,采用灌胃给药,观察土大黄煎剂对H22荷瘤小鼠肿瘤生长、生存周期的影响;ELISA法测定外周血中TNF-α和VEGF含量;HE染色法观察肿瘤细胞形态的变化;免疫组化检测肿瘤细胞凋亡及细胞周期;计算脾指数观察免疫系统功能。**结果** 土大黄煎剂显著延长H22荷瘤小鼠生存期并抑制肿瘤生长,促进癌细胞凋亡,缩短癌细胞周期。随着土大黄煎剂剂量的增加,肿瘤质量逐渐减轻,抑瘤率逐渐增加,组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 不同浓度的土大黄煎剂对肝癌有一定的抑制作用,其作用强弱与浓度有关。

[关键词] 肝癌;肝癌手术;土大黄;免疫功能;细胞凋亡
[中图分类号] R392.31;R361 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-11-27

Curative effect of Rhubarb decoction on mice with primary liver cancer

YANG Xiao-he, LI Ze-bin, YE Xiang, CAI Dan, WEN Yi, HE Qi-zhi (School of Basic Medicine, Changsha Medical University, Changsha Hunan 410219, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of different concentrations of Nepal Dock Root decoction on the relief of mice with primary liver cancer. **Methods** Mice were randomly divided into 5 groups: negative control group, positive control group and nepal dock root decoction groups included high dose group (300 mg/kg), medium dose group (240 mg/kg) and low dose group (200 mg/kg). The experimental group established a liver cancer H22 tumor model, and used gavage to observe the effect of nepal dock root decoction on tumor mass and survival cycle of H22 tumor-bearing mice. The content of TNF-α and VEGF in peripheral blood were determined by ELISA. HE staining were taken to observe the morphology of tumor cells. Immunohistochemistry was used to detect tumor cell apoptosis and cell cycle. The spleen index was calculated to observe the immune system. **Results** Nepal dock root decoction significantly prolonged the survival of H22 tumor-bearing mice and inhibited tumor growth ($P<0.01$), which promoted cancer cell apoptosis and shortened cancer cell cycle. With the increase of the dosage of rhubarb decoction, the tumor quality gradually decreased and the inhibitory rate gradually increased, the difference between groups was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Different concentrations of nepal dock root decoction have certain inhibitory effects on primary liver cancer, and the intensity is related to concentration.

Keywords: liver cancer; liver cancer surgery; rumex madaio; immunologic function; apoptosis

肝癌按传统解剖分型分为结节型、巨块型和弥漫型;按解剖后肿瘤的大小,可分为微小肝癌(直径小于等于2 cm)、小肝癌(直径2~5 cm)、大肝癌(直径5~10 cm)和巨大肝癌(直径大于10 cm)。现临床上常用的治疗肝癌的方法为手术切除,适用于单发的微小肝癌、小肝癌、肝组织损伤小于30%的单发大肝癌或巨块肝癌;而晚期、有远处转移、无手术指征的患者只能采取保守治疗,这导致肝癌在国际与国内均成为发病率高、治愈率低、病死率高的恶性肿瘤[1-4]。随着医学的发展,手术结合中药治疗已成为一种治疗肝癌的趋势,手术前后适当应用中药可起到减少术后并发症,提高术后存活率的作用[5]。中药土大黄是蓼科酸模属植物的根及根茎,其化学成分白藜芦醇及其苷通过协调基因的表达平衡来抑制及逆转肝癌细胞的起始、增殖与发展[6-8]。因此,进一步探讨土大黄对肝癌小鼠的疗效,无论是对中药土大黄的开发与利用,还是对手术治疗肝癌成功率的提高都具有重要意义。因此,本研究建立H22肝癌荷瘤小鼠模型,探讨土大黄煎剂的抗肝癌作用[9-11]。

1 材料与方法

1.1 动物与细胞

KM小鼠60只,体质量(19±4)g,雌雄各半,年龄6周龄,清洁级,由长沙市开福区湘辰生物技术提供。H22荷瘤小鼠肝癌细胞株由长沙市开福区博涵生物试剂公司提供。

[基金项目] 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目[湘教通(2017)205号文件-838号]

[通信作者] 贺气志,E-mail:314190831@qq.com

1.2 药品与试剂

土大黄购于亳州市草花堂花茶销售有限公司,经鉴定为蓼科植物酸模属巴天酸模的根;血管内皮生长因子(VEGF)ELISA 试剂盒及 TNF-α ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司;离心机购自上海科学仪器厂;光学显微镜购自广州光学仪器厂;Mettler Toledo 电子天平 AL204101 购自上海有限公司;小鼠灌胃针与 1 mL 注射器由长沙医学院省重点建设学科实验室提供。

1.3 土大黄煎剂制备

按传统中药水煎法,分别称取土大黄生药 30 g、24 g、20 g 加 10 倍于药材的蒸馏水,60 ℃温水浸泡 30 min,煮沸到 100 ℃后转微火煮 30 min,制成水煎剂,滤除药渣,将药液浓缩成 100 mL,制得含生药量为 300 mg/mL、240 mg/mL、200 mg/mL 3 个浓度的煎剂,4 ℃冰箱保存备用。

1.4 建模、分组及给药

对冻存的腹水型肝癌 H22 细胞株进行预处理,取出含有 1×10^5 个瘤细胞的 500 mL 细胞悬液,放入高速离心机内离心 3 次(1 000 r/min,5 min),倾倒上层清液,吸出下层液体于试管中,向试管内加蒸馏水至 30 mL,每只小鼠腹腔注射 0.6 mL,共接种 48 只(雌雄各 24 只),其余 12 只不接种肝癌细胞,以相同条件饲养作阴性对照。注射后,常规饲养,观察 28 d。

造模成功 28 d 后,将小鼠按照单盲法随机分为 4 组:阳性对照组、土大黄高、中、低剂量组,每组12 只,雌雄各 6 只,分笼喂养,同时取正常小鼠 12 只(雌雄各 6 只)作为阴性对照组。其中土大黄高、中、低浓度组每次以 300、240、200 mg/kg 土大黄煎剂 0.6 mL 灌胃;阴性对照组和阳性对照组每次灌胃 0.6 mL 的生理盐水;每日 2 次,共计 21 d。

1.5 取材及处理

各组小鼠连续给药 21 d 后,取小鼠眼眶内不抗凝血 2 mL,所取小鼠血液均在 2 h 内用于 TNF-α 和 VEGF 含量的检测。迅速颈椎处死小鼠,取出脾及瘤块,弃去周围杂质,立即置于分析天平上称取重量,1 h 内结束。称取结束后,将瘤块分为两等份,一份石蜡包埋制成切片,用于显微镜观察;一份制成细胞悬液,置于4 ℃冰箱内,用于细胞检测。

1.6 测定指标及方法

1.6.1 外周血中 TNF-α 和 VEGF 含量的测定 外周血中 TNF-α 和 VEGF 含量的测定采用 ELISA 法,取小鼠眼眶内眼球血 2 mL,3 000 r/min 离心 5 min,离心后去血清,-20 ℃保存。酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定外周血 TNF-α 和 VEGF 水平,并记录其数值。

1.6.2 肿瘤组织切片观察 取肿瘤肿块周围肝组织作完整、连续的肿瘤连续切片,厚度为 5 ~ 10 mm,采用自动脱水机对切片进行组织脱水、透明、浸蜡;包埋时使用清洁玻璃板与大型包埋框,肿瘤组织紧贴于框架底部且平整,然后再向框内补充包埋蜡液,包埋温度控制在 60 ℃左右;用 Leica2135 型切片机,将蜡块切成厚度为4 μm的蜡片,将蜡块平铺于水中,待其充分展开后弃去水分,放入 80 ℃的烘箱中烘 30 min,然后进行 HE 染色;最后,进行脱蜡染色,用中性树胶对切片进行密封。

1.6.3 细胞凋亡与细胞周期检测 取离体 1 h 内肿瘤组织 0.5 g,剪碎、研磨、PBS 液冲洗单细胞制成细胞悬液,将 200 目尼龙网筛滤入烧杯中,用 70% 乙醇固定,置于 4 ℃冰箱内,12 h 后取出,洗涤、离心出 1×10^6 个单细胞,加 0.02% TritonX-100 液、100 U/mL 的 RNA 酶液及 PI 染液进行 DNA 染色,置冰浴中待测。用流式细胞仪记录细胞周期,检测肝癌细胞凋亡百分比变化。

1.6.4 小鼠体质量、瘤重及抑瘤率 共给药 21 d,给药结束 6 h 后,使用电子秤与烧杯秤取小鼠体质量;颈椎脱臼,处死小鼠,剖腹取出瘤块,用分析天平称瘤块重量,即肿瘤瘤重。根据抑瘤率公式:100% ×(阳性对照组瘤重 - 中药组瘤重)/阳性对照组瘤重,取平均值。

1.6.5 免疫脏器(脾)重量 剖腹取出肿瘤瘤块后,摘取小鼠脾,置于分析天平上称重,记录数值,脾指数 =(脾质量/小鼠体质量)×1 000,计算脾指数。

1.7 统计学方法

用 SPSS 22.0 进行分析,数据以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,经方差性检验和正态性检验后,采用 t 检验方法统计;方差不齐或非正态时,采用 Wilconxon 检验,$P<0.05$ 提示差异有统计学意义,$P<0.01$ 提示差异有极显著性统计学意义。

2 结果

2.1 外周血中 TNF-α 和 VEGF 含量

阳性对照组的外周血 TNF-α 值最高,与阳性对照组相比,土大黄煎剂中、高剂量组的 TNF-α 值有明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$);而低剂量组的 TNF-α 值组与阳性对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$),说明高剂量组小鼠免疫系统功能最强,被肿瘤细胞侵袭破坏程度最低[12]。小鼠外周血中 VEGF 的含量,阳性对照组明显高于其余各组,且各组之间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。阳性对照组 VEGF 值高于低剂量组,低剂量组 VEGF 值高于中剂量组,中剂量组 VEGF 值高于高剂量组,高剂量组

VEGF 值高于阴性对照组(表 1)。结果显示,在建造肝癌模型 H22 荷瘤小鼠的组别中,以高浓度组的 VEGF 值最低,所以高浓度的土大黄煎剂可以通过降低 VEGF 抑制血管内皮因子增生,阻止肿瘤内血管生成,控制癌细胞转移。

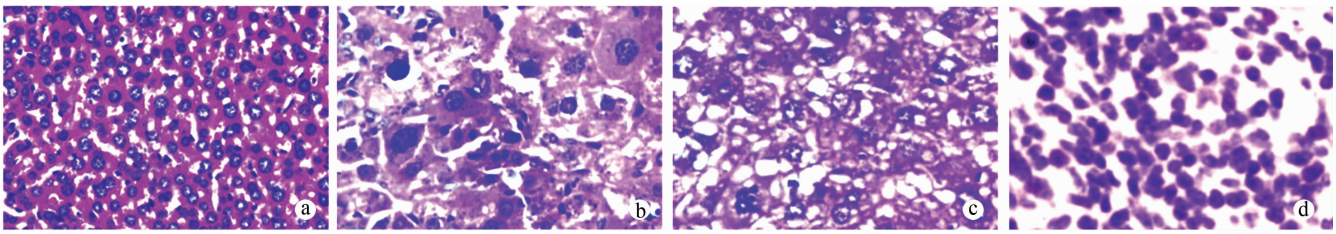
2.2 各组小鼠肝癌细胞切片的观察比较

对肿瘤组织病理切片显微观察发现,模型组与高、中、低剂量组存在显著差别,在土大黄喂养组之间又存在着差别。阳性对照组肿瘤细胞呈簇状分布,腺状紧密排列;低浓度组比模型组显著改善,肿瘤细胞密度相对降低,抱团现象明显改善,可见片状坏死;中浓度土大黄煎剂作用后,肿瘤细胞坏死情况更加明显;在高浓度的土大黄煎剂作用下,肿瘤细胞分布显著改善,细胞形状更小,分散分布,可见大片凋亡细胞(图 1)。

表 1 外周血中 TNF-α 和 VEGF 含量的测定($n=12$)

组别	土大黄剂量(mg/mL)	TNF-α(μg/mL)	VEGF(pg/mL)
阴性对照组		25.0 ± 0.4	5.5852 ± 3.3465
阳性对照组		33.7 ± 0.3	34.3856 ± 5.3703
低剂量组	200	30.2 ± 0.7	28.4662 ± 3.6790 *
中剂量组	240	27.9 ± 0.3 *	24.5327 ± 1.4771 *#
高剂量组	300	26.5 ± 0.6 *	19.7254 ± 0.9368 *#△

*:与阳性对照组比较,$P<0.05$;#:与低剂量组相比,$P<0.05$;△:与中剂量组相比,$P<0.05$



a:阳性对照组;b:低剂量组;c:中剂量组;d:高剂量组

图 1 肿瘤组织病理切片观察(HE ×200)

2.3 细胞凋亡与细胞周期检测

阳性对照组的凋亡细胞百分率最低,与高、中、低剂量组比较差异有统计学意义($P<0.05$),呈倍数关系,土大黄煎剂高剂量组、中剂量组、低剂量组分别是阳性对照组的 8、5、3 倍。各组小鼠 S 期在细胞周期的占比差异显著,高剂量组该期占比最多,中剂量组低于高剂量组,高于低剂量组,阳性对照组占比最少。在 $G_0 \sim G_1$ 期和 $G_2 \sim M$ 期细胞组间差异无统计学意义($P>0.05$)。结果表明,土大黄煎剂能启动肿瘤细胞的凋亡机制,促使肿瘤细胞提前开始自然凋亡,杀死肿瘤细胞,减少肿瘤细胞的数量。通过延长细胞分裂周期中的 S 期,提高 S 期在细胞分裂中所占的比例,使肿瘤生长速度减慢(表 2)。

表 2 细胞凋亡及细胞周期各时期所占百分比比较($n=12$)

组别	细胞凋亡	细胞周期(%)		
		$G_0 \sim G_1$	S	$G_2 \sim M$
阳性对照组	3.628 ± 2.150	70.77 ± 13.21	15.33 ± 6.10	13.62 ± 7.95
低剂量组	10.670 ± 2.318 *	63.26 ± 9.38	24.28 ± 5.76 *	11.28 ± 5.73
中剂量组	15.457 ± 2.395#	57.50 ± 5.56	33.07 ± 4.67#	9.44 ± 4.09
高剂量组	24.296 ± 2.748△	46.13 ± 6.39	38.61 ± 8.43△	15.27 ± 7.11

*:与阳性对照组对比,$P<0.05$;#:与低剂量组对比,$P<0.05$;△:与中剂量组对比,$P<0.05$

2.4 体质量、肿瘤质量、抑瘤率比较

各组小鼠实验后体质量比较,差异无统计学意义($P>0.05$);肿瘤质量阳性对照组最高,高于低剂量组;低剂量组高于中剂量组;中剂量组高于高剂量组,且各组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。抑瘤率高剂量组达到 48.59%,中剂量组抑瘤率为 28.17%,低剂量组抑瘤率为 13.38%,各组之间差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。此项结果从形态学的角度上表述了土大黄煎剂对肿瘤的作用。结果表明,在特定的范围内,土大黄对腹水型肝癌具有抑制作用。

表 3 各组小鼠体质量、肿瘤质量及抑瘤率($n=12$)

组别	体质量(g)		肿瘤质量(g)	抑瘤率(%)
	实验前	实验后		
阴性对照组	24.85 ± 0.56	28.25 ± 0.82		
阳性对照组	25.13 ± 0.81	29.58 ± 2.71	1.42 ± 0.15	
低剂量组	24.73 ± 0.59	28.50 ± 1.42	1.23 ± 0.12 *	13.38
中剂量组	24.55 ± 0.60	27.46 ± 1.83	1.08 ± 0.14 *#	28.17 *
高剂量组	25.20 ± 0.58	28.39 ± 1.35	0.73 ± 0.20 *#△	48.59#

*:与阳性对照组相比,$P<0.05$;#:与低剂量组相比,$P<0.05$;△:与中剂量组相比,$P<0.05$

2.5 免疫脏器(脾)指数比较

脾重量及脾指数比较见表 4。低剂量组显著高于阳性对照组;并且低剂量组显著低于高剂量组与中剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$)。由此表明,土大黄煎剂通过激活免疫系统,启动免疫反应,增加免疫器官活跃度,改善身体的免疫机制,以此达到提高机体自身抗癌抗感染的目的,有“健脾”的功效。

表 4 各组小鼠免疫器官比较($n=12$)

组别	脾重量(mg/10g)	脾指数
阳性对照组	0.212 ± 0.036	7.16 ± 1.58
低剂量组	0.240 ± 0.039 *	8.42 ± 1.48 *
中剂量组	0.273 ± 0.050#	9.94 ± 1.66#
高剂量组	0.325 ± 0.041	11.45 ± 2.03△

*:与阳性对照组相比,$P<0.05$;#:与低剂量组比较,$P<0.05$;△:与中剂量组比较,$P<0.05$

3 讨论

肝癌是发病率及病死率均较高的恶性肿瘤,GLOBOCAN 2012 估计 2012 年世界肝癌发病 782 451 例,其中中国发病 394 770 例[13-15]。肝癌患者被确诊,处于早中期时,虽有手术指征,但术后生存率低,5 年生存率为 30% ~50%[16-17];被确诊处于进展期或晚期时,无手术指征,仅能靠抗癌药物维持生命体征。现临床上公认最有效的抗癌药物为亚德里亚霉素(DOX),但其治疗的疗效仍受剂量依赖性和毒副作用的限制[18]。土大黄为中药制剂,在发挥抗肿瘤作用时,可保护机体免疫器官,毒副作用小,可通过抑制肝癌细胞扩散、转移来优化肝癌分期,提高术后存活率。综合国内外文献发现,土大黄应用率较低,应用品种开发不全,作用范围局限,临床上单味药、复方制剂缺乏,使得土大黄的药理作用并没有充分发挥[19]。本实验通过研究土大黄对肝癌小鼠的影响,为临床上应用土大黄治疗肝癌提供理论依据。

胸腺是机体最重要的免疫脏器,通过胸腺指数可直接观察出机体免疫水平的高低[20-21]。临床上大部分抗癌西药对机体免疫系统损伤很大,因为其在杀死肿瘤细胞发挥作用的同时,也会杀死正常细胞,从而造成胸腺指数、脾指数等免疫指标的异常[22]。本研究结果表明,给予土大黄煎剂 300、240、200 mg/kg 的小鼠脾指数明显升高,数值随着浓度的增加而增大,300 mg/kg组小鼠脾指数最高。可见土大黄在发挥抗肿瘤作用时,不仅不会损害免疫系统,而且对机体免疫系统还有一定保护作用,其作用强弱与药物浓度相关。

细胞凋亡是正常细胞发育中受到生理、生化及有毒物质的内外信号刺激,产生反应,触发细胞内死亡程序,精准调控细胞死亡的过程。细胞凋亡和细胞增殖之间的平衡在器官发育及维持其大小中起着重要的作用;而肿瘤的发生抑制了正常细胞的凋亡过程,破坏了细胞增殖与细胞凋亡之间的平衡[23]。中药土大黄可以促进肝癌细胞凋亡,达到抑制肝癌细胞扩散的效果。4 组小鼠细胞凋亡结果显示,高浓度组的细胞凋亡最高达到 24.29%,中剂量组低于高剂量组,高于低浓度组;低剂量组又要比阳性对照组更高,表明土大黄煎剂可以促进细胞凋亡的进程,且浓度越高效果越强。

VEGF 及其受体是公认的介导新生血管形成的重要因素,其促使血管内皮细胞有丝分裂,并最终形成新生血管,是刺激肿瘤血管生成的最强细胞因子。有研究表明 VEGF 的表达与肝癌的进展、转移密切相关[23]。本实验对 5 组小鼠的 VEGF 水平进行了研究,测出其数值发现,在用药后,低剂量组 VEGF 值显著降低,中剂量组要低于低剂量组,高剂量组低于中剂量组。其原因可能为土大黄在抑制肝癌的过程中,通过抑制肿瘤 VEGF 值,阻断肿瘤血液供应,减慢肿瘤生长速度,促进癌细胞自然凋亡。

[参考文献]

[1] 魏矿荣,彭侠彪,梁智恒,等. 全球肝癌流行概况[J]. 中国肿瘤,2015,24(8):621 -630. doi:10.11735/j.issn.1004 -0242.2015.08.A001.

[2] 吕桂帅,陈 磊,王红阳. 我国肝癌研究的现状与进展[J]. 生命科学,2015,27(3):237 -248. doi:10.13376/j.cbls/2015034.

[3] 张明媛,牛俊奇. 东方国家原发性肝癌发病趋势及影响因素[J]. 临床肝胆病杂志,2018,34(7):1399 -1402. doi:10.3969/j.issn.1001 -5256.2018.07.007.

[4] 陈建国,朱 建,张永辉,等. 肝癌流行趋势的改变:基于启东 40 年癌症登记资料的分析[J]. 中国肿瘤,2014,23(8):621 -628. doi:10.11735/j.issn.1004 -0242.2014.08.A001.

[5] 韩中颖,韩 政,祝峻峰. 中医药治疗原发性肝癌临床研究进展[J]. 长春中医药大学学报,2016,32(2):426 -429. doi:10.13463/j.cnki.cczyy.2016.02.079.

[6] 张 燕,李治建,夏木西努尔·肖盖提,等. 土大黄化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药药理与临床,2012,28(3):173 -176. doi:10.13412/j.cnki.zyyl.2012.03.011.

[7] Sha N,Guan SH,Lu ZQ,et al. Cytotoxic constituents of chinese propolis[J]. J Nat Prod,2009,72(4):799 -801. doi:10.1021/np900118z.

[8] 王 征,罗泽民,邓林伟. 白藜芦醇的药理作用机理和合成途径[J]. 天然产物研究与开发,2003,15(2):178 -181. doi:10.3969/j.issn.1001 -6880.2003.02.025.

[9] 李 顺,陈丽香,彭秀华. 小鼠肝癌模型研究展望[J]. 中国实验动物学报,2016,24(2):213 -216. doi:10.3969/.issn.1005 -4847.2016.02.020.

[10] 顾洪伟,陈 琦,张 炜,等. 小鼠原发性肝癌建模方法的优化[J]. 中国实验动物学报,2016,24(1):20 -24. doi:10.3969/j.issn.1005 -4847.2016.01.004.

[11] 柏 灿,王 颖,贾亚妹,等. 不同浓度 H22 肝癌细胞株对 C57BL/6J 小鼠原位肝癌造模差异的影响[J]. 成都中医药大学学报,2015,38(4):26 -29. doi:10.13593/j.cnki.51 -1501/r.2015.04.026.

[12] 徐 丽. 五味子多糖对肝癌小鼠血清 IL-6、TNF-α、VEGF 表达的干预作用[J]. 中国实用医刊,2013,40(15):18 -19. doi:10.3760/cma.j.issn.1674 -4756.2013.15.008.

[13] Chen WQ, Zhang SW, Zeng XN. Cancer incidence and mortality in China,2006[J]. Chin J Cancer Res,2011,23(1):3 -9. doi:10.1007/s11670 -011 -0003 -9.

[14] 王永红,魏丽娟,刘俊田,等. 发达与发展中国家癌症发病率与死亡率的比较与分析[J]. 中国肿瘤临床,2012,39(10):679 -682. doi:10.3969/j.issn.1000 -8179.2012.10.014.

[15] 陈建国. 中国肝癌发病趋势和一级预防[J]. 临床肝胆病杂志,2012,28(4):256 -260. doi:10.3969/j.issn.1001 -5256.2012.04.006.

[16] 张 璐. 癌症患者住院病志中 TNM 分期执行情况分析[J]. 中国肿瘤,2015,24(1):42 -44. doi:10.11735/j.issn.1004 -0242.2015.01.A009.

[17] 蔡永娥. 我国原发性肝癌研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2018,16(1):141 -143. doi:10.3969/j.issn.1672 -4992.2008.01.062.

doi:10:11659/jjssx.12E018097

·基础研究·

山萘酚对皮肤瘢痕大鼠模型 α-SMA 蛋白及相关炎性因子表达的影响

陈志勇,余雪丰,黄洁清,刘姗姗,李栋梁 (重庆市涪陵中心医院烧伤整形科,重庆 涪陵 408099)

[摘 要] **目的** 研究山萘酚对皮肤瘢痕大鼠模型 α 平滑肌肌动蛋白(α-SMA)及白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、γ-干扰素(IFN-γ)表达的影响。**方法** 选取 SD 健康大鼠 30 只,将大鼠平均分成 3 组(每组 10 只),分别为空白组、模型组和治疗组;对空白组大鼠不做任何处理,模型组和治疗组大鼠进行建模处理。对治疗组创面周围涂抹山萘酚溶液,7 d 后观察大鼠的皮肤损伤面积和瘢痕面积,酶联免疫吸附测定 IL-2、IL-6 和 IFN-γ 水平。**结果** 在进行干预后,治疗组大鼠皮肤组织的真皮层和表皮层相比模型组大鼠厚度明显减少,且胶原的排列较为规则;在 3 组大鼠皮肤组织免疫组化染色图像中,可见治疗组大鼠皮肤组织中的 α-SMA 蛋白阳性表达明显低于模型组($P<0.05$);治疗组大鼠的 α-SMA 蛋白表达明显低于模型组大鼠($P<0.05$)。治疗组大鼠皮肤组织中 IL-2 和 IFN-γ 水平明显高于模型组大鼠,IL-6 水平明显低于模型组大鼠($P<0.05$)。**结论** 山萘酚对皮肤瘢痕大鼠具有一定的治疗效果,可以减小瘢痕面积,同时降低 α-SMA 的阳性表达率,改善炎性反应。

[关键词] 山萘酚;皮肤瘢痕;α 平滑肌肌动蛋白;炎性细胞因子;免疫调节因子
[中图分类号] R658.3 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-12-13

Effect of kaempferol on expression of α-SMA protein and related inflammatory factors in rat model of skin scar

CHEN Zhi-yong, YU Xue-feng, HUANG Jie-qing, LIU Shan-shan, LI Dong-liang (Department of Burn and Plastic Surgery, Fuling Central Hospital in Chongqing, Chongqing 408099, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of kaempferol on the expression of α-smooth muscle actin (α-SMA), interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6) and interferon-γ (IFN-γ) in skin scar rats. **Methods** Thirty healthy SD rats were selected and divided into three groups, 10 rats in each group, namely blank group, model group and treatment group. Rats in blank group were not treated, while rats in model group and treatment group were modeled. In the treatment group, kaempferol solution was applied around the wound. After 7 days, the area of skin injury and scar in rats were observed. The levels of IL-2, IL-6 and IFN-γ were measured by ELISA. **Results** After intervention, the thickness of dermis and epidermis in the treatment group was significantly less than that in the model group, and the collagen arrangement was more regular. In the immunohistochemical staining images of skin tissues of rats in the three groups, the positive expression of α-SMA protein in the treatment group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$). The expression of α-SMA protein in the treatment group was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$). The levels of IL-2 and IFN-γ in the skin tissue of rats in the treatment group were significantly higher than those in the model group, and the level of IL-6 was significantly lower than that in the model group ($P<0.05$). **Conclusion** Kaempferol has a certain therapeutic effect on skin scar rats. It can reduce the scar area, decrease the positive expression rate of α-SMA and improve the inflammatory reaction.

Keywords: naphthol; skin scars; α-smooth muscle actin; inflammatory cytokines; immunomodulatory factor

[基金项目] 重庆市涪陵区科技计划项目(FLKJ2016ABB067)
[通信作者] 李栋梁,E-mail:flzxmr@163.com

[18] Arunraj TR, Sanoj Rejinold N, Ashwin Kumar N, et al. Bio-responsive chitin-poly(L-lactic acid) composite nanogels for liver cancer[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014, 34(7): 113-115. doi:10.1016/j.colsurfb.2013.09.023.

[19] 热比姑丽·伊斯拉木,斯拉甫·艾白. 土大黄研究进展[D]. 新疆科技导报, 2013, 29(19): 68-71. doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2013.30.010.

[20] 邵世祥,王子鑫,毕 磊. 五倍子散配合华蟾素注射液治疗原发性肝癌 51 例[J]. 试用中医内科杂志, 2006, 20(1): 93. doi:10.3969/j.issn.1671-7813.2006.01.099.

[21] 陈洪国,杜晓军. 内外合治中晚期肝癌 30 例[J]. 山西中医, 2005, 21(5): 15-16. doi:10.3969/j.issn.1000-7156.2005.05.007.

[22] 洪 阁,沈 秀,刘培勋,等. 槐属植物生物碱衍生物施普睿达抗肿瘤作用的研究[J]. 天津药学, 2006, 18(6): 4-6. doi:10.3969/j.issn.1006-5687.2006.06.002.

[23] 孙 燕,张爱琴,郜飞宇. 芍药软肝合剂对荷 H22 肝癌小鼠免疫功能及 VEGF、PCNA 表达的影响[J]. 中国中医急症, 2015, 24(4): 590-592. doi:10.3969/j.issn.1004-745X.2015.04.008.

(编辑:魏 源)