

双环醇对小鼠日本血吸虫病肝纤维化即早基因与TGF- β 1、TIMP1及胶原表达的影响

何生松, 徐标, 韩春荣

■背景资料

日本血吸虫病肝纤维化是导致门静脉高压、腹水和上消化道出血的主要原因,也是日本血吸虫病患者死亡的主要原因。目前国内外尚无理想的抗纤维化药物。近年研究发现,肝纤维化时过度表达的即早基因*c-fos*与*c-jun*产物可促进肝纤维化发展。

何生松, 徐标, 韩春荣, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科 湖北省武汉市 430022

何生松, 主任医师, 博士生导师, 主要从事病毒性肝炎、血吸虫病、酒精性肝病方面的研究。

通讯作者: 何生松, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科, shengshe168@yahoo.com.cn

电话: 027-85726132

收稿日期: 2007-09-19 修回日期: 2007-12-04

Effect of bicyclol on the expression of hepatic immediate early genes, TGF- β 1, TIMP1 and collagen in liver tissues of mice infected with *Schistosoma japonicum*

Sheng-Song He, Biao Xu, Chun-Rong Han

Sheng-Song He, Biao Xu, Chun-Rong Han, Department of Infectious Diseases, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Sheng-Song He, Department of Infectious Diseases, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. shengshe168@yahoo.com.cn
Received: 2007-09-19 Revised: 2007-12-04

Abstract

AIM: To study the therapeutic effect of bicyclol on schistosome-infected mice with liver fibrosis and its mechanism.

METHODS: Eighty mice were divided into four groups. Mice in the low-dose, high-dose and experimental control groups were infected with *Schistosoma japonicum*. After eight weeks, the low-dose and high-dose groups were treated with bicyclol at 60 mg (kg \cdot d) and 120 mg (kg \cdot d), respectively, for 8 weeks. The experimental control group received no treatment. The fourth group was a normal control group. HE staining, RT-PCR and immunohistochemistry were used to observe the pathological changes in liver tissues of mice, the expression levels of hepatic *c-fos* and *c-jun* mRNAs, and the levels of hepatic transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), tissue inhibitor of

metalloproteinase 1 (TIMP1), and types I and III collagen, before and after treatment.

RESULTS: Bicyclol treatment at a high dosage significantly relieved the degree of hepatic fibrosis compared with the experimental control group. The mRNA expression levels of *c-fos* and *c-jun* in liver tissue were significantly reduced in the high-dose group compared with the experimental control and low-dose groups (*c-fos* mRNA: 0.6511 ± 0.0551 vs 0.7844 ± 0.0852 , 0.8072 ± 0.0923 ; *c-jun* mRNA: 0.6803 ± 0.0712 vs 0.7982 ± 0.0902 , 0.8289 ± 0.094). The levels of hepatic TGF- β 1, TIMP1 and types I and III collagen in the high-dose bicyclol treated group (integral light density: 0.1815 ± 0.0231 , 0.2324 ± 0.0536 , 0.1811 ± 0.0514 , 0.1543 ± 0.0603) were significantly lower than those in the experimental control group (0.2139 ± 0.0134 , 0.2648 ± 0.0361 , 0.2140 ± 0.0271 , 0.1862 ± 0.0217), but were still higher than those in the normal control group.

CONCLUSION: The effect of bicyclol on liver fibrosis due to *Schistosoma japonicum* infection depend on its dosage. The anti-fibrotic effect of high-dose bicyclol treatment may be due to its inhibition on the expression of immediate early genes, which may lead to reduced synthesis of TGF β and TIMP1.

Key Words: Bicyclol; *Schistosoma japonicum*; Liver fibrosis; Immediate early gene; Transforming growth factor β 1; Tissue inhibitor of metalloproteinase 1; RT-PCR

He SS, Xu B, Han CR. Effect of bicyclol on the expression of hepatic immediate early genes, TGF- β 1, TIMP1 and collagen in liver tissues of mice infected with *Schistosoma japonicum*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(35): 3678-3684

摘要

目的: 研究双环醇对小鼠日本血吸虫病肝纤维化的治疗作用及其机制。

方法: 将80只小鼠随机分为4组, 低剂量, 高

剂量治疗组和实验组各组小鼠感染日本血吸虫8 wk后, 分别以60 mg/(kg·d)、120 mg/(kg·d)双环醇治疗8 wk以及不进行任何治疗, 第4组小鼠作为正常对照组. 应用HE染色、RT-PCR及免疫组化染色法, 观察和分析不同剂量双环醇治疗前后各组小鼠肝组织病理改变和*c-fos* mRNA、*c-jun* mRNA、转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、基质金属蛋白酶组织抑制因子1(tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP1)和I、III型胶原的表达变化.

结果: 高剂量双环醇治疗后肝纤维化组织病理损伤减轻, 高剂量双环醇组TGF- β 1、TIMP1和I、III型胶原含量(平均积分光密度)分别是 0.1815 ± 0.0231 、 0.2324 ± 0.0536 、 0.1811 ± 0.0514 、 0.1543 ± 0.0603 明显低于实验对照组 0.2139 ± 0.0134 、 0.2648 ± 0.0361 、 0.2140 ± 0.0271 、 0.1862 ± 0.0217 . 而低剂量双环醇与实验对照组比较无显著差异. 与实验对照组相比, 高剂量双环醇组小鼠肝组织中*c-fos* mRNA、*c-jun* mRNA表达与实验对照组和低剂量双环醇组相比显著降低(*c-fos* mRNA: 0.6511 ± 0.0551 vs 0.7844 ± 0.0852 , 0.8072 ± 0.0923 ; *c-jun* mRNA: 0.6803 ± 0.0712 vs 0.7982 ± 0.0902 , 0.8289 ± 0.094).

结论: 双环醇治疗血吸虫病肝纤维化作用呈剂量依赖性. 高剂量双环醇抗血吸虫肝纤维化作用可能与其抑制肝组织即早基因表达、减少TGF- β 1、TIMP1产生有关.

关键词: 双环醇; 日本血吸虫病; 肝纤维化; 即早基因; 基质金属酶组织抑制因子; 转化生长因子 β 1; 逆转录聚合酶链式反应

何生松, 徐标, 韩春荣. 双环醇对小鼠日本血吸虫病肝纤维化即早基因与TGF- β 1、TIMP1及胶原表达的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15(35): 3678-3684
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3678.asp>

0 引言

日本血吸虫病肝纤维化是导致门静脉高压、腹水和上消化道出血的主要原因, 也是日本血吸虫病患者死亡的主要原因. 目前国内外尚无理想的抗纤维化药物. 近年研究发现, 肝纤维化时过度表达的即早基因*c-fos*与*c-jun*产物可促进肝纤维化发展. 文献报道, 双环醇有保护肝损伤作用和抗纤维化作用^[1], 鼠感染日本血吸虫发生肝纤维化是理想的实验模型^[2]. 本文即研究不同剂量双环醇对小鼠血吸虫病肝组织中即早基因、

TGF- β 1、TIMP1和I、III型胶原含量表达的影响, 观察肝组织病理变化, 以探讨双环醇抗日本血吸虫病肝纤维化的作用及其机制.

1 材料和方法

1.1 材料 双环醇由北京协和药厂提供, 产品批号040502, 使用前以生理盐水配制悬浊液. 清洁级昆明小鼠80只(雄雌各40只), 体质量20-25 g, 4-6周龄(购自同济医学院动物实验中心). 将小鼠随机分4组, 每组20只. (1)实验对照组: 每只小鼠人工感染日本血吸虫尾蚴(购自武汉市血吸虫病防治研究所, 下同)25条, 感染8 wk后以生理盐水 ig 8 wk, 每天1 mL/只. (2)高剂量双环醇组: 感染尾蚴8 wk后用双环醇ig 8 wk, 剂量为120 mg/(kg·d), 溶于生理盐水, 每天1 mL/只. (3)低剂量双环醇组: 感染尾蚴8 wk后用双环醇灌胃8 wk, 剂量为60 mg/(kg·d), 溶于生理盐水, 每天1 mL/只. (4)正常对照组: 未感染血吸虫尾蚴, 正常方法饲养16 wk. *c-fos*引物(购于北京奥科公司, 产物382 bp): 上游5'-GGCTCTCCTGTCAACACACA-3', 下游5'-CCGCTTGGAGTGTATCTGTCTC-3'. *c-jun*引物(购于北京奥科公司, 产物385 bp): 上游5'-CAGTCTGAAGCCGCACCTCC-3', 下游5'-GTTGCTGAGGTTGGCGTAGACC-3'. β -肌动蛋白(β -actin)引物(内参照物, 购于北京奥科公司, 产物246 bp): 上游5'-GTGGGCCGGTGTAGGCCA CCA-3', 下游5'-GGTTGGCCTTAGGGTTCAGG-3'. TRIzol试剂购于美国GIBCOBRL公司, 琼脂糖购自华美生物工程公司, 兔抗小鼠I型及III型胶原抗体购自美国Santa Cruz公司, 兔抗小鼠TGF- β 1、TIMP1抗体、SABC试剂盒、包括正常山羊血清封闭液、生物素化山羊抗兔IgG、SABC试剂(链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物)、抗原修复液、复合消化液、DAB显色试剂盒等, 均购自武汉博士德生物工程有限公司.

1.2 方法

1.2.1 肝组织切片HE染色光镜检查: 常规石蜡切片经HE染色后, 光镜下观察肝组织的病理变化. 肝纤维化级别标准依病情轻重分3级: “+”为汇管区有轻度纤维组织增生, 并向外伸展; “++”为较明显的纤维组织增生, 并包绕肝小叶或与邻近汇管区纤维组织相互衔接; “+++”纤维组织沿门静脉分支高度增生, 肝组织被挤压.

1.2.2 RNA抽提及RT-PCR分析: 各组标本随机抽取10份样本(50 mg/份), 按TRIzol说明书抽提肝组织总RNA. 每50 mg组织以无菌5号针头粉碎

■ 相关报道

据相关文献报道, 双环醇有保护肝损伤和抗纤维化的作用. 鼠感染日本血吸虫发生肝纤维化是理想的实验模型, 近来发现, 双环醇不仅能有效降低多种肝损伤后ALT、AST水平升高, 而且对慢性CCl₄引起的大鼠肝纤维化具有明显的抑制作用.

■创新盘点

本文综合应用形态学及分子生物学等技术手段研究了双环醇对血吸虫病肝纤维化的治疗作用。

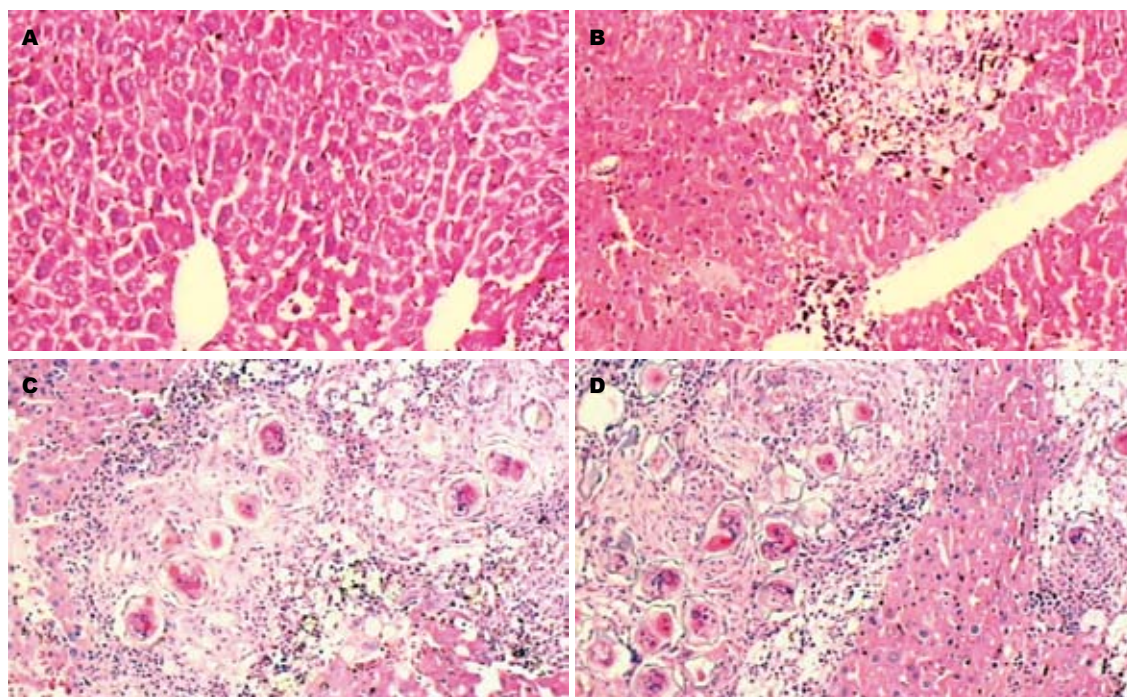


图1 各组小鼠肝组织HE染色切片(HE × 100). A: 正常组; B: 高剂量双环醇组; C: 低剂量双环醇组; D: 实验对照组.

后加入1 mL TRIzol试剂, 匀浆器中匀浆3次×10 s, 入1.5 mL EP管. 每1 mL TRIzol加入0.2 mL氯仿摇15 s, 室温下放置15 min. 于4℃下12 000 g离心15 min. 将上部水相转入新管, 每1 mL TRIzol试剂加入0.5 mL异丙醇沉淀RNA, 摇匀, 样品置于室温下10 min. 于4℃下12 000 g离心10 min, 凝胶样沉淀物为RNA. 吸去上清, 加1 mL 75% 来回倒置洗RNA 1次, 随后于4℃ 7500 r/min离心5 min. 吸去上清, 晾干RNA沉淀, 溶于20 μL DEPC-H₂O(已用高压处理)中. 在分光光度计下测A₂₆₀/A₂₈₀值, 计算RNA得率, 调整RNA浓度. 逆转录聚合酶链反应条件: 50℃, 30 min; 94℃, 2 min; 94℃, 30 s; 58℃, 30 s; 72℃, 30 s; 72℃, 10 min(34循环). 在100 V, 35 mA下, PCR产物于15 g/L琼脂糖凝胶中电泳50 min. 电泳结果经电泳凝胶成像分析仪扫描成像. 用Multi-Analyst软件包进行半定量分析. 单位肝组织的*c-fos*及*c-jun* mRNA相对含量用*c-fos*及*c-jun*条带平均积分光度值与β-actin条带平均积分光度比值表示.

1.2.3 免疫组化法检测肝组织TGF-β1、TIMP1和I、III型胶原表达: 采用链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物法: 30 mg/L H₂O₂室温10 min灭活内源性酶, 蒸馏水洗2 min×3次, 滴加复合消化液, 室温消化5 min, 0.01 mol/L PBS洗2 min×3次. 滴加正常山羊血清封闭液, 室温孵育10 min. 甩去多余液体, 分别滴加兔抗小鼠I型、III型胶原、TGF-β1、TIMP1抗体, 37℃孵育

30 min. 0.01 mol/L PBS洗2 min×3次, 滴加生物素化山羊抗兔IgG, 37℃孵育20 min. 0.01 mol/L PBS洗2 min×3次, 滴加SABC试剂, 37℃孵育20 min. 0.01 mol/L PBS洗5 min×4次, DAB显色. 镜下控制反应时间, 蒸馏水洗涤. 脱水, 透明, 封片, 显微镜下观察. 免疫组化结果采用MPZAS-500多媒体彩色病理图文分析系统, 计算平均积分光密度(integral light density, ILD).

统计学处理 免疫组化、RT-PCR结果以mean±SD表示, 两组间比较采用 t 检验. 肝脏纤维化程度为等级资料, 用Ridit分析, $\alpha = 0.05$ 或0.01.

2 结果

2.1 肝组织普通病理变化 光镜下, 正常对照组小鼠肝组织未见任何病变. 实验对照组、高剂量双环醇组及低剂量双环醇组与正常组相比, 肝组织病理学观察发现众多慢性虫卵肉芽肿. 其虫卵周围包绕梭形细胞和胶原纤维, 亦可见少部分急性虫卵肉芽肿, 汇管区有大量炎性细胞浸润, 肉芽肿和小静脉周围的胶原纤维束向肝小叶周围延伸. 在病变程度和病变范围上, 高剂量双环醇组比低剂量双环醇组、实验对照组明显减轻, 而低剂量双环醇组无明显减轻(图1). 根据肝纤维化程度级别标准, 统计每组小鼠各级别的小鼠数量(表1).

2.2 肝组织中*c-fos* mRNA, *c-jun* mRNA的表达

表 1 小鼠肝脏纤维化程度

分组	<i>n</i>	-	+	++	+++
正常组	20	20	0	0	0
高剂量双环醇组 ^{bd}	15	0	5	6	4
低剂量双环醇组 ^c	11	0	1	3	7
实验对照组	10	0	0	2	8

^b*P*<0.01 vs 实验对照组; ^c*P*<0.05 vs 高剂量双环醇组; ^d*P*<0.01 vs 正常组.

各组小鼠RT-PCR光带吸光度强弱呈梯度变化. 与实验对照组相比, 高剂量双环醇组小鼠肝组织中*c-fos* mRNA, *c-jun* mRNA表达下降非常显著. 与低剂量双环醇组相比, 其含量亦显著下降, 但两者表达仍比正常组高. 低剂量双环醇组肝组织中*c-fos* mRNA, *c-jun* mRNA表达比实验对照组虽有下降, 但无显著差异(表2, 图2).

2.3 肝组织中TGF-β1的表达变化 正常对照组肝内均未见明显TGF-β1阳性着色. 低剂量双环醇组、实验对照组肝内TGF-β1呈棕黄色, 呈片状分布于虫卵肉芽肿内及其周围汇管区、肝血窦. 高剂量双环醇组肝内TGF-β1分布区域同上, 但着色少而浅, 与实验对照组相比, TGF-β1含量下降非常显著. 与低剂量双环醇组相比, 其含量下降亦非常显著, 但其含量仍比正常组高. 低剂量双环醇组肝组织中TGF-β1含量比实验对照组虽有下降, 但无显著差异(表3, 图3).

2.4 肝组织中TIMP1的表达变化 正常对照组肝内未见明显TIMP1阳性着色. 低剂量双环醇组、实验对照组肝内TIMP1呈棕黄色, 表达于窦周、汇管区、虫卵肉芽肿纤维组织内. 高剂量双环醇组肝内TIMP1分布区域同上, 但着色少而浅, 与实验对照组相比, TIMP1含量下降显著, 与低剂量双环醇组相比, 其含量亦显著下降, 但其含量仍比正常组高. 低剂量双环醇组肝组织中TIMP1含量比实验对照组虽有下降, 但无显著差异(表3).

2.5 肝组织中 I、III型胶原的表达变化 正常对照组肝内无明显胶原着色. 低剂量双环醇组、实验对照组肝内 I、III型胶原呈棕黄色, 密集片状, 主要分布在虫卵肉芽肿内及汇管区. 高剂量双环醇组肝内胶原分布区域同上, 但虫卵肉芽肿普遍较小, 胶原分布减少. 与实验对照组相比, I、III型胶原含量下降非常显著, 与低剂量双环醇组相比, 其含量亦显著下降, 但其含量仍比正常组高. 低剂量双环醇组肝组织中 I、III

表 2 各组小鼠肝组织中*c-fos*, *c-jun* mRNA表达变化 (mean ± SD)

分组	<i>n</i>	<i>c-fos</i> mRNA	<i>c-jun</i> mRNA
正常组	10	0.2024 ± 0.0312	0.1942 ± 0.0604
高剂量双环醇组	15	0.6511 ± 0.0551 ^{bd}	0.6803 ± 0.0712 ^{bd}
低剂量双环醇组	11	0.7844 ± 0.0852 ^c	0.7982 ± 0.0902 ^c
实验对照组	10	0.8072 ± 0.0923	0.8289 ± 0.0947

^b*P*<0.01 vs 实验对照组; ^c*P*<0.05 vs 高剂量双环醇组; ^d*P*<0.01 vs 正常组.

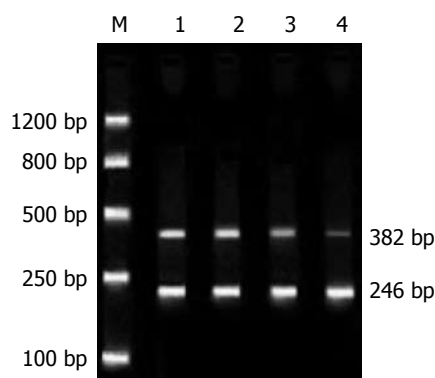


图 2 各组小鼠肝组织中*c-fos* mRNA表达. M: Mark标记; 1: 实验对照组; 2: 低剂量双环醇组; 3: 高剂量双环醇组; 4: 正常组.

型含量比实验对照组虽有下降, 但无显著差异(表3, 图4-5).

3 讨论

双环醇是在五味子素的基础上人工合成的国家一类新药, 化学名称为4, 4'-二甲氧基-5, 6, 5', 6'-双(亚甲二氧基)-2-羟甲基-2'-甲氧羰基联苯. 近来研究发现, 双环醇不仅能有效降低多种肝损伤后ALT、AST水平升高, 而且对慢性四氯化碳引起的大鼠肝纤维化具有明显的抑制作用^[3-4], 表明双环醇可保护肝细胞并具有一定的抗肝纤维化作用. 血吸虫肝纤维化是在虫卵肉芽肿基础上产生的, 其核心机制是在可溶性虫卵抗原刺激下, 巨噬细胞与淋巴细胞产生PDGF、TGFβ1等各种细胞因子刺激肝星状细胞(HSC)活化、增殖、转化成肌成纤维细胞, 并大量合成以 I、III型胶原为主的细胞外基质(ECM), 从而导致肝脏ECM的合成与降解失衡, 促进肝纤维化的发生及发展.

在ECM降解过程中起主要作用的为MMPs.

■应用要点

本文的实验结果为临床血吸虫病肝纤维化的治疗提供了新思路.

同行评价

本文设计思路全面,实验结果可靠,具有较高的参考价值和理论水平.

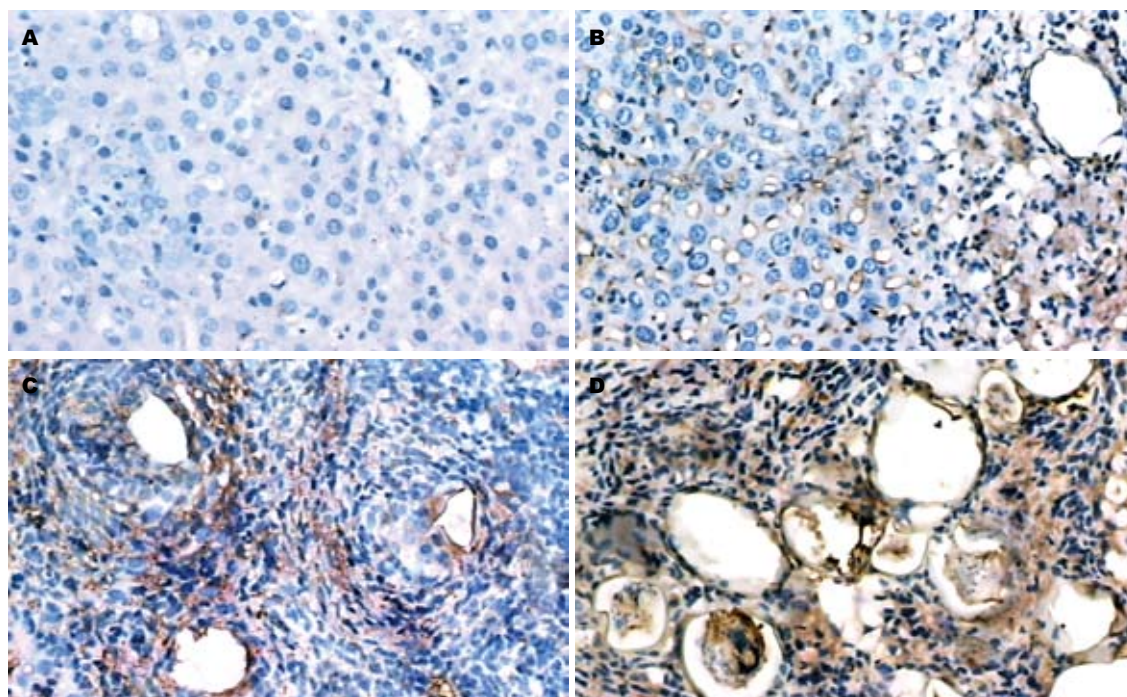


图 3 各组小鼠肝组织中TGF- β 1的表达(SABC \times 200). A: 正常组; B: 高剂量双环醇组; C: 低剂量双环醇组; D: 实验对照组.

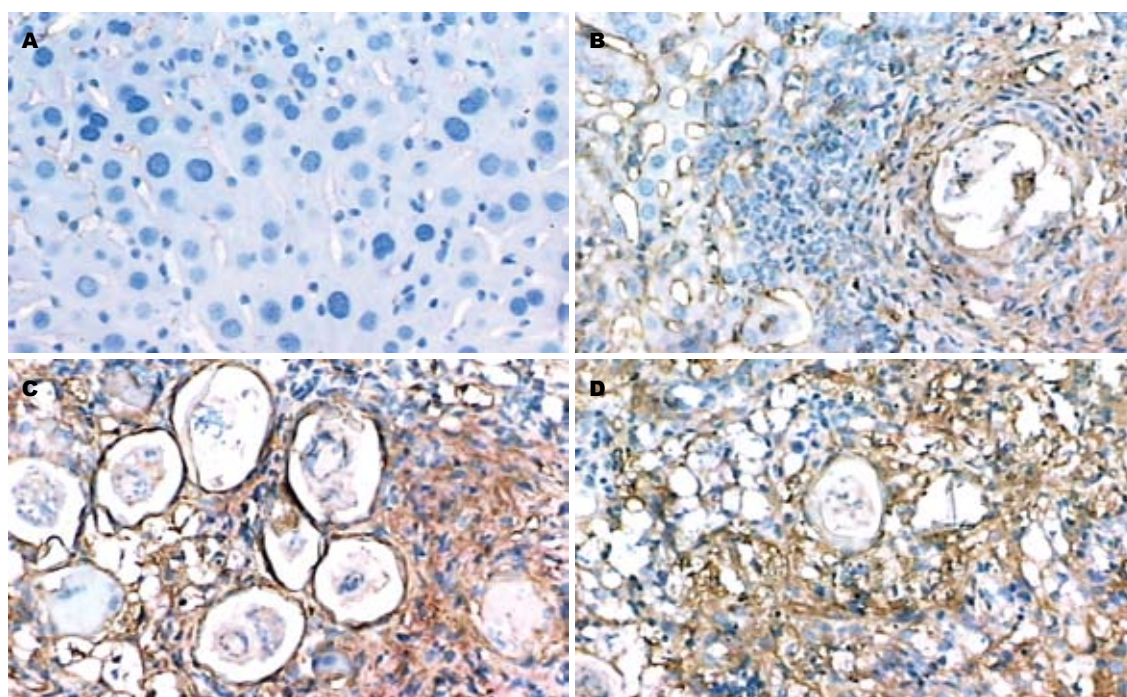


图 4 各组小鼠肝组织中I型胶原的表达(SABC \times 200). A: 正常组; B: 高剂量双环醇组; C: 低剂量双环醇组; D: 实验对照组.

其中肝内间质胶原酶主要降解 I、III型胶原,在阻止肝脏ECM过度沉积中起着主要作用^[5].而MMPs活性可被特异性抑制物金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMPs)所抑制,对间质胶原酶活性起主要抑制作用的是TIMP1.与活性间质胶原酶以1:1浓度结合形成复合体,从而抑制其活性,促进ECM

的沉积^[6].肝损伤时HSC通过自分泌或旁分泌的方式产生大量的TGF- β 1,炎症或损伤过程中释放的纤溶酶及其他蛋白酶可进一步增强其活性,并通过自身调节机制,产生更多的TGF- β 1,形成逐级放大效应,导致TGF- β 1的大量生成和激活^[7].TGF- β 1在调控肝纤维化中发挥重要作用^[8].TGF- β 1可显著抑制肝细胞再生,具有极强的促

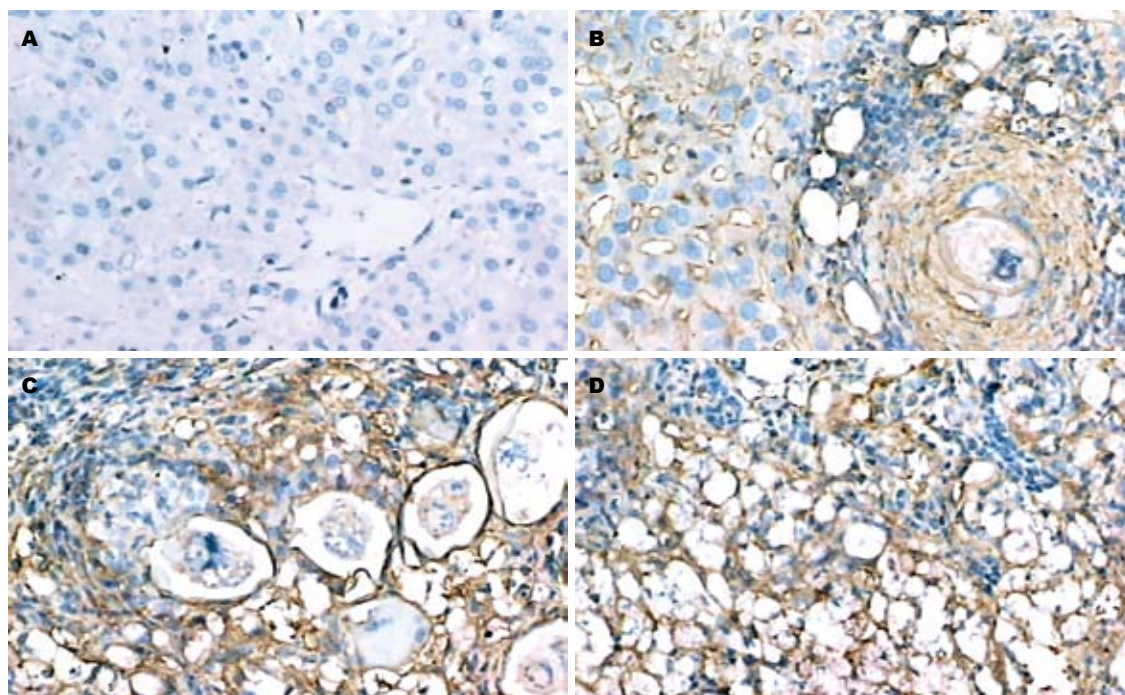


图 5 各组小鼠肝组织中Ⅲ型胶原的表达(SABC × 200). A: 正常组; B: 高剂量双环醇组; C: 低剂量双环醇组; D: 实验对照组.

表 3 各组小鼠肝组织中TGF-β1、TIMP1和Ⅰ、Ⅲ型胶原表达变化($n=10$, mean ± SD)

分组	TGF-β1	TIMP1	Ⅰ型胶原	Ⅲ型胶原
正常组	0.0621 ± 0.0036	0.0761 ± 0.0125	0.0902 ± 0.0031	0.0758 ± 0.0163
高剂量双环醇组	0.1815 ± 0.0231 ^{bd}	0.2324 ± 0.0536 ^{bd}	0.1811 ± 0.0514 ^{bd}	0.1543 ± 0.0603 ^{bd}
低剂量双环醇组	0.2042 ± 0.0522 ^{df}	0.2593 ± 0.0631 ^{de}	0.2087 ± 0.0628 ^{de}	0.1786 ± 0.0634 ^{de}
实验对照组	0.2139 ± 0.0134	0.2648 ± 0.0361	0.2140 ± 0.0271	0.1862 ± 0.0217

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 实验对照组; ^d $P<0.01$ vs 正常组; ^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ vs 高剂量双环醇组.

进HSC有丝分裂、促进胶原纤维生成作用. 此外TGF-β1还可减少细胞外基质分解, 其机制包括促进HSC分泌TIMP1, 减少间质胶原酶基因的表达^[9]. 因此TGF-β1、TIMP1过度表达是ECM生成与降解过程失衡的两个中心环节.

c-fos、*c-jun*基因表达产物分别为Fos蛋白、Jun蛋白. Fos和Jun家族为核内两类重要的转录因子. *fos*在细胞生长的静止期基本不表达, 而*jun*基因家族即使在稳定期也有一定程度的表达. Jun蛋白可形成同源二聚体或与Fos蛋白形成异二聚体构成AP-1, 而Fos蛋白只能与Jun蛋白形成异二聚体构成AP-1. Fos蛋白与Jun蛋白C末端活化区的磷酸化使AP-1具有转录因子活性, 刺激核内其他细胞与增殖有关基因的转录. 各种炎性细胞因子、脂质过氧化物等均能通过细胞内信号传导途径激活早期反应基因*c-fos*和*c-jun*^[10], 其表达产物形成同源或异源二聚体的转录激活蛋白(AP-1). TGFβ1基因启动子区域存

在AP-1结合位点. *c-fos*及*c-jun*基因表达上调后, AP-1DNA结合活性增高, 可加速HSC中TGFβ1的转录及翻译, 从而增加ECM的合成^[11]. TIMP1基因启动子必须与AP-1结合后才能充分活化, 从而启动TIMP1基因转录、翻译出大量TIMP1蛋白^[12], 抑制胶原酶活性, 造成ECM合成与降解失衡. 本研究显示, 实验对照组小鼠肝组织*c-fos*及*c-jun* mRNA、TGF-β1、TIMP1的表达明显增强, 经高剂量双环醇治疗后其表达水平随Ⅰ、Ⅲ型胶原含量降低而明显下降. 由于双环醇具有抗炎、抗氧化作用^[13], 因而推测其可通过调节*c-fos*与*c-jun*的表达、抑制其AP-1DNA结合活性而减轻TGF-β1、TIMP1的过度表达, 从而抑制胶原合成, 促进其降解而发挥抗肝纤维化作用.

国内外肝病学者普遍认为, 早期肝纤维化是可以逆转的, 而肝硬化是不可逆转的^[14]. 目前认为肝窦毛细血管化是肝纤维化的最基本、最

初始特征. 研究发现, 日本血吸虫尾蚴感染8 wk后, 慢性虫卵肉芽肿形成, 肝窦出现毛细血管化, 而此时尚处于血吸虫肝纤维化病变的早期^[15]. 对血吸虫肝纤维化开始形成的患者若早期应用抗纤维化治疗, 可能有利于肝纤维化的逆转. 本研究以日本血吸虫尾蚴感染小鼠8 wk后建立肝纤维化病变早期模型, 应用不同剂量的双环醇治疗血吸虫性肝纤维化. 研究发现, 经高剂量双环醇治疗后肝脏病理损伤减轻, 肝组织中纤维化程度比实验对照组明显下降, 但与正常组水平仍差异明显, 表明高剂量双环醇对血吸虫肝纤维化有较好的逆转作用, 但仍未恢复正常. 而低剂量双环醇抗肝纤维化的效果则不明显, 提示其抗肝纤维化效应呈剂量依赖性, 早期、大剂量、长疗程应用时有较好的抗肝纤维化效果.

长期以来, 血吸虫患者经吡喹酮一次性杀虫治疗后并无其他后续治疗. 刘文琳 *et al*^[16]经长期调查发现, 吡喹酮治疗后, 血吸虫虫卵所致的肝纤维化仍可继续发展, 其远期抗肝纤维化效果有限, 抗肝纤维化的药物治疗很有必要. 我们认为, 大剂量双环醇可降低血吸虫病肝纤维化组织中TGF- β 1、TIMP1的表达而发挥抗血吸虫病肝纤维化作用, 具有作用早、疗效持久、毒副作用小的优势, 可作为杀虫治疗后抗肝纤维化药物使用. 待其作用机制进一步明确后, 临床应用价值会更大.

4 参考文献

- 1 Li M, Liu GT. Inhibition of Fas/FasL mRNA expression and TNF- α release in concanavalin A-induced liver injury in mice by bicyclol. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1775-1779
- 2 施光峰, 徐肇, 翁心华, 朱运松. 血吸虫病肝纤维化过程中肝脏前胶原mRNA的表达变化研究. *中华传染病杂志* 1999; 17: 3
- 3 Liu GT. The anti-virus and hepatoprotective effect of bicyclol and its mechanism of action. *Chin J New Drug Clin* 2001; 10: 325-327
- 4 李烨, 李燕, 刘耕陶. 双环醇对实验性肝纤维化的防护作用及分子机制. *中华医学杂志* 2004; 84: 2096-2101
- 5 Watanabe T, Niioka M, Hozawa S, Kameyama K, Hayashi T, Arai M, Ishikawa A, Maruyama K, Okazaki I. Gene expression of interstitial collagenase in both progressive and recovery phase of rat liver fibrosis induced by carbon tetrachloride. *J Hepatol* 2000; 33: 224-235
- 6 Cheng ML, Wu J, Wang HQ, Xue LM, Tan YZ, Ping L, Li CX, Huang NH, Yao YM, Ren LZ, Ye L, Li L, Jia ML. Effect of Maotai liquor in inducing metallothioneins and on hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 520-523
- 7 Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106
- 8 Ueno H, Sakamoto T, Nakamura T, Qi Z, Astuchi N, Takeshita A, Shimizu K, Ohashi H. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 33-42
- 9 Herbst H, Wege T, Milani S, Pellegrini G, Orzechowski HD, Bechstein WO, Neuhaus P, Gressner AM, Schuppan D. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 RNA expression in rat and human liver fibrosis. *Am J Pathol* 1997; 150: 1647-1659
- 10 Tong L, Toliver-Kinsky T, Rassin D, Werrbach-Perez K, Perez-Polo JR. Hyperoxia increases AP-1 DNA binding in rat brain. *Neurochem Res* 2003; 28: 111-115
- 11 Wang XD. Chronic alcohol intake interferes with retinoid metabolism and signaling. *Nutr Rev* 1999; 57: 51-59
- 12 Mann DA, Smart DE. Transcriptional regulation of hepatic stellate cell activation. *Gut* 2002; 50: 891-896
- 13 Zhao DM, Sun T, Li Y. The protective effect of bicyclol on ischemia-reperfusion induced kidney injury in rats. *Yao Xue Xue Bao* 2002; 37: 412-414
- 14 Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, Niioka M, Arai M, Maruyama K. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery. *Keio J Med* 2001; 50: 58-65
- 15 王雪莉, 张玲敏, 唐福星, 郭祖文, 吴春云, 熊钟瑾. 小鼠血吸虫病肝纤维化的超微结构动态观察. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 2002; 20: 216-219
- 16 刘文琳, 周学章, 黄育英, 邵平阳, 杨易平, 徐晓菲. 吡喹酮治疗日本血吸虫病远期疗效分析. *中华传染病杂志* 2004; 22: 238-241

编辑 程剑侠 电编 郭海丽