

网络出版时间: 2016-1-20 10:32:26 网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160120.1032.022.html

美洲大蠊水提取物对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用

夏超¹, 王佳佳², 李芳群¹, 胡祥鹏¹, 宋莎莎¹, 章礼久¹

摘要 目的 研究美洲大蠊水提取物对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用及部分机制。方法 将SD大鼠随机分为正常组、模型组、美洲大蠊30 mg/kg、60 mg/kg和120 mg/kg组和秋水仙碱组,每组10只。免疫性肝纤维化模型通过大鼠腹腔注射猪血清制备0.5 ml/kg,每周2次,共12周。造模期间给药组分别给予相应的受试药物,正常组和模型组分别给予等剂量的生理盐水。于造模给药结束后处死大鼠,测定肝脾指数;收集外周血,测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原酶(PCⅢ)和Ⅳ型胶原酶(CⅣ)含量;取肝脏,HE、Masson染色观察肝组织病理及胶原沉积变化;制备肝脏匀浆,ELISA法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量;免疫组织化学和Western blot法测定肝组织中 α -SMA、TGF- β 1蛋白的表达。结果 与模型组比较,美洲大蠊(30、60、120 mg/kg)能降低肝纤维化大鼠升高的肝脾指数,降低血清中ALT、AST、HA、LN、PCⅢ、CⅣ水平,降低肝组织MDA含量,提高SOD及GSH活性,减轻大鼠肝脏病理损伤程度,减少肝组织中 α -SMA、TGF- β 1的表达。结论 美洲大蠊水提取物对猪血清诱导的免疫性肝纤维化大鼠有显著的保护作用,其机制可能与其抗氧化作用及抑制TGF- β 1的表达有关。

关键词 美洲大蠊水提取物;免疫性肝纤维化;猪血清;抗氧化;转化生长因子 β 1

2015-11-17 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1508085QH168);安徽省公益性研究联动计划项目(编号:15011d04046)

作者单位:¹安徽医科大学第二附属医院消化内科,合肥 230601

²安徽医科大学药理学教研室,合肥 230032

作者简介:夏超,男,硕士研究生;

王佳佳,女,博士,副教授,责任作者,E-mail:ljedu@163.com;

章礼久,男,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:zhanglijiu6336@163.com

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)02-0199-06

肝纤维化是肝脏对各种慢性刺激进行损伤修复时的病理改变,主要表现为肝内细胞外基质的过度沉积。肝纤维化是肝硬化的前期过程,其病理过程的可逆性为延缓慢性肝病发展为肝硬化提供了可能。美洲大蠊为蜚蠊科昆虫,俗称蜚蠊,又称蟑螂、偷油郎等,是一种十分古老的昆虫。其入药始载于《神农本草经》,并将其列为中品,味咸、寒,治血瘀、寒热、破积聚、喉咽痹、内寒无子^[1]。近年来美洲大蠊的药用价值得到了人们广泛关注。美洲大蠊的不同提取物对大鼠急性免疫性肝损伤均有一定的保护作用^[2],但对大鼠免疫性肝纤维化是否有作用尚不清楚。该实验采用猪血清诱导大鼠免疫性肝纤维化模型,研究美洲大蠊水提取物对其的治疗作用及初步机制探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性SD大鼠50只(200±20)g,由安徽医科大学实验动物中心提供。

1.2 药品与试剂 美洲大蠊购自云南腾冲坤发生物养殖有限公司,经安徽医科大学药理学实验室鉴定为美洲大蠊干燥虫体。将虫体研磨成粉,干燥通风保留,实验室先前的方法^[2]获得水提取物:称取干燥虫粉500g,以5倍量石油醚超声脱脂2次,每次30min,旋转蒸发干燥,回收石油醚;用15倍量的蒸馏水分3次超声提取,每次30min;提取液合并浓缩干燥,得美洲大蠊水提取物。秋水仙碱购自西版纳药业有限公司。猪血清,取新鲜猪血清离心过滤除菌自制。谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,

respectively. **Results** Stimulated with different concentration of C-8 ceramide for 24 h, the TEER of cells decreased ($F=38.78$, $P<0.001$) and the OD₄₇₀ increased ($F=19.78$, $P<0.001$) significantly. Results from Western blot and RT-PCR demonstrated significant decrease of ZO-1 ($F=71.150$, $P<0.01$; $F=4.887$, $P=0.014$) and Occludin ($F=7.703$, $P=0.002$; $F=3.637$, $P=0.048$) expression in the AEC II with C-8ceramide. **Conclusion** C-8 ceramide may disrupt the alveolar epithelial barrier by decreasing expression of ZO-1 and Occludin.

Key words ceramides; tight junction; pulmonary epithelial cell; trans-epithelial electrical resistance

ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽-过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原酶(procollagen Ⅲ, PC Ⅲ)、Ⅳ型胶原酶(collagenase Ⅳ, C Ⅳ)测定试剂盒均购自南京建成生物科技有限公司。小鼠源抗转移生长因子- β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)单克隆抗体、小鼠源抗 α -SMA单克隆抗体、小鼠源抗 β -actin单克隆抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的IgG二抗均购自北京博奥森生物技术有限公司。SP免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 造模及给药 SD大鼠适应性饲养1周后随机分为正常组、模型组、美洲大蠊水提取物120 mg/kg、60 mg/kg、30 mg/kg剂量组、秋水仙碱(0.1 mg/kg)组阳性药物对照。除正常组外,其余各组每周2次腹腔注射猪血清0.5 ml,共12周。从造模第一天起给药组开始灌胃给药直至造模结束,正常组和模型组给予等量的生理盐水。期间大鼠自由进食与饮水,末次灌胃后禁食8 h后处死大鼠,取血标本及肝脾组织备检。

1.4 肝脾指数测定 大鼠称重后采用10%水合氯醛麻醉后处死,分别摘取肝脏和脾脏, PBS洗净后称重,计算肝脏指数和脾脏指数。

1.5 血清ALT、AST、纤维化指标及肝组织中MDA、GSH-Px和SOD含量测定 大鼠采用10%水合氯醛麻醉后腹主动脉取血,室温静置30 min后2 500 r/min离心15 min,取上层血清,按照试剂盒要求测定血清中ALT、AST含量;同时采用ELISA法测定血清中HA、LN、PC Ⅲ、C Ⅳ的水平。取大鼠右叶称重,使用匀浆机打碎,冰浴中制备10%肝脏匀浆,3 000 r/min离心10 min后取上清液,按试剂盒说明书测定肝匀浆中MDA、SOD和GSH-Px含量。

1.6 肝组织病理学检查 取大鼠肝脏左叶组织,10%福尔马林液固定,石蜡包埋,制作4 μ m切片,常规脱蜡,按常规方法进行HE和Masson染色,光镜下观察肝脏组织病理改变、拍照。

1.7 免疫组化法测定肝脏组织 α -SMA、TGF- β 1的表达 肝组织切片常规脱蜡水化经微波法抗原修复,其他步骤按超敏SP试剂盒说明书操作,一抗分别为抗 α -SMA和抗TGF- β 1,二抗为鼠兔通用型二抗。光镜下观察肝组织中 α -SMA和TGF- β 1的表

达情况。并采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件对各免疫组化图片进行表达量和表达强度的分析。

1.8 Western blot法分析肝组织 α -SMA和TGF- β 1的表达 取各肝脏匀浆,用总蛋白裂解液提取肝脏总蛋白,BCA法进行蛋白定量。电泳并湿转PVDF膜后用5%脱脂奶粉封闭1 h,用PBS洗3次,10 min/次。分别加入 α -SMA、TGF- β 1和 β -actin抗体,在4 $^{\circ}$ C条件下孵育过夜。PBS洗3次,10 min/次。用HRP标记的二抗室温下孵育2 h, PBS洗3次。加ECL化学发光剂,用天能4500化学发光成像系统进行显影。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件对实验结果进行分析,结果以目标条带与 β -actin条带的比值表示。

1.9 统计学处理 采用SPSS 17.0统计软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组计量资料分析采用One Way ANOVA,多重比较采用LSD。

2 结果

2.1 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝脾指数的影响 与正常组比较,模型组大鼠的肝脾指数明显升高($P < 0.05$),提示造模成功。与模型组比较,美洲大蠊水提取物30 mg/kg、60 mg/kg、120 mg/kg组及秋水仙碱组肝脾指数显著降低($P < 0.05$)。见图1。

2.2 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝功能的影响 由下表可知模型组大鼠血清ALT、AST水平较正常组明显升高($P < 0.01$),提示造模成功。美洲大蠊水提取物各剂量组及秋水仙碱阳性药组ALT、AST水平明显低于模型组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表1。

表1 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠血清ALT、AST水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT (U/L)	AST (U/L)
正常	40.79 $\pm$ 1.73	57.89 $\pm$ 5.71
模型	126.74 $\pm$ 19.26 ^{##}	111.45 $\pm$ 7.39 ^{##}
美洲大蠊 30 mg/kg	116.01 $\pm$ 16.13 ^{**}	102.38 $\pm$ 12.91 [*]
美洲大蠊 60 mg/kg	99.86 $\pm$ 6.13 ^{**}	87.83 $\pm$ 7.68 ^{**}
美洲大蠊 120 mg/kg	70.95 $\pm$ 6.12 ^{**}	65.27 $\pm$ 6.14 ^{**}
秋水仙碱	70.85 $\pm$ 8.41 ^{**}	70.06 $\pm$ 7.09 ^{**}

与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

低,MDA含量升高($P < 0.01$)。与模型组相比,美洲大蠊水提取物组及秋水仙碱组SOD、GSH-Px升

2.3 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝组织SOD、MDA和GSH-Px水平的影响 与正常组比

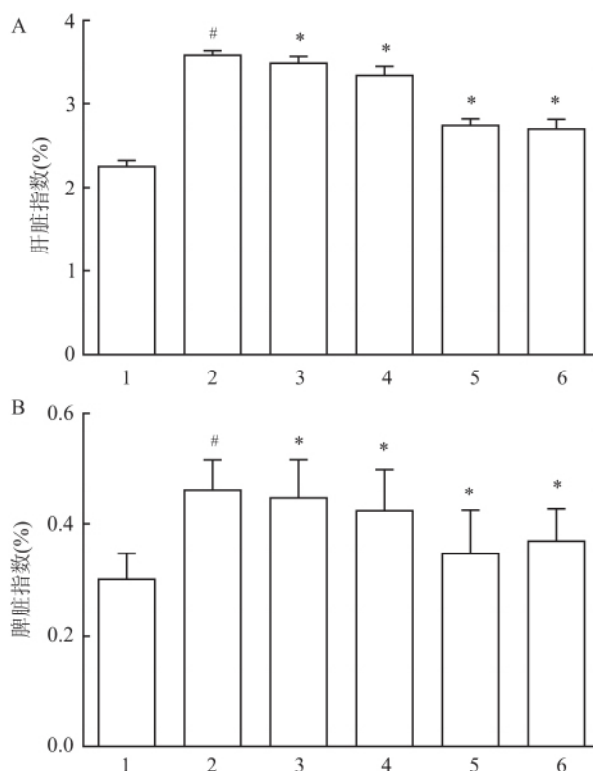


图1 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝脾指数的影响

A: 对大鼠肝脏指数的影响; B: 对大鼠脾脏指数的影响; 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 美洲大蠊 30 mg/kg 组; 4: 美洲大蠊 60 mg/kg 组; 5: 美洲大蠊 120 mg/kg 组; 6: 秋水仙碱组; 与正常组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

较模型组大鼠肝组织中 SOD、GSH-Px 水平明显升高, MDA 降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 提示美洲大蠊水提取物在一定程度上有抗脂质过氧化、减轻肝损伤的作用。见表 2。

2.4 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠纤维化指标的影响 模型组大鼠血清的肝纤维化指标 HA、LN、PC III、C IV 较正常组明显升高 ($P < 0.01$)。美洲大蠊水提取物显著降低了模型组升高的肝纤维化指标 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 提示美洲大蠊水提取物有降低肝纤维化程度的作用。见表 3。

2.5 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝组织病理学的影响

2.5.1 HE 染色 HE 染色后光镜下观察可见模型组肝索排列紊乱, 肝细胞肿胀、胞质疏松, 伴有部分细胞坏死和炎性细胞浸润。美洲大蠊水提取物各剂量组和秋水仙碱组肝索基本呈放射状排布, 部分细胞肿胀, 可见少量细胞坏死、炎细胞浸润, 与模型组比较有显著改善。见图 1。

2.5.2 Masson 染色 正常组未见明显蓝色纤维, 仅少量分布于血管周围。模型组肝组织中纤维明显增多, 肝小叶结构被破坏, 大量纤维化组织条索状分割肝组织。美洲大蠊水提取物及秋水仙碱组纤维化组织均不同程度的改善或仅有少量蓝色纤维。见图 2。

2.6 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝组织 α -SMA、TGF- β 1 表达的影响

2.6.1 免疫组化结果 正常组仅血管壁有少量 α -SMA 的表达, 在细胞质无表达。模型组的汇管区及邻近的肝窦有大量表达阳性的细胞, 胞质呈棕黄色, 着色明显。与模型组相比, 美洲大蠊水提取物各剂量组及秋水仙碱组阳性细胞数明显减少, 细胞质阳性染色显著减轻。见图 3。此外, 正常组未见 TGF- β 1 表达, 模型组 TGF- β 1 主要分布于变性的肝细胞、间质细胞、纤维化区和汇管区, 染色主要呈棕黄色。与模型组相比, 美洲大蠊水提取物各剂量组及秋水仙碱组在以上区域阳性细胞数目减少, 阳性染色程度减轻。见图 4。

2.6.2 Western blot 结果 检测美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠 α -SMA、TGF- β 1 表达的影响。结果显示, 与正常组比较, 模型组大鼠肝组织中 α -SMA、TGF- β 1 表达明显增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 美洲大蠊水提取物各剂量组 α -SMA、TGF- β 1 蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图 5。

表2 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝组织 SOD、MDA 和 GSH-Px 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA ($\mu\text{mol/g pro}$)	SOD (U/mg pro)	GSH-Px (U/mg pro)
正常	4.64 $\pm$ 0.58	18.97 $\pm$ 3.73	99.08 $\pm$ 8.13
模型	5.94 $\pm$ 0.45 ^{##}	11.92 $\pm$ 1.04 ^{##}	57.79 $\pm$ 13.90 ^{##}
美洲大蠊 30 mg/kg	5.02 $\pm$ 0.40 [*]	14.19 $\pm$ 2.82	68.77 $\pm$ 14.19
美洲大蠊 60 mg/kg	4.79 $\pm$ 0.90 ^{**}	15.63 $\pm$ 1.95 ^{**}	82.64 $\pm$ 12.24 ^{**}
美洲大蠊 120 mg/kg	4.61 $\pm$ 0.98 ^{**}	16.15 $\pm$ 2.66 ^{**}	85.03 $\pm$ 6.36 ^{**}
秋水仙碱	5.27 $\pm$ 0.45	15.39 $\pm$ 1.33 ^{**}	80.99 $\pm$ 10.75 ^{**}

与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

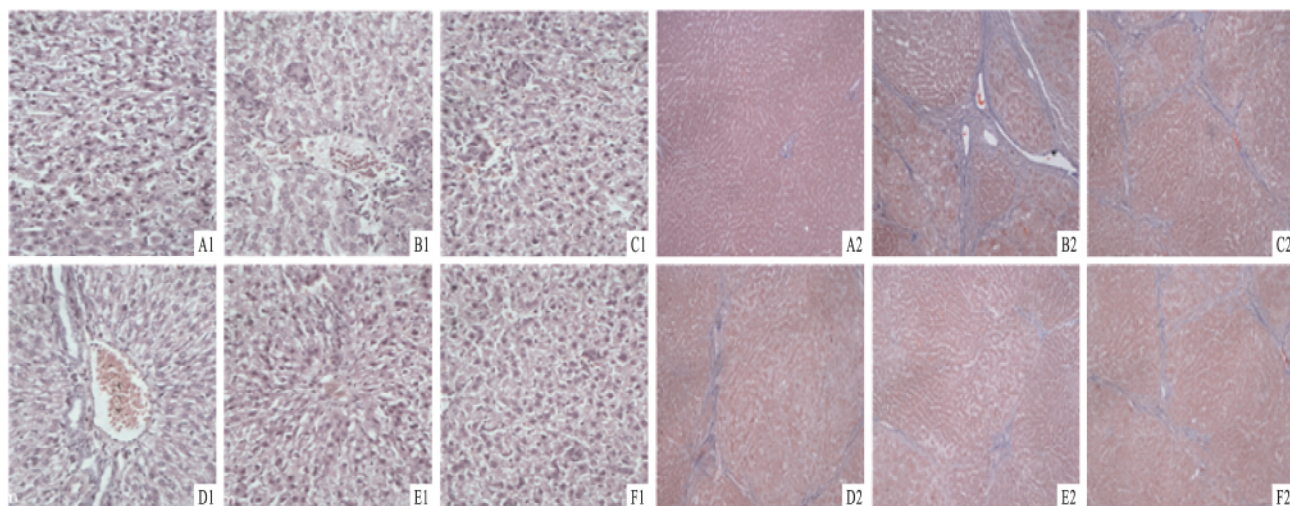
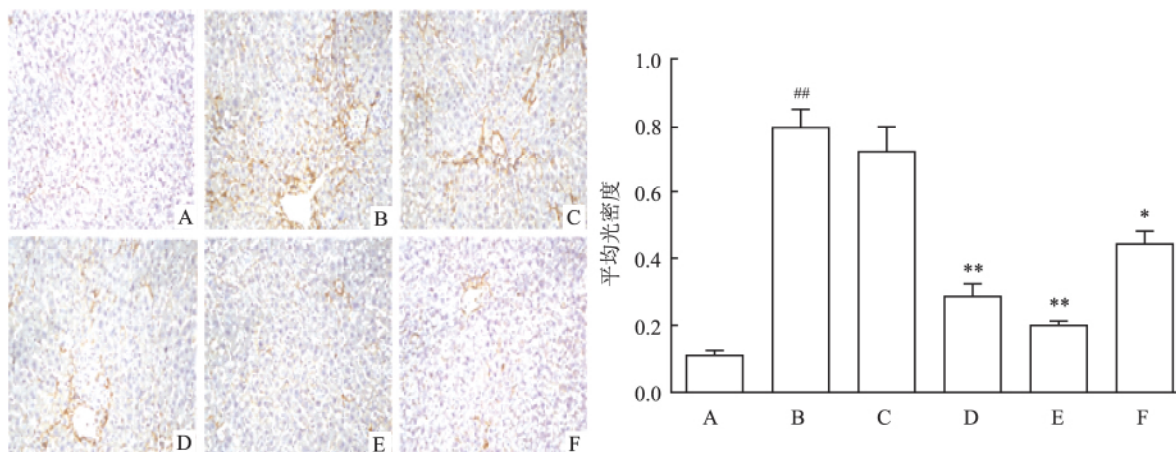
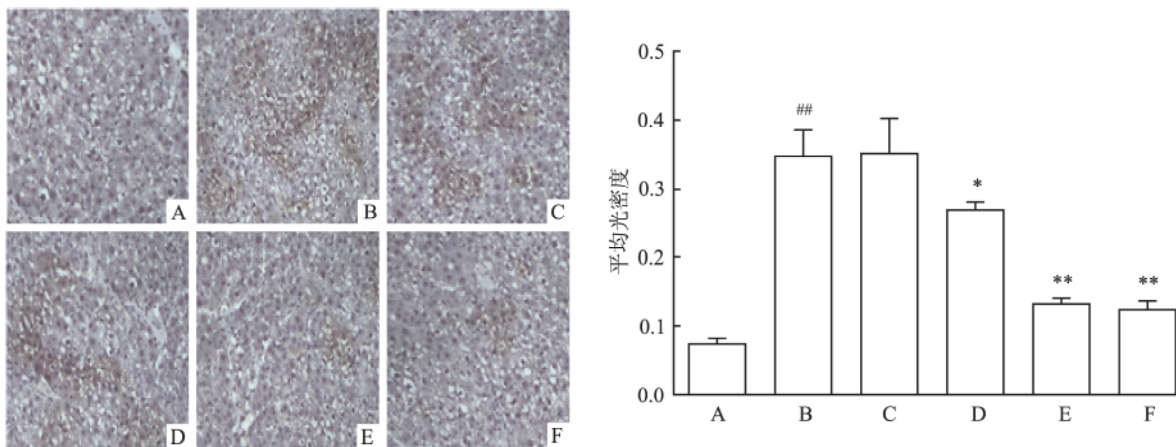


图2 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝组织病理学的影响 ×200

1: HE 染色; 2: Masson 染色; A: 正常组; B: 模型组; C: 美洲大蠊 30 mg/kg 组; D: 美洲大蠊 60 mg/kg 组; E: 美洲大蠊 120 mg/kg 组; F: 秋水仙碱组

图3 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠 α -SMA 表达的影响 SP 免疫组化 ×200

A: 正常组; B: 模型组; C: 美洲大蠊 30 mg/kg 组; D: 美洲大蠊 60 mg/kg 组; E: 美洲大蠊 120 mg/kg 组; F: 秋水仙碱组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

图4 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠 TGF- β 1 表达的影响 SP 免疫组化 ×200

A: 正常组; B: 模型组; C: 美洲大蠊 30 mg/kg 组; D: 美洲大蠊 60 mg/kg 组; E: 美洲大蠊 120 mg/kg 组; F: 秋水仙碱组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

表3 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠纤维化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	HA($\mu\text{g/L}$)	LN ($\mu\text{g/L}$)	PCⅢ($\mu\text{g/L}$)	CⅣ($\mu\text{g/L}$)
正常	271.76 $\pm$ 15.21	95.71 $\pm$ 11.25	1.59 $\pm$ 0.35	10.30 $\pm$ 0.72
模型	467.77 $\pm$ 34.64 ^{##}	197.33 $\pm$ 14.46 ^{##}	3.19 $\pm$ 0.48 ^{##}	15.49 $\pm$ 2.83 ^{##}
美洲大蠊 30 mg/kg	439.89 $\pm$ 20.62 [*]	178.99 $\pm$ 31.75	2.68 $\pm$ 0.33 ^{**}	14.94 $\pm$ 0.83
美洲大蠊 60 mg/kg	341.20 $\pm$ 14.18 ^{**}	168.39 $\pm$ 13.36 ^{**}	2.47 $\pm$ 0.28 ^{**}	13.51 $\pm$ 1.04 ^{**}
美洲大蠊 120 mg/kg	324.38 $\pm$ 23.04 ^{**}	157.28 $\pm$ 19.94 ^{**}	2.61 $\pm$ 0.28 ^{**}	12.84 $\pm$ 1.39 ^{**}
秋水仙碱	361.80 $\pm$ 24.18 ^{**}	172.17 $\pm$ 19.67 [*]	3.02 $\pm$ 0.27	14.09 $\pm$ 0.77 ^{**}

与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

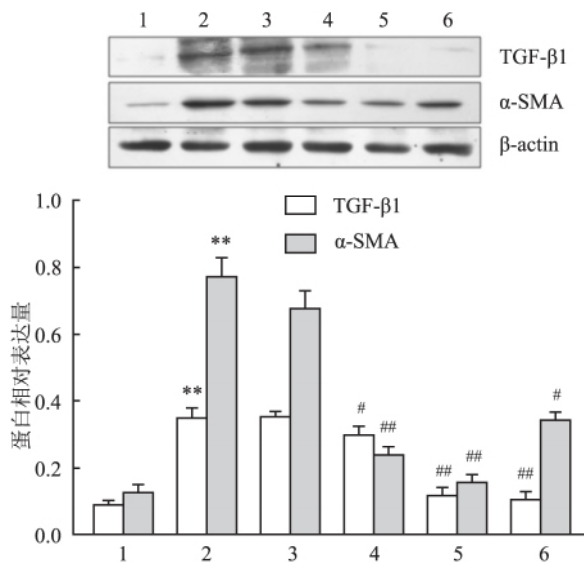


图5 美洲大蠊水提取物对肝纤维化大鼠肝组织
 α -SMA、TGF- β 1 表达的影响

1: 正常组; 2: 模型组; 3: 美洲大蠊 30 mg/kg 组; 4: 美洲大蠊 60 mg/kg 组; 5: 美洲大蠊 120 mg/kg 组; 6: 秋水仙碱组; 与正常组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

3 讨论

肝纤维化是各种急慢性肝病共有的组织病理学基础。目前普遍认为肝纤维化的病理过程是可逆的^[3]。因此合适的肝纤维化模型对研究肝纤维化发生机制及保肝药物的筛选尤为重要。本实验采用猪血清诱导大鼠免疫性肝纤维化。猪血清作为异种血清在机体产生免疫复合物后发生一系列的反应表现为Ⅲ型变态反应,这与人类慢性乙型肝炎肝纤维化有一定相似性,对临床的研究有非常大的价值^[4]。

血清中 ALT、AST 的水平是诊断肝脏疾病的重要指标,当肝脏出现细胞肿胀、坏死或肝实质性病变时 ALT、AST 会显著升高。本研究结果显示,美洲大蠊水提取物可显著降低血清 ALT、AST 水平,可以保护肝功能,一定程度上减轻肝脏损伤程度。肝纤维化是细胞外基质的过度增生和沉积引起的,血清 HA、

LN、PCⅢ、CⅣ可反应肝纤维化程度,并与病变程度呈正相关^[5]。本研究结果显示美洲大蠊水提取物可以降低血清 HA、LN、PCⅢ、CⅣ的含量,说明其可以改善大鼠肝纤维化作用。当肝细胞发生脂质过氧化反应时,MDA 作为脂质过氧化反应的终产物可以一定程度上反映肝细胞过氧化后的损伤程度。SOD 是机体内存在的超氧自由基清除因子,可以清除自由基和过氧化物,亦可作为衡量肝细胞受损的指标。GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,其对过氧化氢的还原反应从而保护细胞膜结构与功能的完整^[6]。本研究表明美洲大蠊水提取物能降低肝脏组织的 MDA 水平和提高 SOD、GSH-Px 的水平,提示美洲大蠊水提取物能够抑制肝脏组织脂质过氧化反应、保护抗氧化的作用,其对免疫性肝纤维化的治疗作用可能与其抗氧化作用有关。

目前研究^[7]显示,肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的活化、增殖和过度分泌在肝纤维化的发生、发展过程中起关键作用,因此抑制 HSC 的活化、增殖和过度分泌成为阻止肝纤维化发生发展的一种重要手段。 α -SMA 是 HSC 活化的主要标志物,其与 HSC 的活化程度和数量呈正相关^[8]。TGF- β 1 是致肝纤维化最有效的细胞因子之一^[9],其激发 HSC 活化,促进细胞外基质产生、抑制基质的降解,是调节肝纤维化发展的核心物质^[10]。Smad 是 TGF- β 1 作用的底物,可以将 TGF- β 1 信号从细胞表面受体传导至细胞核,调节细胞核内基因的转录过程。研究^[11-12]表明 TGF- β 1/Smads 信号转导通路在许多疾病的发生、发展过程中起着非常重要的作用。本研究结果显示,猪血清诱导的免疫性肝纤维化大鼠模型组肝脏组织中 TGF- β 1 含量明显升高,美洲大蠊水提取物组 TGF- β 1 含量降低,提示美洲大蠊水提取物对免疫性肝纤维化大鼠的治疗作用可能与其减少 TGF- β 1 的表达有关,具体机制如何,待进一步研究。

综上所述,美洲大蠊水提取物对猪血清所诱导的免疫性肝纤维化大鼠有明显的保护作用,机制可

能与其抗氧化作用及减少 TGF- β 1 的表达有关。

参考文献

- [1] 孙冯翼. 神农本草经[M]. 内蒙古人民出版社, 2006.
- [2] 张 鹏, 王佳佳, 方海明, 等. 美洲大蠊及其不同提取物对急性免疫性肝损伤保护作用的比较[J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49(1): 59-63.
- [3] Ki S H, Yang J H, Ku S K, et al. Red ginseng extract protects against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis [J]. *J Ginseng Res*, 2013, 37(1): 45-53.
- [4] 何 伟, 宋莎莎, 袁平凡, 等. 雷公藤红素对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的治疗作用及机制[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(4): 519-24.
- [5] Li C H, Piao D M, Xu W X, et al. Morphological and serum hyaluronic acid, laminin and type IV collagen changes in dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis of rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(48): 7620-4.
- [6] 李雪梅, 冯 琴, 彭景华, 等. 苦杏仁苷对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的防治作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2011, 21(4): 221-3.
- [7] Presser L D, McRae S, Waris G. Activation of TGF- β 1 promoter by hepatitis C virus-induced AP-1 and Sp1: role of TGF- β 1 in hepatic stellate cell activation and invasion [J]. *PLoS One* 2013, 8(2): e56367.
- [8] 陈源文, 李定国, 吴建新, 等. 粉防己碱上调 Smad7 表达抑制大鼠肝星状细胞活化[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(5): 563-7.
- [9] Lewindon P J, Pereira T N, Hoskins A C, et al. The role of hepatic stellate cells and transforming growth factor- β 1 in cystic fibrosis liver disease [J]. *Am J Pathol* 2002, 160(5): 1705-15.
- [10] 殷 亮, 杨生. 转化生长因子 β (TGF- β) 在肝纤维化中的作用[J]. 肝脏, 2007, 12(5): 416-7.
- [11] Liang T J, Yuan J H, Tan Y R, et al. Effect of ursodeoxycholic acid on TGF beta1/Smad signaling pathway in rat hepatic stellate cells [J]. *Chin Med J(Engl)*, 2009, 122(10): 1209-13.
- [12] 陈达凡, 李建英, 郑伟达, 等. 外源性转化生长因子 β 1 对大鼠原代肝星状细胞活化的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(3): 211-5.

Protective effects of water extract of *periplaneta americana* on immunological liver fibrosis in rats

Xia Chao¹, Wang Jiajia², Li Fangqun¹, et al

(¹Dept of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

²Dept of Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the protective effects and mechanisms of water extract of *Periplaneta Americana* on immunological liver fibrosis in rats. **Methods** SD rats were randomly divided into six groups: normal control group, model group, water extract of *Periplaneta americana* (30 mg/kg, 60 mg/kg, 120 mg/kg) groups and positive control group (Colchicine 0.1 mg/kg). Hepatic fibrosis model was induced by intraperitoneal injection of pig serum, then the rats were treated with different concentrations of water extract of *Periplaneta Americana* during the modeling of liver fibrosis; normal and model rats were treated with equal dosage of saline. After 12 weeks of modeling, rats were weighed and sacrificed. The liver and spleen index were calculated; the level of ALT, AST, HA, LN, PC III, C IV in serum and SOD, MDA, GSH-Px in liver tissues were tested. Additionally, liver samples collected after experiment were stained with hematoxylin-eosin (HE) staining, masson staining and scored. The expression of α -SMA and TGF- β 1 in liver tissues was analyzed by immunohistochemistry and Western blot. **Results** Compared with the model group, the liver and spleen index, the level of ALT, AST, HA, LN, PC III, C IV in serum and the content of MDA in liver tissue were decreased. The SOD and GSH-Px activity were increased in water extract of *Periplaneta americana* groups. Water extract of *Periplaneta americana* could ameliorate liver histopathological lesion of model rats. Moreover, water extract of *Periplaneta americana* could also decrease the protein expression of α -SMA and TGF- β 1 in liver. **Conclusion** Water extract of *Periplaneta Americana* significantly reduces pig serum-induced liver fibrosis in rats, probably by its free-radical scavenging ability and decreasing the expression of TGF- β 1. **Key words** water extract of *periplaneta Americana*; immune hepatic fibrosis; pig serum; antioxidant; transforming growth factor β 1