

## ◇ 药学研究 ◇

## 白藜芦醇对佐剂性关节炎大鼠血管内皮因子表达的影响

卢锦森<sup>1</sup>, 马中飞<sup>1</sup>, 纵何香<sup>1</sup>, 叶桂萍<sup>1</sup>, 郭利梅<sup>1</sup>, 何舒宁<sup>1</sup>, 张梦琳<sup>1</sup>, 陈晓宇<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨白藜芦醇(Res)对佐剂性关节炎(AA)模型大鼠关节滑膜组织的抗炎作用和对血管内皮生长因子(VEGF)表达水平的影响。方法 60只SD大鼠随机分正常组(10只)和模型组(50只),模型组左后足趾皮内注射弗氏完全佐剂建立AA模型,模型组在建模后12d再分5组:模型对照组、Res低剂量组(5 mg/kg)、Res中剂量组(15 mg/kg)、Res高剂量组(30 mg/kg)、阳性药塞来昔布组(5 mg/kg),给药16d后处死大鼠,对各组大鼠踝关节滑膜组织行病理切片、HE染色和VEGF免疫组化染色。观察滑膜增生、血管翳形成、炎症渗出、关节软骨和骨破坏等情况。Western blot法检测VEGF蛋白的表达情况。结果 Res治疗组的关节病理学评分明显低于模型对照组,免疫组化染色以及Western blot结果显示,Res能降低滑膜组织VEGF表达水平。结论 Res有改善大鼠关节滑膜炎、抑制滑膜组织VEGF表达的作用,这可能与Res治疗AA关节炎有关。

**关键词** 佐剂性关节炎;白藜芦醇;血管内皮因子;大鼠

中图分类号 R-332

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)07-0969-05

2015-04-08 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81373421);国家级大学生创新创业训练计划项目(编号:201310366007)

作者单位:安徽医科大学<sup>1</sup>临床医学系、<sup>2</sup>组胚教研室,合肥 230032

作者简介:卢锦森,男,硕士研究生;

陈晓宇,男,博士,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:

chenxy@ahmu.edu.cn

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是以关节滑膜炎为主要病理表现的慢性、系统性的自身免疫性关节疾病,持久反复发作的滑膜炎导致关节内软骨和骨的破坏,关节功能障碍,甚至残废<sup>[1]</sup>。大鼠佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)模型是一种RA免疫性炎症模型,RA和AA存在许多类似之处,且造模方法简单易行,是目前较常用的RA动物模型,为理想的筛选和研究治疗RA药物的模型<sup>[2]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种特异性的作用于血管内皮细胞的生长因子,能促进血管生成<sup>[3]</sup>。白藜芦醇(resveratrol, Res)是存在于葡萄、虎杖、决明、藜芦等的非黄酮类多酚化合物,具有抗脂质过氧化、抗炎、抗肿瘤、免疫调节等多种生物学功效<sup>[4]</sup>。该课题组前期研究<sup>[5-6]</sup>表明,Res对AA模型大鼠有一定的治疗作用,但其机制有待进一步阐明,该研究进一步观察Res对AA模型大鼠的治疗作用,探究这种治疗作用是否与抑制滑膜组织VEGF有关。

## 1 材料与方法

**1.1 主要仪器与试剂** 足跖容积测量仪 YLS-TA 购自山东医学科学院;Res(溶于无菌0.5%羧甲基纤维素钠中)、弗氏完全佐剂(freund's complete adjuvant, FCA)购自美国Sigma公司;兔抗大鼠单克隆

To make epidemiological survey on the 100 confirmed HIV-1 infections, extract HIV-1 RNA from their whole blood and amplified by RT-PCR. HIV-1 gag gene was sequenced directly from the PCR product. **Results** In the chosen patients, male to female ratio was 2.125 : 1. Patients aged  $\geq 20$  and  $\leq 49$  years old accounted for 54% in total, and patients aged 50 years old or older accounted for 45%. Farmers accounted for 40% and students accounted for 6%. Patients with education level of junior middle school or below accounted for 69%. The proportions which were transmitted through heterosexual and homosexual contact were 93% and 7% respectively. 61 specimens were gained in 100 specimens, then sequence analysis showed that there were 3 HIV-1 subtypes, CRF01\_AE(48 samples), B(5 samples), CRF\_07BC(8 samples). **Conclusion** The more attentions should be paid to the HIV/AIDS antibody screening in marriage and pregnancy inspection, focus on HIV/AIDS infection through sexual transmission in elderly people, and more effective ways to prevent HIV/AIDS infection for the population with poor education level should be explored. With the change of the main transmission and subtype, the more education and behavioral interventions should be done to prevent the spread of HIV/AIDS.

**Key words** HIV-1; epidemiological characteristics; subtype; gag gene

VEGF 一抗购自美国 Santa Cruz 公司; 免疫组化二抗、DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物有限公司; BCA 蛋白测定、ECL 化学发光试剂盒购自美国 Amersham Life Sciences 公司。

**1.2 实验动物分组及给药** 健康 SD 大鼠 60 只, 雄性, 体重 200 ~ 210 g, 安徽医科大学实验动物中心提供。大鼠自由摄食饮水, 饲养于室温 ( $25 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ 。随机将 SD 大鼠分为两组: 正常组 (10 只)、模型组 (50 只)。模型组于每鼠左后足趾皮内注射 0.1 ml FCA 致炎。于致炎第 12 天, 模型组随机均分为 5 组: 模型对照组、Res 低、中、高剂量 (5、15、30 mg/kg) 组、阳性药塞来昔布组 (5 mg/kg), 每 4 d 称重 1 次并根据体重调整用药剂量, 连续灌胃给药 16 d, 正常组及模型对照组给予等剂量溶媒的 0.5% 羧甲基纤维素钠。

**1.3 关节炎评分** 参照先前建立的方法<sup>[3]</sup>, 自 AA 模型大鼠致炎后 12 天, 每 4 d 测定一次关节炎指数评分, 观察大鼠多发性关节炎病变的严重程度。每爪评分标准如下: 0 分: 正常; 1 分: 踝关节红斑和轻微肿胀; 2 分: 踝关节或掌关节红斑和轻微肿胀; 3 分: 踝关节或掌关节红斑和中度肿胀; 4 分: 踝关节重度肿胀, 最大评分 12 分。大鼠非致炎侧右踝关节以下的容积变化的继发性炎症采用排水法测定, 肿胀度 ( $\Delta\text{ml}$ ) = 致炎后容积 - 致炎前容积。于致炎起第 28 天处死所有大鼠, 每组大鼠中随机选择 4 只大鼠, 用手术器械截断四肢、剥皮并将其用石蜡包埋以备后续形态学相关检查, 每组剩余 6 只大鼠迅速取踝关节滑膜组织, 与液氮罐中冷藏, 以备后续相关蛋白检测。

**1.4 踝关节滑膜组织免疫组化和 VEGF 血管计数** 按照 SP 试剂盒操作说明书, 4% 多聚甲醛固定大鼠踝关节, 脱钙、脱水、石蜡包埋、厚 5  $\mu\text{m}$  连续切片, 免疫组化 SP 法染色: 3% 过氧化氢灭活内源性过氧化物酶, 抗原微波加热修复, 5% 羊血清封闭抗原 10 min, 滴加 50  $\mu\text{l}$  兔抗大鼠 VEGF 单克隆抗体 (浓度 1 : 300) 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, 滴加 50  $\mu\text{l}$  生物素化羊抗兔 IgG 二抗工作液 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min, 现配 DAB 染液显色、苏木精复染、脱水、透明、封片, 光镜下观察。PBS 替代一抗为阴性对照, 光镜下组织切片呈棕黄色颗粒性沉积区域为阳性染色部位。参照文献<sup>[5]</sup> 计算阳性血管分数, 200 倍光镜下, 每张 VEGF 免疫组化切片随机选取 10 个视野, 计数每个视野的 VEGF 阳性血管平均光密度 (average optical density, OD) 值, 两位观察者独立进行测定, 误差小于 5% 的

情况下, 取平均值。

**1.5 Western blot 法测定 VEGF 蛋白的表达** 液氮中冻存的各组滑膜组织取样, 并将组织样品于研钵中研磨成匀浆, 按照试剂盒说明书配置细胞裂解液裂解研磨成匀浆的组织, 按步骤离心提取蛋白。按 BCA 试剂盒说明书, 测定每组样品的总蛋白浓度, 按照 (样品 : 5  $\times$  上样缓冲液 = 4 : 1) 的比例加入 5  $\times$  上样缓冲液, 100  $^{\circ}\text{C}$  金属浴 10 min, 保存于 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱。每组取 30  $\mu\text{g}$  总蛋白, 在 12% SDS-PAGE 分离胶中电泳, 并于 350 mA 横流将蛋白转至 0.22  $\mu\text{m}$  孔径的 PVDF 膜上。用 PBST 洗涤 PVDF 膜, 并用 5% 脱脂奶粉的 PBST 封闭 1 h, 按照目的蛋白和转染内参所在位置剪开膜, 目的蛋白部分加入用一抗稀释液稀释后的兔抗鼠 VEGF (1 : 2 000 稀释) 10 ml 于 4  $^{\circ}\text{C}$  摇床孵育过夜。转染内参部分加入用一抗稀释液稀释后的兔抗鼠  $\beta$ -actin 抗体 (1 : 4 000 稀释) 10 ml 于 4  $^{\circ}\text{C}$  摇床孵育过夜。次日用 5% 脱脂奶粉的 PBST 稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (1 : 10 000 稀释) 孵育 2 h, 洗涤后 ECL 化学发光法显色, Image J 灰度分析软件作半定量分析。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 15.0 软件进行分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。计量资料经过方差齐性检验后采用  $t$  检验, 率的比较采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

**2.1 Res 对大鼠继发炎症的影响** 致炎后第 12 天模型组大鼠非致炎侧足趾开始肿胀, 呈继发性病变, 呈进行性加重右侧和前足肿胀, 逐渐行动不便, 站立不稳。与正常组大鼠比较, 相应时间点的 AA 模型组大鼠右足较正常组多发性关节评分明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); Res 降低了 AA 模型大鼠多发性关节炎评分, Res 高剂量、阳性药塞来昔布治疗组较 Res 小剂量组更为明显, 见图 1。

**2.2 Res 对 AA 模型大鼠继发性足肿胀的影响** 与 AA 模型对照组比较, Res 自用药 8 d 后开始发挥疗效, Res (5、15、30 mg/kg) 和阳性药塞来昔布可明显抑制 AA 模型大鼠的继发性足肿胀, 以 Res (30 mg/kg) 组和塞来昔布 (5 mg/kg) 组作用更为明显。见图 2。

**2.3 免疫组织化学法检测 Res 对 AA 模型大鼠踝关节的 VEGF 蛋白表达** 结果表明, 在 AA 模型大鼠滑膜衬里层血管内皮 VEGF 呈高表达; 而随着 Res 治疗浓度的增加, 血管内皮细胞 VEGF 蛋白阳

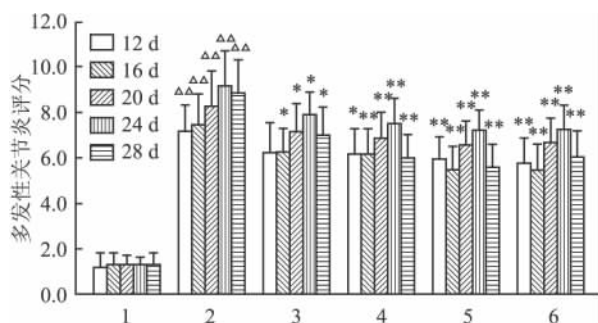


图1 Res对AA模型大鼠继发性关节炎指数评分的影响( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

1: 正常组; 2: 模型对照组; 3: Res (5 mg/kg) 组; 4: Res (15 mg/kg) 组; 5: Res (30 mg/kg) 组; 6: 阳性药塞来昔布 (5 mg/kg) 组; 与模型对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与正常组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$

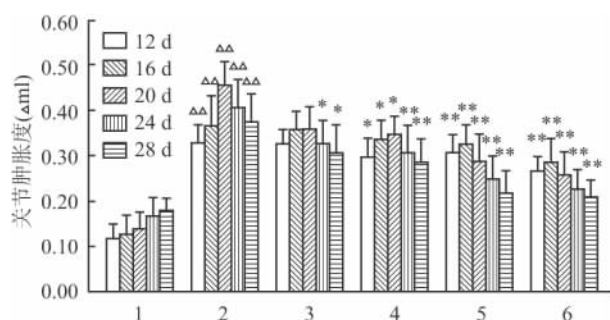


图2 Res对AA模型大鼠继发性足肿胀病变的影响( $\Delta ml$ ) ( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

1: 正常组; 2: 模型对照组; 3: Res (5 mg/kg) 组; 4: Res (15 mg/kg) 组; 5: Res (30 mg/kg) 组; 6: 阳性药塞来昔布 (5 mg/kg) 组; 与模型对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与正常组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$

性反应渐减弱,提示 Res 可降低血管内皮 VEGF 的活性而改善 AA 模型大鼠的滑膜组织的血供。模型对照组大鼠 OD 值 ( $0.38 \pm 0.12$ ) 明显高于正常组 ( $0.13 \pm 0.04$ ), 差异有统计学意义 ( $t = 5.962$ ,  $P < 0.01$ ), 与模型对照组比较, Res 治疗组 (5、15、30 mg/kg) 降低了 VEGF 阳性血管 OD 值 ( $0.29 \pm 0.11$  vs  $0.25 \pm 0.09$  vs  $0.21 \pm 0.05$ ), 差异有统计学意义 ( $t = 2.306, 3.126, 6.856$ ,  $P < 0.05$ ), 即高剂量 Res 降低 VEGF 阳性血管 OD 值更为明显。见图 3。

**2.4 Res 对关节滑膜组织中 VEGF 蛋白表达的影响** 与正常组比较, 模型组关节滑膜组织中 VEGF 的表达明显上调, 而 Res 各剂量组滑膜组织中 VEGF 蛋白表达水平低于模型对照组, 但仍高于正常组。与模型对照组比较, 5、15、30 mg/kg Res 组和阳性药塞来昔布 (5 mg/kg) 组 VEGF 蛋白明显下降 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见图 4。

### 3 讨论

血管增生是 RA 最先出现的病变之一, 此时滑

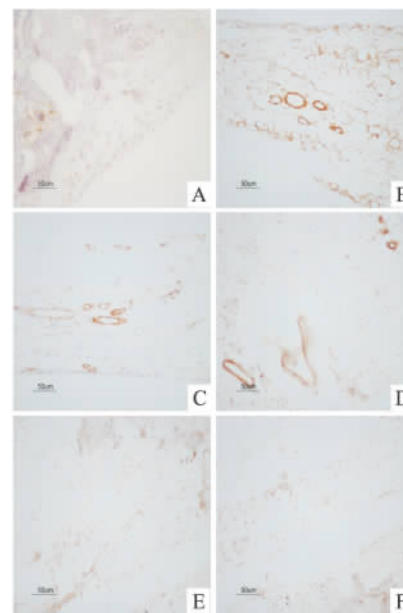


图3 免疫组化检测大鼠踝关节滑膜组织 VEGF 表达 SP  $\times 200$

A: 正常组; B: 模型对照组; C: Res (5 mg/kg) 组; D: Res (15 mg/kg) 组; E: Res (30 mg/kg) 组; F: 阳性药塞来昔布 (5 mg/kg) 组

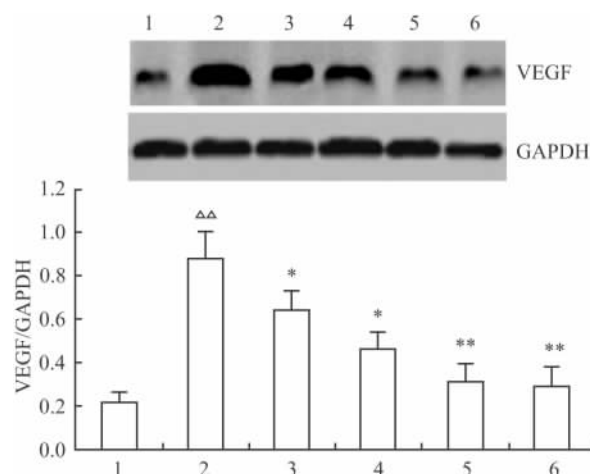


图4 不同浓度 Res 作用 AA 模型大鼠滑膜组织 VEGF 蛋白表达

1: 正常组; 2: 模型对照组; 3: Res (5 mg/kg) 组; 4: Res (15 mg/kg) 组; 5: Res (30 mg/kg) 组; 6: 阳性药塞来昔布 (5 mg/kg) 组; 与模型对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与正常组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$

膜的微血管数量显著增加, 随着大量细胞因子和炎症介质的释放, 以中性粒细胞为代表的各类炎细胞逐渐侵蚀滑膜深处, 在血管生成因子的诱导下, 滑膜的微血管得以大量生成<sup>[6]</sup>。不断生长的血管和各类炎细胞、炎症介质不断破坏关节滑膜组织, 随着浸润深度的增加, 病变逐渐累积软骨和骨, 纵横交错的血管和滑膜乃至软骨相互穿插融合, 形成滑膜血管翳, 丰富的血管为炎症介质如白细胞介素-1、肿瘤坏死因子- $\alpha$  的广泛释放提供了通道和补给, 这些炎症介质随之造成严重的骨质破坏和重塑, 造成关节的畸形和持续的疼痛。而纵观整个过程, 增多的血管

为炎性介质的扩散和炎细胞的浸润提供了便捷的通道,是造成病变的关键原因<sup>[7]</sup>。因此,能够促进血管生成和增加血管通透性的 VEGF 在 RA 整个病理过程中起着重要作用。

AA 模型是一种 RA 免疫性炎症模型,该模型的原发性病变类似急性炎症模型,继发性炎症表现为以多发性关节炎为特征性病变的全身迟发型超敏反应。随着人们对 RA 和 AA 的深入研究,发现两者存在许多类似之处:如滑膜增生、血管翳形成及软骨和骨破坏。且由于造模方法简单易行成为了常用的 RA 动物模型,是研究治疗 RA 药物的理想模型<sup>[2,8]</sup>。本课题组前期研究<sup>[9]</sup>表明,AA 大鼠关节发生病变后,关节滑膜囊充血水肿,以中性粒细胞为主的炎细胞不断向深处浸润,血管扩张导致其通透性下降,大量血浆、细胞、细胞因子渗出,滑膜细胞分泌大量粘液素、纤维素。随着病变时间的延长,在炎性介质的刺激下,软骨和骨不断被破坏、重塑,同时出现变性,滑膜细胞不断增生造成滑膜肥厚。因此,滑膜组织炎细胞的浸润在 AA 模型大鼠关节损伤中占重要地位。而滑膜血管通透性和数量的增加成为了炎细胞浸润的组织学基础。1990 年,因美国哈佛大学 Folkman 博士提出的 Folkman 理论而使得 VEGF 备受关注,VEGF 基因由 8 个外显子和 7 个内含子组成,定位于染色体 6p21.3,有着不同的亚型,其中 VEGF121、VEGF165 和 VEGF189 在人体内表达。不同的 VEGF 受体特异性地分布于血管内皮细胞,常见的有 VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3。当 VEGF 与其受体结合,能够促进血管内皮细胞的分裂增生,增加血管的通透性,其活性也受到氧含量、细胞水平、基因水平的多重调控。在治疗 RA 仍无理想手段的今天,寻找滑膜血管增生的抑制剂不失为一个具有美好前景的方向。找到阻抑 VEGF 的促血管生成作用的物质,就可以抑制炎性介质的释放和浸润,减少关节的破坏和重塑,抑制滑膜细胞的增生,从而有效治疗 RA。Res 具有抗脂质过氧化、抗炎、抗肿瘤、免疫调节等多种生物学功效,由于 VEGF 能够通过与特异性受体结合促进血管的生成,增强血管的通透性从而促进滑膜组织增生,破坏周围软骨和骨,本实验推测 Res 可以通过下调 VEGF 来发挥治疗 RA 作用<sup>[10]</sup>。

本实验结果显示,治疗组大鼠原发侧关节炎炎症指数评分从第 12 ~ 28 天均一直明显低于模型对照组,且 Res(30 mg/kg)组比 Res(5 mg/kg)组降低的程度更加明显。同时,与模型对照组比较,治疗组可

明显抑制 AA 模型大鼠的继发性足肿胀,以 Res(30 mg/kg)和阳性药塞来昔布(5 mg/kg)治疗组作用更为明显。这说明 Res 对 AA 有明显的治疗作用,且有剂量依赖效应。Western blot 显示,Res 治疗组和阳性药塞来昔布组滑膜组织中 VEGF 蛋白表达水平低于模型对照组;免疫组化结果也显示同样结果,在 AA 模型大鼠滑膜衬里层血管内皮 VEGF 蛋白呈高表达,随着 Res 浓度的增加,血管内皮细胞 VEGF 蛋白阳性反应逐渐减弱。这说明 Res 可能通过抑制 VEGF 的表达和活性,从而发挥对 AA 的治疗作用。

然而,Res 是通过什么途径来抑制 VEGF 的表达,在此途径中又通过调控哪些物质进而影响 VEGF 的表达,都是值得思考的问题。Res 可以通过下调促进血管新生的 VEGF 从而抑制血管翳形成,那么 Res 是否可以通过上调 VEGF 的拮抗因子从而下调 VEGF 以抑制血管新生来缓解 AA 症状,这些问题都有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Chang Y, Wu Y, Wang D, et al. Therapeutic effects of TACI-Ig on rats with adjuvant-induced arthritis *via* attenuating inflammatory responses [J]. *Rheumatology (Oxford)* 2011, 50(5): 862–70.
- [2] Zuo J, Xia Y, Li X, et al. Therapeutic effects of dichloromethane fraction of *Securidaca inappendiculata* on adjuvant-induced arthritis in rat [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(2): 352–8.
- [3] Wu X, Hou T, Luo F, et al. Vascular endothelial growth factor and physiological compressive loading synergistically promote bone formation of tissue-engineered bone [J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(21–22): 2486–94.
- [4] Xuzhu G, Komai-Koma M, Leung B P, et al. Resveratrol modulates murine collagen-induced arthritis by inhibiting Th17 and B-cell function [J]. *Ann Rheum Dis* 2012, 71(1): 129–35.
- [5] Chen X Y, Wang Z C, Li J, et al. Regulation of synovial cell activity by resveratrol in rats with adjuvant arthritis [J]. *Exp Ther Med* 2013, 6(1): 172–6.
- [6] 安梅,孙和炎,卢锦森,等. 基质金属蛋白酶-1 及其抑制剂在白藜芦醇治疗佐剂性关节炎中的表达 [J]. *安徽医科大学学报* 2014, 49(6): 701–6.
- [7] 朱宝玉,田静,王奇缘,等. 血管内皮细胞生长因子在骨关节炎患者膝关节滑膜和滑液中的表达及其意义 [J]. *中华风湿病学杂志* 2011, 15(9): 640–1.
- [8] Wang D, Hu S, Zhu J, et al. Angiotensin II type 2 receptor correlates with therapeutic effects of losartan in rats with adjuvant-induced arthritis [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(12): 1577–87.
- [9] Sawaguchi Y, Hirata K, Suzuki R, et al. Suppression of murine collagen-induced arthritis by vaccination of synovial vascular endothelial cells [J]. *Life Sci* 2013, 92(23): 1125–30.
- [10] Bai Y J, Jiang D X, An N, et al. Effects of cold-damp and hot-damp environment on VEGF and IL-1 expression in joint cartilage cells in adjuvant arthritis in rats [J]. *J Tradit Chin Med* 2012, 32(2): 256–60.

## 茵陈中 6,7-二甲氧基香豆素在 MDCK 模型中的吸收机制研究

李杨杨, 黄 成, 孟晓明, 陈昭琳, 马陶陶, 李 俊

**摘要** 目的 基于马丁达比犬的肾近曲小管上皮(MDCK)细胞模型研究茵陈中 6,7-二甲氧基香豆素的吸收机制。方法 考察时间、药物浓度(12.5、25、50、100、200  $\mu\text{mol/L}$ )、温度(4、37  $^{\circ}\text{C}$ )和抑制剂(碘乙酰胺、维拉帕米、MK571)对 6,7-二甲氧基香豆素吸收和转运的影响。采用高效液相色谱法(HPLC)检测 6,7-二甲氧基香豆素的浓度,计算出表观渗透系数( $P_{\text{app}}$ )并分析其吸收机制。结果 根据  $P_{\text{app}}$  得出 6,7-二甲氧基香豆素在 MDCK 细胞模型上的转运量呈时间和浓度依赖性且不同浓度下的  $P_{\text{app(B-A)}}/P_{\text{app(A-B)}} \approx 1$ 。4、37  $^{\circ}\text{C}$  和加入抑制剂碘乙酰胺后 6,7-二甲氧基香豆素的吸收  $P_{\text{app(A-B)}}$  之间差异无统计学意义。37  $^{\circ}\text{C}$  和加入外排蛋白抑制剂维拉帕米、MK571 后 6,7-二甲氧基香豆素的外排  $P_{\text{app(B-A)}}$  之间差异无统计学意义。结论 6,7-二甲氧基香豆素在 MDCK 细胞模型上表现为浓度依赖的单纯扩散。

**关键词** MDCK; 6,7-二甲氧基香豆素; HPLC; 单纯扩散

中图分类号 R 945

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)07-0973-05

6,7-二甲氧基香豆素是常用中药茵陈的主要有效成分之一,茵陈为菊科植物滨蒿或茵陈蒿的地上干燥部分,《中国药典》2010 年版(一部)收载,具有清湿热、退黄疸的功效,临床上常用做保肝中药<sup>[1]</sup>,其主要药效物质基础为香豆素类化合物。研究<sup>[2]</sup>表明 6,7-二甲氧基香豆素具有抗凝血、降血脂、促血管舒张、抗氧化、抗炎等生物学特性。目前关于 6,7-二甲氧基香豆素的吸收机制研究未见文献报道。马丁达比犬肾近曲小管上皮(Madin Darby canine kidney, MDCK)细胞模型被用来研究小肠上皮细胞药物转运和代谢的体外模型,已广泛应用于口服药物的筛选和研究药物肠吸收的过程,成为了研究药物吸收较适合的模型<sup>[3]</sup>。该实验用 MDCK 细胞单层模型研究 6,7-二甲氧基香豆素的吸收机制,考察时间、药物浓度、温度以及相关抑制剂对 6,7-二甲氧基香豆素双向转运转运的影响。

2015-04-08 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81273526, 81202978)

作者单位: 安徽医科大学药学院、安徽天然药物活性研究省级实验室、安徽省创新药物产业共性研究院, 合肥 230032

作者简介: 李杨杨, 男, 硕士研究生;

李 俊, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lijun@ahmu.edu.cn

## Effect of resveratrol on expression of VEGF in rats with adjuvant arthritis

Lu Jinsen, Ma Zhongfei, Zong Hexiang, et al

(Dept of Clinical Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract** **Objective** To investigate the effect of anti-inflammatory and expression level of vascular endothelial growth factor(VEGF) of resveratrol (Res) on synovial tissues in rats with adjuvant arthritis (AA). **Methods** 60 SD rats were randomly divided into two groups: normal group (10 rats), model group (50 rats). Model group was injected Freund's complete adjuvant induced arthritis, when the right paw was induced after 12 days and secondary immune-inflammatory feet were swollen, the model rats were randomly divided into 5 groups, and each group had 10 rats. AA model, Res low dose group (5 mg/kg), Res middle dose group (15 mg/kg), Res high dose group (30 mg/kg), positive control celecoxib group (5 mg/kg) qd  $\times$  16. After induced inflammatory paw, the expressions of VEGF in synovial tissue and articular cartilage were detected by immunohistochemistry, VEGF protein content in synovial tissue were detected by Western blot. **Results** Res could inhibit model group rats pathological damage, compared with the AA model group, synovial tissue expression of VEGF was significantly low in the resveratrol-treated groups and celecoxib group. **Conclusion** Res prevents the pathological changes of the joint degeneration, its mechanism may be involved regulating the expression of VEGF in synovial tissue of AA rats.

**Key words** adjuvant arthritis; resveratrol; vascular endothelial growth factor; rats