

- [11] 李希强,王金辉,王素贤,等. 祁州漏芦中的植物甾酮类成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(4): 260-262.
- [12] 程捷恺,张永红,张自义,等. 祁州漏芦中蜕皮甾酮类化学成分的研究[J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(11): 2084-2088.
- [13] 果德安,楼之岑,高从元,等. 祁州漏芦蜕皮甾酮类化学成分的研究[J]. 药学学报, 1991, 26(6): 442-446.
- [14] 张喜萍,杨雁,吴明,等. 祁州漏芦根的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(6): 859-862.
- [15] 张永红,张建钢,谢捷明,等. 祁州漏芦根中的三萜成分[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(23): 1833-1836.
- [16] Youn H, Jeong J C, Jeong Y S. Quercetin potentiates apoptosis by inhibiting nuclear factor-kappa B signaling in H460 lung cancer cells[J]. *Bio Pharm Bull*, 2013, 36(6): 944-951.
- [17] Yi T, Kabha E, Papadopoulos E, et al. 4EGI-1 targets breast cancer stem cells by selective inhibition of translation that persists in CSC maintenance, proliferation and metastasis[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(15): 6028-6037.
- [18] Gangemi R, Amaro A, Gino A, et al. ADAM10 correlates with uveal melanoma metastasis and promotes *in vitro* invasion [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2014, 27(6): 1138-1148.
- [19] Albert A B, Savarimuthu I, Gabriel M P, et al. Chemopreventive potential of  $\beta$ -Sitosterol in experimental colon cancer model—an *in vitro* and *in vivo* study[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2010, 10: 24.
- [20] Shanthi S. V, Raosaheb K K, Rana P S, et al.  $\beta$ -sitosterol induces G1 arrest and causes depolarization of mitochondrial membrane potential in breast carcinoma MDA-MB-231 cells [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13: 280.
- [21] Rzepecka-Stojko A, Kabała-Dzik A, Mozdierz A, et al. Caffeic acid phenethyl ester and ethanol extract of propolis induce the complementary cytotoxic effect on triple-negative breast cancer cell lines[J]. *Molecules*, 2015, 20(5): 9242-9262.
- [22] Han S, Yang S, Cai Z, et al. Anti-Warburg effect of rosmarinic acid via miR-155 in gastric cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 2695-2703.
- [23] Feng L, Jia X B, Shi F, et al. Identification of two polysaccharides from *Prunella vulgaris* L. and evaluation on their anti-lung adenocarcinoma activity [J]. *Molecules*, 2010, 15(8): 5093-5103.
- [24] Mark S, Bobbi H, Schanz H. D, et al. *In vitro* anticancer activity of twelve chinese medicinal herbs [J]. *Phytother Res*, 2005, 19(7): 649-651.

## 紫草提取物对果蝇肠道损伤的保护作用

丁秋然, 张宏, 洛方舟, 金丽华\*  
(东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** **目的** 探究紫草 *Arnebia euchroma* 水提取物对果蝇肠道损伤的保护作用与保护机制。**方法** 利用十二烷基硫酸钠 (SDS) 与百草枯诱导野生型黑腹果蝇肠道损伤, 分析喂食正常培养基与含紫草培养基的果蝇生存率。通过免疫染色法检测果蝇肠道前体细胞数量、处于分裂期的干细胞数量、肠道上皮细胞内活性氧自由基水平与死亡细胞的数量, 并用 Axioskop 2 plus 型荧光显微镜观察肠道形态学变化。**结果** 喂食含 10% 紫草水提取物可以明显提高果蝇的生存率、显著抑制肠道损伤引起的前体细胞与肠道干细胞的过度增殖、降低肠道上皮细胞的死亡, 结果具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。此外, 10% 紫草提取物还可以降低肠道上皮细胞内活性氧的水平, 保护和维持肠道形态。**结论** 紫草水提取物对 SDS 与百草枯诱导的果蝇肠道损伤具有保护作用。

**关键词:** 紫草; 水提取物; 黑腹果蝇; 十二烷基硫酸钠; 百草枯; 肠道损伤; 肠道上皮细胞

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2016)10-2105-07

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2016.10.003

## Protective effect of *Arnebia euchroma* aqueous extract on gut injury of fruit fly

DING Qiu-ran, ZHANG Hong, LUO Fang-zhou, JIN Li-hua\*

收稿日期: 2015-12-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31270923); 黑龙江省科学基金项目 (C2016010)

作者简介: 丁秋然 (1990—), 女, 硕士生, 从事果蝇天然免疫研究。Tel: 15244681784, E-mail: 805969264@qq.com

\*通信作者: 金丽华 (1970—), 女, 教授, 从事细胞与分子免疫学, 遗传与发育方向研究。Tel: 15046109867, E-mail: lhjin2000@hotmail.com

(College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**ABSTRACT: AIM** To observe the effect of *Arnebia euchroma* aqueous extract on the gut injury of fruit fly (*Drosophila melanogaster*). **METHODS** The gut damage of wild type fruit fly model was induced by sodium dodecyl sulphate (SDS) and paraquat. The comparison was made in survival rate between fruit flies fed with normal forage and 10% *Arnebia euchroma* aqueous extract. The immune staining method was used to measure the number of intestinal progenitor cells and stem cells in the division phase, the reactive oxygen species level, and the death rate of intestinal epithelial cell. Morphological changes of the intestine were imaged by an Axioskop 2 plus microscope. **RESULTS** 10% *Arnebia euchroma* aqueous extract-fed could significantly improve the survival rate, reduce the over proliferation of intestinal precursor and stem cells, and lower the death rate of intestinal epithelial cell and reactive oxygen species level of fruit fly with statistical difference. **CONCLUSION** *Arnebia euchroma* aqueous extract has protective effect on fruit fly's intestinal gut injury induced by paraquat and SDS.

**KEY WORDS:** *Arnebia euchroma*; aqueous extract; fruit fly (*Drosophila melanogaster*); sodium dodecyl sulphate (SDS); paraquat; gut injury; intestinal epithelium cell

紫草 (*Lithospermum erythrorhizon*) 为紫草科植物新疆紫草 [*Arnebia euchroma* (Royle) Johnst] 或内蒙紫草 (*Arnebia guttata* Bunge) 的干燥根。味甘咸, 性寒, 归心、肝经<sup>[1]</sup>。紫草的主要成分有两大类: 一类是脂溶性很强的萘醌类化合物, 具有促进伤口愈合和抗炎、抗氧化、抗菌等广泛的药理作用<sup>[2]</sup>; 另一类是水溶性成分, 主要是多糖, 含有量约为 2%<sup>[3]</sup>。

肠道黏膜除具有消化吸收的功能之外, 还可以防止病原微生物侵入内环境进而保护宿主<sup>[4]</sup>。当外界有害物质进入肠道引起炎症反应时, 肠道上皮细胞作为第一道屏障做出免疫应答: 产生大量的活性氧自由基 (reactive oxide species, ROS)<sup>[5]</sup> 和启动抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 的表达<sup>[6-7]</sup>。病原体引起肠道内氧化还原水平升高、表皮细胞凋亡, 肠道干细胞通过增殖与分化来补充凋亡细胞以维持肠道的完整性和内稳态<sup>[8-9]</sup>。果蝇作为模式生物, 其肠道结构与哺乳动物相似, 而且干细胞增殖与分化机制与哺乳动物具有高度保守性<sup>[10-11]</sup>, 因此利用果蝇作为肠道损伤模型可以快速而深入的探讨中草药对肠道免疫功能的影响。

目前对紫草水溶性成分研究较少, 其对肠道免疫的影响更鲜有报道。为此, 本研究利用喂食致炎因子的方法建立果蝇肠道上皮细胞损伤模型来探究紫草提取物对果蝇肠道的保护作用及机制。

## 1 材料

1.1 药材与试剂 中药紫草购自哈尔滨市人民同泰药店, 由东北林业大学生命科学学院王秀华教授鉴定为紫草科新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle)

Johnst 的干燥根。十二烷基硫酸钠 (SDS) 购自美国 Amresco 公司; 百草枯 (paraquat) 购自美国 Sigma 公司, 批号 STBB4842V; 磷酸化组蛋白 H3 抗体 (Phospho Histone 3, PH3) 购自美国 Millipore 公司 (产品批号 1960876); 7-氨基放线菌素 (7-aminoactionomycin D, 7-AAD, 产品批号 1004171); 二氢乙啶 (Dihydroethidium, DHE) 购自美国 Invitrogen 公司 (产品批号 824954)。

1.2 果蝇 野生型黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) *W<sup>1118</sup>* 和 *esg-Gal4; UAS-GFP* 品系果蝇为实验室保存。果蝇培养条件为温度 (25 ± 0.5) °C、相对湿度 60% ~ 70%。

1.3 仪器 SZ51 型显微镜 (日本 Olympus 公司); ALC-210.4 型电子分析天平 (北京赛多利斯公司); Axioskop 2 plus 型荧光显微镜 (德国 Zeiss 公司); Elix5 去离子水系统 (美国 Millipore 公司)。

## 2 方法

2.1 紫草水提取物的制备 具体配制方法参见文献 [12]。即可得到质量浓度为 200 mg/mL (20%) 的紫草提取液。利用无菌水稀释为 5% 或 10% 紫草提取液备用。

2.2 果蝇培养基的配置 正常培养基: 具体配制方法参见文献 [13]。紫草提取物培养基: 用等体积的 5% 或 10% 紫草提取液替代正常培养基配制中的去离子水, 配制成该浓度的紫草培养基。

2.3 果蝇生存率的测定 将 6 mmol/L 百草枯或 6 mg/mL SDS (含 5% 蔗糖) 滴加在滤纸上, 充分润湿后, 垫入果蝇管中备用。随机收集正常培养基与 5% 或 10% 紫草培养基中羽化 3 ~ 4 d 的 *W<sup>1118</sup>* 品系果蝇, 雌雄各 15 只, 经过 2 h 饥饿处理后, 将

果蝇转移至备用果蝇管中。每24 h记录死亡果蝇数目并且更换滤纸，每组实验重复3次。

2.4 果蝇肠道前体细胞数目与形态 随机收集正常培养基与10%紫草培养基中羽化3~4 d的 *esg-Gal4; UAS-GFP* 品系雌果蝇经过2 h饥饿处理后喂食6 mg/mL SDS (含5%蔗糖) 16 h, 显微镜下分离12~15条完整果蝇肠道放置在4%甲醛中, 常温固定30 min, PBS洗3次每次5 min, DAPI (4', 6-二脒基-2-苯基吡啶) 染色10 min, PBS洗3次每次5 min, 甘油封片后荧光显微镜下观察并拍照, 每组实验重复2次。

2.5 果蝇肠道分裂期干细胞数目 随机收集正常培养基与10%紫草培养基中羽化3~4 d的 *W<sup>1118</sup>* 品系雌果蝇经过2 h饥饿处理后喂食6 mg/mL SDS 溶液 (含5%蔗糖) 16 h, 显微镜下分离12~15条完整果蝇肠道于4%甲醛中, 常温固定30 min, PBST [含0.1% Triton X-100 (聚乙二醇辛基苯基醚)的PBS] 洗3次, 每次10 min, 置于含有5%羊血清的PBST中封闭30 min, 加入1:200稀释的PH3抗体, 4℃过夜结合, PBST洗3次, 每次10 min, 加入1:200稀释的FITC标记山羊抗兔IgG结合2 h, PBST洗3次, 每次10 min, DAPI染色10 min, PBST洗3次, 每次10 min, 甘油封片后荧光显微镜下观察并拍照, 每组实验重复2次。

2.6 果蝇肠道上皮细胞死亡数目和ROS水平 随机收集正常培养基与10%紫草培养基中羽化3~4 d的雌果蝇, 经过2 h饥饿处理后喂食6 mg/mL SDS 溶液 (含5%蔗糖) 96 h或10 mg/mL SDS 溶液 (含5%蔗糖) 48 h, 显微镜下分离12~15条完整果蝇肠道放置在PBS中, 加入1:200稀释的

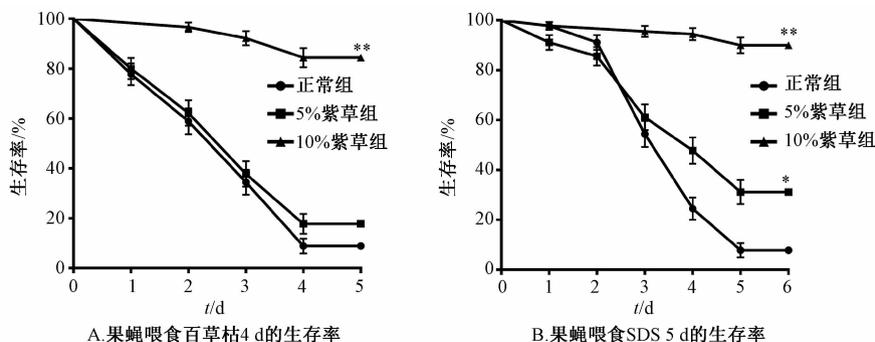
7-AAD或DHE于常温染色30 min, PBS洗3次, 每次5 min, 4%甲醛固定30 min, PBS洗3次, 每次5 min, DAPI染色10 min, PBS洗3次, 每次5 min, 甘油封片后荧光显微镜下观察并拍照, 每组实验重复2次。

2.7 果蝇肠道形态学变化 随机收集正常培养基与10%紫草培养基中羽化3~4 d的雌果蝇, 经过2 h饥饿处理后喂食6 mg/mL SDS 溶液 (含5%蔗糖) 96 h, 显微镜下分离出12~15条完整果蝇肠道于PBS中, 显微镜下观察肠道长度与黑色素瘤并拍照, 每组实验重复2次。

2.8 统计学处理 采用Prism 6软件进行统计学分析, 组间差异采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异显著的标准。

### 3 结果

3.1 对致炎因子诱导后果蝇生存率的影响 如图1A所示, 成体果蝇在处理百草枯4 d后, 正常组生存率降为8.9%, 而喂食10%紫草提取物的果蝇生存率为84.4%, 比正常组提高了75.5%, 具有显著差异 ( $P < 0.01$ ); 喂食5%紫草提取物的果蝇生存率为17.8%, 比正常组提高8.9%。另如图1B所示, 成体果蝇处理SDS 5 d后, 正常组生存率降为7.8%, 喂食10%紫草提取物的果蝇生存率为90.0%, 比正常组提高了82.2%, 具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 而喂食5%紫草提取物的果蝇生存率为31.1%, 比正常组提高23.3% ( $P < 0.05$ )。结果表明, 10%紫草提取物能够明显提高由百草枯和SDS诱导损伤的果蝇生存率, 因此以下实验均采用10%紫草提取物继续分析其对果蝇肠道损伤的保护作用。



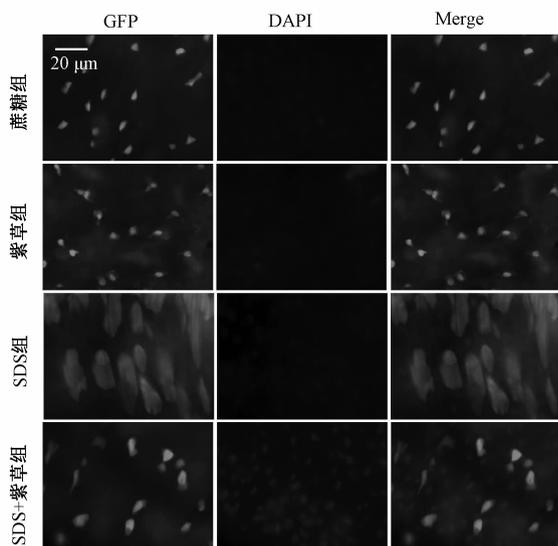
注: 与正常组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

图1 紫草提取物对百草枯或SDS处理后果蝇生存率的影响

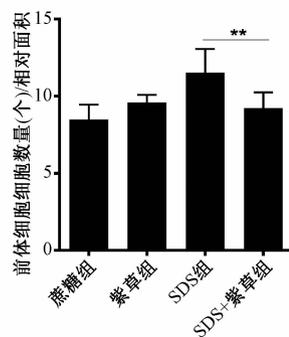
Fig. 1 Effects of *Arnebia euchroma* aqueous extract on survival rate of fruit fly treated with paraquat or SDS

3.2 对果蝇肠道前体细胞数量与形态的影响 喂食致炎因子可诱导果蝇肠道干细胞增殖活动增强<sup>[14-15]</sup>，导致肠道上皮细胞中的前体细胞数量显著增加<sup>[16]</sup>，因此果蝇可以通过前体细胞的自我更新对由致炎因子导致的肠道上皮损伤进行修复。但是，由于肠道干细胞过度增殖而大量积累的前体细胞将破坏肠道内环境的平衡状态<sup>[17]</sup>。*esg-Gal4; UAS-GFP* 品系果蝇自身携带绿色荧光蛋白报告基因，可以特异性标记果蝇肠道前体细胞 (progenitor cells)。因此利用此品系果蝇分析紫草提取物对果蝇肠道前体细胞增殖的影响。如图 2A 和 2B 所示，果蝇肠道中 GFP 阳性细胞数目在只喂食 5% 蔗糖或 10% 紫草提取物时处于正常水平，而喂食 SDS 后明显增加。但是，在 SDS 诱导后喂食紫草提取物，果蝇肠道中 GFP 阳性细胞数量与

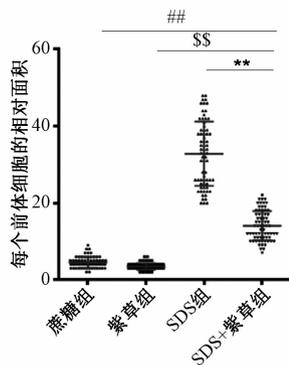
SDS 诱导组相比减少了 20.0% ( $P < 0.01$ )，几乎恢复到正常水平。此外，如图 2A 和 2C 所示，SDS 诱导能够引起 GFP 阳性细胞面积显著增大，喂食紫草提取物的实验组中 GFP 阳性细胞面积显著减小 ( $P < 0.01$ )，但与蔗糖组及紫草组中正常状态下的细胞大小相比，其 GFP 阳性细胞面积仍然增大。这表明，紫草提取物可以有效缓解由 SDS 诱导的前体细胞过度增殖，但并不能完全抑制。前体细胞为二倍体，具有较小的细胞核，其中 EB 细胞可以通过细胞核内复制分化成具有营养吸收功能的肠上皮细胞 (enterocytes, ECs)，而 EC 细胞是多倍体且具有较大细胞核<sup>[18]</sup>。因此喂食 SDS 后出现的大细胞是向 EC 细胞分化时处于过渡状态的前体细胞。因此，紫草提取物可以有效缓解由 SDS 诱导的果蝇肠道前体细胞过度增殖。



A. 喂食 SDS 16 h 后果蝇肠道 GFP 染色 (HE, ×400)



B. 定量分析中后肠 GFP 阳性细胞数量



C. 定量分析中后肠 GFP 阳性细胞大小

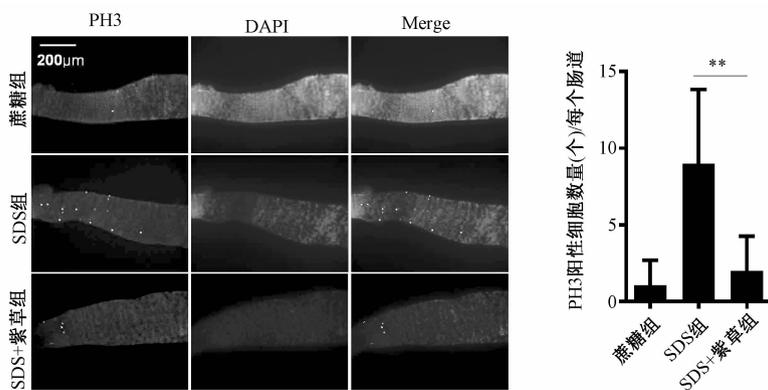
注：与蔗糖组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与紫草组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与 SDS 组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

图 2 10% 紫草提取物对 SDS 处理后果蝇肠道前体细胞数量和形态的影响

Fig. 2 Effects of *Artemisia euochroma* aqueous extract on the numbers and the size of progenitor cells in adult midgut of fruit fly after being treated with SDS

3.3 对果蝇肠道分裂期干细胞数量的影响 本实验利用 PH3 染色的方法分析果蝇肠道中处于分裂期的干细胞数量，来探讨受 SDS 刺激后紫草提取物对果蝇肠道干细胞增殖的影响。如图 3A 和 3B 所示，只喂食 5% 蔗糖时，果蝇肠道上皮仅存在极

少量的 PH3 阳性细胞。经过 SDS 诱导后肠道上皮出现大量 PH3 阳性细胞，而喂食紫草提取物后 PH3 阳性细胞减少了 77.8% ( $P < 0.01$ )，恢复到正常水平。结果说明，紫草提取物可以有效抑制由 SDS 诱导的肠道干细胞过度增殖。



A. 喂食 SDS 16 h 后果蝇中肠 PH3 染色 (HE,  $\times 100$ ) B. PH3 阳性细胞数量定量分析

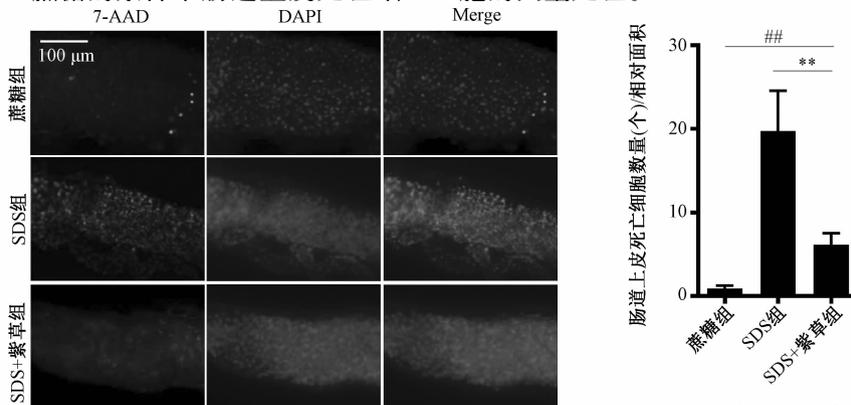
注: 与 SDS 组比较,  $**P < 0.01$

图 3 10% 紫草提取物对 SDS 处理后果蝇肠道干细胞增殖的影响

Fig. 3 Effects of *Arnebia euchroma* aqueous extract on the activity of ISC proliferation in adult midgut of fruit fly after being treated with SDS

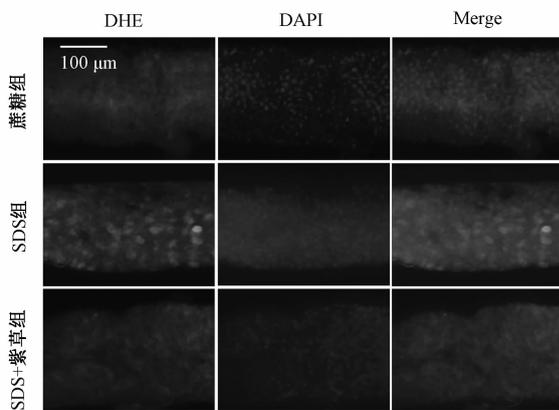
3.4 对果蝇肠道死亡细胞数量和细胞内 ROS 水平的影响 果蝇喂食致炎因子后生存率降低可能是由肠道上皮细胞的大量死亡引起的, 因此本实验采用 7-AAD 染色的方法分析肠道上皮细胞死亡情况。成体果蝇在喂食 5% 蔗糖的条件下肠道上皮死亡细

胞数目很少, 经过 SDS 处理后, 果蝇肠道上皮出现大量死亡细胞, 而喂食紫草提取物后死亡细胞的数量减少了 69.0% ( $P < 0.01$ ), 见图 4。因此, 紫草提取物可以显著抑制 SDS 诱导后肠道上皮细胞的大量死亡。



A. 喂食 SDS 96 h 后果蝇肠道 7-AAD 染色 (HE,  $\times 100$ )

B. 死亡细胞定量分析



C. 喂食 SDS 48 h 后果蝇肠道 DHE 染色 (HE,  $\times 100$ )

注: 与蔗糖组比较,  $##P < 0.01$ ; 与 SDS 组比较,  $**P < 0.01$

图 4 10% 紫草提取物对 SDS 处理后果蝇肠道上皮细胞死亡与 ROS 水平的影响

Fig. 4 Effects of *Arnebia euchroma* aqueous extract on intestinal epithelial cell death and the ROS level of fruit fly after being treated with SDS

在外源物质入侵机体时，果蝇肠道通过生成 ROS 来维持肠道内环境的氧化还原平衡，但 ROS 的过度积累会造成机体损伤<sup>[19]</sup>。本实验采用 DHE 染色的方法检测紫草提取物清除 ROS 的能力。如图 4C 所示，成体果蝇在喂食 5% 蔗糖的条件下肠道上皮 ROS 的量很少，在致炎因子 SDS 的刺激下中肠大部分细胞产生大量的 ROS，而喂食紫草提取物后果蝇中肠细胞中 ROS 水平明显降低。以上结果表明，紫草提取物可以有效清除果蝇肠道上皮细胞由于致炎因子 SDS 刺激而产生的过量 ROS，避免由氧化应激引起的机体损伤。

**3.5 对果蝇肠道形态学影响** 肠道上皮细胞的大量死亡可能会影响肠道的形态变化。6 mg/mL SDS 处理成体果蝇 96 h 后分离完整肠道，分析各组果蝇肠道形态变化。如图 5 和表 1 所示，喂食 SDS 的果蝇可以在中肠与尾肠连接的部位观察到清晰的黑色素瘤，并且肠道长度与蔗糖组相比缩短了 64.0% ( $P < 0.01$ )。而喂食紫草提取物后的果蝇，中肠与尾肠连接的部位没有观察到黑色素瘤的产生，并且肠道长度与 SDS 组相比中肠明显增长，增加了 119.6% ( $P < 0.01$ )，但略短于蔗糖组。此结果表明紫草提取物可以明显缓解 SDS 诱导引起的肠道缩短现象，有效保护和维持果蝇肠道形态。

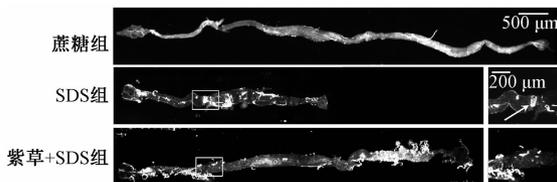


图 5 10% 紫草提取物对 SDS 处理后果蝇肠道长度和黑色素瘤的影响 (HE, ×25)

Fig. 5 Effects of *Arnebia euchroma* aqueous extract on the changes of gut length and melanization of fruit fly treated with SDS (HE, ×25)

表 1 10% 紫草提取物对 SDS 处理后果蝇肠道长度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ )

Tab. 1 Effects of *Arnebia euchroma* aqueous extract on the changes of gut length of fruit fly treated with SDS ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ )

组别	肠道平均长度/mm
蔗糖组	5.25 ± 0.58
SDS 组	1.89 ± 0.51
紫草 + SDS 组	4.15 ± 0.44 <sup>##**</sup>

注：与蔗糖组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与 SDS 组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

#### 4 讨论

紫草具有抗病原微生物、抗肿瘤、抗免疫缺陷、抗炎等药理活性，其多种提取物及活性单体具有较好的抗菌活性<sup>[20]</sup>。肠道作为摄食和外源因子入侵的主要部位，其对外来入侵能够做出免疫应答。果蝇的肠道结构、功能和作用机制与哺乳动物相似<sup>[21]</sup>，因此本实验建立果蝇肠道炎症损伤模型来研究紫草对肠道上皮的保护机制。

结果表明，百草枯和 SDS 诱导肠道损伤后，喂食紫草提取物可以显著提高果蝇的生存率；经 SDS 诱导后，紫草提取物可以有效的缓解肠道炎症引起的前体细胞与干细胞的过度增殖、减少上皮死亡细胞数量和降低上皮细胞中活性氧自由基的水平，进而保护肠道形态和避免黑色素瘤的产生。此外，5% 和 10% 紫草培养基与正常培养基中羽化的果蝇个体大小及生长状态保持一致，而且成体果蝇在连续 6 d 只喂食 5% 蔗糖、5% 或 10% 紫草提取物时生长状态良好，生存率始终为 100%，表明喂食蔗糖与紫草提取物对果蝇不会造成任何损伤。与 5% 紫草提取物相比，10% 紫草提取物对肠道损伤的缓解作用更加明显。此外，紫草提取物对由 SDS 诱导的前体细胞过度增殖的现象可以有效缓解，但不能完全抑制。综上所述，紫草可以缓解氧化应激与炎症引起的肠道损伤，提高果蝇肠道的免疫功能，此结果可以为紫草的临床应用提供实验依据。

#### 参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：340.
- [2] 戴冰，曹璐婷，肖子曾，等. 新疆软紫草石油醚提取物对小鼠及其靶器官的毒性影响 [J]. 中药药理与临床，2015(1)：147-150.
- [3] 周延萌，高允生. 中药紫草的药理作用与临床应用 [J]. 医药导报，2008，27(7)：786-788.
- [4] 郝阳光，张玮钰，金丽华. 果蝇肠道免疫的研究进展 [J]. 免疫学杂志，2013(9)：813-817.
- [5] Lee K A, Kim S H, Kim E K, et al. Bacterial-derived uracil as a modulator of mucosal immunity and gut-microbe homeostasis in *Drosophila* [J]. *Cell*, 2013, 153(4)：797-811.
- [6] Charroux B, Royet J. Gut-microbiota interactions in non-mammals: what can we learn from *Drosophila*? [J]. *Semin Immunol*, 2012, 24(1)：17-24.
- [7] Ha E M, Lee K A, Park S H, et al. Regulation of DUOX by the Galphaq-phospholipase C $\beta$ -Ca<sup>2+</sup> pathway in *Drosophila* gut immunity [J]. *Dev Cell*, 2009, 6(3)：386-397.
- [8] Biteau B, Hochmuth C E, Jasper H. Maintaining tissue homeostasis: dynamic control of somatic stem cell activity [J].

- Cell Stem Cell*, 2011, 9(5): 402-411.
- [9] Jiang H, Edgar B A. Intestinal stem cells in the adult *Drosophila* midgut[J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(19): 2780-2788.
- [10] Yiorgos A, Laurence G R. *Drosophila melanogaster* as a model for human intestinal infection and pathology[J]. *Dis Models Mech*, 2011, 4(1): 21-30.
- [11] Brumby A M, Richardson H E. Using *Drosophila melanogaster* to map human cancer pathways[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 626-639.
- [12] 周洋, 柳宗琳, 陈羽臣, 等. 瓜蒌、红花、川芎和菊花提取物对氧化应激诱导的果蝇肠道免疫的影响[J]. *中草药*, 2014, 45(15): 2194-2200.
- [13] 李文佳, 刘强, 金丽华. 刺五加提取物对果蝇免疫功能的影响[J]. *中草药*, 2012, 43(10): 1997-2001.
- [14] Amcheslavsky A, Jiang J, Ip Y T. Tissue damage-induced intestinal stem cell division in *Drosophila* [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(1): 49-61.
- [15] Pan J, Jin L H. Rgn gene is required for gut cell homeostasis after ingestion of sodiumdodecyl sulfate in *Drosophila* [J]. *Gene*, 2014, 549(1): 141-148.
- [16] Choi N H, Kim J G, Yang J D, et al. Age-related changes in *Drosophila* midgut are associated with PVF2, a PDGF/VEGF-like growth factor[J]. *Aging Cell*, 2008, 7(3): 318-334.
- [17] Biteau B, Hochmuth C E, Jasper H. JNK activity in somatic stem cells causes loss of tissue homeostasis in the aging *Drosophila* gut[J]. *Cell Stem*, 2008, 3(4): 442-455.
- [18] 刘强, 金丽华. 果蝇肠道干细胞增殖与分化机制及其研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2015(10): 911-919.
- [19] Lee K A, Kim B, Bhin J, et al. Bacterial uracil modulates *Drosophila* DUOX-dependent gut immunity via Hedgehog-induced signaling endosomes[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(2): 191-204.
- [20] 余风华, 高婷婷, 张之慧, 等. 新疆紫草不同部位不同溶剂提取物体外抑菌效果的研究[J]. *食品科技*, 2014(2): 202-204.
- [21] Li Z, Guo Y, Han L, et al. Debra-mediated Ci degradation controls tissue homeostasis in *Drosophila* adult midgut [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(2): 135-144.

## 六味地黄方及配伍对去势雌性大鼠动脉粥样硬化模型的作用

姚远<sup>1</sup>, 吴艳<sup>1</sup>, 马志<sup>1</sup>, 张亚云<sup>1</sup>, 李育<sup>2\*</sup>, 卞慧敏<sup>1,3\*</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210023; 2. 南京中医药大学基础医学院, 南京 210023; 3. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210023)

**摘要:** 目的 探讨六味地黄方(熟地黄, 山药, 泽泻等)及其配伍对更年期动脉粥样硬化模型大鼠的影响。方法 用健康雌性大鼠, 假手术组切除双侧卵巢下方少量脂肪, 其余动物切除双侧卵巢, 以高脂饲料喂养并灌胃给予维生素D<sub>3</sub>复制大鼠更年期动脉粥样硬化模型。30 d后, 将总胆固醇>5~10 mmol/L的大鼠随机分为6组: 模型组、苯甲酸雌二醇组、六味地黄方组、熟地/泽泻组、山茱萸/丹皮组、山药/茯苓组, 灌胃给药。油红染色检测血管病变程度, 放免法检测血中6-酮-前列腺素F<sub>1α</sub>(6-keto-PGF<sub>1α</sub>)、血栓烷素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)、炎症相关因子C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白介素6(IL-6)水平, 免疫组化和Western blot法检测大鼠主动脉雌激素膜受体GPR30的表达。**结果** 六味地黄方及其配伍能够不同程度地减轻模型大鼠血管病变, 改善血中6-keto-PGF<sub>1α</sub>和TXB<sub>2</sub>平衡, 降低血中炎症因子表达, 升高主动脉雌激素膜受体GPR30表达。**结论** 六味地黄方具有治疗更年期动脉粥样硬化的作用, 各药对相互配伍协同阻止动脉粥样硬化的形成。

**关键词:** 六味地黄方; 更年期动脉粥样硬化; 内皮功能; 炎症因子; 雌激素受体

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)10-2111-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.10.004

## Effect of Liuwei Dihuang Formula and its compatibility on rats with ovariectomy-induced atherosclerosis

收稿日期: 2016-02-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(81173190); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

作者简介: 姚远(1990—), 男, 硕士生, 研究方向为心血管药理学。Tel: 15298384135, E-mail: 515264779@qq.com

\* 通信作者: 李育(1975—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为心血管药理学。Tel: 18051986884, E-mail: qqliyu@163.com  
卞慧敏(1958—), 女, 研究员, 博士生导师, 研究方向为心血管药理学。Tel: 13851495212, E-mail: hmbian@sina.com