

科技成果登记表

(基础理论、软科学类成果)

一、成果概况

1. 成果名称	从肠源性内毒素血症诱导肝星状细胞 NF- κ B 的活化探讨大黄蛭虫丸抗肝纤维化机制		
2. 关键词	①肝星状细胞	②大黄蛭虫丸	③肝纤维化
3. 成果水平	未评价	4. 成果体现形式	论文
5. 研究形式		6. 成果类别	基础理论
7. 社会经济目标			
8. 主要应用行业	卫生, 社会保障和社会福利业		
9. 学科分类	①360.40	②	
10. 中图分类	①R285.5	②	
11. 研究起始日期	2014-01	12. 研究终止日期	2018-12

二、立项情况

1. 课题来源	国家科技计划	2. 国家科技计划子类别	基础研究计划
3. 课题立项名称		4. 课题立项编号	81473532
5. 经费实际投入额(万元)	70.00		

三、评价情况

1. 评价方式	结题	2. 评价单位	国家自然科学基金委员会
3. 评价日期	2019-03-28	4. 评价报告编号	
5. 评价委员会名单			

四、成果完成单位情况

1. 第一完成单位名称	广西中医药大学		
2. 通讯地址	广西壮族自治区南宁市城北区明秀东路 179 号		
3. 邮政编码	530001		
4. 电话	0771-3137535		
5. 传真	0771-3137517		
6. 网址	http://www.gxtcmu.edu.cn		
7. 单位属性	大专院校	8. 企业经济类型	
9. 所在省市	广西壮族自治区		
10. 联系人	于丽		
11. 联系人电话	0771-3941063		
12. 电子信箱	kjccgk2013@163.com		
13. 成果合作完成单位			
14. 成果完成人员名单	刘旭东;唐友明;陈黎;赵晓芳;童汪霞;林海;刘容;沈震;梁真		

15. 单位简介

广西中医药大学坐落在绿城南宁,是中西部高校基础能力建设工程(小 211 工程)建设高校。2012 年 1 月 13 号经国家委员会投票成功将广西中医学院更名为广西中医药大学,经过多年来的不断建设,现已发展成为一所以医药学科为主,拥有医学、工学、管理学等多个学科门类,集教学、科研、医疗和药品生产于一体的高等中医药院校,在壮医药教育方面形成了鲜明的办学特色。

五、成果采集信息

1. 成果密级	非密	2. 是否公开	1
3. 信息来源	管理渠道	4. 部门登记号	202021477
5. 来源渠道及经手人			

6. 成果入库年份	2021	7. 资源采集日期	2021-03-10
-----------	------	-----------	------------

六、成果简介

(1)课题来源与背景

肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变。我国是乙肝大国;前瞻性研究表明,慢性乙型肝炎发展为肝硬化的估计年发生率为 2.1%;乙肝 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者进展为肝硬化的发生率为 23%。因此,肝纤维化的群体十分巨大。现有研究表明脂多糖(LPS)通过肝星状细胞 TLR4—MyD88—NF- κ B 信号下调 TGF- β 1 假受体 BAMB I,放大了 TGF- β 1 信号,促进了肝纤维化。我们假说大黄蛰虫丸可能阻断该途径而治疗肝纤维化。基于该假说,我们用四氯化碳肝纤维化动物模型,大鼠原代 HSC 以及大鼠肝星状细胞 HSC-T6 细胞系,研究大黄蛰虫丸对 LPS—NF- κ B—BAMB I 通路的调节,明确大黄蛰虫丸是否可阻断 LPS 对 TLR4 的活化,以及是否阻断 NF- κ B 核转录和 BAMB I 的表达,从而探讨大黄蛰虫丸抑制肝纤维化的分子机制。

(2)研究目的与意义

该研究在理论上进一步验证了 LPS—TLR4—NF- κ B 活化对 BAMB I 表达的调控,探讨了临床广泛使用的以活血化瘀法治疗内毒素血症相关肝纤维化的分子机制,阐明了传统方药大黄蛰虫丸通过抑制以上通路各个环节,直接降低血清 LPS,抑制 LPS 与 HSC 细胞 TLR4 结合,直接抑制或抑制 LPS 诱导的 HSC 细胞 TLR4、MyD88 的表达和 NF- κ B 的活化,进而促进 BAMB I 表达;并直接促进 HSC 细胞 BAMB I 的表达,或逆转 LPS 诱导的 BAMB I 的低,从而少了 TGF- β 1 信号,抑制肝纤维化。这种治疗分子机制的建立,为中药多靶点、多效应的疗效提供了新的证据。

(3)主要论点与论据

在体实验部分:大黄蛰虫丸对肝纤维化大鼠内毒素血症及肝脏组织 LPS—NF- κ B—BAMB I 通路相关分子的调控。离体实验部分(1)不同纤维化大鼠原代 HSC 细胞 LPS 相关通路分子的对比;(2)大黄蛰虫丸对大鼠 HSC 细胞系 HSC-T6 细胞以及原代 HSC 细胞 LPS 活化的 TLR4 相关通路分子的调控;(3)大黄蛰虫丸对 LPS 与 TLR4 交联的影响;(4)大黄蛰虫丸对大鼠 HSC 细胞系 HSC-T6 细胞以及原代 HSC 细胞 BAMB I 的调控。

项目在肝纤维化大鼠中发现,大黄蛰虫丸可以轻肝纤维化程度,改善肝功能,少血清 LPS,并抑制肝组织中和 HSC 细胞中 TLR4、MyD88 表达,以及降低 NF- κ B 的活化,同时促进 BAMB I 表达。在细胞实验中发现,大黄蛰虫丸含药血清可抑制 LPS 诱导的原代 HSC 和肝星状细胞系 HSC-T6 细胞 TLR4、MyD88 的表达和 NF- κ B 的活化,进而促进 BAMB I 的表达;以及逆转 BAMB I 干扰 RNA 处理后 BAMB I 的下调;也可以抑制 LPS 与其细胞表面配体 TLR4 的结合,从而抑制 NF- κ B 活化;另外也发现,大黄蛰虫丸含药血清可直接抑制原代 HSC 和肝星状细胞系 HSC-T6 细胞系 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的活化,进而促进 BAMB I 的表达。

(4)创见与创新

创见:从肠源性内毒素血症活化肝星状细胞 NF- κ B 的角度,阐明大黄蛰虫丸可能的作用机制,寻求中药抗肝纤维化的科学本质,是本项目的创见。

创新:肠源性内毒素血症诱导肝星状细胞核转录因子 NF- κ B 的活化作为肝纤维化的主要机制近年才被阐明,在肝纤维化动物模型以及来源于活体原代 HSC 细胞中研究调控它的机制,是一个新的探索。

(5)社会效益:

该研究的进行,为临床广泛使用的抗纤维化传统中药大黄蛰虫丸进行肝纤维化的治疗提供了充分的理论依据,为进一步拓展肝纤维化的中医药治疗提供了思路,为解决现代医学仍无有效处理手段的疾病提供了可供参考的中医药方案,也为中医药的进一步开发及中医药走向世界奠定了一些理论基础。

(6)存在问题:

项目的实施过程中,主要存在的问题是原代 HSC 细胞的分离培养难度较大,操作困难,费时费力,我们多次反复分离培养,优化条件,完成了实验。

另外构建腺病毒载体时出现操作过程复杂,且反复构建不成功,在不改变研究目标和研究效应的情况下,已改用慢病毒载体完成了实验。

部分实验结果与预期结果不符,如我们预期肝纤维化动物模型的结肠组织会有水肿等变化,但在 HE 染色的结肠组织中未发现模型组和正常组之间的明显差异,进一步用电镜检测了二者结肠组织的微结构变化,仍然无任何差异。但模型动物血清 LPS 较正常组明显增高,我们推测血清 LPS 的升高可能由于肝细胞解毒功能下降、局部免疫功能低所致,或者由于肠道菌群紊乱,尽管结构无改变,但细菌释放出的 LPS 增加所致。这需要用其他肝纤维化模型,或者肠道菌群方面的实验进一步研究以明确这种情况出现的原因。由于血清 LPS 是升高的,这并不影响我们的假说以及后续实验。

尽管出现了一些困难和难点,但是,该项目研究达到了预期目标。