

索拉非尼是一种口服多激酶抑制剂,一方面通过靶向作用于 Raf/MEK/ERK 信号传导通路中的 RAF 激酶阻断肿瘤细胞增殖,另一方面靶向作用于血管内皮生长因子受体 2、3(VEGFR-2、3)和血小板衍生生长因子受体 β (PDGFR- β)而发挥抗血管生成效应。Raf/MEK/ERK 级联的信号传导在肝细胞癌进展中发挥重要作用^[13],并有研究发现 RAF 激酶在大部分肝细胞癌中过度表达^[14]。因此,通过阻断 RAF 激酶的信号传导及 VEGFR 的作用可能会对肝细胞癌起到治疗效果。本研究中 BEL-7404 在索拉非尼的作用下,细胞生长明显受抑,表明索拉非尼阻断了肿瘤细胞的信号传导通路,抑制了肿瘤细胞的生长。同时 B7-H4 基因表达明显下降,提示其与肿瘤细胞的活性密切相关。

参考文献

- 1 Carreno B M, Collins M. The B7 family of ligands and its receptors: new pathways for co-stimulation and inhibition of immune response [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 29-53
- 2 Anderson GL, McIntosh M, Wu L, *et al*. Assessing lead time of selected ovarian cancer biomarkers: a nested case-control study [J]. *Natl Cancer Inst*, 2010, 102(1): 26-38
- 3 Oikonomopoulou K, Li L, Zheng Y, *et al*. Prediction of ovarian cancer prognosis and response to chemotherapy by a serum-based multiparametric biomarker panel [J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(7): 1103-1113
- 4 Tringler B, Zhuo S, Pilkington G, *et al*. B7-h4 is highly expressed in ductal and lobular breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(5): 1842-1848
- 5 Zhang J, Zhang M, Jiang W, *et al*. B7-H4 gene polymorphisms are associated with sporadic breast cancer in a Chinese Han population [J]. *BMC Cancer*, 2009, 9: 394
- 6 Sun Y, Wang Y, Zhao J, *et al*. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2006, 53(2): 143-151
- 7 Crispen PL, Boorjian SA, Lohse CM, *et al*. Predicting disease progression after nephrectomy for localized renal cell carcinoma: the utility of prognostic models and molecular biomarkers [J]. *Cancer*, 2008, 113(3): 450-460
- 8 Krambeck AE, Thompson RH, Dong H, *et al*. B7-H4 expression in renal cell carcinoma and tumor vasculature associations with cancer progression and survival [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(27): 10391-10396
- 9 Y Chen, C Yang, Z Xie, *et al*. Expression of the novel co-stimulatory molecule B7-H4 by renal tubular epithelial cells [J]. *Kidney Int*, 2006, 70(12): 2092-2099
- 10 Chambers CA. The expanding world of co-stimulation: the two-signal model revisited [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(4): 217-223
- 11 Sica G L, Choi I H, Zhu G, *et al*. B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity [J]. *Immunity*, 2003, 18(6): 849-861
- 12 Prasad DV, Richards S, Mai XM, *et al*. B7S1, a novel B7 family member that negatively regulates T cell activation [J]. *Immunity*, 2003, 18(6): 863-873
- 13 Wieseaaue CA, Yip Schneider MT, Wang Y, *et al*. Multiple anti-cancer effects of blocking MEK-ERK signaling in hepatocellular carcinoma [J]. *J Am Coll Surg*, 2004, 198(3): 410-421
- 14 Hwang YH, Choi JY, Kim S, *et al*. Over expression of c-raf-1 proto-oncogene in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatol Res*, 2004, 29(2): 113-121

(收稿:2010-09-16)

(修回:2010-11-15)

OPV 诱导恒河猴黏膜免疫应答研究

杨卉娟 陈俊英 和占龙 孙强明 施海晶 李 华 马绍辉

摘要 目的 评价 OPV 诱导恒河猴黏膜免疫应答效果。方法 将 20 只恒河猴随机分成 3 个实验组(第 1 组:OPV + OPV,第 2 组:IPV + IPV + OPV + OPV,第 3 组:IPV + IPV + OPV)和 1 个对照组,采集不同时间恒河猴粪便和唾液,检测粪便和唾液中脊髓灰质炎病毒特异性 IgA;通过细胞培养和中和试验对口服 OPV 后恒河猴粪便排毒状况进行分析。结果 粪便和唾液中 IgA 效价随着接种剂数增加而增高,3 个组全程免疫后 30 天粪便样品中 IgA 效价第 1 组最高,第 2 组次之,第 3 组最低,3 组间两两比较有统计学差异(方差分析, $P < 0.05$)。口服 OPV 后恒河猴粪便中均可分离到 3 个型的疫苗病毒。结论 OPV 可诱导恒河猴咽部和肠道产生良好的黏膜免疫应答,口服 OPV 后 3 个型疫苗病毒均能在肠道增殖。

关键词 OPV 黏膜免疫应答 脊髓灰质炎病毒 IgA 疫苗病毒排泄

作者单位:650118 昆明,中国医学科学院医学生物学研究所

通讯作者:马绍辉,电子信箱:shaohuima70@126.com

The Research of Rhesus Monkeys' Mucosal Immunity Response Induced by Oral Attenuated Poliovirus Vaccine. Yang Huijuan, Chen Junying, He Zhanlong, Sun Qiangming, Shi Haijing, Li Hua, Ma Shaohui. Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences, Yunnan 650118, China

Abstract Objective To evaluate the mucosal immune effect against poliovirus in Rhesus monkeys induced by OPV. **Methods** Twenty Rhesus monkeys were divided into 4 groups randomly: group 1 (OPV + OPV + OPV), group 2 (IPV + IPV + OPV + OPV), group 3 (IPV + IPV + OPV), group 4 (negative control group). These monkeys' stool and saliva in different time points were collected to detect 3 types Sabin poliovirus - specific IgA, and the stool sample after immunized with OPV were tested for Sabin strain poliovirus by cell culture and neutralization test. **Results** The IgA titers of stool and saliva increased with the increasing of OPV dose. Thirty days after the last dose, the highest level of IgA titers was in group 1, then followed by the group 2 and 3. Significant difference existed among the 3 groups (variance analysis, $P < 0.05$). After being immunized with OPV, 3 types' Sabin polioviruses could be isolated from the stool of Rhesus monkeys. **Conclusion** OPV can induce good mucosal immunity response against poliovirus in Rhesus monkeys. Vaccine viruses of 3 types could be proliferated in Rhesus monkeys' intestine.

Key words OPV; Mucosal immunity response; Sabin poliovirus - specific IgA; Excretion of the vaccine viruses

脊髓灰质炎病毒属于小 RNA 病毒科肠道病毒属,是引起脊髓灰质炎的病原体,研究表明脊髓灰质炎病毒受体仅在人和灵长类动物细胞上有表达,而在非灵长类动物细胞上未发现有脊髓灰质炎病毒的受体,因此仅人和灵长类动物是脊髓灰质炎病毒的天然宿主^[1]。

脊髓灰质炎的有效控制主要依赖于疫苗的免疫接种,目前使用的疫苗主要有两种:口服脊髓灰质炎减毒活疫苗(oral attenuated poliovirus vaccine, OPV)和脊髓灰质炎灭活疫苗(inactivated poliovirus vaccine, IPV)。在疫苗免疫应答过程中,体液免疫诱导产生的特异性抗脊髓灰质炎病毒中和抗体是预防和控制脊髓灰质炎的主要保护性抗体,可保护接种人群免受脊髓灰质炎病毒的感染。然而在黏膜免疫应答过程中机体产生的分泌型 IgA 在清除病毒、控制病毒播散中起着尤为重要的作用,肠道内的 IgA 可有效抑制病毒排泄^[2,3]。理论上来说,接种 IPV 后诱导的黏膜免疫应答极低甚至没有,但是许多相关研究表明,接种 IPV 后可诱导一定水平的黏膜免疫应答,但和接种 OPV 或者自然暴露野病毒后诱导产生的黏膜免疫应答相比较则要低得多^[4,5]。

黏膜免疫应答过程中的 IgA 主要由扁桃体上皮细胞和肠黏膜 M 细胞产生,因此咽部和肠道的黏膜免疫是预防病毒感染的第 1 道防线,本研究通过对恒河猴进行单独接种 OPV 或者 IPV/OPV 序贯免疫,采集粪便和唾液样品进行脊髓灰质炎病毒特异性 IgA 检测,并对粪便样品中疫苗病毒的排泄进行监测,以评价 OPV 单独免疫或者 OPV/IPV 序贯免疫所诱导的黏膜免疫应答。

材料与方法

1. 材料:(1)试验动物 20 只试验用恒河猴由本所提供,雌

雄各半,年龄 2~3 岁。(2)疫苗:口服脊髓灰质炎减毒活疫苗糖丸(OPV)和 Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗(Sabin IPV)由本所提供,OPV 每剂 I、II、III 型病毒效价分别为 5.8g、4.8g、5.31g CCID₅₀,IPV 每剂(0.5ml)脊灰病毒 D 抗原含量分别为: I 型 30 DU, II 型 32 DU, III 型 45 DU。(3)病毒抗原: Sabin 株 I、II、III 型单价病毒抗原,由本所制备,该病毒抗原是用 Sabin 株 I、II、III 型病毒接种在 Vero 细胞上,经浓缩、纯化和灭活后制备而成,4℃ 保存。(4)ELISA 检测抗体:羊抗猴 IgA(α 链)亲和纯化抗体(使用浓度为 1:3000)和辣根过氧化物酶标记羊抗猴 IgA(α 链)亲和纯化抗体(1:3000)购自 KPL 公司;牛抗 Sabin 株脊髓灰质炎病毒 I、II、III 型纯化抗体由本所制备,使用浓度为 I 型 1:6000, II 型 1:800, III 型 1:1600;羊抗牛辣根过氧化物酶标记 IgG 购自上海史瑞克公司,使用浓度 1:5000。(5)ELISA 检测用缓冲液:包被液:0.01mol/L PBS;封闭液:0.01mol/L PBS + 0.1% BSA;洗液:0.01mol/L PBS + 0.1% BSA + 0.05% Tween20;抗原、抗体及样品稀释液:0.01mol/L PBS + 0.5% BSA;底物缓冲液:柠檬酸 - 柠檬酸盐缓冲液(pH:5.2) + TMB;显色终止液:2N 的 H₂SO₄。(6)细胞和抗血清:Hep-2 细胞和 RD 细胞为本所提供,脊髓灰质炎病毒 I、II、III 型抗血清由本所提供。

2. 方法:(1)恒河猴免疫及样品采集:将 20 只恒河猴随机分成 4 个组,第 1 组:OPV + OPV + OPV;第 2 组:IPV + IPV + OPV + OPV;第 3 组:IPV + IPV + OPV;第 4 组为对照组,每剂免疫间隔时间为 1 个月。每剂免疫前及全程免疫后 30 天、60 天采集粪便和唾液样品,并在每剂 OPV 服用后 1、2、3、4、5、6、7、14、21、28 天采集粪便样品。粪便样品处理:取 5g 样品加入 10ml 0.01mol/L PBS 浸泡粪便,震荡混匀后,然后用 800g 4℃ 离心 20min 后取上清待检;唾液样品处理:每个样品加 1.0ml 0.01mol/L PBS 浸泡拭子,10min 左右后用吸管将棉签挑出,然后用 800g 4℃ 离心 10min 后取上清待检。(2)IgA 检测——α - capture ELISA 法:羊抗猴 IgA(α 链)亲和纯化抗体包被酶标板,每孔 100μl,4℃ 过夜;洗板后用封闭液室温封闭 1.5h;加入待检样品,待检样品从 1:2 开始 2 倍比进行稀释至

1:256,每个稀释度设复孔,阴性对照孔加入稀释液,37℃ 孵育 2h;分别加入 Sabin 株 I、Ⅱ、Ⅲ型单价病毒抗原,每孔 100μl,37℃ 孵育 2h 后加入牛抗 Sabin 株脊髓灰质炎病毒 I、Ⅱ、Ⅲ型纯化抗体,37℃ 孵育 2h;加入羊抗牛辣根过氧化物酶标记 IgG,37℃ 孵育 1h;加入底物缓冲液,室温避光显色 10min,加入显色终止液。以样品的 OD 值和阴性对照的 OD 值之比大于 2.1 判定为阳性,即 P/N≥2.1 判定为阳性。(3)粪便中病毒分离和定型:按《脊髓灰质炎病毒检验手册》的实验操作进行,将粪便和上清用 0.2μm 的针头滤器过滤样品后接种到 Hep-2 细胞和 RD 细胞上,出现 CPE 者,分别用该种细胞进行病毒型别鉴定。

3. 统计学方法:试验数据的统计学处理用 SPSS11.5 统计

软件包。

结 果

1. 各组恒河猴粪便中 IgA 抗体水平:3 组恒河猴在接种一剂 OPV 后大部分粪便 IgA 开始阳转,I、Ⅱ、Ⅲ型 IgA 阳转率分别为 14/15、14/15、13/15,接种第 2 剂后所有粪便样品均可检测到抗脊灰 IgA,阳转率为 100%。3 个组全程免疫后粪便中 I、Ⅱ、Ⅲ型抗脊灰 IgA 水平(表 1)均为第 1 组最高,第 2 组次之,第 3 组最低,3 组间两两比较有统计学差异(方差分析, $P<0.05$)。

表 1 不同组恒河猴粪便中 IgA 抗体几何平均效价(GMT)及阳转率

型别	OPV + OPV + OPV		IPV + IPV + OPV + OPV		IPV + IPV + OPV		对照组(n=5)	
	阳性率	GMT	阳性率	GMT	阳性率	GMT	阳性率	GMT
I	5/5	111.4	5/5	64	5/5	12.9	—	—
Ⅱ	5/5	128	5/5	48.5	4/5	9.6	—	—
Ⅲ	5/5	97	5/5	34.3	4/5	8.6	—	—

第 1 组 OPV + OPV + OPV 组,初免后 30 天,5 只恒河猴粪便中均检测到低水平的 IgA 抗体,初免后 60 天抗体水平升高,到全程免疫结束后 30 天(初免后 90 天)抗体水平迅速升高,I、Ⅱ、Ⅲ型分别达 111.4、128、97,到初免后 120 天抗体水平有所回落,但仍保持较高水平(图 1)。

2. 唾液中 IgA 检测结果:第 1、2 实验组恒河猴全程免疫后 30 天唾液中抗脊灰 IgA 阳转率均为 100%,第 3 组 I、Ⅱ、Ⅲ型抗脊灰 IgA 阳转率分别为 4/5、5/5、4/5,I、Ⅱ、Ⅲ型抗脊灰 IgA 效价以第 1 组最高,第 2 组次之,第 3 组最低(表 3),但 3 组间两两比较均有统计学差异(方差分析, $P<0.05$)。

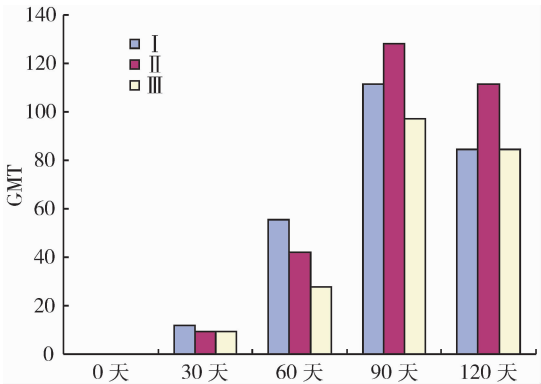


图 1 第 1 组不同时间粪便中 IgA 水平

表 2 不同组恒河猴咽拭子中 IgA 抗体效价及阳转率

型别	OPV + OPV + OPV		IPV + IPV + OPV + OPV		IPV + IPV + OPV		对照组	
	阳性率	GMT	阳性率	GMT	阳性率	GMT	阳性率	GMT
I	5/5	27.9	5/5	13.9	4/5	5.27	—	—
Ⅱ	5/5	32	5/5	12.1	5/5	6.1	—	—
Ⅲ	5/5	18.4	5/5	9.2	4/5	4	—	—

粪便和唾液中脊髓灰质炎 IgA 效价检测结果可见(图 2):各组粪便中的 3 个型 IgA 效价均高于唾液(方差分析, $P<0.05$),肠道黏膜免疫应答较咽部强;在 3 个组中,不论唾液或者粪便中,IgA 效价均是第 1 组最高,第 2 组次之,第 3 组最低,由此可见,黏膜免疫应答和接种的 OPV 剂数有关。

3. 粪便中疫苗病毒分离:本次研究主要对第 1 组恒河猴粪便进行病毒分离和型别鉴定,口服 OPV 后粪便中 I、Ⅱ、Ⅲ病毒排泄一般都在每剂免疫后 1 周内,1 周后 3 个型病毒均未检测到排泄。I 型病毒在接种每剂 OPV 接种后 1 天开始排毒,2 天达高峰,随着时间推移排毒的恒河猴比例减少;接种第 1 剂后排

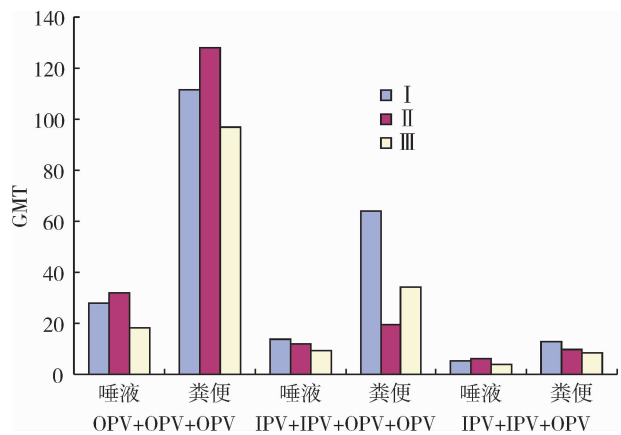


图2 不同组恒河猴粪便和唾液中 IgA 水平

毒最高峰时达 100% (5/5), 第 2 剂和第 3 剂分别为 80% 和 60%, 随着接种剂数增加, 病毒排泄的时间缩短, 从第 1 剂的 6 天到第 2、3 剂的 4 天。Ⅱ型病毒接种第 1 剂后 1 天开始检测到病毒, 3 天达排毒高峰 100% (5/5), 病毒排泄持续到第 7 天, 接种第 2 剂后排毒恒河猴比例最高只有 60% (3/5), 排毒时间从接种后 2 天到第 4 天, 持续时间为 3 天, 接种第 3 剂后粪便中未检测到Ⅱ型病毒。Ⅲ型病毒每剂接种都可检测到病毒排泄, 每剂免疫后排泄的恒河猴所占比例和排泄持续时间相似, 每剂接种后排泄时间均在 6 天以上。

表3 接种 1、2、3 剂 OPV 后不同型别病毒的分离数 (n)

剂数型别 时间 (天)	1 剂			2 剂			3 剂		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	2	1	0	2	0	1	2	0	2
2	5	5	3	4	2	3	3	0	3
3	3	4	5	2	3	5	2	0	2
4	2	4	3	2	1	3	1	0	1
5	1	2	2	1	0	1	0	0	1
6	1	1	1	0	0	1	0	0	1
7	0	0	0	0	0	1	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0

讨 论

接种 OPV 后, 首先在感染局部与病毒受体结合, 病毒从咽部或肠壁进入局部淋巴组织中增殖, 同时向体外排出病毒, 通过两次病毒血症, 病毒侵入神经系统, 在局部淋巴结增殖后形成病毒血症, 因此在脊髓灰质炎的预防中, 咽部和肠道的黏膜免疫是预防病毒感染的第一道防线, 咽部和肠道 IgA 水平是黏膜免疫

应答的主要指标。

本研究中的 3 个实验组: OPV + OPV + OPV 组, IPV + IPV + OPV + OPV 组和 IPV + IPV + OPV 组, 在单独接种 OPV 的第 1 组, 随着 OPV 接种剂数增加, IgA 效价也随之增高, 全程免疫结束后 30 天, 粪便中 IgA 的效价达最高, I、II、III 型分别达 111.4、128、97, 随时间的推移, 抗体效价也有所下降, 但仍维持较高水平, 相当于接种两剂 OPV 所产生的 IgA 水平。全程免疫结束第 1 组恒河猴粪便和唾液中 IgA 效价最高, 第 2 组次之, 第 3 组最低, 由此可见接种 OPV 可诱导良好的黏膜免疫应答, 而且远远高于 IPV, 在 IPV/OPV 序贯免疫组中, IPV 的接种并没有增强机体的黏膜免疫应答, 这一结果和以往的研究报道相一致^[5,6]。Herremans TM 等^[7,8]在对脊髓灰质炎疫苗诱导的黏膜免疫应答研究中发现, 曾经接种过 OPV 或者自然暴露于脊髓灰质炎病毒, 再接种 IPV 可诱导机体产生较好的黏膜免疫应答, 但是单独使用 IPV 并不能诱导机体黏膜免疫应答, 因此 IPV 并不能诱导初次黏膜免疫应答, IPV 诱导的黏膜免疫应答依赖于以往的活病毒暴露史。在粪便和唾液中 IgA 效价比较中, 3 个组中 I、II、III 型 IgA 效价粪便中高于唾液, 分析原因可能是口服 OPV 后, 病毒主要在肠系膜淋巴结中增殖, 导致肠道的 IgA 效价高于咽部。粪便中 OPV 疫苗病毒的排泄检测中发现, 3 个型的脊灰病毒排泄和粪便中 IgA 效价有关, 初次接种 OPV 后机体尚未产生有效黏膜免疫应答, 因此 3 个型疫苗病毒排泄率非常高, 5 只恒河猴都检测到疫苗病毒的排泄, 随着接种程序推进, 机体肠道黏膜水平上升, 粪便中疫苗病毒的排泄率下降, II 型表现最为明显, 第 3 剂 OPV 接种后, 粪便中未检出 II 型疫苗病毒。Elena Samoilovich 等^[9]在对小婴儿口服 OPV 后粪便中疫苗病毒基的分离研究中发现, 当接种第 2 剂 OPV 后, 粪便中 II 型疫苗病毒的阳性率便大大下降, 这可能与肠道中 II 型 IgA 效价较高有关, 高 IgA 水平可抑制病毒的排泄, 同时也可减少疫苗病毒在环境中的循环。基于这个原因, 在脊髓灰质炎的消灭过程中, II 型脊髓灰质炎病毒将可能会成为第 1 个被消灭的脊灰病毒血清型; 粪便中 III 型 IgA 水平与 I 型相当, 但 III 型疫苗病毒粪便中阳性率相对较高, 而且排泄延续时间都相对较长, 这可能与 III 型疫苗毒株固有性质有关。

本次研究中恒河猴粪便中疫苗病毒的排泄时间都在疫苗接种后 1 周内, 以往在人群中的研究粪便中排泄时间一般持续较长, 尤其是接种首剂 OPV 后都

大于 4 周甚至 9 周以上,分析原因可能与恒河猴肠黏膜结构有关,从而影响疫苗病毒在肠道的增殖和排泄^[10,11]。本研究通过给恒河猴接种 OPV 和 IPV/OPV 序贯免疫,对粪便和唾液中脊髓灰质炎病毒特异性 IgA 进行检测,结果表明 OPV 能诱导良好的黏膜免疫应答,效果好于 IPV。

参考文献

- 1 Mendelsohn CL, Wimmer E, Racaniello VR. *et al.* Cellular receptor for poliovirus: molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily. *Cell*. 1989, 56(5):855-865
- 2 Woof JM, Kerr MA. The function of immunoglobulin A in immunity. *J Psthol*,2006, 208(2):270-282
- 3 Sanna Valtanen, Merja Roivainen, Liisa Piirainen, *et al.* Poliovirus - Specific Intestinal Antibody Responses Coincide with Decline of Poliovirus Excretion. *J Infect Dis*, 2000, 182(1):1-5
- 4 Onorato I M, Modlin JF, McBean AM, *et al.* Mucosal immunity induced by enhanced - potency inactivated and oral polio vaccines. *J Infect Dis*,1991, 163(1):1-6
- 5 Faden H, Modlin JF, Thoms ML, *et al.* Comparative evaluation immunization with live attenuated and enhanced - potency inactivated trivalent poliovirus vaccines in childhood: systemic and local immune responses. *J Infect Dis*,1990, 162(6):1291-1297
- 6 Carlsson B, S Zaman, L Mellander, *et al.* Secretory and serum immunoglobulin class - specific antibodies to poliovirus after vaccination. *J Infect Dis*,1985, 152(6):1238-1244
- 7 Herremans TM, Reimerink JH, Buisman AM, *et al.* Induction of Mucosal Immunity by Inactivated Poliovirus Vaccine Is Dependent on Previous Mucosal Contact with Live Virus. *The Journal of Immunology*, 1999, 162(8):5011-5018
- 8 Herremans MM, van Loon AM, Reimerink JH, *et al.* Poliovirus - specific immunoglobulin A in persons vaccinated with inactivated poliovirus vaccine in The Netherlands. *Immunol*,1997, 4(5):499-503
- 9 Elena Samoilovich, Merja Roivainen, L P Titov, *et al.* Serotype - Specific Mucosal Immune Response and Subsequent Poliovirus Replication in Vaccinated Children. *Journal of Medical Virology*,2003, 72(2):274-280
- 10 陈丽娟,张合润,和京果,等. 婴儿接种首剂三价口服脊髓灰质炎疫苗后疫苗病毒排毒状况观察. *中国计划免疫*,2001, 7(4):187-190
- 11 Anne - Marie Buisman, Frithjofna Abbink, Rutger M Schepp, *et al.* Preexisting Poliovirus - Specific IgA in the Circulation Correlates with Protection against Virus Excretion in the Elderly. *J Infect Dis*,2008, 197(5):698-706

(收稿:2010-07-19)

(修回:2010-12-20)

银杏叶提取物对肝纤维化大鼠肝脏 Smad2/3 表达的影响

姚嘉明 陈芝芸 严茂祥 高晓倩 孟爱红

摘要 目的 观察银杏叶提取物(GbE)对肝组织 Smad2/3 表达的影响,探讨 GbE 抗肝纤维化的作用机制。**方法** 采用 CCl₄ 诱导大鼠肝纤维化,同时分别以 200、100、50mg/(kg·d) 的 GbE 进行干预,并设复方鳖甲软肝片为对照组,6 周后取肝组织,原位杂交及免疫组化技术分别检测肝组织 Smad2/3mRNA 及蛋白的表达。**结果** 模型组大鼠肝组织 Smad2/3mRNA 及蛋白的表达正常组明显增高,应用不同剂量的 GbE 及复方鳖甲软肝片干预后肝组织 Smad2/3mRNA 及蛋白较模型组显著下降。**结论** GbE 降低 Smad2/3mRNA 及蛋白表达可能是其抗肝纤维化作用的重要机制之一。

关键词 银杏叶提取物 肝纤维化 Smad2/3

Effects of Ginkgo Biloba Extract on Expression of Smad2/3 in Rats with Liver Fibrosis. Yao Jiaming, Chen Zhiyun, Yan Maoxiang, Gao Xiaolian, Meng Aihong. Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang 310007, China

Abstract Objective To evaluate the effects of Ginkgo biloba extrat(GbE) on expression of Smad2/3, thus to investigate the possible mechanism of GbE in rats with hepatic fibrosis. **Methods** The liver fibrosis model was induced by CCl₄. The rats in administration

基金项目:浙江省中医药重点研究项目(2006Z006);浙江省中医药科技计划(2009YA006)

作者单位:310007 杭州市中医院(姚嘉明);浙江省中医院(陈芝芸、严茂祥、高晓倩、孟爱红)

通讯作者:陈芝芸,研究员,博士生导师,电子信箱:zhiyun_chen63@yahoo.com.cn