

岩黄连总碱提取物对小鼠免疫性肝损伤的改善作用

毕明刚^{1*}, 周娟², 许扬¹, 孙虹¹, 季宇彬²

(1. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094; 2. 哈尔滨商业大学, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要: **目的** 探讨岩黄连总碱提取物(CTFTAE)对小鼠免疫性肝损伤的改善作用及其可能机制。**方法** 小鼠尾静脉 iv 给予卡介苗和脂多糖制备免疫性肝损伤小鼠模型。注射卡介苗当天 ip 给予 CTFTAE 0.26, 0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹, 每天 1 次, 共 12 d。末次给药后尾静脉 iv 给予脂多糖(7.5 μg), 16 h 后检测小鼠血清谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)活性; HE 染色, 光镜下观察肝组织病理变化; ELISA 法检测血清干扰素 γ(IFN-γ)和白细胞介素 4(IL-4)的含量。 [³H]TdR 掺入法测定 CTFTAE 体外对小鼠脾淋巴细胞增殖反应的影响。**结果** 模型组小鼠血清 GPT 和 GOT 活性较正常对照组明显升高; CTFTAE 0.26, 0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹ 剂量组血清 GPT 活性较模型组明显降低, GOT 活性无明显变化。模型组可见明显的肝细胞溶解坏死, 而 CTFTAE 0.78 和 2.34 mg·L⁻¹ 组肝细胞变性、坏死及炎症细胞浸润均明显减轻。模型组小鼠血清 IFN-γ 和 IL-4 含量升高, IL-4 升高较明显, IFN-γ/IL-4 比值降低; CTFTAE 0.26, 0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹ 组 IL-4 含量降低, IFN-γ/IL-4 比值升高。CTFTAE 15~1500 mg·L⁻¹ 体外单独应用可增强小鼠脾脏淋巴细胞增殖反应, 亦可增强刀豆蛋白 A 诱导的脾淋巴细胞增殖反应。**结论** CTFTAE 对免疫性肝损伤具有改善作用, 其机制可能与其调节辅助性 T 细胞(Th)1/Th2 平衡有关。

关键词: 岩黄连; 生物碱; 免疫性肝损伤; 干扰素 γ; 白细胞介素 4

中图分类号: R285.5, R967

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2009)01-0039-06

收稿日期: 2008-06-25 接受日期: 2008-09-27

作者简介: 毕明刚, 男(1970-), 黑龙江省双鸭山市人, 副研究员, 主要从事中药神经药理和免疫药理学研究。

*联系作者 E-mail: mgbi@implad.ac.cn Tel: (010) 62894867

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2009.01.008

感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)后, 机体的免疫反应决定着乙肝的发生、发展与转归。正常情况下, 大多数免疫功能正常的成年个体, 感染 HBV 后可通过天然免疫及适应性免疫应答的协调作用清除病毒, 并产生抗 HBV 抗体。但 5%~10% HBV 感染患者或自幼感染 HBV 的人群不能有效地清除 HBV, 导致病毒的持续感染及病毒在肝细胞内的复制^[1-3]。故机体的免疫应答反应是感染 HBV 后发生肝脏损伤的内在因素^[4]。目前认为, 机体对 HBV 各种抗原的完全或不完全的免疫耐受, 使病毒不易被清除, 是造成 HBV 感染慢性化的主要原因^[5-6]。

岩黄连(*Corydalis thalictrifolia* Franch., CTF) 又名石生黄堇^[7], 为紫堇科紫堇属多年生草本植物的全草, 产于贵州岩山上。CTF 性凉, 味微苦, 可清热解毒, 利湿, 止痛止血, 用于治疗火眼、鬃子、痔疮出血、红痢和急性腹痛等^[8]。临床上也可用于肝炎的治疗^[9-11], 但其抗肝炎作用及其机制尚未见报道。本研究根据乙型肝炎慢性化及肝细胞损伤的病理机制, 从免疫调节途径观察 CTF 总生物碱提取物(CTF total alkaloids extract, CTFTAE)对免疫性肝损伤的改善作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 动物、药品、试剂和仪器

ICR 小鼠, ♂, 体重 18~22 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物许可证号: SCXK(京)2002-0003, 于室温 18~26℃, 相对湿度 40%~70% 的 SPF 级动物房内饲养。

CTFTAE 提取: 岩黄连 10 kg 用 60% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 过滤, 合并滤液, 减压回收, 得乙醇粗提物。将粗提物用适量的水溶解, 上大孔吸附树脂柱, 用不同浓度的乙醇进行梯度洗脱, 分别收集洗脱液。将 50% 乙醇洗脱液减压回收, 得 CTFTAE。采用

紫外-可见光检测法测定 CTFTAE 中总生物碱含量为 52.0%。用生理盐水配制成 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液, $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌, 分装, 4°C 保存备用。

联苯双酯(bifendate)滴丸, 北京协和药厂, 国药准字 H11020980; RPMI-1640 培养液, 美国 Gibco 公司; 卡介苗(bacillus calmette-guerin, BCG)冻干粉, 北京生物制品研究所; 氚标胸腺嘧啶脱氧核苷($[^3\text{H}]$ TdR), 中国科学院原子能研究所; 刀豆蛋白 A (concanavalin A, Con A), 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS), Sigma 公司; 谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, GPT)和谷草转氨酶(glutamic-oxaloacetic transaminase, GOT)活性测定试剂盒, 中生北控生物科技股份有限公司; 小鼠血清干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ) 和白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4) ELISA 试剂盒, 美国 RapidBio Lab。

日立(Hitachi)7060 型全自动生化分析仪, 日本日立株式会社; Micro Beta Trilux 1450 微量液体闪烁计数器, 美国 Perkin Elmer 公司; 超净工作台, 北京半导体设备一厂; CO_2 培养箱, 日本三洋公司; Multiskan Ascent 酶标仪, 美国 Thermo Electron 公司; DEM-III 型自动酶标洗板机, 北京拓普分析仪器有限公司。

1.2 免疫性肝损伤小鼠模型的制备及分组

小鼠随机分成 6 组, 设正常对照组、模型组、联苯双酯($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig)对照组和 CTFTAE ($0.26, 0.78$ 和 $2.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip)组, 每组 8 只。除正常对照组外, 其余各组参考文献方法用 BCG 和 LPS 造成免疫性肝损伤^[2,12]。每只小鼠尾静脉 iv 给予 0.2 mL BCG 约 7.5×10^5 活菌。各给药组在给予 BCG 当天开始给药, 正常对照组和模型组 ip 给予等体积生理盐水, 每天 1 次, 共 12 d。各组小鼠在给予 BCG 后 12 d iv 给予 LPS $7.5 \mu\text{g}$, 禁食不禁水, 16 h 后摘眼球取血, $600 \times g$ 离心 15 min, 取血清。

1.3 血清 GPT 和 GOT 活性检测

分别采用 GPT 和 GOT 测定试剂盒用全自动生化分析仪测定血清 GPT 和 GOT 活性。

1.4 肝组织病理学观察

处死小鼠同时取小鼠肝左大叶, 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片, HE 染色, 依次经脱水、透明和中性树胶封片, 光镜下观察肝组织病理变化^[3]。

1.5 血清 IFN- γ 和 IL-4 浓度测定

按照试剂盒说明书采用双抗体夹心 ELISA 法测定血清 IFN- γ 和 IL-4 浓度。IFN- γ 和 IL-4 浓度用

$\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 表示。

1.6 小鼠脾淋巴细胞增殖反应测定

无菌制备小鼠脾细胞, 用含 20% 胎牛血清 RPMI-1640 培养液调整细胞密度为 10^{10} L^{-1} , 取 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液与 $50 \mu\text{L}$ Con A(终浓度 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、 $50 \mu\text{L}$ 不同浓度 CTFTAE 加入 96 孔培养板内, 对照孔加等量 RPMI-1640 培养液, CTFTAE 的终浓度分别为 $1.5, 15, 150$ 和 $1500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 每个浓度设 3 个复孔, 置 37°C , 5% CO_2 孵温箱中孵育 56 h, 每孔加入 $0.74 \text{ kBq } [^3\text{H}]$ TdR ($40 \mu\text{L}$), 继续培养至 72 h, 以多道细胞收集仪收集细胞至纤维滤膜上, 干燥后将滤膜置于闪烁液内, 于液体闪烁计数器测定每分钟闪烁计数值。

1.7 统计学分析

结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 SPSS12.0 软件进行计量资料正态性检验, 单因素方差分析(one-way-ANOVA)和 Dunnett t 检验。

2 结果

2.1 CTFTAE 对免疫性肝损伤小鼠血清 GPT 和 GOT 活性的影响

表 1 可见, 模型组小鼠血清 GPT 和 GOT 活性较

Tab 1. Effect of *Corydalis thalictrifolia* Franch. total alkaloids extract (CTFTAE) on serum activities of GPT and GOT in mice with immune hepatic injury induced by BCG and LPS

Group	Dose / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	GPT / $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	GOT / $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
Normal		32 ± 8	148 ± 17
Model		$157 \pm 66^{**}$	$290 \pm 70^{**}$
Bifendate	200	$75 \pm 20^{##}$	252 ± 44
CTFTAE	0.26	$92 \pm 35^{\#}$	249 ± 46
	0.78	$81 \pm 30^{\#}$	237 ± 30
	2.34	$86 \pm 27^{\#}$	245 ± 29

The mouse model with immune hepatic injury was prepared with bacillus Calmette-Guerin (BCG) and lipopolysaccharides (LPS, $7.5 \mu\text{g}$, at 12 d after BCG). After BCG injection, CTFTAE (ip) and bifendate (ig) were given once daily for 12 d, respectively. The serum activities of glutamic-pyruvic transaminase (GPT) and glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) were determined 16 h after LPS injection. Normal and model groups were injected (ip) saline solution. $\bar{x} \pm s$, $n=8$. $^{**}P < 0.01$, compared with normal group; $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$, compared with model group.

正常对照组明显升高;联苯双酯和 CTFTAE 各剂量组血清 GPT 活性较模型组明显降低,GOT 活性均无明显变化。

2.2 CTFTAE 对免疫性肝损伤小鼠肝脏组织病理变化的影响

如图 1 所示,模型组可见明显的肝细胞溶解坏死,主要分布于肝小叶下静脉周围。小部分肝小叶只有范围较小的点状坏死,大部分肝小叶有范围较大的带状或灶状坏死。肝细胞坏死灶内、肝窦内及汇管区可见大量炎症细胞浸润,伴充血和水肿。CTFTAE 2.34 mg·kg⁻¹组与模型组比较,可见肝组织病理变化趋于好转,肝细胞变性、坏死及炎症细胞浸润均明显减轻,并有新生细胞出现;CTFTAE 0.78 mg·kg⁻¹组和联苯双酯组亦可见上述病理变

化减轻;而 CTFTAE 0.26 mg·kg⁻¹组无明显上述改善。

2.3 CTFTAE 对免疫性肝损伤小鼠血清 IFN-γ 和 IL-4 含量的影响

由表 2 可见,模型组小鼠血清 IFN-γ 含量较正常对照组升高;与模型组比较,联苯双酯对 IFN-γ 含量无明显影响,CTFTAE 0.26,0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹组血清 IFN-γ 含量均明显降低。模型组小鼠血清 IL-4 含量较正常对照组升高更为明显;与模型组比较,联苯双酯和 CTFTAE 0.26,0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹组血清 IL-4 含量均降低。模型组 IFN-γ/IL-4 值较正常对照组明显降低,联苯双酯和 CTFTAE 各剂量组 IFN-γ/IL-4 比值均较模型组明显增加,CTFTAE 2.34 mg·kg⁻¹剂量组增加更为明显。

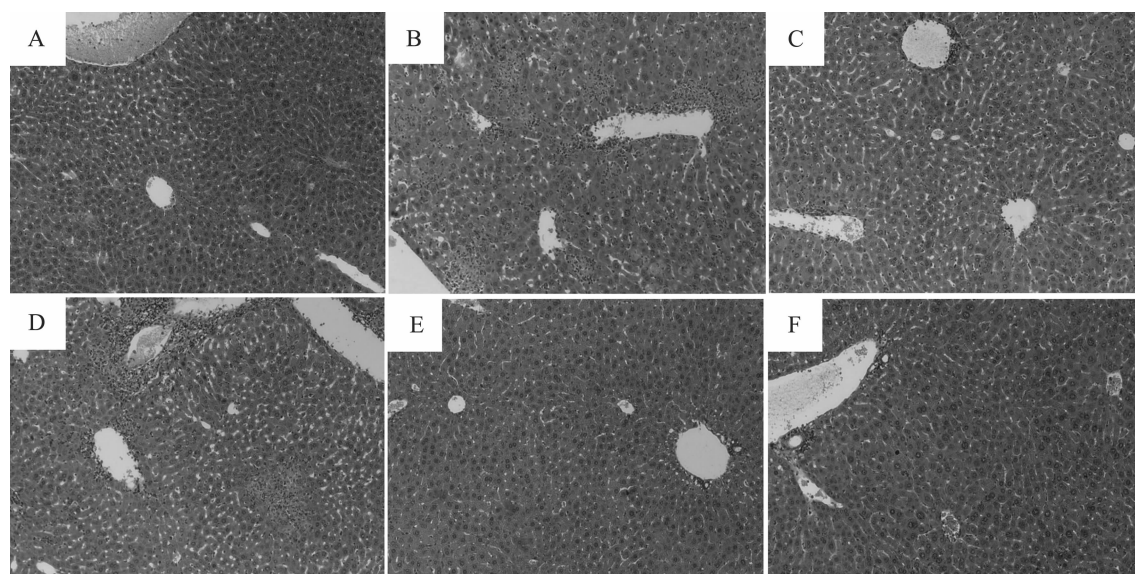


Fig 1. Effect of CTFTAE on hepatic histopathological changes of mice with immune hepatic injury (HE staining, ×100). See Tab 1 for the treatments. A; normal; B; model; C; bifendate 200 mg·kg⁻¹; D; CTFTAE 0.26 mg·kg⁻¹; E; CTFTAE 0.78 mg·kg⁻¹; F; CTFTAE 2.34 mg·kg⁻¹.

Tab 2. Effect of CTFTAE on serum contents of interferon-γ (IFN-γ) and interleukin-4 (IL-4) in mice with immune hepatic injury induced by BCG and LPS

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	IFN-γ/ng·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	IFN-γ: IL-4
Normal		44.9 ± 7.1	9.4 ± 1.9	5.1 ± 1.4
Model		55.7 ± 5.9 ^{**}	25.9 ± 5.0 ^{**}	2.2 ± 0.3 ^{**}
Bifendate	200	52.1 ± 7.3	20.5 ± 3.9 [#]	2.6 ± 0.5 [#]
CTFTAE	0.26	48.8 ± 5.5 [#]	19.6 ± 3.9 [#]	2.6 ± 0.6 [#]
	0.78	43.9 ± 6.2 ^{##}	17.2 ± 2.0 ^{##}	2.7 ± 0.7 [#]
	2.34	46.3 ± 7.5 [#]	14.9 ± 3.1 ^{###}	3.2 ± 0.6 ^{###}

See Tab 1 for the treatments. $\bar{x} \pm s$, n = 8. ^{**}P < 0.01, compared with normal group; [#]P < 0.05, ^{###}P < 0.01, compared with model group.

2.4 CTFTAE 体外对正常小鼠脾淋巴细胞增殖反应的影响

CTFTAE 15 ~ 1500 mg·L⁻¹ 均可增强脾脏淋巴细胞增殖反应;与 Con A 合用时亦可增强 Con A 诱导的脾淋巴细胞增殖反应(表 3)。

Tab 3. Effect of CTFTAE on splenocyte proliferation induced by concanavalin A (Con A) in mice

CTFTAE /mg·L ⁻¹	[³ H]TdR incorporation/cpm	
	Without Con A	With Con A
0	2254 ± 41	4124 ± 34
1.5	2325 ± 16	4009 ± 18
15	2629 ± 26 **	5376 ± 344 **
150	2610 ± 23 **	5874 ± 231 **
1500	2626 ± 23 **	5279 ± 348 **

Splenocytes (10⁶ per well) were incubated with CTFTAE accompanied with or without Con A 2.0 mg·L⁻¹ for 72 h. $\bar{x} \pm s$, $n=3$. ** $P < 0.01$, compared with corresponding control (0 mg·L⁻¹) group.

3 讨论

BCG 与 LPS 联合诱导的免疫性肝损伤,接近人类慢性肝病的病理过程^[13],在一定程度上可反映病毒性肝炎肝细胞损伤机制。其损伤机制为 BCG 首先激活致敏 T 淋巴细胞,尤其是致敏肝内枯否细胞和巨噬细胞,并大量聚集于肝脏。当注射 LPS 后进一步激活处于致敏状态的巨噬细胞使其释放大量细胞毒性因子,如一氧化氮^[14]、肿瘤坏死因子、白细胞介素、自由基和白三烯等造成肝细胞损伤。这种损伤以弥漫性肝细胞炎症和坏死、肉芽肿形成和易于慢性化为特征,与临床慢性病毒性肝炎肝组织学特征相似。因此,BCG 和 LPS 尾静脉联合注射诱导的免疫性肝损伤模型,是目前研究病毒性肝炎免疫性肝损伤机制较好的模型。

本研究结果表明,模型组血清 GPT 和 GOT 活性较正常对照组明显升高,同时肝脏组织可见明显的肝细胞溶解坏死,坏死灶内、肝窦内及汇管区可见大量炎症细胞浸润,并伴充血和水肿等病理改变,表明免疫性肝损伤小鼠模型制备成功。CTFTAE 0.26, 0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹ 剂量组血清 GPT 活性较模型组明显降低,0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹ 剂量组肝组织病理变化减轻,肝细胞变性、坏死及炎症细胞浸润均明

显减轻,并有新生细胞出现,提示 CTFTAE 对免疫性肝损伤具有一定的改善作用。

已有研究表明,机体免疫状态是 HBV 感染后病情发展方向的决定因素,而辅助性 T 细胞(helper T cells, Th) 应答类型与机体的免疫状态密切相关^[15]。IFN- γ 和 IL-4 分别是 Th1 和 Th2 类细胞因子,IFN- γ 和 IL-4 水平可间接反映 Th1 和 Th2 细胞功能。正常情况下,Th1/Th2 处于动态平衡,Th1/Th2 失衡则可造成不同病理状态。Th1/Th2 失衡是制约机体有效清除病毒和病毒感染细胞的主要因素之一^[16]。以恢复 Th1/Th2 细胞平衡为目标的治疗策略已经成为治疗某些慢性炎症性疾病和自身免疫性疾病的一种新方法^[17-18]。已经证实,HBV 感染诱导的不是单一的 Th1 或 Th2 改变,而是 Th1/Th2 失衡^[19]。急性 HBV 感染自限患者,针对循环病毒的特异性 T 细胞,普遍分泌的细胞因子类型为 Th1 型;而在感染转变为慢性病变的患者,细胞因子产生少,大多为 Th2 型,与病毒持续存在和疾病慢性化相关^[20]。本研究结果表明,模型组血清 IFN- γ 和 IL-4 含量较正常对照组升高,IL-4 升高更为明显,IFN- γ /IL-4 比值降低,提示免疫性肝损伤小鼠 Th1/Th2 平衡向 Th2 方向漂移,这与临床 HBV 患者表现一致^[21-22]。CTFTAE 0.26,0.78 和 2.34 mg·kg⁻¹ 剂量组血清 IFN- γ 和 IL-4 含量较模型组明显降低,IL-4 降低更为明显,使二者比值降低,提示 CTFTAE 对免疫性肝损伤的改善作用可能与其调节 Th1/Th2 平衡有关。

宿主对 HBV 抗原的免疫耐受很大程度上是细胞免疫功能不足或缺陷引起的,临床研究也证实了在乙肝患者机体中存在着细胞免疫功能低下^[23]。HBV 一旦感染机体,T 淋巴细胞是清除细胞内病毒最主要的效应细胞。T 细胞受抗原或丝裂原刺激后分化增殖,产生特异性免疫应答过程,以抵抗细胞内病毒。本研究结果表明,CTFTAE 体外可增强脾脏淋巴细胞增殖反应,并增强 T 细胞丝裂原 Con A 诱导的脾 T 淋巴细胞增殖反应,这进一步提示 CTFTAE 可促进 T 细胞增殖,有利于清除病毒。

4 参考文献:

- [1] Meuleman P, Libbrecht L, Wieland S, De Vos R, Habib N, Kramvis A, et al. Immune suppression uncovers endogenous cytopathic effects of the hepatitis B virus[J]. *Virology*, 2006, 80(6):2797-2807.

- [2] Blumberg BS. The curiosities of hepatitis B virus; prevention, sex ratio, and demography [J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, **3**(1):14-20.
- [3] Fuller MJ, Khanolkar A, Tebo AE, Zajac AJ. Maintenance, loss, and resurgence of T cell responses during acute, protracted, and chronic viral infections [J]. *J Immunol*, 2004, **172**(7):4204-4214.
- [4] Hui CK, Lau GK. Immune system and hepatitis B virus infection [J]. *J Clin Virol*, 2005, **34**(Suppl 1):S44-S48.
- [5] Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Genotypes and clinical phenotypes of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *J Clin Microbiol*, 2002, **40**(4):1207-1209.
- [6] Kobayashi S, Nishihira J, Watanabe S, Todo S. Prevention of lethal acute hepatic failure by antimacrophage migration inhibitory factor antibody in mice treated with bacille Calmette-Guerin and lipopolysaccharide [J]. *Hepatology*, 1999, **29**(6):1752-1759.
- [7] Xia JZ. Identification of a kind of false *Coptis chinensis* Franch. [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2001, **15**(5):36.
- [8] Xia JZ. Comparison of thin layer chromatography between *Corydalis thalictrifolia* Franch. and *Coptis chinensis* Franch. [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2002, **16**(1):36.
- [9] Ren ZX. Analysis of therapeutic effect on 33 cases of viral hepatitis with *Corydalis thalictrifolia* Franch. [J]. *Clin Focus* (临床荟萃), 2003, **18**(2):94-95.
- [10] Liu H, Lv Z. Clinical observation of chronic hepatitis treatment with *Corydalis thalictrifolia* Franch. [J]. *Chin J Synth Med* (中华综合医学杂志), 2005, **6**(20):138-139.
- [11] Xu CF. Analysis of therapeutic effect on 120 cases of chronic hepatitis B with Yanhuanglian injection [J]. *J Clin Intern Med* (临床内科杂志), 2004, **21**(6):424.
- [12] Xu SY, Bian RL, Chen X. *Methodology of Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Health Publishing House, 2005: 1348-1350.
- [13] Kawamura K, Bahar R, Natsume W, Sakiyama S, Tagawa M. Secretion of interleukin-10 from murine colon carcinoma cells suppresses systemic antitumor immunity and impairs protective immunity induced against the tumors [J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, **9**(1):109-115.
- [14] Heremans H, Dillen C, Groenen M, Matthys P, Billiau A. Role of interferon-gamma and nitric oxide in pulmonary edema and death induced by lipopolysaccharide [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, **161**(1):110-117.
- [15] Ferrari C, Penna A, Bertolotti A, Valli A, Antoni AD, Giuberti T, et al. Cellular immune response to hepatitis B virus-encoded antigens in acute and chronic hepatitis B virus infection [J]. *J Immunol*, 1990, **145**(10):3442-3449.
- [16] Yao XS. Study development of Th1 and Th2 cells [J]. *Foreign Med Sci; Immunol* (国外医学免疫学分册), 2002, **25**(6):290-293.
- [17] Prescott SL, Dunstan JA. Immune dysregulation in allergic respiratory disease; the role of T regulatory cells [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2005, **18**(3):217-228.
- [18] Brunet LR, Hunt J, Rook GA. Dangers of therapeutic manipulation of the Th-1/Th-2 balance [J]. *Trends Immunol*, 2002, **23**(3):127-128.
- [19] Li L, Gu CH. Relationship between the balance of TH1/TH2 cells and viral hepatitis [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 2001, **17**(3):235-237, 239.
- [20] Osna N, Silonova G, Vilgert N, Hagina E, Kuse V, Giedraitis V, et al. Chronic hepatitis C: T-helper 1/T-helper 2 imbalance could cause virus persistence in peripheral blood [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 1997, **57**(8):703-710.
- [21] Liu J, Sheng JF. Study on Th1/Th2 cytokines in serum of chronic hepatitis B patients [J]. *Int J Epidemiol Infect Dis* (国际流行病学传染病学杂志), 2006, **33**(1):15-18.
- [22] Zhao YR, Zheng J, Zhang SL. Study of Th1/Th2 cell disturbance in chronic HBV infection [J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 2005, **25**(5):468-470.
- [23] Hu WW, Zang GQ. Research advancement of immunopathogenesis mechanism in hepatitis B [J]. *Int J Epidemiol Infect Dis* (国际流行病学传染病学杂志), 2007, **34**(4):270-273.

Improving effect of total alkaloids extract from *Corydalis thalictrifolia* Franch. on immune hepatic injury in mice

BI Ming-Gang^{1*}, ZHOU Juan², XU Yang¹, SUN Hong¹, JI Yu-Bin²

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China;

2. Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: AIM To investigate the improving effect of *Corydalis thalictrifolia* Franch. total alkaloids extract (CTFTAE) on immune hepatic injury in mice and its possible mechanism.

METHODS The mouse model with immune hepatic injury was prepared by injecting bacillus Calmette-Guerin (BCG) and lipopolysaccharides (LPS) through tail veins. On the same day when BCG injected, CTFTAE (0.26, 0.78 and 2.34 mg·kg⁻¹, respectively) was ip given, once daily, for 12 d. Then LPS (7.5 μg) were injected through tail veins on the last day of CTFTAE treatment. After 16 h, the activities of glutamic-pyruvic transaminase (GPT) and glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) were determined in serum, and the pathological changes in liver tissue were observed under light microscope. The contents of interferon-γ (IFN-γ) and interleukin-4 (IL-4) in serum were detected by ELISA. In addition, the effect of CTFTAE on splenocyte proliferation *in vitro* was observed by [³H]TdR incorporation assay.

RESULTS The activities of GPT and GOT in serum were obviously increased in model group than that in normal control group. Compared with model group, GPT activity obviously decreased in CTFTAE 0.26, 0.78 and 2.34 mg·

kg⁻¹ groups, but GOT activity had no significant change. It was observed that some liver cells obviously dissolved and necrotized in model group, and CTFTAE 0.78 and 2.34 mg·kg⁻¹ alleviated the hepatic cell degeneration, necrosis and inflammatory cell infiltration. The serum contents of IFN-γ and IL-4 increased in model group compared with normal group, and IL-4 content increased more significantly, and the IFN-γ/IL-4 declined. CTFTAE 0.26, 0.78 and 2.34 mg·kg⁻¹ reduced the content of IL-4, and elevated the ratio of IFN-γ/IL-4. Furthermore, CTFTAE 15 – 1500 mg·L⁻¹ could increase splenocyte proliferation *in vitro* both used alone and combined with concanavalin A. **CONCLUSION** CTFTAE can alleviate the immune hepatic injury, which may be related with its regulation of the balance between helper T cells (Th)1 and Th2.

Key words: *Corydalis thalictrifolia* Franch.; alkaloids; immune hepatic injury; interferon-γ; interleukin-4

* Corresponding author.