

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.10.016

双氢青蒿素对不同铁负载条件下肝星状细胞活化的影响

江远^{1*}, 张玲¹, 何金洋²

(1. 广州医科大学附属深圳沙井医院, 广东省深圳市宝安区沙井大街 3 号, 518104; 2. 广州中医药大学热带医学研究所)

摘要 目的 探讨双氢青蒿素体外抗肝纤维化作用及其可能机制。方法 双氢青蒿素设 50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125、0.390125 μg/ml 共 8 个浓度进行细胞毒性试验, 选择最大无细胞毒作用的双氢青蒿素浓度进行以下实验。体外培养肝星状细胞 (HSC), 分为正常对照组、铁沉积模型组 [25 μmol/L 柠檬酸铁胺 (FAC)]、去铁铵组 (50 μmol/L 去铁铵)、双氢青蒿素组 (双氢青蒿素)、铁沉积 + 双氢青蒿素组 (25 μmol/L FAC + 双氢青蒿素) 和去铁铵 + 双氢青蒿素组 (50 μmol/L 去铁铵 + 双氢青蒿素), 培养 24 h。免疫组化法检测各组细胞中 α 平滑肌肌动蛋白 (α-SMA) 的表达, PCR 法检测 HSC 铁代谢及细胞活化相关因子 [包括铁调素、转铁蛋白受体 1 (TfR1)、I 型胶原及转化生长因子 β1 (TGF-β1)] mRNA 表达。结果 筛选出 6.25 μg/ml 浓度的双氢青蒿素进行试验。铁沉积模型组细胞中 α-SMA 大量表达, 各给药组细胞中 α-SMA 表达较正常对照组和铁沉积模型组明显减少。铁沉积模型组铁调素 mRNA 表达明显降低, 而经去铁铵和 (或) 双氢青蒿素干预后, 铁调素 mRNA 表达均显著升高 ($P < 0.05$)。双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组能明显降低 TfR1、I 型胶原、TGF-β1 mRNA 表达 ($P < 0.05$)。结论 双氢青蒿素具有一定的体外抗肝纤维化作用, 其机制与调节细胞铁的代谢、抑制肝星状细胞活化有关。
关键词 肝纤维化; 双氢青蒿素; 铁代谢; 肝星状细胞; 细胞活化

肝纤维化是各类慢性肝病发展为肝硬化的必经病理阶段, 肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 活化是肝纤维化发生发展的中心环节^[1]。相关研究显示, 各类导致肝纤维化的疾病往往与肝脏铁元素代谢紊乱密切相关, 铁沉积在肝纤维化发展过程中作用明显^[2-4]。铁元素是细胞生长的基本物质, 肝脏是铁储存的主要部位^[5]。双氢青蒿素为青蒿素的还原衍生物, 大量研究表明, 双氢青蒿素抗疟作用的主要药理机制可能与亚铁离子密切相关^[6]。本课题组前期研究表明, 铁沉积与 HSC 活化关系密切^[7-9]。本研究探讨双氢青蒿素作为一种特异性肝纤维化的低毒性药物的可能性, 明确以铁元素为靶向的 HSC 活化作用机制与环节, 现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 细胞及药品

HSC-T6 细胞为 SV40 转染 SD 大鼠的肝星状细胞系, 其表型为活化的 HSC, 由广州中医药大学热带医学研究所惠赠; 柠檬酸铁胺 (FAC, 批号: 20060519, 分子量 487.84), 国药集团化学试剂有限公司; 去铁铵 (注射用甲磺酸去铁铵, 批号: S0695, 分子量 656.2), 诺华制药厂生产; 双氢青蒿素 (分子式为 $C_{15}H_{24}O_5$, 分子量为 284.35), 购自广州中医药大学基础医学院青蒿中心。

1.2 主要试剂及仪器
DMEM 培养基 (批号: 8116467) 购自美国 Gibco 公司, 四亚基偶氮唑盐 (MTT, 批号: 20050412) 购自吉泰科技有限公司, 二甲基亚砜 (DMSO, 批号: 078k2344) 购自 Sigma 公司, 鼠抗 α 平滑肌肌动蛋白 (α-SMA, 批号: BM0002)、Trizol RNA 提取试剂 (批号: 49164) 购自美国 MRC 公司, 铁调素、转铁蛋白受体 1 (TfR1)、I 型胶原和转化生长因子 β1 (TGF-β1) 引物由加拿大 Fermentas 公司合成。PT-3502G 型全自动酶标仪, 北京普天新桥技术有限公司; 7300 型定量 PCR 仪, ABI 公司; XDS-2 型显微镜, 广州粤显光学仪器厂。

1.2 主要试剂及仪器

基金项目: 广东省中医药局建设中医药强省项目 (20152066)
* 通讯作者: jy760511@163.com, 18929346090

1.3 双氢青蒿素的细胞毒性实验

MTT 比色法: HSC 细胞按 1×10^5 /ml 密度接种于 96 孔培养板中, 至细胞长满单层后, 弃培养液。双氢青蒿素设 50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125、0.390125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 共 8 个浓度, 每个浓度每孔 100 μl , 重复 4 孔。并设立细胞对照组和空白对照组, 细胞对照组为正常培养的 HSC, 空白对照组为不含细胞的培养基。继续培养 24 h 后, 加 MTT 溶液 (5 mg/ml) 20 μl /孔, 37℃ 孵育 3 h。吸去上清, 加入 DMSO 150 μl /孔, 震荡 20 min, 全自动酶标仪测定各孔 OD 值, 测定波长为 490 nm。细胞破坏率 (%) = (细胞对照组平均 OD 值 - 加药组平均 OD 值) / (细胞对照组平均 OD 值 - 空白对照组平均 OD 值) $\times 100\%$ 。选择最大无细胞毒作用的双氢青蒿素浓度进行以下实验。

1.4 不同铁负载条件下双氢青蒿素对 HSC 活化的影响

细胞培养于 6 孔板, 将细胞分为正常对照组、铁沉积模型组、去铁铵组、双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组、去铁铵 + 双氢青蒿素组, 每组重复 2 孔。正常对照组为正常培养的 HSC, 铁沉积模型组为在正常培养的 HSC 中加入 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$ FAC 建立铁沉积模型^[7], 去铁铵组为正常培养的 HSC 中加入 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 去铁铵^[8], 双氢青蒿素组为正常培养的 HSC 中加入上述实验筛选出的浓度的双氢青蒿素, 铁沉积 + 双氢青蒿素组为在铁沉积模型组基础上加入上述实验筛选出的浓度双氢青蒿素, 去铁铵 + 双氢青蒿素组为在去铁铵组基础上加入上述实验筛选出的浓度双氢青蒿素。继续培养 24 h。

各组 HSC 中 α -SMA 表达: 采用免疫组化法检测, 细胞培养 24 h 后弃上清, 无菌 PBS 洗 2 次, 用 4% 多聚甲醛固定 30 min, 蒸馏水漂洗晾干。以 30% H_2O_2 1 份 + 纯甲醇 50 份混合, 室温浸泡 30 min, 以灭活内源性过氧化物酶, 蒸馏水洗 1 或 2 次。滴加 5% BSA 封闭液, 室温 20 min, 甩去多余液体。滴加适量一抗 37℃、1 h, PBS (pH7.2 ~ 7.6) 洗 2 min $\times$ 3 次。滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG, 20 ~ 37℃、20 min。PBS 洗 2 min $\times$ 3 次。滴加试剂 SABC, 20 ~ 37℃、20 min。PBS 洗 5 min $\times$ 4 次。DAB 显色, 蒸馏水洗。苏木素复染, 脱水、透明、封片, 显微镜下观察。

1.5 不同铁负载条件下双氢青蒿素对 HSC 铁代谢及细胞活化相关因子 mRNA 表达的影响

铁代谢及细胞活化相关因子包括铁调素、

TfR1、I 型胶原和 TGF- β 1。细胞培养于 24 孔板, 分组及给药方法同上, 每组重复 4 孔。细胞总 RNA 提取: 双氢青蒿素作用 48 h 后, 弃去上清液, 每孔加入 Trizol 试剂 0.5 ml, 吹打混匀后每孔吸入无 RNA 酶的 1.5 ml 离心管中冻存待检。RNA 提取方法为: 将冻存于 1.5 ml 离心管中的细胞于室温下充分融化, 加入氯仿 0.1 ml, 混匀后静置 10 min, 然后于 4℃ 下 12000 r/min 离心 15 min; 将上层水相移入另一个新的无 RNA 酶的 1.5 ml 离心管中, 加入异丙醇 0.5 ml, 混匀后静置 10 min, 然后 12000 r/min 离心 10 min, 弃去上清, 再加入 75% 乙醇 1 ml, 8500 r/min 离心 5 min, 弃去上清并用滤纸吸干管底液体, 用无 RNA 酶的水 30 μl 溶解沉淀, 然后立刻进入逆转录。

RNA 逆转录及定量 PCR: 逆转录反应体系采用 10 μl 反应体系, 组成为: 5 $\times$ Buffer: 2 μl ; RNase inhibitor: 0.5 μl ; 10 mM dNTP: 1 μl ; OligodT 引物: 0.5 μl ; 逆转录酶: 0.5 μl ; RNA 标本: 5.5 μl 。逆转录条件为: 42℃, 60 min; 70℃, 10 min。然后冻存于 -20℃ 待测。定量 PCR 采用染料法, 以 25 μl 体系, 引物浓度为 250 nM, 用 7300 型定量 PCR 仪进行扩增, 扩增条件为: 95℃ 变性 1 min; 然后 95℃, 15 s; 60℃, 1 min, 40 个循环。然后进行定量分析, 引物序列如下, 铁调素: 上游 GTTCCCGCTTATCTCTCCCG, 下游 AGTCGCTTT-TATGGGGCCTG, 产物大小 115 bp; TfR1: 上游 AAATGCCCTCTCTGCTGACG, 下游 AGCAGAT-CAGCACAAGTCT, 产物大小 114 bp; I 型胶原: 上游 CCATAACCCCACTCCCTTTTC, 下游 TG-CAGGGGAGAAGAGGATTTG, 产物大小 118 bp; TGF- β 1: 上游 TGTATGTCAGCTTCCGAGACC, 下游 GGTGGCGTTCATGTAGGAGTT, 产物大小 119 bp。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多个样本均数比较采用方差分析 ($LSD-t$ 检验)。

2 结果

2.1 不同浓度双氢青蒿素对 HSC 增殖的影响

表 1 示, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 双氢青蒿素的细胞破坏率最高, 随着浓度的降低双氢青蒿素的细胞破坏率则下降, 至 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下浓度时已经没有明显的细胞破坏, 故选择 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 双氢青蒿素进行后续实验。

表 1 不同浓度双氢青蒿素对 HSC 增殖的影响

组别	样本数	浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	平均 OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	细胞破坏率 (%)
双氢青蒿素组	4	50	0.443 ± 0.028	81.87
	4	25	1.493 ± 0.048	32.69
	4	12.5	2.006 ± 0.098	8.67
	4	6.25	2.196 ± 0.058	-0.2
	4	3.125	2.098 ± 0.031	4.3
	4	1.5625	2.213 ± 0.069	-1.03
	4	0.78125	2.274 ± 0.057	-0.04
	4	0.390125	2.196 ± 0.049	-0.2
细胞对照组	4	0	2.191 ± 0.056	
空白对照组	4	0	0.056 ± 0.001	

2.2 各组细胞中 α -SMA 表达比较

经免疫组化染色，镜下可见正常对照组 HSC 明显活化， α -SMA 大量表达。铁沉积模型组 HSC 中 α -SMA 亦大量表达。而去铁铵组、双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组 HSC 中 α -SMA 表达较正常对照组和铁沉积模型组明显减少，说明经去铁铵和双氢青蒿素干预，细

胞活化受到不同程度抑制。
 2.3 各组 HSC 铁代谢及细胞活化相关因子 mRNA 表达比较
 表 2 示，与正常对照组比较，铁沉积模型组铁调素 mRNA 表达明显下调，而去铁铵组、双氢青蒿素组、去铁铵 + 双氢青蒿素组则显著上调，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；与铁沉积模型组比较，各给药组铁调素 mRNA 表达显著升高，并且铁沉积 + 双氢青蒿素组铁调素 mRNA 表达低于去铁铵组，而去铁铵 + 双氢青蒿素组则高于去铁铵组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。正常对照组、铁沉积模型组和去铁铵组 Tfr1 mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，而双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组以及去铁铵 + 双氢青蒿素组 Tfr1 mRNA 表达均明显低于以上 3 组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与正常对照组比较，铁沉积模型组 I 型胶原、TGF- β 1 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；去铁铵组、双氢青蒿素组、铁沉

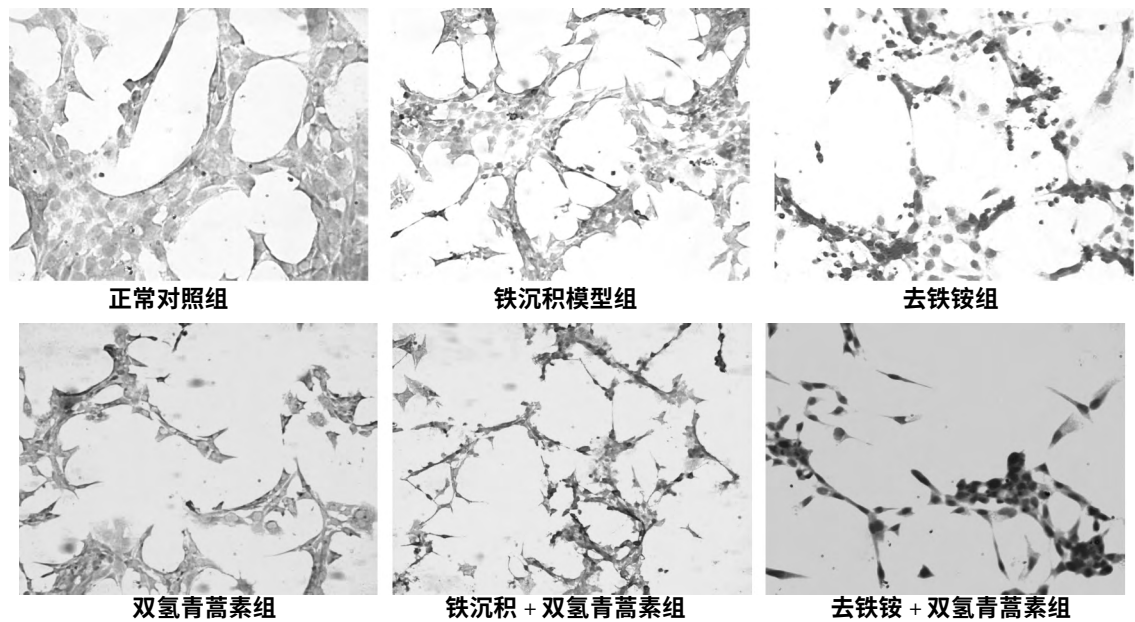


图 1 各组肝星状细胞中 α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 免疫组化染色图 ($\times 200$)

表 2 各组 HSC 铁代谢及细胞活化相关因子 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	铁调素	Tfr1	I 型胶原	TGF- β 1
正常对照组	4	5.20 ± 1.07	4.71 ± 1.33	1.197 ± 0.104	1.477 ± 0.126
铁沉积模型组	4	$1.62 \pm 1.29^*$	3.92 ± 1.42	1.354 ± 0.076	1.594 ± 0.168
去铁铵组	4	$8.37 \pm 1.25^{*\Delta}$	3.48 ± 1.09	$0.391 \pm 0.076^{*\Delta}$	$0.421 \pm 0.068^*$
双氢青蒿素组	4	$8.21 \pm 1.15^{*\Delta}$	$1.93 \pm 1.82^{*\Delta\Delta}$	$0.688 \pm 0.060^{*\Delta\Delta}$	$0.331 \pm 0.090^{*\Delta}$
铁沉积 + 双氢青蒿素组	4	$5.09 \pm 1.06^{\Delta\Delta}$	$2.26 \pm 1.25^{*\Delta\Delta}$	$0.779 \pm 0.087^{*\Delta\Delta}$	$0.225 \pm 0.027^{*\Delta\Delta}$
去铁铵 + 双氢青蒿素组	4	$10.52 \pm 1.33^{*\Delta\Delta}$	$1.75 \pm 1.01^{*\Delta\Delta}$	$0.583 \pm 0.026^{*\Delta\Delta}$	$0.525 \pm 0.035^{*\Delta}$

注：HSC，肝星状细胞；Tfr1，转铁蛋白受体 1；TGF- β 1，转化生长因子 β 1；与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与铁沉积模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ；与去铁铵组比较， $\Delta P < 0.05$

积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组 I 型胶原 mRNA 表达明显低于铁沉积模型组和正常对照组, 去铁铵组亦明显低于双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组 ($P < 0.05$); 双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组 TGF- $\beta 1$ mRNA 表达明显低于铁沉积模型组, 并且铁沉积 + 双氢青蒿素组 TGF- $\beta 1$ mRNA 表达低于去铁铵组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

青蒿素是我国科学家于 20 世纪 70 年代首次从中药黄花蒿中提取的具有独特过氧化桥结构的倍半萜内酯, 双氢青蒿素是青蒿素的重要衍生物之一, 临床主要用于治疗疟疾, 近年来双氢青蒿素在人类肝癌^[1]、卵巢癌^[1]、前列腺癌^[2]细胞中显示出潜在的抗癌活性, 认为青蒿素及其衍生物是通过氧化损伤发挥其抗癌和抗癌活性的。然而有研究显示双氢青蒿素能够不依赖于活性氧 (ROS) 激活 p38 MAPK 途径诱导白血病细胞凋亡^[3]。另有研究显示, 在包括 MCF7 的一些细胞系中, 铁元素的增加反而减少了细胞毒性^[4]。BA Q 等^[5]研究发现, 双氢青蒿素能造成肿瘤细胞铁元素的缺乏、降低铁元素的吸收、干扰细胞内铁元素既有的平衡状态, 且这种改变与氧化损伤无关, 双氢青蒿素可以降低细胞膜上的 TfR1 水平, 减弱了细胞对铁的吸收, 从而杀伤肿瘤细胞。

双氢青蒿素能否在抗癌和抗纤维化的基础上, 展现出其抗肝纤维化的前景? 前期研究结果^[6]表明, 细胞内适量的铁能够诱导 HSC 活化并促进肝纤维化的持续进展, 去铁铵能使 HSC 活化受到不同程度的抑制, 甚至诱导其转为静止或发生细胞凋亡, 提示不同铁负载水平能够诱导 HSC 发生不同的转归。本研究首先通过细胞毒性实验, 发现双氢青蒿素在 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上浓度时对 HSC 细胞增殖有明显的抑制作用。其次, α -SMA 作为 HSC 表达活化的标志之一^[6-17], 在不同铁负载条件及双氢青蒿素处理下受到不同程度抑制, 提示双氢青蒿素能对 HSC 活化发挥一定程度的抑制作用。再次, 在不同铁负载条件下, 观察双氢青蒿素可能对 HSC 铁代谢及细胞活化相关因子发挥重要影响。研究结果显示, HSC 铁沉积后, 铁调素 mRNA 表达明显降低, 而经去铁铵和 (或) 双氢青蒿素干预后, 铁调素 mRNA 表达均显著升高。铁负载或去铁铵干预虽不能对 HSC 中 TfR1 mRNA 表达产生

影响, 但单用或加用双氢青蒿素却能明显降低 TfR1 mRNA 表达。去铁铵组、双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组均能下调 I 型胶原 mRNA 的表达, 但去铁铵组明显优于其他 3 组 ($P < 0.05$)。同时, 去铁铵组、双氢青蒿素组、铁沉积 + 双氢青蒿素组和去铁铵 + 双氢青蒿素组亦能下调 TGF- $\beta 1$ mRNA 表达, 但铁沉积 + 双氢青蒿素组明显优于另外 3 组 ($P < 0.05$)。上述结果表明, 双氢青蒿素具有一定的体外抗肝纤维化作用, 其机制与调节细胞铁的代谢, 抑制 HSC 活化有关。然而, 双氢青蒿素如何干扰细胞内铁代谢的平衡, 是否会诱导 HSC 细胞自噬或凋亡的发生还需深入研究。

参考文献

- [1] 李春霞, 戴立里. 肝星状细胞与肝纤维化研究进展 [J]. 国际消化病杂志, 2007, 27(2): 108-111.
- [2] LUDWIG J, HASHIMOTO E, PORAYKO MK, et al. Hemosiderosis in cirrhosis: a study of 447 native livers [J]. Gastroenterology, 1997, 112(3): 882-888.
- [3] GUYADER D, THIROUARD AS, ERDTMANN L, et al. Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in chronic hepatitis C [J]. J Hepatol, 2007, 46(4): 587-595.
- [4] 赵晋英, 李艳伟, 李琳. 铁和铁调素在肝纤维化中的作用 [J]. 生理科学进展, 2010, 41(3): 183-188.
- [5] 江远, 张玲, 何金洋, 等. 在二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化时铁超载和脂肪堆积的作用 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2009, 19(2): 100-102.
- [6] 王满元. 青蒿素类药物的发展历史 [J]. 自然杂志, 2012, 34(1): 44-47, 38.
- [7] 江远, 张玲, 何金洋, 等. 复方肝毒清对铁超载肝星状细胞活化和凋亡的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(1): 31-35.
- [8] 江远, 张玲, 邓远绮, 等. 不同铁负载水平影响肝星状细胞活化和凋亡的抗肝纤维化机制研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20(6): 369-373.
- [9] 江远, 张玲, 钟肖英, 等. 铁沉积对大鼠肝纤维化影响的机制研究 [J]. 实用肝脏病杂志, 2015, 18(2): 173-177.
- [10] HOU J, WANG D, ZHANG R, et al. Experimental therapy of hepatoma with artemisinin and its derivatives: in vitro and in vivo activity, chemosensitization, and mechanisms of action [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(17): 5519-5530.
- [11] CHEN T, LI M, ZHANG R, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis and sensitizes human ovarian cancer cells to carboplatin therapy [J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(7): 1358-1370.

- [2] GALLIS B, SOLAZZI JW, KIM BJ, et al. Effect of artemisinin derivatives on apoptosis and cell cycle in prostate cancer cells [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2010, 21(4): 423-432.
- [3] LU JJ, MENG LH, CAI YJ, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis in HL-60 leukemia cells dependent of iron and p38 mitogen-activated protein kinase activation but independent of reactive oxygen species [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(7): 1017-1023.
- [4] KELTER G, STEINBACH D, KONKIMALLA VB, et al. Role of transferrin receptor and the ABC transporters

ABCB6 and ABCB7 for resistance and differentiation of tumor cells towards artesunate [J]. *PLoS One*, 2007, 2(8): e798.

- [5] BA Q, ZHOU NY, DUAN J, et al. Dihydroartemisinin exerts its anticancer activity through depleting cellular iron via transferrin receptor-1 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42703.
- [6] 吴惠春, 张斌. 肝星状细胞与抗肝纤维化治疗的研究进展 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2012, 15(2): 172-173.
- [7] 周俊英, 甄真, 姚树坤. 肝星状细胞凋亡与肝纤维化逆转 [J]. *国外医学: 内科学分册*, 2004, 31(9): 403-406.

Impact of Dihydroartemisinin on Hepatic Stellate Cell Activation under Different Iron loading Conditions

JIANG Yuan¹, ZHANG Ling¹, HE Jinyang²

(1. Shenzhen Shajing Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Shenzhen, 518104; 2. Institute of Tropical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the anti hepatic fibrosis effect of dihydroartemisinin in vitro and the possible mechanism. **Methods** Eight concentration of dihydroartemisinin (50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 and 0.390125 $\mu\text{g/ml}$) were designed to make cytotoxicity test. The largest concentration of dihydroartemisinin without cytotoxicity was chosen for the following tests. Hepatic stellate cells were cultured in vitro, which were divided into the normal control group, the iron deposition model group [25 $\mu\text{mol/L}$ ferric ammonium citrate (FAC)], the deferoxamine group (50 $\mu\text{mol/L}$ deferoxamine), the dihydroartemisinin group (dihydroartemisinin), the iron deposition + dihydroartemisinin group (25 $\mu\text{mol/L}$ FAC + dihydroartemisinin) and the deferoxamine + dihydroartemisinin group (50 $\mu\text{mol/L}$ deferoxamine + dihydroartemisinin). All cells were cultured for 24 h. The expressions of cells' α -smooth muscle actin (α -SMA) in all groups were detected with immunohistochemical method. The iron metabolism and the mRNA expressions of cell activation correlation factors [including hepcidin, transferrin receptor 1 (TfR1), and collagen I and Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1)] were detected with polymerase chain reaction (PCR) method. **Results** Dihydroartemisinin with the concentration of 6.25 $\mu\text{g/ml}$ was chosen to be tested. There were a lot of cells' α -SMA expressions in the iron deposition model group. Cells' α -SMA expressions in the medicine groups were less than those in the normal control group and the iron deposition model group. Hepcidin mRNA expressions in the iron deposition model group decreased, while after being intervened with deferoxamine and/or dihydroartemisinin, hepcidin mRNA expressions increased ($P < 0.05$). The mRNA expressions of TfR1, as well as collagen I and TGF- β 1 decreased in the dihydroartemisinin group, the FAC + dihydroartemisinin group and the deferoxamine + dihydroartemisinin group. **Conclusion** Dihydroartemisinin might have anti hepatic fibrosis effect in vitro. The mechanism might relate to regulating iron metabolism in cell and inhibiting hepatic stellate cell activation.

Keywords dihydroartemisinin; hepatic fibrosis; iron metabolism; hepatic stellate cell; cell activation

(收稿日期: 2016-10-22; 修回日期: 2016-12-04)

编辑: 邓 媛

欢迎访问《中医杂志》微信小店

为了方便读者购买《中医杂志》期刊、光盘、合订本, 我们的微信小店上线了。手机操作即可查询、购买。

请扫描二维码直接访问《中医杂志》官方微信小店。

