

从肝纤维化大鼠肝组织蛋白质组变化 探讨肝与他脏关系的蛋白质基础

□刘 莺** 刘 平** 胡义杨

(上海中医药大学 上海 201203)

刘 成 慕永平 都广礼

摘 要:目的:以 CCl₄ 大鼠肝纤维化为模型,研究肝与他脏在生理、病理之间的相互联系,为中医理论对“以象测脏”认识脏象的方法论提供科学依据,探讨中医整体观念的物质基础。方法:将 Wistar 大鼠,随机分正常组、模型组。模型大鼠皮下注射 40% CCl₄-橄榄油溶液每周 2 次,共 2 周;停止刺激后再观察 4 周,正常组以生理盐水替代 CCl₄ 皮下注射。分别于第 4、8、12、16 周末分批处死大鼠。留取肝组织分别做病理、羟脯氨酸、蛋白质的分步提取。蛋白质定量后进行二维电泳,凝胶银染,运用 PDQUEST 2-DE 图象分析软件对获得的蛋白质图谱进行分析,运用 MALDI-TOF-MS 鉴定了 30 多个差异表达的蛋白质。结果:① CCl₄ 肝纤维化大鼠出现生命活动整体反应,如体重、活动度等下降;②肝纤维化过程中存在蛋白质合成和物质代谢障碍;③蛋白质组改变的质谱鉴定。结果显示:肝纤维化大鼠与正常大鼠肝组织差异表达的蛋白质与物质代谢相关的蛋白质有过氯酸可溶性蛋白质、磷脂酰肌醇转移酶、磷酸甘油酸激酶;与神经内分泌相关的蛋白质分子有儿茶酚-邻-甲基转移酶、雌激素转磺酶亚型 6、转录起始因子、非粘附性细胞蛋白质。结论:肝与他脏功能相关、病理相连是以蛋白质分子为物质基础,肝纤维化是一个涉及多个功能的整体病变过程,而引起机体整体功能改变的物质基础是蛋白质分子。

关键词:肝纤维化 蛋白质差异展示 五脏关系 生理病理联系

中医强调人是一个有机的整体。肝脏是人体最大的内脏器官,机体内大部分的营养物质代谢在肝脏内完成,在诸多同机体结构与功能相关的生命物

质的生成和分解以及大多数进入人体内的物质转化过程中,肝都发挥着重要的作用,它与全身各系统有密切的联系。因此肝与各脏腑生理相通,病理

收稿日期:2005-05-08

* 国家自然科学基金重大计划重点项目(90409020):中医方剂的方证动态生物信息模式的探索,负责人:刘平;国家自然科学基金项目(30371835):扶正化瘀干预大鼠肝纤维化肝组织蛋白质组动态变化的研究,负责人:刘莺。

** 联系人:刘莺,博士后,副教授,上海中医药大学科技中心分子生物实验室,研究方向:主要从事中医药蛋白质组研究,Tel: 021-51322379, Fax: 021-51322686, E-mail: liuliver@online.sh.cn; 刘平,本刊编委,教授,上海中医药大学副校长,研究方向:长期从事中医药抗肝纤维化研究, Tel: 021-51322002, E-mail: liuliver@online.sh.cn。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 13

相连,是互为因果的关系。这种生理上有序的调整、病理上相互影响的联系是由谁实现,肝纤维化导致多个系统功能紊乱的物质基础是什么呢?为此我们在 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化组织蛋白质组的质谱鉴定,探讨了肝组织上表达的蛋白质的差异表达与他脏生理、病理上相互影响的联系。

一、材料与方法

1. 试剂 辛酰基硫代甘氨酸三甲内盐 (caprylyl sulfobetain, SB3-10) 购自 Sigma 公司; 固相 pH 梯度干胶条 (IPG, immobilized pH gradient DryStrip); 二硫苏糖 (DL-dithiothreitol, DTT); 三正丁基磷 (tributylphosphine, TPB); 氨基丁三醇 (Tris); 碘乙酰胺 (Iodoacetamide); 3-[胆酰胺丙-1-二乙胺-丙硫酸] (CHAPS); 30% 丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺溶液 (30% Acr/Bis); 过硫酸胺 (Ammonium Persulfate, APS); N, N, N', N'-四甲基乙二胺 (TEMED); 十二烷基磺酸钠 (SDS); 尿素; 2-D 中分子蛋白质标准品, 均购自 Bio-Rad 公司。蛋白酶抑制剂 (PMSF) 购自上海生物化学公司。

2. 设备 IPGphor 等电聚焦电泳仪; 垂直电泳系统, GS-800 光密度扫描仪, PDQUEST2-DE 图象分析软件, 均购自 Bio-Rad 公司。

3. 实验方法

(1) 动物模型^[1]: 体重 200 ± 10g 雄性 Wistar 大鼠, CCl₄-橄榄油混合液 (4:6) 皮下注射 0.2ml/100g, 一周 2 次, 持续 12 周; 在造模第一天、第 5、9、13 周第一天分别给予扶正化瘀方干预治疗, 给

药时间为 4 周, 各组大鼠于第 4、8、12、16 周末分批取材。经一般生化与病理组织学指标确定肝纤维化模型成立。并取肝组织总蛋白质定量备用。

(2) 肝组织蛋白质组的提取: 取 500mg 大鼠肝组织加 1ml 组织蛋白质提取液 (40mmol/L Tris-base pH8.3~8.4, 加 0.1M PMSF/ml) 6000rpm/min 匀浆 30s, 加 100μg/ml DNaseI (DNA 酶 I)、25μg/ml RNaseA (RNA 酶 A), 4℃ 作用 15min 后, 振荡混匀 5min, 4℃ 下 30000g 离心 50min, 小心避开脂质层, 取上清液, 冷冻干燥备用。

(3) 一维电泳^[2]: pH4~7, 长 17cm, 上样量 150μg/块胶, 加 350μl 泡胀液 (8M 尿素、4% CHAPS、0.2% 两性电解质); 电泳条件: 重泡胀和聚焦在 20℃ 下自动进行, 总电压时间积为 148000Vh (伏小时)。

(4) 二维电泳: 将已聚焦好的胶条分别在 5ml 平衡液 1、2 中各平衡 15min (平衡母液: 6M 尿素、2% SDS、0.375M pH8.8 Tris-HCL、20% 甘油。平衡液 1 加 2% DTT, 平衡液 2 去 DTT, 加 2.5% 碘乙酰胺, 用时配), 平衡后, 上 SDS-PAGE (聚丙烯酰胺凝胶), 用低熔点琼脂糖封口, 电泳直至溴酚蓝到胶的底线。

(5) 凝胶染色: 采用郭尧君改进的高灵敏度银染色方法。

(6) 图象分析及数据处理: 将银染后的凝胶放

表 1 CCl₄ 模型大鼠体重动态变化 (x̄ ± s)

组别	n	第 1 天	4 周	8 周	12 周	16 周
正常组	4	196.25 ± 0.00	301.52 ± 5.00	325.26 ± 6.23	416.25 ± 5.69	422.5 ± 9.21
模型组	4	208.00 ± 0.00	254.00 ± 2.10	253.00 ± 1.77*	277.00 ± 10.0*	306.3 ± 10.2*

注: 为与正常组比较, *, P < 0.05。

表 2 CCl₄ 大鼠整体生命活动观察

分组	皮毛		皮下脂肪		肌肉	活动			造模时二便情况
	光泽度	脱毛	厚度	弹性	厚薄	频率	灵敏	挣扎力度	
正常组	光泽厚密	无	厚	好	厚	多	灵敏	有力	无失禁
模型大鼠	发黄无光稀疏	脱毛明显	薄	松软	软弱无力	喜卧易惊怒	呆板迟钝	无力	二便失禁、大便稀

在 GS-800 光密度扫描仪上, 扫描后的图象用 PDQUEST2-DE 软件分析。

二、结 果

1. 大鼠体重动态变化

大鼠开始造模的第一天体重均无显著性差异, 随着造模时间的延续, 大鼠体重差异增大, 正常组大鼠体重近于直线上升, 而模型组从第一天到第4周缓慢上升, 第4周到第8周模型大鼠体重无变化, 出现平台阶段; 从第8周~第16周缓慢增加, 与正常大鼠比较有显著性差异($P < 0.05$)见表1。

2. 各组大鼠整体生命活动观察

正常大鼠活动敏捷, 活泼好动, 反应灵敏, 挣扎有力且方式多样, 双目灵活有神, 皮毛致密光泽, 皮下脂肪丰满, 肌肉弹性好且厚实, 灌胃造模时无二便失禁现象。模型大鼠随着造模时间的延伸, 出现生命活力的下降: 活动迟缓, 喜卧, 易惊易怒, 挣扎无力且方式呆板, 爪甲脆易出血, 皮毛稀疏无光泽、发黄、脱毛, 随着刺激时间延长而增多, 皮下脂肪薄, 肌肉弹性差且松软, 灌胃造模时二便失禁, 如表2中所列; 终止 CCl_4 刺激后, 模型大鼠的体征均有改善。

表3 CCl_4 模型大鼠肝组织蛋白质各溶解度及总量的变化(g/L)

分组	总量	易溶性蛋白质	中度溶性蛋白质	难溶性蛋白质
正常组	218.278	134.400	51.987	34.597
模型组	242.670	131.695	42.467	65.803

表4 两组大鼠肝组织蛋白质变化

蛋白质名	正常组	模型组
过氯酸可溶性蛋白质	+	↑↑↑
磷脂酰肌醇转移蛋白质	-	+
磷酸甘油酸激酶	+	↑↑↑
儿茶酚-邻-甲基转移酶	+	-
雌激素转磺酶亚型6	+	↓↓↓↓
转录起始因子	+	↑↑↑
非粘附性细胞蛋白质	-	↑↑↑

3. 模型组肝组织不同溶解度蛋白质含量变化

我们根据大鼠肝组织蛋白质溶解性分步提取, 提取物1为易溶解性蛋白质, 提取物2为中度溶解性蛋白质, 提取物3为难溶解性蛋白质。表3显示在肝纤维形成后蛋白质合成发生改变, 模型组难溶性蛋白质明显高于正常组, 因而总量高于正常组(因只有3只大鼠, 故未做统计学处理)。

4. 质谱鉴定确定蛋白质分子的表达

我们根据各蛋白质斑点在凝胶上的颜色、范围等值, 制定了相对蛋白质斑点的半定量标准(见表4和图1~7): 正常组出现为“+”, 没检测出为“-”, 每个蛋白质在模型组4个时间点中的最低表达为↑, 较“↑”高出1倍为↑↑、1~2倍之间为↑↑↑。

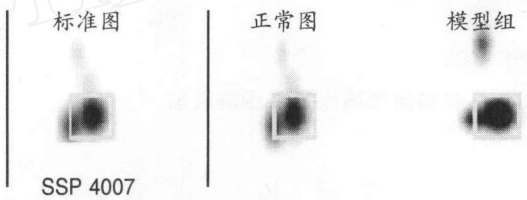


图1 过氯酸可溶性蛋白质斑点图

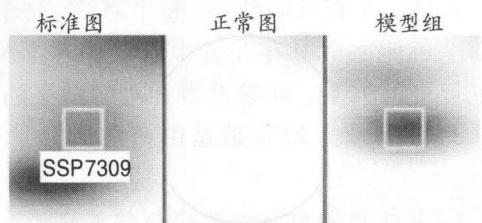


图2 磷脂酰肌醇转移蛋白质斑点图

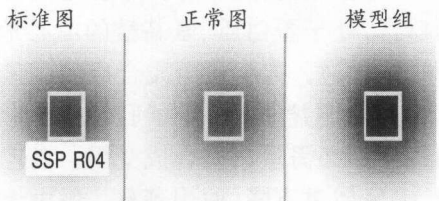


图3 大鼠磷酸甘油酸激酶斑点图

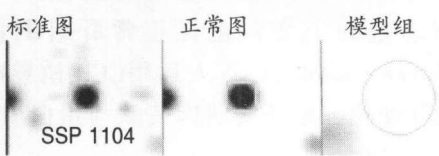


图4 儿茶酚-邻-甲基转移酶斑点图

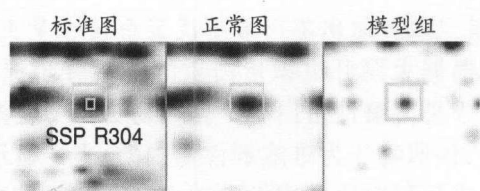


图5 雌激素转磺酶亚型6斑点图

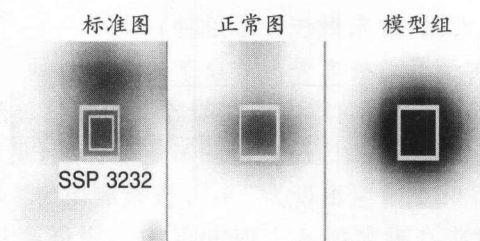


图6 转录起始因子斑点图



图7 非粘附性细胞蛋白质斑点图

三、讨 论

人是一个有机的整体,每个系统、每个脏腑、甚至每个细胞之间都存在着生理、病理上相互制约、相互促进的关系,并维系着相对的动态的平衡。这种生理、病理上的联系是由蛋白质分子调节实现的。

1. 肝组织蛋白质组改变与物质代谢

(1) 蛋白质合成障碍:肝脏是蛋白质代谢最重要的器官,处于蛋白质、氨基酸的中心地位。模型大鼠肝纤维化时,抑制蛋白质合成的过氯酸可溶性蛋白质^[3-4]大量增加,提示了肝纤维化形成过程中肝内的机体所必需蛋白质合成受阻,出现蛋白质营养障碍,大鼠体重下降,肌肉萎软。但由于纤维化肝组织中的异常蛋白质较正常组明显增加,以致组织蛋白质总量的不变甚至比正常肝组织蛋白质含量高。Lopez - Lirola A, 等人运用CCl₄诱导成年雄性SD大鼠肝硬化,也证实肌肉萎软与蛋白质营养缺乏有关^[5]。

(2) 脂肪代谢改变:在模型大鼠肝组织蛋白质

组检测到了磷脂酰肌醇转移蛋白酶(PITP),正常大鼠肝组织中未检测到此酶。Schroeder F, Zhou M 的研究证明了缺乏此酶导致肝肠脂肪变性^[6]。本实验在肝纤维化大鼠肝细胞脂肪变性的情况下,检测到了磷脂酰肌醇转移蛋白酶(PITP),根据这个结果,我们推测在肝细胞脂肪变性时,能导致磷脂酰肌醇转移蛋白酶的反应性增高,加速脂肪代谢。

(3) 糖代谢改变:肝脏是糖类储存和适当分布的中心部位,也是维持血糖浓度相对稳定的重要器官,糖酵解是肝维持糖代谢的途径之一。磷酸甘油酸激酶是细胞质的ATP产生糖分解的一个关键酶^[7],含量在肝组织缺氧时明显增高^[8],其在模型组表达较正常组增高,在肝纤维化过程中,由于细胞的增生导致了组织缺氧,糖酵解活动的增强,显示了肝组织间质细胞过度增生,耗氧量增加导致肝组织的缺氧。

2. 肝组织蛋白质组改变与神经内分泌功能

我们在模型大鼠肝组织中检测到了几个与神经内分泌相关的蛋白质。

(1) 神经方面改变:肝脏是儿茶酚胺类物质和生物胺的靶器官,肝纤维化模型大鼠肝组织中检测到儿茶酚-邻-甲基转移酶,COMT是与儿茶酚胺降解相关的酶^[9]。它的含量变化与情绪改变相关^[10-11]。儿茶酚-邻-甲基转移酶只在CCl₄诱导的大鼠肝纤维化模型组的第4周表达,其它时间点均消失,提示肝纤维化过程中随着肝损伤加重,对儿茶酚胺类物质降解能力下降,导致肝或血中的儿茶酚胺类物质浓度增高,导致神经兴奋,出现情绪激动易怒。非粘附性细胞蛋白质(NAC-1 protein),这是一种在哺乳动物脑内表达POZ/BTB蛋白,位于脑组织神经元细胞核内,可调节与可卡因相关的动物行为^[12-14],其表达受到情绪、行为的调节,但没有查到在肝组织中表达的资料。这个蛋白质特异性地在模型组大鼠肝组织中的表达,与之相应的改变是脑对外界事物反应降低,出现情志的改变。

(2) 内分泌与生殖:在大鼠肝组织中检测到几个与生殖机能相关蛋白质的改变。儿茶酚-邻-甲基转移酶功能多态性(COMT; VAL - -> MET)与

乳腺造影密度增高及其乳腺癌危险因素有密切关系^[15]。在哺乳动物精子的形成过程中组蛋白起了特殊的作用,而组蛋白伴侣相关因子与转录启动因子(TFIID)最大亚基的溴域反应,TFIID在睾丸和其它含增殖细胞的组织中高度表达,提示了它参与了哺乳动物精子的形成^[16]。雌激素转磺酶亚型-6在子宫和胎盘晚期妊娠期活性增强,有重要的生物学意义^[17],运用Northern blot方法只在雄性大鼠肝细胞液上检测到了雌激素转磺酶亚型6的cDNA,而在雌性大鼠肝细胞液没检测到相应的cDNA,表示了雌激素转磺酶亚型6选择性地雄性大鼠中表达^[18],在雌激素新陈代谢中发挥着重要作用。

本实验中雌激素转磺酶亚型6在模型大鼠肝组织中表达较正常大鼠下降,提示了模型组大鼠生殖机能改变的潜在因素。

3. 肝与他脏的生理病理联系

五脏之间的关系非常密切,清·张志聪在《侣山堂类辨·草木不凋论》:“五脏之气,皆相贯通”。人体内大多数营养物质代谢在肝内完成,在诸多同机体结构与功能相关的生命物质生成和分解及进入人体后的物质转化和处理过程中都起了极其重要的作用,因而,肝脏的功能状态及疾病必然与全身器官、系统功能紧密相关并相互影响。从我们的实验结果来看,CCl₄诱导大鼠肝纤维化,肝的病理改变涉及了多个功能的变化。从大鼠生命现象的整体观察,在肝纤维化大鼠表现了①脾胃运化改变:脾为后天之本,气血生化之源,人体所需和营养物质都与脾胃的运化有关。CCl₄模型大鼠体重明显下降,大便稀,脱毛,蛋白质合成下降,肝组织蛋白质组也显示了与蛋白质合成、脂肪转运、糖代谢相关的蛋白质分子的表达改变,提示了肝失疏泄不能助脾运化,而致物质代谢的紊乱。②情绪方面:尽管情绪情志活动是大脑的功能,也就是“神明之心”的功能,但情绪的正常表现与肝主疏泄,调畅情志有密切的关系。CCl₄模型大鼠在情绪表现为易惊易怒,在肝组织蛋白质中检测出了脑组织结构蛋白质的NAC-1和儿茶酚-邻-甲基转移酶,这个结果显示了肝主疏泄,对情绪方面的调节。③生殖方面:肝

主疏泄,肾主生殖,肝肾相反相成,互动互制从而保证并调节人体的生殖机能正常,故肝的功能状态又直接或间接地影响到肾精、乳房的生化及生理活动的正常进行,肝失疏泄,则可导致情志和生殖功能的改变。在我们的实验结果,肝组织中表达的这类与神经内分泌相关的蛋白质是肝主疏泄,调畅情志、与生殖相关的物质基础,而它们的异常表达是否成肝失疏泄的潜在原因有待于进一步研究。据此,我们提出肝主疏泄与神经内分泌活动密切相关,特别是儿茶酚-邻-甲基转移酶的功能多态性,它的表达既与情绪改变有关,也与乳房病变相关,更是提示了肝主疏泄与胺类神经递质的关系,这应引起我们的注意。

参考文献

- 1 Liu P, Hu Y, Liu C et al Effects of salviainolic acid A (SA-A) on liver injury: SA-A action on hepatic peroxidation[J]. Liver 2001 Dec; 21(6): 384 ~ 390.
- 2 Sandra Steiner. Proteomics to display lovastatin-induced protein and pathway regulation in rat liver [J]. Electrophoresis 2000; 21(14): 2129 ~ 2137.
- 3 Oka T, Tsuji H, et, al. Isolation and characterization of a novel perchloric acid-soluble protein inhibiting cell-free protein synthesis. J Biol Chem. 1995 Dec 15; 270(50): 30060 ~ 30067.
- 4 Kanouchi H, Tachibana H. Recombinant expression of perchloric acid-soluble protein reduces cell proliferation. Cell Mol Life Sci. 2001 Aug; 58(9): 1340 ~ 1343.
- 5 Gonzalez-Reimers E, et, al. Protein deficiency and muscle damage in carbon tetrachloride induced liver cirrhosis. Lopez-Lirio A, Food Chem Toxicol. 2003 Dec; 41(12): 1789 ~ 1797.
- 6 Alb JG Jr, Cortese JD, et, al. Mice lacking phosphatidylinositol transfer protein-alpha exhibit spinocerebellar degeneration, intestinal and hepatic steatosis, and hypoglycemia. J Biol Chem. 2003 Aug 29; 278(35): 33501 ~ 33518. Epub 2003 Jun 04.
- 7 Myre MA, O'Day DH. Calmodulin binds to and inhibits the activity of phosphoglycerate kinase. Biochim Biophys Acta. 2004 Sep 17; 1693(3): 177 ~ 183.
- 8 Gao L, Mejias R, Echevarria M. Induction of the glucose-6-phosphate dehydrogenase gene expression by chronic hypoxia in PC12 cells. FEBS Lett. 2004 Jul 2; 569(1-3): 256 ~ 260.

(下转第22页)

液中没有发现新成分的产生。但发现化学成分含量的变化较为普遍和明显。两药配伍后,合煎液与单煎混合液相比,其 HPLC 谱图中大部分峰的峰高变化不明显,而峰高发生显著变化的峰分别是对应于保留时间为 15min 和 20min 的两个峰。我们利用柱层析、制备 TLC 等分离纯化,并鉴定了两个化合物分别为苯甲酸和丹酚酸 B。试验结果表明中药配伍后的化学成分不同于单味药化学成分简单加和,而是在配伍后共煎煮过程中发生了化学成分的变化,各成分间由此产生不同于单味药化学成分简单加和的相互比例和各自的浓度范围。在此基础上,对包含丹参-赤芍药对的更深入的复方化学成分研究,有可能从本质上阐明复方作用的物质基础,进而探示中药方剂配伍的科学内涵。

参考文献

- 1 罗国安,王义明,饶毅. 中药中成药现代化进程. 中成药,2000, 22 (1):71.
- 2 甘师俊,李振吉,邹健强. 中药现代化发展战略[M]. 北京:科学技术文献出版社,1998: 36.
- 3 胡之璧. 中药研究与开发综述[M]. 北京:科学出版社,2000:45.
- 4 赵建荣,李晓玫. 中药复方物质基础研究的现状与进展. 中草药, 2003,34(11):963~966, 1010.
- 5 梁国刚. 中药复方化学研究方法的探讨. 中国中药杂志,1999, 24 (2):67~69.
- 6 吴迪,刘法锦,廖彩霞. 中药配伍对化学成分的影响. 中成药, 2003, 25(2):153~155.
- 7 苗明三,王智民. 对药的化学药理与临床[M]. 北京:军事医学科学出版社,2002.
- 8 胥庆华. 中药药对大全[M]. 北京:中国中医药出版社,2001.
- 9 耿建国,王代娣.《伤寒论》药对配伍规律与特点. 江苏中医,2000, 21(9):6~7.
- 10 朱丹妮,李志明,严永清,等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究一生脉散复方化学的研究(II). 中国中药杂志,1998, 23 (5):291~293.
- 11 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典 1995 年版 [M]. 62, 142.
- 12 中药辞海编辑委员会. 中药辞海 [M]. 北京:中国医药科技出版社,2000. Vol 1: 37~42; Vol 1:1204~1219.
- 13 戚心广. 丹参、赤芍对实验性肝损伤肝细胞保护作用的机理研究. 中西医结合杂志,1991, 11(2):102~104.
- 14 覃桂成,刘小红,邓秋媚,等. 丹参赤芍酒精浸液外敷消除静滴甘露醇引起疼痛的护理与体会. 现代护理,2002, 8(1):60.
- 15 Li-Min Zhao, Xiao-Tian Liang and Lian-Niang Li. Prionitides A and B, two phenolic glycosides from *Salvia prionitis*. Phytochemistry, 2003, 42(3): 899~901.
- 16 金昌东,徐国钧,金蓉鸾,等. 反相 HPLC 法测定 13 种芍药根中甙类和苯甲酸的含量. 中国药科大学学报,1989, 20(3): 139~142.

(责任编辑:刘维杰)

(上接第 17 页)

- 9 Zubieta JK, Heitzeg MM, COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. Science. 2003 Feb 21; 299 (5610): 1240~1243.
- 10 Shulman R, Griffiths J. Catechol-O-methyl transferase activity in patients with depressive illness and anxiety states. Br J Psychiatry. 1978 Feb; 132: 133~138.
- 11 Mathew RJ, Ho BT. Catechol-O-methyltransferase and catecholamines in anxiety and relaxation. Psychiatry Res. 1980 Sep; 3(1): 85~91.
- 12 Korutla L, Neustadter JH, et. al. NAC-1, a POZ/BTB protein present in the adult mammalian brain, triggers apoptosis after adenovirus-mediated overexpression in PC-12 cells. Neurosci Res. 2003 May; 46 (1): 33~39.
- 13 Kalivas PW, Duffy P, et. al. Interrupted expression of NAC-1 augments the behavioral responses to cocaine. Synapse. 1999 Aug; 33 (2): 153~159.
- 14 Mackler SA, Korutla L, et. al. NAC-1 is a brain POZ/BTB protein that can prevent cocaine-induced sensitization in the rat. J Neurosci. 2000 Aug 15; 20(16): 6210~6217.
- 15 Jiang H, Xie T, et. al. Human catechol-O-methyltransferase down-regulation by estradiol. Neuropharmacology. 2003 Dec; 45 (7): 1011~1018.
- 16 Umehara T, Horikoshi M. Transcription initiation factor IID-interactive histone chaperone CIA-II implicated in mammalian spermatogenesis. J Biol Chem. 2003 Sep 12; 278(37): 35660~35667. Epub 2003 Jul 02.
- 17 Lee YC, Komatsu Ket, et. al. Structural and functional characterization of estrogen sulfotransferase isoforms: distinct catalytic and high affinity binding activities. Mol Endocrinol. 1994 Dec; 8(12): 1627~1635.
- 18 Falany JL, Krasnykh V. Isolation and expression of an isoform of rat estrogen sulfotransferase. J Steroid Biochem Mol Biol. 1995 Jan; 52 (1): 35~44.

(责任编辑:许有玲)

22 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

ENGLISH ABSTRACTS

Assessment of International Competitiveness of Pharmaceutical Industry in China

*Mu Rongping and Wu Zhuoliang (Institute of Policy and Management Science,
Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100080)*

Starting with the status quo of the pharmaceutical industry in China this article makes a comprehensive assessment and analysis of the competitive strength, potential, environment and stance of China's pharmaceutical industry, drawing the conclusion that the country's moderate scale of pharmaceutical industry has become a vital factor which restrains its investment in R&D and its enhancement and development of the capabilities of technical innovation in pharmaceutical industry, and puts forward six key problems which should necessarily be solved in the improvement of international competitiveness of China's pharmaceutical industry.

Key Words: pharmaceutical industry, medical economy, assessment of competitiveness

Heightening Systematic Competitiveness of Modern TCM Industry by Management of Industrial Chain

Yan Xijun and Xue Huexi (Tasly Group Co. Ltd., Tianjin 300402)

This article generally presents the meanings of industrial Chain and its management and expounds the role of the management of industrial chain in heightening the systematic competitiveness of the industrial chain of modern TCM from three aspects, i. e., the global operation efficiency of TCM industry, the optimization of the structure of TCM industry and the ability of profiting and the competitiveness of TCM industry.

Key Words: management of industrial Chain, systematic competitiveness, modern TCM industry

Investigation of Protein Basis in Relationship between liver and Other Viscera via Hepatic Proteomic Change in Rats with Liver Fibrosis

*Liu Ying, Liu Ping, Hu Yiyang, Liu Cheng, Mu Yongping and Du Guangli
(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203)*

Objective To investigate the relationship between liver and other viscera in physiology and pathology by taking the rats with liver fibrosis CC14 for models so as to provide scientific basis for understanding the methodology concerning visceral state in the TCM theory of "testing viscera via the state of internal organs" and explore the material foundation of the concept of wholism in TCM. **Method** Rats Wistar are divided into two groups, normal and model at random. The rats in model group are subcutaneously injected with 40% CC14 – carbon tetrachloride – olive solution twice a week in successive 12 weeks and are observed for 4 weeks after stopping stimulation of them while the rats in normal group are injected with physiological saline instead of CC14. All the rats of the two groups are killed at the end of 4, 8, 12 and 18 weeks respectively and the pathological observation, hydroxyproline determination and proteome preparation of their liver

tissues are conducted step by step. 2 – dimensional electrophoresis and silver staining are made after the quantitiveness of protein and the spectra of protein obtained is analyzed by the 2 – DE software for image analysis. More than 30 proteins with differential expression have been identified by the method of MALDI – TOF – MS. Result (1) Rats with liver fibrosis due to the injection of CCl₄ assume the general reflection of their biological activities, such as the decrease in weight and activity; (2) There exists disturbance of protein synthesis and the metabolism of matters in the process of liver fibrosis; (3) The result of mass spectra due to the change of proteome shows that proteins related to the metabolism of matters, such as perchloric acid soluble protein, phosphatidylinositol transfer protein, phosphoglycerate kinase and ER – 60 protease and protein molecules related to neuroendocrine, such as catechol – O – methyltransferase, estrogen sulfotransferase isoform 6, transcription initiation factor TFIID 28 KD2 subunit and NAC – 1 protein are identified in the differentially expressed proteins of the liver tissues of the rats with liver fibrosis and the normal ones. Conclusion Protein molecules constitute the material foundation on which liver links to the functions and pathology of other viscera. Liver fibrosis represents a process of generally pathological change which refers to multiple functions. The material foundation which brings about the change of the whole functions of organs, however, is protein molecules.

Key Words: liver fibrosis, display of protein differentiation, relationship between the five internal organs, physiological and pathological relations

Study on Dynamic Change of Chemical Components

Salvia miltiorrhiza Bunge and *Paeonia lactiflora* Pall in Their Compatibility of

Huang Hao, Zhou Lin and Jiang Biao

(Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

This article presents the study by means of HPLC of the change of chemical components of both the decoctions made by *Salvia miltiorrhiza* Bunge and *Paeonia lactiflora* Pall together at different rate of the two medicinal herbs and those mixed by the liquids prepared by the two respectively, emphasizing the dynamic change of chemical components of the decoctions, which occurs from the co – decoction of the two medicinal herbs, isolating and identifying the chemical components with noted changes by modern scientific and technical ways and means and summarizing the relationship between the dynamic change of chemical components of the decoctions and the rate of compatibility of different medicinal materials.

Key Words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *Paeonia lactiflora* Pall, co – decoction, a decoction mixed by decoctions made of different medicinal materials respectively, chemical component, dynamic change

Study of Correlationship between Calcium Antagonism and Protection of Optic Nerves in Traditional Chinese Medicine

Zhang Yi, Meng Xianli, Sheng Yanmei (Chengdu Institute of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610083)

Long Yi, Zhang Jing and Duan Junguo

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610083)