

## 四逆散加味抗大鼠肝纤维化作用机制

尚立芝, 王付\*, 苗小玲, 张慧娜, 甘陈菲

(河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** **目的:**探讨四逆散加味对肝纤维化的防治作用机制。**方法:**80只Wister大鼠随机分为8组:正常对照组、病理模型组、四逆散组、四逆散加味高、中、低剂量组、四逆散预防组。除正常对照组外,其余各组均采用猪血清ip诱发肝纤维化,0.5 mL/只,2次/周,连续10周,5周后即可形成肝纤维化。预防组于造模同时给药(以四逆散加味 $7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),各治疗组于造模第6周给药,连续4周。四逆散组 $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,四逆散加味高、中、低剂量组( $14, 7, 3.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。采用酸性水解法检测肝组织羟脯氨酸(HYP)含量;放射免疫法(RIA)检测肝组织白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )含量;原位杂交、免疫组化法分别检测肝组织转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )和 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)mRNA与蛋白表达。**结果:**与模型组比较,四逆散加味中剂量组大鼠肝组织羟脯氨酸( $478.32 \pm 42.35$ ) vs ( $327.09 \pm 39.41$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $P < 0.01$ ; IL-1( $0.58 \pm 0.89$ ) vs ( $0.35 \pm 0.47$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ); TNF- $\alpha$ ( $4.82 \pm 0.49$ ) vs ( $4.21 \pm 0.45$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ ),含量均显著降低, TGF- $\beta_1$  mRNA ( $9.92 \pm 2.57$ ) vs ( $5.27 \pm 1.39$ ), ( $P < 0.01$ )和 $\alpha$ -SMA mRNA ( $12.87 \pm 0.39$ ) vs ( $6.33 \pm 0.72$ ), ( $P < 0.01$ )及其蛋白表达显著减弱(均 $P < 0.01$ )。**结论:**四逆散加味有明显的抗肝纤维化作用,其机制可能与抑制TGF- $\beta_1$ 和 $\alpha$ -SMA基因表达有关。

**[关键词]** 四逆散; 肝纤维化; 转化生长因子- $\beta_1$ ;  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0194-05

## Effects and Mechanism of Supplemental Sini San on Hepatic Fibrosis in Rats

SHANG Li-zhi, WANG Fu\*, MIAO Xiao-ling, ZHANG Hui-na, GAN Chen-fei

(Department of Physiology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the protective effects and its mechanism of Supplemental Sini San (SNS) on hepatic fibrosis in rats. **Method:** The immunohepatic fibrosis model was induced by intraperitoneal injection of porcine serum. Eighty Wister rats were divided into eight groups: normal control, model control, Sini San Jiawei (SNSJW) high-dose, mediate-dose and low-dose, prevention and SNS group. Except the normal control groups, all the other groups were injected with pig's serum without inactivation into abdominal cavity, twice per week and 0.5 mL each time, persisting for 10 weeks. The prevention groups were orally given with the medicines (SNSJW  $7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 10 weeks) at the same time models was duplicated, the other treatment groups were dealt with just as the prevention groups 6 weeks later, lasted for 4 weeks. The dose was following: SNS group  $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , SNSJW high-dose group  $14\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , mediate-dose group  $7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , low-dose group  $3.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The changes of hepatic fibrosis were detected. The content of liver tissue interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) were tested by RIA. In situ hybridization assay and immunohistochemical S-P method were used to detect the expression of transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) mRNA and  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) mRNA and there protein in hepatic fibrosis tissues. **Result:** Compared with model group in SNSJW mediate-dose group, the content of HYP, IL-1, TNF- $\alpha$  in liver tissue was depressed significantly, the expression of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA genes was significantly lower in SNSJW mediate-dose group. **Conclusion:** Supplemental SNS

**[收稿日期]** 20111125(021)

**[基金项目]** 河南省科学技术厅科技攻关项目(0424420047);郑州市科技领军人才项目(112PLJRC360)

**[第一作者]** 尚立芝,副教授,从事经方配伍及基础研究, E-mail: lzshang2001@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \*王付,教授,从事经方配伍及临床应用研究, E-mail: wfwf2088@yahoo.cn

has an action on hepatic fibrosis in rats. The mechanism is related with its inhibiting the expression of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA genes in rats liver.

[Key words] Sini San; liver fibrosis; transforming growth factor- $\beta_1$ ;  $\alpha$ -smooth muscle actin

肝纤维化的实质是细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)的合成与降解失衡,导致 ECM 在肝内过量沉积。中医学认为,肝纤维化的成因在于肝气不畅,经脉郁滞,脾气虚弱,正气不足所致。本课题组前期临床和动物实验研究结果均显示:四逆散加味能显著提高肝纤维化患者和动物模型的肝功能、降低肝纤维化指标、改善肝组织结构<sup>[1-4]</sup>,但其作用机制不明。本研究制备大鼠猪血清复制免疫损伤性肝纤维化模型,用四逆散加味处理,观察参与肝纤维化的细胞因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)的含量变化,以及对反映肝星状细胞(hepatocellular stellate cell, HSC)活化程度的转化生长因子(transforming growth factor, TGF- $\beta_1$ )和  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)基因表达的影响,探讨四逆散加味对肝纤维化的防治作用机制。

## 1 材料

**1.1 药物** 四逆散方由柴胡、芍药、枳实、炙甘草(各 10 g)组成。四逆散加味方药由柴胡、芍药、枳实、炙甘草、人参、白术、茯苓、鳖甲(各 10 g)、穿山甲 5 g 组成。上述药物均购自河南中医学院第三附属医院,并经中药教研室鉴定。分别经水煎并浓缩,4 °C 冰箱封闭备用。四逆散加味煎煮方法:先把柴胡放入园底烧瓶内浸泡 1 h,然后用电热套,挥发油提取器加热提取芳香液,提取完毕后把剩余药汁与四逆散加味(不含柴胡)同煎,经煎煮浓缩后与芳香液混合。

**1.2 试剂与仪器** 检测肝组织 IL-1 和 TNF- $\alpha$ (编号 1013,1019)放免试剂盒,HYP(酸水解法)试剂盒(A030-3),均为南京建成生物工程研究所产品(A030-3)。兔抗大鼠 TGF- $\beta_1$  一抗(武汉 BOSTER 公司产品,BA0290)、 $\alpha$ -SMA 兔抗大鼠一抗(上海江莱生物科技有限公司产品,bs-0189R),原位杂交试剂盒 TGF- $\beta_1$ (武汉 BOSTER 公司产品,MK1065)和  $\alpha$ -SMA(华拓生物科技有限公司产品,PL04m1304)。SABC 免疫组化染色试剂盒(SA1025)和 DAB 显色试剂盒(ED1022)均为武汉博士德生物工程有限公司产品。FA/JA 电子天平(上海精密科学仪器有限公司),TGL-16GA 低温高速离心机(上海安亭仪器厂),L-200 型 1/万精密分析天平(日本,岛津),SN-

695 型智能放射免疫测量仪(上海光辐射仪器有限公司);VIS-7220 型分光光度仪(北京第二光学仪器厂),U-CMAD3 型显微镜、显微摄像机(Olympus,日本)等。

**1.3 动物** Wistar 大鼠由郑州大学河南医学院实验动物中心提供。选用 6 月龄雄性 Wistar 大鼠 80 只,清洁级,体质量(300 ± 20)g,实验动物许可证号 SCXK(豫)2010-0001。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 将 80 只雄性 Wistar 大鼠随机分为 7 组:正常对照组,模型组,四逆散组,加味四逆散高、中、低剂量组,加味四逆散预防组,每组 10 只。

**2.2 模型制备与给药** 参考文献[5]方法制备模型。除正常组外,其余各组均用猪血清复制免疫损伤性肝纤维化模型。用未灭活猪血清 ip,每次 0.5 mL/只,2 次/周,连续 10 周,5 周后即可形成肝纤维化。预防组于造模同时给药,每天下午 6:00 ig 1 次,以四逆散加味 7 g·kg<sup>-1</sup>连续 10 周。各治疗组于造模周给药,每天下午 6:00 ig 1 次,四逆散治疗对照组剂量(4 g·kg<sup>-1</sup>),四逆散加味治疗高、中、低剂量组剂量(14,7,3.5 g·kg<sup>-1</sup>),模型组给予等量的生理盐水 ig,至第 10 周结束。

**2.3 取材与标本制作** 所有动物处死前 12 h 禁食,不禁水。水合氯醛腹腔麻醉,剖腹,立即于肝脏固定部位取肝组织称重后,放入冰浴后的生理盐水,置于冰浴中的组织匀浆器中制成 10% 的肝匀浆,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 15 min,全部分离过程在 0~4 °C 下进行。取上清液,置于 -20 °C 冰箱保存待测。放射免疫法测定肝组织匀浆中 IL-1, TNF- $\alpha$  的含量<sup>[6]</sup>。另固定部位取肝组织 1 g,采用酸性水解法检测肝组织羟脯氨酸(HYP)含量,按试剂盒说明书操作进行。并取新鲜肝组织左叶 2.5 cm × 2 cm × 0.5 cm,各组取材部位基本一致,福尔马林固定 12 h,常规包埋、切片。厚 7  $\mu$ m 切片用于 HE 染色、厚 4  $\mu$ m 切片用于原位杂交和免疫组化检测。

**2.4 免疫组化 S-P 法检测** 检测 TGF- $\beta_1$  和  $\alpha$ -SMA 蛋白表达主要步骤石蜡切片常规脱蜡至水;3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温 10 min 阻断内源性过氧化物酶;羊血清封闭室温 20 min;加第一抗工作液(TGF- $\beta_1$ ,  $\alpha$ -SMA 稀释度均为 1:100),4 °C 孵育过夜;加生物素化二

抗工作液, 37 °C 湿盒孵育 20 min; 加链霉亲和素-过氧化物酶复合物 37 °C 湿盒孵育 20 min; DAB 显色, 苏木素复染。用已知阳性的肝细胞 CCl<sub>4</sub> 中毒组织切片作为阳性对照, 以 PBS 替代一抗作空白对照。

**2.5 原位杂交检测** TGF-β<sub>1</sub> mRNA 和 α-SMA mRNA 原位表达主要步骤 ①石蜡切片常规脱蜡至水, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温 10 min 阻断内源性过氧化物酶。②暴露 mRNA 核酸片段: 加 3% 柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶(1 mL 3% 柠檬酸加 2 滴浓缩型胃蛋白酶, 混匀), 37 °C 消化 30 min。③预杂交: 加预杂交液, 恒温箱湿盒内 38 ~ 40 °C 3 h。④杂交: 加杂交液, 盖原位杂交专用盖玻片, 恒温箱 40 °C 杂交过夜。⑤杂交后洗涤: 揭掉盖玻片, 37 °C 水浴锅中 SSC 梯度漂洗后加封闭液。⑥加 SABC 及显色剂, 苏木素复染。

**2.6 结果判断** 所有切片均以有棕黄色颗粒为阳性表达; 以不着色为阴性。每张切片随即选取 10 个高倍视野(×400), 采用 OlympusGX51 全自动图像分析系统, 检测阳性染色吸光度(A), 取平均值进行分析。

**2.7 统计学处理** 计量资料数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间均数比较采用方差分析, 组间两两均数比较采用 *t* 检验, 相关性检验用 Spearman 等级相关分析。数据处理在 SPSS 11.5 中进行统计, *P* < 0.05 为差

异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 大鼠一般情况** 实验结束时, 正常组一般状况好, 无死亡。模型组体重较造模前下降或略有增加, 死亡 2 只。四逆散组死亡 1 只, 四逆散加味高、中、低剂量组大鼠体重增加, 高、低剂量组各死亡 1 只。

**3.2 肝组织中 HYP, IL-1, TNF-α 含量的变化** 与模型组比较四逆散中剂量、预防组 IL-1 (*P* < 0.05), TNF-α (*P* < 0.05) 和 HYP (*P* < 0.01) 含量均显著降低(表 1)。经 Spearman 等级相关分析, 四逆散中剂量组 IL-1 与 TNF-α 呈显著正相关( $r_s = 0.687$ , *P* = 0.000); HYP 与 TNF-α 呈显著正相关( $r_s = 0.752$ , *P* = 0.000); HYP 与 IL-1 呈显著正相关( $r_s = 0.657$ , *P* = 0.000)。见表 1。

### 3.3 TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 基因表达

**3.3.1 TGF-β<sub>1</sub> mRNA 和 α-SMA mRNA 表达** TGF-β<sub>1</sub> mRNA 和 α-SMA mRNA 阳性信号均位于细胞浆, 呈棕黄色。TGF-β<sub>1</sub> mRNA 阳性细胞主要位于小叶中央及肝纤维间隔内。α-SMA mRNA 阳性细胞主要位于汇管区及纤维间隔, 与模型组比较, 正常组杂交信号表达显著减弱(*P* < 0.01); 四逆散高、中剂量、预防组 TGF-β<sub>1</sub> mRNA 和 α-SMA mRNA 表达较模型组显著减弱(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01), 见表 2。

表 1 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝组织匀浆 IL-1, TNF-α 和 HYP 含量的变化( $\bar{x} \pm s$ )

μg·L<sup>-1</sup>

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-1	TNF-α	HYP
正常	10	-	0.25 ± 0.59 <sup>1)</sup>	2.73 ± 0.56 <sup>2)</sup>	236.45 ± 12.69 <sup>2)</sup>
模型	8	-	0.58 ± 0.89	4.82 ± 0.49	478.32 ± 42.35
四逆散	9	4	0.52 ± 0.39	4.55 ± 0.31	360.35 ± 17.39 <sup>1)</sup>
四逆散加味	9	14	0.28 ± 0.35 <sup>1)</sup>	4.08 ± 0.21 <sup>1)</sup>	350.37 ± 32.01 <sup>1)</sup>
	10	7	0.35 ± 0.47 <sup>1)</sup>	4.21 ± 0.45 <sup>1)</sup>	327.09 ± 39.41 <sup>2)</sup>
	9	3.5	0.51 ± 0.42	4.29 ± 0.31	347.15 ± 39.01 <sup>1)</sup>
四逆散加味预防	10	7	0.32 ± 0.28 <sup>1)</sup>	3.60 ± 0.46 <sup>1)</sup>	298.35 ± 39.43 <sup>2)</sup>

注: 与模型组比较, <sup>1)</sup>*P* < 0.05, <sup>2)</sup>*P* < 0.01(表 2 同)。

表 2 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝组织 TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 基因和蛋白表达强度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TGF-β <sub>1</sub> mRNA	TGF-β <sub>1</sub> 蛋白	α-SMA mRNA	α-SMA 蛋白
正常	10	-	0.84 ± 0.51 <sup>2)</sup>	0.75 ± 0.25 <sup>2)</sup>	3.57 ± 0.52 <sup>2)</sup>	3.32 ± 0.64 <sup>1)</sup>
模型	8	-	9.92 ± 2.57	8.67 ± 0.64	12.87 ± 0.39	10.55 ± 0.34
四逆散	9	4	8.62 ± 0.11	7.23 ± 1.38	7.59 ± 0.42	7.04 ± 0.55
四逆散加味	9	14	5.48 ± 2.31 <sup>1)</sup>	5.37 ± 3.46 <sup>1)</sup>	6.29 ± 0.13 <sup>2)</sup>	6.18 ± 0.32 <sup>1)</sup>
	10	7	5.27 ± 1.39 <sup>1)</sup>	5.19 ± 2.33 <sup>1)</sup>	6.33 ± 0.72 <sup>2)</sup>	6.21 ± 0.78 <sup>2)</sup>
	9	3.5	8.21 ± 0.49	7.17 ± 3.28	6.15 ± 0.33	6.05 ± 0.34
四逆散加味预防	10	7	5.16 ± 0.36 <sup>1)</sup>	4.89 ± 0.34 <sup>1)</sup>	6.32 ± 0.52 <sup>1)</sup>	6.75 ± 0.58 <sup>1)</sup>

**3.3.2 TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 蛋白表达** TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 蛋白阳性信号均位于细胞浆, 少量胞浆与胞

核共染, 呈棕黄色。与模型组比较, 正常组阳性信号表达显著减弱(*P* < 0.01); 四逆散高、中剂量、预防

组 TGF- $\beta_1$  蛋白和  $\alpha$ -SMA 蛋白表达较模型组显著减弱 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ) 见表 2。

**3.3.3 TGF- $\beta_1$  与  $\alpha$ -SMA 基因表达的相关性** 应用非参数 Spearman 等级相关分析,对 TGF- $\beta_1$  与  $\alpha$ -SMA 基因表达强度的相关性在模型组、各治疗组中分别进行分析,结果显示:在模型组、各治疗组中 TGF- $\beta_1$  mRNA 与 TGF- $\beta_1$  蛋白表达呈正相关 ( $r_s = 0.679, P = 0.000$ ),  $\alpha$ -SMA mRNA 表达与  $\alpha$ -SMA 蛋白表达呈正相关 ( $r_s = 0.784, P = 0.000$ ), TGF- $\beta_1$  蛋白与  $\alpha$ -SMA 蛋白表达亦呈正相关 ( $r_s = 0.653, P = 0.000$ )。

**3.4 肝组织中 HYP, IL-1, TNF- $\alpha$  含量与 TGF- $\beta_1$  与  $\alpha$ -SMA 基因表达的相关性** 经 Spearman 等级相关分析,四逆散中剂量组 TGF- $\beta_1$  蛋白表达强度与 HYP ( $r_s = 0.578, P = 0.000$ ), IL-1 ( $r_s = 0.781, P = 0.000$ ), TNF- $\alpha$  ( $r_s = 0.643, P = 0.000$ ) 含量均呈显著正相关;  $\alpha$ -SMA 蛋白表达与 HYP ( $r_s = 0.534, P = 0.000$ ), IL-1 ( $r_s = 0.681, P = 0.000$ )。TNF- $\alpha$  ( $r_s = 0.583, P = 0.000$ ) 含量均呈显著正相关。

## 4 讨论

**4.1 四逆散加味对肝组织 HYP 的影响及其意义** 肝纤维化的实质是细胞外基质的过度沉积。肝脏胶原纤维是反映肝纤维化的客观指标,胶原中 HYP 含量最高,测定肝组织中 HYP 的含量可反映肝损伤和肝纤维化的程度,在肝纤维化的诊断中有重要意义<sup>[7-8]</sup>。本结果显示:与模型组比较,四逆散加味中剂量、预防组 HYP 的含量均显著降低 ( $P < 0.01$ ),提示四逆散加味中剂量、预防组均具有良好的防治肝纤维化作用。

**4.2 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝组织匀浆中 IL-1, TNF- $\alpha$  及 TGF- $\beta_1$  和  $\alpha$ -SMA 基因表达的影响及其意义** HSC 的活化是肝纤维化的基础。慢性肝损伤过程中, HSC 在氧化应激、炎症介质、细胞因子和细胞外基质的改变等多种因素刺激下被激活,同时肝细胞、Kupffer 细胞、内皮细胞、HSC 等可分泌多种细胞因子,如 TGF, TNF- $\alpha$ , IL-1 等,其中 TGF- $\beta_1$  在肝纤维化过程中起核心作用<sup>[9]</sup>。多种细胞因子与活化的 HSC 受体结合,通过信号转导使 HSC 进一步活化、增殖与迁移<sup>[10]</sup>。活化的 HSC 表达具有收缩功能的  $\alpha$ -SMA,  $\alpha$ -SMA 的表达成为 HSC 活化的标志物<sup>[11]</sup>。同时活化的 HSC 产生大量的以 I, III 型胶原纤维为主的 ECM, ECM 过度沉积于细胞外。本实验结果显示,与模型组比较,四逆散中剂量、预防组 IL-1 ( $P < 0.05$ ) 和 TNF- $\alpha$  ( $P < 0.05$ ) 含量均显著降

低。与模型组比较,正常组 TGF- $\beta_1$  和  $\alpha$ -SMA 基因表达显著减弱 ( $P < 0.01$ ); 四逆散高、中剂量、预防组 TGF- $\beta_1$  和  $\alpha$ -SMA 基因表达显著减弱 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。对 TGF- $\beta_1$  与  $\alpha$ -SMA 基因表达强度的相关性进行分析,结果显示,在模型组、各治疗组中 TGF- $\beta_1$  mRNA 与 TGF- $\beta_1$  蛋白表达呈正相关 ( $r_s = 0.679, P = 0.000$ ),  $\alpha$ -SMA mRNA 表达与  $\alpha$ -SMA 蛋白表达呈正相关, TGF- $\beta_1$  蛋白与  $\alpha$ -SMA 蛋白表达亦呈正相关。四逆散中剂量组 TGF- $\beta_1$  蛋白表达强度与 HYP, IL-1, TNF- $\alpha$  含量均呈显著正相关;  $\alpha$ -SMA 蛋白表达与 HYP, IL-1, TNF- $\alpha$  含量均呈显著正相关。提示四逆散加味对肝纤维化具有显著地预防和治理作用,其机制可能与减少 IL-1 和 TNF- $\alpha$  的释放,抑制 HSC 的活化,在转录和翻译水平干预 HSC 中 TGF- $\beta_1$ ,  $\alpha$ -SMA 基因的表达有关。

四逆散加味方药由四逆散(柴胡、枳实、白芍、炙甘草)加人参、白术、茯苓、鳖甲、穿山甲而成。方药功效疏肝理气,健脾益气,软坚散结。本方依据“气行则血行,气滞则血瘀”,“正气存内,邪不可干”,从而在肝纤维化治疗方面以活血化瘀、疏肝解郁为主。方中柴胡疏肝理气,枳壳降泄浊气,白芍益血缓急,甘草益气缓急。加味人参、白术、茯苓健脾益气,生化气血,渗利祛邪,鳖甲、穿山甲软坚散结;与柴胡、枳壳、白芍、甘草相配伍,既疏肝又健脾,达到扶正祛邪之作用。其机制可能通过多种途径,其中与阻遏细胞因子 TNF- $\alpha$ , IL-1 分泌,抑制 TGF- $\beta_1$  和  $\alpha$ -SMA 基因表达有关,其详细机制有待进一步研究。

## [参考文献]

- [1] 王付. 经方临证答疑[M]. 北京:人民军医出版社, 2009:133.
- [2] 王付. 运用四逆散方证的若干问题[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10):289.
- [3] 王付. 四逆散合方辨治肝胆病证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 15(19):300.
- [4] 王付, 尚立芝, 苗小玲, 等. 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝功能、肝纤维化指标及病理变化作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5):164.
- [5] 都广礼, 刘平, 王磊, 等. 猪血清肝纤维化大鼠肝组织基质金属蛋白酶-9/13 和基质金属蛋白酶组织抑制因子-1/2 表达的动态变化及下瘀血汤对其影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11):48.
- [6] 韦大文, 尚立芝, 李沛, 等. 补肾方治疗去势雌鼠骨质疏松及其机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10):125.

# 玉郎伞黄酮对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化的影响

郭又嘉, 蒙明瑜, 焦杨, 陈红霞, 黄仁彬\*  
(广西医科大学药理学教研室, 南宁 530021)

**[摘要]** 目的:研究玉郎伞黄酮(YLSF)对四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)所致大鼠肝纤维化的治疗作用,并探讨其作用机制。方法:将SD大鼠随机分成模型组及空白对照组(NC),模型组以50% CCl<sub>4</sub>食用油溶液为诱导剂 ig 造模,NC组以生理盐水 ig。将病理检查确认形成肝纤维化的SD大鼠,随机分成模型对照组(MC)和药物干预组。药物干预组分别以YLSF(20, 40, 80 mg·kg<sup>-1</sup>)及秋水仙碱片(0.20 mg·kg<sup>-1</sup>) ig;MC组以等剂量生理盐水 ig。末次给药24 h后处死大鼠,采集血清及肝组织,检测大鼠血清中天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)活性,测定肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),并观察肝组织病理学改变。结果:YLSF(20, 40, 80 mg·kg<sup>-1</sup>)各剂量组大鼠血清中AST和ALT分别为(207.85 ± 101.72), (131.55 ± 35.09), (129.98 ± 37.21) U·L<sup>-1</sup>和(90.51 ± 44.24), (47.79 ± 16.11), (44.56 ± 16.31) U·L<sup>-1</sup>;YLSF各剂量组大鼠肝组织中SOD, MDA, GSH-Px, GSH含量分别为(143.14 ± 42.82), (146.53 ± 31.98), (147.41 ± 32.82) U·mg<sup>-1</sup>, (2.57 ± 0.54), (2.19 ± 0.57), (2.11 ± 0.59) nmol·mg<sup>-1</sup>, (463.55 ± 271.07), (659.14 ± 162.23), (752.08 ± 200.70) nmol·mg<sup>-1</sup>, (5.06 ± 1.09), (6.10 ± 0.97), (6.89 ± 0.98) nmol·mg<sup>-1</sup>。各剂量YLSF和阳性药能显著降低大鼠血清中AST( $P < 0.01$ )及肝组织MDA含量( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),并显著提高肝组织中SOD含量( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );中、高剂量YLSF和阳性药可降低大鼠血清中ALT水平( $P < 0.01$ ),显著升高大鼠肝组织GSH含量( $P < 0.01$ );中、高剂量YLSF能显著升高大鼠肝组织GSH-Px( $P < 0.01$ )。各剂量YLSF及阳性药均能够减轻肝细胞损伤程度( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结论:玉郎伞黄酮对CCl<sub>4</sub>诱导的大鼠具有一定治疗作用,其机制可能与其清除自由基、抑制脂质过氧化有关系。

**[关键词]** 玉郎伞; 黄酮; 肝纤维化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0198-05

## Effect of Yulangsan Flavonoids on Liver Fibrosis Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

GUO You-jia, MENG Ming-yu, JIAO Yang, CHENG Hong-xia, HUANG Ren-bin\*  
(Department of Pharmacology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**[收稿日期]** 20111121(013)

**[基金项目]** 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0630002-2A)

**[第一作者]** 郭又嘉, 硕士研究生, 从事生化药理学研究, Tel:0771-5339805, E-mail:lbhygyj@126.com

**[通讯作者]** \* 黄仁彬, 博士生导师, 从事生化药理学研究, Tel:0771-5339805, E-mail:huangrenbin518@163.com

[7] 毕红征, 杜春燕, 黄国钧. HG 颗粒对肝纤维化大鼠肝脏胶原纤维及羟脯氨酸含量的影响[J]. 郑州大学学报:医学版, 2007, 42(3):526.  
[8] 青献春, 刘丙辰, 裴香萍, 等. 软干散结胶囊抗大鼠肝纤维化实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16):149.  
[9] Luwor R B, Kaye A H, Zhu H J. Transforming growth factor-beta (TGF-beta) and brain tumours[J]. J Clin Neurosci, 2008, 15(8):845.

[10] March S, Graupera M, Rosa Sarrias M, et al. Identification and functional characterization of the hepatic stellate cell CD38 cell surface molecule[J]. Am J Pathol, 2007, 170:176.  
[11] Gressner A M, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets[J]. J Cell Mol Med, 2006, 10(1):76.

[责任编辑 聂淑琴]