

# 柴胡总皂苷预防大鼠肝纤维化效果的观察

★ 韩玲 (江西中医学院科技学院 南昌 330006)

关键词:柴胡皂苷;肝纤维化;大鼠;药理

中图分类号:R 285.5 文献标识码:A

肝纤维化是各种损伤因素作用于肝脏的结果,是发展为肝硬化前的可逆转阶段,甚至可发展为肝癌,但是临床仍然没有可靠有效的防治药物。目前认为肝纤维化的发生、发展与肝星状细胞的增殖、活化关系密切<sup>[1]</sup>。柴胡总皂苷是中药柴胡的提取物,研究证实具有诱导肿瘤细胞凋亡、抑制氧自由基产生及多种蛋白激酶活性、抑制金属蛋白酶分泌等作用<sup>[2]</sup>,本实验旨在观察不同剂量的柴胡总皂苷对大鼠肝纤维化的预防作用。

## 1 材料和方法

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 60 只,体重约 100 ~ 120 g 间,购自南昌大学医学部实验动物中心,于中药固体制剂制造技术国家研究工程中心药理室的动物房实验。

1.2 分组与给药 选择健康 SD 雄性大鼠 60 只,由南昌大学医学部的实验动物中心提供,普通级,喂养 3 d,体重(120 ± 20)g,每组 10 只,随机分为正常组(A 组)、模型组(B 组)、柴胡总皂苷高剂量(C 组,80 mg/kg)、中剂量(D 组,40 mg/kg)、低剂量组(E 组,20 mg/kg)、甘草甜素组(F 组,30 mg/kg)。正常组给予相同体积的生理盐水,其它各组给予药物,每天 1 次,连续 10 周。给药同时动物在饮用苯巴比妥溶液(35 ml/dl)2 周代水,2 周后以浓度 15%

四氯化碳植物油溶液腹腔注射,剂量为 0.75 ml/kg,首剂加倍。每周为星期一、三、五造模。

1.3 取材 10 周后末次给药后,禁食不禁水 12 h 后处死大鼠,制备血清采用眼眶后静脉丛取血的方法,用 3 000 r/min 离心 10 min 后取血清, -20 ℃ 冰冻保存备用;一部分肝左叶小块置于 10% 甲醛溶液中以备制作病理切片。

1.4 血清学检测 自动生化分析仪检测 ALT、AST,ELISA 方法检测 HA、PC-Ⅲ、TGF-β、TNF-α 等含量。

1.5 病理学检测 HE 染色:常规方法染色。

Masson 胶原染色:按照试剂盒说明书操作。按照肝纤维化半定量计分系统(SSS)方法<sup>[2]</sup>,对每组大鼠肝纤维化程度评分。得分越高,表示纤维化程度越重:最高 29 分,最低 0 分。

1.6 统计方法 使用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析。多组数据间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),进行方差齐性检验,若各组总体方差齐同,采用 Tukey(分组 > 5)检查;若各组总体方差不齐同,采用 Tamhane's T2 检验。P < 0.05 为差异具有显著性。

## 2 结果

2.1 血清指标检测结果 见表 1。

表 1 各组血清检测指标比较

|     | n  | ALT<br>/IU·L <sup>-1</sup> | AST<br>/IU·L <sup>-1</sup> | HA<br>/mg·L <sup>-1</sup> | PC-Ⅲ<br>/μg·L <sup>-1</sup> | TNF-α<br>/μg·L <sup>-1</sup> | TGF-β<br>/ng·L <sup>-1</sup> |
|-----|----|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 正常组 | 10 | 41.4 ± 8.7 *               | 333.8 ± 55.1 *             | 181.3 ± 40.9 *            | 0.18 ± 0.1 *                | 0.24 ± 0.07 *                | 0.18 ± 0.03 *                |
| 模型组 | 10 | 263.5 ± 72.5               | 555 ± 60.5                 | 476.4 ± 2.8               | 0.40 ± 0.2                  | 0.56 ± 0.04                  | 0.63 ± 0.08                  |
| 高剂量 | 10 | 91.0 ± 26.3 *              | 369.4 ± 60.3 *             | 215.1 ± 51.8 *            | 0.19 ± 0.1 *                | 0.26 ± 0.03 *                | 0.19 ± 0.01 *                |
| 中剂量 | 10 | 129.1 ± 35.3 *             | 383.1 ± 67.7 *             | 334.3 ± 70.2              | 0.31 ± 0.3                  | 0.43 ± 0.05                  | 0.41 ± 0.04 *                |
| 低剂量 | 10 | 173.1 ± 48.2 *             | 471.6 ± 73.0               | 347.7 ± 68.9              | 0.33 ± 0.02 *               | 0.55 ± 0.06 *                | 0.61 ± 0.08 *                |
| 甘甜组 | 10 | 87.5 ± 30.9 *              | 360.1 ± 70.8 *             | 189.7 ± 35.7 *            | 0.19 ± 0.3                  | 0.25 ± 0.03 *                | 0.17 ± 0.07 *                |

2.2 HE 染色 A 组肝组织结构清晰,肝细胞大小均匀,无变性、坏死,肝小叶结构存在,小叶内肝细胞索排列较整齐,偶见双核肝细胞;B 组肝细胞可见明显脂肪变性、气球样变性,多分布于界板周围,可见较多双核肝细胞,汇管区纤维组织明显增生,部分肝小叶结构仍存在;C 组与 F 组脂肪变性和气球样变性明显减轻,纤维组织增生不明显;D、E 组情况介于 A 组和 C 组之间。

2.3 Masson 胶原染色 显微镜下重点观察蓝色胶原纤维分布情况,A 组仅于血管周围可见少量蓝色纤维,细且短;B 组肝脏组织中纤维明显增多,分布广泛,可相互连接形成较粗大的纤维间隔,多位于汇管区和血管周围;C 组可见较细的蓝色纤维走行于血管周围,数量较正常组稍多;D、E 组纤维数量较 C 组增多,部分纤维粗大,亦多走行于血管周围;F 组介于 A 组与 C 组之间。

2.4 肝纤维化程度 SSS 计分结果 见表 1。

表 2 各组肝纤维化程度评分结果

|     | n  | 切片得分        |
|-----|----|-------------|
| 正常组 | 10 | 0.4 ± 0.7 * |
| 模型组 | 10 | 20.4 ± 3.3  |
| 高剂量 | 10 | 5.7 ± 1.8   |
| 中剂量 | 10 | 8.5 ± 3.3 * |
| 低剂量 | 10 | 9.5 ± 3.1 * |
| 甘甜组 | 10 | 4.9 ± 1.2 * |

### 3 讨论

肝纤维化是器官纤维化中最常见的,也是研究最广泛的一种。各种致病因素造成肝细胞损伤坏死,激活枯否细胞(KC),分泌多种细胞因子如 TGF-β、TNF-α、血小板衍生生长因子(PDGF)、白介素-1(IL-1)等,随同血小板、窦内皮细胞和肝细胞分泌的各种细胞因子及化学介质,共同作用于静息 HSC,使其激活、转化为肌成纤维细胞(MFB),通过自分泌和旁分泌使用使 HSC 增殖,并合成分泌大量细胞外基质(ECM),抑制 ECM 降解,最终造成纤维化<sup>[3]</sup>。因此在肝纤维化发病过程中,HSC 活化是关键环

节。通过抑制 HSC 增殖活化,诱导其凋亡都可能打断通路,逆转纤维化。

柴胡总皂苷为中药柴胡提取物,毒副作用小,长期使用没有明显的肝肾毒性,因此具有良好的临床应用前景。目前对其研究较多的是诱导肿瘤细胞凋亡的作用。近来有德国学者使用四氯化碳建立急性、亚急性肝损伤模型,观察到柴胡总皂苷可以降低肝脏酶学等血清血指标。另一项研究在体内和体外水平分别研究柴胡总皂苷与肝纤维化、HSC 的关系,结果发现,柴胡总皂苷在大鼠肝纤维化模型中可以明显改善纤维化程度,具有下调胶原 mRNA 合成,减少胶原沉积的作用;体外分离培养 HSC 实验发现柴胡总皂苷可以抑制 HSC 活化,Northern blot 证实细胞合成 I 型胶原减少。我国李平等在柴胡总皂苷抗肝纤维化的研究中同样证实该作用,但考虑其作用机制可能与抗脂质过氧化有关。我们前期研究发现:柴胡总皂苷可以抑制体外培养的大鼠 HSC 增殖,并可以诱导 HSC 凋亡,且具有量效关系。

本实验在以往工作的基础上,进一步证实:柴胡总皂苷可以改善四氯化碳所致的大鼠肝纤维化,具有量效关系;其作用机制可能与柴胡总皂苷抑制 HSC 活化、诱导 HSC 凋亡有关。但是,柴胡总皂苷具体通过何种途径抑制 HSC 的增殖、活化,诱导凋亡,分子生物学方面改变如何,在人体内是否具有和动物相同的作用等问题,仍待进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] Solis-Herruzo JA, delaTorreP, Munoz Yague MT. Hepatic stellate cells (HSC): architects of hepatic fibrosis [J]. Rev Esp Enferm Dig, 2003, 95: 438 - 439.
- [2] 曾民德,王泰龄,王宝恩. 肝纤维化诊断及疗效评估共识[J]. 肝脏, 2002, 7(2): 3 - 4.
- [3] Gabele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell [J]. Front Biosci, 2003, 8: 69 - 77.

(收稿日期:2008-10-20)

#### 征稿启事

《江西中医药》所设的重点栏目有《明医心鉴》、《滕王阁医话》等。《明医心鉴》以介绍名老中医经验和中医临证心得为主,重点刊载中医关于疑难病的诊疗经验,要求观点、方法新,经验独到。《滕王阁医话》主要反映中医教学、科研、临床的一得之见,要求以小见大,有感而文,语言生动流畅,可读性强,富于知识性、趣味性。