

同位素示踪法及图像分析法研究 利胆护肝合剂的作用机理*

俞 建 时毓民 曾纪骅 朱列伟 (上海医科大学儿科医院 200032)

摘 要 以异硫氰酸 α -萘酯造成大鼠黄疸型肝炎,并设立正常组、模型组、对照组,应用 ^{99m}Tc -EIDA 显像法研究利胆护肝合剂对大鼠肝脏摄取与排泌功能的影响;并采用图像分析技术定量研究中药合剂对肝组织损伤的保护作用。

关键词 利胆护肝合剂 大鼠肝炎模型 放射性核素显像 图像分析法

Investigation on the Mechanism of the Lidanhugan Mixture with Isotope Dynamic Tracing and Image Pattern Analyzing

Yu Jian, Shi Yumin, Zeng Jihua, Zhu Liewei

(Children's Hospital, Shanghai Medical University, 200032)

Abstract: The rat models with icteric hepatitis induced by α -Naphthylisothiocyanate, were divided into the normal model and therapeutic group. ^{99m}Tc -EIDA dynamic tracing was applied to study the influence of the lidanhugan mixture on the liver function of uptaking and excretion of the rats. The image pattern analytical sperometer was utilized to investigate the protective effect of the herbal mixture on the hepatic impairment of the rats.

Key words: Lidanhugan Mixture, rat model with hepatitis, isotope dynamic tracing, image pattern analysis

利胆护肝合剂在我院临床用于治疗婴儿肝炎综合征及小儿肝炎已有十余年历史,取得了较好的疗效。为探索利胆护肝合剂的作用机理,我们采用同位素示踪法及图像分析

法进行了动物实验研究,现报告如下。

1 材料与方

1.1 材料 (1)实验动物 SD 大鼠,♂性,普通级,体重 230g~270g,购自上海医科大

* 本课题系上海市卫生局 1993 年科研中标课题一部分,现已完成并通过验收。

学实验动物中心；(2) 异硫氰酸 α -萘酯 (Naphthylisothiocyanate, ANIT), 美国 Sigma 公司 (Lotoh0540)；(3) 利胆护肝合剂系本院中医科时毓民教授经验方, 主要成分: 茵陈、生大黄、生山栀、赤芍、黄芩、柴胡、茯苓等, 浓缩 4 倍, 10g 生药/ml, 由本院中药制剂室配制；(4) ^{99m}Tc -EIDA (邻位二乙基亚胺二醋酸), 上海医科大学红旗药厂。

1.2 方法

1.2.1 利胆护肝合剂对肝炎大鼠肝脏功能的放射性核素显像研究 ANIT 中毒黄疸型肝炎大鼠模型参考文献并改进^[1,2]。造模方法: SD 大鼠用正常饲料和清水喂养 2d 后, 禁食 12h, 用自制大鼠灌胃器 1 次性灌服 ANIT (100mg/100g 鼠重, 以 4% 麻油溶解), 使大鼠中毒制成黄疸型肝炎模型。取 15 只大鼠, 分为正常组、模型组、治疗组 3 组, 每组各 5 只。正常组灌服生理盐水, 2ml/次, 每日 2 次。模型组按上法用 ANIT 造模, 然后给生理盐水 2ml/次, 每日 2 次。治疗组 ig 利胆护肝合剂 1ml/100g, 每日 2 次共 2d, 再用 ANIT 造模, 并继续给中药合剂 3d。各组大鼠于造模 48h 后, 用戊巴比妥钠腹腔麻醉 (4mg/100g 鼠重), 将大鼠固定于特制固定板上, 静脉注射同位素 ^{99m}Tc -EIDA ($3.7 \times 10^6 \text{Bq}$), 用伽玛照像机以 1 帧/30 秒 \times 32 帧对全腹连续摄像, 计算机同步采集信息。为评价利胆护肝合剂对肝脏摄取与排泄功能的影响, 设计了肝摄取指数 (HI) 及肝肠通过时间 (HIT) 两指标判断结果。“HI”指注入同位素示踪剂后 2min 时心血池与肝血池的放射性比值, 此数值与肝脏摄取功能成反比, 可由配有 DSP 数字处理系统软件的计算机测定; “HIT”指静脉注入同位素示踪剂至肠道出现放射性的时间, 此数值与肝脏排泄功能成反比, 可以由伽玛照像片分析得出。

1.2.2 中药合剂对大鼠肝组织体视学影响

取 30 只大鼠, 每组 10 只, 仍分为正常组、模型组及治疗组 3 组。造模及给药方法均同

于 1.2.1。造模 48h 及 72h 时每组各取 5 只大鼠给戊巴比妥钠 (4mg/100g 鼠重), 腹腔麻醉, 剖腹分离肝脏, 经甲醛固定、乙醇脱水、石蜡包埋切片, HE 染色, 在高倍镜下用 Q-520 图像分析仪 (美国剑桥公司产品) 进行肝组织体视学观察, 定量分析高倍镜下大鼠细胆管上皮细胞截面积, 作为判定大鼠细胆管上皮细胞肿胀程度的定量指标, 以研究中药合剂保护肝脏组织的作用效应。

2 统计方法

3 组间数据比较采用 Newman-Keul 方差分析, 每 2 组间比较采用 t 检验, 以卫生部卫生计划研究室 POMS 医用统计学软件实施。

3 结果

3.1 大鼠放射性核素显像结果 比较 3 组大鼠肝摄取指数 (HI) 及肝肠通过时间 (HIT), 正常组数值最小, 治疗组介于正常组与模型组之间, 显著小于模型组水平, 详见表 1。

表 1 大鼠 HI 和 HIT(s)

组别	剂量 g/kg	n	HI	HIT(s)
正常组		5	0.04 \pm 0.004 **	2.8 \pm 0.5 **
模型组		5	0.73 \pm 0.066	12.0 \pm 4.0
治疗组	200	5	0.29 \pm 0.058 *	3.6 \pm 1.1 **

与模型组比较: * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$ (下同)

3.2 大鼠组织体视学观察结果 高倍镜下, 以 Q-520 图像分析仪定量分析细胆管上皮细胞截面积, 结果显示 ANIT 中毒 48h 及 72h, 3 组大鼠中以正常组最小, 治疗组介于正常组与模型组之间, 与模型组比较, 有显著统计学差异, 详见表 2。

表 2 大鼠细胆管上皮细胞截面积 (μm^2)

组别	剂量 g/kg	n	48h (n=5)	72h (n=5)
正常组		10	1.80 \pm 0.74 **	1.81 \pm 0.73 **
模型组		10	6.75 \pm 2.36	8.38 \pm 2.16
治疗组	200	10	3.39 \pm 1.56 *	4.21 \pm 1.34 *

4 讨论

利胆护肝合剂是本院中医科时毓民教授集古方茵陈蒿汤及小柴胡汤精华及多年临床治疗小儿肝病经验所创制, 合清热利湿、疏肝

利胆、活血化瘀及健脾法于一方,在临床上用于治疗小儿肝病。应用现代科技手段来探讨中药方剂的作用机理,有利于传统中医药进一步推广及现代化。

实验中,为了在更加接近大鼠病理生理状态的情况下研究中药方剂的作用,我们采用了无损伤性的^{99m}Tc-EIDA显像试验,使我们能在显示屏上直接观察比较中药合剂对大鼠肝脏功能的影响,并采用数字处理技术进行分析。同位素示踪剂在体内代谢过程与胆红素同步^[3]。观察静脉注射示踪剂后,同位素在心血池与肝血池的分布(HI),可反映肝脏的摄取功能;记录从示踪剂入血到肠道出现放射性显影的时间(HIT),可了解肝脏的排泄功能。结果给予肝损害大鼠中药合剂后,HI及HIT值明显减小,表明中药合剂能显著减轻毒素对肝脏的损害,改善肝脏的摄取、排泄与解毒功能。为了更为客观地研究利胆

护肝合剂的作用,我们在国内首先采用图像分析技术定量评估中药合剂对于大鼠肝脏病理组织结构的影响。结果显示治疗后的大鼠细胆管上皮细胞的肿胀明显减轻,实验结果从组织体视学角度为中药合剂的保肝退黄作用提供了依据,提示利胆护肝合剂能减轻毒素对胆管上皮细胞的损伤,从而减轻了胆汁返流,考虑为中药合剂退黄机理之一。

参考文献

- 1 蒋峻华,熊早生,杨欣,等. α -萘异硫酸酯实验性黄疸模型及其在中药研究中的应用. 中成药研究, 1981, (4): 61
- 2 Schaffner F, Scharnbeck H H. Mechanism of Cholestasis α -Naphthylisothiocyanate induced jaundice. Lab Invest, 1973, (28): 321
- 3 江绍基. 临床肝胆系疾病学. 第一版. 上海: 上海科学技术出版社, 1992. 189

(收稿: 1997-04-25)