

# 茵陈蒿汤对阻塞性黄疸大鼠肝功能及肝脏 iNOS 表达的影响

张西波, 李忠廉\*, 刘军舰, 尚海涛, 郝成飞, 张鸿涛, 鲍建亨  
(天津市南开医院, 天津 300100)

**[摘要]** **目的:**探讨茵陈蒿汤对阻塞性黄疸大鼠 iNOS 表达异常引起肝损伤的保护作用机制,为临床围手术期合理应用中药提供理论依据。**方法:**选择成年 SD 大鼠 48 只,随机分组为①阻塞性黄疸再通模型组(OJR 组)24 只;②阻塞性黄疸再通模型+中药组(OJRC 组)24 只。分别于胆道梗阻 7 d 后解除梗阻,并于解除梗阻后 1,3,7 d 每个时相点处死大鼠 8 只。检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清总胆红素(TBIL);观察肝组织 iNOS mRNA 及蛋白的表达情况。**结果:**茵陈蒿汤能够明显降低大鼠血清 ALT, TBIL 含量( $P < 0.05$ ),抑制肝组织 iNOS mRNA 及 iNOS 蛋白的表达( $P < 0.05$ )。**结论:**茵陈蒿汤可抑制肝脏 iNOS 的表达,从而促进阻塞性黄疸大鼠梗阻解除后肝功能的恢复。

**[关键词]** 茵陈蒿汤; 阻塞性黄疸; 一氧化氮合酶; 肝功能

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0185-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220185

## Expression and Significance of INOS in Obstructive Jaundice Rats and Intervention Role of Clearing Away Heat and Draining Dampness Chinese Medicine

ZHANG Xi-bo, LI Zhong-lian\*, LIU Jun-jian, SHANG Hai-tao,  
HAO Cheng-fei, ZHANG Hong-tao, BAO Jian-heng  
(Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the protective mechanism of Yinchenhao decoction in liver injury which caused by abnormal expression of iNOS in obstructive jaundice rats. And to provide the theory basis for reasonable use traditional Chinese medicine during perioperative period. **Method:** Select 48 adult SD rats, randomly divided into two groups① 24 rats in obstructive jaundice reperfusion model group (group OJR), ② 24 rats in obstructive jaundice reperfusion model plus traditional Chinese medicine group (OJRC group). Relieve obstruction of the two groups in day 7 after the biliary tract obstructed and put rats to death in day 1, 3, 7 after the obstruction removed. Detect serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), serum total bilirubin (TBIL), observe the expression of iNOS mRNA and iNOS protein in the liver tissue. **Result:** Yinchenhao decoction can significantly reduce the content of serum TBIL, ALT ( $P < 0.05$ ), and inhibit iNOS expression of mRNA and iNOS protein in rats liver tissue ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Yinchenhao decoction can inhibit the expression of hepatic iNOS, so as to promote the recovery of liver function in rats with obstructive jaundice.

**[Key words]** Yinchenhao decoction; obstructive jaundice; nitric oxide synthase; liver function

**[收稿日期]** 20130528(015)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81273952)

**[第一作者]** 张西波, 博士, 主治医师, 从事肝胆胰疾病的中西医结合临床与基础研究, Tel:022-27435237, E-mail:nkzxb@163.com

**[通讯作者]** \* 李忠廉, 博士, 主任医师, 从事腹部外科疾病的中西医结合临床与基础研究, Tel:022-27435237, E-mail:lizhonglian@memail.com.cn

阻塞性黄疸(OJ)是指胆汁排泄受阻,胆汁不能排入到十二指肠内造成胆汁成分过多进入血液引起黄疸及全身性病变的临床综合征。外科手术解除胆道梗阻是目前最重要的治疗方法之一,但解除胆道梗阻后受损肝脏功能的恢复也至关重要<sup>[1]</sup>。本文利用实验动物模型,观察茵陈蒿汤对阻塞性黄疸大鼠肝功能及肝脏 iNOS 表达的影响,以期为临床治疗提供理论依据。

### 1 材料

Invitrogen TRIZOL 试剂盒(购于 Invitrogen),多聚赖氨酸、一抗 iNOS(Santa 公司),SP 试剂盒和 Dab 显色试剂盒(购于北京中杉金桥生物技术有限公司)。BX51T-PHD-J11 型显微镜(日本奥林巴斯),多功能真彩色细胞图像分析管理系统(美国 Media Cybernetics 公司 Image-Pro Plus),RM2015 型切片机(德国莱卡)。

SD 大鼠,体重 250 ~ 300 g,雄性,清洁级,动物合格证号 SCXK-(军)2009-003,由天津市中西医结合急腹症研究所动物研究中心提供。随机将 48 只大鼠分为阻塞性黄疸再通模型组(OR 组)24 只和阻塞性黄疸再通模型 + 中药组(ORC 组)24 只。

### 2 方法

**2.1 动物模型制备及处理方法** 动物模型制备参照本实验室可控性胆道内/外引流大鼠模型制作<sup>[2]</sup>,体外结扎导管 7 d 后解除梗阻,OR 组大鼠解除梗阻

后每日给予 1 次生理盐水 2 mL/100 g 灌胃,ORC 组大鼠解除梗阻后每日给予 1 次茵陈蒿汤剂灌胃,每次剂量为 2 mL/100 g,相当于按体重折算正常成人每日量 25 倍量,各组观察时相点为解除梗阻后第 1,3,7 d,每时相点处死大鼠 8 只,经腹主动脉抽血约 4 mL,离心后冷藏。并切取肝组织,一部分置于 -80 ℃ 中保存,另一部分用多聚甲醛溶液固定保存。

**2.2 茵陈蒿汤的制备** 取茵陈蒿 240 g,桅子 180 g,大黄 180 g,共计 600 g。以上中药均购于天津市南开医院中药制剂室。先用冷水浸泡 30 min,煎煮 2 次,第 1 次 45 min,第 2 次 30 min,取两次煎煮液浓缩至 600 mL,药液含生药量为 1 g·mL<sup>-1</sup>。

**2.3 观察指标** 血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)含量;血清总胆红素(TBIL)含量;肝组织 iNOS mRNA 和蛋白水平的变化。

**2.4 统计学方法** 采用 SPSS 进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料进行卡方检验,*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 大鼠血清 ALT,AST 的含量** 梗阻解除后随着时间延长,OR 组与 ORC 组 ALT,AST 均显著下降(*P* < 0.05),且 ORC 组下降较 OR 组更为显著,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1,2。

表 1 茵陈蒿汤对各时相点大鼠血清 ALT 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 24$ )

U·L<sup>-1</sup>

组别	基线值	1 d	3 d	7 d
OR	38.46 ± 5.68	348.50 ± 31.62	93.84 ± 23.67 <sup>1)</sup>	71.53 ± 12.93 <sup>1)</sup>
ORC	36.56 ± 6.59	351.34 ± 25.22	62.63 ± 14.72 <sup>1,2)</sup>	32.14 ± 12.23 <sup>1,2)</sup>

注:与同组第 1 天比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05;与 OR 组比较<sup>2)</sup> *P* < 0.05(表 2 ~ 5 同)。

表 2 茵陈蒿汤对各时相点大鼠血清 AST 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 24$ )

U·L<sup>-1</sup>

组别	基线值	1 d	3 d	7 d
OR	79.56 ± 10.99	414.81 ± 92.53	224.24 ± 40.72 <sup>1)</sup>	149.52 ± 41.16 <sup>1)</sup>
ORC	81.37 ± 11.61	393.34 ± 91.37	148.03 ± 22.02 <sup>1,2)</sup>	74.05 ± 25.42 <sup>1,2)</sup>

**3.2 大鼠血清 TBIL 的含量** 梗阻解除后随着时间延长,OR 组与 ORC 组 TBIL 显著下降(*P* < 0.05),且 ORC 组下降较 OR 组更为显著,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

**3.3 肝组织 iNOS mRNA 的表达** 解除梗阻后 OR 组与 ORC 组 iNOS mRNA 的表达均有下降,且 ORC

组较 OR 组下降更为显著,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 4。

**3.4 肝组织 iNOS 蛋白的表达** 解除梗阻后 OR 组与 ORC 组 iNOS 蛋白水平的表达均有下降,且 ORC 组较 OR 组下降更为显著,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 5,图 1。

表3 茵陈蒿汤对各时相点大鼠血清 TBIL 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 24$ )mmol·L<sup>-1</sup>

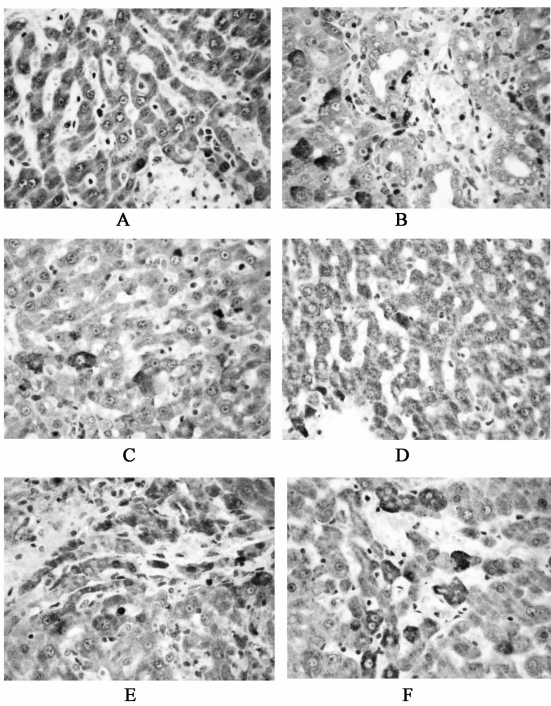
组别	基线值	1 d	3 d	7 d
OR	3.57 ± 0.19	122.01 ± 43.14	35.81 ± 12.02 <sup>1)</sup>	21.04 ± 4.56 <sup>1)</sup>
ORC	3.02 ± 0.21	125.09 ± 22.78	14.42 ± 9.34 <sup>1,2)</sup>	3.03 ± 0.87 <sup>1,2)</sup>

表4 茵陈蒿汤对各时相点大鼠肝组织 iNOS mRNA 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 24$ )

组别	基线值	1 d	3 d	7 d
OR	9.91 ± 0.83	23.42 ± 1.46	20.01 ± 2.12	14.57 ± 1.81 <sup>1)</sup>
ORC	9.02 ± 0.98	26.03 ± 2.03	12.43 ± 1.71 <sup>1,2)</sup>	9.99 ± 1.51 <sup>1,2)</sup>

表5 茵陈蒿汤对各时相点大鼠肝组织 iNOS 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 24$ )

组别	基线值	1 d	3 d	7 d
OR	12.12 ± 1.08	27.08 ± 3.61	24.33 ± 1.53	19.67 ± 1.28 <sup>1)</sup>
ORC	11.93 ± 1.37	27.14 ± 1.24	16.83 ± 0.45 <sup>1,2)</sup>	13.97 ± 1.83 <sup>1,2)</sup>



A. OR 组 1 d; B. OR 组 3 d; C. OR 组 7 d  
D. ORC 组 1 d; E. ORC 组 3 d; F. ORC 组 7 d

图1 OR, ORC 组不同时间点的蛋白表达

(iNOS 免疫组化, ×400)

#### 4 讨论

阻塞性黄疸统属于中医学“腹痛”、“胁痛”、“黄疸”、“蛔厥”等范畴,其病因病机是肝胆气郁、湿热壅滞、胆汁郁积、煎熬成石、或热毒炽盛、化腐酿脓、或虫体内扰上窜胆道、导致肝胆阻塞、腑气不通、引发本病<sup>[3]</sup>。临床常见目黄、身黄、小便黄赤、舌苔黄腻、脉弦滑数等肝胆湿热之象<sup>[4]</sup>。现代医学认为, OJ 由于胆汁排空障碍,胆道内压力升高,胆汁从肝

细胞和毛细胆管逆流入血窦,血液中结合胆红素增加,引起全身皮肤黄染和脏器功能损伤, OJ 还可造成机体发生内毒素血症、肝脏血流动力学改变、氧自由基、肿瘤坏死因子、钙稳态失调等因素从而破坏了肝脏细胞、损害肝脏功能,进而导致机体各种酶学改变(丙氨酸氨基转移酶、腺苷脱氨酶、碱性磷酸酶)、各种化学介质改变(白三烯、前列腺素等)、各种细胞因子改变(肿瘤坏死因子, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 等),从而对机体其他脏器的功能障碍<sup>[5]</sup>。

外科手术解除胆道梗阻虽然是 OJ 治疗的首选方法,但由于胆道梗阻导致的继发性肝脏功能损害,甚至严重的肝脏功能不全,因此在胆道梗阻解除后如何促进肝脏功能的尽快恢复,一直是肝胆外科手术期必须面对的问题。目前常见药物治疗主要是采用一些辅助性保肝药物,大体可以分为以下几类<sup>[6]</sup>:①抑制过强免疫应答和减轻炎症损害;②增强肝脏解毒功能;③提供肝脏细胞膜性结构成分;④减轻凋亡;⑤促进肝脏细胞再生和修复;⑥提供肝细胞代谢所需要的能量物质;⑦补充肝脏合成代谢物质;⑧改善肝脏微循环;⑨机械人工肝疗法。

茵陈蒿汤最早见于汉代张仲景《伤寒论·辨阳明病脉证并治》中作为治疗阳黄的主方。方中茵陈清热利湿、疏利肝胆为君,栀子泻肝火、清湿热、通水道,可导湿热从小便而去,并可退黄为臣;大黄泻瘀热、通利大便、导热下行、荡涤胃肠,又可协助茵陈清热、利湿退黄为佐,三药相配,使湿热之邪从二便排泄,湿去热除,则发黄自退。茵陈蒿汤不仅是退黄的主方,而且能预防和减轻黄疸的发生。现代医学研究证实,茵陈蒿具有显著的利胆作用,茵陈还具有解

毒抗氧化的作用,茵陈中的茵陈色原酮能抑制 TGF $\beta$  和 BDNF 活性,从而使葡萄糖醛酸不被分解,加强肝脏解毒作用<sup>[7]</sup>。栀子具有明显的促进胆囊收缩的作用,还可使结扎胆总管动物的 Y,Z 蛋白升高,且能增加肝脏二磷酸尿昔葡萄糖脱氢酶活性,从而明显降低血清中胆红素含量<sup>[8]</sup>。大黄具有保肝利胆退黄、调节免疫和抗病毒、抗脂质过氧化和抗肝纤维化等作用<sup>[9]</sup>。

本实验结果显示,阻塞性黄疸解除后,大鼠血清 ALT,AST 和 TBIL 均有明显改善,且 ORC 组改善程度明显好于 OR 组,提示阻塞性黄疸解除后,给予茵陈蒿汤剂对促进大鼠肝功能恢复有显著疗效。解除梗阻后,两组大鼠肝脏组织中 iNOS 基因水平和蛋白水平的表达均有所下降,ORC 组下降更为明显。提示 ORC 组大鼠肝脏功能改善优于 OR 组,可能与茵陈蒿汤剂抑制肝脏组织 NO 过量表达有关。因此在临床治疗中,对于阻塞性黄疸患者术后解除梗阻后肝功能异常时辩证使用该方剂,可促进术后肝功能恢复,降低并发症发生率。

#### [参考文献]

[1] 谢毅,陈明,谈燧,等. 加味大柴胡汤对阻塞性黄疸大

鼠 TLR4 mRNA 表达的影响[J]. 苏州大学学报:医学版,2009,29(1):88.

[2] 崔乃强,张西波,李东华,等. 可控性胆道内/外引流及胆道梗阻动物模型的建立[J]. 中国中西医结合外科杂志,2007,13(2):115.

[3] 潘广文,罗新妹. 浅谈中医治疗黄疸[J]. 中国民族民间医药,2012,20(8):77.

[4] 黄碧纯,许世波. 加味大柴胡汤治疗阻塞性黄疸术后对照观察[J]. 实用中医内科杂志,2012,26(12):34.

[5] Badger S A, Jones C, McCaigue M, et al. Cytokine response to portal endotoxaemia and neutrophil stimulation in obstructive jaundice [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2012,24(1):25.

[6] Stanca M H, Nagy A, Tosa M, et al. Hepatoprotective effects of orally administered melatonin and tinospora cordifolia in experimental jaundice [J]. Chirurgia (Bucur), 2011,106(2):205.

[7] 王宏霞. 综合治疗新生儿母乳性黄疸[J]. 实用儿科临床杂志,2003,18(9):745.

[8] 王浴生. 中药药理与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,1983,67.

[9] 郭望祥. 大黄的药理研究概况[J]. 江汉大学学报:医学版,2002,30(2):61.

[责任编辑 顾雪竹]