

# 不同引经药配伍大黄-丹参药对抗大鼠肝纤维化的比较

宋献美<sup>1</sup>, 石科<sup>1</sup>, 葛文静<sup>2</sup>, 王慧森<sup>2</sup>, 贾士奇<sup>2</sup>, 傅蔓华<sup>2</sup>, 梁瑞峰<sup>2\*</sup>

(1. 河南医学高等专科学校, 郑州 451191; 2. 河南省中医药研究院, 郑州 450004)

**[摘要]** **目的:**观察不同引经药配伍大黄-丹参药对抗大鼠肝纤维化的效应差异,探讨引经药的增效作用。**方法:**健康雄性SD大鼠60只,随机分为正常组,模型组,丹参-大黄药对组(5.0 g·kg<sup>-1</sup>),药对加桔梗组(5.0 g·kg<sup>-1</sup>+1.5 g·kg<sup>-1</sup>),药对加柴胡组(5.0 g·kg<sup>-1</sup>+1.5 g·kg<sup>-1</sup>)和药对加细辛组(5.0 g·kg<sup>-1</sup>+0.3 g·kg<sup>-1</sup>),除正常组外,其余各组均腹腔注射四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)复制肝纤维化模型。从第3周开始,除注射造模外,各实验组分别给予相应药物灌胃,正常组、模型组灌胃双蒸水,连续6周。末次给药后,取血和肝脏,检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),碱性磷酸酶(ALP)的活性;酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中层黏连蛋白(LN),透明质酸(HA)和Ⅲ型前胶原(PCⅢ)的含量;酸水解法检测肝匀浆中羟脯氨酸(HYP)的含量;观察肝脏的组织形态改变;免疫组化法检测肝组织中转化生长因子-β<sub>1</sub>(TGF-β<sub>1</sub>)的表达。**结果:**与模型组比较,各给药组大鼠血清中ALT,AST,ALP活性和LN,HA,PCⅢ的含量显著降低,肝匀浆中HYP含量降低,肝组织TGF-β<sub>1</sub>表达减少( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),肝组织结构明显改善;与药对组相比,药对加柴胡组大鼠ALT,AST,ALP活性和LN,HA,PCⅢ的含量降低,肝组织TGF-β<sub>1</sub>表达减少( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**大黄-丹参药对能有效减轻肝纤维化的程度,引经药柴胡可增强大黄-丹参药对的抗肝纤维化作用。

**[关键词]** 大黄-丹参; 肝纤维化; 引经药; 柴胡; 转化生长因子-β<sub>1</sub>(TGF-β<sub>1</sub>)

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)20-0132-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2017200132

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170809.1125.042.html>

**[网络出版时间]** 2017-08-09 11:25

## Effect of Herb Pair of Rhei Radix et Rhizoma and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma with Different Medicinal Guides on Hepatic Fibrosis Rats

SONG Xian-mei<sup>1</sup>, SHI Ke<sup>1</sup>, GE Wen-jing<sup>2</sup>, WANG Hui-sen<sup>2</sup>, JIA Shi-qi<sup>2</sup>, FU Man-hua<sup>2</sup>, LIANG Rui-feng<sup>2\*</sup>

(1. Henan Medical College, Zhengzhou 451191, China; 2. Henan Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the effect of herb pair of Rhei Radix et Rhizoma and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma with different medicinal guides on hepatic fibrosis rats. **Method:** Sixty SD rats were randomly divided into normal group, model group, herb pair group (5.0 g·kg<sup>-1</sup>), herb pair plus Platycodonis Radix (5.0 g·kg<sup>-1</sup>+1.5 g·kg<sup>-1</sup>), herb pair plus Bupleuri Radix group (5.0 g·kg<sup>-1</sup>+1.5 g·kg<sup>-1</sup>) and herb pair plus Asari Radix et Rhizom group (5.0 g·kg<sup>-1</sup>+0.3 g·kg<sup>-1</sup>). The hepatic fibrosis rat models were induced through intraperitoneal injection with CCl<sub>4</sub>. Since the 3<sup>rd</sup> week after modeling, different drugs were administrated by gavage for 6 weeks. Rats were put to death after the last administration, and their serum was collected to measure activities of serum alanin aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP). Levels of laminin (LN), hyaluronic acid (HA) and procollagen III (PC III) in serum were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The content of hydroxyproline (HYP) in liver homogenate was

**[收稿日期]** 20170628(005)

**[基金项目]** 河南省科技攻关计划项目(162102310373);河南省中医药科学研究专项(2015ZY2072)

**[第一作者]** 宋献美, 硕士, 讲师, 从事中药免疫药理研究, Tel:13613822243, E-mail: sxiao636@163.com

**[通讯作者]** \* 梁瑞峰, 硕士, 助理研究员, 从事中药药理及中药药性研究, Tel:13523599546, E-mail: hnsxm009@163.com

measured by acid hydrolysis method. The expression of transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) in liver was analyzed by immunohistochemical method. **Result:** Compared with the model group, the levels of ALT, AST, ALP, LN, HA, PC III and the content of HYP in experimental groups were significantly decreased, the expression of TGF- $\beta_1$  in liver was reduced ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the liver pathological fibrosis was obviously relieved. Compared with the herb pair group, the levels of ALT, AST, ALP, LN, HA, PC III and the expression of TGF- $\beta_1$  in the herb pair plus Bupleuri Radix group were significantly decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The herb pair of Rhei Radix et Rhizoma and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma has a protective effect on liver fibrosis rat, and Bupleuri Radix could further improve the curative effect.

[**Key words**] Rhei Radix et Rhizoma-Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; hepatic fibrosis; medicinal guide; Bupleuri Radix; transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )

肝纤维化是由不同病因所致的慢性肝损伤引起的以细胞外基质过度沉积为特征的组织修复过程,通过早期治疗,肝纤维化可以预防或逆转,如果肝纤维化长期得不到有效治疗将发展为肝硬化甚至肝癌,而肝硬化被认为是不可逆转的<sup>[1-2]</sup>。尽管很多药物在体内、外被证实具有抗纤维化作用,由于肝纤维化形成过程靶点非常多,临床上并无理想的治疗药物。中药以其多成分、多靶点的特点成为寻找防治肝纤维化药物的热点。大黄、丹参及其有效成分均有抗器官纤维化的作用<sup>[3-6]</sup>。根据中医理论,配伍引经药可使药效靶向集中,从而提高疗效。目前尚未见引经药配伍药物治疗肝纤维化的相关报道,本研究通过大鼠肝纤维模型,观察手太阴肺经引经药桔梗、足厥阴肝经引经药柴胡和足少阴肾经引经药细辛配伍大黄-丹参药对抗肝纤维化的效应差异,为临床应用提供相关依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性 SD 大鼠 60 只, SPF 级, 180 ~ 200 g, 由河南省实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(豫)2015-0004。本研究经河南省中医药研究院实验动物伦理委员会批准(批号 HNZYYJ2016-0017), 符合实验动物伦理委员会规定。

**1.2 药物与试剂** 大黄、丹参、桔梗、柴胡、细辛(河南省顺康医药有限公司, 经河南省中医药研究院中药研究所王慧森副研究员鉴定均为正品, 符合 2015 年版《中国药典》项下规定); Masson 染色试剂盒, 丙氨酸氨基转移酶(ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶(AST), 碱性磷酸酶(ALP), 羟脯氨酸(HYP)试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20161109, 20161209, 20161121, 20161202, 20161227); 层黏连蛋白(LN), 透明质酸(HA), III 型前胶原(PC III)试剂盒(武汉华美生物工程有限公司, 批号分别为 Y19294102, H16203162,

V17230149); 转化生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) 一抗(武汉博士德生物工程有限公司, 批号 1714116); 免疫组化试剂盒, DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号分别为 16151A06, K156921A)。

**1.3 仪器** Synergy NEO 型多功能酶标仪(美国 Bio-Tek 公司), 2K15 型冷冻离心机(德国 Sigma 公司), CX31 型显微镜(奥林巴斯公司)。

## 2 方法

**2.1 药物制备** 丹参、大黄药对提取液: 称取丹参 300 g, 大黄 200 g, 加 8 倍量 70% 乙醇, 加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 过滤, 合并滤液, 减压回收乙醇, 调整质量浓度为相当于含生药 1.0 g·mL<sup>-1</sup>。桔梗、柴胡和细辛提取液: 分别称取桔梗、柴胡和细辛各 200 g, 加 8 倍量 70% 乙醇, 加热回流提取 2 次, 每次 2 h, 过滤, 合并滤液, 减压回收乙醇, 各药提取液分别调整浓度为相当于含生药 0.3 g·mL<sup>-1</sup>。

**2.2 模型复制<sup>[7]</sup>与给药** SD 大鼠称重后按体重随机分为正常组、模型组、大黄-丹参药对组(简称药对组)、药对加桔梗组、药对加柴胡组和药对加细辛组, 每组 10 只。除正常组腹腔注射橄榄油溶液外, 其余各组大鼠均腹腔注射 30% 四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)橄榄油混悬液(2 mL·kg<sup>-1</sup>), 每周 2 次, 连续 7 周。从第 3 周开始, 除注射造模外, 各实验组分别灌胃药对提取液(5.0 g·kg<sup>-1</sup>, 相当于人临床等效剂量 2 倍), 药对加各引经药(桔梗 1.5 g·kg<sup>-1</sup>, 柴胡 1.5 g·kg<sup>-1</sup>, 细辛 0.3 g·kg<sup>-1</sup>), 正常组、模型组灌胃等体积双蒸水, 每天 1 次, 连续 6 周。末次给药后禁食不禁水 24 h, 大鼠麻醉后腹主动脉取血, 离心分离血清, -20 °C 保存, 取肝脏固定部位 10% 中性甲醛保存作组织病理学观察, 另一部分 -80 °C 保存。

**2.3 肝脏功能和肝纤维化标志物检测** 微板法检测大鼠血清中 ALT, AST, ALP 的活性, 酶联免疫吸附法(ELISA)法检测大鼠血清中肝纤维化标志物

LN, HA 和 PCⅢ 的水平, 酸水解法检测大鼠肝匀浆中 HYP 的含量。严格按照试剂盒说明书操作测定。

**2.4 肝脏组织结构观察** 肝脏组织经中性甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片, 常规苏木素-伊红(HE)染色, 于显微镜下观察肝组织病理学形态。Masson 染色后, 观察肝组织中胶原纤维沉积情况。纤维化程度分级<sup>[8]</sup>: 无明显胶原纤维即表示为“-”; 胶原纤维增多, 从汇管区或中央静脉呈星状向外延伸, 无纤维隔形成表示为“+”; 胶原纤维明显增多并形成相互不连接的纤维隔表示为“++”; 胶原纤维相互连接成完全的纤维隔, 分割肝小叶, 表示为“+++”。

**2.5 免疫组化法检测肝脏组织 TGF-β<sub>1</sub> 蛋白表达** 肝组织石蜡切片常规脱蜡水化, 修复抗原, 3% 过氧化氢灭活内源性过氧化氢酶, 正常山羊血清封闭, TGF-β<sub>1</sub> 一抗孵育过夜, 滴加生物素化二抗, 37 °C 孵育 20 min, 滴加 SABC, 孵育 20 min, DAB 显色。PBS

代替一抗作为阴性对照。光学显微镜下观察, 细胞浆染成棕黄色为阳性细胞。用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统分析 TGF-β<sub>1</sub> 免疫反应阳性的积分吸光度 IA。每张切片随机取 3 个视野分析, 取其平均值。

**2.6 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 对结果进行统计分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较用 LSD 检验,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对肝功能指标的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠血清中 ALT, AST 和 ALP 活性显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 药对组、药对加各引经药组大鼠血清中 ALT, AST 和 ALP 水平显著降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 与药对组相比, 柴胡组大鼠 ALT, AST 和 ALP 水平显著降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 ALT, AST 和 ALP 活性比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Comparison of ALT, AST and ALP activities in serum of hepatic fibrosis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

U·L<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT	AST	ALP
正常	-	71.58 ± 6.11	165.67 ± 13.55	141.09 ± 9.63
模型	-	138.60 ± 10.67 <sup>1)</sup>	263.49 ± 18.71 <sup>1)</sup>	213.07 ± 12.57 <sup>1)</sup>
药对	5.0	96.39 ± 7.20 <sup>4)</sup>	194.72 ± 14.59 <sup>4)</sup>	167.32 ± 10.35 <sup>4)</sup>
药对 + 桔梗	5.0 + 1.5	101.22 ± 7.87 <sup>4)</sup>	199.60 ± 10.98 <sup>4)</sup>	173.86 ± 12.70 <sup>4)</sup>
药对 + 柴胡	5.0 + 1.5	83.64 ± 6.39 <sup>4, 6)</sup>	182.69 ± 11.64 <sup>4, 5)</sup>	153.37 ± 9.28 <sup>4, 5)</sup>
药对 + 细辛	5.0 + 0.3	99.34 ± 6.65 <sup>4)</sup>	201.92 ± 13.73 <sup>4)</sup>	172.65 ± 11.81 <sup>4)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ; 与药对组比较<sup>5)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 ~ 4 同)

**3.2 对肝纤维化指标的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠血清中 LN, HA, PCⅢ 和肝匀浆中 HYP 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 药对组、药对加各引经药组大鼠血清中 LN, HA, PCⅢ 和肝匀浆中

HYP 含量显著降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 与药对组相比, 柴胡组大鼠 LN, HA, PCⅢ 和 HYP 显著降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 2。

**3.3 对大鼠肝组织结构变化的影响** HE染色镜下

表 2 各组大鼠血清中 LN, HA, PCⅢ 和肝匀浆中 HYP 含量比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

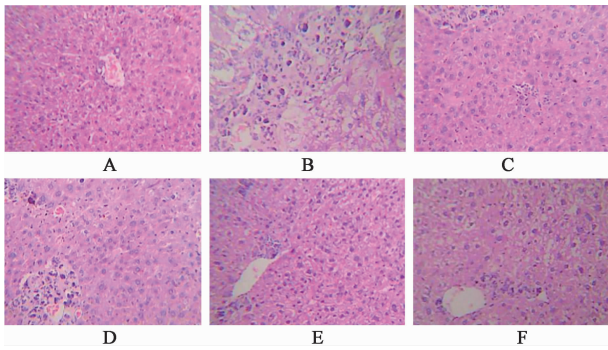
Table 2 Comparison of LN, HA, PCⅢ in serum and HYP in liver of hepatic fibrosis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	LN/μg·L <sup>-1</sup>	HA/μg·L <sup>-1</sup>	PCⅢ/μg·L <sup>-1</sup>	HYP/μg·g <sup>-1</sup>
正常	-	49.72 ± 5.81	72.61 ± 7.67	18.57 ± 2.11	146.92 ± 21.50
模型	-	91.36 ± 13.80 <sup>2)</sup>	139.36 ± 18.70 <sup>2)</sup>	34.63 ± 4.06 <sup>2)</sup>	431.27 ± 47.27 <sup>2)</sup>
药对	5.0	69.50 ± 6.21 <sup>4)</sup>	89.32 ± 7.52 <sup>4)</sup>	24.61 ± 2.50 <sup>4)</sup>	206.66 ± 26.03 <sup>4)</sup>
药对 + 桔梗	5.0 + 1.5	67.53 ± 7.30 <sup>4)</sup>	86.79 ± 7.83 <sup>4)</sup>	25.37 ± 2.87 <sup>4)</sup>	197.28 ± 23.39 <sup>4)</sup>
药对 + 柴胡	5.0 + 1.5	58.21 ± 6.07 <sup>4, 5)</sup>	79.93 ± 6.76 <sup>4, 5)</sup>	19.85 ± 2.29 <sup>4, 6)</sup>	173.42 ± 20.68 <sup>4, 5)</sup>
药对 + 细辛	5.0 + 0.3	74.68 ± 7.51 <sup>3)</sup>	94.95 ± 10.69 <sup>4)</sup>	26.02 ± 3.07 <sup>3)</sup>	205.09 ± 27.38 <sup>4)</sup>

显示, 正常组大鼠肝小叶结构完整, 肝索整齐、呈放

射状排列, 肝细胞无变性、坏死, 间质中未见淋巴细

胞浸润;模型组大鼠肝小叶结构紊乱,肝索断裂、肝细胞坏死明显,汇管区有大量淋巴细胞浸润,伴有胶原纤维增粗增厚;药对组、药对组加柴胡组肝细胞排列相对整齐,肝细胞结构异常较为少见,胶原纤维沉积减少;药对加桔梗组、药对加细辛组仍有肝小叶结构被破坏,肝细胞排列相对紊乱,损伤程度介于模型组和药对组之间(图 1)。Masson 染色镜下显示,正常组肝组织小叶结构清晰,肝索排列整齐,呈条索状向四周放射状排列,仅在汇管区可见少量胶原纤维;模型组汇管区和中央静脉之间胶原纤维明显增多,形成纤维纵隔,交结形成完全或不完全假小叶,肝细胞排列紊乱,同时可见细胞变性、坏死明显;药对组和药对组加柴胡组肝小叶结构破坏减轻,胶原纤维沉积减少,呈星状向四周排列;药对加桔梗组和药对加细辛组肝小叶结构有所恢复,仍有胶原纤维,效果弱于药对组(图 2)。大鼠肝组织纤维化程度见表 3。



A. 正常组;B. 模型组;C. 药对组;D. 药对 + 桔梗组;E. 药对 + 柴胡组;F. 药对 + 细辛组(图 2,3 同)

图 1 各组大鼠肝组织结构变化(HE, ×200)

Fig. 1 Histopathological change of liver in rats of each group (HE, ×200)

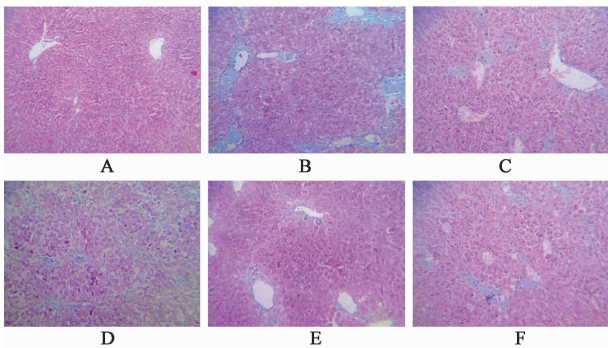


图 2 各组大鼠肝组织结构变化(Masson, ×100)

Fig. 2 Histopathological change of liver in rats of each group (Masson, ×100)

3.4 对大鼠肝组织 TGF-β<sub>1</sub> 表达的影响 免疫组化染色显示,正常组大鼠肝组织中可见少量 TGF-β<sub>1</sub> 表

表 3 大鼠肝组织纤维化程度分级

Table 3 Fibrosis degree of liver tissues in hepatic fibrosis rats

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	纤维化程度/n			
		-	+	++	+++
正常	-	10	0	0	0
模型	-	0	1	4	5
药对	5.0	0	5	4	1
药对 + 桔梗	5.0 + 1.5	0	2	6	2
药对 + 柴胡	5.0 + 1.5	1	6	3	0
药对 + 细辛	5.0 + 0.3	0	3	5	2

达于肝组织的间质细胞内;模型组大鼠肝组织中 TGF-β<sub>1</sub> 表达明显增强,呈棕黄色胞浆型分布,与正常组比较 IA 差异有统计学意义(P < 0.01);与模型组相比,各给药组大鼠肝组织中 TGF-β<sub>1</sub> 在汇管区及纤维间隔中有少量表达,在间质细胞和炎性细胞胞浆阳性染色程度减轻,阳性细胞数目减少 IA,差异具有统计学差异(P < 0.05, P < 0.01);与药对组相比,柴胡组大鼠肝组织 TGF-β<sub>1</sub> 表达显著降低(P < 0.01)。见图 3,表 4。

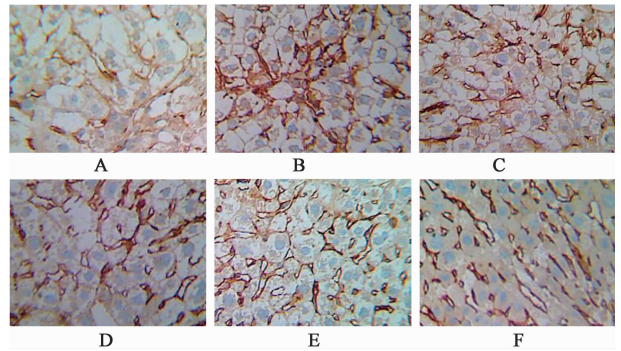


图 3 各组大鼠肝组织中 TGF-β<sub>1</sub> 蛋白表达(免疫组化, ×400)

Fig3 TGF-β<sub>1</sub> protein expression in liver of hepatic fibrosis rats (IHC, ×400)

表 4 各组大鼠肝组织中 TGF-β<sub>1</sub> 表达的比较(̄x ± s, n = 3)

Table 4 Comparison of TGF-β<sub>1</sub> protein expression in liver of hepatic fibrosis rats (̄x ± s, n = 3)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IA
正常	-	11.26 ± 2.51
模型	-	48.62 ± 9.29 <sup>1)</sup>
药对	5.0	25.39 ± 4.02 <sup>4)</sup>
药对 + 桔梗	5.0 + 1.5	23.67 ± 3.75 <sup>4)</sup>
药对 + 柴胡	5.0 + 1.5	18.82 ± 2.97 <sup>4), 6)</sup>
药对 + 细辛	5.0 + 0.3	26.76 ± 4.26 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

肝纤维化是大多数慢性肝病所共有的病理特

征,是威胁肝病患者的常见病、多发病。目前认为,早期肝纤维化是可逆的,而肝硬化、肝癌是不可逆的。通过抗纤维化治疗可使肝纤维化程度明显减轻,进程明显减缓,若进展性肝纤维化得不到有效控制可发展为肝硬化甚至肝癌。因此,抗肝纤维化是阻止肝脏疾病加重的重要环节。

本实验采用腹腔注射  $\text{CCl}_4$  复制肝纤维化模型,  $\text{CCl}_4$  是一种典型的肝脏毒物,可引起脂质过氧化,破坏肝细胞膜性结构<sup>[9]</sup>,使肝细胞内 ALT,AST,ALP 等外漏入血,因此血清中 ALT,AST,ALP 活性在一定程度上反映了肝脏受损的程度<sup>[10]</sup>。大量研究表明,血清中 HA, LN, PC III 的含量与肝纤维化程度高度有关,是反映肝纤维化的灵敏指标<sup>[11-12]</sup>。HA 是细胞外基质的重要成分,在肝纤维化早期其他指标尚未异常时就会升高,且其含量情况与肝纤维化程度呈正相关<sup>[13]</sup>。当肝纤维化发生时,肝窦内 LN 明显沉积并释放入血,使血清中 LN 含量升高<sup>[14]</sup>。PC III 被 N-末端酶裂解后进入外周血中,随着肝纤维合成的活跃而增多<sup>[15]</sup>。肝匀浆中 HYP 的含量直接反映肝脏纤维化的程度<sup>[16]</sup>。本研究发现,大黄-丹参药对和药对加不同引经药干预后,大鼠血清中 ALT, AST, ALP 活性明显降低, LN, HA, PC III 含量下降,肝匀浆中 HYP 含量减少,肝组织结构明显改善,表明引经药配伍大黄-丹参药对具有抗肝纤维化的作用。

TGF- $\beta_1$  是目前发现的最强的致纤维化细胞因子,其主要通过 TGF- $\beta_1$ /Smad 信号通路促进肝星状细胞激活及细胞外基质的合成。TGF- $\beta_1$  与肝星状细胞膜 TGF- $\beta$  受体 II (T $\beta$ R II) 结合,二者形成复合物后与 TGF- $\beta$  受体 I (T $\beta$ R I) 结合并磷酸化,活化的 T $\beta$ R I 再磷酸化激活下游的 Smad 2/3, Smad 2/3 与 Smad4 结合形成复合物转入核内,选择性地促进靶基因转录。磷酸化的 Smad2, Smad3 诱导 T $\beta$ R I R/Smad 复合物形成,促使肝星状细胞活化为成纤维细胞,同时增加合成胶原、蛋白多糖、细胞纤连蛋白等细胞外基质,使细胞外基质的沉积增多,促进纤维化的发展。肝星状细胞又以自分泌和旁分泌方式,上调 TGF- $\beta_1$  的表达,加重肝纤维化的进展<sup>[17]</sup>。TGF- $\beta_1$ /Smad 信号通路在肝纤维化发生发展过程中的重要作用使其成为阻止肝纤维化的重要靶点,阻断 TGF- $\beta_1$ /Smad 信号转导或抑制 TGF- $\beta_1$  表达有可能防止肝纤维化的形成。本实验结果表明,与模型组比较,各给药组大鼠肝组织 TGF- $\beta_1$  的表达均显著降低,大黄-丹参药对抗肝纤维化的作用可能是通过下调 TGF- $\beta_1$  的蛋白表达实现的。

引经药的应用是中医配伍的一大特色,引经药的作用是使药效靶向集中于特定的部位,从而提高疗效。若引经药使用得当,能起到事半功倍的作用,在临床上颇具意义<sup>[18]</sup>。本研究中,大黄-丹参药对配伍肝经引经药柴胡后,能够进一步改善肝功能及其组织结构,降低肝纤维化指标及肝组织中 TGF- $\beta_1$  的表达,而肺经引经药桔梗与肾经引经药细辛对大黄-丹参药对抗肝纤维化则没有明显影响。研究表明引经药柴胡可增强大黄-丹参药对抗肝纤维化的作用,在治疗肝纤维化时具有引经增效作用。

综上所述,本实验表明大黄-丹参药对具有抗肝纤维化作用,能减缓肝纤维化的病理进程,配伍引经药柴胡后可进一步降低肝纤维化指标,改善肝功能及其组织结构,其引经机制有待进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] Bracht T, Schweinsberg V, Trippler M, et al. Analysis of disease-associated protein expression using quantitative proteomics-fibulin-5 is expressed in association with hepatic fibrosis[J]. J Proteome Res, 2015, 14(5): 2278-2286.
- [2] ZHAO Y P, GUO D M, LIU H, et al. Apparent diffusion coefficient measurements and Gd-DTPA enhanced-imaging in staging hepatic fibrosis in rats[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(2): 2197-2204.
- [3] 屈艳, 张崇, 贾岩龙, 等. 大黄酸通过抑制 miR-21 而干预 TGF- $\beta_1$ /Smad 通路并减轻博莱霉素所致大鼠肺纤维化[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(1): 149-153.
- [4] XIANG Z, SUN H, CAI X, et al. The study on the material basis and the mechanism for anti-renal interstitial fibrosis efficacy of rhubarb through integration of metabolomics and network pharmacology [J]. Mol Biosyst, 2015, 11(4): 1067-1078.
- [5] 姜汉杰, 李婉, 王辰, 等. 丹参粉针剂对单侧输尿管结扎大鼠肾纤维化的保护作用[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(22): 2606-2611.
- [6] Sferra R, Vetusch A, Catitti V, et al. Boswellia serrata and Salvia miltiorrhiza extracts reduce DMN-induced hepatic fibrosis in mice by TGF-beta1 downregulation [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012, 16(11): 1484-1498.
- [7] 王培智, 李路豪, 党晓卫. 菊苣改善大鼠肝功能及抑制肝纤维化作用[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(3): 511-513.
- [8] 景晶, 赵金英, 华冰, 等. 甘草总黄酮抑制硫代乙酰胺诱导肝纤维化大鼠肝组织中 TGF- $\beta_1$  及 Caspase-3 的表达[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(15): 3034-3040.
- [9] Doustimotlagh A H, Dehpour A R, Nourbakhsh M, et al.

- Alteration in membrane protein, antioxidant status and hexokinase activity in erythrocytes of CCl<sub>4</sub>-induced cirrhotic rats [J]. *Acta Med Iran*, 2014, 52 ( 11 ): 795-803.
- [10] 诸孙桥,周文辉.血清总胆汁酸与传统肝功能酶学指标在肝胆疾病中的诊断价值比较[J].*国际检验医学杂志*,2015,36(2):269-270.
- [11] Novo E, di Bonzo L V, Cannito S, et al. Hepatic myofibroblasts: a heterogeneous population of multifunctional cells in liver fibrogenesis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2009, 41(11):2089-2093.
- [12] 潘爱萍,林英辉,潘元平,等.肝纤维化血清学标志物与肝脏病理相关性研究[J].*南方医科大学学报*,2007,27(12):1935-1936.
- [13] Moghaddam F M, Arrbabi H, Khajedaloei M. Determination of the relationship of serum hyaluronic acid levels to the degree of liver fibrosis in biopsies of patients with chronic viral hepatitis B and C[J]. *Hepat Mon*,2010,10(3):168-172.
- [14] 胡彦武,刘凯,闫梦彤,等.五味子藤茎提取物抗大鼠肝纤维化作用及机制探讨[J].*中国实验方剂学杂志*,2016,22(17):122-125.
- [15] Lidbury J A, Hoffmann A R, Fry J K, et al. Evaluation of hyaluronic acid, procollagen type III N-terminal peptide, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 as serum markers of canine hepatic fibrosis[J]. *Can J Vet Res*,2016,80(4):302-308.
- [16] 李寅超,邓莉,徐平华,等.十二味穿甲片原料抗 CCl<sub>4</sub>所致大鼠肝纤维化的实验研究[J].*中国医院药学杂志*,2016,36(6):432-436.
- [17] 吴芙蓉,姜玲,何晓丽,等.橙皮苷对肝星状细胞 TGF- $\beta_1$ /Smad 信号通路的影响[J].*中国中药杂志*,2015,40(13):2639-2643.
- [18] 梁瑞峰,张峰,李更生.基于药物转运体的中药引经作用机制研究[J].*中华中医药杂志*,2016,31(11):4726-4728.

[责任编辑 邹晓翠]

## 欢迎订阅 2018 年《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中华中医药学会、中国中医科学院中药研究所主办的学术刊物。本刊创建于 1995 年 10 月,主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、资源与鉴定、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为 CSCD 来源期刊、中文核心期刊、中国科技核心期刊、RCCSE 中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊,16 开本,234 页,标准刊号 ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 48 元,全年 1152 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号 2-417;国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行,代号 SM4655,欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购,Tel:(010)84076882,E-mail:syfjx\_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。