

金草消毒颗粒对 *D*-GalN/LPS 致小鼠急性肝损伤保护的影响

王巍, 许立拔, 张卓, 张宇薇, 林彩霞, 高玲, 巫玲玲*, 蒋伟哲*

(广西医科大学药学院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究金草消毒颗粒(JCG,由肿节风、金钱草、白花蛇舌草、大青叶组成)对 *D*-氨基半乳糖(*D*-GalN)/脂多糖(LPS)所致小鼠肝损伤的保护作用及机制。方法:JCG(1.7, 3.4, 6.8 g·kg⁻¹)连续给药10 d后,采用腹腔注射给予 *D*-GalN(700 mg·kg⁻¹)和 LPS(10 μg·kg⁻¹)建立小鼠肝损伤模型。记录8 h小鼠存活率,生化检测小鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),总胆红素(TBIL),尿素氮(BUN),肌酐(CREA),免疫球蛋白G(IgG),免疫球蛋白M(IgM)水平,酶联免疫吸附法(ELISA)检测白细胞介素-1β(IL-1β),白细胞介素6(IL-6),肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织一氧化氮合酶(iNOS),环氧合酶-2(COX-2),磷酸化型核转录因子-κB p65(p-NF-κB p65)的表达,采用苏木素-伊红(HE)染色观察肝组织的病理变化。结果:与模型组比较,金草消毒颗粒可提高小鼠存活率,降低血清ALT, AST, TBIL, BUN, CREA, IL-1β, IL-6, TNF-α水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),显著升高IgG, IgM水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),下调肝组织iNOS, COX-2, p-NF-κB p65表达($P < 0.05$, $P < 0.01$),肝组织病理性损伤明显减轻。结论:金草消毒颗粒有很好的护肝作用,其机制可能是通过改善肝肾功能,减少促炎症因子水平,增强机体免疫功能,抑制肝组织iNOS, COX-2, p-NF-κB p65细胞因子的表达水平,达到保护肝细胞作用。

[关键词] 金草消毒颗粒; 肝损伤; *D*-氨基半乳糖(*D*-GalN); 脂多糖(LPS); 一氧化氮合酶(iNOS); 环氧合酶-2(COX-2); 磷酸化型核转录因子-κB p65(p-NF-κB p65)

[中图分类号] R22;R24;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0108-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180736

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180111.0905.010.html>

[网络出版时间] 2018-01-15 9:03

Effect of Jincao Xiaodu Granule on Acute Hepatic Injury in Mice induced by *D*-GalN/LPS

WANG Wei, XU Li-ba, ZHANG Zhuo, ZHANG Yu-wei, LIN Cai-xia,

GAO Ling, WU Ling-ling*, JIANG Wei-zhe*

(Pharmaceutical College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the hepatoprotective effects and mechanisms of Jincao Xiaodu granule (JCG) on acute hepatic injury in mice induced by *D*-galactosamine (*D*-GalN) /lipopolysaccharide (LPS). **Method:** After administration of JCG (1.7, 3.4, 6.8 g·kg⁻¹) for 10 consecutive days, the acute hepatic injury models in mice were induced by intraperitoneal injection of *D*-GalN (700 mg·kg⁻¹) + LPS (10 μg·kg⁻¹). The 8 h survival rate was recorded; the fasting serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), total bilirubin (TBIL), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CREA), immunoglobulin G (IgG) and immunoglobulin M (IgM) were measured by biochemical test; the activity of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) and IL-6 were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the protein expression levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), and p-nuclear transcription factor-κB (NF-κB) p65 were analyzed by Western blot; and the pathological changes of liver tissues

[收稿日期] 20171107(019)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260511);广西科技计划项目(桂科 AB16380187)

[第一作者] 王巍, 硕士, 从事新药研究开发工作, E-mail: wang6188512@126.com

[通信作者] * 蒋伟哲, 博士, 教授, 从事新药研究开发工作, E-mail: jiangweizhe6812@163.com;

* 巫玲玲, 硕士, 助理研究员, 从事新药研究开发工作, E-mail: welldone.123@163.com

were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Result:** As compared with the model group, the survival rate was significantly increased; the levels of ALT, AST, TBIL, BUN, CREA, TNF- α , IL-1 β and IL-6 in serum were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); IgM and IgG were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the expression levels of iNOS, COX-2 and p-NF- κ B p65 were significantly down-regulated, and the pathological damages induced by *D*-GalN/LPS were significantly alleviated in JCG treatment group. **Conclusion:** JCG had good hepatoprotective effects, and its mechanism may be related to improving the hepatorenal function, decreasing the pro-inflammatory cytokine levels, up-regulating the immune function, as well as inhibiting the expression of iNOS, COX-2 and p-NF- κ B p65.

[Key words] Jincaoxiaodu granule; acute hepatic injury; *D*-galactosamine (*D*-GalN); lipopolysaccharide (LPS); inducible nitric oxide synthase (iNOS); cyclooxygenase-2 (COX-2); p-nuclear transcription factor- κ B p65 (p-NF- κ B p65)

肝损伤是多种肝脏疾病共有的病理改变,长时间存在可导致肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌^[1]。急性肝损伤是一种罕见但危及生命的疾病。其特征包括肝硬化坏死、凝血功能异常、以及肝性脑病的发生^[2]。乙酰半胱氨酸常用于急性肝损伤治疗,但其副作用如恶心、呕吐和类过敏反应时常发生,严重时加重病情^[3-4]。中药因其副作用少、作用多靶点、多环节、整体调理等特点,发挥调节免疫、抗炎、抗氧化应激、调节代谢等作用,成为了研究肝损伤药物制剂的热门^[5]。金草消毒颗粒是广西壮要方医院的医院制剂,由肿节风、金钱草、白花蛇舌草、大青叶组成,具有清热解毒,散结消肿之功效,主要用于瘰疬、癭瘤、疔疮痈肿及各种癌症晚期的辅助治疗,在广西壮要方医院临床应用中有显著效果,研究表明组方中 4 味药均有抗肝损伤作用^[6-9]。已列入广西创新驱动发展专项(科技重大专项)。

前期研究表明,本配方中主要成分肿节风可通过其抗炎机制对抗肝损伤以及抗肝癌有良好作用^[10-11],核转录因子- κ B (NF- κ B) p65 的激活是机体炎症调节的关键缓解,前期研究表明 NF- κ B p65 为急性肝损伤防治的有效靶位^[12-13]。本研究采用 *D*-氨基半乳糖 (*D*-GalN)/脂多糖 (LPS) 建立小鼠急性肝损伤模型,该模型与人类肝病的病理特点相似,为筛选抗肝损伤药物的经典模型之一^[14-15]。通过研究金草消毒颗粒对该模型的治疗作用和作用机制,从导致肝损伤最主要的炎症因素入手,研究金草消毒颗粒对主要炎症调控通路 p-NF- κ B p65,一氧化氮合酶 (iNOS) 及环氧合酶-2 (COX-2) 通路的作用机制,为金草消毒颗粒的临床应用提供实验和理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性昆明种 (KM) 小鼠,体质量

(20 \pm 2) g,由广西医科大学实验动物中心提供和饲养,环境符合 SPF 级要求,合格证号 SCXK 桂 2014-0002。适应性饲养 3 d 后,随机分组,进行药物处理。实验动物的开展取得了广西医科大学实验动物伦理委员会批准(编号 201703004)。

1.2 药物及试剂 金草消毒颗粒(广西壮要方医院,批号 20161001);联苯双酯滴丸(万邦德制药集团股份有限公司,批号 A20150326);LPS,*D*-GalN 和 RIPA 细胞裂解液(德国 Sigma-Aldrich 公司,批号分别为 026M4021V, WXBB3857V, SLBQ9770V);兔抗 NF- κ B p65, NF- κ B p65 (D14E12), COX-2 (D5H5), iNOS (D6B6S), 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, D16H11) (德国 CST 公司,批号分别为 3033S, 8242S, 12282S, 13120S, 5174S);蛋白酶抑制剂迷你片,BCA 试剂盒(赛默飞世尔科技公司,批号分别为 QD19948920, RF234184);蛋白磷酸酶抑制剂(北京索莱宝科技有限公司,批号 2017062);白细胞介素-1 β (IL-1 β), 白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号分别为 08/2017, 08/2017);肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 11/2017);天门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 丙氨酸氨基转移酶 (ALT), 总胆红素 (TBIL), 肌酐 (CREA), 尿素氮 (BUN), 免疫球蛋白 G (IgG), 免疫球蛋白 M (IgM) (上海执诚生物科技有限公司,批号分别为 ZCJULQ002, ZCJUNQ024, ZCJULQ016, ZCMARQ013, ZCFEBQ015, ZCNOVL020, ZCOCTL028)。

1.3 仪器 UPT-II-20T 型超纯水器(成都超纯科技有限公司);KQ-501DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SpectraMaxPlus384 型连续光谱扫描式酶标仪(香港分子仪器公司);TS-100 型脱色摇床(海门市其林贝尔仪器有限公司);7100

型全自动生化分析仪 (Hitachi 日立集团); 165-8000 型 Mini-PROTEAN Tetra 电泳仪 (美国伯乐公司); CX31 + DP73 型倒置显微镜 (奥林巴斯中国有限公司); MKMo CLI7R 型高速低温离心机 (赛默飞世尔科技有限公司); FJ-200 型高速分散均质机 (上海标本模型厂); ODYSSEY 型红外双色激光成像系统 (美国 LI-COR 公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 取 SPF 级雄性 KM 小鼠 120 只随机分为 6 组, 每组 20 只, 分别为空白组 (纯净水), 模型组 (纯净水), 联苯双酯组 ($6.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), JCG 组 ($1.7, 3.4, 6.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 按 $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 灌胃, 每天 1 次。连续给药 10 d 后, 禁食不禁水 12 ~ 16 h, 除空白组腹腔注射等体积生理盐水外, 其余小鼠腹腔注射 *D*-GalN ($700 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 LPS ($10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[16], 记录 8 h 内小鼠死亡数, 计算存活率, 8 h 后存活小鼠采用眼眶后静脉丛采血, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离血清 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 备用。

2.2 肝脏的取材及匀浆 采血结束后, 处死小鼠, 分离肝脏, 取肝组织 0.2 g, 按质量-体积 1:9 加入冰冻生理盐水, 使用高速分散均质机制成组织匀浆, $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离上清 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 备用。

2.3 生化分析仪测定血清肝肾功能指标 ALT, AST, TBIL, BUN, CREA, IgM, IgG 水平的改变 取各样本血清 100 μL 至离心管中, 分别置于全自动生化分析测定仪, 严格按仪器标准操作规程操作, 检测血清肝肾功能指标 ALT, AST, TBIL, BUN, CREA, IgM, IgG 浓度, 分析其水平的改变。

2.4 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平 ELISA 法检测血清中 TNF- α , IL-1 β , IL-6 的浓度, 并分析其水平变化, 操作方法严格按照

试剂盒说明书操作。

2.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测肝组织 iNOS, COX-2, p-NF- κ B p65 的表达 取适量肝组织放入研钵中, 加入液氮研磨, 采用蛋白酶抑制剂迷你片与蛋白磷酸酶抑制剂的 RIPA 细胞裂解液裂解 10 min, 置于高速低温离心机, $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 采用 BCA 试剂盒检测蛋白水平。经 SDS-PAGE 电泳分离所需蛋白, 湿法转膜至硝酸纤维素膜 (NC 膜)。5% BSA 封闭 1 h 后, 分别加入 iNOS, COX-2 (1:1 000), p-NF- κ B p65 (1:2 000) 一抗中, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜。用 TBST 于摇床上洗膜 3 次后加入二抗室温孵育 1 h, 再次 TBST 洗膜后, 用 Odyssey 红外双色激光成像系统分别检测 3 种蛋白 iNOS, COX-2, p-NF- κ B p65 的灰度值, 并分析结果。

2.6 肝组织病理形态学改变 取部分肝组织, 置于 10% 中性福尔马林固定, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜观察肝组织病理改变。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 17.0 分析数据, 实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计量数据符合正态分布和方差齐性, 组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LSD test 分析; 不符合正态分布和/或方差齐性的数据, 组间比较采用 Kruskal-Wallis 分析, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 分析; 存活率采用 fisher 确切概率检验。

3 结果

3.1 对存活率的影响 与空白组比较, 模型组 8 h 内小鼠存活率显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 联苯双酯组及金草消毒颗粒各剂量组均能提高 8 h 内小鼠存活率, 其中中剂量组和联苯双酯组差异具有统计学差异 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 金草消毒颗粒对 *D*-GalN/LPS 处理小鼠存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 1 Effect of Jincao Xiaodu granule on survival rate after end of treatment with *D*-GalN/LPS in mice ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	存活数/只					存活率/%
		给药前	2 h	4 h	6 h	8 h	
空白	-	20	20	20	20	20	100.0
模型	-	20	20	14	9	7	35.0 ¹⁾
联苯双酯	6.8	20	20	16	15	15	75.0 ²⁾
金草消毒颗粒	1 700	20	20	14	12	12	60.0
	3 400	20	20	16	15	15	75.0 ²⁾
	6 800	20	20	17	13	13	65.0

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对肝肾功能的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清 ALT,AST,TBIL,BUN,CREA 水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,联苯双酯组小鼠血清 ALT,AST,TBIL,BUN,CREA 水平均显著降低($P <$

$0.05, P < 0.01$);金草消毒颗粒各剂量组除低剂量组小鼠血清 ALT,CREA 水平下降不具统计学差异外,其他小鼠血清 ALT,AST,TBIL,BUN,CREA 水平均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 金草消毒颗粒对 D-GalN/LPS 处理小鼠肝肾功能的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Jincao Xiaodu granule on liver and renal functions after end of treatment with D-GalN/LPS in mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	TBIL/μmol·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	CREA/μmol·L ⁻¹
空白	-	20	51.50 ± 7.70 ¹⁾	101.20 ± 10.50 ¹⁾	1.44 ± 0.34 ¹⁾	7.52 ± 1.18 ¹⁾	15.45 ± 5.08 ¹⁾
模型	-	7	4 421.57 ± 1 517.94	4 255.57 ± 1 207.99	18.91 ± 2.25	16.53 ± 2.15	44.57 ± 5.44
联苯双酯	6.8	15	2 997.40 ± 1 318.17 ²⁾	2 217.07 ± 817.56 ³⁾	11.83 ± 2.55 ³⁾	12.55 ± 3.29 ²⁾	38.13 ± 4.41 ²⁾
金草消毒颗粒	1 700	12	3 171.58 ± 1 261.23	2 359.50 ± 676.79 ³⁾	13.83 ± 3.38 ³⁾	13.09 ± 2.25 ²⁾	40.33 ± 7.60
	3 400	15	2 758.80 ± 1 312.34 ²⁾	2 294.53 ± 894.32 ³⁾	13.85 ± 3.19 ³⁾	13.28 ± 2.18 ²⁾	38.73 ± 4.33 ²⁾
	6 800	13	2 904.92 ± 1 460.14 ²⁾	1 911.15 ± 1 023.00 ³⁾	12.62 ± 4.54 ³⁾	12.75 ± 2.52 ³⁾	36.54 ± 6.49 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 3,图 1 同)。

3.3 对抗炎和免疫功能的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清炎症指标 IL-1β,IL-6,TNF-α 水平显著升高($P < 0.01$),免疫功能指标 IgG 水平显著降低($P < 0.01$),IgM 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,联苯双酯组小鼠血清 IL-1β,IL-6,TNF-α

水平显著降低($P < 0.01$),IgG,IgM 水平显著升高($P < 0.01$);金草消毒颗粒各剂量组除低剂量组小鼠血清 IgG 水平升高不具统计学差异外,其他小鼠血清 IL-1β,IL-6,TNF-α 水平显著降低($P < 0.01$),IgG,IgM 水平显著升高($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 金草消毒颗粒对 D-GalN/LPS 处理小鼠抗炎和免疫功能的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Jincao Xiaodu granule on anti-inflammatory and immune function after end of treatment with D-GalN/LPS in mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	IL-1β/ng·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹	IgG/g·L ⁻¹	IgM/g·L ⁻¹
空白	-	20	29.48 ± 0.67 ¹⁾	18.46 ± 0.57 ¹⁾	60.56 ± 12.70 ¹⁾	0.53 ± 0.03 ¹⁾	0.15 ± 0.04 ¹⁾
模型	-	7	206.35 ± 27.05	100.36 ± 5.52	528.54 ± 30.92	0.42 ± 0.05	0.26 ± 0.03
联苯双酯	6.8	15	98.25 ± 7.51 ³⁾	47.79 ± 5.32 ³⁾	339.59 ± 54.26 ³⁾	0.52 ± 0.03 ³⁾	0.33 ± 0.03 ³⁾
金草消毒颗粒	1 700	12	140.42 ± 13.60 ³⁾	81.78 ± 6.01 ³⁾	390.00 ± 41.27 ³⁾	0.45 ± 0.03	0.31 ± 0.02 ³⁾
	3 400	15	114.19 ± 13.10 ³⁾	54.35 ± 7.03 ³⁾	422.45 ± 48.73 ³⁾	0.55 ± 0.03 ³⁾	0.34 ± 0.02 ³⁾
	6 800	13	97.50 ± 10.68 ³⁾	53.24 ± 8.17 ³⁾	345.26 ± 70.13 ³⁾	0.56 ± 0.04 ³⁾	0.35 ± 0.01 ³⁾

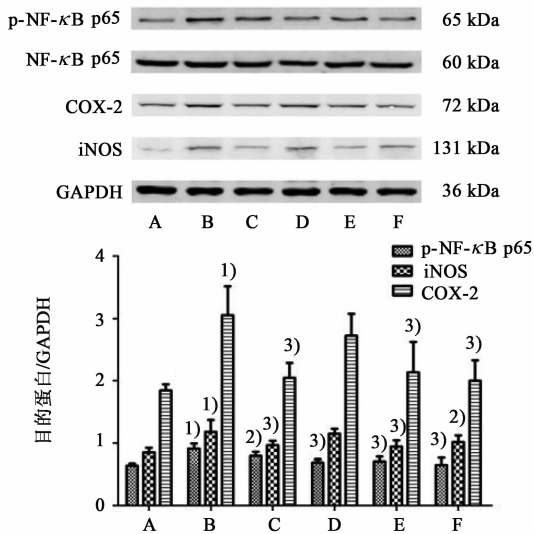
3.4 对肝组织 iNOS,COX-2,p-NF-κB p65 表达的影响 与空白组比较,模型组肝组织 iNOS,COX-2,p-NF-κB p65 表达均显著上调($P < 0.01$);与模型组比较,联苯双酯组肝组织 iNOS,COX-2,p-NF-κB p65 表达均显著下调($P < 0.05, P < 0.01$);金草消毒颗粒各剂量组除低剂量组肝组织 iNOS,COX-2 表达差异不显著外,其他小鼠肝组织 iNOS,COX-2,p-NF-κB p65 表达均显著下调($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 1。

3.5 对肝组织病理形态改变的影响 空白组,肉眼可见表面光滑,颜色暗红色、质地软脆,光镜下,肝小叶结构完整,肝索呈放射状排列,核圆形居中,中央静脉清晰;模型组,肉眼可见肝脏充血、坏死,质地变

软,颜色加深,光镜下,肝细胞核形不清晰,肝细胞空泡、肿胀、变性,呈中央静脉区弥漫性片状坏死。联苯双酯组和金草消毒颗粒各剂量组肝脏充血、坏死明显减轻,光镜下,肝细胞核形较圆而清晰,肝细胞空泡、肿胀、坏死明显改善,其中以金草消毒颗粒高剂量组改善最为明显。见图 2。

4 讨论

肝损伤发病机制复杂,涉及病毒感染、炎症介质损伤、免疫功能紊乱、自由基损伤等方面。中医药治疗肝损伤,具有毒副作用少,整体调理,可长期用药等特点,在肝损伤治疗上有着西药不可替代的独特疗效。金草消毒颗粒由肿节风、金钱草、白花蛇舌草、大青叶组成,方中肿节风能凉血、清热解毒、祛风



A. 空白组; B. 模型组; C. 联苯双酯 6.8 mg·kg⁻¹组; D. 金草消毒颗粒 1 700 mg·kg⁻¹组 E. 金草消毒颗粒 3 400 mg·kg⁻¹组; F. 金草消毒颗粒 6 800 mg·kg⁻¹组(图 2 同)

图 1 金草消毒颗粒对 *D*-GalN/LPS 处理小鼠肝组织 iNOS, COX-2, p-NF-κB p65 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Fig. 1 Effect of Jincao Xiaodu granule on expression of iNOS, COX-2 and p-NF-κB p65 in liver tissue in *D*-GalN/LPS treated Mice ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

依据^[17-20]。

内毒素血症是急性肝损伤的原因之一,伴有血清转氨酶和总胆红素的急剧上升,预后差,死亡率^[21]。本研究采用 *D*-GalN/LPS 建立急性肝损伤模型, *D*-GalN 作为增敏剂,可增强肝脏对 LPS 的敏感性。8 h 后,小鼠存活率降低,血清 ALT, AST, TBIL, BUN, CREA, IL-1β, IL-6, TNF-α 水平均显著升高,血清 IgG 水平显著降低,血清 IgM 水平应激性升高,肝组织 iNOS, COX-2, p-NF-κB p65 表达均显著上调,肝脏出现充血、坏死,质地变软,颜色加深,光镜下,肝细胞核形不清晰,肝细胞空泡、肿胀、变性,呈中央静脉区弥漫性片状坏死,说明 *D*-GalN/LPS 建立的急性肝损伤模型成功。

研究结果显示,金草消毒颗粒能有效提高 8 h 内小鼠存活率,显著降低血清 ALT, AST, TBIL, BUN, CREA, IL-1β, IL-6, TNF-α 水平,显著升高 IgG, IgM 水平,下调肝组织 iNOS, COX-2, p-NF-κB p65 表达,明显减轻肝脏充血、坏死,明显改善肝细胞形态结构。金草消毒颗粒防治肝损伤的机制可能与整体调理改善肝肾功能、抑制炎症介质的产生和损害、免疫调节作用有关,更深入的机制及作用有效成分的确,还有待进一步研究发现。

[参考文献]

[1] ZHANG X, DING J, GOU C, et al. Qingchangligan formula attenuates the inflammatory response to protect the liver from acute failure induced by *D*-galactosamine/lipopolysaccharide in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 201(11): 108-116.

[2] Bunchorntavakul C, Reddy K R. Acute liver failure [J]. Clin Liver Dis, 2017, 330(18): 1318-1319.

[3] Harrison P M, Keays R, Bray G P, et al. Improved outcome of paracetamol-induced fulminant hepatic failure by late administration of acetylcysteine [J]. Lancet, 1990, 335(8705): 1572-1573.

[4] Keays R, Harrison P M, Wendon J A, et al. Intravenous acetylcysteine in paracetamol induced fulminant hepatic failure: a prospective controlled trial [J]. BMJ, 1991, 303(6809): 1026-1029.

[5] 孙万良. EGCG 对大鼠放射性肺损伤的保护作用及机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2013.

[6] 熊耀斌, 傅纓, 俞红, 等. 草珊瑚液浸膏对肝纤维化大鼠的保护作用及其机制研究 [J]. 江西中医药大学学报, 2015, 27(1): 76-78.

[7] 万满华, 张书林, 黎昌茂, 等. 重用茵陈、虎杖、金钱草

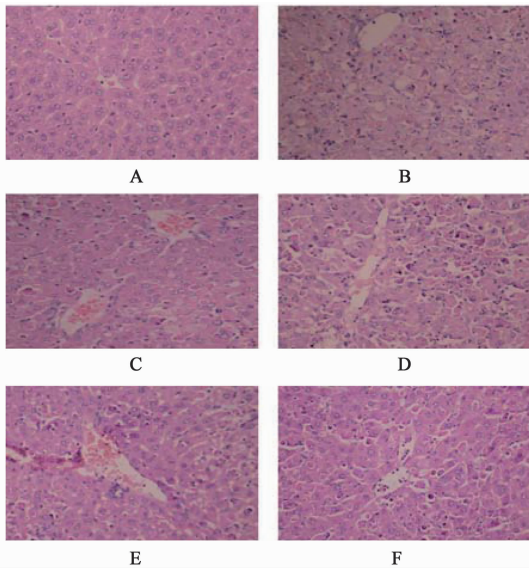


图 2 金草消毒颗粒对肝组织病理形态的影响 (HE, ×400)

Fig. 2 Effect of Jincao Xiaodu granule on pathological changes of the liver tissues (HE, ×400)

通络、活血散结; 金钱草, 能清热利尿、祛风止痛、止血生肌、消炎解毒、杀虫; 白花蛇舌草, 能清热解毒、消痛散结、利尿除湿; 大青叶, 能清热解毒, 凉血消斑, 4 药合用有清热解毒, 散结消肿之功效。近几年研究发现, 金草消毒颗粒 4 味组成药物均具有抗炎、抗病毒、抑菌作用, 为本方药效及机制研究提供理论

- 在肝炎退黄治疗中的疗效观察[J]. 中国医学创新, 2012, 9(6): 28-29.
- [8] 张彦兵, 朱娇, 肖菊香, 等. 白花蛇舌草总黄酮对 TGF- β_1 诱导的肝癌 MHCC97-H 细胞 EMT 的逆转作用及其机制[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2016, 37(2): 279-282.
- [9] 郎洁, 张培建. 板蓝根多糖对大鼠自体肝移植后一氧化氮和内皮素-1 的影响[J]. 军事医学, 2014, 38(10): 814-818.
- [10] Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, et al. Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS)-induced liver injury in *D*-galactosamine (*D*-GalN)-sensitized mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, 33(6): 798-806.
- [11] WEN C, CHAO H, WU L, et al. Rosmarinic acid inhibits inflammation and angiogenesis of hepatocellular carcinoma by suppression of NF- κ B signaling in H22 tumor-bearing mice [J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 132(2): 131-137.
- [12] 潘庆军, 朱学芝, 刘渊. LPS/*D*-GalN 诱发 NF- κ B 转基因小鼠急性致死性肝损伤模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(4): 1-5.
- [13] 崔东来, 马骊, 鲍启德, 等. 抑制 NF- κ B 活性可减轻 CCl₄ 诱导的小鼠急性肝损伤[J]. 河北医科大学学报, 2006, 27(2): 92-94.
- [14] 吴小红, 郭彦, 刘晨凤, 等. LPS/*D*-GalN 诱导小鼠急性肝损伤模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(3): 15-19.
- [15] TIAN Y, LI Z, SHEN B, et al. Protective effects of morin on lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver injury by inhibiting TLR4/NF- κ B and activating Nrf2/HO-1 signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 45(14): 148-155.
- [16] 张向颖, 勾春燕, 李丽, 等. 清肠利肝方对 *D*-氨基半乳糖/脂多糖所致急性肝衰竭小鼠的防护作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2017, 27(4): 225-227.
- [17] 郁建生. 草珊瑚注射液临床疗效观察[J]. 中国兽医杂志, 2007, 43(4): 44-45.
- [18] 卫文强, 吴润, 刘磊, 等. 4 味中草药的体外抗 TGEV 试验[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2015, 43(12): 23-28.
- [19] 杨俊, 许军, 刘燕华, 等. 白花蛇舌草抗乙肝病毒化合物体外筛选[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(6): 1402-1403.
- [20] 谷颖, 李丽, 王玉堃, 等. 10 种中药提取物体外抗传染性支气管炎病毒效果的研究[J]. 山东畜牧兽医, 2016, 37(11): 7-9.
- [21] 李江, 崔云, 张育才, 等. 内毒素对小鼠胆汁酸转运体 Ntcp mRNA 和 Bsep mRNA 表达及肝功能的影响[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(7): 767-772.

[责任编辑 邹晓翠]