

逍遥散防治雷公藤多苷致肝损伤的作用机制

李媛媛¹, 王一旭¹, 王浩¹, 张碧涛¹, 王少贤^{1,2*}, 李振彬^{2*}

(1. 河北中医学院, 石家庄 050200; 2. 中国人民解放军白求恩国际和平医院, 石家庄 050000)

[摘要] 目的: 观察逍遥散对雷公藤多苷连续灌胃5周所致大鼠肝损伤的防治作用。方法: 将31只SD大鼠随机分为4组, 分别为正常组、雷公藤多苷组、雷公藤多苷+逍遥散组(治疗组)、雷公藤多苷+逍遥散提前用药1周组(防治组)。雷公藤多苷按 $37.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药, 逍遥散(水煎剂)按 $19.270 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药。首先防治组每天上午8:00~9:00灌胃逍遥散, 其他组灌胃等体积生理盐水。1周后, 雷公藤多苷组每天上午8:00~9:00灌胃雷公藤多苷混悬液; 治疗组和防治组每天上午8:00~9:00灌胃逍遥散, 2 h后再灌胃雷公藤多苷混悬液, 给药持续5周。采用苏木素-伊红(HE)染色法观察肝组织病理形态学改变, 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测各组大鼠血清白细胞介素- 1β (IL- 1β), 白细胞介素-6(IL-6), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平, 化学法检测天门冬氨酸氨基转移酶(AST), 丙氨酸氨基转移酶(ALT), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px), 超氧化物歧化酶(SOD), 微量丙二醛(MDA)水平变化, 免疫组织化学染色观测肝组织IL-6, IL- 1β , TNF- α 阳性表达情况。结果: 与正常组比较, 雷公藤多苷组炎细胞浸润, 肝细胞水肿, 肝血窦受挤压变窄, 肝板变宽, 肝细胞出现明显坏死, 血清IL- 1β , IL-6, TNF- α , ALT, AST, MDA水平显著升高($P < 0.01$), GSH-Px, SOD水平明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肝组织IL-6, TNF- α , IL- 1β 阳性表达显著增强($P < 0.01$); 与雷公藤多苷组比较, 治疗组与防治组大鼠肝组织少部分炎细胞浸润, 水肿减轻, 部分细胞紊乱, 血清IL- 1β , IL-6, TNF- α , ALT, AST, MDA水平显著下降($P < 0.01$), GSH-Px, SOD水平明显升高($P < 0.05$), 肝组织IL-6, TNF- α , IL- 1β 阳性表达均显著减少($P < 0.01$), 且防治组疗效更好。结论: 逍遥散在一定程度上能明显缓解雷公藤多苷所致长期肝毒性, 且提前预防性给药效果更佳。

[关键词] 逍遥散; 雷公藤多苷; 肝损伤; 肝功能; 氧化损伤; 炎症因子

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)23-0076-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201909

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200725.1933.012.html>

[网络出版日期] 2020-7-27 11:27

Mechanism of Xiaoyaosan in Preventing and Treating Hepatic Injury Caused by Tripterygium Glycosides

LI Yuan-yuan¹, WANG Yi-xu¹, WANG Hao¹, ZHANG Bi-tao¹, WANG Shao-xian^{1,2*}, LI Zhen-bin^{2*}

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China;

2. Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Bethune International Peace Hospital, People's Liberation Army, Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the preventive and therapeutic effects of 5-week administration with Xiaoyaosan on rat liver injury caused by tripterygium Glycosides. **Method:** Thirty-one SD rats were randomly divided into 4 groups, namely normal group, tripterygium glycosides group, tripterygium glycosides+Xiaoyaosan group (treatment group), and tripterygium glycosides+Xiaoyaosan for 1 week in advance group (prevention group). Tripterygium glycosides ($37.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) was administered intragastrically, and Xiaoyaosan

[收稿日期] 20200511(027)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81873301); 河北中医学院2020年研究生创新资助立项项目(XCZZSS2020017)

[第一作者] 李媛媛, 在读硕士, 从事中医药基础与临床研究, E-mail: 2623553329@qq.com

[通信作者] * 王少贤, 博士, 教授, 从事中医药基础与临床研究, E-mail: muhudie@163.com;

* 李振彬, 博士, 教授, 主任医师, 从事中医药基础与临床研究, Tel: 0311-87978402, E-mail: lizhenbin1962@126.com

(water decoction, $19.270 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) was administered intragastrically. First, the rats of prevention group were intragastrically administrated with Xiaoyaosan at 8:00-9:00 am, and the rats of other groups were given an equal volume of normal saline. After 1 week, the rats of tripterygium glycosides group were administered intragastrically with tripterygium glycosides suspension at 8:00-9:00 am. The rats of the treatment group and the prevention group were intragastrically administrated with Xiaoyaosan at 8:00-9:00 am, and then tripterygium glycosides suspension 2 hours later. All the drugs were given once a day for 5 weeks. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of liver, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum interleukin- 1β (IL- 1β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), chemical method was used to detect the content changes of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), trace malondialdehyde (MDA). Immunohistochemical staining was used to observe the expressions of IL-6, IL- 1β and TNF- α in liver tissue. **Result:** Compared with the normal group, the tripterygium glycosides group showed inflammatory cell infiltration, hepatocyte edema, hepatic sinusoids squeezing and narrowing, liver plate widening, and liver cell necrosis, the contents of serum IL- 1β , IL-6, TNF- α , ALT, AST and MDA were significantly increased ($P<0.01$), but the contents of GSH-Px and SOD were decreased significantly ($P<0.05$, $P<0.01$), while the positive expressions of IL-6, TNF- α , IL- 1β in liver tissue were significantly increased ($P<0.01$). Compared with tripterygium glycosides group, rats in the treatment group and the prevention group had less inflammatory cells infiltration and reduced edema in the liver tissue, and disorders in some cell, the contents of serum IL- 1β , IL-6, TNF- α , ALT, AST, MDA were significantly decreased ($P<0.01$), the contents of GSH-Px and SOD were significantly increased ($P<0.05$), and the positive expressions of IL-6, TNF- α , IL- 1β in liver tissues were significantly decreased ($P<0.01$), with a better efficacy in the prevention group. **Conclusion:** Xiaoyaosan can obviously alleviate the long-term liver toxicity caused by tripterygium polyglycoside to a certain extent, with a better prophylactic effect.

[Key words] Xiaoyaosan; tripterygium glycosides; liver injury; liver function; oxidative damage; inflammatory factors

雷公藤为卫矛科藤属植物雷公藤的根,性苦寒,有大毒^[1]。雷公藤多苷是从雷公藤提取精制而成的一种脂溶性混合物,对于治疗类风湿性关节炎、肾病综合征等自身免疫性疾病效果显著,但其存在的毒副作用,使其临床应用受到极大限制。雷公藤容易引发肝、肾、生殖、消化系统的不良反应^[2],其中肝毒性发生率占40%^[3]。雷公藤用量与不良反应发生率呈正相关,文献分析雷公藤所致肝毒性与其用药量过大和长期累积用量过大密切相关^[4]。虽然现代研究提前给予CYP3A诱导剂地塞米松、甘草酸、槲皮素、京尼平苷后,可降低肝脏血清转氨酶及炎症因子,上调超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽(GSH),下调丙二醛(MDA),从而保护肝脏^[5-8],但其临床应用较局限。出现肝损伤时,仍以减少药量或停药为主,较为严重则进行常规保肝治疗^[9-10]。

中医学认为,此类肝损伤为外来药毒入侵机体,脏腑功能失调,导致肝失疏泄,脾失健运,临床上主要表现为乏力、恶心呕吐、厌食厌油、肝脏

肿大、肝部压痛、黄疸等,病理可见肝脂肪病变,细胞排列紊乱,肝细胞凋亡、坏死与水肿^[11-12]。中药保肝解毒颗粒、四逆散、逍遥散等对雷公藤多苷所致大鼠、小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用^[13-15],但对其护肝解毒,长期应用防治雷公藤肝毒性的研究目前尚还不足。

逍遥散出自《太平惠民和剂局方》,主治肝郁血虚、脾失健运之证^[16],为中医疏肝健脾名方,在临床治疗肝脏疾病方面疗效显著。本研究连续灌服5周雷公藤多苷制备长期肝损伤大鼠模型,以逍遥散进行干预,观察各组大鼠肝损伤的病理改变,肝功指标天门冬氨酸氨基转移酶(AST),丙氨酸氨基转移酶(ALT),抗氧化指标谷胱甘肽(GSH-Px),SOD,MDA及炎症因子白细胞介素(IL)- 1β ,IL-6,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)变化,旨在探讨逍遥散对雷公藤多苷所致长期肝损伤的防治效果。

1 材料

1.1 动物 由北京维通利华实验动物技术有限

公司提供的清洁级SD雄性大鼠,31只,体质量(110±10)g,合格证号SCXK(京)2016-0006。实验经河北中医学院伦理委员会批准,符合国家对医学实验动物的相关要求(审查报告编号DWLL2018033),清洁级动物房饲养。

1.2 药物与试剂 雷公藤多苷(南京泽朗生物科技有限公司,批号ZL20181229);逍遥散:北柴胡30g,白芍30g,当归30g,白术30g,茯苓30g,炙甘草15g,薄荷10g,煨姜10g(北京同仁堂饮片有限责任公司,批号分别为050190901,015190901,A190028001,20190602,20191001,20191224,20190111,20190514;经河北中医学院中药学院张一昕教授鉴定质量合格);TNF- α ,IL-1 β ,IL-6酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒,兔多克隆TNF- α 抗体,兔多克隆IL-1 β 抗体,小鼠IL-6单克隆抗体(美国Abcam公司,批号分别为ab46070,ab100767,ab119548,ab6671,ab9722,ab9324);免疫组化试剂盒(德国Vector公司,批号PK-4001/2);ALT,AST试剂盒(贝克曼库尔特实验系统有限公司,批号分别为AUZ3689,AUZ3645);MDA,SOD,GSH-Px试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号均为20190525);苏木素-伊红(HE)染色试剂(珠海贝索生物技术有限公司,批号BA-4097)。

1.3 仪器 3K15型离心机(美国Sigma公司);RM2245型石蜡切片机(德国Leica公司);BX53型显微镜(日本Olympus公司);384Plus型酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司)。

2 方法

2.1 雷公藤多苷致肝损伤动物模型制备 参考文献[17-20],给大鼠灌服雷公藤多苷,用量 $37.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (按体质量折算系数6.25,正常人最大用药量 $1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 进行计算,4倍量用药),连续给药5周。在第4周随机选取2只大鼠,取肝组织,HE染色显示大鼠肝组织已出现炎细胞浸润,肝细胞水肿,肝血窦变窄,肝细胞坏死,表明雷公藤多苷致肝损伤模型造模成功。

2.2 分组及给药 将31只清洁级SD大鼠,随机进行分组,分别为正常组($n=6$),雷公藤多苷组($n=9$),逍遥散组(治疗组, $n=8$)和逍遥散提前用药1周组(防治组, $n=8$)。雷公藤多苷按 $37.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药;参考文献[21-23],逍遥散(水煎剂)按 $19.270\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药(按照体质量折算系数6.25,正常人每天生药用量进行计算),每天1次,正常组灌胃等体积生理盐水,每天1次。第1周,防治组于

每天上午8:00~9:00灌胃逍遥散水煎液,其他组分别进行等体积生理盐水灌服。1周后,正常组每天上午8:00~9:00灌胃生理盐水;雷公藤多苷组每天上午8:00~9:00灌胃雷公藤多苷混悬液;治疗组和防治组于每天上午8:00~9:00灌胃逍遥散,2h后灌胃雷公藤多苷混悬液,给药持续5周。

2.3 样品制备及指标检测 末次给药后禁食24h,10%浓度水合氯醛($3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)麻醉大鼠,股动脉取血, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20min提取血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用;每只大鼠于肝大叶边缘处取等体积肝组织,置于4%多聚甲醛固定。

2.3.1 HE染色观察肝组织病理形态学改变 将肝组织置于4%多聚甲醛固定,脱水,石蜡包埋,切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,苏木素染色,水洗,盐酸乙醇分化,水洗蓝化,伊红染色,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,显微镜观察。

2.3.2 ELISA检测血清TNF- α ,IL-1 β ,IL-6水平 测定 ELISA测定各组大鼠血清TNF- α ,IL-1 β ,IL-6水平,严格按照试剂盒说明进行操作。

2.3.3 血清ALT,AST,GSH-Px,SOD,MDA水平测定 乳酸脱氢酶法测定ALT,苹果酸脱氢酶法测定AST,比色法定量测定GSH-Px,水溶性四氮唑(WST-1)法测定SOD,硫代巴比妥酸(TBA)法测定MDA,严格按照试剂盒说明进行操作。

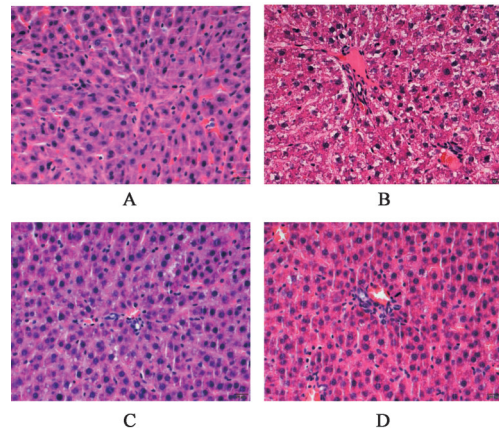
2.3.4 免疫组化测定肝组织TNF- α ,IL-1 β ,IL-6阳性表达 进行免疫组化染色,肝组织石蜡切片,经二甲苯、梯度乙醇常规脱蜡, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS缓冲液洗片3次,每次5min; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸钠缓冲液加热至沸腾,修复15min,然后 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS洗片2次,每次5min,3% H_2O_2 浸泡15min,以消除内源性过氧化物酶;擦去多余磷酸盐缓冲液(PBS),1.5%羊血清封闭,孵育10min,加一抗(TNF- α 1:100,IL-1 β 1:200,IL-6 1:500),湿盒孵育,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS洗片3次,每次3~5min,加入山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(H+L)生物素标记的二抗(浓度1:200),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30min,然后 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS洗涤3次,每次5min,加入AB反应液(1:100),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30min; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS洗片3次,每次5min,滴加DAB约3min,水洗3~5min,苏木素染色10min,去离子水洗片5min,盐酸乙醇分化1~2s,去离子水洗片2min;乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,干燥,显微镜观察。采用Image-Pro Plus6.0进行阳性细胞表达数及总积分吸光度IA分析。

2.4 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件,数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,数据满足正态分布采用单因素方差分析,方差齐组间比较采用LSD法,方差不齐组间比较采用Tamhane's $T_2(M)$ 法,数据不满足正态分布采用非参数检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对肝损伤大鼠肝组织病理形态学影响 正常组大鼠肝细胞形态正常,排列整齐,细胞结构清晰,有少部分炎细胞出现。雷公藤多苷组炎细胞浸润,肝细胞水肿,肝血窦受挤压变窄,肝板变宽,肝细胞出现明显坏死。治疗组和防治组与雷公藤多苷组比较,少部分炎细胞浸润,水肿减轻,部分细胞紊乱。防治组与治疗组比较,细胞紊乱数目、炎细胞数量减少,接近正常组的肝细胞形态。见图1。

3.2 对肝损伤大鼠血清TNF- α , IL-1 β , IL-6含量的影响 与正常组比较,雷公藤多苷组大鼠血清TNF- α , IL-1 β , IL-6含量显著升高($P<0.01$);与雷公



A. 正常组; B. 雷公藤多苷组; C. 治疗组; D. 防治组(图2同)

图1 逍遥散对肝损伤大鼠肝组织病理形态学影响(HE, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of Xiaoyaosan on pathological changes of liver tissue in rats with liver injury(HE, $\times 400$)

藤多苷组比较,治疗组和防治组血清TNF- α , IL-1 β , IL-6含量显著降低($P<0.01$);防治组和治疗组血清各项指标对比在差异无明显统计学意义。见表1。

表1 逍遥散对肝损伤大鼠血清TNF- α , IL-1 β , IL-6含量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常	-	6	4.178 \pm 2.691	15.492 \pm 4.853	10.290 \pm 4.471
雷公藤多苷	0.037 5	9	13.756 \pm 2.363 ¹⁾	54.198 \pm 12.748 ¹⁾	24.804 \pm 4.235 ¹⁾
治疗	19.27	8	9.527 \pm 3.696 ²⁾	38.993 \pm 11.456 ²⁾	16.511 \pm 5.417 ²⁾
防治	19.27	8	9.707 \pm 3.182 ²⁾	35.769 \pm 11.199 ²⁾	14.276 \pm 7.007 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与雷公藤多苷组比较²⁾ $P<0.01$ (表2,5同)。

3.3 对肝损伤大鼠血清AST, ALT水平的影响 与正常组比较,雷公藤多苷组大鼠血清AST, ALT水平显著升高($P<0.01$);与雷公藤多苷组比较,治疗组和防治组AST, ALT水平均显著降低($P<0.01$)。见表2。

表2 逍遥散对肝损伤大鼠血清AST, ALT的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Xiaoyaosan on serum AST and ALT of rats with liver injury ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AST	ALT
正常	-	57.915 \pm 24.003	10.162 \pm 4.243
雷公藤多苷	0.037 5	183.583 \pm 28.868 ¹⁾	31.307 \pm 5.182 ¹⁾
治疗	19.27	86.892 \pm 20.234 ²⁾	20.293 \pm 1.875 ²⁾
防治	19.27	84.200 \pm 16.614 ²⁾	17.570 \pm 3.095 ²⁾

3.4 对肝损伤大鼠血清GSH-Px, SOD, MDA水平的影响 与正常组比较,雷公藤多苷组大鼠血清GSH-Px, SOD的水平明显降低,MDA水平明显升高($P<0.05, P<0.01$);与雷公藤多苷组比较,治疗组

和防治组大鼠血清GSH-Px, SOD水平明显升高,MDA的含量明显降低,差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。见表3。

3.5 对肝损伤大鼠肝组织TNF- α , IL-1 β , IL-6表达的影响 与正常组比较,雷公藤多苷组大鼠肝组织TNF- α , IL-6, IL-1 β 阳性表达细胞数及总IA显著升高($P<0.01$);与雷公藤多苷组比较,治疗组和防治组TNF- α , IL-6, IL-1 β 阳性表达细胞数及总IA显著降低($P<0.01$);与治疗组比较,防治组IL-6阳性表达细胞数及总IA显著降低($P<0.01$),差异有统计学意义。见图2,表4,5。

4 讨论

AST, ALT是评价肝脏功能及肝脏损伤的常见检测指标^[24-25],大量临床报道和实验研究表明,AST, ALT水平越高,中药的肝毒性损伤越强^[26]。IL-1 β , IL-6, TNF- α 是炎症反应的敏感指标,炎症因子的大量聚集会损伤肝脏,促使肝细胞坏死和凋亡。有研究表明, TNF- α 的降低可以减轻肝细胞的

表3 逍遥散对肝损伤大鼠血清GSH-Px, SOD, MDA的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Xiaoyaosan on serum GSH-Px, SOD, MDA of rats with liver injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	GSH-Px/μmol·L ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/μmol·L ⁻¹
正常	-	6	418.200±62.046	172.500±22.627	6.233±0.473
雷公藤多苷	0.037 5	9	356.611±31.912 ¹⁾	135.600±29.410 ²⁾	8.828±1.246 ²⁾
治疗	19.27	8	407.363±57.818 ³⁾	158.575±8.471 ³⁾	6.953±0.519 ⁴⁾
防治	19.27	8	439.825±43.982 ³⁾	162.875±11.648 ³⁾	6.658±0.615 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与雷公藤多苷组比较³⁾P<0.05,⁴⁾P<0.01。

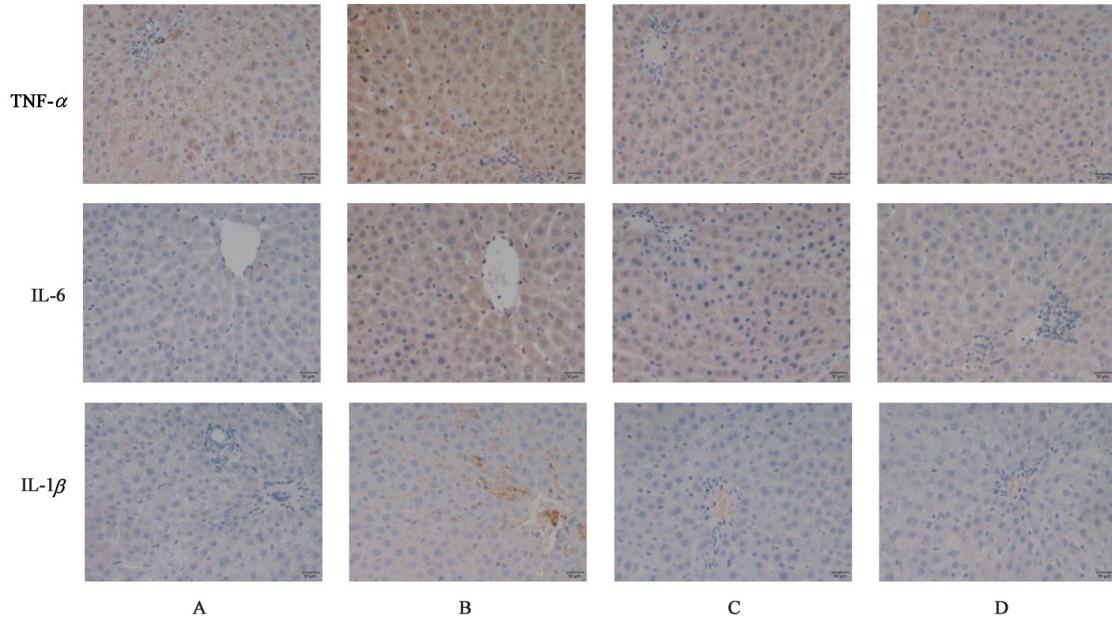


图2 逍遥散对肝损伤大鼠肝组织TNF-α, IL-6, IL-1β表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 2 Effect of Xiaoyaosan on expression of TNF-α, IL-6 and IL-1β in rats with liver injury(IHC, ×400)

表4 逍遥散对肝损伤大鼠肝组织TNF-α, IL-6, IL-1β阳性细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Xiaoyaosan on TNF-α, IL-6 and IL-1β positive cells in rats with liver injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	TNF-α	IL-6	IL-1β
正常	-	6	11.333±1.366	6.500±0.548	8.500±1.517
雷公藤多苷	0.037 5	9	23.556±1.509 ²⁾	20.667±2.500 ²⁾	17.444±2.789 ²⁾
治疗	19.27	8	16.375±1.768 ³⁾	10.500±1.773 ³⁾	12.500±2.204 ³⁾
防治	19.27	8	14.500±3.071 ³⁾	6.875±1.246 ^{3,4)}	11.750±1.581 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与雷公藤多苷组比较³⁾P<0.01;与治疗组比较⁴⁾P<0.01。

表5 逍遥散对肝损伤大鼠肝组织TNF-α, IL-6, IL-1β IA的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of Xiaoyaosan on IA of TNF-α, IL-6 and IL-1β in rats with liver injury ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	TNF-α	IL-6	IL-1β
正常	-	6	33.622±9.005	5.208±2.294	5.578±2.756
雷公藤多苷	0.037 5	9	110.498±15.590 ¹⁾	23.200±4.412 ¹⁾	10.651±2.842 ¹⁾
治疗	19.27	8	47.315±10.178 ²⁾	7.478±2.498 ²⁾	6.749±1.815 ²⁾
防治	19.27	8	27.422±11.937 ²⁾	6.367±3.314 ²⁾	6.144±2.169 ²⁾

坏死和凋亡,减少中性粒细胞的募集和淋巴细胞浸润,继而保护肝脏^[27]。GSH-Px, SOD, MDA是体内脏器关于氧化应激与氧化损伤的重要指标。当肝

细胞持续受损时,伴随不同程度的氧化损伤, GSH-Px, SOD清除自由基能力下降,过氧化物MDA水平增高,机体氧化与抗氧化之间失衡,从而

肝细胞损伤持续加重。本实验结果提示,给正常大鼠灌胃5周雷公藤多苷,可致肝组织出现明显病理改变,血清AST,ALT水平升高,GSH-Px,SOD水平降低而MDA升高,血清和肝组织TNF- α ,IL-1 β ,IL-6表达水平均显著增加。表明雷公藤多苷能够造成一定程度的肝损伤,且炎症损伤与氧化损伤并存。

雷公藤多苷的肝毒性极大的限制了其临床应用,如何减毒不减效或减毒增效是临床亟待解决的问题。中医治疗肝病具有多靶点、多层次、多途径的特点,其临床效果明显,这无疑为解决这个问题提供了很好的思路及方法。

众多研究表明,逍遥散在治疗肝病上效果显著。张辉凯等^[28]研究显示,逍遥散能明显改善肝纤维化模型大鼠肝功能(降低AST,ALT水平);柴智等^[15]研究逍遥散可明显降低雷公藤水煎剂致急性肝损伤大鼠模型肝脏指数和血清AST,ALT水平;刘杨等^[29]研究发现,逍遥散可以明显减轻非酒精性脂肪肝模型大鼠的脂肪性病变及炎性细胞浸润程度;乔欢等^[30]的实验研究证明,雷公藤加高剂量逍遥散可对抗雷公藤致胶原免疫性关节炎大鼠的肝损伤。

实验研究表明,逍遥散能明显缓解雷公藤多苷长期用药所致大鼠肝脏病理、肝功能及氧化损伤,降低血清和肝组织炎症因子TNF- α ,IL-1 β ,IL-6表达水平,且提前1周预防用药病理改变最轻,可明显降低肝组织IL-6阳性细胞表达。说明逍遥散护肝解毒效果良好,其作用机制可能与降低AST,ALT水平,下调TNF- α ,IL-1 β ,IL-6,MDA表达及上调GSH-Px,SOD水平相关,且提前给药进行预防效果更好。

[参考文献]

[1] 钟赣生. 中药学[M]. 9版. 北京:中国中医药出版社,2012:177-178.

[2] 李逸群,胡瑞学,贾可欣,等. 雷公藤多苷(甙)片治疗类风湿关节炎的安全性系统评价[J]. 中国中药杂志,2020,45(4):775-790.

[3] 田雅格,苏晓慧,刘立玲,等. 近20年来雷公藤肝毒性研究概述[J]. 中国中药杂志,2019,44(16):3399-3405.

[4] 黄妮,刘钟颖,张珍花,等. 雷公藤中毒原因及减毒方法文献分析[J]. 亚太传统医药,2016,12(21):48-51.

[5] YE X C, LI W Y, YAN Y, et al. Effects of cytochrome P4503A inducer dexamethasone on the metabolism and

toxicity of triptolide in rat[J]. Toxicol Lett, 2010, 192(2):212-220.

[6] TAI T, HUANG X, SU Y W, et al. Glycyrrhizin accelerates the metabolism of triptolide through induction of CYP3A in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 152(2):358-363.

[7] WANG J M, MIAO M S, ZHANG Y Y, et al. Quercetin ameliorates liver injury induced with Tripterygium glycosides by reducing oxidative stress and inflammation [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2015, 93(6):427.

[8] WANG J M, MIAO M M, QU L B, et al. Protective effects of geniposide against Tripterygium glycosides (TG)-induced liver injury and its mechanisms [J]. J Toxicol Sci, 2016, 41(1):165-173.

[9] 杨冬梅,刘俊. 雷公藤多苷临床应用及不良反应的研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2018,38(20):2185-2190.

[10] 李金洋,李军,王君明,等. 雷公藤多苷致肝毒及其减毒的研究进展[J]. 中国老年学杂志,2016,36(17):4359-4361.

[11] 王晓东,叶桃,金城,等. 雷公藤多苷肝毒性血清药物化学的初步研究[J]. 中国现代中药,2017,19(3):362-371.

[12] 柴智,周文静,高丽,等. 雷公藤肝毒性及其作用机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):243-246.

[13] 禄保平,彭勃,李建国,等. 保肝解毒颗粒对3种急性肝损伤模型小鼠IL-18及细胞凋亡影响的比较[J]. 新中医,2009,41(9):96-98.

[14] 柴智,樊慧杰,王永辉,等. 四逆散对雷公藤多苷所致急性肝损伤的影响[J]. 世界中西医结合杂志,2012,7(2):120-123.

[15] 柴智,樊慧杰,周文静,等. 逍遥散对雷公藤致急性肝损伤大鼠肝脏组织Bcl-2、Bax蛋白表达及Caspase-3活性的影响[J]. 中医杂志,2018,59(15):1328-1331.

[16] 许济群. 方剂学[M]. 5版. 上海:上海科学技术出版社,1985:50-51.

[17] 柴智,樊慧杰,王永辉,等. 逍遥散对雷公藤致大鼠急性肝损伤的防治作用研究[J]. 世界中西医结合杂志,2014,9(1):27-29,49.

[18] 杨雪. 雷公藤多苷致大鼠肝损伤“时-效关系”的免疫毒理机制研究[D]. 成都:成都中医药大学,2007.

[19] 刘立玲,田雅格,苏晓慧,等. 雷公藤多苷片和雷公藤片对CIA模型大鼠干预的量毒效比较研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(16):3502-3511.

[20] 刘乐. 雷公藤不同时间给药对胶原诱导关节炎大鼠肝功能损伤的探讨[D]. 唐山:华北理工大学,2017.

- [21] 赵丹,王少贤,梁文杰,等.慢性应激模型大鼠体重、摄食变化与粪便代谢物的相关性研究[J].中国病理生理杂志,2019,35(7):1302-1309.
- [22] 张宁,杨祎楠,刘海洋,等.逍遥散干预肝损伤小鼠的代谢组学研究[J].中成药,2014,36(1):171-175.
- [23] 陈曦,夏珂,张宁,等.昼夜给予逍遥散对慢性肝损伤大鼠的保护作用[J].中药药理与临床,2010,26(6):3-5.
- [24] 林伟华,陈华英.ALT、AST、GGT、CHE在肝病中的诊断价值[J].现代临床医学生物工程学杂志,2005,11(3):232-233.
- [25] 蔡昕,覃仁武,刘玉青,等.桂枝通过调控FXR通路改善ANIT诱导的肝内胆汁淤积大鼠模型的机制研究[J].中国中药杂志,2019,44(12):2594-2599.
- [26] 孙蓉,杨倩,黄伟,等.肝功能相关指标在中药肝毒性损伤中作用与毒性相关程度分析[J].中药药理与临床,2008,24(6):82-84.
- [27] 杨勇进,张翠萍,张民生,等.牡蛎提取物对酒精性肝损伤大鼠IL-17与TNF- α 的影响[J].世界华人消化杂志,2011,19(2):177-180.
- [28] 张辉凯,罗宏伟,孟祥林,等.逍遥散对肝纤维化模型大鼠肝功能、肝纤维化指标的影响[J].中医学报,2019,34(2):324-327.
- [29] 刘杨,李明磊,贾飞,等.逍遥散对非酒精性脂肪性肝炎肝郁脾虚证大鼠TLR-4/TRIF信号转导通路的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(17):108-113.
- [30] 乔欢,闫润红.雷公藤和雷公藤加逍遥散对CIA大鼠模型的抗炎作用及肝损伤情况的对比研究[J].世界中西医结合杂志,2017,12(3):357-360.

[责任编辑 周冰冰]