

# 逍遥散对雷公藤致大鼠肝损伤的预防作用及机制探讨

柴智, 樊慧杰, 王永辉, 李彦艳, 周然\*  
(山西中医学院, 太原 030024)

**[摘要]** 目的: 研究逍遥散对雷公藤水煎剂致大鼠急性肝损伤的预防作用及其作用机制。方法: 60 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、甘利欣( $0.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )对照组、逍遥散低、中、高剂量组(生药量 3.38, 6.75, 13.50  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。除正常组外, 分别以相应剂量药物连续 ig 4 d, 再以雷公藤水煎剂(生药量 3.75  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ig 4 d 造模。处死大鼠, 计算肝指数, 检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)的活力, 做肝脏病理学检查, 并测定肝匀浆上清白细胞介素  $1\beta$ (IL- $1\beta$ ) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 的含量。结果: 与正常组比较, 模型组大鼠的肝指数及血清 ALT, AST 的活力明显升高 ( $P < 0.01$ ), 肝组织病理改变明显 ( $P < 0.05$ ), 肝匀浆上清 IL- $1\beta$ , TNF- $\alpha$  的含量明显升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 逍遥散各组 and 甘利欣组大鼠的肝指数、血清 ALT 和 AST 的活力、肝组织病理损伤程度及肝匀浆上清 IL- $1\beta$ , TNF- $\alpha$  的含量均明显降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论: 雷公藤所致大鼠急性肝损伤与其引起炎症因子 IL- $1\beta$ , TNF- $\alpha$  释放增加进而形成炎症损伤有关, 逍遥散可通过抑制 IL- $1\beta$ , TNF- $\alpha$  的释放而对雷公藤致大鼠急性肝损伤起到预防作用。

**[关键词]** 雷公藤; 逍遥散; 肝损伤; 预防作用

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0175-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013230175

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130924.1445.014.html>

**[网络出版时间]** 2013-09-24 14:45

## Preventive Effect and Mechanism of Xiaoyao San on Liver Injury Induced by *Tripterygium wilfordii*

CHAI Zhi, FAN Hui-jie, WANG Yong-hui, LI Yan-yan, ZHOU Ran\*  
(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

**[收稿日期]** 20130728(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(30873433); 山西省青年科技研究基金项目(2012021031-6); 山西省高校科技开发项目(20101106)

**[第一作者]** 柴智, 博士, 讲师, 从事方剂效用及其物质基础研究, Tel:0351-2272241, E-mail: chaizhi008@126.com

**[通讯作者]** \*周然, 博士, 教授, 博士生导师, 从事方剂效用及其物质基础研究, Tel:0351-2272390, E-mail: zhour58@sohu.com

- [2] 闫晨, 马德邻, 朱金墙. 脑缺血再灌注神经元损伤机制研究进展[J]. 天津中医, 2012, 29(5): 510.
- [3] 王钊, 黄雨蒙. 氧化应激与脑缺血-再灌注损伤[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2012, 32(4): 343.
- [4] 黎巍威, 王学美. PC12 细胞作为氧化应激细胞模型的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(11): 1575.
- [5] R. I. 弗雷谢尼. 动物细胞培养—基本技术指南[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 490.
- [6] 马舒伟, 王丽艳, 张文治, 等. 银杏内酯 N 对 PC12 细胞缺血性损伤的保护作用[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(9): 2409.
- [7] 吴玉林, 杨政. MCI-186 对  $\text{H}_2\text{O}_2$  所致 PC12 细胞氧化应激损伤及细胞内活性氧的影响[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(6): 565.
- [8] 温旭敏, 魏涛, 白利萍, 等. 川芎嗪对  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导 PC12 细胞凋亡的保护作用研究[J]. 中国药物与临床, 2013, 13(1): 25.
- [9] 张鑫. 细胞中活性氧的荧光探针检测法研究进展[J]. 现代预防医学, 2010, 37(22): 4316.
- [10] 陶移文, 刘建文, 魏东芝, 等. 胡黄连苷-II 在体外对 PC12 神经细胞损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2003, 8(1): 27.

[责任编辑 聂淑琴]

**[ Abstract ] Objective:** To study the preventive effect and mechanism of Xiaoyao San on rat acute liver injury induced by *Tripterygium wilfordii*. **Method:** Sixty rats were randomly divided into control group, *T. wilfordii* model group, ganlixin group, low-dose, medium-dose and high-dose groups of Xiaoyao San. Each group was respectively fed with the corresponding dose of drug for 4 days and then fed with decoction of *T. wilfordii* for 4 days to make the model except control group. Liver indexes was calculated, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  were measured, and liver pathology was detected. **Results:** Compared with control group, liver indexes, ALT, AST, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in model group were significantly increased, and significant pathological changes of liver tissue were found ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with model group, all doses group of Xiaoyao San and ganlixin group could effectively decrease liver indexes, ALT, AST, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and pathological changes of liver tissue ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with ganlixin group, liver indexes, ALT, AST, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and pathological changes of liver tissue of all doses group of Xiaoyao San was not significantly different. **Conclusion:** *T. wilfordii*-induced acute liver injury is associated with inflammatory injury via IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ . Xiaoyao San can protect the liver injury induced by *T. wilfordii* by inhibiting inflammatory injury.

**[ Key words ]** *Tripterygium wilfordii*; Xiaoyao San; liver injury; preventive effect

雷公藤系卫矛科雷公藤属一年生藤本植物,又名断肠草、黄藤根等<sup>[1]</sup>。中医认为该药性辛、凉,味苦,有大毒,归肝、肾经,具有祛风除湿,活血通络,消肿止痛,杀虫解毒等功效。雷公藤在临床上治疗类风湿性关节炎、慢性肾炎、系统性红斑狼疮等疾病效果显著<sup>[2-3]</sup>,但同时表现出明显的毒副作用,其所致肝损伤在相关文献报道中居单味肝损伤中药的首位<sup>[4]</sup>,这给其临床应用带来很大阻力,所以对雷公藤减毒方面的研究就显得非常重要<sup>[5]</sup>,有必要深入研究雷公藤的肝损伤机制,进而采取有效的措施进行毒性干预。本实验欲观察雷公藤对肝脏是否存在炎症损伤机制,逍遥散是否可以通过抑制炎症损伤而达到保护肝脏的作用,以期进一步阐明雷公藤所致急性肝损伤的发生机制及逍遥散的保护作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体重(110 $\pm$ 10)g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2009-0004。在室温(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、湿度 45%~55%环境中雌雄分笼饲养,按昼夜节律自然照明,自由进食进水,适应性饲养 1 周后备用。

**1.2 药物** 雷公藤 *Tripterygium wilfordii* 药材产于江西九江,经山西省药品检验所主管药师史宪海鉴定为正品,将雷公藤粉碎后称取细粉,10 倍量的水浸泡 0.5 h 后煎煮,大火煎开后小火再煎煮 0.5 h,取水煎液,而后加水再煎如上法,合并水煎液,浓缩并减压蒸干为粉末备用(1 g 药粉含生药量 6.5 g)。

逍遥散(由柴胡 30 g,当归 30 g,白芍 30 g,白术 30 g,茯苓 15 g,炙甘草 15 g,生姜 10 g,薄荷 10 g 组成)购自北京同仁堂饮片有限责任公司,经山西省药品检验所主管药师史宪海鉴定为正品,煎煮方法同雷公藤,将水煎液浓缩并减压蒸干为粉末备用(1 g 药粉含生药量 4.5 g)。甘利欣胶囊(江苏正大天晴药业股份有限公司,批号 040801)。所有药物 ig 时均用蒸馏水配制成实验所需浓度的混悬液。

**1.3 仪器与试剂** SpectraMax 190 型全波长酶标仪(美国 MD 公司),USA1489-2010 型全自动生化分析仪(西门子医疗诊断有限公司),3k30 型台式高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司)。丙氨酸转氨酶(ALT)试剂盒(批号 C009)、天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒(批号 C010)均购自南京建成生物工程研究所,白细胞介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )ELISA 检测试剂盒(批号 EK0393)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )ELISA 检测试剂盒(批号 EK0527)均购自武汉博士德生物工程有限公司。

## 2 方法

**2.1 分组及给药** 60 只 SD 大鼠,雌雄各半,随机分为 6 组,分别为正常组,模型组,甘利欣对照组,逍遥散低、中、高剂量组。逍遥散低、中、高剂量组分别按生药剂量 3.38,6.75,13.50 g $\cdot$ kg<sup>-1</sup> ig 给药(按成人用量换算成大鼠等效剂量作为低剂量组),每天 1 次,连续 4 d,模型组 ig 等体积的蒸馏水。甘利欣对照组按 0.06 g $\cdot$ kg<sup>-1</sup> ig 给药(按成人用量换算成大鼠等效剂量),每天 1 次,连续 4 d。第 5 天,除正常组外其余各组以雷公藤水煎剂按生药剂量

3.75 g·kg<sup>-1</sup> ig 给药,每天1次,连续4 d。正常组 ig 等体积的蒸馏水,每天1次,连续8 d。ig 体积均为 20 mL·kg<sup>-1</sup>。

**2.2 样品制备及指标检测** 于末次给药后禁食 12 h,将各组大鼠称重,处死大鼠,腹腔静脉取血,取肝脏,肉眼观察病理变化,称肝重,计算肝指数,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 5 min 制备血清,按试剂盒说明书操作步骤测定血清 ALT,AST 的活力及肝匀浆 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  的含量;取同一部位肝组织,置于 10% 甲醛溶液中固定,制备切片,HE 染色,光镜下观察肝脏病理学变化。

**2.3 病理组织学改变半定量分析** 根据实验各组肝脏的不同的病理改变,并参照文献<sup>[6]</sup>,将其分为 4 级,-:肝索、肝小叶、肝细胞、肝窦均正常。+:肝索排列轻度紊乱,肝小叶分界尚清楚,肝窦轻微扩张,肝细胞伴有轻度水肿及脂肪变性。++:肝索排列紊乱,肝小叶分界不清,肝窦扩张,窦隙变窄,肝细胞出现大量点状坏死、水肿和嗜酸性样变。+++:肝索排列明显紊乱,肝小叶分界不清,肝窦明显扩张、瘀血,窦

隙变窄或消失,肝细胞浑浊、大量片状萎缩坏死、水肿及脂肪变性明显。

**2.4 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,所得结果用  $\bar{x} \pm s$  表示。各组间均数比较应用单因素方差分析。肝组织病理改变半定量分析采用 Ridit 方法分析。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对雷公藤致肝损伤大鼠肝指数、肝功能的影响** 与正常组比较,模型组大鼠的肝指数及血清 ALT,AST 的活力明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,逍遥散各剂量组和甘利欣组大鼠的肝指数及血清 ALT,AST 的活力均明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );与正常组比较,逍遥散低剂量组大鼠的肝指数差异不明显,无统计学意义,但血清 ALT,AST 的活力仍有所升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),逍遥散中、高剂量组大鼠的肝指数及血清 ALT,AST 的活力差异不明显,无统计学意义。见表 1。

表 1 逍遥散对雷公藤致肝损伤大鼠肝指数、肝功能的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>	肝指数/%
正常	-	33.98 ± 4.05	116.35 ± 15.08	3.50 ± 0.28
模型	-	69.46 ± 4.94 <sup>2)</sup>	187.91 ± 25.46 <sup>2)</sup>	4.09 ± 0.31 <sup>2)</sup>
甘利欣	0.06	38.77 ± 9.34 <sup>4)</sup>	131.26 ± 22.04 <sup>4)</sup>	3.59 ± 0.25 <sup>4)</sup>
逍遥散	3.38	46.23 ± 8.11 <sup>1,3)</sup>	153.38 ± 24.71 <sup>1,3)</sup>	3.77 ± 0.35 <sup>3)</sup>
	6.75	35.06 ± 5.89 <sup>4)</sup>	127.65 ± 17.91 <sup>4)</sup>	3.55 ± 0.30 <sup>4)</sup>
	13.50	35.69 ± 8.45 <sup>4)</sup>	125.13 ± 20.38 <sup>4)</sup>	3.54 ± 0.29 <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> $P < 0.01$ (表 3 同)。

### 3.2 病理组织学改变

**3.2.1 病理组织学改变** 正常组大鼠肝脏形态正常,色泽鲜红,质地柔软,未见病变;光镜下 HE 染色可见肝索排列规则,肝小叶分界清楚,细胞结构清晰,肝窦及汇管区均正常,未见肝细胞变性、坏死或纤维化等病理改变。模型组大鼠肝脏色泽晦暗,光镜下 HE 染色可见肝索排列明显紊乱,肝小叶分界不清,肝窦明显扩张、瘀血,窦隙变窄或消失,肝细胞浑浊、水肿、脂肪变性明显。逍遥散低剂量组大鼠肝脏形态基本正常,色泽较红,质地较柔软,有轻微病变,光镜下 HE 染色可见肝索排列轻度紊乱,肝小叶分界尚清楚,肝窦轻微扩张,肝细胞伴有少量水肿和嗜酸性样变。逍遥散中、高剂量组和甘利欣组大鼠肝脏形态正常,色泽红润,质地柔软,未见明显病变,

光镜下 HE 染色可见肝索排列基本规则,肝小叶分界清楚,细胞结构清晰,肝窦及汇管区均正常,未见肝细胞变性、坏死或纤维化等病理改变。

**3.2.2 病理组织学改变半定量分析** 与正常组比较,模型组大鼠肝组织存在明显的病理改变,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );逍遥散各剂量组和甘利欣组大鼠肝组织仅有轻微病理改变,与模型组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

**3.3 逍遥散对雷公藤致肝损伤大鼠肝匀浆上清 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  含量的影响** 与正常组比较,模型组大鼠肝匀浆上清 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  的含量明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,逍遥散各剂量组和甘利欣组大鼠肝匀浆上清 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  的含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P <$

表 2 逍遥散对雷公藤致肝损伤大鼠肝脏病理 Radit 分析结果 (n = 10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	病变程度/n				P(与模型组比较)
		-	+	++	+++	
正常	-	10	0	0	0	<0.05
模型	-	0	0	4	6	
甘利欣	0.06	4	6	0	0	<0.05
逍遥散	3.38	2	8	0	0	<0.05
	6.75	5	5	0	0	<0.05
	13.50	6	4	0	0	<0.05

0.01);与正常组比较,逍遥散低剂量组大鼠肝匀浆上清 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  的含量仍有所升高,差异有统计学意义(P < 0.05)。见表 3。

表 3 逍遥散对雷公藤致肝损伤大鼠肝匀浆上清 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) ng·g<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
正常	-	0.97 $\pm$ 0.18	0.73 $\pm$ 0.20
模型	-	5.74 $\pm$ 0.49 <sup>2)</sup>	2.31 $\pm$ 0.46 <sup>2)</sup>
甘利欣	0.06	1.12 $\pm$ 0.36 <sup>4)</sup>	0.97 $\pm$ 0.29 <sup>4)</sup>
逍遥散	3.38	2.56 $\pm$ 0.53 <sup>1,3)</sup>	1.49 $\pm$ 0.47 <sup>1,3)</sup>
	6.75	1.13 $\pm$ 0.44 <sup>4)</sup>	0.95 $\pm$ 0.23 <sup>4)</sup>
	13.50	1.08 $\pm$ 0.37 <sup>4)</sup>	0.91 $\pm$ 0.21 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

雷公藤在临床的广泛应用使得它的毒副作用的报道也倍受人们关注。研究发现,雷公藤引起肝损伤的临床表现多为急性,似急性病毒性肝炎。前期研究表明,雷公藤可通过引起肝脏脂质过氧化反应增多而引发肝损伤,逍遥散可通过抑制脂质过氧化反应达到保护肝脏受损的作用。本实验从炎症反应角度继续研究雷公藤致大鼠肝损伤及逍遥散对其预防作用的机制。炎症的发生发展是一个复杂的过程,受到很多因素的影响和调节。单核巨噬细胞在炎症中发挥极其关键的作用,当其受到细菌及其产物、某些毒素、药物、免疫复合体等刺激时可被激活,释放多种促炎因子,较重要的包括 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ <sup>[7]</sup>。TNF- $\alpha$  可引发自身或其它细胞的一系列连锁反应,从而导致广泛严重的损害,其在这一连串的反应中是一个关键起始因子,可进一步调动其它炎性

细胞及因子,引发更为严重的炎性连锁反应<sup>[8]</sup>。虽然 IL-1 $\beta$  引起的炎症反应较轻,不直接活导致严重的炎性损害,但其可辅佐 TNF- $\alpha$ ,使其促炎效力增强<sup>[9]</sup>。

本实验观察了逍遥散对雷公藤致大鼠急性肝损伤的预防作用及其作用机制。结果显示:雷公藤致大鼠肝损伤时肝匀浆上清 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量均显著上调;逍遥散不同剂量预防给药后,大鼠肝匀浆上清 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量呈现显著下调,且肝损伤指标呈一致性回落。虽然逍遥散低剂量组大鼠的 ALT,AST 的活力及 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  的含量与正常组大鼠比较仍有明显差异,但逍遥散中、高剂量组大鼠的所有指标与正常组大鼠比较均无明显差异,且逍遥散各剂量组大鼠的所有指标与阳性药物甘利欣组比较均无明显差异。结果提示,激发炎症反应进而引起炎症损害可能是雷公藤致急性肝损伤的机制之一,逍遥散可通过抑制促炎因子引起的炎症损害而起到预防肝脏受损的作用。

#### [参考文献]

- [1] 郭艳红,谭垦.雷公藤的毒性及其研究概况[J].中药材,2007,30(1):112.
- [2] 倪龙,戴静,穆芳英,等.正相 HPLC 法测定雷公藤药材及其制剂中雷公藤酯甲的含量[J].中国药品标准,2007,8(3):32.
- [3] 水光兴,万毅刚,蒋春明,等.雷公藤及其活性成分药效学和药理学研究的若干进展[J].中国中药杂志,2010,35(4):515.
- [4] 傅肖岩,劳绍贤.重视中药所致肝损害[J].中药新药与临床药理,2003,14(2):130.
- [5] 张喆,张志勇.雷公藤的毒理作用及增效减毒配伍的研究进展[J].中国药房,2008,19(9):705.
- [6] 盛云华,李峰杰,金若敏,等.山豆根对小鼠急性肝毒性及其病理形态学研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):144.
- [7] 张宏启,叶翠碧.炎症的自主神经调控与临床意义[J].中国病理生理杂志,2004,20(10):1933.
- [8] 莫成林.细胞因子在酒精性肝炎中的作用[J].国外医学:药学分册,2003,30(3):171.
- [9] 周利,张红星,刘灵光,等.头针对急性脑缺血再灌注大鼠促炎性反应因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  含量的影响[J].针刺研究,2008,33(3):173.

[责任编辑 聂淑琴]