

# 加味鳖甲煎丸对肝纤维化大鼠血清 IgG 的影响

孙海芸, 任 映\*, 尹军祥, 宋崇顺, 叶永安, 杨金铎, 朱志慧, 戴 欣  
(北京中医药大学东直门医院中药药理学实验室, 北京 100700)

[摘要] 目的: 观察加味鳖甲煎丸(JWBJ)对肝纤维化大鼠模型血清 IgG 的影响。方法: 用人血清白蛋白和 CCl<sub>4</sub> 的方法<sup>[1]</sup> 分别制作大鼠肝纤维化模型, 在成模前预防治疗和成模后治疗, 用免疫扩散法测定大鼠血清 IgG 含量。结果: JWBJ 预防治疗大, 中剂量组及治疗大剂量组与各自的模型组相比均可使白蛋白所致肝纤维化大鼠血清 IgG 含量明显降低( $P < 0.05$ ); JWBJ 预防治疗大剂量组与模型组相比可使 CCl<sub>4</sub> 所致肝纤维化大鼠血清 IgG 含量明显降低( $P < 0.05$ )。结论: JWBJ 可降低人血清白蛋白和 CCl<sub>4</sub> 所致肝纤维化大鼠过度产生的 IgG, 表明 JWBJ 对机体免疫功能有一定的调节作用, 对肝纤维化的治疗有一定的参考意义。

[关键词] 加味鳖甲煎丸; 肝纤维化; 免疫球蛋白

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0023-03

## The Effect of Jiaweibiejia Pill on Serum IgG of Rats with Hepatic Fibrosis

SUN Hai-yun, REN Ying\*, YIN Jun-xiang, SONG Chong-shun,

YIE Yong-an, YANG Jin-duo, ZHU Zhi-hui, DAI Xin

(Pharmacological Laboratory of Herbal Medicine, Dongzhimen Hospital Affiliated  
to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Jiaweibiejia (JWBJ) Pills on the IgG in serum of hepatic fibrosis rats (HFR). **Methods:** The rats were randomly divided into control group, model groups, colchine group and Ganpikang group. The model groups were treated or pre-treated with low-dose, middle-dose or high-dose of JWBJ. The serum IgG taken from each group was tested with immunodiffusion method. **Results:** In the HFR induced by HSA, the level of serum IgG was significantly decreased when treated with the high-dose JWBJ or pre-treated with JWBJ for both

[收稿日期] 2008-01-24

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(101361)

[通讯作者] \* 任 映, Tel: (010) 84013195; E-mail: sun123hy\_79@sohu.com。

middle-dose and high-dose ( $P < 0.05$ ) compared with the matched model group respectively. In the HFR induced by  $\text{CCl}_4$ , only the high-dose of JWBJ pre-treated group significantly decreased the level of serum IgG ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions:** JWBJ can decrease the serum IgG in HFR induced by  $\text{CCl}_4$  or HAS. It suggests that JWBJ can modulate the immune function and should be considered in the therapeutic of hepatic fibrosis.

[ **Key words** ] Jiaweibiejiajian Pill; hepatic fibrosis; immune globulin

肝纤维化是慢性肝病的共有病理特征,肝纤维化是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与代谢失衡,导致 ECM 异常沉积。肝纤维化的形成和发展受多种因素的影响,是肝细胞严重损伤和胶原纤维代谢紊乱的慢性发展结局<sup>[2]</sup>。慢性肝炎患者血清 IgG 水平明显高于正常,约有 80% 的原发性胆汁性肝硬化患者血清 IgM 升高<sup>[3]</sup>,表明机体免疫反应紊乱也是肝纤维化发生发展的原因之一。我们的实验研究表明, JWBJ 对白蛋白和  $\text{CCl}_4$  所致肝纤维化模型大鼠有较好的预防作用和治疗作用,可使白蛋白所致肝纤维化大鼠肝组织汇管区假小叶形成和胶原纤维沉积明显减少,间隔明显变窄;还可使  $\text{CCl}_4$  所致肝纤维化大鼠肝组织脂质空泡、成纤维细胞明显减少,炎性细胞浸润明显减轻;均可使两模型血清转氨酶 AST、ALT,血总胆红素 TBIL、胶原 IV、层黏蛋白 LN、透明质酸 HA 明显降低<sup>[4,5]</sup>。大鼠肝纤维化的形成和机体免疫功能紊乱有关。因此,本研究观察了 JWBJ 对模型大鼠血清 IgG 的影响。

## 1 材料

**1.1 实验动物** Wister 大鼠,清洁级,体重(250~300)g,雌雄各半。由中国药品生物制品鉴定所实验动物中心供给,许可证号为:京动许字(2000)第 017 号。大鼠饲养和实验均在清洁级动物实验室内进行,合格证号为:京动许字(1999)第 039 号。饲料为消毒全营养饲料。垫料为消毒垫料。饮用水为消毒水。

**1.2 药物和试剂** 加味鳖甲煎丸(JWBJ):由丹参 15 g、黄芪 10 g、苦参 10 g、黄芩 15 g、鳖甲 15 g、茯苓 10 g、白芍 10 g、白术 10 g、阿胶 5 g、大黄 5 g 组成,每 g 粉剂相当于 12.5 g 生药,由北京中医药大学制剂教研室供给(批号:0401);秋水仙碱片:昆明制药集团股份有限公司(批号:20021137);肝脾康胶囊:黑龙江中龙医药集团股份有限公司(批号:20030201059);四氯化碳( $\text{CCl}_4$ ):北京益利精细化学有限公司(批号:990715);人血白蛋白:广东佰易药业有限公司(批号:2003070103);羧甲基纤维素钠(CMC):中国医药上海化学试剂站供给(批号:

970926); IgG 标准品和抗体均由邦定泰克生物技术有限公司供给,10 mg/支(批号:20030702)。

## 2 方法

### 2.1 造模

**2.1.1 白蛋白致肝纤维化大鼠模型** 首先将人血清白蛋白和弗氏佐剂(液体石蜡和羊毛脂的比例为 1:2)制成弗氏佐剂乳液,  $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 每点 0.1 mL sc, 0.5 mL/只/次,共 4 次,前 2 次每次间隔 14 d,后 2 次每次间隔 10 d,在免疫 4 次后由眼底静脉丛取血,分离血清,用免疫扩散法立即测定大鼠白蛋白抗体,大鼠血清明显出现白蛋白抗体,次日将造模大鼠随机分为预防组和治疗组,预防组开始口服给药,1 次/d,预防组给药后 40 min,除正常组尾静脉注射生理盐水外,其他各实验组(包括治疗组)大鼠均由尾静脉注射人血清白蛋白(第 1 次 8 mg/只,第 2 次 4 mg/只,第 3 次 8 mg/只,第 4 次 4 mg/只,以后均为 4 mg/只,每周 1 次注射),连续注射 9 次后,取模型组和对照组大鼠(各 2 只)肝组织立即冰冻切片,病理检测结果表明,模型组大鼠肝组织均呈现典型的肝纤维化性病理改变<sup>[3]</sup>,表明造模成功。预防组次日取血,治疗组开始给药,连续给药 8 周后取血。

**2.1.2  $\text{CCl}_4$  致肝纤维化大鼠模型** 先将大鼠分为预防组和治疗组,预防组大鼠在每天给药后 40 min 和治疗组同时用 40%  $\text{CCl}_4$  花生油溶液造模。除正常对照组 sc 花生油溶液外,其它各组大鼠均在无菌条件下 sc 40%  $\text{CCl}_4$  花生油溶液,首剂  $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,以后每周皮下注射 2 次,每次剂量为  $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续注射 6 周后取模型组和对照组大鼠(各 2 只)肝组织立即冰冻切片,病理检测结果表明,模型组大鼠肝组织均呈现典型的肝纤维化性病理改变<sup>[4]</sup>,表明造模成功,预防组取血,治疗组开始给药,连续给药 8 周后取血。

**2.2 分组与给药** 将预防、治疗大鼠各分为 6 组,即造模对照组(简称模型组); JWBJ 大,中,小剂量组剂量为生药 13, 6.5, 3.25  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (分别为临床用药量的 12, 6, 3 倍);阳性药秋水仙组剂量  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (临

床用药量的 12 倍); 阳性药肝脾康组剂量  $1.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (临床用药量的 12 倍); 模型组和正常组分别灌服 0.5% CMC。以上各组给药体积均为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

**2.3 血清 IgG 含量的检测** 取血后, 分离血清, 用免疫单扩法测定各实验组大鼠血清 IgG 含量。

**2.4 统计处理方法** 用 SPSS 11.5 软件统计分析, 数据均以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 组间比较用  $t$  检验。

### 3 结果

**3.1 JWBJ 对白蛋白致免疫性肝纤维化大鼠的预防作用(简称为预防治疗)和治疗作用(简称为治疗), 结果见表 1。**

表 1 JWBJ 对白蛋白致免疫性肝纤维化大鼠血清 IgG 含量的影响  $(\bar{x} \pm s)$

| 组别     | 剂量<br>( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | IgG 含量 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , $n$ ) |                          |
|--------|---|---|--------------------------|
|        |   | 预防治疗  | 治疗                       |
| 对照组    | -   | $5.83 \pm 0.73^{2)}$ (8)                          | $5.72 \pm 0.28$ (8)      |
| 模型组    | -   | $7.56 \pm 0.34$ (8)                               | $6.67 \pm 0.95$ (8)      |
| JWBJ 组 | 3.25                                      | $7.22 \pm 0.31$ (8)                               | $6.29 \pm 1.32$ (8)      |
|        | 6.50                                      | $6.78 \pm 0.31^{2)}$ (8)                          | $6.03 \pm 1.25$ (7)      |
|        | 13.00                                     | $6.17 \pm 0.55^{2)}$ (8)                          | $5.52 \pm 1.13^{1)}$ (7) |
| 肝脾康组   | 1.05                                      | $6.33 \pm 0.21^{2)}$ (8)                          | $6.22 \pm 0.33$ (8)      |
| 秋水仙组   | 0.001                                     | $5.94 \pm 0.33^{2)}$ (8)                          | $5.96 \pm 0.57$ (7)      |

注: 与模型组相比较, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (下同)

从表 1 可看出, 与相应的模型组比, JWBJ 预防治疗大, 中剂量组, 秋水仙组, 肝脾康组大鼠血清 IgG 含量均明显降低。JWBJ 治疗大鼠除大剂量组明显降低外, 其它各组作用不明显。

**3.2 JWBJ 对 CCl<sub>4</sub> 致损伤性肝纤维化大鼠的预防作用和治疗作用, 结果见表 2。**

表 2 JWBJ 对 CCl<sub>4</sub> 致肝细胞损伤性肝纤维化大鼠血清 IgG 含量的影响  $(\bar{x} \pm s)$

| 组别     | 剂量<br>( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | IgG 含量 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , $n$ ) |                           |
|--------|---|---|---------------------------|
|        |   | 预防治疗  | 治疗                        |
| 对照组    | -   | $5.69 \pm 0.62^{2)}$ (10)                         | $5.91 \pm 0.47^{2)}$ (10) |
| 模型组    | -   | $8.00 \pm 0.73$ (11)                              | $6.89 \pm 0.86$ (12)      |
| JWBJ 组 | 3.25                                      | $7.51 \pm 0.49$ (11)                              | $6.51 \pm 1.71$ (11)      |
|        | 6.50                                      | $7.47 \pm 0.33$ (10)                              | $6.44 \pm 1.47$ (10)      |
|        | 13.00                                     | $7.43 \pm 0.29^{1)}$ (10)                         | $6.30 \pm 1.51$ (11)      |
| 肝脾康组   | 1.05                                      | $7.74 \pm 0.52$ (12)                              | $6.58 \pm 1.55$ (10)      |
| 秋水仙组   | 0.001                                     | $7.33 \pm 0.30^{1)}$ (12)                         | $6.63 \pm 1.36$ (11)      |

从表 2 可看出, 与相应模型组比, JWBJ 预防治疗大剂量组、秋水仙组 IgG 含量明显降低, 其它各组均未见明显差异。JWBJ 治疗各组大鼠血清 IgG 含量虽有所减少, 但  $P > 0.05$ 。

### 4 讨论

IgG 是人类血清中主要的免疫球蛋白, 占成人血清免疫球蛋白的 50% ~ 70%, IgG 是主要的抗感染抗体, 对各种细菌、病毒、细菌毒素等均可发挥不同程度的抗体活性, IgG 抗体大量沉积也可引起自身免疫性疾病。

为了探讨 JWBJ 对肝纤维化大鼠免疫功能的影响, 本实验观察了 JWBJ 对白蛋白和 CCl<sub>4</sub> 所致肝纤维化大鼠血清 IgG 的影响。用人血清白蛋白免疫大鼠, 大鼠血清中白蛋白抗体明显增加, 再尾静脉注射人血清白蛋白, 大鼠则立刻产生强烈的抗原抗体反应, 大鼠死亡率高达 34%<sup>[4]</sup>, 同时模型大鼠血清 IgG 也明显增加, 而模型大鼠血清 IgG 的明显增加, 又加剧了抗原抗体反应对大鼠肝脏的损害和肝纤维化的形成, 这也可能是肝纤维化大鼠模型 100% 成功的主要原因之一。CCl<sub>4</sub> 不是抗原和半抗原, 但用 CCl<sub>4</sub> 造模, 模型大鼠血清中 IgG 抗体也明显增加, 表明 CCl<sub>4</sub> 在对肝脏产生严重损害时, 也可引起大鼠自身免疫反应的紊乱, 这一实验结果和临床文献报道是一致的, 这也是大鼠肝纤维化形成的主要原因之一。本实验结果表明, 在两种肝纤维化大鼠模型, JWBJ 预防治疗使大鼠血清 IgG 含量明显降低, 其作用强于造模成功后治疗, 为临床治疗肝硬化提供了一定的药理学基础。

### [参考文献]

[1] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 1991, 1233.

[2] 黄国钧, 毛兴荣, 杜宗涛. 乙肝乐合剂对大鼠慢性肝损伤的防治作用[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(4): 37.

[3] 美 G. W. 索恩. 内科学原理[M]. 三卷, 北京: 人民卫生出版社, 1983. 589-591.

[4] 宋崇顺, 任映, 尹军祥, 等. 加味鳖甲煎丸对白蛋白所致大鼠免疫性肝纤维化的防治作用[J]. 中国实验方剂学杂志 2006; 12(10): 51-53.

[5] 任映, 宋崇顺, 尹军祥, 等. 加味鳖甲煎丸对四氯化碳所致肝纤维化大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(1): 49-51.