

清肝浸膏对小鼠实验性肝损伤模型的保护作用*

杨龙飞¹, 金家兴², 高文秀¹, 于密密¹, 孙建宁^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 贵州省兴义市吉仁堂药业公司, 贵州 兴义 562400)

[摘要] 目的: 研究清肝浸膏对实验性肝损伤模型的保护作用。方法: 采用四氯化碳引发小鼠的急性肝损伤模型, 用卡介苗联合脂多糖(BCG+LPS)诱导小鼠的免疫性肝损伤模型, 观察清肝浸膏不同剂量组对血清ALT、AST活性的影响。结果: 清肝浸膏能明显降低四氯化碳所致急性肝损伤模型小鼠血清中的ALT含量, 其6.5g(生药量)/kg剂量组能明显降低BCG+LPS诱导的免疫性肝损伤模型小鼠血清中的ALT、AST含量。结论: 清肝浸膏对实验性肝损伤模型有一定的保护作用, 其作用机制有待于进一步的实验研究。

[关键词] 清肝浸膏; 四氯化碳; 卡介苗; 脂多糖; 急性肝损伤; 免疫性肝损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)06-0041-02

小花清风藤(*Sabia. parviflora* Wall. ex Roxb)为清风藤科清风藤属藤本植物, 主要分布于云南, 广西, 贵州等地^[1]。贵州所产的小花清风藤为布依族, 苗族的民间药, 民间俗称为“小黄药”, “黄肿药”, “黄眼药”, “雅希强(布依语)”等^[2], 在贵州省西南至东南部生长最茂, 其茎入药治急性黄疸型肝炎, 取其清热利湿之效, 部分地方亦取其根入药, 治风湿劳伤。据报道, 用该药制成的冲剂, 对甲肝患者治疗的有效率达95%以上, 对乙肝病人的治疗效果也较显著。其降黄疸和转氨酶的效果极佳。乙肝病人用药后约有30%患者的表面抗原转阴^[3]。但是目前对于该药的药理研究报道极少。本实验用四氯化碳造小鼠的肝损伤模型, 用卡介苗联合脂多糖造成小鼠的免疫性肝损伤模型, 观察了以小花清风藤为主要成分的清肝浸膏的降转氨酶作用, 为今后进一步研究其保肝作用奠定了基础。

1 材料

1.1 动物 ICR 雄性小鼠, 购自北京维通利华实验动物中心。

1.2 药物与试剂 四氯化碳: 购自北京化学试剂公司, 批号: 000413; 卡介苗: 购自中国药品生物制品鉴定所, 批号: 2003-1; 脂多糖: L2880, 购自 sigma 公司;

丙氨酸氨基转移酶试剂盒(ALT, 赖氏法), 批号: 040309; 门冬氨酸氨基转移酶试剂盒(AST, 赖氏法), 批号: 040114, 购自北京化学试剂公司; 清肝浸膏: 主要由小花清风藤、三七、石斛等药材提取而得; 联苯双酯: 北京协和药厂生产, 批号: 国药准字 H11020980。

1.3 仪器 722型可见/紫外分光光度计, 上海第三分析仪器厂生产; 低温离心机(400R): 德国 Heraeus 公司产品, Osterode: D-37520。

2 方法和结果

2.1 剂量设置 小鼠灌胃给药: 清肝浸膏大剂量 13g(生药量)/kg、中剂量 6.5g(生药量)/kg、小剂量 3.3g(生药量)/kg; 联苯双酯: 0.15g/kg。

2.2 实验方法

2.2.1 四氯化碳所致的小鼠急性肝损伤模型 实验分空白对照组、模型组、阳性药联苯双酯组、清肝浸膏大、中、小剂量组共6组。其中清肝浸膏不同剂量组及阳性药联苯双酯组均灌胃给药3d, 空白对照组和模型组给予等量的水, 第4d除空白对照组外, 其余各组用0.5%的CCL₄ 10mL/kg给小鼠皮下注射, 24h后取血, 3000g离心10min, 用试剂盒测定血清中ALT、AST的含量。

2.2.2 卡介苗联合脂多糖所致的小鼠免疫性肝损伤模型 ICR小鼠每只尾静脉注射卡介苗(BCG)约 2.0×10^7 个活菌/只, 第2d联苯双酯组和清肝浸膏不同剂量组开始给药, 空白对照组和模型组给予等量的水。12d后, 除空白对照组外, 其余各组均尾静

[收稿日期] 2005-09-28

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项黔科通(2004)(No. 45)

[通讯作者] 孙建宁, Tel: (010) 64711199-6084

脉注射 LPS 7μg/只, 4h 后取血、离心, 用试剂盒测定血清中 ALT、AST 的含量。

2.3 实验结果 实验结果见表 1 和表 2。统计方法采用 SPSS11.0 成组比较的 *t* 检验法。

表 1 清肝浸膏对四氯化碳致小鼠肝损伤模型血清转氨酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量(g/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照	—	30.03 ± 6.94	79.73 ± 10.63
模型	—	292.82 ± 22.59 ¹⁾	178.18 ± 19.27 ¹⁾
联苯双酯	0.15	241.74 ± 58.7 ²⁾	198.48 ± 18.59
清肝浸膏大剂量组	13.0	251.43 ± 75.49 ²⁾	182.13 ± 26.77
清肝浸膏中剂量组	6.5	268.70 ± 46.82	185.47 ± 18.93
清肝浸膏小剂量组	3.3	268.50 ± 16.90 ²⁾	197.45 ± 18.57

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ *P* < 0.01; 与模型组相比, ²⁾ *P* < 0.05。

实验结果显示除清肝浸膏各剂量组能不同程度的降低 CCl₄ 致肝损伤模型小鼠血清中的 ALT 含量, 其中以小剂量组较为显著。

表 2 清肝浸膏对 BCG+ LPS 诱导的免疫性肝损伤模型小鼠血清转氨酶的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量(g/kg)	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照	—	53.92 ± 12.93	156.86 ± 22.38
模型	—	569.20 ± 331.47 ¹⁾	475.11 ± 88.53 ¹⁾
联苯双酯	0.15	214.07 ± 123.31 ²⁾	377.39 ± 109.60 ²⁾
清肝浸膏大剂量组	13.0	596.45 ± 344.61	454.59 ± 100.66
清肝浸膏中剂量组	6.5	238.30 ± 280.54 ²⁾	343.26 ± 101.54 ³⁾
清肝浸膏小剂量组	3.3	488.98 ± 327.37	383.79 ± 118.19

注: 与空白对照组比较¹⁾ *P* < 0.01; 与模型组相比²⁾ *P* < 0.05, ³⁾ *P* < 0.01。

实验结果显示清肝浸膏各剂量组能不同程度的降低免疫性肝损伤模型小鼠血清中的转氨酶含量, 其中以中剂量组较为显著。

3 讨论

四氯化碳(carbon tetrachloride CCl₄) 是一种很强的亲肝毒物, 中毒时常累及肝脏。半个多世纪以来, 国内外学者对 CCl₄ 所致肝损害的机理进行了广泛的研究, 一般认为 CCl₄ 引起肝损伤的原理是 CCl₄ 进入肝细胞后, 经肝微粒体细胞色素 P₄₅₀ 激活, 生成自由基(•CCl₃), 引起肝微粒体脂质过氧化导致肝脂变和肝坏死而造成的^[4], ALT 值会显著升高。

很多因素都可以引起肝脏损伤, 其中以病毒性

肝炎引起的肝损伤最为常见。乙型病毒性肝炎为我国的常见病及多发病, 目前多数学者认为乙型肝炎病毒感染所引起的肝损伤主要与机体的免疫应答有关^[5]。

王根生等首次用卡介苗加脂多糖(BCC+ LPS)的方法复制了在病理生理机制上更接近人体肝炎的免疫性肝损伤动物模型^[6]。模型的机理在于: 预先给动物注射卡介苗, 可使多核中性粒细胞或巨噬细胞聚集于肝, 继后再用脂多糖攻击注射, 可激发这些细胞释放对肝细胞有毒性作用的可溶性因子, 造成免疫性肝损伤。

目前, 采用 BCG+ LPS 联合诱导小鼠产生免疫性肝损伤的方法已有许多报道, 其病理改变与肝细胞损伤机制均与乙型病毒性肝炎相类似^[6]。但是小鼠免疫性肝损伤模型有一定的死亡率, 按现有文献所报道的剂量给小鼠注射卡介苗和脂多糖, 死亡率较高, 本实验通过预试, 选择了较为合适的用量, 所造模型转氨酶值升得较高, 且死亡率较低(< 10%)。

本研究采用 CCl₄ 复制小鼠的急性肝损伤模型, 采用卡介苗联合脂多糖(BCG+ LPS)诱导小鼠的免疫性肝损伤模型, 研究发现以小花清风藤提取物为主要成分的清肝浸膏对这两种肝损伤有一定的保护作用, 此研究为今后进一步研究小花清风藤的保肝作用奠定了基础, 其作用机理还有待于进一步的实验研究。

[参考文献]

- [1] 贵州植物志编辑委员会. 贵州植物志[M]. 成都: 四川民族出版社, 1988. 93.
- [2] 李朝斗. 贵州产清风藤科入药植物[J]. 中药通报, 1987, 12(8): 451-452.
- [3] 陈谨, 邓赞, 唐天君, 等. 小花清风藤三萜成分的研究[J]. 中草药, 2004, 35(1): 16-17.
- [4] Shah H, Hartman SP, Weinhouse S. Formation of carbonyl chloride in carbon tetrachloride metabolism by rat liver in vitro[J]. Cancer 1979, 39(10): 3942-3947.
- [5] 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 381-445.
- [6] 王根生. 一氧化氮和肿瘤坏死因子在小鼠免疫性肝损伤中的作用及抗肝炎新药 SY801 和 SY640 的影响[J]. 生理科学进展, 1996, 27(1): 47-49.