

# 不同配比黄芪汤干预大鼠胆汁淤积性肝硬化作用观察

龙爱华, 刘平\*, 李风华, 慕永平, 都广礼, 王磊

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海中医药大学肝病研究所, 上海 201203)

**[摘要]** 目的: 观察不同配比的黄芪汤(3:1, 6:1, 9:1)干预大鼠胆汁淤积性肝硬化的药理作用。方法: 结扎大鼠胆总管制备大鼠胆汁淤积性肝硬化模型; 结扎 1 周后, 将模型大鼠随机分为模型组和药物干预组, 药物干预分别给予不同配比的黄芪汤经口灌胃, 模型组给予等量生理盐水; 用药 4 周后杀鼠取材。观测内容包括大鼠一般状况、组织病理、肝功能(血清 ALT、AST、ALP、GGT 活性及 TBil、TP、Alb 的含量)、肝组织羟脯氨酸(Hyp)含量。结果: 造模 5 周时大鼠胆汁淤积性肝硬化完全形成, 与假手术组大鼠比较, 模型组大鼠血清 GGT、ALP 活性及血清 TBil 含量、肝组织 Hyp 含量显著升高( $P < 0.05 \sim 0.01$  vs sham), 血清 TP、Alb 含量显著下降( $P < 0.05 \sim 0.01$  vs sham)。与同期模型对照组比较, 黄芪汤(6:1, 3:1)干预治疗组肝纤维化程度显著减轻, 血清 ALP、GGT 活性、TBil 含量及肝组织 Hyp 含量显著降低( $P < 0.05 \sim 0.01$  vs 5W model)。结论: 黄芪汤(6:1, 3:1)有不同程度的干预大鼠胆汁淤积性肝硬化形成的作用。

**[关键词]** 胆汁淤积性肝硬化; 黄芪汤; 肝纤维化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)07-0028-03

## Effect of Different Ratio of Huangqi Decoction on Cholestatic Cirrhosis in Rats

LONG Ai-hua, LIU Ping\*, LI Feng-hua, MU Yong-ping, DU Guang-li, WANG Lei

(Institute of Liver Disease Shanghai University of TCM,

Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of different ratio of Huangqi Decoction (3:1, 6:1, 9:1) on cholestatic cirrhosis in rats. **Method:** Rat cholestatic cirrhosis was duplicated by ligation of bile duct. After 1 week rats were divided into model control group and different ration of Huangqi Decoction groups. The oral administration of Huangqi Decoction lasted for 4 weeks, and then rats were sacrificed for determination of liver function, liver tissue Hyp conten and histological changes. **Results:** cholestatic cirrhosis was successfully duplicated after 5 weeks modeling. Compared with that of normal group, serum GGT and ALP activity, serum TBil content and liver tissue Hyp content in model group increased significantly( $P < 0.05 \sim 0.01$  vs sham), while serum TP and Alb content decreased significantly. Compared with that of model group, degree of cirrhosis in groups of ratio 3:1 and 6:1 of Huangqi Decoction alleviated significantly, serum ALP and GGT activity, serum TBil content and liver tissue Hyp content decreased significantly( $P < 0.05 \sim 0.01$  vs 5W model). **Conclusion:** The ratio of 3:1 and 6:1 of Huangqi Decoction inhibits formation of cholestatic cirrhosis effectively.

**[Key words]** Cholestatic cirrhosis; Huangqi Decoction; Hepatic fibrosis

中医药在干预肝硬化形成方面的作用已经得到证明, 我们在此比较不同经典方剂清热利湿的茵陈

蒿汤、益气的黄芪汤、化瘀的下瘀血汤、养阴的一贯煎干预大鼠胆汁淤积性肝硬化的作用, 研究结果表明黄芪汤(6:1)具有显著的干预作用。本研究在此基础上研究了不同配比的黄芪汤(3:1, 6:1, 9:1)的药理作用。

**[收稿日期]** 2005-09-22

**[基金项目]** 上海市自然科学基金重点项目(NO: 04DZ19845)

**[通讯作者]** 刘平, Tel: (021) 51322002; E-mail: Liuliver@online.sh.cn

## 1 材料

**1.1 动物** SD 雄性大鼠 112 只, SPF 级, 体重 180~220g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 许可证号: SCXK(沪) 2004-0003。上海中医药大学实验动物中心饲养、造模和观察, 自由饮食。

**1.2 药物和试剂** 黄芪六一汤出自《和剂局方》, 由黄芪、生甘草和大枣组成, 所有生药均购自上海华宇药业有限公司, 以 600g 黄芪为基准, 黄芪: 炙甘草: 大枣按照 (3: 1: 1.6: 1: 1.9: 1: 1) 比例, 制法: 加水 10 倍量, 浸泡 2h; 煎煮 30min, 滤过取汁; 药渣加水 8 倍量, 煎煮 1h, 滤过取汁; 合并 2 次药汁, 浓缩、真空干燥为重量 (G) 分别为 133.38g, 186.86g, 153.40g。溶于 100mL 水中, 每 100g 大鼠给药 1mL。由上海中医药大学附属曙光医院国家中医药管理局中药制备中心 (中管局三级实验室) 一次制备后真空干燥冷藏。肝功能测定试剂盒分别购自卫生部上海生物制品研究所及南京建成生物工程研究所; 羟脯氨酸标准品购自日本ナカテイトスク株式会社, 批号: MIR8282。

## 2 方法

**2.1 模型制备** 2% 巴比妥钠大鼠腹腔注射麻醉, 沿腹正中线切开, 暴露胆总管, 逆行向肝门部注入硬化剂, 远近端结扎胆总管, 中间剪断, 关腹。假手术组仅开腹并游离胆总管后关腹<sup>[1]</sup>。

**2.2 分组与给药** 造模 1 周后将大鼠随机分为模型组和药物干预组, 不同配比的黄芪汤 (3: 1, 6: 1, 9: 1) 经口灌胃, 剂量相当于 65kg 体重成人剂量的 8 倍, 模型组给予等量生理盐水; 另一组为假手术组。

**2.3 样品的采集和处理** 实验于第 5 周末结束。用 2% 戊巴比妥钠以 0.2mL·kg<sup>-1</sup> 腹腔注射麻醉后, 打开腹腔, 经下腔静脉采血, 摘取肝、脾, 称重, 从肝右叶切取 1.0×0.8×0.3cm 肝组织 2 块, 置于 10% 中性福尔马林中固定, 脱水、包埋, 切片后作 HE 及

胶原染色, 观察组织学变化。分离血清, 检测血清学指标。

## 2.4 观察指标

**2.4.1 肝组织 HE 染色, 胶原纤维染色** (天狼猩红染色), 按参考文献制定大鼠胆汁性肝纤维化程度评分标准, 门管区纤维组织无增生“-”; 增生后面积占肝小叶 1/3 以下为“+”; 占肝小叶 1/3~2/3 为“++”; 占肝小叶 2/3 以上为“+++”。每个“+”记 1 分, 每个标本记总分。

**2.4.2 肝功能** ALT、AST 活性, TP、Alb 含量, TBil、ALP、GGT 按试剂盒说明方法测定。

**2.4.3 纤维化指标** 肝组织羟脯氨酸含量测定采用 Jamall 氏等人的方法<sup>[2]</sup>。

## 3 统计方法

计量资料用统计分析软件 SPSS11.5 中的 ANOVA 程序进行单因素方差分析, 等级资料采用 Riddit 分析。

## 4 结果

**4.1 一般状况** 与假手术组比较, 模型组体重、肝重、脾重、肝/体重比值及脾/体重比值等均有显著差异 ( $P < 0.01$ )。与模型组、(9: 1) 组比较, 黄芪汤 (6: 1, 3: 1) 组体重显著增加 ( $P < 0.05$ ); 所有药物干预组肝重、肝/体重比均显著升高 ( $P < 0.05$ )。

**4.2 各组肝功能变化比较** 与假手术组比较, 模型组 TP、Alb 含量显著降低, TBil 含量, GGT、ALP 活性显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组、(9: 1) 组比较, 黄芪汤 (6: 1, 3: 1) 组 Alb 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ), TBil 含量和 GGT、ALP 活性显著降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 此外黄芪汤 (9: 1) 组 GGT 活性显著降低 (与模型组比  $P < 0.05$ )。结果见表 1。

**4.3 肝组织病理学和 Hyp 含量变化** HE 染色观察假手术对照组大鼠肝脏小叶结构清晰, 肝细胞索由

表 1 各组大鼠血清 TP、Alb、TBil 含量, ALT、AST、ALP、GGT 活性变化表 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TP(g/L)	Alb(g/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBil(mg/dl)	GGT(U/L)	ALP(U/dl)
假手术组	12	61.99 ± 6.94 <sup>2)</sup>	37.57 ± 3.95 <sup>2)</sup>	30.91 ± 7.06 <sup>2)</sup>	90.15 ± 12.51 <sup>2)</sup>	0.39 ± 0.09 <sup>2)</sup>	5.63 ± 3.90 <sup>2)</sup>	34.95 ± 6.04 <sup>2)</sup>
模型组	7	51.72 ± 6.07	12.56 ± 1.63	89.19 ± 11.89	265.04 ± 52.53	10.48 ± 4.00	151.73 ± 33.16	60.62 ± 12.64
黄芪汤 6:1 组	12	50.26 ± 7.86	20.46 ± 3.31 <sup>2)</sup>	93.96 ± 29.45	242.27 ± 26.27	7.47 ± 2.49 <sup>1)</sup>	108.56 ± 25.60 <sup>1)</sup>	49.45 ± 8.67 <sup>1)</sup>
黄芪汤 3:1 组	8	54.22 ± 7.81	20.47 ± 2.92 <sup>2)</sup>	98.24 ± 24.93	247.90 ± 36.66	7.55 ± 1.82 <sup>1)</sup>	73.77 ± 25.41 <sup>2)</sup>	42.15 ± 12.28 <sup>2)</sup>
黄芪汤 9:1 组	9	53.77 ± 6.08	15.60 ± 2.50	103.55 ± 24.15	211.34 ± 81.37	9.48 ± 1.85	105.16 ± 23.44 <sup>3)</sup>	56.58 ± 16.18

注: 与模型组、(9: 1) 组比较, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , 与模型组比较, <sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

中央静脉向四周呈放射状排列,中央静脉、汇管区动、静脉和胆管结构正常,肝窦不扩张,肝窦内、汇管区周围可见少量的间质细胞。模型对照组(5周)大鼠肝脏内小胆管大量增生,以汇管区为中心放射状向肝实质内延伸,增生的胆管呈花环样,多数有管腔结构,少数为无管腔结构的细胞团,胆管上皮细胞周围有成纤维细胞聚集和细胞外基质沉积;少量炎性细胞浸润,坏死不明显。正常肝细胞与增生胆小管相比明显减少,肝细胞形态结构尚正常。相邻汇管区向小叶内增生的胆管形成汇通,分割、改建原来的肝小叶,使残存肝细胞呈岛状结构,形成大小不一的小叶样结构,形似假小叶,但小叶内的细胞种类、形态、血管位置和纤维包绕等与经典假小叶结构差别较大。与模型组(9:1)组比较,黄芪汤(6:1,3:1)组大鼠小胆管增生明显减少,正常肝细胞数量较多,成纤维细胞和胶原纤维增生较少,肝组织纤维化程度计分评定结果显示,肝组织纤维化程度显著减轻( $P < 0.05$ )。肝组织 Hyp 含量变化的结果与此一致。结果见表 2。

表 2 各组胆汁性肝纤维化程度评分和  
肝组织 Hyp 含量变化表( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	肝组织 Hyp 含量( $\mu\text{g/g}$ 湿肝)	积 分
假手术组	12	170.75 $\pm$ 10.02 <sup>1)</sup>	0 <sup>2)</sup>
模型组	7	1148.31 $\pm$ 108.13	9.70 $\pm$ 2.76
黄芪汤 6:1 组	12	682.80 $\pm$ 147.10 <sup>1)</sup>	5.68 $\pm$ 1.45 <sup>1)</sup>
黄芪汤 3:1 组	8	1006.28 $\pm$ 242.74	7.84 $\pm$ 1.62
黄芪汤 9:1 组	9	1035.86 $\pm$ 149327	8.75 $\pm$ 2.43

与模型组(9:1)组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

## 5 讨论

目前的研究表明,胆管增生、胆汁淤积是肝病加速发展或循环发展的重要因素,因为淤积的胆汁在无任何其它影响因素的情况下,能够成为肝纤维化和肝硬化的原因也是众所周知的<sup>[3]</sup>。抑制胆管增生、减轻胆汁淤积应当成为治疗慢性肝病不能被忽视的方面。因此我们进行了关于中医药干预胆汁淤积性大鼠肝硬化的系列研究。

肝硬化的中医基本病机大体上可归纳为气阴虚损、瘀血阻络、湿热内蕴等,针对基本病机的益气、养阴、化瘀和清热利湿法是治疗肝硬化的基本治法。前期研究以经典方剂对大鼠胆汁淤积性肝硬化动物模型进行干预研究,以药效为基础,比较了不同经典

方剂清热利湿的茵陈蒿汤、益气的黄芪汤、化瘀的下瘀血汤、养阴的一贯煎干预治疗作用,结果表明,益气的黄芪汤具有明显的减轻胆汁淤积、抑制胆管增生的明确作用(全文另发)。黄芪抗肝纤维化的作用机理已经得到基本阐明<sup>[4-6]</sup>,但与胆汁淤积相关的肝硬化研究较少,本研究观察不同配比的黄芪汤(6:1,3:1,9:1)干预大鼠胆汁淤积性肝硬化的药理作用,结果表明,与模型组(9:1)组比较,黄芪汤(6:1,3:1)组 Alb 含量显著增加( $P < 0.05$ ),TBIL 含量和 CGT、ALP 活性显著降低( $P < 0.01$ , $P < 0.05$ ),黄芪汤(9:1)组 GGT 活性显著降低( $P < 0.05$ )。肝组织纤维化程度显著减轻( $P < 0.05$ ),Hyp 含量变化的结果与此一致。

根据中医以方测证理论可以认为胆管结扎大鼠肝硬化的病机为气虚湿阻,两者并重。但单纯补气有助湿之弊,单纯祛湿有伤正之虞。选用黄芪六一汤,方中重用黄芪为君,补中气助气化,气足则湿邪得化,湿去则正气得复,再少以甘草、大枣为臣佐,补中益气,助黄芪补中气,共同达到补气祛湿之功用。然补气有壅滞之弊,甘草/黄芪用量从 1/3、1/6 到 1/9 的增大,方剂的作用并未出现量效的直线相关,而是呈现出抛物线样的变化,即 1/6 的疗效最好,这体现了方剂配伍理论,说明古人制方的科学性,其机理有待进一步研究。

## [参考文献]

- [1] Gall JAM, Bhathal PS. A quantitative analysis of the liver following ligation of common bile duct[J]. Liver, 1990, 10: 116-125.
- [2] Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyProline in biological tissues[J]. Anal Biochem 1981, 112: 70-75.
- [3] 姚光弼,范上达,廖家杰. 临床肝脏病学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004. 33-53.
- [4] 马红,王宝恩,陈笠阳,等. 黄芪对肝纤维化治疗作用的实验研究[J]. 中华肝脏病杂志, 1997, 5(1): 32-33.
- [5] 宋少刚,杨雁,陈敏珠. 黄芪总提取物对大鼠肝星状细胞增殖及产生胶原的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2001, 6(2): 111-113.
- [6] 宋少刚,杨雁,路景涛,等. 黄芪总代抗肝纤维化作用及机制[J]. 中国药理学会通讯, 2000, 17(4): 9.