

益气健脾方治疗慢性肝损伤的实验研究

韩康玲* 冯文璋* 谷济生* 张俊富* 王子云* 王培生*

王乃谦[△] 张志尧[△] 张凤生[△]

我们在临床辨证治疗慢性肝炎中,观察到益气健脾方(又名慢肝4号方)不仅可以改善慢性肝炎患者的临床症状,而且能降低血清谷丙转氨酶(SGPT)和改善机体的免疫状况。为了进一步探讨益气健脾方的作用机制,我们进行了动物试验,现报告如下。

实验材料

一、动物选择

大白鼠雌雄兼用,体重150~250克,给予标准饲料,每只每天平均15克。

二、药物制备

(一)益气健脾方:党参、鸡骨草、垂盆草、丹参各30克,白术、茯苓各15克,郁金、五味子、柴胡、肉豆蔻、补骨脂、山药、香附、甘草、砂仁各10克。按上方10倍量,水煎3次,分别制成注射液和煎剂备用,其浓度均为每毫升含生药3克。

(二)大黄煎剂:取生大黄1000克,水浸24小时,加热煮沸10分钟,制成每毫升含生药3克的煎剂备用。

方法和结果

一、益气健脾方对四氯化碳肝损伤动物的影响

实验动物为大白鼠24只,雌雄各半。分为四组:正常对照组(简称正常组),肝损病理组(简称病理组),注射治疗组(简称注射组)和灌胃治疗组(简称灌胃组),每组各6只大鼠。除正常组外,其余各组均在实验第1天及以后每3天皮下注射50%四氯化碳花生油0.5毫升/100克体重;正常组皮下注射等量生理盐水。自实验第2天起,注射组每只每天皮下注射益气健脾方注射液1毫升/100克体重;灌胃组每只每天给予益气健脾方煎液1毫升/100克体重灌胃;正常组和病理组给等量生理盐水。实验第21天处死动物,进行剖检。

(一)对四氯化碳肝损伤动物病理组织学的影响:取脑、心、肺、肝、脾、肾、小肠、睾丸或卵巢等,以10%福尔马林、无水乙醇或丙酮等固定,石蜡包埋切片,HE、PAS等染色,进行病理组织学观察。镜检结果见表1及图1~3(图在封三,下同)。除正常组外,其他三组肝组织均有损害,主要表现为肝小叶结构紊乱、

淤血、炎细胞浸润、肝细胞浊肿、脂肪变、空泡变、坏死以及肝糖原含量减少等。还可见到其他脏器病变,如肺、脾、小肠充血水肿及炎细胞浸润,睾丸萎缩、变性、坏死,以及部分曲细精管精子减少等。三组中以病理组的病变为最严重,注射组和灌胃组的病变程度均较轻,肝糖原含量减少亦不明显。

表1 益气健脾方对CCl₄肝损伤动物病理组织学的影响

组别	动物数	肝病变表现							
		充血	水肿	浊肿	空泡变	脂肪变	坏死	炎症	糖原
正常组	6	-	-	-	-	-	-	-	+++
病理组	6	+	+	++	++	+++	++	+	±
注射组	6	+	±	+	+	+	+	+	++
灌胃组	6	+	±	+	+	+	+	+	++

(二)对四氯化碳肝损伤动物血清SGPT的影响:实验动物处死前于眶上动脉取血,测定血清SGPT。测定结果正常组、病理组、注射组和灌胃组的血清SGPT均值分别为45±7(均值±标准差,下同)、174.5±43.1、47.5±16.7和55.5±17.6单位,其中病理组血清SGPT值明显增高,与正常组比较有显著性差异($P<0.01$);注射组和灌胃组,血清SGPT接近正常,较病理组明显降低($P\leq 0.01$)。

(三)对四氯化碳肝损伤动物细胞免疫功能的影响:本文所测三项指标的结果见表2。

表2 益气健脾方对CCl₄肝损伤动物PHA皮试和DNCB皮试的影响(均值±标准差)

组别	动物数	PHA皮试反应(厘米)	DNCB皮试反应(厘米)	"T"淋巴细胞计数(%)
正常组	6	2.80±0.45	2.50±0.50	60.0±17
病理组	6	2.50±0.50	2.25±0.40	50.0±14
注射组	6	4.08±1.40*	3.53±1.15*	70.6±13*
灌胃组	6	3.51±1.29	4.32±0.84**	70.8±5*

* 与病理组比 $P<0.05$; ** 与病理组比 $P<0.01$

* 天津市第一医院肝病研究室

[△] 天津市劳动卫生研究所病理研究室

1. 植物血凝素(PHA)皮肤试验: 实验第 14 天同前文方法⁽¹⁾做 PHA 皮肤试验。结果表明, PHA 皮试反应平均值注射组>灌胃组>正常组>病理组, 其中经益气健脾方治疗的注射组与病理组相比较有显著性差异($P<0.05$)。

2. 二硝基氯苯(DNCB)皮肤试验: 同前文方法⁽¹⁾于实验第 1 天致敏, 实验第 14 天做 DNCB 皮试。实验结果 DNCB 皮试反应平均值灌胃组>注射组>正常组>病理组, 其中注射组、灌胃组分别与病理组比较均有显著性差异($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。

3. 脂酶标记“T”淋巴细胞计数: 实验动物于处死后尾部取血, 按前法⁽¹⁾用脂酶染色做“T”淋巴细胞计数。表 2 结果表明, “T”淋巴细胞计数病理组低于正常组; 注射组与灌胃组相仿, 并均显著大于病理组(P 均 <0.05)。

二、益气健脾方对脾虚动物的影响

大白鼠 18 只, 分正常对照组(简称对照组)、脾虚病理组(简称病理组)、脾虚治疗组(简称治疗组)三组, 每组各 6 只大鼠。病理组和对照组自实验第 1 天起, 每天每只动物给予大黄煎剂 1 毫升/100 克体重灌胃; 治疗组自实验第 2 天起, 每只每天以益气健脾方 1 毫升/100 克体重灌胃或注射。正常组给予等量生理盐水。实验第 14 天作 PHA、DNCB 皮肤试验, 实验第 21 天处死剖检, 处死前并作脂酶标记“T”淋巴细胞计数。

实验结果观察到, 脾虚动物食量减少, 精神差, 不活泼, 皮毛枯萎, 明显腹胀腹泻, 脱肛; 治疗组与病理组比较, 食量增加, 腹泻减轻, 无脱肛, 无腹胀, 活动活泼, 皮毛有光泽。三项细胞免疫功能检查结果均表明, 治疗组>正常组>病理组。病理组肝组织学检查与正常组相比较, 主要表现为轻度营养性的非特异性损害(图 4), 经益气健脾方治疗后, 比病理组肝组织病变轻, 与正常组者相接近。

三、益气健脾方对脾虚肝损伤动物的影响

实验动物为大白鼠 18 只, 分为三组, 正常对照组(简称正常组)、脾虚肝损病理组(简称病理组)和脾虚肝损治疗组(简称治疗组), 每组各 6 只大鼠。后两组自实验第 1 天起, 每天每只动物给予大黄煎液 1 毫升/100 克体重灌胃, 并在实验第 1 天及以后每 3 天皮下注射 50% 四氯化碳花生油 0.3 毫升/100 克体重; 正常组则予等量生理盐水灌胃或皮下注射。治疗组于实验第 2 天起每天每只动物加用益气健脾方煎液 1 毫升/100 克体重灌胃; 其余两组则加用等量生理盐水灌胃。实验第 14 天作 PHA、DNCB 皮肤试验, 第 21 天处死

剖检, 处死前并作脂酶标记“T”淋巴细胞计数。

脾虚肝损病理组所用四氯化碳剂量虽小于单纯肝损病理组, 但据病理组织学观察, 肝损程度两组却相近似(图 5)。经益气健脾方治疗后, 肝组织病变的恢复脾虚肝损组较单纯肝损组为慢(图 6)。至于细胞免疫功能脾虚肝损病理组较单纯肝损病理组为低, 经益气健脾方治疗后, 脾虚肝损治疗组的细胞免疫功能仅稍有改善。

四、益气健脾方对 HBsAg 的抑制作用

实验方法见前文⁽¹⁾。结果表明, 益气健脾方和组成该方的白术、鸡骨草、茯苓, 用体外试管法显示对 HBsAg 有一定的抑制作用, 其抑制滴度为 1:2~1:512; 山药、香附、柴胡、补骨脂、肉豆蔻、五味子、党参、砂仁、丹参、郁金、垂盆草在 1:2~1:512 滴度内却无抑制作用。试验重复 2 次, 结果相同。

讨论和小结

本实验结果表明, 益气健脾方对四氯化碳造成的慢性肝损伤动物的肝细胞有较明显的保护作用, 并能使坏死区较快得到修复, 组织化学方面肝糖原无明显减少, 血清 SGPT 明显下降。有文献报告, 脾虚患者细胞免疫功能较正常人为低⁽²⁾, 健脾治疗能提高脾虚泄泻患者的免疫功能⁽³⁾, 说明脾与免疫机能有着密切的关系。

本文所用的益气健脾方, 主要由四君子汤加补骨脂、五味子、肉豆蔻等组成, 有补肾健脾、温运脾阳的效能。本组实验结果表明, 无论慢性肝损伤或脾虚肝损动物或单纯脾虚动物, 经用本方治疗后, PHA 皮肤试验、DNCB 皮肤试验和“T”淋巴细胞计数三项指标都得到提高, 说明本方能改善机体的细胞免疫功能。

我们还发现, 方中的白术、鸡骨草、茯苓对 HBsAg 均有一定的抑制作用, 其抑制滴度为 1:2~1:512。因此, 似可认为该方除了有提高机体免疫功能, 从而起到保护肝脏、减少损害作用外, 对 HBsAg 的抑制作用也当为其临床疗效的一个方面。

承许家相、谷传琼、林志宜和孙克诚同志参加本文化验工作, 特此致谢。

参 考 文 献

- (1) 韩康玲等: 天津医药杂志(1):42, 1982。
- (2) 中国人民解放军白求恩国际和平医院: 浙江中医杂志(2):50, 1979。
- (3) 南京医学院等: 新医学杂志(3):1, 1979。

益气健脾方治疗实验性慢性肝损伤的实验研究 (插图)

(见正文第 77 ~ 78 页)

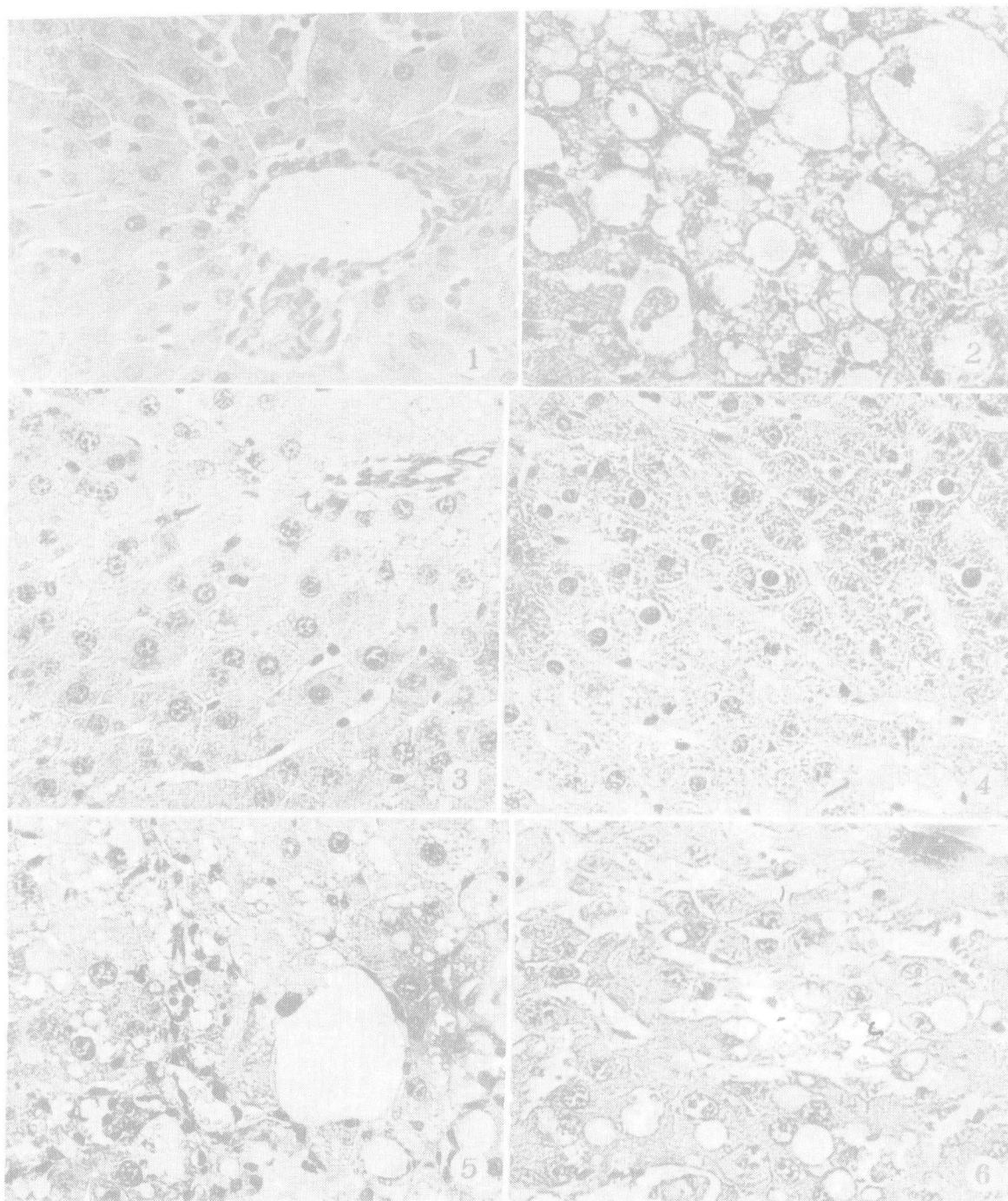


图 1 正常肝组织 (H E $\times 400$); 图 2 肝损病理组肝细胞水肿、脂肪变、空泡变、坏死, 并见淤血、炎细胞浸润 (H E $\times 400$); 图 3 肝损治疗组肝组织病变较轻, 介于正常对照组和肝损病理组之间, 肝细胞水肿、脂肪变、空泡变和坏死等病变均较轻 (H E $\times 400$); 图 4 脾虚病理组肝细胞轻度营养性损害 (H E $\times 400$); 图 5 脾虚肝损病理组肝细胞水肿、脂肪变、空泡变和坏死均较严重 (H E $\times 400$); 图 6 脾虚肝损治疗组肝细胞损害稍有恢复 (H E $\times 400$)。