

综 述

中药抗肝纤维化的实验研究概况

王丽春¹ 赵连三²

主题词 抗纤维蛋白溶解药(中药)/药理学

肝纤维化是慢性肝损伤进展为肝硬化的一个重要阶段,主要特征是细胞外基质在肝内过度沉积。目前普遍认为,在这个阶段,肝脏的病变是可逆的^[1],而肝硬化、原发性肝癌则不可逆转,因此,如何有效地防治肝纤维化,阻断其进展,已经成为国内外研究的热点。近年来中药治疗肝纤维化在临床研究和实验研究方面均取得了令人瞩目的进展,显示出了特有的优势。

1 单味中药及单体有效成分

氧化苦参碱:又名苦参素,是从中药苦豆子或苦参根中提取的一种生物碱,具有抗炎、抗病毒、免疫调节等作用。宋健等^[2,3]以 NIH3T3 成纤维细胞为靶细胞,用噻唑蓝(MTT)法及 Northern 杂交检测苦参素对 NIH3T3 成纤维细胞增殖及Ⅲ型胶原 mRNA 的表达的影响。结果表明,苦参素能明显抑制成纤维细胞增殖及Ⅲ型胶原 mRNA 的表达,并呈剂量依赖性。并采用 CCl₄ 制备肝纤维化模型,同时设立苦参素预防组及治疗组,发现苦参素可显著降低肝纤维化大鼠血清Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、层粘连蛋白(LN)及透明质酸(HA)水平,并能明显改善肝脏功能,血清丙氨酸转氨酶(ALT)、血清白蛋白(ALB)、血清总胆红素(TB)等各项指标均改善,与模型组比较差异具有显著性($P < 0.01$)。组织学检查显示,苦参素能降低肝纤维化程度,具有明显的防治纤维化作用。

杨文卓等^[4]参照 Jonker 的方法^[5]复制了大鼠半乳糖胺诱导肝纤维化模型,设立苦参碱预防观察组及治疗观察组,发现苦参碱可明显降低肝粉的羟脯氨酸含量,改善肝功能,组织学观察到预防用药组肝细胞变性轻,汇管区纤维间隔纤细,Ⅰ型、Ⅲ型胶原的沉积减少,治疗组病理改变也较自然恢复组轻,同时用 RT-PCR 法检测肝组织 TGFβ₁ mRNA 的表达,结果治疗组 TGFβ₁ mRNA 的表达显著降低($P < 0.01$),得出结论:苦参碱对半乳糖胺诱导的肝纤维化具有明显的预防及治疗作用。王俊学等^[6]发现氧化苦参碱可阻断撤除苯巴比妥钠(PB)诱导的小鼠肝细胞的凋亡。据以上推测,氧化苦参碱可能通过以下环节达到抗肝纤维化作用:(1)抑制炎症的发生;(2)抑制肝星状细胞激活及成纤维细胞增殖。

川芎嗪:别名四甲基吡嗪,在伞形科植物川芎根茎及姜科植物温莪术等植物中存在,为一种提纯的生物碱。它具有改善

微循环,增加冠状动脉血流量的作用。王红等^[7]应用 50%CCl₄ 油剂腹腔注射 6 周诱导出大鼠肝纤维化模型的同时,予川芎嗪溶液 20mg/kg 腹腔注射,每日 1 次,每周 6 次,共 6 周,结果川芎嗪治疗组的动物血清 ALT 水平,HA、PCⅢ及肝组织中的丙二醛(MDA)含量均较对照明显降低($P < 0.01$),而肝组织超氧化物歧化酶(SOD)的活性则明显增加($P < 0.05$),同时病理组织学检查可见肝细胞变性坏死及胶原纤维增生程度均显著减轻,免疫组织化学染色示肝组织星状细胞数量明显减少,表明川芎嗪具有保护肝细胞、抗脂质过氧化及抗纤维化的作用。对于体外培养的成纤维细胞,川芎嗪能使成纤维细胞发生显著的形态改变,并能抑制细胞的核分裂和增殖。

丹参及丹酚酸 B:是近年来研究较多的抗肝纤维化药物。河北医科大学肝病研究所研究了丹参对肝纤维化大鼠肝组织匀浆和离体线粒体的抗脂质过氧化作用,结果表明,丹参可有效地抑制肝纤维化大鼠脂质过氧化产物 MDA 的产生,并增强 SOD 的活性,且两者均呈剂量及时间依赖性^[8]。采用 MTT 法测定丹参对肝星状细胞的增殖抑制作用并检测细胞周期,发现丹参作用后肝星状细胞的生长受到明显抑制,且抑制作用随药物浓度的增加而增强。流式细胞仪分析结果表明,随着丹参浓度的增加,凋亡的星状细胞明显增多^[9]。

镁-丹酚酸 B 是上世纪 80 年代后期从丹参中分离出的一种水溶性成分,为含儿茶酚结构的化合物。现有研究发现,丹酚酸 B 能抑制体外传代培养的贮脂细胞的增殖,减少其胶原合成与分泌,从细胞水平证实了丹酚酸 B 具有抗纤维化的作用和部分机理。胡义杨等^[10]采用 CCl₄ 法及 DMN 法制备两种大鼠肝纤维化模型,予丹参提取物(含丹酚酸 B 75%)治疗,发现丹酚酸 B 可显著提高 ALB 含量并降低肝组织 MDA 含量及羟脯氨酸(Hyp)含量,病理学染色标本及免疫组化结果表明,丹酚酸 B 治疗组减轻了肝脏的炎症活动度,降低了肝纤维化程度,并推测其抗肝纤维化的作用机制与抗脂质过氧化作用有关。

牛磺酸:是从中药牛黄中提取的有效成分,具有多种细胞保护作用。李宝刚^[11]采用牛血清白蛋白静脉注射复制大鼠肝纤维化模型,并预防性使用牛磺酸,结果牛磺酸组动物的肝 Hyp 含量和肌成纤维细胞数量明显低于模型组,肝切片中胶原沉积明显减轻。陈岳祥等^[12]对 CCl₄ 诱导的大鼠实验性肝纤维化的研究表明,牛磺酸能明显降低肝 Hyp 和Ⅰ、Ⅲ型前胶原 mRNA 含量,降低 HA 和 LN 水平,改善肝功能和肝组织学的病理变化。

其他:甘草酸可降低由 CCl₄ 联合乙醇所致的不同阶段的肝纤维化大鼠星状细胞Ⅰ、Ⅲ型前胶原 mRNA 表达,减少肝脏Ⅰ、Ⅲ型胶原沉积,尤以早期、中期明显^[13]。体外实验中,已证实

1 四川大学华西医院感染性疾病中心,感染病分子生物学四川省重点实验室,成都市外南国学巷 37 号(610041)

2 四川大学华西医院人类疾病生物治疗教育部重点实验室

收稿日期:2004-06-10;修回日期:2004-11-27

灯盏细辛黄酮^[14]及木樨草素^[15]具有抗纤维化作用。

2 活血化瘀中药复方

活血化瘀中药复方能改善血液微循环及血管通透性,保护肝细胞,促进炎症病灶的消退及增生性病变的软化和吸收,改善机体免疫功能。

复方 861 合剂:包括丹参、黄芪、陈皮、香附、鸡血藤在内共 10 味中药。给予免疫损伤性肝纤维化大鼠复方 861 灌胃 3 个月,病理学观察结果表明,861 治疗可使纤维化肝脏的纤维吸收消散,紊乱的肝血窦等血管结构得到改建恢复,肝纤维化得到阻断和逆转^[16]。作用机理研究证实^[17],复方 861 合剂除抑制胶原合成外,还可通过提高胶原酶活性、降低基质金属蛋白酶抑制因子的表达来减少基质金属蛋白酶抑制因子对基质金属蛋白酶的抑制,增加胶原的降解,从而逆转肝纤维化。对于胆管阻塞性肝纤维化大鼠也得到同样结果^[18]。体外实验研究表明,复方 861 可能通过减少肝星状细胞分泌内皮素-1,从而抑制内皮素-1 对星状细胞的收缩作用,肝窦阻力降低,对预防、治疗肝纤维化及早期门静脉高压有重要意义^[19]。

益肝康:在益肝冲剂基础上改进而成。研究发现,益肝康能改善肝脏炎症损伤积分,减轻 I、Ⅲ 型胶原的沉积^[20],并对 CCl₄ 和免疫损伤性两种肝纤维化模型均有明显的防治作用^[21],表现在假小叶和纤维隔数目明显减少,纤维间隔变薄。

汉丹肝乐:是以活血化瘀,通络养肝为基本治则的复方中药制剂。临床及实验研究已证实,可通过减轻肝细胞脂质过氧化,保护肝细胞,抑制肝星状细胞增殖及胶原合成,提高胶原酶活性,促进胶原蛋白降解等多种作用来发挥抗肝纤维化效应^[22]。同时还从分子水平上观察到汉丹肝乐对肝纤维化大鼠的结缔组织生长因子(CTGF)mRNA 和 TGFβ₃mRNA 的增高表达具有抑制作用,一定程度上延缓了肝纤维化的形成和发展^[23]。

其他:柔肝冲剂(主药为黄芪、丹参、郁金)用于治疗二甲亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化大鼠,并以秋水仙碱作为对照,结果表明,柔肝冲剂能减轻肝脏炎症反应,保护肝细胞,同时可降低肝脏 I 型、Ⅲ 型、Ⅳ 型前胶原 mRNA 的含量,减少胶原的生成,抑制肝纤维化的进展^[24]。王健等^[25]采用益气活血方药(桃仁、黄芪等 5 味中药)予免疫损伤性肝纤维化大鼠灌胃,结果显示出较好的抗纤维化作用,其含药大鼠血清具有抑制内毒素脂多糖体外诱导的肝星状细胞增殖的作用。

3 扶正化瘀类复方

王丽春等^[26]采用温阳法(主药为干姜、桂枝、附子)治疗 CCl₄ 中毒性肝纤维化大鼠,结果治疗组的肝 Hyp 含量较对照组明显下降,肠系膜微循环得到改善,病理学观察到纤维增生程度降低。

刘成海等^[27]将扶正化瘀方(319 方,由丹参、桃仁、虫草菌丝等组成)的全方及拆方予二甲亚硝胺所致的肝纤维化大鼠治疗,发现全方及拆方均可降低肝组织羟脯氨酸含量及胶原沉积,全方较拆方综合效果更好。体外实验也证实^[28],将 319 方拆方的含药血清作用于培养的大鼠肝星状细胞,发现 319 方全方及其拆方均可抑制星状细胞的活化、增殖,抑制其胶原、TGFβ₁

的基因表达与蛋白合成,一定程度上揭示了其作用机理。

4 疏肝健脾类复方

山东中医药大学从疏肝理气、健脾化瘀入手研制了肝脾舒合剂,由柴胡、当归、白术、丹参、大腹皮、紫河车、生黄芪、白芍、鳖甲、女贞子、汉防己等药物组成,用猪血清腹腔注射复制出肝纤维化模型,予肝脾舒合剂灌胃,结果治疗组的肝功能明显优于对照组($P < 0.05$),肝组织 Hyp 含量明显低于对照组($P < 0.01$),病理改变显示肝纤维化程度明显下降^[29]。

5 结语

中医药抗实验性肝纤维化的研究由上世纪 70 年代中期开始,经历了由复方到单味药,再到有效单体,研究水平由肝纤维化的生化指标、肝脏病理切片、I 型、Ⅲ 型、Ⅳ 型胶原、HA、LN 的免疫组化染色到使用 I 型、Ⅲ 型、Ⅳ 型胶原的 CDNA 探针及 TGF-β 探针,从 mRNA 水平研究胶原及细胞因子的变化,进而深入研究中药抗肝纤维化的机理。经过 20 余年的努力探索,已发现了一些中草药及其有效成分具有较好的抗肝纤维化作用,初步阐明了中药抗肝纤维化的作用机制,为中医药防治肝纤维化展现了广阔的前景,为今后更深层次的研究打下了基础。总的来说,中药抗肝纤维化的作用机制主要有:(1)保护肝细胞,抑制炎症损伤;(2)调节免疫功能;(3)抑制胶原合成,促进胶原降解。

就目前的研究现状而言,还存在以下一些问题:(1)目前仍缺乏理想的肝纤维化模型,人类肝纤维化的病因与病毒复制、免疫调控、遗传等因素相关,而目前采用的模型多为单一因素制造,模型的病理进展变化与人类肝纤维化病理过程存在一定差异,而能结合中医病因病机理论造模的更少,对中医治则、方剂药物的研究有很大的局限,同时动物自愈较人类明显,造成实验结果与临床应用不尽吻合;(2)研究思路欠广,从现有文献看,主要集中在具有活血化瘀、补气补阴等功效的方药上,这是远远不够的;(3)在细胞和分子水平上进行系统而深入研究的较少,实验设计欠科学,缺乏系统化研究,从而影响疗效的判断,导致其研究结果难以令人信服。针对以上问题,在今后的工作中应加强动物模型的研究,开展多因素造模,建立能真实客观反映人类肝纤维化发病机理、并结合中医理论探符符合“证”本质的动物模型,拓展思路,努力从众多的中草药中有目的、有计划地进行筛选、发掘,对有苗头的药物进行系统深入的研究,实验设计应严谨、合理,做到科学化、规范化。

今后抗肝纤维化研究的重点可能是寻找针对性强,全面作用于以上三个机制的药物。此外,从中药中寻找特异性的有效单体,与相应的单克隆抗体偶联进行生物治疗,也是值得尝试的一个领域。肝纤维化的发生机制复杂,环节较多,而中药复方具有多向调节作用,在肝纤维化的治疗中具有独得的优势,因而应充分发掘中医药抗纤维化的潜力,结合中医理论与临床特点合理组方,筛选出更有效的中药。

参考文献

- Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, et al. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery, Keio J Med, 2001, 50(2): 58~65.

- 2 宋健,张兴荣,朱樑,等.苦参素对成纤维细胞增殖及Ⅳ型胶原 mRNA 表达的影响.第二军医大学学报,1999,20(6):356~358.
- 3 宋健,钟惠闽,姚平.苦参素对实验性大鼠肝纤维化的防治作用.中国中西医结合消化杂志,2002,10(5):282~283,286.
- 4 杨文卓,曾民德,范竹萍,等.氧化苦参防治半乳糖诱导大鼠肝纤维化的实验研究.中华肝脏病杂志,2002,10(3):193~196.
- 5 Jonker AM, Dijkhuis F, Hardonk MJ, et al. Immunohistochemical study of hepatic fibrosis induced in rats by multiple galactosamine injections. Hepatology, 1994, 19(3):775~781.
- 6 王俊学,王国俊,蔡雄,等.氧化苦参碱及甘草甜素对小鼠肝细胞凋亡的影响.第二军医大学学报,1999,20(6):222~224.
- 7 王红,陈在忠.川芎嗪对大鼠肝纤维化脂质过氧化物的影响.中华肝脏病杂志,2000,8(2):98~99.
- 8 蒋树林,姚希贤,吕涛.丹参抑制大鼠肝纤维化线粒体脂质过氧化.世界华人消化杂志,2002,10(11):1253~1256.
- 9 郑元义,戴立里,王文兵,等.丹参素治疗肝纤维化及其作用机制研究.中华肝脏病杂志,2003,11(5):288~290.
- 10 胡义扬,刘平,刘成,等.丹参提取物对 CCl₄ 和 DMN 诱导的大鼠肝纤维化的影响.上海中医药杂志,1999,(10):7~10.
- 11 李宝刚,李继光,梁惠云,等.牛磺酸对试验性大鼠肝纤维化的预防作用.北京医科大学学报,1998,30(1):335~337.
- 12 陈岳祥,李石,张兴荣,等.牛磺酸对四氧化碳诱导大鼠肝纤维化的抑制作用.中华消化杂志,1999,19(3):185~187.
- 13 张其胜,王吉耀,胡美玉.干扰素 α 和甘草酸对肝纤维化鼠星状细胞胶原代谢的影响.中华肝脏病杂志,2002,10(1):72~73.
- 14 周俭平,张俊平,刘福堂,等.植物黄酮对成纤维细胞增殖和胶原合成的影响.中国药理学杂志,1999,34(10):668~669.
- 15 赵稳兴,梁崇礼,陈忠民,等.木樨草素抑制肝星状细胞增殖及其胶原合成.中华肝脏病杂志,2002,10(3):204~206.
- 16 张福奎,王宝恩,王泰龄,等.实验性肝纤维化时肝内纤维及血管的三维结构观察及复方中药对其影响.中华肝脏病杂志,2000,8(6):355~357.
- 17 阴赫宏,马红,王爱民,等.复方 861 对 HSC-T6 细胞组织基质金属蛋白酶抑制因子 1 基因表达的影响.中华肝病杂志,2002,10(3):197~199.
- 18 申凤俊,阴赫宏,马红,等.血方紧张素 II 型受体 mRNA 在胆管阻塞性大鼠肝纤维化模型的表达及复方的干预作用.临床肝胆病杂志,2002,18(5):279~281.
- 19 丁惠国,唐淑珍,王宝恩,等.复方 861 对肝星状细胞分泌表达内皮素 1 蛋白及 mRNA 的影响.中华肝病杂志,2003,11(5):308.
- 20 姚希贤,姚欣,修贺明,等.“益肝浓缩煎剂”等活血化瘀药抗大鼠肝纤维化作用实验研究.胃肠病学和肝病杂志,2001,10(3):217~222.
- 21 蒋树林,姚希贤,孙泽明,等.活血化瘀中药对大鼠纤维化肝间质胶原的抑制作用.中华实用医学,2002,1(9):10~13.
- 22 程明亮,陆萌英,吴建,等.汉丹肝乐胶囊逆转肝纤维化的临床研究.中国中西医结合杂志,2001,21(1):16~18.
- 23 张文胜,程明亮,陆萌英.中药复方对肝纤维化大鼠细胞因子的影响.中华肝病杂志,2003,11(5):285~287.
- 24 王灵台,陈建杰,张斌,等.柔肝冲剂抗肝纤维化的动物实验.上海中医药大学学报,2002,16(4):52~55.
- 25 王健,河福金,牛建昭,等.益气活血方药抗大鼠肝纤维化作用的实验研究.中西医结合肝病杂志,2002,12(2):86~88.
- 26 王丽春,李林.温阳药对实验性肝纤维化的作用及机理探讨.成都中医药大学学报,1999,22(2):41~45.
- 27 刘成海,王晓玲,王臻楠,等.扶正化瘀方影响肝胶原合成的拆方配伍研究.中医杂志,2000,41(10):620~621.
- 28 王晓玲,刘平,刘成海,等.含药血清药理法观察扶正化瘀方抗肝纤维化的配伍作用.中国实验方剂学杂志,1999,5(6):22~25.
- 29 陈丽霞,刘维明,江高锐.肝脾舒合剂抗肝纤维化的实验研究.中国中医药科技,2003,10(2):86~87.

· 征 文 ·

●“中华中医药学会脾胃病学会第十七次学术交流会”拟定于 2005 年 9 月中旬在重庆召开。现将学术交流会征文有关事宜通知如下。

1. 征文内容:中医诊治脾胃等疾病的理论、临床和实验研究;食管病的研究;胃肠疾病的临床及实验研究;中医药治疗肝胆胰疾病的临床与实验研究;老中医的临床经验;脾胃病急症研究;中西医结合诊治脾胃病的新理论和新方法;文献综述及理论探讨。2. 征文要求:投稿论文要求在 2500 字左右,并附 300 字以内论文摘要及参考文献。3. 截稿日期:2005 年 6 月 15 日。4. 通讯地址:北京市东城区美术馆后街 23 号,北京中医医院张声生秘书长或李乾构主任委员收。邮编:100010。或 E-mail:ivy0106@sina.com;电话:(010)61016677 转 634 或 942。

●中国民族医药杂志社将于 2005 年在延吉市举办“第四届全国民族医药学术交流暨《中国民族医药杂志》创刊 10 周年庆典大会”,届时将进行《中国民族医药杂志》编委会换届、论文表彰、专家学术讲座、民族医药精品展示等一系列活动。现征文如下。

征文内容:民族医药理论研究、临床研究、实验研究、教学研究、临床经验、单方验方、疗法方术、医史医话、药物制剂、医学结合、文献综述、改革与管理、发展与思考、调查与探索、医学护理、书刊评介、名医介绍等各类文章。来稿信封请注明“会议征文”字样。截稿日期:2005 年 5 月 31 日。稿件发审核后,将发会议邀请函。交流的论文与会后在《中国民族医药杂志》上陆续刊登。征文请寄至内蒙古呼和浩特市健康街 15 号《中国民族医药杂志》编辑部收,邮编:010020,电话:(0471)6920167。

· 征 订 ·

《广西中医药》杂志是由广西中医学院、中华中医药学会广西分会主办的中医药学术刊物。以中医政策为指导,着重于祖国医学发掘、继承,同时亦注意现代科学中医药的研究、整理、提高。本刊特点是以医疗为主,侧重临床,兼顾学术理论,中医医疗、教学、科研相结合。有临床研究、临床报道、手法医学、针灸经络、学术理论、民族医药、中药方剂及验方集锦等栏目。本刊为大 16 开,双月刊,稿源面向全国,内容丰富,实用性强。定价每册 4.50 元,全年 27 元。国内邮发代号 48-32,国外代号 NT21018。编辑部地址:广西南宁市明秀东路 179 号,邮编:530001。

《中医杂志》邮购启事

《中医杂志》现有如下各期,欢迎邮购。1996 年、1997 年每期 3.50 元,1996 年有 6、7、10、11 期,每期 3.50 元;1997 年有 2~6、8~12 期,每期 3.50 元;1998 年有 3~11 期,每期 4.00 元;1999 年有 3~12 期,每期 4.00 元;2000 年有 7~12 期,每期 5.80 元;2001 年有 2~12 期,每期 6.50 元;2002 年有 1~12 期,每期 6.80 元;2003 年有 1~12 期,每期 6.80 元;2004 年有 1、2、1~12 期,每期 6.80 元。

1998、1999 年合订本每本 65 元,2000 年合订本每本 85 元,2001 年合订本每本 95 元,2002 年、2003 年合订本每本 105 元,2004 年合订本每本 115 元。

以上杂志免费邮寄,如欲挂号邮寄,请每件另加 3 元挂号费。欲购者请通过邮局汇款,在汇款附言中注明购买何年、何期、数量和电话。联系电话:(010)64014411-3042 或 3036。