

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.06.014

实验研究

逍遥散对雷公藤致急性肝损伤大鼠 CD68、肿瘤坏死因子 α 的影响

柴 智, 樊慧杰, 周文静, 王永辉, 李艳彦, 高 丽, 周 然*

(山西中医学院, 山西省太原市晋祠路一段 89 号, 030024)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873433); 山西省青年科技研究基金资助项目 (2012021031-6); 2010 年山西省高等学校科技开发项目 (20101106)

摘要 目的 研究逍遥散对雷公藤致急性肝损伤大鼠保护作用的可能机制。方法 30 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、逍遥散组, 每组 10 只。模型组和逍遥散组灌胃雷公藤水煎剂 $3.75 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 连续 4 天, 建立急性肝损伤大鼠模型。逍遥散组造模前 4 天灌胃逍遥散 $6.75 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 正常组和模型组分别给予等体积的蒸馏水, 每日 1 次。比较各组大鼠肝脏指数、血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 及分化群 68 (CD68)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的含量。结果 与正常组比较, 模型组大鼠的肝脏指数、血清 ALT、AST 及 CD68、TNF- α 的含量明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 逍遥散组大鼠的肝脏指数、血清 ALT、AST 及 CD68、TNF- α 的含量均明显降低 ($P < 0.01$)。结论 雷公藤致大鼠急性肝损伤与 CD68、TNF- α 的上调有关, 逍遥散对雷公藤致急性肝损伤的保护作用可能与其下调 CD68、TNF- α 水平有关。

关键词 雷公藤; 逍遥散; 急性肝损伤; 肿瘤坏死因子 α

雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 系卫矛科雷公藤属一年生藤本植物, 又名断肠草、黄藤根等^[1], 药用部分为去二层的根木质部。该药性辛、凉, 味苦, 有大毒, 归肝、肾经, 具有祛风除湿、活血通络、消肿止痛、杀虫解毒等功效; 具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤等多种作用^[2], 对红斑狼疮等自身免疫性疾病疗效显著^[3]。但同时表现出明显的毒副作用, 其所致肝损伤在相关文献报道中居单味肝损伤中药的首位^[4]。目前报道从雷公藤中分离出 100 多种化学成分^[5], 成分的复杂使其所致肝损伤机制仍不十分清楚, 要解决雷公藤的毒副作用, 对雷公藤减毒方法的研究就显得非常重要^[6-7]。课题组前期研究显示, 雷公藤所致急性肝损伤与其引起脂质过氧化反应有关; 逍遥散对雷公藤所致急性肝损伤具有保护作用, 其作用机制与抑制脂质过氧化反应有关^[8]。在前期研究基础上, 本实验拟观察 $3.75 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 雷公藤在致大鼠急

性肝损伤时血清分化群 68 (CD68) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的变化以及逍遥散对其的调控作用。

1 材料

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠 30 只, 雌雄各半, 体重 (110 ± 10) g, 由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 实验动物合格证号 SCXK (京) 2009-0004。

1.2 药品

雷公藤购自国药集团山西有限公司, 药材经山西省药品检验所鉴定, 将雷公藤粉碎后称取细粉, 10 倍量的水浸泡 30 min 后煎煮, 大火煎开后再小火煎煮 30 min, 取水煎液, 而后加水再煎如上法, 合并水煎液, 浓缩并减压蒸干为粉末备用 (1 g 药粉含生药 6.5 g)。逍遥散, 由北柴胡 30 g, 当归 30 g, 白芍 30 g, 白术 30 g, 茯苓 15 g, 炙甘草 15 g, 生姜 10 g, 薄荷 10 g 组成, 购自北京同仁堂饮片有限责任公司, 经山西省药品检验所鉴定, 煎煮方法同雷公藤, 将水煎液浓缩并减压蒸干为粉末备用 (1 g 药粉含生药 4.5 g)。

* 通讯作者: zhour58@sohu.com, (0351) 2272390

1.3 仪器

USA1489-2010 全自动生化分析仪 (西门子医疗器械有限公司), SpectraMax 190 全波长酶标仪 (美国 MD 公司), 3k30 台式高速冷冻离心机 (德国 Sigma 公司), BS224S 型万分之一电子天平 (德国赛多利斯集团), KQ-300VDE 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), DL-5-B 低速大容量离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.4 试剂

丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 试剂盒 (批号 C009) 和天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 试剂盒 (批号 C010) 均购自南京建成生物工程研究所; CD68 检测试剂盒 (批号 CSB-E13297r) 购自武汉华美生物工程有限公司; TNF- α 检测试剂盒 (批号 900-K73) 购自美国派普泰克公司。

2 方法

2.1 造模方法

急性肝损伤大鼠模型参照文献 [8] 以 3.75 g/(kg · d) 剂量灌胃大鼠雷公藤水煎剂, 连续 4 天。血清 ALT、AST 活力及肝脏指数明显升高, 则认为造模成功。

2.2 动物分组及给药

前期研究 [8] 结果显示, 6.75 g/(kg · d) 逍遥散能最大均衡逍遥散的药效, 并且根据最小剂量原则, 本研究逍遥散剂量选用 6.75 g/(kg · d)。采用随机数字表法将 30 只大鼠分为正常组、模型组、逍遥散组, 每组 10 只。逍遥散组造模前 4 天连续灌胃逍遥散 6.75 g/(kg · d), 每天 1 次; 正常组和模型组分别灌胃等体积的蒸馏水; 第 5 天起模型组和逍遥散组连续灌胃 4 天雷公藤 3.75 g/(kg · d); 正常组灌胃等体积的蒸馏水。灌胃体积均为 20 ml/kg。

2.3 观察指标及方法

于末次给药后禁食 12 h, 将各组大鼠称重, 处死大鼠, 腹腔静脉取血, 取肝脏称重, 计算肝脏指数 (肝脏指数 = 肝脏重量/大鼠体重 × 100%), 3000 r/min 离心 5 min 制备血清, 按试剂盒说明书操作步骤测定血清 ALT、AST 的活力及 CD68、TNF- α 的含量。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, 计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间均数比较应用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组大鼠血清 CD68、TNF- α 的含量比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组大鼠血清 CD68、TNF- α 的含量明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 逍遥散组大鼠血清 CD68、TNF- α 的含量明显降低 ($P < 0.01$); 与正常组比较, 逍遥散组大鼠血清 CD68、TNF- α 的含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠血清 CD68、TNF- α 含量比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	CD68	TNF- α
正常组	10	129.35 ± 25.28	37.83 ± 6.60
模型组	10	165.51 ± 22.78*	46.37 ± 6.41*
逍遥散组	10	129.95 ± 19.43▲	37.21 ± 4.13▲

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, ▲ $P < 0.01$

3.2 各组大鼠肝脏指数、肝脏功能指标水平比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组大鼠的肝脏指数及血清 ALT、AST 的活力明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 逍遥散组大鼠的肝脏指数及血清 ALT、AST 的活力均明显降低 ($P < 0.01$); 与正常组比较, 逍遥散组大鼠的肝脏指数及血清 ALT、AST 的活力差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠肝脏指数、肝脏功能指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	肝脏指数 (%)	ALT (U/L)	AST (U/L)
正常组	10	3.50 ± 0.28	33.98 ± 4.05	116.35 ± 15.08
模型组	10	4.09 ± 0.31*	69.46 ± 4.94*	187.91 ± 25.46*
逍遥散组	10	3.55 ± 0.30▲	35.06 ± 5.89▲	127.65 ± 17.91▲

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, ▲ $P < 0.01$

4 讨论

雷公藤引起肝损伤的临床表现多为急性, 有食欲不振、乏力、恶心、呕吐、尿黄、皮肤和巩膜黄染等症状, 肝脏肿大、有压痛, 血清 ALT、AST 升高, 胆汁淤积明显 [9]。临床有死亡病例报道, 主要死因是肝功能损害 [10]。雷公藤药物性肝损伤的中医机理, 乃为外来之药邪侵入机体, 首先戕伐脾胃, 致脾虚不运, 进而影响肝脏的疏泄功能, 肝 (胆) 脾 (胃) 不和, 故见发黄、转氨酶升高等症状体征; 或外来之药邪直接损害肝胆, 致使肝脏疏泄功能障碍, 影响胆汁的排泄, 形成黄疸、肝脏肿大等症状。逍遥散具有疏肝解郁、健脾和营、养血调经之功, 选取逍遥散干预雷公藤肝损伤作用, 乃针对雷公藤所致肝损伤的基本病机而设, 以起到保肝解毒、健脾疏肝的功效。

前期研究表明, 雷公藤引起的肝脏脂质过氧化

反应增多,是导致肝脏损伤的机制之一;逍遥散通过降低脂质过氧化反应达到保护肝脏的作用^[8]。本实验从 CD68 和 TNF- α 的角度继续探讨雷公藤致大鼠肝损伤及逍遥散对其保护作用的机制。CD68 分布于巨噬细胞表面,是特异性跨膜抗原。肝脏中的巨噬细胞受刺激后可分泌大量的 TNF- α ,高水平的 TNF- α 可直接导致肝细胞凋亡和坏死^[11],有研究报道, TNF- α 的过度分泌是引起肝损伤的重要原因之一^[12]。本研究结果表明,雷公藤造成大鼠急性肝损伤时,可明显上调大鼠血清 CD68 和 TNF- α 的含量,这可能是雷公藤导致急性肝损伤的机制;逍遥散对雷公藤所致大鼠急性肝损伤的保护作用可能与下调 CD68 和 TNF- α 的含量有关。但逍遥散在减轻雷公藤肝损伤的同时是否影响雷公藤的药效,仍需要进一步研究。

参考文献

- [1] 郭艳红,谭垦.雷公藤的毒性及其研究概况[J].中药材,2007,30(1):112-117.
- [2] 姚鑫,吴强,周勤华,等.雷公藤中萜类成分药理作用的分子机制研究进展[J].中药药理与临床,2012,28(4):118-121.
- [3] 王冠华,汪悦.汪履秋治疗系统性红斑狼疮经验[J].

中医杂志,2011,52(5):378-379.

- [4] 傅肖岩,劳绍贤.重视中药所致肝损害[J].中药新药与临床药理,2003,14(2):130-133.
- [5] 张喆,张志勇.雷公藤的毒理作用及增效减毒配伍的研究进展[J].中国药房,2008,19(9):705-707.
- [6] 刘为萍,刘素香,唐慧珠,等.雷公藤研究新进展[J].中草药,2010,41(7):1215-1218.
- [7] 李丽,刘昕,何书华.有毒中药的合理应用[J].中医杂志,2004,45(7):556-557.
- [8] 柴智,周文静,王永辉,等.逍遥散对雷公藤致大鼠急性肝损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(7):170-172.
- [9] 柴智,周文静,高丽,等.雷公藤肝毒性及其作用机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):243-246.
- [10] 王秀娟,许利平,王敏.常用中药及复方制剂的肝毒性[J].首都医科大学学报,2007,28(2):220-224.
- [11] 莫成林.细胞因子在酒精性肝炎中的作用[J].国外医学(药学分册),2003,30(3):171-175.
- [12] Ding Hong, Huang jian. Study on intervenient effect of angelica ainensis polysaccdharide on immunological liver injury and its mechanism in mice[J]. CJIM,2002,8(2):122-125.

Effects of Xiaoyao Powder (逍遥散) on CD68 and TNF- α in Rats with Tripterygium-Induced Liver Injury

CHAI Zhi, FAN Huijie, ZHOU Wenjing, WANG Yonghui, Li Yanyan, GAO Li, ZHOU Ran

(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shanxi Province 030024)

ABSTRACT Objective To study the possible mechanism of *Xiaoyao Powder* (Free Wanderer Powder, 逍遥散) for acute Tripterygium-induced liver injury in rats. **Methods** Thirty Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into the normal group, model group and *Xiaoyao Powder* group, with 10 in each. The rat models of acute Tripterygium-induced liver injury were established by intragastric administration of 3.75 g/kg Tripterygium decoction in the model group and *Xiaoyao Powder* group for 4 consecutive days. The *Xiaoyao Powder* group was gavaged with 6.75 g/kg *Xiaoyao Powder* for 4 days before modeling. The normal group and model group were gavaged with an equal volume of distilled water. The intragastric administration lasted for 8 days. The liver index, serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), cluster of differentiation 68 (CD68) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected. **Results** Comparing with the normal group, the liver index, ALT, AST, CD68 and TNF- α in the model group were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the model group, the liver index, ALT, AST, CD68 and TNF- α in the *Xiaoyao Powder* group were significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** Acute Tripterygium-induced liver injury is associated with the up-regulation of CD68 and TNF- α . The protective effect of *Xiaoyao Powder* (逍遥散) on acute Tripterygium-induced liver injury may be relevant to down-regulating CD68 and TNF- α .

Keywords Tripterygium; *Xiaoyao Powder* (逍遥散); acute liver injury; tumor necrosis factor- α

(收稿日期: 2013-08-28; 修回日期: 2013-10-12)

编辑: 侯建春