

大柴胡颗粒对实验性豚鼠慢性胆囊炎的保护作用研究

卢金福^{1,2} 许惠琴^{1,2} 张志芬³ 王兆龙³ 蒋舒瑶¹ 杜 萍⁴

(1.南京中医药大学,江苏南京 210023; 2.江苏省中药药效与安全性评价重点实验室,江苏南京 210023;

3.南通精华制药股份有限公司,江苏南通 226005; 4.江苏省中医院,江苏南京 210029)

摘要 目的:观察大柴胡颗粒对高脂饲料致慢性胆囊炎豚鼠的保护作用。方法:将豚鼠随机分为正常对照组、模型组和大柴胡颗粒小、大剂量(4g/kg、8g/kg)组,除正常对照组以外,其余各组豚鼠采用高脂饲料饲养8周,复制慢性胆囊炎模型,实验第5周开始各组灌胃给予药物或生理盐水4周。观察并比较各组大鼠胆汁总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)及胆汁酸(TBA)水平,观察胆囊组织病变情况。结果:与模型组比较,大柴胡颗粒小、大剂量均可显著降低胆囊炎模型豚鼠胆汁中DBIL的水平($P<0.05$, $P<0.01$),其中大剂量的作用更为显著。大柴胡颗粒小剂量还可明显降低胆囊炎模型豚鼠胆汁中TBIL含量($P<0.01$)。组织病理学观察表明,大柴胡颗粒可显著减轻胆囊组织水肿、炎细胞浸润等病变。结论:大柴胡颗粒对豚鼠的慢性胆囊炎具有较好的治疗作用。

关键词 大柴胡颗粒 慢性胆囊炎 胆汁总胆红素 直接胆红素 胆汁酸 病理学 实验研究

中图分类号 R575.610.5

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2015)04-0073-03

大柴胡汤出自张仲景的《伤寒论》,具有外解少阳、内泻热结的功效,用于治疗少阳阳明合病,现代医学常用于治疗胆囊炎、胆石症、胃及十二指肠溃疡等疾病。大柴胡颗粒是在大柴胡汤基础上研制而成的现代中药复方制剂。文献报道显示,大柴胡汤在治疗肝胆疾病方面疗效显著,如胆囊炎、胆石症、非酒精性脂肪肝等^[1-4],但有关大柴胡颗粒对胆囊炎的影响仅见临床报道^[5-6]。本研究通过制作实验性胆囊炎模型豚鼠,观察大柴胡颗粒对胆囊炎的治疗作用,为其临床使用提供理论依据。

1 实验材料

1.1 动物 豚鼠,普通级,350~450g,雌雄兼用,由南京青龙山实验动物养殖场提供。

1.2 药品与试剂 大柴胡颗粒由南通精华制药有限公司根据大柴胡汤用现代工艺制备而成,药物组成:柴胡 15g,黄芩 9g,芍药 9g,半夏 9g,生姜 15g,枳实 12g,大枣 12枚,大黄 6g^[7]。胆囊炎高脂饲料:在普通饲料中加入酪蛋白 1%、蔗糖 1.5%、猪油 1%、纤维素 1%、胆酸 0.02%、胆固醇 0.05%^[8],由南京青龙山实验动物养殖场提供。胆汁生化指标测定试剂盒:TBIL测定试剂盒(重氮盐法)、DBIL测定试剂盒(重氮盐法),北京利得曼生化股份有限公司。TBA测定试剂盒(酶循环法),四川迈克生物科技有限公司。

1.3 仪器 日立 7020 全自动生化分析仪,日本;TP 1020 自动脱水机、RM2235 型石蜡切片机,德国 LEICA 公司产品;CS-VI 型摊片烤片机,湖北孝感宏业医用仪器有限公司;Tissue-Tek TEL 组织包埋中心,日本 SAKURA 公司产品;LEICA DM 1000 光学显微镜,德国 Leica 公司产品;隔水式电热恒温培养箱,上海市跃进医疗器械一厂;MiniSee 图像采集系统。

2 实验方法

2.1 分组与造模、给药 取健康豚鼠,在实验室适应1周后随机分为正常对照组与造模组。正常对照组喂以普通饲料,造模组连续喂以胆囊炎高脂饲料8周^[8]。喂养第5周时,将造模组随机分为模型组和大柴胡颗粒大、小剂量组,大柴胡颗粒组分别给予4g/kg、8g/kg大柴胡颗粒溶液灌胃,正常对照组和模型组灌胃等体积生理盐水,连续给药4周,饲料的喂养与给药前相同。

2.2 指标检测 末次给药后禁食12h,豚鼠称重,脱颈处死,提取胆汁,测定胆汁中总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)及胆汁酸(TBA)含量。取胆囊用福尔马林固定,石蜡包埋,HE染色,观察胆囊形态学变化,对病变程度进行赋值统计,即“+”、“++”、“+++”分别给予1分、2分、3分,每组累加统计。

基金项目:江苏省科技成果转化专项课题(BA2010094);江苏高校优势学科建设工程资助项目(中药学)

2.3 统计学方法 采用 SPASS15.0 软件,所有计量资料均用($\bar{x}\pm s$)表示并进行 student-t 检验。

3 实验结果

3.1 各组豚鼠相关生化指标比较 与正常对照组比较,模型组豚鼠胆汁 DBIL 明显升高($P<0.01$)。与模型组比较,大柴胡颗粒大、小剂量组豚鼠胆汁中 DBIL 含量均明显降低($P<0.01, P<0.05$),其中大剂量作用更为明显($P<0.01$);大柴胡颗粒小剂量组豚鼠胆汁中 TBIL 含量明显降低($P<0.01$)。结果见表 1。

3.2 各组豚鼠胆囊形态学检查 病理检查显示,模型组豚鼠胆囊局部上皮增生,间质水肿,可见较多淋巴浆细胞浸润,局部区域可见肠上皮细胞化生;大柴胡颗粒的两个剂量组可见少量或散在炎细胞浸润,胆囊局部上皮轻度增生,显示对胆囊炎有较好的治疗效果。结果见表 2、图 1。

表 1 各组豚鼠胆汁 TBIL、DBIL、TBA 含量比较($\bar{x}\pm s$)

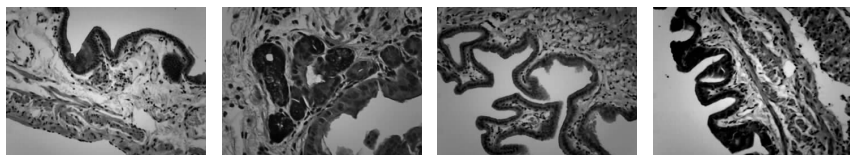
组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	TBIL(mol/L)	DBIL(mol/L)	TBA(mol/L)
正常对照组	13	-	56.21±60.70	20.47±9.70	1391.61±2387.96
模型组	13	-	68.58±38.40	38.24±6.16 ^{##}	2483.76±2649.44
大柴胡颗粒小剂量组	13	4	32.31±24.59 ^{**}	30.83±8.03 [*]	818.05±1609.69
大柴胡颗粒大剂量组	13	8	55.19±40.22	20.18±6.04 ^{**△△}	1577.64±2302.40

注:与正常对照组比较,### $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与大柴胡颗粒小剂量组比较,△△ $P<0.01$ 。

表 2 各组豚鼠胆囊组织形态学观察指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	水肿	炎细胞浸润	肠化生	上皮细胞增生	病理改变总值
正常对照组	13	-	0.00±0.00	0.15±0.38	0.00±0.00	0.00±0.00	0.15±0.38
模型组	13	-	1.15±0.38 ^{##}	1.00±0.00 ^{##}	0.38±0.65	1.15±0.55 ^{##}	3.69±0.85 ^{##}
大柴胡颗粒小剂量组	13	4	0.38±0.51 ^{**}	0.69±0.48 [*]	0.23±0.44	0.69±0.85	2.00±1.41 ^{**}
大柴胡颗粒大剂量组	13	8	0.31±0.48 ^{**}	0.46±0.52 ^{**}	0.31±0.48	1.08±0.49	2.15±1.14 ^{**}

注:与正常对照组比较,### $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.05$ 。



正常对照组 模型组 大柴胡颗粒小剂量组 大柴胡颗粒大剂量组

图 1 各组豚鼠胆囊组织学图片(HE 染色,20×10)

4 讨论

现代医学认为,慢性胆囊炎多因结石刺激、细菌感染、病毒性肝炎、化学性损害、寄生虫及急性胆囊炎迁延等引起,一般采用解痉止痛、控制感染、利胆、手术等方法治疗^[9]。西药的长期应用导致的不良反应较为多见;手术虽然有根治作用,但难

免存在后遗症,如胆道术后综合征,不易被患者接受。中医药治疗本病在利胆、改善症状方面疗效显著。

目前,慢性胆囊炎的动物模型主要有饮饲法、石胆酸诱发等^[8,10]。中医认为,胆囊炎的发病与饮食不节、精神抑郁等多种因素相互作用有关,其发病机制为湿热内盛、肝胆气滞或气郁化热,因此本研究从饮食不节的角度采用饮饲法造模。

肝细胞分泌胆汁进入胆囊临时存储,胆汁具有双重功能:一是促进脂类的消化和吸收;二是作为排泄液,将体内某些代谢产物(胆红素、胆固醇等)排入肠腔,随粪便排出体外。胆红素由衰老的红细胞释放的血色素经肝脏转化而成,随胆汁的分泌进入胆囊。胆汁酸则由胆固醇转变而来,这也是胆固醇排泄的重要途径之一。中医认为,肝胆互为表里,肝胆疏泄失常,肝胆气滞,胆汁郁结,不通则痛,气血

郁滞,热结不散,最终形成胆囊炎。现代医学认为,当肝胆有疾病,胆红素、胆固醇、胆汁酸等指标可出现异常。国内外的文献均显示,当胆囊有病变时通常会累及肝脏,引起肝功能的异常或胆汁排泄不畅等,胆汁的长期滞留和过于浓缩对胆囊黏膜直接刺激是导致胆囊慢性炎症变化的一个重要因素^[11-13]。这些认识与上述中医的观点基本吻合。因此胆红素、胆汁酸等升高的程度也间接反映了胆囊病变的程度。大柴胡颗粒对高脂饲料致豚鼠胆囊炎胆汁 DBIL、TBIL 的升高有显著的降低作用,对 TBA 的升高也有一定的降低趋势,提示大柴胡颗粒对豚鼠胆囊炎有一定治疗作用。水肿及炎细胞的浸润是组织炎症的重要特征,组织学检查结果显示,大柴胡颗粒可显著减轻豚鼠胆囊炎病变中的水肿及炎细胞的浸润,对肠化生、上皮细胞增生也有一定的抑制趋势。结合上述生化指标的改变,我们认为大柴胡颗粒对胆囊组织的炎症有较好的抑制作用,该作用的发挥可能通过改善肝胆代谢或促进胆汁排泄等途径实现,至于其详细的机理及作用环节将在后续的工作中进一步研究。

(下转第 77 页)

展^[6]。IL-8 是由巨噬细胞和上皮细胞等分泌的白介素亚类细胞因子,它可以通过刺激血管生成直接促进肿瘤生长,较高水平的 IL-8 与肿瘤患者体重减轻、恶病质形成有直接关系^[7]。

本研究结果显示,模型组小鼠 TNF- α 水平最高,这和许多同类研究报道一致。本研究观察到较高浓度的 TNF- α 出现在核仁深染、腺体拥挤、血窦丰富的模型组,这提示食管癌的 TNF- α 表达水平与肿瘤细胞活性呈正相关。而经高剂量通连 I 号方干预的小鼠肿瘤组织中 TNF- α 水平显著降低,与模型组比较有极显著性差异($P<0.01$)。模型组小鼠 IL-6 和 IL-8 含量最高,而通连 I 号方高剂量组显著下降,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$)。通连 I 号方中、低剂量组的上述三项指标变化甚微,与模型组比较无显著性差异;各剂量组间比较,高剂量组与中、低剂量组显示出显著性差异($P<0.05$)。本研究从免疫调节角度证明了高剂量的通连 I 号方抑制食管癌的部分机制。

综上,通连 I 号方有较好的抑制食管癌荷瘤小鼠瘤体生长作用,通过诱导肿瘤组织坏死,下调肿瘤组织 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 等免疫因子水平,发挥免疫调节作用。需要指出的是,多靶点作用是中药复方抗癌的优势,本研究仅从宏观瘤体变化、组织形态学和若干免疫因子差异等方面做了探讨,其是否涉及与免疫调节相关的分子信号通路或者基因表达的变化等,值得进一步深入探讨。

参考文献

- [1] Wang L,Tang W,Chen S,et al.N-acetyltransferase 2 Polymorphisms and Risk of Esophageal Cancer in a Chinese Population. PloS One,2014,9(2):877
- [2] 河北联合大学. 治疗食管癌的活血行气中药制剂及其制备方法:中国,ZL201110308544.0[P].2013-4-10[2014-11-15]
- [3] 贾永森,李继安,韩炳生,等.通连 I 号方及其拆方对食管癌 Eca109 细胞增殖及细胞周期的影响.中国实验方剂学杂志,2012,18(12):191
- [4] 贾永森,李继安,杜宁,等.通连 I 号方对食管癌 Eca109 细胞 NF- κ B 信号通路影响的研究.时珍国医国药,2012,23(10):2534
- [5] 纪勇,陈静瑜,郑明峰,等.茶树菇多糖联合化疗对食管癌大鼠 TNF- α 和 IFN- γ 的影响.肠外与肠内营养,2012,19(5):293
- [6] 陈德玉,金丽艳,朱龙萍,等.Iet-7a 和 IL-6 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及两者的相关性.细胞与分子免疫学杂志,2013,29(11):1181
- [7] 陈瀚文,王健.IL-8/R 在胃癌中的作用及机制研究进展.免疫学杂志,2013,29(5):447

第一作者:张艳丽(1980-),女,医学硕士,主治医师,从事中医内科临床研究工作。

通讯作者:贾永森,医学博士,副教授。jysen@163.com

收稿日期:2014-11-15

编辑:吴宁

(上接第 74 页)

参考文献

- [1] 沈维增,吕红梅,谢峥伟,等.大柴胡汤合保和丸治疗非酒精性脂肪性肝病的临床研究.中华中医药学刊,2012,30(12):2612
- [2] 黄碧纯,许世波.加味大柴胡汤治疗阻塞性黄疸术后对照观察.实用中医内科杂志,2012,26(12):34
- [3] 姜笃信,艾力·艾合买提.大柴胡汤治疗急性胆道感染 45 例疗效观察.新疆中医药,2012,30(3):30
- [4] 叶浩然.大柴胡汤加减治疗慢性胆囊炎合并胆结石疗效观察.北方药学,2012,9(8):30
- [5] 刘玲玲,金小晶.大柴胡颗粒治疗慢性胆囊炎胆腑郁热证 30 例疗效观察.实用临床医药杂志,2011,15(19):126
- [6] 张振中,李美.大柴胡颗粒治疗老年慢性胆囊炎的临床观察.国际消化病杂志,2011,31(3):183
- [7] 郭子光,冯显逊.伤寒论汤证新编.上海:上海科学技术出版社,1983:232
- [8] 任小宇,徐惠波.胆囊炎的形成原理及动物模型的建立.淮海医药,2009,27(3):276
- [9] 杨维建,李娟,汪佳明,等.慢性胆囊炎中医治疗研究进展.西部中医药,2011,24(12):95

- [10] 余成浩.清胆颗粒剂治疗胆囊炎的主要药效学实验研究.四川:成都中医药大学,2003
- [11] Rastogi A,Krishnani N,Pandey RDubin-Johnson syndrome: a clinicopathologic study of twenty cases.Indian J Pathol Microbiol,2006,49(4):500
- [12] Padda MS,Singh S,Tang SJ,et al.Liver test patterns in patients with acute calculous cholecystitis and/or choledocholithiasis. Aliment Pharmacol Ther,2009,29(9):1011
- [13] 郭凌超,吴瑶华,徐义仁,等.结石性胆囊炎合并肝功能损害 600 例分析.腹腔镜外科杂志,2000,5(1):50

第一作者:卢金福(1964-),男,博士,副教授,主要从事中药药理学的研究。

通讯作者:杜萍,本科学历,主管药师。184662719@qq.com

收稿日期:2015-01-18

编辑:吴宁