

# 苦参素联合扁桃苷治疗小鼠肝纤维化的相关研究

闫冰川, 江鹏, 江伟炽, 洪健

广州医科大学附属肿瘤医院, 广东 广州 510095

**[摘要]** 目的: 研究苦参素联合扁桃苷治疗肝纤维化的作用。方法: 将40只雄性C57BL/6小鼠分为正常组5只、模型组5只、苦参素组10只、扁桃苷组10只、联合用药组10只。用四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导肝纤维化小鼠模型, 天狼星红染色确定肝纤维化程度和纤维染色面积; 通过试剂盒检测羟脯氨酸浓度, 评价纤维沉积情况; 检测血谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)含量变化。结果: 与正常组比较, 模型组小鼠体质量明显减轻, 血ALT与AST水平上升, 肝纤维化明显, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 苦参素组、扁桃苷组和联合用药组小鼠平均体质量均有所升高, 但仅联合用药组差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 苦参素组、扁桃苷组和联合用药组小鼠肝组织肝纤维化Ishak评分、天狼星红胶原染色面积、羟脯氨酸占比及血ALT、AST水平均明显下降, 以联合用药组效果最明显, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论: 苦参素与扁桃苷联合应用具有显著的抗肝纤维化作用, 且治疗效果明显优于单用苦参素或扁桃苷。

**[关键词]** 肝纤维化; 四氯化碳(CCl<sub>4</sub>); 苦参素; 扁桃苷; 动物实验; 小鼠

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 12-0025-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.12.007

## Correlation Study on Matrine Combined with Amygdalin for Hepatic Fibrosis in Mice

YAN Bingchuan, JIANG Peng, JIANG Weizhi, HONG Jian

**Abstract:** Objective: To study the anti-hepatic fibrosis effect of matrine combined with amygdalin. Methods: Forty male C57BL/6 mice were divided into five groups, included five in the normal group, five in the model group, ten in the matrine group, ten in the mandelic group and ten in the combined treatment group. Established the model of mice with hepatic fibrosis by induction of carbon tetrachloride, and determined the degree of hepatic fibrosis and the staining area of fibrosis via Sirius red staining; evaluated the concentration of hydroxyproline and detected the status of fibrous deposition by means of kits; detected the changes of contents of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in serum. Results: Comparing with the normal group, the body mass of mice in the model group was significantly decreased, the levels of ALT and AST in serum were increased, and hepatic fibrosis was evident, differences being significant ( $P < 0.01$ ). Comparing with the model group, the average body mass of mice in the matrine group, the amygdalin group and the combination group was increased respectively, but there was significant difference being found only in the combination group ( $P < 0.01$ ). The Ishak scores of hepatic fibrosis in liver tissue of mice, the area of Sirius red collagen staining, concentration of hydroxyproline and levels of ALT and AST in serum were evidently decreased in all groups, among which the effect in the combination group was the most evident, differences being significant ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Conclusion: The combined application of matrine and amygdalin has significant anti-hepatic fibrosis effect, and its therapeutic effect is evidently better than the simple application of matrine and amygdalin.

**Keywords:** Hepatic fibrosis; Carbon tetrachloride(CCl<sub>4</sub>); Matrine; Amygdalin; Animal experiment; Mice

肝纤维化是指由肝炎病毒感染、酒精、寄生虫等多种致病因素导致的肝内纤维异常沉积与结缔组织异常增生过程, 是包括乙型肝炎, 酒精性肝炎在内的大多数慢性肝脏疾病的共同病

理过程, 并且最终可以发展为肝硬化甚至肝癌<sup>[1-2]</sup>。我国是肝病大国, 目前各类肝病人口约有2亿<sup>[3]</sup>, 其中相当一部分伴有肝纤维化甚至肝硬化。但目前尚无非常有效的肝纤维化治疗药

**[收稿日期]** 2018-09-06

**[基金项目]** 广州市属高校科技项目(1201410075); 广州市羊城学者项目(1201561579)

**[作者简介]** 闫冰川(1977-), 男, 副主任中医师, 研究方向: 中西医结合防治肝纤维化、肝硬化与肝癌。

**[通信作者]** 洪健, E-mail: hongjian7@hotmail.com。

物,因此迫切需要研究开发新的抗肝纤维化药物<sup>[4]</sup>。

苦参素是由中草药苦参中提取分离的一种活性生物碱。研究显示其对病毒性肝炎、肝纤维化、肝硬化以及肝癌均有一定的治疗效果<sup>[5-7]</sup>。扁桃苷又名苦杏仁苷,是中药苦杏仁及桃仁中的主要有效成分。报道显示扁桃苷对肝纤维化也有一定的治疗作用<sup>[8]</sup>。但目前尚不明确这2种药物在治疗肝纤维化方面是否具有协同作用。本研究利用四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导小鼠肝纤维化模型,以探讨苦参素联合扁桃苷对肝纤维化的治疗效果。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与主要试剂 6周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 18~22 g, 购自北京维通利华公司, 实验动物许可证号: SCXK(京)2016-0011。CCl<sub>4</sub> 和橄榄油购自国药试剂公司, 苦参素购自上海蓝木化工公司, 扁桃苷购自美国 Sigma 公司, 天狼星红染色试剂盒购自珠海贝索公司, 羟脯氨酸检测试剂盒购自英国 Abcam 公司, 谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)检测试剂盒购自南京建成公司。实验所用 CCl<sub>4</sub> 用橄榄油稀释至实验所需浓度。

1.2 模型制备及给药方法 将 40 只小鼠随机分为正常组 5 只、模型组 5 只、苦参素组 10 只、扁桃苷组 10 只、联合治疗组 10 只。其中正常组小鼠给予每周 3 次 100 μL 橄榄油灌胃, 其他各组小鼠给予每周 3 次 100 μL 40% CCl<sub>4</sub>(橄榄油稀释)灌胃, 诱导肝纤维化。灌胃持续 8 周, 其中第 5~8 周按实验设计分别给予苦参素组、扁桃苷组和联合治疗组小鼠单药或联合用药治疗。苦参素组小鼠给予 200 mg/(kg·d)的苦参素灌胃; 扁桃苷组给予 200 mg/(kg·d)的扁桃苷灌胃; 联合用药组小鼠同时给予 200 mg/(kg·d)的苦参素和 200 mg/(kg·d)的扁桃苷灌胃。苦参素使用生理盐水溶解, 配制成 50 mg/mL 浓度的工作液; 扁桃苷难溶于水, 使用 0.5%浓度的羟甲基纤维素钠水溶液配置成 50 mg/mL 浓度的悬浊液, 于每次灌胃前经超声混匀; 联合用药组药物, 先配制 50 mg/mL 浓度的扁桃苷悬浊液, 再溶入苦参素, 使苦参素的终浓度达到 50 mg/mL。给药期间, 正常组及模型组小鼠每天给予等量生理盐水灌胃。

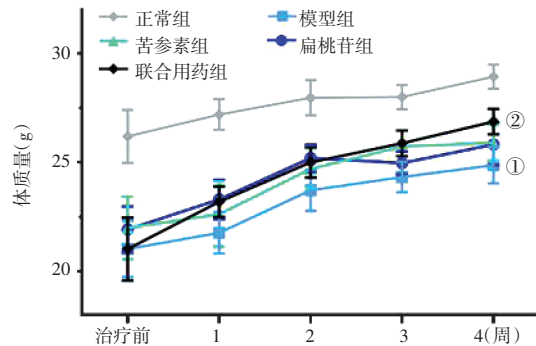
1.3 实验指标检测方法 于第 8 周结束后处死所有小鼠, 保留肝脏组织新鲜组织标本、石蜡标本和血标本用于检测肝纤维化及相关指标情况, 比较不同治疗方式的治疗效果。其中新鲜组织标本按照试剂盒说明书检测羟脯氨酸浓度; 石蜡包埋组织

标本切取 4 μm 后组织切片, 按相应试剂说明书行天狼星红染色, 按照 Ishak 标准进行肝纤维化评分<sup>[9]</sup>, 并使用 ImageJ 软件对天狼星红染色切片中的胶原染色面积进行定量。保存的血标本按照试剂盒说明书检测小鼠 ALT 和 AST 水平, 用于评价小鼠肝功能水平变化。

1.4 统计学方法 采用 SPSS23.0 软件对实验数据进行分析, 计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两两比较采用 *t* 检验或单因素方差分析进行统计, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

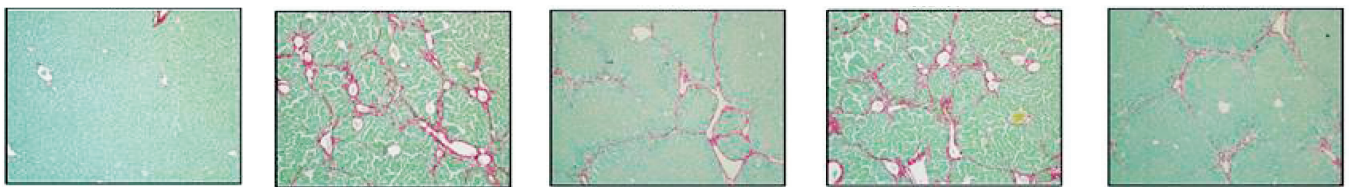
2.1 各组小鼠一般情况及体质量变化结果比较 见图 1。正常组小鼠的体质量呈逐渐增加的趋势。与正常组比较, 模型组小鼠的体质量明显下降(*P* < 0.01)。与模型组比较, 3 组给药治疗小鼠精神、活动、毛色和饮食均有所改善, 体质量有所增长, 但仅联合用药组差异有统计学意义(*P* < 0.01)。



与正常组比较, ①*P* < 0.01; 与模型组比较, ②*P* < 0.01。

图 1 各组小鼠体质量变化结果比较

2.2 各组小鼠天狼星红染色结果比较 见图 2、3。正常组小鼠无肝纤维化, Ishak 评分为 0, 天狼星红染色面积与羟脯氨酸占比较低; 与正常组比较, 模型组小鼠肝纤维化明显, 平均 Ishak 评分超过 4 分, 天狼星红染色明显, 羟脯氨酸升高, 差异有统计学意义(*P* < 0.01); 与模型组比较, 苦参素组、扁桃苷组、联合用药组在肝纤维化 Ishak 评分, 天狼星红染色面积和羟脯氨酸占比方面均有明显改善, 以联合用药组改善最明显, 差异均有统计学意义(*P* < 0.01)。



正常组

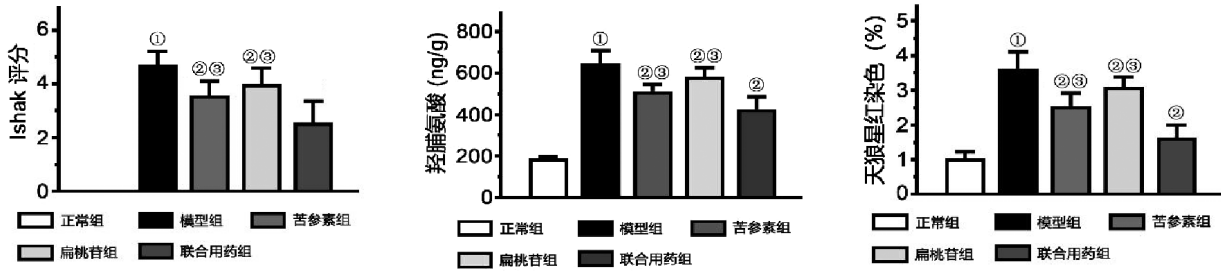
模型组

苦参素组

扁桃苷组

联合用药组

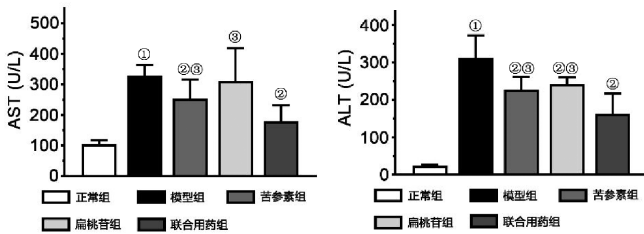
图 2 各组小鼠肝脏组织切片典型天狼星红染色结果比较 (×100)



与正常组比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.01$ ; 与联合用药组比较, ③ $P < 0.01$

图3 各组小鼠肝纤维化 Ishak 评分、天狼星红胶原染色面积及羟脯氨酸检测结果比较

2.3 各组小鼠血 ALT、AST 变化结果比较 见图 4。与正常组比较, 模型组小鼠的血 ALT 和 AST 均明显升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 各给药组小鼠血 ALT、AST 均有一定程度的下降, 以联合用药组效果最明显, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。



与正常组比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$ ; 与联合用药组比较, ③ $P < 0.05$

图4 各组小鼠血 ALT 与 AST 变化结果比较

### 3 讨论

肝纤维化是多种慢性肝病发生发展过程中伴随的肝脏基质与纤维成分异常沉积的病理过程。在各种肝损伤因素的长期作用下引起的慢性肝炎肝损伤, 导致肝星状细胞激活、增殖并分泌产生大量的基质成分, 导致肝纤维化, 并可以进一步发展为肝硬化和肝癌<sup>[4]</sup>。肝纤维化发病率较高, 并且可以发展为肝硬化和肝癌, 是一种严重危害人民群众身体健康的疾病。虽然有研究已经发现了一些具有一定抗肝纤维化作用的药物, 但到目前为止尚无非常理想的抗肝纤维化治疗药物。因此探索多药联合的抗肝纤维化治疗方案, 提高药物治疗肝纤维化的效果, 具有重要的研究意义。本研究通过 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化动物模型, 证实了苦参素与扁桃苷联用可以有效的减轻实验小鼠的肝纤维化程度, 有明显的肝纤维化治疗效果。

本研究验证了苦参素与扁桃苷的抗纤维化作用, 同时也进一步证实了这 2 种药物联用具有更显著的抗肝纤维化治疗效果。但目前对于这 2 种药物的抗肝纤维化分子机制仍不明确,

需要进一步的试验研究确定相关机制。同时也需要进一步的临床试验, 评估这 2 种药物联用的实际临床应用价值。

### [参考文献]

- [1] Herrmann E, Lédighen de V, Cassinotto C, et al. Assessment of biopsy-proven liver fibrosis by two-dimensional shear wave elastography: An individual patient data-based meta-analysis[J]. Hepatology, 2018, 67(1): 260-272.
- [2] Enomoto H, Bando Y, Nakamura H, et al. Liver fibrosis markers of nonalcoholic steatohepatitis[J]. World journal of gastroenterology, 2015, 21(24): 7427-7435.
- [3] 叶霞, 程瑞. 酒精性肝纤维化中西医研究及治疗进展[J]. 光明中医, 2018, 33(6): 898-901.
- [4] Botcher K, Pinzani M. Pathophysiology of liver fibrosis and the methodological barriers to the development of anti-fibrogenic agents[J]. Advanced drug delivery reviews, 2017, 121: 3-8.
- [5] 张松达, 辛晓恩, 刘积庆. 苦参素治疗老年乙肝肝硬化的效果及对门脉血流动力学的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(13): 3270-3271.
- [6] 黄赞松, 周喜汉. 苦参素药理和抗肿瘤作用研究[J]. 医学综述, 2009, 15(11): 1701-1704.
- [7] 邓通元, 黄桂柳, 黄赞松, 等. 苦参素对肝癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响及机制[J]. 山东医药, 2018, 58(10): 5-8.
- [8] 李雪梅, 冯琴, 彭景华, 等. 苦杏仁苷对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的防治作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2011, 21(4): 221-223.
- [9] Ishak KG. Chronic hepatitis: Morphology and nomenclature[J]. Mod Pathol, 1994, 7(6): 690-713.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)