

立[J]. 首都医科大学学报, 2007, 28(6): 760-762.

[13] Zhang X H, Huang S J, Wang Y Y, *et al.* Effects of Kaixin Jieyu Decoction on behavior and glial fibrillary acidic protein expression in cerebral hippocampus of a rat vascular depression model[J]. *Chin J Integr Med*, 2015, 21(3): 223-228.

[14] Sato Y, Chin Y, Kato T, *et al.* White matter activated glial cells produce BDNF in a stroke model of monkeys[J]. *Neurosci Res*, 2009, 65(1): 71-78.

[15] 傅锦华. 新型抗抑郁中药舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠的作用机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2014.

[16] Leyton M, Paquette V, Gravel P, *et al.* α -[^{11}C] methyl-tryptophan trapping in the orbital and ventral medial prefrontal cortex of suicide attempters [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2006, 16(3): 220-223.

[17] Martinowich K, Lu B. Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(1): 73-83.

[18] Francis B M, Yang J, Hajderi E, *et al.* Reduced tissue levels of noradrenaline are associated with behavioral phenotypes of the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2012, 37(8): 1934-1944.

[19] Jay T M, Rocher C, Hotte M, *et al.* Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses is impaired by loss of dopamine and stress: importance for psychiatric diseases [J]. *Neurotox Res*, 2004, 6(3): 233-244.

[20] Youdim K A, Dobbie M S, Kuhnle G, *et al.* Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: *in vitro* studies [J]. *J Neurochem*, 2003, 85(1): 180-92.

[21] hwang S L, Shih P H, Yen G C. Neuroprotective effects of citrus flavonoids [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(4): 877-885.

保肝合剂对急性免疫性肝损伤小鼠的保护作用

赵晨翔¹, 张雅敏^{2*}, 刘宏胜³, 刘子荣⁴
(1. 天津中医药大学研究生院, 天津 300193; 2. 天津市第一中心医院肝胆外科, 天津 300192; 3. 天津市第一中心医院卫生部危重病急救医学重点实验室, 天津 300192; 4. 天津医科大学一中心临床学院, 天津 300070)

摘要: **目的** 研究保肝合剂(柴胡、黄芩、法半夏,等)对刀豆蛋白A(ConA)诱导的小鼠急性免疫性肝损伤的保护作用。**方法** 将72只C57BL/6J小鼠随机分为6组:正常组,模型组,保肝合剂低、中、高剂量组(22.5、45、90 mg/kg)和联苯双酯组(100 mg/kg)。每日灌胃(ig)给予小鼠不同剂量保肝合剂14 d后,末次ig后除正常组外,各组均采用尾静脉注射ConA 20 mg/kg制备急性免疫性肝损伤模型。8 h后称重,处死小鼠;检测小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)及肝组织匀浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素(IFN- γ)、白介素1(IL-1)、白介素6(IL-6)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和鸟氨酸氨基甲酰转移酶(OCT)水平;计算肝、脾指数并同时对照肝组织进行病理学检查。**结果** 保肝合剂具有剂量依赖性地降低ConA所致小鼠急性肝损伤血清ALT、AST的升高($P<0.05$),降低肝匀浆中TNF- α 、IFN- γ 、IL-1、IL-6、OCT的水平($P<0.05$)及降低肝、脾系数($P<0.05$),提高SOD的活性($P<0.05$),减轻ConA对肝组织的病理损伤程度。**结论** 保肝合剂对ConA所致小鼠急性免疫性肝损伤具有一定的保护作用,其机制可能与增强清除自由基的能力从而抑制脂质过氧化以及减少炎症因子的释放相关。

关键词: 保肝合剂; C57BL/6J小鼠; 急性免疫性肝损伤; 刀豆蛋白A

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)06-1144-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.06.007

Protective effect of Baogan Mixture against acute immunologic liver injury induced by ConA in mice

收稿日期: 2016-06-27
基金项目: 天津市应用基础与前沿技术 Research Plan (14JCYBJC24800); 国家自然科学基金面上项目 (81370576)
作者简介: 赵晨翔 (1990—), 男, 硕士生, 从事肝癌及相关药物的研究。Tel: 13920161770, E-mail: 1226228960@qq.com
***通信作者:** 张雅敏 (1973—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事肝胆胰疾病及相关药物的研究。Tel: 13802122219, E-mail: zhangyamin@medmail.com.cn

ZHAO Chen-xiang¹, ZHANG Ya-min^{2*}, LIU Hong-sheng³, LIU Zi-rong⁴

(1. Postgraduate School of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery in First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 3. Key Laboratory of Emergency Medicine of Critical Disease of Healthful Ministry in First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 4. The First Central Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

KEY WORDS: Baogan Mixture; C57BL/6J mice; immunologic liver injury (ILI); ConA

当前乙型肝炎已成为人类主要的传染疾病之一，乙型肝炎病毒可对肝脏细胞造成损伤，引起急性或慢性疾病。全世界大约有 20 亿人感染了乙肝病毒，约有 3.5 亿人转变成慢性肝炎，每年有超过 78 万人死于乙型肝炎并发症，包括肝硬化和肝癌^[1]。乙型肝炎是影响卫生工作者的一大职业危害，它可造成慢性感染，患者罹患肝硬化和肝癌的风险增高。乙型肝炎急性感染期的临床表现为疲劳，食欲不振，恶心，呕吐和腹胀甚至极少数急性肝炎患者会出现急性肝功能衰竭并导致死亡。我国传统中医药是巨大的宝藏，对于肝病的治疗有着独特的优势。保肝合剂由柴胡、黄芩、法半夏、五味子、三七、白芍、山茱萸、白术、黄芪、炙甘草组成，这是本课题组以中医基本理论为指导，汲取本课题组前期研究成果，结合在临床中的应用，并参照当今药理学研究所组成的中药复方，以期使中医理论在肝病治疗中得到印证和深化。本研究观察了保肝合剂对 ConA 所致免疫性肝损伤小鼠的影响，从而探讨其中可能的作用机制，为其将来用于治疗肝脏免疫应答所介导的疾病以及相关药物的开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 C57BL/6J 小鼠 72 只，雄性，SPF 级，7~8 周龄，体质量 18~20 g（由中国医学科学院医学实验动物研究所提供，许可证号 SCXK [京] 2014-0004）。实验动物由天津市第一中心医院卫生部急救重点实验室小动物饲养室饲养，恒温恒湿，标准饲料，自由饮水。室温控制在 18~22℃，湿度 45%~55%，每周换垫料 4 次。适应性饲养 5 d 后进行实验。

1.2 药物 保肝合剂由柴胡、黄芩、法半夏、五味子、三七、白芍、山茱萸、白术、黄芪、炙甘草组成，煎成汤剂，离心，浓缩备用（饮片购自天津中医药大学第一附属医院中药房，均经过天津中医药大学中药学院李天祥教授鉴定）。

1.3 主要试剂 联苯双酯滴丸（批号 100719，浙江万邦药业有限公司）；羧甲基纤维素钠（CMC-

Na）、甲醛（烟台市双双化工有限公司）；天冬氨酸转氨酶（AST）、丙氨酸转氨酶（ALT）试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号 20150414）；超氧化物歧化酶（SOD）、白介素 1（IL-1）、白介素 6（IL-6）ELISA 试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号 20150907）；小鼠肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、鸟氨酸氨基甲酰转移酶（OCT）酶联免疫分析试剂盒、小鼠 γ 干扰素（IFN-γ）酶联免疫分析试剂盒（郑州鼎国生物技术有限公司进口分装，批号 20151214）；丙二醛（MDA）酶联免疫分析试剂盒（天津艾诺瑞康生物科技有限公司，批号 20160202）；刀豆蛋白 A（ConA）IV 型（美国 Sigma 公司），使用前溶解于磷酸盐缓冲液（PBS）溶液。

1.4 仪器 Model 450 自动酶标仪（美国 Bio-Rad 公司）；BP211D 分析天平（德国赛多利斯公司）；电热恒温水浴箱（北京医疗设备厂意成公司）；TGL-16G-A 型高速冷冻离心机（上海安亭科学仪器厂）；普通光学显微镜（CX21BIM-SET5，日本 Olympus 公司）；RXL 全自动生化仪（西门子有限公司）。

1.5 方法 将 72 只 C57BL/6J 小鼠随机分为 6 组：正常组，模型组，联苯双酯组（100 mg/kg），保肝合剂低（22.5 mg/kg）、中（45 mg/kg）、高（90 mg/kg）剂量组，每组 12 只，各组动物每日灌胃给药 1 次，正常组、模型组均灌胃等容量 1% CMC-Na 混悬液（含 20% 丙二醇和 1% DMSO），共给药 14 d。末次灌胃给药后小鼠禁食不禁水 2 h，模型组、联苯双酯组以及保肝合剂各组小鼠均按 20 mg/kg 尾静脉注射 ConA，正常组小鼠尾静脉注射等量 0.9% 的生理盐水。造模后 8 h，用 10% 水合氯醛麻醉，摘眼球取血，离心后，分离血清，用全自动生化分析仪测定小鼠的 ALT、AST 水平。颈椎脱臼处死小鼠，剥离肝脏、脾脏，分别称重。肝脏指数（%）= 肝质量/小鼠体质量 × 100%，脾脏指数（%）= 脾质量/小鼠体质量 × 100%。取各组小鼠左前叶肝组织小块放入 10% 福尔马林溶液中固定。光镜下观察肝脏的病理变化并摄片。另

取同一部位肝组织 0.2 g，用足够的生理盐水冲洗并用滤纸吸干，称其质量，置于冰浴中剪碎，匀浆，加适量的生理盐水制成质量分数 10% 的肝匀浆，离心后，取上清液，按照试剂盒标准操作规程测定肝组织匀浆中 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1、IL-6、MDA、SOD 和 OCT 的水平。

1.6 观测指标 小鼠的肝脏指数、脾脏指数，血清中 ALT、AST 的活力，肝组织匀浆中 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1、IL-6、MDA、SOD 和 OCT 的水平以及肝组织的病理变化。

1.7 统计方法 应用 SPSS 17.0 统计软件进行分析，定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示；符合正态分布且方差齐性的资料采用两独立样本的 t 检验，不符合正态分布的资料采用秩和检验。

2 结果

2.1 肝损伤模型评价 造模后，模型组小鼠血清中 AST、ALT 水平及肝组织中 IFN- γ 、TNF- α 、IL-1、IL-6、MDA 和 OCT 的水平均明显升高，SOD 水平明显降低；病理组织学可见肝细胞排列紊乱，部分肝细胞出现空泡样病变和坏死，并伴有大量炎性细胞浸润。表明造模成功。

2.2 对免疫性肝损伤小鼠血清中 ALT 和 AST 水平的影响 与模型组比较，保肝合剂 3 个不同剂量组均不同程度地抑制免疫性肝损伤小鼠血清中 ALT、AST 水平的升高，且呈剂量相关性，其中高剂量和中剂量的作用更为显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；联苯双酯滴丸也有显著作用 ($P < 0.01$)。结果见表 1。

2.3 对免疫性肝损伤小鼠肝组织匀浆中 SOD、MDA、IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 和 OCT 水平的

表 3 保肝合剂不同剂量组对免疫性肝损伤小鼠肝匀浆中 IL-1、IL-6、TNF- α 和 IFN- γ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Tab. 3 Effects of Baogan Mixture at various dose on levels of IL-1, IL-6, TNF- α and IFN- γ in Liver homogenate of mice with ILI ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	IL-1/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)
正常组	85.59 \pm 11.45	114.47 \pm 9.06	52.79 \pm 8.30	15.72 \pm 2.77
模型组	222.94 \pm 14.14 **	294.96 \pm 19.17 **	146.33 \pm 23.29 **	42.13 \pm 4.64 **
保肝合剂低剂量组	206.38 \pm 16.00	280.70 \pm 25.82	117.34 \pm 26.69	35.07 \pm 4.09 #
保肝合剂中剂量组	170.24 \pm 28.34 ##	267.74 \pm 33.33 #	106.46 \pm 29.37 #	27.83 \pm 5.15 ##
保肝合剂高剂量组	153.08 \pm 33.74 ##	191.04 \pm 37.01 ##	83.92 \pm 32.72 ##	22.18 \pm 4.97 ##
联苯双酯组	171.07 \pm 35.64 ##	272.93 \pm 34.20 ##	104.15 \pm 28.70 #	19.24 \pm 5.75 ##

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

2.4 对免疫性肝损伤小鼠肝脏指数及脾脏指数的影响 免疫性肝损伤小鼠用药 14 d，保肝合剂对免疫性肝损伤小鼠脏器系数的影响见表 4，与正常组比较，模型组小鼠肝脏、脾脏明显肿大；保肝合剂中、高剂量组均能显著降低免疫性肝损伤小鼠升高的肝脏指数、脾脏指数水平 ($P < 0.05$, $P <$

表 1 保肝合剂不同剂量组对免疫性肝损伤小鼠血清中 ALT 和 AST 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Tab. 1 Effects of Baogan Mixture at various dose on levels of ALT and AST in serum of mice with ILI ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
正常组	21.10 \pm 2.62	113.56 \pm 14.52
模型组	97.72 \pm 37.78 **	355.80 \pm 26.71 **
保肝合剂低剂量组	83.56 \pm 14.57	286.93 \pm 32.88 #
保肝合剂中剂量组	53.91 \pm 17.38 #	244.74 \pm 37.84 ##
保肝合剂高剂量组	42.13 \pm 11.31 ##	187.32 \pm 39.08 ##
联苯双酯组	37.13 \pm 7.31 ##	178.61 \pm 43.86 ##

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

影响 与模型组比较，保肝合剂 3 个不同剂量组不同程度地降低免疫性肝损伤小鼠匀浆中 OCT、MDA、IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平，升高 SOD 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，且呈一定的剂量依赖性趋势。结果见表 2~3。

表 2 保肝合剂不同剂量组对免疫性肝损伤小鼠肝匀浆中 SOD、MDA 和 OCT 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Tab. 2 Effects of Baogan Mixture at various dose on levels of SOD, MDA and OCT in Liver homogenate of mice with ILI ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	SOD/(U·L ⁻¹)	MDA/(U·L ⁻¹)	OCT/(U·L ⁻¹)
正常组	122.57 \pm 11.21	5.13 \pm 1.38	32.98 \pm 4.08
模型组	79.50 \pm 8.86 **	7.92 \pm 1.91 **	145.28 \pm 12.02 **
保肝合剂低剂量组	85.78 \pm 11.73	6.77 \pm 1.64	93.87 \pm 16.31 ##
保肝合剂中剂量组	98.43 \pm 12.77 #	6.31 \pm 1.69	78.34 \pm 21.50 ##
保肝合剂高剂量组	116.24 \pm 15.85 ##	5.56 \pm 1.87 ##	52.01 \pm 19.80 ##
联苯双酯组	110.34 \pm 7.15 ##	5.51 \pm 1.75 ##	53.51 \pm 17.93 ##

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

表 3 保肝合剂不同剂量组对免疫性肝损伤小鼠肝匀浆中 IL-1、IL-6、TNF- α 和 IFN- γ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Tab. 3 Effects of Baogan Mixture at various dose on levels of IL-1, IL-6, TNF- α and IFN- γ in Liver homogenate of mice with ILI ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	IL-1/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)
正常组	85.59 \pm 11.45	114.47 \pm 9.06	52.79 \pm 8.30	15.72 \pm 2.77
模型组	222.94 \pm 14.14 **	294.96 \pm 19.17 **	146.33 \pm 23.29 **	42.13 \pm 4.64 **
保肝合剂低剂量组	206.38 \pm 16.00	280.70 \pm 25.82	117.34 \pm 26.69	35.07 \pm 4.09 #
保肝合剂中剂量组	170.24 \pm 28.34 ##	267.74 \pm 33.33 #	106.46 \pm 29.37 #	27.83 \pm 5.15 ##
保肝合剂高剂量组	153.08 \pm 33.74 ##	191.04 \pm 37.01 ##	83.92 \pm 32.72 ##	22.18 \pm 4.97 ##
联苯双酯组	171.07 \pm 35.64 ##	272.93 \pm 34.20 ##	104.15 \pm 28.70 #	19.24 \pm 5.75 ##

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

0.01)，且呈一定的剂量依赖性趋势，高剂量降低肝脏指数、脾脏指数的效果接近于 100 mg 的联苯双酯处理组。

2.5 病理组织学观察 正常组小鼠肝小叶结构清晰，细胞排列整齐，无变性、坏死，细胞核大而圆，居中。模型组小鼠肝组织有空泡样变性和嗜伊

表4 保肝合剂不同剂量组对免疫性肝损伤小鼠肝脏指数和脾脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Tab. 4 Effects of Baogan Mixture at various dose on levels on liver indexes, spleen indexes and thymus indexes of mice with ILI ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	肝脏系数/%	脾脏系数/%
正常组	4.42 ± 0.13	0.41 ± 0.02
模型组	5.52 ± 0.23 **	0.59 ± 0.03 **
保肝合剂低剂量组	5.32 ± 0.22 #	0.56 ± 0.03 #
保肝合剂中剂量组	4.87 ± 0.17 ###	0.50 ± 0.03 ###
保肝合剂高剂量组	4.71 ± 0.19 ###	0.46 ± 0.02 ###
联苯双酯组	4.83 ± 0.21 ###	0.49 ± 0.03 ###

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

红病变，肝索排列紊乱严重，肝细胞肿大，成弥散性分布的点状坏死，大量的炎性细胞浸润。联苯双酯滴丸组小鼠仅见少量肝细胞点状坏死，炎性细胞减少，细胞基本恢复。保肝合剂低剂量组小鼠肝细胞嗜伊红增强，肝细胞胞浆疏松，颗粒变性呈片状分布，弥散分布的点状坏死，说明低剂量组对肝损伤无明显改善作用。保肝合剂中剂量组小鼠少量肝细胞嗜伊红增强，点状坏死灶减少，对肝损伤具有轻度改善作用；保肝合剂高剂量组小鼠仅见个别肝细胞核浓缩、嗜伊红增强，其余未见异常，说明该剂量组对 ConA 所致小鼠急性免疫性肝损伤有较好的保护作用。对 ConA 所致小鼠急性免疫性肝损伤改善作用的强度为保肝合剂高剂量 > 保肝合剂中剂量 > 保肝合剂低剂量。见图 1。

3 讨论

刀豆蛋白 A (concanavalinA, ConA) 是一种对肝细胞有特异性毒性的植物凝集素，当其注入体内后，会引起 CD4⁺ T 淋巴细胞为主的炎性细胞侵袭肝实质，从而引起以 TNF-α 和白介素等细胞因子为主的炎症反应造成免疫性肝损伤。然而，以病毒性肝炎为代表的肝损伤，均与 T 淋巴细胞的活化有密切关系，所以以 ConA 诱导的小鼠肝损伤模型在发病机制及病理特点上与病毒感染引发的肝损伤更为相似^[2-3]。本实验采用 ConA 诱导小鼠建立急性免疫性肝损伤动物模型，探讨保肝合剂对小鼠急性免疫性肝损伤的保护作用，及相关机制。以客观指标为依据来评价该方的价值，从而对进一步研究乃至中成药的开发提供实验依据和理论价值。

本实验采用 ConA 诱导小鼠产生免疫性肝损伤的机理为：ConA 进入体内，一方面作用于肝窦内的巨噬细胞，其激活后产生的细胞因子可直接损伤肝细胞；另一方面，大量活化的 T 淋巴细胞存在于

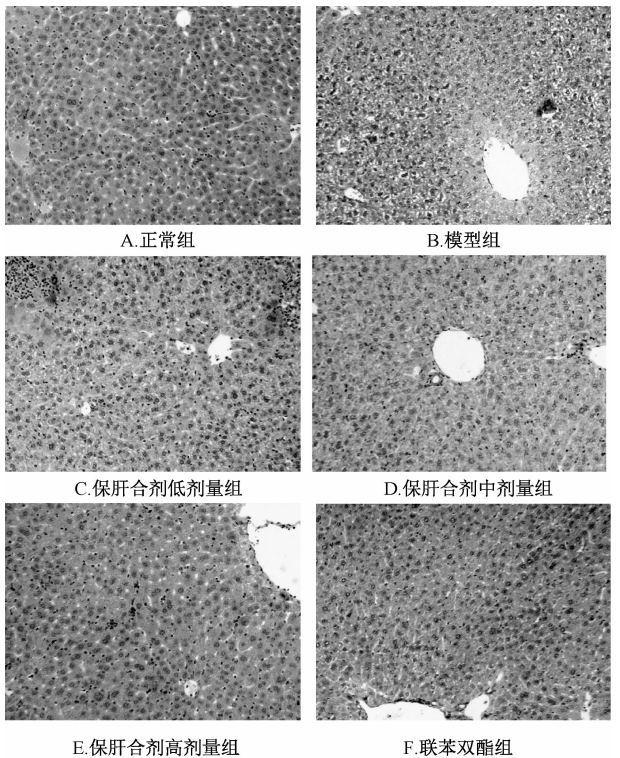


图1 各组小鼠肝脏病理学变化 (HE, ×100)

Fig. 1 Histomorphology of liver tissues of mice in different groups (HE, ×100)

脾脏，并产生细胞因子，T 细胞与细胞因子随血流到达肝脏，直接与肝细胞接触或进一步激活巨噬细胞，使其释放大量细胞毒性因子，如 TNF-α、白细胞介素等进一步造成肝细胞损害^[4]。

已有研究表明对免疫性肝损伤具有保护作用的药物主要与抗脂质过氧化，调节免疫功能，减少炎性介质的产生有关^[5]。本实验结果显示，保肝合剂显著抑制肝损伤小鼠血清 ALT、AST 活性的升高，提高肝组织匀浆液中 SOD 的活性，抑制 OCT、MDA、IL-1、IL-6、TNF-α 和 INF-γ 的升高，较明显地减轻和改善肝细胞的形态学变化，反映了保肝合剂通过保肝降酶和抑制氧化应激及炎症因子的产生从而达到对小鼠免疫性肝损伤的保护作用。其中高剂量保肝合剂的作用强于中、低剂量组，提示保肝合剂对 ConA 致免疫性肝损伤的保护作用存在一定的剂量依赖性。

免疫器官的指数可以作为衡量机体免疫功能的初步指标，能在一定程度上反映出免疫器官内淋巴细胞的数量，间接反映出脏器的损伤及炎症程度^[6]。本实验的结果提示保肝合剂对小鼠进行预防性灌胃处理后能抑制肝脏、脾脏指数的增大，说明保肝合剂能减少炎性因子的释放，从而减轻对肝

脏的损伤。肝脏作为机体的最大解毒器官，其中含有大量的酶类，其中AST主要存在于肝细胞线粒体内，ALT存在于肝细胞胞浆中，当肝脏受到各种原因引起的肝组织损伤或细胞坏死，酶将从肝细胞释放到血液中，因此血清中ALT、AST的升高是肝损伤的敏感指标，同时在一定程度上反映出了肝细胞损害和坏死的程度^[7]。OCT是一个重要的肝脏损伤标志物，是反映急性肝损伤的早期灵敏指标，在肝损伤和炎症发生过程中明显升高。SOD是抗氧化酶系统的重要物质，其水平的高低反映了机体对自由基的清除能力的强弱。体内SOD活性越高，自由基清除的速度越快，反映机体清除自由基的能力越强，因而当其活力下降后将会导致机体抗氧化能力的减弱，从而阻碍体内自由基的清除，这将导致自由基的堆积，造成对肝细胞的损伤^[8]。MDA是脂质过氧化反应的最终产物，具有很强的生物毒性，其水平的高低与肝损伤程度呈正相关^[9-10]。因此，SOD和MDA的水平水平反映了体内脂质过氧化程度以及细胞损伤的程度，可作为衡量脂质过氧化程度的指标。

IL-6主要由活化的T细胞、巨噬细胞等多种免疫细胞产生，它能刺激T淋巴细胞活化增殖，所以当IL-6的水平升高时说明肝细胞受到损害^[11]。肝细胞在炎症的刺激下，炎性细胞分泌大量细胞因子IL-1、TNF- α 等，与肝细胞表面的相关受体结合从而对肝脏产生损伤甚至坏死^[12-13]；同时细胞因子IL-1和TNF- α 作为炎性介质能激活核转录因子- κ B (NF- κ B)，激活后使参与免疫反应、炎症反应各阶段的许多因子如IL-6、IFN- γ 等的释放增加，引起瀑布效应，导致肝细胞损伤进一步加重^[14]。已有学者对ConA所致小鼠肝组织中脂质过氧化物进行检测，当其水平明显升高时，表明肝细胞过多的被氧化破坏。本实验结果显示不同剂量的治疗组均能使SOD升高，其中高剂量组能使SOD的水平接近正常对照组，反映出保肝合剂具有较强的抗氧化和细胞保护作用。

综上所述，保肝合剂对Con A所致小鼠免疫性肝损伤具有一定的保肝护肝作用。实验结果表明保肝合剂具有明显的保肝降酶、减少炎症因子释放、调节免疫以及清除自由基的作用，且呈一定剂量相关性。本研究表明，中药对免疫性肝损伤的保护作用是多靶点，多作用，多层次，多途径，主要与抗脂质过氧化，调节免疫功能，减少炎性介质的产生有关。但是在有效的前提下其毒理性的大小尚缺乏

研究，如何判断在对免疫性肝损伤具有治疗作用的前题下，确定其毒理性的大小，从而能够更好地指导临床应用乃至进一步药物的开发提供更科学的理论依据。

参考文献：

- [1] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, *et al.* Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010[J]. *Lancet* 2012, 380(9859): 2095-2128.
- [2] Hatano M, Sasaki S, Ohata S, *et al.* Effects of Kupffer cell-depletion on Concanavalin A-induced hepatitis[J]. *Cell Immunol*, 2008, 251(1): 25-30.
- [3] Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T cell dependent experimental liver injury in mice inducible by concanavalin A[J]. *J Clin Invest*, 1992, 90(1): 196-203.
- [4] 胡水清, 黄依雯, 秦 伟, 等. ConA 诱导小鼠肝损伤模型的发病机制 [J]. 中国血液流变学杂志, 2007, 17(1): 159- 162.
- [5] 赵晨翔, 张雅敏, 刘宏胜. 单味中药对免疫性肝损伤保护作用实验研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2015, 21(5): 522-525.
- [6] 韦 维, 黄永秩, 梁柳丹, 等. 三七有效成分对免疫性肝损伤的保护作用[J]. 天津医药, 2014, 42(9): 893-895.
- [7] 洪 梅, 孙文静, 毕 昱. 三七总皂苷对免疫性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 实用临床医药杂志, 2011, 15(1): 9-14.
- [8] 杨 云, 胡筱希, 周凌凌, 等. 龙葵多糖对 CCl₄ 致急性肝损伤小鼠的保护作用研究[J]. 中成药, 2014, 36(12): 2602-2605.
- [9] Laura L, Montserrat M, Josep M, *et al.* Reactive oxygen species mediate liver injury through parenchymal nuclear factor- κ B inactivation in prolonged ischemia/reperfusion [J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(5): 1776-1785.
- [10] Ercan G, Sadullah G, Hayrettin O, *et al.* Resveratrol attenuates oxidative stress and histological alterations induced by liver ischemia/reperfusion in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(46): 7101-7106.
- [11] 李春沁, 王紫燕, 唐慧君, 等. 波棱瓜子多糖刀豆蛋白 A 所致小鼠免疫性肝损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(4): 94-97.
- [12] Stewart R K, Dangi A, Huang C, *et al.* A novel mouse model of depletion of stellate cells clarifies their role in ischemia/reperfusion- and endotoxin-induced acute liver injury[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(2): 298-305.
- [13] Carchman E H, Whelan S, Loughran P, *et al.* Experimental sepsis-induced mitochondrial biogenesis is dependent on autophagy, TLR4, and TLR9 signaling in liver[J]. *FASEB J*, 2013, 27(12): 4703-4711.
- [14] 薛明明, 高静琰, 陈东旭, 等. 疏风解毒胶囊对 D-氨基半乳糖/脂多糖诱导大鼠急性肝损伤保护作用[J]. 中草药, 2015, 46(9): 1348-1353.