

# 栀子对急性胰腺炎大鼠胰腺细胞亚细胞器的保护作用\*

贾玉杰<sup>1</sup> 姜妙娜<sup>1</sup> 高静涛<sup>1</sup> 裴德恺<sup>1</sup> 罗建<sup>2</sup>

**内容提要** 本实验利用去氧胆酸钠胰管内注射诱发大鼠急性胰腺炎(AP), 以琥珀酸脱氢酶(SDH)、酸性磷酸酶(ACP)、细胞色素 P 450 分别作为线粒体、溶酶体和微粒体的标志酶, 检测 AP 时胰腺细胞亚细胞器的功能变化及栀子的影响, 并就组织学的变化作了同步观察。结果显示: AP 动物胰腺细胞内 SDH 明显降低, ACP 释放率显著升高, 栀子治疗组 SDH 与正常接近, ACP 释放率明显降低, P 450 增高。组织学检查表明 AP 动物的胰腺组织有明显的炎症改变, 亚细胞器结构异常; 用栀子治疗者, 病变明显减轻。提示栀子对 AP 时胰腺细胞亚细胞器的功能、结构均有良好的保护作用。

**关键词** 胰腺炎 栀子 线粒体 溶酶体 微粒体

**Protective Effect of Fructus Gardeniae on Pancreatic Subcellular Organs of the Acute Pancreatitis in Rats** JIA Yu-jie, JIANG Miao-na, GAO jing-tao, et al *Dalian Medical University, Liaoning (116027)*

The acute pancreatitis (AP) was induced with sodium deoxy-cholate in SD rats. Succinic dehydrogenase (SDH), acid phosphatase (ACP) and cytochrome P450 were taken as marked enzyme in estimation of mitochondria, lysosome and microsome to observe the functional and structural changes of the pancreatic subcellular organs and the protective effects of Fructus Gardeniae (FG) in acute pancreatitis in rats. The histological change was observed simultaneously. The results showed that pancreatic cellular SDH reduced significantly and the releasing rate of ACP raised obviously in AP, in FG treated group, SDH was nearly the same as in normal, the releasing rate of ACP decreased and the content of P450 increased in the same time. Histologic observation showed that there was significant inflammatory change in pancreas and abnormal manifestation in structure of subcellular organs in AP. FG Could alleviate the lesion. These results suggested the FG has a remarkable protective effect on the function and structure of the pancreatic subcellular organs in AP.

**Key words** pancreatitis, Fructus Gardeniae, mitochondria, lysosome, microsome

中药栀子茵陈蒿汤的重要组分, 近年来我们的工作揭示栀子对实验性急性出血坏死性胰腺炎有显著的防治作用<sup>(1)</sup>。为了进一步探讨其作用机制, 本研究利用去氧胆酸钠诱发大鼠急性出血坏死性胰腺炎(AP), 以琥珀酸脱氢酶(SDH)、酸性磷酸酶(ACP)、细胞色素 P 450 分别作为线粒体、溶酶体和微粒体的标志酶, 观察了栀子对急性胰腺炎大鼠胰腺细胞亚细胞器的保护作用, 并就组织学的变化进行了同步观察。

\* 国家自然科学基金课题(38970918); 国家中医药管理局重点课题之分题(89233)

1. 大连医科大学(大连 116027); 2. 大连市甘井子区人民医院

## 材料和方法

1. 药物 栀子(*Gardenia Jasminoides* Ellis)产于贵州赤水, 煎前打碎, 用蒸馏水浸泡 1 h, 用文火煮沸 0.5 h, 煮成 50% 煎剂。

2. 动物与分组 SD 大鼠 30 只, 体重 200~250 g, 雌雄不拘(由本校动物中心提供), 随机均分 3 组: 正常对照组、胰腺炎模型组(模型组)和栀子治疗组(栀子组)。常规分笼饲养, 配对实验。

3. 急性胰腺炎模型的制备 将模型组和栀子组大鼠隔夜禁食, 翌晨在乙醚麻醉下作无菌手术, 剖腹

后阻断胆总管, 以免药液进入肝脏及胆囊, 向胰管内逆行注入 1.5% 去氧胆酸钠 0.05 ml/100 g 体重, 诱发急性胰腺炎模型。正常组大鼠除了不向胰管内注药外, 其他步骤同上两组。

4 给药方法 梔子组分别于诱发胰腺炎前 1 h、手术后 4 h 及翌晨实验前 1 h 灌服 50% 梔子煎剂 1 ml/100 g 体重(相当于 0.5 g 生药/100 g 体重), 模型组和正常组灌服等量生理盐水。

5 线粒体、溶酶体和微粒体悬液的制备及酶活性的测定 断头处死大鼠, 立即取出胰腺(约 0.5 g), 加 3 ml 0.15 mol/L KCl—0.01 mol/L Tris 缓冲液(pH7.4), 在 4℃ 条件下制备成匀浆, 然后经 300 g/min 离心 20 min 去细胞核, 再将上清液经 10 000 g/min 离心 30 min, 沉淀物为线粒体, 以 pH8.6 的 20% 蔗糖溶液制成悬液, 用 2, 6-二氯酚靛酚法测定 SDH<sup>(2)</sup>。其上清液再经 30 000 g/min 离心 30 min, 取上清液(内含微粒体)用 CO 差示光谱法测 P450<sup>(3)</sup>, 其沉淀物为溶酶体, 以 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.4)稀释, 37℃ 孵育 1 h, 经 30 000 g/min 离心 30 min, 取上清液及沉淀按磷酸苯二钠法分别测定 ACP, 计算溶酶体的 ACP 释放百分比。

6 组织学检查 取胰腺作光镜及电镜观察。

7 数据处理用 t 检验。

## 结 果

1 梔子对胰腺炎动物胰腺细胞线粒体 SDH 活性的影响 见附表。模型组的 SDH 明显降低, 与正常组及梔子组比较均有显著性差异( $P$  均  $< 0.01$ ), 而梔子组与正常组之间无差异。说明胰腺炎时胰腺细胞的有氧代谢活动降低, 而梔子有使其保持正常的作用。

2 梔子对溶酶体 ACP 释放率的影响 见附表。模型组溶酶体 ACP 之释放率明显升高, 与正常组比较差异显著( $P < 0.05$ )。而梔子组 ACP 释放率明显低于模型组( $P < 0.01$ ), 提示大鼠诱发胰腺炎后, 胰腺细胞溶酶体功能异常, 即 ACP 释放增多, 而梔子则有使溶酶体功能趋于正常的作用。

3 梔子对胰腺炎动物微粒体 P 450 含量的影响 见附表。梔子组 P 450 明显增多( $P < 0.01$ ), P 450 与细胞的生物转化有关, 此结果表明梔子具有提高胰腺炎时胰腺细胞的生物转化功能。

4 组织学观察 光镜观察表明模型组的胰腺组织有明显的水肿、出血、坏死和炎性细胞浸润, 梔子组上述病变很轻。电镜观察进一步显示模型组胰腺细

胞内线粒体肿胀、变性; 粗面内质网脱颗粒, 排列疏

附表 梔子对胰腺炎大鼠 SDH、ACP、

P 450 的影响 ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )

| 组别 | SDH 活性 $\Delta$<br>$\mu\text{mol}/\text{mg}$ | ACP<br>(%)        | P 450<br>(nmol/mg · Pro) |
|----|----------------------------------------------|-------------------|--------------------------|
| 正常 | 238.6 $\pm$ 50.3**                           | 32.8 $\pm$ 4.5*   | 0.0124 $\pm$ 0.0250      |
| 模型 | 146.8 $\pm$ 53.8                             | 34.8 $\pm$ 6.4    | 0.0148 $\pm$ 0.0250      |
| 梔子 | 203.2 $\pm$ 56.9**                           | 24.7 $\pm$ 11.4** | 0.0310 $\pm$ 0.0290**    |

注: 与模型组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 每组动物均为 10 只;  $\Delta$  为 15 min 内, 每毫克蛋白质中的琥珀酸被氧化的微摩尔数

松而不规则, 有些部位呈囊泡样变; 溶酶体中吞饮的物质少, 呈空泡样。而梔子组胰腺组织与正常胰腺组织的电镜图像相差不大, 溶酶体吞饮活跃。

## 讨 论

1 线粒体是细胞进行有氧代谢产生能量的场所。本研究揭示动物被诱发急性胰腺炎后, 胰腺腺泡细胞内线粒体内 SDH 活性明显下降, 表明线粒体的代谢功能发生障碍, 由此使细胞内环境发生紊乱, 进而可导致胰腺细胞发生变性、坏死等一系列变化。而用梔子治疗后可以使线粒体的上述有氧代谢保持或恢复正常。

2 胰腺自身消化是急性胰腺炎发病学的传统认识, 一般均归之于胰酶的直接作用。有关溶酶体在这一变化中的意义报道较少。本工作观察到在急性胰腺炎时胰腺细胞溶酶体 ACP 的释出增多, 结合我们以往的工作用 DPH 荧光探针观察到急性胰腺炎时溶酶体膜的流动性降低<sup>(4)</sup>, 即膜的稳定性改变, 溶酶体内的一些酶可以大量逸出, 导致在细胞内发生自我消化, 引起胰腺组织变性、坏死等。用梔子治疗后溶酶体 ACP 的释放大为减少, 膜的流动性接近正常, 表明梔子在细胞水平上具有明显的保护作用。

3 P 450 与体内很多重要活性物质的合成、灭活以及外源性药物、毒物的生物转化等过程有密切关系。本实验表明急性胰腺炎用梔子治疗后, 可以使胰腺细胞内 P 450 含量明显增加, 提示可能使细胞的合成、灭活和生物转化功能加强, 表明梔子增强胰腺炎时胰腺腺泡细胞的抗病能力可能与此有关。

4 组织学检查与细胞器标志酶的测定结果完全吻合, 表明采用细胞结构和功能相结合的研究方法更能真实地反映所发生的变化情况和效果。本工作又观察到梔子对胰腺腺泡亚细胞器的结构和功能等多种良好的效应, 因此, 作为清热泻火要药的梔子在胰腺炎的防治方面很值得在临床上开发应用。



## 参 考 文 献

1. 高静涛, 裴德恺, 李冬冬, 等. 急性胰腺炎诱发当时胰胆胃肠功能的变化及厚朴茵陈蒿汤的影响. 大连医学院学报 1989; 11(4): 27-29.
2. 张春明, 杨鸿昌, 关承华, 等. 锌和  $VD_3$  对大鼠心肌线粒体琥珀酸脱氢酶活性的影响. 中国地方病学杂志 1987; 6(4): 238-240.
3. Tsuneo O, Ryo S. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. J Biol Chem 1964; 239: 2370-2372. (收稿: 1995-08-10 修回: 1995-12-20)

## 百宝胶囊治疗易感冒者 117 例临床观察

方素钦<sup>1</sup> 叶 盈<sup>1</sup> 林炳辉<sup>1</sup> 林求诚<sup>1</sup> 葛征平<sup>2</sup> 崔若文<sup>2</sup> 高仁婉<sup>2</sup>

自 1993 年以来, 我们采用百宝胶囊治疗易感冒者 117 例, 并与玉屏风散作对照, 疗效满意, 现总结报告如下。

**临床资料** 易患感冒者 161 例, 随机对照试验 88 例(试验组与对照组各 44 例), 另扩大试验组 73 例, 故试验组的总例数为 117 例。试验组男 22 例, 女 22 例, 年龄 20~68 岁, 平均  $45.2 \pm 12.6$  岁; 治前每月至少感冒 1 次连续 3 个月者 23 例, 近两年同时期每月至少感冒 1 次连续 3 个月者 21 例; 中医辨证肺气虚 29 例, 脾肺气虚 15 例。对照组男 22 例, 女 22 例, 年龄 20~69 岁, 平均  $46.3 \pm 13.8$  岁; 治前每月至少感冒 1 次连续 3 个月者 22 例, 近两年同时期每月至少感冒 1 次连续 3 个月者 22 例; 中医辨证肺气虚 30 例, 脾肺气虚 14 例。扩大试验组男 35 例, 女 38 例, 年龄 20~68 岁, 平均  $45.8 \pm 12.7$  岁; 治前每月至少感冒 1 次连续 3 个月者 40 例, 近两年同时期每月至少感冒 1 次连续 3 个月者 33 例; 中医辨证肺气虚 42 例, 脾肺气虚 31 例。试验组与对照组具有可比性。

**治疗方法** 试验组采用百宝胶囊(由蘑菇多糖、多肽氨基酸等蘑菇有效成分与人参提取物的复合制剂, 厦门火炬生物技术工程有限公司产品, 批号 930105), 每粒 200 mg, 每次 2 粒, 每日 3 次, 1 个月为 1 个疗程。对照组采用玉屏风散(每包含黄芪 9 g, 白术 6 g, 防风 5 g, 由福建省中医药研究院药厂提供), 每次 1 包, 每日 3 次用开水冲加盖 5~10 min 服用上清液, 疗程同试验组。

## 结 果

**1 疗效评定标准** 显效: 感冒次数减少 2/3, 中医证候显著改善, 免疫指标恢复正常; 有效: 感冒次数减少 1/3, 中医证候有所改善, 免疫指标有改善; 无效: 感冒次数减少不及 1/3, 中医证候无改善, 免疫指标无改善。结果: 试验组显效 26 例, 有效 15 例, 无效 3 例; 对照组显效 15 例, 有效 20 例,

无效 9 例; 扩大试验组 73 例, 显效 43 例, 有效 25 例, 无效 5 例。试验组与对照组疗效经 Riolit 检验,  $P < 0.05$ , 试验组优于对照组, 试验组加扩大试验组共 117 例, 显效 69 例(59.0%), 有效 40 例(34.2%), 无效 8 例, 总有效率 93.2%。

**2 两组治疗前后免疫指标变化** 见附表。

附表 两组治疗前后免疫指标测定结果比较 ( $\bar{x} \pm S$ )

| 组别      | CD <sub>3</sub> CD <sub>4</sub> CD <sub>8</sub> |           |          | CD <sub>4</sub> /CD <sub>8</sub> |
|---------|-------------------------------------------------|-----------|----------|----------------------------------|
|         | (%)                                             |           |          |                                  |
| 试验 治前   | 57.8±8.6                                        | 32.6±4.2  | 28.2±5.3 | 1.2±0.2                          |
| (25) 治后 | 63.6±6.7*                                       | 36.8±5.0* | 28.4±5.2 | 1.4±0.4*                         |
| 对照 治前   | 60.5±9.6                                        | 34.9±5.5  | 27.7±5.3 | 1.3±0.3                          |
| (25) 治后 | 62.2±6.3                                        | 37.2±4.7  | 27.5±4.0 | 1.4±0.3                          |

注: 与本组治前比较, \* $P < 0.05$ , ( ) 内为例数

CD<sub>3</sub>、CD<sub>4</sub>、CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> 试验组治疗后比治疗前有显著性差异( $P < 0.05$ ), CD<sub>8</sub> 治疗前后无显著性差异; 对照组各项指标治疗前后无显著性差异。IgG 和 IgM 治疗后较治疗前两组均有所下降, 但组间比较无显著性差异; NK 细胞及 IgA 两组治疗前后无变化。提示试验组细胞免疫水平优于对照组。

**3 安全性检测** 血常规、尿常规、血 ALT、血 BUN 和心电图, 治疗前后均在正常范围内, 临床上未见不良反应。

## 体 会

**1** 百宝胶囊和玉屏风散都能改善易感冒患者肺气虚和脾肺气虚体质, 具有益气固表, 补肺健脾之功效, 使感冒次数减少, 中医证候疗效及改善免疫功能的综合疗效, 百宝胶囊优于玉屏风散。

**2** 免疫指标分析结果表明百宝胶囊能使 CD<sub>3</sub>、CD<sub>4</sub>、CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> 升高, 而 IgG 和 IgM 降低, 玉屏风散对细胞免疫的作用不明显, 故百宝胶囊的免疫调节作用优于玉屏风散。

**3** 百宝胶囊对心、肝、肾及周围血象无毒性作用, 临床上无不良反应, 使用安全。

(收稿: 1995-05-22 修回: 1996-03-20)