

复方中药抑制非酒精性脂肪肝肝细胞色素 P450 II E1 表达的实验研究*

戴 宁[△] 曾民德 李继强 范竹萍 茅益民 彭延申 邱德凯

内容提要 目的:研究复方中药对非酒精性脂肪肝肝细胞色素 P450 II E1(CYP II E1)表达的影响。方法:用高脂饲料诱导大鼠脂肪肝模型,同时给予复方中药干预,观察肝组织病理形态的变化和肝细胞色素 P450 II E1 的表达。测定肝丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、维生素 E 以及甘油三酯(TG)含量的变化,并与对照组比较。结果:中药组的肝组织脂肪变性基本恢复正常,免疫组化证明复方中药能显著抑制脂肪肝肝细胞色素 P450 II E1 的表达,同时肝内 MDA 和 SOD、GSH、维生素 E 及 TG 含量恢复到接近正常。结论:该复方中药能显著抑制脂肪肝肝细胞色素 P450 II E1 的表达,因而具有防止脂肪肝的作用。

关键词 复方中药 脂肪肝 细胞色素 P450 免疫组化 脂质过氧化

Experimental Study on Inhibitory Effect of Chinese Herbal Compound on Hepatocyte Cytochrome P450 II E1 Expression in Rat Model of Nonalcoholic Fatty Liver DAI Ning, ZENG Minde, LI Jiqiang, et al Renji Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai (200001)

Objective: To study the effect of Chinese herbal compound (CHC) on hepatocyte cytochrome P450 II E1 expression in rat model of nonalcoholic fatty liver (NFL). **Methods:** CHC was given to the models of NFL formed by high fat diet, and changes on pathology of liver and hepatocyte cytochrome P450 II E1 expression, as well as the contents of malonyldialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), vitamin E (VitE) and triglyceride (TG) in liver were observed and compared with those in the control group. **Results:** The fatty degeneration of liver recovered to normal basically in the CHC group. Immunohistochemical examination showed that CHC could inhibit the hepatocyte cytochrome P450 II E1 expression markedly, and restore the liver contents of MDA, SOD, GSH, VitE and TG to near normal range. **Conclusion:** CHC could inhibit the hepatocyte cytochrome P450 II E1 expression markedly in rats with fatty liver, therefore, has the effect of preventing fatty liver.

Key words Chinese herbal compound, fatty liver, cytochrome P450, immunohistochemistry, lipid super-oxidation

非酒精性脂肪肝的常见病因有肥胖、高脂血症、药物损害、糖尿病等。据国内外资料统计,非酒精性脂肪肝的发病率在逐年上升^(1,2)。而且近年认为,伴有炎症的脂肪肝能够演变为肝纤维化和肝硬化^(1,3)。因此,应当重视脂肪肝的防治。已有的实验证实,肝细胞色素 P450 II E1(cytochrome P450 II E1, CYP II E1)在脂肪

材料与方法

1 动物 健康成年雄性 SD 大鼠(清洁级)24 只,体重(200±10)g,购自中国科学院上海实验动物中心。

2 药物 复方中药由黄精、山楂、丹参、泽泻、陈

皮组成(按 9:9:1:5:9:1 的比例混合配成),经水煎醇

试剂盒购自南京建成生物公司。FR-980 生物图像分析系统由上海复日生物实验技术研究所生产。

4 大鼠脂肪肝模型的建立及给药方法 SD 大鼠随机分为 3 组, 每组 8 只, I 组为正常饮食对照组, II 组为高脂饮食组(基础饲料 88%, 猪油 10%, 胆固醇 1.5%, 胆盐 0.5%), III 组为中药干预组, 在给予高脂饮食的同时, 每天每 100g 体重大鼠经口灌服 1ml 的中药口服液。实验时间为 8 周, 在此期间, 实验动物自由饮水与进食, 饲养于 $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 明暗各 12h 的清洁级动物实验室内。8 周后断头处死全部动物, 取肝活组织标本作肝匀浆生化测定和病理学检查。

5 肝匀浆的生化测定 取肝右叶 1g, 4°C 下制成 10% 的肝匀浆, 分别测定 MDA、SOD、GSH、维生素 E 及 TG, 结果以每克肝湿重组织的含量表示。按试剂盒说明书操作。

6 病理学检查 取肝脏左叶, 10% 甲醛固定作如下观察: 常规 HE 染色, 观察肝组织的脂肪变程度。CYP II E1 免疫组化染色, 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶免疫组化法(SP 法), DAB 显色, 一抗 CYP II E1 多抗的工作浓度为 1:400, 操作流程按试剂盒说明书进行。每次实验均设阴性对照, 以 PBS 替代一抗。CYP II E1 的表达程度及范围通过生物图像分析系统转换成显色指数进行定量分析。

7 统计学方法 组间比较采用两

围有弱阳性着色。阴性对照未见着色。CYP II E1 的表达范围及程度经过图像分析系统换算成显色指数后, I、III 组(显色指数均为 0)与 II 组(显色指数为 0.24 ± 0.03)比较差异有显著性。

2 肝内 MDA、SOD、GSH 及维生素 E 含量的变化比较 见表 1。II 组与 I 组比较, MDA 及 TG 的含量显著升高, 而 SOD、GSH、维生素 E 的含量显著性下降。III 组 MDA、TG、SOD、GSH 及维生素 E 又恢复至近似 I 组的水平。

3 脂肪肝肝 CYP II E1 显色指数与 MDA、SOD、GSH 及维生素 E 之间相关性的分析 脂肪肝肝 CYP II E1 显色指数与 MDA 的含量呈正相关($r = 0.9167$, $P < 0.01$), 而与 SOD、GSH、维生素 E 分别呈负相关($r = -0.7556$, $P < 0.05$; $r = -0.7543$, $P < 0.05$; $r = -0.8470$, $P < 0.01$)。

讨 论

本实验以高脂饲料诱发的大鼠脂肪肝其 CYP II E1 的表达在肝腺泡 3 区增强, 并从 3 区弥散至 2 区。早有实验证实, CYP II E1 表达的增强与自由基的产生有关^[5,6]。本实验的相关分析也表明, CYP II E1 的表达与 MDA 呈正相关, 而与细胞内的抗氧化剂 SOD、GSH、维生素 E 呈负相关。这表明, 随着 CYP II E1 表

参 考 文 献

1. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994;107:1103—1109.
2. 范建高, 曾民德, 王钧溶, 等. 上海市 4009 名机关职员脂肪肝流行病学调查. *中华肝脏病杂志* 1998;6(2):17.
3. Powell EG, Cooksly WGE, Hanson R, et al. The natural history of non-alcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up 21 years. *Hepatology* 1990;11:74—80.
4. Weltman MD, Farrell GC, Liddle C. Increased hepatocyte CYP II E1 expression in a rat nutritional model of hepatic steatosis with inflammation. *Gastroenterology* 1996; (111): 1645—1653.
5. French SW, Wonk K, Jiu L, et al. Effect of ethanol on cytochromeP450 II E1(CYP II E1), lipid peroxidation and serum protein adduct formation in relation to liver pathology pathogenesis. *Exp Mol Pathol* 1993;58:61—75.
6. Albano E, Clot P, Morimoto M, et al. Role of cytochromeP450 II E1-dependent formation of hydroxyethyl free radical in the development of liver damage in rats intragastrically fed with ethanol. *Hepatology* 1996; 23: 155—163.
7. Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, et al. Effect of chronic ethanol feeding lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997;25:351—355.
8. 林育纯, 林忠宁. 肝脂类水平与脂质过氧化指标的多元相关分析. *中国公共卫生学报* 1997;16:84.
9. Sadrzadeh SMH, Nanji AA, Price PL. The oral iron chelator, 1, 2-dimethy-3-hydroxypyrid-4-one reduces hepatic-free iron, lipid peroxidation and fat accumulation in chronically ethanol-fed rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;269:632—636.
10. 王本祥主编. 现代中药药理学. 天津: 天津科学技术出版社, 1997:537—540, 640—642, 680—687, 1353—1356.

(收稿:1998-06-03 修回:1999-11-20)

增液汤治疗三环类抗抑郁剂副反应的疗效观察

董汉振 路英智

三环类抗抑郁剂(TCA)治疗抑郁症、抑郁性神经症等伴有抑郁焦虑症状的疾病,疗效是肯定的。然而 TCA 引起的副反应往往使许多患者难以耐受而中断治疗,笔者应用增液汤治疗 TCA 引起的副反应并进行了对照观察。

临床资料 观察对象来自门诊患者 76 例,住院患者 57 例,均符合中国精神疾病分类方案与诊断标准(CCMD-2-R)中的抑郁症、抑郁性神经症的诊断标准,且无严重的躯体疾病。将其随机分为两组。A 组 66 例,其中男 30 例,女 36 例;年龄 22~53 岁,平均(38.52±13.16)岁;病程 1.5~12 个月。B 组 67 例,其中男 28 例,女 39 例;年龄 22~53 岁,平均(36.12±12.68)岁;病程 1~11 个月。

治疗方法 A 组在服用丙咪嗪 75~150mg/d,阿米替林 100~200mg/d 或多虑平 75~150mg/d 的同时,加服增液汤,其组成为玄参 30g 麦冬 24g 生地 24g,并随症加减,每日 1 剂,

两方面均有显著性差异($P<0.01$)。

表 1 两组各项副反应频率与 TESS 平均总分比较

副反应症状	频率(%)		TESS($\bar{x} \pm s$)	
	A 组	B 组	A 组	B 组
意识模糊	1.5	1.5	0.01±0.10	0.01±0.10
嗜睡	19.6	20.9	0.54±0.86	0.57±0.88
震颤	22.0	21.0	0.57±0.85	0.58±0.87
肝功能异常	1.5	1.5	0.05±0.30	0.05±0.31
口干	39.3*	62.7	0.95±0.80*	1.45±0.84
鼻塞	1.5*	13.4	0.10±0.38*	0.41±0.69
视力模糊	6.1*	22.4	0.49±0.68*	0.91±0.98
便秘	22.7*	47.8	0.45±0.86*	0.92±1.11
出汗	6.1	6.0	0.27±0.60	0.28±0.61
恶心呕吐	7.6	7.5	0.24±0.59	0.26±0.61
血压下降	1.5	1.5	0.03±0.22	0.03±0.21
头昏与昏厥	16.7	16.4	0.57±0.78	0.58±0.80
心动过速	21.2	23.9	0.54±0.92	0.56±0.94
心电图异常	3.0	3.0	0.12	