

## · 基础研究 ·

## 茵陈蒿汤干预二甲基亚硝胺大鼠肝硬化效应的方证病理学基础研究

刘成<sup>1</sup> 刘平<sup>1,2</sup> 陶庆<sup>1</sup> 孙明瑜<sup>1</sup> 陈高峰<sup>1</sup> 王高强<sup>1</sup> 王磊<sup>1</sup>  
都金星<sup>1</sup> 仝欣<sup>1</sup> 都广礼<sup>2</sup> 慕永平<sup>1</sup> 刘成海<sup>1</sup> 胡义扬<sup>1</sup>

**摘要** **目的** 基于清热利湿与滋养肝肾不同功效古典方剂的干预效应,探讨二甲基亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMN)诱导大鼠肝硬化的方证病理学基础。**方法** 腹腔注射 DMN 4 周制备大鼠肝硬化模型,造模 2 周末取 6 只模型大鼠作给药前观察,其余模型大鼠随机分为模型对照组、茵陈蒿汤(yinchenhao Decoction, YCHD)组及一贯煎(yiguanjian, YGJ)组;各组于继续造模同时给予不同方剂的煎剂经口灌胃 2 周,正常大鼠与模型对照组给予同量等渗盐水,4 周末处死大鼠,获取血清与肝组织样品,观测肝功能、肝组织病理学、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)与羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)含量,检测肝组织丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量,谷胱甘肽 S 转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性;免疫印迹检测肝组织  $\alpha$ -SMA、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、血小板衍生生长因子(platelete-derived growth factor, PDGF)以及肝脂肪酸结合蛋白(liver fatty acid binding protein, L-FABP)、转铁蛋白(transferrin, Tf)表达的变化。**结果** 与模型对照组比较, YCHD 组肝功能显著改善;肝组织 Hyp 含量与  $\alpha$ -SMA 蛋白表达显著降低( $P < 0.05$ ),显著抑制 DMN 大鼠肝硬化的形成,而 YGJ 无明显作用。肝组织 TNF- $\alpha$  与 PDGF 表达在 YCHD 组显著减少,而 YGJ 组 TNF- $\alpha$  进一步增加,PDGF 无明显变化;YCHD 组肝组织 MDA 含量与 GST 活性显著降低( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),GSH 含量、L-FABP 及 Tf 蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ ),而 YGJ 组仅见 GSH 显著增加( $P < 0.05$ )。**结论** 茵陈蒿汤显著抑制 DMN 大鼠肝硬化的形成;DMN 大鼠肝硬化形成期的肝组织炎症病变及其过氧化损伤是茵陈蒿汤清热利湿效应的方证病理学基础。

**关键词** 二甲基亚硝胺;肝硬化;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;脂质过氧化;茵陈蒿汤

**Recipe-syndrome Correlation and Pathogenesis Mechanism of Yinchenhao Decoction in Intervening Dimethylnitrosamine Induced Liver Cirrhosis Progress in Rats** LIU Cheng, LIU Ping, TAO Qing, et al *Institute of Liver Disease, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (201203)*

**ABSTRACT** **Objective** Lay on the intervention effect of different classic Chinese medicine recipes for clearing-heat, eliminating dampness and nourishing Gan-Shen, to investigate the recipe-syndrome pathologic foundation of dimethylnitrosamine (DMN) induced liver cirrhosis in rat. **Methods** Liver cirrhosis model rats were made by DMN intra-peritoneally injection for 4 weeks at the dosage of 10 mg/kg body weight, once per day for 3 consecutive days in each week. Excepting the 6 rats for pre-treatment observation, others were divided into 3 groups and gastric infused respectively with saline (model group), Yinchenhao Decoction (YCHD group) and Yiguanjian (YGJ group) in the continuous 2-week modeling period. Besides, a normal group was set up with 10 healthy rats administered by saline. At the end of the 4th week, rats were sacrificed and their blood sample and liver tissue were get for detecting liver function; hepatic histology (HE and Sirius red stain);  $\alpha$ -smooth muscle ac-

基金项目:国家自然科学基金重大计划重点项目支持(No. 90409020);自然科学基金青年基金项目(No. 30701070);上海市教育委员会 E-研究院建设计划项目(No. E03008);中国博士后基金(No. 20090450726);上海高校创新团队建设项目(第 1 期)

作者单位:1. 上海中医药大学附属曙光医院 上海市中医药研究院肝病研究所 肝肾疾病证教育部重点实验室(上海 201203); 2. 上海中医药大学,上海高校中医内科学 E 研究院

通讯作者:刘平, Tel: 021-51322002, E-mail: liuliver@vip.sina.com

tin ( $\alpha$ -SMA) and hydroxyproline (Hyp) contents, Oxidative stress-related parameters such as malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), and glutathione S-transferase (GST); expressions of  $\alpha$ -SMA tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), platelete-derived growth factor (PDGF), liver fatty acid binding protein (L-FABP), and transferrin were determined at the same time. **Results** Compared to those in the model group, liver function was improved significantly and content of Hyp,  $\alpha$ -SMA protein expression decreased remarkably in the YCHD group ( $P < 0.05$ ), showing significant inhibition on liver cirrhosis formation; while those effect was not shown in the YGJ group. Comparisons of various parameters between groups showed that TNF- $\alpha$ , PDGF expression, MDA content and GST activity in liver tissue were decreased and GSH content, L-FABP and transferrin expression were increased significantly at the terminal of the experiment in the YCHD group ( $P < 0.05$ ), but only increases of TNF- $\alpha$  and GSH were shown in the YGJ group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** YCHD exerts significant inhibition on DMN-induced cirrhosis formation in rats, and the inflammatory change and peroxidation in liver tissue at liver cirrhosis developing stage of DMN treated rats is the recipe-syndrome pathologic foundation of clearing heat and eliminating-dampness effects of YCHD.

**KEYWORDS** dimethylnitrosamine; liver cirrhosis; tumor necrosis factor-alpha; lipid peroxidation; Yinchenhao Decoction

肝炎后肝硬化患者流行病学调查的中医病机分析结果表明, 气虚血瘀是该病的共性病机, 而湿热内蕴、瘀热蕴结与肝肾阴虚为其主要证候病机<sup>[1,2]</sup>; 基于证候病机与其疾病和方剂的相关性是中医证候理论研究的重要问题以及方证相应的原理, 采用不同功效方剂进行疾病多模型干预治疗的比较对照研究, 发现四氯化碳大鼠肝硬化为一贯煎养阴的效应模型<sup>[3]</sup>, 而茵陈蒿汤可有效逆转二甲基亚硝胺 (dimethylnitrosamine, DMN) 造模成型的大鼠肝硬化<sup>[4]</sup>。本实验进一步基于动态观察的研究设计思路, 在大鼠肝纤维化 (DMN 造模 2 周后) 向肝硬化发展的阶段采用茵陈蒿汤、一贯煎进行干预治疗, 以药效学为判定标准, 以方测证, 深入探讨 DMN 大鼠肝硬化形成阶段中医方证病机的病理学基础。

### 材料与方

#### 1 材料

1.1 动物 Wistar 雄性大鼠 52 只, 清洁级, 体重 (165 ± 15)g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 许可证号: SCXK (沪) 2003-0003。上海中医药大学实验动物中心饲养、造模和观察, 自由饮食。

1.2 药物 茵陈蒿汤和一贯煎所含的生药均购自上海华宇药业有限公司, 经生药学专家鉴定, 按照原方比例和制法由上海中医药大学附属曙光医院国家中医药管理局中药制剂中心一次制备干燥后冷藏。

1.3 主要试剂及仪器 DMN (1 g/mL) 购自 Sigma 公司, ECL 试剂盒购自 Pierce 公司, PVDF 转移膜购自 Millipore 公司。预染蛋白 Marker 购自 New England Biolabs 公司, SABC 试剂盒购自武汉博士德公

司。Tris、SDS 等化学试剂均购自 Amersham 公司。肝功能测定试剂盒、脂质过氧化相关指标试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 羟脯氨酸标准品购自日本ナカティテスク株式会社。所用抗体如下:

Antibody	Species	Manufacture	Cat. No.	Dilution
$\alpha$ -SMA	Mouse IgG2a	Sigma	A2547	1:400
TNF- $\alpha$	Rabbit pAb	Chemicon	AB1837P	0.2 $\mu$ g/mL
PDGF	Rabbit pAb	Calbiochem	PC21	5 $\mu$ g/mL
L-FABP	Mouse IgG1	Abcam	Ab7366	1:100
Transferrin	Rabbit pAb	Santa Cruz	Sc-21011	1:100
GAPDH	Mouse IgG1	Kangchen	KC-5G4	1:5 000

免疫印迹电泳系统为 BioRAD 公司产品 (041BR), 半干转膜仪为 Amersham 产品 (ET70PWR), 曝光暗匣为上海跃进医用光学仪器厂产品 (XJX-II), 病理及免疫组化图片拍照系统为倒置光学显微镜为 Olympus 公司产品 (X70)。

### 2 方法

2.1 肝硬化模型的制备 参照 Ala-Kokko 方法<sup>[5]</sup>造模, 大鼠以 0.5% 的 DMN 溶液 (以生理盐水稀释) 2 mL/kg 剂量腹腔注射, 每天 1 次, 每周前 3 天连续注射, 共 4 周。正常对照大鼠腹腔注射等量的生理盐水。

2.2 分组与给药 随机取 10 只大鼠作为正常组, 42 只大鼠造模, 造模 2 周末取 6 只模型组和 3 只正常大鼠作干预用药前观察, 余 36 只造模大鼠随机分为模型对照组、茵陈蒿汤组与一贯煎组, 每组 12 只; 药物干预组于继续造模的同时按成人 (65 kg) 体重日用量的 8 倍, 以 10 mL/kg 大鼠体重的容量灌胃给药, 每天 1 次, 连续 2 周; 模型对照组和正常组以同体积等渗盐水灌胃。

2.3 样品采集和处理 实验第 4 周末处死全部大鼠。大鼠用 2% 戊巴比妥钠以 2 mL/kg 体重剂量腹腔注射麻醉后, 仰卧位固定, 打开腹腔, 观察肝的色、质、形态等情况。经下腔静脉采血, 摘取肝脾, 称重, 自肝右叶切取 1.0 cm × 0.8 cm × 0.3 cm 肝组织 1 块, 10% 中性福尔马林固定, 脱水、包埋; 留取肝组织作羟脯氨酸 (hydroxyproline, Hyp) 含量测定。血液 4 °C 静置 3 h 后, 3 000 r/min, 离心 30 min, 分离血清。-80 °C 保存备用。

2.4 观测项目及检测方法

2.4.1 肝组织 HE 及天狼星红染色观察肝脏组织学变化。

2.4.2 血清 ALT、AST 活性及白蛋白、TBIL 含量测定 均按照试剂盒说明书操作。

2.4.3 肝组织 Hyp 含量测定 采用 Jamall 氏等<sup>[6]</sup>方法。

2.4.4 肝组织丙二醛 (MDA) 和谷胱甘肽 (GSH) 含量及谷胱甘肽 S 转移酶 (GST) 活性测定 按照试剂盒说明书操作。

2.4.5 肝组织 α-平滑肌肌动蛋白 (α-SMA) 免疫组化检测 采用 SABC 法。石蜡切片常规脱蜡至水 → 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-PBS 室温 5 min → 微波热修复 → 一抗 37 °C 孵育 1 h → 辣根过氧化物酶标记的第二抗体 37 °C 孵育 30 min → SABC 37 °C 孵育 20 min 轻洗 → DAB 显色 → 苏木素复染 30 s ~ 1 min, 封片。

2.4.6 肝组织 α-SMA、TNF-α、血小板衍生生长因子 (PDGF) 及肝脂脂肪酸结合蛋白 (L-FABP)、转铁蛋白 (Tf) 表达测定 采用免疫印迹检测。匀浆肝组织提取蛋白, 考马斯亮蓝检测蛋白浓度, 根据分子量制备 15% 或 10% 分离胶, 每泳道蛋白量为 50 μg, SDS-PAGE 电泳。根据分子量确定半干转时间把蛋白转到

PVDF 膜上后封闭, 一抗 4 °C 过夜, 回收一抗, 加上相应的二抗置于摇床, 室温轻轻混匀孵育 1 h, 滴加 ECL 后混匀, 1 min 后置暗室, 根据条带的荧光强度确定曝光时间。

2.5 统计学方法 计量资料以 SPSS 11.5 中的 ANOVA 程序进行单因素方差分析, P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠肝组织病理学观察 HE 染色: 正常大鼠肝小叶结构清晰, 肝细胞索由中央静脉向四周呈放射状排列。2、4 周模型组大鼠肝组织出现较广泛的肝细胞浊肿、小叶中心性出血及灶状坏死, 伴炎性细胞浸润, 纤维组织大量增生, 4 周时肝小叶结构紊乱。与两模型组比较, 茵陈蒿汤组大鼠肝细胞索较为规则, 肝细胞变性、坏死以及炎细胞浸润明显较轻; 一贯煎组变化不明显 (图 1)。

天狼星红染色: 正常肝组织仅在汇管区和中央静脉壁见少量胶原纤维。造模 2 周, 肝组织胶原纤维广泛增生, 可见部分菲薄的不完全间隔形成; 造模 4 周时弥漫性增生的胶原纤维分割肝小叶形成较粗大的完全间隔, 肝小叶结构异常, 形成假小叶, 75% 形成肝硬化。与两模型组比较, 茵陈蒿汤组的胶原纤维增生显著减轻, 纤维间隔窄、疏松而不连续, 仅有 1 只大鼠见完整的假小叶 (肝硬化形成率为 8.3%), 一贯煎组变化不明显 (图 2)。

2 各组大鼠肝组织 α-SMA 蛋白表达的变化 α-SMA 在正常大鼠血管内皮见有表达; 造模 2 周大鼠的肝组织纤维间隔内表达显著增强, 造模 4 周时进一步增加, 肝窦壁可见大量表达, 蛋白免疫印迹结果的变化趋势一致; 与两模型组比较, 茵陈蒿汤组 α-SMA 表达

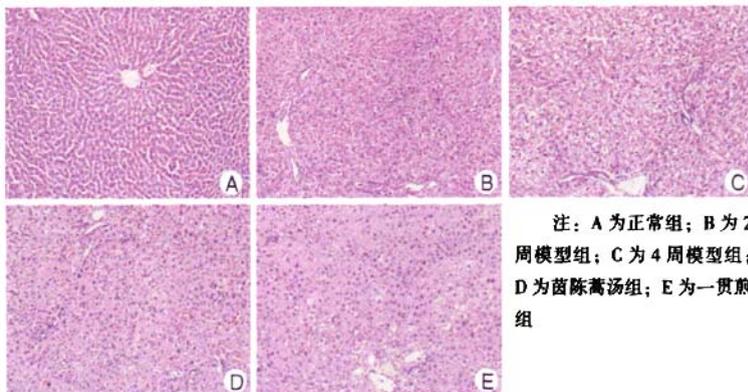


图 1 各组大鼠肝组织 HE 染色结果 (×200)

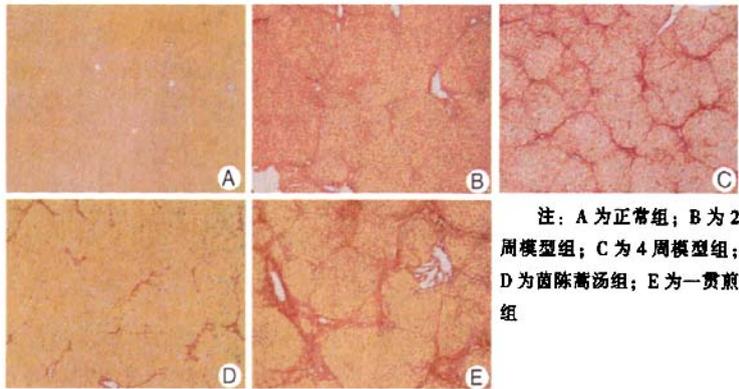
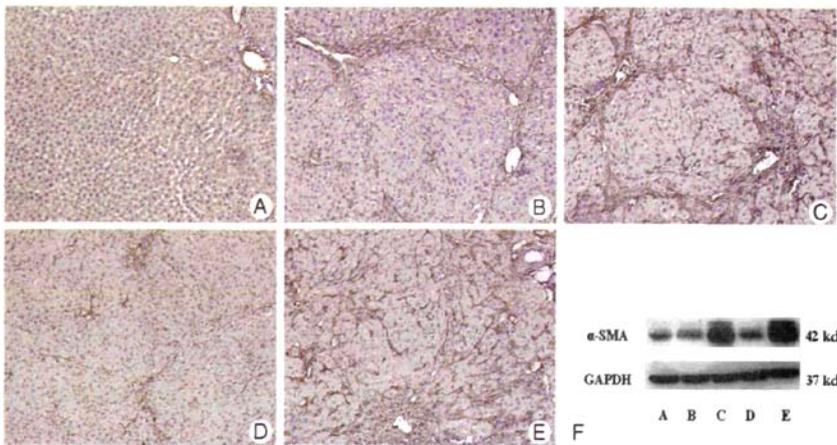


图 2 各组大鼠肝组织天狼星红染色结果 (x100)

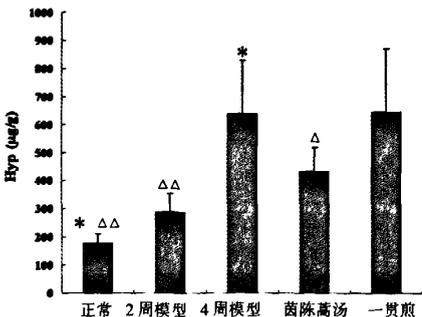


注: A 为正常组; B 为 2 周模型组; C 为 4 周模型组; D 为茵陈蒿汤组; E 为一贯煎组; F 为各组大鼠肝组织  $\alpha$ -SMA 免疫印迹

图 3 各组大鼠肝组织  $\alpha$ -SMA 免疫组化 (x200) 及免疫印迹结果

显著减少,而一贯煎组  $\alpha$ -SMA 蛋白表达呈增多趋势 (图 3)。

3 各组肝组织 Hyp 含量变化 (图 4) 与正常大鼠比较,2、4 周时模型大鼠肝组织 Hyp 含量呈梯级、显著性增加 ( $P < 0.01$ ),分别是正常大鼠的 1.61 倍与



注:与 2 周模型组比较, \* $P < 0.01$ ; 与 4 周模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$

图 4 各组大鼠肝组织 Hyp 含量变化

3.57 倍;与 4 周模型组比较,茵陈蒿汤组 Hyp 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ),较模型对照组下降 44.9%;一贯煎组无明显变化。

4 各组大鼠肝功能变化比较 (表 1) 与正常大鼠比较,造模 2 周大鼠的血清 ALT、AST 活性、TBIL 含量显著增高,Alb 含量显著降低,4 周时进一步加重 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与 4 周模型组比较,茵陈蒿汤组血清 ALT、AST 活性和 TBIL 含量均显著降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),基本维持在 2 周模型组时的水平;茵陈蒿汤组血清 Alb 含量增加,但差异无统计学意义,而一贯煎组无明显变化。

表 1 各组大鼠肝功能变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(g/L)	Alb(g/L)
正常	10	20.13 $\pm$ 2.01 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>	28.03 $\pm$ 4.33 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>	11.50 $\pm$ 0.93 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>	40.89 $\pm$ 2.23 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>
2 周模型	6	40.62 $\pm$ 4.12 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>	42.08 $\pm$ 2.35 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>	20.00 $\pm$ 6.52	35.06 $\pm$ 2.27 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>
4 周模型	12	70.30 $\pm$ 3.21 <sup>*</sup>	81.08 $\pm$ 3.18 <sup>*</sup>	24.10 $\pm$ 7.71	26.38 $\pm$ 4.11 <sup>*</sup>
茵陈蒿汤	12	39.34 $\pm$ 6.50 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>	45.39 $\pm$ 5.16 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>	16.70 $\pm$ 4.68 <sup><math>\Delta</math></sup>	27.06 $\pm$ 4.16
一贯煎	12	66.77 $\pm$ 4.83	75.09 $\pm$ 2.25	20.00 $\pm$ 15.19	26.13 $\pm$ 3.67

注:与 2 周模型组比较, \* $P < 0.01$ ; 与 4 周模型组比较,  $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

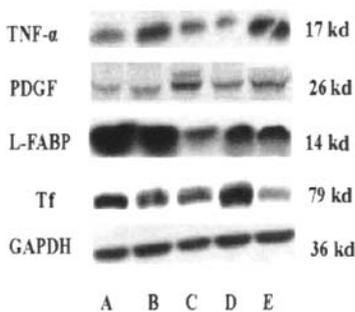
5 各组肝组织 MDA、GSH 含量及 GST 活性变化(表 2) 与正常大鼠比较, 肝组织 MDA 含量、GST 活性在造模 2 周显著升高( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 肝组织 GSH 含量显著降低( $P < 0.01$ ), 造模 4 周进一步升高或降低。与 4 周模型组比较, 茵陈蒿汤组肝组织 MDA 含量和 GST 活性显著降低( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), GSH 含量显著增高( $P < 0.01$ ); 一贯煎组 GSH 含量显著升高( $P < 0.05$ )。

表 2 各组大鼠氧化应激指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MDA (nmol/mg)	GST (U/mg)	GSH (mg/g)
正常	10	1.49 ± 0.21** $\Delta\Delta$	22.32 ± 3.92* $\Delta$	61.96 ± 14.67** $\Delta\Delta$
2 周模型	6	2.55 ± 0.39 $\Delta\Delta$	33.62 ± 6.96	50.35 ± 7.46 $\Delta\Delta$
4 周模型	12	5.19 ± 1.56**	35.50 ± 7.64	38.26 ± 5.35**
茵陈蒿汤	12	3.08 ± 0.70 $\Delta\Delta$	24.36 ± 2.36 $\Delta$	48.69 ± 7.49 $\Delta\Delta$
一贯煎	12	6.97 ± 2.75	28.71 ± 8.34	42.26 ± 9.29 $\Delta$

注: 与 2 周模型组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 与 4 周模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$

6 各组大鼠肝组织 TNF- $\alpha$ 、PDGF 及 L-FABP 和 Tf 蛋白表达变化(图 5) 免疫印迹结果显示, TNF- $\alpha$  蛋白表达在 2 周达到高峰, 4 周有所下降, PDGF 蛋白表达随模型进展逐渐升高, 造模 4 周时最高, 肝脏 L-FABP 和 Tf 均随着模型进展逐渐降低, 造模 4 周时最低; 与模型组比较, 茵陈蒿汤组肝组织 TNF- $\alpha$  与 PDGF 蛋白显著降低, L-FABP 和 Tf 蛋白表达增加; 一贯煎组 TNF- $\alpha$  显著增加, Tf 表达较 4 周更低, PDGF 无明显变化, L-FABP 有所增加。



注: A 为正常组; B 为 2 周模型组; C 为 4 周模型组; D 为茵陈蒿汤组; E 为一贯煎组

图 5 各组大鼠肝组织 TNF- $\alpha$ 、PDGF、L-FABP 及 Tf 蛋白表达变化

### 讨论

腹腔注射 DMN 诱导大鼠肝纤维化、肝硬化是经典方法<sup>[7]</sup>。本实验采用该方法造模 2 周的大鼠肝组织表现为小叶中心性出血性坏死, 炎性细胞浸润, 纤维组织显著增生, 肝组织 Hyp 含量是正常大鼠的 1.61 倍, 肝功能显著异常, 已形成显著的肝纤维化; DMN

染毒 4 周时大鼠肝功能损害显著加重, 肝组织结构紊乱、肝组织 Hyp 含量为正常大鼠的 3.57 倍, 75% 的模型大鼠已形成肝硬化, 与文献[8]报道一致。

本实验紧密结合临床实际, 基于湿热内蕴与肝肾阴虚是肝硬化主要证候病机, 在肝纤维化已形成进一步向肝硬化快速发展的病理阶段, 采用清热利湿的茵陈蒿汤与滋养肝肾的一贯煎进行干预治疗, 结果表明, 清热利湿的茵陈蒿汤呈现显著的综合效应, 可有效阻断持续造模条件下肝纤维化向硬化的发展, 12 只大鼠仅有 1 只形成肝硬化, 肝功能、肝纤维化相关指标(Hyp、 $\alpha$ -SMA 及 PDGF 含量)基本维持在模型对照组 2 周时的水平, 而一贯煎却基本无效, 强烈提示该模型具有茵陈蒿汤清热利湿效应的病理学基础。

该模型造模 2、4 周的动态观察结果显示, 其肝组织中致纤维化因子 PDGF、 $\alpha$ -SMA 及过氧化诸指标均呈梯级变化趋势, 即与 2 周时比较, 4 周则进一步增高或降低, 而 TNF- $\alpha$  在 2 周时便达到峰值, 提示此时期肝内炎症反应明显, 由此进一步激发脂质过氧化及星状细胞的增殖与活化, 造模 4 周时肝脏 TNF- $\alpha$  表达虽有所下降, 但肝组织 MDA 和 GST 以及  $\alpha$ -SMA 进一步增加, GSH 含量和 L-FABP 以及 Tf 进一步降低, 以至肝组织纤维化快速发展, 形成肝硬化。2 周后于继续染毒的同时给药干预治疗至 4 周末, 清热利湿的茵陈蒿汤可显著抑制肝内 TNF- $\alpha$  的表达, 显著提高 Tf, 而一贯煎却进一步增加肝内 TNF- $\alpha$ 、降低 Tf 的表达, 两者形成了鲜明的对比, 既显示出肝内以 TNF- $\alpha$  增高为主的炎症反应及脂质过氧化是加重肝细胞损伤、促进纤维化快速发展的关键病理因素, 同时表明这也是清热利湿茵陈蒿汤取效的重要病理基础, 而显著促进肝细胞的 Tf 合成则是该方的作用途径之一。游离铁离子( $Fe^{2+}$ )极易与过氧化氢反应形成高活性的羟自由基以致脂质过氧化损伤, Tf 与  $Fe^{2+}$  结合而减少后者对细胞的损伤<sup>[9]</sup>。

课题组另一研究以相同的古典方剂干预四氯化碳( $CCl_4$ )大鼠肝硬化( $CCl_4$ 造模 12 周, 造模 9 周首日开始给药干预至 12 周末)的结果表明, 一贯煎是显效方剂, 可显著抑制大鼠肝硬化的形成, 而茵陈蒿汤仅对增高的血清 AST、ALT 活性有降低作用, 对肝纤维化的进展、肝硬化的形成并无显著的抑制效应<sup>[10]</sup>。提示不同造模因素诱致的肝纤维化病理机制具有显著的差别, 有着不同功效中医方剂效应的方证病理学基础, DMN 大鼠肝损伤以 TNF- $\alpha$  增高为中心的炎症反应可能是清热利湿茵陈蒿汤抗肝纤维化、阻抑其肝硬化形成的方证效应基础。

紧密联系临床实际, 基于现代疾病的中医证候病机, 采用针对疾病中医证候病机的不同功效的代表性方剂, 对同一疾病的不同动物模型或者同一模型的不同病理阶段进行动态比较研究, 以整体综合疗效为判定标准, 可能为中西医病证结合, 探索中医辨证论治病态治疗学基础的有效新途径之一<sup>[11,12]</sup>。

参 考 文 献

[1] 刘平. “病-证-效”结合研究的思考与探索[J]. 上海中医药大学学报, 2007, 21(1):4-7.  
Liu P. Thinking and exploration of disease-syndrome-efficacy integrated research [J]. Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai, 2007, 21(1):4-7.

[2] 刘平. 重视“证据”质量 大力推进中西医结合肝病研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(1):8-10.  
Liu P. Emphasis on “the quality of evidence” to vigorously advance the integrative study of liver diseases[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2004, 24(1): 8-10.

[3] 慕永平, 刘平, 都广礼, 等. 祛瘀和养阴不同功效中医经典方剂抑制 CCl<sub>4</sub> 诱导大鼠肝硬化的作用机制[J]. 自然科学进展, 2006, 16(9):1101-1108.  
Mu YP, Liu P, Du GL, et al. The mechanism of removing stasis and nourishing yin formulas inhibit CCl<sub>4</sub> induced liver cirrhosis in rats[J]. Progr Nat Sci, 2006, 16(9):1101-1108.

[4] 王磊, 刘平, 慕永平, 等. 清热利湿与益气古典方剂逆转二甲基亚硝胺大鼠肝硬化的细胞生物学基础研究[J]. 自然科学进展, 2007, 17(8):1026-1035.  
Wang L, Liu P, Mu YP, et al. Different classic recipes treatment on DMN-induced liver cirrhosis [J]. Prog Nat Sci, 2007, 17(8):1026-1035.

[5] Ala-Kokko L, Pilajaniemi T, Myers J, et al. Gene expression of type I and IV collagens in hepatic fibrosis induced by dimethyltolrosa mine in the rats[J]. Biochem J, 1987, 244(1):75-79.

[6] Jamall IS, Finelli VN, Que SS. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues[J]. Anal Biochem, 1981, 112(1):70-75.

[7] Jezequel AM, Mancini R, Rinaldesi ML, et al. A morphological study of the early stage of hepatic fibrosis induced by low dose of DMN in the rats[J]. J Hepatol, 1987, 5(2):174-181.

[8] Takahiro Uehi, Yasufumi Kaneda. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats[J]. Nat Med, 1999, 25(2):226-230.

[9] Graham RM, Chua AC, Herbison CE, et al. Liver iron transport [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(35):4725-4736.

[10] 慕永平, 刘平, 龙爱华, 等. CCl<sub>4</sub> 大鼠肝硬化成型阶段中医方证病机的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(4):344-347.  
Mu YP, Liu P, Long AH, et al. Study on pathogenesis of CCl<sub>4</sub>-induced cirrhosis formation in rats based on the recipe used[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2006, 26(4):344-347.

[11] 刘平, 胡义扬, 倪力强. 从辨证论治的思维特征探索证候分类研究的比较[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(5):451-454.  
Liu P, Hu YY, Ni LQ. On establishing comparative reference system for syndrome classification study from the thinking characteristics of syndrome differentiation dependent therapy[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2006, 26(5):451-454.

[12] 刘平. 发挥中西医结合思维优势进一步提高中医药抗肝纤维化的临床疗效[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(1):7-8.  
Liu P. Thought to play a dominant integrative medicine to further improve the clinical efficacy of hepatic fibrosis[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2006, 26(1):7-8.

(收稿:2010-01-03 修回:2010-05-20)

中国中医科学院西医学习中医班(西苑班)招生

中国中医科学院西医学习中医班自 1956 年开班以来, 为国内外培养了大批中医、中西医结合骨干人材, 成为国内重要的中西医结合教育基地之一。现受国家中医药管理局委托, 中国中医科学院第 15 期西医学习中医班(西苑班)开始招生(2010 年 9 月开学), 本班学制 2 年, 由长期从事临床工作并具有丰富教学经验的专家系统讲授 15 门中医课程, 在本院进行临床实习。课程考试和实习合格者颁发中国中医科学院西医学习中医班毕业证书。西医院校毕业的医务人员及中医药工作者均可报名参加。欲报名者请向中国中医科学院西苑医院教育处函索招生简章, 也可通过中国中医科学院西苑医院网站(www.xyhospital.com)下载招生简章和报名表。通讯处:北京海淀区中国中医科学院西苑医院教育处, 邮编:100091; 电话:(010)62887973, 62835037; 联系人:薛庆山。