

带内。脾静脉阻塞出现的胃周侧支血管扩张,可通过增强轴位 CT 薄层来追踪诸血管的起始及受侵情况,同时还可观察原发病变及临近器官的影像学表现。CT 血管三维重建可立体直观显示脾静脉阻塞及侧支循环建立情况,为临床提供全面详细的解剖影像学信息,系轴位 CT 的重要补充。

总之,左侧区域性门静脉高压的临床症状主要由原发病引起,并常为原发病症状所掩盖。最典型的临床特征为孤立性胃底静脉曲张,少数可发生上消化道出血。CT 表现主要有脾静脉阻塞或受压、胃周静脉曲张和脾大,其中胃周静脉以胃网膜静脉曲张最常见。

参考文献

- 1 严志汉,周翔平,许崇永,等. 胰源性区域性门静脉高压症螺旋 CT 诊断与门静脉高压的对照研究[J]. 中国医学影像技术,2000,16(6):462-464
- 2 宋彬,徐隽,闵鹏秋. 胰腺的血管系统[J]. 中国医学计算机成像杂志,2002,8(4):217-222

- 3 严志汉,周翔平,宋彬,等. 胰源性门静脉系节段性阻塞的螺旋 CT 表现[J]. 临床放射学杂志,2000,19(7):427-429
- 4 刘全达,周宁新,张文智,等. 区域性门静脉高压症的诊治[J]. 中华消化杂志,2005,25(3):131-133
- 5 张谊,张启瑜,廖毅. 区域性门静脉高压症的诊断与治疗[J]. 肝胆胰外科杂志,2009,21(1):34-36
- 6 Marn CS, Glazer GM, Williams DM, *et al.* CT - Angiographic correlation of collateral venous pathways in isolated splenic vein occlusion: new observations[J]. Radiology, 1990, 175:375-380
- 7 殷小平,李彩英,冯平勇,等. 多层螺旋 CT 对胰源性区域性门静脉高压的诊断价值(附 42 例报道)[J]. 临床肝胆病杂志,2008,24(4):265-268
- 8 Lenthal R, Kane PA, Heaton ND, *et al.* Segmental portal hypertension due to splenic vein obstruction: Imaging findings and diagnostic pitfalls in four cases[J]. Clinical Radiology, 1999, 54(8):540-544
- 9 Sato T, Yamazaki K, Akaike J, *et al.* Clinical and endoscopic features of gastric varices secondary to splenic vein occlusion[J]. Hepatology Research, 2008, 38(11):1076-1082

(收稿:2010-09-06)

三七对酒精性肝病大鼠肝脏细胞因子的影响

黄志群 陈芝芸 严茂祥 何蓓晖 蔡丹莉 刘庆生

摘要 目的 观察三七对酒精性肝病大鼠肝组织 TNF- α 、Leptin、IL-6、IL-8 等因子的影响,探讨其抗酒精性肝病的作用机制。**方法** 70 只雄性 SD 大鼠随机分为模型组、三七低剂量组、三七高剂量组和硫普罗宁组各 15 只及正常组 10 只,模型组大鼠灌服白酒-玉米油-吡唑混合液 14 周建立酒精性肝病模型,三七低、高剂量组和硫普罗宁组大鼠在造模的同时予以相应的药物干预,正常组以蒸馏水代替,连续 14 周;酶联免疫法和放射免疫法检测肝组织中 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 等细胞因子的含量。**结果** 模型组大鼠肝组织 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 含量较正常组明显升高($P < 0.01$),应用不同剂量三七及硫普罗宁干预后肝组织 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 含量较模型组明显降低($P < 0.05$)。**结论** 三七防治大鼠酒精性肝病的机制可能与降低 ALD 大鼠肝组织 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 等细胞因子的水平有关。

关键词 酒精性肝病 三七 细胞因子

The Effect of Sanchi on the Expression of Hepatic Cytokines in Rats with Alcoholic Liver Disease. Huang Zhiqun, Chen Zhiyun, Yan Maoliang, He Beihui, Cai Danli, Liu Qingsheng. Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang 310053, China

Abstract Objective To evaluate the effect of Sanchi on expression of hepatic TNF- α , IL-6, IL-8 and leptin in rats with alcoholic liver disease (ALD), thus to explore the mechanism of Sanchi in alcoholic liver disease. **Methods** Seventy SD rats were randomly divided into five groups: the normal group ($n = 10$), the model group ($n = 15$), the high-dose Sanchi group ($n = 15$), the low-dose Sanchi group ($n = 15$), and the tiopronin group ($n = 15$). Alcoholic liver disease in rats of the model group was induced with mixture of alcohol-corn oil-pyrazole in 14 weeks. Rats in the high-dose Sanchi, the low-dose Sanchi, and the tiopronin group were treated with

基金项目:浙江省中医药科技计划资助项目(2007YA009)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学 2004 级七年制硕士研究生(黄志群);310006 杭州,浙江省中医院消化病研究室(陈芝芸、严茂祥、何蓓晖、蔡丹莉);310007 杭州市中医院(刘庆生)

通讯作者:陈芝芸,研究员,博士生导师。电子信箱:zhiyun-chen@tom.com

different medicine. The contents of hepatic TNF- α , IL-6, IL-8 and leptin were examined with ELISA or RIA. **Results** In the model group, the amounts of hepatic TNF- α , IL-6, IL-8 and leptin were higher than those in the normal group ($P < 0.01$), and all those in the treatment groups were lower than those in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Sanchi can markedly reduce the levels of hepatic TNF- α , IL-6, IL-8 and leptin. This may serve as one of the critical mechanisms through which Sanchi efficiently prevents from alcoholic liver disease.

Key words Alcoholic liver diseases; Sanchi; Cytokine

酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 是长期大量饮酒导致的中毒性肝损伤, 其发病机制目前尚未完全阐明。近年来, 脂肪细胞因子在其发病机制中的作用越来越受到重视。我们前期研究发现, 三七对单纯酒精或白酒-玉米油-吡唑混合液诱导的 ADL 大鼠有较好的防治作用^[1,2], 为进一步探讨其疗效作用机制, 本研究观察三七对 ADL 大鼠肝组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、瘦素 (Leptin)、白细胞介素-6 (IL-6) 以及白细胞介素-8 (IL-8) 等细胞因子含量的影响。

材料与方法

1. 动物: 70 只雄性清洁级 SD 大鼠, 体重 220 ± 10 g, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司, 饲养于浙江中医药大学实验动物中心, 饲养环境通风良好, 温度 $18 \sim 22^\circ\text{C}$, 湿度为 $45\% \sim 65\%$ 。

2. 试剂: 56 度红星二锅头酒由北京红星股份有限公司提供, 批号 2806011; 吡唑由 Sigma 公司提供, 批号 S33638-316; 玉米油由上海嘉里食品工业有限公司提供, 批号 20060726; 三七产地云南, 批号 060310, 制备成 100 目的三七粉, 蒸馏水调制成混悬液备用; 硫普罗宁由河南省新谊药业股份有限公司提供, 批号 060601; 组织型 TNF- α ELISA 试剂盒, 批号 QRCT3013320030322; 组织型 Leptin ELISA 试剂盒, 批号 QRCT3013322300213; 均为美国 ADL 公司产品; IL-6、IL-8 放射免疫试剂盒为解放军总医院科技开发中心放免所产品, 批号均为 20070921。

3. 分组及给药: 大鼠随机分为 5 组, 模型组、三七低剂量组、三七高剂量组及硫普罗宁组各 15 只, 正常组 10 只; 除正常组外, 其余 4 组大鼠每天上午灌服白酒-玉米油-吡唑混合液 [其中 56 度红星二锅头 $5\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、玉米油 $2\text{ml}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、吡唑 $27.2\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$], 1 次/天; 同时模型组大鼠每天下午灌服等容量的蒸馏水, 三七低剂量组、高剂量组每天下午分别灌服三七混悬液 $0.6\text{克}/(\text{千克体重} \cdot \text{天})$ 和 $1.2\text{克}/(\text{千克体重} \cdot \text{天})$, 硫普罗宁组同时每天下午灌服硫普罗宁混悬液 $100\text{毫克}/(\text{千克体重} \cdot \text{天})$, 正常组上下午均灌服等容量的蒸馏水, 连续 14 周, 普通大鼠饲料喂养, 自由饮水; 14 周末空腹麻醉下处死大鼠, 分离肝组织, -70°C 保存待用。在造模过程中因灌胃不当或急性酒精中毒 4 组造模大鼠均有部分死亡, 各组大鼠实验结束时存活者为有效大鼠例数。

4. 检测方法: 肝组织 TNF- α 、Leptin 含量采用 ELISA 法检测, 肝组织 IL-6、IL-8 含量采用放免法检测。

5. 统计学分析 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS11.0 软件进行方差分析。

结 果

模型组大鼠肝组织匀浆 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 含量较正常组明显升高 ($P < 0.01$); 三七低、高剂量组及硫普罗宁组大鼠肝组织匀浆 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 含量较模型组明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) 各药物干预组之间肝组织 TNF- α 、Leptin、IL-6 及 IL-8 水平差异无显著性 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1 三七对 ADL 大鼠肝组织 TNF- α 、IL-6、IL-8、Leptin 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	TNF- α (ng/mg)	Leptin (ng/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-8 (ng/mg)
模型组	10	$4.32 \pm 0.92^{**}$	$31.78 \pm 3.36^{**}$	$76.87 \pm 10.07^{**}$	$3.60 \pm 0.69^{**}$
三七低剂量组	9	$3.12 \pm 0.76^{\Delta}$	$23.40 \pm 4.91^{\Delta}$	$62.02 \pm 6.87^{\Delta}$	$2.82 \pm 0.64^{\Delta}$
三七高剂量组	8	$2.97 \pm 1.16^{\Delta}$	$22.39 \pm 7.36^{\Delta}$	$60.47 \pm 9.80^{\Delta}$	$2.76 \pm 0.46^{\Delta}$
硫普罗宁组	9	$2.89 \pm 0.76^{\Delta\Delta}$	$23.02 \pm 7.83^{\Delta}$	$61.40 \pm 6.85^{\Delta}$	$2.74 \pm 0.46^{\Delta}$
正常组	10	2.46 ± 0.67	18.20 ± 3.68	48.45 ± 14.70	1.61 ± 0.42

与正常组比, $^{*}P < 0.01$; 与模型组比, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

讨 论

细胞因子代谢异常是酒精性肝病的一个主要特征^[3,4]。长期大量饮酒, 乙醇及其代谢物可以活化库普弗细胞, 再通过激活核转录因子 κB (NF- κB) 或其

他转录因子, 促进各种细胞因子和化学因子的基因转录, 进而可释放细胞因子和炎症介质^[5,6], 如 TNF- α 、IL-6、IL-8、TGF- β 、NO 等, 这些细胞因子又反过来作用于库普弗细胞, 引起 NF- κB 再次激活,

过度产生细胞因子,同时,细胞黏附分子和细胞因子受体表达也增加;引起肝细胞进一步坏死、凋亡、炎症和肝纤维化形成。

由活化库普弗细胞产生的 $\text{TNF}-\alpha$ 在细胞坏死和炎症发生前即开始表达,它可直接诱导肝细胞和肝窦内皮细胞凋亡,可以增强细胞间黏附分子-1 的表达,并参与以中性粒细胞为主的炎细胞浸润,亦可刺激机体产生一系列的炎症细胞因子($\text{IL}-1$ 、 $\text{IL}-6$ 和 $\text{IL}-8$ 等),形成“瀑布效应”。 $\text{IL}-6$ 既能刺激肝细胞合成急性反应蛋白,又能引起肝再生反应。 $\text{IL}-8$ 对中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和 T 细胞具有趋化作用,并可促进中性粒细胞的活化。酒精性肝病时,肝细胞应答 $\text{TNF}-\alpha$ 而释放 $\text{IL}-8$,酒精性肝病患者血清 $\text{IL}-8$ 浓度与肝脏内浸润中性粒细胞的数目密切相关,循环中的 $\text{IL}-8$ 和肝组织的 $\text{IL}-8$ 水平增加,从而趋化中性粒细胞浸润,进而介导肝细胞损伤过程。研究表明, $\text{IL}-6$ 、 $\text{IL}-8$ 可通过刺激 HSC 的增殖而增加细胞外基质的合成;通过提高 α_2 -微球蛋白的表达来抑制胶原酶的活性,减少胶原的降解,增加细胞外基质的沉积; $\text{IL}-6$ 、 $\text{IL}-8$ 还通过持续的肝内炎症反应来加重肝纤维化^[7]。活化库普弗细胞还可以激活肝星状细胞,后者表达大量 Leptin;Leptin 可以使巨噬细胞受内毒素刺激后生成 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{IL}-6$ 、 $\text{IL}-12$ 等细胞因子增多,促进肝细胞变性坏死^[8]。Leptin 还可以直接、间接影响肝内间质细胞的功能,促进肝纤维化包括脂肪性纤维化的发生、发展^[9]。研究表明,Leptin 是通过 p38 与氨基末端激酶途径促使 $\text{TNF}-\alpha$ 大量分泌,且 $\text{TNF}-\alpha$ 也可以通过调节其受体促使 Leptin 的分泌,提示 Lep 可能与 $\text{TNF}-\alpha$ 共同作用而加重酒精性肝损伤^[10,11]。

本研究发现,大鼠在大量酒精作用下发生酒精性肝病时,肝组织的 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{IL}-6$ 、 $\text{IL}-8$ 及 Leptin 的含量明显增高,表明这些细胞因子参与酒精性肝病的形成和发展;应用三七进行干预后,肝组织 $\text{TNF}-\alpha$ 、Leptin、 $\text{IL}-6$ 和 $\text{IL}-8$ 的含量明显下降。我们前期研究发现,白酒-玉米油-吡唑混合液造模 14 周后,大鼠肝组织出现中-重度脂肪肝和不同程度炎症,部分见轻度肝纤维化表现,肝组织 $\text{NF}-\kappa\text{B}$ 表达上调,且与肝组织炎症程度、血清 $\text{TNF}-\alpha$ 呈明显正相关,三七能抑制大鼠肝组织 $\text{NF}-\kappa\text{B}$ 表达,改善肝组织脂肪变和炎症程度^[12-14]。结合本实验推测:长期大量酒精的摄入导致肠道毛细血管扩张,形成内毒素血症,

活化库普弗细胞,诱导前炎症因子 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{NF}-\kappa\text{B}$ 等的产生,进一步导致 $\text{IL}-6$ 和 $\text{IL}-8$ 等细胞因子大量分泌;随后的脂质过氧化反应又促使 Leptin 在肝细胞进一步表达,导致酒精性肝病炎症、纤维化的形成;三七及硫普罗宁则通过抑制肝组织 $\text{NF}-\kappa\text{B}$ 的活化,降低肝组织 $\text{TNF}-\alpha$ 、Leptin、 $\text{IL}-6$ 及 $\text{IL}-8$ 等细胞因子的产生,从而减轻乙醇造成的肝脏炎症和纤维化的形成和发展;这可能是三七抗 ALD 发生发展的重要机制之一。

参考文献

- 1 张洁,刘庆生,王小奇,等.三七对酒精性肝病防治作用的研究.医学研究杂志,2008,37(3):35-38
- 2 陈芝芸,严茂祥,蔡丹莉,等.三七抗酒精性脂肪肝的实验研究.中华医药杂志,2006,21(10):614-616
- 3 McClain C J, Song Z, Bave S S, *et al.* Recent advances in alcoholic liver disease IV. Dysregulated cytokine metabolism in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004,287(3):497-502
- 4 Mandrekar P. Signaling mechanisms in alcoholic liver injury: Role of transcription factors, kinases and heat shock proteins. *World J Gastroenterol*, 2007,13(37):4979-4985
- 5 Neuman MG. Cytokines - central factors in alcoholic liver disease. *Alcohol Res Health*, 2003,27(4):307
- 6 Gobejishvili L, Barve S, Joshi - Barve S, *et al.* Chronic ethanol - mediated decrease in cAMP primes macrophages to enhanced LPS - inducible $\text{NF}-\kappa\text{B}$ activity and TNF expression: relevance to alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*,2006,291(4):G681 - G688
- 7 孔丽,李兵甄,甄真,等.病毒性肝炎患者血清 $\text{IL}-6$ 、 $\text{IL}-8$ 水平及临床意义.临床肝胆病杂志,2002,18(3):170-172
- 8 Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, *et al.* Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology*, 2001,34(2):288-297
- 9 Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, *et al.* Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J*, 1999(10):13:1231-1238
- 10 Shen J, Sakaida I, Uchida K, *et al.* Leptin enhances $\text{TNF}-\alpha$ production via p38 and JNKMAPK in LPS-stimulated Kupffer cells. *Life Sci*, 2005,77(13):1502-1515
- 11 Finck BN, Johnson RW. Tumor necrosis factor induces leptin production through the p55 TNF receptor. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000,278(2):537-543
- 12 刘庆生,王小奇,蔡丹莉,等.三七对酒精性肝病大鼠肝组织 $\text{NF}-\kappa\text{B}$ /I κB 表达的影响.中国药理学杂志,2007,42(18):1372-1376
- 14 赵振中,陈芝芸,何蓓晖.瘦素及其受体在大鼠酒精性肝病形成过程中的动态变化及意义.中西医结合肝病杂志,2009,19(3):161-164

(收稿:2010-08-13)