

# 一贯煎及骨髓间充质干细胞对肝纤维化大鼠阴虚证表征影响的实验研究

乔天阳 刘文兰 王文娟 王程 孟月

**【摘要】 目的** 观察骨髓间充质干细胞在一贯煎的作用下对肝纤维化大鼠阴虚证的影响并探讨该过程的发生机制。**方法** 将 54 只 SD 大鼠随机分为 6 组,即正常对照组、模型组、阳性对照组、骨髓干细胞组、骨髓干细胞一贯煎组及一贯煎治疗组。除正常对照组外,其他 5 组建立 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化模型。造模停止第三天,骨髓干细胞组及骨髓干细胞一贯煎组经尾静脉注射骨髓间充质干细胞。一贯煎组及骨髓干细胞一贯煎组给予一贯煎浓缩液灌胃,模型组、正常组灌服生理盐水,阳性组给予秋水仙碱灌胃,每天一次,一共给药 4 周,给药期间每周测量大鼠体质量、体温、血流速度、饮水量。4 周后取材,将 pH 试纸置于大鼠舌面 20 秒,测量前后重量变化,判定大鼠舌面干湿度;通过 HE 染色和马松染色评价肝脏炎症活动度和纤维化程度;通过苦味酸-天狼星红染色评判造模大鼠肝组织细胞胶原面积比;通过荧光示踪评判骨髓间充质干细胞在肝纤维化大鼠肝组织中的表达。**结果** (1)一贯煎加骨髓间充质干细胞组的炎症活动度和纤维化程度明显低于模型组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );(2)肝纤维化大鼠有阴虚证的表征,一贯煎和骨髓间充质干细胞可以改善大鼠阴虚证的症状。(3)中药组、骨髓间充质干细胞组、中药加骨髓间充质干细胞组和阳性组体重增长均明显高于模型组( $P<0.05$ );一贯煎加骨髓间充质干细胞组大鼠舌重较骨髓间充质干细胞组较模型组增高( $P<0.05$ );模型组舌面温度为较正常组明显增高( $P<0.05$ );一贯煎加骨髓间充质干细胞组与模型组相比较明显降低( $P<0.05$ );一贯煎加骨髓间充质干细胞组舌血流速度与模型组相比较降低更为明显( $P<0.05$ );一贯煎加骨髓间充质干细胞组大鼠饮水量与模型组相比较明显降低( $P<0.05$ )。(4)一贯煎组、阳性对照组、骨髓间充质干细胞组和一贯煎加骨髓间充质干细胞组的胶原面积比明显低于模型组( $P<0.05$ )。(5)一贯煎加骨髓间充质干细胞组的骨髓间充质干细胞荧光面积与骨髓间充质干细胞组相比较明显增高( $P<0.05$ )。**结论** 骨髓间充质干细胞可以改善肝纤维化大鼠的阴虚证表征,而一贯煎通过促进骨髓间充质干细胞向肝组织转移而增强骨髓间充质干细胞对肝纤维化大鼠阴虚证表征的改善作用。

**【关键词】** 阴虚证; 肝纤维化; 一贯煎; 骨髓间充质干细胞  
**【中图分类号】** R259 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.04.009

**Experimental study on the effect of Yiguanjian and bone marrow mesenchymal stem cells on the expression of yin deficiency syndrome in rats with hepatic fibrosis** QIAO Tianyang, LIU Wenlan, WANG Wenjuan, et al. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Corresponding author: LIU Wenlan, E-mail: wenlanliu1900@126.com

**【Abstract】 Objective** To observe the effect of Yiguanjian on bone marrow mesenchymal stem cells on the yin deficiency syndrome in rats with liver fibrosis, and to explore the mechanism of the

基金项目: 国家自然科学基金(81573879);首都中医药研究专项重点课题(15ZY03)  
作者单位: 100069 北京,首都医科大学中医药学院[乔天阳(硕士研究生)、刘文兰、王文娟、孟月(硕士研究生)、王程(硕士研究生)]  
作者简介: 乔天阳(1991-),女,2014 级在读硕士研究生。研究方向:肝纤维化中医证候病理的研究。  
E-mail: qiao.tianyang@163.com  
通信作者: 刘文兰(1968-),女,博士,副教授,硕士生导师。研究方向:慢性肝炎中医证候病理基础的研究。  
E-mail: wenlanliu1900@126.com

process. **Methods** 54 male Sprague-Dawley rats were divided into normal group, model group, positive group, bone marrow mesenchymal stem cells group, *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells group and *Yiguanjian* group. In addition to the normal group, hepatic fibrosis model was induced by CCl<sub>4</sub>. After third day of modeling, bone marrow stem cells group and *Yiguanjian* and bone marrow stem cells group was injected with bone marrow mesenchymal stem cells. *Yiguanjian* group and *Yiguanjian* and bone marrow stem cells group was intragastric administration with *Yiguanjian*(2 mL/200 g), 1 time/d. Model group and normal group was intragastric administration with normal saline. Positive group was intragastric administration with colchicine. The weight changes before and after was measured to determine the humidity of rat tongue. The body weight, temperature, amount of blood flow velocity, water intake was measured of rats weekly. After 4 weeks, the pH test strips was put at the rat tongue for 20 seconds; HE staining staining was used to evaluate the activity of liver inflammation and the degree of fibrosis; picric acid - Sirius red staining was used to evaluate area ratio of liver tissue collagen; fluorescence tracer was used to evaluate the expression of bone marrow mesenchymal stem cells in rat liver tissue. **Results** (1) Compared with the model group, the inflammatory activity and the degree of fibrosis was significantly lower than the *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells group. The difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). (2) The liver fibrosis rats had characterization of *yin* deficiency syndrome, *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells can improve the symptoms of *yin* deficiency syndrome. (3) Weight gain of *Yiguanjian* group, bone marrow mesenchymal stem cells group, *Yiguanjian* combined with bone marrow mesenchymal stem cells group and positive group was significantly higher than that of model group ( $P<0.05$ ); *Yiguanjian* combined with bone marrow mesenchymal stem cells in rats with tongue bone marrow mesenchymal stem cells group was higher than that of model group ( $P<0.05$ ); the temperature on the surface of tongue of model group was significantly higher than the normal group ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) were significantly lower ( $P<0.05$ ); blood flow velocity of tongue of *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells group was decreased significantly compared with the model group( $P<0.05$ ); water intake of *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells group was significantly decreased compared with the model group ( $P<0.05$ ). (4) Area ratio of liver tissue collagen of *Yiguanjian* group, positive control group, the bone marrow mesenchymal stem cells group and *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells groups was significantly lower than that of the model group ( $P<0.05$ ). (5) Fluorescent area of mesenchymal stem cells of *Yiguanjian* and bone marrow mesenchymal stem cells group was increased significantly compared with bone marrow mesenchymal stem cells group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Bone marrow mesenchymal stem cells can improve the characteristic of *yin* deficiency syndrome of liver fibrosis in rats, and *Yiguanjian* can promote bone marrow mesenchymal stem cells transfer into liver to improve the syndrome of *yin* deficiency in rats with hepatic fibrosis

**【Key words】** *Yin* deficiency syndrome; Liver fibrosis; *Yiguanjian*; Bone marrow mesenchymal stem cells

肝纤维化是指肝组织内细胞外基质成分过度增生与异常沉积导致肝脏结构和功能异常的病理变化<sup>[1]</sup>,肝纤维化的逆转是肝病治疗的重要环节<sup>[2]</sup>。一贯煎记载于《续名医类案》,具有滋阴疏肝的功效,是临床治疗肝肾阴虚的代表方剂。本课题组前期研究表明<sup>[3-4]</sup>,肝纤维化大鼠具有阴虚证的特点,一贯煎不仅可以改善肝组织病理,还可以改善阴虚证的症状,且对骨髓间充质干细胞逆转肝纤维化有促进作用。本实验制备 CCl<sub>4</sub>致肝纤维化大鼠模型,观察该模型大鼠阴虚证表征,探讨一贯煎

对促进骨髓间充质干细胞逆转肝纤维化的作用原理。

1 材料与方法

1.1 实验动物

Sprague-Dawley 大鼠,雄性,体质量 180 ~ 220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2006-0008,共 54 只,饲养在首都医科大学实验动物科学部 SPF 级动物室,自由饮食,室温 18 ~ 23℃,湿度为(20.0±3.0)%。

## 1.2 药物及试剂

一贯煎浓缩液:根据一贯煎原方药物剂量和比例,选取北京同仁堂药店的标准中药北沙参 9 g、麦冬 9 g、当归 9 g、生地黄 20 g、枸杞子 12 g、川楝子 4.5 g,将饮片置煎煮容器内,加相当于药材量 5~7 倍的冷水浸泡 1~2 小时,煮沸 30 分钟,过滤。药渣加 3~5 倍水量继续煎煮,煮沸 20 分钟,过滤。合并 2 次滤液。冷却装入灭菌药瓶,置 4℃ 冰箱保存备用。

$\text{CCl}_4$  分析纯专用试剂(纯度  $\geq 99.5\%$ ,北京现代东方精细化学品有限公司,批号:140611);迈萨维诺特级初榨橄榄油(希腊艾美可油脂有限公司,批号:14015),配成 50% 浓度;秋水仙碱(西双版纳版纳药业有限责任公司生产,批号:140521),大鼠剂量依据成人用量的 30 倍(即 0.25 mg/kg),使用时以蒸馏水调制药液成 0.025 g/L。

## 1.3 仪器

正置荧光显微镜(Leica DM4000B,德国),组织包埋机(LEICA EG1140H,德国),冰冻切片机(LEICA CM3050s,德国),石蜡切片机(LEICARM2135,德国),图像分析系统(Leica Qwin,德国),低温离心机(heraeus,Biofuge 15r)。

## 1.4 方法

1.4.1 分组与造模 将 54 只大鼠随机分为 6 组,即正常对照组、模型组、阳性对照组、骨髓干细胞组、骨髓干细胞一贯煎组及一贯煎治疗组,每组 9 只。适应性饲养 1 周后,模型组、阳性对照组、骨髓干细胞组、骨髓干细胞一贯煎组及一贯煎治疗组大鼠予腹腔注射 50%  $\text{CCl}_4$  橄榄油溶液(0.2 mL/100 g)造模,每周 2 次,共 2 周;于第三周开始腹腔注射 0.1 mL/100 g 的  $\text{CCl}_4$  橄榄油溶液,每周 2 次,共 2 周;于第五周开始腹腔注射 0.05 mL/100 g 的  $\text{CCl}_4$  橄榄油溶液,每周 2 次,共 2 周;同时,正常对照组腹腔注射等量橄榄油。

1.4.2 给药方法 在  $\text{CCl}_4$  停止注射后 3 天,骨髓干细胞组、骨髓干细胞一贯煎组每只动物经尾静脉注射 1 mol 浓度为  $5 \times 10^6$  mmol/L 的骨髓间充质干细胞;一贯煎治疗组、骨髓干细胞一贯煎组给予一贯煎浓缩液 2 mL/200 g 灌胃,1 次/天,连续 4 周;阳性对照组给予秋水仙碱灌胃(0.25 mg/kg),1 次/天,连续给药 4 周。正常对照组和模型组按相同方法灌服等量生理盐水。

1.4.3 骨髓间充质干细胞的培养 另取 SD 大鼠 2 只,雄性,120 g 左右,脱颈处死,酒精浸泡消毒,分离

胫骨,于超净台使用完全培养基冲洗骨髓腔,过滤,将元代骨髓干细胞置于 37℃ 培养箱中,细胞浓度达到 80% 时传代,将第四代骨髓间充质干细胞标记荧光。置于培养箱过夜后,经胰酶消化至细胞终浓度,浓度为  $5 \times 10^6$  mmol/L,经尾静脉注射。

1.4.4 取材方法 收集血清、肝脏标本待用;大鼠以 10% 水合氯醛 0.35 mL/100 g 的剂量腹腔注射麻醉后,仰卧位固定,打开腹腔,观察肝脏的色、质、形态和体积,拍照,测量肝、舌的微循环。经腹主动脉采血,3500 rpm 离心 15 分钟,取上清 1 mL 分装,−80℃ 保存备用。分离肝脏,称重,取肝左叶同一部位,放入 4% 多聚甲醛溶液中固定 6~8 小时,然后入 20% 蔗糖溶液中,进行冰冻切片,于正置位显微镜(Lecia DM4000B)430 nm 波长下进行观察。石蜡包埋,HE 染色,切片。取肝剩余组织分装置于冻存管,迅速投入液氮中保存,随后放于−80℃ 低温冰箱冷藏。

1.4.5 肝脏炎症活动度和纤维化程度 于取材后将肝组织石蜡包埋,切片进行 HE 染色,依据 2000 年第十次全国病毒性肝炎及肝病学术会议制定的慢性肝炎分级标准,对样本的肝炎活动度和纤维化程度进行病理分级。

1.4.6 大鼠阴虚证表征指标检测 每周测量一次大鼠体重,记录大鼠体重增加趋势;于取材当天测量大鼠舌面干湿度、体温、血流速度、饮水量。

1.4.7 胶原面积比较 将石蜡包埋的组织切片进行苦味酸—天狼星红染色,通过胶原面积评比,判定各组样本的纤维化程度。

1.4.8 骨髓间充质干细胞在肝组织中的表达 肝组织于冷箱切片机冰冻切片,于荧光显微镜下观察骨髓间充质干细胞。使用 Leica DM4000B 正置荧光显微镜,经 Leica QWin 图像分析系统处理,测量 20 倍镜下骨髓间充质干细胞分布。

## 1.5 统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行统计处理,各组计量数据均以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析法考查显著性,组间两两比较采用 LSD 检验,以  $P < 0.05$  作为显著性差异。

## 2 结果

2.1 各组大鼠肝脏病理组织炎症分级、纤维分期结果比较

各组数据采用单因素方差分析,并做组间两两

比较。模型组肝组织与正常组对照比较,炎症活动度、纤维化程度差异有统计学意义( $P<0.05$ ),提示肝纤维化大鼠模型造模成功。一贯煎组、骨髓干细胞组与模型组相比较纤维化程度有所降低( $P>0.05$ )。一贯煎加骨髓干细胞组与模型组相比较肝纤维化程度明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。提示一贯煎及骨髓干细胞均能改善肝纤维化大鼠肝组织的炎症程度和纤维化程度,而二者相互配合改善效果最为明显。详见表 1、图 1。

表 1 各组大鼠肝组织炎症活动度、纤维化程度变化趋势比较( $\bar{x}\pm s$ )			
组别	<i>n</i>	炎症活动度	纤维化程度
模型组	9	3.00±0.00 <sup>a</sup>	2.33±0.00 <sup>a</sup>
正常组	9	0.00±0.00	0.00±0.00
骨髓间充质干细胞组	9	1.00±0.00	2.00±0.00
一贯煎组	9	1.33±0.57	1.67±0.00
一贯煎加骨髓间充质干细胞组	9	1.00±0.00 <sup>b</sup>	1.00±0.00 <sup>b</sup>
阳性对照组	9	2.00±0.00	1.33±0.00

注:与正常组相比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组相比较<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

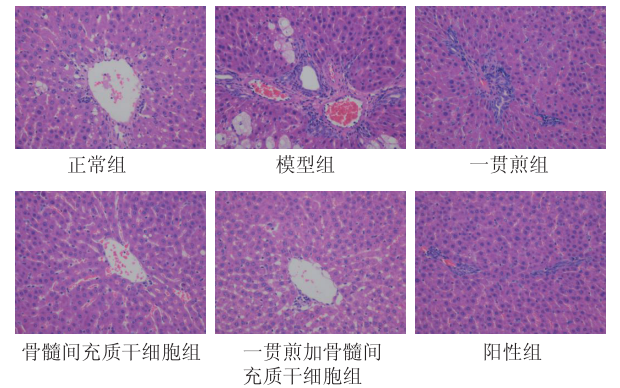


图 1 各组大鼠肝组织 HE 染色(×200)

2.2 体质量变化趋势

各组数据采用单因素方差分析,并做组间两两

比较。模型组大鼠体持量增长较正常组明显降低,有统计学差异( $P<0.05$ )。四个给药组体质量增长均明显高于模型组;第十周,模型组体质量明显低于四个给药组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。提示一贯煎及骨髓干细胞可增加肝纤维化大鼠的体重。详见表 2。

2.3 大鼠阴虚证表征指标比较

各组数据采用单因素方差分析,并做组间两两比较。

舌面干湿度:模型组较正常组明显降低( $P<0.05$ ),提示大鼠出现口干症状。与模型组相比较,四个给药组舌面干湿度均增高( $P<0.05$ ),其中一贯煎加骨髓干细胞组增加最为明显,提示一贯煎及骨髓间充质干细胞均可缓解模型大鼠口干症状,而一贯煎加骨髓间充质干细胞效果更明显。详见表 3。

舌血流速度:模型组舌血流速度较正常组明显增高( $P<0.05$ ),提示肝纤维化大鼠模型血流速度偏快。阳性对照组、一贯煎组和一贯煎加骨髓间充质干细胞组较模型组降低( $P<0.05$ ),其中一贯煎加骨髓间充质干细胞舌血流速度降低较为明显,提示一贯煎及骨髓间充质干细胞均可以降低血流速度,而一贯煎加骨髓间充质干细胞对模型大鼠的血流速度改善效果更好。详见表 3。

舌面温度:模型组与正常组相比较明显增高( $P<0.05$ ),提示肝纤维化大鼠模型体温偏高。一贯煎组和一贯煎加骨髓间充质干细胞组舌面温度与模型组相比较明显降低( $P<0.05$ ),骨髓间充质干细胞组与模型组相比较有所降低( $P>0.05$ ),提示骨髓间充质干细胞均对模型大鼠阴虚内热症状有所改善,而一贯煎加骨髓间充质干细胞对模型大鼠阴虚内热的症状缓解最为明显。详见表 3。

表 2 各组大鼠体重增长比较(g, $\bar{x}\pm s$ , $n=9$ )						
体重	1 周	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周
正常组	224.67±5.74	280.78±7.51	372.33±21.91	426.25±17.02	475.50±22.37	504.30±27.78
模型组	231.33±6.26	268.44±14.71	341.91±19.26	393.47±25.92	404.34±31.05	412.68±25.44 <sup>a</sup>
一贯煎组	221.67±6.67	255.67±16.69	333.22±16.14	385.13±15.51	432.78±42.93	472.47±35.14 <sup>b</sup>
骨髓间充质干细胞组	214.89±7.27	246.56±7.28	337.00±17.54	381.86±25.40	435.50±55.27	477.11±37.46 <sup>b</sup>
一贯煎加骨髓间充质干细胞组	225.11±10.29	255.22±12.85	338.56±18.84	397.50±15.21	411.00±43.70	463.44±29.53 <sup>b</sup>
阳性对照组	224.33±6.32	253.56±12.08	335.25±14.67	388.58±36.19	436.40±18.72	468.27±17.34 <sup>b</sup>

注:与正常组相比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组相比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。



表 3 各组大鼠舌面干湿度、舌面温度、舌血流速度、饮水量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	舌面干湿度(g)	舌面温度(℃)	舌血流速度(AU)	饮水量(mL)
正常组	9	0.00959±0.00501	30.50±0.56	52.20±24.01	47.60±0.00
模型组	9	0.00124±0.00041 <sup>a</sup>	35.25±0.37 <sup>a</sup>	105.30±51.13 <sup>a</sup>	53.00±2.87
阳性对照组	9	0.01211±0.00467 <sup>b</sup>	32.50±1.13	31.80±51.13 <sup>b</sup>	57.00±0.00
一贯煎组	9	0.00747±0.00579 <sup>b</sup>	30.47±1.87 <sup>b</sup>	54.73±44.60 <sup>b</sup>	47.33±2.87
一贯煎加骨髓间充质干细胞组	9	0.01283±0.00085 <sup>b</sup>	30.17±1.30 <sup>b</sup>	27.80±8.71 <sup>b</sup>	38.00±0.00 <sup>a</sup>
骨髓间充质干细胞组	9	0.00773±0.00731 <sup>b</sup>	32.53±1.04	89.27±21.65	65.30±0.00

注：与正常组相比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与模型组相比较<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

饮水量：模型组大鼠饮水量与正常组相比较无统计学差异( $P<0.05$ )，结合大鼠舌面干湿度说明模型组大鼠虽口干但饮水量并无增加，出现口干不欲饮的症状，一贯煎加骨髓间充质干细胞组大鼠饮水量与模型组大鼠相比明显降低( $P>0.05$ )，结合舌面干湿度情况观察提示一贯煎加骨髓间充质干细胞可以缓解大鼠口干症状，故饮水量减少。详见表 3。

2.4 各组大鼠胶原面积的纤维化比较

各组数据采用单因素方差分析，并做组间两两比较。与正常组相比，模型组胶原面积比明显升高，差异有统计学意义( $P<0.05$ )，说明肝纤维化大鼠模型建立成功。四个给药组的胶原面积比明显低于模型组( $P<0.05$ )，说明一贯煎、骨髓干细胞和一贯煎加骨髓干细胞均对逆转肝纤维化有一定的促进作用。见图 2、表 4。

表 4 各组大鼠肝组织天狼星红染色胶原面积比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	天狼星红染色胶原面积比
正常组	9	3.367±0.569
模型组	9	12.325±5.908 <sup>a</sup>
一贯煎组	9	7.450±1.756 <sup>b</sup>
阳性对照组	9	6.733±1.457 <sup>b</sup>
骨髓间充质干细胞组	9	5.167±0.643 <sup>b</sup>
一贯煎加骨髓间充质干细胞组	9	6.233±1.963 <sup>b</sup>

注：与正常组相比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与模型组相比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

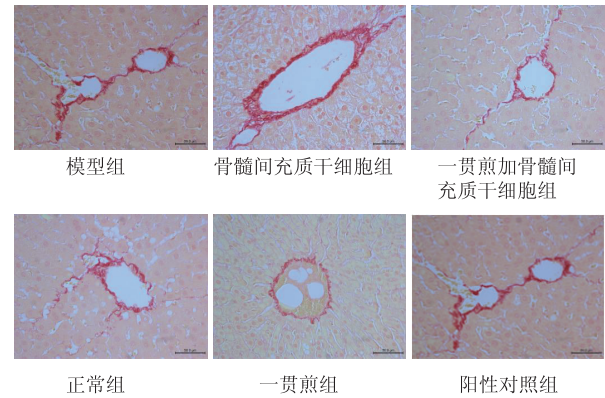


图 2 各组大鼠肝组织天狼星红染色胶原面积比较( $\times 400$ )

2.5 骨髓间充质干细胞在肝组织中表达的比较

各组数据采用单因素方差分析，并做组间两两比较。中药加骨髓干细胞组荧光面积明显大于骨髓干细胞组，差异有统计学意义( $P<0.05$ )。详见图 3、表 5。

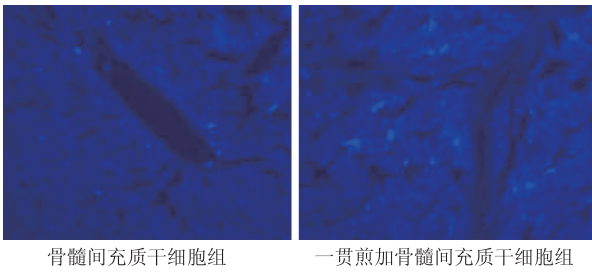


图 3 骨髓间充质干细胞组和一贯煎加骨髓间充质干细胞组大鼠肝组织中骨髓间充质干细胞荧光示踪

表 5 骨髓间充质干细胞在大鼠肝组织中的分布面积比较( $\bar{x}\pm s$ )

分组	分布面积(平方微米)
骨髓间充质干细胞组	634.22±215.78
一贯煎加骨髓间充质干细胞组	1138.18±591.36 <sup>a</sup>

注：与骨髓间充质干细胞组相比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

3 讨论

“肝纤维化”一词于中医学中并无叙述，但可以据其临床表现归属于中医“痞积”“臌胀”“胁痛”“肝积”等范畴之内。病因病机一般认为是肝肾阴虚，湿热之邪入侵，而致血行不利，瘀阻脉络，从而造成肝脏出现纤维化的表现，属于正虚邪盛，而“湿”“热”“瘀”“痰”毒等诸邪结于肝，最终形成肝硬化、甚至肝癌。

大量实验研究证实，动物模型证候表征存在较为成熟的评价方法。对于大鼠大量的体征和症状变化的观察与研究，包括了大鼠活动减少、食欲不振、消瘦、畏寒喜暖、倦怠、精神萎靡、体温变化、心率变化、便溏等。这些表征在一定程度上反应了动物的证候类型，成为证候模型评价的重要指标<sup>[5-8]</sup>。

前期研究表明,CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化大鼠模型具有体重减轻、口干尿黄等阴虚证的典型症状<sup>[9]</sup>。而著名方剂“一贯煎”是由清代名医魏玉横所创,记于《续名医类案》,用于治疗肝肾阴虚所致的口干咽燥,头晕目眩,胁肋隐痛,遇劳加重,腰膝酸软,舌红少津,脉弦细数等症,是滋阴疏肝的著名方剂。一贯煎在保护肝脏细胞、减轻肝脏损伤、调节肝组织胶原代谢等方面均有显著作用<sup>[10]</sup>,并且可以改善阴虚证的症状。在肝损伤时,骨髓间充质干细胞能够向肝脏受损部位迁移并对肝损伤有修复的作用<sup>[11]</sup>。实验研究证明,来源于骨髓的间充质干细胞具有向肝系细胞分化的潜能,并可降低肝脏纤维化程度,逆转病程<sup>[12]</sup>。进一步研究表明,骨髓间充质干细胞所分泌基质金属蛋白酶 MMP-9 对胶原有降解作用,从而可以减少肝纤维化过程中胶原的沉积<sup>[13]</sup>。亦有实验表明,一贯煎能够促进骨髓间充质干细胞向肝组织转移,从而改善肝功能、减轻炎症、逆转肝纤维化<sup>[14-15]</sup>。

本实验研究制备肝纤维化大鼠模型,观察一贯煎在骨髓间充质干细胞向肝组织转移的过程中对肝纤维化大鼠阴虚证表征的影响。研究结果提示,骨髓间充质干细胞确有减轻肝组织炎症程度和纤维化程度、改善阴虚证相关表征作用,其对模型大鼠体重(消瘦)、舌面干湿度(口干)、舌血流速度(脉数)、舌面温度(身热)及饮水(津液损伤)各方面均有所改善,而一贯煎对骨髓间充质干细胞改善模型大鼠阴虚证表征的过程有明显的促进作用,并通过天狼星红染色及荧光示踪证实一贯煎促进骨髓间充质干细胞向肝组织转移,进一步提示一贯煎有促进骨髓间充质干细胞改善肝纤维化大鼠阴虚证表征的作用。

综上所述,本研究结果提示:骨髓间充质干细胞在改善肝组织的病理,缓解肝纤维化大鼠阴虚证症状方面确有作用,而一贯煎在此过程中起到了促进作用。该研究为进一步从细胞及分子层面探讨一贯煎是否促进骨髓间充质干细胞逆转肝纤维化提供了新的理论依据。

参 考 文 献

[1] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 16(11):260-264.

[2] 岳煜, 薛博瑜. 肝纤维化中医药研究进展[J]. 中医学报, 2010, 25(6):1243-1245.

[3] 刘文兰, 油红捷, 赵青舟, 等. 肝纤维化大鼠阴虚证表征的观察及一贯煎的干预作用[J]. 中国医药导报, 2015, (7): 7-10.

[4] 刘文兰, 油红捷, 车念聪, 等. 一贯煎促进骨髓间充质干细胞逆转肝纤维化的实验研究[J]. 环球中医药, 2014, (6): 401-405.

[5] 林志健, 张冰, 刘小青, 等. 中医证候动物模型评价研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, (8):2217-2221.

[6] 李晓红, 杨力强. 中医证候动物模型研究述评[J]. 广西中医药大学学报, 2012, 15(1):78-80.

[7] 魏盛, 孙鹏, 张惠云. 证候动物模型质量考核的思路与方法[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(10):2607-2610.

[8] 张建军, 李艳霞, 王景霞, 等. 辐照结合束缚应激致血虚肝郁大鼠证候模型的建立[J]. 中华中医药杂志, 2014, (7): 2176-2179.

[9] 林志健, 张冰, 刘小青, 等. 中医证候动物模型评价研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, (8):2217-2221.

[10] 王磊, 李宗帅, 张海蓉. 骨髓间充质干细胞在肝硬化治疗中的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2015, (28): 4522-4528.

[11] Kumar M, Sarin S K. Is cirrhosis of the liver reversible? [J]. The Indian Journal of Pediatrics, 2007, 74(4):393-399.

[12] 闫晓风, 叶目亭杰, 刘会洋, 等. 骨髓间充质干细胞向肌成纤维细胞转化及一贯煎的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22):123-126.

[13] Higashiyama R, Inagaki Y, Hong Y Y, et al. Bone marrow-derived cells express matrix metalloproteinases and contribute to regression of liver fibrosis in mice. [J]. Hepatology, 2007, 45(1):213-222.

[14] 王晓柠, 陶庆, 冯琴, 等. 一贯煎对 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化大鼠肝组织胶原代谢的影响[J]. Journal of Integrative Medicine, 2011, 9(6):651-657.

[15] 王昆, 王凤洲, 褚春薇, 等. 一贯煎加味抗肝纤维化的实验性研究[J]. 贵阳中医学院学报, 2006, 28(1):61-63.

(收稿日期: 2016-11-13)

(本文编辑: 王馨瑶)