

中医药治疗肝内胆汁淤积的机制研究进展

方晶 薛博瑜

【摘要】 肝内胆汁淤积是临床常见病、多发病,其形成机制十分复杂,主要包括肝胆细胞膜相关转运蛋白表达及功能异常、炎症损伤、氧化应激、肝细胞结构异常等多个方面。其中,肝胆细胞膜相关转运蛋白表达及功能异常是主要发病机制,其他为次要发病机制。中医药可以通过多靶点、多途径作用,针对主要发病机制的同时,兼顾次要发病机制,相互协同,从而在肝内胆汁淤积治疗方面取得显著疗效。本文从中医药治疗肝内胆汁淤积的相关机制方面进行综述,并对目前中医药治疗肝内胆汁淤积的机制研究进行展望。

【关键词】 中医药; 肝内胆汁淤积; 机制; 综述

【中图分类号】 R256.4 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.03.021

Progress on the mechanisms of treating intrahepatic cholestasis with TCM therapy FANG Jing, XUE Bo-yu. The first Clinical Medical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Corresponding author: XUE Bo-yu, E-mail: xueboyu9502@sina.com

【Abstract】 Intrahepatic cholestasis is a common disease. The formation mechanisms of this disease is complex. It includes abnormal expression and function of transport protein relevant of hepatobiliary cell membrane, damage of inflammation, oxidative stress, abnormal construction of hepatocyte. In these mechanisms, the first one is major pathogenesis, and others are secondary pathogenesis. Traditional Chinese medicine gained a significant effect in the treatment of intrahepatic cholestasis through multi-target, multi-channel effects, which aimed at major pathogenesis and secondary pathogenesis. This paper reviewed treatment mechanisms of traditional Chinese medicine on intrahepatic cholestasis in order to give a commentary on prevention research and made prospect for the future.

【Key words】 Traditional Chinese medicine; Intrahepatic cholestasis; Mechanism; Review

胆汁淤积是由于各种原因导致胆汁生成、分泌和胆汁流减少所产生的一种临床综合征。临床上,可将胆汁淤积按病因分为以下三种^[1]:肝内胆汁淤积(不伴有机性胆流梗阻)、肝内胆汁淤积(伴胆汁流机械性梗阻)、肝外胆管梗阻性胆汁淤积。肝内胆汁淤积是指肝细胞和(或)毛细胆管胆汁分泌障碍,导致胆汁的生成障碍以及流动停滞或受抑,

使正常分泌到胆汁中的物质积于肝内和血中,胆汁流入十二指肠减少或消失。其临床表现为黄疸和皮肤瘙痒,或可出现黄色瘤、吸收不良和脂溶性维生素缺乏的症状,晚期可出现肝硬化,门脉高压和肝功能衰竭^[2]。现代医学尚缺乏特效的治疗方法,临床疗效不甚满意。肝内胆汁淤积属于中医“黄疸”的范畴,以身黄、目黄、小便黄为主症,尤以目睛黄染为特征的疾患。大多医家认为湿、热、瘀、毒为本病的病理因素,其病机演变多由湿热熏蒸,蕴结肝胆,瘀阻血络,脉道不通而致胆汁不循常道,或因热毒入侵,耗伤营血,熏灼肝胆,胆液渗溢于肌肤,发为黄疸。近年来,中医药在治疗肝内胆汁淤积方面疗效显著,其内在机制的研究不断深入、完善,现将相关机制综述如下。

基金项目:南京中医药大学中医优势学科开放课题(YS2012ZYX103)

作者单位:210029 南京中医药大学第一临床医学院[方晶(硕士研究生)、薛博瑜]

作者简介:方晶(1988-),2011级在读硕士研究生。研究方向:中医内科肝病。E-mail:fangjingzsj@126.com

通讯作者:薛博瑜(1957-),博士,教授。研究方向:中医内科肝病。E-mail:xueboyu9502@sina.com

1 调节肝胆细胞膜相关转运蛋白的表达

肝细胞是一种具有极性和分泌功能的上皮细胞,分基底面(血窦面)和顶面(胆小管面),肝细胞基底面质膜上有 2 个主要的胆汁成分摄入系统^[3],即钠离子依赖型和钠离子非依赖型两种形式,分别通过钠离子—牛磺胆酸协同转运多肽(sodium-taurrocholate cotransporting polypeptide, NTCP)和有机阴离子转运多肽(organic anion transporting protein, OATP),在 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶等介导下,将血液内的胆汁成分输入到肝细胞中,其中 NTCP 主要介导结合胆汁酸的摄取^[4],OATP 主要介导非结合胆汁酸及有机阴离子的摄取^[5],在肝细胞内进行代谢后,胆汁酸可由肝细胞胆小管面 ATP 依赖型的胆盐输出泵(canalicular bile salt-export pump, BSEP)排入毛细胆管^[6],也可与多药耐药糖蛋白 3(multidrug resistance-3P-Glycoprotein, MDR3)结合,通过易位从细胞溶质转移到毛细胆管^[7],而非胆汁酸的有机阴离子,包括内生代谢产物、结合胆红素及某些外源性的化合物等,通过胆小管面的多药耐药相关蛋白 2(multidrug resistance-associated protein, MRP2)排入胆汁中^[4-8],最终将胆汁成分排入小肠,其中部分胆汁酸被回肠末端的小肠细胞顶侧膜的钠依赖性胆盐转运体(apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT)吸收,并进入门静脉循环,后又被肝细胞基底侧膜上的 NTCP 重新摄取回肝细胞^[9]。因此,当肝细胞膜相关转运蛋白发生变化,可使肝细胞摄取与转运功能失常导致胆汁淤积,胆汁中的胆汁酸可损害肝细胞膜及线粒体等^[10],引起肝细胞损伤及肝功能异常。

兰绍阳等^[11]分析茵陈蒿汤治疗后肝内胆汁淤积湿热证大鼠肝组织中 NTCP 表达变化的规律,发现茵陈蒿汤能上调 NTCP 的表达来促进胆盐转运,促进胆汁排泄,减轻肝细胞的损害。罗琳等^[12]发现高剂量芍药苷可使胆汁淤积小鼠肝组织中还原型辅酶 II 氧化酶 4 表达明显减少,NTCP 表达显著上升,提示芍药苷通过抗氧化减轻肝细胞损伤和增强肝细胞对血液中胆盐的摄取,从而缓解胆汁淤积。周方等^[13-14]认为大黄素可调节肝脏 NTCP、MRP3 及与胆汁酸代谢相关的 P-糖蛋白的表达,以减少胆汁酸在肝脏中的蓄积,对胆汁淤积型肝炎发挥保肝、退黄作用。

位于肝细胞窦膜的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶及 $\text{Mg}^{2+} -$

ATP 酶,可作为胆盐及胆汁从血中进入肝细胞动力,詹雪晶等^[15]观察到小叶黑柴胡中主要成分小叶黑柴茎叶胡总黄酮,可明显提高肝内胆汁淤积大鼠肝组织 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性。有学者认为雌激素可导致肝细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶及 $\text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性下降^[16-18],程良斌等^[19]发现,黛矾散及其各组分有促进 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性恢复正常,缓解雌激素性肝内胆汁淤积。

研究表明,胆汁淤积时肝细胞膜转运蛋白的调控,由肝细胞膜转运蛋白 mRNA 转录调控所决定^[20],此过程中涉及到大量的肝细胞细胞核受体和其他配体激活的转录因子的参与,如:法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)、孕烷 X 受体(preg-nane X receptor, PXR)^[21]、组成性雄烷受体(constitutive androstane receptor, CAR)^[22]、肝细胞核因子 1 α (hepatocyte nuclear factor-1 α , HNF-1 α)等。唐志鹏等^[23]发现茵陈蒿可激活 CAR 促进胆红素的清除。有报道称^[24-25]旱莲草、青蒿素可激活 PXR 受体的活性。

2 促进胆红素代谢

胆红素是胆汁中重要成分,胆汁淤积时常会出现胆红素的升高。胆红素主要来源于衰老的红细胞,红细胞中的血红蛋白降解珠蛋白、血红素,血红素转变为胆绿素,胆绿素经胆绿素还原酶作用形成非结合胆红素,其被肝细胞摄取,在滑面内质网处,经尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶作用,转变为结合胆红素,通过胆小管面 MRP2 将结合胆红素和其他有机阴离子(胆汁酸除外)主动排出进入胆汁。当各种原因导致肝内胆汁淤积时,可引起胆红素代谢异常,从而出现血中胆红素升高,甚至出现黄疸症状。

有学者^[26]认为赤芍能显著改善乙肝黄疸患者红细胞的通透性,增加红细胞对低渗张力的抗性,减少胆红素来源,消除肝脏疾病的不良副作用,从而起到退黄保肝作用。罗琳等^[27]认为大剂量赤芍总苷退黄降酶作用机制,可能与增加胆汁分泌量,增强肝微粒体氧化酶的活力,提高尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶的活性,促进胆红素代谢等有关。赵营等^[28]应用酮洛酚作为工具药,研究肝内胆汁淤积模型大鼠肝细胞葡萄糖醛酸结合能力和葡萄糖醛酸结合物胆排泄情况,发现甘草酸、甘草次酸及苦参碱对肝内胆汁淤积有良好的保护作用。

3 抑制炎症损伤

位于肝细胞、胆管细胞和肠道细胞的膜转运体的功能相互协调,维持着胆汁形成,这些膜转运体的功能与产生胆汁的数量和成分直接相关,并且在核内转录受许多涉及膜的核受体超家族成员以及其它重要转录复合物成分的调节^[29-30]。在炎症反应时,可释放大量炎症因子,如肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1、白细胞介素 6 等,它们结合到肝、胆管细胞的受体上,通过相应的细胞内信号传导通路,在基因和蛋白水平上降低肝胆膜转运体表达^[31],进而导致胆汁淤积。

董伟等^[32]发现龙胆泻肝丸对 α -萘异硫氰酸酯(α -naphthalene isothiocyanate, ANIT)诱导的胆汁淤积(类肝胆湿热证)大鼠具有利胆保肝作用,其作用机制主要与其抑制白细胞黏附,降低胆管炎症反应,减轻胆管损伤,从而有利于胆汁排泄有关。郑婷婷等^[33]发现 ANIT 诱发的急性肝内胆汁淤积大鼠肝组织细胞核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)表达增强,且大量表现为细胞核表达,予大黄浸液高、低剂量干预后,大鼠肝组织 NF- κ B 表达及其下游炎症因子基因的转录显著降低,从而减少炎症介质的释放,减轻了肝细胞损伤,缓解肝内胆汁淤积。蔡丹莉等^[34]通过实验证明,中药复方三黄柴术方能明显抑制肝内胆汁淤积大鼠肝组织中细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)过表达,降低血清炎症因子 ICAM-1、肿瘤坏死因子 α 的水平,从而减轻肝细胞的损伤。

4 抑制氧化应激

大量研究表明,胆汁淤积时肝脏内发生氧化应激^[35]。在胆汁淤积过程中,肝细胞内产生活性氧簇(reactive oxygen species, ROS),其与细胞膜中的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,产生脂质过氧化物,如丙二醛、4-羟基壬烯酸等,从而使细胞膜结构与功能改变,导致肝细胞损伤。

黄延风等^[36]发现 ANIT 诱导幼鼠肝内胆汁淤积模型后,其丙二醛水平明显增高,总抗氧化能力明显降低,经大黄治疗后肝脏丙二醛水平降低、总抗氧化能力增强,提示大黄能降低氧自由基产物、提高抗氧化损伤能力,减轻脂质过氧化反应,起到保护肝细胞作用。周欣等^[37]通过实验也证实,大黄可以促进胆汁分泌,减少脂质过氧化物的产生。

所有细胞中都有多重抗氧化系统,如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶等,它们能有效的解毒 ROS,减轻脂质过氧化。曹璐等^[38]发现栀子柏皮汤能呈剂量依赖性的降低血清中转氨酶、胆红素水平及肝组织中丙二醛含量,并能提高肝组织中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性。

5 其他

程良斌等^[39]发现雌激素造模处理的大鼠肝细胞亚膜的微黏度明显增高,膜流动性明显降低,经口投黛矾散及其组分明矾和青黛处理后,肝细胞亚膜的微黏度明显下降,膜流动性则明显回升,表明稳定肝细胞膜的结构和功能,维持细胞的膜流动性,可能是治疗肝内胆汁淤积的一个重要机制。刘萍等^[40]认为胆汁及胆汁酸的肠肝循环与胃肠道电生理有关,并通过实验证明大黄能加快急性肝内胆汁淤积大鼠胃肠消化间期移行性复合肌电活动周期的恢复,促进胃肠道运动,加速胆汁成分的排泄,减少胆汁酸肠肝循环,从而减轻胆汁淤积的损害。

6 小结

肝内胆汁淤积发生、发展是一个较为复杂的过程,目前尚不能完全明确其发病机制。但笔者认为,肝胆细胞膜相关转运蛋白的表达、功能异常在肝内胆汁淤积中起关键作用,是本病的主要发病机制,虽然炎症反应、氧化应激、肝细胞结构异常等也参与本病的发生发展,但并不是本病特异性病理改变,在脂肪肝、肝硬化等其他疾病中亦可出现,故属于次要发病机制。因此,调节肝细胞膜相关转运蛋白的表达及功能是治疗本病的关键,但多途径、多机制干预,可提高疗效。中药的有效成分复杂,可通过多靶点、多途径发挥作用,例如赤芍、大黄等既可以调节肝细胞膜相关转运蛋白的表达及功能,还能抑制炎症损伤及氧化应激,同时也调节胆汁的肠肝循环等。针对主要发病机制,同时兼顾次要发病机制,多途径协同作用,这可能就是中医药治疗肝内胆汁淤积疗效的原因所在。

目前,对中医药治疗肝内胆汁淤积的机制研究已取得一定成绩,但也存在一些问题,如:实验动物造模方法单一,不能体现中医证的差异;中药成分复杂,明确具体有效成分较困难;实验研究思路、方法相对滞后,难以明确药物作用机制等。因此,进

一步研究应注意:(1)应用多种实验方法进行动物造模,并注意造模方法及周期与中医证的关系,进行病证结合动物模型的大胆探索;(2)借助现代科技手段,特别是分子生物学技术,从分子水平揭示中药多机制、多靶点作用,以期待明确中医辨证与各作用机制间的关系。在临床治疗方面,充分利用现代检查技术如肝功能检查、B 型超声诊断、逆行胰胆管造影、磁共振胆管成像等,与其他疾病相鉴别,以明确肝内胆胆汁淤积诊断,同时注重中医辨证,重视辨病与辨证相结合,扬长避短,优势互补,提高疗效。

参 考 文 献

- [1] 国际肝脏病信息小组. 肝胆疾病的命名规范、诊断要点及预后 [M]. 王宝恩, 贾继东, 译. 北京: 人民卫生出版社, 1997:66.
- [2] 盛传伦, 王宵伟. 肝内胆胆汁淤积 [J]. 中国社区医师, 2003, 19 (6):8-9.
- [3] Trauner M, Boyer JL. Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation [J]. *physiol Rev*, 2003, 83 (2): 633-671.
- [4] Meier PJ, Stieger B. Bile salt transporters [J]. *Annu Rev Physiol*, 2002, 64:635-661.
- [5] St-Pierre MV, Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, et al. Transport of bile acids in hepatic and non-hepatic tissues [J]. *J Exp Biol*, 2001, 204 (pt 10):1673-1686.
- [6] Gerloff T, Stieger B, Hagenbuch B, et al. The sister of P-glycoprotein represents the canalicular bile salt export pump of mammalian liver [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273 (16):10046-10050.
- [7] 杨红莲, 吴纯启, 廖明阳. 肝内胆胆汁淤积发生机制的研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2007, 21 (1): 65-68.
- [8] Arrese M, Ananthanarayanan M, Suchy FJ. Hepatobiliary transport: molecular mechanisms of development and cholestasis [J]. *Pediatr Res*, 1998, 44 (2):141-147.
- [9] 王安红, 刘路, 周昆. 胆汁淤积与胆汁酸转运蛋白关系的研究进展 [J]. 医学综述, 2013, 19 (1):16-18.
- [10] 陆伦根, 曾民德. 胆汁酸对线粒体的毒性作用 [J]. 肝脏, 2008, 13 (4):343-346.
- [11] 兰绍阳, 余世锋, 张达坤. 茵陈蒿汤对肝内胆胆汁淤积湿热证大鼠肝组织 NTCP 表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23 (3):279-283.
- [12] 罗琳, 吴锋, 窦志华, 等. 芍药苷对胆汁淤积肝损伤保护作用机制研究 [J]. 南通大学学报 (医学版), 2011, 31 (6): 450-452.
- [13] 周方, 许红梅. 大黄素对胆汁淤积大鼠肝细胞转运体基因表达的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2009, 30 (22):2663-2666.
- [14] 周方, 许红梅. 大黄素对肝内胆胆汁淤积大鼠 P-gp 表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2007, 35 (7):908-911.
- [15] 詹雪晶, 蔡需, 刘秀芳, 等. 小叶黑柴胡茎叶总黄酮对 ANIT 所致肝内胆胆汁淤积大鼠的影响 [J]. 中国药理学通报, 2010, 26 (6):780-782.
- [16] Rosario J, Sutherland E, Zaccaro L, et al. Ethinylestradiol administration selectively alters liver sinusoidal membrane lipid fluidity and protein composition [J]. *Biochemistry*, 1988, 27 (11): 3939-3946.
- [17] Arrese M, Pizarro M, Solis N, et al. Enhanced biliary excretion of canalicular membrane enzymes in ethinylestradiol induced cholestasis. Effects of ursodeoxycholic acid administration [J]. *Biochemical pharmacology*, 1995, 50 (8):1223-1232.
- [18] 贾玉红, 贾玉杰, 姜妙娜. 雌激素性肝内胆胆汁淤积发病机制的研究进展 [J]. 大连医科大学学报, 2001, 23 (2):144-146.
- [19] 程良斌, 赵友云, 汪晖, 等. 黛矾散对雌激素诱导的大鼠肝内胆胆汁淤积的影响 [J]. 临床肝胆病杂志, 2003, 19 (6): 370-371.
- [20] Karpen SJ. Nuclear receptor regulation of hepatic function [J]. *Hepatology*, 2002, 36 (6): 832-850.
- [21] Kast HR, Goodwin B, Tarr PT, et al. Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (4): 2908-2915.
- [22] Stedman CA, Liddle C, Coulter SA, et al. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor ameliorate cholestatic liver injury [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102 (6):2063-2068.
- [23] 唐志鹏, 刘平. 茵陈蒿汤通过激活核受体组成型雄烷受体促进胆红素的清除 [J]. 国外医学 (中医中药分册), 2004, 26 (3): 181-182.
- [24] 夏延哲, 韦炳华, 陈杰, 等. 旱莲草单体对人孕烷 X 受体调控 CYP3A4 转录表达的调节作用 [J]. 今日药学, 2012, 22 (3): 129-133.
- [25] 关志男, 李赞, 王燕. 青蒿素对孕烷 X 受体和组成型雄烷受体介导的 CYP3A4 和 CYP2B6 转录调节作用 [C]//中国药学会药物代谢专业委员会. 第十届全国药物和化学异物代谢学术会议暨第三届国际 ISSX/CSSX 联合学术会议论文集, 南京, 2012:36-37.
- [26] 赵春景, 王芳, 赫飞. 赤芍对乙肝黄疸患者红细胞通透性的影响 [J]. 中医药研究, 1999, 15 (5):42-43.
- [27] 罗琳, 窦志华, 吴锋, 等. 赤芍总苷退黄降酶的作用及机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2010, 27 (4):285-288.
- [28] 赵营, 张玉林, 徐林刚, 等. 甘草酸、甘草次酸及苦参碱等对实验性胆汁淤积大鼠作用的比较 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38 (3):256-260.
- [29] Wagner M, Zollner G, Trauner M. New molecular insights into the mechanisms of cholestasis [J]. *J Hepatol*, 2009, 51 (3):565-580.
- [30] Kusters A, Karpen SJ. The role of inflammation in cholestasis: clinical and basic aspects [J]. *Semin Liver Dis*, 2010, 30 (2): 186-194.
- [31] 郭红梅, 王建设. 炎症在胆汁淤积中的作用 [J]. 肝脏, 2012, 17 (8):574-576.
- [32] 董伟, 梁爱华, 李春英. 龙胆泻肝丸对胆汁淤积大鼠肝脏多药