

· 基础研究 ·

海藻-甘草反药组合在海藻玉壶汤抗丙硫氧嘧啶致
甲状腺肿大中的作用研究[△]王鑫, 葛超冉, 霍敏, 贺佳, 陈丰, 李娜, 柳海艳, 修琳琳, 陈绍红, 许皖,
吕艳敏, 葛东宇, 董瑞娟, 钟赣生*

北京中医药大学, 北京 100029

[摘要] **目的:** 探讨海藻-甘草剂量为《中华人民共和国药典》2015年版规定高剂量2倍条件下, 海藻-甘草反药组合在海藻玉壶汤抗丙硫氧嘧啶(PTU)致大鼠甲状腺肿大中的作用。**方法:** Wistar 雄性大鼠 84 只, 按体重随机分为对照组、模型组、阳性药组(优甲乐)、海藻玉壶汤全方组(简称“全方组”)、海藻玉壶汤去海藻组(简称“去海藻组”)、海藻玉壶汤去甘草组(简称“去甘草组”)、海藻玉壶汤去海藻及甘草组(简称“去藻草组”), 每组 12 只。造模期间, 除对照组外, 其余各组大鼠灌胃给予 PTU ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每日 1 次, 共 14 d。模型制备成功后, 对照组与模型组大鼠灌胃给予去离子水, 阳性药组大鼠给予优甲乐 ($20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 其余各给药组给予相应中药煎液(给药剂量为全方组 $12.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、去海藻组 $9.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、去甘草组 $10.26 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、去藻草组 $8.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每日给药 1 次, 持续 28 d。治疗期间, 每隔 1 d, 除对照组外, 其余各组大鼠均灌胃给予 PTU 以维持模型稳定, 剂量依前。给药结束后计算各组大鼠的甲状腺系数; 光镜下观察甲状腺组织形态; 放射免疫法检测血清中三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT₃)、游离甲状腺素(FT₄)、促甲状腺激素(TSH)水平。**结果:** 与对照组比较, 各组大鼠甲状腺系数显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 各中药煎液给药组大鼠甲状腺系数显著降低($P < 0.01$)。光镜下观察大鼠甲状腺组织形态, 结果显示, 与对照组比较, 模型组与阳性药组变化最为显著, 甲状腺组织小叶排列紊乱, 结构不清, 细胞核数目增多($P < 0.05$), 上皮细胞增生肥大, 细胞直径增加($P < 0.05$), 滤泡腔大小不一, 形状各异, 面积显著减小($P < 0.05$), 其余各给药组大鼠甲状腺组织的病变均有一定减轻, 其中全方组大鼠甲状腺组织形态与对照组最为接近。与对照组比较, 模型组大鼠血清中 T₃、T₄ 水平显著降低($P < 0.05$), TSH 水平显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 阳性药组、全方组大鼠血清 T₃、T₄ 水平显著升高($P < 0.05$), TSH 水平有降低趋势, 但差异无统计学意义。**结论:** 海藻玉壶汤全方及去掉 1 味或 2 味反药组合能回调甲状腺肿大大鼠甲状腺系数, 改善甲状腺组织病理形态及恢复血清中激素水平, 且全方组优于全方去掉 1 味或 2 味反药组, 由此说明, 海藻-甘草反药组合是海藻玉壶汤中关键的药对, 对于甲状腺肿大的治疗缺一不可。

[关键词] 海藻玉壶汤; 甲状腺肿大; 甲状腺系数; 甲状腺功能; 病理形态**[中图分类号]** R285.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1673-4890(2021)08-1391-08**doi:** 10.13313/j.issn.1673-4890.20200708006**Effect of Antagonistic Sargassum-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Combination in Haizao Yuhu Decoction on
Goiter Induced by Propylthiouracil**WANG Xin, GE Chao-ran, HUO Min, HE Jia, CHEN Feng, LI Na, LIU Hai-yan, XIU Lin-lin, CHEN Shao-hong, XU Wan,
LYU Yan-min, GE Dong-yu, DONG Rui-juan, ZHONG Gan-sheng*

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of antagonistic Sargassum-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma combination in Haizao Yuhu Decoction (HYD) on goiter rats under the condition that the doses of two medicinals are twice the upper limits in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. **Method:** Rats ($n=84$) were randomized into seven groups:

[△] **[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划 (“973”计划)项目(2011CB505306); 北京中医药大学校级科研纵向发展基金项目(2019-ZXFZJJ-066)

* **[通信作者]** 钟赣生, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药配伍禁忌本质的研究; E-mail: zhonggansheng@sohu.com

blank (deionized water), model (deionized water), positive control ($20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ euthyrox), HYD ($12.06 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), HYD without Sargassum ($9.9 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), HYD without Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ($10.26 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and HYD without Sargassum and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma ($8.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), with 12 in each group. For modeling, all the rats were given (ig) propylthiouracil (PTU, $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) for fortnight once a day except the blank group (normal saline). After modeling, the administration (once a day) lasted 28 days for each group. During the administration, rats (except for the blank group) received (ig) PTU ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) every other day in an effort to maintain model stability. After treatment, thyroid index of rats was calculated and pathological morphology of thyroid was observed under light microscope. Thyroid function-related indexes such as triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4), and thyroid-stimulating hormone (TSH) in serum were detected by radioimmunoassay. **Results:** Thyroid index was lower in the blank group than in other groups ($P<0.01$) and lower in the model group than in all the HYD groups ($P<0.01$). As for the pathological morphology of thyroid, the changes in the model group and positive control group were most significant compared with blank group, as manifested by the disordered lobules of thyroid gland with unclear internal structure ($P<0.05$), increased number of follicular epithelial cell nuclei, elevated cell diameter ($P<0.05$), and follicular cavities of diversified size and forms with reduced area ($P<0.05$). These changes were rectified to different degrees in other groups, particularly the HYD group. Model group had lower serum levels of T3 and T4 ($P<0.05$) and higher level of TSH ($P<0.05$) than the blank group. The positive control group and HYD group had higher serum levels of T3 and T4 ($P<0.05$) and insignificantly lower level of TSH than the model group. **Conclusion:** HYD containing the antagonistic medicinal combination, either of the antagonistic medicinals, or neither of the medicinals can all recover the thyroid index, improve the pathological morphology of thyroid, and restore the serum levels of thyroid function-related indexes in PTU-induced goiter rats, especially the HYD containing both Sargassum and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. Therefore, the antagonistic Sargassum and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma are the key pair in HYD, which is indispensable in the treatment of goiter in rats.

[Keywords] Haizao Yuhu Decoction; goiter rats; thyroid index; thyroid function-related indexes; pathological morphology

“十八反”属于中药配伍禁忌的基本内容,对于反药组合临床应用的问题,众多医家各持己见,历来争议颇多。有医家主张反药组合会产生一些不良反应,重则危及生命,因此临床中应避免使用;也有医家支持反药组合在临床中的应用,认为如果反药组合运用得当,甚至可以治疗沉痾痼疾。海藻和甘草是“十八反”反药组合之一,但却不乏两者同用的古籍记载和临床应用。王利敏等^[1]通过整理古代文献发现,含有海藻和甘草的方药有17首,主要用于瘰病和瘰癧的治疗。《中华人民共和国药典临床用药须知·中药卷》2005年版中共收载含“十八反”反药组合的成方共9个,其中内消核片和消瘰癧丸均含海藻、甘草^[2-3]。海藻玉壶汤为治瘰癧之气滞痰凝证的代表方,也是海藻、甘草同用的代表方,《外科正宗》记载其“治瘰癧初起,或肿或硬,或赤或不赤,但未破者”^[4],现代医家常将其用于治疗甲状腺和乳腺增生性疾病及妇科肿瘤等疾病,疗效显著^[5]。

本课题组前期对含海藻-甘草反药组合的海藻玉壶汤对甲状腺肿大大鼠的药效进行了相关的实验研

究,结果表明,海藻玉壶汤中海藻和甘草选用不同品种、不同给药剂量和不同配伍比例对甲状腺肿大模型大鼠的治疗效果会产生一定的影响^[6-8]。为验证其差异是否与反药组合有关,本实验设计海藻玉壶汤全方及去掉1味或2味反药组,选择前期筛选出的药效最明显的组合,即海藻和甘草剂量为《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2015年版规定高限剂量的2倍(海藻24 g,生甘草20 g),海藻的品种为海蒿子^[9],探究此剂量下海藻玉壶汤对甲状腺肿大大鼠的影响及反药组合是否是影响药效的重要因素。

1 材料

1.1 实验动物

雄性Wistar大鼠,84只,体质量180~220 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0006;实验动物屏障环境饲养,实验动物使用许可证号:SYXK(京)2016-00038,温度:(22 ± 2)℃,相对湿度:

50%~70%，动物饲料为清洁级鼠饲料。

1.2 试药

生甘草（产地：内蒙古，批号：1901025）为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎；海藻（产地：福建，批号：1904028）为马尾藻科植物海蒿子 *Sargassum pallidum* (Turn.) C. Ag. 的干燥藻体；法半夏（产地：四川，批号：D190511001）为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb) Breit 的块茎经甘草和石灰炮制的炮制品；贝母（产地：浙江，批号：1802404）为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎；连翘（产地：山西，批号：1905008）为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实；川芎（产地：四川，批号：1904005）为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎；独活（产地：四川，批号：1903009）为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根；昆布（产地：福建，批号：1812407）为海带科植物海带 *Laminaria japonica* Aresch. 或翅藻科植物昆布 *Ecklonia kurome* Okam. 的叶状体；醋青皮（产地：四川，批号：1812403）为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的幼果或未成熟果实的干燥果皮；陈皮（产地：四川，批号：1901071）为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的成熟干燥果皮；当归（产地：甘肃，批号：1905012）为伞形科植物当归 *Augellica sinensis* (Oliv) Diels. 的根；上述饮片购自北京双桥燕京中药饮片厂，经北京中医药大学中医学院李伟高级实验员鉴定均为该科属合格中药饮片。

丙硫氧嘧啶片（PTU，批号：H31021082，上海朝晖药业有限公司），使用时配制成 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液；左甲状腺素钠片（批号：H20140052，Merck KGaA 公司），使用时配制成 $0.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液；三碘甲状腺原氨酸（T3）放免试剂盒（批号：20190928）、甲状腺素（T4）放免试剂盒（批号：20190928）、促甲状腺激素（TSH）放免试剂盒（批号：20190928）、游离三碘甲状腺原氨酸（FT3）放免试剂盒（批号：20190928）、游离甲状腺素（FT4）放免试剂盒（批号：20190928）均购自北京华英生物技术研究所。

1.3 仪器

HY-YQ-08 型酶标分析仪（无锡华卫德朗仪器有限公司）；JJ-12J 型脱水机、JB-P5 型号包埋机、JB-L5 型冻台（武汉俊杰电子有限公司）；RM2016 型病理切片机（上海徠卡仪器有限公司）；KD-P 型组织摊片机（浙江省金华市科迪仪器设备有限公司）；DHG-9140A 型烤箱（上海慧泰仪器制造有限公司）；10212432C 型载玻片及盖玻片（江苏世泰实验器材有限公司）。

2 方法

2.1 药品制备

海藻玉壶汤处方：生甘草 24 g、海蒿子 20 g、法半夏 9 g、浙贝母 9 g、连翘 9 g、川芎 9 g、独活 9 g、昆布 18 g、醋青皮 9 g、陈皮 9 g、当归 9 g，除生甘草、海蒿子和昆布外，其他饮片剂量皆延续本课题组前期实验剂量。《海藻玉壶汤》原方中既有海带，又有昆布，本课题组前期研究中两药均用 9 g，《中国药典》2015 年版规定，昆布为海带科植物海带或翅藻科植物昆布（鹅掌菜）的干燥叶状体，在中医临床中，两者药性皆为寒，均具有消痰、软坚散结和利水消肿的功效，都可以用于治疗瘰疬、瘰癧、痰饮水肿和睾丸肿痛等病症^[10]，故此方中选用 2 倍剂量昆布（即 18 g）。根据大鼠（200 g）与成人（70 kg）用药剂量的换算系数 0.018 计算饮片剂量，称取药物，第一次用 10 倍量水浸泡 2 h，煮沸后再煎 1 h，滤过；第二次用 8 倍量的水，煮沸后煎煮 1 h，滤过，将 2 次药液充分混匀，用水浴锅加热，最后得到浓缩液，冷却后放入冰箱保存。其余药液在去除相应中药饮片后，按上述方法煎煮，第一次用 10 倍量水，滤过；第二次用 8 倍量的水，滤过，将 2 次药液充分混匀、浓缩、冷却，放入冰箱保存。

2.2 模型复制与分组

Wistar 雄性大鼠 84 只，按体质量随机分为对照组、模型组、阳性药优甲乐组、海藻玉壶汤全方组（简称“全方组”）、海藻玉壶汤全方去海藻组（简称“去海藻组”）、海藻玉壶汤全方去甘草组（简称“去甘草组”）、海藻玉壶汤全方去海藻及甘草组（简称“去藻草组”），共 7 组，每组 12 只。造模期间，对照组大鼠给予去离子水，其余各组大鼠灌胃

给予PTU ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每日1次, 连续给药14 d。模型制备成功后, 对照组与模型组大鼠灌胃给予去离子水, 阳性药组灌胃给予优甲乐 ($20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 各治疗组给予相应中药煎液, 海藻玉壶汤全方原剂量为134 g, 根据200 g大鼠与70 kg成人用药换算系数0.018, 得出大鼠给药剂量为全方组 $12.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 依次计算其他给药剂量, 去海藻组 $9.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、去甘草组 $10.26 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、去藻草组 $8.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续给药28 d。给药期间, 为维持模型大鼠的稳定性, 除对照组外, 其余各组大鼠均灌胃给予PTU, 剂量依前, 每2 d给药1次。造模和给药期间, 每周称体重1次, 测肛温1次, 不限制进食、饮水。

2.3 样本采集

造模第十四天, 大鼠眼眶取血, 根据大鼠血清结果, T3、T4水平显著降低, TSH水平显著降低, 提示模型复制成功。给药第二十九天, 称体质量, 戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉取血, 离心 (4°C , $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 15 min, 离心半径: 10 cm), 留取上清液, 分装, 于 -80°C 保存, 待检血清中相关指标; 迅速剥离甲状腺, 称定质量后, 根据公式(1)计算甲状腺系数, 然后将一侧置于无RNA酶的冻存管中, 待检分子生物学相关指标, 另一侧置于4%多聚甲醛中, 进行常规苏木精-伊红(HE)染色, 以观察甲状腺组织病理形态学的变化。

$$\text{甲状腺系数} = \text{甲状腺质量} / \text{大鼠体质量} \quad (1)$$

2.4 甲状腺组织病理形态

取HE染色切片, 在200×视野下, 每张切片随机选择10个滤泡上皮细胞, 每组选60个, 用Image J软件测量上皮细胞直径, 同时测量每张切片细胞核数和滤泡面积腔。

2.5 大鼠血清中激素水平检测

血清中各项指标的检测均由北京华英生物技术研究所完成。

2.6 统计分析

采用SPSS 22.0软件进行数据分析, 数据用($\bar{x} \pm s$)表示, 如果满足正态分布, 采用单因素方差分析, 若方差齐用最小显著性差异法(LSD)分析, 反之用Dunnett T3分析; 非正态则采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 海藻玉壶汤对甲状腺肿大模型大鼠甲状腺系数的影响

与对照组比较, 模型组大鼠甲状腺系数均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 优甲乐组大鼠甲状腺系数差异无统计学意义; 全方组、去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠甲状腺系数均显著降低 ($P < 0.01$)。与阳性药组比较, 全方组、去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠甲状腺系数均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 且全方组和去甘草组降低效果更显著。全方组与全方去掉1味或2味反药组各组间差异无统计学意义(表1)。

表1 含海藻-甘草反药组合的海藻玉壶汤对甲状腺肿大模型大鼠甲状腺系数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量	甲状腺系数/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
对照		0.086 ± 0.012
模型		$0.450 \pm 0.110^{**}$
优甲乐	$20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.393 \pm 0.106^{**}$
全方	$12.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.226 \pm 0.478^{***\#\#}$
去海藻	$9.90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.251 \pm 0.256^{***\#\#}$
去甘草	$10.26 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.223 \pm 0.045^{***\#\#}$
去藻草	$8.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.271 \pm 0.690^{***\#\#}$

注: 与对照组比较, $^{**}P < 0.01$; 与模型组比较, $^{**}P < 0.01$; 与阳性药组比较, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ 。

3.2 海藻玉壶汤对甲状腺肿大模型大鼠血清中激素水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清中T3、T4水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 优甲乐组、全方组大鼠血清中T3、T4水平显著升高 ($P < 0.05$), 去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠血清中T3、T4水平差异无统计学意义。与优甲乐组比较, 去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠血清中T3、T4水平均显著降低 ($P < 0.05$)。与全方组比较, 去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠血清中T3、T4水平显著降低 ($P < 0.05$, 表2)。

与对照组比较, 模型组大鼠血清中FT3、FT4水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 各给药组大鼠血清中FT3、FT4水平差异无统计学意义。与优甲乐组比较, 去海藻组、去藻草组大鼠血清中FT3水平显著降低 ($P < 0.05$), 去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠血清中FT4水平均显著降低 ($P < 0.05$)。

表2 海藻玉壶汤对甲状腺肿大大鼠血清T3、T4、FT3、FT4及TSH水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量	T3/ng·mL ⁻¹	T4/ng·mL ⁻¹	FT3/pg·mL ⁻¹	FT4/pg·mL ⁻¹	TSH/uIU·mL ⁻¹
对照		0.60±0.12	76.81±14.16	1.87±0.45	5.43±1.90	2.58±1.67
模型		0.37±0.13 [*]	41.76±23.26 [*]	1.15±0.42 [*]	2.57±1.48 [*]	6.85±3.59 [*]
优甲乐	20 μg·kg ⁻¹	0.57±0.15 [#]	69.77±21.00 [#]	1.63±0.16	4.39±0.91	4.34±2.70
全方	12.06 g·kg ⁻¹	0.49±0.08 [#]	70.71±25.37 [#]	1.41±0.33	3.31±1.59	5.12±2.26
去海藻	9.90 g·kg ⁻¹	0.33±0.11 ^{*\$*}	32.58±15.18 ^{*\$*}	0.90±0.34 ^{*\$}	1.65±0.70 ^{*\$}	7.21±3.62 ^{*\$}
去甘草	10.26 g·kg ⁻¹	0.37±0.14 ^{*\$*}	43.06±24.92 ^{*\$*}	1.04±0.46 [*]	2.17±1.34 ^{*\$}	7.37±3.24 ^{*\$}
去藻草	8.10 g·kg ⁻¹	0.34±0.12 ^{*\$*}	34.02±14.35 ^{*\$*}	0.97±0.39 ^{*\$}	1.74±0.81 ^{*\$}	7.86±3.40 ^{*\$*}

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与优甲乐组比较,^{\$} $P<0.05$;与全方组比较,^{*} $P<0.05$;表3同。

其余各组间差异无统计学意义(表2)。

与对照组比较,模型组大鼠血清中TSH水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,优甲乐组、全方组大鼠血清中TSH水平有降低趋势,但差异无统计学意义。与优甲乐组比较,去海藻组、去甘草组、去藻草组大鼠血清中TSH水平显著升高($P<0.05$)。与全方组比较,去藻草组大鼠血清中TSH水平显著升高($P<0.05$),去海藻组和去甘草组大鼠血清中TSH水平有升高趋势,但差异无统计学意义(表2)。

3.3 海藻玉壶汤对甲状腺肿大模型大鼠甲状腺形态的影响

对照组大鼠甲状腺组织被光滑的结缔组织分隔成结构清晰、排列规则的小叶,小叶内滤泡多呈球形或卵圆形,呈中等大小,内部充满均匀的胶质,滤泡壁由排列规则的单层上皮细胞构成,多为立方形,扁平状或矮柱状,滤泡间结缔组织未见异常增生(图1)。

与对照组比较,模型组大鼠甲状腺组织在光镜下无法分辨甲状腺小叶的排列情况和内部结构。滤泡上皮细胞核数目显著增加($P<0.05$),细胞直径显著增加($P<0.05$),呈高柱状,排列无序,有的由单层变为复层,局部出现复层化。滤泡形状各异,大小不一,滤泡内胶质减少,着色不均匀,滤泡面积显著减少($P<0.05$,图1和表3)。

与模型组比较,优甲乐组大鼠甲状腺组织在光镜下观察,各指标未见明显改善。全方组大鼠甲状腺组织形态明显改善,已接近对照组。甲状腺小叶排列较整齐,边缘清晰,上皮细胞排列较整齐,细胞核数目显著减少($P<0.05$),细胞直径降低($P<0.05$),局部滤泡形状规则,呈圆形或卵圆形,腔内分泌物着色均匀,滤泡腔面积显著升高($P<0.05$)。去海藻组、去甘草组和去藻草组大鼠甲状腺组织细胞核数目减少($P<0.05$),高度降低($P<0.05$),局部出现复层化;滤泡形状各异,大小不一,滤泡内胶质减少,着色不均匀,滤泡腔面积显著升高($P<0.05$,图1和表3)。

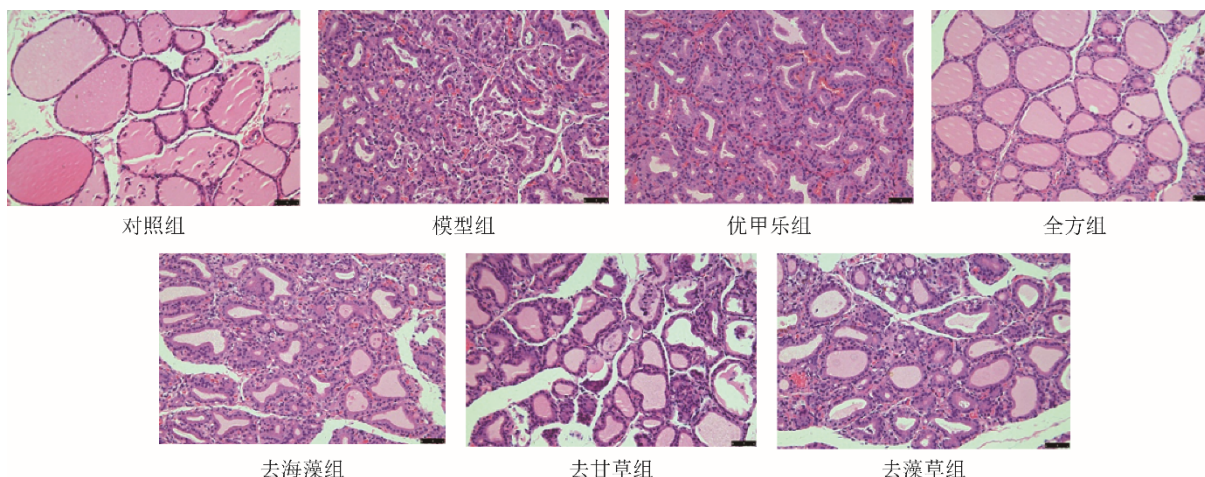


图1 各组大鼠甲状腺组织HE染色(×200)

表3 海藻玉壶汤对甲状腺肿大鼠甲状腺形态的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量	细胞核个数	细胞高度/ μm	滤泡腔面积/ mm^2
对照		1 224.67 $\pm$ 283.03	6.76 $\pm$ 1.35	0.17 $\pm$ 0.01
模型		2 950.17 $\pm$ 381.46 [*]	13.10 $\pm$ 1.62 [*]	0.04 $\pm$ 0.01 [*]
优甲乐	20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	2 916.00 $\pm$ 557.33 [*]	14.40 $\pm$ 1.48 [*]	0.04 $\pm$ 0.01 [*]
全方	12.06 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	1 601.67 $\pm$ 240.47 ^{##}	8.46 $\pm$ 0.96 ^{##}	0.16 $\pm$ 0.01 ^{##}
去海藻	9.90 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	2 213.50 $\pm$ 264.01 ^{###*}	10.79 $\pm$ 2.16 ^{###*}	0.08 $\pm$ 0.02 ^{###*}
去甘草	10.26 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	2 100.83 $\pm$ 327.95 ^{###*}	9.37 $\pm$ 1.00 ^{##}	0.10 $\pm$ 0.02 ^{###*}
去藜草	8.10 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	2 502.33 $\pm$ 324.78 ^{###*}	10.97 $\pm$ 1.56 ^{###*}	0.08 $\pm$ 0.01 ^{###*}

4 讨论

海藻与甘草反药组合最早记载于《神农本草经》：“甘草、干漆、苦参为使；恶远志；反甘遂、大戟、芫花、海藻”。古今不乏对海藻-甘草同用的记载，现代临床中亦不乏医家应用。国医大师蒲辅周发现海藻、甘草同用之后，其软坚散结之功效更强，不良反应亦并不明显^[11]。朱良春等^[12]将海藻-甘草药对用于治疗单纯性及地方性甲状腺肿大、颈淋巴结结核和肿瘤，疗效显著；将这一药对与甘遂同用，治疗胸水、渗出性胸膜炎，皆疗效显著且未显示出不良反应。以海藻和甘草为主药的攻癌夺命汤在临床上用于治疗多种恶性肿瘤，疗效显著^[13]。现代研究表明，海藻和甘草在特定条件下同用，不仅无不良反应，而且对特定疾病的治疗效果显著，如甲状腺肿大。海藻玉壶汤作为经典名方，现代临床常用于治疗甲状腺疾病，其处方组成中含有海藻-甘草反药组合。Zhang等^[14]通过整合微阵列基因表达谱、网络分析和实验验证的综合研究，发现海藻玉壶汤能够减轻PTU所致的大鼠甲状腺肿大，并进一步验证其治疗作用是通过调节甲状腺激素合成而实现的。Xiu等^[15]实验证明，含海藻-甘草反药组合的海藻玉壶汤通过作用于下丘脑-垂体-甲状腺轴起到抗甲状腺肿大的作用。以上实验说明，含反药组合的海藻玉壶汤抗甲状腺肿大的作用与激素调节有关。丁选胜等^[16]从多个角度探究海藻单煎液、甘草单煎液、两者不同配伍比例合煎液及单煎后的混合液对甲状腺肿大鼠的治疗作用，结果显示，海藻-甘草合煎液在降低甲状腺指数方面效果明显优于单煎后混合液组，且强于含碘的对照组，说明海藻、甘草反药合用后对甲状腺肿大的纠正作用不仅是因为中药饮片中含有高剂量碘元素，还与中药配伍的协同作用

关系密切，进一步强调了这一药对配伍使用的必要性和重要性。李玉婷^[17]运用网络药理学方法探究含海藻-甘草反药组合的海藻玉壶汤治疗甲状腺肿大鼠的作用机制，共筛选出8个基因，均与甲状腺激素的合成有关，推测海藻玉壶汤对甲状腺肿大鼠的纠正作用与甲状腺激素的合成通路有密切关系。

碘由碘同向转运体(NIS)转运到甲状腺滤泡细胞中，继而被过氧化物酶活化，活化的碘与酪氨酸残基结合形成碘酪氨酸，单碘酪氨酸(MIT)和二碘酪氨酸(DIT)偶联形成T4和T3。本实验选择PTU为造模药，其主要机制是抑制甲状腺过氧化物酶，阻断甲状腺内酪氨酸碘化及碘化酪氨酸的缩合，从而抑制甲状腺素的合成，通过下丘脑-垂体-甲状腺轴的负反馈机制促进TSH升高，导致甲状腺肿大的发生。本课题组前期实验表明，应用PTU造模后，模型组大鼠的尿碘水平明显升高^[6]，进一步证明，PTU通过影响碘的代谢导致甲状腺肿大的发生。给予相应中药治疗后，海藻玉壶汤全方及去掉1味或2味反药组合各组对模型大鼠均有纠正作用。根据实验结果，与模型组相比，各中药治疗组大鼠甲状腺系数显著降低，甲状腺肿大的症状明显改善。吕艳敏等^[18]在对甲状腺组织进行评价时，引入了细胞核数目、滤泡腔面积2个参数，来反映滤泡上皮细胞的增生程度。何全利等^[19]在探究白藜芦醇对甲状腺肿大鼠的作用时，分别测量上皮细胞的高度和滤泡腔面积，以此进行组间比较。在本实验中，各给药组大鼠较模型组表现出不同程度的改善，细胞核数目明显减少，滤泡上皮细胞高度降低，滤泡腔面积显著增加，以上参数的变化充分表明海藻玉壶汤全方及去掉1味或2味反药组均对甲状腺肿大鼠有良好的治疗效果。优甲乐组因其能够直接升高甲状腺肿大鼠体内的

甲状腺激素水平,所以未对甲状腺肿大的症状起到治疗作用。

甲状腺的主要功能是合成甲状腺激素,最能直接反映其功能状态的指标是甲功5项,即T₃、T₄、FT₃、FT₄和TSH。本实验中所复制的模型是甲减模型,其诊断标准为血清中T₃、T₄水平降低及TSH水平增高^[20-21]。甲状腺激素是垂体前叶合成和分泌的一种糖蛋白,其合成与分泌与T₃和T₄水平有密切关系。甲减状态下,体内T₃、T₄水平明显降低,通过下丘脑-垂体-甲状腺轴的负反馈机制促进TSH的分泌,TSH能够刺激甲状腺滤泡上皮细胞增生肥大,从而导致甲状腺肿大。本实验结果表明,与模型组相比,全方组和阳性药组大鼠血清中T₃、T₄水平显著升高,与对照组激素水平差异无统计学意义,血清中TSH含量有降低趋势。全方去掉1味或2味反药组激素含量变化不明显。进一步说明海藻和甘草这一反药组合是海藻玉壶汤中不可缺少的重要配伍。FT₃、FT₄虽然在体内水平较低,但却是甲状腺激素的活性部分,是真正发挥生理作用的重要成分。有学者主张联合测定FT₃、FT₄和TSH,因为这样才能更准确地判断甲状腺的功能状态^[21]。本实验结果显示,与对照组比较,模型组大鼠血清中FT₃、FT₄的水平显著降低。与模型组比较,阳性药组和全方组有升高趋势。在甲状腺激素水平上,含反药组合的海藻玉壶汤对甲状腺激素的纠正作用明显优于全方去掉1味或2味反药组,进一步证明海藻-甘草反药组合对于海藻玉壶汤的重要性,而海藻玉壶汤全方及加減海藻-甘草组对甲状腺激素水平的纠正主要体现在T₃、T₄水平的升高,并未对FT₃、FT₄和TSH水平表达有显著影响,推测可能由于海藻玉壶汤的碘离子加速了T₃、T₄的合成,而未对其他激素的生成产生显著作用。优甲乐通过迅速补充T₄,体内转换为生物活性较强的T₃,起到补充甲状腺素的作用。在课题组前期研究中,同样发现优甲乐能够显著恢复血清激素水平,但在甲状腺系数和甲状腺病理形态等方面无明显纠正作用^[7,18]。

综上所述,海藻玉壶汤全方及去掉1味或2味反药组合对PTU引起的甲状腺肿大均有纠正作用,使大鼠甲状腺系数显著降低,病理形态明显改善,且全方组效果明显优于全方去掉1味或2味反药组,说明海藻与甘草这一反药组合若合理应用,在治疗甲

状腺肿大方面效果显著。但对于激素的影响,全方与全方去掉1味或2味反药组显示出一定差异,提示海藻玉壶汤对甲状腺肿大大鼠的治疗并不仅限于调节激素水平。张晨^[22]实验结果表明,海藻玉壶汤能够影响凋亡蛋白B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)的表达水平,从而起到抗甲状腺肿大的作用。Bcl-2家族是细胞凋亡的调节剂,提示含反药组合的海藻玉壶汤对甲状腺肿大的治疗作用与调节细胞凋亡有关,这一研究成果为探究含反药组合的海藻玉壶汤对甲状腺肿大的治疗机制提供了新的思路。本实验初步探讨了海藻玉壶汤对甲状腺肿大大鼠的影响,其具体作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王利敏,王青华,关新军,等.反药药对甘草海藻古方合用分析[J].浙江中医杂志,2018,53(6):463.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典临床用药须知·中药卷[M].北京:人民卫生出版社,2005:1248.
- [3] 王茜,钟赣生,刘佳,等.《药典临床用药须知·中药卷》(2005年版)中含反药药对成方制剂收载情况与分析[J].北京中医药大学学报,2011,34(1):27-30.
- [4] 陈实功.外科正宗[M].北京:中国中医药出版社,2011:112.
- [5] 黄晓朋,俞旭君,陈晓洋,等.海藻玉壶汤临床应用举隅[J].实用中医药杂志,2014,30(4):343-344.
- [6] 刘云翔.含反药组合的海藻玉壶汤不同条件下加減海藻甘草对甲状腺肿大大鼠效-毒影响的实验研究[D].北京:北京中医药大学,2014.
- [7] 王思睿.在接近临床剂量条件下含不同品种海藻与甘草反药组合的海藻玉壶汤对甲状腺肿大大鼠生物效应的影响[D].北京:北京中医药大学,2017.
- [8] 李娜.海藻玉壶汤中加減高剂量甘草与不同品种海藻的毒性表征及机制探讨[D].北京:北京中医药大学,2019.
- [9] 修琳琳.海蒿子、羊栖菜、生甘草配伍及海藻玉壶汤中海藻不同品种与生甘草加減配伍的急性毒性实验研究[D].北京:北京中医药大学,2017.
- [10] 陈瑞生,陈相银,贾王俊.昆布与海带[J].首都食品与医药,2015,22(9):51.
- [11] 蒲志孝.蒲辅周轶事[J].山东中医杂志,1985,4(2):29-31.
- [12] 朱良春,何绍奇.为“十八反”平反[J].中国中医基础医学杂志,1998(4):16.

- [13] 孙其新. 养正消积治肿瘤:李可学术思想探讨之二十三[J]. 中医药通报,2010,9(5):17-24.
- [14] ZHANG Y, LI Y, MAO X, et al. Thyroid hormone synthesis: A potential target of a Chinese herbal formula Haizao Yuhu Decoction acting on iodine-deficient goiter[J]. Oncotarget, 2016,7(32):51699-51712.
- [15] XIU L, ZHONG G, LIU D, et al. Comparative efficacy and toxicity of different species of Sargassum in Haizao Yuhu decoction in PTU-induced goiter rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017,2017:3526186.
- [16] 丁选胜, 阙毓铭, 李欧. 海藻甘草对甲状腺肿模型大鼠甲状腺激素及其抗体的影响[J]. 中草药, 2003, 34(1): 54-56.
- [17] 李玉婷. 基于全基因组表达谱探索海藻玉壶汤治疗大鼠甲状腺肿大的作用机制[D]. 承德:承德医学院, 2017.
- [18] 吕艳敏, 修琳琳, 柳海艳, 等. 海藻玉壶汤及拆方对甲状腺肿大大鼠甲状腺激素水平和组织形态的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(5): 393-401.
- [19] 何全利, 吴艳艳, 刘伟, 等. 白藜芦醇改善丙硫氧嘧啶诱导大鼠甲状腺肿的作用研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 68-72.
- [20] 赵文娟, 杨乃龙. 内分泌和代谢病功能检查[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 67.
- [21] 丰琳. 甲状腺疾病患者T3、T4、FT3、FT4、TSH检测结果分析[J]. 中国医药指南, 2013, 11(19): 609-610.
- [22] 张晨. 海藻玉壶汤中加减高剂量甘草及不同品种海藻的药效及机制探讨[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.

(收稿日期: 2020-07-08 编辑: 田苗)