

· 临床研究 ·

# 五味子和芍药提取物对哮喘模型大鼠血清细胞因子水平的影响\*

陈霞, 唐军, 冯静

(解放军三二四医院儿科, 重庆 400020)

**摘要:**目的 观察五味子和芍药提取物对哮喘大鼠血清细胞因子水平的影响。方法 选取 SD 大鼠, 随机分为中药治疗组及哮喘发作组、生理盐水对照组。观察各组大鼠的气管病理结构、症状变化以及采用酶联免疫吸附试验法测定血清细胞因子水平的变化。结果 中药提取物对哮喘大鼠的气管病理、症状有明显改善。哮喘发作组及中药治疗组大鼠在模型形成后血清白细胞介素(IL)-4、IL-6、IL-13 升高, 而  $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )水平有下降。经中药治疗后, 中药治疗组较哮喘发作组血清 IFN- $\gamma$  明显升高。结论 五味子和芍药提取物可能通过提高血清 IFN- $\gamma$  水平减轻气道炎症, 达到治疗目的。

**关键词:**五味子; 芍药; 细胞因子

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.29.008

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)29-3486-02

## The influence of extract of schisandra chinensis and paeonia veitchii on the level of cytokines in serum of asthmatic rats\*

Chen Xia, Tang Jun, Feng Jing

(Department of Pediatric, No. 324 Hospital of People's Liberation Army, Chongqing 400020, China)

**Abstract: Objective** To investigate the influence of extract of schisandra chinensis and paeonia veitchii on level of cytokines in asthmatic rats. **Methods** SD rats were randomly divided into three groups: Chinese medicine-treated, untreated asthma, physiological saline control groups. The tracheal pathology and symptom of different groups were observed, then cytokine expressions in serum were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Chinese herb extract obviously improved tracheal pathology and airway symptoms. The levels of IL-4, IL-6, IL-13 in serum of Chinese medicine-treated and untreated asthma groups were significantly increased, while the IFN- $\gamma$  expression was reduced. But after treatment of Chinese herb extract, compared with untreated asthma group the IFN- $\gamma$  expression was significantly increased in Chinese medicine-treated group. **Conclusion** The effect of extract of schisandra chinensis and paeonia veitchii could reduce airway inflammation of asthma rats may by significantly increased IFN- $\gamma$  expression.

**Key words:** schisandra chinensis; paeonia veitchii; cytokine

五味子和芍药是小青龙汤中主药之一, 方中五味子和芍药配伍的独特性, 加强了止咳平喘的效果。为探讨五味子和芍药治疗哮喘的机理, 本文采用五味子和芍药提取物治疗哮喘模型大鼠, 通过测定了大鼠血清细胞因子水平的变化, 初步了解两味中药对哮喘模型大鼠免疫功能的影响。

### 1 材料与与方法

**1.1 哮喘模型大鼠的制备及实验步骤** 取 4 周龄的 SD 大鼠 30 只, 体质量 40~50 g。SD 大鼠购自第三军医大学大坪医院动物实验所。随机分成中药治疗组(A 组)及哮喘发作组(B 组)、生理盐水对照组(C 组), 各组大鼠 10 只。A 组和 B 组均给予氢氧化铝 200 mg、卵蛋白 1 mg、生理盐水 0.2 mL 皮下注射, 每 2 天 1 次, 连续 3 次, 另间隔给予百日咳杆菌疫苗 0.2 mL 皮下注射, 每 2 天 1 次连续 3 次。致敏后给予 2% 卵蛋白雾化吸入激发 1 周, 每日 1 次。C 组用等量的生理盐水代替抗原液皮下注射。观察 A 组和 B 组大鼠出现打喷嚏、抓耳挠腮、呼吸急促、腹肌收缩、烦躁攻击、脱毛、毛发稀疏等表现。A 组给予中药提取物每日 2 mL 灌胃治疗 10 d。3 组大鼠分别在治疗前和治疗后 10 d 取血 2 mL 离心静置待检。3 组均在治疗后 10 d 取气管组织行 HE 染色观察。

### 1.2 方法

**1.2.1 仪器和设备** 压缩雾化器: 德国百瑞公司, 自制雾化箱

50 cm×53 cm×58 cm, 自动多功能酶标仪: 科华公司 KHB ST-360, PT210 型电子天平: 德国 Sartorius 公司, TGL-16G 高速台式离心机: 中国上海安惠科学仪器厂, 全自动酶标洗板机: 沈阳惠氏生物工程有限公司; 白介素(IL)4、IL-6、 $\gamma$  干扰素(IFN- $\gamma$ )、IL-13、酶联免疫吸附法(ELISA, Biovalue 公司)。

**1.2.2 芍药和五味子提取物制备** 两种药物以 1:1 比例采用乙醇回流提取法, 提取的中药原液置于密闭容器中密闭保存。

**1.2.3 IL-4、IL-6、IFN- $\gamma$ 、IL-13 测定** 采用 ELISA 试剂盒进行。按照每孔 100  $\mu$ L 依次加入标准品和待测品, 37  $^{\circ}$ C 孵育 60 min 后扣干孔内液体, 依次加入底物和终止液, 并在 30 min 内使用酶标仪在 450 nm 下读取吸光度值。

**1.3 统计学处理** 采用的 SPSS13.0 统计学软件分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示。计数资料采用率表示。组间差异的显著性采用方差分析, 检验水准  $\alpha=0.05$ , 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 3 组大鼠气管病理形态学观察** A 组大鼠气管平滑较完整, 柱状上皮及刷状缘基本完整, 少量淋巴细胞浸润。B 组大鼠气管平滑肌层有断裂, 淋巴细胞和中性粒细胞有争夺, 呈重度炎症反应。C 组大鼠气管组织无淋巴细胞和嗜酸性粒细胞

\* 基金项目: 成都军区“十二五”课题(C1203); 重庆市科技攻关项目(cstc2012gg-yyjs0627)。作者简介: 陈霞(1975~), 博士, 副主任医师, 主要从事儿童哮喘的发病机制及治疗的研究。

浸润,无纤毛受损表现。见图 1。

**2.2 3 组大鼠外观观察** A 组和 B 组大鼠激发后相继出现打喷嚏、抓耳挠腮、呼吸急促,腹肌收缩,烦躁攻击,脱毛、毛发稀疏等症状,而 C 组大鼠无明显改变。给予中药提取物灌胃治疗后,A 组大鼠打喷嚏、烦躁攻击减轻,毛发恢复光滑。

**2.3 3 组细胞因子水平的变化** IL-4,IL-6,IL-13 在 A、B 组较 C 组有明显升高( $P < 0.05$ ),而 A、B 组治疗前和治疗后无显著变化( $P > 0.05$ )。IFN- $\gamma$  在 C 组治疗前和治疗后均高于 B 组( $P < 0.05$ );A 组治疗后与治疗前比较有显著升高( $P < 0.05$ )。见表 1。

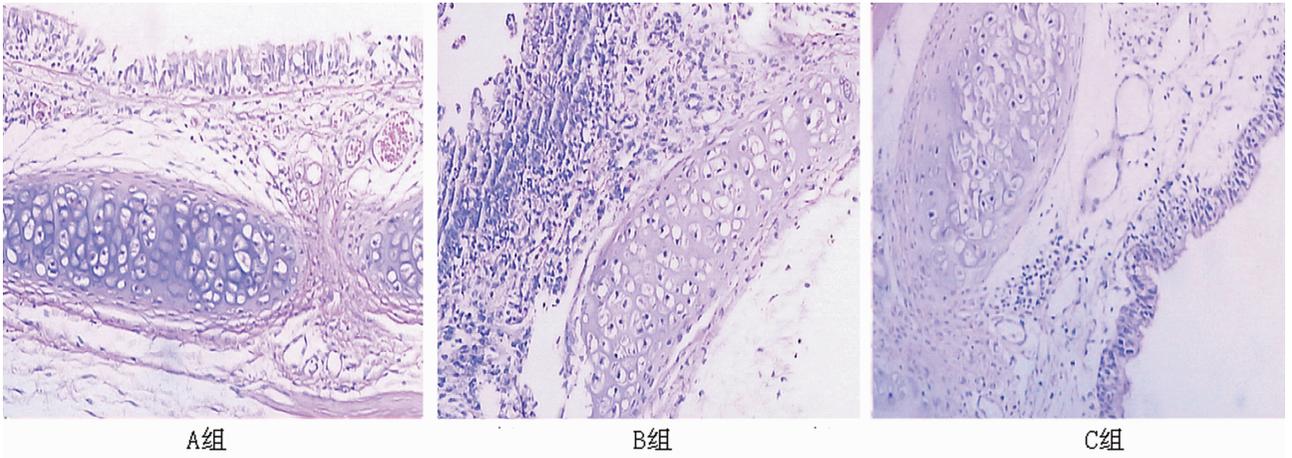


图 1 各组大鼠气管病理形态学(×40)

表 1 3 组细胞因子水平比较(pg/mL,  $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	IL-4		IL-6		IL-13		IFN- $\gamma$	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组	147.38±23.05	182.94±21.19	474.49±52.31	402.67±36.33	274.58±20.04	268.31±25.33	503.29±35.22	982.27±31.51
B 组	144.19±19.31	138.76±20.66	452.11±47.64	433.88±38.55	259.65±31.22	267.43±25.77	498.67±33.87	511.69±25.74
C 组	82.39±15.77	85.96±16.48	213.55±22.56	205.68±31.74	152.66±18.46	168.95±27.69	752.63±15.64	765.95±20.11

**3 讨 论**

细胞因子对哮喘气道炎症反应和气道重塑的影响,近年来越来越受到国内外学者的关注。早在 1986 年 Mosmann 等<sup>[1]</sup>首次提出在气道炎症时,Th2 类细胞产生的细胞因子(如 IL-4,IL-13,IL-5)的水平是升高的,而 Th1 类细胞产生的细胞因子(如 IFN- $\gamma$ )会降低,导致 Th1/Th2 在体内失衡。因此增强 Th2 细胞的免疫反应和相应细胞因子的水平都可导致哮喘和过敏反应的发生<sup>[2-3]</sup>,而且 IL-4 还能使 IgE 的产生增加。研究表明 IL-4 和 IL-13 是很关键的 Th2 细胞因子,都能作用气道引起气道高反应性<sup>[4]</sup>。另外树突状细胞分泌的 IL-6 在促进 Th2 限制 Th1 反应中起着重要作用,也诱发了哮喘的发作<sup>[5-6]</sup>。因此 Th2 主导的免疫反应与 Th1 抑制有关<sup>[7]</sup>,即 Th1/Th2 比例失调是哮喘的主要病理特征和主要发病机制<sup>[8]</sup>。通过调节 Th1/Th2 细胞因子比例失衡已成为哮喘免疫治疗的主要靶点<sup>[9]</sup>。我国的传统中药在调节 Th1/Th2 细胞因子比例失衡方面的效果已引起国内外学者的关注,但是组方不同调节的细胞因子水平也不尽相同<sup>[10]</sup>。

小青龙汤是中医的十大名方之一,出自张仲景的《伤寒论》,在温化痰饮、宣肺平喘方面有奇效,而芍药和五味子的应用一直被认为是此方的经典之处。过去常认为汤中用芍药、五味子,其中芍药酸敛以护肝阴,五味子酸敛以护肾阴,敛肺止咳,起增强止咳平喘之功和制约诸药辛散温燥太过之弊。本研究通过五味子和芍药两种药物以 1:1 配方研究对哮喘模型大鼠的治疗作用及血液细胞因子的变化,可以看出两种药物配方治疗 10 d 后,哮喘模型大鼠气管平滑肌逐步修复,气管炎症细

胞的浸润减少,打喷嚏、呼吸急促,烦躁攻击,毛发稀疏等症状明显减轻。血清细胞因子水平检测结果提示哮喘模型形成后,血清 IL-4,IL-6,IL-13 水平升高,而 IFN- $\gamma$  水平下降;治疗组血清 IL-4,IL-6,IL-13 水平治疗前和治疗后无明显变化,而 IFN- $\gamma$  水平治疗后 10 d 明显高于治疗前( $P < 0.05$ )。提示两种药物主要通过调节 IFN- $\gamma$  水平达到改变 Th1/Th2 比例失调作用,而对 Th2 细胞因子影响不明显。这与国内有些报道其他中药如黄芪、麻杏石甘汤对 Th1/Th2 两类细胞因子均有调节不一致<sup>[11-13]</sup>。至于五味子和芍药为什么以调节 IFN- $\gamma$  水平为主,还需要更多的实验研究进一步证实,也对我国的传统名方提供更多的科学诠释。

综上所述,五味子和芍药治疗哮喘模型大鼠疗效确切,血清细胞因子中以 IFN- $\gamma$  升高为主,机制尚不清楚还需要实验进一步明确。

**参考文献:**

[1] Mosmann TR,Cherwinski H,Bond MW,et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins[J]. J Immunol,1986,136(7):2348-2357.  
 [2] 尹静,黄永富. 炎性细胞因子在支气管哮喘发病机制中的作用[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(10):1087-1089.  
 [3] Guo CH,Chen PC,Hsia S,et al. The relationship of plasma aluminum to oxidant-antioxidant and inflammation status in asthma patients. Environ Toxicol(下转第 3490 页)

CVI 的前瞻性随机双盲对比研究表明,射频组比激光组术式更简便,引起皮肤灼伤明显减少。Shepherd 等<sup>[12]</sup>临床研究表明,虽然术后 6 周内射频组和激光组患者的临床表现无明显差异,但射频组患者术后疼痛明显减轻,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Almeida 等<sup>[13]</sup>回顾性分析发现,对比腔内激光治疗,射频治疗组在术后皮下瘀斑、疼痛明显减少,提高了患者的生活质量。Garcia-Madrid 等<sup>[14]</sup>对 153 例患肢行腔内射频治疗并随访 1 年,大隐静脉发生返流仅为 6.6%,无皮肤灼伤、患肢麻木及深静脉血栓等并发症发生。射频组比激光组术式更简便,引起皮肤灼伤明显减少。

综上所述,通过对比静脉腔内射频和传统手术治疗下肢 CVI 的临床研究表明,静脉腔内射频治疗具有创伤小、恢复快、并发症少、临床疗效确切的优点,有望取代传统手术治疗下肢 CVI 的趋势。由于静脉腔内射频治疗在国内临床应用时间尚短,其远期疗效需进一步临床探索。

#### 参考文献:

- [1] Płoński A, Łapiński R, Płoński A, et al. Varicose veins of lower—how to recognize and treat[J]. *Pol Merkur Lekarski*, 2012, 33(198):370-377.
- [2] Garcia-Madrid C, Pastor Manrique JO, Gomez-Blasco F, et al. Update on endovenous radio-frequency closure ablation of varicose veins[J]. *Ann Vasc Surg*, 2012, 26(2):281-291.
- [3] 沈利明. 下肢慢性静脉功能不全的射频治疗[J]. *苏州医学*, 2009, 32(1):27-30.
- [4] Rabe E, Pannier F. Clinical, aetiological, anatomical and pathological classification(CEAP): gold standard and limits[J]. *Phlebology*, 2012, 27(Suppl 1):S114-118.
- [5] Bergan JJ, Pascarella L. Severe chronic venous insufficiency: primary treatment with sclerof foam [J]. *Semin Vasc Surg*, 2005, 18(1):49-56.
- [6] Fischer R, Linde N, Duff C, et al. Late recurrent saphenofemoral junction reflux after ligation and stripping of the greater saphenous vein[J]. *J Vasc Surg*, 2001, 34(2):

236-240.

- [7] Fassiadis N, Kianifard B, Holdstock JM, et al. A novel approach to the treatment of recurrent varicose veins[J]. *Int Angiol*, 2002, 21(3):275-276.
- [8] 汪涛, 何旭, 顾建平. 下肢静脉曲张的微创治疗[J]. *介入放射学杂志*, 2008, 17(1):66-69.
- [9] Siribumrungwong B, Noorit P, Wilasrusmee C, et al. A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials comparing endovenous ablation and surgical intervention in patients with varicose vein[J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2012, 44(2):214-223.
- [10] Proebstle TM, Gul D, Kargl A, et al. Endovenous laser treatment of the lesser saphenous vein with a 940 nm diode laser: early results[J]. *Dermatol Surg*, 2003, 29(4):357-361.
- [11] Nordon IM, Hinchliffe RJ, Brar R, et al. A prospective double-blind randomized controlled trial of radiofrequency versus laser treatment of the great saphenous vein in patients with varicose veins[J]. *Ann Surg*, 2011, 254(6):876-881.
- [12] Shepherd AC, Gohel MS, Brown LC, et al. Randomized clinical trial of VNUS closure FAST radio frequency ablation versus laser for varicose veins[J]. *Br J Surg*, 2010, 97(6):810-818.
- [13] Almeida JJ, Kaufman J, Göckeritz O, et al. Radiofrequency endovenous closure FAST versus laser ablation for the treatment of great saphenous reflux: a multicenter, single-blinded, randomized study (recovery study)[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2009, 20(6):752-759.
- [14] Garcia-Madrid C, Pastor Manrique JO, Gomez Blasco F, et al. New advances in the treatment of varicose veins: endovenous radiofrequency VNUS closure [J]. *Cir Esp*, 2011, 89(7):420-426.

(收稿日期:2013-04-08 修回日期:2013-05-20)

(上接第 3487 页)

- Pharmacol[J], 2013, 35(1):30-38.
- [4] Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, et al. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180(5):388-395.
- [5] Richter C, Thieme S, Bandola J, et al. Generation of inducible immortalized dendritic cells with proper immune function in vitro and in vivo[J]. *PLOS One*, 2013, 8(4):e62621.
- [6] Rincon M, Irvin CG. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases[J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(9):1281-1290.
- [7] Ngoc PL, Gold DR, Tzianabos AO, et al. Cytokines, allergy, and asthma [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2005, 5(2):161-166.
- [8] 钟婕, 陈胜利, 许博, 等. 免疫状态及 Th1/Th2 型细胞因子在支气管哮喘患儿治疗前后的变化[J]. *海南医学院学*

报, 2012, 18(12):1695-1697.

- [9] Schuijs MJ, Willart MA, Hammad H, et al. Cytokine targets in airway inflammation[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(3):351-361.
- [10] 袁颖, 金素安, 何世民. 中药对 Th1/Th2 细胞因子平衡调节作用的研究进展[J]. *上海中医药杂志*, 2011, 45(5):90-93.
- [11] 裘燕飞, 王伟军. 黄芪对哮喘患儿外周血 Th1/Th2 平衡的影响[J]. *福建中医药*, 2012, 43(1):25-26.
- [12] 黎同明, 朱章志, 王桂香. 不同配比麻杏甘石汤对哮喘大鼠 Th1/Th2 类细胞因子分泌的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011, 13(8):200-203.
- [13] 杨仁旭, 代平, 彭波, 等. 麻杏芍药合剂对哮喘模型大鼠气道炎症的调控作用[J]. *中医杂志*, 2012, 53(21):1847-1851.

(收稿日期:2013-05-25 修回日期:2013-06-03)