

消风宣窍汤对 TDI 致过敏性鼻炎模型豚鼠血清 IL-5、IL-12 表达水平的影响

李 萌 魏肖云 汪受传

(南京中医药大学, 南京, 210029)

摘要 目的:观察消风宣窍汤对过敏性鼻炎豚鼠行为学及细胞因子的影响,以探讨其治疗机制。方法:40 只 Hartley 豚鼠随机分为正常组、模型组、消风宣窍汤组、氯雷他定组,每组 10 只。采用 10% 二异氰酸甲苯酯(TDI)橄榄油溶液致敏豚鼠建立过敏性鼻炎动物模型,灌胃治疗 1 周,观察豚鼠行为学变化,用 ELISA 法测定血清中细胞因子 IL-5、IL-12 含量。结果:消风宣窍汤能明显减轻豚鼠过敏性鼻炎鼻部过敏症状以及鼻黏膜上皮炎症细胞的浸润,对过敏性鼻炎豚鼠血清 IL-5 有显著的降低作用($P < 0.01$),对 IL-12 有显著的升高作用($P < 0.01$),两者呈负相关关系,并且效果优于开瑞坦组($P < 0.05$)。结论:消风宣窍汤治疗 AR 的机制可能是通过降低 IL-5 和升高 IL-12 水平实现的,提示 IL-5 和 IL-12 在 AR 发病机制中有重要作用。

关键词 消风宣窍汤;过敏性鼻炎;细胞因子;行为学

Effect of Xiaofeng Xuanqiao Decoction on Expression of Serum IL-5 and IL-12 in Allergic Rhinitis Models Induced by TDI

Li Meng, Wei Xiaoyun, Wang Shouchuan

(Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract Objective: To study the influence of Xiaofeng Xuanqiao decoction on behavior and cytokines in allergic rhinitis models, and explore the therapeutic mechanism. **Methods:** Forty guinea pigs were randomized into 4 groups, normal control group, allergic rhinitis (AR) group, Xiaofeng Xuanqiao decoction group, and loratadine group. Allergic rhinitis models of guinea pigs were made by 10% TDI. Xiaofeng Xuanqiao decoction and loratadine were applied to inAR guinea pigs. The serum levels of IL-5 and IL-12 were determined by ELISA methods. **Results:** Xiaofeng Xuanqiao decoction could obviously relieve the hypersensitivity and infiltrate the inflammatory cells on the nasal mucosa. The serum level of IL-5 in Xiaofeng Xuanqiao decoction group significantly decreased compared with that of AR group ($P < 0.01$), and the serum level of IL-12 in Xiaofeng Xuanqiao decoction group significantly increased ($P < 0.01$). There is a positive correlation between them. The therapeutic effect of Xiaofeng Xuanqiao decoction group was better than that of loratadine group. **Conclusion:** The therapeutic mechanism of Xiaofeng Xuanqiao decoction on allergic rhinitis is decreasing the level of IL-5 and increasing the level of IL-12, which suggests that IL-5 and IL-12 are important factors in the pathogenesis of AR.

Key Words Xiaofeng Xuanqiao decoction; Allergic rhinitis; Cytokine; Behavior

中图分类号:R-332;R285.5;R276.1

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.07.026

过敏性鼻炎(Allergic Rhinitis, AR)是儿科常见的呼吸道疾病,近年来发病率逐年增多,影响儿童的学习和生活质量。免疫学研究表明,体 T 细胞系列中的 Th 细胞及其分泌的细胞因子失衡在变应性鼻炎的发病中起重要作用^[1]。近年来相关的临床研究表明中医药治疗本病具有一定的优势^[2-3]。本研究从形态学及分子生物学角度观察消风宣窍汤对豚鼠 AR 模型的药理作用机制,以期为其临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物 幼年 Hartley 豚鼠 40 只,雌雄各半,体重(200±25)g,清洁级,由南京中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(苏)2007-0008。饲养条

件:室温(23±2)℃,相对湿度(60±5)%,自由摄取水和食物,单笼饲养,每笼 5 只,保持室内安静。适应性饲养 1 周后开始正式实验。

1.2 药品与试剂 消风宣窍汤按原方剂量要求,由南京中医药大学附属百草堂门诊中药房提供,分别加适量水,水煎 2 次,合并两次滤液并分别减压浓缩至生药浓度 2.1 g·mL⁻¹冷藏备用。开瑞坦(氯雷他定片)由上海先灵葆雅制药有限公司生产,规格:10 mg×6 片,国药准字:H10970410,批号:10KRXF1047,用蒸馏水溶解并稀释为 0.1 g·mL⁻¹。

二异氰酸甲苯酯(TDI)由大中原联合化学(郑州)有限公司生产,批号:20120901。橄榄油由国药集团化

基金项目:江苏高校优势学科建设工程资助项目-南京中医药大学中医一级学科“汪受传名师名医工作室”项目(编号:苏政办发[2011]6号)

作者简介:李萌(1987—),女,山东潍坊人,硕士研究生,研究方向:小儿肺系疾病

通信作者:汪受传(1946—),男,硕士学位,教授,博士生导师,主要研究方向:小儿肺脾系疾病研究、中医药标准化研究, E-mail: wscnj@126.com

(图 2); 消风宣窍汤组见纤毛增生, 排列较整齐(图 3); 开瑞坦组见纤毛部分脱落、变稀, 但较模型组稍好(图 4)。

2.3 血清 IL-5、IL-12 的变化 与正常组相比, 模型组的 IL-5 水平显著上升($P < 0.01$); 与模型组相比, 消风宣窍汤组与开瑞坦组 IL-5 水平较模型组显著下降($P < 0.01$); 与正常组比较, 模型组的 IL-12 水平显著下降($P < 0.01$), 与模型组相比, 消风宣窍汤组 IL-12 水平较模型组显著上升($P < 0.01$), 开瑞坦组 IL-12 水平较模型组明显上升($P < 0.05$)。(见表 4)

表 4 用药后各组症状累计总积分及血清 IL-5、IL-12 水平变化($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	症状总积分	IL-5 (ng/mL)	IL-12 (pg/mL)
正常组	10	0.125 ± 0.3536	33.333 ± 3.252	17.029 ± 1.003
模型组	7	6.429 ± 0.976 ^{△△}	61.653 ± 0.621 ^{△△}	8.100 ± 1.538 ^{△△}
消风宣窍汤组	8	3.250 ± 1.708 ^{**}	37.003 ± 1.094 ^{**}	14.648 ± 1.497 ^{**}
开瑞坦组	7	4.857 ± 1.069	43.973 ± 11.590 ^{**}	10.584 ± 0.582 [*]

注: 与正常对照组比较, ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

2.4 IL-5 和 IL-12 相关性 采用 Person 秩相关检验, $r = -0.867$, $P = 0.000$, 说明此两项指标呈负相关关系。

3 讨论

AR 属于中医学“鼻鼽”范畴, 以鼻痒、阵发性喷嚏、大量清水样鼻涕和鼻塞为主要临床表现。传统观念认为本病的发生与外界因素密切相关, 内因以脏腑虚损为主, 但与个人禀赋体质有关^[4]。汪受传教授认为, 在小儿鼻鼽的发病中, 风邪是主要的致病邪气, 风痰束窍为其主要病机^[5]。临证中善用风药治疗本病, 消风宣窍汤是汪受传教授治疗小儿鼻鼽的有效验方, 由炙麻黄、桂枝、防风、辛夷、苍耳子、五味子、乌梅、胆南星、广地龙等组成, 具有消风化痰、宣肺利窍之功效。该方具有中医理论及现代药理基础^[6], 临床疗效确切。本课题组前期研究表明消风宣窍汤干预后能降低 AR 豚鼠血清 IL-6、IL-17 水平, 从而减少炎症细胞的浸润和活化, 抑制 IgE 的合成与分泌^[7]。

本文参照文献方法建立了豚鼠 TDI 变应性鼻炎模型, 动物出现抓鼻挠面、喷嚏、鼻黏膜充血肿胀、炎症细胞浸润等表现, 消风宣窍汤干预后能明显改善上述症状, 并减轻鼻黏膜病理改变, 结果与文献报道基本一致^[8]。但本次 TDI 造模方法豚鼠死亡率较高, 考虑与药物剂量过大及豚鼠幼小不能耐受有关。本研究表明, 消风宣窍汤能明显降低豚鼠 TDI AR 模型症状评分和减轻鼻黏膜病理程度, 表明消风宣窍汤对 AR 可能具有一定治疗作用。

现代医学认为, AR 是机体在特异性变应原的诱导下发生的 I 型变态反应性疾病。目前认为 T 辅助细胞 (Th) 及相关细胞因子产物在 AR 的发生发展中起关键作用。Th1/Th2 细胞免疫失衡可能是导致 AR 发病的重要免疫学基础, 即 Th2 主导的炎症性疾病^[9], 表现为 Th1 细胞分泌的 IFN- γ /TNF- β 和 IL-12 等减少, 对变态反应的负向调节作用减弱; Th2 细胞分泌的 IL-4、IL-5 和 TGF- β 等增加, 对变态反应起到正向调节作用, 导致炎症发生^[10]。IL-12 主要由单核细胞产生, 作为 Th1 细胞重要的细胞因子, IL-12 具有多功能的免疫调节作用, 与 AR 发生发展密切相关, 能抑制特异性 IgE 的产生, 在各个环节对 AR 发病都可能起到一定的调节作用^[11], IL-12 在 Th 细胞亚群的分化中起着关键作用^[12], 可有效抑制或逆转 Th 细胞向 Th2 细胞亚群的分化, 是抗呼吸道变态反应性疾病的重要因素^[13], 并可直接抑制多种 Th2 型细胞因子如 IL-4、IL-5、IL-10 等生成, 促进 Th1 型细胞因子 IFN- γ 及 IL-2 产生, 增强 Th1 细胞的免疫应答, 被认为是促使 T 辅助细胞向 Th1 分化的始动因素^[14]。IL-5 是由 T 细胞、单核细胞、血管内皮细胞和成纤维细胞等产生, 可协同 IL-4 刺激 B 细胞合成 IgE, 被认为是嗜酸性粒细胞 (EOS) 重要的活化因子。所以降低 IL-5 含量、升高 IL-12 含量是治疗 AR 有效途径之一^[15]。本研究通过检测各组豚鼠血清 IL-5、IL-12 含量的变化, 发现消风宣窍汤干预后, Th2 细胞因子 IL-5 水平较模型组明显下降, Th1 细胞因子 IL-12 水平较模型组明显升高, 且差异有统计学意义。提示消风宣窍汤可能诱导 Th1 细胞分化、成熟, 促进其细胞因子 IL-12 的表达, 抑制 Th2 细胞分化、成熟及其细胞因子 IL-5 的产生; 促进 Th1/Th2 细胞趋向平衡, 对 AR 产生治疗作用。

本研究还显示, 随着血清 IL-5 水平的下降, IL-12 水平则呈逐渐升高趋势, 无论是模型组还是给药干预组, 两者之间存在明显的负相关关系, 但是中医药治疗本病的机理是多靶点多效应的, 本次所检测的指标仅是其治疗机制的一个方面, 消风宣窍汤对 AR 豚鼠免疫功能调节的具体机制尚有很多问题不清楚, 有待于进一步研究和探索。

参考文献

- [1] 魏欣. 变应性鼻炎的发病机制[J]. 海南医学, 2011, 22(10): 8-12.
- [2] 王道涵. 儿童过敏性鼻炎验案 3 例[J]. 世界中医药, 2009, 4(4): 201.
- [3] 郑健, 罗海燕, 褚克丹, 等. 中医外治法治疗小儿变应性鼻炎 30 例[J]. 世界中医药, 2010, 5(4): 257-258.

- [4] 张静, 张亚男, 张纾难. 张纾难教授治疗过敏性鼻炎经验[J]. 世界中医药, 2014, 9(3): 345-346.
- [5] 李萌, 徐珊, 汪受传. 汪受传教授从伏风论治小儿鼻鼽经验[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(11): 3278-3280.
- [6] 李萌, 戴启刚, 汪受传. 汪受传教授治疗小儿鼻鼽药对经验[J]. 中医儿科杂志, 2013, 9(2): 1-2.
- [7] 李萌, 汪受传, 魏肖云. 变应性鼻炎豚鼠血清 IgE 和 IL-6、IL-17 的变化及消风宣窍汤的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 167-170.
- [8] 赵秀杰, 董震, 杨占泉, 等. 鼻超敏反应实验模型的建立[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1993, 28(1): 17.
- [9] Agrawal DK, Shao Z. Pathogenesis of allergic airway inflammation[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2010, 10(1): 39-48.
- [10] Seavuzzo MC, Recchi V, Fattori B, et al. Cytokine secretion in nasal mucus of normal subjects and patients with allergic rhinitis[J]. Biomed Pharmacother, 2003, 57(8): 366-371.
- [11] CHUNG F. Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-gamma[J]. Mediators Inflamm, 2001, 10(6): 51-59.
- [12] TILL SJ, DURHAM SR, RAJAKULASINGAM K, et al. Allergen-induced proliferation and interleukin-5 production by bronchoalveolar lavage and blood T cells after segmental allergen challenge[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 158(6): 404-411.
- [13] ZHAO LL, LIDEN A, SJUSTRANG, et al. IL-12 regulates bone marrow eosinophilia and airway eosin levels induced by airway allergen exposure[J]. Allergy, 2000, 55(5): 749-756.
- [14] 彭华陈, 勇挺, 汪建, 等. 白介素 4 与白介素 12 在变应性鼻炎、哮喘和特应性皮炎中的表达及意义[J]. 广东医学, 2010, 31(6): 727-728.
- [15] 利彦华, 张新日, 亚生江, 等. 欧博鼻炎冲剂对变应性鼻炎大鼠总 IgE、Th2 细胞因子活性的影响[J]. 陕西中医, 2012, 33(3): 369-370.

(2013-12-23 收稿 责任编辑: 曹柏)

(上接第 918 页)

- [3] EOM S Y, JUNG U S, KIM J H, et al. Cosmetic composition for decreasing wrinkles comprising betulin: KR, 2003067545[P]. 2003-08-14.
- [4] Pavlova N I, Savinova O V, Nikolaeva S N. Antiviral activity of betulin, betulinic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses[J]. Fitoterapia, 2003, 74: 489-491.
- [5] 李丹, 周金培, 吴晓明. 白桦酸及其衍生物的研究进展[J]. 药物化学, 2004, 28(3): 120-125.
- [6] Alakurti S, Kakela T, Koskimies S, et al. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006, 29: 1-13.
- [7] Mullauer FB, van Bloois L, Daalhuisen JB, et al. Betulinic acid delivered in liposomes reduces growth of human lung and colon cancers in mice without causing systemic toxicity[J]. Anticancer Drugs, 2011, 22(3): 223-233.
- [8] Cichewicz RH, Kouzi SA. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulonic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection[J]. Med Res Rev, 2004, 24(1): 90-114.
- [9] Wing-Keung L, Joyce C K H, Florence W K C, et al. Apoptotic activity of betulonic acid derivatives on murine melanoma B16 cell line[J]. Eur J Pharmacol, 2004, 498: 71-78.
- [10] 叶银英, 何道伟, 叶文才. 23-羟基白桦酸体外和体内抗黑色素瘤作用的研究[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2000, 7(1): 5-7.
- [11] Valentia Z, Rosanna S, Sabina C. Selective cytotoxicity of betulonic acid on tumor cell lines, but not on normal cells[J]. Cancer Lett, 2002, 175(1): 17-25.
- [12] Sonia L. Holz-Smith, I-Chen Sun, et al. Role of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 envelope in the anti-HIV activity of the betulonic acid derivative IC 9564[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(1): 60-66.
- [13] 倪明宇. 桦木酸的抗肿瘤作用及其诱导 KB 细胞凋亡的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 1(23): 38-42.
- [14] Kim DSHL, Chen Z, Nguyen V T, et al. A concise semi-synthetic approach to betulonic acid from betulin[J]. Synth Commun, 1997, 27: 1607-1612.
- [15] 张泽. 高效液相色谱法测定白桦树皮中的白桦脂醇含量[J]. 林产化学与工业, 2004, 1(24): 61-63.
- [16] 祁逸梅. 长白山白桦树皮中白桦脂醇的提取、衍生化及生物活性研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2005.
- [17] 蔡唯佳, 马云青, 祁逸梅, 等. 白桦脂醇对食管癌细胞 109 的抑制作用[J]. 癌变畸变突变, 2006, 18(1): 16-18.
- [18] 韩淑英, 吴子忠, 熊建新. 桦树皮提取物对荷瘤小鼠免疫抑癌效应的研究[J]. 中成药, 2002, 24(3): 199-201.
- [19] YI JE, Dbminska-Mrukowicz B, Yuan LY, et al. Immunomodulatory effects of betulonic acid from the bark of white birch on mice[J]. J Vet Sci, 2010, 11(4): 305-313.
- [20] 杨贵贞. 免疫学纲要[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2002: 55-56.
- [21] Janeway CA. Immunobiology[M]. 4th, chapter 8. Current Biology Publications, 1999: 263-305.

(2013-12-11 收稿 责任编辑: 曹柏)