

小青龙汤对单纯型和复合型变应性鼻炎豚鼠模型 Th1/Th2 失衡的影响

纪雯婷 潘利叶 刘 敏 范盎然 于 雪 胡京红

(北京中医药大学,北京,100029)

摘要 目的:建立单纯型和肾阳虚复合型 2 种不同变应性鼻炎模型,探讨小青龙汤对 2 种变应性鼻炎模型 Th1/Th2 失衡作用的异同。方法:将 105 只雄性豚鼠随机分 7 组,每组 15 只:空白对照组(A 组),单纯模型对照组(B1 组),小青龙汤干预单纯模型组(B2 组),息斯敏干预单纯模型组(B3 组),肾阳虚复合模型对照组(C1 组),小青龙汤干预肾阳虚复合模型组(C2 组),息斯敏干预肾阳虚复合模型组(C3 组)。B1、B2、B3 组进行单纯变应性鼻炎造模;C1、C2、C3 组在单纯变应性鼻炎的模型上进行肾阳虚复合模型造模。造模成功后,模型组进行用药观察,记录各组局部过敏反应;ELISA 法(酶联免疫吸附试验法)检测血清中 IFN- γ 、IL-4、IL-2 和 IL-10 等细胞因子含量;荧光定量 PCR 法测脾组织中 IFN- γ mRNA、IL-4 mRNA、T-bet mRNA、GATA-3 mRNA 等转录因子的相对含量。结果:变应性鼻炎单纯模型和肾阳虚复合模型均出现 IFN- γ 降低($P < 0.01$),IL-4 升高($P < 0.01$),IFN- γ /IL-4 比值降低($P < 0.01$),IFN- γ mRNA 降低($P < 0.01$),IL-4 mRNA 升高($P < 0.01$),IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值降低($P < 0.01$),T-bet mRNA 降低($P < 0.01$),但可使 GATA-3 mRNA 升高($P < 0.01$),因而 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值也相对降低($P < 0.01$)。小青龙汤可使单纯模型 IFN- γ 升高($P < 0.01$),IL-4 降低($P < 0.01$),IFN- γ /IL-4 比值升高($P < 0.01$);升高 IFN- γ mRNA($P < 0.01$),降低 IL-4 mRNA($P < 0.01$),使 IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值升高($P < 0.01$);使 T-bet mRNA 升高($P < 0.01$),但可使 GATA-3 mRNA 降低($P < 0.01$),从而使 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值也相对升高($P < 0.01$)。小青龙汤可降低肾阳虚复合模型中 IL-4 的含量($P < 0.01$),对 IFN- γ 作用不明显,升高 IFN- γ /IL-4 比值($P < 0.01$);可使 IFN- γ mRNA 升高($P < 0.01$),但对 IL-4 mRNA 变化不大,IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值升高($P < 0.01$);对 T-bet mRNA 作用不明显,但可使 GATA-3 mRNA 降低($P < 0.05$),因而 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值也相对升高($P < 0.01$)。结论:小青龙汤通过调节 IFN- γ /IL-4 比值、IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值和 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值,来调节 Th1/Th2 平衡,对单纯变应性鼻炎模型的过敏反应的改善更为明显。

关键词 小青龙汤;Th1/Th2;变应性鼻炎

Different Functions of Xiaoqinglong Decoction of Regulating the Imbalance of Th1/Th2 in the Simple Type of Allergic Rhinitis Model and the Complex Type

Ji Wenting, Pan Liye, Liu Min, Fan Angran, Yu Xue, Hu Jinghong

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To establish the simple type of allergic rhinitis model and the complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model, and to study the different effects of Xiaoqinglong decoction on the two models of allergic rhinitis, evaluating the difference functions of correcting the imbalance of Th1/Th2. **Methods:** The simple type of allergic rhinitis model was induced with ovalbumin (OVA) in guinea pigs. Based on this, the complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model was established with hydroxyurea administration. Both of the two models were evaluated by observing the weight, survival state and local allergic reaction of guinea pigs, testing the contents of INF- γ , IL-4, IL-2 and IL-10 cytokine in serum by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), and carrying on real-time fluorescence quantitative PCR method for measuring the relative content of IFN- γ mRNA, IL-4 mRNA, T-bet mRNA and GATA-3 mRNA in spleen tissue. **Results:** In all models, IFN- γ was reduced, IL-4 increased and the ratio of IFN- γ /IL-4 reduced. In the simple type of allergic rhinitis model, Xiaoqinglong decoction could increase IFN- γ and reduce IL-4, increasing the ratio of IFN- γ /IL-4. As to the complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model, the effect on IFN- γ was not obvious. Xiaoqinglong decoction could reduce the IL-4 so that the ratio of IFN- γ /IL-4 of both was reduced, as well as IFN- γ mRNA and IL-4 mRNA was increased. Xiao Qinglong decoction could increase IFN- γ mRNA and decrease IL-4 mRNA in both Simple type of allergic rhinitis model and complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model, so that it made the ratio of IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA increased, and the role in simple type of allergic rhinitis model was more obvious. Both the simple type of allergic rhinitis model and the complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model were found T-bet mRNA decreased, GATA-3 mRNA increased, and the ratio of T-bet mRNA/GATA-3 mRNA decreased. Xiaoqinglong decoction

基金项目:国家自然科学基金项目(81202728);北京中医药大学自主课题(2016-JYB-JSMS-001;2016-JYB-XS011)

作者简介:纪雯婷(1990.10—),女,在读研究生,研究方向:中医临床基础

通信作者:刘敏(1978.04—),女,博士,副教授,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:经方防治常见病、疑难病研究。E-mail:liumin78@126.com

could increase T-bet mRNA and reduce the GATA-3 in the simple type of allergic rhinitis model and thus the ratio of T-bet mRNA/GATA-3 mRNA was increased. In the complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model, Xiaoqinglong decoction had no obvious effect on T-bet mRNA, but it also could reduce the GATA-3 mRNA, increasing the ratio of T-bet mRNA/GATA-3 mRNA. **Conclusion:** Xiaoqinglong decoction can significantly improve the local allergic reaction of the simple type of allergic rhinitis model, but has relatively small effect on the complex type of kidney yang deficiency of allergic rhinitis model. Xiaoqinglong decoction regulates the balance of Th1/Th2 by increasing the ratio of IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA and T-bet mRNA/GATA-3 mRNA. Also, it has more obvious effect on the simple type of allergic rhinitis model.

Key Words Xiaoqinglong decoction; Models of allergic rhinitis; Th1/Th2; Allergic rhinitis

中图分类号: R259; R289.3 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.07.039

变应性鼻炎 (Allergic Rhinitis, AR) 全球发病近年来呈现急剧上升的趋势, 临床主要表现为鼻痒、喷嚏、流涕、遇寒而犯等症。中医学者在面对人类疾病时, 进行临床辨治的入手与着眼点是证候, 而不仅仅是疾病, 这是中医学与现代医学的不同之处, 是中医学的特色, 更是其优势。根据中医理论, 变应性鼻炎的证候属性当为肾阳虚损、外受风寒之证。中医认为其属于“鼻鼽”范畴, 小青龙汤外散寒邪、内化水饮, 为临床干预变应性鼻的常用方和代表方^[1-3]。在实验室研究中, 我们一方面要挖掘阐明小青龙汤发挥抗过敏效应治疗过敏性鼻炎的药理机制与作用靶点, 另一方面, 观察评价本方疗效是否对证型具有选择性亦具有十分重要的意义。本研究拟通过观察该方对单纯型和肾阳虚复合型 2 种变应性鼻炎动物模型的过敏症状和调节 Th1/Th2 平衡的影响, 评价该方对不同模型组的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选用 3~4 月龄 SPF 级雄性豚鼠 105 只, 体重 300~350 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.1.2 试剂 卵清蛋白 (OVA), 购自 Sigma-Aldrich (上海) 贸易有限公司 (货号 A5503); 氢氧化铝佐剂, 40 mg/mL, 购自北京百诺威生物科技有限公司 (货号 PI77161); 羟基脲片, 由山西远景康业制药有限公司生产 (批号 20140101); 中药饮片, 购自北京中医药大学国医堂; IFN- γ ELISA 试剂盒 (SEA033Gu)、IL-4 ELISA 试剂盒 (SEA077Gu) 购于武汉优而生商贸有限公司, RNA 快速提取试剂盒 (74104) 购于德国 Qiagen 公司, RNA 逆转录试剂盒 (K1622) 购于美国 Thermo Scientific 公司, 引物 (IFN- γ mRNA, IL-4 mRNA, T-bet mRNA, GATA-3 mRNA) 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司设计及生产。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将 105 只雄性豚鼠随机分 7 组, 每组 15 只: 空白对照组 (A 组), 单纯模型对照组 (B1 组), 小青龙汤干预单纯模型组 (B2 组), 息斯敏干预单纯模型组 (B3 组), 肾阳虚复合模型对照组 (C1 组), 小青龙汤干预肾阳虚复合模型组 (C2 组), 息斯敏干预肾阳虚复合模型组 (C3 组)。适应性饲养 7 d 后进行造模。

造模^[4-6]与给药: 单纯模型造模组 (B1 组、B2 组、B3 组): 每只动物给予卵清蛋白 (OVA) 0.9 mg + 铝佐剂 0.3 mL 混悬液, 腹腔内注射, 隔日 1 次, 共 7 次。腹腔注射完成后第 2 天, 行被动皮肤过敏试验 (PCA), 确定 OVA IgE 抗体升高后, 将 OVA 8 mg + 生理盐水 20 μ L 用微量加样器滴入双侧鼻腔, 每侧 10 μ L, 1 次/d, 共 7 次激发。

造模成功后, 小青龙汤干预单纯模型组 (B2) 给予药液 0.5 mL/d, 息斯敏干预单纯模型组 (B3) 给予息斯敏 50 μ g + 0.5 mL 生理盐水。单纯模型对照组 (A 组) 则给予等量生理盐水。每天 1 次灌胃给药, 共 14 d。肾阳虚复合模型造模组 (C1 组、C2 组、C3 组): 在单纯模型造模的基础上, 同时给予羟基脲混悬液灌胃, 剂量为 300 mg/kg + 0.5 mL 生理盐水, 每天 1 次灌胃造模, 共 14 d。小青龙汤干预肾阳虚复合模型组 (C2 组) 给予药液 0.5 mL/d, 息斯敏干预肾阳虚复合模型组 (C3 组) 给予 50 μ g + 0.5 mL 生理盐水, 肾阳虚复合模型对照组 (C1 组) 给予等量生理盐水。每天 1 次灌胃给药, 共 14 d。空白对照组 (A 组): 造模过程与治疗过程均给予生理盐水。

1.2.2 中药汤剂制备 小青龙汤 (成人常用量): 麻黄 9 g、桂枝 6 g、白芍 9 g、细辛 3 g、五味子 3 g、干姜 3 g、半夏 9 g、甘草 6 g。换算成豚鼠用量的 2 倍, 按传统方法煎煮, 并浓缩, 生药浓度约 2.51 g/mL。

1.2.3 观察与检测 1) 动物的一般生命体征^[7]: 每日观察记录动物的一般外观症状, 如消瘦、体重下降或生长发育缓慢, 毛松、竖毛、毛发无光泽, 摄食减

少,自主活动减少,蜷缩,精神萎靡,呼吸急促等。以上症状出现四项为肾阳虚模型组成功。2)过敏反应行为学评分^[8-9]:给卵清蛋白致敏后,动物鼻部逐渐出现擦鼻、喷嚏、流涕等过敏症状,滴鼻激发后症状明显增加。每次滴鼻后 20 min 内,将上述行为记录并作出评分,总分达 5 分者为过敏模型组成功。标准如表 1。

表 1 过敏反应行为评分标准

表现	1 分	2 分	3 分
擦鼻	0~5 次	>6 次	—
喷嚏	0~3 次	4~10 次	11 次以上
流涕	鼻孔内	流出鼻孔外	涕流满面

将动物麻醉后,行腹主动脉取血,然后离心取血清,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中 IL-10、IL-2、FN- γ 和 IL-4 等细胞因子含量。剥取脾脏后,进行 RNA 提取、逆转录,实时荧光定量 PCR 检测脾组织中 IFN- γ mRNA、IL-4 mRNA、T-bet mRNA、GATA-3 mRNA 等转录因子的相对含量。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小青龙汤对 2 种模型过敏行为评分的影响

与空白对照组比较,单纯模型组(B 组)和肾阳虚复合模型组(C1 组)的过敏行为评分明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。药物干预后,与空白对照组比较,各组仍存在过敏行为,但小青龙汤可以使单纯模型过敏评分降低($P < 0.01$)(B2 组),但对肾阳虚复合模型过敏评分无影响($P > 0.05$)(C2 组)。

2.2 小青龙汤对 2 种模型 IFN- γ 、IL-4 及 IFN- γ /IL-4 的影响 与空白对照组比较,单纯模型对照组(B1 组)和肾阳虚复合模型对照组(C1 组)IFN- γ 降低,IL-4 升高,IFN- γ /IL-4 比值降低,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。

与单纯模型对照组(B1 组)比较:小青龙汤干预单纯模型组(B2 组)IFN- γ 升高($P < 0.01$),IL-4 降低($P < 0.01$),IFN- γ /IL-4 的比值升高($P < 0.01$);息斯敏干预单纯模型组(B3),IFN- γ 升高($P < 0.01$),IL-4 降低($P < 0.01$)IFN- γ /IL-4 的比值升高($P < 0.01$)。

与肾阳虚复合模型对照组(C1 组)比较:小青龙汤干预肾阳虚复合模型组(C2 组)IFN- γ 无明显变化,IL-4 降低($P < 0.01$),IFN- γ /IL-4 比值升高($P < 0.01$);息斯敏干预单纯模型组(B3),IFN- γ 升高($P < 0.01$),IL-4 降低($P < 0.01$)IFN- γ /IL-4 的比值升高($P < 0.01$)。见表 3。

2.3 小青龙汤对 2 种模型 IL-2 与 IL-10 的影响

与空白组比较,其他组 IL-10 的含量明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);IL-2 含量无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与单纯模型对照组(B1 组)比较,小青龙汤干预单纯模型组(B2 组)和息斯敏干预单纯模型组(B3 组)的 IL-10 的含量无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与肾阳虚复合模型对照组(C1 组)比较,小青龙汤干预肾阳虚复合模型组(C2 组)和息斯敏干预肾阳虚复合模型组(C3 组)IL-10 的含量无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 2 小青龙汤对 2 种模型过敏行为评分的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	只数	干预前	干预后
A 组	15	1.00 $\pm$ 0.76	0.00 $\pm$ 0.00
B1 组	15	4.89 $\pm$ 0.60 **	5.11 $\pm$ 1.05 **
B2 组	15	4.36 $\pm$ 0.67 **	1.09 $\pm$ 0.83 **▲▲
B3 组	15	4.33 $\pm$ 0.78 **	1.0 $\pm$ 0.78 **▲▲
C1 组	15	5.07 $\pm$ 0.83 **	5.14 $\pm$ 0.77 **
C2 组	15	4.44 $\pm$ 0.53 **	4.44 $\pm$ 1.01 **
C3 组	15	4.58 $\pm$ 0.79 **	1.58 $\pm$ 0.99 **△△

注:滴鼻激发后,第 5,6,7 天,各组动物的过敏反应表现较稳定,比较 3 d 的平均评分;与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阳虚复合模型对照组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与单纯模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

表 3 小青龙汤对 2 种模型 IFN- γ 、IL-4 及 IFN- γ /IL-4 的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	只数	IFN- γ (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IFN- γ /IL-4
A 组	15	191.09 $\pm$ 11.14	119.06 $\pm$ 6.75	1.61 $\pm$ 0.05
B1 组	15	136.90 $\pm$ 14.07 **△	173.07 $\pm$ 7.97 **△△	0.79 $\pm$ 0.06 **△△
B2 组	15	193.15 $\pm$ 11.95 ▲▲	129.77 $\pm$ 12.38 ▲▲	1.49 $\pm$ 0.07 **▲▲
B3 组	15	184.28 $\pm$ 16.44 ▲▲	123.40 $\pm$ 13.81 ▲▲	1.50 $\pm$ 0.08 **▲▲
C1 组	15	156.87 $\pm$ 5.28 **▲	146.15 $\pm$ 8.81 **▲▲	1.08 $\pm$ 0.06 **▲▲
C2 组	15	153.35 $\pm$ 20.12 **	114.50 $\pm$ 15.76 △△	1.30 $\pm$ 0.08 **△△
C3 组	15	201.38 $\pm$ 12.96 △△	125.55 $\pm$ 10.66 △△	1.61 $\pm$ 0.12 △△

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阳虚复合模型对照组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与单纯模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

表 4 小青龙汤对 2 种模型 IL-2、IL-10 的影响($\bar{x} \pm s$)			
分组	只数	IL-10 (pg/mL)	IL-2 (pg/mL)
A 组	15	4.34 $\pm$ 2.15	79.13 $\pm$ 27.26
B1 组	15	29.46 $\pm$ 35.69 *	95.17 $\pm$ 63.15
B2 组	15	49.47 $\pm$ 49.10 **	82.69 $\pm$ 33.73
B3 组	15	61.73 $\pm$ 67.0214 **	89.27 $\pm$ 38.95
C1 组	15	11.81 $\pm$ 7.43 *	67.92 $\pm$ 22.36
C2 组	15	14.96 $\pm$ 11.53 **	62.97 $\pm$ 28.76
C3 组	15	21.82 $\pm$ 22.30 *	76.97 $\pm$ 29.95

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阳虚复合模型对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与单纯模型组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ 。

2.4 小青龙汤对 2 种模型 IFN- γ mRNA、IL-4 mRNA 和 IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 的影响 与空白组比较,单纯模型对照组(B1 组)和肾阳虚复合模型对照组(C1 组)IFN- γ mRNA 降低,IL-4 mRNA 升高,IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值降低,其差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

与单纯模型对照组(B1 组)比较,小青龙汤干预单纯模型组(B2 组)与息斯敏干预单纯模型组(B3 组)的 IFN- γ mRNA 均升高($P < 0.01$),IL-4 mRNA 均降低($P < 0.01$),IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值均升高($P < 0.01$)。

与肾阳虚复合模型对照组(C1 组)比较:小青龙汤干预肾阳虚复合模型组(C2 组)的 IFN- γ

mRNA 升高($P < 0.01$),IL-4 mRNA 变化不大,IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值升高($P < 0.01$);息斯敏干预单纯模型组(B3 组)IFN- γ mRNA 升高($P < 0.01$),IL-4 mRNA 降低($P < 0.01$),IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值升高($P < 0.01$)。见表 5。

2.5 小青龙汤对 2 种模型 T-bet mRNA、GATA-3 mRNA 和 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 的比值的影响 与空白组比较,单纯模型对照组(B1 组)和肾阳虚复合模型对照组(C1 组)T-bet mRNA 降低,GATA-3 mRNA 升高,T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值降低,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。

与单纯模型对照组(B1 组)比较,小青龙汤干预单纯模型组(B2 组)与息斯敏干预单纯模型组(B3 组)T-bet mRNA 升高($P < 0.01$),GATA-3 mRNA 均显著降低(B2 组 $P < 0.01$),T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 均比值升高($P < 0.01$)。

与肾阳虚复合模型对照组(C1 组)比较:小青龙汤干预肾阳虚复合模型组(C2 组)T-bet mRNA 无明显变化,GATA-3 mRNA 降低($P < 0.05$),T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值升高($P < 0.01$);息斯敏干预单纯模型组(B3)T-bet mRNA 升高($P < 0.01$),GATA-3 mRNA 降低($P < 0.01$),T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值升高($P < 0.01$)。见表 6。

表 5 小青龙汤对 2 种模型 IFN- γ mRNA、IL-4 mRNA 及 IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 的影响($\bar{x} \pm s$)				
分组	只数	IFN- γ mRNA	IL-4 mRNA	IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA
A 组	15	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
B1 组	15	0.65 $\pm$ 0.11 * $\Delta\Delta$	5.52 $\pm$ 1.28 ** $\Delta\Delta$	0.12 $\pm$ 0.03 **
B2 组	15	0.89 $\pm$ 0.09 * $\blacktriangle\blacktriangle$	1.81 $\pm$ 0.30 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	0.50 $\pm$ 0.07 ** $\blacktriangle\blacktriangle$
B3 组	15	0.83 $\pm$ 0.07 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	1.51 $\pm$ 0.14 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	0.55 $\pm$ 0.07 ** $\blacktriangle\blacktriangle$
C1 组	15	0.48 $\pm$ 0.07 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	3.57 $\pm$ 1.01 ** $\blacktriangle$	0.14 $\pm$ 0.04 **
C2 组	15	0.63 $\pm$ 0.14 ** $\Delta\Delta$	2.41 $\pm$ 0.40 **	0.27 $\pm$ 0.09 ** $\Delta\Delta$
C3 组	15	0.84 $\pm$ 0.09 ** $\Delta\Delta$	1.40 $\pm$ 0.07 ** $\Delta\Delta$	0.60 $\pm$ 0.09 ** $\Delta\Delta$

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阳虚复合模型对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与单纯模型组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ 。

表 6 小青龙汤对 2 种模型 T-bet mRNA、GATA-3 mRNA 及 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 的影响($\bar{x} \pm s$)				
分组	只数	T-bet mRNA	GATA-3 mRNA	T-bet mRNA/GATA-3 mRNA
A 组	15	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
B1 组	15	0.59 $\pm$ 0.08 ** Δ	5.69 $\pm$ 1.09 ** $\Delta\Delta$	0.10 $\pm$ 0.01 ** Δ
B2 组	15	0.96 $\pm$ 0.15 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	1.90 $\pm$ 0.76 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	0.51 $\pm$ 0.10 ** $\blacktriangle\blacktriangle$
B3 组	15	0.82 $\pm$ 0.04 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	1.98 $\pm$ 0.41 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	0.43 $\pm$ 0.09 ** $\blacktriangle\blacktriangle$
C1 组	15	0.47 $\pm$ 0.10 ** $\blacktriangle$	3.45 $\pm$ 0.66 ** $\blacktriangle\blacktriangle$	0.14 $\pm$ 0.03 ** $\blacktriangle$
C2 组	15	0.52 $\pm$ 0.08 **	2.62 $\pm$ 0.20 ** Δ	0.20 $\pm$ 0.03 ** $\Delta\Delta$
C3 组	15	0.88 $\pm$ 0.06 ** $\Delta\Delta$	1.91 $\pm$ 0.12 ** $\Delta\Delta$	0.46 $\pm$ 0.05 ** $\Delta\Delta$

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阳虚复合模型对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与单纯模型组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ 。

3 讨论

变应性鼻炎以喷嚏频发、鼻塞清涕、易受寒引发并反复发作作为临床主症,根据中医理论当辨为肾阳虚损、外受风寒之证^[10-11]。在实际临床过程中,会由于患者个体差异或者所处病程阶段不同而表现为阳虚与感寒 2 个方面侧重不同。小青龙汤出自《伤寒论》,其功效为解表散寒、蠲化水饮。当变应性鼻炎发作,以风寒外束、水饮内停为临床主要证型时,小青龙汤是其常用经方^[12-13]。

实验研究中,学者常采用 OVA 进行致敏诱导以建立变应性鼻炎模型,该模型可以表现出鼻痒鼻塞、喷嚏鼻涕等症状。从中医角度进行辨识,该模型体现其外感风寒的一面,但肾阳虚的病机特点在 OVA 模型中体现不突出。本研究中,我们利用 OVA 致敏诱发建立了单纯型变应性鼻炎模型。并在此基础上以羟基脲作为肾阳虚诱导剂建立了肾阳虚型变应性鼻炎复合模型。羟基脲是一种核苷酸还原酶抑制剂,可抑制 DNA 的合成,并可抑制核酸代谢,使得脂肪、蛋白质、能量代谢下降,出现一系列虚损的表现。

本研究提示,单纯模型组表现出擦鼻、喷嚏、流涕等局部过敏症状,而肾阳虚复合模型在此基础上还出现毛发枯槁疏松、堆叠,摄食及活动减少,蜷缩、消瘦,精神萎靡甚至呼吸急促,死亡等一系列症状和体征,提示肾阳虚复合过敏模型造模成功。另外,从各组过敏评分可以看出,单纯模型组鼻部过敏评分升高,而肾阳虚复合模型组过敏评分升高更为明显,表明过敏严重程度与肾阳虚之间存在相关性。2 种模型动物给予小青龙汤灌胃治疗后,单纯模型组的过敏症状可以得到明显改善,而肾阳虚复合模型症状缓解并不明显。临证过程中,小青龙汤适用于变应性鼻炎外寒内饮型而非肾阳虚型,本实验结果与临床实际保持一致,为变应性鼻炎的中医辨证论治提供了科学依据。

我们进一步从 Th1/Th2 细胞的平衡偏移入手来挖掘相关现代药理机制。Th1/Th2 细胞的平衡偏移是一系列免疫炎症反应的病理生理基础^[14-15]。在变应性鼻炎的发病机制中,活化的树突状细胞分泌 IL-12 与 IFN- γ ,促进幼稚 Th 细胞向 Th1 细胞分化,表达转录因子 T-bet,分泌大量 IL-12 与 IFN- γ ,形成正反馈。当 Th 细胞被抗原激活后,IL-4 诱导幼稚 Th 细胞向 Th2 细胞分化,表达转录因子 GATA-3,分泌大量 IL-4,形成正反馈^[16-17]。大量的炎症反应细胞和炎症反应因子进一步引发 IgE 合成、嗜酸性粒细胞增多、肥大细胞脱颗粒等过敏反应的产生。

袁颖等^[18]、王守玺等^[19]认为,Th1/Th2 与中医证候虚实存在相关性。

实验结果表明,小青龙汤可使单纯模型 IFN- γ 升高,IL-4 降低,IFN- γ mRNA 升高,IL-4 mRNA 降低,因而 IFN- γ /IL-4 比值、IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值皆升高;同时,小青龙汤可以使肾阳虚复合模型 IL-4 降低,对 IFN- γ 作用不明显,IFN- γ /IL-4 比值也升高;使 IFN- γ mRNA 升高,对 IL-4 mRNA 影响不大,最终 IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 比值也升高。并且,小青龙汤还可以使单纯模型 T-bet mRNA 升高,GATA-3 mRNA 降低,因而 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值升高;对肾阳虚复合模型组的 T-bet mRNA 作用不明显,可使 GATA-3 mRNA 降低,因而 T-bet mRNA/GATA-3 mRNA 比值升高。

从本研究我们可以得出,一方面,Th1 细胞代表性细胞因子 IFN- γ ,Th2 细胞代表性细胞因子以及其转录因子 T-bet、GATA-3mRNA 表达的影响是小青龙汤治疗变应性鼻炎发挥抗过敏效应的重要药理学机制;另一方面,对单纯模型与复合模型 2 种不同模型,小青龙汤的效应确实存在差异,显然本方干预作用在单纯模型中要优于在肾阳虚复合模型中,因此,而小青龙汤药效的发挥与证型之间的相关性显而易见^[20-21]。这提示我们,中医辨证论治具有一定的现代科学依据,病机与治法对应契合的程度直接影响药效的发挥,药理机制的挖掘,中医药临床所强调的辨证论治在实验研究中同样应该受到重视。阐明解释古典经方治疗现代疾病的药理机制,同样应考虑到证型这一影响因素。

参考文献

- [1] 王树鹏,郭晓东,李海波,等.加味小青龙汤及其拆方对变应性鼻炎大鼠鼻黏膜病理形态和 IL-4 含量的影响[J].环球中医药,2012,5(3):170-174.
- [2] 陈宝田,李家乐.小青龙汤对过敏性鼻炎豚鼠模型的干预作用[J].数理医药学杂志,2011,24(2):184-186.
- [3] 李家乐,陈宝田.小青龙汤抗过敏性鼻炎的实验研究[J].热带医学杂志,2011,11(2):131-133.
- [4] 邱宝珊,王士贞,梁晓阳,等.肾阳虚型变应性鼻炎动物模型的建立[J].中国中西医结合耳鼻喉科杂志,2002,10(1):16-19.
- [5] 徐慧贤,阮岩,王士贞,等.豚鼠肾阳虚变应性鼻炎模型的建立[J].中药新药与临床药理,2005,16(6):427-429.
- [6] 钟筱华,张海丹.肾阳虚变应性鼻炎动物模型的研究[J].中国中医药现代远程教育,2010,8(4):168-170.
- [7] 段宏莉.羟基脲制作 SD 大鼠肾阳虚证模型的规范化研究[D].广州:广州中医药大学,2005.
- [8] 赵秀杰,赵德荣.鼻超敏反应实验模型的建立[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,1993,28(1):17-18.
- [9] 李丹,吕妍,唐方.小青龙汤对过敏性鼻炎大鼠症状积分及血清 IgE IL-12 LTC4 水平的影响[J].四川中医,2014,32(4):70-72.

- [10] 佟雷, 刘金丽, 王景欣, 等. 玉屏风颗粒对过敏性鼻炎大鼠免疫因子的影响[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 728-730.
- [11] 朱世强. 中医对过敏性鼻炎病因病机的认识[J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(6): 26-27.
- [12] 闫丽, 何丽清. 小青龙汤治疗过敏性鼻炎的现代研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(8): 853-855.
- [13] 王盼盼, 刘洋, 张勤修. 小青龙汤治疗变应性鼻炎的研究动态概述[J]. 四川中医, 2016, 34(4): 221-222.
- [14] 岑士青, 蔡利华, 吕小萍. 孟鲁司特对变应性鼻炎患者血清 Th1/Th2 细胞因子水平的影响及疗效观察[J]. 中国现代医生, 2013, 51(28): 64-65, 81.
- [15] Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity[J]. Nat Med, 2002, 8(6): 567-573.
- [16] Spector S, Wallace D, Nicklas R, et al. Comments on Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines[J]. Nature, 2011,

427(6970): 154-159.

- [17] Takhar P, Smurthwaite L, Coker HA, et al. Allergen drives class switching to IgE in the nasal mucosa in allergic rhinitis[J]. J Immunol, 2005, 174(8): 5024-5032.
- [18] 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): 90-92.
- [19] 王守玺, 任杰, 陈广杰, 等. 鼻渊汤辨证加减辅助免疫疗法治疗常年性变应性鼻炎的临床效果观察[J]. 中国医药, 2016, 11(7): 1072-1075.
- [20] 刘敏, 周刚, 李晓莉, 等. 基于两模两方模式的变应性鼻炎方证相应研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2015, 39(1): 74-76.
- [21] 张清苓, 姜元安, 李致重. 论中医辨证方法及辨证论治体系[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(4): 5-9.

(2016-12-12 收稿 责任编辑: 杨觉雄)

第十四届世界中医药大会暨“一带一路”中医药文化周 第二轮会议通知 2017 年 10 月 * 东南亚

各位专家、各位同仁:

由世界中医药学会联合会主办的世界中医药大会是全球中医药领域规模大、参与广、层次高的学术盛会。至今已在中国、法国、加拿大、新加坡、中国澳门、澳大利亚、荷兰、英国、马来西亚、美国、俄罗斯、西班牙、新西兰成功举办了十三届。第十三届世界中医药大会期间举办“一带一路”中医药文化周系列活动, 为中医药在大洋洲的发展搭建了广阔的平台。

“第十四届世界中医药大会暨‘一带一路’中医药文化周”, 将于 2017 年 10 月下旬在东南亚举行。活动期间, 来自世界各地的中医药专家学者、政府官员、企业家将分享他们的理论研究和临床经验、科研成果和新发明新创造, 大会附设中医药服务贸易展览会。活动期间将组织多种形式的学术考察调研活动。

现就有关事宜通知如下:

一、地点: 泰国、柬埔寨、尼泊尔、越南

二、主题: 助力一带一路, 服务民众健康

三、会议安排: 10 月 20-24 日, 第十四届世界中医药大会, 泰国·曼谷;

10 月 23-27 日, “一带一路”中医药文化周柬埔寨专场, 吴哥;

10 月 24-27 日, “一带一路”中医药文化周尼泊尔专场, 加德满都;

10 月 26-29 日, “一带一路”中医药文化周越南专场, 胡志明;

四、会议主要议题及征文内容:

1. 中医药基础理论研究;

2. 中医药临床实践: 临床研究方法创新与进展、临床疗效评估体系研究、老中医临证经验总结、特色疗法体会及推广、中医养生保健治未病研究等;

3. 针灸推拿研究实践: 针药配合临床研究、特殊针法临床经验介绍、中医针灸治疗在区域性疾病治疗中的特色与优势等;

4. 中药研究: 中药方剂学、临床配伍研究、中药应用及研究等;

5. 中西医结合研究: 理论创新、最新进展、实践创新、经验总结;

6. 中医手法流派的传承与发展;

7. 中医药国际化、信息化研究;

8. 中医药在世界各国的发展及立法情况, 各国中医教育动态、教育制度现状及科研情况;

9. 中医药文化与非物质文化遗产保护;

10. 地道药材与濒危珍稀动植物保护;

11. 中医药服务贸易理论研究与实践及经验交流。

五、参会人员:

相关国家政府官员, 各国中医药、传统医药、中西医结合、现代医药及相关领域从事医疗、教育、科研、管理、生产、贸易的专家学者和企业家, 世界中联各国各地区会员。

六、会议安排:

1. 学术会议: 开、闭幕式, 主题演讲, 分会场专题报告, 现场演示工作坊, 欢迎晚宴。

2. 中医药服务贸易展览会: 每个展位 3 * 3 m, 1 张桌子, 2 把座椅, 1 个插座, 基本照明, 免 2 人参会注册费。

3. 参会者可授予中国国家级继续教育二类学分证书 6 分, 如有需要, 请提前告知大会组委会。

4. “一带一路”中医药国际交流考察: 具体安排请咨询世界中联国际联络部。

七、重要日期:

2017 年 7 月 1 日大会注册费优惠截止。

2017 年 8 月 31 日大会论文投稿截止。

八、会议注册:

即日起接受报名, 采用网上会议平台注册, 网址如下:

<http://wccm2017.medmeeting.org/cn>

或微信扫描右侧会议平台二维码, 点击“报名参会”即可。

九、会议咨询联系方式如下:

《世界中医药》杂志社: 魏金明、徐晖、徐颖、王明

电子邮箱: sjzyzz@vip.126.com, 电话: 010-58650236/58650023/58239055

泰国中医师总会咨询处 (仅接受泰国、新加坡、马来西亚、印度尼西亚、菲律宾、越南、缅甸、老挝、柬埔寨、文莱地区等东盟十国地区的参会专家报名):

联系人: 张永发、杨秀专、贾宗亢、叶峰

电子邮箱: wctcm2017@hotmail.com, 电话: +66-814350636/896641681/890739192

更多会议信息, 欢迎扫描右方二维码, 关注世界中医药大会官方微信公众平台



世界中医药大会组委会

2017 年 7 月 12 日