

·方药研究·

本文引用:万宇翔,郑子安,白辰,王云辉,于河,刘铁钢,谷晓红.银莱汤对发热大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(11):1184-1187.

银莱汤对发热大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响

万宇翔,郑子安,白辰,王云辉,于河,刘铁钢*,谷晓红*
(北京中医药大学基础医学院,北京 100029)

〔摘要〕目的 研究银莱汤对发热大鼠体温和血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响。方法 90 只 SD 大鼠连续测温 3 次,选取合格大鼠背部皮下注射 20% 干酵母混悬液 10 mL/kg 建立大鼠发热模型,随机平均分为正常组、模型组、阿司匹林组、银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组共 6 组,每组 8 只大鼠。分别于造模前 0.5 h 和造模后 5 h 两次灌胃给药,造模后每小时测温一次,于末次给药后 3 h 取血,通过 ELISA 和 RIA 方法检测血清中炎症介质白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 含量水平。结果 银莱汤各剂量组体温均低于模型组 ($P < 0.01$),银莱汤各剂量组血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量均低于模型组 ($P < 0.05$)。结论 银莱汤对发热大鼠具有明显的退热效果,其作用机制可能与降低机体炎症反应,减少血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的产生或加速降解相关。

〔关键词〕 银莱汤;发热;炎症;IL-1 β ;TNF- α ;IL-6

〔中图分类号〕 R289.5;R392.7

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.11.004

Effect of Yinlai Decoction on IL-1 β , TNF- α , IL-6 Levels in Serum of Fever Rats

WAN Yuxiang, ZHENG Zian, BAI Chen, WANG Yunhui, YU He, LIU Tiegang*, GU Xiaohong*

(School of Basic Medical Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the effect of Yinlai decoction on body temperature, Serum Content of IL-1 β , TNF- α , IL-6 of Fever Rats. **Methods** 90 male rats were randomly divided into normal group, model group, aspirin group, and high, middle and low dose Yinlai decoction groups, 8 rats in each group. Fever rat models were induced with dorsal hypodermic injection of 20% dry yeast suspension, and they were fed with leechdom half an hour before building the fever model and 5 hours after building the fever model. The blood were taken at the 8th hour after building the model. The levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α in serum were detected by ELISA and RIA. **Results** Temperature in different doses of Yinlai decoction groups are lower than the model group ($P < 0.01$). The IL-1 β , TNF- α , IL-6 levels in serum were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Yinlai decoction shows obvious anti-febrile effect on fever rats. Its mechanism may relate to restraining the inflammation reaction and reducing the expression of IL-1 β , TNF- α , IL-6 in serum.

〔Keywords〕 Yinlai decoction; pyrexia; inflammation; IL-1 β ; TNF- α ; IL-6

银莱汤是谷晓红教授在临床中治疗小儿外感花、莱菔子、黄芩、连翘、前胡、鱼腥草、瓜蒌七味药发热的经验方,全方从肺胃同治角度立法,由金银组成,其中金银花清肺胃之热,又透达卫表之邪;莱

〔收稿日期〕 2016-09-05

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(81403328);北京市教委产学研项目(1000062520040);北京中医药大学自主选题资助项目(2016-JYB-XS031)。

〔作者简介〕 万宇翔,男,硕士研究生,研究方向:运用温病学辨治思路指导临床相关热证的研究。

〔通讯作者〕 * 刘铁钢,男,博士,副教授,E-mail:liutiegang2009@163.com;谷晓红,女,博士生导师,教授,E-mail:guxh1003@163.com。

藜子化滞消积,与金银花共用为君;黄芩、连翘、前胡、鱼腥草清宣肺热;瓜蒌清降肺胃之火、润肠通便,诸药配伍,在临床小儿外感发热的治疗上取得了较好疗效^[1]。本研究为了探讨其解热作用机理,采用建立大鼠发热模型,观察银莱汤的解热作用与调节血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

实验动物:健康清洁级 SD 大鼠 90 只,雄性,体重 (150 \pm 20) g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2016-0002,饲养于北京中医药大学动物房实验动物洁净柜,饲养环境为明暗 12 h 循环,温度为 22~25 $^{\circ}$ C,湿度 50%~60%,自由进食、水。适应性喂养 3 天,为使实验对象适应实验操作,避免实验当日应激性体温升高,每日三个不同时间段各测量肛温 1 次,每日共测量 3 次,第 4 天开始正式实验。

1.2 试剂及仪器

中药:银莱汤处方为:金银花 30 g,莱菔子 10 g,连翘 15 g,黄芩 10 g,前胡 10 g,鱼腥草 20 g,瓜蒌 15 g。饮片购自于北京中医药大学国医堂。制备过程:(1)蒸馏提取金银花、鱼腥草、连翘三味药的挥发油,封口膜封好,4 $^{\circ}$ C 保存备用;(2)其他药物煎煮药液,减压浓缩药液成膏状,再加热使药液水分蒸发后干燥至固体,最后粉碎制成粉剂保存,使用时按比例滴加挥发油。阳性对照药:阿司匹林肠溶片由拜耳医药保健有限公司生产,规格 100 mg/片。干酵母粉由湖北安琪酵母有限公司生产。大鼠白介素 6(IL-6)酶联免疫试剂盒(CSB-E04640r,规格 96T)购于武汉华美生物工程有限公司,大鼠白细胞介素 1 β (IL-1 β)放射免疫分析药盒、大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)放射免疫分析药盒均购于北京北方生物技术研究所有限公司。电子体温计,MC-347,欧姆龙(大连)有限公司生产。标准规格酶标仪,Multiskan MK3,Thermo Scientific 公司生产。

1.3 方法

分组:大鼠于实验环境中每日测量肛温 3 次,使其适应,实验前 12 h 禁食不禁水。实验当日每小时测体温 1 次,连续 3 次,3 次体温的平均值作为基础

体温,正常范围为 36.6~38.0 $^{\circ}$ C,单次体温>38.0 $^{\circ}$ C 或 3 次肛温波动>0.3 $^{\circ}$ C 的大鼠淘汰。选取 72 只合格大鼠随机分为 6 组:正常组、模型组、银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组,每组各 12 只。

造模:参照文献方法^[2],健康成年 SD 雄性大鼠,背部皮下注射(sc)20%酵母混悬液 10 mL/kg。正常组大鼠 sc 等体积生理盐水。造模后每小时测量体温一次,连续 5 次,体温较基础体温升高 0.8 $^{\circ}$ C 以上的大鼠为造模成功动物,剔除各组不符合造模成果标准的大鼠,最终每组 8 只。

给药:造模前 0.5 h,除正常组外,模型组给予超纯水灌胃(ig),各给药组给予相应药物灌胃,灌胃后 sc 酵母混悬液,造模后 5 h 再次给药(方式及剂量同首次)。各组每次 ig 给予药物及剂量分别为:银莱汤低、中、高剂量组分别予银莱汤粉剂溶于无菌生理盐水,按成人临床用量的 5 倍、10 倍、20 倍量折算,折算后其生药量浓度分别为 229.2 mg/mL、458.3 mg/mL、916.6 mg/mL 并按比例于临用前滴加挥发油。阿司匹林组 5 mg/mL 灌胃。

观察项目与指标检测:从对大鼠给予 sc 干酵母混悬液开始,每 1 h 测量并记录大鼠肛内温度 1 次,末次给药后 3 h 最后测温 1 次,腹腔注射 2%戊巴比妥钠麻醉,经腹主动脉采血,真空采血管分装,离心并分离血清,将血清放置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱内储存,用于 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的测定。

1.4 统计学处理

统计数据采用 SAS 9.3 软件进行分析,计量资料以均数“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。原始数据满足正态分布及方差齐性,则采用单因素方差分析(one-way ANOVA),满足正态分布且方差不齐,采用 Welch 检验,而组间两两比较则采用最小显著差异 t 检验(LSD- t 检验)。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 银莱汤对发热大鼠体温的影响

各组大鼠的基础体温无统计学差异 ($P>0.05$),即各组大鼠初始温度无组间差异;造模后 5 h,与正常组对比,模型组、银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组各组体温有统计学

意义($P<0.01$),但模型组、银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组体温无统计学意义($P>0.05$),即除正常组外,各造模成功,且造模各组温度暂无组间差异;末次给药后3 h,与模型组对比,银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组各组体温有统计学意义($P<0.01$),与正常组对比,模型组、银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组各组体温有统计学意义($P<0.01$),与阿司匹林组对比,银莱汤高剂量组、银莱汤低剂量组有统计学意义($P<0.05$),银莱汤各剂量间无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 银莱汤对发热大鼠体温的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	基础体温(°C)	造模后5 h(°C)	末次给药后3 h(°C)
正常组	37.15±0.30	37.04±0.29	37.23±0.13
模型组	36.94±0.30	37.96±0.60 ^a	39.33±0.13 ^a
银莱汤高剂量组	37.06±0.27	37.99±0.45 ^a	38.98±0.18 ^{abc}
银莱汤中剂量组	37.09±0.27	37.76±0.55 ^a	38.88±0.20 ^{ab}
银莱汤低剂量组	37.13±0.18	37.96±0.60 ^a	38.93±0.26 ^{abc}
阿司匹林组	37.13±0.26	37.84±0.75 ^a	38.69±0.19 ^{ab}

注:同正常组相比,^a $P<0.01$;同模型组相比,^b $P<0.01$;同阿司匹林组相比,^c $P<0.05$ 。

2.2 银莱汤对发热大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响

IL-1 β :与正常组比较,模型组、阿司匹林组有统计学意义($P<0.05$),与模型组相比,银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组 IL-1 β 浓度有统计学意义($P<0.05$)。

TNF- α :与正常组比较,模型组有统计学意义($P<0.05$),与模型组相比,银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组 TNF- α 浓度有统计学意义($P<0.05$)。

IL-6:与正常组比较,模型组、银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组有统计学意义($P<0.05$),与模型组比较,银莱汤高剂量组、银莱汤中剂量组、银莱汤低剂量组、阿司匹林组均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

3 讨论

外感发热主要是指感受六淫之邪或温热疫毒之气,导致营卫失和,脏腑阴阳失调,出现病理性体温升高,可伴有恶寒、面赤、烦躁、脉浮数等临床表现

表2 银莱汤对发热大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	IL-1 β (ng/mL)	TNF- α (fmol/mL)	IL-6(pg/mL)
正常组	0.13±0.03	7.96±13.8	2.31±1.17
模型组	0.18±0.05 ^a	11.12±0.87 ^a	7.40±1.46 ^a
银莱汤高剂量组	0.14±0.02 ^b	8.01±0.79 ^b	4.91±0.63 ^{ab}
银莱汤中剂量组	0.11±0.02 ^b	7.17±0.71 ^b	3.70±1.18 ^{ab}
银莱汤低剂量组	0.14±0.03 ^b	7.64±0.99 ^b	4.28±0.78 ^{ab}
阿司匹林组	0.10±0.03 ^{ab}	7.03±1.05 ^b	3.13±1.35 ^b

注:同正常组相比,^a $P<0.05$;同模型组相比,^b $P<0.05$ 。

的一类外感病证^[3]。作为温病的主症,发热是机体对温邪的一种全身性反应,根据病程阶段不同,其相关脏腑有所差异,温邪从口鼻上受而入,肺主气,属卫,外合皮毛,《素问·咳论》有言:“皮毛者,肺之合也。皮毛先受邪气,邪气从其合也。”热郁卫表而为发热。外邪入肺,阳明胃家对发热的程度与转归有着重要的影响。阳明既为祛邪外达的途径,又为营卫之气的来源。若阳明有热,则可引邪深入,病邪顺传于阳明,若阳明健运,则可鼓动卫气,御邪外出,防邪深入,使病不致传于中焦。正如王孟英所云:“肺胃大肠,一气相通,温热究三焦,以此一脏二腑为最要,肺开窍于鼻,吸入之邪,先犯于肺,肺经不解,则传于胃,谓之顺传,不但脏病传腑为顺,而自上及中,顺流而下,其顺也有不待言者,故温热以大便不闭者易治,为邪有出路也。”故邪气虽未入腑而无里结者,亦可在解表清热方中配以理气、运中、润导之品,增强机体抵御外邪的同时给邪以出路,总要把握以逐邪为第一要义,正如吴又可所言“大凡客邪贵乎早逐”之理。银莱汤由金银花、连翘、黄芩、鱼腥草、前胡、莱菔子、全瓜蒌七味药组成。方中金银花味甘性寒,清热解毒而兼轻清宣透,且无苦寒伤胃之弊,善于清透肺胃之热;莱菔子下气化积,导滞祛邪,则热邪无盘踞之处,势必孤也,二药共用为君。连翘体空质轻,上能清宣肺经热邪,与金银花相配,疏散清热之功更胜,下可通利小便,而清利逐邪。更用苦寒之黄芩,清肺之功愈著;肺受热灼,津液不布,痰热蕴肺,故治以辛寒之鱼腥草清热宣肺化痰,全瓜蒌甘寒质润,肺肠同治,上可清肺泄热涤痰、利膈宽胸,下可滑肠通便;前胡功擅下气,气下则火降,痰亦降矣。其中连翘、前胡、鱼腥草入肺经,清宣肺热;金银花、黄芩、莱菔子、全瓜蒌同入肺、胃、大肠经,上下同治。全方诸药配伍,在上清

宣太阴肺经之热邪,在下清泄胃肠之积热,共奏肺胃同治之效,故在临床治疗小儿外感发热的过程中,往往收获满意疗效。因此,肺胃同治在外感发热治疗过程中具有重要的临床价值。

现代医学基于“体温调定点”学说,认为发热是指当由于致热源的作用使体温调定点上移而引起调节性体温升高的症状^[4]。外源性致热原主要通过激活血液中的中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和单核-吞噬细胞系统,使其产生并释放内源性致热原。IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 均为重要的内源性致热原,其在细胞内合成后即可释放入血,通过血液循环进入脑内到达体温调节中枢,体温正调节介质释放的增多以及体温负调节介质释放的减少,从而使调定点上移导致机体由于产热增加和散热减少出现发热症状,与此同时,当外源性致热原刺激机体而产生的炎症反应过程中,一些细胞因子起到重要的促进作用,也包括 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 等可促进炎症细胞的聚集、活化和炎症介质的释放,可直接刺激发热中枢引起体温增高^[5-6]。

本实验使用的酵母诱导的发热模型基于酵母菌进入机体后,可激活内源性致热源细胞产生和释放内源性致热源,进而作用于体温调节中枢,引起发热介质的释放,继而改变调定点。酵母菌的致热特点具有先引起动物体温下降,一段时间后体温明显升高,并持续较长时间^[6]。由于注射部位的局部溃烂引起的剧烈炎症反应导致动物全身表现与临床伴内脏或皮肤明显炎症的里热证类似^[7],对银莱汤的解热作用的考察尤为适宜。

实验结果表明,银莱汤各剂量均能降低发热大鼠的体温,阿司匹林对发热大鼠体温降低效果优于银莱汤,根据比较均值判断,银莱汤中剂量退热趋势

可能相对较佳。而对于血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 含量的影响,银莱汤均能降低其含量,且根据均值比较,中剂量存在效果较高剂量、低剂量更佳的作用趋势,但较阿司匹林效果仍略低,故可知银莱汤在大鼠酵母致热作用下影响其血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的含量下降。

综上所述,银莱汤对大鼠酵母所致发热具有明显的解热作用。其解热机制之一可能是通过减轻机体因外源性致热源进入体内所导致的全身性炎症反应,减少血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的产生或加速其降解而起到解热作用。

参考文献:

- [1] 肖茎月,于 河,刘曜纶,等.谷晓红运用银莱汤加减治疗小儿发热[J].吉林中医药,2015,35(3):232-234.
- [2] Habib M, Waheed I. Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanolic extract[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145(1): 18.
- [3] 朱 丹,吕文良.外感发热的中医治疗[J].吉林中医药,2012,32(1): 104-107.
- [4] 王建枝,殷莲华.病理生理学[M].北京:人民卫生出版社,2013:103-109.
- [5] 魏 伟,李晓辉,张洪泉,等.抗炎免疫药理学[M].北京:人民卫生出版社,2004:214.
- [6] 赵国荣,张 衍,何宜荣,等.清热解毒化浊片对 ETM 兔肝组织 CD14 及 TNF- α 、IL-1 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2016,36(9):26-28.
- [7] 李欣芮,宋惠欣.发热模型的研究进展[J].云南中医中药杂志,2015,36(4):77-79.
- [8] 左泽平,王志斌,郭玉东,等.常用大鼠发热模型研究[J].中国比较医学杂志,2012,22(2):52-57.

(本文编辑 李 杰)