

经方薯蓣丸对变应性鼻炎大鼠血清 IgE、IL-4 含量的影响^{*}

向 阳, 王 寅, 孙艳红, 程鹏飞, 盖沂超[△]

(云南中医学院基础医学院, 云南昆明 650500)

摘要: **目的** 探讨经方薯蓣丸对变应性鼻炎(AR)大鼠模型的疗效及对血清 IgE、IL-4 含量的影响。**方法** 60 只大鼠随机分为正常对照组、模型组、辛芩颗粒组、经方薯蓣丸高、中、低剂量组(3.2, 1.6, 0.8g/kg), 每组 10 只。对除正常对照组外的 5 组大鼠采用卵清蛋白(OVA)致敏和激发进行造模, 造模成功后给药, 经方薯蓣丸高、中、低剂量组分别采用薯蓣丸浓缩水煎液灌胃, 辛芩颗粒组给予辛芩颗粒灌胃。治疗 14d 后采用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)检测各组大鼠血清 IgE、IL-4 含量。**结果** 造模后各组大鼠行为学评分均明显高于正常对照组($P<0.01$); 治疗后各组行为学评分及血清 IgE、IL-4 含量较模型组均有降低($P<0.05$); 与辛芩颗粒组相比, 中剂量组血清 IgE、IL-4 含量明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 经方薯蓣丸对 AR 大鼠模型的疗效显著, 其作用机理可能与降低血清 IgE、IL-4 含量有关。

关键词: 薯蓣丸; 变应性鼻炎; IgE; IL-4

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2013)05-0001-03

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)又称过敏性鼻炎, 属于中医“鼻鼽”范畴, 是如今影响全球健康的常发病。AR 在世界范围内的患病率大约在 15%~20%, 并且患病人数还在呈现逐年增加的趋势^[1]。其频繁发作的喷嚏、过量的鼻分泌物和显著鼻塞等症状严重影响了患者的生活和工作。从中医角度来分析, 本病起病的内因主要责之于肺、脾、肾三脏虚损, 其外因则与感受外邪密切相关, 与《金匮要略·血痹虚劳病脉证治第七》中“虚劳诸不足、风气百疾”所述病机较为吻合。我们以薯蓣丸为主方随证加减治疗 AR, 经过临床治疗证明, 其效果显著^[2]。本研究探讨经方薯蓣丸对 AR 大鼠模型行为学及血清 IgE 和 IL-4 含量的影响, 并以辛芩颗粒作对照, 初步揭示经方薯蓣丸防治 AR 的作用机理。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 60 只, 雄性, 体质量(150±20)g, 由昆明医科大学实验动物中心提供(许可证号: scxk(滇)2011-0004)。在空调动物房常规饲养, 避免

过敏原存在。

1.2 药物与试剂

辛芩颗粒(四川志远广和药业有限公司生产, 批号: 130114); 氢氧化铝粉(天津市风船化学试剂科技有限公司制药厂, 批号: 80321); IL-4 试剂盒(艾莱萨生物科技(上海)有限公司, 批号: 3646)、IgE 试剂盒(艾莱萨生物科技(上海)有限公司, 批号: 3640); 卵清蛋白(Sigma 公司, A5253); 经方薯蓣丸(山药、党参、白术、茯苓、干地黄、当归、川芎、白芍、阿胶、柴胡、桂枝、防风、灯笼草、杏仁、桔梗、蔓荆子、神曲、大枣、甘草、连翘)以上药物加水没过药物一指, 浸泡 0.5h 后武火煮沸, 文火煎煮 20 min, 共两次。滤液浓缩至原生药含量 3.2 g/mL, 4℃冰箱低温放置备用, 每次制备 2 d 用量, 限浓缩后 2d 内使用, 临时用蒸馏水稀释。

1.3 仪器与设备

Infinite M200 酶标仪(Tecan 公司生产)、KA-1000 型低速离心机(上海安亭科学仪器厂制造)、GHP-9050 型隔水式恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司生产)等。

^{*} 基金项目: 云南省教育厅基金项目(NO: 2011Y404); 云南省“十二五”优势特色重点学科“中西医结合”资助项目。

收稿日期: 2013-10-17 修回日期: 2013-10-23

作者简介: 向阳(1985~), 男, 湖北恩施人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 中医临床基础。

[△]通信作者: 盖沂超, E-mail: 25883741@qq.com

2 方法

2.1 分组

SD 大鼠 60 只,适应性饲养 7d 后随机分为:正常对照组、模型组、辛芩颗粒组、经方薯蓣丸高剂量组、中剂量组、低剂量组,每组 10 只。

2.2 模型建立

根据文献方法建立实验大鼠模型^[3-4],除正常对照组外,每只大鼠腹腔注射新鲜配制的卵清蛋白混悬液(OVA 0.3 mg+氢氧化铝 30 mg+生理盐水 1 mL)隔日 1 次,共 7 次,为基础致敏;再用 2%卵清蛋白悬浊液攻击双侧鼻腔,每侧 50 μ L,每日 1 次,共 7 次。每次致敏后观察 30 min 内大鼠喷嚏、抓鼻、流涕等现象,记录大鼠症状得分,总分大于 5 分为造模成功,评分标准见表 1。

表 1 症状评分标准表

症状	轻度(1分)	中度(2分)	重度(3分)
抓鼻	轻碰数次	两者之间	四处摩擦
流涕	可见少量鼻涕	涕过中线	流涕满面
喷嚏	1~3 次	3~10 次	11 次以上

2.3 给药方法

模型建立成功后,据《药理实验方法学》^[5]“不同动物等效剂量折算系数表”,将成人每日所需药量换算成大鼠所需药量。高剂量组给予薯蓣丸水煎剂 3.2 g/(kg·d),中剂量组给药 1.6 g/(kg·d),低剂量组给药 0.8 g/(kg·d),辛芩颗粒组给药 5 g/(kg·d),模型组和正常组每只给予口饲生理盐水 1 mL/100 g·d⁻¹,连续给药 14 d。自给药日起除正常对照组外各组续与 2%OVA 悬浊液滴鼻,每 2 日 1 次,正常对照组采用等量生理盐水代替,滴鼻后 30 min 内记录行为学得分(评分标准同表 1)。

2.4 指标检测

将大鼠用 10%水合氯醛 0.3 mL/100 g 腹腔注射麻醉,腹主动脉取血 4 mL,于室温下静置 2 h,离心(3 000 r·min⁻¹)15 min 后,取上清液。采用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)检测每组大鼠血清 IgE 及 IL-4 含量,按试剂盒说明书进行,于酶标仪 450 nm 波长处读取 OD 值,绘制曲线计算血清 IgE、IL-4 浓度值。

2.5 统计学方法

所得实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS19.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较

采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 给药前后行为学观察

如表 2 所示,给药前各组的行为学评分较正常对照组有显著差异($P<0.01$);造模各组间差异无统计学意义($P>0.05$);给予药物治疗后,高、中、低剂量组及辛芩颗粒组行为学评分均有下降,与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.05$);高、中、低剂量组间行为学差异不明显($P>0.05$)。

表 2 治疗前后行为学评分表($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g/kg)	给药前	给药后
正常对照组	--	1.30 $\pm$ 1.1	1.50 $\pm$ 1.18
模型组	--	7.40 $\pm$ 1.27*	7.60 $\pm$ 0.97*
辛芩颗粒组	5	7.20 $\pm$ 1.23**	4.50 $\pm$ 1.08* Δ
经方薯蓣丸高剂量组	3.2	7.30 $\pm$ 0.95**	4.30 $\pm$ 0.95* Δ
经方薯蓣丸中剂量组	1.6	7.40 $\pm$ 1.43**	4.40 $\pm$ 1.08* Δ
经方薯蓣丸低剂量组	0.8	7.20 $\pm$ 1.23**	4.50 $\pm$ 0.85* Δ

注:给药前与正常组比较 * $P<0.01$;给药前与模型组比较 * $P>0.05$;治疗后与模型组比较 $\Delta P<0.05$ 。

3.2 大鼠血清总 IgE、IL-4 含量测定结果

模型组血清总 IgE、IL-4 含量均高于正常对照组,有统计学意义($P<0.01$);给予经方薯蓣丸干预后的高、中、低剂量组与辛芩颗粒组血清总 IgE、IL-4 含量较模型组降低,有统计学意义($P<0.05$),提示各组均具有降低血清总 IgE、IL-4 含量的作用;高、低剂量组与辛芩颗粒组间差异无统计学意义($P>0.05$),中剂量组较辛芩颗粒组降低明显,差异有统计学意义($P<0.05$),提示高低剂量组效果与辛芩颗粒组相当,中剂量组效果优于辛芩颗粒组。见表 3。

表 3 血清 IgE、IL-4 含量值比较表($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	血清总 IgE(μ g/mL)	血清 IL-4(pg/mL)
正常组	7.83 $\pm$ 3.65	13.10 $\pm$ 4.27
模型组	19.42 $\pm$ 2.97*	30.60 $\pm$ 4.83*
辛芩颗粒组	13.30 $\pm$ 4.76**	20.03 $\pm$ 3.91**
高剂量治疗组	10.78 $\pm$ 5.32**	14.84 $\pm$ 7.37**
中剂量治疗组	8.10 $\pm$ 6.16 Δ **	14.40 $\pm$ 5.22 Δ **
低剂量治疗组	13.56 $\pm$ 3.41**	15.91 $\pm$ 6.93**

注:与正常组比较, * $P<0.01$;与模型组比较, ** $P<0.05$;与辛芩颗粒组比较, $\Delta P<0.05$ 。

4 讨论

经方薯蓣丸是在中医基本理论的指导下,针对

AR 的中医病因病机进行治疗。全方以扶正为主,内调脏腑,固本培元,补益气血,同时兼具驱邪功效。临床证实疗效显著,因此进行实验研究。AR 是 I 型变态反应性疾病,以频繁发作的喷嚏、过量的鼻分泌物和显著鼻塞等症状为主要临床特征^[6],因此 AR 症状的改善是判定其疗效的主要内容之一。本次试验给药前后的行为学评分显示:造模后各组的行为学评分均大于 5 分,较正常对照组有显著差异($P<0.01$),提示造模成功;给予药物治疗后,高、中、低剂量组及辛芩颗粒组行为学评分均有下降,与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.05$),提示经方薯蓣丸及辛芩颗粒均有改善 AR 大鼠行为学症状的作用。

目前研究认为 IgE 水平受多种因素的调节,其中辅助性 T 淋巴细胞(Th1/Th2 细胞)所分泌细胞因子的调节作用尤为重要^[7]。Th1 细胞因子主要参与细胞免疫应答,而 Th2 细胞因子主要参与体液免疫应答。Th1 和 Th2 细胞之间不同的免疫调节作用相互协调、相互抑制,通过保持动态的平衡状态维持机体的正常生理功能。IL-4 是 Th2 细胞分泌的标志性细胞因子,它在 IgE 合成过程中具有重要的调控作用。它不仅能促进 B 细胞的分泌和增殖,还能促进 IgE 的类别转换,主要是通过诱导胚系的 e 基因的转录使 B 细胞经 IgM 或 IgG 朝 IgE 方向转型。IL-4 为 IgE 的正性调节因子,是 AR 患者血清中 IgE 合成过多的主要原因,所以降低 IL-4 的含量,减少 IgE 合成是治疗变应性鼻炎的有效途径之一。

本次实验通过观察 AR 大鼠血清中 IgE、IL-4 含量值的变化情况,表明该方能显著降低实验性大

鼠血清中 IgE、IL-4 水平,改善大鼠喷嚏、骚鼻、流涕等鼻部变态反应性症状。高、低剂量组与辛芩颗粒组间疗效相当,差异无统计学意义($P>0.05$);中剂量组疗效优于辛芩颗粒组($P<0.05$)。这说明在经方薯蓣丸的使用过程中,药物的剂量是影响病程的一项重要因素,药量过大或过小均会影响到其效果。此次试验表明经方薯蓣丸治疗 AR 的作用机理可能是通过降低细胞因子的含量,起到抗变态反应的作用,进而改善 AR 时喷嚏、鼻痒、流涕等临床症状。而薯蓣丸治疗 AR 的其余作用机制尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] Bousquet J, Khaltayev N, Cruz AA, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization) [J]. J Rev Allerg, 2009, 56(2): 56-63.
- [2] 盖沂超, 王寅, 张妙兴. 经方薯蓣丸治疗过敏性鼻炎 2 则 [J]. 湖南中医志, 2013(1): 99.
- [3] 锡林, 张罗. 变应性鼻炎动物模型若干问题 [J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2008, 32(2): 81-83.
- [4] 杨瑞嘉. 变应性鼻炎动物模型的建立与评价 [J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 31(2): 87-89.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203.
- [6] 孔维佳. 耳鼻咽喉头颈外科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005, 8: 75.
- [7] Becky -Kelly EA, Busse WW, Jarjour NN. A comparison of the airway response to segmental antigen bronchoprovocation in atopic asthma and allergic rhinitis [J]. J Allergy Clin Immunol, 2003, 111(1): 79.

(编辑:迟越)

Effects of Shuyuwan on Serum IgE and IL-4 Content in Rats with Experimental Allergic Rhinitis

XIANG Yang, WANG Yin, SUN Yan-hong, CHENG Peng-fei, GAI Yi-chao
(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** Study on Shuyuwan on allergic rhinitis (AR) rat model of curative effect and the impact on the content of serum IgE and IL-4. **Methods** 60 rats were randomly divided into Normal control group, Model groups, Xin-Qin control group, Shuyuwan in high, medium and low-dose groups (3, 2, 1, 6, 0.8g/kg), 10 in each group. In addition to the normal control group, on five groups of rats were ovalbumin (OVA) sensitization and challenge for modeling. After modeling success, The party Shuyuwan for high, medium and low dose group were used respectively to condense water decoction lavage, Xin-Qin control group given particle gavage. After 14d treatment using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA method) detection of serum IgE and IL-4 levels in rats of each group. **Results** Modeled after the set of behavioral scores in rats were significantly higher than the control group ($P<0.01$). After treatment the Group behavioral scoring and serum IgE, IL-4 content model group had lower ($P<0.05$). Compare with Xin-Qin control group, Medium-dose group significantly lower serum IgE, IL-4 levels, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The Shuyuwan can decrease the serum IgE and IL-4 levels in experimental rats, played against allergies and relieve symptoms of allergic rhinitis.

KEY WORDS: Shuyuwan; Allergy Rhinitis; IgE; IL-4