

文章编号 1006-8147(2015)06-0488-03

论 著

清热消炎颗粒解热作用及对血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 PGE₂ 影响的初步研究

庞淑婉¹, 李 宏¹, 穆 轶¹, 杜 芃¹, 李 娟¹, 房志仲²

(1.天津医科大学第二医院药学部, 天津 300211; 2.天津医科大学药学院药剂学教研室, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

摘要 目的:观察清热消炎颗粒对内毒素致发热大耳白兔的解热作用及对血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、前列腺素(PGE₂)表达水平的影响,探讨清热消炎颗粒的解热机制。方法:体温合格的大耳白兔 36 只随机分为 6 组,分别为对照组,模型组,阿司匹林组,清热消炎颗粒低、中、高剂量组。一次灌胃给予药物(阿司匹林、清热消炎颗粒)后大耳白兔耳缘静脉注射内毒素溶液制备发热模型。监测给药前、内毒素注射后 1、2、3、4 h 体温。内毒素注射 4 h 后,测定血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE₂ 水平。结果:清热消炎颗粒中、高剂量组,在内毒素注射后 1、2、3、4 h 直肠温度升高值均显著低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。而低剂量组与模型组比较,直肠温度无显著性差异。内毒素致热后 4 h,模型组大耳白兔血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE₂ 水平较对照组显著升高($P<0.01$);与模型组比较,清热消炎颗粒高剂量组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE₂ 水平均显著降低($P<0.05$)。结论:中、高剂量清热消炎颗粒有明显解热作用,低剂量药物无显著降温作用。清热消炎颗粒高剂量组可明显降低内毒素致热大耳白兔血液的内生致热原 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 PGE₂。

关键词 清热消炎颗粒;内毒素;TNF- α ;IL-1 β ;IL-6;PGE₂;兔

中图分类号 R96

文献标志码 A

Preliminary study on the antipyretic effect of Qingrexiayao particles and its influence on TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ in serum

PANG Shu-wan¹, LI Hong¹, MU Yi¹, DU Peng¹, LI Juan¹, FANG Zhi-zhong²

(1.Department of Pharmacy, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2.Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To observe the antipyretic effect of Qingrexiayao particles on the pyrexial rabbits induced by endotoxin, and the influence on expression levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ and further explore the antipyretic mechanism of Qingrexiayao particles. **Methods:** Thirty six rabbits with normal temperature were randomly divided into six groups: control group, model group, aspirin group, Qingrexiayao particles low dose group, middle dose group and high dose group. The fever models were induced by injecting endotoxin into the ear vein of rabbits after a lavage for drugs. Temperature was monitored separately before the administration and after the endotoxin injection 1, 2, 3, 4 h. After endotoxin injection 4 h, the serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ levels were assayed. **Results:** Rectal temperature of Qingrexiayao particles middle dose group and high dose group increased continuously after the endotoxin injection, 1, 2, 3, 4 h after injection, rectal temperature were significantly lower than the model group ($P<0.05$ 或 $P<0.01$). No significant difference was found between low-dose group and model group. After endotoxin injection 4 h, the serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ levels of model group were higher than the control group ($P<0.01$); compared with the model group, the TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ levels of high Qingrexiayao particles dose group were significantly lower ($P<0.05$). **Conclusion:** The results show that Qingrexiayao particles middle dose group and high dose group have marked antipyretic effect but the low dose group has no such effect. The high-dose group of Qingrexiayao particles can significantly reduce the endogenous pyrogen of endotoxin-induced fever rabbits, such as TNF- α , IL-1 β , IL-6 and PGE₂.

Key words Qingrexiayao particles; endotoxin; TNF- α ; IL-1 β ; IL-6; PGE₂; rabbit

发热是临床上多种疾病的常见症状,按发热的发病机制,可将发热分为致热源性发热与非致热源性发热,其中前者较为常见。细菌、病毒、真菌等都

属于外源性致热原,外源性致热原还包括炎症渗出物、无菌性坏死组织、抗原抗体复合物等,它们多为大分子物质,特别是细菌内毒素分子量非常大,不能通过血脑屏障直接作用于体温调节中枢,而是通过激活血液中的中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和单

作者简介 庞淑婉(1981-),女,主管药师,硕士在读,研究方向:临床药理学;通信作者:房志仲, E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

核-吞噬细胞系统,使其产生并释放内源性致热源,内源性致热源主要包括白介素(IL-1、IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF)和干扰素等多种细胞因子^[1]。清热消炎颗粒为中药制剂,具有清热解毒、疏风解表、凉血消炎的功效。本实验旨在观察清热消炎颗粒对内毒素致大耳白兔的解热作用及其对血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、前列腺素(PGE₂)表达水平的影响,探讨清热消炎颗粒的解热机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 大耳白兔,普通级,动物质量合格证编号:11401400000271,购于北京隆安实验动物养殖中心,许可证号:SCXK(京)2014-0002。

1.1.2 主要试剂与药品 生理盐水(山东华鲁制药有限公司,批号:D13092303);清热消炎颗粒(5 g/袋,天津医科大学药剂学教研室制备,批号:20140501);阿司匹林泡腾片(阿斯利康制药有限公司:批号 1403169);内毒素(Sigma 公司,批号:109k4075);TNF- α 、IL-1、IL-6 和 PGE₂ 放免测试试剂盒(北京华英生物技术所);其他试剂均为市售分析纯。

1.1.3 仪器 MC-612 型电子数字式温度计(欧姆龙有限公司),TC30KHA 型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂),ML203/02 电子天平(梅特勒托利多仪器有限公司),KQ-50B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), γ -911 全自动放免计数仪(中国科技大学实业总公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组 给药前连续 3 d 每天 3 次测量大耳白兔体温,使大耳白兔习惯肛温测定操作。实验当天按照《中国药品检验标准操作规范》挑选正常体温(38.0~39.6 $^{\circ}\text{C}$)的大耳白兔 36 只随机分为对照组、模型组、阿司匹林组、清热消炎颗粒低剂量组、清热消炎颗粒中剂量组、清热消炎颗粒高剂量组,每组 6 只^[2]。

1.2.2 发热模型的建立及给药 实验当天各组大耳白兔分别测量给药前、内毒素注射后 1、2、3、4 h 体温并予记录。测量各组大耳白兔基础体温后,各给药组均按 50 mL/kg 以灌胃方式一次给予相应药物,各给药组以去离子水稀释药物,阿司匹林组(0.1 g/mL, 1 mL/kg),清热消炎颗粒低剂量组(6.75 g/mL, 1 mL/kg, 相当成人临床用量 5 倍)、清热消炎颗粒中剂量组(13.5 g/mL, 1 mL/kg, 相当成人临床用量 10 倍)、清热消炎颗粒高剂量组(27 g/mL, 1 mL/kg, 相当成人

临床用量 20 倍)。模型组和对照组分别按 50 mL/kg 灌胃给予相同容积去离子水。各组灌胃给药后,除对照组外,其余各组大耳白兔立即耳缘静脉注射内毒素溶液 250 ng/kg (用无热原生理盐水稀释内毒素, 250 ng/mL, 1 mL/kg)。造模后各时间点模型组与对照组比较体温显著性升高($P<0.05$),说明造模成功。内毒素注射 4 h 后,立即心脏采血,离心分离血清(3 000 r/min, 10 min),按照放射免疫药盒说明书测定各组血清 TNF- α 、IL-1、IL-6、PGE₂ 水平^[2]。

1.3 统计学方法 计数资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS11.5 统计软件,One-Way ANOVA(单因素方差分析, *LSD*) 对数据进行统计分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 清热消炎颗粒解热作用 各组注射内毒素后兔直肠温度持续升高,其中注射后 1、2、3、4 h 其直肠温度升高值显著高于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),说明造模成功;阿司匹林组和清热消炎颗粒中、高剂量组在注射内毒素后 1、2、3、4 h 直肠温度升高值均显著低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),而低剂量组与模型组比较,直肠温度无显著性差异。结果提示中、高剂量清热消炎颗粒和阿司匹林泡腾片均有明显解热作用,低剂量组无显著降温作用。见表 1。

表 1 清热消炎颗粒解热作用实验结果($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab 1 Test results for antipyretic effect of Qingrexiaoyan particles ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	基础体温/ $^{\circ}\text{C}$	注射内毒素后大耳白兔体温的变化/ $^{\circ}\text{C}$			
		1 h	2 h	3 h	4 h
对照组	38.8 \pm 0.52	-0.1 \pm 0.23	-0.1 \pm 0.18	0.0 \pm 0.31	-0.1 \pm 0.24
模型组	39.0 \pm 0.48	1.16 \pm 0.74**	1.21 \pm 0.64**	1.42 \pm 0.57**	1.64 \pm 0.52**
阿司匹林组	39.0 \pm 0.29	0.27 \pm 0.40***	0.39 \pm 0.52***	0.71 \pm 0.48***	0.96 \pm 0.50***
低剂量组	38.9 \pm 0.38	1.01 \pm 0.70**	1.16 \pm 0.82**	1.37 \pm 0.48**	1.60 \pm 0.50**
中剂量组	39.0 \pm 0.34	0.86 \pm 0.55**	0.93 \pm 0.59**	1.17 \pm 0.43**	1.32 \pm 0.36**
高剂量组	39.0 \pm 0.30	0.64 \pm 0.21***	0.76 \pm 0.33**	0.91 \pm 0.43***	1.04 \pm 0.36***

与对照组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

2.2 清热消炎颗粒对内毒素发热兔血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 PGE₂ 的影响 内毒素致热后 4 h,模型组大耳白兔血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 PGE₂ 水平较对照组显著升高($P<0.01$);与模型组比较阿司匹林组和清热消炎颗粒高剂量组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE₂ 水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),结果显示阿司匹林和高剂量清热消炎颗粒可明显降低内毒素致热大耳白兔血液的内生致热原 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 PGE₂。见表 2。

表 2 清热消炎颗粒对 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 PGE₂ 的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Tab 2 Influence of Qingrexiayao particles on TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TNF- α / (pg/mL)	IL-1 β / (pg/mL)	IL-6/ (pg/mL)	PGE ₂ / (pg/mL)
对照组	84.37 \pm 2.96	21.03 \pm 0.05	30.64 \pm 1.98	24.64 \pm 3.98
模型组	114.27 \pm 3.04**	48.09 \pm 0.05**	37.26 \pm 1.53**	29.37 \pm 2.83**
阿司匹林组	92.58 \pm 3.01 [#]	29.37 \pm 0.06 ^{##}	33.94 \pm 2.94 [#]	24.76 \pm 2.45 [#]
高剂量组	90.37 \pm 5.48 [#]	39.11 \pm 0.04 [#]	33.64 \pm 2.08 [#]	26.17 \pm 1.93 [#]
中剂量组	102.11 \pm 2.54	40.13 \pm 0.03	34.17 \pm 1.08	27.13 \pm 2.10
低剂量组	108.36 \pm 1.84	41.21 \pm 0.08	35.89 \pm 1.62	28.36 \pm 1.01

与对照组比较:* $P<0.05$; ** $P<0.01$; 与模型组比较:[#] $P<0.05$; ^{##} $P<0.01$

3 讨论

清热消炎颗粒主要由连翘、柴胡、板蓝根等中药组成,具有清热解毒、疏风解表、凉血消炎的功效。现代医学关于清热解毒功效的阐释目前主要集中于以下两点:一是抗细菌内毒素作用;二是抗病原微生物作用,尤其是抗内毒素活性为该类中药的重要特性。中医药治疗外感高热具有一定优势,疗效稳定,不易反复,且有较好改善症状的作用。板蓝根对细菌、内毒素和炎性细胞因子有一定的拮抗和抑制作用,中药新剂型的开发方便了中药在临床的应用,便于临床推广应用,同时应进一步探讨纯中药制剂退热机制,为临床治疗进一步提供理论依据^[3]。现代药理研究证明,板蓝根对多种革兰阳性菌、阴性菌及流感病毒有抑制作用,有明显的解热效果。连翘抗菌的主要成分为连翘酚及挥发油,对金黄色葡萄球菌有很强的抑制作用,对其他致病菌、流感病毒及钩端螺旋体也均有一定抑制作用,可解热、抗炎^[4]。已有研究显示,柴胡注射液对 LPS 发热模型大鼠有较好的解热作用,其解热效果可能与其抑制外周 IL-1 β 、PGE₂ 增加和下丘脑 cAMP、PGE₂ 释放有关^[5]。

TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 是公认的可诱导发热的重要炎性介质^[6]。TNF- α 是重要的内生致热原之一,实验证实干酵母致热大鼠血清中 TNF- α 水平与体温呈线性升高,经药物干预后,体温下降,且血清中 TNF- α 水平降低。IL-1 β 是目前较为公认的内生致热原:研究证明,大鼠侧脑室注射 IL-1 β 能使体温

明显升高,并使下丘脑升温介质 PGE₂ 和 cAMP 释放增多。包括 TNF- α 、IL-1 β 在内的 EP 能够刺激多种细胞的花生四烯酸代谢,通过环氧化酶代谢途径,使前列腺素(PG)生成增多。其中能够引起体温调定点升高的主要物质是 PGE₂,目前大多学者认为 PGE₂ 可能是致热原引起发热的主要介质^[5]。左泽平等^[7]研究发现,柴胡注射液抑制体外下丘脑神经细胞释放 PGE₂,进一步证实了柴胡注射液的解热作用可能与其抑制发热中枢 PGE₂ 释放有关。板蓝根在体内外均能抑制炎症介质(TNF- α , IL-6, IL-8, NO 等)合成与释放,阻滞其级联反应,有利于控制过度的炎症反应,从而有效地控制病情,降低病死率^[3]。

本研究发现,模型组血清 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 水平均较对照组显著升高($P<0.01$),表明三者共同参与内毒素性发热机制。清热消炎颗粒高剂量组 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 水平均显著低于模型组($P<0.05$),清热消炎颗粒中剂量和低剂量组 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 水平与模型组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。实验表明,清热消炎颗粒中、高剂量均有解热作用,高剂量组的退热疗效及降低 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的作用最优。清热消炎颗粒不仅有解热功能,其部分机制可能与调控细胞因子网络有关。

参考文献:

- [1] 孙卫民,王惠琴.细胞因子研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1999:587-587
- [2] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2010:64-65
- [3] 方建国,刘云海,王文清,等.板蓝根清热解毒实质研究[J].中草药,2008,39(3):321
- [4] 李雪苓,韩宁林,徐桂琴,等.重连口服液对内毒素致热新西兰兔解热作用及对血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达水平的影响[J].安徽中医药大学学报,2014,33(5):63
- [5] 左泽平,王志斌,高阳,等.柴胡注射液对 LPS 发热大鼠解热机制的研究[J].中药药理与临床,2012,28(4):57
- [6] Soares D M, Figueiredo M J, Martins J M, et al. A crucial role for IL-6 in the CNS of rats during fever induced by the injection of live E. coli[J]. Med Microbiol Immunol, 2012, 201(1):47
- [7] 左泽平,王志斌,高阳,等.柴胡注射液体外抑制 PGE₂ 释放的生物活性测定法[J].中国中药杂志,2013,38(22):3957

(2015-01-20 收稿)