

· 基础论著 ·

苗药香囊对正常小鼠肺泡灌洗液及血清 IL-2、IL-18 水平的影响

孟庆志 程明亮 张权 王豫萍 李绍臣

【摘要】 目的 观察苗药香囊对正常小鼠肺泡灌洗液及血清 IL-2、IL-18 水平的影响。**方法** 雄性昆明小鼠 50 只,随机分为 5 组,即空白对照组、玉屏风颗粒组(阳性对照组)、香囊持续吸入组、香囊间断吸入组和香囊持续吸入 + 玉屏风颗粒组(香 + 玉组)。连续用药 1 个月后采用 ELISA 试剂盒检测灌洗液及血清中 IL-2、IL-18 水平的变化。**结果** 香囊持续吸入组肺泡灌洗液 IL-2 和 IL-18 的含量分别为 (90.99 ± 10.27) pg/ml 和 (175.29 ± 71.60) pg/ml,显著高于空白对照组的 (54.08 ± 23.49) pg/ml 和 (85.66 ± 28.19) pg/ml,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 苗药香囊能够增加正常小鼠呼吸道中 IL-2 和 IL-18 的含量,进而增强正常小鼠呼吸道黏膜的局部免疫功能。

【关键词】 苗药香囊;流感;小鼠

Effect of Miaoyaoxiangnang on IL-2 and IL-18 in fluid of bronchoalveolar lavage and serum of normal mice MENG Qing-zhi, CHENG Ming-liang, ZHANG Quan, WANG Yu-ping, LI Shao-chen. Department of Infectious Diseases, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China; The People's Hospital of Langfang, Langfang 065000, China

Corresponding author: CHENG Ming-liang, Email: chengml@21cn.com

【Abstract】 Objective To observe the influences of miaoyaoxiangnang on secretory interleukin 2 (IL-2) and interleukin 18 (IL-18) in fluid of bronchoalveolar lavage and serum of healthy mice. **Methods** Total of 50 kunming mice were randomly divided into normal control (NC) group, yupingfengkeli (YPFKL) group, continuous inhalation of xiangnang (CIOXN) group, intermittent inhalation of xiangnang (HIOXN) group, CIOXN + YPFKL group ($n = 9$ in each group). All mice in 5 groups were treated for one month. The levels of IL-2 and IL-18 in fluid of bronchoalveolar lavage and serum were detected by an ELISA kit, respectively. **Results** Compared with NC group, the levels of IL-2 and IL-18 in fluid of bronchoalveolar lavage in CIOXN group were significantly higher ($P < 0.05$). **Conclusions** Miaoyaoxiangnang could enhance the levels of IL-2 and IL-18 in the respiratory tract of healthy mice, which may mainly increase the respiratory mucosal immune function of the mouse.

【Key words】 Miaoyaoxiangnang; Influenza; Mice

“香佩疗法”在祖国医学中已流传上千年,有方便、美观、价廉等优点,国内有应用“香佩疗法”预防非典型肺炎和上呼吸道感染的案例并取得很好效果^[1]。佩带香囊既有美学价值又有医用价值,广泛应用将会获得较好的社会和经济效应。贵州省黔东南州民族医药研究所针对流感传播特点,结合当地苗族民间医药资源丰富的特点,研制了“苗药防感香囊”应用于流感的预防,取得了良好的效果。为探讨“苗药防感香囊”预防流感的机制,本文从呼吸道黏膜免疫防御角度进行研究,报道如下。

材料与方法

一、材料

小鼠白细胞介素 2(interleukin 2, IL-2) ELISA 试剂盒和白细胞介素 18(interleukin 18, IL-18) ELISA 试剂盒均购自上海西唐生物有限公司。苗香牌抗感香囊(黔东南,新华大地民族医药开发有限公司产品, Lot. No. 20091209);玉屏风颗粒(广东环球制药有限公司产品, Lot. No. 100706);酶标仪(Thermo SCIENTIFIC, 美国)。

二、方法

1. 实验动物:健康 SPF(specific pathogen free)级昆明小鼠 50 只,雄性,体重 18 ~ 22 g,由第三军医大学实验动物中心提供,动物许可证号为 SCXK(渝) 2007-0003。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2012.06.002

作者单位:550004 贵阳市,贵阳医学院附属医院感染科(孟庆志、程明亮、张权、王豫萍);065000 廊坊市,河北省廊坊市人民医院(孟庆志、李绍臣)

通讯作者:程明亮, Email: chengml@21cn.com

2. 实验动物分组:50 只健康小鼠随机分为 5 组,即空白对照组、玉屏风颗粒组(阳性对照组)、香囊持续吸入组、香囊间断吸入组、香囊持续吸入组 + 玉屏风颗粒组(香 + 玉组)。①将 5 组小鼠分别置于 3 个房间(湿度、温度和通气条件均一致):空白组与玉屏风颗粒组置于 1 号房间;香囊持续吸入组与香 + 玉组置于 2 号房间;香囊间断吸入组置于 3 号房间。②每个笼子外面用罩子(体积为 0.5 m^3)罩住。罩子上对称位置开 3 个通气窗(面积为 150 cm^2)。5 组小鼠均于 AM 8:00 ~ PM 8:00 用罩子罩住,其他时间拿下罩子。

3. 实验动物药物干预:①空白对照组,给予生理盐水(体积与上述药物体积相同)灌胃,1 次/d,连续 4 周;②阳性对照组,给予玉屏风颗粒灌胃, $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ [2], 1 次/d,连续 4 周;③香囊持续吸入组,给予 10 g 香囊 24 h 持续吸入,每 6 d 更换 1 次香囊,并给予生理盐水灌胃,1 次/d,连续 4 周;④香囊间断吸入组,给予 10 g 香囊于每天 8 ~ 9 时、11 ~ 12 时和 17 ~ 18 时间断性吸入 3 次,每 6 d 更换 1 次香囊,每次 1 小时。并给予生理盐水灌胃(同上),1 次/d,连续 4 周;⑤香 + 玉组,给予 10 g 香囊 24 h 持续吸入,每 6 d 更换 1 次香囊环境,并给予 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 1 次/d,连续 4 周。小鼠经 30 d 药物干预后提取标本。

4. 提取样本:实验动物药物干预 4 周后,摘其眼球放血留取血液,行颈椎脱臼处死后进行肺泡灌洗:①血液经 1500 r/min 离心 10 min ,分离血清,置于 -70°C 低温冰箱保存,待行 ELISA 检测;②每只小鼠双侧肺部灌洗:颈部解剖,暴露气管,1 ml 注射器插入气管上端,0.8 ml 生理盐水冲洗 3 遍,每遍冲洗 3 ~ 5 次。回收的灌洗液于 4°C , 1500 r/min 离心 10 min ,上清置于 -20°C 保存。

5. ELISA 操作:测定肺泡灌洗液及血清中 IL-2 和 IL-18 含量,严格参照试剂盒说明书进行操作。

三、统计学处理

在 SPSS 11.5 软件中建立数据库并进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。分析前行方差齐性检验,方差齐时用 LSD 法;方差不齐时用 Tamhane's 法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异具有显著统计学意义。

结 果

一、各组小鼠肺泡灌洗液 IL-2 和 IL-18 含量

与空白对照组相比,玉屏风颗粒组、香囊持续吸入组、香囊间断吸入组和香 + 玉组小鼠肺泡灌洗液

中 IL-18 水平显著升高($P < 0.05$),但香囊持续吸入组小鼠 IL-18 含量平均值较玉屏风颗粒组高;香囊持续吸入组和玉屏风颗粒组小鼠肺泡灌洗液中 IL-2 显著升高($P < 0.05$),但香囊持续吸入组小鼠 IL-2 含量平均值较玉屏风颗粒组高,见表 1。

表 1 各组小鼠肺泡灌洗液中 IL-2 和 IL-18 含量 (pg/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-2	IL-18
空白对照组	54.08 ± 23.49	85.66 ± 28.19
玉屏风颗粒组	85.23 ± 11.23^a	164.16 ± 53.85^a
香囊持续吸入组	90.99 ± 10.27^a	175.29 ± 71.60^a
香囊间断吸入组	71.35 ± 9.65	153.41 ± 29.75^a
香 + 玉组	75.24 ± 6.00	142.42 ± 22.54^a

注:与空白对照组比较, $^a P < 0.05$

二、各组小鼠血清中 IL-2 和 IL-18 的含量

与空白对照组相比,玉屏风颗粒组小鼠血清中 IL-18 水平显著升高($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组小鼠血清中 IL-2 和 IL-18 含量 (pg/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-2	IL-18
空白对照组	< 检测下限	120.12 ± 49.67
玉屏风颗粒组	< 检测下限	293.04 ± 117.50^a
香囊持续吸入组	< 检测下限	186.84 ± 127.53
香囊间断吸入组	< 检测下限	138.50 ± 36.21
香 + 玉组	< 检测下限	157.17 ± 30.35

注:与空白对照组比较, $^a P < 0.05$

讨 论

流感疫苗在临床应用中有一定限制,且生产滞后,而“苗药防感香囊”在黔东南地区预防流行性感冒工作中取得了良好效果。本课题组前期工作发现,苗药香囊内药物散发出的挥发性物质可刺激呼吸道黏膜上 SIgA 和 IgG1 的含量增高,增强呼吸道局部免疫功能。本课题继续研究苗药香囊对小鼠肺泡灌洗液及血清中促炎细胞因子 IL-2 和 IL-18 含量的影响。

IL-2 由 T 细胞系产生,是动物体内免疫应答的重要调节因子,具有多效性、高效性和反应快等特点,可以改善免疫功能,对多种抗原均有增强作用。IL-2 可以促进淋巴细胞的分化与增殖,维持免疫自身稳定^[3]。IL-2 虽无直接的抗病毒活性,但 IL-2 对于免疫反应是必需的,能刺激 T 细胞快速增殖和分

化。T 细胞受刺激后能产生 IL-2, 所产生的 IL-2 又作用于 T 细胞自身, 诱导自身增殖、分化和发挥功能^[4]。IL-2 通过增强 CTL、NK 细胞的杀伤活性以及诱导 IFN- γ 产生而介导抗病毒感染^[5]。本研究中, 香囊持续吸入组和玉屏风颗粒组小鼠呼吸道灌洗液 IL-2 水平较空白对照组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 且香囊持续吸入组 IL-2 平均值和玉屏风颗粒组相比差异无显著性, 提示香囊和玉屏风颗粒组药物具有相同的功效。提示苗药香囊内药物散发出的挥发性物质可刺激呼吸道黏膜上 IL-2 的含量增高。而每组血清中 IL-2 的含量均低于试剂盒最低检测值, 说明苗药香囊对小鼠血液中 IL-2 水平无影响, 以增强呼吸道局部免疫功能为主。

IL-18 可由多种细胞分泌, 包括巨噬细胞、中性粒细胞和气管上皮细胞。IL-18 能够促进免疫反应, 且能够在不与 T 细胞受体结合的前提下促使 T 细胞产生 IFN- γ , 这也受到所存在的 IL-12 促进作用。同时, 这些细胞因子可提高辅助性 T 淋巴细胞 (Th1) 反应^[6-8]。IL-18 也直接促进自然杀伤细胞激活和扩散, 并被证实许多情况下会促进抗病毒免疫^[9-11]。小鼠在敲除 IL-18 基因后呼吸道合胞病毒滴度上升^[12]。在本实验中, 玉屏风颗粒组、香囊持续吸入组、香囊间断吸入组和香 + 玉组小鼠呼吸道灌洗液中 IL-18 含量较空白对照组显著增加 ($P < 0.05$), 香囊持续吸入组 IL-18 平均值和玉屏风颗粒组相比差异无显著性, 提示香囊和玉屏风颗粒组药物具有相同的功效。苗药香囊内药物散发出的挥发性物质主要通过刺激呼吸道黏膜上 IL-18 的含量增高, 增强呼吸道局部免疫功能而发挥作用。

综上所述, 小鼠持续吸入香囊后, 可增加呼吸道 IL-2 和 IL-18 的含量, 进而提高小鼠呼吸道黏膜的局部防御功能; 而这可能是苗药香囊预防流感的机制, 其作用的分子靶点尚待进一步研究。

孟庆志, 程明亮, 张权, 等. 苗药香囊对正常小鼠肺泡灌洗液及血清 IL-2、IL-18 水平的影响[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2012, 6(6): 517-519.

参 考 文 献

- 1 沈微, 陈华. 香佩疗法预防老年人上呼吸道感染效果观察. 中国民族民间医药, 2010, 2(2): 105.
- 2 梁春敏, 王贤喜, 董群. 玉屏风散对小鼠免疫调节作用的血清药理学研究. 上海免疫学杂志, 2003, 23(6): 385-388.
- 3 张小飞, 杨倩. 黏膜免疫佐剂的研究进展. 免疫学杂志, 2004, 20(3): 62-65.
- 4 胡旭, 邱全瑛, 姜良铎, 等. 胚芽滋养胶囊对流感病毒感染小鼠血清 IL-2 和 TNF- α 的影响. 中国中医急症, 2004, 13(5): 306-307.
- 5 金伯泉. 细胞和分子免疫学. 2 版. 北京: 北京科学出版社, 2001: 138-139.
- 6 Kohno K, Kataoka J, Ohtsuki T, et al. IFN-gamma-inducing factor (IGIF) is a costimulatory factor on the activation of Th1 but not Th2 cells and exerts its effect independently of IL-12. J Immunol, 1997, 15(8): 1541-1550.
- 7 Robinson D, Shibuga K, Mui A, et al. IGIF does not drive Th1 development but synergizes with IL-12 for interferon-gamma production and activates IRAK and NF kappa B. Immunity, 1997, 7(1): 571-581.
- 8 Xu D, Chan WL, Leung BP, et al. Selective expression and functions of interleukin 18 receptor on T helper (Th) type 1 but not Th2 cells. J Exp Med, 1998, 18(8): 1485-1492.
- 9 Liu B, Mori I, Hossain MJ, et al. Interleukin-18 improves the early defence system against influenza virus infection by augmenting natural killer cell-mediated cytotoxicity. J Gen Virol, 2004, 8(5): 423-428.
- 10 Reading PC, Whitney PG, Barr DP, et al. IL-18, but not IL-12, regulates NK cell activity following intranasal herpes simplex virus type 1 infection. J Immunol, 2007, 17(9): 3214-3221.
- 11 Takeda K, Tsutsui H, Yoshimoto T, et al. Defective NK cell activity and Th1 response in IL-18-deficient mice. Immunity, 1998, 8(1): 383-390.
- 12 Boelen A, Kwakkel J, Barends M, et al. Effect of lack of interleukin-4, interleukin-12, interleukin-18, or the interferon-gamma receptor on virus replication, cytokine response, and lung pathology during respiratory syncytial virus infection in mice. J Med Virol, 2002, 6(6): 552-560.

(收稿日期: 2012-03-02)

(本文编辑: 孙荣华)