

细胞数量减少,免疫抑制作用降低,从而导致免疫失衡,引发自身免疫性疾病^[1]。事实上,Treg细胞在UC中有重要的免疫调节作用已初步得到证实,其功能异常或数量减少均可发生导致自身免疫性疾病发生,Treg细胞对UC有预防和治疗作用^[2]。Treg细胞在自身免疫性疾病中的作用,主要是通过释放细胞因子IL-10和TGF- β 抑制效应性T细胞,从而维持机体的免疫平衡和稳定^[3]。

本研究中,动物模型的结肠组织学变化符合UC的基本病理学改变,显示TNBS诱导的结肠炎小鼠模型成功。肠系膜淋巴结、派氏结Treg细胞百分率下降,进一步证实了Treg细胞数量减少可以引起小鼠免疫调节能力下降和免疫抑制功能的削弱是诱发肠道炎症发生的重要机制;全血的Treg细胞百分率也有下降趋势,则反映了局部肠道炎症和免疫紊乱,可能引起宿主机体的自发免疫反应。结肠的病理变化和评分,说明肠道处于炎症急性期,黏膜糜烂、水肿、隐窝减少、中性粒细胞侵入黏膜层和固有层等,是明显的炎症表现。这也说明了Treg细胞与小鼠结肠炎密切相关,在结肠炎的发生发展过程中扮演着重要角色。

结肠炎小鼠经大黄牡丹汤醇提液治疗后,肠道炎症病理改变明显缓解,糜烂、水肿、炎细胞浸润等较模型组减轻,提示大黄牡丹汤提取液对结肠炎有一定的治疗作用。治疗后小鼠全血与肠系膜淋巴结、派氏结内淋巴细胞Treg细胞的百分率较模型组提高,说明这种治疗作用与大黄牡丹汤提取液能改变Treg细胞数量有关。治疗后小鼠全血中IL-10、TGF- β 水平较模型组提高,进一步说明了大黄牡丹汤提取液可能是作用于Treg细胞。

综上所述,大黄牡丹汤提取液能有效改善TNBS/乙醇诱导的小鼠结肠炎,其机制可能与升高IL-10、

TGF- β 水平以及增加Treg细胞表达有关,具体作用机制尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Mayer L. Evolving paradigms in the pathogenesis of IBD[J]. J Gastroenterol, 2010, 45(1): 9-16.
- [2] Maximilian JW, Markus FN. Chemically induced mouse Models of colitis[M]. Current Protocols in Pharmacology, 2009: 5.55.1-5.55.15.
- [3] 周成梅,王青,周联,等. 大黄牡丹汤对实验性结肠炎小鼠模型的治疗作用[J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(4): 263-265.
- [4] 金汝城,谢伟雪. 大黄的化学成分及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(11): 548-551.
- [5] 孙言才,沈玉先,孙国平. 丹皮酚的主要药理活性研究进展[J]. 中成药, 2004, 6(7): 579-582.
- [6] 刘丽尹,运涵,赵春杰. HPLC法同时测定大黄牡丹汤中大黄酸、丹皮酚和芍药苷的含量[J]. 中国药物警戒, 2010, 7(3): 139-141.
- [7] 徐阳,李伟光,刘海峰,等. 三硝基苯磺酸诱导小鼠溃疡性结肠炎模型制备的技术改良[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(2): 106-112.
- [8] Cooper HS, Murthy SN. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis[J]. Lab Invest, 1993, 69(2): 238-249.
- [9] Luk HH, Cho CH. Delineation of the protective action of zinc sulfate on ulcerative colitis in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2002, 443(3): 197-204.
- [10] Obermeier F, Dunger N, Falk W. Contrasting activity of cytosin-guanosin dinucleotide oligonucleotides in mice with experimental colitis[J]. Clin Exp Immunol, 2003, 134(2): 217-224.
- [11] Saito K. Differential regulatory function of resting and preactivated allergen-specific CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in Th2-type airway[J]. J Immunol, 2008, 181(10): 6889-6897.
- [12] Yu QT, Banham AH, Papadakis KA. Expression and functional characterization of FOXP3⁺ CD4⁺ regulatory T cells in ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2007, 13(2): 191-199.
- [13] Zhang N. Regulatory T cells sequentially migrate from inflamed tissues to draining lymph nodes to suppress the alloimmune response[J]. Immunity, 2009, 30(3): 458-469.

(编辑:邓响潮)

化痰中药半夏及山慈菇抗动脉粥样硬化的作用机制研究

杨 广,江 巍,张敏州,阮新民(广州中医药大学第二附属医院,广东 广州 510120)

摘要:目的 探讨半夏、山慈菇的调脂及内皮保护作用。**方法** 采用高脂喂养方法复制大鼠高脂血症模型,造模成功后,将高脂血症大鼠随机分为模型组、阿托伐他汀组、半夏组及山慈菇组4组,分别给予生理盐水、阿

收稿日期:2013-01-07

作者简介:杨广,男,硕士,主治医师,研究方向:重症医学及心血管病的中西医结合研究。Email: yg_1918@163.com。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(2011KT2001)。

托伐他汀、半夏水提液及山慈菇水提液, 每天 1 次, 连续灌胃给药 12 周, 并继续给予高脂喂养; 将非高脂喂养大鼠设为正常对照组。检测比较各组大鼠的血脂及血清内皮素-1(ET-1)、细胞间黏附因子(ICAM-1)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)水平。**结果** 阿托伐他汀组、半夏组、山慈菇组血清总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平均显著下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 半夏组、山慈菇组及阿托伐他汀组的 ET-1、MCP-1 及 ICAM-1 水平虽较模型组降低, 但仅有半夏组及阿托伐他汀组的 ET-1 水平的降低差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 半夏与山慈菇均有降低血脂的作用, 半夏还可通过调节 ET-1 起到保护内皮的作用。

关键词: 半夏; 山慈菇; 调脂; 内皮保护

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0230-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.005

Anti-atherosclerosis Effect and Mechanism of Phlegm-removing Herbs of Rhizoma Pinelliae and Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones

YANG Guang, JIANG Wei, ZHANG Minzhou, RUAN Xinmin(The Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120 Guangdong, China)

Abstract: Objective To explore the effect of phlegm-removing herbs of Rhizoma Pinelliae and Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones on regulating blood lipids and on protecting endothelium. **Methods** Hyperlipemia rat model was induced by high fat diet. After modeling, hyperlipidemia rats were randomly divided into four groups, model group, atorvastatin group, Rhizoma Pinelliae group and Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones group. The four groups were given saline, atorvastatin, Rhizoma Pinelliae water extract, Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones water extract, respectively, twice daily, continuous intragastric administration for 12 weeks. High fat diet was still kept on during the administration. Rats feeding with routine diet served as the blank control group. The levels of blood lipids, serum endothelin -1 (ET-1), intercellular adhesion molecule (ICAM-1) and monocyte chemoattractant protein (MCP-1) were detected and compared. **Results** The levels of total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were significantly decreased in atorvastatin group, Rhizoma Pinelliae group and Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones group, the differences being significant as compared with the model group($P < 0.05$). Compare the model group, the decrease of ET-1 in Rhizoma Pinelliae group and atorvastatin group had significant differences($P < 0.05$). **Conclusion** Phlegm-removing herbs of Rhizoma Pinelliae and Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones show certain effect on regulating blood lipids, and Rhizoma Pinelliae can protect endothelial through regulating ET-1 level.

Keywords: Rhizoma Pinelliae; Pseudobulbus Cremastrae seu Pleiones; Regulating blood lipids; Endothelial protection

动脉粥样硬化已经成为危害我国人民健康的主要疾病, 研究发现^[1], 在 40 ~ 49 岁的人群中, 冠状动脉和主动脉粥样硬化病变发生率分别为 58.36 % 和 88.33 %, 并随年龄增长逐渐增高。近年来, 痰浊作为动脉粥样硬化的病因病机已得到认同, 而血脂水平与内皮功能对动脉粥样硬化的发展起重要作用。笔者根据前期实验结果, 筛选出单味的化痰药山慈菇、半夏的水提物, 探讨其对血脂和内皮功能的影响, 以期从痰论治动脉粥样硬化提供客观指标。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 180~

220 g, 购自广州中医药大学动物实验中心, 动物合格证号: 0005944。

1.2 试剂及仪器 胆固醇, 广州器化医疗设备有限公司, 批号: 041118; 脱氧胆酸钠, 中国医药(集团)上海化学试剂公司, 批号: F20030714; 丙硫氧嘧啶, 广东华南药业有限公司, 批号: 040902; 总胆固醇(TC)检测试剂盒, 罗氏诊断(Roche Diagnostics, Indianapolis, RDI), 批号: 11491458216; 甘油三酯(TG)检测试剂盒, 罗氏诊断, 批号: 11730711.216; 高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)检测试剂盒及低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)检测试剂盒, 日本第一化学药品株式会社, 批号: 164 RHE、137 REE; 大鼠血

清内皮素-1(ET-1)、细胞间黏附因子(ICAM-1)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)试剂盒, Rapid-Bio Lab 公司, 批号: 03190501, 03190606, 08010622; 日立 7180 全自动生化分析仪, 日本日立公司。

1.3 药物提取物的制备 半夏、山慈菇, 广东康美药业公司, 产地广东, 未炮制, 符合 2000 年版《中华人民共和国药典》(一部)对上述药品种属的规定。称取试验用量药材饮片, 加 8 倍量水, 提取 3 次, 第 1 次 100 ℃煎煮 45 min, 第 2, 3 次 100 ℃各煎煮 30 min, 合并 3 次煎煮液, 过滤, 浓缩成浓度相当于 1.0 g·mL⁻¹ 的浓缩液, 冰箱保存备用。

1.4 复制动物模型 大鼠在清洁级动物房中适应性喂养 1 周后, 随机选取 48 只动物作为造模组, 按文献报道^[2]方法制备动物模型。脂肪乳的配制按照 10 %胆固醇、20 %猪油、1 %丙硫氧嘧啶和 2 %脱氧胆酸钠制备成脂肪乳制剂, 即用即配。制备的脂肪乳按 10 mL·kg⁻¹ 灌胃, 隔天 1 次, 剩余 12 只作为正常对照组, 给予生理盐水, 每天上午 1 次, 连续灌胃 2 周。造模 2 周后, 随机选择造模组及正常对照组动物各 3 只, 尾部采血, 取血检测血脂水平。与正常对照组比较, 模型组血脂水平升高, 说明造模成功。结果见表 1。

表 1 正常对照组与模型组血脂水平比较($\bar{x} \pm s$, mmol·L⁻¹)

Table 1 Comparison of blood lipids in blank control group with model group

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	3	1.36 ± 0.08	0.57 ± 0.07	0.97 ± 0.07	0.24 ± 0.04
模型组	3	3.50 ± 0.59*	0.67 ± 0.15	1.76 ± 0.21*	2.59 ± 0.56*

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$ 。

1.5 分组及给药干预 正常对照组按照清洁级普通饲料喂养, 并灌服生理盐水 (10 mL·kg⁻¹), 每日 1 次。模型组继续给予高脂饮食喂养, 并随机分为 4 组 (每组 12 只): ①山慈菇组 (山慈菇水提液 10 g·kg⁻¹), 半夏组 (半夏水提液 10 g·kg⁻¹), 阿托伐他汀组 (阿托伐他汀 3 mg·kg⁻¹), 模型组 (生理盐水 10 mL·kg⁻¹), 均为每天 1 次, 连续灌胃给药 12 周。山慈菇水提物、半夏水提物和阿托伐他汀, 用药剂量按人和动物按体表面积换算, 相当于 60 kg 体质量人每天的药量等效剂量的 10 倍。

1.6 指标检测 末次给药后禁食 24 h, 10 %水合氯醛 (30 mL·kg⁻¹) 腹腔麻醉, 心脏及腹主动脉采血, 3000 r·min⁻¹ 低温离心, 取血清。采用酶学法, 用全自动生化分析检测血脂 (TC、TG、HDL-C、LDL-C)。

ET-1、ICAM-1、MCP-1 均采用 ELISA 法测定。

1.7 统计学处理方法 采用 SPSS 15.0 统计软件建立数据库并进行分析, 所有计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 进行多样本比较的方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对实验性高脂血症大鼠血脂水平的影响 见表 2。模型组 TC、TG 及 LDL-C 水平升高, 与正常对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 除山慈菇组血清 TG 外, 其余各药物组血清 TC、TG、LDL-C 水平均显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与山慈菇组比较, 半夏组 TC、LDL-C 的水平下降更明显, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠血脂水平($\bar{x} \pm s$, mmol·L⁻¹)

Table 2 Effect of single herb on the level of blood lipids in experimental hyperlipidemia rats

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照组	10	-	1.68 ± 0.23	0.58 ± 0.17	1.42 ± 0.23	0.26 ± 0.40
模型组	10	-	4.60 ± 1.22*	0.78 ± 0.48*	1.92 ± 0.38*	3.96 ± 1.18*
阿托伐他汀组	11	0.003	1.55 ± 0.24 ^{△△}	0.38 ± 0.13 [△]	1.83 ± 0.14	0.53 ± 0.19 ^{△△}
山慈菇组	10	10	2.63 ± 0.73 [△]	0.54 ± 0.21 [△]	1.63 ± 0.21	1.84 ± 0.86 [△]
半夏组	11	10	1.93 ± 0.31 ^{△△}	0.62 ± 0.18	1.57 ± 0.22	0.64 ± 0.28 ^{△△}

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$; 与山慈菇组比较, ^{△△} $P < 0.05$ 。

1.2 对实验性高脂血症大鼠血清 ET-1、ICAM-1、MCP-1 的影响 见表 3。模型组 ET-1、MCP-1、ICAM-1 水平升高, 与正常对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 半夏组及阿托伐他汀组 ET-1 水平明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3 对实验性高脂血症大鼠血清 ET-1、MCP-1、ICAM-1 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of single herb on the level of ET-1, MCP-1 and ICAM-1 in experimental hyperlipidemia rats

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	ET-1/pg·mL ⁻¹	MCP-1/μg·mL ⁻¹	ICAM-1/pg·mL ⁻¹
正常对照组	10	-	13.33 ± 5.09	0.54 ± 0.10	0.51 ± 0.12
模型组	10	-	23.53 ± 6.55*	0.68 ± 0.11*	0.68 ± 0.06*
阿托伐他汀组	11	0.003	16.14 ± 6.09 [△]	0.66 ± 0.19	0.66 ± 0.11
山慈菇组	10	10	18.76 ± 5.23	0.65 ± 0.11	0.65 ± 0.10
半夏组	11	10	17.32 ± 5.68 [△]	0.62 ± 0.17	0.67 ± 0.09

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$ 。

3 讨论

动脉粥样硬化就是一种炎症性疾病, 具有慢性炎症反应的病理过程, 而且在整个过程中, 许多炎

症因子、细胞趋化因子、黏附因子引起关键的作用^[3-4]。近年来,内皮功能的损伤成为研究的热点,血管内皮功能受损后,可使 ET-1、ICAM-1、MCP-1 等炎症因子释放,加重血管的收缩及损伤,并使内皮细胞更容易与中性粒细胞结合,促使其浸润迁入动脉壁,导致斑块的进一步形成,同时启动斑块内炎症的发展,导致斑块的不稳定性增加^[9]。而他汀类药物在抗动脉粥样硬化方面,除通过调脂作用外,还有抗炎作用^[6],阿托伐他汀可通过降低 ET-1 改善冠心病患者的内皮功能^[7]。

中医学认为动脉粥样硬化首要因素是脂质代谢失调,而高脂血症属于中医上痰浊范畴,病因病机为饮食失节或先天禀赋不足,导致脾胃受损或肝失调达疏泄,水液运化失调,化为痰浊,阻遏清阳,《灵枢·卫气失常论》曰:“人有脂有膏有肉”,而膏脂过多则引起身体变化,膏脂与津液同源,为津液之稠浊者,化生入血则使血脂升高而为痰浊,痰浊壅塞脉道,胶结于血脉,导致心气运营不畅,遂成斑块。洪永敦等^[8]也发现岭南地区冠心病患者痰瘀证比例较高,而且痰瘀证患者的 ICAM-1 等炎症因子水平较非痰瘀证患者高。化痰法可以降低冠心病患者的血脂,调节血小板聚集,从而有治疗动脉粥样硬化的作用^[9]。我院课题组结合上述理论,将化痰中药及方剂进行整理和分类,发现半夏、槟榔、藿香、山慈菇等药物均有化痰作用,并将其分为理痰药、祛痰药、破痰药^[10]。根据前期的预实验,我们选了山慈菇及半夏的水提取物进行研究,探讨其对血脂和内皮功能的影响。半夏,性辛、温,有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结之功效,现代研究发现半夏有抗氧化,抑制缺血心肌的钙超载,减轻心肌损伤的作用^[11],在治疗心血管疾病方面应用广泛。山慈菇,性甘、微辛,有清热解毒、化痰散结之功效,现代研究^[12-13]发现其有抗肿瘤、抑制血管新生作用,临床上多用于肿瘤的治疗,在心血管方面应用较少,笔者查阅文献未发现有山慈菇调节血脂方面的文献报道。

阿托伐他汀作为经典的调脂药物,除降低胆固醇外,对内皮功能也有改善作用^[7,14],本研究发现阿托伐他汀组的血清 TC、LDL-C 及 ET-1 水平低于模型组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。目前对于化痰法的研究,多为复方研究,对于单味化痰中药的

研究尚少。本研究发现,单味化痰药山慈菇组、半夏组的血清 TC、LDL-C 水平较模型组显著下降($P < 0.05$),其中半夏组与阿托伐他汀组相仿($P > 0.05$),提示化痰中药有调节血脂的作用,半夏的作用更加明显。在改善内皮功能方面,半夏组的 ET-1 水平较模型组有明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示半夏可通过调节 ET-1 起到改善内皮功能及抗动脉粥样硬化的作用。

参考文献:

- [1] 程旭,李殿富,黄钢.放射性核素显像评价动脉血栓和动脉粥样硬化斑块[J].中国临床医学影像杂志,2008,19(11):804-806.
- [2] 倪鸿昌,李俊,金涌,等.大鼠实验性高脂血症和高脂血症性脂肪肝模型研究[J].中国药理学通报,2004,20(6):703-706.
- [3] Huang FP, Wang ZQ, Wu DC, et al. Early NF κ B activities inhibited during focal cerebral ischemia in interleukin-1 β -converting enzyme deficient mice[J]. Neurosci Res, 2003, 73(5): 698-707.
- [4] 杨伍生. CHD 患者血浆 ET-1 和血清 ICAM-1、NO 检测的临床意义[J].放射免疫学杂志,2011,24(3):271.
- [5] Giaginis CT, Vgenopoulou S, Tsouronflis GS, et al. Expression and clinical significance of focal adhesion kinase in the two distinct histological types, intestinal and diffuse, of human gastric adenocarcinoma[J]. Paediatr Oncol Res, 2009, 15(2): 173-181.
- [6] Paul MR, Eleanor D, Francisco AH, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein[J]. N Engl J Med, 2008, 359(21): 2195-2207.
- [7] 李靖,何照国.阿托伐他汀对 60 例不稳定心绞痛患者血清 hs-CRP、MMP-9、ET-1 水平影响的研究[J].重庆医学,2010,39(4):444-445,448.
- [8] 洪永敦,杨海霞.冠心病痰瘀证与多因素的相关性研究[J].广州中医药大学学报,2010,27(2):184-188.
- [9] 黄国荣,吴焕林.益气健脾化痰法对冠心病患者血小板及血脂影响的临床研究[J].新中医,2005,37(6):28-29.
- [10] 阮新民,吴焕林.实用中医痰证学研究[M].北京:中国中医药出版社,2009:13-17.
- [11] 晋红宾,段雪涛,张炳填,等.瓜蒌薤白半夏汤对大鼠缺血再灌注心肌细胞凋亡及 Bcl-2、Bax 蛋白表达影响[J].湖南中医药大学学报,2012,32(1):13-15.
- [12] 高音,冯利.山慈菇外敷治疗骨转移癌疼痛的临床观察[J].世界中西医结合杂志,2011,6(7):574-576.
- [13] Shim JS, Kim JH, Lee J, et al. Anti-angiogenic activity of a homoisoflavonone from *Gremastra appendiculata*[J]. Planta Med, 2004, 70(2): 171-173.
- [14] 陶以嘉,徐大立.阿托伐他汀的临床应用进展[J].心血管病学进展,2012,33(4):553-557.

(编辑:邓响潮)