

实验研究

补肾、健脾、活血 3 类中药复方对脑室内注射 IL-1 β 大鼠肾上腺皮质轴反应状态的影响

段元丽* 张新民* 沈自尹* 王文健* 陈伟华*

摘要 在大鼠侧脑室内注射白细胞介素-1 β (IL-1 β)后 30 分钟,观察血液中促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮的浓度,建立一个肾上腺皮质轴对免疫因子的反应状态,以此来观察 3 类中药对这一反应状态是否有不同的影响。结果显示,侧脑室内注射 IL-1 β 后血中 ACTH、皮质酮明显升高,与国外文献报道相似;补肾中药能使因 IL-1 β 诱导而升高的血中 ACTH、皮质酮进一步明显升高;健脾中药也有升高趋势;活血化瘀中药则未见明显差异。

主题词 注射,脑室内 促肾上腺皮质激素/药物作用 补肾药/药理学

本课题应用脑室内注射 IL-1 的方法,观察 IL-1 对肾上腺皮质轴的反应性,以此来研究 3 类中药复方对这一反应状态的作用。

1 材料与方法

1.1 材料:3 月龄 SD 雄性大鼠,体重 200g 左右,由上海医科大学实验动物部提供。桃红四物汤由桃仁 10g,当归 10g,熟地黄 10g,白芍 10g,红花 10g,川芎 10g 组成。四君子汤由党参 10g,白术 10g,茯苓 10g,炙甘草 6g 组成。右归饮由熟地黄 10g,怀山药 10g,淫羊藿 10g,枸杞子 10g,山茱萸 6g,附子 6g,肉桂 3g,炙甘草 3g 组成。3 方分别以 1:10 加水浸泡过夜,文火水煎 2 小时,分别浓缩至每毫升含生药 1.9g、1.2g、2.0g,4℃ 冰箱保存备用。

1.2 侧脑室插管术:大鼠称重后,腹腔注射 0.35% (ml/g)戊巴比妥(100ml/100g),大鼠麻醉后固定在立体定位仪上,碘酒、酒精消毒后,划开头皮、暴露头颅骨,前后囟门定位,在前囟门旁开 1mm,向后 2mm,用 2mm 牙钻钻洞,插入用 8 号针管做成的长 12mm 针管

(内有针芯),深 4mm,用塑料片和 502 胶水固定,然后用牙托粉再次固定插管。手术以见到脑脊液为成功。

1.3 IL-1 剂量曲线试验:取实验大鼠 30 只,分成 5 个不同浓度组,每组 6 只。在行侧脑室插管手术后第 7 天时,在安静条件下,以最小的刺激将实验大鼠固定于木架上,移去插管内芯,用塑料管连接微量注射器,以 1 分钟 1 μ l 的速度缓慢注入 10 μ l 用生理盐水稀释的人重组白细胞介素-1 β (IL-1 β 为 Sigma 公司产品,批号:1-4356),注射浓度分别为 0、12.5ng、25.0ng、50.0ng、100.0ng,30 分钟后,迅速断头取血,血液收集于 0.4%EDTA 抗凝塑料试管中摇匀、离心,血浆保存在 -20℃ 冰箱中,待测定 ACTH、皮质酮浓度。(这一实验过程要求在上午 11 时至下午 2 时之间完成)

1.4 3 类中药复方对脑室内注射 IL-1 大鼠肾上腺皮质轴反应的作用:取 SD 大鼠 54 只,随机分成活血化痰组、健脾益气组、补肾益精组、IL-1 对照组和正常对照组,以上 3 个用药组大鼠每组 10 只,分别灌服桃红四物汤、四君子汤和右归饮浓缩煎剂 2ml/天。用药剂量为成年人 60kg 体重剂量的 20 倍。两个对照组大鼠每组 12 只,灌服生理盐水 2ml。实验大鼠灌服中药复方制剂第 7 天后行侧脑室插管术,术后单笼饲养,继续喂药至第 14 天,在安静条件下,将实验大鼠以最小的刺激固定于木架上,移去插管内芯,用塑料管连接微量注射器,以 1 分钟 1 μ l 的速度缓冲注入 IL-1 β 10 μ l (5ng/ μ l),对照组以同样的方式注入生理盐水 10 μ l。30 分钟后迅速断头取血,收集于 0.5%EDTA 抗凝塑料试管中摇匀、离心,血浆保存于 -20℃ 冰箱中,待测定 ACTH、皮质酮浓度(所有实验要求在上午 11 时至下午 2 时之间完成)。

1.5 测定方法:促肾上腺皮质激素(ACTH)放免试剂盒、皮质酮放免试剂盒均为 DPC 公司产品。按说明书常规操作,用 Beckman 公司 Gammon 5500 型 γ -计数器测定放射性强度,计算出 ACTH、皮质酮浓度。

1.6 统计学处理:各组数据间的比较,均用 t 检验方

* 上海医科大学中西医结合研究所,上海市乌鲁木齐中路 12 号(200040)

收稿日期:1998-06-29;修回日期:1998-11-11

法作显著性分析。

2 结果

2.1 IL-1 剂量曲线:从表 1 可见,侧脑室内注射 IL-1 β 后,血浆 ACTH 浓度随注射剂量的增加而不断上升,25.0ng 组、50.0ng 组、100.0ng 组与正常对照组比较明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 1 不同浓度 IL-1 β 脑室内注射大鼠
血中 ACTH 的影响($\bar{X}\pm S$)

分 组	鼠数	ACTH(pg/ml)
正常对照组	6	79.2 $\pm$ 42.3
12.5ng 组	6	124.3 $\pm$ 101.2
25.0ng 组	6	215.4 $\pm$ 201.1*
50.0ng 组	6	232.2 $\pm$ 119.3**
100.0ng 组	6	227.1 $\pm$ 114.2**

与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

2.2 3 类中药复方对侧脑室内注射 IL-1 大鼠血中 ACTH、皮质酮的影响:从表 2 可见,IL-1 对照组大鼠血浆 ACTH、皮质酮浓度与正常对照组相比均明显升高($P<0.01$),活血化瘀组大鼠血浆 ACTH、皮质酮浓度与 IL-1 对照组相比均有一定升高趋势,但无统计学意义。健脾益气组大鼠血浆 ACTH、皮质酮浓度与 IL-1 对照组相比较均有明显升高($P<0.05$),补肾益精组大鼠血浆 ACTH、皮质酮浓度与 IL-1 对照组相比均明显升高($P<0.01$)。

表 2 3 类中药复方对侧脑室内注射 IL-1 大鼠
血中 ACTH、皮质酮的影响($\bar{X}\pm S$)

分 组	鼠数	ACTH(pg/ml)	皮质酮(ng/ml)
正常对照组	12	78.7 $\pm$ 40.0	142.77 $\pm$ 86.15
IL-1 对照组	12	177.6 $\pm$ 115.2*	356.42 $\pm$ 39.28*
活血化瘀组	10	260.0 $\pm$ 159.9	384.84 $\pm$ 52.58
健脾益气组	10	282.7 $\pm$ 162.0 Δ	404.15 $\pm$ 74.77 Δ
补肾益精组	10	376.1 $\pm$ 140.3 $\Delta\Delta$	429.58 $\pm$ 59.79 $\Delta\Delta$

与正常对照组比较,* $P<0.01$;与 IL-1 对照组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

3 讨论

1987 年 Sailorsky 等的实验发现,静脉、脑室注射 IL-1 后,皆能引起大鼠 ACTH 和皮质醇浓度升高,10 分钟可达到高峰值,其高峰值与注射 IL-1 剂量成正相关。提前注射促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)抗血清,中和 CRF 的作用,IL-1 就不能诱导血浆 ACTH 和皮质醇浓度的升高。提示 IL-1 诱导 ACTH 的作用是通过下丘脑或更高中枢系统^[1]。1988 年

Katsuura 等进一步比较了静脉、脑室内注射 IL-1 β 和 IL-1 α 对 ACTH 的影响,结果显示 IL-1 β 是引起血浆 ACTH 浓度升高的主要细胞因子^[2]。我们的工作表明,大鼠侧脑室注射不同浓度人重组 IL-1 β ,30 分钟后血中 ACTH 浓度随注射剂量的增加而不断上升,其中 25.0ng 组、50.0ng 组、100.0ng 组与对照组比较明显升高。这一实验结果与国外文献报道相似^[3,4],为 IL-1 通过中枢激活肾上腺皮质系统提供了又一例证。

众所周知,肾上腺皮质功能对机体的免疫机能具有直接的调控作用。本世纪 60 年代初,沈自尹等就发现,肾虚病人尿 17-羟皮质类固醇含量低下,提示肾虚病人肾上腺皮质功能减退。温补肾阳中药能使肾虚病人尿 17-羟皮质类固醇含量升高,提示温补肾阳中药能促进肾上腺皮质功能^[5]。近年来的研究结果表明,各类不同的中药复方在不同的情况下,可对免疫机能产生不同程度影响。本实验的研究结果显示,在脑室内注射 IL-1 前 14 天用 3 种不同的中药复方灌胃,并与用生理盐水灌胃的正常对照组比较,结果发现,补肾中药类中药复方能已升高了的 ACTH、皮质酮进一步升高,且有明显差异,健脾益气类中药复方在这一反应状态中也能使已升高的 ACTH 进一步升高,但其皮质酮没有明显差异,而活血化瘀类中药复方在这一反应状态中没有显示出明显的结果。提示补肾中药能提高机体内肾上腺皮质机能对 IL-1 的反应性或反应能力,而活血化瘀类中药似乎没有这一作用。

4 参考文献

- 1 Sapolsky R, Rivier C, Yamamoto G, et al. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. Science. 1987;238:522.
- 2 Uehara A, Gottschall PE, Dahl RR, et al. Stimulation of ACTH release by human interleukin-1 beta but not by interleukin-1 alpha, in conscious, freely-moving rats. Biochem Biophys Res Commun. 1987;146:1286.
- 3 Catherine R, Wylie V, Marvin B. In the interleukin-1 α and -1 β stimulate adrenocorticotropin and catecholamine release. Endocrinology. 1989;125:3096.
- 4 Serge R, Gernien T, Catherine R. Differential effects of central and peripheral injection of interleukin-1 β on brain c-fos expression and neuroendocrine functions. Brain Research. 1992;587:13.
- 5 姜春华, 沈自尹. 肾的研究. 第二版. 上海: 上海科技出版社, 1981:28.

注:本课题为国家自然科学基金重点项目资助(3923370)