

电针上巨虚对溃疡性结肠炎模型大鼠 白细胞介素-1 β 和白细胞介素-4 的影响

严杰 张泓 陈楚淘 杨茜云 廖文峰 陈平国

(湖南中医药大学基础医学院、针灸推拿学院,长沙市韶山中路 119 号,410007)

[摘要] 目的 观察电针上巨虚对溃疡性结肠炎(UC)模型大鼠白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-4(IL-4)的影响,探讨电针上巨虚治疗 UC 的部分作用机制。方法 40 只雄性 Wistar 大鼠随机分为正常组、模型组、上巨虚组、非穴组 4 组,每组 10 只。以三硝基苯磺酸灌肠诱导建立 UC 大鼠模型,观察电针上巨虚后 UC 模型大鼠 IL-1 β 及 IL-4 含量的变化。结果 电针上巨虚能使 UC 模型大鼠结肠组织 IL-1 β 含量明显降低,IL-4 含量明显增高,与模型组及非穴组比较,差异有显著性意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 电针上巨虚对 UC 模型大鼠的作用机制可能与降低促炎细胞因子 IL-1 β 水平和提高抗炎细胞因子 IL-4 水平有关。

[关键词] 电针;溃疡性结肠炎;上巨虚;白细胞介素-1 β ;白细胞介素-4

Effect of Electro-acupuncture at Shangjuxu (ST 37) on Interleukin-1 β and Interleukin-4 of Ulcerative Colitis Rat Models

YAN Jie, ZHANG Hong, CHEN Chu-tao, et al.

(Preclinical Medical College of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007)

ABSTRACT Objective To observe the effect of electro-acupuncture at Shangjuxu (ST 37) on interleukin-1 (IL-1 β) and interleukin-4 (IL-4) of ulcerative colitis (UC) rat models to study its functional mechanism. **Methods** The 40 male Wistar rats were randomly divided into four groups: normal group, model group, Shangjuxu (ST 37) group, non-acupoint group, with 10 in each. The UC models were made with trinitrobenzene sulphoneacid (TNBS) enema to observe the quantitative changes of IL-1 β and IL-4 after electro-acupuncture at Shangjuxu (ST 37). **Results** The electro-acupuncture at Shangjuxu (ST 37) made the quantity of IL-1 β of colic tissues of UC rat models decreased obviously, the quantity of IL-4 increased obviously, compared with model and non-acupoint groups, the difference was significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** The electro-acupuncture at Shangjuxu (ST 37) is effective for UC rat models, its functional mechanism may be involved in decreasing IL-1 β , the inflammatory inducing factor, and increasing IL-4, the anti-inflammatory factor.

Key Words Electro-acupuncture; Ulcerative colitis (UC); Shangjuxu (ST 37); Interleukin-1 β (IL-1 β); Interleukin-4 (IL-4)

近年来的研究表明针刺具有调节神经—内分泌—免疫的作用,可以调节溃疡性结肠炎(UC)中的促炎细胞因子和抗炎细胞因子,并取得了良好的疗效^[1,2]。近年来,针灸治疗 UC 的临床报道较多,而实验机理研究则相对较少^[3,4]。上巨虚作为大肠腑下合穴,目前临床上主要用于大肠腑病的治疗,并取得了较好的疗效,但作用机制未完全明确。本研究旨在根据《黄帝内经》中有关“合治内腑”的理论,通过电针大肠腑下合穴上巨虚对 UC 模型大鼠进行治疗,观察白细胞介素-1 β (IL-1 β)与白细胞介素-4(IL-4)含量的变化,探讨针刺治疗 UC 的部分作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组与处理

雄性、健康成年 Wistar 大鼠 40 只,体重(260 $\pm$ 20)g,清洁级。所有大鼠均在安静环境下饲养,自由进食饮

水,实验前 24 小时禁食不禁水,随机分为 4 组,每组 10 只。正常组以生理盐水替代 2,4,6—三硝基苯磺酸(TNBS, Sigma 公司)溶液造模,次日将大鼠固定于特制固定器上,不做其他处理;模型组 TNBS 造模成功次日将大鼠固定于特制固定器上,不做其他处理;上巨虚组 TNBS 造模成功次日将大鼠固定于特制固定器上,取双侧上巨虚穴进行电针治疗;非穴组 TNBS 造模成功次日将大鼠固定于特制固定器上,取双侧上巨虚旁 0.5cm 进行电针治疗。每日观察大鼠精神状态、进食、活动、大便等情况。

1.2 造模方法

参照朱峰等^[5]的方法,在大鼠禁食不禁水 24 小时后,25%乌拉坦腹腔注射麻醉(0.5ml/100g),将直径 2.0mm、长约 20cm 的聚乙烯输液管(外涂石蜡油),由肛门轻柔插入直肠 8cm,用注射器注入 30mg TNBS 的 50%乙醇溶液 0.85ml。然后,使动物平卧(后肢略高,防止液体溢出),自然清醒,自由饮食。

1.3 针刺方法

根据《实验针灸学》^[6]于大鼠后肢足三里向下约

基金项目:湖南省科技厅自然科学基金委员会项目(03JJY4026)、湖南省教育厅项目(03C306)、湖南省中医管理局资助项目(202004)
通讯作者:严杰, yanjie-2000@tom.com, (0731)8458208

5mm 处取双侧上巨虚穴,直刺,进针深度 5mm 左右,捻转有紧滞感后针柄接 SDZ-Ⅱ 型华佗牌电针治疗仪(针灸针为 0.25mm×40mm),右侧接正极,左侧接负极。刺激参数:疏密波(疏波 4Hz,密波 50Hz),强度定于该治疗仪“1”档左右,以大鼠双下肢轻微抖动为宜。留针 30 分钟,每天 1 次,连续 10 天。

1.4 样本采集与处理

每组按上法处置 10 天后将动物处死,立即开腹分离结肠,取远端结肠部分(约 10cm),沿肠系膜纵轴方向剪开肠腔,迅速用冰生理盐水冲洗后,取一块 100mg 左右的结肠组织置于玻璃匀浆器中,加入 0.4ml 无水乙醇粗碾,再加入 1.6ml 生理盐水匀浆,4℃,4000 转/分钟,15 分钟,取上清液装于 EP 管中,-20℃保存,待测 IL-1β 及 IL-4 含量。

1.5 IL-1β、IL-4 含量测定

采用北京北方生物技术研究所提供的 IL-1β、IL-4 放射分析测定盒(平衡法)进行检测,操作严格按测定盒说明书要求进行。

1.6 统计学方法

使用 SPSS11.5 软件,各组计量资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行单因素方差分析,满足正态分布且方差齐性时选择 LSD 法,方差不齐时选择 Tamhane 法进行两两比较。

2 结果

2.1 电针上巨虚对 UC 大鼠 IL-1β 含量的影响

附表示,与正常组比较,其他各组结肠组织 IL-1β 含量明显增高($P < 0.05$);上巨虚组与模型组比较,IL-1β 含量则明显降低($P < 0.05$);非穴组与模型组 IL-1β 含量十分接近($P > 0.05$),但与上巨虚组比较,含量明显增高($P < 0.01$)。

2.2 电针上巨虚对 UC 大鼠 IL-4 含量的影响

附表示,与正常组比较,模型组 IL-4 含量明显降低($P < 0.01$),上巨虚组 IL-4 含量与之十分接近($P > 0.05$);与模型组比较,上巨虚组 IL-4 含量则明显升高($P < 0.01$);非穴组与模型组 IL-4 含量十分接近($P > 0.05$),但与上巨虚组比较含量明显降低($P < 0.01$)。

附表 各组大鼠结肠组织 IL-1β、IL-4 含量比较(ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-1β	IL-4
正常组	10	1.140±0.062	0.622±0.148
模型组	10	6.637±2.217*	0.335±0.044**
上巨虚组	10	3.371±1.872*△▲	0.571±0.134△▲▲
非穴组	10	6.278±2.122*	0.355±0.056**

与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与非穴组比较,▲ $P < 0.01$

3 讨论

UC 是一种病因不明的慢性非特异性炎性肠病,免疫功能异常是其发病的关键因素之一,而细胞因子在其病理过程中起着重要作用,促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子的平衡调节,对维持肠道正常免疫反应具有十分重要的病理生理意义^[7,8]。

IL-1β 主要通过自分泌或旁分泌刺激其他的细胞因子和炎症介质产生,诱导抗原提呈细胞表面免疫分子的表达,为 T 淋巴细胞的活化提供第二信号,促进 B 淋巴细胞的增殖、分化,介导免疫球蛋白的分泌,由此激活补体、杀伤细胞及吞噬细胞的活性,增强细胞免疫和体液免疫而介导组织损伤过程。此外,还能促进血管内皮—白细胞黏附分子的表达,趋化中性粒细胞等炎性细胞进入肠道病变部位,从而引起一系列肠道炎症反应和组织破坏,在 UC 的发病中起重要作用,被公认为是介导 UC 发病的重要细胞因子之一^[9]。本实验中,模型组较正常组大鼠结肠黏膜组织 IL-1β 含量明显增高,说明在外来抗原的刺激下,大鼠肠黏膜免疫系统被激活,淋巴细胞、单核/巨噬细胞参与结肠黏膜免疫反应,大量产生 IL-1β,使黏膜自身免疫性炎症损伤增加。结肠组织 IL-1β 含量在正常组最低,上巨虚组较高,非穴组和模型组最高,反映 IL-1β 确实和 UC 活动有着密切的关系。电针上巨虚后,结肠组织 IL-1β 含量呈现降低趋势,表明电针上巨虚能降低免疫细胞对炎症的反应性,调节异常的免疫功能,有利于消除炎症,修复组织损伤。

IL-4 主要由激活的淋巴细胞合成,对淋巴细胞和巨噬细胞发挥免疫调节作用。IL-4 具有下行的免疫调节作用,能抑制人巨噬细胞克隆形成,抑制炎症介质的释放,有较强的抗炎作用^[10];UC 时,过氧化物和溶酶体酶释放增多,诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)活性增高,合成大量的一氧化氮(NO),伴随产生过多的自由基损伤组织,增强自然杀伤细胞的毒性^[11],延缓抑制 H₂O₂ 的产生,并抑制 iNOS 的表达和活性,调节 NO 的生成^[12]。本实验中,模型组较正常组大鼠结肠黏膜 IL-4 含量显著降低,说明抗炎细胞因子 IL-4 含量减少可能参与 UC 发病机制。电针大肠腑下合穴上巨虚后,IL-4 含量较模型组显著增高,说明电针大肠腑下合穴上巨虚可上调抗炎细胞因子 IL-4 的含量,调节异常的免疫功能,从而有利于消除炎症、修复组织损伤,对 UC 有一定的治疗作用。

总之,电针大肠腑下合穴上巨虚对 UC 有一定的治疗作用,其作用机制可能降低促炎细胞因子 IL-1β 的含量、提高抗炎细胞因子 IL-4 的含量有关。但电针

大肠腑下合穴上巨虚能否对其他炎性细胞因子起调节作用以及调节这些细胞因子的作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Ishizuka K, Sugimura K, Homma T, et al. Influence of interleukin-10 on the interleukin-1 receptor antagonist/interleukin-1 beta ratio in the colonic mucosa of ulcerative colitis. *Digestion*, 2001, 63(Suppl 1): 22~27.
- [2] Bulois P, Tremaine WJ, Maunoury V, et al. Pouchitis is associated with mucosal imbalance between interleukin-8 and interleukin-10. *Inflamm Bowel Dis*, 2000, 6(3): 157~164.
- [3] 梁珑, 李鹤. 针灸治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎. *江苏中医*, 1997, 18(6): 31.
- [4] 陆雄, 吴焕淦, 施征, 等. 针灸治疗大鼠实验性溃疡性结肠炎黏膜的组织病理学观察. *中国中医基础医学杂志*, 1998, (增刊): 198.
- [5] 朱峰, 钱家鸣, 潘国中. 细胞免疫反应性炎症性肠病动物模型的建立. *中国医学科学院学报*, 1998, 20(4): 271~278.
- [6] 邓春雷, 殷克敬. *实验针灸学*. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 147~148.
- [7] Bregenholt S. Cells and cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease: new insights from mouse T cell

transfer models. *Exp Clin Immunogenet*, 2000, 17(3): 115~129.

- [8] Ashwood P, Harvey R, Verjee T, et al. Functional interactions between mucosal IL-1, IL-ra and TGF-beta 1 in ulcerative colitis. *Inflamm Res*, 2004, 53(2): 53~59.
- [9] Street ME, de'Angelis G, Camacho-Hubner C, et al. Relationships between serum IGF-1, IGFBP-2, interleukin-1beta and interleukin-6 in inflammatory bowel disease. *Horm Res*, 2004, 61(4): 159~164.
- [10] Morita Y, Yamamura M, Kawashima M, et al. Differential in vitro effects of IL-4, IL-10 and IL-13 on proinflammatory cytokine production and fibroblast proliferation in rheumatoid synovium. *Rheumatol Int*, 2001, 20(2): 49~54.
- [11] Ljung T, Herulf M, Beijer E, et al. Rectal nitric oxide assessment in children with Crohn disease and ulcerative colitis. Indicator of ileocaecal and colorectal affection. *Scand J Gastroenterol*, 2001, 36(10): 1073~1076.
- [12] Kolios G, Wright KL, Linehan JD, et al. Interleukin-13 inhibits nitric oxide production in human colonic mucosa. *Hepatology*, 2000, 47(33): 714~717.

(收稿日期: 2007-01-22; 修回日期: 2007-04-20)

[编辑: 赵 艳]

(上接第 42 页)

谓:“肝者, 将军之官, 谋虑出焉。”说明五脏中与思维情绪变化等精神活动联系最密切的是肝, 肝失疏泄, 气机郁滞, 气机不能舒展出现情绪低落、悲伤忧愁等, 随着病情的发展和病程的延长出现气滞血瘀, 久病必瘀的病理变化, 精神症状和躯体症状进一步加重。方中逍遥散舒肝解郁、健脾养血, 加入栀子清热除烦、泻火凉血, 青皮破肝郁之气, 酸枣仁养血安神, 丹参活血凉血宁神, 川芎、桃仁、红花行气活血化瘀, 合用治疗本病达到疏肝解郁、活血化瘀、养心安神之功效。现代医学研究表明, 逍遥散具有抗焦虑和抗抑郁的药理作用。王静怡采用小鼠悬尾法和大鼠未预知的长期应激刺激法进行实验, 发现逍遥散有抗慢性抑郁的作用, 与丙咪嗪相似^[7]。李玉娟等研究, 丹栀逍遥散可降低抑郁症患者 HAMD、SDS、SAS 评分, 与麦普替林等疗效相当, 且副反应较小^[8]。另有研究表明, 逍遥散和以逍遥散为基本方加减同样具有较好的抗抑郁作用^[9]。活血化瘀药能促进机体代谢, 提高大脑皮质兴奋性, 配合理气解郁药可以改善抑郁状态^[10], 共同达到治疗抑郁症的目的。

本研究显示, 由逍遥散加活血化瘀药组方治疗抑郁症, 具有药效安全, 疗效可靠, 副作用小, 患者依从性好, 防止复发等优点, 拥有广阔的发展前景, 其对抑郁

症患者神经、免疫、内分泌系统的影响及抗抑郁机理, 有待进一步研究。

参考文献

- [1] 费立鹏. 中国的精神卫生问题——21 世纪的挑战 and 选择. *中国神经精神疾病杂志*, 2004, 30(1): 1~10.
- [2] 中华医学会精神科分会. *中国精神障碍分类与诊断标准*. 3 版. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 35.
- [3] 张明园. *精神科评定量表手册*. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1993: 34, 122, 198.
- [4] 国家中医药管理局. *中医病证诊断疗效标准*. 南京: 南京大学出版社, 1994: 20.
- [5] 吴文源, 李建林主编. *综合医院精神卫生*. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 60~93.
- [6] 郝伟. *精神病学*. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 107~110.
- [7] 王静怡, 查鹏州, 石玉君, 等. 逍遥散的药理研究. *中国医院药物杂志*, 2002, 22(8): 489~490.
- [8] 李玉娟, 罗和春, 钱瑞琴, 等. 丹栀逍遥散对抑郁症患者神经免疫内分泌系统的影响. *中国中西医结合杂志*, 2007, 27(3): 199.
- [9] 徐志伟, 吴丽丽, 严灿, 等. 逍遥散和丹栀逍遥散抗抑郁作用的实验研究. *中医药学报*, 2003, 31(3): 16~17.
- [10] 方药中, 邓铁涛, 李克光, 等. *实用中医内科学*. 上海: 上海科学技术出版社, 1984: 437.

(收稿日期: 2006-10-17; 修回日期: 2007-05-12)

[编辑: 李长今]