

盆宁颗粒对盆腔炎模型大鼠体液免疫功能的影响

汪明德¹ 许浩² 姜萍¹ 周倩茹¹ 吴静怡³ 杨汝春¹

(1. 杭州市中医院, 浙江省杭州市体育场路 453 号, 310007; 2. 杭州市第一人民医院; 3. 浙江中医药大学)

[摘要] **目的** 探讨盆宁颗粒的免疫调节作用机理。**方法** 建立混和菌感染引起的大鼠盆腔炎模型, 观察盆宁颗粒不同剂量组对盆腔炎模型大鼠血清白细胞介素 2 (IL-2)、可溶性白细胞介素 2 受体 (SIL-2R)、白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 以及免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA 含量的影响, 并与庆大霉素和康妇消炎栓作对照。**结果** 与盆腔炎模型组相比, 其他各组均能明显提高 IL-2、IgM、IgG、IgA 水平, 降低 SIL-2R、IL-6 和 TNF- α 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 尤其是盆宁颗粒高剂量组作用优于庆大霉素组和康妇消炎栓组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 盆宁颗粒能够改善盆腔炎模型大鼠体液免疫功能, 这可能是其治疗盆腔炎作用机理之一。

[关键词] 盆腔炎; 体液免疫; 灌肠; 盆宁颗粒

Influence of Penning Granule on Humoral Immune Function of Rats with Pelvic Inflammation

WANG Mingde¹, XU Hao², Jiang Ping¹, et al.

(1. Hangzhou TCM Hospital, Hangzhou 310007; 2. The First People's Hospital of Hangzhou City; 3. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To study the mechanisms of immunoregulation of Penning Granule (Granules for pelvic inflammation). **Methods** The model rats of pelvic inflammation (PI) caused by mixed bacteria were established to observe the influence of different dosages of Penning Granule on serum interleukin 2 (IL-2), soluble interleukin 2 receptor (SIL-2R), interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α), and levels of immunoglobulin IgM, IgG, and IgA, the result of which was compared with those of Gentamicin and Kangfu Xiaoyan Shuan (Rectal suppository for women with PI). **Results** Compared with the model group, the levels of IL-2, IgM, IgG, and IgA of all other groups were increased and SIL-2R, IL-6 and TNF- α decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The effect of high dosage group was better than those of the two control groups (Gentamicin and Kangfu Xiaoyan Shuan) with a significant difference ($P < 0.05$) and close to the blank control group ($P > 0.05$). **Conclusion** Penning Granule can significantly improve the humoral immunologic function of pelvic inflammation rats. This is maybe one of its functional mechanisms in treatment of PI.

Key Words Pelvic inflammation; Humoral immunologic function; Rectal administration; Penning Granule

盆腔炎是妇科常见病, 有缠绵不愈, 易于复发的特点。盆宁颗粒原名红藤汤, 系我们经临床应用多年改进而成的经验方, 对湿热瘀结型盆腔炎有较好临床疗效。现代中医学对盆腔炎的研究, 多从免疫学、微循环及血液流变学、抗微生物、抗炎、镇痛、抗粘连等方面展开, 本课题拟从体液免疫作用机制方面做一系统研究。

1 材料

1.1 主要仪器

DL-8R 冷冻离心机, 由上海市离心机械研究所提供; TRITURUS 酶标仪, 由芬兰 Labsystems 公司提供。

1.2 主要药物及试剂

混合细菌悬液(菌种: 标准 ATCC 25922 大肠埃希菌菌株, ATCC 25925 金黄色葡萄球菌菌株), 由杭州市中医院微生物室提供; 盆宁颗粒组成: 红藤 30g, 白花蛇舌草 30g, 当归 15g, 赤芍 15g, 乳香 6g, 没药 6g, 柴胡 15g, 延胡索 15g 等, 批号 070930, 每包 20g, 由江阴制药厂提

供; 生理盐水, 批号 06103002, 由浙江新一制药厂提供; 庆大霉素, 批号 0702122, 由上海现代哈森商丘药业有限公司提供; 康妇消炎栓, 批号 20070407, 由黑龙江铁力红叶制药有限公司提供; 白细胞介素 2 (IL-2) 试剂盒, 批号 27-KRC0021, 由 Biosource 公司提供; 可溶性白细胞介素 2 受体 (SIL-2R) 试剂盒, 批号 79-SXR021-96, 由 SX-Tech 公司提供; 白细胞介素 6 (IL-6) 试剂盒, 批号 27-KRC0061, 由 Biosource 公司提供; 肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 试剂盒, 批号 27-KRC3011, 由 Biosource 公司提供; 免疫球蛋白 IgM 试剂盒, 批号 31-E110-100; 免疫球蛋白 IgG 试剂盒, 批号 31-E110-128; 免疫球蛋白 IgA 试剂盒, 批号 31-E110-102, 由 Bethyl 公司提供。

1.3 实验动物

雌性 SD 大鼠 70 只, 体重 (200 $\pm$ 20) g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 许可证号: SCXK (沪) 2007-0005, 由浙江中医药大学动物实验中心饲养。

2 方法

2.1 菌液制备

参照文献[1]方法, 将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌

分别接种于肉汤培养基 24h 后,进行菌液稀释,用无菌蒸馏水 2ml,分别取经 24h 培养的菌株数个(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌比为 2:1),用标准麦氏管(相当于 30 亿个菌株)比浊,所得数为所需要的菌液浓度。

2.2 动物模型的制备

参照文献[1]方法,雌性SD大鼠盆腔炎模型建立:用戊巴比妥钠(浓度为0.4%)腹腔注射麻醉大鼠(50mg/kg)后,无菌条件下取大鼠下腹正中切口约0.8~1.0cm,开腹后暴露并固定子宫,用1ml注射器抽取0.2ml混合细菌悬液,在注入菌液之前用注射器机械损伤子宫内膜组织,然后注入0.1ml菌液,分层关腹,消毒术区,造模后各鼠单独笼养。

2.3 动物分组与给药方法

根据大鼠体重,采用随机数字表法分为空白对照组,盆腔炎模型组,庆大霉素组,康妇消炎栓组,盆宁颗粒高、中、低剂量组,共7组,每组10只。除空白对照组外,其余6组大鼠造模,造模后继续饲养14天。空白对照组和盆腔炎模型组以生理盐水灌胃,庆大霉素组以庆大霉素灌胃,康妇消炎栓组以康妇消炎栓溶解后灌肠给药,盆宁颗粒高、中、低剂量组给予盆宁颗粒按不同剂量灌肠,每日1次,每次2ml,连续14天,剂量按50kg成人体表面积折算^[2]。根据预实验结果,盆宁颗粒低剂量组1.8g/kg(浓度为0.18g/ml),中剂量组3.6g/kg(浓度为0.36g/ml),高剂量组7.2g/kg(浓度为0.72g/ml),盆宁颗粒低、中、高剂量浓度为1:2:4,庆大霉素组1.44万U/kg,康妇消炎栓组5.04g/kg。

2.4 大鼠血清IL-2、SIL-2R、IL-6、TNF-α和免疫球蛋白IgA、IgM、IgG检测

给药14天后麻醉大鼠抽取下腔静脉血约4ml,高速离心后,用移液器吸取上层离心血清,酶联免疫吸附法测定,步骤均按照试剂盒说明。

2.5 统计学方法

采用SPSS10.0统计软件,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两样本均数之间的比较用t检验,多样本均数之间的比较用方差分析。

3 结果

3.1 各组大鼠血清IL-2、SIL-2R、IL-6及TNF-α含量比较

表1示,与盆腔炎模型组比较,除空白对照组外,其余各组均能明显提高IL-2水平,降低SIL-2R、IL-6、TNF-α水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中盆宁颗粒高剂量组在提高IL-2,降低SIL-2R、IL-6、TNF-α方面与庆大霉素组、康妇消炎栓组比较亦有统计学差异($P < 0.05$);盆宁颗粒高剂量组IL-2、SIL-2R和TNF-α含量与空白对照组比较无统计学意义($P > 0.05$)。

3.2 各组大鼠血清免疫球蛋白含量比较

表2示,各组大鼠IgM、IgG和IgA水平均高于盆腔炎模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);其中颗粒剂高剂量组在提高IgM、IgG和IgA水平方面优于庆大霉素组和康妇消炎栓组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而与空白对照组无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组大鼠血清IL-2、SIL-2R、IL-6及TNF-α含量比较(ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-2	SIL-2R	IL-6	TNF-α
空白对照组	10	1.39±0.23**	0.72±0.34**	263.70±26.61**△	0.33±0.16**
盆腔炎模型组	10	0.85±0.20	2.00±0.26	435.56±23.73	1.23±0.23
庆大霉素组	10	1.14±0.21**△	1.14±0.27**△	351.26±33.76**△	0.53±0.24**△
康妇消炎栓组	10	1.12±0.24**△	1.15±0.21**△	336.00±24.37**△	0.60±0.21**△
颗粒剂高剂量组	10	1.37±0.21**	0.81±0.24**	201.63±25.72**	0.34±0.23**
颗粒剂中剂量组	10	1.21±0.20**	1.13±0.38**	306.67±16.32**	0.44±0.22**
颗粒剂低剂量组	10	1.10±0.22**	1.20±0.31**	398.22±40.13*	0.61±0.21**

注:与盆腔炎模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与盆宁颗粒高剂量组比较,△ $P < 0.05$

表2 各组大鼠血清免疫球蛋白含量比较(ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IgM	IgG	IgA
空白对照组	10	1177.00±244.86**	398.33±47.77**	81.67±13.13**
盆腔炎模型组	10	653.00±208.56	236.73±21.91	39.60±16.34
庆大霉素组	10	833.27±159.89*△	355.28±55.42**△	62.47±12.85**△
康妇消炎栓组	10	842.27±143.57*△	349.10±45.54**△	62.00±21.63*△
盆宁颗粒高剂量组	10	1083.46±60.77**	372.85±66.76**	79.13±13.53**
盆宁颗粒中剂量组	10	996.18±365.15*	338.83±49.58**	66.60±22.45**
盆宁颗粒低剂量组	10	807.27±81.40	319.73±33.81*	53.33±9.94

注:与盆腔炎模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与盆宁颗粒高剂量组比较,△ $P < 0.05$

4 讨论

盆腔炎起病多始于湿热,秽毒之邪下受,日久则气滞血瘀,正虚邪恋,迁延不愈。本方以清热解毒、活血化瘀为主,我们认为,急性期当以清热解毒为主,活血化瘀为辅,慢性期则反之,各有侧重。盆宁颗粒中,清热解毒以红藤、白花蛇舌草为主,活血化瘀以当归、赤芍、乳香、没药为主,佐以柴胡、延胡索等行气止痛。诸药合用,共奏活血化瘀,清热解毒之功。

IL-2 是具有多种生物学活性的淋巴因子,具有调节机体免疫、增加机体抗感染作用。IL-2 与 IL-2 受体结合后,可促进细胞毒T 细胞的杀伤作用,增强自然杀伤(NK) 细胞活性,促进B 细胞分泌IgG 等细胞免疫反应;同时 IL-2 可减少自身免疫抗体的产生,从而减弱自身免疫反应,减轻组织损伤。因此 IL-2 水平反映了宿主 T 淋巴细胞活化程度,以及宿主免疫系统清除自身衰老变性细胞、自体变性和损伤细胞方面的能力大小^[3]。SIL-2R 作为一种重要淋巴因子,具有直接与血液循环中的IL-2 结合的能力或与膜IL-2R 竞争结合的能力,可导致 IL-2 水平下降及影响 IL-2 和膜 IL-2R 结合,阻断 IL-2 生物学功能的发挥^[4]。IL-6 是具有多种生物活性的细胞因子,在免疫调节方面可促进B 细胞增殖分化,并诱导成熟B 细胞分泌抗体,在形成免疫复合物时,激活补体;但过量IL-6 的产生,会导致过于剧烈的免疫反应,对机体造成损害^[5]。TNF- α 是活化的单核巨噬细胞产生的一种重要的细胞因子,在感染性疾病和炎症方面,引起白细胞在炎症部位聚集,促进炎症反应。在免疫调节方面,TNF- α 具有双重作用,适度反应产生适量的TNF- α 增强机体的免疫功能;过度反应产生过量TNF- α 则产生过于剧烈的免疫反应,呈现其毒性作用,对机体造成损害^[6]。免疫球蛋白IgG、IgM、IgA 是抗体的重要组成部分,其主要功能是与抗原结合,从而可发挥中和毒素的作用,阻止病原微生物侵入细胞,激活补体^[7]。

本研究结果显示,盆腔炎模型组大鼠血清 IL-2 浓

度以及免疫球蛋白IgG、IgM、IgA 含量较空白对照组显著降低($P < 0.01$),而SIL-2R、IL-6 浓度较空白对照组显著升高($P < 0.01$),表明此时免疫系统功能低下。其他治疗各组大鼠IL-2、IgG、IgM、IgA 水平均较盆腔炎模型组高,SIL-2R、IL-6 水平均较盆腔炎模型组低,说明其他治疗组均有改善机体免疫力的作用。而高剂量组在提高机体免疫力方面优于庆大霉素组、康妇消炎栓组。提示盆宁颗粒的增强机体免疫功能、抑制免疫损伤作用可能是治疗盆腔炎的作用机制之一。盆腔炎模型组大鼠血中TNF- α 浓度较空白对照组亦明显增高($P < 0.01$),说明TNF- α 在盆腔炎炎症形成和发展过程中发挥重要作用。其他治疗组大鼠血中TNF- α 水平低于盆腔炎模型组,并且颗粒高剂量组降低最为明显,提示盆宁颗粒治疗盆腔炎的机制可能是其具有抗免疫及抗炎性细胞因子作用,从而抑制外周血单核细胞和巨噬细胞分泌TNF- α 使外周血TNF- α 降低来实现临床疗效的。

参考文献

[1]刘瑞芬,杨晓娜,李伯勤.盆腔炎颗粒治疗慢性盆腔炎的临床与实验研究[J].山东中医药大学学报,2003,27(6):424-425.
[2]徐叔云,卞如谦,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991:1535.
[3]余传霖,叶天星,路德源.现代医学免疫学[M].上海:上海医科大学出版社,1998:358-360.
[4]Rubin LA, Nelson DL. The soluble interlenkin-2 receptor: biology, function, and clinical application[J]. Ann Intern Med, 1990, 113(8):619-627.
[5]李红梅,张三元.慢盆宁对实验性慢性盆腔炎巨噬细胞分泌功能的调节[J].实用医技杂志,2005,12(11):3081-3082.
[6]唐海兰.与肿瘤坏死因子- α 有关的抑制物(综述)[J].暨南大学学报,1998,19(2):89-91.
[7]龚非力主编.基础免疫学[M].武汉:湖北科学技术出版社,1998:295.

(收稿日期:2008-06-05;修回日期:2008-11-14)

[编辑:邓媛]

(上接第731页)

参考文献

[1]Chemerinski E, Robinson RG. The neuropsychiatry of stroke[J]. Psychosomatics, 2000, 41(1):5-14.
[2]全国第四届脑血管病学术会议.各类脑血管疾病的诊断要点[J].中华神经科杂志,1996,29(6):379.
[3]任占利,郭蓉娟.中风病诊断与疗效评定标准[J].北京中医药大学学报,1996,19(4):49-51.
[4]滕晶.中风后抑郁症发病机制探讨[J].山东中医药大学学

报,2003,27(2):101-102.
[5]张秀荣,赵鸿运.舒神汤治疗中风后抑郁症临床研究[J].河南中医,2002,22(3):35.
[6]蒋振亚,何玲娜,彭力群,等.针刺天谷八阵治疗中风后抑郁症[J].中国针灸,2002,22(1):30.
[7]赖真.淫羊藿临床活用偶拾[J].辽宁中医学院学报,2001,3(4):266.

(收稿日期:2008-11-09;修回日期:2009-03-20)

[编辑:行之]