

• 实验研究 •

太乙药条温灸法对盆腔炎后遗症
大鼠局部免疫功能的影响王 芸¹ 陈利芳^{1*} 陈国伟²

(1. 浙江中医药大学附属第三医院, 浙江省杭州市拱墅区莫干山路 219 号, 310053;

2. 浙江省桐乡市第二人民医院)

* 通讯作者: clfang@163.com, 13957157278

[摘要] 目的 探讨太乙药条温灸法对盆腔炎后遗症大鼠局部免疫功能的调节作用及其机制。方法 将雌性 Wistar 大鼠随机分成正常组、模型组、实验组和对照组, 每组 10 只。正常组和模型组常规饲养; 实验组和对照组分别在大鼠关元穴、次髂穴处施太乙药条温和灸和普通温和灸, 每次每穴各施灸 30min, 每日 1 次。1 个月后观察各组大鼠子宫形态学及病理学变化并对其炎症程度进行评分, 检测大鼠阴道冲洗液中分泌型免疫球蛋白 A (SIgA) 的含量及血清中白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的含量。结果 实验组大鼠子宫腔基本通畅, 宫腔少量积液, 腺体结构清晰, 腺上皮轻微增生。正常组、实验组和对照组大鼠炎症评分与模型组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 其中实验组与对照组炎症评分比较差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。实验组大鼠 SIgA 含量与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。模型组大鼠血清 TNF- α 和 IL-6 含量显著升高, 与其他 3 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 实验组 TNF- α 和 IL-6 含量与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 盆腔炎后遗症的发生与局部 SIgA 分泌不足、区域免疫功能下降及细胞因子的异常分泌有关, 太乙药条温灸法可以对以上方面起到一定的调节作用。

[关键词] 盆腔炎后遗症; 太乙药条温灸法; 局部免疫

Effect of Taiyi Moxa-cigar Warming Moxibustion on the Local Immune Function of Rats with Sequela of Pelvic Infection

WANG Yun, CHEN Lifang, CHEN Guowei

(1. The Third Affiliated Hospital of Zhejiang University of Chinese Medicine, Hangzhou 310053; 2. The Second People's Hospital of Tongxiang City, Zhejiang Province)

ABSTRACT Objective To explore the effect and its mechanism of Taiyi moxa-cigar warming moxibustion on the local immune function of rats with sequela of pelvic infection. **Methods** The female Wistar rats were randomized into normal group, model group, experiment group, and control group, 10 in each. The normal group and model group were conventionally raised. The experiment group and control group were treated with Taiyi moxa-cigar warming moxibustion and general moxibustion respectively at Guanyuan (CV 4) and Ciliao (BL 32), 30 minutes for each point each time, once a day. One month later, the morphological and pathological changes of uteri of rats of each group were observed and the uterine inflammatory severity was scored as well, and the content of secretory immunoglobulin A (S-IgA), serum interleukin 6 (IL-6), and tumor necrosis factor α (TNF- α) in the vaginal rinsing water was detected. **Results** In the experiment group, the uterine cavity was basically unobstructed with a little effusion in it, the glandular structure was clear, and the glandular epithelium was mildly hyperplastic. Compared with the model group, the score of uterine inflammatory severity of the normal group, experiment group, and control group was statistically different ($P < 0.01$). And the score of the experiment group and control group was also statistically different ($P < 0.05$). Compared with the model group, the S-IgA content of experiment group was statistically different ($P < 0.01$). In the model group, the IL-6 and TNF- α content was significantly increased, compared with the other 3 groups, the statistical difference was significant ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The TNF- α and IL-6 content of the experiment group was not statistically different from that of the control group ($P > 0.05$). **Conclusion** The occurrence of sequela of pelvic inflammation is related to the inadequacy of local S-IgA secretion, the weakening of regional immune function, and the abnormality of cell factors. Taiyi moxa-cigar warming moxibustion is able to regulate them to a certain degree.

Key Words sequela of pelvic inflammation; Taiyi moxa-cigar warming moxibustion; local immunity

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

现代研究证实灸法具有明显的免疫调节功能^[1-2],而盆腔炎后遗症存在局部免疫功能紊乱、抵抗力下降的情况,致使其反复发作、迁延难愈。在临床观察中,我们发现用太乙药条温灸关元、次髂等穴治疗盆腔炎后遗症具有较好的疗效。本研究建立大鼠模型,进一步观察其疗效并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物

42 只 Wistar 雌性大鼠,清洁级,体重 180~200g,中国科学院上海实验动物中心提供,动物许可证号:SYLK(浙)2003-0003,饲养于浙江中医药大学实验动物中心。

1.2 主要仪器及试剂

巴比妥钠,上海医药(集团)上海化学试剂公司产品,批号 F20040522;分泌型免疫球蛋白 A(SIgA)放射免疫分析盒,北京原子高科核技术应用股份有限公司提供;白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)放射免疫分析药盒,北京科美东雅生物技术有限公司提供。FA-2004 型电子分析天平,上海天平仪器厂生产;TGL-1G 型高速冷冻离心机、DDL-5 低速离心机,上海安亭科学仪器厂生产;SN-695B 型智能放免测量仪,上海原子核研究所日环仪器一厂生产。

1.3 太乙药条的制作

太乙药条的制作参考《太乙神针》^[3]的制作方法,将乳香、没药、丁香、松香、麝香、雄黄、穿山甲、桂枝、杜仲、枳壳、皂角、细辛、川芎、独活各 3g,硫磺 6g 共研细末,配艾绒 90g,作为太乙神针的施灸材料。取长约 30cm 棉皮纸,置药末 21~24g,卷如爆竹式,越紧越好,外用桑皮纸厚糊 6~7 层,阴干待用。

2 方法

2.1 造模方法

采用苯酚胶浆法^[4]:戊巴比妥钠(浓度为 3%)腹腔注射麻醉大鼠(0.15ml/100g),待麻醉生效后,用橡皮筋牵拉四肢固定于操作台上,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 4 号针头选取左侧子宫在其分叉处小心进针,向卵巢方向缓慢注入 20% 苯酚胶浆 0.1ml,分层关腹,消毒术区。

2.2 动物分组和处理

大鼠适应性饲养 1 周后编号,用抽签的方法抽取其中 10 只作为正常组,其余造模。造模 15 天后,再按上述方法随机抽取其中 2 只解剖,显示造模成功后,将造模大鼠按照随机数字表分为模型组、实验

组和对照组各 10 只。正常组和模型组常规饲养,不做任何处理;实验组和对照组分别在大鼠关元穴、次髂穴处施太乙药条温和灸和普通温和灸,每次每穴各施灸 30min,每日 1 次。各组于治疗、饲养 1 个月

2.3 形态学观察

肉眼观察大鼠左侧子宫的大体形态变化,根据每例子宫与周围组织的粘连、子宫壁充血、宫腔狭窄、积液、炎性包块及对右侧子宫的影响 6 种情况,由轻到重分别计为 0、1、2、3 分,累计每组动物炎症评分,分值越高提示慢性炎症程度越重。

2.4 病理学观察

取大鼠左侧子宫置于 10% 甲醛溶液中固定,48h 后取出,切取组织块 2mm 左右厚度,制作病理组织切片,程序按常规脱水、透明、包埋、切片、HE 染色进行,光学显微镜下镜检。

2.5 SIgA、TNF- α 、IL-6 的检测

取大鼠阴道冲洗液,采用放射免疫法测定 SIgA;腹静脉取血, -4℃ 3000r/min 分离血清,采用放射免疫法测定 TNF- α 、IL-6,具体操作均严格按照试剂盒说明书进行。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 11.0 软件进行数据处理,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较用一维方差分析(F 检验),组间两两比较用 q 检验。

3 结果

3.1 造模结果

在手术过程中无大鼠死亡。手术 15 天后,所有大鼠恢复较好,腹部伤口已全部愈合,一般状态稳定;随机取 2 只大鼠麻醉后解剖,肉眼观察左侧子宫,呈现子宫壁充血明显,与周围组织部分形成粘连;取子宫组织,24h 后做病理切片,HE 染色,光镜下观察子宫内膜上皮及腺上皮细胞增生,大量淋巴细胞、浆细胞浸润,尚可见少量中性粒细胞,证明造模成功^[4]。

3.2 各组大鼠形态学观察及炎症评分比较

正常组大鼠子宫大小形态基本正常,与周围组织无粘连;模型组大鼠可见盆腔下部充血,内有明显纤维组织粘连,子宫充血,宫腔狭窄、积液、炎性包块;对照组大鼠有子宫壁充血、粘连,部分可见宫腔积液;实验组大鼠子宫腔基本通畅,部分见子宫壁充血、扩张,宫腔少量积液,粘连较少。表 1 示,正常组、实验组和对照组大鼠炎症评分与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。实验组和对照组大

鼠炎症评分都明显高于正常组($P<0.05$);其中实验组与对照组炎症评分比较差异亦有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 各组大鼠炎症评分比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	炎症评分
实验组	10	1.69±0.32 Δ #
对照组	10	3.35±0.82 Δ ##
模型组	10	4.42±0.71
正常组	10	0.25±0.16 Δ

注:与模型组比较, $\Delta P<0.01$;与正常组比较, # $P<0.05$;与实验组比较, * $P<0.05$

3.3 各组大鼠病理学观察比较

正常组大鼠子宫腔壁组织结构清晰,腺体结构正常,腺上皮排列整齐;模型组大鼠子宫腔壁黏膜固有层腺体结构消失,腺上皮增生,肌层与黏膜层结构紊乱、分层不清,淋巴细胞和浆细胞浸润,内膜充血水肿;实验组大鼠腺体结构清晰,腺上皮轻微增生,可见淋巴细胞和浆细胞浸润,纤维组织增生不明显;对照组大鼠黏膜上皮轻微增生,淋巴细胞和浆细胞浸润较少,内膜充血水肿不明显。

3.4 各组大鼠 SIgA、TNF- α 、IL-6 含量比较

表 2 示,实验组大鼠 SIgA 含量与模型组比较差异有统计学意义($P<0.01$),与正常组和对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。模型组大鼠血清 TNF- α 和 IL-6 含量显著升高,与其他 3 组比较差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$);实验组和对照组大鼠 IL-6 含量跟正常组比较均明显升高($P<0.05$);实验组 TNF- α 和 IL-6 含量与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 各组大鼠血清 SIgA、TNF- α 、IL-6 含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	SIgA($\mu\text{g/ml}$)	TNF- α (ng/ml)	IL-6(ng/ml)
实验组	10	1.19±0.13**	0.53±0.45*	0.16±0.82*#
对照组	10	0.89±0.32	0.54±0.71*	0.17±0.54*#
模型组	10	0.31±0.16	1.13±0.18	0.22±0.01
正常组	10	0.71±0.06	0.36±0.05**	0.13±0.03*

注:与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与正常组比较, # $P<0.05$

4 讨论

SIgA 是黏膜分泌的最重要的体液免疫分子,占黏膜免疫球蛋白量的 80%^[5], SIgA 含量的多少与局部免疫能力的大小直接相关^[6]。在对感染类人猿免疫缺陷病毒(SIV)的猕猴研究中发现其阴道冲洗液中仅含 IgG,而含 IgA 的浆细胞在阴道和宫颈基底层中基本消失^[7];对女性非淋菌性尿道炎和宫颈炎与 SIgA 关系的研究也都显示了 SIgA 的减少

与生殖泌尿道炎症的易感性密切相关^[8-9]。本实验研究中发现,盆腔炎后遗症大鼠模型组局部 SIgA 含量明显较其他各组少,而其炎症评分最高,大体形态观察见明显的宫腔积液和炎性包块,炎症状态明显而且呈加重趋势;实验组局部 SIgA 含量跟模型组相比明显升高($P<0.05$),但是其炎症评分明显较模型组低($P<0.01$),结合病理形态学改变,证明慢性炎症转归较好、炎症正在趋向愈合;可见局部 SIgA 的分泌对实验大鼠慢性子宫炎症的转归、趋向愈合、防止慢性炎症进一步造成组织损伤等方面起到了一定的作用。TNF- α 和 IL-6 既是免疫调节因子,又是重要的炎症介质, TNF- α 可促进 IL-6 蛋白的表达^[10-11]。在本实验研究中模型组大鼠 TNF- α 和 IL-6 含量与正常组比较均显著升高($P<0.05$),其中又以 TNF- α 的升高更为明显($P<0.01$),而模型组的炎症程度是最严重的,说明 TNF- α 和 IL-6 在慢性盆腔炎症过程中有异常升高现象。实验组经过治疗后与模型组相比 TNF- α 和 IL-6 含量明显下降($P<0.05$),证明对两者的异常分泌有一定的调节作用,但是与正常组比较,则显示其对 IL-6 的调节作用没有对 TNF- α 明显,虽然从数值上看表现为较好的趋势,但与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。综合以上各项比较,同一种灸法,由于施灸材料的不同使灸法的效果产生了一定的差别。可见,在灸法治疗本病的过程中,发挥双方面作用——穴位和施灸药材,即穴效和药效是密不可分的,药、灸、穴结合具有一定的优势疗效。

目前对盆腔炎后遗症的反复发作尚无特效疗法,抗生素治疗在急性期的使用具有较好疗效,在慢性阶段长期使用抗生素会产生耐药性而使患者更容易感染真菌等病原菌。中医药疗法对于缓解或消除症状有一定的帮助。目前研究已发现慢性盆腔炎患者在慢性阶段多数没有细菌感染的临床证据,但病情仍在继续进展,其原因显然已不是单纯感染性炎症所能解释,免疫病理损伤是慢性阶段的主要病理变化,是本病慢性进展的主要原因^[12]。局部免疫功能的紊乱、抵抗力的低下是导致慢性盆腔炎反复发作的主要原因。因此,提高盆腔的局部免疫功能,从增强女性生殖道黏膜免疫功能入手,可以为本病的治疗提供新的思路和方法。太乙药条温灸疗法在这方面具有一定的优势,而且该疗法操作便捷,治疗过程安全而舒适,患者能长期坚持治疗,具有较好的依从性。

(下转第 1134 页)

素相互作用,久病入络,造成肾络气血运行失畅,肾府不得濡养,主水藏精之职失司,湿浊瘀毒内聚,终致肾气衰败。故而枢机不利,平衡失调,因虚致实,肾络郁滞应是包括MsPGN在内的多种慢性肾脏病的共同病理基础。针对上述病机,我们经多年临床实践,研制出中药复方肾苏Ⅱ。肾苏Ⅱ方用柴胡、黄芩畅达三焦,枢转气机;黄芪、当归益气活血,扶正理虚;水蛭、细辛辛通络脉,化瘀利水。诸药协同,疏导调节,养脏和络,促进气血调和流畅,渗灌脏腑组织,临床疗效显著。

实验结果证实,模型组TP/24h、BUN、SCr含量升高,且随饲养时间的延长而愈加明显;而中药组、西药组尿蛋白排泄显著减少,BUN、SCr降低,与模型组比较有统计学意义,且中药组、西药组间比较,中药组具明显治疗优势。病理学观察表明,中药组、西药组对MsPGN大鼠的肾组织形态学改变、系膜细胞及基质增殖均具改善作用,且中药组优于西药组。同时,模型组IL-6水平较正常肾组织明显增多,证实了肾组织局部IL-6异常表达参与MsPGN病变发展,而中药组IL-6水平较模型组明显降低,提示肾苏Ⅱ可有效干预IL-6的过度表达。综上所述,中药复方肾苏Ⅱ可有效干预MsPGN大鼠肾功能损害,阻抑病理改变,其机制可能与调控肾组织IL-6水平有关。

参考文献

- [1]刘静芳,温进坤,严霞,等.抗胸腺细胞血清法诱发大鼠系膜增殖性肾炎模型[J].中国病理生理杂志,1999,15(3):

274-277.

- [2]李慧,蒋涛,杨静,等.大鼠抗Thy-1系膜增生性肾炎TGF- β_1 和calponin α_1 表达变化的初步研究[J].复旦学报(医学版),2005,32(1):9-13.
- [3]黄胜,孙林,叶任高.反义IL-6寡核苷酸对实验性系膜增生性肾炎IL-6,IL-6mRNA表达的影响[J].中山大学学报(医学科学版),2003,24(1):35-38.
- [4]邹万忠.肾活检病理学[M].北京:北京大学医学出版社,2006:70-74.
- [5]陈志强,范焕芳,郭登洲,等.化瘀通络中药对MsPGN大鼠血栓素B $_2$ 及6-酮前列腺素F $_{1\alpha}$ 表达的影响[J].中国中医基础医学杂志,2009,15(3):197-199.
- [6]李涌泉,余学清,李晓艳,等.白细胞介素1 β 通过p38信号通路上调系膜细胞表达白细胞介素6[J].中国免疫学杂志,2004,20(6):389-392.
- [7]Buraczynska M, Jozwiak L, Ksiazek P, et al. Interleukin-6 gene polymorphism and faster progression to end-stage renal failure in chronic glomerulonephritis[J]. Transl Res, 2007, 150(2):101-105.
- [8]包崑,毛炜,庞巍,等.黄芪和雷公藤多甙对大鼠肾小球系膜细胞增殖及分泌IL-6影响的比较[J].广州中医药大学学报,2005,22(4):292-295.
- [9]于俊生,吴桂艳,卫艳玲.益肾饮合雷公藤多甙对系膜增生性肾小球肾炎大鼠TNF- α 和IL-6蛋白表达的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2008,9(3):225-228.
- [10]Shima Y, Iwano M, Yoshizaki K, et al. All-trans-retinoic acid inhibits the development of mesangial proliferative glomerulonephritis in interleukin-6 transgenic mice[J]. Nephron Exp Nephrol, 2005, 100(1):54-62.

(收稿日期:2010-06-28;修回日期:2011-02-10)

[编辑:行之]

(上接第1130页)

参考文献

- [1]常小荣,严洁,王超.灸法的历史沿革及前景展望[J].中华中医药学刊,2008,26(7):1433-1435.
- [2]田岳凤,靳聪妮,李雷勇.灸法对红细胞免疫调节作用的分析[J].中华中医药学刊,2008,26(3):540-541.
- [3]孙忠年.太乙神针[M].西安:陕西科学技术出版社,1992:7.
- [4]闻莉,张三元.大鼠慢性盆腔炎模型的技术要求及模型特点[J].浙江中西医结合杂志,2001,11(8):484-486.
- [5]冯江敏,周希静.黏膜免疫与反复发性尿路感染[J].中国实用内科杂志,2001,21(4):209-210.
- [6]胡正强,江咏梅.SIgA基础与临床研究进展[J].免疫学杂志,2003,19(3):75-78.
- [7]Bergmeier LA, Tao L, Gearing AJ, et al. Induction of IgA and IgG antibodies in vaginal fluid, serum and saliva following immunization of genital and gut associated lymphoid tissue[J]. Adv Exp Med Biol, 1995, 371B:

1567-1573.

- [8]李燕,刘全忠.女性生殖道SIgA和IFN- γ 水平与非淋菌性尿道炎临床过程的相关性研究[J].中华性传播感染杂志(英文版),2005,5(1):37-39.
- [9]李红宾,王正文,王朝凤,等.阴道分泌型免疫球蛋白A浓度与宫颈炎的关系[J].云南医药,1996,17(1):62-63.
- [10]Yamauchi N, Harada T, Taniguchi F, et al. Tumor necrosis factor- α induced the release of interleukin-6 from endometrial stromal cells by the nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways[J]. Fertil Steril, 2004, 82(Suppl 3):1023-1028.
- [11]王永进,胡少东,袁晓倩,等.冠状动脉综合征患者血清白细胞介素6和肿瘤坏死因子 α 水平及辛伐他汀的干预作用[J].中国临床康复,2005,9(11):36-37.
- [12]蔡雪芬,王樟连,陈利芳.黄芪注射液穴位注射治疗慢性盆腔炎的实验研究[J].浙江大学学报(医学版),2006,35(4):433-439.

(收稿日期:2010-09-26;修回日期:2011-01-21)

[编辑:崔京艳]