

• 实验研究 •

人工模拟不同外邪环境对正常及免疫低下小鼠一般情况的影响

郭彩云¹ 高 鹏² 李俊莲¹ 马彦平¹ 李艳彦¹ 陶功定^{1*}

(1. 山西中医学院, 山西省太原市晋祠路一段 89 号, 030024; 2. 黑龙江中医药大学硕士研究生)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873211)

* 通讯作者: sctytgd@163.com, (0351)2272220

[摘要] 目的 探讨不同环境因素对正常及免疫低下小鼠一般情况的影响。方法 选取 64 只昆明种小鼠随机分为正常组、风寒组、寒湿组、湿热组、低免组、风寒低免组、寒湿低免组、湿热低免组, 每组 8 只。腹腔注射环磷酰胺 80mg/(kg·d) 连续 3 天制备低免模型, 借助人工气候箱制备风寒、寒湿、湿热外邪环境模型。于造模前、后观察记录小鼠精神活动、毛色、进食量、饮水量、体重、皮肤、关节及大便情况, 连续观察 7 天。结果 与正常组比较, 各模型组小鼠进食量、饮水量均明显减少, 体重增长明显减慢($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与低免组比较, 寒湿低免组小鼠进食量减少, 湿热低免组的饮水量减少, 且两组体重都较造模前减轻($P<0.05$)。外邪低免组与相应的外邪组小鼠比较, 各外邪低免组进食量、饮水量明显减少, 体重减轻($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。各模型组小鼠在精神状态、活动、毛色、皮肤、关节及大便等方面均有一定影响, 而外邪低免组表现明显。结论 3 种环境因素对正常及免疫低下小鼠的一般情况都有影响, 对免疫低下小鼠的影响更为明显。

[关键词] 人工气候箱; 环境因素; 免疫低下; 一般情况; 外邪

Influence of Simulated Exogenous Pathogens on the General Situations of Normal and Immunocompromised Mice

GUO Caiyun¹, GAO Peng², LI Junlian¹, MA Yanping¹, LI Yanyan¹, TAO Gongding¹

(1. Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan 030024; 2. Post-graduate of Heilongjiang University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the influence of different exogenous pathogens such as wind, cold, damp, heat, on the general situations of mice. **Methods** Totally 64 Kunming mice were randomized into eight groups, including normal group, wind-cold group, cold-damp group, damp-heat group, immunocompromised group, wind-cold immunocompromised group, cold-damp immunocompromised group, and damp-heat immunocompromised group, with 8 in each. The wind-cold, cold-damp and damp-heat environmental conditions were prepared by climate incubator for making the exogenous environment models and cyclophosphamide was given continuously for 3 days thorough intraperitoneal injection 80mg/(kg·d) for making the immunocompromised models. The spiritual activities, haircolor, skin, joints, and stools of mice were observed every day, and the food consumption, water consumption, and body weight were recorded at regular time for 7 days in succession. **Results** Compared with the normal group, the food and water consumption in all model groups was significantly decreased, and the growth of body weight was significantly slowed down. Compared with the immunocompromised group, the food consumption in the cold-damp immunocompromised group was decreased, the water consumption in the damp-heat immunocompromised group was decreased, and the body weight of these two groups was reduced than before modeling($P<0.05$). Compared with the corresponding exogenous pathogen groups, the food and water consumption in all exogenous pathogen immunocompromised groups was significantly decreased and the body weight was reduced ($P<0.05$ or $P<0.01$). There was influence on the spiritual activities, haircolor, skin, joints, and stools of all model groups, while the effect was more significant in the exogenous pathogen immunocompromised groups. **Conclusion** All these three environmental factors affect the general situations of normal and immunocompromised mice and the influence on immunocompromised mice is more significant.

Key Words climate incubator; environmental factors; immunodeficiency; general condition; exogenous pathogens

不同外界气候对不同体质机体会产生不同的作用, 如“人禀五常, 因风气而生长, 风气虽能生万物, 亦能害万物”^[1], 即“六气”在一定的条件下, 可以转化为“六淫”。六淫致病在临床上多是相兼为患, 并

以风寒、寒湿、湿热最为多见。因此, 本研究借助人工气候箱模拟外界气候^[2], 建立风寒、寒湿、湿热 3 种外邪致病环境模型^[3], 建立免疫低下模型。通过观察记录 3 种外邪环境下正常及免疫低下小鼠一般

情况的变化,探讨不同外邪环境因素对正常及免疫低下小鼠的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取昆明种小鼠 64 只,清洁级,体重 (20 ± 2) g,雌雄各半。由山西省中医药研究院动物中心提供,动物许可证号 SCXK(晋)2009-0002。标准饲料饲养,饲养温度: $(21 \pm 2)^{\circ}\text{C}$;湿度: $(50 \pm 4)\%$ 。

1.2 药物

注射用环磷酰胺(CY),批号:09052421,江苏恒瑞医药股份有限公司。

1.3 主要仪器

人工气候箱,LRH-800-GSI 型,韶关市泰宏医疗器械有限公司生产。超声波加湿器,YC-D201 型,北京亚都人工环境科技公司生产。

1.4 动物分组与造模

适应性饲养 2 天后,将 64 只小鼠依照随机数字表法分为正常组、风寒组、寒湿组、湿热组、低免组、风寒低免组、寒湿低免组、湿热低免组 8 组,每组 8 只。雌雄分笼,其鼠笼底部均铺垫 2cm 厚锯末每日更换,自由进食饮水。

造模:各低免模型组小鼠每日 10:00—11:00 给予 CY 腹腔注射 $80\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 连续 3 天^[4]。用人工气候箱,制备风寒、寒湿、湿热 3 种环境气候^[5]。除正常组与低免组外各组小鼠置于环境相应的人工气候箱,正常组与低免组室温正常饲养。风寒组:风 $(6\text{m}/\text{s})$ 每隔 1min 吹 1.5min^[6],空气中实际含量占同等温度下饱和含水量的百分比值 $(\text{RH}) = (50 \pm 4)\%$,温度 $(T) = (6 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,每天刺激 8h(其余时间为正常组温湿度);寒湿组与寒湿低免组: $\text{RH} = (90 \pm 4)\%$, $T = (6 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,每天刺激 8h(其余时间为正常组温湿度);湿热组与湿热低免组: $\text{RH} = (90 \pm 4)\%$, $T = (33 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,每天刺激 8h(其余时间为正常组温湿度);正常组与低免组: $\text{RH} = (50 \pm 4)\%$, $T = (21 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,每天持续 24h^[7]。

1.5 一般情况的观察

造模前、后每日上午 9:00 定时对各组小鼠的进食、饮水、体重进行称重,记录各组小鼠进食量、饮水量及体重。并且每日观察记录各组小鼠精神状态、活动、毛色和大便的改变,皮肤关节病变等情况,持续观察记录 7 天^[8]。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件处理,计量数据以均数

$\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组小鼠造模期内进食量、饮水量比较

表 1 示,与正常组比较,寒湿组、湿热组及各外邪低免组小鼠的进食量、饮水量均明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与低免组比较,寒湿低免组进食量减少,湿热低免组饮水量亦减少($P < 0.05$),各个外邪低免组与相应的外邪组比较,都有不同程度的进食量及饮水量减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。说明风寒、寒湿、湿热 3 种外邪环境都不同程度的影响了小鼠的正常进食及饮水,使进食量及饮水量减少,且免疫低下小鼠的减少程度更为明显。

表 1 各组小鼠造模期内进食量、饮水量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	进食量(g)	饮水量(ml)
正常组	8	4.22 ± 0.13	9.23 ± 0.24
风寒组	8	3.67 ± 0.47	8.93 ± 0.74
寒湿组	8	$3.60 \pm 0.52^*$	$6.65 \pm 0.79^{**}$
湿热组	8	$3.43 \pm 0.42^*$	$6.93 \pm 1.10^{**}$
低免组	8	$3.06 \pm 0.23^{**}$	$6.03 \pm 1.34^{**}$
风寒低免组	8	$2.72 \pm 0.40^{**}\blacktriangle$	$5.82 \pm 0.59^{**}\blacktriangle$
寒湿低免组	8	$2.44 \pm 0.46^{**}\triangle\blacktriangle$	$5.09 \pm 0.66^{**}\blacktriangle$
湿热低免组	8	$2.61 \pm 0.52^{**}\blacktriangle$	$4.43 \pm 1.04^{**}\triangle\blacktriangle$

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与低免组比较, $\triangle P < 0.05$;与相应的外邪组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

2.2 各组小鼠造模前后体重比较

表 2 示,造模后第 7 天,与正常组相比,各模型组小鼠体重增长明显减慢,甚至体重减轻($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与低免组比较,寒湿低免组、湿热低免组小鼠体重明显减轻($P < 0.05$),风寒低免组小鼠体重增长减慢,但无统计学意义($P > 0.05$)。与相应的外邪组相比,外邪低免组各组小鼠体重明显减轻($P < 0.05$)。说明风寒、寒湿、湿热 3 种外邪环境使小鼠体重增长减慢,免疫低下小鼠体重增长减慢程度更为明显,甚至使免疫低下小鼠体重减轻。

表 2 各组小鼠造模前后体重比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	造模前	造模后第 7 天
正常组	8	19.88 ± 1.71	26.99 ± 2.03
风寒组	8	19.73 ± 1.68	$23.33 \pm 2.52^*$
寒湿组	8	19.99 ± 1.93	$21.36 \pm 2.15^{**}$
湿热组	8	19.75 ± 1.80	$22.84 \pm 1.56^{**}$
低免组	8	20.05 ± 0.92	$22.84 \pm 1.50^{**}$
风寒低免组	8	19.65 ± 1.35	$19.90 \pm 1.70^{**}\blacktriangle$
寒湿低免组	8	19.80 ± 1.05	$18.91 \pm 2.16^{**}\triangle\blacktriangle$
湿热低免组	8	19.50 ± 0.99	$19.19 \pm 3.08^{**}\triangle\blacktriangle$

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与低免组比较, $\triangle P < 0.05$;与相应的外邪组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

2.3 各模型组小鼠造模期内精神、活动、毛色等情况比较

造模后第 2 天,各模型组小鼠出现精神不振,活动减少,特别是各低免模型组小鼠明显精神萎靡,嗜睡,倦怠,反应迟钝,行动迟缓。各模型组部分小鼠眼周、背部体毛出现不同程度的脱落,且较造模前晦暗无光泽。

2.4 各模型组部分小鼠造模期内关节、皮肤水肿情况比较

造模后第 5 天,湿热低免组部分小鼠出现足背水肿、关节肿大,且水肿处皮肤发红;造模后第 7 天湿热低免组出现足背及关节水肿的小鼠数量明显增多,寒湿低免组、湿热组、寒湿组、风寒低免组部分小鼠也出现足背、关节水肿,风寒组也有个别小鼠出现上述症状(数量比前 5 组少)。未受到环境影响的低免组和正常组未见上述症状。

2.5 各模型组小鼠造模期内大便情况比较

正常小鼠粪便呈颗粒状,中等硬度。在造模后第 3 天后,湿热低免组、寒湿低免组部分小鼠大便时软时溏;造模后第 4 天湿热低免组、寒湿低免组出现大便质软的小鼠数量增多,寒湿组、湿热组、风寒低免组部分小鼠也出现大便软症状,偶有便溏,湿热低免组甚者偶伴有黏液样分泌物。而在造模后第 7 天,风寒组部分小鼠也出现大便质软的情况,低免组也有个别小鼠出现大便质软情况。正常组小鼠始终未出现类似症状。

3 讨论

六淫致病在临床上多是相兼为患,并以风寒、寒湿、湿热最为多见。为研究外邪环境、机体状况以及致病因子之间的相关性,本实验使用人工气候箱模拟不同的外邪环境,通过观察小鼠进食、饮水、体重、皮肤毛色等的变化,探讨不同外邪环境因素对正常及免疫低下小鼠一般情况的影响。

研究结果显示,风寒、寒湿、湿热外邪影响了正常及免疫低下小鼠的生命活动,与正常组相比,在整个造模期间除正常组外,其余各模型组都出现了进食、饮水量减少;体重增长速度减慢或体重减轻;全部或部分小鼠相继出现足背水肿,趾(指)关节红肿,活动受限;大便不成形;精神萎靡,活动减少,皮毛失去光泽等相应的症状,且各外邪低免组与相同的外邪模型组相比,病理症状出现时间较早,相对较重。说明 3 种环境因素对正常及免疫低下小鼠的一般情况都有影响,对免疫低下小鼠的影响更为明显。外邪致病在正气不足之时更易遭受攻击,机体之所以

发病,外邪是一个方面,机体正气虚弱则是起着关键作用的另一方面,两邪相感则疾病发作^[9],即“风雨寒热,不得虚,邪不能独伤人^[10]”。

与低免组比较,寒湿低免组小鼠、湿热低免组小鼠进食量、饮水量明显减少($P < 0.05$);在体重方面,寒湿低免组小鼠体重明显减轻($P < 0.05$),说明寒湿邪气在影响机体一般情况中作用明显,其作用机理是否与寒湿之邪易伤阳气“阳者卫外而为固也”有关,尚需进一步研究。

参考文献

- [1]李克光.金匱要略讲义[M].上海:上海科学技术出版社,1994:10.
- [2]许筱颖,郭霞珍,刘晓燕.人工模拟与自然冬夏对血清褪黑素及其合成限速酶活性的影响[J].中华中医药学刊,2007,25(10):2051-2052.
- [3]施杞,王拥军,刘梅.风寒湿痹证型颈椎病动物模型的建立方法[P].中国专利:CN1547179A,2004-11-17.
- [4]赵弋清,罗霞,陈东辉,等.不同剂量环磷酰胺诱导正常小鼠免疫抑制的对比研究[J].免疫学杂志,2005,21(3):122-124.
- [5]施杞,王拥军,周重建,等.葛根汤、桂枝汤对家兔颈椎间盘组织白介素 1 β 、诱导型一氧化氮合酶 mRNA 表达的调节作用[J].中医杂志,2004,45(10):777-779.
- [6]常立果.运气学说“六气”在气象医学中的价值[D].北京:北京中医药大学,2004:8-14.
- [7]章敏,陈刚,张六通,等.六淫湿邪动物模型研究[J].湖北中医杂志,2007,29(9):5.
- [8]丁建中,张六通,邱幸凡,等.外燥对小鼠气管上皮纤毛运动与呼吸道液分泌的影响[J].中医杂志,2006,47(8):607-609.
- [9]高振,胡汉华,刘莹莹,等.西北寒燥证候模型下丘脑-垂体-肾上腺轴紊乱状态研究[J].中医杂志,2010,51(10):930.
- [10]王洪图.内经选读[M].上海:上海科学技术出版社,2003:186.

(收稿日期:2011-02-28;修回日期:2011-05-07)

[编辑:行 之]

欢迎邮购《中医杂志》

1997 年 2、4、6 期,8-12 期,每册 3.50 元;1998 年 3-8 期,10-12 期,每册 4 元;1999 年 4-12 期,每册 4 元,合订本 65 元;2000 年 2-12 期,每册 5.80 元,合订本 85 元;2001 年 2-12 期,每册 6.50 元,合订本 95 元;2002 年 1-12 期,每册 6.80 元;2003 年 1-12 期,每册 6.80 元,合订本 105 元;2004 年 1、2 期,4-12 期,每册 6.80 元,合订本 115 元;2005 年 1-7、9、11、12 期,每册 6.80 元,合订本 125 元;2006 年 1-12 期,每册 7.30 元,合订本 135 元;2007 年 2-12 期,每册 8.80 元;2008 年 2-12 期,每册 9.80 元;2009、2010 年每册 9.80 元。2007-2010 年合订本每年 140 元。2011 年(半月刊),每册 9.80 元(缺 5、6 期),上半年合订本(1-12 期)140 元。《中医杂志》2006-2009 年增刊每册 40 元。以上免费邮寄,如需挂号每件另加 3 元。

欲购者请汇款至北京东直门内南小街 16 号中医杂志社读者服务部,邮编:100709,电话:(010)64018164,http://www.cnki.net