

沙参麦冬汤对放射性肺炎大鼠血浆 IL-6, TNF- α , TGF- β_1 的影响

周燕萍^{1*}, 邱明义¹, 胡作为², 杨航², 明国联², 蔡煜²

(1. 湖北中医药大学中医临床学院, 武汉 430061; 2. 武汉市第一医院肿瘤科, 武汉 430022)

[摘要] 目的: 观察沙参麦冬汤对放射性肺炎大鼠血浆白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)含量的变化, 评价沙参麦冬汤对放射性肺炎的防治效果。方法: 将141只清洁级雄性SD大鼠随机分为正常对照组、模型组、沙参麦冬汤预防组(中预组, $10.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、沙参麦冬汤治疗组(中治组, $10.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、地塞米松治疗组(西治组, $10.4 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。除正常对照组外, 其余各组均给予造模。各组药物均用生理盐水稀释成等容积。除中预组于照射前1周起开始ig沙参麦冬汤外, 其余各组于造模后第2天起, 正常对照组、模型组ig等容积的生理盐水, 中治组ig沙参麦冬汤, 西治组ig地塞米松混悬液, 每日1次, 直至照射后第6周。大鼠饲养期间每周称体重1次, 每周按体重变化调整1次剂量。于照射后2, 4, 6周, 正常对照组取7只, 其余各组随机取10只大鼠。10%水合氯醛溶液ip麻醉大鼠, 心脏采血约5 mL, 置肝素抗凝管中, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min, 分离血浆, 置 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待查。采用ELISA法检测血浆中TGF- β_1 , TNF- α , IL-6的含量。结果: 与正常对照组比较, 2, 4, 6周模型组大鼠血浆中IL-6, TNF- α , TGF- β_1 含量均有显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 2, 4, 6周中预组、中治组、西治组大鼠血浆中IL-6, TNF- α , TGF- β_1 显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。中预组低于中治组、西治组($P < 0.01$), 中治组低于西治组($P < 0.01$)。结论: 沙参麦冬汤可能通过降低血浆中IL-6, TNF- α , TGF- β_1 含量, 抑制放射性肺炎肺炎泡炎性反应, 减轻肺纤维化进程。

[关键词] 沙参麦冬汤; 放射性肺炎; 白介素-6; 转化生长因子- β_1 ; 肿瘤坏死因子- α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0165-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160165

Effects of Shashen Maidong Decoction on Plasma IL-6, TNF- α , TGF- β_1 in Radioation Pneumonitis Rats

ZHOU Yan-ping^{1*}, QIU Ming-yi¹, HU Zuo-wei², YANG Hang², MING Guo-lian², CAI Yu²

(1. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China;

2. Oncology Department, Wuhan First Hospital, Wuhan 430022, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the prevention and treatment action of Shashen Maidong decoction and thus explore the possible mechanisms. **Method:** One hundred forty-one SD rats were randomly divided into five groups, control group, model group, Shashen Maidong decoction $10.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ prevention group, Shashen Maidong decoction $10.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ treatment group, and dexamethasone $10.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ treatment group. The rats model of radiation pneumonitis was established by exposing rats to the chest X-ray except control group. The prevention group was given Shashen Maidong decoction one week before modeling, while the corresponding drug solutions of other four groups were administrated from the second day after modeling respectively once per day. Rats were anesthetized by intraperitoneal injecting 10% chloral hydrate. The blood was collected. The levels of plasma interleukin-6 (IL-6), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) and tumour necrosis factor- α (TNF- α) were measured by ELISA at 2, 4, 6 weeks separately after modeling. **Result:** Compared with control group, IL-6, TGF- β_1 and TNF- α increased in model group ($P < 0.01$) at 2, 4, 6 weeks. Compared with model group, the

[收稿日期] 20140310(009)

[通讯作者] *周燕萍, 医学博士, 副教授, 从事温病学教学、科研和临床工作, Tel: 027-68889038, E-mail: zhouyp0515@sina.com

levels of serum IL-6, TGF- β_1 , TNF- α in Shashen Maidong decoction prevention group, Shashen Maidong decoction group and dexamethasone treatment group were significantly lowered ($P < 0.01$, or $P < 0.05$). The levels of IL-6, TGF- β_1 , TNF- α in Shashen Maidong decoction prevention group were lower than Shashen Maidong decoction group and dexamethasone treatment group ($P < 0.01$), and in dexamethasone treatment group which was higher than that of Shashen Maidong decoction treatment group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The Shashen Maidong decoction may inhibit the inflammation of alveolar and improve the process of pulmonary fibrosis in radiation pneumonitis by reducing the levels of IL-6, TGF- β_1 , TNF- α .

[**Key words**] Shashen Maidong decoction; radiation pneumonitis; interleukin-6; transforming growth factor- β_1 ; tumour necrosis factor- α

放射治疗是胸部恶性肿瘤(肺癌、淋巴瘤和乳腺癌)的主要治疗手段。随着放射治疗技术的飞速发展,放射性肺损伤(radiation lung injury, RLI)也成为一个日益突出的问题。放射性肺损伤分为早期的急性放射性肺炎(radiation pneumonitis, RP)和晚期的慢性放射性肺纤维化(radiation pulmonary fibrosis, RPF),两者是一个连续过程的不同阶段。目前,临床上对有明显症状的放射性肺炎的患者,仍以糖皮质激素为主,该药可抑制由细胞因子介导的肺泡炎性反应,总有效率达 50% ~ 65%,但副反应大^[1]。中医药防治放射性肺炎具有重要理论和实际的意义。

目前已知许多细胞因子参与了放射性肺炎的发生、发展,研究较多的有肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α), 转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1), 白介素(interleukin, IL)等^[2]。TNF- α 是一种强有力的促炎性反应细胞因子,是细胞因子调节网络的启动因子,在放射性肺炎的发生和维持过程中有着重要地位。TGF- β_1 是参与放射性损伤的纤维增生因子,可作为放射性肺炎的危险预测因子。IL-6也是炎症性细胞因子,血浆中 IL-6 的含量能反映放疗后肺的炎症状态。

陈军,王明智^[3]以沙参麦冬汤佐以通络活血之剂治疗放射性肺炎,治愈率及总有效率均与对照组相比有明显差异。目前,关于沙参麦冬汤防治放射性肺炎的作用机制研究是一个空白。本实验采用 ELISA 法检测大鼠血浆 IL-6, TNF- α , TGF- β_1 的含量,观察沙参麦冬汤对放射性肺炎大鼠的防治效果,进一步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级 8 周龄雄性 SD 大鼠 141 只(华中科技大学同济医学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(鄂)2004-0007),体重(230 ± 20)g。在清

洁动物房常规饲养 3 d,大鼠饲养环境温度 22 ℃,湿度 40% ~ 70%,自然光照。观察无异常纳入实验计划组。

1.2 药物 沙参麦冬汤由北沙参 18 g,玉竹 12 g,麦冬 18 g,天花粉 9 g,扁豆 9 g,桑叶 9 g,生甘草 6 g,地骨皮 18 g(注:按《温病条辨》原方剂量等比例扩大两倍)组成。将常规煎得的中药水剂置于上海亚荣生化仪器厂生产的旋转蒸发器中,于 90 ℃,0.07 mPa 下浓缩为生药质量浓度为 2 g·mL⁻¹的中药原液,高压灭菌,冰箱 4 ℃ 保存。

醋酸地塞米松片(批号 09072,浙江锯制药股份有限公司制造)24 片溶于 90 mL 生理盐水中制成浓度为 18/90 = 0.2 g·L⁻¹ 混悬液。

1.3 仪器与试剂 Precise 直线加速器(瑞典 ELEKTA),WD-2102A 酶标仪(北京市六一仪器厂)。试剂由深圳欣博盛生物公司生产:TNF- α 大鼠(m090102, ERC102a),大鼠 IL-6(m090112, ERC003),大鼠 TGF- β_1 (m090121, ERC107b)。

2 方法

2.1 动物分组 将 141 只清洁级雄性 SD 大鼠,随机分为正常对照组、模型组、沙参麦冬汤预防组(中预组)、沙参麦冬汤治疗组(中治组)、地塞米松治疗组(西治组),其中正常对照组 21 只,其他各组均为 30 只。

2.2 模型制作 采用直线加速器 X 射线全胸单次照射,300 cGy·min⁻¹总剂量 20 Gy,在相对较短时间建立放射性肺炎大鼠模型。具体步骤:大鼠经 10% 水合氯醛 3 mL·kg⁻¹腹腔注射麻醉,平躺于照射台上,下垫 10 cm 厚等效物,上覆 2 cm 厚等效膜。调整照射野上至大鼠前肢两腋窝中点连线,下至剑突水平,照射面积 4.5 cm × 4 cm,源靶距 100 cm。行 6 mV 直线加速器 X 射线全胸单次照射,300 cGy·min⁻¹总剂量 20 Gy。于武汉市第一医院肿瘤放疗科进行,照射前加速器室用紫外线照射消毒,照射完

毕后大鼠常规饲养。

2.3 给药 药物用量计算:依据《中药药理研究方法学》记载方法计算出大鼠给药量:沙参麦冬汤:10.3 g·kg⁻¹;地塞米松:10.4 × 10⁻³ g·kg⁻¹。各组药物均用生理盐水稀释成等容积。除中预组于照射前1周起开始灌服沙参麦冬汤外,其余各组于造模后第2天起,正常对照组、模型组予等容积的生理盐水 ig,中治组 ig 沙参麦冬汤,西治组予地塞米松混悬液 ig,每日1次。大鼠饲养期间每周称体重1次,每周按体重变化调整1次 ig 剂量。

2.4 取材方法及指标检测 于照射后2,4,6周,正常对照组7只,其余各组随机取10只大鼠,10%水合氯醛溶液腹腔注射麻醉。大鼠心脏采血约5 mL,置肝素抗凝管中,4℃ 3 000 r·min⁻¹离心10 min,分离血浆,置-20℃冰箱保存待查。采用ELISA(双抗体夹心法)检测,实验方法按照试剂盒中提供的步骤进行。

2.5 统计学处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0版统计软件进行统计检验,用单向方差分析(one-way ANOVA),*P* < 0.05为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠血浆 IL-6 的含量变化 与正常对照组比较2,4,6周模型组大鼠血浆 IL-6 的含量均有显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,中预组、中治组显著降低(*P* < 0.01)、西治组显著降低(第2,4周 *P* < 0.01,第6周 *P* < 0.05)。中预组低于中治组、西治组(*P* < 0.01),中治组低于西治组(*P* < 0.01)。见表1。

3.2 各组大鼠血浆 TNF- α 含量 与正常对照组比较,2,4,6周模型组大鼠血浆 TNF- α 含量显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,中预组、中治组、西治组大鼠血浆 TNF- α 含量均显著降低(*P* < 0.01)。中预组低于中治组、西治组(*P* < 0.01),中治组低于西治组(*P* < 0.01)。见表2。

表1 各组大鼠血浆 IL-6 含量($\bar{x} \pm s$)

ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	IL-6		
			2周	4周	6周
正常	-	7	47.6 ± 8.7	33.4 ± 4.0	31.6 ± 3.5
模型	-	10	361.1 ± 24.8	255.8 ± 17.3	233.9 ± 20.4
地塞米松治疗	10.4 × 10 ⁻³	10	306.4 ± 23.9 ²⁾	225.4 ± 15.4 ²⁾	204.6 ± 16.3 ¹⁾
沙参麦冬汤治疗	10.3	10	247.3 ± 17.4 ^{2,4)}	161.0 ± 13.3 ^{2,4)}	155.0 ± 15.2 ^{2,4)}
沙参麦冬汤防治	10.3	10	183.5 ± 17.5 ^{2,4,6)}	122.6 ± 14.7 ^{2,4,6)}	104.5 ± 12.8 ^{2,4,6)}

注:与模型组比较¹⁾*P* < 0.05,²⁾*P* < 0.01;与地塞米松治疗组比较³⁾*P* < 0.05,⁴⁾*P* < 0.01;与沙参麦冬汤治疗组比较⁵⁾*P* < 0.05,⁶⁾*P* < 0.01(表2~3同)。

表2 各组大鼠血浆 TNF- α 、TGF- β_1 含量($\bar{x} \pm s$)

ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	TNF- α			TGF- β_1		
			2周	4周	6周	2周	4周	6周
正常	-	7	35.7 ± 3.1	33.1 ± 5.8	33.9 ± 3.1	32.7 ± 2.8	40.2 ± 6.0	50.8 ± 11.7
模型	-	10	205.4 ± 14.3	153.3 ± 11.3	126.1 ± 13.4	508.4 ± 19.6	615.2 ± 25.6	820.1 ± 29.7
地塞米松治疗	10.4 × 10 ⁻³	10	152.4 ± 12.8 ²⁾	125.3 ± 10.2 ²⁾	102.2 ± 10.5 ²⁾	356.4 ± 15.8 ²⁾	405.5 ± 17.4 ²⁾	616.0 ± 18.4 ²⁾
沙参麦冬汤治疗	10.3	10	131.2 ± 19.7 ^{2,4)}	92.4 ± 14.7 ^{2,4)}	77.0 ± 11.6 ^{2,4)}	284.8 ± 18.8 ^{2,4)}	349.6 ± 22.7 ^{2,4)}	488.3 ± 18.2 ^{2,4)}
沙参麦冬汤防治	10.3	10	69.7 ± 9.2 ^{2,4,6)}	52.9 ± 9.0 ^{2,4,6)}	45.6 ± 9.5 ^{2,4,6)}	189.7 ± 15.0 ^{2,4,6)}	200.5 ± 16.4 ^{2,4,6)}	357.0 ± 19.0 ^{2,4,6)}

3.3 各组大鼠血浆 TGF- β_1 含量 与正常对照组比较2,4,6周模型组大鼠血浆 TGF- β_1 含量明显升高(*P* < 0.01);与模型组比较,中预组、中治组、西治组大鼠血浆 TGF- β_1 含量明显降低(*P* < 0.01)。中预组低于中治组、西治组(*P* < 0.01),中治组低于西治组(*P* < 0.01)。见表2。

4 讨论

细胞因子介导的多细胞间的相互作用参与放射性肺炎的发生、发展是近年来推崇的观点及研究的热点。研究表明^[4],放射线使肺照射野局部组织内的肺泡上皮细胞、成纤维细胞、肺泡巨噬细胞和血管内皮细胞合成和分泌大量的细胞因子,包括促炎症

反应细胞因子和促纤维化细胞因子两大类。这些细胞因子可以持续几个月,对肺组织的炎性改变和纤维化产生重要影响。

TNF- α 是细胞因子调节网络的启动因子,在放射性肺炎的发生和发展过程中有重要作用^[5]。它通过使血管内皮细胞发生反应性改变,促进前列腺素的合成增加,诱导中性粒细胞、淋巴细胞等炎性细胞的渗出,启动肺组织炎性反应,还可引发白细胞介素的合成释放,产生细胞因子的瀑布效应。

IL-6 主要由 T 淋巴细胞、成纤维细胞、II 型肺泡细胞和肺泡巨噬细胞合成释放。有研究显示^[6], IL-6 在放疗后水平有升高的趋势。因为它与临床放射性肺炎出现的时期一致,因此血浆中 IL-6 的含量能反映放疗后肺的炎症状态。IL-6 还能与成纤维细胞受体结合,刺激细胞外基质的合成和分泌。

TGF- β 是一个多功能的细胞因子,在胚胎发育和组织损伤修复再生过程中发挥着重要作用。它以 3 种独立的肽分子形式存在,即 TGF- $(\beta_1, \beta_2, \beta_3)$ 。参与放射性肺损伤的主要是 TGF- β_1 。胸部受照射可导致肺内效应细胞如巨噬细胞、II 型细胞及成纤维细胞等合成释放 TGF- β_1 , 并进入血液中,可通过血液循环到达肺的各个部位,进而扩大了对肺内成纤维细胞(fibroblast, Fb)的活化范围。TGF- β_1 是一种强有力的促成纤维细胞分裂因子,可促进成纤维细胞的分裂增殖及其成熟分化;刺激成纤维细胞大量合成胶原蛋白 I, III, IV 型,尤其是 IV 型胶原蛋白,以增加肺间质的胶原成分,抑制胶原蛋白酶及纤溶酶原激活物的合成,增加蛋白酶抑制物的形成,以减少肺间质 ECM 的降解,造成 ECM 调控失衡;趋化炎细胞及单核巨噬细胞,合成释放 PDGF, IGFs, TNF, IL-1 和 IL-6 等细胞因子,提高其生物活性^[7]。

大量的文献报道 TGF- β 是与放射性肺炎发生和发展密切相关的介导因子,并证实 RP 的发生与组织或血浆 TGF- β_1 的基础浓度有关^[8-9]。因而放射治疗期间血浆中 TGF- β_1 水平的高低反映了放射性肺损伤发生风险的高低^[10]。因而,降低血浆中的 TGF- β_1 浓度减轻肺组织损伤是一个非常重要的研究思路。

本实验结果显示:与正常对照组比较,模型组大鼠血浆中 IL-6, TNF- α , TGF- β_1 含量值在第 2, 4, 6 周均有显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,中预组、中治组大鼠第 2, 4, 6 周血浆中 IL-6 含量均显著降

低($P < 0.01$)、西治组大鼠血浆中 IL-6 含量也均降低(第 2, 4 周 $P < 0.01$, 第 6 周 $P < 0.05$)。与模型组比较,各治疗组大鼠血浆 TNF- α , TGF- β_1 含量均显著降低($P < 0.01$),含量由高到低依次为:西治组、中治组、中预组。说明沙参麦冬汤能够抑制促炎症因子和促纤维化细胞因子的释放,比西药地塞米松疗效更稳定,因此认为沙参麦冬汤具有抑制或减轻放射性肺炎肺泡炎性反应,并具有抑制肺纤维化进程的作用。

[参考文献]

- [1] 房丽,王红阳,刘卫东,等.不同剂量地塞米松防治放射性肺损伤临床疗效观察[J].广东医学,2009,30(10):1497.
- [2] 王跃珍.放射性肺炎研究进展[J].中国肿瘤,2007,16(1):35.
- [3] 陈军,王明智.治疗放射性肺炎的润肺络法[J].江南大学学报,2002,1(4):435.
- [4] 吴开良,李艳如,蒋国梁.放射性肺损伤[J].实用癌症杂志,2001,16(1):110.
- [5] Chen Y, Williams J, Ding I, et al. Radiation pneumonitis and early circulatory cytokine markers [J]. Semin Radiat Oncol January 1, 2002, 12(1 suPPI1):26.
- [6] 郑爱青,韩晨光,朱新英,等. IL-1 α 和 IL-6 在放射性肺损伤发病中的作用[J].武警医学院学报,2009,18(3):194.
- [7] Franko A J, Sharplin J, Chahary A, et al. Immunohistochemical localization of transforming growth factor betain the lungfibrosisprone and `non-fibrosing` mice during the latent period early phase after irradiation [J]. Radiat Res, 1997, 147(2):245.
- [8] Rube C E, Uthe D, Schmid K W, et al. Dose-dependent induction of transforming growth factor beta (TGF-beta) in the lung tissue of fibrosisprone mice after thoraciirradiation [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2000, 47(4):1033.
- [9] Novakova-Jiresova A, Van Gameren M M, Coppes R P, et al. Transforming growth factor-beta plasma dynamics and postirradiation lung injury in lung cancer patients [J]. Radiother Oncol, 2004, 71(2):183.
- [10] Vujaskovic Z, Groen H J. TGF-beta, radiation induced pulmonary injury and lung cancer [J]. Int J Radiat Biol, 2000, 76(4):511.

[责任编辑 聂淑琴]