

罗汉果水提液对于急性咽炎模型大鼠的治疗作用

刘岩, 刘志洋*

(长春科技学院生物食品学院, 长春 130600)

[摘要] **目的:**探讨罗汉果水提液对大鼠实验性急性咽炎动物模型的疗效及作用机制。**方法:**采用氨水连续3 d对大鼠咽部喷雾法建立急性咽炎动物模型,模型成功后,随机分为空白组,地塞米松对照 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组,罗汉果水提液 $0.5, 1.5, 4.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗组,连续灌胃给药5 d,观察药液对模型动物病理形态、白细胞常规计数和血清中白细胞介素- 1β (IL- 1β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达的影响。**结果:**与模型组相比罗汉果水提液中、高剂量能不同程度改善急性咽炎的病理变化($P < 0.01$),白细胞计数结果($P < 0.05, P < 0.01$),同时对模型动物血清中的IL- 1β ($P < 0.05, P < 0.01$),IL-6($P < 0.01$)和TNF- α ($P < 0.01$)的表达有明显的抑制作用。**结论:**罗汉果水提液对急性咽炎有较好的治疗作用,其作用机制可能与抑制咽部病理改变和调节细胞因子的表达有关。

[关键词] 罗汉果; 急性咽炎; 动物模型; 药理作用; 细胞因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0159-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014190159

Curative Effect of Water Extract from Siraitiae Fructus on Acute Pharyngitis Model Rats

LIU Yan, LIU Zhi-yang*

(College of Biological Food, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130600, China)

[Abstract] **Objective:** To study the curative effect and mechanism of the water extract from Siraitiae Fructus on acute pharyngitis model rats. **Method:** For 5 consecutive days, the ammonia saray was used to establish the animal model of acute pharyngitis. the modeling rats were randomly divided into blank group, dexamethasone group, the water extract of Siraitiae Fructus groups ($0.5, 1.5, 4.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and lavage administration for 5 days. The pharyngeal pathological changed, white blood cell count (WBC) and the expression of interleukin(IL)- 1β , IL-6 and tumor necrosis factor alpha (TNF)- α in serum were observed **Result:** The middle and high dose of the water extract of Siraitiae Fructus could improve the pathological changes ($P < 0.01$) and WBC ($P < 0.05, P < 0.01$). It had obvious inhibitory effect on the expression of IL- 1β ($P < 0.05, P < 0.01$), IL-6 ($P < 0.01$) and TNF- α ($P < 0.01$) in serum. **Conclusion:** The water extract of Siraitiae Fructus has good treatment effect on the acute pharyngitis, its mechanism may be related to inhibition of pharyngeal pathological changes and the expression of inflammatory cytokine.

[Key words] Siraitiae Fructus; acute pharyngitis; animal model; pharmacological effects; inflammatory cytokine

罗汉果为葫芦科植物罗汉果的干燥果实。秋季果实由嫩绿色变深绿色时采收,晾数天后,低温干燥。本品甘,凉。归肺,大肠经。有清热润肺,利咽

开音,润肠通便功效。用于肺热燥咳,咽疼失音,肠燥^[1]。罗汉果是第一批被列入国家卫生部、中医药管理局的“既是食品又是药品的品种名单”^[2]。罗

[收稿日期] 20140430(020)

[第一作者] 刘岩,讲师,从事中药学研究, Tel:13604307774, E-mail:93140428@qq.com

[通讯作者] * 刘志洋,讲师,从事植物生产类研究, Tel:15104440898, E-mail:295840187@qq.com

汉果中主要含有三萜皂苷类成分,除此之外还有罗汉果黄素、罗汉果黄烷双醇、多糖、厚朴酚等成分^[3]。现代药理研究表明,罗汉果具对糖尿病的治疗作用和并发症的预防作用^[4];抗疲劳及耐缺氧作用^[5];增加小鼠气管酚红排泄量、镇咳作用,且均呈量效依赖关系;抗炎作用;双向调节肠运动功能;保肝降酶;调节免疫作用;活血化瘀;对变形链球菌的抑菌作用;抗癌活性;清除自由基及抗氧化活性等^[6-7]。

随着空气污染的不断严重,急性咽炎的发病率逐年上升,罗汉果在日常生活中常被人用以代茶饮的方式缓解咽喉的不适症状,但其治疗机制尚不明确。本研究依据罗汉果的药效学研究,研究罗汉果的水提液对急性咽炎动物模型的影响,研究其对急性咽炎的药理作用。

1 材料

1.1 药物 罗汉果药材购于亳州药材市场,经长春科技学院生物食品学院刘志洋鉴定为葫芦科植物罗汉果 *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang 的干燥果实。醋酸地塞米松片(上海信谊药厂有限公司,批号 120303)。白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫试剂盒(均购于上海酶联生物科技有限公司)。

1.2 动物 Wistar 大鼠,体重(250 \pm 20) g,雌雄各半,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物合格证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.3 仪器 7080 型全自动生化分析仪(日本日立),BX53 型双目生物显微镜(日本 Olympus),中佳 KDC-1042 型低速离心机(中国中科)。

2 方法

2.1 罗汉果水提液制备 称取粉碎后的罗汉果适量,加 10 倍量的水,浸泡 1 h 后,加热提取 1 h,提取 2 次,合并提取液,按照文献^[9]中规定的人与动物用药剂量换算方法,将药材罗汉果制备成含生药 0.05,0.15,0.45 g·mL⁻¹水提液。

2.2 急性咽炎动物造模 将 60 只大鼠随机分为空白组,模型组,阳性对照组,罗汉果水提液低、中、高剂量组 6 组,每组 10 只。除空白组外,其余 5 组于第 1~3 天上、下午各用 15% 氨水喷大鼠咽部 1 次,每次用喷雾器喷 3 下,相当于 6 μ L 15% 氨水留在大鼠咽部。空白组咽部喷蒸馏水。根据急性咽炎模型研究所规定的标准^[8],分别对动物造模后出现的一般症状、体征以及咽部病理形态学等方面进行考察,以评价动物造模是否成功。

2.3 给药方法 将罗汉果水提液以生药量 0.5, 1.5, 4.5 g·kg⁻¹ 3 个剂量组 *ig*,每日 1 次,连续给药 5 d;阳性对照组 *ig* 2 mg·kg⁻¹ 的地塞米松,每天 1 次,连续 5 d。空白组及模型组每天 *ig* 蒸馏水 10 mL·kg⁻¹。

2.4 观测指标

2.4.1 大鼠一般状态观察 观察记录大鼠的饮水、饮食、活动、体重、精神状态及被毛等情况。

2.4.2 病理样本的制备与观察 空白组、模型组、治疗药物组于末次给药后 24 h,从大鼠腹主动脉取血处死动物,血液样本分别保存在真空取血管及一次性 EP 管中,分别用于白细胞常规计数及炎症因子检测。摘取咽部组织,在 10% 甲醛溶液固定,次日取材后经常规脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色后在光学显微镜下观察。病理切片观察: I. 正常结构,黏膜、固有膜层无水肿,无炎性细胞浸润,记为(-),积 0 分。 II. 咽喉上皮增生不明显,固有膜水肿,上皮下轻度炎症细胞浸润,记为(+),积 1 分。 III. 咽喉上皮明显增生,上皮下有炎症细胞浸润,记为(++),积 2 分。 IV. 咽喉上皮中度增生,并形成钉突,记为(+++),积 3 分。 V. 咽喉上皮严重增生腺上皮坏死,并形成钉突,上下皮有炎症细胞浸润,积为(+++),积 4 分。

2.4.3 大鼠血清制备及测定 取大鼠腹主动脉血 2 mL,注入 EP 管待凝固后,4 $^{\circ}$ C 3 000 r·min⁻¹离心 10 min,分离血清。至 -70 $^{\circ}$ C 冰箱保存。测定前使样本于室温复融(避免反复冻融),再次于 4 $^{\circ}$ C 3 000 r·min⁻¹离心 5 min,取血清,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 水平,操作依据试剂盒说明进行。

2.5 统计学方法 本实验采用 SPSS 18.0 统计软件分析数据,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据间用 *t* 检验进行比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

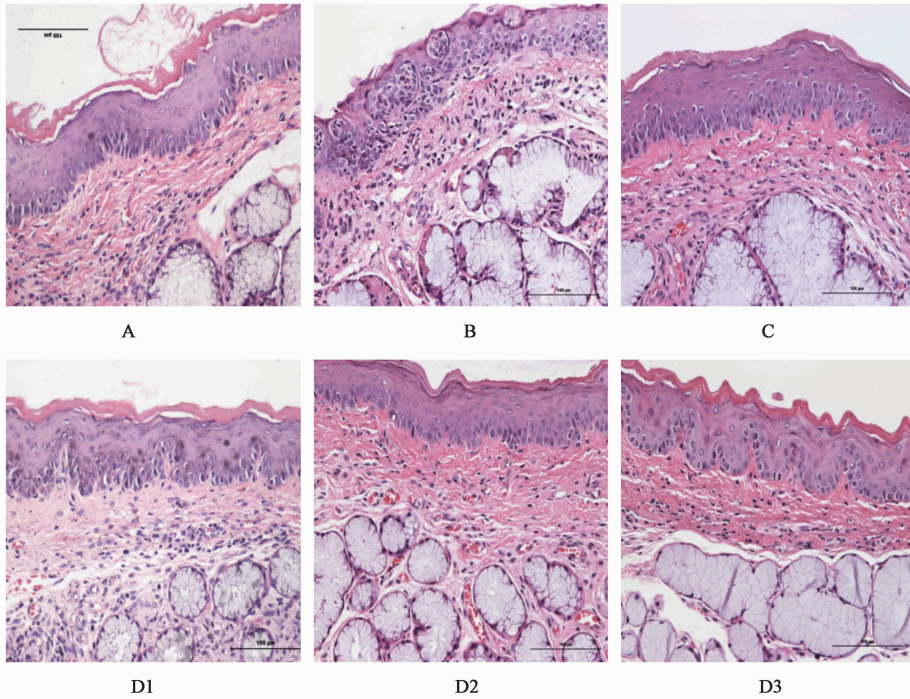
3 结果

3.1 一般观察 从造模第 2 天开始,大部分大鼠逐渐出现搔抓口部,饮水频繁,进食减少,咽部充血呈鲜红色,肿胀等症状与体征。第 3 天症状更明显。

3.2 大鼠咽部组织病理形态学观察 模型组大鼠咽部组织的黏膜上层外层角质化,部分复合鳞状上皮脱落,与固有膜无明显分界线,固有膜内的小血管扩张、充血、水肿,部分黏液腺上皮细胞坏死,固有膜区域与黏液腺间有炎性细胞浸润,固有膜下层为肌层,肌层纤维排列不规则。罗汉果水提液 0.5 g·kg⁻¹ 治疗组大鼠咽部组织黏膜符合鳞状层为

扁平上皮,上皮外角质化,复合鳞状上层增生,固有膜及黏液腺间有大量炎性细胞浸润,固有膜下层为肌层,肌层纤维排列不规则。地塞米松治疗组及罗汉果水提液 1.5,4.5 g·kg⁻¹ 治疗组大鼠咽部组织黏

膜符合鳞状层为扁平上皮,上皮外角质化不明显,复合鳞状上层无增生现象,固有膜及黏液腺间有少量炎性细胞浸润,固有膜下层为肌层,肌层纤维排列规则。见图 1。



A. 空白组;B. 模型组;C. 地塞米松 2 mg·kg⁻¹ 组;D1 ~ D3. 罗汉果水提液 0.5,1.5,4.5 g·kg⁻¹ 剂量组

图 1 大鼠咽部组织病理切片(HE, ×200)

罗汉果水提液高、中剂量组能明显减轻大鼠咽部黏膜及其下组织病变程度分值,与模型组比较有极显著差异($P < 0.01$),而低剂量组的治疗作用并不明显(表 1)。

使中性粒细胞增加而使其他白细胞水平降低($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 1 罗汉果水提液对急性咽炎大鼠咽部黏膜及其下组织病变等级的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	各黏膜病变等级动物数/只					病变程度 积分/分
		-	+	++	+++	++++	
空白	-	9	1				0.10 ± 0.31 ²⁾
模型	-				7	3	3.30 ± 0.48
地塞米松	0.002	6	2	1	1		0.70 ± 1.06 ²⁾
罗汉果水提液	0.5		4	4	2		1.80 ± 0.79
	1.5		5	2	2	1	0.90 ± 1.10 ²⁾
	4.5		6	1	2	1	0.80 ± 1.14 ²⁾

3.4 血清中 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 含量 造模 5 d 后,模型大鼠血清的 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的含量明显高于正常组($P < 0.05$),而与模型组相比,地塞米松与罗汉果水提液治疗组可明显降低大鼠血清中的 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的水平($P < 0.05, P < 0.01$),见表 3。

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

4 讨论

3.3 各组大鼠白细胞分类 与空白对照组比较,模型组的中性粒细胞减少($P < 0.01$)而其他白细胞分类计数都有所增加($P < 0.05, P < 0.01$),而与模型组相比地塞米松及罗汉果水提液组都可以

急性咽炎是一种临床常见病、多发病,在现代医学大多数采用抗生素类和抗病毒药物治疗急性咽炎,但效果欠佳,病情易反复。运用中医药治疗该病,具有疗效好,不易产生耐药性等特点。罗汉果在现代药理学研究中具有抗炎、抗菌作用,因此本研究依据其药理作用利用动物模型研究其对急性咽炎的治疗作用,并取得良好的实验效果。

实验结果表明,经过罗汉果水提液治疗后,病理模型动物的症状体征逐渐得以改善,其咽部黏膜病理切片结果显示罗汉果水提液可对抗急性炎症早期渗出性水肿,减轻眼黏膜组织水肿。

表 2 罗汉果水提液对实验性急性咽炎模型大鼠白细胞分类的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	中性粒细胞/%	淋巴细胞/%	嗜酸性粒细胞/%	单核细胞/%
空白对照	-	23.43 \pm 1.83 ²⁾	66.03 \pm 2.91 ¹⁾	1.34 \pm 0.24 ¹⁾	5.10 \pm 1.02 ²⁾
模型	-	14.34 \pm 1.38	73.42 \pm 3.00	1.80 \pm 0.29	9.82 \pm 1.04
地塞米松	0.002	23.14 \pm 2.22 ²⁾	70.47 \pm 2.14 ¹⁾	1.34 \pm 0.30 ¹⁾	5.35 \pm 0.83 ²⁾
罗汉果水提液	0.5	22.01 \pm 2.90 ²⁾	70.14 \pm 3.66 ¹⁾	1.53 \pm 0.27	6.83 \pm 1.40 ²⁾
	1.5	23.69 \pm 2.94 ²⁾	69.72 \pm 5.17	1.22 \pm 0.20 ²⁾	6.68 \pm 1.22 ²⁾
	4.5	24.33 \pm 2.19 ²⁾	69.78 \pm 4.33 ¹⁾	1.18 \pm 0.13 ²⁾	6.24 \pm 0.96 ²⁾

表 3 罗汉果水提液对实验性急性咽炎模型大鼠血清中 IL-1 β , IL-6, TNF- α 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-1/ $ng \cdot L^{-1}$	IL-6/ $ng \cdot L^{-1}$	TNF- α / $ng \cdot L^{-1}$
空白对照	-	90.03 \pm 2.98 ²⁾	90.23 \pm 2.85 ²⁾	160.20 \pm 4.74 ²⁾
模型	-	99.00 \pm 1.25	109.50 \pm 1.50	172.87 \pm 4.41
地塞米松	0.002	90.78 \pm 1.77 ²⁾	93.66 \pm 3.02 ²⁾	163.71 \pm 3.55 ¹⁾
罗汉果水提液	0.5	98.76 \pm 1.27	105.39 \pm 1.83 ²⁾	168.70 \pm 5.16
	1.5	94.85 \pm 1.90 ¹⁾	99.12 \pm 1.41 ²⁾	163.51 \pm 6.09
	4.5	89.98 \pm 2.15 ²⁾	93.69 \pm 2.95 ²⁾	158.79 \pm 2.85 ²⁾

由于氨水刺激造成模型组大鼠免疫系统损害而使得模型组中性粒细胞减少,而地塞米松使中性粒细胞升高,但却降低其游走、吞噬、消化等功能,因而减弱对炎症区的浸润与吞噬作用。在炎症反应中,淋巴细胞,嗜酸粒细胞比例增加^[10],而地塞米松可以降低全血中淋巴细胞及其他细胞比值,使炎症减轻,依据本次实验的实验结果,罗汉果水提液也具有类似地塞米松的药理作用。

实验结果表明,模型组大鼠血清中 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 的水平要明显高于正常组,经罗汉果水提液治疗后其水平均显著下降。

本实验证明,罗汉果水提液可明显改善实验动物咽部外观及各种体征,有效抑制血清中 IL-1 β , IL-6 的释放,修复 TNF- α ,对实验性急性咽炎有显著的疗效。根据实验结果推断罗汉果治疗急性咽炎的机制可能与以下因数有关:罗汉果水提液可促进炎症渗出物的吸收和组织重建,有效的提高本身的免疫力,可有效的对抗急性炎症造成的咽部炎性细胞浸润,抑制血清中 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 炎症因子的表达,减轻炎症损伤。本实验说明罗汉果水提液对实验性急性咽炎具有很好的治疗作用,为其临床应用提供实验依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:197.

[2] 张宏,李啸红. 罗汉果的药理作用和毒性研究进展[J]. 中国农学通报,2011,27(5):430.

[3] 陈瑶,贾恩礼. 罗汉果化学成分和药理作用的研究进展[J]. 解放军药理学学报,2011,27(2):171.

[4] 何超文,姚美村,夏星,等. 鲜罗汉果皂苷对小鼠血糖的调节作用研究[J]. 现代食品科技,2012,28(4):382.

[5] 姚绩伟,唐晖,周亮,等. 罗汉果提取液对小鼠运动耐力及肝组织抗氧化损伤的影响[J]. 中国运动医学杂志,2008,27(2):221.

[6] 陈瑶,王永祥,范小兵,等. 罗汉果甜苷的润肠通便和抗炎作用研究[J]. 解放军药理学学报,2011,27(3):202.

[7] 龙颖,董威,王勤,等. 罗汉果新功效的研究现状分析[J]. 山东医药,2012,52(43):95.

[8] 庞来祥,程静,杨苏亚,等. 清咽亮嗓口服液治疗急性咽炎的实验研究[J]. 现代中医药,2010,30(6):92.

[9] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1991:562.

[10] 李海燕,杨佩兰,黄海茵,等. 全蝎-蜈蚣药对哮喘模型大鼠气道炎症及气道重塑的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(1):206.

[责任编辑 聂淑琴]