

# 桂枝挥发油与桂皮醛对病毒性肺炎小鼠细胞因子及T细胞亚群的影响

刘蓉, 武志强, 何敏, 阙昌田, 杨靖, 曾南\*

(成都中医药大学药学院, 中药资源系统研究

与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

**[摘要]** 目的:研究桂枝挥发油及主要成分桂皮醛抗甲型流感病毒 A/PR/8/34 (H1N1) 作用及其抗病毒作用机制。方法:KM 小鼠 70 只随机分为 7 组,分别为正常组,模型组,利巴韦林组(0.15 g·kg<sup>-1</sup>),桂枝挥发油高、低剂量组(0.348, 0.174 mg·kg<sup>-1</sup>),桂皮醛高、低剂量组(0.264, 0.132 mg·kg<sup>-1</sup>),每组 10 只。将浓度为 30 LD<sub>50</sub> 的 H1N1 病毒液 50 μL 注入小鼠气管,复制病毒性肺炎模型小鼠,观察连续 ig 给药 5 d 对模型小鼠肺组织血凝滴度的抑制作用;ELISA 法观察上述组别连续 ig 给药 5 d 对模型小鼠血清细胞因子白细胞介素-2(IL-2), IL-6 和肿瘤坏死因子-α(TNF-α) 分泌量的影响;流式细胞仪法测定桂枝挥发油 0.348 mg·kg<sup>-1</sup>,桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup>,正常组,模型组及利巴韦林组连续 ig 给药 5 d 对模型小鼠外周血 T 细胞亚群的影响。结果:与正常组比较,模型组小鼠肺组织血凝滴度,小鼠血清 IL-6, TNF-α 含量明显升高,小鼠外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, 小鼠血清 IL-2 含量明显降低(P<0.05);与模型组比较,桂枝挥发油 0.348 mg·kg<sup>-1</sup>,桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup> 能明显降低模型小鼠肺组织血凝滴度(P<0.05),桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup> 和桂枝挥发油 0.348 mg·kg<sup>-1</sup> 分别显著降低模型小鼠血清 IL-6, TNF-α 含量(P<0.05),桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup> 可使模型小鼠外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 明显升高(P<0.05),各药物对小鼠血清 IL-2 含量的影响并不明显。结论:桂枝挥发油、桂皮醛治疗给药能明显降低模型小鼠肺组织血凝滴度,表现出较好的抗流感病毒作用。抗病毒机制与调控模型小鼠血清细胞因子 IL-2, IL-6, TNF-α 分泌水平及提高外周血 T 细胞亚群的比例有关。

**[关键词]** 桂枝挥发油; 桂皮醛; 甲型流感病毒 A/PR/8/34; 血凝滴度; 细胞因子; T 细胞亚群

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0139-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180139

**Effects of Volatile Oil from Cinnamomi Ramulus and Cinnamaldehyde on Cytokines and T Cell Subsets in H1N1-infected Mice** LIU Rong, WU Zhi-qiang, HE Min, QUE Chang-tian, YANG Jing, ZENG Nan\* (College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, State Key Provincial and Ministerial Laboratory Breeding Base for Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect and anti-influenza A virus (H1N1) mechanism of volatile oil from Cinnamomi Ramulus (VOCR) and its major component cinnamaldehyde *in vivo*. **Method:** Totally 70 KM mice were divided into seven groups: the control group, the model group, the Ribavirin group (0.15 g·kg<sup>-1</sup>), VOCR high and low dose groups (0.348, 0.174 mg·kg<sup>-1</sup>) and cinnamaldehyde high and low dose groups (0.264, 0.132 mg·kg<sup>-1</sup>), with 10 mice in each group. The model group was intratracheally injected with 50 μL H1N1 liquid to reproduce the H1N1 model and then continuously given drugs for 5 d to observe the inhibitory effect in the hemagglutination titer in lung tissues. The ELISA test was conducted to observe the effect on the secretions of serum interleukin-2 (IL-2), IL-6 and tumor necrosis factor-α (TNF-α). Flow cytometry was used to detect the effect on

**[收稿日期]** 20140807(019)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30973923);“2010年度高层次留学人才回国资助人选”项目,“2010年度留学回国人员科技活动项目择优”项目(国家人社部社厅函[2010]411,412号);四川省教育厅培育项目(12ZB037);四川省科技厅省青年科技创新研究团队专项计划项目(2014TD0007)

**[第一作者]** 刘蓉,博士,讲师,从事中药药效学研究, Tel:13880765230, E-mail:liurong\_1116@126.com

**[通讯作者]** \*曾南,博士,教授,从事中药药效与毒理研究, Tel:13198502352, E-mail:zengnan966@126.com

T cell subsets after the five-day continuous treatment in the VOCCR ( $0.348 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group, the cinnamaldehyde ( $0.264 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group, the control group, the model group and the Ribavirin ( $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significant increases in the hemagglutination titer in lung tissues, mice serum IL-6 and TNF- $\alpha$  but notable decreases in  $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$  and IL-2 content ( $P < 0.05$ ). Compared with the normal group, the VOCCR ( $0.348 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group and the cinnamaldehyde ( $0.264 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group showed reduction in the serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  separately ( $P < 0.05$ ); the Cinnamaldehyde ( $0.264 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) obviously increased the rate of  $\text{CD4}^+$  to  $\text{CD8}^+$  T cells ( $P < 0.05$ ). All groups show no remarkable effect on serum IL-2 content. **Conclusion:** VOCCR and cinnamaldehyde could significantly decrease the hemagglutination titer in lung tissues of H1N1-infected mice and show a better anti-H1N1 effect. The mechanism of anti-influenza A virus effects correlated with the regulation of the ratio between the secretions of serum cytokines IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  and the increase in T cell subsets of model mice.

[**Key words**] volatile oil from Cinnamomi Ramulus; cinnamaldehyde; influenza A virus A/PR/8/34; hemagglutination titer; cytokine; T cell subset

现代医学认为流感是由流感病毒引起的一种急性呼吸道传染疾病。流感病毒具有传染性强、流行面广、致病性高等特点<sup>[1]</sup>。目前,对流感病毒的治疗主要以抗病毒化学药物为主,但药物的不良反应较为突出,且耐药产生迅速。中药在抗流感病毒方面具有独特的优势,重视病毒-机体-中药三者的辨证施治关系,既能清除体内病原微生物,还能调动机体特异性和非特异性免疫功能来增强抗病毒能力。其疗效肯定,运用前景广阔。

传统医学认为流感病毒是引起表证的“外邪”之一,桂枝作为中医临床治疗表证的常用药物之一<sup>[2]</sup>。在本课题组的前期研究中发现,桂枝挥发油及其主要成分桂皮醛在鸡胚水平、细胞水平表现出较好的抗流感病毒作用,且对病毒性肺炎模型小鼠的肺组织损伤有良好保护作用<sup>[3-4]</sup>。本次研究仍以病毒性肺炎模型小鼠为载体,进一步观察桂枝挥发油及桂皮醛对模型小鼠肺组织中流感病毒的血凝滴度,血清白细胞介素-2 (IL-2), IL-6, 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平和外周血 T 细胞亚群变化的影响,以期进一步明确药物抗流感病毒的作用,并探讨其作用机制。使药物的临床使用更加安全、有效、更好的促进中医药应用于流感防治。

## 1 材料

**1.1 动物及病毒株** KM 小鼠, SPF 级, 体重 (18 ~ 22) g, 雌雄各半, 四川省医学科学院实验动物研究所提供, 动物合格证号 SCXK(川)2008-0024。流感甲型病毒鼠肺适应株 A/PR/8/34 (H1N1), 四川大学华西医学中心提供,  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  保存备用。使用前于 9 日龄鸡胚尿囊腔连续传代 2 次后, 测定血凝滴度为 1:512。

**1.2 药物及试剂** 桂枝原药材从成都荷花池中药材市场购入, 产地广西, 经成都中医药大学中药鉴定教研室严铸云教授鉴定为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* 的干燥嫩枝, 质量符合药典标准; 桂枝挥发油 (volatile oil from Cinnamomi Ramulus, VOCCR), 按照 2010 年版《中国药典》附录挥发油提取乙法提取, 为淡黄色油状液体, 经无水硫酸钠脱水后  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  避光保存, GC-MS 测定其桂皮醛含量为 66.85%。桂皮醛 (纯度  $\geq 93\%$ , 批号 MKBB245, 百灵威科技有限公司), 利巴韦林 (批号 020M4003, 美国 Sigma 公司); 小鼠 IL-2 ELISA 试剂盒 (批号 201202), 小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒 (批号 201202), 小鼠 TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒 (批号 201202), 均为美国 R&D 公司产品; FITC anti-Mouse CD3e (批号 2293688), PE anti-Mouse CD4 (批号 2216831) 及 PERCP-CY5.5 anti-Mouse CD8A (批号 00058-1631), 均为美国 BD 公司产品。

**1.3 仪器** SW-CJ-IF 型超净工作台 (苏州净化设备有限公司), Sorvall ST 16R 型离心机 (美国 Thermo 公司), VARIOSKAN FLASH 2.4.3 型全波长多功能读数仪 (美国 Thermo 公司), Gallios 型流式细胞仪 (美国 Beckman 公司)。

## 2 方法

**2.1 药物对病毒性肺炎小鼠肺组织血凝滴度的影响**

**2.1.1 动物分组及给药** 小鼠适应性饲养 3 d 后, 按体重、性别分层随机分为 7 组: 正常组, 模型组, 利巴韦林组 ( $0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 桂枝挥发油高剂量组 ( $0.348 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 桂枝挥发油低剂量组 ( $0.174 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 桂皮醛高剂量组 ( $0.264 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 桂皮醛低

剂量组(0.132 mg·kg<sup>-1</sup>)。小鼠病毒感染后当天开始 ig 给药,每日 1 次,连续 5 d。

**2.1.2 病毒性肺炎小鼠模型制备** 戊巴比妥钠麻醉小鼠,固定其头部向上,与水平呈 45 度角(便于病毒液顺利流入肺部),做颈正中切口,分离气管,用微量进液针吸取 50 μL 病毒液(浓度为 30 LD<sub>50</sub>, LD<sub>50</sub> = 10<sup>-3.5</sup>/0.05 mL)向肺部方向注入气管,缝合,完成病毒感染。

**2.1.3 测定指标** 小鼠感染病毒第 5 天(实验前禁食不禁水 8 h),颈椎脱臼处死后称重,解剖取全肺,其中,10 只小鼠肺组织采用中性甲醛固定后,石蜡包埋,切片,HE 染色,作镜下观察。另外 10 只小鼠肺组织用生理盐水制备成 10% 匀浆液,4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液进行实验。在血凝板每个待测孔内先加入生理盐水 50 μL,再取离心上清液 50 μL 加入第 1 孔内混匀,依次对倍稀释至最后 1 孔,并弃去多余的 50 μL 混合液。再将 1% 鸡红细胞悬液 50 μL 依次加入待测孔内。将血凝板置于振荡器上振荡混匀 2 min,置于 37 °C 恒温培养箱中放置 10 min 后取出观察结果。出现完全凝集(红细胞在反应板底部全部均匀铺开)孔内肺组织匀浆液的最高稀释度,即为血凝滴度。

**2.2 对病毒性肺炎小鼠血清 IL-2, IL-6, TNF-α 含量的影响** 动物分组及造模方法同 2.1.1, 2.1.2 项,连续给药 5 d 后,小鼠摘眼球取血,室温下静置 30 min,4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,收集血清。按照试剂盒说明测定小鼠血清 IL-2, IL-6, TNF-α 的含量。

**2.3 对病毒性肺炎小鼠 T 细胞亚群的影响** 小鼠造模方法同 2.1.2 项,根据实验 2.1 及 2.2 项结果提示,选取作用效果较好的药物高剂量组进行本部分实验测定。将小鼠按体重、性别分层随机分为 5 组,分别为正常组,模型组及利巴韦林组,桂枝挥发油组(0.348 mg·kg<sup>-1</sup>),桂皮醛组(0.264 mg·kg<sup>-1</sup>)。末次给药后(实验前禁食不禁水 8 h),摘眼球取血,肝素抗凝。2 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,收集血细胞,弃上清。再用 PBS 液重悬至 300 μL,加入 3 mL 红细胞裂解液,振荡混匀 10 min,至透亮澄清。1 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,弃上清,收集沉淀。PBS 液洗涤 2 次,重悬于 150 μL PBS 中,混匀后按照每管 50 μL 分装于 EP 管中。分别加入 FITC, PE, PERCP-CY5.5 标记的抗小鼠 CD3e, CD4 及 CD8A 单克隆抗体,充分混匀,反应 45 min 后上流式细胞仪检测分析。

**2.4 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,各组数据呈正态性分布时应用进行单因素方差分析,不符合正态性分布时采用非参数检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对病毒性肺炎小鼠肺组织血凝滴度及病理形态学的影响** 与正常组比较,模型组小鼠肺组织中病毒的血凝滴度明显升高( $P < 0.05$ ),提示造模成功。与模型组比较,各组药物均对模型小鼠肺组织中病毒血凝滴度有一定程度的降低,且作用强度与药物剂量成正比,桂枝挥发油 0.348 mg·kg<sup>-1</sup>,桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup> 明显降低模型小鼠肺组织血凝滴度( $P < 0.05$ )。见表 1。正常组小鼠肺脏未见异常,肺内各级支气管及肺泡结构清晰,基本无炎性细胞浸润、管腔内无渗出物。肺泡上皮完整、无增生,被覆假复层纤毛柱状上皮未见异常。模型组小鼠肺泡组织结构不清,出现实变、融合,肺泡壁明显肿胀增厚,部分肺泡扩张,形成代偿性肺气肿,肺内有大量的炎性细胞浸润,病变较重,提示造模成功。各药物组能改善小鼠肺脏炎性病变程度,肺组织当中炎性细胞浸润明显减少,肺泡壁为轻度至中度肿胀,肺泡内可见少量上皮细胞脱落,肺泡及管腔内渗出物较少,少量肺泡扩张,极少数肺泡失代偿出现融合,个别动物肺组织可恢复至正常结构。见图 1。

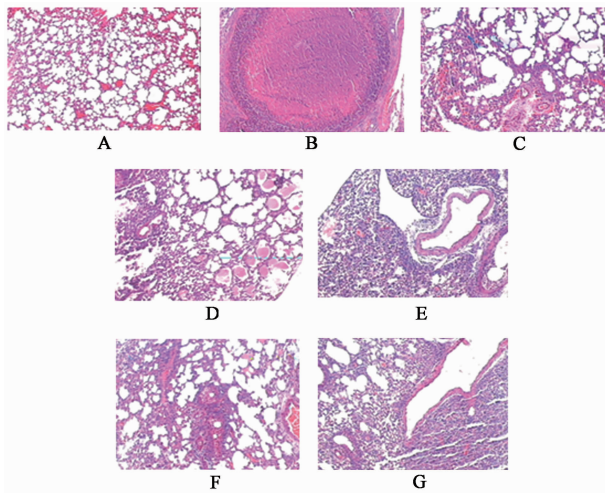
表 1 桂枝挥发油、桂皮醛对小鼠肺组织血凝滴度的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 1 Effects of volatile oil from Cinnamomi Ramulus and cinnamaldehyde on hemagglutination titer of lung tissue in mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

| 组别    | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 血凝滴度/log2                |
|-------|------------------------|--------------------------|
| 正常    | -                      | 0.0 ± 0.00               |
| 模型    | -                      | 3.4 ± 1.19 <sup>1)</sup> |
| 桂枝挥发油 | 0.348                  | 2.0 ± 1.07 <sup>1)</sup> |
|       | 0.174                  | 2.9 ± 1.25               |
| 桂皮醛   | 0.264                  | 2.4 ± 1.30 <sup>3)</sup> |
|       | 0.132                  | 3.6 ± 1.19               |
| 利巴韦林  | 150                    | 0.0 ± 0.00 <sup>3)</sup> |

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

**3.2 对病毒性肺炎小鼠血清细胞因子水平的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清 IL-2 含量明显降低( $P < 0.05$ ),IL-6 和 TNF-α 含量明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,各药物组能使病毒感染小鼠低下的血清 IL-2 水平有升高趋势,且与剂量成正



A. 正常组; B. 模型组; C. 利巴韦林组; D. 桂枝挥发油 0.348 mg·kg<sup>-1</sup>组; E. 桂枝挥发油 0.174 mg·kg<sup>-1</sup>; F. 桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup>组; G. 桂皮醛 0.132 mg·kg<sup>-1</sup>组

图 1 桂枝挥发油和桂皮醛对小鼠肺组织病理形态学的影响 (HE, ×400)

Fig. 1 Effects of volatile oil from *Cinnamomi Ramulus* and cinnamaldehyde on pathomorphism of lung tissue in mice (HE, ×400)

表 2 桂枝挥发油、桂皮醛对小鼠血清 IL-2, IL-6, TNF-α 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effects of volatile oil from *Cinnamomi Ramulus* and cinnamaldehyde on IL-2, IL-6, TNF-α of serum tissue in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

| 组别    | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | IL-2/ng·L <sup>-1</sup>        | IL-6/ng·L <sup>-1</sup>      | TNF-α/ng·L <sup>-1</sup>     |
|-------|------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 正常    | -                      | 1 515.41 ± 70.41               | 82.22 ± 7.96                 | 308.63 ± 15.72               |
| 模型    | -                      | 1 201.38 ± 71.75 <sup>1)</sup> | 115.7 ± 18.93 <sup>1)</sup>  | 444.04 ± 47.81 <sup>1)</sup> |
| 桂枝挥发油 | 0.348                  | 1 262.99 ± 58.89               | 103.86 ± 10.45               | 384.81 ± 37.72 <sup>3)</sup> |
|       | 0.174                  | 1 213.89 ± 47.79               | 106.78 ± 13.82               | 426.69 ± 32.55               |
| 桂皮醛   | 0.264                  | 1 245.15 ± 44.00               | 102.59 ± 13.38 <sup>3)</sup> | 438.18 ± 38.47               |
|       | 0.132                  | 1 236.50 ± 33.78               | 104.38 ± 9.43                | 429.33 ± 48.74               |
| 利巴韦林  | 150                    | 1 245.21 ± 46.51               | 111.86 ± 8.66                | 431.73 ± 41.19               |

表 3 桂枝挥发油、桂皮醛对小鼠外周血 T 细胞亚群的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3 Effects of volatile oil from *Cinnamomi Ramulus* and cinnamaldehyde on peripheral blood T cell subset in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

| 组别    | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | CD4 <sup>+</sup> /% | CD8 <sup>+</sup> /% | CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> |
|-------|------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------------|
| 正常    | -                      | 55.62 ± 4.77        | 31.14 ± 4.55        | 1.82 ± 0.34                        |
| 模型    | -                      | 49.63 ± 6.15        | 35.78 ± 7.27        | 1.42 ± 0.31 <sup>1)</sup>          |
| 桂枝挥发油 | 0.348                  | 54.41 ± 2.27        | 34.75 ± 1.43        | 1.56 ± 0.09                        |
| 桂皮醛   | 0.264                  | 59.39 ± 10.75       | 33.51 ± 9.45        | 1.95 ± 0.86 <sup>3)</sup>          |
| 利巴韦林  | 150                    | 56.22 ± 7.58        | 36.88 ± 9.96        | 1.69 ± 0.76                        |

疗<sup>[2]</sup>。化学研究表明,挥发油为桂枝的主要有效部位之一<sup>[5]</sup>,本课题前期工作已证实桂皮醛是桂枝挥发油的主要组成物质(占其挥发油总量的 60% 以上)。在此基础上,本课题组围绕抗病毒目标效应,以桂枝挥发油及其主要成分桂皮醛为研究对象,从细胞水平、鸡胚水平上已证明其具有较好的抗流感

比。桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup>明显降低病毒感染小鼠血清 IL-6 含量 ( $P < 0.05$ ),桂枝挥发油 0.384 mg·kg<sup>-1</sup>明显降低病毒感染小鼠血清 TNF-α 含量 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

3.3 对病毒性肺炎小鼠外周血 T 细胞亚群的影响  
与正常组比较,模型组小鼠 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群的百分比显著降低,CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群的比例升高,且 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 明显降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,桂枝挥发油 0.384 mg·kg<sup>-1</sup>,桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup> 均能上调病毒感染小鼠外周血 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群百分比,下调 CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群的百分比;桂皮醛 0.264 mg·kg<sup>-1</sup> 明显升高病毒感染小鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ( $P < 0.05$ )。见表 3。

#### 4 讨论

桂枝为樟科植物肉桂的干燥嫩枝。味辛甘而温,归心、肺、膀胱经。具有发汗解肌,温通经脉、助阳化气之功效。为“辛温”解表药的代表药物之一。临床常与麻黄配伍用于感冒、发热、头痛等表证的治

病毒作用,并初步揭示桂枝抗病毒效应的病毒免疫应答 TLR/IFN 分子信号机制的联系<sup>[3-4]</sup>。本次研究采用流感病毒复制病毒性肺炎模型小鼠,采用桂枝挥发油、桂皮醛治疗给药方式,结果提示经药物治疗后能明显降低病毒感染小鼠肺组织血凝滴度,减轻其肺组织损伤,进一步证实了桂枝挥发油与桂皮醛

具有良好的抗甲型流感病毒作用。

体内缺少 CD4<sup>+</sup>T 细胞时,抗体的产生会明显受到抑制,机体抗病毒能力降低。CD8<sup>+</sup>T 细胞则为抑制性 T 细胞(Ts)和杀伤性 T 细胞(Tc),即能抑制淋巴细胞的增殖和抗体的产生,同时也对受病毒感染的靶细胞有一定的识别杀伤作用。外周血 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>T 细胞亚群的百分率以及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>可作为评价机体免疫状态的指标<sup>[6-7]</sup>。

IL-2 主要由活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞生成,其自身并无直接抗流感病毒作用,但能刺激 T 细胞生成多种淋巴因子,并诱导某些具有抗病毒作用的细胞因子产生,间接发挥抗流感病毒作用<sup>[8]</sup>。研究表明,流感病毒感染机体后会引起 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的百分率降低,以及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>下降,IL-2 分泌水平降低,提示病毒感染机体处于辅助 T 细胞缺失的免疫抑制状态,机体免疫应答能力降低<sup>[9-10]</sup>。本次实验结果显示,小鼠感染流感病毒后,其外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的百分比降低较为明显,CD8<sup>+</sup>T 细胞亚群的百分比轻度升高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>明显降低,且血清 IL-2 水平明显降低,提示流感病毒感染可造成小鼠免疫功能紊乱,通过桂枝挥发油、桂皮醛治疗方式给药,能上调病毒感染小鼠 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的百分比,降低 CD8<sup>+</sup>T 细胞亚群的百分比,明显升高 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>,并使小鼠血清 IL-2 水平呈现一定提高趋势,表明药物能通过调节外周 T 细胞亚群比例,促进 IL-2 生成,减轻感染所引起的机体免疫功能失调来对抗流感病毒的感染。

研究报道<sup>[10]</sup>,流感病毒感染后肺部炎性病变的产生,器官的损害与 TNF- $\alpha$  的过度分泌有关,IL-6 表达水平的升高,能促进其发挥刺激局部炎性反应,破坏组织的作用。本研究发现,流感病毒感染小鼠血清 IL-6 与 TNF- $\alpha$  水平均明显升高,桂枝挥发油、桂皮醛治疗给药能降低模型小鼠血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  含量,提示药物可以通过减少感染小鼠促炎细胞因子的释放来减轻肺组织的炎性损伤,如降低肺指数、改善肺组织炎症病理变化。

综上,笔者认为桂枝挥发油、桂皮醛能通过调控

感染机体的细胞因子 IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  分泌,干预外周血 T 细胞亚群的异常变化,发挥提高机体固有免疫防御系统的作用而减轻肺炎病理损伤,是其抗流感病毒作用机制之一。药物如何影响上述细胞因子的表达,是否还有其他相关细胞因子的参与,则有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 杨占秋,余宏. 临床病毒学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2000:188.
- [2] 沈映君. 中药药理学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2011:98.
- [3] 刘蓉,苟玲,于柳,等. 桂枝挥发油与桂皮醛对病毒性肺炎小鼠死亡保护作用及 TLR/IFN 信号机制研究[J]. 中药药理与临床,2013,29(4):33-36.
- [4] 刘蓉,何婷,曾南,等. 桂枝挥发油及桂皮醛抗流感病毒的机制研究[J]. 中草药,2013,44(11):1460-1464.
- [5] 黄明进,郭刚,徐立军,等. 解表药药性与挥发油成分相关性研究[J]. 北京中医药大学学报,2009,32(2):101-103.
- [6] Mbawuikie I N, Zhang Y, Conch R B. Control of mucosal virus infection by influenza nucleoprotein specific CD8<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes[J]. Respir Res, 2007, 8(1): 44-49.
- [7] Sant A J, Chaves F A, Krafcik F R, et al. Immunodominance in CD4<sup>+</sup> T cell responses: implications for immune responses to influenza virus and for vaccine design[J]. Expert Rev Vaccine, 2007, 6(3):357-368.
- [8] 金伯泉. 医学免疫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:60.
- [9] 马英莲,孟伟民,马秀珍,等. 甲型 H1N1 流感患者 T 细胞亚群变化特点[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(9):95-96.
- [10] 鲍琳琳,孙惠惠,占玲俊,等. 甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠的发病机制[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(2):20-22.

[责任编辑 周冰冰]