

补中益气汤退热作用及机制的探讨

刘进娜¹, 谢鸣^{1*}, 高秀兰², 赵荣华¹

(1. 北京中医药大学国家重点方剂学学科, 北京 100029;
2. 山东省中医药高等专科学校, 山东烟台 264100)

[摘要] **目的:**探讨补中益气汤退热作用机制。**方法:**雄性 Wistar 大鼠随机分为正常对照组、脾虚发热组、补中益气汤组共 3 组, 每组 10 只。采用饮食失节 + 过度疲劳 + 注射 LPS 法复制脾虚发热模型。每周测体温 1 次。第 18 天开始补中益气汤组每天 ig(6.83 g·kg⁻¹), 正常组和脾虚发热组给予同体积蒸馏水, 每天 1 次, 连续 5 d。第 22 天 AM 8:00 脾虚发热组和补中益气汤 2 组大鼠 ip 脂多糖(LPS, 80 μg·kg⁻¹) 诱导发热, 正常组 ip 等体积生理盐水。测量各组大鼠 ip LPS 后 30, 60, 120, 180, 220 min 肛温及绘制体温曲线, 测定下丘脑环磷酸腺苷(cAMP)、前列腺素 E₂(PGE₂)。**结果:**与正常对照组相比, 脾虚发热组大鼠体温曲线明显上抬, 各观察点体温均明显升高, 下丘脑 PGE₂ 和 cAMP 明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与脾虚发热组比较, 补中益气汤组大鼠体温曲线明显下移, 下丘脑 PGE₂ 和 cAMP 均明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:**补中益气汤对脾虚发热模型大鼠具有明显的退热效用, 其退热作用可能与降低中枢发热介质 PGE₂ 和 cAMP 有关。

[关键词] 脾虚发热; 补中益气汤; 退热机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0174-03

Study of Antipyretic Function and Mechanism of Buzhong Yiqi Tang

LIU Jin-na¹, XIE Ming^{1*}, GAO Xiu-lan², ZHAO Rong-hua¹

(1. Formulary Department, the National Key Discipline, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 246100, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the antipyretic mechanism of Buzhong Yiqi Tang. **Method:** The rats were assigned into the normal group, spleen-qi deficiency with fever group, Buzhong Yiqi Tang group, 10 rats in each group. The rats of spleen-qi deficiency with fever group and Buzhong Yiqi Tang group were treated with excess fatigue plus out of constant diet to copy spleen-qi deficiency rat model. The body temperatures were measured each week. From the 18th day, Buzhong Yiqi Tang group rats were fed with medicine 6.83 g·kg⁻¹. The ones of the normal group and spleen-qi deficiency with fever group with physiological saline for 5 days. At 8:00 am on the 22th day, the rats of Buzhong Yiqi Tang group and the spleen-qi deficiency with fever group were respectively intraperitoneally injected with lipopoly saccharide(LPS, 80 μg·kg⁻¹) to induce fever. The rats of the normal group with physiological saline. The rectal temperature was measured at 30, 60, 120, 180, 220 min after ip LPS and the mean body temperature curve draw. Then cAMP and PGE₂ in hypothalamus were measured. **Result:** Compared with the normal group, the rectal temperature curve of spleen-qi deficiency with fever group rises significantly at every research spot ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the spleen-qi deficiency with fever group, the temperature, cAMP and PGE₂ of Buzhong Yiqi Tang group were obviously decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Buzhong Yiqi Tang has antipyretic effect on the spleen-qi deficiency with fever model. Its antipyretic mechanism may be connected with reducing central pyrexia amboceptor PGE₂ and cAMP.

[Key words] spleen-qi deficiency with fever; Buzhong Yiqi Tang; antipyretic mechanism

[收稿日期] 20110713(014)

[第一作者] 刘进娜, 硕士, 从事方-证相关研究, Tel:13720034698, E-mail:liujinna2011@126.com

[通讯作者] * 谢鸣, 教授、博士生导师, 从事方-证相关研究, Tel:01064286992, E-mail:xieming603@263.net

补中益气汤为金元医家李东垣所创,原方主治脾胃气虚、气虚下陷和气虚发热等证,为甘温益气退热的代表方。本文依据中医方证相关的原理,在之前采用饮食失节+游泳疲劳+腹腔注射LPS法复制脾虚发热大鼠模型^[1]的基础上,探讨了补中益气汤对脾虚发热模型的退热效用及中枢作用机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 Wistar 大鼠,200~220 g,30只。购于北京市维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号 SCXK(京)2006-0009。

1.2 药材 人参、黄芪、白术、炙甘草、当归、柴胡、陈皮、升麻:均由北京同仁堂药业股份有限公司提供,并经鉴定为正品。补中益气汤按全国统编5版教材《方剂学》中的组成和用量(黄芪18 g,人参10 g,当归10 g,白术10 g,陈皮6 g,炙甘草5 g,柴胡3 g,升麻3 g)。按常规汤药制备方法,即取药材加5倍体积冷水浸泡30 min,加热煮沸后煎煮30 min,倾出药液;残渣加3倍体积水煮沸后煎煮30 min;合并先后2次的煎煮液,浓缩成含生药量 $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,备用。

1.3 仪器 MC-3B型电脑数字温度计,OMROM欧姆龙(大连)有限公司生产。塑料钢化筒,执行标准Q/WHC02-2002。*r*-911全自动放免计数仪,中国科技大学实业总公司生产。

1.4 试剂 脂多糖(escherichia coli endotoxin 055B5, L2880, LPS),Sigma公司生产。LPS注射液的制备:无菌条件下,用生理盐水将LPS配成 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LPS注射液,备用。环磷酸腺苷(cAMP, HY-089) RIA KIT试剂盒(北京华英生物技术研究所,生产批号20101230)。前列腺素 E_2 (PGE₂, HY-043) RIA KIT试剂盒(北京华英生物技术研究所,生产批号20110107)。

2 方法

2.1 脾虚发热证动物模型的复制 采用饮食失节+游泳疲劳+ip LPS法^[1]。

2.2 分组与处理 实验动物于25℃室温下适应性饲养4 d,于第5天每日测体温(肛温)2次,连续2 d单次体温大鼠超过39℃或2次体温波动超过0.5℃的动物剔除不用,取2次体温的平均值作为基础体温。将符合条件的大鼠随机分为正常对照组、脾虚发热组、补中益气汤组共3组,每组10只。除正常对照组外其余2组大鼠采用饮食失节+游泳疲劳法制备脾虚模型。模型复制第18天开始,补中益气

汤组大鼠按剂量 $6.83\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (按人与大鼠的日用量换算成相当于生药材含量)ig相应的药物,正常对照组和脾虚发热组ig同体积蒸馏水,每日1次,连续5 d。于造模第22天的上午8:00,脾虚发热组和给药组大鼠ip LPS($80\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),正常对照组ip等量生理盐水。ip LPS后,各组大鼠分别给与相应的灌胃处理。于注射LPS后4 h大鼠断头,低温条件下,按脑图谱以灰结节和视交叉的中点为界定部位,取出下丘脑组织,迅速置液氮中速冻固定,30 min后放入-80℃冰箱,待测。

2.3 观测指标

2.3.1 体温 分别测定LPS注射后30,60,120,180,220 min的肛温,绘制各组平均体温曲线。

2.3.2 下丘脑cAMP, PGE₂ 下丘脑称重,取组织0.3~0.5 g,滤纸吸干组织液和血液后,加生理盐水1 mL(含 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸20 μL),研磨使组织充分粉碎,然后 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清;沉淀部分加生理盐水0.5 mL(含 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸20 μL) $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清;2次上清合并,用 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaOH 25 μL (调pH 7.4左右)。吸取上清液10 μL 加入定量的蛋白试剂中,分光光度法测定蛋白含量,其余于60℃烤箱中吹干,残渣放于4℃保存。测量时用1 mL醋酸缓冲液溶解,然后取0.1 mL测量。具体操作按试剂盒说明。

2.3.3 数据统计和处理 全部数据采用SPSS 17.0软件统计处理。所得数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行检验后,多组间比较采用Student Newman Keuls Test检验。 $P<0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对脾虚发热证模型大鼠体温的影响 较之正常对照组,脾虚发热组大鼠体温在30 min时有一过性降低,之后逐渐升高,在60,120,180,220 min时的差异均有非常显著性意义($P<0.01$)。较之脾虚发热组,补中益气汤组大鼠的各观测点体温均见明显下降,其中在60,120,180,220 min时差异均有非常显著性意义($P<0.01$)。见表1。

3.2 对脾虚发热模型大鼠下丘脑发热介质的影响

由表2可见,较之正常对照组,脾虚发热组大鼠下丘脑cAMP和PGE₂含量均见升高,差异均有显著性意义($P<0.05$)。较之脾虚发热组,补中益气汤组大鼠下丘脑cAMP和PGE₂含量均降低,差异有显著或非常显著性意义($P<0.05$, $P<0.01$)。

表 1 补中益气汤对 LPS 诱导脾虚发热大鼠体温变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

℃

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	不同时间点的体温变化				
		30 min	60 min	120 min	180 min	220 min
正常对照	-	0.50 ± 0.43	0.14 ± 0.28	0.00 ± 0.33	-0.13 ± 0.29	-0.13 ± 0.18
脾虚发热	-	-0.28 ± 0.39 ²⁾	0.94 ± 0.38 ²⁾	1.06 ± 0.35 ²⁾	1.61 ± 0.36 ²⁾	0.81 ± 0.30 ²⁾
补中益气汤	6.83	-0.40 ± 0.26 ²⁾	-0.02 ± 0.49 ⁴⁾	0.09 ± 0.45 ⁴⁾	0.07 ± 0.48 ⁴⁾	-0.48 ± 0.38 ^{1,4)}

注:与正常对照组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与脾虚发热组比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 补中益气汤对脾虚发热模型大鼠

下丘脑相关介质的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

μg·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	cAMP	PGE ₂
正常对照	-	8.04 ± 2.83	29.52 ± 3.05
脾虚发热	-	11.02 ± 2.82 ¹⁾	33.14 ± 3.97 ¹⁾
补中益气汤	6.83	7.64 ± 3.86 ³⁾	26.44 ± 4.27 ⁴⁾

著升高;补中益气汤给药 5 d 可显著降低该模型升高的体温,并使下丘脑升高的 PGE₂ 和 cAMP 含量明显下降。结果进一步表明,补中益气汤对脾虚发热确有明显的退热作用,其机制可能与降低中枢发热介质 PGE₂ 和 cAMP 的生成有关。

4 讨论

补中益气汤主治脾(气)虚发热证,具有甘温补中、益气退热的功用,临床表明本方用于脾虚发热证具有较好疗效^[2-3]。根据“方证相关”的理论,中医方药的功效依赖其所作用的对象-病证^[4],研究中医方药的作用应考虑到适宜病证模型的选择,本文则从实验角度观察该方作用于脾虚发热大鼠的退热效用并探察其可能的作用机制。

“气虚发热”是中医气虚证同时伴有发热症的一种特别类型。有关气虚发热的中医病机则历代医家见仁见智。本文基于“虚人外感论”^[5],在脾虚大鼠模型复制的基础上,通过注射外源性致热原 LPS 诱导脾虚(气虚)发热模型。

现代医学认为发热是一个症状,由病原微生物、抗原抗体复合物、类固醇等刺激机体白细胞等产生内生致热原,后者通过多种途径作用于体温调节中枢引起调定点升高所引起。PGE₂ 和 cAMP 是目前较为公认的 2 种中枢性发热介质,中枢内的 PGE₂ 主要来源于脑血管内皮细胞及其周围的巨噬细胞,以旁分泌形式作用于下丘脑温敏神经元的 PGE₂ 受体引起体温升高^[6]。一些研究表明,注射 LPS 后下丘脑 PGE₂ 含量升高^[7-8];发热时下丘脑、脑脊液中 cAMP 浓度明显升高,且与体温升高呈显著性正相关^[9-10]。

曾有报道,补中益气汤高、中、低不同剂量对游泳+限食法+注射脂多糖(LPS)建立的气虚发热大鼠的体温具有显著的退热作用^[11],其高、低剂量能显著降低饥饿+注射三联疫苗所引起的脾虚发热家兔的体温以及脑脊液 PGE₂ 和 PO/AH 区组织 cAMP 的含量^[12]。本实验观察到,由疲劳+饮食不节诱导的脾虚大鼠经 LPS 注射 30 min 后其体温持续升高,同时伴有下丘脑中 PGE₂ 和 cAMP 含量的显

[参考文献]

- [1] 刘进娜,谢鸣,高秀兰,等. LPS 对正常和脾虚大鼠体温的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(8):197.
- [2] 宋丽君,王娣. 补中益气汤加减治疗气虚发热 28 例[J]. 实用中医内科杂志, 2005, 19(5):452.
- [3] 张明听,孙博郎. 补中益气汤加味治疗气虚发热 25 例[J]. 长春中医学院学报, 2002, 18(1):22.
- [4] 谢鸣. 方证相关的逻辑命题及意义[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2):22.
- [5] 柴琳. 也谈“气虚发热”之病机与治疗[J]. 贵阳中医学院学报, 2008, 30(6):49.
- [6] Engblom D, Saha S, Blomqvist A, et al. Inflammatory response: pathway across the blood brain barrier[J]. Nature, 2001, 410(6827):430.
- [7] 张美玉,李胎奎,闫位娟,等. 鱼腥草注射液新制剂抗炎解热作用及其机制研究[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(9):776.
- [8] 罗福玲,赵恒光,章卓,等. 粉防己碱对 LPS 诱导的大鼠发热模型的解热作用[J]. 中成药, 2010, 32(8):1304.
- [9] 王乐,王兰兰,曹宇. TRPV1 对 LPS 致热大鼠体温及下丘脑中 Ca²⁺ 浓度和 cAMP 含量的影响[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(1):51.
- [10] 王东华,李楚杰,屈洋,等. 下丘脑[Ca²⁺], cAMP 在家兔 EGTA 性发热机制中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 1996, 12(4):402.
- [11] 刘瑜彬,王晖,唐晓峰,等. 灰关联聚类法评价补中益气汤对大鼠气虚发热的效果[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18):124.
- [12] 张恩户,赵勤,侯建平,等. 补中益气汤对家兔脾虚发热模型体温、脑脊液 PGE₂ 和 PO/AH 区组织 cAMP 含量的影响[J]. 中医药学刊, 2003, 21(9):1529.

[责任编辑 聂淑琴]