

## 鼻渊舒口服液对兔慢性鼻-鼻窦炎模型鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$ mRNA 表达的影响

李辉<sup>1</sup>, 朱天民<sup>2\*</sup>

(1. 成都大学医护学院, 成都 610091; 2. 成都中医药大学针推学院, 成都 610075)

[摘要] 目的: 观察鼻渊舒口服液对兔慢性鼻窦炎(CRS)模型鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达的影响, 探索鼻渊舒口服液治疗 CRS 的可能机制。方法: 取新西兰大白兔 60 只, 适应性喂养 1 周后, 随机分为正常组、模型组、假手术组、鼻渊舒组、西药治疗组, 每组 12 只, 建立 CRS 模型; 鼻渊舒组、西药治疗组分别给予鼻渊舒口服液 1.5 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 克拉霉素 25 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 共 14 d, 处死后取鼻窦黏膜组织 HE 染色光镜观察, 实时定量 PCR 法检测鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达。结果: 模型组鼻窦黏膜呈慢性炎症表现, 黏膜炎细胞浸润, 上皮细胞、腺体和杯状细胞明显增生; 鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达较正常组显著增高( $P < 0.01$ )。经鼻渊舒治疗后鼻窦黏膜上皮修复较好, 炎细胞浸润、腺体和杯状细胞增生不明显; 鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达较模型组显著降低( $P < 0.01$ ), 与正常组比较无显著差异。结论: 鼻渊舒口服液治疗 CRS 的机制可能与调控鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达有关。

[关键词] 鼻渊舒口服液; 慢性鼻窦炎(CRS); IL-8; TNF- $\alpha$ ; mRNA

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0193-05

## Experimental Study of Biyuanshu Influencing IL-8 and TNF- $\alpha$ mRNA Expression in Rabbits of Chronic Rhinosinusitis

LI Hui<sup>1</sup>, ZHU Tian-min<sup>2\*</sup>

(1. Medical and Nursing Faculty of Chengdu University, Chengdu 610091, China;

2. College of Acupuncture and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

[Abstract] **Objective:** To observe IL-8 and TNF- $\alpha$  mRNA expression of rabbit sinus mucosa of Biyuanshu treatment of chronic rhinosinusitis (CRS) model, and explore the possible mechanism of Biyuanshu treatment of CRS. **Method:** Sixty new Zealand rabbits fed one week after adaptation and were randomly divided into normal group, model group, sham operation group, Biyuanshu group, western medicine group, 12 in each group. Firstly CRS model have established, then Biyuanshu group and western medicine group were given 1.5 mL·kg<sup>-1</sup> of BiYuanShu or 25 mg·kg<sup>-1</sup> of clarithromycin every day in 14 days, finally they were sacrificed to take sinus mucosa, HE staining were observed by light microscopy and IL-8 and TNF- $\alpha$  mRNA expression of sinus mucosa were detected by real-time quantitative PCR. **Result:** In model group, the sinus mucosa showed chronic inflammation and mucosal infiltration of inflammatory cells, and epithelial cells and glands and hyperplasia of goblet cells were found, IL-8 and TNF- $\alpha$  mRNA expression of sinus mucosal were higher than normal group significantly ( $P < 0.01$ ). In Biyuanshu group, sinus mucosa have good repair, and inflammatory cells and glands and goblet cell hyperplasia were not obvious, IL-8 and TNF- $\alpha$  mRNA expression of sinus mucosal were lower than model group

[收稿日期] 20100808005

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30801480)

[第一作者] 李辉, 博士, 讲师, 从事中西医结合康复的实验研究, Tel: 13980753275, E-mail: tlihui@163.com

[通讯作者] \* 朱天民, 博士, 副教授, 从事中西医结合康复的实验与临床研究, Tel: 13608216905, E-mail: tmzhu@yahoo.cn

significantly ( $P < 0.01$ ), Biyuanshu group and normal group have no significant difference. **Conclusion:** The mechanism of Biyuanshu treatment of CRS may be related to regulation of IL-8 and TNF- $\alpha$  mRNA expression of sinus mucosal.

**[Key words]** Biyuanshu; CRS; IL-8; TNF- $\alpha$ ; mRNA

慢性鼻-鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)是临床常见病及多发病,其病程长,反复发作,难以治愈。对耳鼻咽喉各处,以及气管、支气管、肺及消化道的生理功能均可产生不良影响。鼻渊舒口服液是临床治疗 CRS 的常用中成药,其相关临床研究较多,但关于其治疗 CRS 的机制尚不明了,鲜见相关报道。目前大量的研究支持促炎细胞因子 IL-8, TNF- $\alpha$  等在 CRS 发病过程中有重要作用,故我们观察了鼻渊舒口服液对兔 CRS 模型鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达的影响。

## 1 材料与方

**1.1 动物** 健康新西兰大白兔 60 只,清洁级,3~4 月龄,体重 2.0~3.0 kg,雌 30 只,雄 30 只。由四川大学华西医学中心实验动物中心提供,合格证号 SCXL(川)-10-2006。动物饲养于四川大学华西医学中心基础医学实验动物中心。

**1.2 药品、试剂与仪器** 金黄色葡萄球菌菌液(四川省中医医院细菌培养室制备),克拉霉素分散片(南京瑞尔制药有限公司,批号 090301,0.25 g/片),鼻渊舒口服液(成都华神集团股份有限公司制药厂,批号 090320,10 mL/支),总 RNA 提取试剂(美国 Invitrogen 公司),cDNA 第一链合成试剂盒(Beyotime 公司),Taq DNA 聚合酶、PCR 反应缓冲液(10 $\times$ )、MgCl<sub>2</sub> 溶液(25 mmol/L)(北京 BioDev 公司),dNTP (Promega 公司),DNA Marker(北京 TIANGEN 公司),琼脂糖(法国 BIOWEST 公司),FTC2000 实时荧光定量基因扩增仪(FUNGLYN 公司),MSE Micro-Centaur Centrifuge 微型台式离心机(Sanyo 公司),水平电泳仪(美国 BIO-RAD 公司),Gel Doc 1000 凝胶成像系统(美国 BIO-RAD 公司)等。

**1.3 分组** 将 60 只健康新西兰兔适应性喂养 1 周后,按随机数字表法分为 5 组,即正常组、模型组、假手术组、鼻渊舒组、西药治疗组,每组各 12 只。各组均精饲料喂养、自由饮水。

## 1.4 慢性鼻-鼻窦炎模型的建立

**1.4.1 菌种的制备** 取门诊慢性鼻-鼻窦炎患者上颌窦穿刺冲洗液进行细菌培养,用 VITEK260 全自

动细菌鉴定仪分离筛选出单一菌株金黄色葡萄球菌,接种于血平板上,置于培养箱中 24 h,从血平板收集菌落,用生理盐水稀释成 1 麦氏单位的细菌悬浊液备用。

**1.4.2 造模方法** 参考林彬等<sup>[1]</sup>报道的窦口不完全堵塞+窦腔留置棉絮的造模方法,建立兔慢性鼻-鼻窦炎模型。具体造模方法如下:整个手术过程在无菌操作的前提下进行。将健康新西兰大白兔用戊巴比妥钠耳缘静脉注射麻醉后,将其鼻背正中的毛剪短、刮光。常规消毒、铺巾,1%利多卡因术区浸润麻醉,沿鼻背正中线切一纵长切口,随机选取一侧上颌窦前壁,分离皮下组织及骨膜。用上颌窦穿刺针在上颌窦前壁钻开一直径大约 1.5 mm 的小孔。取少量棉絮通过上颌窦前壁所钻的小孔,将其置放在窦口及窦腔中,不必完全堵塞窦口。而后用 1 mL 注射器抽取上述 1 mL 细菌悬浊液,小心缓慢通过小孔注入各治疗组窦腔内。碘伏消毒手术创面,将骨膜、皮肤逐层缝合。饲养 42 d,建立 CRS 模型。假手术组手术步骤同上,但不在窦口内填塞棉絮及注射细菌。正常组无需任何处理,在正常环境中喂养,自由饮食进水。

**1.5 治疗** 造模后第 43 天开始,正常、模型、假手术组不给药,西药治疗组给予克拉霉素 25 mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>,鼻渊舒组给予鼻渊舒口服液 1.5 mL $\cdot$ kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>,疗程为 14 d。

## 1.6 检测指标和方法

**1.6.1 一般情况观察及主要症状体征观察** 观察各组新西兰兔造模前后及治疗前后的精神状态、毛色、活动情况、进食进水量增减、体重变化及鼻塞、喷嚏、脓涕等主要症状。

**1.6.2 鼻窦黏膜组织的病理形态学改变** HE 染色,光学显微镜观察上颌窦黏膜假复层纤毛上皮排列,腺体分布排列,杯状细胞数量,炎细胞浸润,纤维及骨质增生等病理现象。

**1.6.3 荧光实时定量 PCR 检测 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达** 取血后处死动物,超净台冰盘上取出一部分鼻窦黏膜,液氮保存。总 RNA 的提取和 cDNA 的

合成:用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA,根据  $A_{260}/A_{280}$  值和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其浓度、纯度和完整性。以总 RNA 2  $\mu\text{g}$  为模板,按反转录试剂盒的操作说明在普通 PCR 仪上进行逆转录,合成第一条 cDNA 链,总的反应体积是 20  $\mu\text{L}$ 。引物的设计与合成:兔 IL-8, TNF- mRNA 及内参的基因序列通过 NCBI 基因数据库获得,利用 Primer Premier 5.0 软件设计,其中 IL-8: 上游 5'-GCT CAG CCC TCT TCA AGA AT-3', 下游 5'-CCA TCC CAA ATT TAT CAA AG-3', 扩增长度 161 bp; TNF- : 上游 5'-CTA GCC CAC GTA GTA GCA AAC-3', 下游 5'-CCT GGG AGT AGA TGA GGT ACA-3', 扩增长度 148 bp; GAPDH: 上游 5'-GCC ATC ACT GCC ACC CA -3', 下游 5'-CAG TGA GCT TCC CGT TC-3', 扩增长度 134 bp。引物由上海生物工程有限公司合成。荧光定量聚合酶链反应:以 10  $\times$  buffer ( $\text{Mg}^{2+}$  free) 3  $\mu\text{L}$ ,  $\text{MgCl}_2$  (25  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 3  $\mu\text{L}$ , dNTP (25  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 0.36  $\mu\text{L}$ , 上游引物 (10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , 下游引物 (10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , TaqMan 探针 (10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , Taq 酶 (5  $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) 0.3  $\mu\text{L}$ , dd  $\text{H}_2\text{O}$ , 18.74  $\mu\text{L}$ , cDNA 模板 2  $\mu\text{L}$  配制反应体系。预变性 94  $^{\circ}\text{C}$  2 min; 变性 94  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 退火 56  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 延伸 60  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 共 45 个循环。

本实验采用相对定量  $C_t$  法, 荧光强度增加到可被检测出时所需要的 PCR 循环次数即为循环阈值  $C_t$ , 再根据公式相对含量 =  $2^{-C_t}$  得出实验结果。其中  $C_t = C_{t\text{标本}} - C_{t\text{参照组平均值}} = (C_{t\text{样本目的基因}} - C_{t\text{样本 GAPDH}}) - (C_{t\text{参照组目的基因}} - C_{t\text{参照组 GAPDH}})$  平均值, 本研究以正常组为参照组。

**1.7 统计学方法** 采用 SPSS 13.0 统计软件处理实验相关数据, 数值以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析, 显著性检验水准取双侧  $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般状况及主要症状体征** 适应性喂养至造模前, 各组新西兰兔行动敏捷, 进食正常, 皮毛密集而有光泽, 鼻、唇部湿润清洁, 眼睛明亮, 大便正常, 无死亡。造模后, 除正常组、假手术组外, 其余各组陆续普遍出现精神差, 行动迟缓, 活动减少, 进食及饮水量有所下降; 鼻塞、喷嚏时发 (约 2~3 个/分)、脓涕症状明显。治疗后, 鼻渊舒组、西药组鼻塞、喷嚏、脓涕症状消失; 模型组从造模成功至处死时, 鼻

塞、喷嚏、脓涕症状明显; 正常组和假手术组始终无鼻塞、喷嚏、脓涕症状。

**2.2 鼻窦黏膜病理形态学改变** 正常组兔鼻黏膜假复层纤毛上皮结构完整, 排列整齐; 少量杯状细胞散在分布, 黏膜下层无充血及明显炎细胞浸润, 腺体数量较少, 排列整齐 (图 1A)。

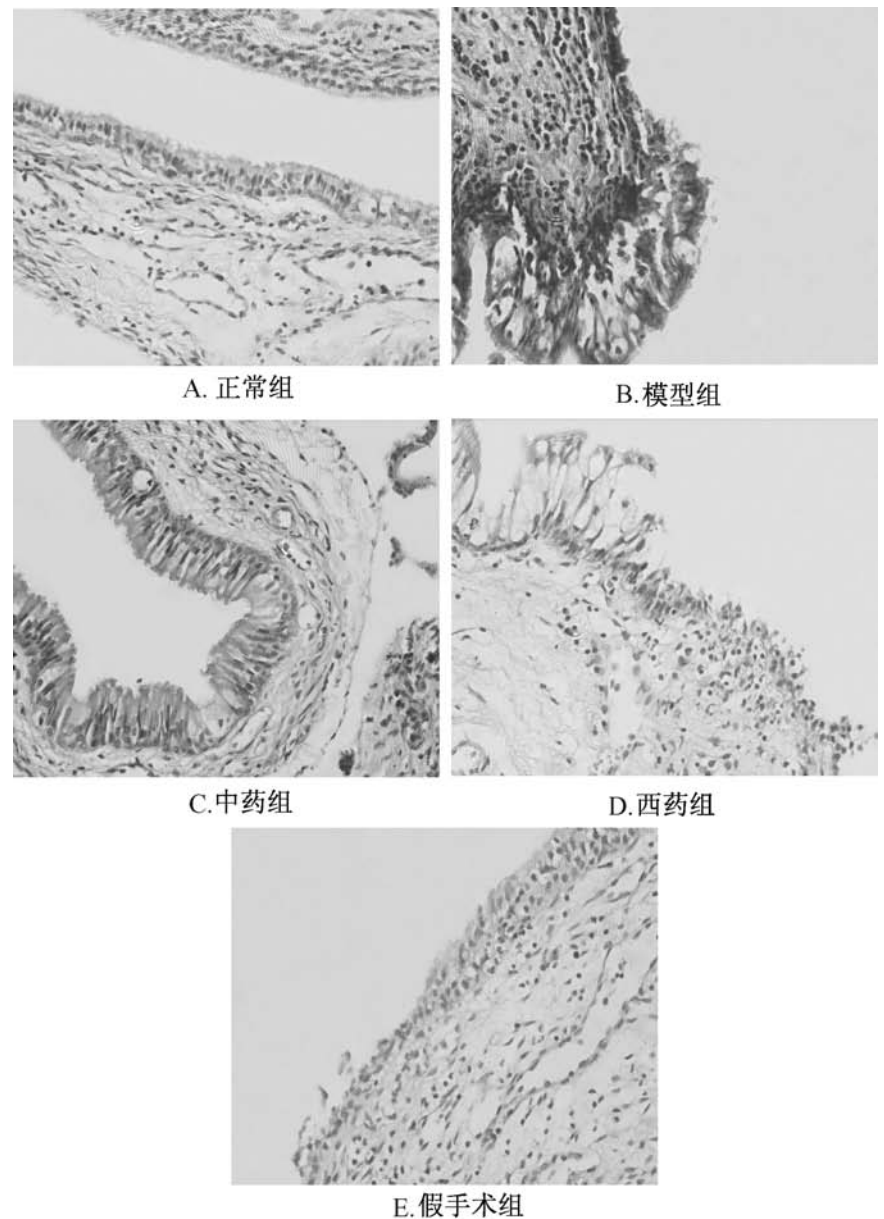


图 1 各组对鼻窦黏膜病理学形态的改变 (40  $\times$ 10)

模型组鼻黏膜呈慢性炎症表现, 黏膜上皮细胞增生, 部分区域可见鳞状上皮化生; 纤毛及上皮细胞排列紊乱, 部分区域变性、坏死、脱落; 杯状细胞增生, 黏膜下层腺体及纤维组织增生明显, 可见明显的淋巴细胞、浆细胞、单核细胞浸润, 提示 CRS 模型建立成功 (图 1B)。

鼻渊舒组兔鼻黏膜上皮修复较好, 炎细胞浸润、腺体和杯状细胞增生不如模型及假手术、西药组明显 (图 1C)。西药组鼻黏膜上皮损伤更严重, 腺体及杯状细胞增生较中药、假手术组明显 (图 1D)。假手术组鼻黏膜的各项病理变化与中药组相似, 不如西药组明显 (图 1E)。

**2.3 鼻窦黏膜 IL-8, TNF- mRNA 表达的变化** 模型组鼻窦黏膜 IL-8 mRNA 表达较正常组显著增高

( $P < 0.01$ ) ; 假手术组、鼻渊舒组、西药组鼻窦黏膜 IL-8 mRNA 表达较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ ) , 与正常组比较无显著差异。

模型组鼻窦黏膜 TNF- $\alpha$  mRNA 表达较正常显著升高 ( $P < 0.01$ ) ; 假手术、鼻渊舒、西药组鼻窦黏膜 TNF- $\alpha$  mRNA 表达较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ ) , 与正常组比较无显著差异。见表 1。

表 1 各组 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 比较 (  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$  )

组别	IL-8 mRNA	TNF- $\alpha$ mRNA
正常	1.17 $\pm$ 0.54	1.13 $\pm$ 0.62
模型	3.19 $\pm$ 1.52 <sup>1)</sup>	1.87 $\pm$ 0.48 <sup>1)</sup>
假手术	1.50 $\pm$ 0.59 <sup>2)</sup>	1.17 $\pm$ 0.33 <sup>3)</sup>
鼻渊舒	1.10 $\pm$ 0.65 <sup>3)</sup>	1.08 $\pm$ 0.26 <sup>3)</sup>
西药	1.11 $\pm$ 0.63 <sup>3)</sup>	0.94 $\pm$ 0.26 <sup>3)</sup>

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

### 3 讨论

CRS 是涉及鼻腔和鼻窦黏膜的一种慢性炎症性疾病, 常无明确的致病微生物感染, 是临床常见病、多发病, 其确切的发病机制尚不清楚。CRS 往往反复发作, 迁延不愈, 严重影响健康。

CRS 属中医学“鼻渊”范畴, 系因急性鼻窦炎迁延日久, 而致肺脾虚弱, 脾虚运化失职, 痰湿停聚, 滞留鼻窍; 肺虚卫外不固, 不能抗御外邪, 易感受风热、风寒等外邪, 终致热毒、湿浊积聚鼻窦, 腐蚀鼻窦黏膜而成。因此, 中医临床治疗 CRS 多采用清热益气通窍的治法。鼻渊舒口服液主要由辛夷、苍耳子、薄荷、白芷、黄芩、栀子、柴胡、细辛、黄芪、川芎、川木通等组成。方中苍耳子、辛夷、薄荷、细辛、白芷辛散风邪, 芳香通窍。柴胡疏散风热, 开郁升阳; 黄芩清热燥湿, 泻火解毒, 配以栀子清热之力更甚。黄芪补气升阳, 益卫固表。川芎、川木通祛风活血利湿。诸药同用, 清热益气通窍, 正合 CRS 之病机。目前在临床被广泛用于急、慢性鼻-鼻窦炎的治理, 疗效显著, 相关临床研究屡见报道, 但治疗机制研究较少。因此, 我们观察了鼻渊舒口服液对 CRS 模型鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  等炎症相关细胞因子 mRNA 表达的影响, 为该药临床应用提供实验研究支持。

IL-8 属于 C-X-C 族趋化因子中的一种, 是一种强有力的中性粒细胞 (PMN) 趋化及激活因子, 对单核细胞、嗜碱性粒细胞、T 淋巴细胞也有趋化的作用<sup>[2]</sup>。IL-8 可诱导 PMN 变形, 使 PMN 内  $Ca^{2+}$  浓度

一过性升高, 促进其脱颗粒, 释放蛋白水解酶如弹力蛋白酶、髓过氧化物酶等, 导致生物活性脂质形成和呼吸爆发, 并且可上调黏附分子表达, 从而促进炎症反应<sup>[3]</sup>。IL-8 对机体的作用是双向的, 小剂量时在防御感染和调节免疫反应方面起重要作用, 而过量则会加重炎症反应导致细胞组织损伤。Suzuki 等<sup>[4]</sup>研究发现提示 CRS 的发生与 IL-8 的过度分泌有关。

本研究发现, 模型组鼻窦黏膜 IL-8 mRNA 表达较正常组显著升高 ( $P < 0.01$ ) , 且鼻窦黏膜下有大量的单核、淋巴细胞及中性粒细胞浸润, 提示 IL-8 可能在 CRS 鼻窦黏膜增厚、多种炎症细胞浸润和炎症的慢性化方面起重要的作用。经鼻渊舒口服液治疗后鼻窦黏膜 IL-8 mRNA 表达较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ ) , 且鼻窦黏膜单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞浸润减少, 提示鼻渊舒口服液可能通过抑制 IL-8 mRNA 的表达而起治疗作用。

TNF- $\alpha$  是由单核-巨噬细胞系统和内皮细胞分泌产生的一种重要的前炎细胞因子, 在机体的免疫中发挥着重要作用。能够促进中性粒细胞脱颗粒伴蛋白水解酶释放和呼吸爆发; 增加血管内皮细胞对白细胞的黏附, 使白细胞聚集于炎症反应部位; 其通过与单核-巨噬细胞等靶细胞相应膜受体结合, 可将激活信号传递给胞浆中的 NF- $\kappa$ B-I $\kappa$ B 复合物, 促使 I $\kappa$ B 磷酸化、泛素化、降解, NF- $\kappa$ B 与之分离, 转至细胞核内并与相应的转录单位结合, 编码合成 IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 多种细胞因子及 NO、防御素 (Defensins) 等<sup>[5-6]</sup>。低水平的 TNF- $\alpha$  在炎症应答中有利于应对病原微生物的侵害, 而大量的 TNF- $\alpha$  释放能使血管内皮细胞通透性增加, 并诱导细胞间黏附因子-1 (ICAM-1) 和血管细胞间黏附因子-1 (VCAM-1) 的表达, 使嗜酸性粒细胞、嗜中性粒细胞等黏附于血管内皮细胞, 导致鼻腔黏膜水肿, 引起严重的组织损伤<sup>[7-8]</sup>。Lennard 等<sup>[9]</sup>研究发现慢性鼻窦炎黏膜内有较高的促炎因子 TNF- $\alpha$  等的表达。李延忠等<sup>[10]</sup>研究亦发现, 在慢性鼻窦炎鼻黏膜上皮可见 TNF- $\alpha$  的高表达。

我们研究发现, 模型组鼻窦黏膜 TNF- $\alpha$  mRNA 表达较正常组显著升高 ( $P < 0.01$ ) , 提示 TNF- $\alpha$  在 CRS 的发生中起了一定的作用。经鼻渊舒口服液治疗后鼻窦黏膜 TNF- $\alpha$  mRNA 较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ ) , 且鼻窦黏膜单核细胞、中性粒细胞等浸润减少, 提示鼻渊舒口服液可能通过调节 TNF-

mRNA 的表达而起治疗作用。

总之, 我们研究表明 CRS 存在鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达增高的现象, 鼻渊舒口服液可能通过调控鼻窦黏膜 IL-8, TNF- $\alpha$  mRNA 表达, 抑制单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等炎细胞的浸润而改善鼻窦黏膜慢性炎症状态, 其相关调控机制将是我们进一步研究的方向。

#### [参考文献]

[ 1 ] 林彬, 王挥戈. 窦口不完全堵塞加金黄色葡萄球菌诱导的兔慢性鼻-鼻窦炎模型 [ J ]. 汕头大学医学院学报, 2004, 17( 3 ): 163.

[ 2 ] Smith W B, Gamble J R, Clark Lewis L, et al. Interleukin induces neutrophil transendothelial migration [ J ]. J Immuno, 1991, 72( 1 ): 65.

[ 3 ] Baggiolini M, Moser B, Clark-Lewis I, et al. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines [ J ]. Chest, 1994, 105( 3s ): 95.

[ 4 ] Suzuki H, Asada Y, Ikeda K, et al. Inhibitory effect of erythromycin on interleukin-8 secretion from exudative cells in the nasal discharge of patients with chronic

sinusitis [ J ]. Laryngoscope, 1999, 109: 407.

[ 5 ] Robert M, Strieter J A. Cytokines in innate host defense in the lung [ J ]. J Clin Invest, 2002, 109( 6 ): 699.

[ 6 ] Medzhitov R, Janeway CA Jr. A human homologue of the drosophila toll protein signals activation of adaptive immunity [ J ]. Nature, 1997, 388( 6640 ): 394.

[ 7 ] 夏敬文, 陈小东, 张静等. 莲花清瘟胶囊对慢性阻塞性肺病的治疗作用 [ J ]. 复旦学报: 医学版, 2008, 35( 3 ): 441.

[ 8 ] 张兵. 鼻炎宁颗粒对过敏性鼻炎大鼠 IL-4, IL-5 和 TNF- $\alpha$  含量的影响 [ J ]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10( 11 ): 193.

[ 9 ] Lennard C M, Mann E A, Sun L L, et al. Interleukin-1, beta interleukin-5, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in chronic sinusitis: response to systemic corticosteroids [ J ]. Am J Rhinol, 2000, 14( 6 ): 367.

[ 10 ] 李延忠, 王岩, 王欣, 等. 慢性鼻窦炎患者上颌窦黏膜细胞因子的表达 [ J ]. 山东大学学报: 医学版, 2002, 40( 8 ): 362.

[ 责任编辑 邹晓翠 ]

(上接第 192 页)

#### 4 讨论

古代本草认为山豆根无毒, 其有毒的记载始见《中国药典》1986 年版, 近代研究认为山豆根生药按毒性分级属有毒。临床曾报道, 山豆根的不良应以胃肠道反应为主, 以神经毒性反应损害为最。徐峰<sup>[4]</sup>报道 5 例服用山豆根 10 g 后, 在 15 min ~ 1 h, 逐渐出现头晕头痛, 视物不清, 腹痛腹泻, 剧烈呕吐, 大汗淋漓, 胸闷心悸, 肢体震颤, 步态不稳, 甚则见有肢体麻痹等症状。盛云华等<sup>[3]</sup>用小鼠口服山豆根水煎液, LD<sub>50</sub> 为 16.39 g·kg<sup>-1</sup>, 小鼠一次性口服大剂量山豆根水煎液可造成急性肝损伤, 并显示一定的毒性时-效、量-效关系。山豆根可以增加肝脏脏器指数, 并可以引起肝功能酶学改变<sup>[5]</sup>。

本实验的结果显示, 给予大鼠不同剂量山豆根 (20, 12 g·kg<sup>-1</sup>) 10 d 后, 山豆根组动物出现活动减少, 四肢无力, 粪便以及尿液增多等现象; 26 d 后, 大鼠 ALT 值、肝脏脏器指数显著升高 (P < 0.01 或 P < 0.05), TP, ALB 值降低 (P < 0.01 或 P < 0.05), ALP 值有升高趋势; 电镜显示, 正常组细胞核正常, 线粒体正常, 内质网略见扩张; 12 g·kg<sup>-1</sup> 组细胞核有变

形, 核膜有皱缩, 细胞核有肿胀趋势, 毛细胆管扩张, 滑面内质网略见扩张; 20 g·kg<sup>-1</sup> 组细胞核变形, 核膜有皱缩, 少量线粒体有变形, 内质网扩张, 可以看到细胞间连接。

本研究的结果表明, 大鼠长期灌服 12, 20 g·kg<sup>-1</sup> 山豆根后即可产生明显的肝脏毒性, 与相关报道相符, 因此, 临床应用时应当引起注意。

#### [参考文献]

[ 1 ] 中国药典. 一部 [ S ]. 2005: 19.

[ 2 ] 李家实. 中药鉴定学 [ M ]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998. 111.

[ 3 ] 盛云华, 李峰杰, 金若敏. 山豆根致小鼠肝毒性及其病理形态学研究 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16( 6 ): 144.

[ 4 ] 徐峰. 山豆根中毒 5 例 [ J ]. 广东医药杂志, 1999, 20( 11 ): 900.

[ 5 ] 向丽华, 陈燕萍, 张智, 等. 24 味有毒中药长期毒性实验对大鼠脏器指数的影响 [ J ]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12( 1 ): 35.

[ 责任编辑 邹晓翠 ]