

不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-1, IL-6, IL-10 的影响

张林*, 孙宏伟, 马贤德, 陈文娜, 马廷刚
(辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032)

[摘要] 目的: 观察不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血模型动物血清细胞因子的影响。方法: 采用线栓法建立大鼠局灶性脑缺血动物模型, 在缺血后 24 h 采静脉血, 以酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测血清中 IL-1, IL-6 和 IL-10 含量的变化。结果: 脑缺血 24 h 大鼠血清中 IL-1, IL-6, IL-10 水平均显著升高($P < 0.01$); 不同黄芪剂量配伍组成的补阳还五汤编号中药 I ~ V 均能显著降低脑缺血模型大鼠血清中 IL-1 和 IL-6 水平($P < 0.01$), 显著升高 IL-10 水平($P < 0.01$); 中药 IV 降低脑缺血模型大鼠血清 IL-1 水平较中药 V 显著($P < 0.01$)。结论: 不同黄芪剂量配伍组成的补阳还五汤对局灶性脑缺血模型大鼠血清细胞因子的影响是其对脑缺血保护作用的可能机制之一; 以 180 g 黄芪配伍组成的补阳还五汤作用最优。

[关键词] 补阳还五汤; 细胞因子; 脑缺血

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)10-0062-03

补阳还五汤是治疗气虚血瘀之中风的代表方剂, 方中黄芪的用量以及其配伍机制问题一直是补阳还五汤研究中的焦点。对补阳还五汤拆方的研究表明^[1], 黄芪在全方保护脑缺血损伤中与活血化瘀药配伍可以产生协同作用。但是查阅近 10 年来的文献, 关于黄芪在该方的用量的研究报道少见, 并且报道中该方黄芪的剂量范围窄^[2-3], 局限于 60 g 和 120 g, 故本实验选取 5 个黄芪剂量, 观察由它们分别组成的方剂对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-1, IL-6 和 IL-10 的影响, 确定特定药效条件下补阳还五汤方中黄芪的最佳剂量。

1 材料与方

1.1 动物 健康雄性 Wistar 大鼠 80 只, 级别 SPF/ VAF, 体重(280 ± 10) g, 许可证号: SCXK(辽) 2002-0003, 辽宁中医药大学实验动物中心提供。

1.2 药物与试剂 补阳还五汤中各组成药物均购自沈阳市天益堂药房。按表 1 剂量比例制作 5 种不同剂量的中药方剂水煎液, 分别用 10 倍量和 8 倍量的水煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并水煎液, 浓缩, 分别制成含生药 0.88, 1.36, 2.4, 3.32, 4.4 g·mL⁻¹ 的药液备

用。

IL-1, IL-6, IL-10 定量 ELISA 试剂盒, 购于晶美生物工程有限公司。

表 1 不同剂量黄芪的补阳还五汤(g)

药物编号	黄芪	当归尾	赤芍	川芎	红花	桃仁	地龙
中药 I	30	6	4.5	3	3	3	3
中药 II	60	6	4.5	3	3	3	3
中药 III	120	6	4.5	3	3	3	3
中药 IV	180	6	4.5	3	3	3	3
中药 V	240	6	4.5	3	3	3	3

1.3 动物分组与处理 大鼠随机分为 7 组: 假手术组、模型组、中药 I 组、中药 II 组、中药 III 组、中药 IV 组、中药 V 组, 每组 10 只。造模方法: 参照 Zea Longa^[4] 文献的报道方法, 采用线栓法制备大鼠局灶性脑缺血模型, 即结扎大鼠颈总动脉和颈外动脉, 自颈总动脉分叉处向颈内动脉插入栓线约 18.5 ± 0.5 mm, 阻断大脑中动脉血流, 造成局灶性脑缺血。假手术组颈内动脉亦插入栓线, 但深度仅为 6 mm, 不阻塞大脑中动脉。中药 I ~ V 组大鼠依次分别以中药 I ~ V 煎剂 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃, 假手术组及模型组以生理盐水 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃, 各组每日灌胃 1 次, 7 d 后造模, 模型成功 24 h 后取血清检测 IL-1, IL-6, IL-10 含量。模型成功标准: 动物手术清醒后有明显对侧 Horner 征及偏瘫体征(不能完全伸展右

[收稿日期] 2008-12-29

[基金项目] 辽宁省教育厅课题(2005239)

[通讯作者] * 张林, Tel: (024) 31207085; E-mail: zhanglin770622@hotmail.com

前肢,行走时向右侧倾倒或转圈),不成功者予以剔除。

1.4 指标测定 酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测 IL-1, IL-6, IL-10 含量,具体操作步骤参照试剂盒说明书。

1.5 统计学分析 所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 11.5 软件处理,单因素方差分析(one-way ANOVA)后,方差齐,行多组间比较,采用 Student-Newmarr-Keuls 检验。

2 结果

2.1 不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-1 含量的影响 结果见表 2。与假手术组比较,模型组大鼠血清 IL-1 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药 I ~ 中药 V 组大鼠血清 IL-1 含量显著降低($P < 0.01$);随着黄芪剂量的增大,各中药组大鼠血清 IL-1 含量有明显减少的趋势,但是各中药组之间大鼠血清 IL-1 含量无显著性差异($P > 0.05$)。

表 2 不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-1, IL-6, IL-10 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-1($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	IL-6($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	IL-10($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
假手术组	109.24 ± 6.87	125.09 ± 8.71	20.98 ± 1.94
模型组	270.84 ± 7.07 ¹⁾	396.55 ± 12.22 ¹⁾	40.19 ± 1.49 ¹⁾
中药 I	250.18 ± 9.66 ²⁾	374.67 ± 9.99 ²⁾	47.11 ± 2.20 ²⁾
中药 II	220.69 ± 8.05 ²⁾	306.27 ± 10.39 ²⁾	55.28 ± 2.27 ²⁾
中药 III	191.69 ± 8.75 ²⁾	298.15 ± 12.83 ²⁾	63.07 ± 2.80 ²⁾
中药 IV	134.05 ± 10.21 ²⁾	203.59 ± 11.83 ^{2,3)}	65.91 ± 2.58 ²⁾
中药 V	138.61 ± 12.88 ²⁾	226.21 ± 11.99 ²⁾	64.63 ± 2.97 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与中药 V 组比较³⁾ $P < 0.01$

2.2 不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-6 含量的影响 结果见表 2。与假手术组比较,模型组大鼠血清 IL-6 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药 I ~ 中药 V 组大鼠血清 IL-6 含量显著降低($P < 0.01$);随着黄芪剂量的增大,各中药组大鼠血清 IL-6 含量有明显减少的趋势,但是统计学检验显示,与中药 V 组比较,中药 IV 组大鼠血清 IL-6 含量明显降低($P < 0.01$);其他各中药组之间大鼠血清 IL-6 含量无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 不同黄芪剂量的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-10 含量的影响 结果见表 2。与假手术组比较,模型组大鼠血清 IL-10 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药 I ~ 中药 V 组大鼠血

清 IL-10 含量显著升高($P < 0.01$);随着黄芪剂量的增大,各中药组大鼠血清 IL-10 含量有明显增多的趋势,但是各中药组之间大鼠血清 IL-10 含量无显著性差异($P > 0.05$)。

3 讨论

清代医家王清任在《医林改错》关于补阳还五汤治疗中风后遗症的使用中曾记载:“黄芪用一二两,以后渐加至四两。至微效时,日服两剂,岂不是八两。”所以本次实验所选择的黄芪剂量范围为一两至八两(30 g~ 240 g),分为 5 个不同剂量单位。结果显示,5 个不同黄芪剂量形成的补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清中细胞因子 IL-1, IL-6 和 IL-10 均有作用,随着黄芪剂量的增大,各中药组大鼠血清 IL-1 和 IL-6 含量有明显减少的趋势,IL-10 含量有明显增加的趋势,其中以黄芪剂量为 180 g 的补阳还五汤作用最强。以往曾有报道^[3],采用饥饿+心得安+高分子右旋糖酐造成家兔“气虚血瘀”模型,观察 2 个黄芪剂量(60 g 和 120 g)的补阳还五汤配方对该模型全血黏度的影响,结果发现 120 g 黄芪的配方“祛瘀”效果明显优于 60 g 黄芪的配方。同时还有人^[2]观察了 2 个黄芪剂量(60 g 和 120 g)的补阳还五汤治疗 66 例中风后遗症患者的临床疗效及其对血液流变学指标的影响,结果发现 120 g 黄芪的补阳还五汤对中风后遗症的疗效更为显著,且能明显改善血液流变学指标(血沉、红细胞压积和全血比黏度)。此外有研究也证实,足量黄芪(120 g)是补阳还五汤治疗中风取得疗效的保证^[5]。这些结果与本次实验结果基本一致,但是目前尚无关于补阳还五汤中黄芪使用量大于 120 g 的报道。本次实验结果还发现,当补阳还五汤中黄芪用量达到 240 g 时,对局灶性脑缺血大鼠血清中 IL-6 含量的影响反而减弱,说明该方对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-1, IL-6 和 IL-10 的作用不是随黄芪用量增加而无限增强的。

脑缺血损伤后在缺血受损区有细胞因子的过量表达和炎性细胞浸润,过量炎症因子的产生能加重神经细胞损伤^[6]。本次实验预先用补阳还五汤干预局灶性脑缺血大鼠后,血清中 IL-1 和 IL-6 含量较模型组显著降低,IL-10 含量显著升高。曾有报道^[7],补阳还五汤可以明显降低蒙古沙土鼠双侧颈总动脉夹闭脑缺血再灌注损伤后血清炎性细胞因子 IL-1 和 IL-6 的含量。这与本次实验的结果一致。但目前尚无关于补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠血清 IL-10

含量影响的报道。IL-1, IL-6 和 IL-10 均是免疫和炎症反应中的重要因子。其中 IL-1 和 IL-6 是炎症细胞因子, 过量炎症因子的产生能加重神经细胞损伤^[8]; 而 IL-10 是抗炎因子, 体外实验证实 IL-10 可以抑制白细胞和小胶质细胞分泌 IL-1 和 IL-6^[9], 减轻局灶性脑缺血继发性的损伤。故从本实验结果可以推测, 补阳还五汤防治脑缺血损伤的可能作用机制之一是通过升高脑缺血后血清抗炎因子 IL-10 含量, 从而抑制体内 IL-1 和 IL-6 的产生, 降低 IL-6 协同 IL-1 的炎性反应, 减轻脑缺血损伤。

[参考文献]

- [1] 赵燕玲, 曲友直. 补阳还五汤及拆方对脑缺血后髓过氧化物酶活性及神经细胞凋亡的影响[J]. 中国中医急症, 2007, 16(3): 317-318.
- [2] 谢裕华, 陈超. 不同黄芪剂量的补阳还五汤对中风后遗症患者外周血 ESR、PCV 及 Γ_b 水平的影响[J]. 新中医, 2007, 39(6): 23-24.
- [3] 闫润红, 王世民, 闫志芳. 不同黄芪剂量的补阳还五汤对“气虚血瘀”家兔血粘度的影响[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(1): 7-8.
- [4] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, *et al.* Reversible

middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.

- [5] 张鹤年. 气行则血行——补阳还五汤中用不同剂量的黄芪治疗脑梗塞恢复期 108 例对比观察[J]. 上海中医药杂志, 1997, 31(7): 10-11.
- [6] Basu A, Lazovic J, Krady JK, *et al.* Interleukin 1 and the interleukin 1 type 1 receptor are essential for the progressive neurodegeneration that ensues subsequent to a mild hypoxic/ischemic injury[J]. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005, 25(1): 17-29.
- [7] 韩绍娟, 刘志龙. 补阳还五汤对沙土鼠脑缺血再灌注损伤后血清炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的影响[J]. 实用中西医结合临床, 2004, 4(4): 1-3.
- [8] Basu A, Lazovic J, Krady JK, *et al.* Interleukin 1 and the interleukin 1 type 1 receptor are essential for the progressive neurodegeneration that ensues subsequent to a mild hypoxic/ischemic injury[J]. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005, 25(1): 17-29.
- [9] Ajuebor MN, Das AM, László Virág, *et al.* Role of resident peritoneal macrophages and mast cells in chemokine production and neutrophil migration in acute inflammation: evidence for an inhibitory loop involving endogenous IL-10 [J]. *J Immunol*, 1999, 162(3): 1685-1691.