

疏风解毒胶囊免疫调节作用机制研究

马莉¹, 黄妍¹, 侯衍豹¹, 张冬冬⁴, 张言朋⁴, 刘静^{1*}, 张铁军^{2, 3*}

1. 天津药物研究院 新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津药物研究院 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300193

3. 天津药物研究院 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300193

4. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800

摘要: **目的** 探讨疏风解毒胶囊免疫调节作用机制。**方法** 采用肺炎链球菌致肺炎大鼠模型, 观察疏风解毒胶囊给药后对淋巴细胞分类, 细胞因子白细胞介素-1 α (IL-1 α)、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 α 干扰素 (IFN- α)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平, 免疫球蛋白A (IgA)、免疫球蛋白M (IgM)、免疫球蛋白G (IgG) 水平, 胸腺、脾脏、肺脏质量的影响。**结果** 疏风解毒胶囊能显著降低模型大鼠外周血B淋巴细胞比例、CD8⁺比例, 降低血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-10、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 、IgM、IgG水平, 降低肺炎大鼠胸腺、脾脏、肺脏质量, 升高外周血CD4⁺/CD8⁺及NK细胞比例。**结论** 疏风解毒胶囊有显著的免疫调节作用, 其通过降低B淋巴细胞、CD8⁺比例及IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-10、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 、IgM、IgG水平, 降低肺炎大鼠胸腺、脾脏、肺脏质量, 升高CD4⁺/CD8⁺及NK细胞比例对肺炎模型大鼠有显著的治疗作用。

关键词: 疏风解毒胶囊; 肺炎; 免疫调节; 淋巴细胞; 细胞因子; 免疫球蛋白; 免疫器官

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2019) 09-1763-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.09.009

Study on mechanism for immunoregulation of Shufeng Jiedu Capsule

MA Li¹, HUANG Yan¹, HOU Yanbao¹, ZHANG Dongdong⁴, ZHANG Yanpeng⁴, LIU Jing¹, ZHANG Tiejun^{2,3}

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Drug Safety Assessment Co., Ltd., Tianjin 300301, China

2. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

4. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

Abstract: Objective To explore the immunoregulation of Shufeng Jiedu Capsule (SJC) and its mechanism. **Methods** Using the *Streptococcus pneumoniae* (SP)-induced pneumonia rats model to study the immunoregulation of SJC, collecting peripheral blood and serum to measure the factors related to immune response such as lymphocyte classification, interleukin-1 α (IL-1 α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor (TNF- α), interferon- α (IFN- α), interferon- γ (IFN- γ), immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin M (IgM), immunoglobulin G (IgG), and the weight of thymus, spleen and lung. **Results** SJC can significantly decrease B cell (%) and CD8⁺(%) in peripheral blood, decrease the levels of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- α , IFN- γ , IgM, and IgG in serum, reduce the weight of thymus, spleen, and lung. It also increased the content of CD4⁺/CD8⁺ and NK cell (%) in peripheral blood. **Conclusion** SJC has significant immunomodulatory effect and shows significant therapeutic effect on pneumonia model rats by decreasing the content of B cell (%), CD8⁺(%), IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- α , IFN- γ , IgM, and IgG, reducing the weight of thymus, spleen and lung, and increasing the content of CD4⁺/CD8⁺ and NK cell (%) in peripheral blood.

收稿日期: 2019-03-15

基金项目: 国家中药标准化专项资助(ZYBZH-C-AH-02);国家自然科学基金资助项目(81430096);国家自然科学基金资助项目(81703802)

第一作者: 马莉(1989—),女,研究方向药理学。Tel: (022)84845247 E-mail: mal8@tjipr.com

*通信作者: 刘静 E-mail: liuj@tjipr.com

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; pneumonia; immunoregulation; lymphocytes; cytokines; immunoglobulin; immune organs

疏风解毒胶囊由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草8味中药组成,具有疏风清热、解毒利咽的功效,用于急性上呼吸道感染属风热症,症见发热、恶风、咽痛、头痛、鼻塞、流浊涕、咳嗽等^[1-4]。临床上也将其用于非重症社区获得性肺炎的治疗。本实验进一步验证疏风解毒胶囊对肺炎模型大鼠的免疫调节作用,并探讨其作用机制,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

疏风解毒胶囊(0.52 g/粒,批号150602),安徽济人药业有限公司;蒲地蓝消炎口服液(批号1511123),济川药业集团有限公司;头孢氨苄胶囊(批号1511142),哈药集团三精制药诺捷有限责任公司;白细胞介素-1 α (IL-1 α)、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 α 干扰素(IFN- α)、 γ 干扰素(IFN- γ)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白M(IgM)、免疫球蛋白G(IgG)ELISA Kit(武汉华美生物工程有限公司);肺炎链球菌,南京便诊生物科技有限公司;安琪活性酵母,安琪酵母股份有限公司。

1.2 仪器

Varioskan Flash 酶标仪, Thermo 公司; E3000-0.5 型电子天平, 常熟市双杰测试仪器厂。

1.3 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 180~200 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK(京)2012-0001, 大鼠饲养在天津药物研究院新药评价有限公司实验动物屏障系统[合格证 SYXK(津)2011-0005], 温度、湿度、换气次数由中央系统自动控制, 温度维持在 20~26 °C, 相对湿度维持在 40%~70%, 通风次数为 10~15 次/h 全新风, 光照为 12 h 明、12 h 暗。自由摄食饮水, 大鼠饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供, 饮水为北京凯弗隆北方水处理设备有限公司生产的 KFRO-400GPD 型纯水机制备的纯净水。

2 方法

2.1 分组、模型制备及给药

SD 大鼠 48 只, 随机分成 6 组, 每组 8 只, 分别为对照组、模型组、头孢氨苄(175 mg/kg)组、蒲地蓝消炎口服液(5 g/kg)组(蒲地蓝组)及疏风解毒胶囊高、低剂量(生药剂量 5.4、2.7 g/kg)组, 各组每天 ig

给药 1 次, 连续给药 6 d, 对照组及模型组 ig 给予同体积的蒸馏水, 于给药第 1~3 天, 除对照组外其余各组大鼠于给药后气管内注射 0.2 mL 浓度为 1×10^7 CFU/mL 肺炎链球菌菌液(将肺炎链球菌接种于血碟中, 37 °C 培养 20~24 h, 再将此菌 2 次传代, 培养 20~24 h 后用比浊法配制成 1×10^8 CFU/mL 菌液, 稀释 10 倍备用)。

2.2 测定指标

2.2.1 全血淋巴细胞分类 腹主动脉取血 1.5 mL 于加有乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝真空采血管中, 混匀后流式细胞仪测定 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞分类。

2.2.2 血清 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10 水平测定 取血 3~4 mL 加于真空采血管中, 3 000 r/min 离心, 分离血清, -20 °C 保存备用, 血清样本按照试剂盒说明测定 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10 水平。

2.2.3 血清 TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平测定 血清样本根据试剂盒说明测定 TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平。

2.2.4 血清 IgA、IgM、IgG 水平测定 血清样本根据试剂盒说明测定 IgA、IgM、IgG 水平。

2.2.5 免疫器官及肺脏质量 剪开胸腔及腹腔, 剪取肺脏、胸腺、脾脏, 称质量并记录。

2.3 数据处理与分析

采用 SPSS 11.5 软件, 组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA, LSD), 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对大鼠淋巴细胞分类的影响

结果见表 1, 与对照组比较, 模型组大鼠外周血 B 淋巴细胞比例显著升高($P < 0.01$), NK 细胞比例显著减少($P < 0.01$), 表明大鼠感染肺炎链球菌后, 受肺炎链球菌荚膜多糖及溶血素刺激, B 淋巴细胞和 NK 细胞比例失调。与模型组比较, 头孢氨苄组大鼠外周血 B 淋巴细胞比例显著降低($P < 0.001$), B 淋巴细胞比例与正常对照组一致, NK 细胞比例有所恢复。蒲地蓝消炎口服液组大鼠外周血 B 淋巴细胞比例显著降低($P < 0.001$), NK 细胞比例升高($P < 0.001$), 调节紊乱的免疫系统。疏风解毒胶囊高、低剂量组大鼠外周血 B 淋巴细胞比例显著降低($P < 0.001$), NK 细胞比例升高($P < 0.05$ 、 0.001), 调节紊乱的免疫系统。而且, 疏风解毒胶囊高剂量组大鼠外周血 CD8⁺比例显著降低, CD4⁺/CD8⁺值升高, 调节

表1 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠外周血淋巴细胞分类和T淋巴细胞分类的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Effect of SJC on lymphocyte classification and T lymphocyte classification in peripheral blood of pneumonia rats ($\bar{x}\pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | T淋巴细胞/% | B淋巴细胞/% | NK细胞/% | CD4 ⁺ /% | CD8 ⁺ /% | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ |
|--------|--------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------|------------------------------------|
| 对照 | — | 47.7±7.1 | 12.2±4.6 | 29.5±2.5 | 61.9±4.1 | 21.9±3.4 | 2.9±0.6 |
| 模型 | — | 50.8±8.3 | 24.1±6.8 ^{##} | 18.2±7.1 ^{##} | 59.2±6.3 | 21.6±4.3 | 2.9±0.9 |
| 头孢氨苄 | 0.175 | 53.5±10.3 | 9.0±3.4 ^{***} | 26.8±9.3 | 60.2±5.6 | 23.4±4.1 | 2.7±0.8 |
| 蒲地蓝 | 5.000 | 45.1±4.3 | 10.0±2.3 ^{***} | 35.3±4.6 ^{***} | 53.4±6.8 | 26.0±4.6 | 2.1±0.6 |
| 疏风解毒胶囊 | 5.400 | 47.3±7.7 | 11.1±2.8 ^{***} | 34.3±4.7 ^{***} | 62.7±3.1 | 15.6±3.8 [*] | 4.3±1.6 [*] |
| | 2.700 | 50.7±7.7 | 11.5±4.2 ^{***} | 28.5±7.8 [*] | 63.6±4.7 | 18.4±3.2 | 3.6±0.8 |

与对照组比较:^{##} $P < 0.01$;与模型组比较:^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

T淋巴细胞亚群,发挥抗炎免疫功能,对肺炎大鼠有显著的治疗作用。

3.2 对大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10水平的影响

结果见表2,与对照组比较,模型组大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-10水平显著增加($P < 0.01$ 、 0.001),其中IL-1 α 升高最为显著($P < 0.001$),IL-1 β 升高也很显著($P < 0.01$),说明IL-1在肺炎的免疫应激和炎症反应中起重要作用。结果表明模型组大鼠感染肺炎链球菌后,机体产生免疫级联反应,细胞因子分泌增加,细胞因子又可以进一步引起炎症因子释放,在感染部位发生炎症。与模型组比较,头孢氨苄组大鼠外周血IL-1 β 、IL-4水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01);蒲地蓝消炎口服液组大鼠外周血IL-1 α 、IL-1 β 显著降低($P < 0.01$),IL-4水平显著升高($P < 0.05$);疏风解毒胶囊高、低剂量组大鼠外周血IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-10水平显著降低($P < 0.01$)。头孢氨苄、蒲地蓝消炎口服液和疏风解毒胶囊对IL-1等细胞因子均有显著降低作用,说明头孢氨苄、蒲地蓝消炎口服液和疏风解毒胶囊均能有效

治疗肺炎链球菌引起的肺炎。

3.3 对大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平的影响

结果见表3,与对照组比较,模型组大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平显著增加($P < 0.01$ 、 0.001)。表明模型组大鼠感染肺炎链球菌后,在链球菌荚膜及溶血素刺激下,细胞因子释放增加,引起炎症反应。与模型组比较,头孢氨苄组大鼠外周血IFN- α 水平显著降低($P < 0.05$),蒲地蓝组大鼠外周血TNF- α 、IFN- α 水平显著降低($P < 0.05$);疏风解毒胶囊高剂量组大鼠外周血TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平显著降低($P < 0.01$ 、 0.001),低剂量组大鼠外周血IFN- α 、IFN- γ 水平显著降低($P < 0.01$)。头孢氨苄、蒲地蓝消炎口服液和疏风解毒胶囊对TNF- α 等细胞因子均有显著降低作用,疏风解毒胶囊降低TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 水平有显著的量效关系,说明头孢氨苄、蒲地蓝消炎口服液和疏风解毒胶囊均能有效治疗肺炎链球菌引起的肺炎。

3.4 对大鼠血清IgA、IgM、IgG水平的影响

结果见表3,与对照组比较,模型组大鼠血清IgA、IgM水平显著增加($P < 0.05$ 、 0.01),表明模型

表2 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of SJC on content of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, and IL-10 in serum of pneumonia rats ($\bar{x}\pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | IL-1 α /(pg·mL ⁻¹) | IL-1 β /(pg·mL ⁻¹) | IL-2/(pg·mL ⁻¹) | IL-4/(pg·mL ⁻¹) | IL-6/(pg·mL ⁻¹) | IL-10/(pg·mL ⁻¹) |
|--------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 对照 | — | 0.168±0.098 | 0.231±0.144 | 59.626±12.759 | 29.889±3.306 | 44.101±14.200 | 14.754±5.391 |
| 模型 | — | 5.795±2.801 ^{###} | 0.756±0.386 ^{##} | 102.982±18.759 ^{###} | 52.644±4.462 ^{###} | 31.381±11.256 | 47.172±14.435 ^{###} |
| 头孢氨苄 | 0.175 | 3.150±2.552 | 0.282±0.152 [*] | 101.908±14.146 | 32.014±11.449 ^{**} | 26.177±8.131 | 52.085±12.290 |
| 蒲地蓝 | 5.000 | 1.143±0.782 ^{**} | 0.237±0.111 ^{**} | 109.862±42.968 | 58.505±6.120 [*] | 24.613±8.669 | 35.053±10.296 |
| 疏风解毒胶囊 | 5.400 | 0.766±0.703 ^{**} | 0.123±0.080 ^{**} | 69.388±8.952 ^{**} | 43.152±12.944 | 32.161±7.165 | 23.145±5.106 ^{**} |
| | 2.700 | 1.088±0.895 ^{**} | 0.182±0.139 ^{**} | 74.003±9.536 ^{**} | 46.616±9.620 | 28.929±15.717 | 28.277±8.578 ^{**} |

对照组比较:^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$;与模型组比较:^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{###} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

表3 疏风解毒胶囊对肺炎大鼠血清TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 和IgA、IgM、IgG水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 3 Effect of SJC on content of TNF- α , IFN- α , IFN- γ , and IgA, IgM, and IgG in serum of pneumonia rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | TNF- α /(pg·mL ⁻¹) | IFN- α /(pg·mL ⁻¹) | IFN- γ /(pg·mL ⁻¹) | IgA/(μ g·mL ⁻¹) | IgM/(μ g·mL ⁻¹) | IgG/(μ g·mL ⁻¹) |
|------|--------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 对照 | — | 2.946 \pm 1.395 | 8.514 \pm 3.847 | 0.042 \pm 0.032 | 131.823 \pm 59.915 | 17.120 \pm 6.378 | 284.883 \pm 59.276 |
| 模型 | — | 7.860 \pm 3.166 ^{###} | 31.982 \pm 11.964 ^{###} | 1.060 \pm 0.605 ^{##} | 233.380 \pm 89.442 [#] | 78.242 \pm 46.844 ^{###} | 295.727 \pm 70.617 |
| 头孢氨苄 | 0.175 | 7.547 \pm 3.153 | 17.902 \pm 7.073 [*] | 0.586 \pm 0.256 | 129.698 \pm 71.040 [*] | 32.234 \pm 16.247 [*] | 255.953 \pm 35.459 |
| 蒲地蓝 | 5.000 | 4.014 \pm 1.245 [*] | 18.933 \pm 11.125 [*] | 0.618 \pm 0.205 | 444.437 \pm 389.542 | 35.246 \pm 21.718 [*] | 267.936 \pm 55.024 |
| 疏风解毒 | 5.400 | 2.934 \pm 2.146 ^{**} | 8.795 \pm 8.826 ^{***} | 0.177 \pm 0.112 ^{**} | 223.118 \pm 180.222 | 35.040 \pm 14.296 [*] | 209.725 \pm 30.724 [*] |
| 胶囊 | 2.700 | 4.711 \pm 3.261 | 13.086 \pm 8.928 ^{**} | 0.281 \pm 0.163 ^{**} | 239.439 \pm 47.921 | 37.376 \pm 9.530 [*] | 273.103 \pm 43.143 |

与对照组比较:[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$;与模型组比较:^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

组大鼠感染肺炎链球菌后,在链球菌荚膜及溶血素刺激下,免疫系统应激,引起IgA及IgM增加,但是IgG未见显著变化。IgG是血清比例最大的一种抗体占60%~70%,IgA其次,占10%~20%,IgM比例最小。与模型组比较,头孢氨苄组大鼠外周血IgA、IgM水平显著降低($P < 0.05$),表明头孢氨苄能显著抑制肺炎链球菌,从而减轻免疫系统的应激反应。蒲地蓝组大鼠外周血IgM水平显著降低($P < 0.05$),表明蒲地蓝消炎口服液能显著抑制肺炎链球菌,从而减轻免疫系统的应激反应,减少抗体生成。疏风解毒胶囊组大鼠外周血IgM水平显著降低($P < 0.05$),表明疏风解毒胶囊能显著抑制肺炎链球菌,对肺炎链球菌致肺炎大鼠有显著的治疗作用。另外,疏风解毒胶囊高剂量能使IgG水平降低($P < 0.05$),可能疏风解毒胶囊激活了IgG的免疫应答活性,从而快速灭活肺炎链球菌。

3.5 对大鼠免疫器官、肺脏质量的影响

结果见表4,与对照组比较,模型组大鼠胸腺、脾脏、肺脏质量增加($P < 0.01, 0.001$)。与模型组比较,头孢氨苄组大鼠胸腺、脾脏及肺脏的质量均无明显变化,头孢氨苄抑制细菌,但是进入肺部的肺

炎链球菌的荚膜多糖及溶血素还是引起了免疫器官增生,淋巴细胞增殖,肺部炎症。与模型组比较,蒲地蓝组大鼠胸腺及肺脏的质量显著减轻($P < 0.05, 0.01$),说明蒲地蓝消炎口服液能显著减少胸腺增生,减少B细胞增殖,与淋巴细胞分类中结果中B淋巴细胞比例下降一致,减轻肺质量,减轻炎症。疏风解毒胶囊高剂量组大鼠胸腺、脾脏、肺脏质量显著减少($P < 0.05, 0.01$),疏风解毒胶囊低剂量组脾脏、肺脏质量显著减少($P < 0.05, 0.01$)。

4 讨论

4.1 淋巴细胞分类

淋巴细胞是构成免疫系统的主要细胞类别,根据表型及功能特征可分为T细胞、B细胞、NK细胞等,这些细胞在免疫应答过程中相互协作,维持机体内环境稳定。B淋巴细胞受抗原刺激后,会分化出大量浆细胞,合成和分泌抗体,发挥体液免疫的功能。根据成熟T细胞表面标记的不同可将T细胞分为CD4⁺、CD8⁺等亚群,CD4⁺表达在辅助性T细胞(Th)表面,可通过释放多种因子激活B细胞和效应T细胞来促进细胞及体液免疫、提高机体免疫功能;CD8⁺则主要表达在抑制性T细胞(Ts)和细胞毒

表4 疏风解毒胶囊对肺炎模型大鼠脏器质量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 4 Effect of SJC on organ weight of pneumonia rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | 胸腺质量/g | 脾脏质量/g | 肺脏质量/g |
|--------|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 对照 | — | 0.604 \pm 0.168 | 0.677 \pm 0.069 | 1.498 \pm 0.236 |
| 模型 | — | 1.064 \pm 1.230 ^{###} | 1.353 \pm 0.346 ^{###} | 2.621 \pm 0.752 ^{###} |
| 头孢氨苄 | 0.175 | 0.965 \pm 0.286 | 1.272 \pm 0.275 | 2.631 \pm 0.475 |
| 蒲地蓝 | 5.000 | 0.602 \pm 0.123 ^{**} | 1.481 \pm 0.371 | 1.772 \pm 0.320 [*] |
| 疏风解毒胶囊 | 5.400 | 0.707 \pm 0.152 [*] | 0.774 \pm 0.212 ^{**} | 1.580 \pm 0.296 ^{**} |
| | 2.700 | 0.795 \pm 0.147 | 0.760 \pm 0.131 ^{**} | 1.879 \pm 0.582 [*] |

与对照组比较:^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$;与模型组比较:^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

性T细胞(Tc)表面,具有抑制和细胞毒功能,表现为抑制机体各种免疫功能^[5]。NK细胞是机体重要的免疫细胞,与抗病毒和细菌感染、抗肿瘤、过敏反应有关,建立先天性免疫和获得性免疫间的联系,可通过分泌IFN- γ 调节细胞免疫功能,维持Th1/Th2平衡^[6]。

本实验结果显示,模型组大鼠外周血B淋巴细胞比例显著升高,NK细胞比例显著减少,疏风解毒胶囊高、低剂量组均能显著降低B淋巴细胞比例,升高NK细胞比例。表明疏风解毒胶囊能减少B淋巴细胞增殖,调节B淋巴细胞及NK细胞比例,调节紊乱的免疫系统。疏风解毒胶囊高剂量能显著降低CD8⁺比例,升高CD4⁺/CD8⁺值,减少CD8⁺细胞抑制Th细胞(目前已知类型有Th0、Th1、Th2、Th3、Th17)的作用,促进了Th细胞的抗原呈递效应,调节T淋巴细胞亚群,维持免疫系统内环境的稳定,具体作用机制需深入研究。

4.2 细胞因子

IL-1主要由单核细胞巨噬细胞产生,包括IL-1 α 和IL-1 β 两种。IL-1有免疫调节的作用,可使CD4⁺T细胞活化,IL-2受体表达,促进B细胞生长和分化,促进抗体形成,IL-1与TNF协同可对中性粒细胞产生趋化作用,引起炎症介质释放。肺炎链球菌感染肺部后,TNF- α 和IL-1激活气道上皮核转录因子- κ B(NF- κ B)通路的表达从而介导炎症反应的发生^[7]。

IL-2又称为T细胞生长因子,是T细胞增殖和分化的关键性因子,此外还参与B淋巴细胞和淋巴因子激活的杀伤(LAK)细胞的激活、增殖和分化,诱导干扰素、肿瘤坏死因子等细胞因子的产生。IL-2参与炎症及自身免疫反应,具有双向免疫调节作用^[8]。

IL-10是由T细胞、B细胞和巨噬细胞产生的一种内源性抑炎因子,对免疫应答主要起抑制作用,可以下调多种促炎因子如IFN- γ 、TNF、IL-2的分泌,并促进抗炎因子的分泌,同时还对主要组织相容性复合体(MHC)II类抗体的表达有抑制作用,能够介导Th1和Th2之间的相互调节^[9]。

TNF- α 主要由单核巨噬细胞产生,其生物学活性与IL-1相似,两者之间有显著的协同作用,共同促进细胞和体液免疫应答,介导炎症反应发生。此外,TNF- α 可促进MHC分子的表达,是更强的T细胞协同刺激因子^[10]。

IFN可分为2型,IFN- α 属于I型干扰素,主要由

浆细胞样树突状细胞、淋巴细胞和单核/巨噬细胞产生,可抑制病毒复制、抑制多种细胞增殖、参与免疫调节及抗肿瘤。IFN- γ 属于II型干扰素,主要由活化的T细胞和NK细胞产生,可抑制病毒复制、激活巨噬细胞、诱导MHC分子表达、抑制细胞增殖、促进Th1细胞分化等。IFN- γ 还可介导许多与肺脏生理有关的前炎症反应,诱导巨噬细胞产生IL-1、TNF- α 等炎症介质,具有促炎和促纤维化的作用,其分泌与IL-2数量有关^[5]。

本实验结果显示,模型组大鼠血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-10、TNF- α 、IFN- α 和IFN- γ 水平显著升高,疏风解毒胶囊高、低剂量能显著降低血清IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-10、IFN- α 和IFN- γ 水平,高剂量显著降低血清TNF- α 水平。表明疏风解毒胶囊对肺炎链球菌引起的免疫系统紊乱有显著的调节作用,并通过调节细胞因子的分泌发挥其抗炎功能。

4.3 免疫球蛋白

IgA分为血清型(IgA)和分泌型(sIgA)2型,血清型IgA主要存在于血清中,sIgA主要存在于乳汁、唾液、泪液和呼吸道、消化道、生殖道黏膜表面,参与局部黏膜免疫。IgG是血清和细胞外液中主要的抗体成分,在结合补体、增强免疫细胞吞噬病原微生物和中和细菌毒素的能力方面,具有重要作用,是再次体液免疫应答产生的主要抗体。IgM主要存在于血清中,是机体受抗原刺激后最先产生的抗体,在激活补体、调理作用、中和病毒和凝集作用等方面具有重要作用。

本实验结果显示,模型组大鼠血清IgA、IgM显著升高,疏风解毒高剂量组IgG、IgM显著降低,低剂量组IgM显著降低。表明疏风解毒胶囊能显著抑制肺炎链球菌,抑制其引起的免疫应答。

4.4 免疫器官及肺脏质量

胸腺和脾分别属于中枢和外周免疫器官。胸腺是T细胞分化和成熟的主要场所,具有免疫调节功能及屏障作用;脾是重要的外周免疫器官,成熟的淋巴细胞定居于此,脾也是淋巴细胞接受抗原刺激并发生免疫应答的重要部位,可合成并分泌补体、干扰素等生物活性物质^[11]。

本实验结果显示,模型组大鼠胸腺、脾脏、肺脏质量增加,表明模型组大鼠感染肺炎链球菌后,免疫系统应激,胸腺、脾脏细胞增殖,肺部发生炎症,出现组织液渗出,肺质量增加。疏风解毒胶囊高剂量能显著减少胸腺、脾脏、肺脏质量,低剂量能显著减少脾脏、肺脏质量。疏风解毒胶囊能显著减少胸

腺、脾脏增生,减少B细胞增殖,与淋巴细胞分类中结果中B淋巴细胞比例下降一致,显著减轻肺脏质量,减轻炎症,表明疏风解毒胶囊能显著调节免疫系统紊乱,减轻炎症反应,有显著的抗炎作用,对肺炎链球菌致肺炎大鼠有显著的治疗作用。

参考文献

- [1] 张铁军,朱月信,刘素香,等.疏风解毒胶囊的系统质量标准提升研究[J].中草药,2016,47(9):2027-2033.
- [2] 马莉,黄妍,侯衍豹,等.疏风解毒胶囊对大鼠肺炎模型的抗炎机制研究[J].中草药,2018,49(19):4591-4595.
- [3] 孙文思,张春菊,刘文东.疏风解毒胶囊联合炎琥宁注射液治疗小儿上呼吸道感染的临床研究[J].现代药物与临床,2018,33(9):2298-2302.
- [4] 王长海,王明银.评价疏风解毒胶囊联合西医治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者肺功能的影响[J].药物评价研究,2018,41(10):1867-1870.
- [5] 卢继芳,刘振玲.小儿支气管肺炎免疫功能变化的研究[J].广西医学,2014,36(2):216-218.
- [6] 朱晓华,陈强,柯江维,等.支气管肺炎患儿免疫功能变化的临床分析[J].中国当代儿科杂志,2013,15(3):175-178.
- [7] 储鑫.NF- κ B、TNF- α 、IL-8及细胞免疫在儿童社区获得性肺炎的表达[D].苏州:苏州大学,2011.
- [8] 张丽娜,丛培玮,李乡南,等.复方中药对链球菌性肺炎小鼠肺组织炎性细胞因子的影响研究[J].中国全科医学,2016,19(12):1467-1471.
- [9] 梁坤.儿童支原体肺炎血及肺泡灌洗液中炎性指标水平及意义[D].唐山:河北联合大学,2014.
- [10] 王锁英.炎症细胞因子与肺炎[J].国外医学妇幼保健分册,1998,9(4):169-172.
- [11] 沈关心.微生物学与免疫学[M].第7版.北京:人民卫生出版社,2013.