

• 基础实验研究论著 •

黄芪、赤芍及黄芪赤芍合剂对免疫性肝损伤模型小鼠血清 IL-6、IL-8 水平的影响

张 霞¹, 邢 杰^{2△}, 吕跃山¹, 陈英利¹, 王立秋³

(1. 哈尔滨医科大学大庆校区检验系, 黑龙江大庆 163319; 2. 山东万杰医学院基础部, 山东淄博 255213; 3. 哈尔滨医科大学附属第五医院检验科, 黑龙江大庆 163316)

摘 要:目的 观察黄芪赤芍合剂对免疫性肝损伤模型小鼠血清白细胞介素(IL)-6、IL-8 水平的影响。方法 以卡介苗(BCG)和脂多糖(LPS)构建免疫性肝损伤小鼠模型。将小鼠随机分为正常组、模型组、黄芪组、赤芍组、黄芪赤芍合剂组, 正常组未接受任何处理, 其余各组分别经生理盐水、黄芪提取物、赤芍提取物和黄芪赤芍合剂处理后测定血清 IL-6、IL-8 含量。结果 模型组小鼠血清 IL-6、IL-8 含量高于正常组($P<0.05$), 黄芪组、赤芍组及黄芪赤芍合剂组小鼠血清中 IL-6、IL-8 含量顺次降低($P<0.05$)。结论 黄芪赤芍合剂比黄芪或赤芍单独用药能更明显地降低免疫性肝损伤小鼠模型血清 IL-6、IL-8 含量; 监测接受黄芪或赤芍治疗的肝脏疾病患者血清 IL-6、IL-8 水平有助于合理用药、疗效观察及预后判断。

关键词: 黄芪赤芍合剂; 免疫性肝损伤; 白细胞介素 6; 白细胞介素 8

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0515-02

Influence of Astragalus, Red Peony Root and their mixture on IL-6 and IL-8 levels in models mice with immunological liver injury

Zhang Xia¹, Xing Jie^{2△}, Lv Yueshan¹, Chen Yingli¹, Wang Liqiu³

(1. Laboratory Department, Daqing Campus, Harbin Medical University, Daqing Heilongjiang 163319, China;

2. Department of Basic Medicine, Wanjie Medical University, Zibo Shandong, 255213, China;

3. Clinical Laboratory, Fifth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Daqing Heilongjiang, 163316, China)

Abstract: **Objective** To explore the influence of Astragalus, Red Peony Root and their mixture on IL-6 and IL-8 levels in models mice with immunological liver injury. **Methods** Bacillus Calmette-Guerin(BCG) and lipopolysaccharide(LPS) was used to construct model mice with immunological liver injury. Mice were randomly divided into normal group, model group, Astragalus group, Red Peony Root group, mixture group. No treatment was performed in normal group, and the other four groups were treated with normal saline, Astragalus extract, Red Peony Root extract and mixture, respectively. Serum IL-6 and IL-8 levels of all groups were detected. **Results** Serum levels of IL-6 and IL-8 were higher than those in normal group($P<0.05$), and orderly decreased in Astragalus group, Red Peony Root group and mixture group($P<0.05$). **Conclusion** Astragalus and Red Peony Root mixture could more significantly induce the decrease the serum levels of IL-6 and IL-8 in model mice with immunological liver injury than the two materials, when being used alone. To monitor the serum levels of IL-6 and IL-8 in patients, treated with Astragalus or Red Peony Root, could be helpful for rational use of drug, observation of curative effect and judgment of prognosis.

Key words: astragalus root mixture; immunological liver injury; interleukin-6; interleukin-8

白细胞介素(IL)-6 既是免疫调节因子又是炎症介质, 当 IL-6 升高时, 将造成组织损害^[1]。在 CCl₄ 和缺血再灌注等动物模型中发现, 肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-1、IL-6 等细胞因子参与了肝细胞损伤^[2]。IL-8 既是趋化因子又是正性致炎因子, 其水平升高与肝脏炎性损害密切相关, 在一定程度上反映了肝损伤程度^[1]。黄芪和赤芍具有益气补虚、养血柔肝、活血化瘀等功效, 是中医临床治疗肝病的常用药物^[3-4]。本试验采用黄芪、赤芍、黄芪赤芍合剂分别处理免疫性肝损伤模型小鼠, 观察其对 IL-6、IL-8 水平的影响。

1 材料与方法

1.1 试验动物 选取昆明系雄性小鼠 125 只, 5~8 周龄, 体重(20 $\pm$ 2) g, 由哈尔滨医科大学实验动物中心提供。

1.2 仪器与试剂 日立 7600-020 全自动生化分析仪, 芬兰雷勃 W-4 酶联仪; 上海西域公司 AST 及 ALT 试剂盒; 小鼠 IL-6 和 IL-8 ELISA 检测试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司。

1.3 方法 将小鼠随机分为 5 组: 正常组、模型组、黄芪组、赤芍组和黄芪赤芍合剂组, 每组 25 只。除正常组外, 对其余各组小鼠进行免疫性肝损伤造模。造模方法: 尾静脉注射 0.2 mL 含卡介苗(BCG)2 mg(约含 5.0×10^7 个活菌)的生理盐水悬

液。造模开始 3 h 后给药, 正常组每只小鼠静脉注射生理盐水 0.2 mL, 其余各给药组及模型组每只小鼠在给药前均尾静脉注射 0.2 mL 含 BCG 2 mg 的生理盐水悬液, 3 h 后, 给药组的每只小鼠分别给予相应药物, 连续 10 d。末次给药 3 h 后, 模型组、各给药组小鼠均尾静脉注射含脂多糖(LPS)10 μ g 的生理盐水 0.2 mL, 禁食不禁水, 4~5 h 后, 摘眼球取血, 分离血清, 测定丙氨酸氨基酸转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、IL-6 及 IL-8 含量。

1.4 统计学处理 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用 SPSS13.0 统计软件进行方差分析, 检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

模型组与正常组血清 ALT、AST 检测结果见表 1。各组小鼠血清 IL-6、IL-8 检测结果见表 2。

表 1 模型组与正常组小鼠血清 ALT、AST 检测结果($\bar{x}\pm s$)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)
正常组	50.28 $\pm$ 6.8	60.66 $\pm$ 9.63
模型组	136.51 $\pm$ 7.38 Δ	109.24 $\pm$ 12.48 Δ

Δ : 与正常组比较, $P<0.05$ 。

表 2 各组小鼠血清 IL-6、IL-8 检测结果(±s)		
组别	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)
对照组	37.50±3.50	62.50±5.43
模型组	108.75±6.35 [△]	250.00±6.78 [△]
黄芪组	67.56±7.80 [#]	85.00±7.86 [#]
赤芍组	71.25±5.63 ^{#*}	86.00±9.65 ^{#*}
合剂组	56.25±8.13 ^{#*▽}	68.00±1.23 ^{#*▽}

△:与对照组比较, $P<0.05$;#:与模型组比较, $P<0.05$;*:与黄芪组比较, $P<0.05$;▽:与赤芍组比较, $P<0.05$ 。

3 讨 论

IL-8 水平升高与肝脏炎性损害密切相关,在一定程度上反映了肝损伤程度^[5]。BCG 联合 LPS 诱导的小鼠免疫性肝损伤模型类似于人病毒性肝炎的急性或亚急性损伤过程,是研究病毒性肝炎的理想模型^[6]。本研究结果显示,与正常组比较,模型组血清 ALT、AST 水平升高($P<0.05$),表明造模成功。黄芪中的黄芪多糖是黄芪主要有效成分,对细胞、体液及非特异性免疫和细胞因子活性均有调节作用^[7]。有研究显示,赤芍可抑制抑制性 T 细胞的功能,对体液和细胞免疫有较强抑制作用,可作为免疫抑制剂用于肝脏移植术或治疗自身免疫性肝病等^[8-12]。3 个给药组小鼠血清 IL-6、IL-8 水平低于模型组($P<0.05$),说明黄芪、赤芍及黄芪赤芍合剂均能有效降低免疫性肝损伤模型小鼠血清 IL-6、IL-8 水平。与黄芪、赤芍组比较,黄芪赤芍合剂组血清 IL-6、IL-8 水平更低($P<0.05$),说明黄芪赤芍合剂比黄芪或赤芍单一用药更能显著降低模型小鼠血清 IL-6、IL-8 水平。

综上所述,黄芪、赤芍、黄芪赤芍合剂均能降低免疫性肝损伤模型小鼠血清 IL-6 和 IL-8 水平,黄芪赤芍合剂优于黄芪、赤芍单独用药;监测接受黄芪或赤芍治疗的肝脏疾病患者血清 IL-6、IL-8 水平有助于合理用药、疗效观察及预后判断。

(上接第 514 页)

低、蛋白表达量高、容易纯化^[13]。本试验以酵母双杂交筛选获得的包含 MT-2A 序列的 AD 质粒为模板,成功扩增 MT-2A 的 DNA 片段,并构建重组表达质粒 MT2A-pET32a。在诱导表达中,最主要的是诱导剂 IPTG 的浓度和菌液的细菌浓度。当大肠埃希菌 BL21(DE3)菌液 A₅₉₅=0.5 时,加 IPTG 至终浓度为 1 mmol/L,诱导 4 h,可获得高表达量的重组蛋白。细菌裂解后分别取其上清液和沉淀物进行 SDS-PAGE 电泳,发现重组蛋白以可溶形式存在,这在很大程度上提高了下一步蛋白纯化的效率。His-bind 树脂亲和层析柱纯化步骤简单快捷,回收率高,特异性较高,通过纯化后获得纯度很高的重组蛋白(见图 3),为进一步研究其在细胞衰老发生中的作用奠定了基础。

参考文献

[1] Margoshes M,Vallee BL. A Cd protein from equine kidney cortex [J]. J Am Chem Soc,1957,79(23):4813-4814.
[2] Guo X,Chan HM,Guevremont R,et al. Analysis of metallothioneins by means of capillary electrophoresis coupled to electrospray mass spectrometry with sheathless interfacing[J]. Rapid Commun Mass Spectrom,1999,13(6):500-507.
[3] Coyle P,Philcox JC,Carey LC,et al. Metallothionein: the multipurpose protein[J]. Cell Mol Life Sci,2002,59(4):627-647.
[4] William RS. Metallothionein and the biology of aging[J]. Ageing Res Rev,2011,10(1):132-145.
[5] 姚朝阳,朱文文,牛敬媛,等. 金属硫蛋白医学研究进展[J]. 微量元素与健康研究,2007,24(3):53-55.

参考文献

[1] 邢杰,陈英利,陶淑华,等. 免疫性肝损伤相关细胞因子研究进展[J]. 中国病原生物学杂志,2009,4(1):71-72.
[2] Kanzler S,Galle PR. Apoptosis and the liver[J]. Semin Cancer Biol,2000,10(1):173-184.
[3] 吕跃山,邢杰,陈英利,等. 黄芪赤芍对小鼠免疫性肝损伤抗氧化作用的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2008,26(2):302-303.
[4] 陈英利,邢杰,吕跃山,等. 黄芪、赤芍对小鼠免疫性肝损伤的保护作用[J]. 贵阳医学院学报,2008,33(4):357-359.
[5] 吴戊年. 慢性乙型肝炎患者血清 HBV DNA 含量与 IL-8、IL-10 水平检测及临床意义[J]. 兰州大学学报:医学版,2005,31(1):30-32.
[6] 赵骥,郑敏,鲍翠玉,等. 大蒜多糖 C 对免疫性肝损伤小鼠血清及肝组织 ALT、AST 的影响[J]. 咸宁学院学报:医学版,2005,19(1):24.
[7] 陈蔚,李益明,俞茂华,等. 黄芪多糖对糖尿病鼠 T 细胞亚群的免疫调节作用[J]. 中国现代医学杂志,2007,17(1):28-31.
[8] 张永艳,赵文霞. 赤芍防治肝病的作用及机理研究[J]. 陕西中医,2003,24(7):655-656.
[9] 许惠玉,华东,于晓红,等. 赤芍总苷对荷瘤鼠体内 IL-10、IL-12、TGF-β1 分泌及细胞免疫功能的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2009,30(22):2737-2739.
[10] 张瑞宣. 加味黄芪赤芍饮对 RRI 的远期免疫作用研究[J]. 实用中西医结合杂志,1998,11(1):53.
[11] 许惠玉,官杰,吴艳敏,等. 赤芍总苷对环磷酰胺免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2010,31(20):3193-3195.
[12] 华东,吴明媛,于晓红,等. 赤芍总苷对荷瘤鼠细胞免疫功能的影响[J]. 中医药学报,2004,32(1):47-48.

(收稿日期:2011-11-09)

[6] Reinecke F,Levanets O,Olivier Y,et al. Metallothionein isoform 2A expression is inducible and protects against ROS-mediated cell death in rotenone-treated HeLa cells[J]. Biochem J,2006,395(2):405-415.
[7] Talbourdet S,Sadick NS,Lazou K,et al. Modulation of gene expression as a new skin anti-ageing strategy[J]. J Drugs Dermatol,2007,6(Suppl):25-33.
[8] 陈维春,宋杰,刘振杰,等. 环指蛋白 RING1 与 A 型核纤层蛋白的细胞内相互作用[J]. 生物化学与生物物理进展,2011,38(1):55-59.
[9] 童坦君,张宗玉. 衰老机制及其学说生理科学进展[J]. 生理科学进展,2007,38(1):14-18.
[10] Woo ES,Dellapiazza D,Wang AS,et al. Energy-dependent nuclear binding dictates metallothionein localization[J]. J Cell Physiol,2000,182(1):69-76.
[11] Cherian MG,Apostolova MD. Nuclear localization of metallothionein during cell proliferation and differentiation[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand),2000,46(2):347-356.
[12] Kayaalti Z,Sahiner L,Durakolugil ME,et al. Distributions of interleukin-6 (IL-6) promoter and metallothionein 2A (MT2A) core promoter region gene polymorphisms and their associations with aging in Turkish population[J]. Arch Gerontol Geriatr,2011,53(3):354-358.
[13] 徐宁,张战锋,黄宪章,等. PET32a-IL-1RI 重组质粒的构建及表达[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(9):964-966.

(收稿日期:2011-11-20)