

# 银莱汤对食积复合 FM1 流感病毒感染小鼠血清免疫球蛋白及细胞因子含量的影响

王云辉 李晓菲 甄建华 于河 刘铁钢 谷晓红

**【摘要】 目的** 探讨银莱汤对食积复合流感病毒感染小鼠免疫功能的影响,为银莱汤药效机理的研究提供实验依据。**方法** 雄性昆明小鼠 90 只,随机分为正常对照组、感染模型组、食积感染模型组、银莱汤高中低剂量组、双黄连组、小儿化食丸组、利巴韦林组共九组,每组 10 只。食积感染模型组及各治疗组均采用高蛋白、高热量饲料结合 52% 牛奶溶液灌胃的方法制作食积动物模型,感染组小鼠则采用流感病毒亚甲型鼠肺适应株流感病毒滴鼻处理,并予相应的治疗药物或生理盐水灌胃。实验结束后,取眼球血,采用 ELISA 法检测血清中免疫球蛋白及细胞因子的含量。**结果** 与正常组比较,感染组、食积感染组各免疫球蛋白 A、G、M 及白细胞介素(interleukin, IL)-2、IL-10、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )及干扰素- $\gamma$ (interferon-gamma, IFN- $\gamma$ )水平显著增高( $P < 0.05$ );而食积感染组的 IL-4 降低。与食积感染组比较,各治疗组免疫球蛋白 A、G、M 的水平降低,其中银莱汤低剂量组和利巴韦林组明显降低( $P < 0.05$ );银莱汤各治疗组细胞因子 IFN- $\gamma$  升高( $P < 0.05$ )。与正常组相比,银莱汤各治疗组免疫球蛋白 A、G、M 升高,但无统计学差异,而细胞因子 IL-2、IL-10、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  水平显著升高( $P < 0.05$ )。银莱汤各剂量组与小儿化食丸组、双黄连组相比,免疫球蛋白 A、G、M 无统计学差异,银莱汤各剂量组与小儿化食丸组、双黄连组、利巴韦林组的细胞因子 IL-4、IL-10、TNF- $\alpha$  相比无统计学差异。**结论** 银莱汤可通过调节免疫球蛋白及细胞因子的分泌,有效调节小鼠免疫功能,进而发挥其抗病毒疗效。

**【关键词】** 银莱汤; 食积; FM1 流感病毒; 免疫球蛋白; 细胞因子

**【中图分类号】** R254.23 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.10.005

**Influences of Yinlai decoction on serum immunoglobulin and cytokines of mice with dyspepsia combined with FM1 influenza virus infection** WANG Yun-hui, LI Xiao-fei, ZHEN Jian-hua, et al. School of Basic Medical Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China  
Corresponding author: YU He, E-mail: yuhe221@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the influences of Yinlai decoction on immune function in mice with dyspepsia combined with FM1 influenza virus infection, and to compare the efficacy of Yinlai decoction with anti-viral Western medicine, and identify the efficacy of Yinlai decoction and its potential mechanism.  
**Methods** 90 male mice were randomly divided into normal group, infection group, infection and dyspepsia group, high, middle and low dose Yinlai decoction groups, Shuanghuanglian group, Xiaoerhuashiwang group, ribavirin group. A diet-induced mice model with high fat and high protein diet were built in infection and dyspepsia group and all the treating groups to build models of dyspepsia, and the

基金项目:国家自然科学基金(81373769);高等学校博士学科点专项科研基金(20120013120006);北京中医药大学师承博士后项目(1000062620141)

作者单位:100029 北京中医药大学基础医学院[王云辉(硕士研究生)、甄建华、于河、刘铁钢、谷晓红];平原县第一人民医院儿科(李晓菲)

作者简介:王云辉(1990-),女,2014 级在读硕士研究生。研究方向:运用温病学辨治思路指导临床相关热证的研究。E-mail:wangyunhui152@163.com

通讯作者:于河(1979-),女,博士,副教授,硕士生导师。研究方向:运用温病学辨治思路指导临床相关热证的研究。E-mail:yuhe221@126.com

mice were then infected FM1 influenza virus by nasal inhalation in those groups. The blood was taken by removing eyeball, to detect the level of Immunoglobulin and Cytokines by ELISA. **Results** Compared with the normal group, the levels of IgA, IgG, IgM and IL-2, IL-10, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  were increased significantly in infection group as well as infection and dyspepsia compound group ( $P < 0.05$ ), but the level of IL-4 were decreased in infection and dyspepsia compound group. Compared with infection and dyspepsia compound group, the levels of IgA, IgG, IgM were decreased in all treating groups, and the low-dose of *Yinlai* decoction group and ribavirin group were decreased significantly ( $P < 0.05$ ), the level of INF-r was increased in each dose of *Yinlai* decoction group. Compared with the normal group, the levels of IgA, IgG, IgM were increased and the levels of IL-2, IL-10, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  were increased significantly ( $P < 0.05$ ) in each dose of *Yinlai* decoction group. Comparing with *Yinlai* decoction group, the levels of IgA, IgG, IgM between *Shuanghuanglian* group and *XiaoerhuashiWan* group had no significant difference. And the level of IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  of treating groups had no significant difference. **Conclusion** *Yinlai* decoction can adjust immune functions in mice by balancing the secretion of immunoglobulins and cytokines, and then achieve antiviral efficacy.

**[Key words]** *Yinlai* Decoction; Dyspepsia; FM1 influenza virus; Immunoglobulin; Cytokines

团队多年临床研究发现:小儿反复呼吸道感染患者常伴有消化道症状,如口臭、消谷善积、便干不畅、舌红、苔黄厚、脉滑数等,采用银莱汤肺胃同治法,往往能立杆见效。究其病因,可归结为两方面:一为小儿无自控能力,加之家长溺爱,饮食不知节制;二为现代饮食结构的改变,速食、膨化产品的增加,往往导致内有宿食积于胃肠,日久化热,内外相招,易致外感,形成肺胃积热证。此时肺与胃肠相互影响,导致病情缠绵,不易向愈或愈后易复感,故治疗时应肺胃同治。本研究以食积复合 FM1 流感病毒感染复制肺胃积热证模型,通过观察血清中免疫球蛋白及细胞因子的含量,探讨肺胃同治之银莱汤对动物模型的保护作用,并探索其药效机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级昆明小鼠 90 只,雄性,3 周龄,体质量 10 ~ 11 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,饲养于北京中医药大学基础医学院医学病原学系动物房实验动物洁净柜,饲养温度 20 ~ 24℃,湿度 50% ~ 60%,自然光照,通风良好。

### 1.2 药物制备

银莱汤的基本处方为:金银花 30 g、莱菔子 10 g、连翘 15 g、黄芩 10 g、前胡 10 g、鱼腥草 20 g、瓜蒌 15 g。饮片购自于北京中医药大学国医堂。制备过程:(1)蒸馏提取金银花、鱼腥草、连翘三味药的挥发油,封口膜封好,4℃ 保存备用;(2)其他药物煎煮药液,减压浓缩药液成膏状,再加热使药液水分蒸发后干燥至固体,最后粉碎制成粉剂保存,使用

时按比例滴加挥发油。

阳性对照药:利巴韦林由四川百利药业有限责任公司生产;双黄连口服液由哈药集团三精制药有限公司生产;小儿化食丸由北京同仁堂生产。

### 1.3 主要试剂

流感病毒亚甲型鼠肺适应株(FM1),由北京中医药大学基础医学院病原免疫实验室提供。经统计得出 LD50 浓度为  $10^{-5.375}$ 。小鼠免疫球蛋白 A (immunoglobulins A, IgA) 酶联免疫试剂盒(CSB-E07986m,规格:96 T);小鼠免疫球蛋白 G (IgG) 酶联免疫试剂盒(CSB-E07980m,规格:96 T);小鼠免疫球蛋白 M (IgM) 酶联免疫试剂盒(CSB-E07977m,规格:96T);小鼠白介素-2 (interleukin-2, IL-2) 酶联免疫试剂盒(CSB-04627m,规格:96 T);小鼠 IL-4 酶联免疫试剂盒(CSB-E04634m,规格:96 T);小鼠 IL-10 酶联免疫试剂盒(CSB-E04594m,规格:96 T);小鼠肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 酶联免疫试剂盒(CSB-E04741m,规格:96 T);小鼠  $\gamma$  干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 酶联免疫试剂盒(CSB-E04578m,规格:96 T),以上试剂盒均购自武汉华美生物工程有限公司。

### 1.4 动物饲料

普通饲料为小鼠全价颗粒饲料。自制高热量高蛋白饲料,制作方法:奶粉、豆粉、鱼松、面粉配合比例为 1 : 2 : 1 : 1,混合后搅拌均匀,加适量水做成条索状,状如普通小鼠饲料,烘干备用。

### 1.5 造模及分组给药

小鼠随机分为正常组、感染组、食积感染组、银莱汤治疗组(分为高、中、低剂量组)、双黄连组、小

儿化食丸组、利巴韦林组九组,每组 10 只。正常组、感染组喂饲普通小鼠饲料,实验第二日用生理盐水按 0.2 mL/10 g 灌胃,每天 2 次。其余各组喂饲自制高蛋白、高热量饲料,实验第 2 天,用 52 % 牛奶溶液按 0.2 mL/10 g 灌胃,每天 2 次。实验第 5 天,正常组给予 50  $\mu$ L 生理盐水滴鼻,其余各组均给予 50  $\mu$ L FM1 流感病毒液滴鼻,病毒按 1 : 50000 稀释。实验第 5 至第 11 天各组小鼠改喂普通小鼠饲料,正常组、感染组、食积感染组以生理盐水按 0.2 mL/10 g 灌胃,各治疗组分别给予相应药物 0.2 mL/10 g 灌胃,每天 2 次。第 12 天取材。银莱汤高、中、低剂量组分别予银莱汤粉剂溶于无菌生理盐水,按成人临床用量的 2.5 倍、5 倍、10 倍量折算,折算后其生药量浓度分别为 114.6 mg/mL、229.2 mg/mL、458.3 mg/mL,并按比例于临用前滴加挥发油。双黄连组、小儿化食丸组、利巴韦林组分别予相应的药物溶解于无菌生理盐水,均按成人临床用量的 5 倍折算,经折算后其剂量浓度分别为 125  $\mu$ L/mL、12.5 mg/mL、0.9375 mg/mL。实验过程中,因脱落最终分组为正常组 8 只,食积感染组 8 只,银莱汤粉剂量组 9 只,银莱汤中剂量组 8 只,利巴韦林组 8 只,余组 10 只。

## 1.6 观测指标

实验结束后,摘眼球取血,4℃ 过夜,第 2 天于 4℃、3000 rpm 离心 15 分钟,取上清液待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测各指标,依照说明书进行操作。

## 1.7 统计学处理

数据采用 SAS 9.3 软件进行分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。原始数据满足正态分布及方差齐性,则采用单因素方差分析,满足正态分布且方差不齐,采用 Welch 检验,而组间两两比较则

采用最小显著差异  $t$  检验(LSD- $t$  检验);其中 IgG、IgM、IL-2 及 IFN- $\gamma$  指标中有数据不满足正态分布,故采用非参数检验,取双侧检验的  $P$  值。以  $P<0.05$  为具有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 小鼠血清中 IgA、IgG 及 IgM 表达水平的比较

与正常组相比,感染组和食积感染组小鼠血清中 IgA、IgG、IgM 水平明显升高( $P<0.05$ );与食积感染组比较,银莱汤高中低治疗组及小儿化食丸组、双黄连组、利巴韦林组的 IgA、IgG、IgM 水平降低,其中 IgG 的水平明显降低( $P<0.05$ );与正常组相比,银莱汤高中低治疗组的 IgA、IgG 升高,其中银莱汤高剂量组升高显著( $P<0.05$ ),银莱汤低剂量组 IgM 水平较正常组降低,银莱汤高中剂量组 IgM 水平较正常组升高,但均无统计学差异;小儿化食丸组和双黄连组较正常组 IgA、IgG 水平升高,而 IgM 水平降低,而利巴韦林组则较正常组 IgA、IgG、IgM 水平明显降低( $P<0.05$ );银莱汤各治疗组与利巴韦林组相比 IgA、IgG、IgM 水平明显升高( $P<0.05$ ),与小儿化食丸和双黄连组相比,银莱汤中低剂量组无统计学差异。见表 1。

### 2.2 小鼠血清中 IL-2、IL-4 及 IL-10 表达水平的比较

与正常组比较,感染组和食积感染组小鼠血清中 IL-2、IL-10 水平明显升高( $P<0.05$ ),而感染组 IL-4 水平升高,食积感染组 IL-4 水平降低,但无统计学差异;与食积感染组比较,银莱汤低剂量组 IL-2 明显降低( $P<0.05$ ),银莱汤高、中剂量组 IL-2 升高,但无统计学差异,而银莱汤高剂量组 IL-4 明显升高( $P<0.05$ ),银莱汤中、低剂量组 IL-4 无统计学差异;银莱汤各治疗组的 IL-10 水平较食积感染组

表 1 各组小鼠血清中 IgA、IgG 及 IgM 水平(mg/mL,  $\bar{x}\pm s$ )

| 组别      | $n$ | IgA                                     | IgG                                    | IgM                                    |
|---------|-----|---|--|--|
| 正常组     | 8   | 0.3280 $\pm$ 0.0535                     | 2.6077 $\pm$ 0.6937                    | 0.8697 $\pm$ 0.2600                    |
| 感染组     | 10  | 0.5611 $\pm$ 0.1097 <sup>a</sup>        | 5.8278 $\pm$ 2.1208 <sup>a</sup>       | 1.1897 $\pm$ 0.3063 <sup>a</sup>       |
| 食积感染组   | 8   | 0.5055 $\pm$ 0.0430 <sup>a</sup>        | 5.9362 $\pm$ 1.6414 <sup>a</sup>       | 1.1724 $\pm$ 0.3116 <sup>a</sup>       |
| 银莱汤低剂量组 | 9   | 0.3858 $\pm$ 0.0466 <sup>bc</sup>       | 3.0991 $\pm$ 0.9639 <sup>bc</sup>      | 0.8408 $\pm$ 0.2416 <sup>bc</sup>      |
| 银莱汤中剂量组 | 8   | 0.4104 $\pm$ 0.0416 <sup>abc</sup>      | 3.5045 $\pm$ 0.9622 <sup>bc</sup>      | 0.9432 $\pm$ 0.2083                    |
| 银莱汤高剂量组 | 10  | 0.4469 $\pm$ 0.0624 <sup>ab</sup>       | 3.9035 $\pm$ 0.8780 <sup>abc</sup>     | 1.1270 $\pm$ 0.4082 <sup>d</sup>       |
| 小儿化食丸组  | 10  | 0.4056 $\pm$ 0.1185 <sup>abc</sup>      | 2.9762 $\pm$ 1.0899 <sup>bef</sup>     | 0.7314 $\pm$ 0.2705 <sup>bcef</sup>    |
| 双黄连组    | 10  | 0.4440 $\pm$ 0.1259 <sup>ab</sup>       | 3.1592 $\pm$ 1.2245 <sup>bc</sup>      | 0.6814 $\pm$ 0.2419 <sup>bef</sup>     |
| 利巴韦林组   | 8   | 0.2889 $\pm$ 0.0617 <sup>bcddefgh</sup> | 2.0317 $\pm$ 0.6850 <sup>bcddefh</sup> | 0.4616 $\pm$ 0.0646 <sup>abcdefg</sup> |

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与感染组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与食积感染组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤低剂量组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤中剂量组比较,<sup>e</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤高剂量组比较,<sup>f</sup> $P<0.05$ ;与小儿化食丸组比较,<sup>g</sup> $P<0.05$ ;与双黄连组比较,<sup>h</sup> $P<0.05$ 。

表 2 各组小鼠血清中 IL-2、IL-4 及 IL-10 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | n  | IL-2 (ng/mL)                    | IL-4 (pg/mL)                  | IL-10 (ng/mL)                |
|---------|----|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 正常组     | 8  | 0.0619±0.0138                   | 3.4764±1.3460                 | 0.0211±0.0097                |
| 感染组     | 10 | 0.2257±0.1047 <sup>a</sup>      | 4.6195±1.5861                 | 0.0724±0.0261 <sup>a</sup>   |
| 食积感染组   | 8  | 0.2254±0.0585 <sup>a</sup>      | 2.2956±1.5581 <sup>b</sup>    | 0.0730±0.0103 <sup>a</sup>   |
| 银莱汤低剂量组 | 9  | 0.1393±0.0758 <sup>ac</sup>     | 2.3910±0.8007 <sup>b</sup>    | 0.0863±0.0200 <sup>a</sup>   |
| 银莱汤中剂量组 | 8  | 0.2689±0.1071 <sup>ad</sup>     | 2.2393±0.4431 <sup>ab</sup>   | 0.0873±0.0283 <sup>a</sup>   |
| 银莱汤高剂量组 | 10 | 0.2412±0.0961 <sup>a</sup>      | 4.9892±1.5525 <sup>acde</sup> | 0.0565±0.0191 <sup>ade</sup> |
| 小儿化食丸组  | 10 | 0.1739±0.0720 <sup>ae</sup>     | 2.6015±1.1035 <sup>bf</sup>   | 0.0683±0.0140 <sup>a</sup>   |
| 双黄连组    | 10 | 0.1886±0.0437 <sup>ade</sup>    | 2.3962±0.6460 <sup>bf</sup>   | 0.0726±0.0254 <sup>a</sup>   |
| 利巴韦林组   | 8  | 0.1005±0.0227 <sup>abcefg</sup> | 2.3226±1.4112 <sup>bf</sup>   | 0.0763±0.0297 <sup>a</sup>   |

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与感染组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与食积感染组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤低剂量组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤中剂量组比较,<sup>e</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤高剂量组比较,<sup>f</sup> $P<0.05$ ;与小儿化食丸组比较,<sup>g</sup> $P<0.05$ ;与双黄连组比较,<sup>h</sup> $P<0.05$ 。

无统计学差异;银莱汤各治疗组 IL-2、IL-10 水平较正常组明显升高( $P<0.05$ ),小儿化食丸组、双黄连组、利巴韦林组的 IL-2、IL-10 水平较正常组也明显升高( $P<0.05$ ),银莱汤中剂量组 IL-4 较正常组明显降低( $P<0.05$ ),银莱汤高剂量组 IL-4 较正常组明显升高( $P<0.05$ ),而其余各治疗组 IL-4 较正常组无统计学差异;银莱汤低中剂量组与小儿化食丸组、双黄连组、利巴韦林组相比 IL-4、IL-10 无统计学差异。见表 2。

### 2.3 小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 及 IFN- $\gamma$ 表达水平的比较

与正常组相比,感染组和食积感染组小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  水平明显升高( $P<0.05$ );与食积感染组比较,银莱汤低中剂量组 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  水平升高,银莱汤高剂量组 TNF- $\alpha$  降低但无统计学差异,小儿化食丸组、双黄连组、利巴韦林组的 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  水平较食积感染组降低,其中利巴韦林组明显降低( $P<0.05$ );银莱汤各治疗组及小儿化食丸组、双黄连组 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  水平较正常组明显升高( $P<0.05$ ),利巴韦林组较正常组 TNF- $\alpha$  升高,

 表 3 各组小鼠血清中 TNF- $\alpha$  及 IFN- $\gamma$  水平 (ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | n  | TNF- $\alpha$                | IFN- $\gamma$                 |
|---------|----|------------------------------|-------------------------------|
| 正常组     | 8  | 0.1647±0.0374                | 1.1570±0.1986                 |
| 感染组     | 10 | 0.4273±0.1358 <sup>a</sup>   | 1.8279±0.4614 <sup>a</sup>    |
| 食积感染组   | 8  | 0.3712±0.0449 <sup>a</sup>   | 1.9982±0.2611 <sup>a</sup>    |
| 银莱汤低剂量组 | 9  | 0.4533±0.1905 <sup>a</sup>   | 2.1068±0.6453 <sup>a</sup>    |
| 银莱汤中剂量组 | 8  | 0.3819±0.0676 <sup>a</sup>   | 2.5982±0.4299 <sup>abcd</sup> |
| 银莱汤高剂量组 | 10 | 0.3240±0.0995 <sup>abd</sup> | 2.0153±0.4306 <sup>ac</sup>   |
| 小儿化食丸组  | 10 | 0.3056±0.0514 <sup>abd</sup> | 1.7160±0.5525 <sup>ac</sup>   |
| 双黄连组    | 10 | 0.3051±0.0594 <sup>abd</sup> | 1.4879±0.481 <sup>cdef</sup>  |
| 利巴韦林组   | 8  | 0.2404±0.0566 <sup>bcd</sup> | 1.0916±0.2113 <sup>bcd</sup>  |

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与感染组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与食积感染组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤低剂量组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤中剂量组比较,<sup>e</sup> $P<0.05$ ;与银莱汤高剂量组比较,<sup>f</sup> $P<0.05$ ;与小儿化食丸组比较,<sup>g</sup> $P<0.05$ 。

IFN- $\gamma$ 降低,但均无统计学差异;银莱汤中、高剂量组 TNF- $\alpha$  水平与小儿化食丸组、双黄连组无差异,与利巴韦林组相比则银莱汤低中剂量组明显升高( $P<0.05$ );银莱汤高剂量组与利巴韦林组无差异,银莱汤各治疗组 IFN- $\gamma$  水平明显高于双黄连组、利巴韦林组( $P<0.05$ )。见表 3。

### 3 讨论

IgA、IgM、IgG 水平在一定程度上可以反映机体的体液免疫程度。IgA 作为免疫球蛋白中重要成员之一,在黏膜免疫中发挥着重要作用,其能通过阻止病毒吸附到黏膜上皮细胞,从而能起到抗病毒作用<sup>[1-2]</sup>。IgM 为体液免疫出现最早的抗体,感染早期主要由 IgM 发挥清除病原的作用,但之后血液中的 IgM 浓度会快速下降,所以通常将 IgM 作为判断感染的指标<sup>[3]</sup>。IgG 可以中和游离外毒素、病毒,并且能调理吞噬细胞的吞噬作用,为下呼吸道重要的保护性抗体,在机体免疫防护中发挥着主要作用。本研究结果显示,IgA、IgM、IgG 三指标水平变化基本一致,与正常组比较,感染组、食积感染组三指标水平均明显升高,说明感染可以引起机体的体液免疫反应,导致免疫球蛋白升高,考虑为小鼠感染后机体淋巴细胞迅速增殖,产生较多的免疫球蛋白所致,此结果也与袁浩<sup>[4]</sup>实验研究的小儿支原体肺炎急性期血清中 IgA、IgM、IgG、C3、C4 水平明显高于正常对照组一致。在银莱汤治疗后 IgA、IgM、IgG 水平明显下降,但仍高于正常组,说明经银莱汤治疗后,能起到改善免疫的效果,其中银莱汤低、中、高各剂量组水平虽不相同,但无统计学差异。而银莱汤治疗后小鼠 IgM 水平下降明显,考虑与 IgM 多出现在感染初期,后期消失较快相关。与利巴韦林组相比,银莱汤各治疗组 IgA、IgM、IgG 水平明显升高,



考虑银莱汤可以适度调节免疫球蛋白含量进而发挥其改善免疫的功效<sup>[5]</sup>。与银莱汤中剂量组相比,小儿化食丸组、双黄连组的 IgM、IgG 水平下降,但无统计学差异,考虑与小儿化食丸侧重消积通便,作用于胃肠道,而双黄连口服液单纯具有清肺热功效。以上结果说明银莱汤对于食积感染引起的机体体液免疫反应有明显调节作用,改善免疫紊乱<sup>[6]</sup>。

细胞因子主要由激活的淋巴细胞和单核细胞产生,可调节其他类型细胞的功能,在细胞免疫反应中起重要作用,亦介导炎症反应的发生。根据其作用主要分为抗炎因子和促炎因子。其中,IL-2 参与 B 淋巴细胞的激活、增殖及细胞毒 T 细胞增殖,表现为较强的免疫增强作用,同时可以诱导 T 细胞分泌 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等促炎细胞因子。而 TNF- $\alpha$  可增强 IL-2 依赖的胸腺细胞、T 细胞增殖能力,促进 IL-2、IFN- $\gamma$  等淋巴因子产生,调节免疫应答,同时 TNF- $\alpha$  有明显的促炎活性和免疫调节作用<sup>[7]</sup>。IFN- $\gamma$  对单核细胞/巨噬细胞产生 TNF- $\alpha$  有刺激作用,并通过诱导细胞表达 IL-2 受体来促进 T 细胞增殖,从而进一步扩大免疫应答。IL-4 能够促进 Th2 淋巴细胞发育,抑制脂多糖诱导的促炎细胞因子合成,同时能增强 B 细胞介导的体液免疫应答。IL-10 可损害抗原呈递细胞的抗原递呈能力,同时抑制 Th1 细胞产生 IL-2、IFN- $\gamma$  等细胞因子<sup>[8]</sup>。由此可见这五种细胞因子之间可以相互影响,保持着动态平衡,以维持机体的免疫平衡,抵抗外界病原微生物的侵入,共同发挥其免疫调节作用。本研究结果显示,感染组、食积感染组与正常组相较,其 IL-2、IL-10、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  水平均显著升高,考虑为感染因素和食积复合病毒因素作用于机体后促进机体自身免疫,产生免疫应答来抑制病毒的复制扩散所致。与食积感染组相比,银莱汤高、低剂量组 IL-4 含量升高,说明经治疗后其免疫功能得到调节,体液免疫应答能力增强,而各治疗组 IL-10 变化,无统计学差异;但与正常组比较,各治疗组 IL-10 明显升高,考虑与取材时小鼠体内仍存在炎症反应,而 IL-10 较正常组高以发挥其抗炎作用,同时也说明了银莱汤对于感染后引起的肺损伤有保护作用<sup>[9]</sup>。与食积感染组相比,银莱汤低、中剂量组 TNF- $\alpha$  水平升高,考虑可能取材时仍为小鼠感染病毒的急性期,机体损伤尚未完全恢复所致;与食积感染组比较,银莱汤各治疗组 IFN- $\gamma$  水平升高,而小儿化食丸组、

双黄连组、利巴韦林组的水平降低,考虑为小儿化食丸侧重消积通便,作用于胃肠道;双黄连口服液善清肺热;利巴韦林抗病毒,而肺胃同清之银莱汤可以促进 IFN- $\gamma$  的释放,从而起到抑制病毒的作用。

综上所述,本研究以银莱汤对食积复合 FM1 病毒感染小鼠免疫功能的影响为切入点,探讨复方合剂银莱汤发挥其疗效的机制。研究发现感染、食积复合感染因素可降低小鼠的免疫功能,刺激其发生炎症反应,而银莱汤可以通过促进免疫球蛋白的分泌、调控细胞因子之间的网络平衡、抑制促炎性细胞因子的过度分泌、上调抗炎性细胞因子的合成来发挥其对小鼠免疫功能的调节作用。通过动物实验对银莱汤进行疗效评价,可以阐明银莱汤的起效机制,同时也说明肺胃两清的治疗思路对于预防和治疗小儿反复呼吸道感染的临床意义,为小儿呼吸道疾病的诊疗提供新思路。本研究以细胞因子和免疫球蛋白作为观测指标,日后将进一步设立上游指标以明确银莱汤调节各种免疫球蛋白和细胞因子的机制,可作为后期研究方向。

#### 参 考 文 献

- [1] Wang ML. Production of IgA monoclonal antibodies against influenza A virus [J]. J Virol, 1986, 46: 21-26.
- [2] Page GS, Mosser AG, Hogle JM, et al. Three-dimensional structure of poliovirus serotype 1 neutralizing determinants [J]. J Virol, 1988, 62: 1781-1794.
- [3] Geisberger R, Lamers M, Achaetz G. The riddle of the dual expression of IgM and IgD [J]. Immunology, 2006, 118 (4): 429-437.
- [4] 袁浩. 相关血清炎症因子在小儿支原体肺炎中的临床意义 [D]. 长沙: 中南大学, 2008.
- [5] 谷晓红, 于河. 银莱汤对肺胃积热证小鼠血清 TNF- $\alpha$  和 IL-2 的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31 (1): 54-57, 76.
- [6] 张望, 于河, 刘铁钢, 等. 银莱汤对食积复合流感病毒感染小鼠免疫功能的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37 (8): 543-547, 577.
- [7] 胡萍, 熊平源. 肿瘤坏死因子在几种呼吸系统疾病中的作用 [J]. 数理医药学杂志, 2000, 13 (4): 312-313.
- [8] Chung F. Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: Interleukin-10, interleukin-12, interferon-gamma [J]. Mediators of inflammation, 2001, 10 (2): 51-59.
- [9] 李晓菲. 银莱汤对食积复合流感病毒感染小鼠免疫球蛋白及细胞因子水平影响的实验研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.

(收稿日期: 2016-04-18)

(本文编辑: 韩虹娟)