

· 实验研究 ·

抗戾散治疗病毒性发热的实验研究

蔡定芳¹ 沈自尹¹ 周 群² 孟澍江² 杨 进² 张玲娟¹

内容提要 用兔出血热病毒(RHFV)造成家兔病毒性发热模型,观察抗戾散的退热作用。结果表明:家兔腹腔注射 1:50 的 RHFV 1 ml 后 20~24 h 开始发热,直肠温度升高 1.5℃~2.5℃,发热持续 5~7 h。腹腔注射 200%抗戾散(4 g/kg 体重)可以有效地抑制实验家兔的发热效应,并能降低其脑脊液前列腺素 E₂和环核苷酸等发热介质,与模型组比较差异显著($P<0.01$)。提示抗戾散不仅有抗病毒作用,而且还能通过多种途径作用在体温调节中枢发生退热降温效应。

关键词 病毒 发热 前列腺素 E₂ 环核苷酸 抗戾散

Experimental Study of Kangli San in Treating Viral hyperpyrexia Cai Ding-fang, Shen Zi-yin, Zhou Qun, et al Institute of Integrated Traditional and Western Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai (200040)

The hypothermic effect of Kangli San (KLS) on the model of rabbit viral hyperpyrexia caused by rabbit hemorrhagic fever virus was studied. Intraperitoneal injection of 200% KLS (4g/kg) could inhibit the pyrogenic action of the virus efficiently. The results showed that KLS could decrease the function of pyrogenic transmitters such as PGE₂ and cAMP etc. in cerebrospinal fluid.

Key words Kangli San, viral hyperpyrexia, prostaglandin E₂, cyclo-nucleotide

病毒性发热传染性强,变化迅速,对机体危害极大。我们在系统探讨中医温疫病学的基础上,自制抗戾散治疗病毒性高热获得较好疗效^(1,2)。本研究观察了抗戾散对病毒性发热家兔的发热效应及脑脊液前列腺素 E₂(PGE₂)和 cAMP 的影响。

材料与方法

1 病毒 兔出血热病毒(RHFV)的形态为 20 面对称体,直径 28~33 nm,芯髓直径 20 nm,没有囊膜。基因组为单股 DNA,其复制部位在细胞核。实验时取 RHFV 兔体传代毒在组织研磨器中研碎,生理盐水作 1:50 稀释,2500 g 离心 10 min,取上清液(在无菌室进行)。

2 动物 未经 RHFV 疫苗免疫的非疫区西德纯种成年白毛兔 45 只,体重 2.40±0.22 kg,雌雄不拘,基础体温(38.7±0.3)℃,随机分为对照、模型、抗戾散 3 组,每组各 15 只。模型组造模方法为每兔腹腔注射 1:50 RHFV 1 ml。

3 抗戾散注射液制备 将蝉衣、僵蚕、姜黄、大黄、知母、黄芩、羌活、板蓝根、槟榔、厚朴、草果各等份水煎醇提制成 200%浓度,高压灭菌,4℃冰箱保存备用(由本室制备)。

4 实验指标 (1)平均发热曲线。(2)发热高峰(ΔT)均数,即最大发热高峰的均数。(3)体温反应指数(TRI):指发热曲线与基线之间的面积(cm²),参照 Milton 的方法计算⁽³⁾,它代表发热的高度和持续时间,10 h 体温反应指数以 TRI 10 表示。(4)脑脊液(CSF)PGE₂、cAMP 含量观察。

5 脑脊液 PGE₂、cAMP 的测定 暴露清醒兔头枕部,局部消毒后用预冷的 1 ml 注射器连接 5 号针头经小脑延髓池穿刺脑脊液 0.6 ml。PGE₂测定药盒购自北京解放军总医院, cAMP 测定药盒购自上海第二医科大学,样品处理及测定方法按药盒说明书进行。

6 实验步骤 全部动物于实验前测直肠温度 3 次(715 型半导体温度计,上海医用仪器厂),每隔 15 min 测 1 次,以平均值为原始值,然后抽取脑脊液。模型、抗戾散两组腹腔注射 1:50 RHFV 1 ml,对照组以等体积生理盐水代替 RHFV。随后记录每小时

1. 上海医科大学中西医结合研究所(上海 200040); 2. 南京中医学院温病教研室

直肠温度。待直肠温度>实验前温度1.5℃时第2次抽取脑脊液。同时,抗戾散组腹腔注射200%抗戾散4g/kg(按临床成人剂量的5倍折算),对照组、模型组以等体积生理盐水代药。待抗戾散组直肠温度<39℃时,第3次抽取脑脊液,对照组、模型组也相应抽取脑脊液(此时模型组直肠温度一般都在40℃左右)。

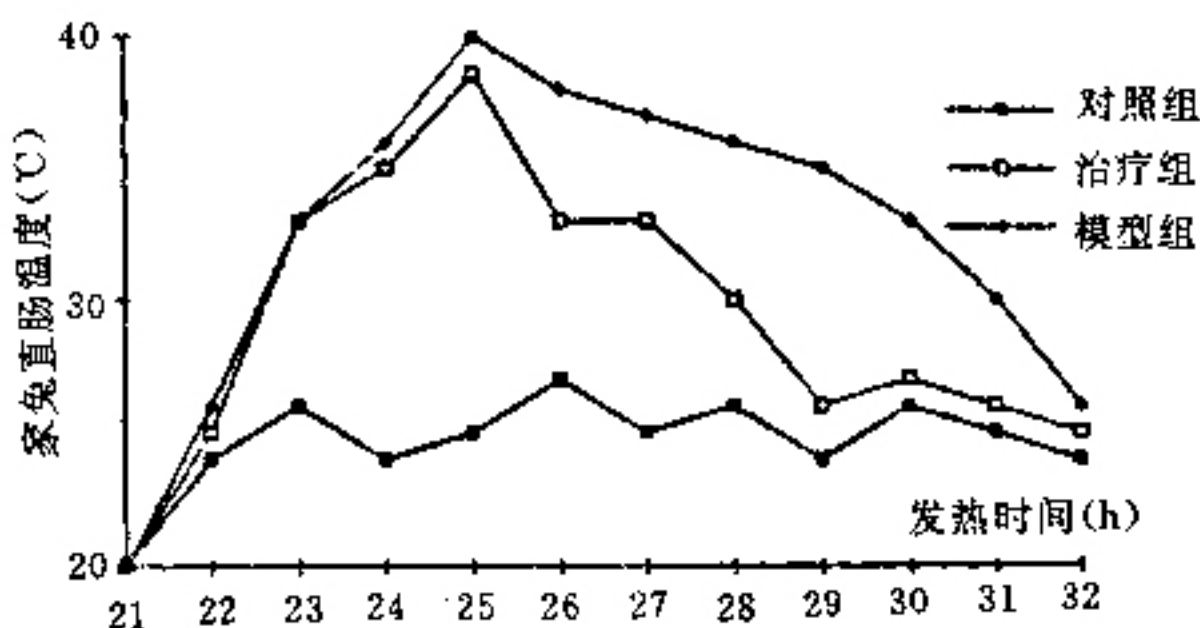
结 果

1 抗戾散对病毒性发热家兔发热效应的影响

1.1 对平均发热曲线的影响 见附图。模型、抗戾散组在注射RHFV后20~24h开始发热。直肠温度最低升高1.5℃,最高为2.5℃。模型组高热持续5~7h,然后下降;抗戾散组在腹腔注射200%抗戾散2~3h后直肠温度开始下降,较模型组提前2h左右降至正常水平。

1.2 3组平均发热高峰及发热指数比较 见表1。抗戾散对病毒性发热家兔平均发热高峰虽影响不大,但抗戾散组高热持续时间较模型组明显缩短,发热指数较模型组减少($P<0.01$)。

2 抗戾散对病毒传染性发热家兔脑脊液PGE₂



附图 抗戾散对病毒性发热家兔平均发热曲线的影响

表1 3组家兔平均发热高度及发热指数比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	$\Delta T(^{\circ}C)$	TRI 10(cm^2)
对照	15	38.66 ± 0.2	0.3 ± 0.1
模型	15	$40.46 \pm 0.4 \blacktriangle$	$24.7 \pm 6.5 \blacktriangle$
抗戾散	15	$39.86 \pm 0.3 \blacktriangle$	$15.7 \pm 3.5^*$

注:与对照组比较, $\blacktriangle P<0.01$;与模型组比较, $^*P<0.01$;下表同

和cAMP的影响 见表2。注射RHFV后,随着发热的出现,脑脊液中PGE₂和cAMP含量明显升高。注射抗戾散后,随着直肠温度的下降,PGE₂和cAMP含量下降。

表2 抗戾散对病毒性发热家兔脑脊液PGE₂和cAMP的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	PGE ₂ (pg/ml)			cAMP(pmol/ml)		
		实验前	发热时	用药后	实验前	发热时	用药后
对照	20	142 ± 62	124 ± 68	130 ± 60	23.2 ± 7.1	22.4 ± 6.5	22.8 ± 4.9
模型	20	148 ± 50	$2260 \pm 890 \blacktriangle$	2400 ± 795	24.5 ± 7.6	$43.3 \pm 9.0 \blacktriangle$	44.1 ± 9.2
抗戾散	20	145 ± 57	$2190 \pm 760 \blacktriangle$	$210 \pm 90^*$	25.3 ± 7.8	$43.8 \pm 9.0 \blacktriangle$	$22.3 \pm 7.0^*$

讨 论

发热是致热原的作用使体温调节中枢的调定点上移而引起的调节性体温升高。病毒作为外源性致热原主要激活单核巨噬细胞使其产生释放内源性致热原(endogenous pyrogen, EP), EP主要作用在下丘脑体温调节中枢(POAH/OVLT)的温度神经元引起体温调定点上移。目前,干扰素(IFN- γ 、IFN- α),白细胞介素(IL-1、IL-2、IL-6),肿瘤坏死因子(TNF),巨噬细胞炎症蛋白-1(MIP-1),GM-CSF等细胞因子都被认为是主要EP。病毒感染时,除周围外,脑内小神经胶质细胞和星状细胞也能产生IL-1、IFN。而且,循环的IL-1、IFN还能透过血脑屏障^[4]。

近年研究提示,EP引起体温调节中枢调定点上移,有可能是通过某些生物活性物质为中介而实现

的。PGE₂、cAMP是其中较受瞩目的中枢发热介质。Stitt研究结果提示,IL-1 β 引起OVLT区域增加的PGE₂就产生于OVLT附近^[5]。Matasumura等用放射自显影方法证明OVLT周围存在高密度的PGE₂受体^[6,7]。本实验表明给家兔腹腔注射RHFV后,在引起发热的同时脑脊液中PGE₂、cAMP含量较发热前明显增加,支持PGE₂、cAMP作为中枢发热介质的观点。

本实验组动物腹腔注射200%抗戾散注射液(4g/kg),随着直肠温度下降脑脊液中PGE₂、cAMP含量恢复至发热前水平。抗戾散为瘟疫名方达原饮与升降散相加而成。病毒性发热属于瘟疫病范畴,或者说可以从瘟疫论治。方中蝉衣,刘松峰谓其气寒无毒,能涤热解毒;僵蚕味辛苦、气薄轻浮而升,清热解郁,能辟一切佛郁之邪气。近来有人报道此两药有较好的退热效果。姜黄驱邪伐恶,引气解郁,辟疫,大黄上

下通行, 攻逐戾气, 为温疫要药。近年报道达原饮对高热有很好的疗效。吴又可谓槟榔能消能磨, 除伏邪, 疏气机; 厚朴破戾气所结; 草果辛烈气雄, 除伏邪盘踞, 三药协力直达巢穴, 使邪气溃败, 速离膜原; 黄芩、知母清热滋阴; 羌活、板蓝根透里达表。诸药合用, 共奏抗病毒、退高热之功⁽²⁾。本实验治疗组动物腹腔注射 200% 抗戾散 (4 g/kg) 可以有效抑制其发热效应, 并降低其脑脊液 PGE₂、cAMP。提示抗戾散可能通过抗病毒, 减少 EP 及脑内 cAMP、PGE₂ 的合成与释放而达到退热效果。

参 考 文 献

1. 蔡定芳, 孟澍江. 温疫病学学术体系探讨. 中国医药学报 1990; 5(4): 11.
2. 蔡定芳, 孟澍江. 抗戾散治疗病毒性高热的临床研究. 中国医药学报 1990; 5(5): 19.
3. Milton AS. Effects on body temperature of prostaglan-

din of the A, E and F series on injection into the third ventricle of unanaesthetized cats and rabbits. J Physiol 1971; 218:325.

4. Giulian D, Lachman LB. Interleukin-1 stimulation of astroglial proliferation after brain injury. Science 1985; 228:497.
5. Stitt JT. Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile respons. Yale Biol Med 1986; 59: 137.
6. Matsumura K, Wadanabe Yu, Onoe H, et al. High density of prostaglandin E₂ binding sites the anterior wall of the 3rd ventricle a possible site its hyperthermic action. Brain Research 1990; 533: 147.
7. Watanabe Yu, Wadanabe Y, Hayaishi O. Quantitative autoradiographic localization of prostaglandin E₂ receptor in monkey diencephalon. J Neuroscience 1988; 8: 2003.

(收稿: 1994-04-11 修回: 1994-05-25)

三才封髓丹对小鼠免疫功能的影响

王来慈¹ 张志华² 宋 悦¹ 石铸华¹

中药三才封髓丹是中医学传统古方, 临床观察具有抗贫血、增强免疫等作用, 为探讨其作用机理, 进行了对小鼠免疫功能作用的实验研究。现报告如下。

材料与方法

1 药物 将三才封髓丹原方药物(主要由天门冬、熟地、人参、黄柏、砂仁、甘草等组成)配制成三才口服液(SC), 每 10 ml 相当于原生药含量 11.4 g, 由哈尔滨医科大学临床药学研究所提供, 批号 930301; 氨肽素为江苏省泰州生物化学制药厂生产, 批号 931026。

2 动物 昆明种小白鼠, 雌雄兼用, 鼠龄 8~10 周, 体重 22~24 g, 由黑龙江省肿瘤研究所提供。

3 方法 将健康小鼠 30 只随机分成 3 组, 每组 10 只。(1)SC 组: 取 SC 0.088 g/kg(按人的正常用量换算)。(2)对照组: 取氨肽素按 0.05 g/kg 配成水溶液。(3)空白对照组: 用生理盐水 0.4 ml/只。上述药物每天每只小鼠灌胃 1 次, 连续 20 天。

4 观察指标 (1)细胞免疫: 玫瑰花结形成率、淋巴细胞转化率。(2)体液免疫: 抗体溶血素试验。(3)吞噬功能: 巨噬细胞吞噬率。上述实验均按文献方法进行(徐叔云, 卞如谦, 陈修. 药理实验方法, 北

京: 人民卫生出版社, 1985: 934—949)。

结 果 SC 对小鼠免疫功能的影响: 见附表。SC 组与对照组比较在玫瑰花结形成率和抗体溶血素实验中有明显差异($P < 0.05$), 在淋巴细胞转化率和巨噬细胞吞噬率实验中有明显差异($P < 0.01$)。

附表 SC 对小鼠免疫功能的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数	玫瑰花结形成率 (%)	淋巴细胞转化率 (%)	抗体溶血素 (A 值)	巨噬细胞吞噬率 (%)
SC	10	56.2 ± 2.2 ^{**△}	76.4 ± 5.6 ^{**△△}	0.465 ± 0.033 ^{**△}	26.4 ± 1.2 ^{**△△}
对照	10	46.8 ± 1.6	61.5 ± 4.7 [*]	0.384 ± 0.025 [*]	18.1 ± 0.9 [*]
空白	10	28.3 ± 3.1	45.9 ± 3.2	0.256 ± 0.041	11.6 ± 1.4

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与对照组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$

讨 论 三才封髓丹原方主药为天门冬、熟地、人参等具有补益肺、脾、肾三脏功能的作用, 可调节免疫。本实验结果显示三才封髓丹对小鼠的玫瑰花结形成率、淋巴细胞转化率、巨噬细胞吞噬率及抗体溶血素试验均有影响, 表明三才封髓丹具有增强免疫功能的作用。

(收稿: 1994-04-18 修回: 1994-05-20)

1. 哈尔滨医科大学附属第二医院血液病研究所(哈尔滨 150086); 2. 黑龙江省医药工业研究所