

## · 实验研究 ·

大黄对正常和烧伤小鼠肠道免疫分泌的影响<sup>\*</sup>

陈晓理 黄兴兰 吴 浩 杨 筱

**内容提要** 目的 观察小鼠烧伤前后肠道免疫分泌的变化和大黄汤治疗对正常小鼠和烧伤小鼠肠道免疫分泌的促进作用,探讨大黄保护肠粘膜屏障的作用机理。方法 实验用 BALB/c 小鼠。分为 4 组:1 组为对照组( $n=8$ ) 2 组为正常小鼠饲喂 10% 大黄液 12ml/kg,每 6h 1 次( $n=11$ ) 3 组为 30% 的全厚背部皮肤烧伤,不治疗( $n=7$ ) 4 组为全厚皮肤烧伤,同 3 组,大黄治疗同 2 组( $n=9$ )。24h 后处死动物,灌洗肠道,收集肠液透析离心后作 IgA 检测和总蛋白、补体  $C_3$ 、高密度脂蛋白(HDL)测定。结果:1、2、3 和 4 组小鼠肠液中的 IgA(mg/L)分别为  $93.5 \pm 13.7$ 、 $150.8 \pm 44.6$ 、 $43.4 \pm 21.5$  及  $59.8 \pm 19.3$ ,说明在烧伤后肠液中 IgA 明显减少( $P < 0.05$ )。而应用大黄汤治疗后,无论正常小鼠和烧伤小鼠的肠道 IgA 均增加( $P < 0.05$ )。其他免疫相关物质如总蛋白、补体  $C_3$  和 HDL 大黄治疗后也有显著增加。结论 烧伤后小鼠肠液中的 IgA 明显减少。而大黄无论对正常小鼠和烧伤小鼠均具有明显的促进肠道免疫分泌的效果。这一作用是大黄的粘膜屏障保护作用的重要机制之一。

**关键词** 大黄 烧伤 肠道免疫功能 粘膜屏障

**Effect of Rhubarb on Intestinal Immune Associated Secretion in Healthy Mice and in Burn Mice** CHEN Xiao-li, HUANG Xing-lan, WU Hao, et al *The First Affiliated Hospital, West China University of Medical Sciences, Chengdu (610041)*

**Objective:** To explore the therapeutic mechanism of rhubarb (sennosides) in protecting intestinal mucous-membranous barrier by observing the change of intestinal immune associated secretion (IIAS) in mice before and after burn and the enhancing effect of rhubarb on it in healthy and in burn mice. **Methods:** Bal b/c mice were divided into 4 groups. Group A ( $n=8$ ), untreated healthy mice; Group B ( $n=11$ ), healthy mice treated with 10% rhubarb decoction 12 ml/kg, once every 6 hrs; Group C ( $n=7$ ), the mice with 30% back full-thickness burn and no treatment was given; Group D ( $n=9$ ), the mice with 30% back full-thickness burn and treated with 10% rhubarb decoction 12 ml/kg, once every 6 hrs. The animals were killed 24 hrs after burn, the intestinal juice was collected after intestinal lavage, and centrifuged for determination of IgA, total protein,  $C_3$  and high density lipoprotein. **Results:** IgA content in intestinal juice of Group A, B, C and D were  $93.5 \pm 13.7$  mg/L,  $150.8 \pm 44.6$  mg/L,  $43.4 \pm 21.5$  mg/L and  $59.8 \pm 19.3$  mg/L respectively, suggesting that it was significantly reduced by burn ( $P < 0.05$ ), while rhubarb decoction could increase it in either healthy or burn mice ( $P < 0.05$ ). The other immune associated substance, such as total protein,  $C_3$  and high density lipoprotein in intestinal juice were also increased significantly after rhubarb decoction treatment. **Conclusion:** Rhubarb could increase the reduced intestinal juice IgA content in mice caused by burn, it may be an important mechanism of rhubarb in protecting mucous-membranous barrier.

**Key words** rhubarb, burn, intestinal immune function, mucous-membranous barrier

大黄对肠道粘膜屏障的保护作用和对细菌移位的预防作用已为许多临床和动物实验所证实<sup>(1~3)</sup>。但对其具体的作用机理仍缺乏系统的阐述。我们以往的实

验已经发现大黄对肠道的运动和分泌的促进作用是其抑制细菌移位的作用机制之一。并根据肠道形态学改变推测大黄对肠道的免疫分泌也有影响<sup>(4)</sup>。为此我们通过动物实验,观察了大黄对正常小鼠和烧伤小鼠肠道分泌的 IgA、总蛋白、补体  $C_3$  和高密度脂蛋白(HDL)的作用。现报告如下。

\* 国家自然科学基金资助项目(No. 39970932)

华西医科大学附属医院(成都 610041)

材料和方法

1 动物和材料 35 只 BALB/c 小鼠 ,体重 18~22g 购自华西医科大学动物中心。实验用产自阿坝州的锦纹大黄粉( *Rheum officinal Baill* ),以 1/10( W/V )的比例制成 10% 的大黄汤剂 ,沸水加药后 50s 后冷却过滤备用。IgA 放射免疫检测试剂盒购自上海生物制品研究所。一步法 H 测定试剂购自日本第一化学。HITACHI7170A 型全自动生化分析仪购自日本东芝公司。

2 实验方法 35 只小鼠分为 4 组 :1 组为正常对照组( *n* =8 ) ;2 组为正常小鼠大黄治疗组( *n* =11 ) ;3 组为烧伤组( *n* =7 ) ;4 组为烧伤小鼠大黄治疗组( *n* =9 )。小鼠烧伤模型的制备 :在 5% 水合氯醛腹腔麻醉下 ,将小鼠背部的毛剃光 ,每只小鼠用同样大小( 3.5cm×5.5cm )的煤油纱布紧贴在剃光毛的小鼠背部皮肤上 ,其余部分用湿纱布保护 ,着火燃烧 15s ,即制成烧伤面积达总体表面积的 32% 的烧伤模型<sup>(5)</sup>。烧伤后立即给 20ml/kg 无菌生理盐水腹腔注射复苏。正常小鼠和烧伤小鼠的治疗组均给 10% 大黄汤剂 0.3ml ,每 6h 灌胃 1 次 ,共 5 次( 其中烧伤前灌胃第 1 次 ,余在烧伤后喂 ) ,正常和烧伤的对照组则同时灌胃等量生理盐水。24h 后处死小鼠 ,取全小肠称重、量长度 ,然后用 2ml 生理盐水灌洗小肠 ,分别收集小肠灌洗

液 ,在常温下离心 ,取上清液 ,专人盲法。用放射免疫法测定肠液中的 IgA ,在 HITACHI7170A 型全自动生化分析仪上测定总蛋白、补体 C<sub>3</sub> 和 HDL。

3 统计学处理 对全部计量资料采用 *t* 检验方法。

结 果

1 各组动物肠液中的 IgA 含量比较 见表 1。正常小鼠肠液中 IgA 含量为( 93.5±13.7 )mg/L ,用大黄治疗的 2 组 IgA 含量增加( *P* <0.05 )。烧伤后小鼠( 3 组 )肠液内的 IgA 明显降低( *P* <0.05 )。用大黄治疗后( 4 组 )肠液 IgA 有所恢复( *P* <0.05 )。

2 各组动物肠液中的总蛋白含量比较 见表 1。1 组小鼠肠液中总蛋白为( 2.06±0.77 )g/L ,2 组增加( *P* <0.05 )。3 组小鼠的肠液总蛋白变化不大 ,经过大黄治疗后( 4 组 )明显增加( *P* <0.05 )。

3 各组动物肠液补体 C<sub>3</sub> 含量比较 见表 1。1 组小鼠肠液补体 C<sub>3</sub> 含量为( 2.73±0.99 )mg/L ,2 组含量增加( *P* <0.05 )。3 组小鼠肠液内的 C<sub>3</sub> 含量变化不大 ,但 4 组肠液 C<sub>3</sub> 仍增加( *P* <0.05 )。

4 各组动物肠液中 HDL 含量比较 见表 1。1 组小鼠肠液中 HDL 含量为( 48.0±1.0 )mmol/L ,2 组 HDL 含量增加( *P* <0.05 )。烧伤前后( 3、4 组 )小鼠肠液内的 HDL 含量变化差异无显著性。

表 1 正常和烧伤小鼠大黄治疗前后肠液中免疫分泌物质比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

组别	<i>n</i>	IgA ( mg/L )	总蛋白 ( g/L )	C <sub>3</sub> ( mg/L )	HDL ( mmol/L )
1	8	93.5±13.7	2.06±0.77	2.73±0.99	48.0±1.0
2	11	150.8±44.6 *	15.54±13.03 *	11.39±9.98	96.3±79.3 *
3	7	43.4±21.5 *	2.13±0.82	3.98±2.09	51.0±50.2
4	9	59.8±19.3 <sup>△</sup>	4.12±2.12 <sup>△</sup>	5.58±2.98 <sup>△</sup>	55.0±30.4

注 :与 1 组比较 ,\* *P* <0.05 ;与 3 组比较 ,<sup>△</sup> *P* <0.05

讨 论

在我们以前的实验研究中发现大黄肠道给药后 ,显示了非常好的肠道去污作用。在中上段小肠肠腔液中细菌的数量大为降低 ,个别动物几近无菌状态<sup>(4)</sup>。这显然和大黄在体外实验中表现出相对较弱的抑菌作用不相称。除开大黄能够促进肠道的蠕动 ,增加了肠道对细菌和毒素的驱除作用外 ,是否还存在有其他的抑菌机制 ? 本实验的结果初步证实大黄可能通过促进肠道免疫分泌而发挥其抑菌、抗菌作用 ,减少细菌移位的假设。

近年来的研究结果提示粘膜屏障可能在肠道防御体系中起着核心作用。肠粘膜并非仅仅是一种机械屏

障。事实上 ,肠粘膜上皮兼具有多种免疫功能。它能分泌多种免疫相关物质 ,包括分泌型 IgA、补体、急性相蛋白如内毒素结合蛋白、多种细胞因子、溶菌酶、磷脂酶 A<sub>2</sub>、肠道抗生素肽( 隐凹素 )、三环多肽及粘液蛋白等。这些物质中 IgA、隐凹素、磷脂酶 A<sub>2</sub> 等能直接抑菌、杀菌 ;补体、急性相蛋白、粘液蛋白等能中和毒素 ,阻止细菌入侵 ;C<sub>3</sub>、部分细胞因子具有增加局部血液循环和吸引炎症细胞聚集。上述作用使肠粘膜成为一种积极主动的防御体系。多种临床病理因素可能削弱粘膜屏障功能。例如创伤、烧伤、休克时 ,在这些病态下 粘膜分泌 IgA 减少 ,并被证实为肠道细菌移位的重要原因之一<sup>(6)</sup>。在本实验中 ,烧伤前后肠液中 IgA 的减少也为这一病理过程提供了佐证。肠粘膜在感

染、炎症和某些药物的刺激下,从形态和功能均发生显著的炎症改变,其消化吸收功能减弱而免疫屏障功能增强,以适应感染和炎症的环境变化。

大黄作为一种典型的肠粘膜刺激性泻药,能够诱导肠粘膜的人工炎症。其直接后果不仅使粘膜发生明显的形态学变化,而且也大大的促进了肠道的免疫分泌功能。例如在本实验中无论是正常和烧伤小鼠大黄治疗后,肠液中免疫相关物质例如 IgA、总蛋白、C<sub>3</sub> 和 HDL 均有不同程度增加。这些物质以不同的方式增强了粘膜的免疫防御功能。例如 IgA 被认为是肠道特异性免疫的主要成分,除能够中和病毒、毒素和酶等生物活性抗原,IgA 还具有类似凝集素的功能。通过和细菌结合,阻止后者对肠上皮的吸附,从而具有广泛的粘膜保护作用。肠液中的粘蛋白本是形成粘膜表面粘液毯的基本组分。由于组成粘蛋白的糖链种类多达上千,目前尚无方法能对各种粘液蛋白做精确的检测。在本实验中我们以总蛋白的形式作为粘蛋白的粗略代表。粘液的粘膜保护作用近年来受到高度重视,首先在于它将肠内的细菌、毒素与肠上皮隔开。通常粘液层只容许分子量小于 17000 道尔顿的物质透过。细菌和毒素则将被‘捕获’在粘液毯中。这种‘捕获’作用可以是非特异性的,即通过粘液寡糖的特别粘性将细菌粘附。也可以是特异性的,由于粘液糖蛋白和免疫球蛋白的分子结构非常相近,可以由粘液蛋白上的模拟肠上皮细胞表面的受体与细菌、毒素竞争性结合而滞留。正是粘液层的这种保护作用,使细菌及其毒素难以靠近肠上皮并进而侵入体内。已经发现,粘液耗竭

后,粘膜防御功能下降而细菌移位明显增加<sup>[7]</sup>。C<sub>3</sub> 和 HDL 两者是炎症反应的产物,前者增加粘膜的血循环,后者具有内毒素结合作用。两者均对粘膜屏障有保护作用。

综上,大黄通过诱导粘膜的人工炎症,促进粘膜的免疫相关物质的分泌,从而增强粘膜的屏障功能,减少细菌移位的发生,预防烧伤、创伤以及急性胰腺炎的继发感染。

## 参 考 文 献

1. 焦东海,沈学敏,景炳文. 单味大黄治疗急性胰腺炎 17 年研究. 中医杂志 1994, 35(3):172—173.
2. 陈德昌. 大黄对肠粘膜屏障保护作用的机制探讨. 中国危重病急救医学 1996, 8(8):449—451.
3. 陈晓理,冉瑞图. 大黄治疗急性胰腺炎的效果和机理. 华西医科大学学报 1996, 27(4):418—421.
4. 陈晓理,黄兴兰,冯凯祥. 预防肠道细菌移位是大黄治疗急性胰腺炎的主要作用机理. 中国中西医结合杂志 2000, 20(基础理论研究特集):46—47.
5. Holder IA, Jogan M. Enhanced Survival in burned mice treated with antiserum prepared against normal and burned skin. J Trauma 1971, 11:1041—1046.
6. Mason AD, McManus AT, Pruitt BA. Association of burn mortality and bacteremia. Arch Surg 1986, 121(9):1027—1031.
7. Albanese CT, Cardona M, Smith SD, et al. Role of intestinal mucus in trans-epithelial passage of bacteria across the intact ileum in vitro. Surgery 1994, 116:76—82.

(收稿 2000-04-19 修回 2001-03-08)

## 全国中青年中西医结合学术交流(英语)会议征文通知

中国中西医结合学会国际交流与联络委员会、中国中西医结合学会中医外语专业委员会及中国中西医结合杂志英文版编辑部,拟于 2002 年 3 月 2~3 日在北京举行全国中青年中西医结合学术交流会议(大会语言为英语),参会者以中青年为主,也欢迎非中青年同志参加。并同时进行中医外语专业委员会的换届工作。兹将征文事宜通知如下。

1 征文内容 中西医结合临床研究,中西医结合基础理论研究,中西医结合思路与方法,新药研制与开发,中西医结合政策、教学与管理等。

2 征文要求 论文摘要请交中文 800~1000 字、英文 300~500 字各 1 份,请用 A4 纸打印,并附软盘(3.5 寸)1 张(全文更好)。

3 截稿日期 2001 年 12 月 30 日。

4 来稿请寄 北京西苑中国中医研究院西苑医院,宋军收,邮政编码:100091。亦可通过电子邮件投稿, E-mail: Junsong.tcm@sina.com.cn。联系电话 010-64076064,联系人:吕爱平。

本次会议的优秀论文将推荐给‘第二次世界中西医结合大会’(会议发言)及中国中西医结合杂志(英文版)刊用。

万方数据