

## · 基础研究 ·

# 隔药饼灸对免疫抑制兔血细胞及免疫球蛋白水平时效关系的比较分析

翟春涛<sup>1,2</sup> 田岳凤<sup>1</sup> 李雷勇<sup>3</sup> 贾翠娜<sup>1</sup> 邱 桥<sup>1</sup>

**摘要 目的** 观察隔药饼灸对免疫抑制兔血细胞及免疫球蛋白水平影响的时效关系,阐明发挥效应的最佳时间。**方法** 90 只新西兰大耳白兔采用随机数字表法分为 9 组,分别是空白组、模型即刻组、模型 5 天组、模型 10 天组、模型 15 天组、灸后即刻组、灸后 5 天组、灸后 10 天组和灸后 15 天组,每组 10 只。除空白组外,其余 8 组采用腹腔注射环磷酰胺建立免疫抑制兔模型。造模结束后第 2 天,灸法各组用六味地黄汤组方药饼,置于神阙、关元、足三里、脾俞、肾俞穴上施灸,隔日 1 次,共灸 10 次。空白组、模型即刻组、灸后即刻组实验结束后第 2 天,模型 5 天组和灸后 5 天组、模型 10 天组和灸后 10 天组、模型 15 天组和灸后 15 天组分别于正常饲养 5、10、15 天后检测血细胞系列[WBC、嗜中性粒细胞(NEU)百分数、淋巴细胞(LYM)百分数、单核细胞(MONO)百分数、嗜酸性粒细胞(EOS)百分数、嗜碱性粒细胞(BASO)百分数、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)、血小板(PLT)],免疫球蛋白 IgG、IgM 和补体 C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> 水平。**结果** 与空白组比较,模型即刻组、模型 5 天组、模型 10 天组和模型 15 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT、NEU 百分数,免疫球蛋白 IgG、IgM 及补体 C<sub>3</sub> 明显降低( $P < 0.01$ ),LYM 百分数显著升高( $P < 0.01$ ),模型即刻组、模型 5 天组补体 C<sub>4</sub> 显著升高( $P < 0.05$ )。与模型即刻组及模型 5 天组比较,灸后即刻组及灸后 5 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT、NEU 百分数,免疫球蛋白 IgG、IgM 均明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ );与模型即刻组比较,灸后即刻组补体 C<sub>3</sub> 明显升高( $P < 0.01$ );与模型 5 天组比较,灸后 5 天组补体 C<sub>3</sub> 明显升高( $P < 0.01$ ),C<sub>4</sub> 明显降低( $P < 0.01$ )。与模型 10 天组比较,灸后 10 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT,免疫球蛋白 IgG、IgM 均明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ )。与模型 15 天组比较,灸后 15 天组 WBC、RBC、HGB、HCT 及免疫球蛋白 IgM 均明显升高( $P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ )。与灸后即刻组、灸后 5 天组比较,灸后 10 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、IgG、IgM 显著升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ );与灸后 10 天组比较,灸后 15 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT、免疫球蛋白 IgG、IgM 均显著降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),LYM 百分数显著升高( $P < 0.05$ )。MONO、EOS、BASO 百分数各组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 隔药饼灸可以通过调节血细胞、免疫球蛋白和补体水平来调节环磷酰胺致免疫抑制兔的免疫功能,且调节作用存在一定的时效关系,在灸治结束后即刻起效,灸治 10 天效应最佳。

**关键词** 隔药饼灸; 环磷酰胺; 时效关系; 血细胞; 免疫球蛋白

Time-Effect of Herb-cake-separated Moxibustion on Blood Cell and Immunoglobulin in Immunosuppressive Rabbits ZHAI Chun-tao<sup>1,2</sup>, TIAN Yue-feng<sup>1</sup>, LI Lei-yong<sup>3</sup>, JIA Cui-na<sup>1</sup>, and QIU Qiao<sup>1</sup>  
1 College of Acupuncture and Moxibustion, Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan (030024);  
2 College of Acupuncture and Moxibustion, Human University of Chinese Medicine, Changsha(410208);  
3 Department of Laboratory, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan(030001)

**ABSTRACT Objective** To observe the time-effect of herb-cake-separated moxibustion on blood cell and immunoglobulin in immunosuppressive rabbits to explain the optimum time of exerting effect.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No.81373742, No.81674062)

作者单位: 1. 山西中医药大学针灸推拿学院(太原 030024); 2. 湖南中医药大学针灸推拿学院(长沙 410208); 3. 山西医科大学第二医院检验科(太原 030001)

通讯作者: 田岳凤, Tel: 13513510324, E-mail: tyfsx@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180624.241

**Methods** Totally 90 rabbits were randomly divided into blank group, immediate-model group, 5 days-model group, 10 days-model group, 15 days-model group, immediate after moxibustion group, 5 days after moxibustion group, 10 days after moxibustion group, 15 days after moxibustion group with 10 rabbits in each group according to random digit table. Except the blank group, the other groups were given with intraperitoneal injection of cyclophosphamide to establish immunosuppressive rabbit model. Two days after modeling, moxibustion groups were treated with cake-separated moxibustion which herb-cake was made with Liuwei Dihuang Decoction Formula on Shenque (CV8), Guanyuan (CV4), Zusanli (ST36), Pishu (BL20) and Shenshu (BL23), one time every other day, a total of 10 times. Blank group, immediate-model group, immediate after moxibustion group, second days after the end of the experiment, 5 days, 10 days and 15 days of normal feeding in model 5 days-model group and 5 days after moxibustion group, 10 days-model group and 10 days after moxibustion group, 15 days-model group and 15 days after moxibustion group, the blood cells (including WBC, NEU%, LYM%, MONO%, EOS%, BASO5%, RBC, HGB, HCT, PLT), IgG, IgM and C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> level were detected in each time. **Results** Compared with blank group, the level of WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, NEU%, IgG, IgM and C<sub>3</sub> in immediate-model group, 5 days-model group, 10 days-model group and 15 days-model group significantly decreased ( $P < 0.01$ ), while the LYM% decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with blank group, the C<sub>4</sub> of immediate-model group and 5 days-model group significantly increased ( $P < 0.05$ ). After the treatment, compared with immediate-model group and 5 days-model group, the level of WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, NEU%, IgG, IgM in immediate and 5 days after moxibustion groups increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and the LYM% decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with model-immediate group, the C<sub>3</sub> of immediate after moxibustion group was increased ( $P < 0.01$ ); compared with 5 days-model group, the C<sub>3</sub> of 5 days after moxibustion group was increased and C<sub>4</sub> decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with 10 days-model, the WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, IgG and IgM of 10 days after moxibustion group were increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and the LYM% decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with 15 days-model, the WBC, RBC, HGB, HCT and IgM of 15 days after moxibustion group was increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and the LYM% decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with immediate and 5 days after moxibustion groups, WBC, RBC, HGB, HCT, IgG and IgM of 10 days after moxibustion were significantly increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the LYM% decreased significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the 10 days after moxibustion group, the WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, IgG, IgM of the 15 days after moxibustion group were significantly lower ( $P < 0.05$ ), and LYM% increased ( $P < 0.05$ ). The MONO%, EOS% and BASO% were not statistically significantly different in 9 groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** Herb-cake-separated moxibustion could improve the immune function of rabbits under immunosuppressive state induced by cyclophosphamide by regulating the level of blood cells, immunoglobulin and complement, and it has a certain time-effect relationship. The effect is immediate after the moxibustion treatment, and the best effect occurs on the 10 th after the moxibustion treatment.

**KEYWORDS** cake-separated moxibustion; cyclophosphamide; time-effect; blood cell; immunoglobulin

灸法为中医学的重要组成部分,现代研究已经证实,灸法调节机体的免疫功能,主要是释放并激活了体内被抑制的免疫活性细胞,恢复并加强了机体的免疫监视功能,对机体紊乱的免疫功能具有良好的整体和双向调节作用<sup>[1-3]</sup>。隔药饼灸是将艾灸、药物、穴位三者相结合,将药饼放于穴位上进行施灸,药物的药性和艾绒的火力通过经络、穴位输布渗透并深入于体内,发挥药、穴、灸三者的协同作用。课题组前期证实隔药饼灸能通过调节血细胞、免疫球蛋白及补体的作用达到

提高免疫抑制兔的免疫功能,且作用优于直接艾灸及假药饼灸<sup>[4]</sup>。在此基础上,课题组还发现不同灸量对免疫抑制兔血细胞、免疫球蛋白及补体均有调节作用,且以 5 壮组较为突出<sup>[5]</sup>。灸法的时效关系是有关时间因素对艾灸作用影响,艾灸效应在体内的发生和发展如同药物在体内的浓度随时间而变化表现为药效的显现与消失过程一样,也存在潜伏期、效应期及后效应期。灸法的时效研究有助于灸法的规范化和现代化,有助于提高灸法的疗效。《针灸资生经》<sup>[6]</sup>中就有记

载：“日灸七壮，过七七论，停四五日后，灸七七”、“停息后灸，令血脉通宣，其风应时立愈”。结合前期临床研究中隔药饼灸疗程为 10 天的实际，本实验在隔药饼灸治疗结束，后效应观察上，选择了治疗结束后即刻、5 天、10 天和 15 天 4 个时间点进行观察。因此，本研究在前期研究的基础上观察隔药饼灸 5 壮灸量对免疫抑制兔血细胞、免疫球蛋白及补体调节过程中效应随时间的变化规律，探讨隔药饼灸作用的时效关系。

## 材料与方法

1 实验动物 新西兰大耳白兔 90 只，3 月龄，体重 $(2.5 \pm 0.5)$  kg，雌雄不限，由山西省太原市小店区丰泽园种养农民专业合作社提供[动物合格证号：SCXK(晋)2015-0003]。饲养温度要求 18~25℃，相对湿度要求 50%~70%。饮用纯净水，定时定量给予兔生长繁殖饲料[饲料生产许可证号：京饲证(2014)06054]。本实验遵守国家有关实验动物保护与使用准则。

2 试药、艾条与仪器 注射用环磷酰胺：0.2 g/支，由山西普德药业股份有限公司生产(生产批号：04150401)；生理盐水：500 mL：1.35 g，由石家庄四要有限公司生产(生产批号：1412283203)；清艾条：江苏盱眙华佗中药厂生产(25 g/支，生产批号：20110107)；六味地黄汤药物：熟地、山药、山茱萸、丹皮、泽泻和茯苓购于山西荣华大药房。血细胞检测仪(型号：CELL-DYN 3700)，检测试剂盒：美国雅培公司生产(原厂配套试剂)；免疫检测仪：美国贝克曼公司生产；IgG、IgM 及补体 C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> 试剂盒：美国贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司生产(批号：201706)。

3 药饼制备 按照六味地黄汤组方剂量，制备药饼。具体方法：(1)熟地、山茱萸：分别加 10 倍水，浸泡 1 h，煎煮 3 次，前 2 次各 1 h，第 3 次 45 min，滤除煎液，浓缩成膏备用。(2)山药、丹皮、泽泻、茯苓打碎成粉末，过 120 目筛备用。(3)使用时，将上述调制好的膏剂与粉末按照六味地黄汤原方比例调匀(熟地：山茱萸：山药：泽泻：茯苓：丹皮 = 8:4:4:3:3:3)，用模具压成直径约 1 cm，厚 0.3 cm 的药饼。

4 穴位选择 穴位选取：神阙、关元、足三里(双)、脾俞(双)、肾俞(双)。穴位定位：参照郭义主编《实验针灸学》<sup>[7]</sup>常用动物穴位定位法及拟人比照法。

5 分组 90 只新西兰大耳白兔采用随机数字表法分为 9 组，分别是空白组、模型即刻组、模型 5 天组、模型 10 天组、模型 15 天组、灸后即刻组、灸后 5 天

组、灸后 10 天组和灸后 15 天组，每组 10 只。

6 模型制备 参照文献[8-11]，环磷酰胺致免疫抑制模型的剂量为 75~125 mg/kg，造模时间为 3~5 天，均可以出现不同程度的免疫抑制，表现为实验动物体重明显下降，白细胞(WBC)数量明显降低。在预实验中，选取环磷酰胺的剂量为 90 mg/kg，腹腔注射，连续 5 天。在造模第 3 天，实验动物表现出严重的抑制状态，至第 5 天造模结束时动物死亡率已达到 60%。由于死亡率过高，抑制状态过于严重，对环磷酰胺的剂量和造模时间做了探索性研究，剂量调整为 60 mg/kg，造模时间调整为 7 天，造模结束后，动物出现了精神状态差，饮食少，有脱毛现象，体质量显著下降，WBC 数量显著下降，且动物死亡率较改良前下降了 20.6%。综合动物造模后一般情况及指标检测动物已处于抑制状态，采用该改良后的模型方法。

各组均适应性饲养 7 天后，除空白组外，其余 8 组按照预实验改良后的造模方法进行造模，每天上午按照 60 mg/kg 剂量腹腔注射环磷酰胺(用生理盐水稀释)，每天 1 次，连续注射 7 天，制备免疫抑制兔模型。空白组注射等量的生理盐水，每天 1 次，连续 7 天。

7 隔药饼灸及方法 参照参考文献[12]。造模结束后第 2 天，灸法各组均进行隔药饼灸治疗。将动物固定于兔台，施灸前将动物穴位处皮毛剪去，暴露其穴位。将用模具制成的药饼放置在神阙、关元、足三里(双)、脾俞(双)、肾俞(双)，使用艾柱制作模具将艾绒制成底径 0.8 cm、高 0.5 cm，质量约 0.3 g 的圆锥形艾柱，置于药饼上，以线香点燃，燃尽更换，每穴连灸 5 壮，隔日 1 次，共灸 10 次。空白组和模型各时间组绑缚固定于兔台，不做任何处理。

8 检测指标及方法 空白组、模型即刻组、灸后即刻组实验结束后第 2 天，模型 5 天组和灸后 5 天组、模型 10 天组和灸后 10 天组、模型 15 天组和灸后 15 天组隔药饼灸后正常饲养 5、10、15 天后分别采用 20% 乌拉坦溶液按照 5 mL/kg 剂量麻醉，腹腔静脉取血 10 mL。血细胞检测仪观察外周血细胞系列的变化：[WBC、嗜中性粒细胞(NEU)百分数、淋巴细胞(LYM)百分数、单核细胞(MONO)百分数、嗜酸性粒细胞(EOS)百分数、嗜碱性粒细胞(BASO)百分数、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞压积(HCT)、血小板(PLT)]免疫检测仪检测免疫球蛋白 IgM、IgG 和补体 C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> 的变化。

9 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析，实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行组间比较，组间两两比

较采用 *LSD-t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1 各组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT 及 LYM、NEU、MONO、EOS、BASO 百分数水平比较(表 1)  
与空白组比较,模型各时间组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT、NEU 百分数明显降低,LYM 百分数显著升高( $P < 0.01$ )。与模型即刻组及模型 5 天组相应时间点比较,灸后即刻组及灸后 5 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT、NEU 百分数均明显升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ );与模型 10 天组比较,灸后 10 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT 均明显升高( $P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ );与模型 15 天组比较,灸后 15 天组 WBC、RBC、HGB、HCT 均明显升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.01$ )。与灸后即刻组比较,灸后 5 天组 WBC 明显升高( $P < 0.01$ ),NEU 百分数明显降低( $P < 0.05$ );灸后 10 天组 WBC、RBC、HGB、HCT 升高,LYM 百分数、NEU 百分数明显降低

( $P < 0.05, P < 0.01$ );灸后 15 天组 WBC 明显升高,NEU 百分数明显降低( $P < 0.01$ )。与灸后 5 天组比较,灸后 10 天组 WBC、RBC、HGB、HCT 均显著升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),LYM 百分数明显降低( $P < 0.05$ );灸后 15 天组 NEU 百分数较灸后 5 天组明显降低( $P < 0.05$ )。与灸后 10 天组比较,灸后 15 天组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT 均显著降低( $P < 0.05$ ),LYM 百分数显著升高( $P < 0.05$ )。MONO、EOS 及 BASO 百分数各组间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2 各组 IgG、IgM 水平比较(表 2) 与空白组比较,模型各时间组 IgG、IgM 明显降低( $P < 0.01$ )。与模型即刻组比较,灸后即刻组 IgG、IgM 均有不同程度的升高( $P < 0.05$ );与模型 5 天组比较,灸后 5 天组 IgG、IgM 均有不同程度的升高( $P < 0.05$ );与模型 10 天组比较,灸后 10 天组 IgG、IgM 明显升高( $P < 0.01$ );与模型组 15 天比较,灸后 15 天组 IgG 有升高趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),IgM 明显升高( $P < 0.05$ )。与灸后即刻组、灸后 5 天组比较,灸后

表 1 各组 WBC、RBC、HGB、HCT、PLT 及 LYM、NEU、MONO、EOS、BASO 百分数水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	WBC ( $\times 10^{12}/L$ )	RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	HGB (g/L)	HCT (%)	PLT ( $\times 10^{12}/L$ )
空白	10	8.21 $\pm$ 1.08	6.25 $\pm$ 0.78	134.11 $\pm$ 14.98	39.74 $\pm$ 2.45	547.60 $\pm$ 126.20
模型即刻	10	3.66 $\pm$ 0.54*	4.25 $\pm$ 0.76*	95.50 $\pm$ 17.02*	29.12 $\pm$ 4.57*	357.00 $\pm$ 26.82*
模型 5 天	10	3.57 $\pm$ 1.01*	4.26 $\pm$ 0.76*	96.39 $\pm$ 17.83*	29.15 $\pm$ 4.64*	346.90 $\pm$ 124.51*
模型 10 天	10	3.67 $\pm$ 2.18*	4.29 $\pm$ 0.73*	96.98 $\pm$ 15.30*	29.17 $\pm$ 4.79*	355.83 $\pm$ 166.80*
模型 15 天	10	4.18 $\pm$ 1.19*	4.30 $\pm$ 0.49*	97.44 $\pm$ 7.49*	29.53 $\pm$ 2.47*	365.25 $\pm$ 79.62*
灸后即刻	10	5.54 $\pm$ 0.91 $\Delta\Delta$	4.93 $\pm$ 0.84 $\Delta$	114.94 $\pm$ 17.30 $\Delta$	33.51 $\pm$ 4.77 $\Delta$	508.50 $\pm$ 193.09 $\Delta$
灸后 5 天	10	7.95 $\pm$ 2.02 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle$	5.08 $\pm$ 0.65 $\Delta$	115.70 $\pm$ 15.38 $\Delta\Delta$	33.52 $\pm$ 3.99 $\Delta$	510.14 $\pm$ 103.52 $\Delta\Delta$
灸后 10 天	10	9.35 $\pm$ 1.46 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle\circ$	6.19 $\pm$ 0.49 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle\circ\circ$	131.63 $\pm$ 8.03 $\Delta\Delta\Delta\circ$	38.36 $\pm$ 2.61 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle\circ\circ$	539.30 $\pm$ 98.48 $\Delta\Delta$
灸后 15 天	10	7.78 $\pm$ 1.18 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle\bullet$	5.38 $\pm$ 0.58 $\Delta\Delta\bullet$	117.00 $\pm$ 12.56 $\Delta\bullet$	34.39 $\pm$ 3.73 $\Delta\bullet$	430.30 $\pm$ 96.10 $\bullet$
F 值		23.47	11.6	8.36	9.43	3.95
P 值		0	0	0	0	0

  

组别	n	LYM 百分数 (%)	NEU 百分数 (%)	MONO 百分数 (%)	EOS 百分数 (%)	BASO 百分数 (%)
空白	10	22.28 $\pm$ 6.99	72.01 $\pm$ 7.69	3.54 $\pm$ 1.32	0.04 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.20
模型即刻	10	53.10 $\pm$ 11.75*	52.08 $\pm$ 8.14*	5.99 $\pm$ 1.57	0.08 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.07
模型 5 天	10	55.73 $\pm$ 14.71*	49.99 $\pm$ 11.72*	8.51 $\pm$ 2.15	0.09 $\pm$ 0.05	0.27 $\pm$ 0.12
模型 10 天	10	59.68 $\pm$ 9.08*	52.38 $\pm$ 22.66*	7.55 $\pm$ 4.01	0.08 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.22
模型 15 天	10	56.87 $\pm$ 17.18*	54.69 $\pm$ 23.81*	7.02 $\pm$ 3.77	0.04 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.12
灸后即刻	10	39.76 $\pm$ 11.23 $\Delta\Delta$	78.45 $\pm$ 5.50 $\Delta\Delta$	2.34 $\pm$ 1.08	0.04 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.08
灸后 5 天	10	33.69 $\pm$ 12.15 $\Delta\Delta$	63.20 $\pm$ 10.66 $\Delta\Delta\blacktriangle$	4.58 $\pm$ 1.23	0.02 $\pm$ 0.01	0.30 $\pm$ 0.15
灸后 10 天	10	23.52 $\pm$ 5.51 $\Delta\Delta\Delta\blacktriangle\circ$	58.80 $\pm$ 10.15 $\Delta\Delta\blacktriangle$	4.87 $\pm$ 1.11	0.02 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.07
灸后 15 天	10	32.92 $\pm$ 12.06 $\Delta\Delta\bullet$	48.90 $\pm$ 11.92 $\Delta\Delta\circ$	5.42 $\pm$ 1.51	0.03 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.04
F 值		12.9	4.61	0.64	1.07	0.51
P 值		0	0	0.74	0.39	0.84

注:与空白组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组同时间点比较, $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$ ;与灸后即刻组比较, $\blacktriangle P < 0.05, \blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ ;与灸后 5 天组比较, $\circ P < 0.05, \circ\circ P < 0.01$ ;与灸后 10 天组比较, $\bullet P < 0.05$

10 天组 IgG、IgM 明显升高 ( $P < 0.05$ )。与灸后 10 天组比较,灸后 15 天组 IgG、IgM 明显降低 ( $P < 0.05$ )。

表 2 各组 IgG、IgM 水平比较 (mg/dL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IgG	IgM
空白	10	40.29 ± 9.62	3.96 ± 1.25
模型即刻	10	22.21 ± 7.21*	1.86 ± 0.18*
模型 5 天	10	23.42 ± 8.36*	1.91 ± 0.22*
模型 10 天	10	24.12 ± 2.19*	1.96 ± 0.30*
模型 15 天	10	25.04 ± 8.00*	1.98 ± 0.31*
灸后即刻	10	30.64 ± 9.38 <sup>△</sup>	2.84 ± 0.91 <sup>△</sup>
灸后 5 天	10	31.26 ± 6.85 <sup>△</sup>	2.85 ± 0.53 <sup>△</sup>
灸后 10 天	10	39.23 ± 9.12 <sup>△△▲○</sup>	3.73 ± 0.89 <sup>△△▲○</sup>
灸后 15 天	10	30.79 ± 8.22 <sup>●</sup>	2.74 ± 0.69 <sup>●</sup>
F 值		5.75	9.72
P 值		0.00	0.00

注:与空白组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组同时时间点比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$ ;与灸后即刻组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$ ;与灸后 5 天组比较,<sup>○</sup> $P < 0.05$ ;与灸后 10 天组比较,<sup>●</sup> $P < 0.05$

3 各组 C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>水平比较(表 3) 与空白组比较,模型即刻组、模型 5 天组 C<sub>3</sub>显著降低( $P < 0.01$ ),C<sub>4</sub>显著升高( $P < 0.05$ );模型 10 天组和模型 15 天组 C<sub>3</sub>降低( $P < 0.01$ ),而 C<sub>4</sub>有升高趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。隔药饼灸治疗后,与模型即刻组比较,灸后即刻组 C<sub>3</sub>明显升高( $P < 0.01$ );C<sub>4</sub>有降低趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型 5 天组比较,灸后 5 天组 C<sub>3</sub>明显升高( $P < 0.01$ ),C<sub>4</sub>明显降低( $P < 0.01$ )。与灸后即刻组比较,灸后 5 天组 C<sub>3</sub>明显升高,灸后 10 天组和灸后 15 天组 C<sub>3</sub>明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );灸后 5 天组、灸后 10 天组和灸后 15 天组 C<sub>4</sub>虽有降低趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与灸后 5 天组比较,灸后 10 天组、15 天组 C<sub>3</sub>明显降低( $P < 0.05$ );灸后 10 天组、15 天组 C<sub>4</sub>虽有降低趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 3 各组 C3、C4 水平比较 (mg/dL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	C3	C4
空白	10	1.18 ± 0.10	0.23 ± 0.04
模型即刻	10	0.52 ± 0.04**	0.28 ± 0.03*
模型 5 天	10	0.59 ± 0.01**	0.29 ± 0.00*
模型 10 天	10	0.66 ± 0.04**	0.27 ± 0.03
模型 15 天	10	0.67 ± 0.06**	0.27 ± 0.07
灸后即刻	10	0.76 ± 0.11 <sup>△</sup>	0.24 ± 0.07
灸后 5 天	10	0.92 ± 0.11 <sup>△▲</sup>	0.23 ± 0.05 <sup>△</sup>
灸后 10 天	10	0.68 ± 0.08 <sup>▲○</sup>	0.22 ± 0.04
灸后 15 天	10	0.63 ± 0.08 <sup>▲▲○</sup>	0.22 ± 0.04
F 值		48.50	2.54
P 值		0.00	0.02

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组同时时间点比较,<sup>△</sup> $P < 0.01$ ;与灸后即刻组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$ ,<sup>▲▲</sup> $P < 0.01$ ;与灸后 5 天组比较,<sup>○</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

灸法,古代称灸焫,是用艾绒或其他药物放在穴位上烧灼、熏熨,借其温热刺激与药物作用,温通气血、扶正祛邪、调整阴阳平衡来达到防治疾病目的的外治方法。艾灸具有双向调节机体免疫系统的功能,既能使紊乱的免疫功能得到调整,也能增强机体的防病抗病能力<sup>[13]</sup>。从免疫机制角度来讲,艾灸似乎是具有类似抗原的免疫作用,可激活、调节机体免疫机制<sup>[14]</sup>。隔药饼灸属于灸法中的间接灸,是集腧穴的特殊作用、药物有效成分的透皮吸收和艾绒燃烧时产生的热力三位一体相结合而产生的一种“综合效应”的疗法。本研究采用的药饼为六味地黄汤,该方为滋阴补肾之方,临床广泛应用于各科疾病。药理学研究发现,六味地黄汤组成药物及复方中均含有增强机体免疫功能的多种活性物质,这些活性成分对改善机体免疫功能均具有一定的协同作用<sup>[15]</sup>。临床及实验研究证实,六味地黄汤不仅可以作为免疫促进剂促进和增强机体的免疫功能,也可以对紊乱的免疫功能具有双向调节作用,且调节免疫的作用优于其类方<sup>[16,17]</sup>。因此,在本项目采用六味地黄汤作为药饼进行研究。研究中选取的穴位神阙、足三里、关元、脾俞和肾俞一直被认为是传统保健要穴,具有抗御病邪、维持人体阴阳平衡等双向调节作用<sup>[18]</sup>。关元亦称丹田,足三阴经、任脉之会,小肠之募穴,有温肾固精、补气回阳、通调冲任、理气和血之功效,为保健灸之要穴。神阙,属任脉,位于腹之中部,为中下焦之枢纽,有温补元阳、健运脾胃、复苏固脱之效。足三里是足阳明胃经合穴,也是全身强壮穴,具有扶正培元、补虚益气,提高机体免疫功能,是强身保健、延年益寿的重要穴位。背俞穴中脾俞和肾俞,可调补脾肾之气,两穴同用可达到补肾滋阴、健脾益气之功,进而增强先后天治本。诸穴合用,共奏补肾固本、扶正培元、健脾延年之效,从而提高机体的免疫力。

灸疗作用的最佳效应期是指从施灸开始达到最大灸疗效应所需的时间,对不同的治疗目的具有不同的最佳效应期,因此明确其最佳效应期有利于指导艾灸治疗,临床灸法疗程的选择及疗程间的间隔,提高临床疗效。实验研究发现,一次性隔盐壮灸“神阙”穴,小鼠的脾脏 NK 细胞活性在 24 h 之内迅速上升,48 h 后 NK 细胞活性有所下降,但还是显著高于对照组,其后 72 h 和 120 h 后恢复到原来水平<sup>[19]</sup>。有研究通过比较隔药灸脐法和隔淀粉灸脐法对功能性便秘患者的临床起效时间和疗效维持时间的差异,发现且隔药灸脐法治疗功能性便秘见效快,起效时间及疗效维持时

间优于隔淀粉灸脐法,隔药灸脐法治疗功能性便秘频次以一周两次为宜<sup>[20]</sup>。由此可见,如果灸疗时间过短,其灸疗效应达不到最佳效应,则不能达到最佳的治疗效果;如果灸疗时间长于其最佳效应期,不但不能增强疗效,反而可能使得施灸穴位产生疲劳而降低疗效。结合课题组前期的临床研究,本研究在灸后观察时间间隔选择上以 5 天为一观察时间点进行观察,观察灸后即刻、灸后 5、10、15 天隔药饼灸灸后效应的变化情况。

本研究通过设立了与隔药饼灸治疗后各观察点相对应不同时间点的模型组进行比较,发现自然病程恢复对免疫抑制兔模型的影响不明显。研究结果显示,隔药饼灸可以通过调节血细胞、免疫球蛋白和补体水平来调节环磷酰胺致免疫抑制兔的免疫功能,这与前期实验研究结果一致<sup>[4,12]</sup>。调节作用存在一定的时效关系,WBC、RBC、HGB、HCT、PLT、LYM 百分数及 IgG、IgM 在灸后 10 d 达到最佳效应期;NEU% 灸后即刻为最佳效应期;补体 C<sub>3</sub> 灸后 5 天为最佳效应期,补体 C<sub>4</sub> 灸后 5 天开始起效,直至灸后 15 天效应一直持续存在,表明隔药饼灸对不同的指标影响程度不同,影响各指标的最佳效应期也存在不同。从多项指标的变化趋势分析,灸治结束后即刻开始起效,灸治结束后 10 天达到最佳效应期,随后灸疗效应开始出现衰减。

时间是影响灸法疗效的一个重要因素,为深入研究隔药饼灸对机体免疫力调节过程中作用时间的变化规律,艾灸的效应期、后效应期及最大效应发挥的时间位点将是今后研究的重点,以期为临床隔药饼灸治疗免疫功能低下疾病疗程的选择及疗程间的间隔提供理论依据。在研究艾灸时效性的过程中,本研究在隔药饼灸治疗结束后效应观察时间点的选择上结合了前期临床研究,选择了 5 天作为间隔时间进行观察,在时间间隔的选择上存在一定的局限性。因此,今后在进一步研究中,应根据本项目研究的结果进一步增加或改变更多的时间间隔点,以便进一步明确其发挥最大效应的时间点,从而使得实验研究能更准确地指导临床治疗。

利益冲突:本文不存在利益冲突。

### 参 考 文 献

[1] Peng L, Wang Y, Chang X, et al. Effect of moxibustion heat stimulating Liangmen (ST 21) and Zusanli (ST 36) on proliferation and apoptosis signaling proteins in rats with stress-induced gastric ulcer [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 36(3): 340-346.

- [2] Fan Y, Yang Z, Wan M, et al. Effects of moxibustion therapy on preventing and treating side effects from chemotherapy of malignant tumor patients [J]. *J Acupunct Tuina Sci*, 2011, 9(6): 351-353.
- [3] 曹雪涛,何维主编. 医学免疫学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 65-66.
- [4] 吴爱花,单增天,田岳凤,等. 不同灸法对免疫抑制兔血细胞的影响 [J]. *山西中医学院学报*, 2015, 16(1): 19-20, 23.
- [5] 贾翠娜,李雷勇,田岳凤,等. 隔药饼灸不同灸量对模型兔血细胞及免疫球蛋白水平的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2017, 24(4): 50-53.
- [6] 宋·王执中. 针灸资生经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 12.
- [7] 郭义主编. 实验针灸学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 402-417.
- [8] 张俊, Shin Y, 胡安君, 等. 环磷酰胺致大鼠免疫抑制和免疫亢进模型的建立与评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(4): 395-400.
- [9] 钟金凤,方热军. 环磷酰胺免疫抑制机制及在动物模型上的应用 [J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(10): 1541-1546.
- [10] 张敏,李旭廷,曾富强,等. 当归补血汤对环磷酰胺所致家兔血细胞减少的影响 [J]. *四川畜牧兽医*, 2012, 39(12): 19-20, 23.
- [11] 齐丽娟,宋雁,王伟,等. 用环磷酰胺建立小鼠免疫抑制动物模型 [J]. *卫生研究*, 2010, 39(3): 313-315, 325.
- [12] 吴爱花. 隔药饼灸对免疫抑制兔免疫功能的影响 [D]. 太原: 山西中医学院, 2015.
- [13] 张传英,唐照亮. 艾灸调节机体免疫功能研究概况 [J]. *安徽中医学院学报*, 2009, 28(2): 60-62.
- [14] 袁娟,唐照亮. 艾灸调节免疫作用的研究进展 [J]. *安徽中医学院学报*, 2007, 26(2): 60-62.
- [15] 陈谦. 六味地黄丸的药理作用与临床应用探讨 [J]. *中国医药指南*, 2012, 10(21): 251-252.
- [16] 翟春涛,田岳凤. 六味地黄汤调节机体免疫功能的作用分析 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2017, 12(5): 598-601.
- [17] 李果,肖小河,金城,等. 六味地黄丸及其类方配伍规律的研究与进展 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(43): 174-176.
- [18] 金韩泉. 针灸保健的古今文献研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [19] 韩媛媛. 隔药灸脐法治疗功能性便秘时效关系的观察 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [20] 欧阳群,曹巧莉,曹玛丽,等. 隔盐壮灸神阙穴对机体免疫功能的影响 [J]. *上海针灸杂志*, 1992, 11(3): 27-29.

(收稿: 2017-10-09 在线: 2018-07-09)

责任编辑: 汤 静