

药物研究

“醋三棱-醋莪术”组分配伍对大鼠卵巢囊肿组织中 IL-1β、TNF-α、C₃ 的影响^{*}

徐秋霞 沈东成 余舒鹏 倪 章 余成浩^{**}
(成都中医药大学,四川 成都 610075)

摘要:目的 研究“醋三棱-醋莪术”组分配伍对大鼠卵巢囊肿的药理作用机制。方法 采用芥子油单侧卵巢注射法复制大鼠卵巢囊肿模型,运用酶联免疫吸附法(Elisa)测定空白组、模型对照组、阳性对照组、醋三棱-醋莪术高、中、低剂量组大鼠卵巢组织中白细胞介素 IL-1β、肿瘤坏死因子 TNF-α 和补体 C₃ 的浓度。结果 醋三棱-醋莪术高、中剂量组能明显降低卵巢中 IL-1β、TNF-α 的浓度,C₃ 浓度虽有降低,但无统计学意义。结论 “醋三棱-醋莪术”组分配伍对卵巢囊肿大鼠具有治疗作用,该病发病机制可能与卵巢中 IL-1β、TNF-α 的浓度有关。

关键词:卵巢囊肿;三棱;莪术;组分配伍;作用机理
中图分类号: R 285.6 文献标识码: A 文章编号: 1672-0571(2016)03-0071-03
DOI:10.13424/j.cnki.mtcm.2016.03.029

Effects of IL-1β, TNF-α, C3 in Ovarian Cysts Rats with Vinegar Prepared Sanleng-Ezhu's Component Compatibility

Xu Qiuxia, Sheng Dongcheng, Yu Shupeng, Ni Zhang, Yu Chenghao
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract Objective: To observe the therapeutic action of Sanleng-Ezhu prepared with vinegar component compatibility on model rats with Ovarian cysts. **Methods:** The model of Ovarian cysts was established with injection of mustard oil to rats one side ovary. IL-1β, TNF-α and C3 expression was detected by Elisa method in blank control group, model control group, positive control group, Sanleng-Ezhu prepared with vinegar component High-dose group, dose group, and Low-dose group **Results:** Sanleng-Ezhu prepared with vinegar component High-dose group and dose group could significantly reduce the concentration of IL-1β, TNF-α in ovary. But there was no statistically significant about the reducing C3 concentration. **Conclusion:** Sanleng-Ezhu with vinegar component compatibility can treat ovarian cysts rats, and pathogenesis of ovarian cysts may be related to IL-1β and TNF-α concentrations in ovarian.

Keywords Ovarian cysts; Sanleng; Ezhu; Component compatibility; Mechanism

卵巢囊肿是育龄期妇女的常见病,中医学多属 癥,常相须为用,治疗“癥瘕”“积聚”等证^[1]。本实验主要探讨“醋三棱-醋莪术”组分配伍对卵巢囊
“癥瘕”“积聚”。三棱、莪术具有破血行气、逐瘀消

^{*} 基金项目:四川省中医药管理局项目(2014K073);四川省科技厅项目(2015JY0215);成都市科技局计划项目(12DXYB297JH-002);四川省人力资源和社会保障厅学术和技术带头人培养项目(003099013002)
^{**} 通讯作者:余成浩(1976-),男(汉族),教授,方剂学博士,主要从事实验方剂学教学科研工作、药理毒理等新药开发研究工作。E-mail:yuholy@126.com

肿大鼠模型的防治作用。

1 材料

1.1 实验药物 醋莪术,批号:130203a;醋三棱,批号:140318a,四川科伦天然药业有限公司。桂枝茯苓胶囊,每粒装 0.31g,批号 130910,江苏康缘药业股份有限公司。

药物制备:①醋三棱总黄酮的制备^[2]:取药材适量,加乙醇提取,回收乙醇。用石油醚对浓缩液进行脱脂,脱脂后的样品进行聚酰胺柱层析。先用蒸馏水洗脱,然后用乙醇洗脱,将洗脱液回收乙醇,配制成 1g 生药/mL 的溶液,加吐温-80 配成乳化剂,4℃冰箱保存。醋莪术挥发油的制备:取适量药材,加入适量的自来水,按水蒸气蒸馏法进行提取,配制成 1g 生药/mL 的溶液,加吐温-80 配成乳化剂,4℃冰箱保存。③醋三棱总黄酮-醋莪术挥发油 1:1 配伍:将总黄酮与挥发油按 1:1 进行混合,制成三棱-莪术组分配伍药液,4℃冰箱保存。

1.2 实验动物 SD 大鼠,成年雌性,200±20g,实验动物许可证号:SCXK(川)2013-24,由成都达硕生物科技有限公司提供。检疫后备用。

1.3 试剂 芥子油,平乡县天邦调味食品有限公司。白介素 1β 酶联免疫分析试剂盒,北京永辉生物科技有限公司,批号:Rr0187XL。肿瘤坏死因子 α 酶联免疫分析试剂盒,北京永辉生物科技有限公司,批号:Rr0359XL。补体蛋白 3 酶联免疫分析试剂盒,北京永辉生物科技有限公司,批号:Rr0442XL。

1.4 仪器 酶标仪(型号:Multiskan Mk3,赛默飞世尔仪器有限公司),优普超纯水制造系统(型号:UPH-II-10T,成都超纯科技有限公司),电子恒温水浴锅(型号 DZKW-4,北京中兴伟业仪器有限公司),手提式不锈钢压力蒸汽灭菌器(型号:SYQ-DSX-280B,上海申安医疗器械厂)。

1.5 实验方法 将雌性成年大鼠随机分为空白对照组、模型对照组、阳性对照组、“醋三棱-醋莪术”组分配伍高、中、低剂量组。除空白组外,其余各组参照 Wesselmann 等方法,采用 9%芥子油 0.1 mL 单侧卵巢注射法复制大鼠卵巢囊肿模型^[3-5]。造模成功后,分别灌胃生理盐水 1 mL/100g,生理盐水 1 mL/100g,桂枝茯苓胶囊药液 0.9g/kg,醋三棱-醋莪术高剂量组(3.33+3.33)g 生药/kg、醋三棱-醋莪术中剂量组(1.67+1.67)g 生药/kg、醋三棱-醋

莪术低剂量组(0.83+0.83)g 生药/kg,每周 6 次,连续 8 周,末次给药后,测定以下指标。

1.5.1 卵巢中 IL-1β、TNF-α、C₃ 含量测定 酶联免疫吸附法(Elisa)测定大鼠卵巢组织匀浆液中 IL-1β、TNF-α、C₃ 含量,按试剂盒说明书操作。

1.5.2 统计学方法 实验结果以 $\bar{x} \pm SD$ 表示。应用 SPSS19.0 进行统计分析,采用单因素方差(One-wayANOVA)分析。组间两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为具有显著差异, $P < 0.01$ 为具有极显著差异。

2 结果

2.1 对卵巢组织中 IL-1β 的影响 空白对照组与模型对照组比较,大鼠卵巢组织中 IL-1β 浓度显著升高,具有统计学意义。与模型对照组比较,阳性对照组、醋三棱-醋莪术高、中剂量组 IL-1β 浓度显著降低,具有统计学意义,见表 1。

表 1 实验对大鼠卵巢组织中 IL-1β 的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	动物(n)	剂量(g/kg)	IL-1β 浓度(pg/mL)
空白对照组	10	-	5.47±0.33
模型对照组	10	-	8.72±1.49**
阳性对照组	6	0.90	5.58±0.54 ^{##}
醋三棱-醋莪术高	10	3.33+3.33	6.20±0.67 [#]
醋三棱-醋莪术中	8	1.67+1.67	6.11±0.44 [#]
醋三棱-醋莪术低	8	0.83+0.83	7.14±0.89

注:空白组与模型比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;其余组与模型组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ (下同)。

2.2 对卵巢组织中 TNF-α 的影响 空白对照组与模型对照组比较,大鼠卵巢组织中 TNF-α 浓度显著升高,具有统计学意义。与模型对照组比较,阳性对照组、醋三棱-醋莪术高、中剂量组 TNF-α 浓度显著降低,具有统计学意义,见表 2。

表 2 实验对大鼠卵巢组织中 TNF-α 的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	动物(n)	剂量(g/kg)	TNF-α 浓度(ng/L)
空白对照组	10	-	225.65±9.06
模型对照组	10	-	251.81±16.62**
阳性对照组	6	0.90	231.15±12.92 ^{##}
醋三棱-醋莪术高	10	3.33+3.33	226.03±16.84 ^{##}
醋三棱-醋莪术中	8	1.67+1.67	228.88±12.28 ^{##}
醋三棱-醋莪术低	8	0.83+0.83	245.55±21.83

2.3 对卵巢组织中 C₃ 的影响 模型对照组与其他各组比较(除空白对照组),卵巢(下转第 76 页)

[4]张艳,明亮,王瑜,等.白芍总苷的抗惊厥作用[J].中国药理学通报,1994,10(5):372-374.

[5]张利.白芍的药理作用及现代研究进展[J].中医临床研究,2014,29(5):25-26.

[6]王巧,刘荣霞,郭洪祝,等.加工炮制对白芍化学成分的影响[J].中国中药杂志,2006,31(17):1418-1421.

[7]尹宁宁,徐华玲,徐丽华,等.白芍中芍药苷含量测定影响因素的实验研究[J].中国医药导报,2006,6(11):43-44.

[8]黄罗生,郭建新.不同干燥和炮制方法对白芍中芍药苷

含量的影响[J].中国医药导报,2003,17(5):28-29.

[9]张瑜,唐志书,张岗,等.白芍中芍药苷提取方法的比较研究[J].现代中医药,2013,33(1):84-86.

[10]王秋玲,王文全,魏胜利,等.不同加工方法对栽培和野生芍药中7中化学成分的影响研究[J].中国中药杂志,2012,37(7):920-924.

[11]王秋玲.赤芍与白芍质量差异及其形成机制研究[D].北京:北京中医药大学,2012:5.

(投稿时间:2016-01-06 编辑:文颖娟)

(上接第72页)组织中C₃浓度虽有降低,但无统计学意义,见表3。

表3 实验对大鼠卵巢组织中C₃的影响 ($\bar{x}\pm SD$)

组别	动物(n)	剂量(g/kg)	C ₃ 浓度(μg/mL)
空白对照组	10	-	796.31±34.74
模型对照组	10	-	792.36±36.20
阳性对照组	6	0.90	774.17±65.88
醋三棱-醋莪术高	10	3.33±3.33	781.21±71.40
醋三棱-醋莪术中	8	1.67±1.67	768.54±57.81
醋三棱-醋莪术低	8	0.83±0.83	794.32±39.39

3 讨论

卵巢囊肿属妇科良性肿瘤,易影响妇女生育及身心健康,卵巢囊肿在中医学上多属“癥瘕”范畴,其病机多为气滞血瘀^[6-7]。TNF-α由单核-巨噬细胞分泌,主要参与细胞免疫激活作用,IL-1β主要参与免疫应答与炎症反应^[8],且在卵子发育、成熟及排卵过程中发挥重要作用^[9],本研究在大鼠卵巢囊肿造模成功后,大鼠卵巢组织中TNF-α、IL-1β浓度显著升高。因此,表明IL-1β、TNF-α的表达与卵巢的生理功能、病理变化关系密切。

“三棱、莪术性近,而以治女子瘀血,虽坚如铁石亦能徐徐消除”^[10],自古三棱、莪术是治疗女子癥瘕的常用药对。本实验“醋三棱-醋莪术”高、中剂量组大鼠卵巢组织中IL-1β、TNF-α的浓度显著低于模型组,提示“醋三棱-醋莪术”组分配伍对卵巢囊肿的防治可能与降低卵巢囊肿大鼠卵巢组织中炎性细胞因子的表达有关。此外,C₃浓度虽有降低,但无统计学意义,可初步推断C₃对卵巢囊肿的发病机制作用不明显,但仍需做进一步的研究。本实验结果表明“醋三棱-醋莪术”组分配

伍对卵巢囊肿有一定的防治作用,为临床应用提供了科学依据。

参考文献

[1]余成浩,彭腾,杜洁,等.“三棱-莪术”组分配伍对大鼠子宫肌瘤的影响[J].中药药理与临床,2014,30(3):104-107.

[2]林琪宇,苏湘耘,杨菁,等.三棱总黄酮的提取工艺研究[J].时珍国医国药,2013,24(12):2840-2841.

[3]Wesselmann U, Lai J. Mechanisms of referred visceral pain: uterine inflammation in the adult virgin rat results in neurogenic plasma extravasation in the skin [J]. Pain, 1997,73(3):309.

[4]王少军.卵巢-体表的相关性与经穴关系的研究[J].中国针灸,2007,27(10):761-765.

[5]彭心.温针扬刺法对卵巢囊肿模型大鼠性激素及SOD的影响研究[D].武汉:湖北中医药大学,2013.

[6]司富春,张丽.中医治疗卵巢囊肿证型、症状和方药分析[J].中医研究,2011,24(8):20-23.

[7]刘芳,刘婧,商越,等.近10年针灸治疗围绝经期综合征研究概况[J].陕西中医学院学报,2015,38(3):123-125.

[8]Cao X, Yang D, Song M, et al. The presence of endometrial cells in the peritoneal cavity enhances monocyte recruitment and induces inflammatory cytokines in mice: implications for endometriosis. Fertil Steril, 2004, 82 [Suppl 3]:999-1007.

[9]许海.50例卵巢癌患者IL-1β分子生物学表达的相关性研究[J].现代肿瘤医学,2012,20(3):593-594.

[10]柳西河,李朝晖,董印宏,等.重订医学衷中参西录[M].北京:人民卫生出版社,2006.

(投稿时间:2015-10-21 编辑:文颖娟)