

温胆汤对精神分裂症模型鼠免疫调节及抗氧化的影响^{*}

★ 万红娇^{1,2**} 杨翠萍¹ 贺又舜² 叶荷平¹ 朱金华¹ 王敏璋¹ (1.江西中医学院 南昌 330006;2.湖南中医药大学 长沙 410007)

摘要:目的:探讨温胆汤对精神分裂症模型鼠的免疫调节及氧自由基损伤的保护作用。方法:随机将30只SD大鼠分为3组:正常组、模型组、温胆汤组。灌胃给药21d,最后3d腹腔注射盐酸阿朴吗啡(APO)建立精神分裂症的动物模型。最后一次造模1h后取血检测白介素2(IL-2)和超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的变化;测定小鼠胸腺和脾脏指数;并进行大鼠刻板行为评分。结果:温胆汤给药后大鼠血浆中IL-2的含量明显高于模型组($P<0.05$)。胸腺和脾脏指数差异较模型组有显著性($P<0.05$);血浆SOD、MDA含量较模型组差异有显著性($P<0.05$);大鼠刻板行为不同程度受到抑制($P<0.05$)。结论:温胆汤能有效地提高精神分裂症模型鼠免疫调节的能力,对氧自由基引起的损伤具有保护作用,并具有对抗APO引起的刻板行为的作用。

关键词:温胆汤;精神分裂症;大鼠;免疫调节;氧自由基

中图分类号:R 749.3 **文献标识码:**A

Effect of Wendan Decoction on Immunoregulation And anti-oxidize in Rats with Schizophrenia

WAN Hong-jiao^{1,2}, YANG Cui-ping¹, HE You-shun², YE He-ping¹, ZHU Jin-hua¹, WANG Min-zhang¹

1. Jiangxi University. of TCM, Nanchang 330006

2. TCM University. of Hunan, Changsha 410007

Abstract: Objective: To explore the protective effect of Wendan Decoction (WDD) on immunoregulation and oxygen free radicals in rats with schizophrenia. Methods: 30 SD rats were divided into 3 groups: treatment group with WDD, modeling group and normal group. Except the control group, each group was administrated intragastrically with corresponding drug for 21 days. During the last 3 days, the schizophrenia model was set by intraperitoneal injection with Apomorphine Hydrochloride (APO). After 1 hour of last administration, the level of interleukin-2 (IL-2), the content changes of Superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in blood plasma as well as the indices of thymus and spleen were measured. And the stereotyped behaviors scores of rats were recorded. Results: After the administration, the contents of IL-2 in three treatment groups were obviously higher than that in modeling group ($P<0.05$); Compared with the modeling group, the difference of thymus and spleen indices Wendan Decoction groups was significant ($P<0.05$); And compared with the modeling group, the difference of the content of SOD and MDA in Wendan Decoction was significant ($P<0.05$). The stereotyped behaviors of rats were inhibited in different degrees ($P<0.05$). Conclusion: Wendan Decoction can effectively enhance the immunoregulation ability of rats with schizophrenia and has protective effect on the oxygen free radicals-induced injury as well as the anti-effect to the stereotyped behaviors induced by APO.

Key words: Wendan Decoction; schizophrenia; rat; immunoregulation; oxygen free radicals

温胆汤具有理气化痰,清胆和胃的功效,临床治疗疾病的范围十分广泛,其中以癫狂为著^[1],癫狂为现代医学的精神分裂症。癫狂的病因,大都为七

情所伤,病理多为脏腑功能失调,痰浊聚结^[2]。温胆汤是一首化痰经典名方,临床用治“无形之痰”所致的精神疾患,疗效得到肯定^[3~5]。本实验主要探

* 基金项目:江西省卫生厅资助项目(2006A34);江西省教育厅科技项目(赣教技字[2007]253)

** 作者简介:万红娇,女,43岁,教授,硕士生导师,在读博士,主要从事中药配伍的作用机理研究。

讨论温胆汤对精神分裂症模型鼠免疫调节及氧自由基损伤的保护作用,证实该药抗精神分裂症的作用效果,为临床推广应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

清洁级 SD 大鼠,雌性,(200±20) g,30 只,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,饲养环境温度(25±1)℃,自然光照,给予充足的饮水和摄食,适应 5 d 后开始实验。随机分为 3 组:正常组、模型组和温胆汤组,每组 10 只。

1.2 药物与试剂

1.2.1 中药汤剂制备 温胆汤组方(全国高等中医院校《方剂学》教材 1997 年版):半夏 10 g,茯苓 30 g,竹茹 10 g,枳实 10 g,陈皮 10 g,甘草 6 g,每剂含生药 76 g,由江西省中医院中药房提供。经鉴定合格,各药物先加水浸泡 30 min,煎加药材量的 8 倍的水,沸腾后煎 40 min,过滤取汁,二煎加药材量的 6 倍的水,沸腾后煎 30 min,过滤两煎所得滤液混合后按 1:1 浓缩,4℃冰箱保存备用。

1.2.2 试剂 盐酸阿朴吗啡(APO):美国 SIGMA 公司生产。白介素-2(IL-2)试剂盒(ELISA 法),美国原装进口,上海天呈科技有限公司提供。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 主要仪器

电子分析天平:Sartorius BS124s,德国赛多利斯;高速冷冻离心机:湖南仪器仪表总厂离心机厂,TGL-16 型;离心机:Anke-TDL-5,CENTRIFUGE;紫外分光光度计:UV-2550,日本岛津;RS-323C 酶标仪:Manufactured in Finland by Lab system。

1.4 给药方法^[6] 温胆汤组采用灌胃给药,给药容积 20 ml/kg,1 次/d,共 21 d;正常组和模型组用等容量生理盐水灌胃。

1.5 动物模型的建立^[7] 动物适应饲养环境 5 d 后进行实验,给药 21 d,除正常组外,其它两组大鼠最后 3 d 给药 1 h 后,左侧腹腔注射 40% 的 APO,按

5 ml·kg⁻¹体重的剂量注射,诱发 SD 大鼠精神分裂症模型。正常组予以生理盐水腹腔注射。

1.6 观察指标

1.6.1 一般情况 实验期间观察记录动物行为活动、外观体征、粪便性状等。

1.6.2 刻板行为评分 每组大鼠均于末次给药 1 h 后腹腔注射 APO 后观察刻板行为,每隔 10 min 评分 1 次,共观察 60 min^[7]。

评分级别	症状
0	与生理盐水作用无区别
1	动物不连续的闻,常伴有兴奋活动
2	动物连续闻,头稍有活动,伴有周期性兴奋活动
3	动物连续闻,头部活动多,伴有不连续的咬、啃、舔动作
4	动物连续咬、啃、舔,无兴奋活动期,有时全身迅速移动

1.6.3 血液指标测定 最后一次造模 1 h 后处死大鼠,股动脉剪开取全血和血浆,测定 IL-2 的含量,并测定 SOD、MDA 含量的变化,按试剂盒说明书操作。

1.6.4 脾脏指数和胸腺指数检测 测定大鼠体重、胸腺和脾脏重量。按照公式求大鼠的胸腺指数和脾脏指数。

胸腺指数 = 胸腺重量/大鼠体重 × 100%;脾脏指数 = 脾脏重量/大鼠体重 × 100%

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS13.0 统计软件先进行方差齐性检验,方差齐则应用单因素方差分析(One-Way ANOVA)及两两 q 检验;方差不齐则作多组样本秩和检验,进而作秩和 q 检验。

2 结果

2.1 一般情况

整个给药期间未见动物死亡,造模前大鼠行为活动未见异常,外观体征、粪便性状均正常。

2.2 刻板行为评分

模型组 10 只大鼠造模后均出现了闻、咬、舔等刻板行为,活动十分明显,而正常组大鼠无此运动,说明造模成功。与模型组比较,温胆汤组大鼠刻板行为在 20 min 后受到抑制($P < 0.05$),说明温胆汤具有对抗 APO 引起的刻板行为的作用。见表 1。

表 1 各组大鼠的刻板行为评分($n = 10$)

组别	腹腔注射 APO 后时间	刻板行为评分				
		10 min	20 min	30 min	40 min	50 min
正常组		0.0±0.000●	0.0±0.000●	0.0±0.000●	0.0±0.000●	0.0±0.000●
模型组		2.7±0.483*	2.8±0.422*	3.0±0.000*	2.9±0.316*	2.6±0.699*
温胆汤组		2.1±0.738*	1.6±0.966*●	1.4±0.966*●	0.8±0.422*●	0.5±0.527●

*:与正常组比较, $P < 0.05$;●:与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 血液检测结果

2.3.1 IL-2 检测 从表 2 可见模型组大鼠体内的

IL-2 含量明显减少,温胆汤组、正常组与模型组比较,IL-2 的含量增高,差异有显著性($P < 0.05$),温

胆汤能提高精神分裂症模型鼠血中 IL-2 的含量。

表2 各组大鼠血液 IL-2 的含量($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-2/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
正常组	10	$34.42 \pm 5.01^{\star}$
模型组	10	27.83 ± 3.03
温胆汤组	10	$31.54 \pm 2.31^{\star}$

注: $F=11.042, P<0.01$, 与模型组比较, $^{\star}P<0.01$ 。

2.3.2 SOD、MDA 检测 精神分裂症模型组大鼠体内的 SOD 含量明显低于正常组和温胆汤组;温胆汤组与模型组比较, SOD 值有一定程度的升高, 且差异有显著性($P<0.05$)。与模型组比较, 温胆汤组 MDA 含量下降, 差异有显著性($P<0.05$)。温胆汤对精神分裂症模型鼠有增强 SOD 活性、降低 MDA 的作用。见表3。

表3 各组大鼠血液 SOD、MDA 的含量

组别	鼠数	SOD/ $\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$
正常组	10	$47.87 \pm 4.22^{\star}$	$10.88 \pm 3.36^{\star}$
模型组	10	24.35 ± 3.76	16.37 ± 3.44
温胆汤组	10	$40.89 \pm 4.05^{\star}$	$12.83 \pm 2.34^{\star}$
F		68.734	5.435
P		0.000	0.003

* : 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.4 脏器指数

胸腺指数: 温胆汤组与模型组比较, 能有效的提高精神分裂症模型大鼠的胸腺指数($P<0.05$)。脾脏指数: 温胆汤组与模型组比较差异有显著性($P<0.05$)。见表4。

表4 各组大鼠的脏器指数

组别	鼠数	胸腺指数(%)	脾脏指数(%)
正常组	10	0.0012 ± 0.00021	$0.0021 \pm 0.00012^{\star}$
模型组	10	0.0011 ± 0.00041	0.0018 ± 0.00043
温胆汤组	10	$0.0014 \pm 0.00022^{\star}$	$0.0021 \pm 0.00024^{\star}$

* : 与模型组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

现代研究发现精神分裂症的发病与脑内多巴胺(DA)功能亢进密切相关, 精神分裂症患者脑内的 DA 存在不同程度的合成、代谢紊乱。我们前期已对温胆汤进行了临床与实验研究, 结果发现: 其具有镇静、镇痛、抗惊厥的作用, 并且发现温胆汤对动物脑神经递质有多方面的影响^[8,9]。本实验使用 DA 受体激动剂(APO)诱发 SD 大鼠精神分裂症模型, 未治疗的模型组出现明显的刻板行为, 大鼠连续咬、啃、舔, 有时全身迅速移动。而使用温胆汤组大鼠的刻板行为在 20 min 后受到抑制, 说明温胆汤具有对抗 APO 引起的刻板行为的作用, 可以推论温胆汤对

精神分裂症治疗是有效的。

Villemain 等(1987)用生物学方法检验 12 例精神分裂症患者的用促细胞分裂剂刺激 T 淋巴细胞培养基上清液中 IL-2 活性降低, Villemain 等(1989)对 16 例未服过药的精神分裂症患者再次检测 IL-2 活性得出同样的结论。Congulir 等(1992)对 122 例精神分裂症患者进行 IL-2 含量及自身抗体的检测, 也发现患者的 IL-2 含量减少^[10,11]。本实验亦发现精神分裂症模型组大鼠体内的 IL-2 含量明显减少, 温胆汤组 IL-2 的含量增高, 且温胆汤组大鼠的胸腺指数、脾脏指数与模型组比较也有所增高。说明温胆汤能提高精神分裂症模型鼠免疫调节的能力。

SOD 是直接清除氧自由基的专一酶, MDA 是氧化剂对脂肪酸、氧自由基等进行链接式反映的产物, SOD 的活力间接反应了机体清除氧自由基的能力, 而 MDA 的含量又间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度。本实验中模型组 SOD 含量明显较正常组和温胆汤组低, 脂质过氧化物(MDA)增多, 与其他学者报道的类似^[12], 用温胆汤治疗大鼠的 SOD 有一定程度的上升, 说明温胆汤能提高大鼠体内清除自由基的能力、减少体内的氧自由基积聚, 对精神分裂症模型鼠的氧化损伤有一定的保护作用。

参考文献

- [1] 万红娇, 朱东海, 贺又舜. 温胆汤的临床应用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(3): 704-706.
- [2] 赵田雍, 汪卫东. 癫. 狂. 病[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1995, 54
- [3] 刘旭. 温胆汤治疗精神病 25 例临床疗效观察[J]. 甘肃中医学院学报, 1991, (2): 30.
- [4] 张建平, 段玉琴. 温胆汤治疗精神病的临床体会[J]. 内蒙古中医药, 1996, (3): 34.
- [5] 范国香, 李辉, 韩英. 中药治疗精神分裂症 64 例疗效观察[J]. 中国误诊学杂志, 2005, 5(6): 1090.
- [6] 刘春文, 谢俊霞. 精神分裂症模型大鼠伏核和纹状体多巴胺含量的检测及氟哌啶醇的影响[J]. 中国行为医学科学, 2001, (10): 281.
- [7] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 856
- [8] 贺又舜, 袁振仪, 瞿延晖, 等. 温胆汤镇静镇痛抗惊厥的实验研究[J]. 中国中医药科技, 1997, 4(4): 226.
- [9] 傅俊英, 贺又舜, 袁振仪, 等. 温胆汤对小鼠整体行为影响的实验研究[J]. 湖南中医学院学报, 1999, 19(1): 7.
- [10] 张向阳, 周东丰. 精神分裂症的免疫学研究进展[M]. 国外医学精神病学分册, 1995, 22(2): 74.
- [11] 曾常茜, 杨蜜, 尹学念, 等. 精神分裂症的免疫学实验研究[J]. 中国神经精神疾病杂志, 1997, 23(2): 121.
- [12] 高永利, 袁亚文, 刘小彩. 石杉碱甲片对精神分裂症动物模型大鼠的记忆力和抗氧化酶的影响[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2005, 31(2): 136.

(收稿日期: 2008-03-31)