

## 补肾解毒方对放射后小鼠血清白细胞介素6、白细胞介素10和外周血白细胞的影响

余雷<sup>1</sup>, 杨云霜<sup>1</sup>, 曹慧敏<sup>2</sup>, 李延晖<sup>1</sup>, 邹梦颖<sup>1</sup>, 刘晓辰<sup>1</sup>, 张蓉<sup>3</sup>

(1. 火箭军特色医学中心中医与康复医学科, 北京 100088; 2. 苏州大学, 江苏苏州 215000;  
3. 火箭军特色医学中心医研部, 北京 100088)

**摘要:**【目的】探讨补肾解毒方对小鼠放射损伤的防护作用。【方法】将72只小鼠随机分为空白对照组、单纯放射组、放射+中药组, 每组24只。饲养3 d后开始给药, 放射+中药组给予补肾解毒方汤剂灌胃, 空白对照组和单纯放射组给予等体积生理盐水灌胃。在实验开始后第11天, 除空白对照组外所有小鼠均接受一次性4 Gy <sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线全身照射, 照射后各组每日继续灌胃至实验结束, 方法同前。共灌胃25 d。并于照射后第1、7、14天, 应用酶联免疫吸附分析(ELISA)检测血清白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素10(IL-10)水平, 应用全自动生化仪检测外周血白细胞数。【结果】照射后第1天, 单纯放射组血清IL-6水平高于空白对照组( $P < 0.01$ ), IL-10水平组间无差异( $P > 0.05$ ), 单纯放射组和放射+中药组白细胞水平低于空白对照组( $P < 0.01$ ), 而放射+中药组白细胞水平高于单纯放射组( $P < 0.01$ ); 照射后第7天, 单纯放射组血清IL-6水平高于空白对照组和放射+中药组(均 $P < 0.01$ ), 放射+中药组血清IL-10水平高于空白对照组( $P < 0.01$ ), 单纯放射组和放射+中药组白细胞水平低于空白对照组( $P < 0.01$ ), 而放射+中药组白细胞水平高于单纯放射组( $P < 0.05$ ); 照射后第14天, 单纯放射组IL-6水平高于空白对照组和放射+中药组(均 $P < 0.01$ ), IL-10水平组间无差异( $P > 0.05$ ), 单纯放射组白细胞水平低于空白对照组( $P < 0.01$ )。【结论】补肾解毒方可通过下调血清IL-6水平, 提升血清IL-10水平, 并减轻放射所致的白细胞数减少, 发挥抗炎抗损伤作用, 提高放射后小鼠的免疫力。

**关键词:** 补肾解毒方; 放射损伤; 白细胞介素6; 白细胞介素10; 白细胞; 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)12-2737-05

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.12.031

## Effects of Kidney-Nourishing and Toxins-Removing Recipe on Serum Interleukin 6, Interleukin 10 and Peripheral Blood Leukocytes of Mice after Radiation

YU Lei<sup>1</sup>, YANG Yun-Shuang<sup>1</sup>, CAO Hui-Min<sup>2</sup>, LI Yan-Hui<sup>1</sup>,  
ZOU Meng-Ying<sup>1</sup>, LIU Xiao-Chen<sup>1</sup>, ZHANG Rong<sup>3</sup>

(1. Dept. of Traditional Chinese Medicine and Rehabilitation Medicine, Chinese People's Liberation Army Rocket Force Characteristic Medical Center, Beijing 100088, China; 2. Dept. of Medical Affairs, Chinese People's Liberation Army Rocket Force Characteristic Medical Center, Beijing 100088, China; 3. Soochow University, Suzhou 215000 Zhejiang, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the protective effect of Kidney-Nourishing and Toxins-Removing Recipe from radiation injury in mice. **Methods** Seventy-two mice were randomly divided into blank control group, radiation-only group and radiation plus Chinese herbal medicine group, with 24 mice in each group. After 3 days of feeding, the radiation plus Chinese herbal medicine group was given Kidney-Nourishing and Toxins-Removing Recipe by gavage, while the blank control group and the radiation-only group were given equal volume of saline by gavage. On the 11th day after the start of the experiment, all mice except the blank control group were irradiated with a single 4 Gy <sup>60</sup>Co $\gamma$ -radiation, and the gavage was continued daily until the end of the experiment. Serum

收稿日期: 2019-06-09; 修回日期: 2021-05-20

作者简介: 余雷(1992-), 女, 硕士研究生; E-mail: 532347874@qq.com

通讯作者: 张蓉, 女, 博士, 主任医师; E-mail: zhangrongyisheng@sina.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81673873); 国家自然科学基金青年项目(编号: 81703979)

interleukin 6 (IL-6) and interleukin 10 (IL-10) levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on day 1, 7 and 14 after irradiation, and peripheral blood leukocytes counts were measured by an automatic biochemical analyzer. **Results** On day 1 after irradiation, the serum IL-6 level in the radiation-only group was higher than that in the blank control group ( $P < 0.01$ ), while there was no difference of IL-10 level between various groups ( $P > 0.05$ ), and the leukocytes level in the radiation-only group and the radiation plus Chinese medicine group was lower than that in the blank control group ( $P < 0.01$ ), while the leukocytes level in the radiation plus Chinese medicine group was higher than that in the radiation-only group ( $P < 0.01$ ). On day 7 after irradiation, the serum IL-6 level in the radiation-only group was higher than that in the blank control group and the radiation plus Chinese herbal medicine group ( $P < 0.01$ ), the serum IL-10 level in the radiation plus Chinese herbal medicine group was higher than that in the blank control group ( $P < 0.01$ ), and the leukocytes level in the radiation-only group and the radiation plus Chinese herbal medicine group was lower than that in the blank control group ( $P < 0.01$ ), while the leukocytes level in the radiation plus Chinese herbal medicine group was higher than that in the radiation-only group ( $P < 0.05$ ). On the 14th day after irradiation, the IL-6 level in the radiation-only group was higher than that in the blank control group and the radiation plus Chinese herbal medicine group ( $P < 0.01$ ), while there was no difference of IL-10 level between various groups ( $P > 0.05$ ), and the leukocytes level in the radiation-only group was lower than that in the blank control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Kidney-Nourishing and Toxins-Removing Recipe can play an anti-inflammatory and anti-injury role through down-regulating serum IL-6 level, up-regulating serum IL-10 level, and reducing the reduction of white blood cells count caused by radiation, to improve the immunity of mice after radiation.

**Keywords:** Kidney-Nourishing and Toxins-Removing Recipe; radiation injury; interleukin 6 (IL-6); interleukin 10 (IL-10); leukocytes; mice

随着放射技术的高速发展,人们在享受它带来丰富受益的同时也面临着放射性损伤。长期的放射暴露容易造成免疫损伤,引起炎症反应,炎症因子对临近细胞造成影响,进而又加剧机体组织损伤。白细胞介素(IL)6是重要的促炎因子,IL-10为多效抗炎细胞因子,它们的动态变化反映了机体的炎症水平及免疫状态<sup>[1]</sup>。补肾解毒方为火箭军特色医学中心医研部张蓉博士自拟方剂,旨在研发出一种新型、低毒的放射防护剂。本课题组前期研究发现该方能减轻放射后胸腺、脾等免疫器官损伤<sup>[2-3]</sup>。细胞因子是重要的炎症介质和免疫调节因子,因此,本研究观察补肾解毒方对放射后小鼠血清IL-6、IL-10分泌水平的调控作用,同时观察其对受损白细胞的保护作用,探讨放射后补肾解毒方的抗炎抗损伤作用,现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方

1.1 实验动物 72只SPF级C57BL/10J小鼠,7~

8周龄,体质量(23±3)g,由南京大学生物医药研究院培育,动物生产许可证号:[SCXK(苏)2018-0008]。于北京师范大学生命科学院实验动物中心饲养,温度25℃,湿度50%,提供正常光照条件,所有动物均可自由进水摄食。

1.2 药物 补肾解毒方,方剂组成:熟地黄10g,牡丹皮10g,山萸肉12g,茯苓10g,山药10g,冬虫夏草3g,泽泻10g,白花蛇舌草10g。由康仁堂药业有限公司配制成中药颗粒制剂。将颗粒制剂与生理盐水混合后加热,配制出浓度为1.38g/mL的混悬液,以备灌胃。

1.3 辐射源 <sup>60</sup>Co $\gamma$ -辐射装置,由北京师范大学提供,北京伽玛高新有限公司生产,型号:GM-11-03-A。

1.4 主要试剂与仪器 IL-6酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(规格型号:96T,购自北京瑞格科技发展有限公司);IL-10 ELISA试剂盒(规格型号:96T,购自北京瑞格科技发展有限公司)。Thermo Multiskan MK3酶标仪(美国Thermo Scientific

公司); CT15RT高速台式冷冻离心机(上海天美科学仪器有限公司); 电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)。

**1.5 实验动物分组及处理方法** 将72只小鼠按随机数表分为3组, 即空白对照组、单纯放射组、放射+中药组, 每组24只。适应性饲养3 d后开始给药。参照人体给药剂量(13.5 g/kg), 按公式转换为小鼠给药剂量<sup>[4]</sup>。放射+中药组每日予以补肾解毒方汤剂1.54 g/mL灌胃0.2 mL, 1次/日, 空白对照组和单纯放射组给予等体积(0.2 mL)生理盐水灌胃。连续灌胃第11天, 除空白对照组外, 其余小鼠全部接受与照射源同等距离的一次性4 Gy <sup>60</sup>Co $\gamma$ -射线全身照射。照射后各组每日继续灌胃至实验结束, 方法同前。共灌胃25 d。并于照射后第1、7、14天取材, 每组随机抽取8只, 称其体质量, 并眼球取血处死, 分离血清。

**1.6 血清IL-6、IL-10水平测定** 收集血液上清, 采用ELISA法, 严格按照试剂盒操作步骤进行, 根据标准曲线的回归方程, 计算出小鼠血清IL-6、IL-10水平。

**1.7 血清白细胞数** 应用全自动生化仪检测白细胞数。

**1.8 统计方法** 数据分析采用Graphpad Prism 5.0软件, 数据描述使用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ ), 3组间比较采用两因素方差分析, 两两比较使用Tukey法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组小鼠一般情况比较** 小鼠在照射后一般情况均较照射前差, 具体表现为体质量减轻、活跃度下降、精神状态不佳、皮毛光泽度下降, 尤其单纯放射组程度更甚, 5只小鼠出现毛发块状脱落的症状。

**2.2 各组小鼠照射后体质量变化比较** 表1结果显示: 照射后第1天, 小鼠体质量各组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 照射后第7天, 单纯放射组小鼠体质量低于空白对照组和放射+中药组( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ); 照射后第14天, 单纯放射组小鼠体质量低于空白对照组( $P < 0.01$ ), 放射+中药组小鼠体质量与空白对照组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 各组小鼠照射后血清IL-6水平比较** 表2结果显示: 照射后第1天, 单纯放射组血清IL-6水平高于空白对照组( $P < 0.01$ ), 放射+中药组血清IL-6水平低于单纯放射组, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 照射后第7、14天, 单纯放射组血清IL-6水平高于空白对照组和放射+中药组( $P < 0.01$ ), 而放射+中药组血清IL-6水平与空白对照组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.4 各组小鼠照射后血清IL-10水平比较** 表3结果显示: 照射后第1、14天, 3组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 照射后第7天, 放射+中药组IL-10水平高于空白对照组( $P < 0.01$ )。

表1 各组小鼠体质量变化比较

组别	鼠数(只)	照射后第1天	照射后第7天	照射后第14天
空白对照组	8	24.29 $\pm$ 1.96	25.32 $\pm$ 2.24	26.07 $\pm$ 1.27
单纯放射组	8	23.58 $\pm$ 1.26	21.98 $\pm$ 1.75 <sup>①</sup>	23.19 $\pm$ 1.52 <sup>①</sup>
放射+中药组	8	23.91 $\pm$ 1.44	24.09 $\pm$ 1.73 <sup>②</sup>	24.67 $\pm$ 1.65

① $P < 0.01$ , 与同时间点空白对照组比较; ② $P < 0.05$ , 与同时间点单纯放射组比较

表2 各组小鼠血清IL-6水平比较

组别	鼠数(只)	照射后第1天	照射后第7天	照射后第14天
空白对照组	8	21.95 $\pm$ 2.63	22.14 $\pm$ 2.8	21.68 $\pm$ 1.77
单纯放射组	8	28.21 $\pm$ 4.53 <sup>①</sup>	32.22 $\pm$ 4.33 <sup>①</sup>	32.14 $\pm$ 3.92 <sup>①</sup>
放射+中药组	8	24.94 $\pm$ 2.98	24.71 $\pm$ 2.88 <sup>②</sup>	22.15 $\pm$ 3.02 <sup>②</sup>

① $P < 0.01$ , 与同时间点空白对照组比较; ② $P < 0.01$ , 与同时间点单纯放射组比较

表3 各组小鼠血清IL-10水平比较

Table 3 Comparison of serum IL-10 level of mice in various groups ( $\bar{x} \pm s$ , ng·L<sup>-1</sup>)

组别	鼠数(只)	照射后第1天	照射后第7天	照射后第14天
空白对照组	8	101.53 ± 9.33	102.11 ± 7.97	101.33 ± 6.59
单纯放射组	8	107.93 ± 5.77	108.37 ± 9.28	110.37 ± 8.47
放射+中药组	8	110.19 ± 10.28	113.55 ± 9.87 <sup>①</sup>	111.68 ± 9.71

① $P < 0.01$ , 与同时间点空白对照组比较

2.5 各组小鼠照射后外周血白细胞水平比较 表4 结果显示:照射后第1、7天,单纯放射组和放射+中药组白细胞水平低于空白对照组( $P < 0.01$ ),放射+中药组白细胞水平高于单纯放射组( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),与空白对照组比较,差异有统计学意

义( $P < 0.05$ );照射后第14天,单纯放射组白细胞水平低于空白对照组( $P < 0.01$ ),放射+中药组白细胞水平高于单纯放射组,与空白对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表4 各组小鼠外周血白细胞水平比较

Table 4 Comparison of serum leukocyte level of mice in various groups ( $\bar{x} \pm s$ ,  $\times 10^9$ 个·L<sup>-1</sup>)

组别	鼠数(只)	照射后第1天	照射后第7天	照射后第14天
空白对照组	8	10.07 ± 0.87	9.94 ± 0.87	10.01 ± 0.89
单纯放射组	8	6.52 ± 0.75 <sup>①</sup>	7.24 ± 0.71 <sup>①</sup>	8.73 ± 0.65 <sup>①</sup>
放射+中药组	8	7.67 ± 0.72 <sup>①②</sup>	8.61 ± 0.70 <sup>①③</sup>	9.42 ± 0.83

① $P < 0.01$ , 与同时间点空白对照组比较; ② $P < 0.05$ , ③ $P < 0.01$ , 与同时间点单纯放射组比较

### 3 讨论

长期暴露于中低剂量射线中引起的健康问题一直备受关注。在医疗领域,中西医结合治疗疾病的手段越来越多地在临床中应用,尤其在肿瘤治疗方面,化疗患者都经受着不同程度的放射后遗症。中药能有效降低化疗后副作用,减轻炎症反应<sup>[5]</sup>,弥补了现代医学的不足。目前,国内外应用中中药治疗放射损伤越来越受到重视,而控制感染成为抗放射损伤的首要环节。

IL-6由巨噬细胞、成纤维细胞等产生<sup>[6]</sup>,是介导炎症反应的重要细胞因子,是机体发生感染的重要指标<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,照射后第1天,单纯放射组IL-6水平高于空白对照组,而放射+中药与空白对照组无显著性差异,表明照射初期,补肾解毒方即发挥了放射防护效应,通过抑制IL-6水平的升高减轻了机体炎性反应。Geginat和Jiang等<sup>[8-9]</sup>研究发现,急性炎症期血清IL-6水平比CRP上升更早,是判断炎症程度及预后的重要指标。本研究结果显示,单纯放射组IL-6水平在照射后第1天显著升高,与这一发现相符。照射后第7、14天,单纯放射组高于空白对照组和放射+中药

组,表明照射后服用中药,机体能继续发挥抗感染作用,而单纯放射组IL-6水平无降低趋势,说明照射中后期,机体仍处于较活跃的炎症状态,自身修复机能难以遏制感染的发展,因此,放射后出现感染状态需人为进行药物干预,防止促炎因子过度表达爆发炎症级联反应<sup>[10]</sup>,同时这一现象也证实了研发高效中药防护剂的重要性。

IL-10主要由辅助性T淋巴细胞(Th)2细胞产生,介导调节Th1/Th2细胞平衡<sup>[11]</sup>,抑制促炎因子合成释放,促炎因子与抑炎因子相互作用,维持体内炎性反应和免疫反应平衡<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,照射后第7天,放射+中药组IL-10水平高于空白对照组和单纯放射组,表明补肾解毒方通过上调IL-10水平,抑制促炎因子释放而发挥抗炎作用,照射后单纯放射组IL-10水平升高,但与空白对照组间差异无统计学意义,考虑到放射后炎性因子增加,IL-10作为主要的抑炎因子必然随之增加。白细胞通常也被称为免疫细胞,是外周血非常重要的一类细胞,在机体中担负许多重任,包括吞噬异物并产生抗体,抵御病原体入侵等,它对射线敏感,接受辐射后白细胞水平会迅速下

降。本研究结果显示,放射+中药组白细胞水平高于单纯放射组,表明中药有效减轻了放射所致白细胞减少,从而发挥免疫防护作用。

炎症反应是照射后最常见的症状<sup>[13]</sup>,炎性因子对临近细胞造成影响,进而又加剧机体组织损伤,中医药在治疗感染方面具有其独特的优势。放射从中医学角度可称之为“火毒之邪”,易耗津伤阴,最损肾中真阴<sup>[14]</sup>。补肾解毒方由滋补肾阴基础方六味地黄丸化裁而来。现代研究已证实,六味地黄丸具有调节机体免疫、抗肿瘤的作用<sup>[15]</sup>。加入白花蛇舌草以清热解毒,可发挥抗感染免疫功能<sup>[16]</sup>。加入冬虫夏草以补肺益肾, Jing Y 等<sup>[17-18]</sup>发现它的有效成分虫草多糖能激活网状内皮系统,增强非特异性免疫。针对放射的“火热”之性,诸药合用拟成的补肾解毒方,可共奏扶正祛邪之功。

综上所述,补肾解毒方通过抑制放射后 IL-6 分泌水平,提升 IL-10 水平,并减轻放射所致白细胞数减少,发挥抗炎抗损伤作用。促炎因子与抑炎因子的动态水平变化发挥着免疫调节作用<sup>[19]</sup>,其中 IL-6 和 IL-10 是它们的典型代表,补肾解毒方是否还能通过其他细胞因子发挥放射防护作用,需进一步探讨。

#### 参考文献:

- [1] YANG M L, WANG C T, YANG S J, et al. IL-6 ameliorates acute lung injury in influenza virus infection [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43829.
- [2] 余雷, 杨云霜, 李延晖, 等. 补肾解毒方对放射致小鼠胸腺损伤的防护作用研究 [J]. *中国全科医学*, 2020, 23(9): 1164-1168.
- [3] 张箫月, 张蓉, 杨云霜, 等. 补肾解毒方对辐射所致造血系统损伤的防护作用研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(2): 220-223.
- [4] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [5] HOXHAI G, MANNING B D. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(2): 74-88.
- [6] ROSE-JOHNS, WINTHROP K, CALABRESE L. The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(7): 399-409.
- [7] RICARTE-BRATTI J P, BRIZUELA N Y, JAIME-ALBARRAN N, et al. IL-6, MMP 3 and prognosis in previously healthy sepsis patients [J]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*, 2017, 74(2): 99-106.
- [8] GEGINAT J, VASCO M, GEROSA M, et al. IL-10 producing regulatory and helper T-cells in systemic lupus erythematosus [J]. *Semin Immunol*, 2019, 44: 1-9.
- [9] JIANG Z, ARDYWIBOWO R, SAMEREH A, et al. A roadmap for automatic surgical site infection detection and evaluation using user-generated incision images [J]. *Surg Infection (Larchmt)*, 2019, 20(7): 555-565.
- [10] AOYAMA Y, SAWADA F, MAKINO E, et al. Multiple drug sensitization syndrome: a distinct phenotype associated with unrecognized *Mycoplasma pneumoniae* infection [J]. *JAAD Case Rep*, 2017, 3(4): 301-305.
- [11] LORUSSO D, MARTINELLI F, MALTESE G, et al. Locally advanced cervical cancer: is a trimodality treatment a safe and effective approach? [J]. *Oncology*, 2018, 95(4): 239-245.
- [12] FAWLEY J, CHELIUS T H, ARCA M J. Relationship between perioperative blood transfusion and surgical site infections in pediatric general and thoracic surgical patients [J]. *J Pediatr Surg*, 2018, 53(6): 1105-1110.
- [13] TORRE L A, SIEGE R L, WARD E M, et al. Global cancer incidence and mortality rates and trends—an update [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2016, 25(1): 16-27.
- [14] 张蓉, 石鹏展, 杨云霜, 等. 从肾阴虚虚探讨核辐射损伤的中医病因病机 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2014, 34(3): 40-42.
- [15] 林小凤. 六味地黄丸加减联合二甲双胍治疗肾阴虚型2型糖尿病临床效果观察 [J]. *临床合理用药杂志*, 2018, 11(25): 85-87.
- [16] 朱博, 刘辰卉. 白花蛇舌草的化学成分与药理作用研究进展 [J]. *海峡药学*, 2011, 23(005): 52-53.
- [17] JING Y, YI W Z, JIN S S. Cordycepin protects against acute pancreatitis by modulating NF- $\kappa$ B and NLRP3 inflammasome activation via AMPK [J]. *Life Sciences*, 2020, 251: 117645.
- [18] WANG X, XI D, MO J, et al. Cordycepin exhibits a suppressive effect on T cells through inhibiting TCR signaling cascade in CFA-induced inflammation mice model [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42(2): 119-127.
- [19] 于远航, 赵华云, 陈伟强, 等. 参七汤对急性心肌梗死患者 PCI 术后 IL-10、TGF- $\beta$ 1 的影响 [J]. *广州中医药大学学报*, 2019, 36(3): 313-317.

【责任编辑: 侯丽颖】