

夏枯草、浙贝提取物对体外培养 TAO 眼眶成纤维细胞的影响

李 蓓 郑燕林

The influence of prunella and fritillaria thunbergii's extract on cultured orbital fibroblasts of TAO-patients

Li Bei, Zheng Yanlin. Department of Ophthalmology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610074, China

Abstract Objective The aim of this study was to discuss the treatment mechanism of the prunella and fritillaria thunbergii to thyroid-associated ophthalmopathy (TAO) patients. **Methods** The orbital adipose tissue was obtained from 4 patients with TAO during the surgery and 2 normal subjects underwent enucleated eyeballs due to corneal penetrating injury. Collected orbital adipose tissue was incubated using explant culture to harvest the orbital fibroblasts. Prunella and fritillaria thunbergii extract, IFN- γ and dexamethasone were added into medium respectively. The proliferation of the orbital fibroblasts were detected to evaluate the influence of drugs above by MTT, and the secreting HA function of cultured orbital fibroblasts was assessed by the homogeneous magnetic chemiluminescence method immunizations. The expression of adhesion molecule (ICAM-1) in the fibroblasts was detected by using flow cytometry. **Results** The migration and passage time seemed to be similar between orbital fibroblasts from TAO patients and ones from normal subjects. Cultured orbital fibroblasts showed the positive immunostaining for Vimentin and absent staining for Desmin, S-100 and CK. Prunella and fritillaria thunbergii extract showed a similar result to dexamethasone in inhibiting the proliferation of cultured orbital fibroblast in TAO patients. The same effect of prunella and fritillaria thunbergii extract on the secretion HA of orbital fibroblast and expressing ICAM-1 in orbital fibroblasts after IFN- γ stimulation was also seen. In different concentrations of prunella groups, only 133 mg/mL of prunella presented the similar function to dexamethasone in inhibiting HA secretion of orbital fibroblast in TAO patient, and fritillaria thunbergii had the weaker effect in comparison with prunella. In the inhibition of ICAM-1 expressing, the effect of prunella was weaker than that of dexamethasone but better than that of fritillaria thunbergii. **Conclusion** Prunella and fritillaria thunbergii can treat TAO perhaps by inhibiting the proliferation, secreting HA and expressing ICAM-1 of orbital fibroblasts under the IFN- γ 's stimulation. The effect of prunella is more dominant than fritillaria thunbergii.

Key words orbital fibroblasts; prunella and fritillaria thunbergii extract; thyroid-associated ophthalmopathy

摘要 目的 探讨夏枯草、浙贝治疗甲状腺相关眼病(TAO)的机制。**方法** 采用体外培养的正常人和 TAO 患者的眼眶成纤维细胞,将夏枯草、浙贝提取物、刺激药物干扰素- γ 和阳性对照药物地塞米松分成不同质量浓度组,以 MTT 法、磁性均相化学发光免疫分析法、流式细胞仪检测其对细胞的增生、透明质酸(HA)的分泌以及黏附分子(ICAM-1)表达的影响。**结果** 夏枯草、浙贝提取物具有与地塞米松相似的抑制作用,对于 TAO 患者 HA 的分泌,133 mg/mL 的夏枯草质量浓度组与 10 μ g/mL 地塞米松组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但浙贝各质量浓度组较夏枯草和地塞米松弱($P < 0.01$);对于 ICAM-1 的表达,夏枯草组的抑制作用较地塞米松组弱($P < 0.01$),但较浙贝组强($P < 0.01$)。**结论** 夏枯草、浙贝对 TAO 的治疗作用可能是通过抑制眼眶成纤维细胞的增生、在 IFN- γ 刺激下 HA 的分泌和 ICAM-1 的表达而实现的,且夏枯草作用强于浙贝。

关键词 眼眶成纤维细胞;夏枯草和浙贝提取物;甲状腺相关眼病

分类号 R 777.5 R 988.1 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)07-0577-05

甲状腺相关眼病(thyroid-associated ophthalmopathy, TAO)是一种与甲状腺疾病相关的器官特异性的自身免疫性疾病,发病率居眼眶病首位^[1]。迄今为止,尚无特效药物能迅速有效地控制,得到长期缓解。中医药在治疗TAO方面具有一定的优势,夏枯草、浙贝是常用的治疗该病的2味中药^[2-7],但目前尚未见到相关实验研究的报道。本实验以这2味中药作为研究对象,利用体外培养的TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞,进行治疗TAO中药的药物筛选及作用机制的研究。

1 材料与方 法

1.1 培养细胞的组织来源及纳入标准

1.1.1 病例组 球后脂肪结缔组织标本来源于2007年1—3月在核工业416医院眼科行TAO矫正术(深层眶脂肪切除术)的严重TAO患者4例(4眼),其中男1例,女3例;右眼2例,左眼2例;年龄39~56岁,平均44.5岁;病程15~48个月,平均27.5个月。患者纳入标准:(1)符合TAO的诊断标准^[8];(2)排除其他自身免疫性疾病;(3)符合该手术指征^[9]。4例患者均有甲状腺功能亢进史,其中2例甲状腺功能已正常,2例伴有轻微甲状腺功能低下。患者在手术前14~29个月均使用过糖皮质激素60 mg×7 d及钴⁶⁰放射治疗20 Gy/10 d,效果欠佳。患者均因严重的暴露性角膜炎、进行性视力减退及无法接受的眼外观而要求进行手术治疗。

1.1.2 正常对照组 选取2例角膜穿通伤引起的角膜葡萄肿并要求行义眼植入患者的眼球;年龄33岁、40岁,男女各1例,均排除其他免疫性和炎症性疾病。

1.2 主要试剂及仪器

小鼠抗人波形丝蛋白(vimentin)单克隆抗体、小鼠抗人结蛋白(desmin)单克隆抗体、小鼠抗人钙离子结合蛋白(S-100)单克隆抗体、小鼠抗人细胞因子(cytokine, CK)单克隆抗体、鼠抗人细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)单克隆抗体、异硫氰荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)-山羊抗小鼠IgG(美国Santa公司);噻唑蓝[3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(美国Sigma公司)。夏枯草注射液(批号:沪卫药剂91-121, 10 mL/支,属水煎醇沉法,每mL含生药3 g,符合中国药典95版注射剂项下有关规定。上海中医药大学附属曙光医院药厂);贝母素甲(批号110750-200506, 20 mg/支,中国药品生物制品检定所);重组人干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)(100万IU/支,1 mL/支,上海克隆生物公司);透明质酸(hyaluronate, HA)测定试剂盒(批

号:F511213 018,深圳新产业生物医学工程有限公司);Maglumi半自动化学发光免疫分析仪(德国Stratec公司);流式细胞仪(flow cytometry, FCM)(美国BD公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞的培养、传代及鉴定 利用手术台上取下的眼眶脂肪结缔组织标本,参照郑健燦等^[10]的方法,采用组织块培养法培养、传代,2~4代细胞用于实验。

1.3.2 夏枯草、浙贝提取物对TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞增生的影响 通过在体外培养的眼眶成纤维细胞中加入夏枯草注射液^[11]、浙贝活性成分贝母素甲^[12],以地塞米松及IFN- γ ^[13]为对照药物,采用MTT比色法,观察以上物质不同质量浓度时,对TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞增生的影响,并为下一步实验提供依据。

1.3.3 夏枯草、浙贝提取物对TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞分泌HA功能的影响 取生长良好的同代TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞,胰蛋白酶消化后在血细胞计数仪下计数,按 5×10^3 /孔接种于96孔板中,培养72 h后用PBS冲洗各孔3次,改用无血清的DMEM培养液继续培养24 h,以消除血清对细胞增生的影响。依据1.3.2的方法,夏枯草及浙贝提取物各选取2个高质量浓度组;地塞米松选取抑制率与夏枯草最高质量浓度组相接近(约50%)的10 μ g/mL组别,分别加入与IFN- γ 共同培养的眼眶成纤维细胞实验孔中,IFN- γ 选取增生率较理想的200 U/mL组。每种质量浓度各设6个复孔,无药对照孔只加培养液。继续培养48 h后,从各孔中取100 μ L上清液待测。以HA为标准品,按试剂盒说明,用磁性均相化学发光免疫分析法检测眼眶成纤维细胞分泌HA的功能。

1.3.4 夏枯草、浙贝提取物对TAO患者及正常人眼眶成纤维细胞黏附分子表达的影响 取生长良好的同代眼眶成纤维细胞,待细胞融合后,弃去培养液,用PBS洗3次,换用无血清DMEM培养液继续培养24 h,然后加入各质量浓度刺激物刺激,刺激物质量浓度选取同方法1.3.3,继续培养48 h后进行细胞消化及收集。以PBS终止消化后,吹打细胞成悬液,将细胞吸入离心管,于离心机中以1 000 r/min离心5 min,弃去上清液,调整密度为 10^6 个/mL,取1 mL加入5 μ L鼠抗人ICAM-1单克隆抗体及10 μ L灭活胎牛血清(终浓度为1%),混匀后4 $^{\circ}$ C避光孵育30 min。加入PBS 2 mL/管离心,弃上清,重复此过程后加入FITC-山羊抗小鼠IgG(1:100),混匀,4 $^{\circ}$ C避光孵育30 min,每管2 mL PBS洗涤2次后,上机检测,观察指标为平均荧光强度。

1.4 统计学方法

采用 PEMS 3.0 统计学软件进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正常组与 TAO 组夏枯草或浙贝提取物、IFN- γ 和地塞米松对眼眶成纤维细胞干预结果的比较、夏枯草或浙贝提取物干预后体外培养人眼眶成纤维细胞黏附分子在正常组和 TAO 组表达比较、夏枯草及浙贝提取物和地塞米松对眼眶成纤维细胞在 IFN- γ 作用下分泌 HA 功能的影响采用校正 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 培养的人眼眶成纤维细胞的特征

TAO 患者与正常人眼眶成纤维细胞在体外培养时,细胞游出与传代的时间基本一致,相差显微镜下可观察到细胞形态(图 1,2),且二者无明显差异,免疫组织化学法证实为成纤维细胞。细胞 vimentin 染色均呈阳性,阳性棕色反应产物均匀分布于胞浆中(图 3,4)。而 desmin 染色阴性、S-100 染色阴性、CK 染色阴性,鉴定为成纤维细胞。

2.2 夏枯草、浙贝提取物对体外培养人眼眶成纤维细胞增生的干预

夏枯草及浙贝提取物对体外培养的成纤维细胞的增生均具有与地塞米松相似的抑制作用,夏枯草及浙贝提取物对正常人和 TAO 患者的作用具有选择性,而地塞米松则无选择性。IFN- γ 促进 TAO 患者及正常人眼眶成纤维细胞增生,且当药物浓度 $> 200 \text{ U/mL}$ 时,对 TAO 患者的作用明显强于正常人(表 1~4)。

2.3 夏枯草、浙贝提取物对培养人眼眶成纤维细胞分泌 HA 功能的干预

200 U/mL 的 IFN- γ 对体外培养的人眼眶成纤维细胞分泌 HA,具有明显的刺激作用,但该作用能被夏枯草、浙贝提取物及地塞米松所抑制。133 mg/mL 夏枯草质量浓度组对 TAO 患者的作用结果与 10 $\mu\text{g/mL}$ 地塞米松相似,浙贝各质量浓度组作用较前二者明显更弱。夏枯草、浙贝提取物对 TAO 患者的抑制作用具有选择性,明显强于正常人,而地塞米松则无此表现(表 5,6)。

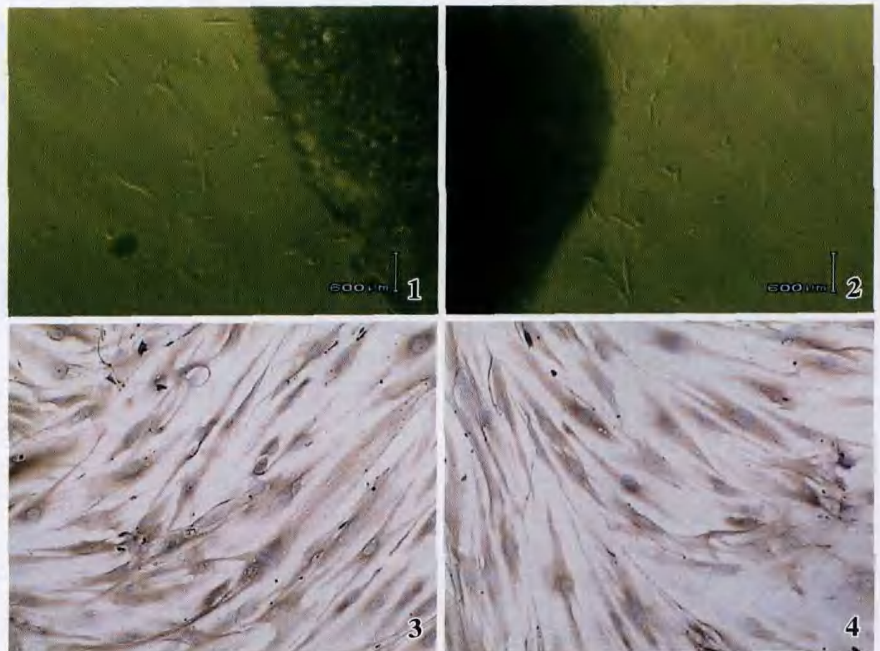


图 1 培养 5~7 d 后,正常人眼眶成纤维细胞从组织块游出($\times 100$) 图 2 培养 5~7 d 后,TAO 患者眼眶成纤维细胞从组织块游出($\times 100$) 图 3 正常人的眼眶成纤维细胞 vimentin 染色阳性($\times 100$) 图 4 TAO 患者的眼眶成纤维细胞 vimentin 染色阳性($\times 100$)

Fig.1 Normal human orbital fibroblasts migrate from the tissue mass in 5-7 days of culture ($\times 100$) Fig.2 Orbital fibroblasts migrate from TAO tissue mass in 5-7 days of culture ($\times 100$)

Fig.3 Orbital fibroblasts of normal human show the brown staining in cytoplasm for vimentin ($\times 100$)

Fig.4 Orbital fibroblasts of TAO-patients show the brown staining in cytoplasm for vimentin ($\times 100$)

表 1 不同质量浓度夏枯草提取物对眼眶成纤维细胞的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 The effect of different concentrations of prunella on orbital fibroblasts ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Prunella (mg/mL)	OD value of fibroblasts		Inhibiting rate of fibroblasts (%)	
	Normal	TAO	Normal	TAO
0	0.237 \pm 0.012	0.254 \pm 0.010	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000 ^b
26.3	0.209 \pm 0.017	0.213 \pm 0.014	0.118 \pm 0.013	0.161 \pm 0.014 ^b
39.5	0.206 \pm 0.016	0.192 \pm 0.013	0.131 \pm 0.014	0.244 \pm 0.021 ^b
59.2	0.152 \pm 0.018	0.141 \pm 0.019	0.359 \pm 0.022	0.445 \pm 0.046 ^b
88.9	0.133 \pm 0.013	0.128 \pm 0.012	0.439 \pm 0.056	0.496 \pm 0.022 ^b
133.0	0.110 \pm 0.016	0.104 \pm 0.017	0.536 \pm 0.035	0.591 \pm 0.022 ^b

表 2 不同质量浓度浙贝提取物对眼眶成纤维细胞的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 The effect of different concentrations of fritillaria on orbital fibroblasts ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fritillaria ($\mu\text{g/mL}$)	OD value of fibroblasts		Inhibiting rate of fibroblasts (%)	
	Normal	TAO	Normal	TAO
0	0.232 \pm 0.016	0.226 \pm 0.009	0.000 \pm 0.000	0.000 \pm 0.000 ^b
5	0.230 \pm 0.017	0.221 \pm 0.011	0.009 \pm 0.003	0.022 \pm 0.007 ^b
25	0.224 \pm 0.010	0.213 \pm 0.013	0.035 \pm 0.007	0.057 \pm 0.002 ^b
50	0.219 \pm 0.013	0.204 \pm 0.016	0.056 \pm 0.002	0.099 \pm 0.001 ^b
75	0.194 \pm 0.018	0.181 \pm 0.013	0.164 \pm 0.011	0.198 \pm 0.019 ^b
100	0.181 \pm 0.019	0.165 \pm 0.015	0.219 \pm 0.038	0.269 \pm 0.025 ^b

^b $P < 0.05$ vs respective normal value (t' test)

^b $P < 0.05$ vs respective normal value (t' test)

表3 IFN-γ对眼眶成纤维细胞的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 The effect of different concentrations of IFN-γ on orbital fibroblasts($\bar{x} \pm s, n = 6$)

IFN-γ (U/mL)	OD value of fibroblasts		Proliferation rate of fibroblasts(%)	
	Normal	TAO	Normal	TAO
0	0.187 ± 0.010	0.182 ± 0.013	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
50	0.235 ± 0.006	0.230 ± 0.007	0.257 ± 0.032	0.266 ± 0.023
100	0.271 ± 0.015	0.263 ± 0.014	0.449 ± 0.064	0.445 ± 0.073
200	0.275 ± 0.008	0.288 ± 0.016	0.471 ± 0.032	0.582 ± 0.012 ^c
400	0.290 ± 0.017	0.301 ± 0.013	0.551 ± 0.078	0.654 ± 0.056 ^c
1 000	0.294 ± 0.010	0.307 ± 0.009	0.572 ± 0.037	0.687 ± 0.075 ^c

^c P < 0.01 vs respective normal value (t' test)

表4 地塞米松对眼眶成纤维细胞的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 The effect of different concentrations of dexamethasone on orbital fibroblasts($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Dexamethasone (μg/mL)	OD value of fibroblasts		Inhibiting rate of fibroblasts (%)	
	Normal	TAO	Normal	TAO
0	0.215 ± 0.013	0.197 ± 0.015	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000 ^a
0.01	0.208 ± 0.012	0.171 ± 0.001	0.033 ± 0.007	0.041 ± 0.005 ^a
0.1	0.173 ± 0.011	0.154 ± 0.020	0.195 ± 0.026	0.219 ± 0.012 ^a
1.0	0.154 ± 0.021	0.131 ± 0.014	0.284 ± 0.054	0.335 ± 0.023 ^a
10	0.100 ± 0.015	0.104 ± 0.012	0.534 ± 0.065	0.472 ± 0.048 ^a
100	0.076 ± 0.005	0.062 ± 0.013	0.646 ± 0.034	0.685 ± 0.085 ^a

^a P > 0.05 vs respective normal value (t' test)

表5 夏枯草提取物对眼眶成纤维细胞在IFN-γ和10 μg/mL地塞米松作用下分泌HA功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 The effect of prunella on orbital fibroblasts secreting HA after IFN-γ and 10 μg/mL DEX action($\bar{x} \pm s, n = 6$)

IFN-γ (U/mL)	Prunella (mg/mL)	DEX (μg/mL)	HA level (ng/mL)		Inhibiting rate (%)	
			Normal	TAO	Normal	TAO
0	0	0	345.92 ± 19.64	337.25 ± 26.22	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
200	0	0	513.31 ± 22.75	594.14 ± 20.42	0.48 ± 0.04	0.76 ± 0.03
200	88.9	0	349.52 ± 18.53	361.77 ± 19.82	0.32 ± 0.04	0.39 ± 0.05 ^b
200	133.0	0	295.16 ± 21.42	283.91 ± 23.38	0.43 ± 0.07	0.52 ± 0.07 ^b
200	0	10	236.32 ± 20.95	269.56 ± 21.30	0.55 ± 0.04	0.55 ± 0.02

^b P < 0.05 vs respective normal group (t' test)

表6 浙贝提取物对眼眶成纤维细胞在IFN-γ和10 μg/mL地塞米松作用下分泌HA功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 The effect of fritillaria on orbital fibroblasts secreting HA after IFN-γ and 10 μg/mL DEX action($\bar{x} \pm s, n = 6$)

IFN-γ (U/mL)	Fritillaria (μg/mL)	DEX (μg/mL)	HA level (ng/mL)		Inhibiting rate (%)	
			Normal	TAO	Normal	TAO
0	0	0	345.92 ± 19.64	337.25 ± 26.22	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
200	0	0	513.31 ± 22.75	594.14 ± 20.42	0.48 ± 0.04	0.76 ± 0.03
200	75	0	396.26 ± 19.91	427.53 ± 22.96	0.23 ± 0.08	0.28 ± 0.01 ^b
200	100	0	371.34 ± 20.44	387.50 ± 24.62	0.28 ± 0.05	0.35 ± 0.08 ^b
200	0	10	236.32 ± 20.95	269.56 ± 21.31	0.54 ± 0.04	0.55 ± 0.02

^b P < 0.05 vs respective normal group (t' test)

2.4 夏枯草、浙贝提取物干预后体外培养人眼眶成纤维细胞黏附分子的表达

TAO患者眼眶成纤维细胞对ICAM-1的表达明显强于正常人,IFN-γ对二者均有较强的刺激作用,夏枯草、浙贝提取物及地塞米松对此作用均表现为抑制,并且对TAO患者的作用明显强于正常人。在所选质量浓度范围内,夏枯草质量浓度组的作用较地塞米松弱,但较浙贝提取物强(表7,8)。

表7 夏枯草提取物对眼眶成纤维细胞表达ICAM-1的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 7 The effect of prunella on orbital fibroblasts expressing ICAM-1 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

IFN-γ (U/mL)	Prunella (mg/mL)	DEX (μg/mL)	Mean fluorescence intensity		Inhibiting rate (%)	
			Normal	TAO	Normal	TAO
0	0	0	1.29 ± 0.62	2.01 ± 0.76	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00 ^c
200	0	0	1.61 ± 0.11	2.98 ± 0.19	0.25 ± 0.01	0.48 ± 0.03
200	88.9	0	1.41 ± 0.69	2.48 ± 0.85	0.12 ± 0.01	0.17 ± 0.01 ^c
200	133	0	1.37 ± 0.58	2.29 ± 0.96	0.15 ± 0.03	0.23 ± 0.04 ^c
200	0	10	1.28 ± 0.61	2.07 ± 0.86	0.21 ± 0.05	0.31 ± 0.02 ^c

^c P < 0.01 vs respective normal group (t' test)

表8 浙贝提取物对眼眶成纤维细胞表达ICAM-1的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 8 The effect of fritillaria on orbital fibroblasts expressing ICAM-1 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

IFN-γ (U/mL)	Prunella (mg/mL)	DEX (μg/mL)	Mean fluorescence intensity		Inhibiting rate (%)	
			Normal	TAO	Normal	TAO
0	0	0	1.29 ± 0.62	2.01 ± 0.76	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00 ^c
200	0	0	1.61 ± 0.11	2.98 ± 0.19	0.25 ± 0.01	0.48 ± 0.03
200	75	0	1.55 ± 0.34	2.67 ± 0.12	0.04 ± 0.01	0.10 ± 0.03 ^c
200	100	0	1.49 ± 0.46	2.58 ± 0.77	0.07 ± 0.00	0.13 ± 0.04 ^c
200	0	10	1.28 ± 0.61	2.07 ± 0.86	0.21 ± 0.05	0.31 ± 0.02 ^c

^c P < 0.01 vs respective normal group (t' test)

3 讨论

TAO可能的发病机制见图5。

夏枯草及浙贝可能作用于其中3个环节,从而达到治疗TAO的目的。(1)直接抑制眼眶成纤维细胞(包括其亚组分:前脂肪细胞)的增生,减轻球后脂肪结缔组织体积的增加。(2)抑制IFN-γ诱导下眼眶成纤维细胞合成、分泌GAGs(HA),减轻眶组织水肿。(3)抑制IFN-γ诱导下眼眶成纤维细胞表达ICAM-1,阻止T淋巴细胞的活化,减轻局部免疫反应。

TAO同中医眼科专著《世医得效方·眼科》所载眼病“鹤眼凝睛”相似,中医学认为,目为肝窍,眼病多与肝密切相关,若情志失调,肝气郁久化火,上犯于目,致目络阻塞;或素体阴虚,或阴血受损,致阴虚阳亢,上

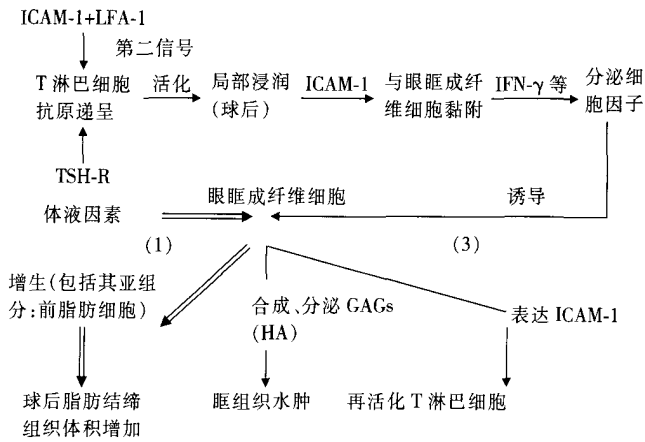


图 5 TAO 可能的发病机制示意图

Fig. 5 Sketch of pathogenesis of TAO

犯于目,则发为本病,治疗当以清肝泻火,解郁散结或滋阴潜阳,平肝降火为基本治则^[14]。

夏枯草属唇形科,多年生草本植物,是传统中药之一,一般取其干燥果穗入药,功擅清火,明目,散结,消肿^[15]。研究表明,夏枯草中主要含有三萜及其苷类、甾醇及其苷类、黄酮类、香豆素、有机酸、挥发油及糖类成分。夏枯草对早期炎症反应有显著的抑制作用,其抗炎效应与肾上腺皮质中糖皮质激素合成、分泌的加强有密切关系,对免疫器官影响研究证实,夏枯草除了能抑制非特异性免疫外,对特异性免疫也表现了相当强的抑制作用^[16]。

贝母为百合科贝母属多种植物的干燥鳞茎,为传统中药之一。其味苦,性寒,具有清热化痰、散结消肿等功效,系治疗瘰疬痰核之古方“消瘰丸”的主药。浙贝的活性成分较为明确,主要含贝母碱(贝母素甲)和去氢贝母碱(贝母素乙),其中贝母素甲是其主要活性成分之一,属异甾类生物碱中的瑟文类生物碱^[17]。研究表明浙贝母具有较强的抗渗出性炎症的作用^[18]。

TAO 的发病机制涉及范围广,内容复杂,由于研究的时间、实验条件等诸多方面条件的限制,本研究仅就夏枯草及浙贝提取物进行初步的药物筛选,结果显示二者对体外培养的人眼眶成纤维细胞的增生均有不同程度的抑制作用,与地塞米松作用相似,但浙贝作用相对较弱。同时,对成纤维细胞 HA 的分泌功能及黏附分子的表达也表现出抑制作用,结果显示二者为治疗本病的机制之一。此外,夏枯草及浙贝提取物的作用结果均表现出对患者的选择性,原因不明,需进一

步研究。

治疗本病的中药复方制剂中,夏枯草和浙贝表现出良好的治疗作用,本实验中对单味药的研究,也显示出较好的抑制作用,但与其他中药的相互作用有待进一步研究。

本研究中,虽然证明了药物的有效性,由于时间关系,药物筛选的具体质量浓度均来自于文献报道中,因此,下一步实验可就具体用药质量浓度进行更为准确的筛选,以指导药物研发。

参考文献

- 1 宋国祥. 眼眶病的发病率. //李凤鸣,眼科全书(上册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:1100-1130
- 2 方志平. 中西医结合治疗 60 例 Graves 突眼症的体会[J]. 福建医药杂志,1997,19(2):31-33
- 3 刘春红. 中西医结合治疗甲亢突眼 36 例总结[J]. 湖南中医杂志,2001,17(3):9-11
- 4 廖世煌. 甲眼消合并他巴唑治疗甲状腺机能亢进症突眼的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2000,20(6):433-435
- 5 孙丰雷,程益春. 消瘰片治疗甲状腺机能亢进症的临床及实验研究[J]. 山东中医药大学学报,1998,22(3):206-207
- 6 方良,刘翠荣. 抗甲突汤治疗甲亢突眼症的临床疗效观察[J]. 中西医结合杂志,1998,18(3):171-172
- 7 崇礼. 左旋咪唑和双黄连治疗眼型 Graves 病[J]. 中国实用眼科杂志,1995,13(6):382-384
- 8 惠延年. 眼科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:194-195
- 9 肖利华,宋国祥. 眼眶手术学及图解[M]. 郑州:河南科学技术出版社,1999:219-220
- 10 郑健燮,郭彦,张洁,等. 人眼 Tenon 氏囊成纤维细胞的体外培养[J]. 解剖学研究,1999,21(2):96-97
- 11 张可杰,张明智,王庆端. 夏枯草注射液诱导 K562 细胞凋亡的实验研究[J]. 中草药,2005,36(7):1031-1035
- 12 胡凯文,郑洪霞,齐静,等. 浙贝母碱逆转白血病细胞多药耐药的研究[J]. 中华血液学杂志,1999,20(12):650-651
- 13 傅德生,许雪亮. IFN-γ 对球后成纤维细胞增生的影响[J]. 国际眼科杂志,2006,6(3):615-617
- 14 曾庆华. 中医眼科学[M]. 北京:中医药出版社,2003:228-230
- 15 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2005:197-198
- 16 马德恩,王竹梅,马爱英. 夏枯草的抗炎作用及其对免疫器官影响的研究[J]. 山西医药杂志,1983,12(2):67-70
- 17 Kaye SB. Multidrug resistance; clinical relevance in solid tumours and strategies for circumvention[J]. Curr Opin Oncol,1998,10(1):15-19
- 18 张发明,沈雅琴,朱自平,等. 浙贝母的抗炎和抗腹泻作用[J]. 湖南中医药导报,1998,4(10):30-31

(收稿:2008-09-13 修回:2009-05-15)

(本文编辑:王莉红)