

# 紫癜颗粒对免疫性血小板减少性紫癜模型小鼠外周血 白介素-11、转化生长因子 $\beta_1$ 的影响

乔铁, 范颖, 林庶茹, 马骥<sup>2</sup>

(辽宁中医药大学基础医学院, 沈阳 110032)

[摘要] 目的: 通过观察免疫性血小板减少性紫癜(IITP)模型小鼠外周血白介素-11(IL-11)、转化生长因子(TGF- $\beta_1$ )含量的变化, 探讨 IL-11, TGF- $\beta_1$  含量变化与 IITP 发病之间的内在联系。方法: 采用酶联免疫方法检测 IITP 模型小鼠外周血 IL-11, TGF- $\beta_1$  含量变化。结果: 模型组小鼠外周血 IL-11, TGF- $\beta_1$  含量明显升高, 均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: 调节巨核细胞的正性作用因子 IL-11 与负性作用因子 TGF- $\beta_1$  参与了 IITP 的发病过程并发挥重要作用, 紫癜颗粒通过调控外周血 IL-11, TGF- $\beta_1$  的含量变化而达到有效治疗 IITP 的目的。

[关键词] 紫癜颗粒; 免疫性血小板减少性紫癜; 白介素-11; 转化生长因子- $\beta_1$

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0117-03

## Effects of Purpura Granules on Levels of Interleukin-11 and Transforming Growth Factor- $\beta_1$ in Peripheral Blood of Mouse Model with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

QIAO Tie, FAN Ying, LIN Shu-ru, MA Ji<sup>2</sup>

(College of Preclinical Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

**[Abstract] Objective:** To explore the relationship between the changes in interleukin-11 (IL-11) and transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) and occurrence of idiopathic thrombocytopenic purpura (IITP) by investigating content of IL-11 and TGF- $\beta_1$  in peripheral blood of the mouse model with IITP. **Method:** Contents of IL-11 and TGF- $\beta_1$  in peripheral blood of the mouse model with IITP were measured by ELISA. **Result:** Contents of IL-11 and TGF- $\beta_1$  in peripheral blood of model group increased significantly, and it was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** IL-11 and TGF- $\beta_1$  play an important role in occurrence of IITP, and Purpura Granules can cure IITP effectively by regulating contents of IL-11 and TGF- $\beta_1$  in peripheral blood.

**[Key words]** Purpura Granules; idiopathic thrombocytopenic purpura; interleukin-11; transforming growth factor- $\beta_1$

[收稿日期] 20100310(003)

[基金项目] 教育部博士点基金项目(20050162002), 辽宁省科技厅项目(2050367)

[第一作者] 乔铁, 博士生, 讲师。研究方向: 方剂配伍规律研究。Tel: (024) 31207015; E-mail: qiao\_0702@163.com

[通讯作者] 马骥, 教授, 博士生导师。研究方向: 方剂药效作用机制研究。Tel: (024) 31207028。E-mail: lnzynj@126.com

免疫性血小板减少性紫癜(简称 IITP)是临床上常见的出血性疾病, 以外周血小板减少, 骨髓巨核细胞增生伴成熟障碍为特征, 其病因和确切的发病机制尚未完全阐明。随着 IITP 发病率的逐年升高, 有关 IITP 的临床与基础研究在一定程度上可以证实 IITP 的发生与骨髓巨核细胞的改变密切相关, 而骨髓巨核细胞的增殖、分化、成熟直到血小板的产生过程由复杂的细胞因子网络调控。本文旨在探讨调节巨核细胞的正性作用因子白介素-11(IL-11)与负性

作用因子转化生长因子 $\gamma_1$  (TGF- $\gamma_1$ ) 改变及其相互关系在 ITP 发病中的作用, 探明紫癜颗粒治疗 ITP 可能作用的环节, 为临床合理应用提供实验依据。

### 1 材料

**1.1 动物** SPF 级健康 BALB/c 小鼠 60 只, 雌雄各半, 体重(20 ±2) g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK(京) 2006-0009。

**1.2 药物** 中药材: 黄芪、大黄、桃仁、仙鹤草、阿胶等一次性购于沈阳天益堂药店。经辽宁中医药大学鉴定符合国家药典, 均为正品。西药阳性对照药: 醋酸泼尼松片由天津太平洋制药有限公司生产。将醋酸泼尼松片研成粉末, 用生理盐水配成混悬液(0.3 g · L<sup>-1</sup>)。中药对照药血美安胶囊由贵州正鑫药业有限公司提供(国药准字 Z20044441)。使用前将血美安胶囊中颗粒状内容物用生理盐水配制成混悬液(32 g · L<sup>-1</sup>)。

**1.3 试剂与仪器** IL-11, TGF- $\gamma_1$  酶联免疫试剂盒均购自美国 ADL 公司。550 型酶标仪(美国伯乐公司生产); TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 2 方法

**2.1 实验性 ITP 动物模型的制作** 参照文献<sup>[1]</sup> 并加以改良免疫造模方法建立 ITP 模型, 即用豚鼠抗 BALB/c 小鼠血小板血清(APS) 给 BALB/c 小鼠 ip, 于造模第 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 d 给小鼠 ip APS 200  $\mu$ L/20 g, 造成小鼠外周血小板持续减少(相当于正常值 25%) 即为模型成功。

**2.2 药物制备** 紫癜颗粒由黄芪 18 g, 大黄 12 g, 人参 12 g, 桃仁 12 g 等 10 味中药组成, 大黄 70% 乙醇回流提取 2 次, 黄芪, 桃仁等水煎煮, 人参粉碎过 100 目筛兑入, 浓缩干燥制成颗粒。每 100 g 颗粒, 含生药量 227.27 克, 由辽宁中医药大学临床药理基地制备。

**2.3 分组处理** 将 60 只(雌雄各半) BALB/c 小鼠按血小板计数随机分为 5 组, 每组 12 只。正常组: 不予特殊处理, 正常饲养。模型组以及各给药组, 分别于 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13d ip APS 200  $\mu$ L · (20 g)<sup>-1</sup>。模型组与正常组, 均于造模的同时按 20 mL · kg<sup>-1</sup> 体重 ig 蒸馏水。中药对照组于造模的同时血美安按 8 g · kg<sup>-1</sup> 体重(临床有效剂量) ig; 紫癜颗粒 1 组于造模的同时按 16 g · kg<sup>-1</sup> 体重剂量 ig; 紫癜颗粒 2 组, 于造模的同时按 32 g · kg<sup>-1</sup> 体重剂量 ig, 每

日 1 次, 共 15 d。造模第 15 天, 小鼠摘眼球取血, 离心分离血清待检。

**2.4 检测指标** 酶联免疫方法检测血清细胞因子 IL-11, TGF- $\gamma_1$  的含量, 检测方法参照试剂盒说明书, 其单位为 pg/mL。

**2.5 统计方法** 实验数据用  $\bar{x} \pm s$  用 SPSS11.5 软件包进行统计。组间比较用方差齐性检验, 方差分析用 One-Way ANOVA 程序分析。P < 0.05 表示有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 ITP 模型小鼠外周 IL-11 含量的影响** 结果见表 1。与正常组比较, 模型组、中药对照组、紫癜颗粒 2 组外周血 IL-6 含量均明显升高, 均有统计学意义(P < 0.05); 与模型组比较, 各给药组外周血 IL-6 含量均明显下降, 均有统计学意义(P < 0.05); 各给药组之间比较, 紫癜颗粒 1 组优于中药对照组与紫癜颗粒 2 组, 有统计学意义(P < 0.05)。

表 1 对 ITP 模型小鼠外周血 IL-11, TGF- $\gamma_1$  含量

组别	剂量 /g · kg <sup>-1</sup>	的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) pg · mL <sup>-1</sup>	
		IL-11	TGF- $\gamma_1$
正常	—	46.73 ±16.41 <sup>1)</sup>	146.78 ±9.49 <sup>1)</sup>
模型	—	335.85 ±44.29	711.64 ±76.67 <sup>3)</sup>
血美安	8	111.06 ±20.92 <sup>1)</sup>	189.56 ±17.03 <sup>1)</sup>
紫癜颗粒	16	59.22 ±3.66 <sup>1,2)</sup>	224.68 ±24.21 <sup>1,2,3,4)</sup>
	32	168.9 ±27.06 <sup>1,2)</sup>	585.17 ±34.57 <sup>1,2,3,4)</sup>

注: 与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.05; 与血美安组比较<sup>2)</sup> P < 0.05; 与正常组比较<sup>3)</sup> P < 0.05; 各治疗组比较<sup>4)</sup> P < 0.05

**3.2 对 ITP 模型小鼠外周血 TGF- $\gamma_1$  含量的影响** 结果见表 1。与正常组比较, 模型组小鼠外周血 TGF- $\gamma_1$  含量明显升高, 有统计学意义(P < 0.05); 与模型组比较, 各给药组外周血 TGF- $\gamma_1$  含量呈不同程度下降, 有统计学意义(P < 0.05); 各给药组之间比较, 紫癜颗粒 2 组外周血 TGF- $\gamma_1$  含量较紫癜颗粒 1 组、中药对照组明显提高, 有统计学意义(P < 0.05)。

### 4 讨论

IL-11 是重要的造血调节因子, 有学者认为 IL-11 升高血小板的机制是 IL-11 联合其他细胞因子刺激造血干细胞和巨核系祖细胞的增殖, 诱导巨核细胞的分化成熟, 促进巨核细胞及血小板生成<sup>[1-2]</sup>, 临床显示 IL-11 能够显著减少造血功能受抑制肿瘤患

者的血小板输注率,缩短血小板的恢复时间<sup>[3]</sup>。TGF- $\beta_1$ 是调节巨核细胞生长的负性作用因子,它通过与 TGF- $\beta$  结合并启动相应的信号传导途径发挥抑制作用<sup>[6]</sup>。人体内很多细胞都能产生 TGF- $\beta_1$ ,具有多种功能<sup>[7-8]</sup>。

本实验研究结果显示,模型组外周血 IL-11 含量较正常组明显升高,具有统计学意义( $P < 0.05$ )。模型组外周血 IL-11 含量升高的机制可能是由于血小板减少,负反馈调节使血清 IL-11 水平增高。相关报道认为 IL-11 水平和血小板呈负反馈调节机制<sup>[4-5]</sup>。模型组外周血 TGF- $\beta_1$  水平明显增高,经过给药治疗后呈现不同程度的下降。推测可能是由于 ITP 时骨髓巨核细胞增多而发挥了负调控作用,也可能是由于巨核细胞和血小板的颗粒中存在大量的 TGF- $\beta_1$ ,当外周血小板破坏增多而导致血小板数量下降时,骨髓巨核细胞数量代偿性增多,使 TGF- $\beta_1$  释放到血液中,导致外周血 TGF- $\beta_1$  的浓度明显增高,这又在一定程度上抑制了巨核细胞的生长。此与国内外文献报道相一致<sup>[9-10]</sup>。

紫癜颗粒 1 的剂量是本课题组根据前期研究筛选出来的最佳剂量(临床有效剂量的 2 倍),本次实验在此基础上又递增 2 倍剂量(即紫癜颗粒 2 的剂量是紫癜颗粒 1 的 2 倍)旨在考察药效学与剂量之间的关系,结果发现,在一定范围内随着剂量的增加药效学增加,若超出一定范围,药效并不随着剂量的增加而增强。

研究表明,调节巨核细胞的正性作用因子 IL-11 与负性作用因子 TGF- $\beta_1$  参与了 ITP 的发病过程并发挥重要作用,推测紫癜颗粒通过降低 ITP 模型小鼠外周血 IL-11, TGF- $\beta_1$  的水平而发挥有效治疗 ITP 作用,对紫癜颗粒作用的具体环节及靶点有待进一步深入研究。

#### [参考文献]

[1] VRHOVAC R, DELMER A, TANG R, et al. Prog-nostic

significance of the cycle inhibition p27kiplinchronic leukemia [J]. Blood, 1998, 91: 4694.

- [2] 张华,陶晓明,邓燕芝,等.重组人白介素-11 联合肾上腺皮质激素治疗特发性血小板减少性紫癜的临床观察[J].临床血液学杂志,2005,18(3):138.
- [3] Frascal D, Cuid F, Arbitrio M, et al. Use of hematopoietic Cytokines the immune system in irradiated mice[J]. Exp Hematol, 1997, 25: 1167.
- [4] Chang M, Suen Y. Differential mechanisms in the regulation of endogenous levels of thrombopoietin and interleukin-11 during thrombocytopenia: insight into the regulation of platelet production [J]. Blood, 1996, 88 (9): 3354.
- [5] 牛婷婷,陈力军,黄丽华,等.慢性 ITP 小鼠外周血 IL-11 及其受体水平的研究[J].山东大学学报(医学版),2009,47(4):69.
- [6] Fortunel N, Hatzfeld J, Kisselev S, et al. Release from quiescence of primitive human hematopoietic stem/progenitor cells by blocking their cell-surface TGF-beta type receptor in a short-term *in vitro* assay: Stem Cells, 2000, 18(2):102.
- [7] Blobe G C, Schieman W P, Lodish H F, et al. Role of transforming growth factor- $\beta$  in human disease [J]. N Engl J Med, 2000, 342(18): 1350.
- [8] Jirillo E, Amati L, Suppressa P, et al. Involvement of the transforming growth factor beta in the pathogenesis of hereditary hemorrhagic telangiectasia [J]. Cuurr Pharm Des, 2006, 12(10): 1195.
- [9] 薛俭成,伍昌林,朱奕,等.急性 ITP 患儿外周血调节性 T 细胞及相关细胞因子的研究[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2007,12(2):56.
- [10] 吕学文,刘仿,伍昌林,等.急性 ITP 患儿外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞及相关细胞因子的研究[J].临床检验杂志,2007,25(2):104.

[责任编辑 聂淑琴]