

# 小鼠肝炎病毒温病湿热证模型血清Th1/Th2细胞因子变化研究

李华锋<sup>1</sup>, 刘叶<sup>2</sup>, 林兴栋<sup>2</sup>

(1. 广州医学院第二附属医院中医科 广东 广州 510260 2. 广州中医药大学温病学教研室 广东 广州 510405)

**摘要** 目的 以MHV-A59和大肠杆菌作为生物致病因子,建立两种小鼠温病湿热证动物模型,从Th1/Th2探讨温病湿热证的部分致病机制。方法:温病湿热证的致病机制 动物随机分为3组 正常组、模型组、肠菌组,ELISA法检测小鼠血清IL-4、IFN- $\gamma$ 水平;造模因素在MHV-A59温病湿热证致病机制形成中的地位 动物随机分为4组 正常组、模型组、湿热组(肥甘饮食+湿热外环境造模)、病毒组(单纯MHV-A59造模),ELISA法检测小鼠血清IL-4、IFN- $\gamma$ 水平;清热祛湿类方药的对温病湿热证机制的反证 动物随机分为5组 正常组、模型组、A药组(模型组用蒿芩清胆汤治疗)、B药组(模型组用黄连解毒汤治疗)、C药组(模型组用三仁汤治疗),ELISA法检测小鼠血清IL-4、IFN- $\gamma$ 水平。结果:模型组、肠菌组血清Th1/Th2(IFN- $\gamma$ /IL-4)比值较正常组明显升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。病毒因素主要影响到IFN- $\gamma$ 水平,致使模型组Th1/Th2比值较正常组明显升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,A药组Th1/Th2比值明显趋于平衡( $P<0.05$ )。结论 Th1/Th2失衡是温病湿热证共同的致病机制之一,在MHV-A59温病湿热证形成中,MHV-A59因素主导T细胞免疫紊乱,清热祛湿类方药具有不同程度改善Th1/Th2失衡的作用,反证了温病湿热证的上述致病机制。

**关键词** 温病湿热证 MHV-A59 Th1/Th2 清热祛湿法

中图分类号 R512.6 文献标识码 A 文章编号 1673-842X(2012)09-0057-04

Study on Level Changes of Th1/Th2 in Serum of Mice Model of Damp-heat Syndrome of Seasonal Febrile Disease Infected by MHV-A59

LI Hua-feng<sup>1</sup>, LIU Ye<sup>2</sup>, LIN Xing-dong<sup>2</sup>

(1. Department of TCM, Second Affiliated Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510260, Guangdong, China 2. Department of Seasonal Febrile Disease, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China)

**Abstract** *Objectives* To study pathogenic mechanism of damp-heat syndrome of seasonal febrile disease from level of Th1/Th2 in serum of mice models of damp-heat syndrome of seasonal febrile disease infected by MHV-A59 and Bacillus coli. *Methods*: Pathogenic mechanism of damp-heat syndrome of seasonal febrile disease four-week-old mice of BALB/c were divided into three groups randomly, control group, model group, Bacillus coli group. The levels of IL-4 and IFN- $\gamma$  in mice serum was detected by ELISA. Analyze the position of etiological factor in damp-heat syndrome of seasonal febrile disease: four-week-old mice of BALB/c were divided into four groups randomly, control group, model group, Bacillus coli group, damp-heat group (rich fatty and sweet diet plus humid heat environment), MHV-A59 group (infecting by MHV-A59). The levels of IL-4 and IFN- $\gamma$  in mice serum were detected by ELISA.

Certificat the pathogenic mechanism of damp-heat syndrome of seasonal febrile disease induced by MHV-A59 through treating this disease with the decoction of clearing away heat and dampness four-week-old mice of BALB/c were divided into five groups randomly, control group, model group, A decoction group (mice of model group were treated by Haoqin Qingdan Decoction), B decoction group (mice of model group were treated by Coptidis Decoction for Detoxification), C decoction group (mice of model group were treated by Sanren Decoction). The levels of IL-4 and IFN- $\gamma$  in mice serum were detected by ELISA. *Results*: The Th1/Th2 (IFN- $\gamma$ /IL-4) of model group and Bacillus coli group were obviously increased compared to control group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The balance of Th1/Th2 and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> of model group became obviously disequilibrium compared to control group ( $P<0.05$ ) because of MHV-A59 infecting. The disequilibrium of Th1/Th2 was adjusted obviously compared to model group ( $P<0.05$ ). *Conclusion* The disequilibrium of Th1/Th2 in serum was one of the mutual pathogenic mechanisms of damp-heat syndrome of seasonal febrile disease. MHV-A59 plays a key role disorder of T cell immunity of damp-heat syndrome of seasonal febrile disease, the decoction of clearing away heat and dampness could treat the disequilibrium of Th1/Th2. It is the evidence for the pathogenic mechanism referred in our study.

**Key words** damp-heat syndrome of seasonal febrile disease MHV-A59 Th1/Th2 decoction of clearing away heat and dampness

收稿日期 2012-04-11

基金项目 广东省自然科学基金项目(9152402301000006)

作者简介 李华锋(1978-),男,湖北荆门人,讲师、主治医师,博士,研究方向 岭南温病的临床与实验研究。

机体的免疫功能不仅在反应水平上需要平衡,即反应水平既不能过低也不能亢进,而且在获得性免疫阶段,细胞免疫功能和体液免疫功能之间也需要维持动态的平衡,若不如此将引发疾病、造成病理损伤或加重病情,机体的获得性免疫平衡主要由Th1型和Th2型细胞因子进行调节<sup>[1]</sup>。相关研究表明<sup>[2-3]</sup>,温病湿热证模型存在免疫紊乱,本研究以小鼠肝炎病毒A59株(mouse hepatitis virus, MHV-A59)和大肠杆菌作为生物致病因子,建立两种小鼠温病湿热证动物模型,探讨血清IFN- $\gamma$ 及IL-4水平、Th1/Th2细胞因子比值,从此方面探讨温病湿热证本质。以MHV-A59温病湿热证模型为切入点,探讨湿热因素(肥甘饮食+湿热外环境)病毒因素在上述机制形成中的地位。运用清热祛湿类方药(蒿芩清胆汤、黄连解毒汤、三仁汤)对MHV-A59温病湿热证的治疗作用来反证其致病机制,并初步探讨清热祛湿法的作用机理。

## 1 实验材料

### 1.1 动物

清洁级BALB/c雄性小鼠,4周龄左右,体重(13±2)g(由南方医科大学动物实验中心提供,动物合格证号 No.0030668)。

### 1.2 饲料

普通饲料由南方医科大学动物实验中心提供;肥甘饲料由广东省医学实验动物中心加工(配方:80%基础饲料+8%蜂蜜+12%猪油)。

### 1.3 试剂

IL-4原装试剂盒、IFN- $\gamma$  原装试剂盒(上海轩昊试剂公司,IL-4批号 A1010A0104U,IFN- $\gamma$  批号 A1010A0123U)。

### 1.4 仪器

酶标仪(美国Bio-tek公司出产的Powerwave HT型),烤箱(德国MMM公司的Venticall型),摇床(北京市六一仪器厂,型号 WD9405B),湿盒(广州威佳科技有限公司,型号 10P),水浴锅(常州澳华仪器有限公司,型号 HH-2)。

### 1.5 药物

剂量换算参考陈奇主编的《中药药理学实验》(人民卫生出版社,1994)。

A药(蒿芩清胆汤)青蒿(后下)10g,黄芩15g,陈皮6g,半夏10g,枳壳10g,竹茹10g,茯苓15g,滑石30g,大青叶(代青黛)15g,甘草6g。剂量参考《重订通俗伤寒论》,药物均购自广州中医药大学第一附属医院中药房。此方按传统方法煎成浓度为1g/mL,按小鼠体表面积换算,小鼠的剂量为1.27g/d。B药(黄连解毒汤)黄连9g,黄柏6g,黄芩6g,栀子9g。剂量参考《外台密要》,药物均购自广州中医药大学第一附属医院中药房。此方按传统方法煎成浓度为1g/mL,按小鼠体表面积换算,小鼠的剂量为0.3g/d。C药(三仁汤)杏仁15g,白蔻仁18g,薏苡仁18g,竹叶6g,厚朴6g,通草6g,滑石18g,半夏10g。剂量参考《温病条辨》,药物均购自广州中医药大学第一附属医院中药房。此方按传统方法煎成浓度为1g/mL,按小鼠体表面积换算,小鼠的剂量为0.9g/d。

## 2 实验方法

### 2.1 分组及干预措施

小鼠48只,随机分为如下8组,每组6只。

正常对照组(简称正常组)予以普通饲料、自由饮水及自然环境饲养15天。肥甘饮食+湿热环境组(简称湿热组,以下同)小鼠先予以肥甘饮食、自由饮水、自然环境饲养,于第11、13、15天上午(9~12时)放入高温舱内[温度(32±0.5)℃,湿度(60±5)%],其余时间在自然环境、肥甘饲料及普通饮水饲养。最后一次出气候模拟舱时造模完毕。单纯MHV-A59感染组(简称病毒组,以下同)小鼠予以正常饲料、自由饮水和自然环境饲养,至第10天上午8时予以腹腔注射MHV-A59 0.5mL(浓度为10<sup>-5.5</sup>/mL)。感染后第5天为造模成功。大肠杆菌温病湿热证模型组(简称肠菌组,以下同)小鼠先予以肥甘饮食、普通饮水、自然环境饲养,至第10天上午8时予以0.4mL/10g大肠杆菌(浓度为10<sup>9</sup>/mL)灌胃1次,第12天上午8时重复感染1次。在大肠杆菌感染后第1、3、5天上午(9~12时)放入气候模拟舱内[温度(32±0.5)℃,湿度(60±5)%],其余予以自然环境、肥甘饲料及自由饮水饲养。最后一次出气候模拟舱时造模完毕。MHV-A59温病湿热证模型组(简称模型组):小鼠先予以肥甘饮食、自由饮水和自然环境饲养;至第10天上午8时予以腹腔注射MHV-A59 0.5mL(浓度为10<sup>-5.5</sup>/mL),在病毒感染后第1、3、5天上午(9~12时)放入气候模拟舱[温度(32±0.5)℃,湿度(60±5)%],其余时间在自然环境、肥甘饲料及自由饮水饲养。最后一次出气候模拟舱时造模完毕。蒿芩清胆汤治疗组(简称A药组,以下同)造模方法同模型组,但在病毒感染当日起予以蒿芩清胆汤灌胃,剂量为1.27g/d,分2次给药,连续5天(给药时间为上午8~9时,下午4~5时)。黄连解毒汤治疗组(简称B药组,以下同)造模方法同模型组,但在感染病毒当日起予以黄连解毒汤灌胃,剂量为0.3g/d,分2次给药,连续5天(给药时间为上午8~9时,下午4~5时)。三仁汤治疗组(简称C药组,以下同)造模方法同模型组,在感染病毒当日起予以三仁汤灌胃,剂量为0.9g/d,分2次给药,连续5天(给药时间为上午8~9时,下午4~5时)。本实验采用的小鼠肝炎湿热证模型的方法成熟,可作为温病湿热证动物模型之一,也是一种新的病证结合模型<sup>[4]</sup>。

### 2.2 取材及样本预处理

动物造模完毕,在气候模拟舱内取材,取材前动物禁食不禁水12h,摘眼球取血,静置30min后,于4℃、1500r/min离心15min,取上清液保存于-4℃待测。

### 2.3 血清IFN- $\gamma$ 、IL-4水平检测

ELISA法,步骤如下:试剂盒应平衡至室温(20~25℃)取出所需反应板,加入10 $\mu$ L标准品(standards),100 $\mu$ L已稀释标本于相应反应板中孔,轻轻混匀30s(20~25℃)温育20min,洗板:甩尽板内液体,用洗涤液洗涤反应板(每孔内加入350 $\mu$ L洗涤液),并去除水滴(在厚叠吸水纸上拍干)反复洗涤3次,每孔加入100 $\mu$ L Biotin anti mouse IFN- $\gamma$  或100 $\mu$ L Biotin anti mouse IL4,

轻轻混匀30s (20~25℃)温育20min 洗板:用尽板内液体,用洗涤液洗涤反应板(每孔内加入350 μL洗涤液),并去除水滴(在厚叠吸水纸上拍干),反复洗涤3次;每孔加入100 μL 1×HRP。轻轻混匀30s (20~25℃)温育10min 洗板:用尽板内液体,用洗涤液洗涤反应板(每孔内加入350 μL洗涤液),并去除水滴(在厚叠吸水纸上拍干),反复洗涤3次;每孔加入100 μL TMB显色液,轻轻混匀10s (20~25℃)温育20min 每孔加入100 μL终止液(stop solution)。轻轻混匀30s,15min内在450nm处读取OD值,以OD值为纵坐标,也标准品浓度为横坐标,绘制标准曲线。根据血清或血浆样品的OD值可在标准曲线上查出其浓度。IFN- $\gamma$ 或IL-4 (pg/mL)=标准曲线上查出的浓度×稀释倍数。

#### 2.4 统计方法

用SPSS11.5软件分析结果,数据以均数±标准差表示( $\bar{x}\pm s$ )。若数据满足正态性和方差齐性,采用单因素方差分析,组间用 $q$ 检验, $P<0.05$ 为显著性差异, $P<0.01$ 为非常显著性差异。

### 3 实验结果

#### 3.1 两种温病湿热证模型外周血Th1/Th2比值的变化

见表1。

表1 两种温病湿热证模型外周血Th1/Th2水平的变化(pg/mL,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	IL-4	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ /IL-4
正常组	6	3752.12±46.01	7135.08±65.90	1.90±0.02
模型组	6	3921.27±284.44	8030.48±375.40	2.17±0.16
肠菌组	6	3603.80±118.01	7675.58±437.68	2.09±0.06

注:与正常组比较, $P<0.05$ , $P<0.01$ 与模型组比较, $P<0.01$ 。

从表1可以看出:IL-4方面,模型组、肠菌组与正常组比较无统计学意义;IFN- $\gamma$ 方面,模型组、肠菌组与正常组比较升高有显著性差异( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );IFN- $\gamma$ /IL-4比值方面,与正常组比较,模型组、肠菌组较正常组升高有显著性差异( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。实验结果提示:两种温病湿热证模型组小鼠血清IFN- $\gamma$ 水平均升高,IFN- $\gamma$ /IL-4比值升高明显。

#### 3.2 分因素模型外周血Th1/Th2比值的变化的变化

见表2。

表2 分因素模型外周血Th1/Th2水平的变化(pg/mL,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	IL-4	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ /IL-4
正常组	6	3752.12±46.01	7135.08±65.90	1.90±0.02
湿热组	6	3783.42±163.11	7783.34±271.18	1.95±0.08
病毒组	6	4081.17±294.74	8070.83±142.10	1.98±0.12
模型组	6	3921.27±284.44	8030.48±375.40	2.17±0.16

注:与正常组比较, $P<0.05$ , $P<0.01$ 与模型组比较, $P<0.01$ 。

从表2可以看出:IL-4方面,病毒组与正常组比较升高有显著性差异( $P<0.05$ ),模型组与正常组比较升高不明显;IFN- $\gamma$ 方面,病毒组、模型组较正常组升高有非常显著性差异( $P<0.01$ ),模型组较湿热组有显著性升高( $P<0.01$ );IFN- $\gamma$ /IL-4比值方面,模型组与正常组比较升高有显著性差异( $P<0.05$ )。实验结果显示:病毒因素是造成MHV-A59温病湿热证模型小鼠IFN- $\gamma$ /IL-4比值

升高的主要因素。

#### 3.3 三方对MHV-A59温病湿热证模型外周血Th1/Th2比值的影响

见表3。

表3 三方对MHV-A59温病湿热证模型外周血Th1/Th2比值的影响(pg/mL,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	IL-4	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ /IL-4
正常组	6	3752.12±46.01	7135.08±65.90	1.90±0.02
模型组	6	3921.27±284.44	8030.48±375.40	2.17±0.16
A药组	6	3737.70±162.31	7625.11±178.69	2.04±0.09
B药组	6	3889.35±122.00	7990.43±340.11	2.06±0.09
C药组	6	3990.46±159.43	8025.75±581.54	2.05±0.16

注:与正常组比较, $P<0.05$ , $P<0.01$ 与模型组比较, $P<0.05$ 。

从表3可以看出,与正常组比较,模型组小鼠血清IL-4水平升高不明显,血清IFN- $\gamma$ 水平有非常显著性升高( $P<0.01$ ),IFN- $\gamma$ /IL-4比值增高明显( $P<0.01$ )。A药能显著降低模型组小鼠血清IFN- $\gamma$ 及IFN- $\gamma$ /IL-4比值( $P<0.05$ )。实验结果显示:蒿芩清胆汤能降低MHV-A59温病湿热证外周血IFN- $\gamma$ /IL-4比值。

### 4 讨论

#### 4.1 温病湿热证与Th1/Th2平衡

1986年Mosmann等依据小鼠CD $_4^+$ 辅助性T淋巴细胞(helper T cell, Th)分泌的细胞因子谱不同,首次将Th细胞分为Th1和Th2两个功能不同的亚群<sup>[5]</sup>。所有的Th细胞都是从Th0细胞分化而来,Th0细胞被激活后,能够分化为Th1和Th2效应细胞。Th1主要分泌IL-2、IFN- $\gamma$ 、 $\gamma$ 等,Th2细胞主要分泌IL-4、6、10等,Th1细胞主要介导与细胞毒和局部炎症有关的免疫应答,参与细胞免疫与迟发性超敏性反应的形成,故亦称炎症性T细胞,可被视为TDTH细胞,因而Th1细胞在抗胞内病原体(病毒、细菌及寄生虫)感染中发挥重要作用,Th2细胞的主要功能是刺激B细胞增生并产生抗体,与体液免疫相关<sup>[6]</sup>。但各种细胞因子的分泌并不是绝对的,有时有交叉,所以传统的定义只是根据IFN- $\gamma$ 和IL-4的分泌来区分,Th1细胞生成IFN- $\gamma$ 但不产生IL-4,而Th2细胞分泌IL-4但不生成IFN- $\gamma$ <sup>[7]</sup>。

##### 4.1.1 温病湿热证小鼠血清IL-4水平变化

IL-4主要是由活化Th2来产生,是重要的抑制炎症性细胞因子,IL-4的主要生物学特性是促进经成体干细胞(SAC)或抗IgM激活的B细胞增殖;促进B细胞表达MHC II类抗原、FcR $\gamma$ /CD $_{23}$ 和CD $_{40}$ ,并增强B细胞抗原呈递能力,使免疫系统对少量抗原刺激发生免疫应答<sup>[8]</sup>。IL-4可促进活化B细胞增殖,故IL-4曾被称为B细胞因子,诱导胚系Ig的 $\mu$ 和 $\epsilon$ 重链的恒定区基因转录,使Ig类别转换生成IgE和IgG $_4$ ,促进T细胞增殖,虽促进速度和程度不如IL-2,但对Th2细胞的分化与增殖,IL-4有不可替代的作用。IL-4是抑制巨噬细胞(macrophage M $\phi$ )功能的细胞因子之一,其抑制活性仅次于IL-10<sup>[9]</sup>。

本研究提示,IL-4方面,与正常组比较,模型组和肠菌组的变化不明显。这说明温病湿热证模型小鼠IL-4水平变化不明显,Th2细胞不占优

势。

#### 4.1.2 温病湿热证模型小鼠血清IFN- $\gamma$ 水平变化

IFN- $\gamma$ 是一类具有多功能、抗病毒活性的糖蛋白。主要的活化的T细胞(包括Th0、Th1细胞和所有的CD $8^+$ T细胞)和NK细胞产生<sup>[9]</sup>。其最主要的功能是活化M $\phi$ 和NK细胞,促进Th0向Th1细胞分化。IFN- $\gamma$ 促进炎症反应,具有较强的抗病毒、抗细菌感染与抗寄生虫感染,加强宿主的防御和参与免疫调节作用。

IFN- $\gamma$ 与病毒感染的关系很密切。感染细胞内病毒的清除,主要依赖于细胞免疫,细胞毒性T细胞(CTL)可通过多种细胞因子,如IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 等而发挥抗病毒作用<sup>[10]</sup>。有研究显示,慢性乙型肝炎患者湿热中阻型的IFN- $\gamma$  mRNA表达水平增高。

本研究提示,IFN- $\gamma$ 方面,模型组、肠菌组与正常组比较升高有显著性差异( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。因此,温病湿热证模型中Th1细胞占优势。

#### 4.1.3 温病湿热证模型小鼠Th1/Th2比值变化

Th1细胞与Th2细胞之间相互制约可以有效地进行调节并维持免疫平衡。Th1和Th2细胞还能相互调节,Th1细胞生成的IFN- $\gamma$ 直接抑制IL-4的分泌和Th0细胞向Th2细胞的分化,而IL-4和IL-10抑制IL-12和IFN- $\gamma$ 的分泌,阻止Th0细胞向Th1细胞的分化<sup>[11-12]</sup>。因此目前许多研究者用IFN- $\gamma$ /IL-4来了解Th1/Th2的失衡状态。

本研究提示,肠菌组、模型组的小鼠血清IFN- $\gamma$ 水平升高明显,IFN- $\gamma$ /IL-4比值与正常组比较升高有显著性差异( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。提示温病湿热证动物模型小鼠血清IFN- $\gamma$ 水平升高,IFN- $\gamma$ /IL-4比值增加,Th1/Th2向Th1漂移,以Th1细胞占优势。近年研究发现Th1和Th2平衡在维持细胞因子的动态平衡中起关键作用,Th1/Th2失衡不仅表现为各种疾病(如慢性感染、自身免疫性疾病或变态反应等),而且在同一疾病的不同阶段失衡的情况也不同,主要表现在其分泌的细胞因子水平变化<sup>[13]</sup>。有学者认为<sup>[14]</sup>“实证”时细胞免疫相对亢进,炎症反应明显,Th1/Th2失衡表现为Th1占优势;“虚证”时体液免疫相对亢进,产生各种病理产物,Th1/Th2失衡表现为Th2占优势。温病湿热证模型的细胞因子的变化以IFN- $\gamma$ 增高明显,IFN- $\gamma$ /IL-4比值增加,Th1/Th2向Th1漂移。本证虽然是脾胃损伤在前,但由于生物致病因子的作用,病变还处于炎症反应明显的实证阶段,主要反映Th1细胞占优势的细胞免疫。

本研究结果显示,两种温病湿热证模型均存在Th1/Th2失衡,提示,Th1/Th2失衡可能是温病湿热证的致病机制之一。

#### 4.2 造模因素在温病湿热证机制形成中的地位

对于MHV-A59温病湿热证的因素分析,模型组的小鼠血清IFN- $\gamma$ 水平升高明显,IFN- $\gamma$ /IL-4比值与正常组比较升高有显著性差异( $P<0.01$ )。单纯病毒组IFN- $\gamma$ /IL-4比值虽然不失衡,但其血清IFN- $\gamma$ 与IL-4水平均增高,这可能是病毒致使免疫在高水平保持平衡,这需要进一步的研究。而湿热

组的细胞因子变化不明显。提示病毒因素是导致MHV-A59温病湿热证模型血清Th1/Th2失衡的主要因素。因为,病毒在感染损伤宿主的过程中,通过免疫系统的相互作用,诱发免疫损伤机体是重要致病机制之一。

#### 4.3 三方对模型小鼠外周血Th1/Th2水平的影响

Th1和Th2平衡在维持细胞因子的动态平衡中起关键作用。而人体的阴阳也维持着动态平衡。中医治疗疾病的焦点不是针对特异性病因和局部的病理改变或直接消灭病原、纠正病理状态,而是调动和激发人的生命潜能,帮助人体恢复和提高自身免疫调节能力,促使各种关系由不和谐向和谐转化。阴阳是疾病发生的总纲,温病湿热证Th1/Th2平衡的变化可能是阴阳失调的具体表现之一。湿为阴邪,热为阳邪,相合为病,使机体阴阳平衡失调。而温病学家吴鞠通认为,“湿热之邪多犯中焦脾胃,治疗遵循“治中焦如衡,非平不安”的原则;“徒清热则湿不退,徒祛湿则热愈炽”、“湿热两伤,不可偏治”,强调以清热祛湿为要,不可偏颇,体现了“平衡”的特点。这样就能使湿热分消,人体阴阳平衡,而达到治疗疾病的目的。

本研究提示,蒿芩清胆汤可改善模型组小鼠外周血Th1/Th2失衡状态。从三方组方上分析,蒿芩清胆汤是“清热”与“化湿”最为均衡的方药,这可能是此方能改善这种失衡效果最好的理论基础。清热祛湿类方药对此靶点的作用,也反证了Th1/Th2失衡是导致温病湿热证的机制之一。同时提示清热祛湿法具有调节免疫平衡的功能。

#### 参考文献

- [1] 赵述武.免疫平衡研究及其临床意义[M].北京:科学出版社,2005:90.
- [2] 陈江华,佟丽,吴仕九,等.湿热证病人体液免疫状态观察[J].中国中医急症,1998,7(1):6-7.
- [3] 陈晴清,张静.脾胃湿热证与Th1/Th2细胞平衡的相关研究[J].内科,2007,2(4):589.
- [4] 李华锋,林培政.小鼠肝炎病毒温病湿热证模型的探讨[J].辽宁中医杂志,2011,38(7):1318-1321.
- [5] Mosmann TR,Cherwinski H,Bond MW,et al. Two types of murine helper T cell clone I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted protein[J].J Immunol,1986,136:2348.
- [6] 龚非力.医学免疫学[M].北京:科学出版社,2000:78,81,83,155,248.
- [7] 王连明,杨印江.Th1/Th2免疫模式与感染性疾病[J].中华临床新医学,2003,3(1):59-61.
- [8] 冀肇华,张远强,郭顺根.免疫细胞学与疾病[M].北京:中国医药科技出版社,2004:863-864.
- [9] Schwarze J,Cieslewicz G,Joetham A,et al. critical roles for interleukin-4 and interleukin-5 during respiratory syncytial virus IFN $\gamma$  in the development of airway hyper responsiveness after airway sensitization[J].AM J Respir Crit Care Med,2000,162(2 Pt 1):380-386.
- [10] 周正凡.医学微生物学[M].北京:人民卫生出版社,2006:29,65.
- [11] Muraille E,Leo O. Revisiting theTh1/Th2 paradigm[J].Scand J Immunol,1998,47:1-9.
- [12] Demeure CE,Wu CY,Shu U,et al. In vitro maturation of human neonatal CD4 T lymphocytes. II. Cytokines present at priming modulate the development of lymphokine production[J].J Immunol,1994,152:4775-82.
- [13] 王红艳.自身免疫性疾病中Th1/Th2细胞平衡[J].国外医学免疫学分册,2000,23(6):348-350.
- [14] 吴婷婷,汪悦.Th1/Th2平衡紊乱与中医证本质之关系[J].现代中西医结合杂志,2006,15(6):828.