

## · 研究报告 ·

## 姜黄素对戊四氮致癫大鼠海马区 IL-2 和 IL-6 表达水平的影响

董 伟, 严建维, 谈巧玲, 叶 森 (余姚市人民医院, 浙江 余姚 315400)

**[摘要]** **目的** 探讨姜黄素抗癫 的作用机制。**方法** 取健康成年雄性 SD 大鼠, 连续腹腔注射戊四氮, 诱发大鼠点燃致癫模型。空白组和模型组灌予生理盐水 5 ml, 1 次/d, 连续 28 d。低剂量和高剂量姜黄素组分别灌予姜黄素 100 mg/kg 和 200 mg/kg, 1 次/d, 连续 28 d; 丙戊酸钠组灌予丙戊酸钠 400 mg/kg, 1 次/d, 连续 28 d。治疗结束后, 按照 Racine 的 6 级评分标准, 观察癫 大鼠发作等级变化, 用酶联免疫法 (ELISA) 检测海马区 IL-2 和 IL-6 表达水平的变化。**结果** 姜黄素组的癫 大鼠惊厥发作等级降低。模型组 IL-2 和 IL-6 高表达, 比空白组呈显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 姜黄素组大鼠海马区 IL-2 和 IL-6 的表达明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与低剂量姜黄素组相比, 高剂量姜黄素组 IL-2 和 IL-6 水平降低更为明显 ( $P < 0.05$ )。高剂量姜黄素组与丙戊酸钠组比较, 无显著差异 ( $P > 0.05$ )。**结论** 姜黄素能降低癫 大鼠惊厥发作级别, 具有一定的抗癫 作用, 并且呈剂量依赖性, 其可能机制是通过降低海马区 IL-2 和 IL-6 的表达发挥作用。

**[关键词]** 姜黄素; 癫 ; IL-2; IL-6

**[中图分类号]** R971.6

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2016)04-0354-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.018

## Effect of the curcumin on expression of IL-2 and IL-6 of hippocampus in pentylene-tetrazol-induced epilepsy in rats

DONG Wei, YAN Jianwei, TAN Qiaoling, YE Sen (Yuyao People's Hospital, Yuyao 315400, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the mechanism of anti-epileptic effect of the curcumin. **Methods** The SD rats were injected intraperitoneally with pentylene-tetrazol kindling 25.0 mg/kg to induce a rat epilepsy model. All of the treatments were performed once a day continuously for 28 days. The rats in blank group and model group received 5 ml of normal saline. The rats in the high and low curcumin group were given 200 mg/kg and 100 mg/kg of curcumin once a day, respectively. The rats in the sodium valproate (VPA) group were given 400 mg/kg of VPA once a day by gavage. After treatment, the seizures level was recorded by using the Racine's six point grading scale, and the expression of IL-2 and IL-6 of hippocampus were detected by the enzyme linked immunoassay (ELISA). **Results** The seizures level was reduced by curcumin in epileptic rats. The expressions of IL-2 and IL-6 of the model group were significantly higher than those of the blank group ( $P < 0.05$ ), while those rats of the anti-epileptic groups, including high dose group and low dose group, were lower than those rats of the model group ( $P < 0.05$ ). When compared with the curcumin low dose group, the expression of IL-2 and IL-6 of curcumin high dose group is lower ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference between the high dose curcumin group and VPA group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The curcumin can reduce the seizure level in rats, it shows some anti-epileptic effects and dose-dependently, which may be through down-regulating the expression of IL-2 and IL-6 in hippocampus.

**[Key words]** curcumin; epilepsy; IL-2; IL-6

癫 是最常见的中枢神经系统疾病, 临床以发作性惊厥为特征。癫 的发病机制目前仍不明确, 其中, 神经免疫调节失衡参与了癫 的发病过程<sup>[1]</sup>。研究表明, IL-2 和 IL-6 作为一种重要的细胞免疫调节因子, 参与了癫 的发生发展<sup>[2-5]</sup>。姜黄素具有神

经保护作用 and 潜在的抗癫 作用, 具有一定的临床应用价值。本实验通过观察姜黄素对戊四氮 (PTZ) 致癫大鼠海马区的炎性细胞因子 IL-2 和 IL-6 的影响, 探讨姜黄素治疗癫 的可能作用机制。

### 1 资料与方法

**1.1 实验动物** 选用 75 只成年健康雄性 SD 大鼠, 体重 (200 ± 15) g, 浙江大学实验动物研究所提供, 实验动物许可证: SYXK(浙)2008-0110。

**1.2 实验药物与试剂** 戊四氮 (PTZ, Sigma 公

**[作者简介]** 董 伟, 副主任医师。研究方向: 癫 及脑血管疾病诊治。E-mail: 4516661@qq.com

**[通讯作者]** 严建维, 副主任医师。研究方向: 神经电生理研究。Tel: 13867855268; E-mail: ducan11@163.com

司),丙戊酸钠(江苏恒瑞医药公司),姜黄素(Chayman公司),IL-2、IL-6 ELISA 试剂盒(上海博谷生物科技)。

**1.3 动物造模** 取其中 60 只 SD 大鼠制备癫痫大鼠模型。腹腔注射 PTZ 25.0 mg/kg, 1 次/d, 持续注射 25~28 d, 达点燃标准(连续 5 次 PTZ 腹腔注射, 大鼠均表现为 IV 级或 V 级发作)。观察 30 min 左右, 判定依据为癫痫发作的行为表现。癫痫发作状态根据 Racine 等<sup>[6]</sup>的评估标准分为 6 级。0 级: 无任何反应; I 级: 面部抽搐及咀嚼; II 级: 点头和(或)甩头; III 级: 前肢阵挛, 但无直立位; IV 级: 前肢阵挛伴伸直; V 级: 前肢及全身阵挛, 失去平衡, 跌倒。

**1.4 分组与给药方式** 大鼠分为 5 组: 空白组、模型组、丙戊酸钠组、低剂量姜黄素组、高剂量姜黄素组, 每组 15 只。给药方式: 空白组、模型组灌予生理盐水, 5 ml/次; 低剂量、高剂量姜黄素组分别灌予姜黄素, 每次 100、200 mg/kg; 丙戊酸钠组灌予丙戊酸钠, 每次 400 mg/kg。各组灌服频率为 1 次/d, 连续 28 d。

**1.5 ELISA 检测海马区 IL-2 和 IL-6 的水平** SD 大鼠冰浴中断头、取脑, 分离海马, 称重后加入含有少量预先冰冷的酸化正丁醇的玻璃匀浆器中, 通过研磨制成匀浆, 4 °C, 3 000 r/min, 离心 15 min, 取出上清液, 按照 ELISA 检测试剂盒说明书方法检测 IL-2 和 IL-6 的表达水平。

**1.6 统计学处理** 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 应用 SPSS18.0 软件处理, 组间比较采用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 姜黄素对癫痫大鼠发作等级变化的影响** 如表 1 所示, 与空白组相比, 模型组的发作等级明显增高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 表明造模成功。与模型组相比, 高、低剂量姜黄素组、丙戊酸钠组的发作等级显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 高剂量姜黄素组比低剂量组的发作等级明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示高剂量组更为有效, 表明姜黄素对癫痫大鼠的治疗效果成剂量依赖性。高剂量姜黄素组与丙戊酸钠组的发作等级无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 提示高剂量姜黄素的治疗效果与丙戊酸钠相当。

**2.2 姜黄素对癫痫大鼠海马区 IL-2 和 IL-6 表达水平的影响** 由表 1 可见, 与空白组比较, 模型组

表 1 姜黄素对癫痫大鼠发作等级及对 IL-2 和 IL-6 表达水平的影响 ( $n=15$ )

组别	发作等级	IL-2 (pg/pg · ml <sup>-1</sup> )	IL-6 (pg/pg · ml <sup>-1</sup> )
空白组	0.00±0	3.15±0.34	252.6±59.0
模型组	4.18±0.24*	4.43±0.63*	379.0±91.2*
丙戊酸钠组	2.91±0.34#	3.27±0.47#	247.5±45.6#
低剂量姜黄素组	3.56±0.48#	3.89±0.54#	274.2±63.9#
高剂量姜黄素组	2.83±0.58#△	3.05±0.62#△	232.8±49.4#△

\*  $P < 0.05$ , 与空白组比较; #  $P < 0.05$ , 与模型组比较; △  $P < 0.05$ , 与低剂量姜黄素组比较

IL-2 和 IL-6 的水平明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 表明 IL-2 和 IL-6 高表达在癫痫的发病中起一定作用。与模型组相比, 姜黄素和丙戊酸钠均能使 IL-2 和 IL-6 的水平明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与低剂量姜黄素组相比, 高剂量姜黄素组的 IL-2 和 IL-6 水平明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 高剂量姜黄素组与丙戊酸钠组的 IL-2 和 IL-6 水平无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 表明姜黄素的抗癫痫作用可能是通过降低 IL-2 和 IL-6 的表达水平实现的。

## 3 总结与讨论

目前治疗癫痫多以抗惊厥药物为主, 但存在一定的副作用, 因此, 寻找一种新的抗癫痫药物具有重要意义。研究发现, 姜黄素在实验动物癫痫模型中表现出明确的抗癫痫作用<sup>[7]</sup>。例如, 在海仁酸小鼠腹腔注射诱发的急性癫痫模型中, 姜黄素可以延长癫痫性发作的潜伏期, 降低发作评分<sup>[8]</sup>。姜黄素可以抑制戊四唑诱导的癫痫病灶细胞的放电或扩散, 缓解肌肉阵挛症状, 并改善模型动物的学习和认知功能<sup>[9,10]</sup>。本实验从神经免疫机制异常的角度, 探讨姜黄素治疗癫痫的作用机制。

研究表明, IL-2 是由活化的 T 细胞产生的细胞因子, 不仅参与机体的免疫反应, 而且可以作为神经调质样物质参与中枢神经系统病理和生理过程。Liu 等<sup>[2]</sup>发现癫痫组血清中 IL-2 的含量明显高于正常对照组。文献报道, 将 IL-2 注入脑室, 可使大鼠产生癫痫样行为和脑电图波形, 而应用 IL-2 单克隆抗体或纳络酮可阻断此作用<sup>[3]</sup>。IL-6 是由单核巨噬细胞产生的细胞因子, 广泛参与中枢神经系统内的免疫反应。动物实验研究发现, 癫痫早期小鼠脑内 IL-6 mRNA 表达明显增加; 在癫痫患者脑脊液及血浆中 IL-6 水平同样升高, 全面强直发作患者的 IL-6 水平较部分性发作的患者高<sup>[4]</sup>。IL-6 基因的

过表达可明显增加小鼠中枢神经系统海马星形胶质细胞的数量,导致海马区脑电图癫痫样改变<sup>[5]</sup>。上述研究表明,IL-2和IL-6参与了癫痫的发病。

本研究证实模型组大鼠海马区IL-2和IL-6明显高表达,与文献报道相一致。通过姜黄素的治疗,癫痫发作等级明显降低,表明姜黄素具有一定的抗癫痫作用。更为重要的发现是,姜黄素组大鼠海马区的IL-2和IL-6水平明显降低,高剂量组降低更为显著,表明姜黄素有可能是通过降低IL-2和IL-6的表达水平发挥抗癫痫作用,为姜黄素治疗癫痫发作提供了理论依据。

### 【参考文献】

- [1] Iori V, Frigerio F, Vezzani A. Modulation of neuronal excitability by immune mediators in epilepsy [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 26: 118-123.
- [2] Liu ZS, Wang QW, Wang FL, et al. Serum cytokine levels are altered in patients with west syndrome [J]. *Brain Dev*, 2001, 23(7): 548-551.
- [3] 向赞,董大翠,刘庆莹,等.马桑内酯致大鼠海马IL-2免疫反应性的变化[J].*江汉大学学报(自然科学版)*, 2003, 31(2): 17-21.

(上接第350页)

而在蛋白质含量检测中无明显统计学差异,表明痰热清、喜炎平和生理盐水对肺部的刺激性在BCA蛋白检测中结果相似。这可能是由雾化液滴、雾化速度等物理因素造成的,具体原因还需进一步实验探究。同种药物组内对比显示,药物处于高浓度时,LDH活力系数更大,原因是当雾化吸入药物的浓度过高时,细胞损伤加重,内容物大量释放。

两种药物组间对比结果显示,当药物处于低浓度时,痰热清组的LDH活力强于喜炎平组。从注射剂组成上看,痰热清注射剂成分较为复杂,黄芩中的黄芩苷、熊胆粉中的熊总胆酸、山羊角的水解物、金银花中的绿原酸、连翘中的连翘苷,这些会诱发过敏反应的过敏原都有可能造成肺部刺激。特别是绿原酸和山羊角水解物,皆属于已知的高致敏物质。而喜炎平注射液系纯中药制剂,其主要成分为穿心莲内酯磺化物,成分简单、纯度高,对呼吸系统的刺激性较复方注射剂小。当吸入药物达到高浓度时,两药对LDH活力的影响差异不显著,这可能与血氧浓度达到饱和或者刺激性已达到最大有关。

本实验表明,雾化吸入痰热清和喜炎平可能会对肺部和呼吸道产生刺激性,两种药物经雾化吸入给药均存在安全隐患。临床使用时,除了慎重选择

- [4] Ravizza T, Rizzi M, Perego C, et al. Inflammatory response and glia activation in developing rat hippocampus after status epilepticus [J]. *Epilepsia*, 2005, 46(S5): 113-117.
- [5] Lehtimäki KA, Kernen T, Huhtala H, et al. Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration [J]. *J Neuroimmunol*, 2004, 152(1-2): 121-125.
- [6] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation II. motor seizure [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1972, 32(3): 281-294.
- [7] 文帅,梁日生,杨卫忠.姜黄素神经保护作用与癫痫[J].*国际神经病学神经外科学杂志*, 2010, 37(1): 46-49.
- [8] Shin HJ, Lee JY, Son E, et al. Curcumin attenuates the kainic acid-induced hippocampal cell death in the mice [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 416(1): 49-54.
- [9] Agarwal NB, Jain S, Agarwal NK, et al. Modulation of pentylenetetrazole-induced kindling and oxidative stress by curcumin in mice [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(8-9): 756-759.
- [10] Mehla J, Reeta KH, Gupta P, et al. Protective effects of curcumin against seizures and cognitive impairment in a pentylenetetrazole-kindled epileptic rat model [J]. *Life Sci*, 2010, 87(19-22): 596-603.

[收稿日期] 2015-08-27 [修回日期] 2016-03-04

[本文编辑] 李睿雯

雾化吸入药物以外,还应注意给药剂量,以免给药剂量过大对肺部造成更大程度的损伤。

### 【参考文献】

- [1] 凌祥,沈雁,孙春萌,等.肺部给药研究近况[J].*药学研究*, 2014, 33(12): 711-714.
- [2] 王淳,刘晓彬,权丽辉,等.中药肺部给药系统应用进展[J].*世界科学技术:中医药现代化*, 2007, 9(1): 59-64.
- [3] 雷卫平,吴英梅,林翠芬.痰热清注射液的临床应用[J].*国际医药卫生导报*, 2005, 11(14): 110-113.
- [4] 张妍,杨毅恒,刘芳,等.痰热清注射液雾化吸入治疗呼吸系统疾病的系统评价[J].*中国医院用药评价与分析*, 2010, 10(6): 483-487.
- [5] 唐韵.喜炎平注射液临床应用近况[J].*世界临床药物*, 2014, 35(3): 184-188.
- [6] 万珍,徐志锋,林俊明,等.喜炎平超声雾化吸入治疗成人急性上呼吸道感染疗效观察[J].*新中医*, 2014, 46(6): 57-59.
- [7] 张华静,郑德瑜.喜炎平注射液联合利巴韦林雾化吸入治疗小儿疱疹性咽峡炎观察[J].*中医药临床杂志*, 2014, 26(12): 1247-1248.
- [8] 王晶,任吉祥,谢雁鸣,等.喜炎平注射液治疗手足口病的系统评价[J].*中国中药杂志*, 2013, 38(18): 3215-3222.
- [9] 耿红,吴明杰.喜炎平雾化吸入后拍背吸痰佐治小儿毛细支气管炎的临床观察[J].*临床合理用药杂志*, 2012, 5(6B): 70

[收稿日期] 2015-08-22 [修回日期] 2016-01-03

[本文编辑] 李睿雯