

文章编号 :1008-9926(2004)05-0362-02 中图分类号 :R965 文献标识码 :A

蒙药清热八味散对小鼠免疫功能的影响

蔡光明^① 赵艳玲 山丽梅 冯文慧 朱 昱^② 王丽勤^② 王兰英^②(^①中国人民解放军第 302 医院 药学部 北京 100039 ; ^②内蒙古自治区蒙药工程技术研究中心 内蒙古自治区 呼和浩特 010010)

摘 要 :目的 研究蒙药清热八味散对小鼠免疫功能影响的药效学作用。方法 以环磷酰胺造成小鼠免疫功能低下模型 ,分别测定蒙药清热八味散对小鼠溶血素抗体和淋巴细胞增殖作用等免疫功能的影响。结果 蒙药清热八味散可提高环磷酰胺模型小鼠脾细胞自发增殖反应和 Con A 诱导的脾细胞增殖反应及小鼠溶血素抗体生成。结论 蒙药清热八味散可提高小鼠免疫功能 ,为防治“非典”的辅助用药提供了科学依据。

关键词 清热八味散 ;溶血素抗体 ;淋巴细胞增殖

Effect of Qingrebawesian on immune function in mice

CAI Guang-Ming ,ZHAO Yan-Ling ,SHAN Li-Mei ,FENG Wen-Hui ,ZHU Yu ,WANG Li-Qin ,WANG Lan-Ying

(^①Department of Pharmacy ,302 Hospital of PLA ,Beijing 100039 China)(^②Engineering technical research center for Mongolian drugs of the Inner Mongolia Autonomous Region Huhehaote 010000 China)

ABSTRACT :**Aim** To study the effects of Qingrebawesian on immune function in mice. **Methods** Using the model of immune function in low level induced by cyclophosphamide injection ,effects of Qingrebawesian on antibody of hemolysin and proliferation of lymphocyte in mice were observed. **Results** Qingrebawesian could improve proliferation of lymphocyte and the production of antibody of hemolysin in mice. **Conclusion** Qingrebawesian could increase the immune faction in mice.

KEY WORDS :Qingrebawesian ;Antibody ;Hemolysin ;Proliferation ;Lymphocyte

在预防和治疗“非典”期间 ,蒙药清热八味散(蒙语为 :额日赫木 - 8)是内蒙古自治区科技厅与部分著名蒙医药专家重点向临床推荐治疗“非典”的蒙药成药之一。蒙药清热八味散主要由檀香、石膏、红花、苦地丁、瞿麦、胡黄连、麦冬、牛黄等八味传统药材组成。其功能蒙医认为有清疫热、消粘毒之作用 ,与中医所述清热解毒作用相似。临床认为 ,清热八味散能够全面改善“非典”患者的症状 ,提高机体免疫力。可作为“非典”治疗的辅助用药。为了进一步探讨清热八味散的药效学作用 ,本实验采用注射环磷酰胺诱导形成小鼠免疫功能低下模型 ,分别测定蒙药清热八味散对小鼠溶血素抗体和淋巴细胞增殖作用等指标 ,确证了清热八味散对小鼠具有提高免疫功能的作用。报告如下 :

1 材料

1.1 试验动物 昆明种小白鼠 ,质量 18 ~ 22g 军事医学科学院实验动物中心 ,动物质量合格证 :

BDW95007 实验动物设施条件认可证 BSY95001)

1.2 仪器与试药 清热八味散呈淡清黄色粉末状 , (内蒙古乌兰浩特中蒙制药有限公司 ,批号 03040612) ;盐酸左旋咪唑片 (25mg/片 ,湖南洞庭药业股份有限公司 ,批号 030523) ;环磷酰胺 (Cy) 粉针剂 (200mg/瓶 ,江苏恒瑞医药股份有限公司 ,批号 02080321) ;HP8452A UV-VIS 分光光度计 Model 5410 型 CO₂ 培养箱 (美国 NAPCO 公司) ;Hervester 96 型细胞收集仪 (美国 TOMTE 公司) ;MicroBetu Trilux 1450 型微量液闪仪 (美国 Perkin Elmer 公司) 。

2 方法与结果

2.1 小鼠溶血素抗体生成试验^[1] 取健康 ♂ 小鼠 ,按体重随机分为 6 组 ,正常对照组、环磷酰胺模型组、Cy + 阳性对照药左旋咪唑组、Cy + 八味散 (3.80、2.40、1.52g · kg⁻¹) 三个剂量组 ,每组 10 只。ig ,qd (正常对照组给予等体积的纯化水) ,连续 7d ,给药后 5d ,每只鼠给予 3 : 5 (v/v) 稀释的绵羊红细胞 (SR-

① 作者简介 蔡光明 (1953 -) ,男 ,湖南浏阳人 ,硕士生导师 ,研究员。研究方向 新药研究 (药物分析与植物化学) 。Tel (010) 66933323

BC 悬液 0.2ml/只 ip, 1h 后, 除正常对照组外, 各组小鼠给环磷酰胺 $15\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重 (0.2ml/20g) ip, 次日再以同剂量注射一次。免疫 4d 后, 摘除小鼠眼球取血, 分离血清, 用生理氯化钠液将血清稀释 200 倍, 取稀释血清 1ml 加入 10% SRBC 0.5ml, 置冰浴中, 每管加入以生理氯化钠溶液 1:10 稀释过的豚鼠血清 1ml, 37°C 恒温水浴中保温 10min, 随即放入冰浴终止反应。再以 2000r/min 离心 10min, 取上清液 1ml 加都氏液 3ml 混匀, 放置 10min 后, 以对照管为空白对照, 在 540nm 处用分光光度计测定各样品的吸收度值。另取 SRBC 稀释液 0.125ml, 加都氏液 2ml, 放置 10min 后测定吸收度值, 该吸收度为 SRBC 半数溶血时的测定值。HC₅₀ 按下式计算 (见表 1)。

$$\text{样品 HC}_{50} = \frac{\text{样品吸收度值}}{\text{SRBC 半数溶血时吸收度值}} \times \text{血清稀释倍数}$$

表 1 八味散对 Cy 处理小鼠溶血素抗体生成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 1 Effect of Qingrebawisan on antibody of hemolysis in Cy treated mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	HC ₅₀
正常对照组	...	18.38 ± 1.84
Cy 模型组	...	0.83 ± 0.51^e
左旋咪唑	0.039	9.29 ± 0.83^g
Cy + 八味散	3.8	2.48 ± 1.40^g
	2.4	2.22 ± 1.19^g
	1.52	1.84 ± 0.32^g

注: 与正常对照组比较, $^e P < 0.01$; 与 Cy 模型组比较, $^g P < 0.01$

2.2 对小鼠淋巴细胞增殖反应的影响^[2] 取健康 ♀ 小鼠, 按体重随机分为 6 组: 正常对照组、Cy 模型组、Cy + 阳性对照药左旋咪唑组、Cy + 八味散 (3.80、2.40、1.52 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 三个剂量组, 每组 10 只。ig, qd (正常对照组和 Cy 模型组给等体积的蒸馏水), 连续 7d。药后 5d, 除正常对照组外, 各组小鼠按环磷酰胺 $15\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重 (0.2ml/20g) ip, 次日再以同剂量注射一次。第 8d 取小鼠脾脏制备脾细胞悬液, 实验用染料排斥法鉴定细胞存活率结果在 95% 以上; 用甲基³H-胸腺嘧啶核苷 (³H-TdR) 掺入法测定八味散对小鼠 Con A 诱导的淋巴细胞增殖反应的影响, 具体操作如下:

将脾细胞浓度调整为 $5 \times 10^6\cdot\text{ml}^{-1}$, 向 Costar 96 孔板加入脾细胞悬液 100 μl /孔, 然后加入 1640 液 100 μl /孔 (检测脾细胞自发增殖反应) 或 $1\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的 Con A 100 μl /孔 (检测 Con A 诱导的脾细胞自发增殖反应), 设 10 个复孔, 置 37°C 、饱和湿度和 5% CO₂ 培养箱中培养 72h, 在终止培养前 16h 加入 $10\mu\text{Ci}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的 ³H-TdR 20 μl (7.4kBq)/孔。用 96 孔板细胞收集仪收集样品于滤膜上, 干燥后加闪烁液, 用微量

液内仪测定每孔放射性 (Bq)。结果见表 2。

表 2 八味散对 Cy 处理小鼠脾细胞增殖反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 2 Effect of Qingrebawisan on lymphocyte multiplication in Cy treated mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	³ H-TdR 掺入值 (cpm, $\bar{x} \pm s$)	
		Con A (-)	Con A ($0.5\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
正常对照组	...	1258 ± 187	7865 ± 987
Cy 模型组	...	623 ± 102	2218 ± 454^e
Cy + 左旋咪唑	0.039	2213 ± 221	13256 ± 2687^g
Cy + 八味散	1.52	1362 ± 403^g	9352 ± 1532^g
	3.04	2033 ± 361^g	11556 ± 2365^g
	3.80	2308 ± 386^g	11973 ± 2113^g

注: 与正常对照组比较, $^e P < 0.01$; 与 Cy 模型组比较, $^g P < 0.01$

结果 Cy 模型小鼠脾细胞自发增殖反应和 Con A 诱导的脾细胞增殖反应较正常对照组明显降低, 给予八味散高、中、低三个剂量及阳性对照药左旋咪唑均使 ³H-TdR 掺入值明显增加, 提示八味散对 Cy 所致小鼠 T 细胞功能降低具有明显的改善作用。

3 讨论

3.1 从八味散对小鼠溶血素抗体生成试验及对小鼠淋巴细胞试验结果可看出, 八味散口服对非特异性、特异性免疫功能均有较好的免疫增强作用。尤其对反映体液免疫功能的溶血素抗体影响, 药物效应呈剂量梯度, 而对于反映细胞免疫的淋巴细胞增殖反应实验, 中剂量则表现出较好的作用效果。

3.2 研究药物对机体免疫功能的影响, 对减轻致病因素对机体的损伤治疗具有一定的价值。八味散在 SARS 的临床治疗中, 兼地域特色突出, 科技含量高等优势。本试验结果表明: 在淋巴细胞增殖反应中, 根据 ³H-TdR 掺入法, 八味散可显著提高由 ConA 激发的淋巴细胞增殖反应, 促进小鼠淋巴细胞增殖, 即增强和促进细胞免疫。脾指数是一个反映免疫细胞分化增殖、分泌及免疫应答活动等的综合指标, 八味散提高脾指数并具有阳性意义, 说明对机体免疫细胞及其应答活动产生有利影响, 为该药作为抗“非典”治疗得辅助用药提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 张均田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 743
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 750 ~ 751
- [3] 中华人民共和国卫生部部颁标准 < 蒙药分册 > [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 175

(收稿日期: 2004-03-30; 修回日期: 2004-06-21)

(本文编辑: 王绪明)