

沙红合剂促进小鼠免疫功能的实验研究

□李* (北京大学医学部免疫药理研究室 北京 100083)
包·照日格图 (云南中医学院中药学院 昆明 650200)

摘要:目的:利用多种免疫学方法研究民族药沙红合剂对小鼠免疫功能的影响。方法:测定小鼠脾细胞对刀豆蛋白 A (ConA)和细菌脂多糖 (LPS)的增殖反应、混合淋巴细胞反应 (MLR)、溶血空斑试验、DTH 反应和 NK 细胞活性。结果:沙红合剂能非特异地 (多克隆)增强 T、B 淋巴细胞对丝裂原的增殖反应;特异地增强 T 细胞对异型抗原的 MLR、DTH 反应;特异地增强小鼠对绵羊红细胞 (SRBC)的抗体反应;明显增强小鼠 NK 细胞的活性。结论:沙红合剂对正常小鼠的细胞免疫功能和体液免疫功能确有明显的促进作用。

关键词:沙红合剂 细胞免疫 体液免疫

沙棘和红景天均属于蒙医药学中的止咳化痰药^[1]。沙棘的性味为酸、涩、温、燥、油、固,具有止咳祛痰,祛巴达干,活血,助消化之功效。临床用于治疗咳嗽痰多、气管炎、气喘、消化不良、肺气肿、血痞、闭经等症;红景天的性味为甘、苦、涩、寒、柔,功能为清热养肺,滋补。用于治疗肺热,气喘、肺刺痛、咯黄痰等症。沙红合剂是以上两药以 1:1 的比例制备的散剂。临床用于治疗体虚乏力、易感呼吸道感染的病人,颇有疗效。本文通过动物实验,观察沙红合剂的免疫调节作用,探讨其可能作用机理。

一、材 料

1 实验动物

BaB/c(H-2^d), 纯系小鼠, 10~14 周龄, 雌雄各半。C57BL/a(H-2^b), 纯系小鼠, 10~14 周龄, 雌雄各半。北京大学医学部实验动物中心提供。

2 试剂

刀豆蛋白 A (ConA), 细菌脂多糖 (LPS), 丝裂霉素 G Signa 公司产品。³H-TdR: 中国科学院上海原子能研究所产品。绵羊红细胞 (SRBC): 取自健康绵羊, 2 周内使用。补体: 经绵羊红细胞吸收过的豚鼠血清。完全 RMI-1640 培养液、Hanks 液、闪烁液及其它常用实验试剂, 按常规配制。

3 药物

沙红合剂处方组成为沙棘 50g 红景天 50g, 水煎 3 遍, 醇提 3 遍, 混合后浓缩至 1.0g/mL (以生药干重计), 总量 1500mL, 分装后置 4℃ 备用。使用时, 以生理盐水稀释后灌胃给药。

收稿日期: 2005-11-09

修回日期: 2006-11-29

* 联系人: 李, 博士, 主要研究方向: 免疫药理学, Tel 010-86718895, E-mail immun@126.com

二、方 法

1 动物分组及给药

BaB/c小鼠 48只,随机分为 6组,沙红合剂灌胃给药剂量分别为:1组:1.56g/(kg·d);2组:3.12g/(kg·d);3组:6.25g/(kg·d);4组:12.5g/(kg·d);5组:25.5g/(kg·d),连续用药 7d 同时另设正常对照组,用生理盐水代药,处理同上。第 8天断颈处死小鼠,取脾细胞制成悬液,制定 PFC/脾值。

2 反应方法

小鼠脾细胞对丝裂原的增殖反应和混合淋巴细胞反应,按参考文献^[2]的方法进行。对绵羊红细胞致敏的小鼠脾空斑形成细胞(PFC)的测定,以及绵羊红细胞诱导的迟发型超敏反应(DTH),按参考文献^[3]的方法进行。

3 NK细胞活性检测

采用乳酸脱氢酶(LDH)测定法。(1)传代靶细胞(YAC-1):试验前 24h将靶细胞进行传代培养,应用前以 Hanks液洗 3次,用 RPMI-1640完全培养液调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL。(2)制备脾细胞(效应细胞)悬液:无菌取脾,制成单细胞悬液,经 200目筛网过滤,用 Hanks液洗 3次,1000 r/min离心 10min,然后将细胞悬浮于 2mL的完全培养液中,用台盼兰染色计数活细胞数(应在 95%以上)。用 RPMI-1640完全培养液调整细胞浓度为 5×10^5 个/mL。(3)NK细胞活性检测:取靶细胞和效应细胞各 100 μ L(效靶比 50:1),加入 U型 96孔培养板中,靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100 μ L,靶细胞最大释放孔加靶细胞和 2% Triton-100各 100 μ L,于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂培养箱中培养 4h,然后将 96孔培养板以 1500r/min离心 5min,每孔吸取上清 100 μ L置于平底 96孔培养板中,同时加入 LDH 基质液 100 μ L,反应 3min,每孔加入 1mol/L的 HCl 30 μ L,在酶标仪 490nm处测定吸光度值 A。计算 NK 细胞活性,试验样品组 NK 细胞活性显著高于样品溶剂对照组时,即判定该项试验结果阳性。

三、结 果

沙红合剂用药剂量的确定:BaB/c小鼠连续口服不同剂量的沙红合剂 7d 各剂量给药组小鼠脾细胞对

SRBC的 IgM型 PFC数见图 1。图 1所示的结果表明,在 1.56和 3.12 g/(kg·d)的较低剂量下,小鼠脾抗体形成细胞数与正常未用药小鼠相比无明显变化;在剂量为 6.25g/(kg·d)和 12.5g/(kg·d)的剂量下,小鼠 PFC数明显增加,以 12.5g/(kg·d)的剂量下最为显著,继续增大剂量,则无明显的再增强作用。故本实验中沙红合剂用药剂量均定为 12.5g/(kg·d)。

沙红合剂促进正常小鼠脾细胞对丝裂原的增殖反应:正常小鼠用药后检测其脾细胞对丝裂原增殖反应的影响,结果显示,小鼠用药后脾细胞对 ConA、LPS的增殖反应性明显增强(见表 1)。ConA 和 LPS分别刺激小鼠 T、B淋巴细胞的增殖,所以,此项结果表明,沙红合剂能非特异的增强小鼠 T、B细胞的增殖能力。

沙红合剂促进正常小鼠脾细胞混合淋巴细胞反应(MLR):正常小鼠用药 7d后,检测小鼠脾细胞对同种异型抗原的混合淋巴细胞反应,结果显示,沙红合剂能明显促进小鼠脾细胞的混合淋巴细胞反应强度

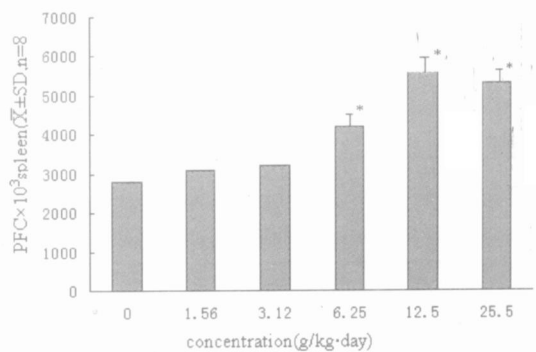


图 1 不同浓度沙红合剂对小鼠脾细胞 PFC 数的影响

* $P < 0.01$, 与未用药组比较

表 1 沙红合剂促进小鼠脾细胞对丝裂原的增殖反应

分组	例数	³ H-TdR 掺入 (cpm, mean ± SD)	
		ConA	LPS
正常组	10	12038 ± 962	16125 ± 1732
沙红合剂	10	16425 ± 1134*	20316 ± 2156*

* $P < 0.01$, 与正常小鼠比较

(见表 2)。MLR 代表了 T 细胞对特异抗原的反应能力,所以,此项结果表明,沙红合剂能特异地增强小鼠 T 细胞对特异抗原的应答能力。

沙红合剂促进正常小鼠对 SRBC 的抗体反应:沙红合剂口服 7d 正常小鼠脾细胞中的 SRBC 的抗体形成细胞数明显较正常对照小鼠增加,说明沙红合剂特异地增强小鼠对特定抗原的体液免疫应答能力(见表 3)。

沙红合剂促进正常小鼠 DTH 的恢复:口服沙红合剂 7d 正常小鼠对 SRBC 诱导的迟发型超敏反应明显较未用药组小鼠增强,用药小鼠足垫肿胀明显高于对照组(见表 4)。对特定抗原的 DTH 反应是机体细胞免疫功能的重要指标。此项结果表明,沙红合剂能明显增强小鼠对抗原的特异的细胞免疫功能。

沙红合剂促进小鼠 NK 细胞活性:试验中,用药组小鼠的 NK 细胞活性与对照组比较,有极显著性差异($P < 0.01$),表明沙红合剂可增强小鼠 NK 细胞活性(表 5)。

表 2 沙红合剂对小鼠混合淋巴细胞反应强度的影响

分组	例数	淋巴细胞反应
		$^3\text{H}-\text{TdR}$ 掺入 (cpm, mean \pm SD)
正常组	10	8546 \pm 634
沙红合剂	10	12136 \pm 923*

* $P < 0.01$ 与对照组比较。

表 3 沙红合剂对小鼠脾脏空斑形成细胞数的影响

分组	例数	空斑形成细胞 / spleen (mean \pm SD)
正常组	8	287650 \pm 73243
沙红合剂	8	563750 \pm 85624*

* $P < 0.01$ 与对照组比较。

表 4 沙红合剂对小鼠 DTH 反应的影响

分组	例数	足垫厚度 (mm, mean \pm SD)
正常组	10	1.020 \pm 0.08
沙红合剂	10	1.306 \pm 0.10*

* $P < 0.01$ 与对照组比较。

表 5 沙红合剂促进小鼠 NK 细胞活性的测定结果

分组	例数	NK 细胞活性
正常组	10	17.43 \pm 2.10
沙红合剂	10	22.35 \pm 1.29*

* $P < 0.01$ 与对照组比较。

四、讨论

蒙医药学与中医药学同属于我国伟大的民族医药学宝库。根据蒙医传统医药学理论,沙棘主要有利肺,滋阴,升阳,养胃健脾,活血化瘀等功效。沙棘总黄酮等生物活性成分对免疫系统的多环节都具有不同程度的调节能力,对体液免疫有明显的调节作用,还有一定的抗过敏作用,因而临床可用治疗多种免疫系统免疫功能低下及人体新陈代谢功能不足等病症。黄酮类化合物对人体内的癌细胞具有一定的抑制作用,而且可以通过提高癌症患者的自身免疫功能来减轻放疗及化疗的毒副作用。其活性成分特别对胃癌、食道癌、直肠癌、肝癌等消化系统肿瘤效果比较明显^[5]。

红景天是一种典型的高原型植物,藏医和蒙医习用药材。广泛分布于西藏、四川、云南、甘肃、青海、新疆及东北的高寒山区,有 20 余种。在《晶珠本草》中描述为“根为人肺色,气味大”,服之有“养肺清热,滋补元气”之功效。药理实验表明,红景天具有抗缺氧,抗疲劳,抗衰老,抗肿瘤,改善自由基代谢和增强记忆力等生物活性^[6]。具有改善微循环障碍的作用,是治疗高原红细胞增多症的有效药物^[7]。

根据传统民族医药理论,结合当前国内外实验研究的结果,我们制备了沙红合剂,并进行了沙红合剂对小鼠免疫功能影响的实验研究。结果表明,沙红合剂能显著增强小鼠的细胞免疫和体液免疫功能,并能明显促进增强小鼠 NK 细胞的活性。因此,可以推断沙红合剂可以提高人体的细胞免疫和体液免疫功能,这点也是与其在临床上专治由于疾病和工作压力等原因引起的失眠、精力不足、经常感冒等疲劳综合征和免疫力低下者相吻合的,为临床应用沙红合剂提供了实验依据。

参考文献

- 1 奇. 太宝, 色仁那木吉拉, 苏和毕力格. 蒙古医学经典 (第一版). 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1999: 140.
- 2 谢蜀生, Diener E. T 细胞特异的免疫毒素应用于小鼠转基因骨髓移植预防 GVHD. 中华微生物和免疫学杂志, 1988, 8(1): 1.
- 3 谢蜀生, 高梅, 秦风华, 等. 猪苓多糖对小鼠免疫功能的增强作用. 中国免疫学杂志, 1991, 7(3): 185.
- 4 陈奇. 中药药理研究方法学 (第一版). 北京: 人民卫生出版社,

1993, 774

5 刘凤云. 沙棘总黄酮的药理研究概况. 中药材, 2004 2(2): 145

6 王淑兰, 李淑莲, 崔丽, 等. 红景天素抗肿瘤作用的研究. 白求恩医科大学学报, 1994 20(3): 221

7 郗爱旗, 张鑫生, 吕雪梅. 藏药三普红景天胶囊对高原红细胞增多症红细胞变形能力和氧自由基代谢影响的研究. 中草药, 2000 31(6): 442

Rodents' Immunological Enhancement Using Sha Hong He Ji*Li Chong**(Peking University Health Science Center, Beijing 100083)**Bao Zhaoriget**(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200)*

In this study, authors have examined the effects of Sha Hong He Ji, a Chinese traditional medicine, on enhancing immunological functions of regular rodents. An array of immunoassay methods including lymphocyte proliferation response, mixed lymphocyte reaction (MLR), plaque forming cell test (PFC) and delayed-type hypersensitivity reaction (DTH), are used. It is found that Sha Hong He Ji works to enhance the lymphocyte proliferation response, MLR, PFC and DTH. The results suggest that Sha Hong He Ji is a medicine that can be used to enhance both cellular and humoral immune responses of regular rodents.

Keywords: Sha Hong He Ji, cellular immunity, humoral immunity

(责任编辑:张述庆, 责任编辑:李澎涛, 责任译审:邹春申)

全国科技工作会议在京闭幕

2007年1月30日,全国科技工作会议在京闭幕。国务委员陈至立出席并作了重要讲话,科技部部长徐冠华主持了会议。陈至立在讲话中强调,要大力提高自主创新能力,努力建设创新型国家。

陈至立指出,2006年是中国科技发展史上具有里程碑意义的一年。全国科技大会确立了走中国特色自主创新道路、建设创新型国家的重大战略。各地区各部门深入贯彻科技大会精神,认真实施《国家中长期科学和技术发展规划纲要》和“十一五”科技规划,启动重大科技专项,加快推进自主创新,我国科技发展势头强劲,创新能力和国际竞争力继续增强,对国民经济和社会发展的贡献日益突出。

陈至立强调,在充分肯定成绩的同时,必须清醒地看到我国科技总体水平同世界先进水平的差距,坚定不移地把提高自主创新能力摆在全部科技工作的突出位置,使科技进步和创新为构建社会主义和谐社会提供有力支撑,为发展现代农

业作出新贡献,为推动经济结构调整和增长方式转变提供新动力。一要加快落实科技规划纲要的配套政策,抓紧制定和出台各项实施细则,不断优化自主创新的环境。二要着力抓好科技重大专项的组织实施,努力完成科技发展重点任务,增强核心竞争力。要调动企业和地方的积极性,发挥重大专项对企业和区域创新能力的带动作用。三要加快建立以企业为主体、市场为导向、产学研结合的技术创新体系。深化体制改革,合理配置科技资源,加强企业、高校和科研机构的合作。四要稳定支持基础研究、前沿技术研究和社会公益类研究,为原始性创新提供环境和条件。五要进一步加强科技人才队伍建设,发现、培养和凝聚各类科技人才特别是尖子人才,高度重视科学道德和学术风气建设。六要加强科技管理创新,为自主创新提供更加良好的体制机制环境。

科技部副部长李学勇在总结讲话中指出,要按照陈至立国务委员讲话的要求,进一步把思想和行动统一到党中央、国务院关于加强自主创新,建设创新型国家的战略决策和部署上来,抓好2007年各项工作的落实。(文摘)