

## 板蓝根多糖对环磷酰胺造模大鼠的双向免疫调节作用

张俊<sup>1#</sup>, 胡安君<sup>1#</sup>, 毕亚楠<sup>1</sup>, 乔艳艳<sup>1</sup>, 杜芳芳<sup>2</sup>, 王学兵<sup>1,2</sup>, 张红英<sup>1,2\*</sup>

1. 河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450000

2. 河南省动物性食品安全重点实验室, 河南 郑州 450000

**摘要:** **目的** 研究板蓝根多糖 (IRPS) 对机体不同免疫状态的调节作用。**方法** 36 只颈静脉插管大鼠, 随机分为 6 组: 免疫正常 (NS) 组、免疫亢进 (IH) 组、免疫抑制 (IS) 组、IRPS 组、IH+IRPS 组、IS+IRPS 组, 每组 6 只; 各组大鼠均 ip 鸡卵清蛋白进行免疫, 应用环磷酰胺 (Cy) 注射制备大鼠 IH 和 IS 模型, ig 60 mg/kg IRPS, 每天给药 1 次, 连续给药 3 d; 免疫后第 6 和 12 天, 每组大鼠处死 3 只, 测定 T、B 淋巴细胞增殖情况和 NK 细胞活性, 试剂盒法检测各组血清 OVA 抗体水平; 免疫后第 1~10、12 天, 颈静脉采血, 分离血清, 液相芯片技术检测  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-10 (IL-10) 以及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平。**结果** IRPS 对于不同免疫状态大鼠的 B 淋巴细胞增殖、NK 细胞活性均具有双向调节作用; 对 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  和 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 具有双向调节作用; 对免疫功能正常大鼠具有免疫增强作用。**结论** IRPS 能够抑制 IH 组大鼠的亢进趋势, 提升 IS 组大鼠的免疫功能, 对 Cy 造模大鼠具有双向免疫调节作用。

**关键词:** 板蓝根多糖; 免疫亢进; 免疫抑制; 双向调节; 环磷酰胺

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2016)04-0531-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.04.005

## Dual-directional immune regulation of *Isatidis Radix* polysaccharides on rats treated with cytoxan

Zhang Jun<sup>1</sup>, Hu An-jun<sup>1</sup>, Bi Ya-nan<sup>1</sup>, Qiao Yan-yan<sup>1</sup>, Du Fang-fang<sup>2</sup>, Wang Xue-bing<sup>1,2</sup>, Zhang Hong-ying<sup>1,2\*</sup>

1. Henan Agricultural University, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Zhengzhou 45000, China

2. Key Laboratory for Animal-Derived Food Safety of Henan province, Zhengzhou 45000, China

**Abstract: Objective** To investigate the regulation of *Isatidis Radix* polysaccharides (IRPS) to body in different immune status. **Methods** Totally 36 rats fixed with juglar vein catheter were randomly divided into six groups: normal group (NS), immune hyperfunction (IH) group, immunosuppressive (IS) group, IRPS group, IH + IRPS group, and IS + IRPS group, six rats in each group. The immune hyperfunctional and immunosuppressed model rats were established by Cytoxan injection, and treated with 60 mg/kg IRPS once daily for 3 d. After 6 and 12 d of immunization, three rats were killed. Lymphocyte proliferation and NK cell activity were determined. A kit was used to detect the level of serum OVA antibody. After 1—10 and 12 d of immunization, collected jugular vein blood, separated serum, and liquid chip technology was used to detect the levels of IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-2, IL-6, IL-10, and TNF- $\alpha$ . **Results** The proliferation ability of B lymphocytes and NK cells activity in both IH and IS groups were regulated, and the secretion of Th1 cytokines IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  and Th2 cytokines IL-4, IL-6, and IL-10 was dual-directional regulated by IRPS. The immune function of control group was enhanced by IRPS. **Conclusion** It is indicated that IRPS can inhibit the accentuation of immune system in hyperfunction group, and enhance the immune function of immunosuppressed rats, so we conclude that the IRPS has a dual regulation effect on immune system of model rats treated with cytoxan.

**Key words:** *Isatidis Radix* polysaccharides; immune hyperactivity; immunosuppression; dual regulation; cytoxan

收稿日期: 2015-12-18

基金项目: 河南省基础与前沿技术研究项目 (152300410076), 河南省科技攻关项目 (152102110048), 河南省重大科技专项 (111100110300)

作者简介: 张俊 (1988—), 男, 硕士, 研究方向为中药免疫调节作用。E-mail: jun15036070926@163.com

\*通信作者 张红英 (1968—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药抗微生物与免疫调节作用研究。E-mail: hongyingnd@163.com

#为共同第一作者

中药的双向调节作用是指某一中药既可使机体从亢进状态向正常转化,也可使机体从功能低下状态向正常转化,因机体所处病理状态不同而产生截然相反的药理作用,最终使机体达到平衡状态。很多中药因其剂量、炮制方法、有效部位等不同,具有双向调节作用<sup>[1]</sup>。板蓝根多糖(*Isatidis Radix polysaccharides*, IRPS)是板蓝根中具有免疫调节活性的一类物质,对特异性免疫和非特异性免疫均有一定的促进作用<sup>[2-4]</sup>,可促进猪、鸡脾脏淋巴细胞的增殖,提高猪、鸡的特异性免疫抗体。耿婵娟<sup>[5]</sup>报道,板蓝根多糖可提升免疫抑制小鼠的免疫功能。本实验室前期研究发现,板蓝根多糖因剂量不同而表现出双向调节作用,那么最佳的免疫增强剂量对于处于不同状态的机体是否具有双向调节作用呢?本实验用环磷酰胺(Cy)制备免疫亢进和免疫抑制大鼠模型,研究板蓝根多糖的双向免疫调节作用。

## 1 材料

### 1.1 药物及主要试剂

板蓝根,购自郑州市药材公司,经河南农业大学农学院中药学系高致明教授鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort.的干燥根。水煮醇沉法<sup>[6]</sup>提取 IRPS,提取率为 3.45%,经硫酸-萘酚法测定其中多糖质量分数为 64.2%。

鸡卵清白蛋白(OVA),索来宝公司;注射用 Cy,美国 Baxter 公司;CCK-8,日本同仁公司。

### 1.2 细胞

淋巴瘤 YAC-1 细胞,购于上海复祥生物科技有限公司。

### 1.3 主要仪器

电子天平,上海青海仪器有限公司;旋转蒸发器,上海青浦沪西仪器厂;可见紫外分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;低速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;CO<sub>2</sub>培养箱,日本三洋公司;XD-202 倒置式生物显微镜,江南永新光学有限公司;双人双面净化工作台,苏州净化设备有限公司;酶标仪,美国 Thermo 公司。

### 1.4 动物

颈静脉插管 SD 大鼠,购自北京赛默赛斯生物科技有限公司,体质量(220±20)g,生产许可证号 SCXK(京)2011-0004。

## 2 方法

### 2.1 动物分组

36 只颈静脉插管大鼠,随机分为 6 组:免疫正

常(NS)组、免疫亢进(IH)组、免疫抑制(IS)组、IRPS 组、IH+IRPS 组、IS+IRPS 组,每组 6 只。各组大鼠均 ip 100 μg OVA 进行免疫, IH<sup>[7]</sup>和 IH+IRPS 组免疫前 3 d 进行单次 ip Cy 20 mg/kg, IS<sup>[7]</sup>和 IS+IRPS 组于免疫后 6 h 进行单次 ip Cy 100 mg/kg, NS 和 IRPS 组于免疫后 6 h ip 等量生理盐水。从免疫第 2 天开始, IRPS、IH+IRPS 和 IS+IRPS 组每天 ig 60 mg/kg(生药浓度) IRPS<sup>[8]</sup>, NS、IH 和 IS 组每天 ig 等量生理盐水,连续 3 d。

### 2.2 淋巴细胞增殖实验

免疫后第 6、12 天,每组大鼠分别处死 3 只,无菌取脾脏,分离淋巴细胞<sup>[9]</sup>,测定淋巴细胞增殖情况<sup>[10]</sup>。

### 2.3 NK 细胞活性检测

取“2.2”项制备的淋巴细胞作为效应细胞,取培养 24 h 处在对数生长期的 YAC-1 细胞作为靶细胞,测定 NK 细胞活性<sup>[7]</sup>。

### 2.4 OVA 抗体水平检测

免疫后第 6、12 天,大鼠眼球采血,4 °C 静置直至血清析出,1 500 r/min 离心 15 min,随后吸出血清,按试剂盒说明书检测各组血清 OVA 抗体水平。

### 2.5 细胞因子检测

在免疫后第 1~10、12 天,各组大鼠颈静脉采血,37 °C 静置 2 h,4 °C 静置直至血清析出,1 500 r/min 离心 15 min,吸出血清放置-40 °C 保存,样品送往上海 MILLIPIX 公司,液相芯片多重细胞因子技术检测 γ-干扰素(IFN-γ)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)以及肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平。

### 2.6 数据处理

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用方差分析中多重比较。

## 3 结果

### 3.1 对不同免疫状态大鼠 T、B 淋巴细胞增殖的影响

免疫后第 6 天, IH 组 T、B 淋巴细胞增殖能力显著高于 NS 组, IRPS 显著降低 IH 组 B 淋巴细胞增殖,升高 T 淋巴细胞增殖; IS 组 B 淋巴细胞增殖能力显著下降, IRPS 对其有促进作用,但差异不显著; IRPS 对免疫正常大鼠的 B 淋巴细胞增殖有显著抑制作用。

免疫后第 12 天, IRPS 可显著促进 NS 和 IH 组

大鼠 T、B 淋巴细胞的增殖；IS 组 T 淋巴细胞增殖能力显著低于 NS 组，IRPS 可促进 IS 模型大鼠 T 淋巴细胞增殖活性接近 NS 组；IRPS 可显著提升 IS 组 B 淋巴细胞增殖活性。结果见表 1。

表 1 IRPS 对不同免疫状态大鼠淋巴细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of IRPS on lymphocyte proliferation of rats in different immune status after immunization ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	免疫后第 6 天		免疫后第 12 天	
		T 淋巴细胞增殖	B 淋巴细胞增殖	T 淋巴细胞增殖	B 淋巴细胞增殖
NS	—	0.232±0.043	0.254±0.005	0.535±0.032	0.331±0.028
IRPS	60	0.235±0.006	0.221±0.004*	0.717±0.054*	0.590±0.068*
IH	—	0.300±0.010*	0.357±0.025*	0.520±0.048	0.373±0.024
IH+IRPS	60	0.334±0.006*#	0.291±0.019*#	0.678±0.061*#	0.433±0.014*#
IS	—	0.228±0.024	0.217±0.025*	0.452±0.05*	0.339±0.048
IS+IRPS	60	0.256±0.020	0.240±0.027	0.505±0.034	0.526±0.015*#&

与 NS 组比较: \*P<0.05; 与 IH 组比较: #P<0.05; 与 IS 组比较: &P<0.05, 下同

\*P<0.05 vs NS group; #P<0.05 vs IH group; &P<0.05 vs IS group, same as below

### 3.2 对不同免疫状态大鼠 NK 细胞活性的影响

免疫后第 6 天，IS 组 NK 细胞活性显著低于 NS 组；IRPS 显著提升 IS 和 NS 组大鼠 NK 细胞活性，显著抑制 IH 组大鼠 NK 细胞活性。免疫后第 12 天，IS 组 NK 细胞活性显著升高，IRPS 显著降低 IS 组 NK 细胞活性，使其接近 NS 组。结果见表 2。

表 2 IRPS 对不同免疫状态大鼠 NK 细胞活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of IRPS on NK cell activity of rats with different immune status after immunization ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	NK 细胞活性/%	
		免疫后第 6 天	免疫后第 12 天
NS	—	33.718±3.662	60.254±5.559
NS+IRPS	60	45.063±7.495*	59.099±8.108
IH	—	33.789±5.464	60.518±4.913
IH+IRPS	60	22.453±5.036*#	55.042±6.984
IS	—	24.342±4.565*	71.965±7.676*
IS+IRPS	60	28.918±8.518*#&	56.925±9.188

### 3.3 对不同免疫状态大鼠 OVA 抗体生成的影响

免疫后第 6 天，与 NS 组比较，IH 组大鼠抗体显著升高，IH+IRPS 组抗体水平更高；IS 组抗体显著降低，IS+IRPS 组抗体水平较 IS 组增高，与 NS 组差异不显著。第 12 天各组大鼠抗体水平差异不显著。结果见表 3。

### 3.4 对 Th1 细胞因子的影响

#### 3.4.1 对 IFN- $\gamma$ 分泌的影响

IH 组 IFN- $\gamma$  的分泌一直低于 NS 组，前 7 d 几乎为 0，IRPS 在 2~4 和 8~10 d 可显著促进 IH 大鼠 IFN- $\gamma$  的分泌，2、8 和 10 d 差异显著；IS 组

表 3 IRPS 对不同免疫状态大鼠 OVA 抗体产生的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of IRPS on levels of OVA IgG of rats with different immune status after immunization ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	OVA 抗体/(ng·mL <sup>-1</sup> )	
		免疫后第 6 天	免疫后第 12 天
NS	—	335.595±47.324	332.321±20.961
NS+IRPS	60	377.024±35.233	298.333±45.667
IH	—	417.321±45.204*	309.167±44.350
IH+IRPS	60	478.810±30.155*	357.143±39.108
IS	—	251.310±49.125*	360.714±34.345
IS+IRPS	60	306.786±34.951	377.500±35.355

大鼠 IFN- $\gamma$  的分泌在 4、9、12 d 显著高于 NS 组，而 IRPS 在 1~4、9 和 12 d 可降低 IS 大鼠 IFN- $\gamma$  的分泌，9 d 差异显著；IRPS 对 NS 大鼠 IFN- $\gamma$  的分泌在 2~4、8 和 10 d 有显著促进作用。结果见图 1。

#### 3.4.2 对 IL-2 表达的影响

IH 组 IL-2 的分泌与 NS 组比较差异不显著，IRPS 对这两组大鼠在 1~5 d 作用趋势相同，均促进 IL-2 的分泌；IS 组在第 7 天显著低于对照组，而 IRPS 对 IS 大鼠 IL-2 的分泌影响不大。结果见图 2。

#### 3.4.3 对 TNF- $\alpha$ 表达的影响

与 NS 组比较，IH 组大鼠 TNF- $\alpha$  分泌无显著差异，第 4 天低于 NS 组，7、8、9 d 高于 NS 组，而 IRPS 在 3~6 d 促进、7~10 d 抑制 IH 大鼠 TNF- $\alpha$  的分泌，3、4 d 差异显著。

IS 组大鼠 TNF- $\alpha$  的分泌在 5~7 d 显著高于 NS 组，IRPS 降低 IS 大鼠 TNF- $\alpha$  的分泌，5 d 差异显著，结果见图 3。

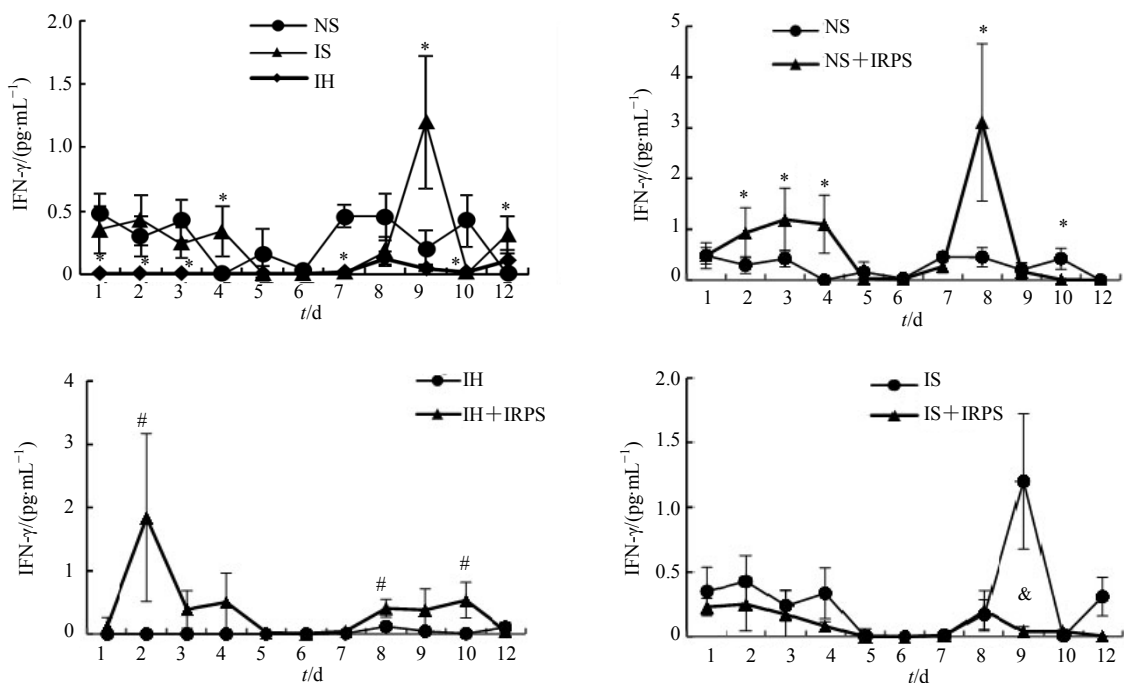


图1 不同组别大鼠 IFN-γ 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 1 IFN-γ secretion of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

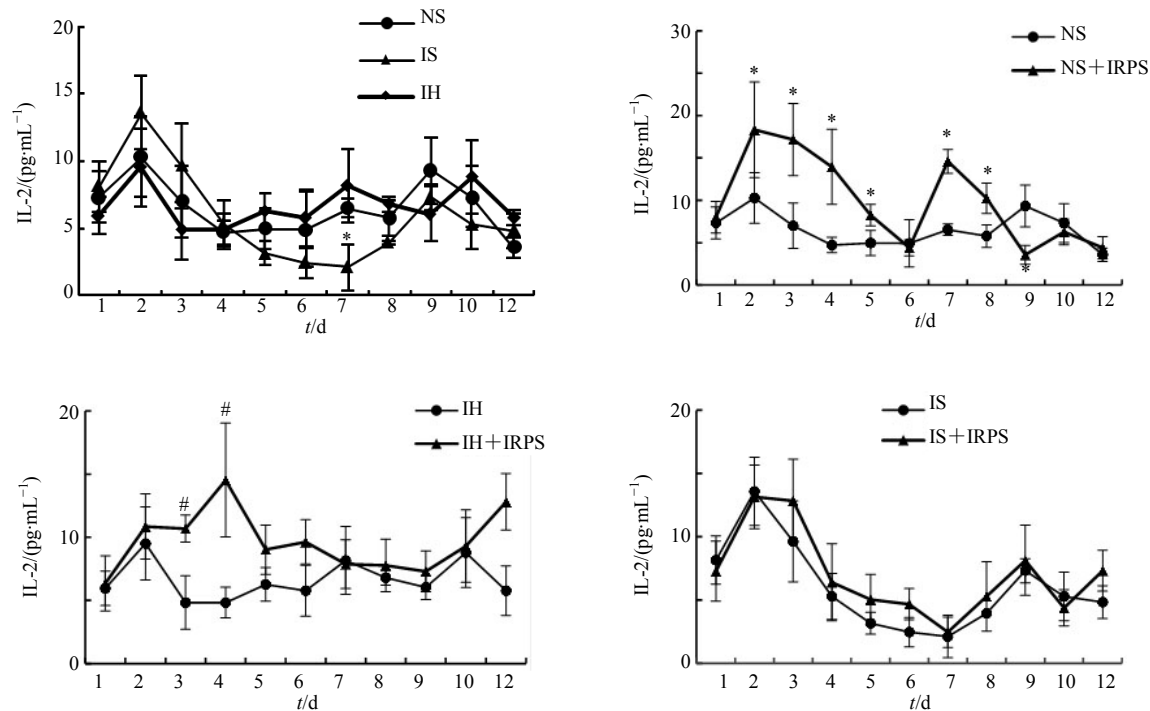


图2 不同组别大鼠 IL-2 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 2 IL-2 secretion of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

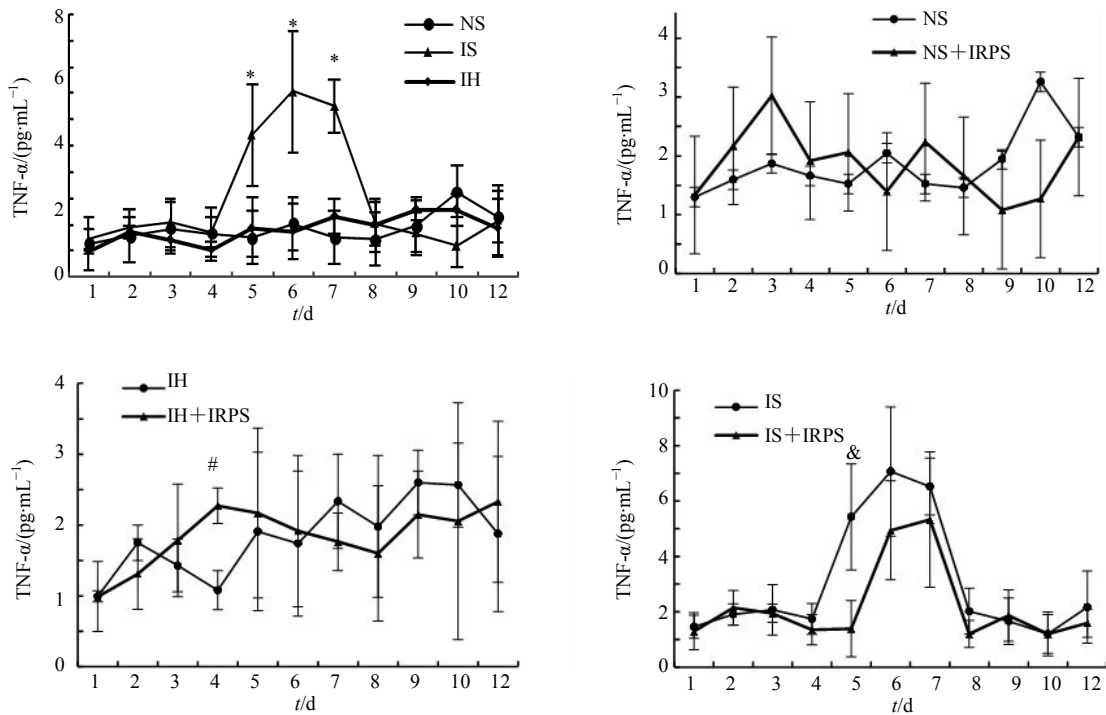


图3 不同组别大鼠 TNF- $\alpha$  水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
 Fig. 3 TNF- $\alpha$  secretion of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

3.5 对 Th 2 型细胞因子的影响

3.5.1 对 IL-4 表达的影响

IH 组大鼠与 NS 组比较, 各个时间点 IL-4 一直处于较低水平, 而 IRPS 在 2~4 和 9~10 d, 显著

促进 IH 组大鼠 IL-4 分泌。IS 组在 4 d IL-4 显著高于 NS 组 ( $P < 0.05$ ), 而 IRPS 在 4 d 显著降低 IS 大鼠 IL-4 的分泌; 9 d 显著低于 NS 组, IRPS 在 9 d 显著提升 IS 大鼠 IL-4 的分泌 ( $P < 0.05$ )。结果见图 4。

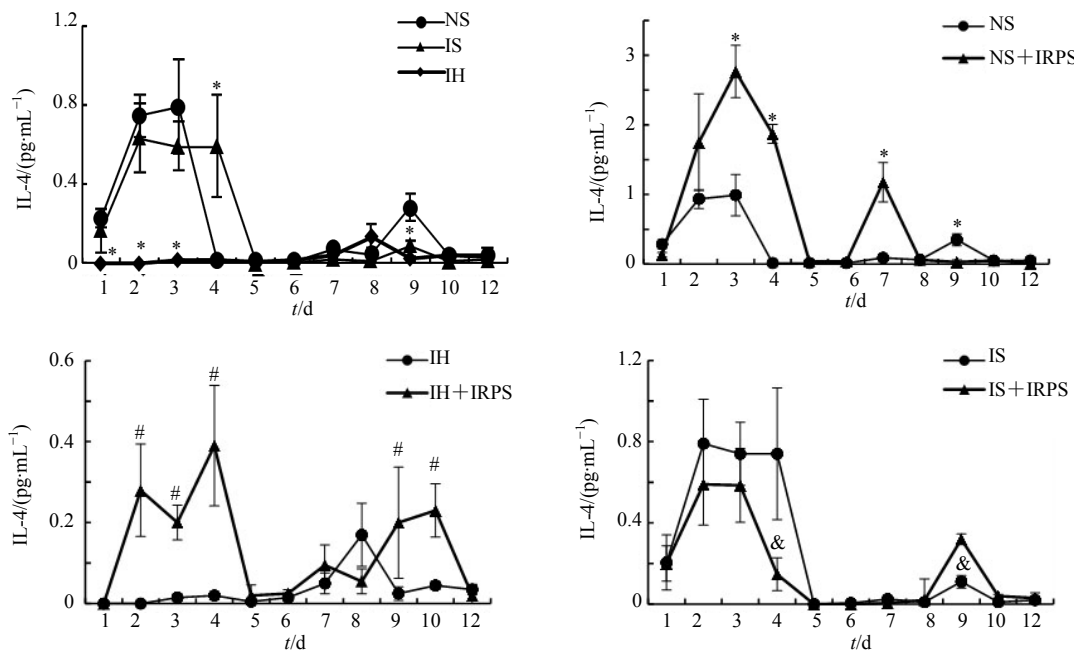


图4 不同组别大鼠 IL-4 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
 Fig. 4 IL-4 secretion of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.5.2 对 IL-6 表达的影响

IH 组大鼠 IL-6 水平与 NS 组比较一直很低, 第 8 天显著升高; 而 IRPS 在 2~4 d 能显著促进 IH 组大鼠 IL-6 的表达 ( $P < 0.05$ ), 在 8 d 显著下调 IL-6 的表达, 使之趋向于正常。

IS 组大鼠 IL-6 多数时间点一直较高, 6 和 9 d 显著高于 NS 组; 而 IRPS 在 3、4、6 和 9 d, 显著降低 IS 组大鼠 IL-6 的分泌 ( $P < 0.05$ )。

IRPS 在 2~4 和 7~8 d 能显著促进 NS 组大鼠 IL-6 的分泌 ( $P < 0.05$ ), 结果见图 5。

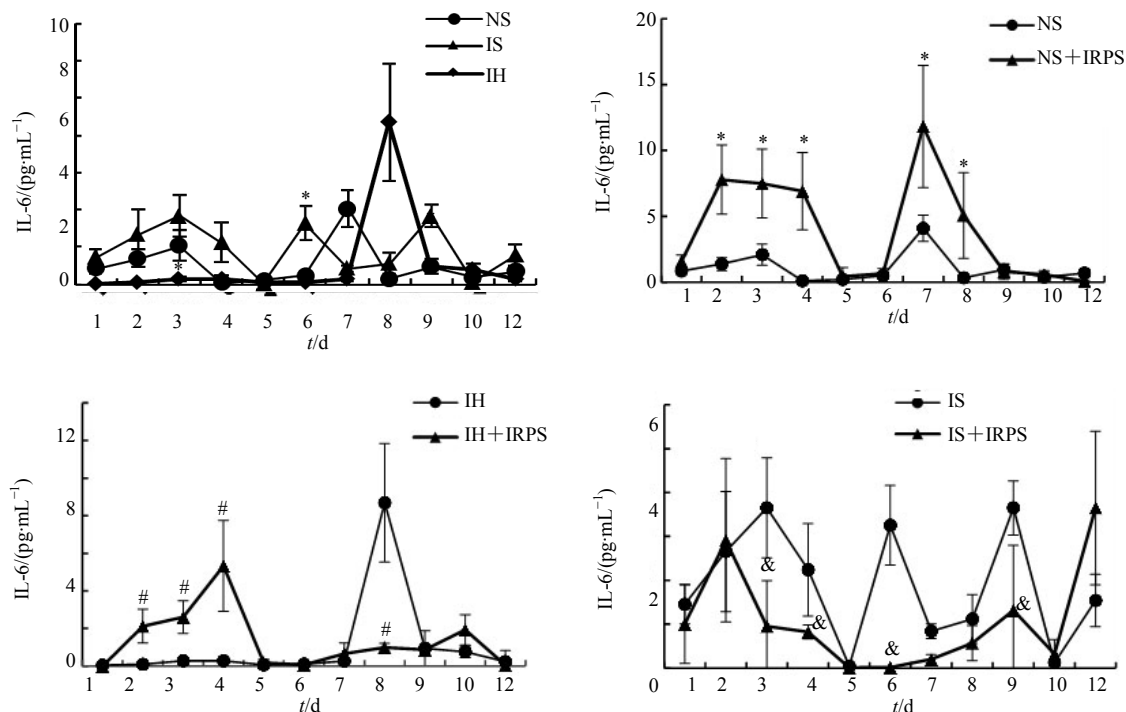


图 5 不同组别大鼠 IL-6 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 5 IL-6 secretion of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.5.3 对 IL-10 表达的影响

IH 组 IL-10 的分泌量与 NS 组比较, 除了第 10 和 12 天, 其他时间点差异不大, IRPS 对 NS 组和 IH 组大鼠 IL-10 分泌的影响趋势相似, 第 6 天之后抑制其分泌, 6~10 d 差异显著 ( $P < 0.05$ )。

IS 组大鼠 IL-10 表达始终低于 NS 组, 而 IRPS 在 8~12 d 促进 IS 组大鼠 IL-10 的分泌, 8~9 d 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 结果见图 6。

## 4 讨论

机体的免疫功能可以从免疫细胞、免疫抗体、细胞因子等多方面来评价, 本实验选取 T、B 淋巴细胞转化以及 NK 细胞活性、OVA 抗体和细胞因子作为评价机体免疫功能的指标。

### 4.1 对不同免疫状态大鼠 T、B 淋巴细胞增殖的影响

IRPS 对免疫功能正常大鼠的 B 淋巴细胞增殖在第 6 天有显著抑制、第 12 天显著促进作用。IH 组 B 淋巴细胞增殖能力在 6 d 显著高于对照组,

IRPS 则能显著降低其增殖。IS 组 B 淋巴细胞增殖能力在 6 d 显著低于对照组, IRPS 则能促进其增殖, 到 12 d 时差异显著。可以看出 IRPS 对于不同免疫状态大鼠的 B 淋巴细胞增殖具有双向调节作用。

IRPS 在第 6 天对免疫功能正常大鼠的 T 淋巴细胞增殖无显著影响, 而在 12 d 可显著促进 T 淋巴细胞增殖。IH 组大鼠在 6 d T 淋巴细胞增殖活性显著高于对照组, IRPS 在 6、12 d 能显著提升 IH 组 T 淋巴细胞增殖。IS 组 T 淋巴细胞增殖能力显著低于 NS 组, IRPS 可促进 IS 模型大鼠 T 淋巴细胞增殖活性接近 NS 组, 但差异不显著。由此可以看出 IRPS 对于处于不同免疫状态的大鼠 T 淋巴细胞只有促进增殖作用, 没有双向调节作用。

### 4.2 对不同免疫状态大鼠 NK 细胞活性的影响

NK 细胞介导天然免疫应答, 在抗肿瘤和早期抗感染过程中起重要作用<sup>[11]</sup>。前期 IRPS 对 IH 大鼠的 NK 细胞活性有显著抑制作用, 对免疫正常和 IS

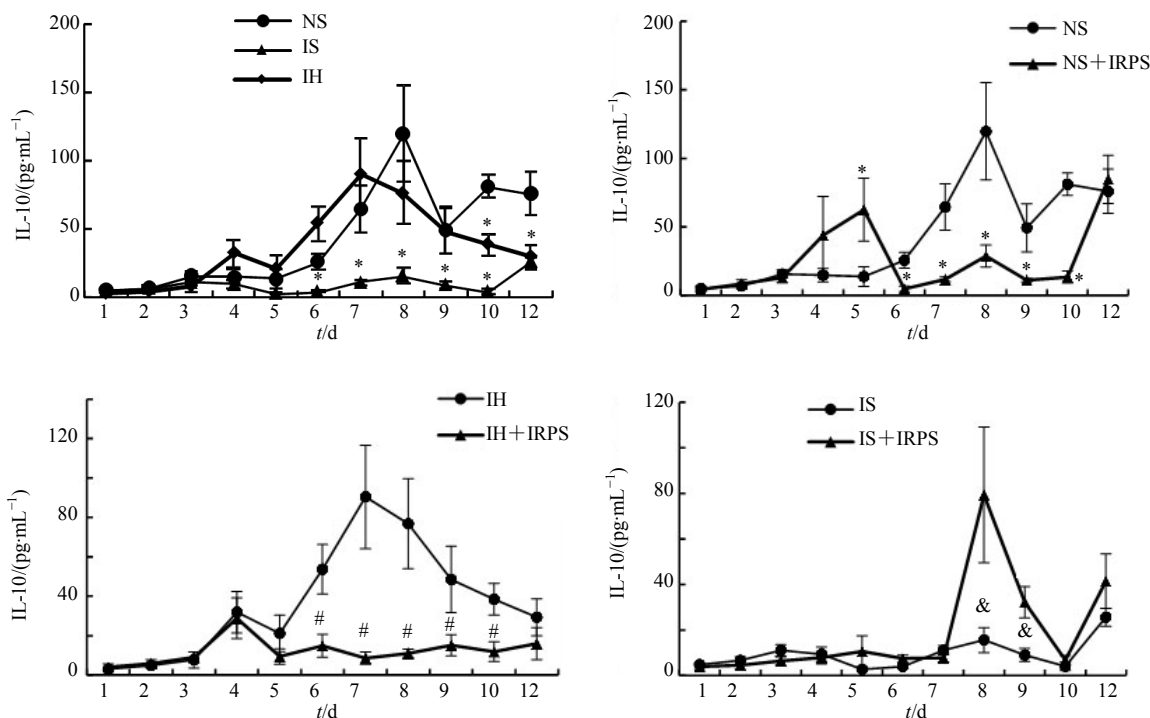


图6 不同组别大鼠 IL-10 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 6 IL-10 secretion of rats in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

大鼠 NK 细胞有显著促进作用; 后期 IS 大鼠 NK 细胞活性和 NS 组比较显著升高, 而 IRPS 则降低该趋势, 使之趋于正常。IRPS 对于处于不同免疫状态大鼠的 NK 细胞活性具有双向调节作用。

#### 4.3 对不同免疫状态大鼠 OVA 抗体的影响

与 NS 组比较, IH 组大鼠免疫后第 6 天抗体显著升高, IH+IRPS 组抗体水平更高; IS 组抗体显著降低, IS+IRPS 组抗体水平较抑制组增高, 与 NS 组显著差异。第 12 天各组大鼠抗体水平差异不显著。

抗体是由浆细胞(效应 B 细胞)分泌的, 虽然该结果与 IRPS 对 B 淋巴细胞增殖活性的影响并不一致, 但与 IRPS 对 T 细胞的影响一致。B 细胞的活化需要双信号作用, 第一信号: 由 BCR-CD79 识别抗原产生<sup>[12]</sup>; 第二信号: 活化 Th 的 CD40L(gp39), 与 B 细胞 CD40 结合后, 可诱导静止 B 细胞进入细胞增生周期<sup>[13]</sup>。因此该实验中各免疫状态大鼠的抗体水平变化也可能是辅助 T 细胞作用的结果, 具体原因有待进一步研究。

#### 4.4 对不同免疫状态大鼠 Th1 型细胞因子的影响

目前研究认为 Th 1 型细胞主要分泌 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、淋巴毒素等, 介导细胞

免疫, 在抗细胞内感染细菌、病毒等方面发挥生物学作用。

实验发现 IH 组大鼠 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  的分泌多数时间点低于 NS 组, 而 IRPS 则具有促进其分泌的作用。IS 大鼠 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  的分泌高于 NS 组, 而 IRPS 则抑制其分泌。IRPS 对 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  具有双向调节作用。

IL-2 在 T 细胞激活后开始分泌, 其量可增加千倍以上。IL-2 和受体结合, 启动其受体 IL-2R 与链介导的信号转导通路, 使 T 细胞不仅能持续激活, 而且促进 T 细胞的增殖分化。IRPS 能够促进免疫正常大鼠和 IH 大鼠 IL-2 的分泌, 对抑制组的影响不显著, 这与 IRPS 对各组 T 淋巴细胞增殖影响的结果相对应。

#### 4.5 对 Th2 型细胞因子的影响

Th2 型细胞分泌 IL-4、IL-6、IL-10、IL-13 等细胞因子, 主要介导体液免疫, 在抗胞外感染中发挥调节作用<sup>[14-15]</sup>。IL-4 被认为是 B 细胞生长因子, 在抗原激活初始 T 细胞向 Th2 细胞分化中发挥重要作用。IL-6 可促进 T 淋巴细胞活化和增生, 辅助 B 淋巴细胞促使抗体合成和分泌, 参与体液免疫过程。IL-10 是一种多功能负性调节因子, 主要由 Th2 细

胞、活化的 B 细胞、单核细胞、巨噬细胞产生, 其最主要功能是通过下调 MHC II 和共刺激分子 CD80/CD86 在巨噬细胞和 DC 的表达, 可以作为 IS 剂参与自身免疫性疾病的调节。

实验发现 IH 大鼠 IL-4 和 IL-6 的分泌量多数时间点都低于 NS 组, IRPS 能促进其表达; 而在第 8 天, IL-4、IL-6 高于对照组, IRPS 能下调其分泌。IS 组 IL-4 和 IL-6 的分泌多数时间点高于 NS 组, IRPS 则降低其分泌。IRPS 对 IL-4、IL-6 具有双向调节作用。

IRPS 在中期能促进正常免疫状态大鼠 IL-10 分泌, 之后对正常大鼠 IL-10 分泌有明显抑制作用; 中后期 IRPS 对亢进组大鼠 IL-10 的表达有明显的抑制作用, 抑制组大鼠 IL-10 的表达一直很低, IRPS 起明显促进作用。IRPS 对 IL-10 具有双向调节作用。

实验发现第 6 天 IRPS 对不同免疫状态大鼠 B 淋巴细胞增殖和 NK 细胞活性均有明显作用, 第 12 天, 对不同免疫状态大鼠 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖都有显著的促进作用。这说明 IRPS 作用于机体最早的靶细胞有可能是 B 淋巴细胞和 NK 细胞, 之后对 T 淋巴细胞才有影响。

Th 细胞主要分为 Th1 细胞与 Th2 细胞两种, 其中, Th1 细胞参与细胞免疫和迟发性超敏性炎症反应; Th2 可辅助 B 细胞分化为抗体分泌细胞, 参与体液免疫应答。对免疫正常大鼠来说, IRPS 对 Th1 和 Th2 型细胞因子有促进作用, 对 T、B 淋巴细胞的增殖活性也有促进, 因此 IRPS 增强正常免疫大鼠的免疫作用可能是通过作用于免疫细胞进而增加细胞因子的分泌实现的。对 IS 大鼠来说, 免疫第 6 天 B 淋巴细胞增殖能力显著下降, IRPS 能提升 B 淋巴细胞增殖能力, 而 IRPS 在 7~8 d 可提升 Th2 细胞因子的分泌; 对 IH 组大鼠来说, 第 6 天 B 淋巴细胞增殖显著升高, IRPS 能显著降低 B 淋巴细胞的增殖能力, 而 7~8 d IRPS 可使其下降。因此 IRPS 对体液免疫的影响可能是通过调整 B 细胞增殖能力, 进而影响 Th2 细胞因子的分泌。

综上所述, 板蓝根多糖对于处于不同免疫状态大鼠的免疫功能具有双向调节作用, 其机制可能是先作用于 B 淋巴细胞和 NK 细胞, 影响 Th2 细胞因子的分泌, 为了保持 Th1/Th2 细胞因子的平衡, 从而调节 Th1 细胞因子的分泌, 进而影响 T 淋巴细胞的增殖。

#### 参考文献

- [1] 张 瑜, 李康清. 论中药双向调节作用机理 [J]. 河南中医学院学报, 2003, 18(6): 15-17.
- [2] 张红英, 赵现敏, 崔保安, 等. 板蓝根多糖对猪繁殖与呼吸综合征疫苗免疫猪 T 细胞亚群的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2007, 23(2): 134-137.
- [3] 邱 妍, 崔保安, 胡元亮, 等. 4 种多糖对免疫雏鸡抗体效价和 T 淋巴细胞的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(1): 77-81.
- [4] 姜 涛, 邹正耀, 张红英, 等. 载板蓝根多糖 MPEG-PLA 聚合物微球对小鼠免疫力的影响 [J]. 中国农学通报, 2013, 29(20): 32-35.
- [5] 耿婵娟. 板蓝根多糖的提取及其免疫调节作用研究 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2012.
- [6] 王学兵, 崔保安, 魏战勇, 等. 板蓝根多糖的提取及其对猪繁殖与呼吸综合征病毒的体外作用 [J]. 江苏农业学报, 2009, 25(2): 311-314.
- [7] 张 俊, Yong S S, 胡安君, 等. 环磷酰胺致大鼠 IS 和 IH 模型的建立与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(4): 395-400.
- [8] 张 俊. 基于转录因子 T-bet、GATA3 的 IRPS 双向免疫调节机理的研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2015.
- [9] Yee H, Chunmao J, Yuan L H, et al. Immunoenhancement effect of rehmannia glutinosa poly-saccharide on lymphocyte proliferation and dendritic cell [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 96(2): 516-521.
- [10] 张红英, 王亚宾, 王学兵, 等. 板蓝根多糖对体外培养的猪脾脏淋巴细胞增殖及分泌细胞因子和 NO 的影响 [J]. 河南农业大学学报, 2009, 43(2): 173-176.
- [11] 田志刚. NK 细胞的免疫学调节功能 [J]. 国际肿瘤学杂志, 1997(3): 136-138.
- [12] Barclay A N, Brown M H, Law S K A, et al. CD79/BCR [J]. *Leucocyte Antigen Factsbook*, 1997, 13(11): 332-334.
- [13] Laman J D, Claassen E, Noelle R J. Functions of CD40 and its ligand, gp39 (CD40L) [J]. *Crit Rev Immunol*, 1996, 16(1): 59-108.
- [14] Tamachi T, Takatori H, Fujiwara M, et al. STAT6 inhibits T-bet-independent Th1 cell differentiation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 382(4): 751-755.
- [15] Yates A, Callard R, Stark J. Combining cytokine signalling with T-bet and GATA-3 regulation in Th1 and Th2 differentiation: a model for cellular decision-making [J]. *J Theor Biol*, 2004, 231(2): 181-196.
- [16] Chakir H, Wang H, Lefebvre D E, et al. T-bet/GATA-3 ratio as a measure of the Th1/Th2 cytokine profile in mixed cell populations: predominant role of GATA-3 [J]. *J Immunol Methods*, 2003, 278(1-2): 157-169.