

人参增强免疫研究新进展

中国中医研究院广安门医院(北京 100053) 沈 玲*

中国医学科学院药物研究所

张均田 刘 志

摘 要 从网状内皮系统、特异性抗体形成、淋巴细胞和胸腺细胞增殖、天然杀伤细胞-干扰素-白细胞介素-2 调节网、免疫功能与环核苷酸的关系、白细胞介素 mRNA 的促转译效应以及病毒感染等七方面总结了人参增强免疫作用研究的新进展。

关键词 人参 免疫功能 白细胞介素-2 淋巴细胞

人参作为一种珍贵的中药材,不但在中医中药领域中占有重要的地位^[1,2],而且在远东其它国家(如朝鲜、日本和苏联)医学中亦颇受重视。近年来,人参的药理研究进入了一个飞跃发展的阶段。由于药理学研究方法的不断创新和进步,尤其是高效液相色谱、同位素标记、放射免疫测定和分子生物学等技术被广泛应用,使人参的药理学研究进入了细胞、亚细胞、分子乃至基因水平,因而人参的许多药理作用的机理也逐渐被阐明。本文仅就人参增强免疫作用的研究进展加以综述。

1 对网状内皮系统(RES)吞噬功能的影响

大量研究表明,人参皂甙和人参多糖对正常功能 RES 的吞噬功能有刺激作用。杨贵贞等^[3,4]先后证明人参皂甙或人参花皂甙(1.0mg/d,连续 7d,皮下注射)能够显著增加小鼠腹腔渗出细胞对鸡红细胞的吞噬活动,同时作为评价巨噬细胞功能指标的血清溶菌酶的水平也有相应提高。邓文龙等^[5]用墨汁法证明了人参茎叶皂甙对小鼠和大鼠的 RES 均有明显激活作用,同时可见动物脾脏肿大。人参茎叶皂甙尚能明显促进小鼠 RES 对血流中³²P 标记的金黄色葡萄球菌的吞噬廓清,说明其对血行感染也具有良好的作用。对小鼠进行的实验性感染和实验性休克,也证明人参茎叶皂甙能明显提高对感染的抵抗力,降低死亡率。实验证明,对 RES 的刺激作

用以静脉注射最强,腹腔注射次之,口服作用最弱。

张远强等^[6]报告,人参在升高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率和吞噬指数的同时,也增加其细胞的面积。巨噬细胞面积的增加,使受体数及与靶细胞的接触面积增加,因而提高了细胞的吞噬功能。用图象分析系统(TAS)证明人参能增加巨噬细胞内 PAS 阳性物质(糖原等)、醋酸、乙酸萘酯酶(ANAE)、酸性磷酸酶(ACP 酶)和三磷酸腺苷酶(ATP 酶)的含量。PAS 阳性物质的增加说明巨噬细胞合成和贮存糖原增加。ATP 酶活性增加使供能增加。ACP 酶是溶酶体水解酶之一,其增加说明细胞的消化能力增强。ANAE 是另一种溶酶体酶,为巨噬细胞的标志酶。此外用环核苷酸免疫荧光细胞化学技术,证明人参使巨噬细胞内 cAMP 含量显著下降,cGMP 含量显著升高,可能与人参增强巨噬细胞吞噬功能的机理有关。

2 对特异性抗体形成的影响

人参能使各种抗原刺激后的动物的抗体产生明显增加。杨贵贞等^[3,4]给正常小鼠注射人参皂甙后,能明显增强低剂量抗原(白喉类毒素)免疫后的一次抗体反应,对二次抗体反应无影响,加大剂量也无作用,说明人参皂甙是免疫增强剂,也是免疫调节剂。楼兰花等^[7]给小鼠灌胃参芦总皂甙 200mg/kg·d,自免

* Address: Shen Ling, Guanganmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing

疫刺激前一天起,连用 7d,腹腔注射鸡红细胞 0.2ml (4×10^8 ml)/只,免疫 6d,结果对小鼠溶血素(相应抗体)的含量有双向调节作用,使原来低者升高,高者下降。还有报道人参皂甙能促进豚鼠钩端螺旋体抗体的产生。在小剂量组(12mg/kg)抗体出现晚、下降迟;在高剂量组(30mg/kg)抗体出现早、滴度高、下降较早(但仍前于对照组)。30mg/kg 的人参皂甙组,也促进流感病毒特异性抗体的产生^[8]。

3 对淋巴细胞和胸腺细胞增殖的影响

正常机体的 T 淋巴细胞在体外培养过程中,受特异性抗原或有丝分裂原刺激,可转化为淋巴母细胞;但当细胞免疫缺陷、患恶性肿瘤或某些其它疾病时,这种转化功能降低,因此,淋转试验结果反映机体的细胞免疫水平。杨贵贞等^[3,4]给小鼠皮下注射人参皂甙(GS) 1.0mg/d,连续 7d,以植物血凝素(PHA)、刀豆素 A(Con A)和细菌脂多糖抗原(LPS)作为分裂原,观察 GS 在体内对正常小鼠淋转的影响,结果 GS 对 PHA 刺激的反应性无明显增强作用,而对 Con A 和 LPS 刺激的淋转有显著增强作用($P < 0.01$)。Con A 和 LPS 分别为 T、B 淋巴细胞的分裂原,说明 GS 能提高小鼠 T、B 淋巴细胞对相应分裂原的反应性。在体外,将不同浓度的 GS 加入淋巴细胞培养液中,可见 GS 对 T、B 淋巴细胞的分裂原刺激反应有不同程度的促进作用,而且这种促进作用是与剂量相关的。

采用氚标胸腺嘧啶核苷($^3\text{H-TdR}$)掺入法实验,也观察到人参皂甙 Rg_1 无论在体内给药(20、40mg/kg,腹腔注射)还是体外实验(1,10mmol/L)均可,但等剂量的 Rg_1 对青年鼠的淋巴细胞的转化功能无明显影响^[9]。

常雅萍等^[10]观察了海马培养上清(HCS)、海马内注入西洋参茎叶总皂甙(PNS)对免疫细胞增殖反应的影响。结果发现,HCS 可显著促进胸腺细胞增殖,表明海马与免疫系统间存在内在的联系。PNS 经海马注入可促进淋巴细胞的增殖,而相同剂量

腹腔注射则无明显影响,表明 PNS 具有免疫增强作用,且通过海马介导。

将 Wistar 雄性大鼠接受 5Gy 单次 X 射线全身照射前 24h 至照后 14d,每天腹腔注射人参三醇组皂甙,刘伟宏等^[11]观察了大鼠外周血白细胞的动态变化和免疫器官重量和细胞数的变化。结果表明,人参三醇组皂甙可明显增加受照大鼠外周血细胞数,减轻受照大鼠胸腺和脾脏重量的降低,明显增加其胸腺细胞和脾细胞数;同时还可提高正常大鼠外周血白细胞数及胸腺、脾脏细胞数。提示人参三醇组皂甙不仅对辐射所致的免疫器官损伤有保护作用,也可增强机体的防御能力。

4 对天然杀伤细胞-干扰素-白细胞介素-2 调节网的影响

天然杀伤细胞(NKC)除参与抗感染抗肿瘤免疫外,还具有广泛免疫调节功能。NKC 活性受许多因素影响,主要有干扰素(IFN)和白细胞介素-2(IL-2)等。IFN 和 IL-2 皆可增强 NK 活性,NKC 也能分泌 IFN 和 IL-2,后者又是一种生理性 IFN 诱生剂。于永利等^[12]证明人参花总皂甙(GS)在体外可促进小鼠脾脏 NK 活性,并可在 Con A 存在下诱生 γ -IFN 和 IL-2,其用量以 $10\mu\text{g/ml}$ 为佳。给小鼠每日皮下注射 GS $500\mu\text{g}/0.2\text{ml}$,连续 8d,可明显提高 NK 活性,用 50 和 $500\mu\text{g}$,2 次/d,连续 2d,也可见 NK 活性升高。当剂量过大(2 及 5mg)时有 NK 受抑制趋势。总之,GS 对 NK-IFN-IL-2 表现出正调节作用。

采用依赖株细胞增殖反应测定法,发现 24 月龄老年鼠其 IL-2 的产生和释放明显低于青年鼠,而人参皂甙 Rg_1 无论是体内还是体外给药,对此均有明显的改善作用,使老年鼠低下的 IL-2 产生和释放功能几乎恢复到正常水平,但该效应对青年鼠无明显影响^[9,13]。为了分析其作用机理,采用 Northern 和 Western 印迹分析法。发现老年鼠 IL-2 mRNA 杂交斑点和 IL-2 蛋白的显色斑点明显低于青年鼠,揭示老年鼠 IL-2 基因的转录

和翻译功能较青年鼠低。而 Rg_1 体内外实验均可使 mRNA 表达增强,并随剂量的增加而增强。从而证明 Rg_1 促进老年鼠 IL-2 的产生和释放机制在于促进了 IL-2 基因的表达^[14]。

衰老机体在 IL-2 产生下降的同时,伴有淋巴细胞白介素-2 受体(IL-2R)表达下降^[15]和于培养上清液中释放高水平可溶性白介素-2 受体(sIL-2R),后者释放的水平与增殖能力呈负相关^[16]。采用流式细胞测定法,发现 Rg_1 无论体内、外给药均能明显促进 IL-2R 的表达,并在明显促进淋巴细胞增殖的同时,并不增加培养上清液中 sIL-2R 含量。可见,人参皂甙 Rg_1 对老年鼠 IL-2 的功能呈全面的增强效应。

吴瑞琼等^[17]证明人参皂甙的免疫增强效应不仅能通过直接作用,而且尚可通过神经内分泌系统的间接作用而得到实现。将微量人参皂甙注入海马后,大鼠脾脏淋巴细胞对 Con A 诱导的增殖反应增强,脾脏淋巴细胞 IL-2 的产生及 IL-2R 的表达增加,NK 细胞活性增高,同时 B 淋巴细胞对 SAC 葡萄球菌诱导的增殖反应亦增强。这说明人参皂甙能通过海马介导增强脾脏免疫功能效应。

5 对免疫功能的影响与环核苷酸的关系

细胞内环核苷酸水平的变化是细胞水平调节免疫功能的一种机制。杨贵贞等^[3,4]报道,在未注射抗原前,给小鼠注射人参花总皂甙(GS)1.0mg/d,连续 4d,小鼠脾组织中 cAMP 和 cGMP 水平明显升高,其中前者更显著,使 cGMP/cAMP 的比值低于对照组。在注射抗原(白喉类毒素)后,cAMP 处于持续低水平,人参升高 cAMP 的作用消失,而 cGMP 明显升高,使 cGMP/cAMP 比值上升。GS 使 cGMP 升高的作用与一次免疫后抗体反应逐渐增强相一致。在未注射抗原的小鼠,GS 明显升高 cAMP 水平,并明显增强淋转能力。因此其增强淋转的原理可能是通过升高 cAMP 促进淋巴细胞的分化成熟,继而促进了淋转。在我们实验中,也得出了类似

的结果。 Rg_1 在选择性增强老年鼠淋转功能的同时,明显提高 cAMP 水平,cAMP/cGMP 比值升高^[14]。

6 对白细胞介素 mRNA 的促转译效应

就人参增强机体免疫功能而言,过去的研究主要集中在对免疫效应细胞的研究。近年来,白细胞介素(interleukins,ILs)与各种免疫效应细胞的关系倍受关注^[18]。田志刚等^[19]采用麦胚无细胞体系从基因转录和基因转译两个水平探讨了人参三醇皂甙(PTGS)对 ILs 的影响。结果发现,单纯 PTGS 对淋巴细胞产生 ILs 无明显影响,但在 PHA 活化淋巴细胞前提下,可明显促进各种 IL 的诱生。促进效应如下(%):IL-1(35),IL-2(50),IL-3(22.4),IL-4(65),IL-5(44.4),IL-6(28.6)。PTGS 可延长各 IL 的分泌高峰。PTGS 促 6 种细胞白介素和免疫干扰素的分泌量可充分解释 PTGS 对机体免疫调节效应。

进一步研究发现,PTGS 促 ILs 诱生是通过促 IL mRNA 转译而实现的^[20,21]。a)PTGS 促 IL-2 诱生与促细胞内蛋白质前体物质(3H -亮氨酸)掺入指数的增加相关性极好,但与 RNA 前体物质(3H -UR)与 DNA 前体物质(3H -TdR)掺入无关;b)PTGS 可拮抗蛋白质合成抑制剂(放线菌酮)对淋巴细胞分泌 IL-2 的抑制效应,并表现剂量依赖性和时相依赖性。PTGS 不能拮抗 RNA 合成抑制剂(放线菌素 D)对淋巴细胞分泌 IL-2 的抑制效应;c)与 IL-2 超诱生体系的促基因转录机制(RNA、蛋白质、IL-2 合成均增加)相比,PTGS 表现出促 IL-2 基因转译特点(RNA 合成无变化、蛋白质合成增加、IL-2 合成增加);d)PTGS 促诱生淋巴细胞的 RNA 在体外转译体系中转译效率增加,证明细胞受 PTGS 作用后,mRNA 发生效能变化;e)PTGS 直接作用于 IL-2 mRNA 体外转译体系可增强转译反应的强度并且延长转译时间,这种作用具有剂量依赖性,与 PTGS 直接同 mRNA 反应(预孵育),抗 RNA 酶降解和温

度酶解 mRNA 等密切相关。提示 PTGS 可能对增加 mRNA 稳定性并提高转译效率有重要意义。

应用³²P-IL-6 cDNA 基因探针进行 RNA 斑点杂交,结果发现 PTGS 可提高 PHA 刺激人外周血单个核细胞内 IL-6 mRNA 含量(4 倍)。证明 PTGS 可以促进 IL-6 基因转录而增加 IL-6 mRNA 产量^[22]。在我们实验中,采用 Northern 和 Western 印迹杂交法,也发现 Rg₁ 能选择性促进老年鼠脾细胞 IL-2 基因的转录和转译过程,使 IL-2 mRNA 和 IL-2 蛋白含量明显升高,从而在基因调控的新环节上证明了人参皂甙的分子药理学特性。

7 对病毒感染的影响

李静波等^[23]利用细胞培养技术观察了人参茎叶总皂甙(GNS)及其单体对病毒感染细胞的保护作用。结果表明,GNS 有明显的抑制单纯疱疹病毒 I 型、II 型(HSV-I、HSV-II)、腺病毒 III 型(ADV-III)及水疱性口炎病毒(VSV)在细胞内复制的作用,使细胞受到保护。观察到病毒感染细胞之前后给予 GNS 均能使组织细胞受到保护,该作用并非 GNS 对病毒本身的直接杀伤作用,很可能是由于 GNS 进入宿主细胞后,影响细胞代谢、抑制病毒复制过程的某环节而起到保护作用。体现这种保护作用主要是对 DNA 病毒感染的细胞。这一结果恰与文献^[24]报道的 GNS 和 PNS 均有非常明显的抗 DNA 损伤作用相一致。进一步研究发现,使细胞得到保护的有效成分以 Rb 族为主,特别是 Rb₁、Rb₂、Rb₃ 作用剂量范围很广^[25]。

利用含 GNS 霜剂治疗口唇疱疹及口腔溃疡的实验证明,GNS 在体内也具有明显的抑制 HSV-I 病毒作用^[26]。作者认为,GNS 除对患病局部细胞具有保护作用外,还与 GNS 能调节免疫,促进 NK 细胞杀伤作用及促进细胞与吞噬细胞的吞噬功能有一定关系。

综上所述,人参对机体的免疫功能有调节作用,但其主要作用是刺激免疫功能低落的各种改变,使其趋于正常化,阻止因免疫功能下降而引起的恶性循环,从而起到了增强免疫、强健身体的作用。人参中抗衰老的生物活性物质可能因作用而异,但主要是人参皂甙。诸种人参皂甙(单体)对各种免疫指标的影响是否相同,尚有待进一步的研究。

参考文献

- 1 Florence C L. Herbal Medicine, the Chinese Wisdom. Korea, Holly Corp press, 1992. 13
- 2 Kumagai A. Proceeding of the 6th International Ginseng Symposium. 1993-09-06~09. Korea. 1993. 26
- 3 Yang GT, et al. J Trad Chin Med. 1988, 8(2): 135
- 4 Bao T, et al. J Trad Chin Med. 1986, 6(3): 191
- 5 邓文龙,等. 中草药, 1985, 16(5): 28
- 6 张远强,等. 病理生理学报, 1985, 1(4): 22
- 7 楼兰花,等. 上海免疫学杂志, 1986, 6(5): 280
- 8 Yang LL, et al. Proceeding of the 6th International Ginseng Symposium. 1993-09-06~09. Korea. 1993. 31
- 9 刘 恂,等. 药学报, 1995, 30(11): 818
- 10 常雅萍,等. 白求恩医科大学学报, 1993, 19(6): 525
- 11 刘伟宏,等. 白求恩医科大学学报, 1994, 20(1): 32
- 12 于永利,等. 中国免疫学杂志, 1987, 7(1): 41
- 13 Zhang J T, et al. Proceedings of the 6th International Ginseng Symposium. , 1993-09-06~09. Korea. 1993. 69
- 14 刘 恂,等. 药学报, 1996, 31(2): 95
- 15 Wu W, et al. Cellular Immunology. 1986, 100(2): 224
- 16 Orson FM, et al. Cellular Immunology, 1989, 124(2): 278
- 17 吴瑞琼,等. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 214
- 18 杨贵贞主编. 免疫生物工程纲要与技术. 长春: 吉林科学技术出版社, 1991. 52
- 19 田志刚. 生理科学进展, 1991, 22(2): 156
- 20 田志刚,等. 中国药理学通报, 1990, 6(1): 37
- 21 田志刚,等. 中国药理学与毒理学杂志, 1991, 5(1): 38
- 22 田志刚,等. 中国药理学通报, 1993, 9(5): 371
- 23 李静波,等. 白求恩医科大学学报, 1993, 18(1): 24
- 24 巴 图,等. 白求恩医科大学学报, 1991, 17(6): 566
- 25 李静波,等. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 221
- 26 李静波,等. 中草药, 1992, 23(5): 249

(1995-06-05 收稿)