参考文献:

- [1] 李元建,邓汉武,陈修.人参皂甙及其组分对心肌细胞缺氧、再给氧和心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].药学学报,1987,22(1): 1-5.
- [2] 陈修,方云祥.人参皂甙抗心肌缺血与再灌注损伤的实验研究[J].中华医学杂志,1987,67(10): 581-583.
- [3] 曾庆华,战木,张文杰,等.人参皂甙单体 Rb₁对豚鼠心肌细胞 I_{Ca}²⁺电流阻滞作用的研究[J].白求恩医科大学学报,1997,23(3): 265-267.
- [4] 杨世杰,陈霞,李红,等.西洋参茎叶皂甙单体 Rb₃对大鼠血流动力学及单钙通道活动的影响[J].中国药理学通报,1995,11(1): 39-43.
- [5] 钟国赣,孙成文,李云义,等.人参二醇组皂甙 Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rb₄和 Rb₅的钙通道阻滞作用和抗自由基作用[J].中国药理学报,1995,16(3): 255-260.
- [6] 覃秀川,睢大员,于小凤,等.人参 Rb 组皂甙对实验性心肌缺血的保护作用[J].人参研究,1998,10(2): 32-35.
- [7] 饶曼人.药理学进展[M].北京:人民卫生出版社,1980.
- [8] 曾贵云.药理学进展[M].北京:人民卫生出版社,1979.
- [9] Mc Conl J.M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury[J]. N Eng J Med, 1985, 312(3): 159-164.
- [10] Nornha-Dutra A.A. Lipid peroxidation as a mechanism of injury in cardiac myocytes[J]. Laboratory Investigation, 1982, 47(4): 346-350.
- [11] 赵新.实验性心肌缺血引起的脂质过氧化反应和抗氧化剂的抑制作用[J].西安医科大学学报,1987,2(1): 133-135.

肉苁蓉总苷对⁶⁰Co γ 射线损伤小鼠免疫功能的防护作用

商小英,王晓雯,王雪飞,杨永新*

(新疆医科大学 基础部药理教研室,新疆 乌鲁木齐 830054)

摘要:目的 研究肉苁蓉总苷(GCs)对⁶⁰Co损伤小鼠免疫功能及30d存活率的影响。方法 小鼠在不同剂量⁶⁰Co γ 射线照射前后,均服以GCs,观察辐射及GCs对其免疫功能的改变。结果 ⁶⁰Co照射剂量为2,4及7Gy时,可造成小鼠体液免疫、细胞免疫和非特异性免疫功能及30d存活率下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);GCs(31,25,62.5,125mg/kg)组可促进上述各指标的恢复,对⁶⁰Co损伤小鼠的抗体产生、外周血T淋巴细胞数目、迟发型超敏反应、腹腔巨噬细胞的吞噬功能均有明显保护作用($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);且能提高受照小鼠的脾指数、胸腺指数及30d存活率($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 GCs对辐射损伤小鼠的免疫功能具有较强防护作用。

关键词: 肉苁蓉总苷;辐射损伤;免疫功能;存活率

中图分类号: R285; R967 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)02-0139-04

Protective effect of glycosides of *cistanche* on immune function of ⁶⁰Co γ -ray irradiated mice

SHAN G Xiao-ying, WANG Xiao-wen, WANG Xue-fei, YANG Yong-xin

(Department of Pharmacology, Xinjiang University of Medical Sciences, Wulumuqi Xinjing 830054, China)

Abstract Object To investigate the effect of *cistanche* glycosides (GCs) on immune functions and 30 d survival rate of ⁶⁰Co irradiated mice. **Methods** Mice were given GCs both before and after ⁶⁰Co irradiation at different doses, and the changes of their immunological functions observed by routine immunopharmacologic methods. **Results** When irradiated at doses of 2, 4, and 7 Gy with ⁶⁰Co, the humoral, cellular and non-specific immunity, and 30 d survival rate were all decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). GCs at doses of 31, 25, 62.5 and 125 mg/kg could facilitate recoveries of all the above indices. GCs could also be beneficial to ⁶⁰Co irradiated mice in the following aspects: production of antibodies impaired by ⁶⁰Co; peripheral blood T lymphocyte count; delayed hypersensitivity and phagocytosing function of peritoneal macrophage ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Furthermore, the immune index and 30 d survival rate were increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** GCs has protective effects on immune functions of irradiated mice.

Key words total glycosides of *Cistanche salsa* (C. A. Mey) G. Beck (GCs); radiation injury; im-

* 收稿日期: 2000-07-10

基金项目: 新疆自治区科委基金资助 No. 96814

作者简介: 商小英, 1972年7月生, 女, 籍贯四川, 1992-1999年就读于新疆医科大学, 获药理学学士学位及药理学硕士学位; 1999年至今于北京大学医学部免疫学系攻读T细胞研究博士学位, 研究方向为树突状细胞的抗原呈递功能及肿瘤的免疫治疗。

联系地址: 北京大学医学部免疫学系 T细胞研究室 邮政编码: 100083 联系电话: (010) 62091155

mune function; survival rate

肉苁蓉为列当科鳕苁蓉植物肉苁蓉的干燥带鳞片的肉质茎,主产于我国西北地区,有补肾益精、润燥的功能,主治男子阳痿、女子不孕、血枯便秘等症。近代药理学研究表明,肉苁蓉粗制剂具有增强免疫功能,促进记忆、抗衰老等作用^[1]。肉苁蓉总苷(GCs)是从新疆北部产盐生肉苁蓉 *Cistanche salsa* (C. A. Mey.) G. Beck. 中提取出的主要生物活性成分^[2],已证明 GCs 具有抗脂质过氧化作用^[3],能够保护冠脉结扎造成的大鼠心肌缺血^[4]。我们研究了 GCs 对⁶⁰Co γ 损伤小鼠免疫功能及 30 d 存活率的影响。

1 材料

1.1 药品: 肉苁蓉总苷 (Glycosides of *Cistanche salsa*, 简称 GCs) 系肉苁蓉中一类含苯乙醇苷类结构成分的总称,由新疆医科大学药学院植化教研室按日本文献提取并鉴定^[2];经紫外分光光度法测定,以松果菊苷为对照品,测定波长为 333 nm 时,所测得苯乙醇总苷的含量为 67.8%;其中,松果菊苷是肉苁蓉中主要活性成分之一,经 HPLC 法测定,松果菊苷在总苷中的含量为 10.3%。黄芪注射液 (AM),上海福达有限公司生产,批号: 961208 绵羊红细胞 (sRBC) 及鸡红细胞 (cRBC),由新疆医科大学动物房采集。补体,采自多只豚鼠的混合血清, -40℃ 保存备用。

1.2 动物: 健康 NIH 小鼠, 6~8 周龄,雌雄兼用,由新疆地方病研究所实验动物中心提供

1.3 实验器材: 无菌超净台 (苏州净化设备厂), OLYMPUS 显微镜 (日本产), YXQGO2 型手提式高压蒸气消毒锅 (山东新华医疗器械厂), 721 型分光光度计 (上海第三分析仪器厂), 低温冰箱。

2 方法

2.1 GCs 对辐射损伤小鼠体液免疫功能的影响: 取 NIH 小鼠 90 只, 体重 (21.5±2.2) g, 随机均分为 6 组。正常对照组、照射对照组, 均给以生理盐水 (NS) 20 mL/(kg·d); 照射黄芪组, 给以黄芪注射液 20 mL/kg, 相当于生药 40 g/(kg·d); 照射 GCs 31.25, 62.5, 125 mg/(kg·d) 组。连续 ig 给药 11 d, 第 6 天后 5 组用⁶⁰Co 照射, 照射剂量为 2 Gy。照射后次日每只 ip 3:5 sRBC 悬液 0.2 mL 免疫, 继续给药 4 d 后, 于实验第 11 天称小鼠体重, 摘除眼球取血, 分离血清测血清溶血素 (HC₅₀) 值^[5]; 小鼠处死取脾, 以脾重/体重为脾指数 (mg/g); 随即研磨脾,

取脾细胞悬液, 用分光光度法测定空斑形成细胞 (PFC) 溶血能力^[6]。

2.2 GCs 对辐射损伤小鼠细胞免疫功能的影响: 取 NIH 小鼠 60 只, 体重 (20.6±2.0) g, 分组同 2.1 项, 连续 15 d ig 给药。第 6 天后 5 组用⁶⁰Co 照射, 照射剂量为 4 Gy。照后次日每鼠左后足跖 sc 10% sRBC 生理盐水悬液 50 μ L 免疫; 7 d 后, 每鼠右后足跖用 5% sRBC 生理盐水悬液 50 μ L 攻击。以千分卡尺测量攻击前和攻击后 24 h 右后足跖厚度, 以其差值表示肿胀度 (mm), 测定迟发型超敏反应 (DTH)。小鼠尾静脉采血, 制成血推片, 进行酯酶染色, 显微镜油镜下计数 200 个淋巴细胞, 求其阳性淋巴细胞的百分率, 即为 T 细胞百分率^[7]; 实验第 15 天小鼠称体重, 处死取胸腺, 称取胸腺重量, 以胸腺重/体重为胸腺指数 (mg/g)。

2.3 GCs 对辐射损伤小鼠腹腔巨噬细胞 (PM ϕ) 吞噬功能测定: NIH 小鼠 60 只, 体重 (22±2.0) g, 分组同 2.1 项, 连续 15 d 给药。第 6 天后 5 组用⁶⁰Co 照射, 照射剂量为 4 Gy, 第 13 天每只小鼠 ip 0.01% 糖原溶液 2 mL, 第 15 天末次给药后 1 h 给每鼠 ip 2% cRBC 生理盐水悬液 1 mL, 4 h 后处死小鼠, 收集腹腔巨噬细胞, 以 1 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 留沉淀少许, 涂片, 行 Giemsa 染色。油镜下计数 50 个巨噬细胞, 计算吞噬百分率和吞噬指数^[8]。

2.4 GCs 对小鼠照射后 30 d 存活率的影响: 取 NIH 小鼠 142 只, 分组见表 4。连续 12 d ig 给药, 第 6 天后 4 组⁶⁰Co 照射, 剂量为 7 Gy, 照后继续给药 1 周。从照射后起观察小鼠在 30 d 内的存活情况, 每日记录小鼠的状态、死亡数, 并计算出小鼠 30 d 存活率、提高率及保护系数^[8]。

2.5 统计学处理: 计量资料结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组均数的比较采用 *t* 检验; 计数资料多个样本率的比较, 采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1⁶⁰Co 照射小鼠免疫功能及 30 d 存活率的影响: 照射剂量 2 Gy 可导致小鼠外周血 HC₅₀、PFC 溶血能力、脾指数下降, 见表 1。照射剂量 4 Gy 可导致小鼠 sRBC-DTH 反应减弱, 腹腔巨噬细胞吞噬功能减退及外周血 T 细胞数目、胸腺指数下降; 上述各指标与正常对照组比较, 均有显著性差异 ($P < 0.05$) 和 $P < 0.01$, 见表 2, 3。照射剂量 7 Gy 可致小鼠 30 d 存活率明显低于正常对照组 ($P < 0.01$), 见

表 4

3.2 GCs对⁶⁰Co损伤小鼠体液免疫功能的影响:

见表 1 与照射对照组相比,照射后 GCs 3个剂量组可促进小鼠血清中 sRBC-Ab的生成,提高 HC₅₀值

表 1 GCs对照射损伤小鼠体液免疫功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量 (mg/kg)	HC ₅₀ (A)	PFC (A)	脾指数 (mg/g)
正常对照	—	231.07 ± 32.88	0.24 ± 0.054	6.44 ± 0.74
照射对照	—	58.27 ± 13.67*	0.09 ± 0.028*	3.61 ± 0.60*
照射黄芪	—	132.85 ± 34.45#	0.16 ± 0.057	5.51 ± 0.92#
照射 GCs	31.25	99.87 ± 38.50#	0.11 ± 0.046	4.81 ± 0.75#
	62.50	109.07 ± 42.37#	0.12 ± 0.037	5.17 ± 0.67#
	125.00	122.49 ± 37.39#	0.15 ± 0.054#	5.49 ± 0.65#

与正常对照组比较 ** P < 0.01; 与照射对照组比较: # # P < 0.01

表 2 GCs对照射损伤小鼠细胞免疫功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量 (mg/kg)	DTH (mm)	胸腺指数 (mg/g)	T细胞 (%)
正常对照	—	0.29 ± 0.088	2.37 ± 0.42	75 ± 4.9
照射对照	—	0.15 ± 0.060	1.61 ± 0.65*	63 ± 2.2*
照射黄芪	—	0.38 ± 0.13#	2.68 ± 0.62#	72 ± 4.7#
照射 GCs	31.25	0.28 ± 0.11#	2.37 ± 0.69#	72 ± 3.5#
	62.50	0.38 ± 0.14#	2.42 ± 0.58#	73 ± 6.8#
	125.00	0.37 ± 0.13#	2.67 ± 0.88#	78 ± 3.9#

与正常对照组比较 * P < 0.05 ** P < 0.01; 与照射对照组比较: # P < 0.05 # # P < 0.01

表 3 GCs对照射损伤小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量 (mg/kg)	吞噬率 (%)	吞噬指数
正常对照	—	7 ± 4.40	1.18 ± 0.17
照射对照	—	30 ± 8.50*	0.54 ± 0.17*
照射黄芪	—	60 ± 7.00#	1.10 ± 0.095#
照射 GCs	31.25	66 ± 5.70#	1.28 ± 0.27#
	62.50	68 ± 5.90#	1.28 ± 0.29#
	125.00	64 ± 4.70#	1.33 ± 0.25#

与正常对照组比较 ** P < 0.01; 与照射对照组比较: # # P < 0.01

表 4 GCs对照射损伤小鼠 30 d存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	剂量 (mg/kg)	实验数 (只)	存活数 (只)	存活率 (%)	保护系数 (K)
正常对照	—	10	10	100	
照射对照	—	33	1	3.03*	
照射 GCs	31.25	33	9	27.27#	1.50
	62.50	33	8	24.24#	1.45
	125.00	33	11	33.33#	1.57

与正常对照组比较 ** P < 0.01; 与照射对照组比较: # P < 0.05 # # P < 0.01; 与照射对照组比较: K > 1.2为有效

(P < 0.01),但仍明显低于正常对照组; GCs 31.25, 62.5 mg/kg组可使鼠脾细胞溶血能力(PFC值)提高,但无统计学意义,GCs 125 mg/kg组其PFC值显著提高(P < 0.01); GCs 3个剂量组均能增加脾指数(P < 0.01),且接近正常对照组。

3.3 GCs对⁶⁰Co损伤小鼠细胞免疫功能的影响: 见表 2 与照射对照组比较,GCs 3个剂量组可增强受照射小鼠的DTH反应(P < 0.01);可增加受照射小鼠外周血中T细胞数目(P < 0.01);对受照射小鼠的胸腺重量减轻有保护作用,与损伤组相比,GCs 125 mg/kg组差异显著(P < 0.01),GCs 31.25,

62.5 mg/kg组有差异(P < 0.05),以上各值均接近或高于正常值

3.4 GCs对⁶⁰Co损伤小鼠非特异免疫功能的影响: 见表 3 GCs各剂量组对腹腔Mφ的吞噬率,吞噬指数与损伤组相比均有所提高(P < 0.01),其值接近正常对照组。

3.5 GCs对⁶⁰Co照射小鼠30d存活率的影响: 见表 4 GCs各剂量组的存活率较损伤组有提高(P < 0.05和P < 0.01),提高率分别为24.24%, 21.21%, 30.30%,其保护系数均在1.20以上。

4 讨论

机体的免疫系统对辐射高度敏感,大、中剂量电离辐射作用于机体,可使免疫功能下降,免疫系统各组成部分均出现抑制性效应。实验观察到当⁶⁰Co照射剂量为 2, 4 Gy 时,分别造成小鼠体液免疫、细胞免疫及非特异性免疫功能下降,这说明不同照射剂量对免疫功能的损伤程度是不同的,提示 B 淋巴细胞比 T 淋巴细胞对电离辐射更为敏感。同时观察到当照射剂量为 7 Gy 时,可造成小鼠 30 d 存活率降低,这可能与大剂量电离辐射破坏了机体的天然防御功能,引起机体免疫功能全面性抑制,导致感染合并症有关。中药黄芪能够有效对抗微波辐射^[8]。本实验采用黄芪作阳性对照,发现 GCs 对辐射损伤小鼠免疫功能具有的防护作用与黄芪类似。

机体所处的状态是中药发挥免疫效应的基础,大多数中药对免疫功能低下者其促进作用尤为明显,并可使紊乱的免疫功能恢复正常^[9]。本实验结果提示 GCs 能不同程度地调节辐射损伤小鼠的体液免疫、细胞免疫及非特异性免疫功能,在实验剂量下,GCs 增强细胞免疫及非特异性免疫作用可能高于体液免疫,且呈一定的剂量依赖关系,其确切分子机制很值得探讨。

GCs 具有抗自由基损伤,抗脂质过氧化作用^[10]。我们认为 GCs 可能通过直接或间接清除自由基及脂质过氧化产物,保护免疫器官、细胞及分子,从而增强机体的免疫功能。肉苁蓉在新疆资源丰富,深入研究 GCs 的抗辐射作用,对于临床预防、治疗放疗病人所致的免疫系统损伤,无疑是大有裨益的。

参考文献:

- [1] 金秀莲,苏玉珂.肉苁蓉的药理学研究概况[J].中草药,1993,24(10):550-552.
- [2] 堵年生,王泓.肉苁蓉苯乙醇苷类成分的分离和鉴定[J].天然产物研究与开发,1993,5(4):7-8.
- [3] 李琳琳,王晓雯,王雪飞,等.肉苁蓉总苷的抗脂质过氧化作用及抗辐射作用[J].中国中药杂志,1997,22(6):364-367.
- [4] 毛新民,王晓雯,李琳琳,等.肉苁蓉总苷对大鼠心肌缺血的保护作用[J].中草药,1999,30(2):118-120.
- [5] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1982.
- [6] Simp M A. Go220J. Spectrophotometric determination of lymphocyte mediated sheep red blood cell hemolysis in vitro[J]. J Immunol Methods, 1978, 21: 159-162.
- [7] 吴景兰.酸性 α -萘酚醋酸酯酶(ANAE)染色法[J].免疫学快报,1983,(2):27-30.
- [8] 全宏勋,张钦宪.黄芪抗辐射作用的实验研究[J].中草药,1993,24(8):423-425.
- [9] 游自立,沈映君.中药对细胞因子和NK细胞活性的调节作用[J].中药新药与临床药理,1993,4(4):47-48.
- [10] 王晓雯,李琳琳,木胡牙提,等.肉苁蓉总苷对小鼠组织的抗氧化作用[J].中国中药杂志,1998,23(9):554-555.

魔芋低聚糖对小鼠血糖含量和抗氧化能力的影响

杨艳燕¹,李小明²,李顺意¹,高尚¹,倪红^{*}

(1. 湖北大学生命科学学院,湖北 武汉 430062; 2. 湖北医科大学生化教研室,湖北 武汉 430071)

摘要:目的 研究魔芋低聚糖对小鼠血糖含量及抗氧化能力的影响。方法 分别用 5%、15% 的葡萄糖溶液和同样浓度的魔芋低聚糖溶液为小鼠 ig,取血样测定多项生化指标。结果 高浓度葡萄糖可使小鼠血糖含量增高,而同样浓度的魔芋低聚糖未使血糖含量发生明显变化,却使小鼠体内超氧化物歧化酶(SOD)活性明显升高,同时降低了过氧化脂质(LPO)水平。结论 魔芋低聚糖不升高血糖,且能提高机体抗氧化能力。

关键词:魔芋低聚糖;血糖;超氧化物歧化酶;过氧化脂质

中图分类号: R285; R977 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)02-0142-03

Effect of Konjac oligosaccharide on blood sugar and antioxidant ability of mice

YANG Yan-yan¹, LI Xiao-ming², LI Shun-yi¹, GAO Shang¹, NI Hong¹

(1. College of Life Sciences, Hubei University, Wuhan Hubei 430062, China; 2. Department of Biochemistry, Hubei University of Medical Sciences, Wuhan Hubei 430071, China)

Abstract Object To study the effect of konjac oligosaccharide on the blood sugar and antioxidant ability of mice. **Methods** Different groups of mice were given (ig) separately with either 5% or 15% kon-

* 收稿日期: 2000-05-07

基金项目: 湖北省生物化学与分子生物学重点学科基金资助

作者简介: 杨艳燕(1951年3月-)女,湖南祁阳人,副教授,硕士,1982年毕业于重庆医科大学生物化学专业,从事酶学与药学研究多年,现任湖北大学生命科学学院副院长。联系电话: 027-86741746