

香芪口服液增强非特异免疫和体液免疫作用的实验研究

曲章义^{1,2}, 郭彩玲², 凌秋², 李迪², 谷鸿喜², 郑树^{1,2}

(1. 浙江大学肿瘤学研究所, 浙江 杭州 310009; 2. 哈尔滨医科大学 微生物学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 目的 研究中药制剂香芪口服液对机体非特异免疫作用和体液免疫作用的影响。方法 用碳粒廓清法测定单核巨噬细胞的吞噬功能, 从而研究对非特异性免疫功能的影响; 用溶血空斑形成细胞测定法研究对体液免疫功能的影响。结果 香芪口服液可有效地纠正免疫功能低下, 显著提高巨噬细胞的吞噬功能以及使抗体生成细胞数增多, 使两者恢复至正常水平。结论 香芪口服液可有效地恢复和增强继发性免疫功能低下小鼠的非特异性免疫和体液免疫功能。

关键词: 香芪口服液; 香菇多糖; 黄芪多糖; 免疫功能低下; 非特异免疫; 体液免疫

中图分类号: R285.5; R286.95

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)10-0908-03

Experimental studies on immunomodulating effect of XIANGQI ORAL SOLUTION on non-specific and humoral immunity

QU Zhang-yi^{1,2}, GUO Cai-ling², LIN Qiu¹, LI Di², GU Hong-xi², ZHENG Shu^{1,2}

(1. Institute of Tumor, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang 310009, China; 2. Department of Microbiology, Harbin University of Medical Sciences, Harbin Heilongjiang 150086, China)

Abstract Object To study the immunomodulating effects of Chinese compound preparation XIANGQI ORAL SOLUTION (XQOS) on non-specific and humoral immunity. **Methods** The studies were carried out by determining the phagocytic function of mononuclear macrophage with carbon particle clearance test to obtain the effect on non-specific immunity, the effect on humoral immunity was studied with plaque forming cell test. **Results** XQOS could efficiently redress immunodeficiency and enhance phagocytic function of macrophage to increase the number of plaque forming cells, enabling the recovery of both to their normal levels. **Conclusion** XQOS could recover both non-specific and humoral immunity of mice with secondary immunodeficiency.

Key words XIANGQI ORAL SOLUTION (XQOS); lentinan; polysaccharide of *Radix Astragali*; immunodeficiency; non-specific immunity; humoral immunity

多糖类化合物具有较强的抗衰老、抗病毒和抗肿瘤的作用, 其作用的发挥主要依赖于对免疫功能的调节。研究表明, 香菇多糖能促进 IL-1 IL-2 IL-3 和 IFN 等细胞因子的生成, 提高由抗原诱导的 B 细胞合成抗体的能力, 提高 TH 和 TC 细胞的活性^[1,2], 在 MΦ 参与下, 使免疫功能低下小鼠的免疫功能恢复至正常水平^[3]。黄芪多糖不仅能提高正常机体的抗体生成能力^[4], 还能增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能及增强辅助性 T 细胞亚群等^[5]。为探讨香菇多糖和黄芪多糖两者合用对免疫功能的协同调节作用, 本文以继发性免疫功能低下小鼠为实验对象, 研究了以香菇多糖和黄芪多糖为主要成分的香芪口服液对继发性免疫功能低下小鼠非特异免疫和

体液免疫的影响。

1 材料和方法

1.1 动物: 昆明系小鼠, 4 周龄, 体重 (20±2) g, 购自黑龙江省中医药大学实验动物中心

1.2 药物: 香芪口服液由哈尔滨医科大学微生物学教研室研制 (质控标准 Q/HYX001-1999), 西洋参口服液由哈尔滨制药三厂生产。

1.3 实验分组及免疫功能低下模型建立: 将小鼠随机分为 A B C D 4 组, A 组为正常对照组; B 组为免疫低下对照组; C 组为香芪口服液组; D 组为西洋参阳性药物对照组。B C D 组 sc 氢化可的松 (HC), 剂量为 30 mg/kg, 连续 5 d, 建立免疫功能低下模型。A 组注射生理盐水, 剂量为 6 mL/kg, 连续

收稿日期: 2001-03-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, 项目批准号: 39670817

作者简介: 曲章义 (1961-), 男, 黑龙江哈尔滨市人, 哈尔滨医科大学微生物学教研室教授, 浙江大学肿瘤学研究所博士研究生。主要从事分子病毒学、分子肿瘤学和天然药物抗病毒、抗肿瘤作用的实验研究。现主持国家自然科学基金和黑龙江省科委课题 3 项, 主编出版“细胞因子”等专著 3 部, 参编专著及教材 5 部, 发表研究论文 30 余篇。

5 d 于第 6 天起, A 组用生理盐水, C 组 ig 香芪口服液, D 组 ig 西洋参口服液, 剂量为 3 mg/kg, 连续 ig 6 d

1.4 溶血空斑形成细胞 (PFC) 测定: 在 ig 给药的第 3 天, 分别 ip 绵羊红细胞 (SRBC), 免疫各组 10 只小鼠。SRBC 注射剂量为 $3 \times 10^7 \sim 3 \times 10^8$ /mL 的脾细胞悬液, SRBC 配成 3×10^8 /mL, 将补体以 1:3 稀释, 然后取 0.5 mL 脾细胞悬液, 0.1 mL SRBC 及 0.1 mL 补体于试管中混匀, 取 70 μ L 注入用两张载玻片制成的小室中, 熔化石蜡将小室封闭, 置于 37℃ 温箱培养 45 min, 肉眼计数每个小室的空斑数, 即为 $\times 10^5$ 个脾细胞中 PFC 数

1.5 碳粒廓清法测单核巨噬细胞吞噬功能: 于停止 ig 给药的次日, 向每组中余下的 6 只小鼠经尾 iv 印度墨汁 (先用生理盐水 1:5 稀释) 0.05 mL/10 g, 于 1 min (t_1) 和 5 min (t_5) 后分别取其左、右眼球采血, 各取血 40 μ L, 分别加入 4 mL 0.1% Na₂CO₃ 溶液中摇匀, 用分光光度计在 680 nm 下测定吸光度 (A_{t_1} 、 A_{t_5}), 计算廓清指数 K 值, 公式为:

$$\text{廓清指数 } K = \log A_{t_1} - \log A_{t_5} / t_5 - t_1$$

2 结果

2.1 对继发性免疫功能低下小鼠非特异免疫功能的影响: 结果见表 1

表 1 碳粒廓清法测定 M Φ 吞噬功能的结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	廓清指数 K
正常	6	0.023 \pm 0.002 \bar{x}
低下	6	0.014 \pm 0.002
香芪	6	0.055 \pm 0.010 Δ
西洋参	6	0.045 \pm 0.008 Δ

与低下组相比: * $P < 0.001$; 与正常组相比: $\Delta P < 0.001$

从表 1 看出, HC 构建的免疫低下组, 其廓清指数比正常对照组明显降低, 二者有显著差异 ($P < 0.001$); 香芪口服液组的廓清指数已达到甚至超过了正常组水平 ($P < 0.001$); 与西洋参阳性对照组相比, 香芪口服液与其无显著差异 ($P > 0.05$), 但数值上有提高。实验结果表明, 香芪口服液能够显著增强免疫功能低下小鼠的吞噬细胞功能, 从而提高非特异性免疫水平。

2.2 对继发性免疫功能低下小鼠体液免疫功能的影响: 结果见表 2

由表 2 可以看出, 由 HC 构建的免疫低下模型小鼠, 其 PFC 数较正常组显著减少 ($P < 0.001$)。香芪组的 PFC 数比低下组明显升高, 二者有显著差异 ($P < 0.001$)。与正常组及西洋参阳性对照组相比, 香芪组的 PFC 虽与其无显著差异 ($P > 0.05$), 但数

表 2 溶血空斑形成细胞 (PFC) 测定结果

组别	n	PFC (个 / $\times 10^6$ 脾细胞)
正常	10	73.4 \pm 9.5
低下	10	49.2 \pm 11.1
香芪	10	83.1 \pm 16.1
西洋参	10	80.3 \pm 7.9

与低下组相比: * $P < 0.001$

值上已有升高的趋势。实验结果表明, 香芪口服液可显著提高继发性免疫功能低下小鼠的溶血空斑形成细胞数, 使其恢复至正常水平, 从而提高小鼠的体液免疫功能。

3 讨论

非特异性免疫和体液免疫是机体免疫系统的重要组成部分。单核巨噬细胞的吞噬能力是衡量机体非特异免疫功能的标志之一。当细菌、异物等抗原性物质进入机体后, 可迅速被单核巨噬系统吞噬和清除, 因而巨噬细胞廓清指数的多少可以反映其吞噬功能的强弱^[7]。针对病原微生物, 体液免疫肩负着抗感染、免疫调理等作用, 它可能通过产生抗体与对应的抗原特异性结合产生各种生物学效应, 所以抗体产生细胞体现了体液免疫功能的强度。在 PFC 法中, 每个空斑表示一个抗体生成细胞, 故而空斑的数量较精确反映机体的体液免疫功能。

本实验通过测定香芪口服液对免疫功能低下小鼠的抗体生成细胞及廓清指数的影响, 研究香芪口服液的免疫调节作用。实验结果显示, 香芪口服液可以增强巨噬细胞吞噬异物的能力, 同时还促进 B 细胞增殖分化, 使抗体生成细胞数显著增多, 说明香芪口服液能显著提高继发性免疫功能低下小鼠机体的体液免疫和非特异性免疫功能。

香芪口服液免疫调节的机制推测是对抗小剂量 HC 的免疫低下作用, 在促进吞噬细胞吞噬功能和溶酶体水解酶含量增加等非特异免疫活性的基础上, 使 M Φ 处理和传递抗原的能力得到增强, 同时 M Φ 释放的 IL-1、CSF 等细胞因子也增多, 促进诱导造血干细胞产生白细胞集落以及 B 细胞增殖分化, 使脾细胞数和 PFC 数达到正常对照值, 提高过低的 IgM 和 IgG 水平。有人报道, 黄芪调节免疫功能是通过 T 细胞介导的, 它可以提高正常小鼠的抗体形成量, 但对于去胸腺小鼠此作用消失^[6]。

参考文献:

- [1] 曲章义, 牛美娟, 郭彩玲, 等. 香菇多糖抗肿瘤作用的机理 [J]. 中国食用菌, 1997, 16(5): 3-5.
- [2] Maeda Y, Takehana S, Kohana, *et al.* Polygenic control of the expression of biological activities of an antitumor polysaccharide [J]. Lentinan Int J Immunophar, 1997, 19: 469-472.
- [3] 曹雪瑜, 李女娣, 陈力力, 等. 香菇多糖对免疫功能低下小鼠的

- 免疫调节作用[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(2): 46-48.
- [4] 毛小娟, 王军志, 王凤蕴. 红芪多糖和黄芪多糖的免疫调节作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1988, 8: 365-367.
- [5] 赵克胜, 丁丽轩, 孔海燕, 等. 黄芪多糖增强人外周血单个和细胞产生肿瘤坏死因子的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1993, 13(5): 263-264.
- [6] 耿长山. 黄芪多糖对去胸腺小鼠促进抗体产生机理的探讨[J]. 上海免疫学杂志, 1985, 5(2): 69-70.
- [7] 曲章义, 赵育莹, 刘惠雯, 等. 细胞因子[M]. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社, 1998.

中药四性的生物热动力学研究(II) 参叶和参花药性的微量量热学比较

余惠旻², 肖小河¹, 刘塔斯², 赵艳玲¹, 袁海龙¹, 谭安民³, 高晓山⁴

(1. 解放军 302 医院 药学部, 北京 100039; 2. 湖南中医学院药学院, 湖南 长沙 410007; 3. 北京医科大学 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083; 4. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 目的 从生物物理化学的角度, 阐明中药四性(寒、热、温、凉)的客观真实性。方法 利用微量量热法, 测定了大肠杆菌在不同条件下的生长热谱曲线, 得到了相应的生物热动力学参数如生长速率常数(K)、抑制率(I)、半抑制率(IC_{50})、热焓(ΔH)。根据生物热动力学通用数值, 结合本草文献报道, 综合分析了参叶和参花药性的差异所在。结果 参叶和参花抑制细菌生长的热谱曲线, 其形状基本相同, 随着药物浓度的加大, 代谢过程的停滞期延长, 生长代谢峰后移; 其热力学参数热焓(ΔH)存在较稳定的差异——参叶降低了细菌生长代谢过程中热量的释放, 而参花增加了细菌生长代谢过程中热量的释放。结论 微量量热法可作为刻划中药药性的一个新的有效手段, 亦可作为中药活性筛选的新工具。

关键词: 中药四性; 微量量热法; 参叶; 参花; 热焓

中图分类号: R285.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)10-0910-04

Biothermodynamic study on four therapeutic features of TCM

II Comparison of therapeutic features of *Folium ginseng* and *Flos ginseng* by microcalorimetry

YU Hui-min², XIAO Xiao-he¹, LIU Ta-si², ZHAO Yan-ling¹,
YUAN Hai-long¹, TAN An-min³, GAO Xiao-shan⁴

(1. Department of Pharmacy, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China; 2. College of Pharmacy, Hunan University of TCM, Changsha Hunan 410007; 3. National Research Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Beijing University of Medical Sciences, Beijing 100083, China; 4. Institute of Chinese Materia Medica, Chinese Academy of TCM, Beijing 100700, China)

Abstract Object To demonstrate the naked truth of four therapeutic features of TCM (cold, hot, warm and cool) from biophysical and biochemical point of view. **Methods** Growth thermogenesis curves of *Escherichia coli* were determined under different conditions by microcalorimetry to give biothermodynamic parameters, such as multiplication constant (k), median inhibitory concentration (IC_{50}), and enthalpy (ΔH). Differences between folia ginseng and flos ginseng were comprehensively compared with reference to classical Chinese literatures on material medica. **Results** The bacteriostatic curve of both drugs were basically similar. With increasing concentration of decoctions of both drugs, the lag phase was delayed and the peaks shifted to the right. While the difference of ΔH was stable, which decreases with the increasing concentration of *Folium ginseng*, but increases with increasing concentration of *Flos ginseng*. **Conclusion** Microcalorimetry is not only a new effective method to describe the therapeutic features of TCM, but also could be used as a tool for the screening of active TCM.

Key words four therapeutic features of TCM; microcalorimetry; *Folium ginseng*, *Flos ginseng*, enthalpy (ΔH)

收稿日期: 2001-04-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970911)

作者简介: 余惠旻 (1972-), 男, 新疆省乌鲁木齐市人, 1994年毕业于新疆医学院中药专业; 1999年 至今于湖南中医学院及解放军 302 医院攻读硕士学位。