

对 CCl₄造成的大鼠慢性肝损伤具有防治作用。

TNF α 主要来源于单核细胞^[4],在肝脏有炎症损伤时,也可来源于炎症区的肝细胞^[5]。它能激活多种炎症细胞^[4],并可直接损伤肝细胞^[5],增强炎症活动度,加重对肝组织的损伤。韩家文等^[6]报道苦参素能抑制单核巨噬细胞的功能。王会贤等^[7]指出其具有双向调节免疫作用。体外实验证实^[8]其对肝细胞凋亡有阻断作用。本研究也证实:苦参素能下调血清 TNF α 水平。从而提示:苦参素对慢性肝损伤的防治作用可能与其下调血清 TNF α 水平有关,其确切的作用机制有待于进一步探讨。

参考文献:

- [1] 陈缙云,向文玉,周国燎,等. 氧化苦参碱对实验性肝损伤保护作用观察[J]. 药学通报,1983,18(7): 23-25.
[2] 黄志刚,翟为溶. 实验性肝纤维化模型种类及特点[J]. 肝脏,

1997,2(1): 51-55.

- [3] 吴军,包林平,贺伯明,等. 血清 IV 型胶原测定在临床肝纤维化中的应用[J]. 上海医学检验杂志,1998,13(3): 142-143.
[4] Yoshioka K, Kakumu S, Arai M, *et al.* Immunohistochemical studies of intra-hepatic tumour necrosis factor α in chronic liver disease [J]. J Clin Pathol, 1990, 43: 298-302.
[5] González-Amado R, Gardá-Monón C, García-Bucy L, *et al.* Induction of tumour necrosis factor α production by human hepatocytes in chronic viral hepatitis [J]. J Exp Med, 1994, 179: 841-848.
[6] 韩家文,冯晓君,白惠卿,等. 氧化苦参碱对小鼠激活的巨噬细胞吞噬功能的影响[J]. 北京医科大学学报,1987,19(4): 269-270.
[7] 王会贤,章灵华,杜守英,等. 氧化苦参碱对淋巴细胞增殖的影响[J]. 中草药,1994,25(7): 362-389.
[8] 王俊学,王国俊,蔡雄,等. 氧化苦参碱及甘草甜素对小鼠肝细胞凋亡的影响[J]. 第二军医大学学报,1999,20(4): 222-224.

墨旱莲乙酸乙酯总提物对正常小鼠免疫功能的影响

刘雪英,王庆伟,蒋永培*,赵越平*,汤海峰*

(第四军医大学唐都医院 药剂科,陕西 西安 710038)

摘要:目的 研究墨旱莲乙酸乙酯总提物(EAEEP)对小鼠免疫功能的影响。方法 以大、中、小3个剂量给药,考察EAEEP对小鼠免疫脏器系数、碳粒廓清指数、迟发性变态反应、血清溶血素及脾抗体形成细胞等指标的影响。结果 EAEEP可显著降低小鼠的脾指数及碳粒廓清指数,抑制迟发性过敏反应,降低溶血素水平。EAEEP可显著提高小鼠的胸腺指数,对脾细胞抗体形成功能无显著影响。结论 EAEEP具有调节小鼠免疫功能的作用。

关键词: 墨旱莲;墨旱莲乙酸乙酯总提物;碳粒廓清率;迟发型变态反应;血清溶血素;抗体形成细胞

中图分类号: R286.95 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0341-03

Effect of ethyl acetate extract of *Eclipta prostrata* on immune system in normal mice

LIU Xue-ying, WANG Qing-wei, JIANG Yong-pei, ZHAO Yue-ping, TANG Hai-feng

(Department of Pharmacy, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an Shanxi 710038, China)

Key words *Eclipta prostrata* L.; ethyl acetate extract of *E. prostrata*; charcoal clearance; delayed type hypersensitivity (DTH); hemolysin; plague forming cell

中药墨旱莲为菊科鳢肠属植物鳢肠 *Eclipta prostrata* L. 的干燥地上部分,始载于《唐本草》,具有滋肝补血、凉血止血之功,用于牙齿松动、须发早白、眩晕耳鸣、腰膝酸软、阴虚血热、吐衄、尿血等症^[1]。墨旱莲水煎剂可显著增强小鼠的非特异免疫及细胞免疫功能^[2]。有报道其免疫增强作用的分子基础是其黄酮成分^[3]。而对墨旱莲的免疫抑制活性成分则未见报道,我们在实验中首次发现墨旱莲的

乙酸乙酯总提物具免疫抑制活性,并对其免疫抑制功能的机制进行了研究

1 材料及方法

1.1 药品与试剂:墨旱莲乙酸乙酯总提物(ethylacetate extract of *Eclipta prostrata*, EAEEP)由西京医院植化室汤海峰、赵越平药师提供,每克相当于原生药120g。主要成分为皂苷类物质,研为细末,过200目筛,用时以蒸馏水配制成适宜浓度。

* 收稿日期: 2001-06-13

作者简介: 刘雪英(1972-),女,山东潍坊人,主管药师,硕士,主要从事中药药理学的研究。E-mail: xylu@chinaice.com

Tel: 029-3377716

* 第四军医大学西京医院药剂科

1.2 仪器:德国 Sartorius 电子天平,WZ800-D3A 可见紫外分光光度计(北京第二光学仪器厂),LDZ5-2 型低速自动平衡离心机(北京医用离心机厂),Olympus CH 电子显微镜(Olympus optical Co. Ld)

1.3 动物:昆明种小鼠,雌雄兼用,18~ 22 g,6~ 7 周龄,二级动物,购自第四军医大学实验动物中心,动物合格证号:陕动准字 01 号

1.4 方法

1.4.1 分组与给药方法:实验小鼠随机分组,不禁食水;用药组 ig EAEEP,分别为 4, 8, 16 mg/kg 3 个剂量或 8, 16 mg/kg 2 个剂量,对照组用等容量生理盐水(NS),每日 1 次,连续 6 d

1.4.2 小鼠免疫器官称重法:末次给药 24 h 后,眼眶放血处死动物,称体重,用电子天平精密称胸腺及脾脏重量,计算胸腺指数及脾指数^[4]。

1.4.3 小鼠碳粒廓清法:末次给药 30 min 后,尾 iv 墨汁 0.1 mL/10 g 体重,注射后 2, 10 min 用吸管(预先用肝素溶液湿润)分别从眶后静脉丛取血 20 μL,溶于 2 mL 0.1% Na₂CO₃溶液中摇匀,于 650 nm 测吸光度 A^[4]。

1.4.4 SRBC 所迟发型足跖厚度增加法:给药第 3 天,小鼠 ip 2% SRBC 0.2 mL 致敏,末次给药后,用游标卡尺测量左后足跖部厚度,然后于测量部位 sc 20% SRBC 20 μL,注射后 24 h 再用游标卡尺测量左后足跖部厚度,以攻击前后足跖厚度的差值来表示迟发性变态反应的程度^[5]。

1.4.5 血清溶血素测定法:给药 3 d 后,ip 0.2% SRBC 0.2 mL 致敏。末次给药后 24 h,眼眶取血,室温放置 1 h,2 000 r/min 离心 10 min,取血清用 NS 200 倍。取稀释血清 1 mL 置试管内,加 10% SRBC 0.5 mL,1∶10 补体 1 mL 另设不加血清的对照管,置 37℃ 水浴中保温 30 min,然后将管移入冰浴中终止反应,2 000 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL 加都氏剂 3 mL,混匀放置 10 min,540 nm 处测吸光度 另取 10% SRBC 0.25 mL,加都氏剂 3.75 mL,同法测吸光度,作为 SRBC 半数溶血值(HC₅₀)。小鼠血清溶血素抗体含量以样品(HC₅₀)表示

HC₅₀= 样品吸光度值/SPBC 半数溶血值× 稀释倍数^[5]

1.4.6 定量溶血分光光度法:给药第 3 天,ip 2% SRBC 0.2 mL 致敏。末次给药后 24 h,处死动物,取脾,用 NS 制成 2×10⁶/mL 脾细胞悬液 另取试管,每管加入脾细胞悬液(空白对照管用 NS 代替)

0.2% SRBC 和 1∶10 补体各 1 mL,混匀,置 37℃ 水浴温育 1 h,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液在 413 nm 处测吸光度 A 值^[5]。

2 结果

2.1 EAEEP 对小鼠免疫器官指数的影响:与 NS 组比较,ig 给予 3 个剂量的 EAEEP 混悬液,其中大、中剂量显著降低小鼠的脾指数,而显著增加小鼠的胸腺指数,小剂量则无显著性差异,见表 1

表 1 EAEEP 对小鼠胸腺及脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	胸腺指数 (mg/kg)	脾指数 (mg/kg)
NS	-	2.98±0.59	2.94±0.40
EAEEP	4	3.32±0.71	2.75±0.81
	8	3.33±0.72	2.33±0.34*
	16	3.53±0.69	2.27±0.30*

与 NS 组比: * P<0.05 ** P<0.01

2.2 EAEEP 对小鼠碳粒廓清率的影响:结果表明,EAEEP 的大、中剂量均显著降低小鼠的碳粒廓清指数,小剂量无明显作用,见表 2

表 2 EAEEP 对小鼠碳粒廓清率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=11$)

组别	剂量 (mg/kg)	K (×10 ⁻²)	T 值
NS	-	5.73±2.03	7.74±1.18
EAEEP	4	4.50±2.56	6.94±1.33
	8	3.67±0.86	6.46±0.91*
	16	3.41±0.86	6.38±0.72

与 NS 组比: * P<0.05 ** P<0.01

2.3 EAEEP 对小鼠迟发性变态反应的影响:与 NS 组比较,EAEEP 的大剂量显著抑制小鼠的迟发性过敏反应,中剂量组则无明显的影响,见表 3

2.4 EAEEP 对小鼠血清溶血素抗体形成的影响:ig EAEEP 的大剂量能显著抑制小鼠溶血素的形成,而中剂量组则无明显的影响,见表 4

表 3 EAEEP 对小鼠迟发性足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	足跖厚度 (mm)
NS	-	0.37±0.07
EAEEP	8	0.35±0.05
	16	0.19±0.07*

与 NS 组比: ** P<0.01

表 4 EAEEP 对小鼠血清溶血素抗体的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	HC ₅₀
NS	-	77.96±11.09
EAEEP	8	66.67±4.39
	16	44.67±4.85*

与 NS 组比: ** P<0.01

2.5 EAEEP 对脾细胞分泌抗体功能的影响:EAEEP 的大、中剂量对脾细胞分泌抗体功能均无显著影响,见表 5

表 5 EAEEP 对脾内抗体形成细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂量 (mg/kg)	$A_{413\text{ nm}}$
NS	-	0.39 $\pm$ 0.06
EAEEP	8	0.34 $\pm$ 0.05
	16	0.33 $\pm$ 0.05

3 讨论

近代研究表明,许多扶正药物对机体免疫功能有双向调节作用。中药之所以产生双向调节作用,与其所含有两种或多种功效、作用相反的化学成分是分不开的^[6]。墨旱莲对小鼠脾细胞产生 IL-2 的影响在免疫抑制状态下呈提高作用,而在免疫增强状态下呈抑制作用,具有双向调节作用^[7]。我们首次发现墨旱莲乙酸乙酯总提物(为皂苷类成分)具免疫抑制活性,能显著抑制小鼠免疫器官脾的发育,并显著抑制巨噬细胞的吞噬功能,明显抑制 T 细胞介导的迟发性变成反应,降低血清溶血素水平,表明其显著抑制机体的非特异免疫、细胞免疫及体液免疫功能,

提示墨旱莲中含有功效相反的化学成分,其对免疫功能的双向调节作用是其各成分综合作用的结果。同时 EAEEP 可显著提高小鼠胸腺指数,促进胸腺的发育,揭示对不同的免疫器官有不同的作用,也为免疫双向调节作用的原因之一。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 2000年版. 一部
- [2] 胡慧娟,杭秉茜,刘 勇. 旱莲草对免疫系统的影响[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(1): 55-57.
- [3] 张 梅,邱晓辉,刘 梅. 旱莲草中黄酮类成分的免疫调节作用[J]. 中草药, 1997, 28(10): 615.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991.
- [5] 薛 彬. 免疫毒理学实验技术[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995.
- [6] 张宏方. 从中西医理论的异同看中药药理研究之思路[J]. 医学与哲学, 1996, 17(2): 86-88.
- [7] 熊晓玲,李 文. 部分扶正固本中药对小鼠脾细胞 IL-2 产生的双向调节作用[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1991, 3(4): 37-38.

葛根素对乳鼠心肌细胞缺氧-复氧时脂质过氧化损伤的保护作用

朱智彤,姚 智,李会强,娄建石*,卢 奕*
(天津医科大学 免疫教研室,天津 300203)

摘 要: 目的 观察葛根素(puerarin, Pue)对缺氧-复氧损伤造成的大鼠乳鼠心肌细胞脂质过氧化反应的作用。方法 分别测定各个时点对照组、模型组及各给药组(1, 0.1, 0.01 g/L Pue)培养上清中 SOD 活性和 MDA 含量,细胞 MTT 代谢率的变化。结果 缺氧及复氧都可造成 SOD 活性下降,MDA 含量升高及 MTT 代谢率下降,复氧后 2 h 最为显著($P < 0.01$)。3 种剂量 Pue 均能对抗这 3 个指标的异常变化,但浓度越小,作用越弱。结论 Pue 能减轻缺氧时产生的自由基损害,减少 SOD 的消耗,并可能促进其合成,亦可保护心肌细胞的线粒体功能,这些作用呈剂量依赖趋势。

关键词: 缺氧-复氧; 心肌细胞; 葛根素; 过氧化物歧化酶; 丙二醛

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)04-0343-04

Protective effect of puerarin on cardiomyocytes of neonatal mice injured by lipid peroxidation during hypoxia-reoxygenation

ZHU Zhi-tong, YAO Zhi, LI Hui-qiang, LOU Jian-shi, LU Yi

(Department of Immunology, Tianjin University of Medical Science, Tianjin 300203, China)

Key words hypoxia-reoxygenation; cardiomyocyte; puerarin; superoxide dismutase; melondialdehyde

缺氧及其后更为严重的复氧损伤是各种缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury)的共性。文献报道脂质过氧化反应与缺氧-复氧损伤(hypox-

ia-reoxygenation injury)的发生、发展密切相关。而对葛根素是否通过增强心肌细胞的抗氧化能力来发挥其保护作用知之甚少。本研究采用给培养的心肌

* 收稿日期: 2000-10-23

作者简介: 朱智彤(1971-),女,天津人,讲师,在读博士,研究方向: 免疫药理。Tel (022)23313909 E-mail zhuzhi-tong@yahoo.com

* 本校药理教研室