

大补阴丸对空肠弯曲杆菌致敏小鼠的免疫调节作用

张雷明¹, 董 群², 赵向忠²

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2. 皖南医学院 微生物与免疫学教研室, 安徽 芜湖 241001)

近年临床报道中医滋补肾阴的经典名方大补阴丸, 在治疗系统性红斑狼疮^[1]、糖尿病^[2]等自身免疫疾病方面疗效肯定, 且无雷公藤等药物的不良反应。肝炎也是一种自身免疫性疾病, 大补阴丸对肝炎的作用至今尚无临床报道。本实验通过病理切片、细胞培养、酶联免疫吸附实验等技术观察了大补阴丸水提物对空肠弯曲杆菌 CJ-S₁₃₁ 致敏小鼠的免疫调节作用, 为大补阴丸在治疗肝炎等自身免疫疾病方面的应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物: ICR 小鼠, 雌性, 体重 18~22 g, 南京医科大学动物中心提供, 合格证号: 苏动字 97001 号。

1.2 CJ-S₁₃₁ 菌株: 上海疾病预防控制中心提供。

1.3 试剂与仪器: 弗氏完全佐剂 (FCA)、脂多糖 (LPS)、四甲基偶氮唑盐 (MTT)、刀豆蛋白 (ConA), Sigma 公司提供; 羊抗小鼠酶标抗体, 华美生物公司提供; 1640 培养基, 日本制药株式会社提供; 小牛血清, Hyclone 公司提供。DG—3022A 型酶标仪, 华东电子管厂。

2 方法

2.1 大补阴丸水提物制备: 首先将黄柏、知母、熟地黄、龟板分别磨成粗粉, 按方剂中比例 (2:2:3:3) 混合, 加等量蒸馏水超声 (20 kHz) 处理 30 min, 进一步破坏细胞, 水煎 2 次, 第 1 次加水 12 倍量, 第 2 次加水 5~8 倍量, 趁热滤过, 合并滤液, 浓缩至含生药 0.5 g/mL。

2.2 致敏小鼠模型制备: 参考文献方法^[3], 将小鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 分别为正常组、模型组、地塞米松组、大补阴丸组。取 CJ-S₁₃₁ 混悬液和等量 FCA 混匀, 完全乳化, 除正常组外的各组小鼠左后足跖 sc 乳化的 CJ-S₁₃₁ 50 μ L; 正常组左后足跖 sc 生理盐水 50 μ L。初次免疫后 14 d, 尾 iv 加强免疫 1 次。小鼠于免疫后第 28 天进行肝、肾组织病理学观察和免疫功能检测。

2.3 给药方法: 小鼠造模 14 d 后, 大补阴丸组每天 ig 大补阴丸 9 g/kg (相当于成人每天用药量); 地塞米松组每天 ig 地塞米松 0.75 mg/kg; 正常组、模型组 ig 等量生理盐水。连续 14 d。

2.4 组织病理学检查: 取新鲜组织块固定、脱水, 石蜡包埋, 常规切片, HE 染色。

2.5 脾脏 T、B 淋巴细胞增殖反应检测: 参考文献方法^[3], 采用 MTT 法, 实验孔分别加入 ConA (终质量浓度 4 μ g/mL) 和 LPS (终质量浓度 6 μ g/mL), 对照孔以培养液代替, 在酶标仪 570 nm 处测定吸光度 (A) 值。

2.6 血清自身抗体测定: 参考文献方法^[4], 用酶联免疫吸附实验测定小鼠血清中抗 ds-DNA、ss-DNA 抗体, 在酶标仪 490 nm 处测定 A 值。

2.7 数据统计: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用方差分析和 *q* 检验进行显著性检验。

3 结果

3.1 病理学检查: 常规染色, 发现与正常组比较, 模型组病理变化最为明显。肝脏细胞明显肿胀变性, 门静脉周围有明显的炎性细胞堆积, 肝细胞间有散在的炎性细胞浸润, 可见灶性凝固性坏死。而地塞米松组和大补阴丸组仅在组织内有少量散在的炎性细胞浸润; 各组肾脏均未见明显病理改变。

3.2 T、B 淋巴细胞活性: 结果见表 1。模型组 T、B 淋巴细胞活性明显高于正常对照组 ($P < 0.01$), 地塞米松组和大补阴丸组 T、B 淋巴细胞活性较模型组明显降低 ($P < 0.01$), 但地塞米松组 T、B 淋巴细胞活性降至正常以下 ($P < 0.05$)。

3.3 自身抗体检测: 结果见表 1。小鼠免疫后 28 d, 模型组血清中抗 ds-DNA、ss-DNA 抗体水平明显高于正常组 ($P < 0.01$), 而地塞米松组和大补阴丸组血清中抗 ds-DNA、ss-DNA 抗体水平明显低于模型组 ($P < 0.01$)。

4 讨论

收稿日期: 2004-07-09

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金资助项目 (2002kj301)

作者简介: 张雷明 (1976—), 男, 助教, 硕士。Tel: (0535) 6706030-8022 E-mail: zlm21st@sina.com

表 1 大补阴丸对 CJ-S₁₃₁致敏小鼠 T、B 淋巴细胞活性及血清中抗 ds-DNA、ss-DNA 抗体水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Dabuyin Pill on T, B lymphocytes activities and ds-DNA, ss-DNA antibody levels

in serum of CJ-S₁₃₁ sensitized mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	T 细胞活性 (A ₅₇₀)	B 细胞活性 (A ₅₇₀)	ds-DNA 抗体 (A ₄₉₀)	ss-DNA 抗体 (A ₄₉₀)
正常	0.601 ± 0.807	0.611 ± 0.109	0.183 ± 0.035	0.196 ± 0.036
模型	0.804 ± 0.079**	0.768 ± 0.055**	0.368 ± 0.058**	0.357 ± 0.062**
地塞米松	0.526 ± 0.070*△△	0.509 ± 0.095*△△	0.204 ± 0.053△△	0.217 ± 0.069△△
大补阴丸	0.667 ± 0.091△△	0.657 ± 0.036△△	0.216 ± 0.025*△△	0.231 ± 0.040△△

与正常组比较: *P<0.05 **P<0.01; 与模型组比较: △△P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs normal group; △△P<0.01 vs model group

自身免疫性疾病严重危害人类健康,如糖尿病、甲亢、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、肝炎等,目前尚无满意的治疗药物,因此研究和开发低毒高效控制自身免疫性疾病的新药是国际发展趋势。大补阴丸是中医滋补肾阴的经典名方,临床上发现用其治疗某些自身免疫疾病疗效肯定,但目前相关实验研究较少,在肝炎的治疗研究中也未见相关报道。

本实验结果表明,大补阴丸可明显减轻 CJ-S₁₃₁致敏小鼠肝脏自身免疫性炎症反应,而且可降低血清中抗 ds-DNA、ss-DNA 抗体水平。表明大补阴丸对 CJ-S₁₃₁所致自身免疫反应有改善作用。此外,大补阴丸对 CJ-S₁₃₁致敏小鼠异常亢进的脾细胞增殖反应具有明显的调节作用,提示大补阴丸对 CJ-S₁₃₁致敏小鼠自身免疫性病理变化的改善作用与其纠正整体免疫功能失调有关。而且和地塞米松组相比也有其特点,其 T、B 淋巴细胞活性接近正常水平 (P>0.05),而地塞米松组 T、B 淋巴细胞活性降至正常以下 (P<0.05)。提示中药大补阴丸的免疫抑

制作用较缓和。

本实验初步揭示了大补阴丸对自身免疫疾病的免疫调节作用,由于只设了一个成人常用剂量组,所以可在此基础上加设大、小两个剂量,以便摸索出一个最佳剂量。并且可以继续追踪分离具有改善 CJ-S₁₃₁致敏小鼠免疫功能状态的大补阴丸中的活性组分,并以肝炎小鼠为模型进行进一步研究,从而为大补阴丸治疗肝炎等自身免疫性疾病打下基础。

References:

[1] Su X. The experience of theraping SLE by Shen Peian professor [J]. *J New Chin Med* (新中医), 1998, 30(8): 10-11.
 [2] Liu X L, Chen K, Shi H, et al. Effects of Dabuyin Pill on blood glucose level and immune function in experimental diabetic mice [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2000, 17(3): 185-187.
 [3] Sun B, Ma B L, Xie Y L. An animal model of autoimmunity induced by formaldehyde treated CJ-S₁₃₁ and freunds complete adjuvant [J]. *Shanghai J Immunol* (上海免疫学杂志), 1991, 11(5): 257-260.
 [4] Tan Y Y, You L F, Xu Y J. Effect of Dabuyin Pill on immune function in normal mice [J]. *Chin J Exp Clin Immunol* (中国实验临床免疫学杂志), 1999, 11(2): 21-24.

山楂叶抽提物对人脐静脉内皮细胞中过氧化氢的清除作用

兰文军, 郑筱祥*

(浙江大学 生物医学工程与仪器科学学院, 浙江 杭州 310027)

H₂O₂可引发细胞膜中的不饱和脂肪酸脂质发生过氧化反应、破坏细胞膜;还能诱发细胞凋亡 (apoptosis),促使 DNA 链断裂,从而损伤细胞,参与多种病理机制。Chatterjee 等^[1]报道,山楂的叶和花的总抽提物 WS1442 有抗氧化作用。本实验研究了富含黄酮的山楂叶抽提物对人脐静脉内皮细胞 (human umbilicus vein endothelial cell, HUVEC)

中 H₂O₂的清除作用,以探讨此抽提物抗氧化作用。

1 材料

流式细胞仪 (FACSort, BD, 美国);微板读取仪 (Microplate reader 550, Bio-Rad, 美国);紫外分光光度计 (GeneQuantPro, Amersham Pharmacia, 英国);PI 染料 (Caltag, 美国);H₂O₂试剂盒和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒购自南京

收稿日期:2004-06-07

作者简介:兰文军(1971—),男,江苏泰州人,博士研究生,研究方向为肿瘤和心血管药物(中药)的体外筛选与评价。

Tel: (0571) 87932962 E-mail:lanwenjun0522@hotmail.com

* 通讯作者