

养阴活血等复方对动物抗体形成影响的研究

中国人民解放军第二军医大学附属长征医院

苏祥扶 孔宪涛 谢映华 秦志芳 朱秋琴 陆凤娟

我院肾移植协作组在同种异体肾移植的部分病人中,应用西药免疫抑制剂的同时,加用了扶正安胎、养阴活血等中药复方预防和治疗排异反应,发现养阴活血中药与泼尼松等同用,可以使肾移植患者的排异反应次数减少⁽¹⁾。为了证实临床观察结果,探索预防和治疗排异反应的中药,我们观察了若干复方对动物抗体形成细胞功能的影响。现将该项实验结果报告如下。

实验方法

一、实验动物

用第二军医大学提供的昆明杂系小白鼠和615纯种鼠,体重18~23克,随机分为对照组及若干给药组。各组动物雌雄各半,平均体重相差不超过1克。

二、溶血空斑实验

按Jerne法略加改进^(2,3)。各组动物灌胃给药4天后,由尾静脉注入用盐水洗过3次的绵羊压积红细胞0.2毫升(含压积红细胞 2×10^8 /毫升),再给药4天;对照组给同等的自来水。8天后拉颈处死动物,以最快速度取出脾脏,称其重量,在水浴中用研磨法将脾脏制成匀浆,加入冷1640培养液2毫升,洗下移入试管中。用计算板计数脾匀浆液的脾细胞数,并稀释成 10^7 个细胞/毫升。取已预温45℃琼脂糖溶液(用1640培养液配制,内含1%右旋糖酐溶液5%)1毫升,加脾细胞液和洗涤3次的绵羊压积红细胞0.1毫升,迅速混匀,倒入已用Hank's液琼脂铺底的平板中。凝固后放入37℃孵箱中孵育2小时,加补体(豚鼠血清),再孵30分钟,取出,置冰箱过夜,计算溶血空斑数。

三、药物制备与分组

1. 中药组:分别使用以下7个处方。(1)扶正安胎方:杜仲、川断、狗脊、苧麻根各20克,党参、黄芪、生地各9克,当归15克;(2)补肾安胎方:

杜仲、川断、狗脊、苧麻根、黄芩各20克;(3)益气方:黄芪30克,党参30克,白术20克;(4)养阴方:天冬30克,麦冬30克,生地30克,玄参20克;(5)活血方:丹参30克,赤芍30克,红花20克;(6)乙字汤:柴胡、黄芩各30克,当归20克,大黄15克,甘草10克;(7)散结Ⅲ号方:从单味狼毒大戟中提取而得。

以上前6方药物均取自本院中药房,水煎3次,去渣取汁,文火浓缩至100毫升,扶正安胎方每只小鼠灌喂0.7毫升,其余各方均灌喂0.6毫升,每天1次;消结Ⅲ号方系由本院肿瘤小组提供,临床用于治疗肿瘤疾病,具有消坚散结的作用,每毫升含生药1克,每只小鼠灌喂0.5毫升,每天1次。

2. 西药组:使用以下药物。(1)泼尼松:每只小鼠0.5毫克,加水0.5毫升,每天1次;(2)甲孕酮:每只小鼠0.25毫克,加水0.5毫升,每天1次。

3. 对照组:每天灌喂自来水1次,每次0.5~0.6毫升。

实验结果

一、扶正安胎方、补肾安胎方、益气方及泼尼松、甲孕酮对溶血空斑形成的影响

扶正安胎方、补肾安胎方和益气方分两批进行。扶正安胎方为一批,补肾安胎方、益气方为另一批,每批重复两次,结果见表1。扶正安胎方、补肾安胎方、益气方对溶血空斑形成均无显著影响,而泼尼松、甲孕酮对溶血空斑形成却有显著抑制作用,经统计学方差分析,P值均小于0.01。

二、养阴方、活血方、乙字汤、散结Ⅲ号方对溶血空斑形成的影响

将养阴、活血等方分为4组进行实验,每组均重复两次,结果见表2。养阴方、活血方、乙字汤及散结Ⅲ号

表 1 扶正安胎方、益气方、补肾安胎方、甲孕酮泼尼松对溶血空斑形成的影响

组 别	小白鼠 (只)	溶血空斑数(个) (均值±标准差)	与对照组的 增 减 数 (%)	P 值
对 照 组	15	37.142±19.024		
扶正安胎方	14	39.093±37.093	+1.951(5.25)	>0.05
对 照 组	12	1921.17±1565.65		
补肾安胎方	11	1282.45±1011.25	-638.72(33.25)	>0.05
益 气 方	12	1598.42±1773.38	-322.75(16.80)	>0.05
泼 尼 松	10	91.50±90.94	-1829.67(95.24)	<0.01
甲 孕 酮	11	285.00±252.77	-1636.17(85.16)	<0.01

表 2 养阴方、活血方、乙字汤、散结Ⅲ号方对溶血空斑形成的影响

组 别	615 纯种鼠 (只)	溶血空斑数 (均值±标准差)	与对照组的 增 减 数 (%)	P 值
对照组	20	219.725±115.702		
养阴方	9	36.667±48.545	-183.058(83.31)	<0.01
活血方	9	73.667±62.165	-146.058(66.47)	<0.01
乙字汤	11	33.00±29.148	-186.725(84.98)	<0.01
散结Ⅲ号方	11	67.273±59.426	-152.452(69.38)	<0.01

方对溶血空斑形成均有显著抑制作用,与对照组比较,经统计学方差分析, P 值均小于 0.01。其中养阴方和乙字汤的抑制率高于活血方和散结Ⅲ号方。

讨 论

由于脏器移植的大量开展,同时对免疫亢进性疾病如变态反应、生殖免疫和自身免疫疾病治疗的临床需要,免疫抑制性药物是个亟待解决的问题。目前所用的免疫抑制剂如烷化类、抗代谢类和皮质醇类,皆不是很理想的药物,因为它们有无选择性的抑制(正常细胞及其机能亦被破坏)和较明显的副作用。选择一个既有特异性抑制又无副作用的抑制剂,特别是从祖国医药学中寻找理想的免疫抑制药物,是目前探索的一个方向。

溶血空斑试验是通过动物体内测定筛选免疫抑制或增强药物的一个较为理想的方法。其原理是先用绵羊红细胞静脉免疫动物前后各灌服中药制剂,免疫 4 天后取脾细胞测定 B 细胞产生特异性抗体的能力。这种抗体是一个细胞产生微量($10^3 \sim 10^6$ 个抗体分子)高效价的 IgM⁽⁴⁾,这种产生 IgM 抗体的细胞数量和对对照组(不给药)相比,则可推知药物的作用。本组在应用中药制剂的同时,选用目前公认的免疫抑制剂泼

尼松等作为对照,证明了实验结果的可靠性。

本组选用中药处方中,扶正安胎、养阴活血方是本院同种异体肾移植协作组用以预防和治疗排斥反应的方剂,另外选用的乙字汤、散结Ⅲ号方,旨在证实临床观察结果和探索副作用小,效果可靠的抗排斥中药。

实验结果表明,由益气养血、补肾安胎药物组成的扶正安胎方,以及单由补肾安胎药组成的补肾安胎方和单由益气药组成的益气方,对溶血空斑形成均无显著的抑制作用;而由生地、玄参、天冬、麦冬等养阴药物组成的养阴方和由丹参、赤芍、红花等活血药组成的活血方,均有显著抑制溶血空斑形成的作用,抑制率分别为 83.31% 和 66.47%,这一结果与肾移植临床对排斥反应次数的观察结果基本一致。乙字汤、散结Ⅲ号方对溶血空斑形成亦有显著的抑制作用,说明这些中药方剂对于形成抗体的 B 细胞功能,有不同程度的抑制作用。与泼尼松比较,泼尼松的抑制率最高(95.24%)。乙字汤、养阴方次之,散结Ⅲ号方、活血方又次之。

甲孕酮临床上主要用于治疗先兆流产。根据怀孕有个极复杂的免疫问题,孕妇先兆流产是一种免疫反应,是母体对胎儿的一种排斥^(5,6)的认识,本院肾移植协作组,使用泼尼松等免疫抑制剂的同时,对一部分病例加用了甲孕酮,以预防和治疗排斥反应,初步看来有一定作用,但其免疫抑制作用迄今尚未见到文献报道。本组实验发现甲孕酮对溶血空斑形成有显著抑制作用,抑制率为 85.16%,仅次于泼尼松,与中药养阴方相似。有文献报道,绒毛膜激素具有免疫抑制作用⁽⁷⁾。结合本实验结果,初步提示,从孕激素中寻找有特异性抑制、副作用小的免疫抑制剂,可能是一条新的途径。

参 考 文 献

- (1) 苏祥扶等: 中医中药在同种异体肾移植中的应用。待发表资料, 1982。
- (2) Jerne NK, et al: Plaque forming cells. Methodology and theory. Transplant Rev 18:130, 1974.
- (3) 孔宪涛: 临床免疫学技术。130 页, 内部资料, 1980。
- (4) Sell S, et al: Immunoglobulin classes of antibody forming cells in mice I. Localized hemolysis-in-agar plaque forming cells belonging to five immunoglobulin classes. J Immunol 104:483, 1970.
- (5) Hearn JP: Immunological Aspects of Reproduction & Fertility Control. MTP 1980.
- (6) 叶天星: 母体与胎儿之间的免疫现象。上海免疫学杂志 (1):49, 1982。
- (7) 高恪摘译: 甲胎蛋白的免疫抑制作用。国外医学内科分册 2:封 3, 1978。