

方药研究

补气助阳方药对小鼠免疫功能调整作用的研究

北京中医学院 周 勇* 毛学礼** 陶君娣* 高慧珍** 王东明**

近年来关于单味补气药或助阳药能提高机体免疫功能有报道,但未见有关补气药和助阳药组成复方进行研究的报道。其次,考虑临床大量使用化疗或放疗能导致正气衰竭,降低机体免疫功能的情况,所以采用了补气助阳方药观察对用环磷酰胺抑制的小鼠免疫功能的恢复作用。

一、材料与方法

(一) 实验动物: Swiss 小白鼠, 体重 20~22 克, 雌雄各半, 由本院动物室提供。

(二) 药物和主要试剂:

1. 补气助阳方剂配制: 人参 20 克, 党参 60 克, 黄芪 60 克, 肉苁蓉 40 克, 菟丝子 40 克, 淫羊藿 40 克。以上生药共 260 克, 用蒸馏水浸泡半天, 文火煎熬 2 小时后, 浓缩至 260 毫升, 纱布过滤备用。

2. 环磷酰胺: 上海第十二制药厂产品, 批号 820306。

3. 刀豆球蛋白 A (ConA), 美国 Sigma 公司产品, 批号 79 C—7620。

4. RPMI—1640 培养基: 西德 SERVA 公司产品, 批号 47885。

5. 氚标记胸腺嘧啶核苷 ($^3\text{H-TdR}$): 比活性为 22 Ci/mM, 中国科学院原子能研究所产品。

(三) 实验方法

1. 动物分组: 将动物随机分成四组, 每组雌雄各半。(1) 正常对照组: 每日每只小鼠喂水 0.5 毫升。(2) 补气助阳药组: 每日每只小鼠喂中药液 0.5 毫升。(3) 环磷酰胺组: 按小鼠体重, 以 100 毫克/公斤剂量皮下注射一次, 每日每只小鼠喂水 0.5 毫升。(4) 环磷酰胺加补气助阳药组: 环磷酰胺用法及用量同上, 每日每只小鼠喂中药液 0.5 毫升。

2. 试验方法:

(1) 脾细胞介导羊红细胞定量溶血分光光度计测

定 (Spleen Cell Mediated Sheep Red Blood Cell Hemolysis is Quantitated Spectrophotometrically QHS) 试验⁽¹⁾: 喂药第 3 天各组动物腹腔注射 5% 羊红细胞悬液 0.2 毫升/只进行免疫。与此同时, (3)(4) 组给予环磷酰胺, 免疫后第 5 天 (即喂药第 8 天) 进行试验。取脾置于冷 Hanks 液 (不加指示剂) 中, 用 50 目不锈钢网分离脾细胞, 调整细胞数至 5×10^6 /毫升。每管加脾细胞悬液 1.5 毫升, 1:30 豚鼠血清补体 1.5 毫升及 0.2% 羊红细胞 1.5 毫升, 摇匀后, 置 37℃ 水箱中孵育 1 小时, 2000 转/分离心 10 分钟, 吸取上清液于 721 分光光度计 413 毫微米波长处读取光密度值 (OD)。

(2) 血凝抗体滴度试验: 摘除小鼠眼球, 所得血液待凝固后分离血清, 56℃ 30 分钟灭活, 在塑料凹窝板上用生理盐水作对倍稀释, 每孔 0.2 毫升, 然后每孔加 1% 羊红细胞 0.2 毫升。摇匀, 室温 2 小时看结果, 以发生凝集的血清最高稀释度为反应终点。

(3) $^3\text{H-TdR}$ 掺入淋巴细胞转化试验方法⁽²⁻⁴⁾: 喂药第 4 天给予环磷酰胺, 实验第 11 天摘掉小鼠眼球放血, 脱颈椎处死动物, 无菌取脾, 将脾置于 RPMI-1640 培养液中, 用 50 目不锈钢网分散脾细胞, 最终配成 10^7 /毫升的细胞悬浮液, 试验管每支加配成的脾细胞悬液 1 毫升及 ConA 5 微克, 双份, 对照管两支 (份) 不加 ConA, 置 37℃ 恒温培养箱中培养 36 小时, 换液一次, 48 小时加 $^3\text{H-TdR}$ 1 微居里/毫升, 72 小时收获细胞, 培养物用均相法处理, 样品用国产 FJ-2102 型双道液体闪烁计数器测定, 转化程度以刺激指数表示。

二、试验结果

(一) 补气助阳方剂对小鼠体液免疫的影响: 结

* 中心实验室第四研究室; ** 卫生学教研室

果见附表。

附表 补气助阳药对小鼠体液免疫影响

组 别	动物数	QHS 光密度	抗体血凝滴度
正常对照组	8	0.45±0.007	99±30.61
补气温阳组	8	0.47±0.014	107±58.67
环磷酸胺组	8	0.26±0.01*	45±20.92*
环磷酸胺加补气温阳组	8	0.41±0.01 ^{△△}	83±26.02 [△]

注：表内数字为均值±标准差。* 与正常对照组比较， $P<0.01$ ； Δ 与环磷酸胺组比较， $P<0.05$ ； $\Delta\Delta$ 与环磷酸胺组比较， $P<0.01$ 。

从脾细胞介导羊红细胞溶血分光光度计测定及血凝结果看来，正常喂药组较正常对照组血凝滴度虽有所增加，但差别不明显，说明补气助阳药对正常小鼠体液免疫功能无明显作用；免疫抑制组与正常对照组相比，光密度及血凝滴度明显降低（ $P<0.01$ ），证明环磷酸胺抑制小鼠的体液免疫反应。免疫抑制小鼠加服补气助阳方剂后，与受抑制组相比，光密度及血凝滴度明显升高（ $P<0.01$ 及 0.05 ），趋向恢复到正常水平，说明补气助阳方药对免疫受抑小鼠的体液免疫功能有促进恢复作用。

（二）补气温阳药对小鼠细胞免疫功能的影响

小鼠淋巴细胞转化试验结果表明，正常对照组（11只小鼠）测得刺激指数为 27.03 ± 2.28 （均值±标准差，下同），补气温阳组（11只小鼠）、环磷酸胺组（12只小鼠）和补气温阳加环磷酸胺组（10只小鼠）的刺激指数分别为 26.2 ± 1.2 、 2.75 ± 0.08 和 4.46 ± 0.29 。经统计学处理，补气温阳组较正常对照组无明显差别，说明补气助阳药对正常小鼠细胞免疫功能无明显影响，环磷酸胺免疫抑制组与正常对照相比（ $P<0.01$ ），说明对细胞免疫有显著抑制作用。当免疫受抑小鼠加服补气助阳药后，与免疫受抑组比细胞免疫有所升高（ $P<0.01$ ），但比正常对照组仍低，说明补气助阳方药对免疫受抑小鼠的细胞免疫功能有一定恢复作用。

三、讨 论

临床上化疗时大量使用免疫抑制剂，往往导致正气衰退，免疫功能低下，降低机体抗病能力。按中医治则，应扶持正气，助阳益阴。此外，据耿氏报道温阳药淫羊藿、肉苁蓉对用大剂量皮质激素造成阳虚小鼠受抑免疫功能有恢复作用^{〔6〕}，另有黄芪、人参、党参等促进免疫功能的报道^{〔6-9〕}。所以采用以免疫抑制

剂环磷酸胺抑制免疫反应的小鼠，观察补气助阳药对其免疫的影响。结果证明，补气助阳方药对受抑小鼠免疫反应有恢复作用，但对正常小鼠没有明显作用，这是符合中医的基本理论，正常动物是阴阳各种对立因素平衡，所以药物不起明显的促进作用；反之，用环磷酸胺后，动物免疫功能受到抑制，正气衰，免疫功能低下，按“虚则补之，实则泻之”原则，补气助阳方药能发挥促进免疫反应的作用。

临床证明对大量使用免疫抑制剂导致正气衰退的病人，按扶正、助阳益阴治疗后，症状可缓解，免疫指标恢复正常^{〔10〕}。本研究从动物试验角度，进一步证明补气助阳方药有促进受抑细胞免疫和体液免疫功能恢复作用，有一定临床参考意义。

参 考 文 献

- （1）Simson MA, et al: J Immunol methods 21:159, 1978.
- （2）杨贵贞主编：医用免疫学。387页，吉林人民出版社，1980。
- （3）侯云德等：流行病学杂志1（4）:220, 1980。
- （4）Kumar RK: J Immunol Methods 25:239, 1979。
- （5）耿排力等：中医杂志24（3）:61, 1983。
- （6）孙燕等：中华微生物和免疫学杂志3（4）:211, 1983。
- （7）易宁育等：上海免疫学杂志3（2）:82, 1983。
- （8）宋芳吉等：新医药学杂志（6）:60, 1979。
- （9）杨贵贞等：免疫学快报3（3）:10, 1983。
- （10）范世中：免疫学快报（4）:28, 1982。

新 书 出 版 消 息

《何氏历代医学丛书》之二十四何端叔医案 清·何昌龄著，何时希编校，影印本定价0.59元，1985年4月，学林出版社代理出版。

《何氏历代医学丛书》之三十女科一知集 何时希著，影印本，定价0.82元，1985年3月，学林出版社代理出版。

永乐大典医药集 萧源等辑，估价9.80元，1985年12月出版，人民卫生出版社。

本书将《永乐大典》刊载有关医药的内容，辑集出来，按卷次顺序编排而成。

黄帝内经章句索引 任应秋等编著，估价9.60元，1986年2月出版，人民卫生出版社。

本书分原文和索引两部分。原文部分据顾从德《素问》、史崧《灵枢经》本为底本，进行点校，并于每篇、章、节前扼要说明大意。索引部分以句为单位编索，句中有单独意义者亦一一列条。