

• 实验研究 •

比较含黄芪和含红芪的补中益气汤 对小鼠免疫功能的影响

桂曼曼 张李峰 李雪嫣 程卫东*

(兰州大学基础医学院中西医结合研究所, 甘肃省兰州市天水南路 222 号, 730000)

基金项目: 甘肃省中医药科研项目 (GZK-2008-7)

* 通讯作者: chengweidong888@sina.com, 13909482629

[摘要] 目的 探讨黄芪和红芪在补中益气汤提高免疫功能作用过程中的可替性。方法 取正常昆明种小鼠 40 只, 随机分为对照组、模型组、含黄芪组和含红芪组, 每组 10 只。腹腔注射环磷酰胺制备免疫功能低下的小鼠模型。含黄芪组和含红芪组分别给予含黄芪和红芪的补中益气汤 20ml/kg, 连续 14d, 对照组和模型组给予等量生理盐水。测定各组小鼠胸腺、脾脏质量并计算小鼠胸腺指数、脾脏指数; 检测巨噬细胞吞噬功能、血清溶血素水平、T 淋巴细胞增殖能力、自然杀伤细胞 (NK) 杀伤活性及白细胞介素 4 (IL-4) 含量。结果 与模型组相比, 含黄芪组和含红芪组均可提高免疫抑制小鼠胸腺指数、脾脏指数、巨噬细胞吞噬指数、溶血素水平、T 细胞增殖能力、NK 细胞活性、IL-4 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。除含红芪组提高 T 细胞增殖能力作用强于含黄芪组外, 其余免疫指标两组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 在提高免疫功能方面, 补中益气汤中红芪和黄芪是可以相互替换的。

[关键词] 补中益气汤; 黄芪; 红芪; 免疫功能

Comparison of Effect of Buzhong Yiqi Decoction Containing Astragalus Membranaceus and Containing Radix Hedysari on Immunologic Function of Mice

GUI Manman, ZHANG Lifeng, LI Xueyan, CHENG Weidong

(College of Preclinical Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

ABSTRACT **Objective** To study the substitutability of Huangqi (*Astragalus membranaceus*) and Hongqi (*Radix hedysari*) in Buzhong Yiqi Decoction (Decoction for reinforcing middle-jiao and replenishing qi) in improving immunologic function in mice. **Methods** Forty normal Kunming mice were randomized into four groups with 10 in each, i. e. control group, cyclophosphamide model group, Buzhong Yiqi Decoction containing Huangqi group (Huang qi group), and Buzhong Yiqi Decoction containing Hongqi group (Hongqi group). The mice were injected peritoneally with cyclophosphamide to establish the immunosuppressive models. Huangqi group and Hongqi group were given Buzhong Yiqi Decoction 20ml/kg containing Huangqi and Hongqi respectively for 14 days, while the control group and model group were given normal saline of equal volume. The thymus and spleen weights were measured to calculate the thymus and spleen indices, the phagocytic function of macrophages, serum hemolysin, T lymphocyte proliferation, the activity of NK cells, and the IL-4 were determined of all the above-mentioned indexes ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Results** Comparing with the model group, both Buzhong Yiqi Decoction groups were found increase. Except that the T lymphocyte proliferation of the Buzhong Yiqi Decoction containing Hongqi group was stronger than that of the Buzhong Yiqi Decoction containing Huangqi group, the other immunologic indices of the two Buzhong Yiqi Decoction groups were not statistically different ($P > 0.05$). **Conclusion** In improving the cellular immunologic function, Hongqi and Huangqi can replace each other in Buzhong Yiqi Decoction.

Keywords Buzhong Yiqi Decoction (Decoction for reinforcing middle-jiao and replenishing qi); Huangqi (*Astragalus membranaceus*); Hongqi (*Radix hedysari*); immunologic function

补中益气汤出自金元医家李东垣《脾胃论》, 方以黄芪为君药, 人参、白术、炙甘草为臣药, 佐以当归、陈皮、柴胡、升麻共奏补中益气、升阳举陷之功^[1], 其提高免疫力的功效已得到验证^[2-5]。红芪

与本方君药黄芪在植物学分类上是同科异属, 并且性味、功效与主治相同, 但是红芪的应用并未得到广泛重视, 在实际应用中经常被认为是黄芪的伪品而被剔除。红芪、黄芪水煎剂及二者的多糖提取物在

免疫功能方面极其相似^[6-7],为了进一步了解红芪、黄芪是否能相互替换,本实验着重比较含黄芪和含红芪的补中益气汤对免疫抑制模型小鼠免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 动物与细胞株

昆明种小鼠 40 只,SPF 级,体重(20±2)g,雌雄各半,兰州大学医学动物实验中心提供实验动物许可证号:SCXK(甘)2005-0007;豚鼠由兰州大学医学动物实验中心提供,3 只豚鼠的新鲜血清中加入 1/10 压积绵羊红细胞,于 4℃ 震荡混匀 20min 置 -20℃ 保存,做补体用;K562 细胞株由兰州大学基础医学院中西医结合研究所提供;绵羊红细胞由兰州大学医学实验中心提供。

1.2 药物

补中益气汤^[5]:黄芪 20g(红芪 20g),人参 10g,白术 10g,炙甘草 5g,陈皮 6g,当归 10g,升麻 3g,柴胡 3g。以上药材购于兰州市药材市场,经兰州大学基础医学院中西医结合研究所程卫东教授鉴定,其中黄芪为膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,红芪为多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand. -Mazz. 的干燥根。将药材加入适量水中浸泡 0.5~1h,第 1 次煎 1h,第 2 次煎 30min,合并 2 次滤液,然后将药物浓缩成 2kg/L,放置冰箱中冷藏备用。

1.3 试剂与仪器

环磷酸腺苷粉针剂(上海华联制药公司,国药准字 H31021703);刀豆蛋白 A(ConA)、四甲基偶氮唑盐(MTT)(美国 Sigma 公司);二甲基亚砜(DMSO,天津化学试剂一厂);NP40(上海碧云天生物技术有限公司);乳酸脱氢酶(LDH)、白细胞介素 4(IL-4)ELISA 试剂盒(深圳达科为生物技术有限公司);倒置显微镜(日本 OLYMPUS);680 型酶标检测仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 动物分组与给药方法

实验取昆明种小鼠 40 只,先适应性饲养 3d,然后按随机数字表法分为 4 组:对照组、模型组、含黄芪补中益气汤组(含黄芪组)和含红芪补中益气汤组(含红芪组),每组 10 只。对照组和模型组用 0.9% 生理盐水灌胃,另外两组分别给予含黄芪和含红芪的补中益气汤,每天灌胃量均为 20ml/kg,连续 14d。给药第 2d 除对照组外每只小鼠腹腔注射环磷酸腺苷 50mg/kg,连续 7d,制备免疫功能低下的小鼠

模型^[8]。

1.5 指标检测

测定免疫器官质量,计算小鼠胸腺指数和脾脏指数^[8]。用巨噬细胞吞噬中性红法测定巨噬细胞吞噬指数^[9]。用 SRBC 免疫法测定血清溶血素水平^[10]。用 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞转化实验测定 T 淋巴细胞增殖能力^[11]。用 LDH 释放法测定自然杀伤细胞(NK)杀伤活性^[12]。用 ELISA 法测定脾细胞诱生 IL-4 含量,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组小鼠胸腺指数和脾脏指数比较

表 1 示,模型组胸腺指数与脾脏指数均比对照组低($P < 0.01$)。与模型组比较,含黄芪组和含红芪组均能显著提高免疫抑制小鼠的胸腺指数和脾脏指数($P < 0.05$),且两者之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠胸腺指数和脾脏指数比较(mg/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	剂量(g/kg)	胸腺指数	脾脏指数
对照组	10	—	1.22±0.26	5.54±1.74
模型组	10	—	0.71±0.22**	2.83±0.46**
含黄芪组	10	40	1.20±0.44△	4.49±0.42△
含红芪组	10	40	1.15±0.29△	4.29±0.54△

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$

2.2 各组小鼠巨噬细胞吞噬指数和血清溶血素含量比较

表 2 示,模型组吞噬指数和血清溶血素水平均比对照组明显降低($P < 0.01$),含黄芪组和含红芪组均能显著提高免疫抑制小鼠吞噬细胞吞噬指数和血清溶血素水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且两者之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组小鼠巨噬细胞吞噬指数和血清溶血素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	剂量(g/kg)	吞噬指数	溶血素
对照组	10	—	1.66±0.49	220.06±37.33
模型组	10	—	0.85±0.10*	165.50±29.71*
含黄芪组	10	40	1.24±0.25△	217.10±16.39△△
含红芪组	10	40	1.28±0.13△	206.70±17.24△

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

2.3 各组小鼠 T 细胞增殖能力、NK 细胞活性和 IL-4 水平比较

表 3 示,模型组 T 淋巴细胞增殖能力、NK 细胞活性和 IL-4 含量低于对照组 ($P < 0.01$),含黄芪组和含红芪组能不同程度提高免疫抑制小鼠 T 淋巴细胞增殖能力、NK 细胞活性和 IL-4 含量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中在提高 T 淋巴细胞增殖能力方面,含红芪组优于含黄芪组 ($P < 0.05$)。

表 3 各组小鼠 T 细胞增殖能力、NK 细胞活性和 IL-4 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	T 细胞增殖能力	NK 细胞活性 (%)	IL-4 (pg/ml)
对照组	10	0.34 ± 0.05	64.63 ± 10.43	42.96 ± 3.67
模型组	10	0.22 ± 0.04*	44.71 ± 7.02*	26.57 ± 4.31*
含黄芪组	10	0.32 ± 0.05 $\Delta\Delta$	59.40 ± 17.27 Δ	38.76 ± 3.16 $\Delta\Delta$
含红芪组	10	0.38 ± 0.05 $\Delta\Delta\Delta$	66.40 ± 10.11 $\Delta\Delta$	40.28 ± 1.32 $\Delta\Delta$

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与含黄芪组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

3 讨论

胸腺和脾脏是动物体内主要的免疫器官,胸腺和脾脏指数反映免疫器官的发育和免疫细胞的功能状态,它的高低反映了机体非特异性免疫能力的一个方面;单核巨噬细胞能非特异吞噬多种抗原,故测定单核巨噬细胞吞噬能力可以反映机体非特异性免疫功能的强弱;T 淋巴细胞产生的免疫应答是细胞免疫,它可以与靶细胞特异性结合,直接杀伤靶细胞,另一方面它可以直接释放淋巴因子,最终使免疫效应扩大和增强,故淋巴细胞的增殖能力的强弱,可以反映机体细胞免疫功能的高低;血清溶血素测定不仅反映抗体形成的数量,也提示合成抗体的能力,是检测体液免疫功能的重要指标;NK 细胞是先天免疫中重要的淋巴细胞,通过其细胞毒活性和产生淋巴因子,在机体抗感染、抗肿瘤、免疫调节等方面发挥重要的免疫功能;IL-4 由活化的 T 细胞分泌,也可以由单核细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞分泌,IL-4 在调节 T、B 淋巴细胞的分化、活化,促进以 Th2 细胞为特征的免疫应答过程中发挥重要作用。

红芪属多序岩黄芪的干燥根,与黄芪同科异属,为甘肃道地药材。近年来随着对红芪和黄芪药理和化学研究深入,发现两者在化学组分上的不同^[13],补中益气汤同样也具有免疫调节作用,所以我们选择了以黄芪作为君药的补中益气汤为研究对象,观察红芪替代方与原方在免疫调节方面的差异。本研

究结果表明,二者在免疫调节方面具有相似性。提示在提高免疫功能方面,补中益气汤中红芪和黄芪是可以相互替换的。

红芪的应用不仅可以使整个复方的抗肿瘤免疫作用增强,另一方面还可以为黄芪增加一个药源。这就为红芪的开发利用提供了很好的依据。在 T 淋巴细胞增殖方面,补中益气汤用红芪比用黄芪作用显著,具体机制还待进一步研究,在其他复方中二者能否相互替换也需进一步研究。

参考文献

- [1]邓中甲.方剂学[M].北京:中国中医药出版社,2003:154.
- [2]罗晶,顾红缨,徐国宪.补中益气汤对脾虚小鼠免疫功能的调节[J].中国现代医学杂志,2006,16(17):2613—2615.
- [3]吴宗群,解建国.补中益气汤提高免疫力的实验研究进展[J].中成药,2002,24(1):62—64.
- [4]胡兵,安红梅,沈克平.补中益气汤抗感染、抗肿瘤与免疫药理学研究[J].中南药学,2008,6(6):731—734.
- [5]万幸,刘倩娟,陈妙欢.黄芪建中汤和补中益气汤对脾虚模型小鼠免疫调节作用的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,1998,4(5):24—27.
- [6]毛小娟,王军志,王凤连.红芪多糖和黄芪多糖的免疫调节作用[J].中国药理学通报,1989,5(6):367—372.
- [7]Liu Jing, Hu Xuguang, Yang Quan, et al. Comparison of the immunoregulatory function of different constituents in Radix Astragali and Radix Hedysari[J/OL]. J Biomed Biotechnol, 2010,doi:10.1155/2010/479426.
- [8]徐叔云,卞如濂,孙修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2001:1462.
- [9]田维毅,王文佳,李海峰,等.中性红法检测巨噬细胞吞噬功能的实验条件优化[J].贵阳中医学院学报,2009,31(2):23—26.
- [10]黄忠奎,陈平,陈德宇.芪加真武汤对免疫抑制小鼠血清溶血素的影响[J].华西医学,2008,23(4):814—815.
- [11]薄华本,邵红伟,胡凌波等.细胞活性检测方法优化[J].中国实用医药,2008,3(21):1—2.
- [12]张俊刚,徐颖,蒋东升,等.油松花粉对小鼠非特异性免疫功能及 NK 细胞活性的影响[J].中国卫生检验杂志,2010,20(1):30—31.
- [13]赵健雄,封士兰,胡芳弟.中药材黄芪与红芪的色谱鉴别法[J].分析测试技术与仪器,2005,11(3):46—50.

(收稿日期:2011-04-12;修回日期:2011-09-01)

[编辑:行之]