

# 小柴胡汤及其与青蒿素配伍 的免疫学作用研究

王金华 叶祖光 薛宝云 戴宝强 肖永庆 杨庆 刘晓宏 李泽琳 屠国瑞  
(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

**摘要:**以伯氏疟原虫感染小鼠为实验模型研究了小柴胡汤、小柴胡汤与青蒿素(QHS)配伍用药的免疫学作用。研究表明:小柴胡汤或小柴胡汤与QHS合并用药均可显著提高疟疾小鼠的体液免疫、非特异性免疫、红细胞免疫的能力。对Con A诱导的淋巴母细胞转化有显著的免疫抑制作用。

**关键词:**小柴胡汤 青蒿素 红细胞免疫

# Immunological Effects of Xiaochaihu Decoction and Its Combination with Artemisinin in Mice Infected with Plasmodium berghei.

Wang Jinhua, Ye Zuguang, Xue Baoyun, Dai Baoqiang, Xiao Yongqing, Yang Qing, Liu Xiaohong, Li Zelin and Tu Guorui

(Institute of Chinese materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100700)

**Abstract:** Effects of Xiaochaihu decoction alone and its combination with artemisinin (QHS) on immunological functions were studied in the mice infected with Plasmodium berghei. The data obtained in this study demonstrated that Xiaochaihu decoction and its combination with QHS exhibited significant immunostimulation on humoral, nonspecific and red cell immunities. However, the con A-induced lymphoblastic transformation was remarkably depressed by the decoction and its combination.

**Key words:** Xiaochaihu decoction, artemisinin, red cell immunity.

以伤寒派为代表的不少中医学家认为疟疾属少阳病。而小柴胡汤具有和解少阳之功效。因此,自明、清以来,不少中医以小柴胡汤为主方治疗疟疾<sup>[1]</sup>,近年来一些临床医生应用小柴胡汤治疗疟疾,并取得了一定的临床疗效。本研究项目旨在理论上阐明中医临床上应用小柴胡汤治疗疟疾的作用机理并研究探讨小柴胡汤与抗疟新药 QHS 合并用药后对疟疾小鼠的免疫功能有无增效作用,从而为小柴胡汤作为治疗疟疾的辅助用药提供药理学研究根据。

## 1 材料

小柴胡汤 95%乙醇提取物(由本所化学室提供);青蒿素(由本所青蒿素组提供);伯氏疟原虫(本研究组提供);小鼠(BALB/C 纯系小鼠,昆明种小鼠,由中国医学科学院医学实验动物中心提供)。

## 2 方法与结果

实验选用 BALB/C 纯系小鼠,各批实验小鼠均按体重分为正常对照组,疟疾感染对照组和药物治疗组,治疗组分别给与不同剂

量的小柴胡汤,1次/天,连续给药 10 天。各药物治疗组及感染对照组在药后的第 4 天,腹腔接种 3.125 万疟原虫/只鼠,各青蒿素组在接种后的当天皮下注射 QHS (8mg/kg/天),连续 4 天。在药后的第 10 天(接种后 8 天)观察药物对疟鼠免疫功能的影响。本研究的各项测定结果表明,感染对照小鼠的各项免疫功能均显著低于正常对照组。

**2.1 对体液免疫功能的影响(溶血空斑分光光度法):**

表 1 小柴胡汤及其与 QHS 合并用药对疟疾小鼠体液免疫的影响

组别	动物数	剂量 mg/Kg	抗体溶血值 (O.D) $\bar{X} \pm SD$	增强 (%)
正常对照	5		1.319 ± 0.015	
感染对照	7		0.884 ± 0.117	
QHS	7	8	1.049 ± 0.376	18.7
小柴胡汤	7	25	0.909 ± 0.204	2.8
小柴胡汤	7	50	1.022 ± 0.226	15.6
小柴胡汤+QHS	7	25+8	1.172 ± 0.235	32.6
小柴胡汤+QHS	7	50+8	1.188 ± 0.300	34.4

表2 小柴胡汤及其与QHS合并用药对疟疾小鼠细胞免疫及体重的影响

组别	动物数	剂量 (mg/Kg)	cpm	体重 (g)
正常对照	6		32101 ± 1056. 25	21. 80 ± 1. 89
感染对照	7		11501. 9 ± 3815. 4	18. 50 ± 1. 27
QHS	6	8	25279. 0 ± 5607. 5 <sup>2)</sup>	21. 80 ± 1. 06 <sup>2)</sup>
小柴胡汤	6	22. 5	6739. 2 ± 2081. 8 <sup>1)</sup>	20. 48 ± 1. 33 <sup>1)</sup>
小柴胡汤	6	45. 0	4435. 5 ± 1713. 8 <sup>2)</sup>	21. 05 ± 1. 41 <sup>1)</sup>
小柴胡汤	6	90. 0	6535. 8 ± 2172. 3 <sup>1)</sup>	21. 30 ± 1. 49 <sup>1)</sup>
小柴胡汤+QHS	6	22. 5+8	20811. 4 ± 5859. 7 <sup>1)</sup>	21. 10 ± 1. 17 <sup>2)</sup>
小柴胡汤+QHS	6	45. 0+8	10790. 0 ± 7670. 8 <sup>1)</sup>	21. 15 ± 0. 47 <sup>2)</sup>
小柴胡汤+QHS	6	90. 0+8	4974. 6 ± 2169. 2 <sup>2),5)</sup>	21. 95 ± 1. 34 <sup>3)</sup>

注: X ± SD <sup>1)</sup>与感染对照比较: p < 0. 05 <sup>2)</sup>p < 0. 01 <sup>3)</sup>p < 0. 001 <sup>4)</sup>与QHS比较 <sup>4)</sup>p < 0. 05 <sup>5)</sup>p <

0. 01

实验基本上按文献<sup>[3]</sup>方法进行, 结果见表1。由表1结果可见, 单用小柴胡汤25mg/kg作用不明显, 50mg/kg时有增强的趋势, 两药合用, 抗体溶血值明显增强, 说明两药合用有增强疟疾小鼠体液免疫的能力。

## 2.2 对小鼠细胞免疫及体重的影响:

实验原则上按文献<sup>[4]</sup>方法进行测定。结果见表2。表2结果表明, 单用QHS治疗有显著的增强作用; 单用小柴胡汤治疗的三个剂量组均有显著的抑制作用; 两药合并使用, 小柴胡汤22.5mg/kg与QHS合并用药仍有明显的增强作用; 而90mg/kg的小柴胡汤与QHS合用则呈现显著的抑制作用; 单独使用小柴胡汤的三个剂量组均有防止疟原虫感染小鼠体重降低的作用, 并呈现出一定的量效关系。单用QHS也有明显的作用, 两药合并使用, 作用则非常显著。

## 2.3 对小鼠非特异性免疫功能的影响:

实验按文献<sup>[5]</sup>方法测定疟疾小鼠的碳末廓清速度及肝脾系数。结果见表3。表3结果说明: 1. 小鼠感染疟原虫8天后, K值显著升高, 单用QHS及单用小柴胡汤治疗作用不明显, 但两药合并使用, 可使K值显著下降, 使其趋于正常; 2. α值则显著下降, 单用QHS及单用小柴胡汤有使α值上升的趋势, 而两药配伍应用, 各剂量组α均显著上升, 使α值趋于正常。3. 小鼠感染后8天, 肝脾显著肿大, 单用小柴胡汤治疗, 可使肝系数明显缩小, 脾系数作用不明显; 单用QHS, 对肝脾系数的作用均不明显, 但两药合用, 肝脾系数均显著缩小。

## 2.4 对红细胞免疫的影响:

在小鼠感染后的第4天及第8天分别眶后静脉取血, 基本上按文献<sup>[6,7]</sup>方法测定小鼠的红细胞C<sub>3</sub>b受体花环率、红细胞免疫复合物花环率, 结果见表4。

表3 小柴胡汤及其与QHS合并用药对疟疾小鼠碳末廓清及肝、脾系数的影响

组别	动物数	剂量 mg/Kg	K值 $\bar{X} \pm SD$	$\alpha$ 值 $\bar{X} \pm SD$	肝系数 (mg/g) $\bar{X} \pm SD$	脾系数 (mg/g) $\bar{X} \pm SD$
正常对照	9		0.076 ± 0.038	8.671 ± 1.344	43.93 ± 3.78	3.99 ± 0.81
感染对照	10		0.116 ± 0.033	5.388 ± 0.836	64.90 ± 6.17	24.48 ± 5.56
QHS	9	8	0.117 ± 0.019	5.950 ± 0.698	60.69 ± 4.06	21.39 ± 3.09
小柴胡汤	8	360	0.108 ± 0.021	6.045 ± 0.657	57.08 ± 3.94 <sup>1)</sup>	22.97 ± 3.22
小柴胡汤+QHS	9	180+8	0.091 ± 0.015	6.986 ± 0.819 <sup>2,4)</sup>	48.42 ± 4.16 <sup>2,4)</sup>	17.22 ± 4.13 <sup>1,3)</sup>
小柴胡汤+QHS	10	360+8	0.085 ± 0.019 <sup>2)</sup>	6.665 ± 0.773 <sup>2,4)</sup>	48.49 ± 3.31 <sup>2,4)</sup>	17.76 ± 3.82 <sup>1,3)</sup>
小柴胡汤+QHS	10	720+8	0.082 ± 0.015 <sup>2)</sup>	7.028 ± 0.560 <sup>2,4)</sup>	46.28 ± 2.63 <sup>2,4)</sup>	15.58 ± 3.04 <sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>与感染对照比较: <sup>1)</sup> p < 0.05 <sup>3)</sup>与QHS比较 <sup>2)</sup> p < 0.01 <sup>3)</sup> p < 0.05 <sup>4)</sup> p < 0.01

表4 小柴胡汤及其与QHS合并用药对疟疾小鼠红细胞C<sub>3</sub>b受体花环率(RBC-CR<sub>1</sub>R)、免疫复合物花环率(RBC-ICR)的影响

组别	剂量 mk/Kg	RBC-CR <sub>1</sub> R		RBC-ICR			
		接种后4天	接种后8天	接种后4天	降低%	接种后8天	降低%
正常对照		57.90 ± 9.04	51.62 ± 10.26	9.37 ± 2.93		9.87 ± 2.76	
感染对照		10.40 ± 3.60	3.81 ± 2.60	17.16 ± 3.56		22.17 ± 6.10	
QHS	8	32.97 ± 8.10 <sup>3)</sup>	19.26 ± 5.48 <sup>3)</sup>	12.13 ± 5.59	29.3	13.64 ± 3.57 <sup>2)</sup>	38.5
小柴胡汤	180	19.07 ± 5.57 <sup>2)</sup>	5.24 ± 3.92	12.03 ± 2.28 <sup>2)</sup>	29.9	11.68 ± 2.97	24.8
小柴胡汤	360	24.04 ± 4.74 <sup>3)</sup>	10.73 ± 4.01 <sup>2)</sup>	11.20 ± 2.98 <sup>2)</sup>	34.7	14.21 ± 3.43 <sup>1)</sup>	35.9
小柴胡汤	720	16.89 ± 9.08	4.60 ± 3.28	13.43 ± 2.86	21.7	18.39 ± 4.85	17.0
小柴胡汤+QHS	180+8	46.14 ± 3.53 <sup>3)</sup>	21.51 ± 5.44 <sup>3)</sup>	10.22 ± 3.04 <sup>2)</sup>	40.4	10.81 ± 2.79 <sup>2)</sup>	51.2
小柴胡汤+QHS	360+8	49.58 4.11 <sup>6)</sup>	26.24 ± 4.74 <sup>3)</sup>	9.93 ± 2.93 <sup>2)</sup>	42.1	10.51 ± 2.17 <sup>2)</sup>	52.6
小柴胡汤+QHS	720+8	30.89 ± 7.94 <sup>3)</sup>	19.89 ± 9.32 <sup>3)</sup>	12.31 ± 3.64 <sup>3)</sup>	28.3	11.94 ± 3.22 <sup>2)</sup>	46.1

实验动物数=7. <sup>1)</sup>与感染对照比较: <sup>1)</sup> p < 0.05 <sup>2)</sup> p < 0.01

表4结果证明:小鼠在感染后第4天测定,红细胞C<sub>3</sub>b受体花环率已显著下降,并随感染时间的延长呈进行性降低。单用小柴胡汤治疗,4天时可显著提高红细胞C<sub>3</sub>b受体花环率,两药合并使用后,作用更为明显;

8天时小柴胡汤的作用较差,而合并用药,作用仍较显著。

表4结果表明:小鼠在感染后的第4天测定红细胞免疫复合物花环率显著升高,并随感染时间的延长出现进行性上升。单用小

柴胡汤治疗, 4 天时可显著降低, 剂量加大到 720mg/Kg 作用反而较小。在感染后 8 天, 小柴胡汤的作用稍差。但两药合并使用, 无论在 4 天或 8 天抑制免疫复合物的作用都很明显。

2.5 小鼠感染后的第 4 及第 8 天, 眶后静脉取血测定红细胞血象。测定结果表明: 小鼠在感染后 4 天, 红细胞数目 (RBC × 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>) 无明显变化, 但在感染后 8 天, 红细胞数目显著下降。正常对照 7.35 ± 0.12, 感染对照 4.92 ± 1.42, QHS 6.85 ± 1.26\*, 小柴胡汤 (180mg/kg) 6.87 ± 1.01\*, 小柴胡汤 (360mg/kg) 6.86 ± 1.38\*, 小柴胡汤 (720mg/kg) 5.24 ± 1.78\*, 小柴胡汤 (180mg/kg) + QHS 7.39 ± 0.72\*\*, 小柴胡汤 (360mg/kg) + QHS 7.98 ± 0.58\*\*\*, 小柴胡汤 (720mg/kg) + QHS 6.94 ± 1.23\* 单用小柴胡汤的中、小剂量组, 可显著防止红细胞数目的下降, 两药合并使用, 作用更显著, 血色素及红细胞比积的变化与红细胞数量变化相似。

### 3 讨论与小结

动物被疟原虫感染后, 直接损伤红细胞, 并可引起循环内 T、B 淋巴细胞减少。当疟原虫抗原与机体产生的相应抗体结合后, 血清和组织中出现大量的免疫复合物, 红细胞膜表面蛋白和糖蛋白等发生改变, 故使膜上受体失常, 导致红细胞清除免疫复合物的能力降低。这些免疫复合物在疟疾的临床症状中, 尤其是脑性疟的病理机制中起着重要的作用。而小柴胡汤具有增强 PDC 的免疫功能的作用, 换言之, 它具有增强机体清除免疫复合物的作用。这无疑对缓解疟疾的症状和防止脑性疟疾均具有一定的临床意义。

关于 QHS 对免疫功能的影响, 各文献报导不一致。有的作者认为 QHS 对细胞免疫和抗体形成有抑制作用<sup>[8,9]</sup>, 也有一些作者报导 QHS 有免疫增强作用<sup>[10,11]</sup>。为了观察

QHS 与小柴胡汤的协同作用, 本研究 QHS 的用量较低 (8mg/kg/天, 相当于 QHS 对疟原虫的半数抑制量)。本实验结果表明: QHS 有增强疟疾感染小鼠的免疫功能的作用, 这可能是由于 QHS 直接杀灭疟原虫作用的结果。笔者认为, QHS 是增强还是抑制免疫功能, 取决于 QHS 用量的大小。

我们用疟疾小鼠进行了对 ConA 有丝分裂原的淋巴细胞增殖试验发现, 小柴胡汤可显著抑制 ConA 诱导的促有丝分裂反应。ConA 作为有丝分裂原, 它主要是诱导 T 抑制性细胞增殖<sup>[12]</sup>, 所以我们认为小柴胡汤主要是抑制了 TS 细胞的增殖。

在本实验研究中, 从不同的角度证明了疟原虫感染机体后, 可使机体的各项免疫功能显著降低、肝脾显著增大、体重减轻、血色素含量明显下降, 这些症状与临床疟疾病人的症状基本相同。

本研究结果表明: 小柴胡汤单独使用, 可显著改善上述免疫功能及有关症状。因此, 我们认为这就是中医临床上用小柴胡汤治疗疟疾的主要原因之一。当小柴胡汤与抗疟药 QHS 合并用药后, 以上作用则会大大加强。这就为小柴胡汤作为 QHS 治疗疟疾的辅助用药提供了实验依据。

(本项研究为 93—95 国家自然科学基金项目)

### 参 考 文 献

- [1] (明) 张介宾·杂证谈 疟疾《景岳全书》上册·上海科学技术出版社·P23。
- [2] 徐淑云等·药理实验方法学·人民卫生出版社·1994·P1319。
- [3] 徐淑云等·药理实验方法学·人民卫生出版社·1981·P948。
- [4] 黄虹等·中草药·1984·15 (5)·21。
- [5] 李仪奎·中药药理实验方法学, 上海科学技术出版社·1991·P·157。
- [6] 郭峰等·上海免疫学杂志 1985·5 (5): 275。
- [7] 郭峰等·免疫学杂志·1990·6 (1): 60。

- 〔8〕 沈明等. 青蒿素免疫抑制作用. 中国科学 B 辑 . 1983; 10: 928.
- 〔9〕 孙秀珍. 青蒿素及其衍生物免疫抑制作用的实验研究 中西医结合杂志 1991; 11 (1): 37.
- 〔10〕 林培英. 青蒿素及其衍生物的免疫药理作用比较, 免疫药理学进展, 中国科学技术出版社 P325.
- 〔11〕 钱瑞生等. 青蒿素的免疫作用和抗病毒作用. 中医杂志 1981; 22: 63.
- 〔12〕 盛汇珍等. ConA 诱导的抑制细胞功能检测. 上海免疫学杂志 1983; 3 (5): 257.
- 〔13〕 雨谷荣等. 小柴胡汤对肝损伤的保护作用. 国外医学 (植物分册) 1990; 5 (6): 254.