

六味地黄汤对大鼠巨噬细胞 Ia 抗原表达的影响*

马 健 龚婕宁 陆平成 樊巧玲 王勇飞 (南京中医药大学 南京 210029)

摘要 六味地黄汤能够明显提高正常大鼠腹腔 M ϕ 表面 Ia 抗原表达的阳性率,强度与阳性对照的人参皂甙组相似;该方还能够使 CORT 肌肉注射所致“阴虚”模型大鼠 M ϕ Ia 抗原表达率的抑制得以明显改善。方中三味补药是六味地黄汤促进 M ϕ Ia 抗原表达的主要成分,三味泻药单用对正常及模型大鼠的 M ϕ Ia 抗原表达均无直接影响,但与三补配伍后则能够明显提高其对 M ϕ Ia 抗原表达的阳性率。

关键词 六味地黄汤 配伍 巨噬细胞 Ia 抗原表达

Effect of Liuwei Dihuang Decoction on the Macrophage Ia Expression in Rats

Ma Jian, Gong Jiening, Lu Pingcheng, Fan Qiaoling, Wang Yongfei

(Nanjing University of TCM, Nanjing, 210029)

* 江苏省教委自然科学基金项目、江苏省教委“青蓝工程基金”资助

Abstract: Liuwei Dihuang Decoction (LWDH) can noticeably increase the rate of M ϕ Ia expression in rats. The rate of increase was similar to that in the positive control group treated with Jinseng Saponin. In the rats with yin-deficiency due to im. CORT, their Ia expression was suppressed, while LWDH prescription can also significantly improve the rate of M ϕ Ia expression. The three tonic herbs in LWDH prescription were responsible for improving the M ϕ Ia expression. The other three purgative herbs had no direct effect on the normal and model rats if used separately, however, if used in combination with the three tonic herbs in the prescription, they can noticeably increase the rate of M ϕ Ia expression.

Key words: Liuwei Dihuang decoction, combination, macrophage, Ia expression

六味地黄丸(汤)出自宋·钱乙《小儿药证直诀》,原主治小儿“五迟”证,现代临床已成为治疗肾阴虚的代表方剂,运用于治疗肾脏疾病、糖尿病、室性早搏、消化系疾病、肿瘤等各科疾病均获得满意疗效,实验研究亦证实该方具有广泛的药理活性^[1]。本文主要观察六味地黄汤及其拆方对腹腔巨噬细胞(M ϕ)Ia 抗原表达的影响。

1 材料与方剂

1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠,体重(180±10)g,由本校实验动物中心供应。

1.2 试剂与药物 小鼠抗大鼠 Ia 单克隆抗体(MaR Ia)由北京邦定生物医学公司进口分装,APAAP 桥联酶标免疫测试盒购自北京邦定生物医学公司,皮质酮(CORT)购自 Sigma 公司,人参皂甙(含量为 99%)购自吉林省靖宇亚威制药厂,熟地黄、山萸肉、山药、泽泻、粉丹皮、茯苓均购自南京医药公司,并经本校中药鉴定教研室王春根教授鉴定属正品。

1.3 药物制备 六味地黄汤(熟地黄 8:山萸肉 4:山药 4:泽泻 3:丹皮 3:茯苓 3)煎煮、醇沉浓缩 200%保存备用。三补方(熟地黄 2:山萸肉 1:山药 1)、三泻方(泽泻 1:丹皮 1:茯苓 1)制备方法同上。

1.4 造模方法及分组

1.4.1 雄性 SD 大鼠分 8 组:生理盐水组、人参皂甙组(0.1g/kg·d)、六味地黄汤 I、II 组(6.7、20.1g/kg·d)、三补方 I、II 组

(4.3、12.9g/kg·d)、三泻方 I、II 组(2.4、7.6g/kg·d),每组 6~8 只,灌胃 4d 后进行实验。

1.4.2 “阴虚”动物模型参照夏宗勤等方法复制^[2]。雄性 SD 大鼠分 8 组:正常对照组、模型组及六味地黄汤及拆方各剂量治疗组,每组 6~7 只。模型组及治疗组按每日 1.25mg/鼠后肢肌肉注射皮质酮,连续 4d。正常对照组则予生理盐水 0.1ml/d 肌注。六味地黄汤及拆方各剂量治疗组于造模同时按剂量要求,以不同浓度药液灌胃 1ml/d,共 4d。模型组及正常对照组相应 ig 等量生理盐水。

1.5 实验方法 腹腔 M ϕ 的收集按常规方法,取出的腹腔冲洗液,用 PBS 液离心洗涤 3 次后,用 RPMI 1640 细胞培养液配成 1×10^7 /ml 浓度,滴加在 10mm×10mm 无菌载玻片上(每片 0.05ml),置湿盒内 37℃、5% CO₂ 培养箱中贴壁 3h, PBS 液洗去不粘附细胞后染色。Ia 抗原表达的检测参照文献方法^[3],并按 APAAP 桥联酶标免疫测试剂盒所提示的方法进行。染片封片后在高倍镜下观察 200 个 M ϕ ,计算出 Ia 抗原表达阳性的 M ϕ 百分率。

2 结果

2.1 六味地黄汤及拆方对正常大鼠 M ϕ 表面 Ia 抗原表达阳性率的影响 实验结果见表 1。六味地黄汤 2 剂量组均能显著提高大鼠 M ϕ 表面 Ia 抗原表达的阳性率,其作用与

阳性对照的人参皂甙组无差异。六味地黄汤中的三补方对正常大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率有一定的促进作用,并随用量的增大而加强,但作用不及人参皂甙组。六味地黄汤中的三泻方对 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率无明显作用。

表 1 六味地黄汤及拆方对大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率的影响

组 别	n	剂量(g/kg)	Ia 阳性率(%)
生理盐水组	8		39.1±4.1
人参皂甙组	7	0.1	54.3±5.8 ^{##}
六味地黄汤 I 组	7	6.7	48.9±3.1 ^{##}
六味地黄汤 II 组	7	20.1	50.1±4.6 ^{##}
三补方 I 组	8	4.3	44.9±3.4 ^{**}
三补方 II 组	6	12.9	46.8±4.6 ^{**}
三泻方 I 组	7	2.4	40.0±3.4 ^{**}
三泻方 II 组	6	7.6	39.8±4.9 ^{**}

注:与生理盐水组比较[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;

与人参皂甙组比较^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$

2.2 六味地黄汤及拆方对“阴虚”模型大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率的影响 实验结果见表 2。“阴虚”模型组大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率明显低于正常对照组。六味地黄汤组则能够明显增高“阴虚”模型大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达的阳性率。三补方大剂量组对于模型大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率的降低有明显抑制作用,而三泻方对其作用不明显。

表 2 六味地黄汤及拆方对模型大鼠 Mφ 表面 Ia 抗原表达阳性率的影响

组 别	n	剂量(g/kg)	Ia 阳性率(%)
正常对照组	7		43.6±4.7
模型组	7		35.6±4.5 [#]
六味地黄汤 I 组	6	6.7	48.5±4.3 ^{**}
六味地黄汤 II 组	6	20.1	50.2±4.7 ^{**}
三补方 I 组	6	4.3	42.7±5.1
三补方 II 组	6	12.9	44.5±5.4 [*]
三泻方 I 组	7	2.4	37.6±4.9
三泻方 II 组	6	7.6	39.7±5.2

注:与正常组比较[#] $P<0.05$;

与模型组比较^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$

3 讨论

Mφ 是体内一类非常重要的免疫细胞,除了吞噬、分泌、发挥抗体依赖的细胞介导的

细胞毒作用和免疫调节作用外,尚有处理和传递抗原信息,启动特异性细胞免疫和体液免疫的功能。Mφ 传递抗原信息需要 Mφ 和淋巴细胞的密切接触,而这种接触又依赖于 Mφ 表面的 Ia 抗原和淋巴细胞表面的 Ia 受体相互作用。因此,Mφ 表面 Ia 抗原的表达与机体的免疫应答有十分密切的关系。新近的研究还证实,Mφ 表面的 Ia 抗原的表达受到诸如 γ 干扰素、内毒素、前列腺素、去甲肾上腺素、乙酰胆碱等多种因素的调节^[3~5]。我们在近前的研究中发现,补气温阳中药成分中的人参皂甙、乌头碱对其也有调节作用^[6,7],本实验结果显示滋阴名方六味地黄汤同样能影响 Mφ 的 Ia 抗原表达。

已有的研究表明,六味地黄汤对机体免疫功能具有显著的调节作用^[8~12]。本实验结果所显示的六味地黄汤能够提高正常大鼠腹腔 Mφ 表面 Ia 抗原表达的阳性率,并能拮抗 CORT 肌肉注射所致“阴虚”模型大鼠 Mφ Ia 抗原表达率的抑制,与以往报道的结论基本一致,提示该方促进 Mφ 表面 Ia 抗原表达,提高 Mφ 提呈抗原能力,可能是六味地黄汤调节免疫功能、治疗阴虚证的作用机理之一。

六味地黄汤组方严谨,熟地黄、山萸肉、山药之三补与茯苓、泽泻、丹皮之三泻配伍,滋补而不留邪,降泄而不伤正,实开通补开合之滥觞。本实验对该方三补、三泻拆方的研究表明,三味补药是六味地黄汤促进 Mφ Ia 抗原表达的主要成分,三味泻药单用对正常及模型大鼠的 Mφ Ia 抗原表达均无直接影响,但配伍后则能够明显加强三味补药促进 Mφ Ia 抗原表达的功效,体现了三补与三泻配伍的协同和增效作用,并从免疫应答的角度证实了六味地黄汤配伍的合理性。

参考文献

- 1 李 玲. 六味地黄丸(汤)研究新进展. 中国中药杂志,1995,20(5):310
- 2 夏宗勤,胡镇球,胡雅儿,等. 四种“虚证”模型的

- 建立及其与环核苷酸系统的关系. 中国中西医结合杂志, 1984, 4(9): 543
- 3 李楚基, 龚非力, 冯新为. 乙酰胆碱对大鼠腹腔巨噬细胞内钙离子浓度和表面 Ia 抗原表达的影响. 中国免疫学杂志, 1994, 10(3): 159
- 4 Koerner T. J. et al. Suppressed Expression of Surface Ia on Macrophages by Lipopolysaccharide: Evidence for Regulation at the Level of Accumulation of mRNA. *J. Immunology*, 1987, 139(1): 239~243
- 5 Snyder. D. S., et al. Prostaglandines Modulate Macrophage Ia Expression. *Nature*, 1982, 299: 163
- 6 马 健, 陆平成, 牧野充弘, 等. 乌头碱对小鼠腹腔巨噬细胞 Ia 抗原表达影响的研究. 中国药理学通报, 1997, 13(4): 341
- 7 陆平成, 马 健, 杨 进. 人参皂甙对大鼠腹腔巨噬细胞 Ia 抗原表达的影响. 中国中医药科技, 1997, 4(1): 20

(收稿: 1997-06-12)