

• 论著 •

左归丸对 MSG-大鼠胸腺及淋巴细胞增殖反应的影响*

刘彦芳 蔡定芳 陈晓红 沈自尹 (上海医科大学华山医院 上海 200040)

摘要 新生期大鼠给予左旋谷氨酸单钠(MSG)损害下丘脑弓状核(ARC),成年后大鼠除表现生长发育迟缓外,还可见到胸腺体积缩小、重量减轻,脾脏T淋巴细胞对Con-A诱导的增殖反应减弱。滋补肾阴代表名方左归丸能明显改善MSG-大鼠的胸腺与淋巴细胞增殖反应的异常。提示:1. 下丘脑弓状核参与细胞免疫功能的调节;2. 左归丸能明显改善MSG-大鼠的胸腺与淋巴细胞增殖反应的异常。

关键词 左归丸 弓状核 左旋谷氨酸单钠 淋巴细胞增殖反应

Effect of Zuogui Pill on the Thymus and Lymphocyte Proliferation in Rats Treated with MSG Neonatally

Liu Yanfang, Cai Dingfang, Cheng Xiaohong, Shen Ziyin

(Shanghai Medical University, Huashan Hospital, Shanghai, 200040)

Abstract: The adult rats that were treated with monosodium glutamate (MSG) neonatally to cause a lesion of arcuate nucleus (ARC) in the hypothalamus, showed smaller and lighter thymus and inhibited spleen T-lymphocyte proliferation (LPR), apart from retarded growth. After the treatment with the adult MSG-rats with Zuogui pill, a TCM prescription nourishing and recuperating the Kidney-Yin, we found inhibited cellular immunity was reversed to some extent. It suggested 1. ARC may be a regulator of cellular immunity; 2. Zuogui pill can redress the abnormality of the thymus and LPR.

Key words: Zuogui Pill, arcuate nucleus, monosodium glutamate, lymphocyte proliferation

左旋谷氨酸单钠(monosodium glutamate, MSG)是一种神经毒素,能特异性导致大鼠等动物下丘脑弓状核(arcuate nucleus, ARC)毁坏^[1]。ARC是下丘脑重要核团,广泛参与神经内分泌免疫网络的调节^[2,3]。我们以往研究工作表明左归丸能有效改善MSG大鼠下丘脑单氨类递质含量^[4],为进一步探讨左归丸神经内分泌免疫网络的调节作用,本研究观察滋补肾阴名方左归丸对MSG大鼠淋巴细胞增殖反应的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 MSG, Con-A 购自美国Sigma化学公司,³H-TdR 购自中国科学院上海原子能研究所,放射性比强度 814 GBq/mmol(22ci/mmol),放射性浓度为 37 MBq/ml(1mci/ml)。

1.2 动物 SD 新生大鼠于出生后第 2、4、6、8、10d 皮下注射 MSG(4mg/gb. w.),对照组给予等体积 0.9%NaCl。28d 后离乳,分笼饲养,光照时间 12h(08:00~20:00),温度(24±1)C,动物自由饮水摄食。8 周时将动物分为对照组、模型组、左归丸低剂量组(1g/kg)、左归丸高剂量组(5g/kg)4 组,每组 10

* 本课题得到国家自然科学基金(编号 39370863)及卫生部科学研究基金(编号 94-1-186)的资助

只,雌雄各半。9周开始予左归丸灌胃,对照组和模型组予蒸馏水(0.5ml/100g)灌胃,连续3周,至12周第1天所有动物断头处死。

1.3 淋巴细胞增殖反应试验 无菌取脾,置80目不锈钢筛网上,10ml注射器芯轻压脾脏,无Ca²⁺、Mg²⁺Hanks液反复冲洗筛网,用淋巴细胞分离液常规分离,1000rpm×10min离心2次,悬浮于RPMI-1640完全培养液中(1000ml含小牛血清10ml,HEPES10mmol,青霉素1×10⁵U,链霉素10mg),10%NaHCO₃调pH至7.0~7.2,调细胞浓度至1×10⁷/ml,加入96孔平底细胞培养板,每孔0.1ml,同时每孔加ConA1μg或2μg,对照孔以完全培养液代替ConA,每鼠均设试验与对照各5孔。每孔总反应体积为0.2ml。置37℃,5%CO₂孵育箱培养15h后每孔加入³H-TdR 37 KBq,继续培养6h,多头细胞收集仪收集细胞,LKB1214型液闪计数器测cpm值。

1.4 左归丸制备 全方由熟地、淮山药、枸杞子、山茱萸、菟丝子、川牛膝、鹿角胶、龟板胶组成,依次按8:4:4:4:4:3:4:4重量比例称量,水煎醇提用蒸馏水调药物浓度至100%,0.1mPa×15min灭菌,4℃保存备用。

2 结果

2.1 新生期给予MSG对成年大鼠外观的影响 新生期给予MSG,成年大鼠外观的鼻-肛长度缩短,肥胖,体重减轻,见图1。

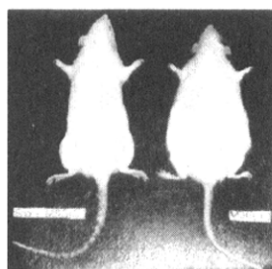


图1 成年MSG大鼠外观变化

2.2 左归丸对对照组(左),MSG大鼠MSG-大鼠胸腺重量(右),年龄为出生后100d的影响 新生期给予MSG,成年雄性大鼠胸腺体积缩小,重量减轻(P<0.01),雌性大鼠无明显变化;给予左归丸后,雄性大鼠胸腺体积、重量均有不同程度增加(P<0.01),雌性大鼠与对照及模型相比均无显著差异(图

2)。

2.3 左归丸对MSG-大鼠淋巴细胞增殖反应的增强作用 新生儿给予MSG,成年雄性大鼠脾T淋巴细胞对Con-A的刺激反应明显减弱,雌性大鼠无明显变化;给予左归丸

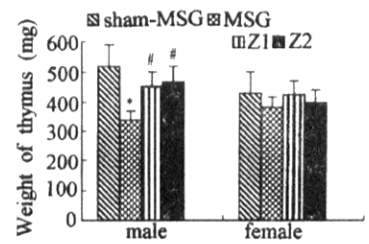


图2 左归丸对MSG-大鼠胸腺重量的影响

sham-MSG:对照组,MSG:模型组,Z1:左归丸低剂量组,Z2:左归丸高剂量组

同对照组相比*P<0.01,同模型组相比#P<0.01(下表同)

后,雄性大鼠脾T淋巴细胞对Con-A的刺激反应较模型组明显增强,雌性大鼠与对照及模型相比均无显著差异(表1)。

表1 左归丸对MSG-大鼠淋巴细胞增殖反应的增强作用(x±s)

Group	n	cpm(ConA 1μg)		cpm(ConA 2μg)	
		male	female	male	female
sham-MSG	10	12293±1475	12017±3873	17887±2931	16475±1992
MSG	10	4313±1937*	13061±2160	8381±718*	15190±3992
Z1	10	18152±4795#	17891±5515	22453±4996#	27192±6025
Z2	10	20379±4736#	19058±6609	23158±2669#	21414±6390

3 讨论

1990年Belluardo等的研究报告,正常大鼠NKCC活性呈现增龄性变化,而MSG大鼠NKCC活性增龄性变化消失。他们以前的研究还表明成年大鼠下丘脑被破坏后,骨髓生成NK细胞的过程显著受抑,提示下丘脑或ARC能够影响骨髓的功能,从而影响NK细胞从骨髓造血干细胞的发生和发育^[1]。此外,MSG大鼠对异种基因细胞的迟发变态反应和宿主抗移植物反应降低,局部的移植物抗宿主反应也降低^[5]。上述结果均提示ARC参与免疫功能调节。本研究结果表明ARC破坏后,雄性大鼠胸腺发育不良,脾T淋巴细胞增殖反应降低,支持ARC直接参与胸腺的发育和成熟的观点。MSG-雌性大鼠未表现出明显变化,提示MSG破坏ARC对不同性别的影响有所不同,可能雌、

雄性大鼠对 MSG 的反应性或敏感性不同。左归丸可有效改善 MSG 大鼠细胞免疫功能,左归丸组胸腺重量及淋巴细胞增殖反应均较 MSG 大鼠增加。左归丸改善 MSG 大鼠细胞免疫功能的机理可能为:1. 左归丸直接作用于中枢,通过神经免疫因子等途径刺激胸腺增生,改善细胞免疫功能。2. 通过滋补肾阴,纠正或部分纠正 HPAA 功能的亢进,减轻 CRF、肾上腺糖皮质激素对细胞免疫的抑制。

综上所述,我们认为 1. ARC 与细胞免疫功能存在着密切联系,下丘脑是神经内分泌免疫网络的中枢。2. 滋补肾阴方能改善 ARC 损害对细胞免疫的抑制,从而似可反证,MSG-动物模型是一种肾阴虚的动物模型。

参考文献

1 Belluardo N, et al. Effects of Early Destruction

of the Mouse Arcuate Nucleus by Monosodium Glutamate on Age-dependent Natural Killer Activity. *Brain Res*, 1990, 534(1~2): 225

2 张殿明,徐绍隆. 神经内分泌学. 北京:中国医药科技出版社,1991. 38

3 Jessop DS, et al. Substance P and Substance K in the Rat Hypothalamus Following Monosodium Glutamate Lesions of the Arcuate Nucleus. *Neuropeptides*, 1994, 18: 165

4 蔡定芳,刘彦芳,陈晓红,等. 新生期给予 MSG 对大鼠下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴的影响. *中国学术期刊文摘*, 1996, 2(4): 166

5 Kutera M, et al. Effect of Monosodium Glutamate on Cell-mediated Immunity. *Pol J Pharmacol Pharm*, 1991, 43(1): 39

(收稿:1997-06-27)