

健脾补肾方药对大鼠细胞免疫的影响

李学林¹ 李建生² 吴建成³(¹ 河南中医学院第一附属医院 郑州 450003;

² 河南中医学院 郑州 450003; ³ 中国科学院上海细胞生物学研究所 上海 200000)

治疗肿瘤时常采用的化学疗法和放射疗法会加重肿瘤患者已存在的免疫缺陷,降低病人抗肿瘤、抗感染的能力。应用免疫调节剂的肿瘤免疫疗法能调整患者的免疫功能,防止放、化疗对免疫系统的损伤,提高临床治疗效果^[1]。中医的健脾补肾法及其方药是提高患者生存质量,减少放、化疗药物毒副作用的有效方法。本文以环磷酰胺(CY)模型大鼠为观察对象,比较研究健脾方药(四君子汤)和补肾方药(葆春丸)对细胞免疫功能的调节作用,为临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组 选用SD大鼠,体重210~230g,雌雄各半,由上海放射医学研究所动物中心提供。随机分5组,除正常组外,其余4组分为模型组、健脾组、补肾组、健脾补肾组。健脾组以四君子汤为代表方,以95版《中国药典》方为准,由河南中医学院第一附属医院制剂室提供,补肾组以葆春丸为代表方,此方为上海中医药大学姚培发教授经验方,由生熟地、巴戟天、补骨脂、仙灵脾、枸杞子等组成,药物由上海黄浦制药厂提供。健脾补肾组

为四君子汤和葆春丸的合并方。各用药组的用药量相当于成人用药量的20倍,浓度为0.4g/ml,正常组和模型组用生理盐水灌胃,给药组分别灌以四君子汤、葆春丸及二合一,容积均为1.5ml/100g,日1次,连续灌胃5d后,除正常组外,其余大鼠均用CY1次性腹腔注射造模,剂量为200mg/kg。(CY由上海第十二制药厂提供,批号931207),并继续灌胃4d,取脾和胸腺称重,取血受试。

1.2 T淋巴细胞及亚群测试

1.2.1 样品制备 取血2ml,用Ficoll法将血用PBS稀释1倍,置淋巴细胞分离液中,以2000rpm离心25min,取出淋巴细胞并用红细胞溶解液(KHCO₃1.0g、NH₄Cl 8.3g、EDTA-Na37mg,加蒸馏水至1000ml)3ml,溶解5min,离心弃上清液,调整细胞数为0.5×10⁶/ml,加入大鼠-抗MaRPauT(全T细胞)、MaRTn/i(Th/i细胞)、MaR/L-2R(IL-2R)15μl,均由中国军事科学院提供。水浴30min后用PBS清洗1次,再加入二抗0.01mlFIFC-单抗小鼠IgG(第二军医大学长征医院提供),水浴30min,用PBS洗涤2次,待测。

1.2.2 流式细胞仪分析 流式细胞仪(Facstar-plus型,美国Becton Dickinson公司)。激光:氩离子Innova95-5。激光功率200mw,波长:488nm。单参数256道直方图上数据分析。磁盘贮存,在计算机数据处理软件(Becton Dickinson公司)分析。

2 结果

2.1 健脾和补肾方药对脾重、胸腺重和CD₂₅百分率的影响 见表1。模型组脾重、胸腺重及CD₂₅水平均明显低于正常组,3个给药组的各指标均明显高于模型组,3个给药组间脾重、胸腺重比较无差异,而CD₂₅水平健脾组略低于补肾组和复合组。

2.2 健脾补肾方药对T淋巴细胞亚群百分率的影响 见表2。模型组CD₃、CD₄、CD₈低于正常组,而CD₄/CD₈比值升高。与模型组

表1 组间脾重、胸腺重(g)及CD₂₅(%)的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	脾重	胸腺重	CD ₂₅
正常组	2.84±0.55**	1.39±0.16**	12.68±4.86**
模型组	1.45±0.47	0.66±0.07	6.97±2.69
补肾组	2.26±0.29**	1.57±0.06**	13.17±5.63**
健脾组	2.29±0.19**	1.62±0.03**	9.30±2.02*
复合组	2.46±0.40**	1.64±0.04**	11.98±4.21**

注:与模型组比较*P<0.05,**P<0.01;与补肾组比较#P<0.05,##P<0.01;与健脾组比^ΔP<0.05,^{ΔΔ}P<0.01;n=10(下表同)

比较,补肾组和复合组的CD₃、CD₄、CD₈升高,CD₄/CD₈下降,均接近正常组水平,两组间各指标变化无明显差异。健脾组CD₃水平升高明显,而其余指标无明显变化。

表2 组间T淋巴细胞亚群百分率的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	CD ₃	CD ₄	CD ₈	CD ₄ /CD ₈
正常组	71.3±6.8**	51.9±5.6**	19.4±6.4**	2.6±0.7*
模型组	40.1±7.4	37.9±5.4	8.5±1.4	4.4±1.7
补肾组	65.5±5.7**	48.6±6.4**	21.6±4.0**	2.2±0.7**
健脾组	55.4±3.3**##	40.1±6.1##	9.8±3.6##	4.2±1.1##
复合组	68.4±7.4**	52.9±6.2** ^{ΔΔ}	24.9±5.7** ^{ΔΔ}	2.6±0.2** ^{ΔΔ}

3 讨论

化学药物治疗肿瘤时其毒副作用主要表现在骨髓抑制、免疫功能减退和胃肠道功能紊乱等方面^[2],从而限制了临床的应用。中医临床用健脾和补肾的方法来减低化疗的毒副作用,常获得满意效果。通过CY复制免疫功能低下的模型来研究中药的免疫药理作用已多有报道^[2~4]。本实验中观察到CY模型组胸腺和脾脏重量显著减轻,而3个给药组的大鼠胸腺和脾脏重量均接近正常水平,表明3种方药均能减轻CY对免疫器官的损害,从而可能调节细胞免疫功能。

T淋巴细胞是细胞免疫的主要效应细胞,其亚群参与免疫的调节,CD₄和CD₈细胞对效应细胞的应答起正负调节^[5]。IL-2是细胞生长因子,维持T细胞增值和促进自然杀伤细胞(NK)活化及B细胞分泌抗体,活化的T细胞能表达CD₂₅(IL-2R)。IL-2与T细胞表面的IL-2R结合是其增值的主要条

件^[6]。本研究结果显示, CY 组 CD₃、CD₄、CD₈ 细胞水平低下, CD₄/CD₈ 比值上升, 提示 CY 降低细胞免疫功能并使 CD₄、CD₈ 细胞间平衡失调。本实验结果表明, 补肾的葆春丸组和健脾补肾的复合组能升高 CD₃、CD₄、CD₈、CD₂₅ 的细胞水平并降低 CD₄/CD₈ 的比值, 且各指标均接近正常值; 以四君子汤为代表的健脾组能使 CD₃、CD₂₅ 细胞水平升高, 而对其它作用不明显。说明补肾方药在提高 CY 导致的细胞免疫功能低下方面具有明显作用且优于单纯的健脾方药, 提示临床在降低化疗药物的毒副作用时以补肾法为主。健脾与补肾方药合用, 具有优于单纯补肾的趋势, 然差异不够显著, 有待进一步探讨。

参考文献

1 李志彬. 免疫调节剂及其应用前景. 生理科学

进展, 1989, 20(2): 174~176

- 2 韩红梅, 杨贵员. 人参三醇型皂甙调整骨髓受抑模型鼠的免疫功能. 中国免疫学杂志, 1991, 7(5): 312~316
- 3 Strom TB. The Parallel, time-dependent, bimodal change in lymphocyte cholinergic binding activity and cholinergic influence upon lymphocyte mediated cytotoxicity after lymphocyte activation. J Immunol, 1991, 127: 705~709
- 4 Jackson JC. Influence of serotonin on the immune response. Immunology, 1985, 54: 505~507
- 5 夏邦顺. T 细胞表面分子的相互作用及其介导的信息传递. 国外医学免疫学分册, 1989, 12(4): 173
- 6 何礼芳. T 淋巴细胞活化及其代谢变化. 国外医学免疫学分册, 1991, 14(2): 60~64

(收稿: 1998-10-19)