

芪附汤及其组方对阳虚小鼠免疫功能的影响*

董 群¹ 鲁义东² 吴敏毓¹ (¹皖南医学院微生物学教研室 芜湖 241001;
²安徽医科大学临床药学研究室 合肥 230032)

摘要 探讨芪附汤及其组方对阳虚小鼠免疫功能的影响。结果,芪附汤可明显增强阳虚小鼠腹腔巨噬细胞(M ϕ)的活性,红细胞C_{3b}受体(RBC-C_{3b}R)花环形成率、脾细胞产生抗体的能力及白介素2(IL-2)的活性,增强红细胞免疫复合物(RBC-IC)花环形成率和脾细胞增殖反应。黄芪水煎液能促进阳虚小鼠的腹腔M ϕ 的活性和IL-2的活性,增强脾细胞产生抗体的能力,但作用不及芪附汤。附子水煎液能促进阳虚小鼠脾细胞产生抗体,作用与芪附汤相近。

关键词 芪附汤 阳虚模型 免疫功能

Effect of Qifu Decoction and Its Components on Immunological Function of Mice with Deficiency of Vital Function

Dong Qun¹, Lu Yidong², Wu Minyu¹

(¹Dep. of Microbiology of Wannan Medical College, Wuhu, 241001;

²Clinical Pharmacology Institute of Attached Hospital of Anhui Medical University, Hefei, 230032)

Abstract: The purpose of the experiment is to investigate the effects of Qifu decoction and its components on the immunological function of the mice with deficiency of vital function (DVF). The results showed that Qifu decoction could evidently improve the activity of the peritoneal macrophage, increase rosette forming percentage of RBC-C_{3b}R, facilitate the antibody formation of spleen cell and the activity of IL-2, promote the rosette forming percentage of RBC-IC and proliferative reaction of spleen cell. Milk vetch root could promote the activity of peritoneal M ϕ and IL-2, improve the antibody formation of spleen cell of the mice with deficiency of vital function, but is less effective than Qifu decoction. Mank shood root could improve the antibody formation of spleen cell of the mice with DVF, and the effect is similar to Qifu decoction.

Key words: Qifu decoction, DVF, immunological function

芪附汤是由黄芪和附子组成。有助阳固表的功效。主治阳气虚衰,汗出不止,肢体倦怠^[1]。所谓“阳”,从免疫学的观点认为是指免疫功能,且大量的科研工作也证明凡有助阳作用的药物,都有增强免疫功能的作用,只是机理各不相同。为探讨其作用机制,组方的作用特点,本文就芪附汤及其组方对阳虚小鼠

免疫功能的影响,进行了实验研究。

1 材料和方法

1.1 药品与主要试剂 黄芪(蜜炙)系豆科植物黄耆 *Astragalus membranaceas* (Fisch) Bge. 的干燥根,附子(炮、去皮脐)饮片购自芜湖市张恒春药房,并经皖南医学院中医学教授胡剑北鉴定。PRMI-1640 培养粉为美国 Gibrolab 产品。MTT、重组人 IL-2 均为 Sigma 产品。ConA 为上海生化厂产品。酵母

* 国家自然科学基金资助项目 No. 39170887

菌购自上海二军大长海医院。十二烷基硫酸钠(SDS)为浙江黄岩东门化工厂产品。

1.2 阳虚动物模型的建立 采用陈奇^[2]介绍的“皮质激素阳虚型”的方法。用氢化考的松给小鼠每天 0.75mg/只灌胃,7d 后小鼠出现反应迟钝、肢尾冷、卷曲拱背、毛松等形寒肢冷的“阳虚”现象。

本实验用 BALB/c 小鼠(安徽医科大学实验动物中心提供),雌雄随机,体重(21±2)g。

1.3 动物分组及处理 小鼠适应性喂养 3d 后,随机分为 5 组,每组 10 只,按不同的方法处理,详见表 1。

表 1 小鼠的分组及处理

组别	制模(7d)	灌胃 (0.4ml/d×14)	生药浓度 (mg/0.4ml)
正常对照	生理盐水	蒸馏水	0
阳虚对照	氢化考的松	蒸馏水	0
芪附汤	氢化考的松	芪附汤	黄芪 22mg、附子 22mg
黄芪	氢化考的松	黄芪水煎液	黄芪 22mg
附子	氢化考的松	附子水煎液	附子 22mg

(芪附汤中黄芪、附子各等分,加生姜 10 片,水煎 2 次,混合后浓缩成 100ml,内含生药 11g。)

1.4 方法

1.4.1 腹腔巨噬细胞(Mφ)活性的测定 实验前 3d 1 次性给每鼠腹腔注射 6% 灭菌淀粉肉汤 2ml/只。其余处理条件不变。实验时无菌取出腹腔液,收集腹腔 Mφ。用 RPMI 1640 培养液调细胞浓度为 1×10⁶ 个/ml,于 96 孔细胞培养板上加 0.1ml/孔,其后按文献^[3]操作。加入 10%SDS-0.01mol/L HCl 0.1ml,30min 后于 570nm 处测 OD 值。以 OD 值的大小表示 Mφ 的活性。

1.4.2 红细胞 C_{3b}受体(RBC-C_{3b}R)花环率和红细胞免疫复合物(RBC-IC)花环率的测定 采用郭峰^[4]等方法测定。

1.4.3 小鼠脾细胞产生抗体能力的测定 采用脾细胞介导的绵羊红细胞溶血分光光度计测定试验(QHS 法)^[5],于 405nm 处测 OD 值。

1.4.4 小鼠脾细胞对 ConA 的增殖反应 将脾细胞浓度调至 1×10⁷ 个/ml。取 0.1ml 加入培养板中,再加入 ConA 0.1ml(50μg)或 1640 培养液 0.1ml(作为对照),置 37℃,5%CO₂ 环境中培养 68h 后,加入 MTT 10μl(浓度为 5μg/ml),继续培养至 72h^[6],加入 10%SDS-0.01mol/L HCl 0.1ml,30min 后于 570nm 处测 OD 值。

1.4.5 小鼠脾细胞产生 IL-2 的测定 参见文献^[7]的操作方法。以测得 OD 值表示 IL-2 的活性。

1.5 数据处理 采用 t 检验。

2 结果

2.1 芪附汤及其组方对阳虚小鼠腹腔 Mφ 活性的影响 芪附汤可以明显增强阳虚小鼠腹腔 Mφ 的活性,在数值上甚至高于正常小鼠腹腔 Mφ 的活性。黄芪水煎液、附子水煎液的增强作用明显低于芪附汤。尤其是附子水煎液的增强作用与阳虚对照组相似。见表 2。

表 2 芪附汤对阳虚小鼠腹腔 Mφ 的影响(̄x±s)

组别	n	腹腔 Mφ 活性(570nm)
正常对照	10	0.576±0.094**
阳虚对照	10	0.415±0.057
芪附汤	8	0.634±0.080**
黄芪	9	0.498±0.081*ΔΔ
附子	10	0.432±0.098ΔΔ

与阳虚对照组相比 *P<0.05, **P<0.01;

与芪附汤组相比 ΔP<0.05, ΔΔP<0.01(以下同)

2.2 芪附汤及其组方对阳虚小鼠 RBC-C_{3b}R 花环率和 RBC-IC 花环率的影响 芪附汤可以明显提高阳虚小鼠的 RBC-C_{3b}R 花环率和 RBC-IC 花环率,几乎达正常对照组水平。其作用与黄芪水煎液无差别,与附子水煎液有差别。详见表 3。

2.3 芪附汤及其组方对阳虚小鼠脾细胞产生抗体能力的影响 由表 4 可知,芪附汤可以明显提高阳虚小鼠脾细胞产生抗体的能力,与正常对照组相比差别无显著性。附子与黄芪水煎液亦有提高产生抗体的作用。

表3 芪附汤对阳虚小鼠 RBC-C_{3b}R
和 RBC-IC 花环率的影响

组别	n	花环率(%)	
		RBC-C _{3b} R	RBC-IC 花环
正常对照	10	15.60±4.26**	18.49±4.51*
阳虚对照	10	10.18±2.20	13.25±3.31
芪附汤	8	15.26±3.29**	18.18±4.07*
黄芪	9	12.55±2.97	15.15±4.23
附子	10	11.75±3.21 ^Δ	13.93±3.84 ^{ΔΔ}

表4 芪附汤对阳虚小鼠脾细胞产生抗体的影响

组别	n	QHS 法(405nm)
正常对照	10	0.349±0.038**
阳虚对照	10	0.254±0.042
芪附汤	8	0.336±0.055**
黄芪	9	0.294±0.024*
附子	10	0.296±0.035*

2.4 芪附汤及其组方对阳虚小鼠脾细胞的增殖活性及 IL-2 活性的影响 芪附汤可提高阳虚小鼠脾细胞的增殖活性和 IL-2 的活性,使其达到或略超过正常对照组的水平。黄芪、附子水煎液对以上 2 者的活性都无明显增强作用,并且对 IL-2 的作用与芪附汤比有显著差异。见表 5。

表5 芪附汤对阳虚小鼠脾细胞增殖活性和 IL-2 的活性的影响

组别	n	脾细胞增殖活性(OD)	IL-2 活性(OD)
正常对照	10	0.341±0.072*	0.254±0.061*
阳虚对照	10	0.269±0.058	0.184±0.063
芪附汤	8	0.340±0.046*	0.264±0.058*
黄芪	9	0.302±0.062	0.207±0.046 ^Δ
附子	10	0.297±0.051	0.198±0.059 ^Δ

3 讨论

本实验主要从总体上探讨芪附汤及其组方对阳虚小鼠的非特异性免疫功能,红细胞免疫功能、特异性免疫功能的影响。以阐明其“助阳固表”的可能机制。

实验结果表明,连续灌胃芪附汤 14d 后,可明显增强阳虚小鼠的各项免疫功能。但若

持续灌胃下去,是否会继续增强免疫功能?或是只维持在此水平上,有待进一步研究。

黄芪水煎液在增强腹腔 M ϕ 活性、促进脾细胞产生抗体及增强 IL-2 的活性方面远不及芪附汤。提示黄芪虽有增强免疫功能的作用,但作用于阳虚小鼠时还需要附子的协同作用。这也体现出方剂的优越性。

附子水煎液对免疫功能的影响,表现为增强脾细胞产生抗体、脾细胞对 ConA 的增殖反应的作用与芪附汤相近。提示附子有明显增强抗体产生的作用。这与金氏报道^[8]一致。关于附子增强脾细胞对 ConA 的增殖反应的作用方面,尚未见有关报道。机制有待探讨。

参考文献

- 1 杨医亚. 中国医学百科全书—方剂学. 上海:上海科技出版社,1982. 182
- 2 陈奇. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1993. 982
- 3 陈哲生. 噻唑蓝比色法用来研究人淋巴细胞和小鼠巨噬细胞的活性. 上海免疫学杂志,1992, 12(5):269
- 4 郭峰,虞紫茜,赵中平. 红细胞免疫功能的初步研究. 中华医学杂志,1982,62(12):715
- 5 周正任,杨晓临,梁再斌,等. 有机锗对机体免疫功能影响的动物实验研究. 中国医科大学学报, 1993,22(1):14
- 6 要庆平,张乃峥. 雷公藤 T₁ 组分对人脐带静脉内皮细胞增殖及产生 IL₆ 的影响. 中华微生物学和免疫学杂志,1994,14(5):329
- 7 吴敏毓,董群,曲卫敏,等. 分析黄芪在当归补血汤内的免疫作用差别及量效关系. 中药药理与临床,1993,9(6):7
- 8 金怡萃. 附子注射液对免疫功能的影响. 中草药,1983,9(3):29

(收稿:1998-09-10)