

# 芪附汤对不同状态小鼠 Mφ 活性及介质的影响\*

董 群 吴敏毓(皖南医学院微生物学教研室 芜湖 241001)

**摘要** 选用正常小鼠和氢考阳虚小鼠模型,测其腹腔 Mφ 活性及分泌介质和相关酶的活性。结果表明,芪附汤可增强小鼠腹腔 Mφ 活性,可促进阳虚小鼠腹腔 Mφ 分泌白介素 1 和肿瘤坏死因子,抑制一氧化氮的生成;明显增强该细胞内精氨酸酶和超氧化物歧化酶的活性。芪附汤还可促进正常小鼠分泌肿瘤坏死因子、降低超氧化物歧化酶的活性。

**关键词** 芪附汤 阳虚 巨噬细胞(Mφ) 一氧化氮

## Effect of Qifu Tang(QFT) on Activity of Macrophage(Mφ) and Mediation in Mice with Deficiency of Vital Function

Dong Qun, Wu Minyu (Department of Microbiology, Wannan Medical College, Wuhu, 241001)

**Abstract:** To investigate the mechanism of promoting vital function of QFT is the purpose of our experiment. QFT was orally respectively administrated normal and abnormal mice with Deficiency of Vital Function (DVF) induced by hydrocortisone(HC) for 14 days and the activity of celiac Mφ, mediates and enzymes were detected. The results showed that QFT could evidently improve the activity of celiac Mφ in normal mice, especially in mice with DVF. In mice with DVF, QFT could decrease the formation of NO, promote Mφ to secrete IL-1 and TNF, increase arginase and SOD activities in celiac Mφ. In normal mice, QFT could also promote Mφ to secrete TNF and inhibit SOD activity in celiac Mφ.

**Key words:** QFT, deficiency of vital function, macrophage, nitric oxide

巨噬细胞(Mφ)可吞噬较大的病原微生物和衰老损伤细胞、递呈抗原……,在非特异性免疫和特异性免疫功能中发挥重要作用。活化的 Mφ 还可分泌多种介质,如白细胞介素 1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF)、一氧化氮(NO)、白细胞介素(6)(IL-6)等,参与各种效应。芪附汤(QFT)有助阳固表的功效,主治阳气虚衰,汗出不止,肢体倦怠<sup>[1]</sup>。所谓“阳”,从免疫学的观点即指免疫功能。以往的研究表明,有“助阳”作用的药物,即可增强免疫功能。首要表现应是增强单核吞噬细胞(巨噬细胞)的活性,并影响其分泌的介质。为了解 QFT 的作用机理,本实验观察了该方剂对正常小鼠和阳虚小鼠腹腔 Mφ 的活性及其产生

介质的影响,探讨了该方剂对影响介质的精氨酸酶和超氧化物歧化酶(SOD)的活性的调节作用。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 动物** 昆明小鼠,雌雄随机,体重(20±2)g。安徽医科大学实验动物中心提供。

**1.1.2 药物** ①氢化可的松(HC):山东新华制药厂,20mg/片,批号 962334-2。②QFT:黄芪系豆科植物黄耆的干燥根。黄芪(密炙)、附子(炮去皮脐)均购自皖南医学院华卫门诊部。黄芪、附子各等分,加生姜 10 片。按常规方法煎制,水浴浓缩后相当于生药 0.11g/ml。③MTT(噻唑蓝)为美国 Sigma 公司产品,LPS(Ecoli O<sub>111</sub>B<sub>1</sub>)系脂多糖 10mg/支,批号:199607。

\* 国家自然科学基金资助课题 No. 39170887

## 1.2 方法

**1.2.1 制备阳虚小鼠模型及分组** 采用皮质激素“阳虚”型方法<sup>[2]</sup>。给正常小鼠按 $37.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ( $0.75\text{mg}/\text{只}$ )HC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,即为模型建立。将阳虚小鼠随机分成2组,1组每鼠 $0.4\text{ml}\cdot\text{d}^{-1}$ 蒸馏水灌胃 $\times 14\text{d}$ ,为阳虚组;另1组每鼠 $0.4\text{ml}\cdot\text{d}^{-1}$ QFT灌胃 $\times 14\text{d}$ ,为QFT组。在制备模型的同时,另取小鼠,每鼠 $0.4\text{ml}\cdot\text{d}^{-1}$ 生理盐水灌胃 $\times 7\text{d}$ 后,随机分成2组。其中1组每鼠 $0.4\text{ml}\cdot\text{d}^{-1}$ 蒸馏水灌胃 $\times 14\text{d}$ ,为生理盐水组(NS组);另1组每鼠 $0.4\text{ml}\cdot\text{d}^{-1}$ QFT灌胃 $\times 14\text{d}$ ,为QFT组。

**1.2.2 腹腔M $\phi$ 的获取方法**<sup>[3]</sup> 获取细胞前3d,在灌胃的同时,腹腔注射3%硫乙酸钠(肉汤配制)1ml。

**1.2.3 测定方法** ①腹腔M $\phi$ 活性的测定用MTT法<sup>[3]</sup>。②IL-1活性的测定用胸腺细胞增殖反应法<sup>[4]</sup>。③TNF的测定用染料摄入法<sup>[4]</sup>。④一氧化氮的测定用亚硝酸盐测定法<sup>[5]</sup>。⑤精氨酸酶的测定采用茚三酮法<sup>[6]</sup>。⑥超氧化物歧化酶的测定采用邻苯三酚-氯化硝基四氮唑蓝测定法<sup>[7]</sup>。

## 2 结果

**2.1 QFT对小鼠腹腔M $\phi$ 活性及分泌介质的影响** 从表1可知,阳虚组小鼠与NS组相比,M $\phi$ 活性下降,2组有显著差别;分泌IL-1和TNF的能力下降,分泌NO增加,与NS组相比有差别。QFT可增强正常小鼠腹腔M $\phi$ 活性,明显增强阳虚小鼠的腹腔M $\phi$ 活性,使其接近NS组的水平。QFT可明显促进阳虚小鼠分泌IL-1和TNF,抑制NO的形成;对正常小鼠分泌功能无明显影响。

**2.2 QFT对小鼠腹腔M $\phi$ 内酶活性的影响**

阳虚组精氨酸酶的活性和SOD的含量明显低于NS组。QFT可明显增强阳虚小鼠腹腔M $\phi$ 内精氨酸酶的活性,减少正常小鼠腹腔M $\phi$ 内SOD的含量,增加阳虚小鼠腹腔

M $\phi$ 内SOD的含量。见表2。

表1 QFT对小鼠腹腔M $\phi$ 活性及分泌介质的影响

组别	n	M $\phi$ 活性 (OD <sub>570nm</sub> )	介 质		
			IL-1 (OD <sub>570nm</sub> )	NO ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	TNF (OD <sub>570nm</sub> )
NS组	8	0.312 $\pm$ 0.034	0.254 $\pm$ 0.064	9.9 $\pm$ 2.3	0.471 $\pm$ 0.034
QFT组	9	0.364 $\pm$ 0.034*	0.300 $\pm$ 0.089	8.2 $\pm$ 2.7	0.497 $\pm$ 0.032
阳虚组	9	0.194 $\pm$ 0.025**	0.210 $\pm$ 0.056	13.5 $\pm$ 3.1*	0.427 $\pm$ 0.037*
QFT组	10	0.301 $\pm$ 0.031 $\Delta$	0.404 $\pm$ 0.138 $\Delta$	7.6 $\pm$ 1.2 $\Delta$	0.512 $\pm$ 0.026 $\Delta$

与NS组相比\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与阳虚组相比 $\Delta P < 0.01$ (下同)

表2 QFT对小鼠腹腔M $\phi$ 内酶活性的影响

组 别	n	精氨酸酶(OD <sub>413nm</sub> )	SOD(抑制率,%)
NS组	8	0.3955 $\pm$ 0.1175	15.24 $\pm$ 6.74
QFT组	9	0.3326 $\pm$ 0.0943	9.61 $\pm$ 3.47*
阳虚组	9	0.1548 $\pm$ 0.0182**	6.77 $\pm$ 2.68**
QFT组	10	0.4421 $\pm$ 0.1152 $\Delta$	11.91 $\pm$ 5.42 $\Delta\Delta$

与阳虚组相比 $\Delta\Delta P < 0.05$

## 3 讨论

QFT可增强不同状态小鼠腹腔M $\phi$ 的活性,尤其对阳虚小鼠的作用更明显,使其几乎达正常小鼠水平。

NO广布于机体各处,具有重要的作用。但过量产生的NO可参与局部或系统的组织损伤,参与各种炎症。NO的产生受多种因素的控制,其中胞内精氨酸的含量是一个重要因素。M $\phi$ 内精氨酸酶能迅速分解精氨酸成鸟氨酸,消耗内源性精氨酸、减少NO的生成。结果表明,QFT可增加阳虚小鼠腹腔的M $\phi$ 内精氨酸酶的活性,降低NO的分泌,增强机体抗感染、抗肿瘤的能力。

IL-1和TNF是腹腔M $\phi$ 分泌的另外两种介质。本实验表明QFT对正常小鼠腹腔M $\phi$ 产生IL-1和TNF的能力无明显作用,而对阳虚小鼠则有明显增强作用,以助阳虚小鼠增强抗炎作用。

SOD不但能稳定NO,也是体内自由基的清除剂。QFT可增强阳虚小鼠腹腔M $\phi$ 内

SOD 的含量,有助于清除自由基,增强抗炎能力。对正常小鼠的作用,有待进一步探讨。

### 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. 1010
- 3 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,1993,13(6):7~9
- 4 杨贵贞. 免疫生物工程纲要与技术. 长春:吉林科技出版社,1991. 201~207
- 5 丁传林,胡晓玲,马忠才,等. 小鼠腹腔巨噬细胞诱生一氧化氮的实验研究. 上海免疫学杂志,1996,18(1):28~30
- 6 吕建新. 蜂花粉对小鼠腹腔巨噬细胞酶活性的影响. 免疫学杂志,1993,9(2):94~96
- 7 兰开蔚. 细胞内超氧化物歧化酶的测定. 生物化学生物物理进展,1988,1(2):138~140

(收稿:1998-12-09)