

# 生宝颗粒对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响

何飞<sup>\*</sup>, 苏华, 韦桂宁  
(广西中医药研究院, 南宁 530022)

**[摘要]** 目的:观察生宝颗粒对免疫低下小鼠免疫功能的影响。方法:采用炭末廓清法, T 淋巴细胞酯酶染色率法, 2,4-二硝基氯苯所致小鼠皮肤迟发超敏反应模型以及鸡红细胞所致小鼠溶血素抗体生成模型, 观察生宝颗粒对免疫低下小鼠免疫功能的影响。结果:生宝颗粒 7.50, 3.75 g·kg<sup>-1</sup> 剂量 ig 14 d 能够显著提高 ip 醋酸泼尼松龙所致免疫低下小鼠的炭末廓清指数 K 值, 7.50 g·kg<sup>-1</sup> 剂量同时能够显著提高其脾脏指数, 表明能够提高非特异性免疫功能; 生宝颗粒 7.50, 3.75 g·kg<sup>-1</sup> 剂量 ig 7 d 能够显著提高 sc 氢化可的松所致免疫低下小鼠的外周血 T 淋巴细胞百分率, ig 13 d 能够显著提高 ip 环磷酰胺所致免疫低下小鼠的皮肤迟发超敏反应, 表明能够提高细胞免疫功能; 但生宝颗粒 7.50, 3.75 g·kg<sup>-1</sup> 剂量 ig 10 d 均不能显著提高 sc 环磷酰胺所致免疫低下小鼠的溶血素抗体生成, 表明对体液免疫功能无显著影响。结论:生宝颗粒能够显著提高免疫低下小鼠的非特异性免疫功能和细胞免疫功能。

**[关键词]** 生宝颗粒; 免疫低下; 非特异性免疫; 细胞免疫; 体液免疫

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0224-03

## Effect of Shengbao Granula on Immunological Function in Mice with Immunological Deficiency

HE Fei<sup>\*</sup>, SU Hua, WEI Gui-ning

(Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Shengbao granula on immunological function in mice with immunological deficiency. **Method:** Carbon clearance test, T lymphocyte esterase conversion rate test, 2,4-dinitrofluorobenzene-induced delayed type hypersensitivity test(DTH), and hemolysin antibody formation induced by chick erythrocyte were employed to evaluate the effects of shengbao granula on immunological function. **Result:** Shengbao granula(7.50, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>) group could increase the K value and the weight index of spleen in d14 after administration (7.50, 3.75 g·kg<sup>-1</sup>) group increased peripheral T lymphocyte proliferation in d7, enhanced murine ear swelling in d13, and could not increased hemolysin antibody in d10. **Conclusion:** Shengbao granula significantly improves nonspecific and cellular immunity function in mice with immunological deficiency.

**[Key words]** Shengbao granula; nonspecific immunity; cellular immunity; humoral immunity

生宝颗粒由淫羊藿、肉苁蓉、绞股蓝等中药精制而成。经临床验证,生宝颗粒具有补肾阳,益精血之功效,对肾阳虚所致的阳痿遗精、性功能减退、腰背酸痛、夜多小便以及前列腺炎等症具有较好的疗效。

实验研究表明,生宝颗粒具有壮阳、生精、抗炎和提高机体免疫功能等作用。本文仅报道该药对免疫低下小鼠免疫功能的影响。

### 1 材料

**1.1 药物** 生宝颗粒由淫羊藿、肉苁蓉、绞股蓝等中药组成,广西中医药研究院研制。制备方法:按处方比例将中药饮片 1 kg 加 12 L 自来水浸泡,煎煮 2 次,每次 1.5 h,合并滤液,浓缩成相对密度 1.05 ~ 1.10(80 ℃)的药液;待凉,加入 95% 食用乙醇至含

**[收稿日期]** 20110306(002)

**[通讯作者]** \* 何飞, 学士, 高级实验师, 主要从事中药药理、毒理学实验研究, Tel: 0771-5869102, E-mail: Hfei2011@163.com

醇量达 55%,静置沉淀,汲取上清液,沉淀物加 5 倍量 60% 食用乙醇洗涤 2 次,静置,汲取上清液,合并 3 次上清液回收乙醇至无醇味,继续浓缩成稠膏;在稠膏中加入规定比例的淀粉等辅料混合制粒,于 60 °C 干燥,得 1 000 g 颗粒,过筛,分装,每包 10 g,相当于含 10 g 生药。香菇菌多糖片,湖北广仁药业有限公司;参芪片,吉林制药股份有限公司;实验时用蒸馏水配制成所需浓度药液使用。醋酸泼尼松龙注射液,浙江仙琚制药股份有限公司;氢化可的松注射液,山西晋新双鹤药业有限责任公司;注射用环磷酰胺,山西普德药业有限公司。

**1.2 动物** 昆明种小白鼠,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半,由广西医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(桂)2009-0002。

**1.3 仪器** 78-1 型磁力加热搅拌器,上海南汇电讯器材厂;722 型可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司。

**1.4 统计学分析** 数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示;采用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理。两组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 方法

**2.1 对免疫低下小鼠脾脏、胸腺指数和炭末廓清指数的影响<sup>[1]</sup>** 小鼠 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半。其中 3 个组分别 ig 给予生宝颗粒 7.50,3.75,1.88 g·kg<sup>-1</sup>;1 组 ig 给予香菇菌多糖 0.01 g·kg<sup>-1</sup>;余 2 组分别为空白对照组及模型组。每天给药 1 次,连续 14 d,空白对照组、模型组给予等体积蒸馏水(下同)。第 13 天给药同时,除空白对照组外,其余 5 组均 ip 醋酸泼尼松龙 25 mg·kg<sup>-1</sup> 复制免疫低下模型,造模后 24 h 尾静脉注射 10% 印度墨汁 10 mL·kg<sup>-1</sup>,于注射后 2,7 min 眼眶静脉采血 20 μL,溶于 2 mL 0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液中,于 680 nm 处测定吸光度(*A*),计算炭末廓清指数 *K* 值 [ $K = (\log A_1 - \log A_2) / (T_2 - T_1)$ 。 $A_1, A_2$  分别为 2,7 min 血样品吸光度]。并取脾脏、胸腺称质量,计算脾脏、胸腺指数(mg·g<sup>-1</sup>)。

**2.2 对免疫低下小鼠外周血 T 淋巴细胞百分率的影响** 分组较 2.1 增加参芪片 ig 0.90 g·kg<sup>-1</sup> 组,其他各组给药剂量同 2.1,每天 ig 给药 1 次,连续 7 d。给药后第 3 天,除空白对照组外,其余 5 组均 sc 氢化可的松 50 mg·kg<sup>-1</sup> 复制免疫低下模型,于末次给药后 24 h,剪鼠尾尖取血推片,晾干,用福尔马林-丙

酮缓冲液(无水 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 mg,无水 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mg,双蒸馏水 30 mL,丙酮 45 mL,4% 甲醛 25 mL 混匀)固定 30 s,自来水轻洗,晾干,放入孵育液<sup>[2]</sup> 中 37 °C 孵育 3 h。自来水冲洗,用复合对比染液(1% 孔雀绿溶液 1 mL,2% 甲基绿 2 mL,0.2 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸缓冲液 50 mL,蒸馏水 50 mL 混合)染色 1 h,自来水冲洗,晾干后油镜检查,若细胞胞浆内见到散在细小的红色颗粒即为 T 细胞非特异性酯酶阳性(ANAE),每片计数 100 个淋巴细胞,求得 ANAE 阳性率。

**2.3 对免疫低下小鼠迟发超敏反应的影响<sup>[1]</sup>** 分组与给药剂量同 2.2,每天 ig 给药 1 次,连续 13 d。给药后第 7 天,小鼠腹部剪毛并涂 1% 2,4-二硝基氯苯丙酮溶液 0.05 mL/只致敏,第 8 天加强 1 次;给药后第 11 天 ip 环磷酰胺 40 mg·kg<sup>-1</sup> 1 次,第 12 天加强 1 次;给药后第 12 天 ip 环磷酰胺的同时,用 2% 2,4-二硝基氯苯丙酮溶液按 0.05 mL/只涂小鼠右耳进行攻击,24 h 后处死动物,剪取两只耳壳重叠,用直径为 8 mm 冲子凿取园片分别称重,以左右耳片质量之差作为皮肤迟发型超敏反应的指标。

**2.4 对免疫低下小鼠溶血素生成的影响** 按文献方法<sup>[2]</sup> 制备 5% 鸡红细胞悬液。取小鼠 60 只,随机分为 6 组,每组 10 只,雌雄各半。组别与给药剂量同 2.2,每天 ig 给药 1 次,连续 10 d,空白对照组和模型组给予同体积蒸馏水。给药后第 4 天,每只小鼠 ip 5% 鸡红细胞 0.2 mL/只进行免疫,同时除空白对照组外,其余小鼠 sc 环磷酰胺 20 mg·kg<sup>-1</sup>,给药后第 7 天,再次 sc 环磷酰胺 20 mg·kg<sup>-1</sup> 以复制小鼠免疫低下模型,给药后第 10 天摘眼球采血、离心取血清按文献方法<sup>[2]</sup> 测定溶血素。以吸光度(*A*)作为判定血清溶血素的指标,比较各组的差异。

## 3 结果

**3.1 对免疫低下小鼠脾脏、胸腺指数和炭末廓清指数的影响** 生宝颗粒 7.50,3.75 g·kg<sup>-1</sup> 能够显著提高免疫低下小鼠炭末廓清指数 *K* 值;7.50 g·kg<sup>-1</sup> 同时能显著提高小鼠脾脏指数。见表 1。

**3.2 对免疫低下小鼠外周血 T 淋巴细胞百分率、皮肤迟发超敏反应和溶血素抗体生成的影响** 生宝颗粒 7.50,3.75 g·kg<sup>-1</sup> 能够显著提高免疫低下小鼠外周血 T 淋巴细胞百分率和小鼠皮肤迟发超敏反应;而 7.50,3.75,1.88 g·kg<sup>-1</sup> 对免疫低下小鼠溶血素抗体生成均没有显著影响。见表 2。

表 1 生宝颗粒对小鼠脾脏、胸腺指数及炭末廓清指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	脾脏指数/ $mg \cdot g^{-1}$	胸腺指数/ $mg \cdot g^{-1}$	K
对照	-	$3.28 \pm 0.73^{2)}$	$2.27 \pm 0.42^{2)}$	$0.047 \pm 0.012^{2)}$
模型	-	$1.81 \pm 0.37$	$0.87 \pm 0.23$	$0.022 \pm 0.007$
香菇菌多糖	0.01	$1.90 \pm 0.57$	$1.09 \pm 0.47$	$0.029 \pm 0.007^{1)}$
生宝颗粒	7.50	$2.29 \pm 0.48^{1)}$	$1.23 \pm 0.62$	$0.034 \pm 0.009^{2)}$
	3.75	$1.98 \pm 0.55$	$1.07 \pm 0.29$	$0.031 \pm 0.009^{1)}$
	1.88	$1.86 \pm 0.52$	$0.93 \pm 0.31$	$0.027 \pm 0.007$

注:与模型组比较 <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 生宝颗粒对小鼠 T 淋巴细胞百分率、耳廓肿胀度和溶血素的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	T 淋巴细胞/%	耳廓肿胀度/mg	溶血素/A
对照	-	$52.50 \pm 7.63^{2)}$	$6.53 \pm 2.14^{2)}$	$0.586 \pm 0.242^{2)}$
模型	-	$39.40 \pm 8.24$	$3.00 \pm 1.97$	$0.266 \pm 0.129$
香菇菌多糖	0.01	$48.80 \pm 7.87^{1)}$	$4.75 \pm 1.39^{1)}$	-
参芪片	0.90	-	-	$0.378 \pm 0.103^{1)}$
生宝颗粒	7.50	$52.70 \pm 6.55^{2)}$	$5.24 \pm 2.01^{1)}$	$0.351 \pm 0.167$
	3.75	$46.40 \pm 6.02^{1)}$	$4.89 \pm 1.87^{1)}$	$0.320 \pm 0.174$
	1.88	$40.70 \pm 3.65$	$4.03 \pm 1.14$	$0.281 \pm 0.098$

#### 4 讨论

陈聪<sup>[3]</sup>研究发现,肾虚患者的细胞免疫功能、天然免疫功能及补体级联反应能力降低,体液免疫功能紊乱。生宝颗粒中的单味中药多具有免疫调节作用。其中淫羊藿为传统补虚壮阳中药,主要有效成分有淫羊藿多糖、淫羊藿甙、淫羊藿总黄酮等。淫羊藿及其提取物对机体免疫功能有显著增强和调节作用<sup>[4]</sup>。肉苁蓉俗称“沙漠人参”,属于一种能兴奋垂体-肾上腺皮质或有类似肾上腺皮质激素样作用,能调节机体免疫功能的名贵中药<sup>[5-6]</sup>。肉苁蓉多糖、肉苁蓉总苷是其免疫调节作用的主要活性成分。绞股蓝有“南方人参”之称。绞股蓝中含有皂苷、氨基酸、黄酮、糖和多种无机元素等等,其中皂苷有 80 多种,6 种与人参皂苷相似,绞股蓝的提取物具有抗疲劳、抗缺氧、免疫调节、降血脂、降血糖等作用。绞股蓝总皂苷具有免疫调节作用<sup>[7]</sup>。而生宝颗粒具有补肾阳,益精血之功效,对肾虚患者具有滋补强壮作用,这是生宝颗粒提高机体免疫功能的基础。

本研究中,以醋酸泼尼松龙  $25 mg \cdot kg^{-1}$  ip1 次,复制小鼠非特异性免疫低下模型;以氢化可的松  $50 mg \cdot kg^{-1}$  sc 1 次和 2,4-二硝基氯苯致敏后第 4 天 ip 环磷酰胺  $40 mg \cdot kg^{-1}$ ,复制了 2 种细胞免疫低下模型;以鸡红细胞免疫的同时以及免疫后第 4 天各 sc 环磷酰胺  $20 mg \cdot kg^{-1}$  1 次,复制小鼠体液免疫低下模型。研究结果显示,生宝颗粒  $7.50, 3.75 g \cdot kg^{-1}$  ig 14 d 能够显著提高小鼠的炭末廓清指数 K 值,ig 7 d 均能够显著提高小鼠的外周血 T 淋巴细胞百分

率,ig 13 d 均能够显著提高小鼠的皮肤迟发超敏反应; $7.50 g \cdot kg^{-1}$  ig 14 d 能够显著提高小鼠脾脏指数;但  $7.50, 3.75 g \cdot kg^{-1}$  ig 10 d 均不能显著提高小鼠的溶血素抗体生成; $1.88 g \cdot kg^{-1}$  对上述检测指标均无显著影响。结果表明,生宝颗粒能够显著提高免疫低下小鼠的非特异性免疫功能和细胞免疫功能。

#### [参考文献]

[1] 曾雪瑜,李友娣,陈力力,等. 香菇菌多糖对免疫低下小鼠的免疫调节作用[J]. 中国中药杂志, 1989, 14 (2):46.

[2] 李友奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社, 2006:727, 724, 726.

[3] 陈聪. 川陕两地肾虚虚证的免疫功能基因初探[D]. 成都:成都中医药大学:中西医结合基础. 2006.

[4] 邹萍. 淫羊藿免疫药理学研究进展[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(3):279.

[5] 曾群力,郑一凡,吕志良. 肉苁蓉多糖的免疫活性作用及机制[J]. 浙江大学学报:医学版, 2002, 31(4):284.

[6] Dong Q, Yao J, Fang J N, et al. Structural characterization and immunological activity of two cold-water extractable polysaccharides from *Cistanche deserticola* Y. C. Ma[J]. Carbohydr Res, 2007, 342 (10):1343.

[7] 余昌东,陈宗良,梅全喜. 绞股蓝的药理作用研究概况[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9):2296.

[责任编辑 聂淑琴]