

东北刺人参茎叶提取物对环磷酰胺致 免疫抑制小鼠免疫功能的影响

胡彦武

(通化师范学院制药与食品科学系, 吉林 通化 134002)

[摘要] 目的:评价东北刺人参茎叶提取物对免疫抑制模型小鼠免疫功能的影响。方法:实验小鼠分为空白对照组、环磷酰胺(CTX)模型组、东北刺人参茎叶提取物高、中、低剂量组(按生药量计为 5.2, 2.6, 1.3 g·kg⁻¹),空白对照组与模型组给予等量生理盐水,连续给药 7 d,观察东北刺人参茎叶提取物对实验动物免疫器官脏器指数、碳粒廓清能力、迟发型超敏反应(DTH)的影响。结果:与模型组比较,东北刺人参茎叶提取物各剂量组均能显著提高小鼠免疫脏器指数、单核巨噬细胞的吞噬功能及小鼠 DTH($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。结论:东北刺人参茎叶提取物有提高免疫抑制小鼠免疫功能的作用。

[关键词] 东北刺人参茎叶;免疫功能;环磷酰胺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0156-03

Effect of Extracts from Stems and Leaves of *Oplopanax elatus* on Immune Functions in Immuno-suppressed Mice Induced by Cyclophosphamide

HU Yan-wu

(Department of Pharmaceutics and Food Science, Tonghua Normal College, Tonghua 134002, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effects of the extracts from stems and leaves of *Oplopanax elatus* on the immune functions of immune-suppressed mice by cyclophosphamide. **Method:** Mice were randomly divided into 5 groups: control group, model group, low, moderate and high dose groups (1.3, 2.6, 5.2 g·kg⁻¹) of the extracts from stems and leaves of *O. elatus*. The mice were examined for immune organ weight index, carbon particle clearance capability of macrophage, delayed type hypersensitivity. **Result:** Compared with model group, all dose groups could significantly increase the weight of the immune organs, carbon particle clearance capability of macrophage and delayed type hypersensitivity ($P < 0.05 \sim P < 0.01$). **Conclusion:** The extracts from stems and leaves of *O. elatus* can enhance the immune functions in immune-suppressed mice.

[Key words] stems and leaves of *Oplopanax elatus*; immune function; cyclophosphamide

东北刺人参 *Oplopanax elatus* Nakai 是五加科刺人参属植物,主要分布于我国长白山地区及朝鲜、俄罗斯远东山区,民间以其根和茎入药,主治神经衰弱、精神抑郁、低血压、糖尿病等症,具有补气、助阳

和类似人参之功效^[1]。近年来,国内学者对东北刺人参的研究主要集中在化学成分方面,对其有效成分的药理学研究较少,在对动物的免疫功能影响及作用机制方面未曾有资料报道。本文评价了东北刺人参茎叶提取物对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响,为开发利用东北刺人参地上可再生部位药用资源提供了科学依据。

1 材料

1.1 药物与试剂 东北刺人参茎叶,2010年7月采于长白山南坡,经通化师范学院于俊林教授鉴定为

[收稿日期] 20101025(009)

[基金项目] 吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科合字[2009]第465号)

[第一作者] 胡彦武,硕士,讲师,从事生药有效成分的分离鉴定及生物活性研究, Tel: 13844545298, E-mail: hycwz@163.com

五加科植物东北刺人参 *O. elatus* Nakai 的带叶茎枝;2,4-二硝基氯苯(DNCB),天津光复精细化工研究所,批号20090522;环磷酰胺(CTX),江苏恒瑞医药股份有限公司,批号09040221;印度墨水,上海中泰化学试剂有限公司,批号20080820。

1.2 动物 ICR小鼠,雌雄各半,体重(20±2)g,由长春高新医学动物实验中心提供,动物合格证号SCXK(吉)2003-2004。

1.3 仪器 FA1104型电子分析天平,上海天平仪器厂;H723型可见分光光度计,天津普瑞斯仪器有限公司。

2 方法

2.1 东北刺人参茎叶提取物的制备 将干燥东北刺人参带叶茎枝粉碎成粗粉,取粗粉100g,纱布包裹,加水过液面5cm于烧杯中,浸泡4h后,文火煎煮2次,每次30min,合并两次滤液,浓缩至200mL,加3倍量95%乙醇,放冰箱静置12h,减压过滤,回收滤液中乙醇,浓缩至无醇味的提取物。将提取物加水分别配制成相当生药质量浓度为0.065,0.130,0.260g·mL⁻¹的不同溶液,置4℃的冰箱保存备用。

2.2 分组与给药 取小鼠50只,随机分为5组,即空白对照(生理盐水)组,模型(CTX)组,东北刺人参茎叶提取物按生药剂量5.2,2.6,1.3g·kg⁻¹高、中、低3个剂量组,每组10只。空白对照组与模型组ig生理盐水,给药体积均为0.02mL·g⁻¹,连续给药7d。

2.3 动物模型建立^[2] 在给药第2,3,4,5天,除空白对照组外,其余各组小鼠均ipCTX75mg·kg⁻¹,连续4d,建立小鼠免疫抑制模型。

2.4 东北刺人参茎叶提取物对DNCB致小鼠迟发型超敏反应(DTH)的影响^[3] 分组同2.2,用脱毛剂(硫化钡加水调成稀糊状)脱去各鼠背部颈毛。次日于脱毛处皮肤上滴50%DNCB丙酮溶液2μL/只致敏。致敏后第4天,各组小鼠分别ig1次/d,连续给药7d,在各组小鼠右耳两侧均匀涂抹2.5%DNCB酮溶液20μL/只进行攻击,24h后,处死小鼠,用直径为8mm的打孔器分别在左右耳同一位置打下圆耳片,电子天平称质量,以左右耳片质量差(肿胀度)表示DTH的强度。

2.5 东北刺人参茎叶提取物对小鼠碳粒廓清能力的影响^[4] 分组及给药同2.2,末次给药24h后称重,经小鼠尾iv稀释的印度墨汁各0.2mL,即刻计

时,分别于5,10min时眼眶静脉取血20μL,各加入0.1%Na₂CO₃2mL,摇匀,用分光光度计在波长680nm处测吸光度,记录A,计算廓清指数K。后将小鼠脱颈椎处死,分别取肝、脾,用滤纸吸干血迹后称质量,计算吞噬指数(α)。

$$K = (\log A_1 - \log A_2) / (t_2 - t_1)$$

$$\alpha = K^{1/3} \times \text{体重} / (\text{肝质量} + \text{脾质量})$$

2.6 东北刺人参茎叶提取物对小鼠免疫器官指数的影响 分组及给药同2.2,末次给药24h后称体重,脱颈椎处死小鼠,迅速取出脾、胸腺,用滤纸吸干血迹后称质量。计算脾和胸腺指数。

$$\text{脾或胸腺指数} = \text{脾或胸腺质量(mg)} / \text{体重(g)}$$

2.7 统计学分析 各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学处理采用SPSS13.0统计软件,组间比较用方差分析,q检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 东北刺人参茎叶提取物对DNCB致小鼠DTH的影响 从表1可以看出,DNCB能不同程度地导致各组小鼠产生DTH。模型组小鼠的耳廓肿胀程度显著低于空白对照组($P < 0.05$),说明造模成功;东北刺人参茎叶提取物3个剂量组对DNCB致小鼠DTH有不同程度增强作用,耳廓肿胀程度显著高于模型组($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。

表1 东北刺人参茎叶提取物对小鼠DTH的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	耳肿胀度/mg
空白对照	-	4.131 ± 0.119 ¹⁾
模型	-	3.109 ± 0.122
东北刺人参茎叶	1.3	3.376 ± 0.301 ¹⁾
	2.6	3.427 ± 0.299 ¹⁾
	5.2	3.558 ± 0.295 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2~3同)。

3.2 东北刺人参茎叶提取物对小鼠碳粒廓清能力的影响 从表2可以看出,模型组小鼠廓清指数、吞噬指数均显著低于空白对照组($P < 0.05$),说明造模成功;东北刺人参茎叶提取物3个剂量组均能不同程度的提高小鼠单核巨噬细胞的吞噬功能,廓清指数及吞噬指数均显著高于模型组($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。

3.3 东北刺人参茎叶提取物对小鼠免疫器官指数的影响 从表3可以看出,模型组小鼠胸腺和脾脏指数显著降低,与空白对照组比较差异显著($P < 0.01$),说明造模成功;东北刺人参茎叶提取物3个剂量组均能提高小鼠胸腺指数和脾脏指数,与模型组比差异显著($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。

表 2 东北刺人参茎叶提取物叶对小鼠碳廓清能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	K	α
空白对照	-	0.038 7 ± 0.018 1 ¹⁾	5.246 ± 1.007 ¹⁾
模型	-	0.021 9 ± 0.007 9	4.306 ± 0.649
东北刺人参茎叶	1.3	0.034 1 ± 0.012 1 ¹⁾	4.896 ± 0.866 ¹⁾
	2.6	0.034 8 ± 0.013 8 ¹⁾	4.899 ± 0.608 ¹⁾
	5.2	0.036 9 ± 0.014 9 ²⁾	4.914 ± 0.571 ¹⁾

表 3 东北刺人参茎叶提取物对小鼠免疫器官指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	脾指数	胸腺指数
空白对照	-	6.098 ± 0.558 ²⁾	3.269 ± 0.228 ²⁾
模型	-	5.805 ± 0.211	2.951 ± 0.128
东北刺人参茎叶	1.3	5.978 ± 0.102 ¹⁾	3.051 ± 0.171
	2.6	6.042 ± 0.091 ²⁾	3.135 ± 0.174 ¹⁾
	5.2	6.089 ± 0.108 ²⁾	3.263 ± 0.245 ²⁾

4 讨论

CTX 是一种作用较强的免疫抑制剂,常用于制备免疫抑制动物模型。本实验中,空白对照组和模型(CTX)组实验指标差异显著,说明免疫抑制小鼠模型造模成功。

DNCB 是一种小分子半抗原,能与皮肤蛋白结合成完全抗原,从而刺激 T 淋巴细胞转化为致敏淋巴细胞。当再次以抗原攻击皮肤,就可致攻击部位出现 DTH^[5]。东北刺人参茎叶提取物能增强 DNCB 引起的免疫抑制小鼠 DTH,可能与其促进经 T 淋巴细胞增殖成致敏淋巴细胞有关。

脾和胸腺是人体重要的免疫器官,两者相对重

量的变化在免疫评价中占有重要地位。东北刺人参茎叶提取物能使小鼠脾和胸腺指数显著高于模型组,表明其能改善 CTX 引起的脾和胸腺萎缩,对免疫器官有一定的免疫促进作用。

单核巨噬细胞的吞噬能力是衡量机体非特异性免疫功能的标志之一。印度墨汁作为一种颗粒状异物静脉注入小鼠血循环后,迅速被单核吞噬细胞所清除,主要被定居在肝和脾脏的巨噬细胞所吞噬,若印度墨汁量恒定,则从血流中清除的速率可反映单核吞噬细胞的吞噬功能^[5]。东北刺人参茎叶提取物能够明显激活、增强 CTX 所致免疫抑制小鼠单核巨噬细胞的吞噬功能,表明其对 CTX 所致免疫抑制模型小鼠的非特异性免疫功能有增强作用。

上述实验说明东北刺人参茎叶提取物能够提高免疫抑制动物的免疫功能,但其具体的免疫学物质基础及机制尚有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 刘昕,陈滴,李清民,等.东北刺人参根挥发油成分 GC-MS 分析[J].特产研究,2008,2:58.
- [2] 阿不都热依木·玉苏甫.异黑成熟颗粒对免疫抑制小鼠免疫功能的调节作用[J].科技导报,2010,28(3):82.
- [3] 刘文洲,滕有明,谭志鑫,等.杨梅茎皮镇痛和免疫作用的实验研究[J].时珍国医国药,2010,21(6):1416.
- [4] 刘宝剑,郭延生,曲亚玲,等.红车轴草总黄酮对小鼠免疫功能的影响[J].安徽农业科学,2009,37(33):16410.
- [5] 张大方.药理与中药药理实验[M].上海:上海科学技术出版社,2002:89,91.

[责任编辑 聂淑琴]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110212.1406.003.html>