

## 固本益肾胶囊对小鼠免疫功能的影响

傅毓<sup>1</sup>, 秦惠龙<sup>1</sup>, 罗琦<sup>1</sup>, 何志雄<sup>1</sup>, 贾小翠<sup>2</sup>, 马骏<sup>1\*</sup>

(1 甘肃中医学院 药理教研室, 兰州 730000; 2 甘肃省庆阳市人民医院, 甘肃 庆阳 745000)

**[摘要]** 目的:探讨固本益肾胶囊对小鼠免疫功能的影响。方法:昆明种小鼠,每组 10 只,随机分为正常对照组、模型组、贞芪扶正胶囊组(12.5 g·kg<sup>-1</sup>)、固本益肾胶囊高剂量组(4.5 g·kg<sup>-1</sup>)、固本益肾胶囊低剂量组(1.5 g·kg<sup>-1</sup>)。通过测定免疫抑制小鼠脾脏指数、胸腺指数、碳粒廓清吞噬指数(K)及校正吞噬指数( $\alpha$ )、血清溶血素水平、迟发型超敏反应(DTH)的影响,反映固本益肾胶囊对机体免疫功能的影响。结果:固本益肾胶囊可显著提高免疫抑制小鼠的脾脏指数及胸腺指数,升高碳粒廓清吞噬指数( $P < 0.01$ )及校正吞噬指数( $P < 0.05$ );提高血清溶血素水平( $P < 0.01$ )及增强迟发型超敏反应( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。结论:固本益肾胶囊对小鼠非特异性和特异性免疫功能有促进作用。

**[关键词]** 固本益肾胶囊;非特异性免疫;特异性免疫

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0155-03

## Effects of Guben Yishen Capsule on Immune Function in Mice

FU Yu<sup>1</sup>, QIN Hui-long<sup>1</sup>, LUO Qi<sup>1</sup>, HE Zhi-xiong<sup>1</sup>, JIA Xiao-cui<sup>2</sup>, MA Jun<sup>1\*</sup>

(1. Teaching and Research Section of Pharmacology, Gansu College of Chinese Tradition Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Qingyang People's Hospital, Qingyang 745000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of Guben Yishen Capsule (GB-C) on the immune function in mice. **Method:** Mice were divided into five groups. By the effect of the indexes of spleen and thymus, the level of serum hemolysin antibody, carbon particle clearance swallowing index, delayed type hypersensitivity (DTH) reflect the immune function. **Result:** GB-C can enhance the indexes of spleen and thymus, increase the number of K and  $\alpha$ , improve the level of serum hemolysin antibody and the number of DTH was increased. **Conclusion:** GB-C can enhance the non-specific immunity and specific immunity function in mice.

**[Key words]** Guben Yishen Capsule; non-specific immunity; specific immunity

固本益肾胶囊是由人参、三七、紫河车、水蛭等多味中药组成的复方制剂,具有固本益气、补肾活血、去瘀生新之功效。临床上用于治疗各种原因引起的急慢性肾缺血及肾损伤、肾小球肾炎。作者先复制了大鼠肾缺血再灌注模型,观察固本益肾胶囊对肾缺血再灌注损伤的保护作用,实验结果证实

该药能升高血清超氧化物歧化酶(SOD)水平,并降低丙二醛(MDA)、肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)水平,减轻肾组织病理改变,对肾损伤具有保护作用(另文发表)。为进一步探讨该药对肾脏的保护作用机制,证实其固本益气之功效,本实验主要对该药的免疫功能进行了评价。

### 1 材料

**1.1 动物** 清洁级昆明种小鼠,雌雄兼用,体重 12~15 g 及 18~22 g,由兰州大学实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK(甘)2009-0004,合格证号 0000793;豚鼠,中国农业科学院兰州兽医研究所实验动物场提供,生产许可证号 SCXK(甘)2004-005,合格证号 0000352。

**[收稿日期]** 20101014(010)

**[基金项目]** 庆阳市科技局项目(0902NKCM065)

**[第一作者]** 傅毓,硕士,主要从事中药药理与毒理研究

**[通讯作者]** \* 马骏,教授,硕导,主要从事中药药理学教学与研究, Tel: 0931-8765395, E-mail: mj@gszy.edu.cn

**1.2 药物与试剂** 固本益肾胶囊,由人参、三七、紫河车、水蛭等多味中药组成,动物给药量按临床人用量的倍数计,由庆阳市人民医院提供,批号 090810;贞芪扶正胶囊,由甘肃扶正药业科技股份有限公司生产,批号 090729;注射用环磷酰胺,江苏恒瑞医药股份有限公司生产,批号 08080321;Gelatin 明胶,化学纯,天津市光复精细化工研究所,认证注册号 CNABO35-Q;印度墨汁,CHROMA-GESELL-SCHAFT mbH&Co-D-48161 Munster 生产。

**1.3 仪器** ALCYON300 全自动生化分析仪,美国雅培;BS110S 型 sartorius 电子天平,北京赛多利斯天平有限公司。

## 2 方法<sup>[1-3]</sup>

**2.1 对环磷酰胺致免疫低下小鼠脾脏指数和胸腺指数的影响** 50 只小鼠,雌雄各半,体重 12~15 g,随机分为正常对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、贞芪扶正胶囊组(12.5 g·kg<sup>-1</sup>,相当于临床用量的 30 倍)、固本益肾胶囊高剂量组(4.5 g·kg<sup>-1</sup>,相当于临床用量的 30 倍)、固本益肾胶囊低剂量组(1.5 g·kg<sup>-1</sup>,相当于临床用量的 10 倍)。各组按 20 mL·kg<sup>-1</sup>体重 ig 给药。1 次/d,连续 8 d。各组(除正常对照组)分别在给药第 4,5,6 天每日 ip 注射环磷酰胺 50 mg·kg<sup>-1</sup>,造成免疫缺陷模型。于末次给药后 24 h,将小鼠称重后处死,称取脾脏和胸腺质量,按下式计算脾脏指数和胸腺指数。

脾脏(胸腺)指数 = 脾脏(胸腺)质量(mg)/体重(g)

**2.2 对环磷酰胺致免疫低下小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响** 雄性小鼠 50 只,体重 18~22 g。动物分组、造模及给药方法同 2.1。末次给药后 24 h,小鼠尾静脉注射印度墨汁(用 1% 明胶液稀释 4 倍)0.01 mL·g<sup>-1</sup>体重。注射后用秒表计时,分别在 2 min 和 10 min 时用毛细玻管从小鼠眼眶取血 25 μL,立即吹入 0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 2 mL 中,玻管于该液中吸入、吹出数次,以充分洗出玻管壁附着之血液,摇匀。以 0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 2 mL 校零,于分光光度计在波长 675 nm 处测吸光度(A)。最后将小鼠颈椎脱臼处死,分离并称取体重、肝、脾质量。按下式计算廓清吞噬指数(K)及校正吞噬系数(α)。

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

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

**2.3 对环磷酰胺致免疫低下小鼠溶血素抗体生成的影响** 小鼠 50 只,雌雄各半,体重 18~22 g。小

鼠分组、给药同 2.1。各组按 20 mL·kg<sup>-1</sup>体重连续 ig 给药 10 d。给药第 4 天,各组小鼠 ip 5% 鸡红细胞(CRBC)悬液 0.2 mL/只进行免疫。给药第 8 天起除正常对照组外,其他各组均 ip 环磷酰胺 40 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,共 3 次。末次给药后第 2 天,股动脉取血于离心管内,放置约 2 h 后,2 000 r·min<sup>-1</sup>离心 7 min,取血清用生理盐水稀释 100 倍,取稀释血清 1 mL,加 5% CRBC 悬液 0.5 mL,10% 补体(豚鼠血清)0.5 mL 混合,在 37 °C 恒温箱保温 30 min 后,移至冰浴中终止反应,离心,取上清液。用分光光度计在 540 nm 处比色。另用生理盐水代替血清做空白对照,取其上清液作为比色时调零的基准。以测定吸光度(A)值作为判定血清溶血素的指标。

**2.4 对小鼠迟发型超敏反应的影响** 小鼠 40 只,雌雄各半,体重 18~22 g。分为正常对照组(生理盐水)、贞芪扶正胶囊组(12.5 g·kg<sup>-1</sup>)、固本益肾胶囊高、低剂量组(1.5,4.5 g·kg<sup>-1</sup>)。各组按 20 mL·kg<sup>-1</sup>体重 ig 给药共 12 d。给药当天各组即于已用脱毛膏脱毛的颈部皮肤上滴 50% 二硝基氯苯(DNCB)丙酮溶液 2 μL/只致敏。12 d 后,在事先用脱毛膏脱毛的同一只小鼠腹部皮肤涂上 2.5% DNCB 丙酮溶液 20 μL/只进行攻击。24 h 后,每只小鼠尾静脉注射 1% 伊文思蓝 10 mL·kg<sup>-1</sup>。30 min 后,处死小鼠,取下腹部蓝染皮肤,剪碎,置试管中,用 1:1 丙酮生理盐水混合液 4 mL 浸泡 24 h 后,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取上清液,用分光光度计(波长为 610 nm)测定 A 值。以 A 值表示迟发型超敏反应的强度。

**2.5 统计学方法** 运用 SPSS11.5 统计分析软件,采用 t 检验进行统计学处理,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。P < 0.05 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对环磷酰胺致免疫低下小鼠脾脏和胸腺指数的影响** 固本益肾胶囊 4.5 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组能显著提高免疫抑制小鼠的脾脏指数和胸腺指数(P < 0.01);1.5 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组可显著提高脾脏指数(P < 0.05)。结果见表 1。

**3.2 对环磷酰胺致免疫低下小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响** 固本益肾胶囊对小鼠碳粒廓清能力有明显促进作用,4.5,1.5 g·kg<sup>-1</sup> 2 个剂量组均能提高小鼠炭粒吞噬指数(K)(P < 0.01)及校正吞噬指数(α)(P < 0.05)。结果见表 2。

表1 固本益肾胶囊对环磷酰胺致免疫低下小鼠脾脏指数和胸腺指数的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脾脏指数	胸腺指数
正常对照	-	$5.30 \pm 0.62^{1)}$	$3.85 \pm 0.49^{1)}$
模型对照	-	$3.24 \pm 0.34$	$1.36 \pm 0.50$
贞芪扶正胶囊	12.5	$4.21 \pm 0.41^{1)}$	$3.03 \pm 1.25^{1)}$
固本益肾胶囊	4.5	$4.68 \pm 1.11^{1)}$	$2.31 \pm 0.45^{1)}$
	1.5	$3.75 \pm 0.62^{2)}$	$1.65 \pm 0.40$

注:与模型对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表2同)。

表2 固本益肾胶囊对环磷酰胺致免疫低下小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	K	$\alpha$
正常对照	-	$0.056 \pm 0.011^{2)}$	$7.018 \pm 0.928^{2)}$
模型对照	-	$0.042 \pm 0.012$	$5.819 \pm 0.944$
贞芪扶正胶囊	12.5	$0.068 \pm 0.012^{1)}$	$6.922 \pm 1.074^{2)}$
固本益肾胶囊	4.5	$0.073 \pm 0.012^{1)}$	$7.260 \pm 1.145^{2)}$
	1.5	$0.062 \pm 0.012^{1)}$	$6.952 \pm 1.121^{2)}$

**3.3 对环磷酰胺致免疫低下小鼠血清溶血素抗体生成的影响** 正常对照组A为 $0.357 \pm 0.103$ ,模型组A $0.131 \pm 0.040$ 较正常对照组显著降低( $P < 0.01$ );,固本益肾胶囊4.5,1.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2个剂量组其A分别为 $0.322 \pm 0.085$ 和 $0.274 \pm 0.077$ ,均显著提高血清溶血素水平,与模型组比较 $P < 0.01$ 。

**3.4 对正常小鼠迟发型超敏反应的影响** 与正常组A $0.424 \pm 0.06$ 相比,固本益肾胶囊1.5,4.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组A分别为 $0.488 \pm 0.04$ , $0.589 \pm 0.08$ ,能显著增强小鼠的迟发型超敏反应,与正常组比 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 。

## 4 讨论

慢性肾损伤属于祖国医学的“肾厥”、“癃闭”等病症的范畴。《内经》云:“正气存内,邪不可干”,“邪之所凑,其气必虚”。中医“扶正固本”的治疗原则,就是从人体全局出发,选用具有补益、强壮的方药,来补充人体阴阳、气血、营卫、津液等不足,增强人体免疫功能。如马荣芳<sup>[4]</sup>等运用扶正固本汤治疗支气管哮喘缓解期、郑伟鸿<sup>[5]</sup>等运用扶正固本法治疗恶性肿瘤。本方中的人参、紫河车等中药是临床常用的补益药,运用其调整机体免疫功能的作用来

治疗肾损伤疾病,这与传统中医“扶正固本”治疗原则是相一致的。人参中的主要化学成分人参皂苷能增强多种动物的网状内皮系统、促进小鼠脾脏NK细胞活性及提高用绵羊红细胞免疫小鼠血清中溶血素浓度<sup>[6]</sup>。紫河车含有人胎盘免疫调节肽(HPIF),具有提高机体细胞免疫及体液免疫功能及调节免疫功能的作用<sup>[7]</sup>。

免疫功能是机体防御和清除各种有害因素的能力,即体内“正气”的主要体现。免疫功能的高低可以用来反应机体内正气旺盛与否。现代医学对机体的免疫功能进行评价主要通过观察对机体非特异性免疫功能和特异性免疫功能的影响,其中对特异性免疫功能的影响又包括对细胞免疫和体液免疫的影响。本研究观察了固本益肾胶囊对环磷酰胺引起的免疫低下小鼠的脾脏指数及胸腺指数,网状内皮系统吞噬能力及溶血素抗体水平,DNCB引起的迟发型超敏反应的影响。以证实该药是否具有增强机体的非特异性免疫和特异性免疫功能。本研究结果表明,对环磷酰胺引起的免疫低下小鼠,固本益肾胶囊可升高脾脏指数及胸腺指数,显著提高网状内皮系统吞噬能力及溶血素抗体水平,增强DNCB引起的迟发型超敏反应。说明固本益肾胶囊具有提高机体的免疫功能的作用。此作用可证实其固本益气之功效。

## [参考文献]

- [1] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:779,757,747.
- [2] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科技出版社,2006:725.
- [3] 马骏,任远,王志旺,等.复方红芪颗粒剂主要药效学研究[J].中成药,2005,27(8):933.
- [4] 马荣芳,苏显红.扶正固本汤治疗支气管哮喘缓解期临床观察[J].实用中医内科杂志,2009,23(5):42.
- [5] 郑伟鸿,郑伟达,郑东海,等.扶正固本法治疗恶性肿瘤经验[J].世界中西医结合杂志,2009,4(4):292.
- [6] 侯家玉,方泰惠.中药药理学[M].北京:中国中医药出版社,2007:211.
- [7] 聂树禄,姚黎,李玉清.应用紫河车预防原发肾病综合征复发[J].2002,10(14):68.

[责任编辑 聂淑琴]