

熄风静宁汤对小鼠免疫功能的影响

李燕, 徐荣谦*, 王俊宏, 古文财, 夏桂选, 张晶洁
(北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究熄风静宁汤对免疫低下小鼠免疫功能的影响。方法: 环磷酰胺 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 建立免疫功能低下小鼠模型, 熄风静宁汤 ($3, 6, 12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) ig 连续 7 d, 用碳粒廓清法观察小鼠单核巨噬细胞吞噬功能, 耳肿增重法观察小鼠迟发型超敏反应, 溶血素抗体测定法观察小鼠溶血素抗体生成。结果: 熄风静宁汤高、中剂量能明显提高免疫功能低下小鼠的碳粒廓清指数和吞噬指数, 拮抗环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠耳肿胀度减轻, 高剂量能提高免疫低下小鼠溶血素抗体生成。结论: 熄风静宁汤对小鼠的非特异性免疫、特异性细胞免疫和体液免疫反应有促进作用。

[关键词] 熄风静宁汤; 免疫功能; 环磷酰胺; 多发性抽动症

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0198-04

Effects of Xifeng Jingning Tang on Immunologic Function in Mice

LI Yan, XU Rong-qian*, WANG Jun-hong, GU Wen-cai, XIA Gui-xuan, ZHANG Jing-jie

(Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Xifeng Jingning Tang on immunologic function in mice with immunodepression. **Method:** The immunodepression mice model was induced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide with $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Mice were administrated with Xifeng Jingning Tang at doses of $3, 6, 12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ for 7 days. The phagocytic activity of monocytes, the delayed hypersensitivity reaction and the haemolysin antibody formation in mice were observed by means of carbon particle clearance, ear swelling and haemolysin antibodies respectively. **Result:** The doses of 6 and $12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}$ of Xifeng Jingning Tang could improve immune function in mice shown by carbon clearance index, phagocytic index and ear swelling. Xifeng Jingning Tang $12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ could increase content of haemolysin antibody induced by cyclophosphamide. **Conclusion:** Xifeng Jingning Tang can improve non-specific immunity, and enhance specific cellular immunity and humoral immune function in immunodepression mice induced by cyclophosphamide.

[Key words] Xifeng Jingning Tang; immune function; cyclophosphamide; Tourette syndrome

熄风静宁汤是刘弼臣教授治疗儿童 Tourette 综

合征(多发性抽动症,或抽动-秽语综合征)的经验方。前期研究已证明熄风静宁汤具有较好的镇静、催眠、抗惊厥作用^[1-2]。Tourette 综合征的发病与免疫有密切关系^[3-4], Tourette 综合征患儿多存在免疫功能的异常,疾病的发生和加重常与外感密切相关。临床实践证明熄风静宁汤不但能明显减轻 Tourette 综合征抽动症状,而且可以有效地改善呼吸道症状。为进一步探求熄风静宁汤的作用机制,本实验观察了其免疫功能低下小鼠免疫功能的影响。

1 材料

1.1 药物 熄风静宁汤使用颗粒剂,东直门医院制

[收稿日期] 2010-12-14

[基金项目] 北京中医药大学在读研究生自主选题资助项目
(2009JYB22-XS056)

[第一作者] 李燕, 博士生, 从事中医药防治小儿呼吸系统及精神行为系统疾病的研究, Tel: 010-84013158, E-mail: xinzhenyuanzi@163.com

[通讯作者] * 徐荣谦, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治小儿呼吸系统及精神行为系统疾病的研究, Tel: 010-84013158, E-mail: xurongqian1950@163.com

剂室提供;注射用环磷酰胺,山西普德药业有限公司生产,批号 20090902;胸腺肽肠溶胶囊,上海宝龙药业有限公司,批号 090622;印度墨汁,北京中西远大科技有限公司,批号 091210;2,4-二硝基氟苯(DNFB),四川西亚化工股份有限公司,批号 200910261;无水碳酸钠,四川西亚化工股份有限公司,批号 200912161;柠檬酸三钠,批号 F20080202、柠檬酸,批号 20100302、氯化钠,批号 20100810、无水葡萄糖,批号 20100309,均为国药集团化学试剂有限公司;硫化钠,上海统亚化工科技发展有限公司,批号 100309。鸡红细胞(CRBC),抽取鸡翼静脉血,按常规方法制备 CRBC 悬液^[5];豚鼠血清,购于欣源佳和生物科技有限公司。

1.2 动物 ICR 雄性小鼠,体重 18~22 g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2006-0009;SPF 鸡,北京梅里亚维通实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2009-0003。

1.3 仪器 723 型可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;JA1003N 电子天平,上海精科实业有限公司;LD5-2A 型离心机,北京医用离心机厂;YLS-Q4 耳肿打孔器,山东省医科院设备站;DR-HW-2 电热恒温水浴箱,北京市医疗设备总厂。

2 方法

2.1 对环磷酰胺免疫抑制小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的影响 雄性 ICR 小鼠 60 只随机分为 6 组,每组 10 只。分别为空白对照组:0.9% 氯化钠注射液 20 mL·kg⁻¹;模型组:0.9% 氯化钠注射液 20 mL·kg⁻¹;胸腺肽组:15 mg·kg⁻¹;熄风静宁汤低、中、高剂量组(3,6,12 g·kg⁻¹)20 mL·kg⁻¹·d⁻¹,ig,连续 7 d。给药第 3 日开始,除正常对照组外,其余各组 ip 环磷酰胺 50 mg·kg⁻¹,连续 3 d。末次药后 1 h,各鼠均按 10 mL·kg⁻¹ iv 20% 印度墨汁。注射后分别在 2 min(T_1),10 min(T_2)从小鼠眼眶取血 20 μ L,加入盛有 2 mL 的 0.1% 碳酸钠溶液(1 g·L⁻¹)试管中摇匀,另取正常小鼠血液 20 μ L 溶于 0.1% 碳酸钠溶液中校零,用分光光度计于 680 nm 处分别测 2,10 min 的吸光度(A);将小鼠处死后取肝脏和脾脏,吸干血迹后称重,根据公式计算廓清指数 K 及吞噬指数 α 。

$$K = (\lg A_1 - \lg A_2) / (T_2 - T_1)$$

$$\alpha = K^{1/3} (\text{体重} / \text{肝脾合重})$$

2.2 对环磷酰胺免疫抑制小鼠迟发型过敏反应(DTH)的影响 分组给药、造模同 2.1。给药第 3

日同时给小鼠致敏。致敏前腹部脱毛,以 1% 2,4-二硝基氟苯(DNFB)25 μ L 涂于小鼠腹部脱毛处,次日强化(同前量),致敏第 4 日右耳涂以 DNFB 10 μ L 攻击。24 h 后处死小鼠,用 9 mm 打孔器取下左右耳片,称重,以左右耳片之差表示 DTH 强度。

2.3 对环磷酰胺免疫抑制小鼠血清溶血素含量的影响 分组给药、造模同 2.1。给药第 3 日各鼠用 5% 鸡红细胞悬液 0.2 mL ip 进行免疫。末次药后 1 h,眼后静脉丛采血 1 mL,分离血清,用生理盐水稀释 100 倍,取稀释血清 1 mL 加入 5% 鸡红细胞 0.5 mL,置冰浴中,每管加入 0.5 mL 以生理盐水 1:10 稀释过的豚鼠血清,37 $^{\circ}$ C 恒温水浴中孵育 30 min,即放入冰浴以终止反应,2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清 1 mL,放置 10 min 后,用分光光度计在 540 nm 处比色。样品空白对照以 1 mL 生理盐水代替小鼠血清样品,以 A 代表血清溶血素的指标。

3 结果

3.1 对环磷酰胺免疫抑制小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的影响 由表 1 可见,模型组小鼠廓清指数 K 和吞噬指数 α 明显低于对照组($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药胸腺肽组和熄风静宁汤高剂量组的 K 和 α 明显高于模型组($P < 0.01$),中剂量组高于模型组($P < 0.05$),提示熄风静宁汤能提高环磷酰胺免疫抑制小鼠的单核巨噬细胞吞噬功能。

表 1 熄风静宁汤对环磷酰胺免疫抑制小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	廓清指数	吞噬指数
正常对照	-	0.032 2 \pm 0.003 6 ²⁾	5.950 3 \pm 0.577 7 ²⁾
模型	-	0.023 0 \pm 0.003 8	4.847 3 \pm 0.603 5
胸腺肽	0.015	0.031 0 \pm 0.005 9 ²⁾	5.783 4 \pm 0.575 0 ²⁾
熄风静宁汤	3.0	0.025 1 \pm 0.006 3	5.195 0 \pm 0.471 4
	6.0	0.029 1 \pm 0.008 3 ¹⁾	5.343 5 \pm 0.424 6 ¹⁾
	12.0	0.030 4 \pm 0.003 8 ²⁾	5.509 8 \pm 0.349 7 ²⁾

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

3.2 对环磷酰胺免疫抑制小鼠 DTH 反应的影响 由表 2 可见,模型组小鼠耳肿胀度明显低于对照组($P < 0.01$);与模型组比较,胸腺肽和熄风静宁汤高剂量组的小鼠耳肿胀度明显高于模型组($P < 0.01$),中剂量组高于模型组($P < 0.05$),提示熄风静宁汤可拮抗环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠耳肿胀度减轻,增强低下的 DTH 反应水平。

表 2 熄风静宁汤对环磷酰胺免疫抑制小鼠
DTH 反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	耳肿胀度/mg
正常对照	-	3.800 ± 1.135 ²⁾
模型	-	1.700 ± 0.823
胸腺肽	0.015	3.200 ± 1.317 ²⁾
熄风静宁汤	3	2.400 ± 1.174
	6	2.900 ± 1.449 ¹⁾
	12	3.100 ± 1.100 ²⁾

3.3 对环磷酰胺免疫抑制小鼠血清溶血素含量的影响 由表 3 可见,模型组小鼠血清溶血素含量明显低于对照组 ($P < 0.01$);与模型组比较,胸腺肽组小鼠溶血素含量明显高于模型组 ($P < 0.01$);熄风静宁汤高剂量组高于模型组 ($P < 0.05$),说明熄风静宁汤能增强免疫低下小鼠血清溶血素含量。

表 3 熄风静宁汤对环磷酰胺免疫抑制小鼠
血清溶血素含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血清溶血素
正常对照	-	0.1493 ± 0.0150 ²⁾
模型	-	0.0911 ± 0.0145
胸腺肽	0.015	0.1111 ± 0.0164 ¹⁾
熄风静宁汤	3	0.0969 ± 0.0172
	6	0.1003 ± 0.0181
	12	0.1076 ± 0.0169 ¹⁾

4 讨论

本实验结果显示,熄风静宁汤高、中剂量对免疫抑制小鼠网状内皮系统吞噬能力有促进作用,提示熄风静宁汤可以增强小鼠非特异性免疫功能,这种增强免疫的作用可防止抽动症状的复发和加重;高、中剂量熄风静宁汤可增强低下的 DTH 反应水平,提示熄风静宁汤对小鼠特异性细胞免疫功能有促进作用,这种免疫增强对 Tourette 综合征患儿存在细胞免疫功能低下具有重要意义;熄风静宁汤高剂量可增强免疫低下小鼠的血清溶血素含量,提示熄风静宁汤可提高特异性体液免疫的功能。

在 Tourette 综合征临床治疗中,熄风静宁汤在改善症状、控制病情发展、副作用少等方面有着重要的优势。熄风静宁汤中所隐含的“未病先防,既病防变”和“截外风以驱内风”的调肺理论,与现代医学免疫调节存在相似之处。熄风静宁汤以辛夷、苍耳子、玄参、板蓝根、木瓜、半夏、伸筋草、天麻、钩藤、白

芍、蝉蜕、僵蚕、全蝎、炙甘草等为主要组分,具有调肺利窍、疏风祛痰之效。现代药理研究表明,辛夷、玄参、板蓝根、木瓜、半夏、伸筋草、天麻、白芍、甘草等药物的提取物或煎剂具有增强机体免疫功能,改善机体免疫能力的作用^[6-15]。虽然方中苍耳子、钩藤等部分少量药物的药理研究提示其具有免疫抑制的作用^[16-17],但实验结果证明熄风静宁汤复方总体对环磷酰胺免疫抑制小鼠的非特异性免疫、特异性细胞免疫和体液免疫反应有促进作用,体现了中医药治疗的综合效应。

《内经》提出“正气存内,邪不可干”,正气的强弱是疾病发生发展的决定性因素。“肺主一身之气”,“肺卫为一身之藩篱”,肺卫功能状态可以体现人体正气的强弱。Tourette 综合征患儿常因呼吸道感染诱发或加重,说明 Tourette 综合征患儿存在肺卫功能的异常以及正气的不足,这与现代医学已证实的 Tourette 综合征患儿存在免疫功能异常相一致。本实验证明熄风静宁汤对小鼠的免疫功能具有促进作用,从中医理论出发,提示熄风静宁汤具有提高人体正气、改善肺卫功能的作用,从现代免疫学的角度为“调肺”理论治疗 Tourette 综合征提供了又一佐证。

[参考文献]

[1] 杨龙飞. 熄风静宁冲剂治疗 Tourette 征的药效及机理研究[D]. 北京中医药大学硕士研究生学位论文, 2003:24.

[2] 刘初生, 王俊宏, 刘弼臣. 熄风静宁汤对抽动-秽语综合征患儿血浆多巴胺和兴奋性氨基酸的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(5): 19.

[3] 郭淑玉, 王海链, 周力音, 等. 抽动秽语综合征与免疫学的探讨[J]. 中国免疫学杂志, 1996, 12(6): 365.

[4] 谢小玲, 叶海翠, 戴智勇, 等. TS 临床与补体 C3 关系的探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2001, 11(8): 42.

[5] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 15.

[6] 吉晓滨, 邓家德, 臧林泉, 等. 辛夷对实验性变态性鼻炎红细胞免疫功能的影响[J]. 广东医学, 2006, 27(8): 1149.

[7] 李医明, 蒋山好, 朱大元. 玄参属植物化学成分与药理活性研究进展[J]. 中草药, 1999, 30(4): 307.

[8] 许益民, 陆平成, 王永珍, 等. 板蓝根多糖促进免疫功能的实验研究[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(6): 357.

当归散对正常和缩宫素处理大鼠离体子宫活动力的影响

张建英, 楚更五*, 刘秀萍, 聂坚
(云南中医学院, 昆明 650200)

[摘要] 目的:探索复方当归散对大鼠体外子宫平滑肌的作用及部分作用机制。方法:运用 PowerLab10T 生物信号记录系统,记录大鼠体外子宫平滑肌的活动,采用振幅、频率/周期、基线和活动力变化为观察指标,探讨当归散水提取物对子宫平滑肌自主收缩运动的影响,初步探索其治疗先兆流产的作用机制。结果:当归散水提取物能明显抑制子宫平滑肌的收缩振幅和基线,显著降低其活动力,均具有统计学意义。缩宫素能明显抬高大鼠离体子宫平滑肌收缩的基线并且缩短收缩周期/增加收缩频率,差异有显著性意义;中药当归散可使缩宫素引起的变化恢复至离体子宫正常收缩水平,使收缩波形的振幅、频率/周期和基线以及活动力与正常离体子宫平滑肌收缩各项指标无显著性差异。结论:当归散水提取物能抑制大鼠体外子宫平滑肌自主收缩,并拮抗缩宫素引起的兴奋性收缩,为探索当归散安胎作用机制提供了客观依据。

[关键词] 当归散;大鼠;子宫平滑肌

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0201-03

Effects of Danggui San on Isolated Smooth Muscle of Uterus and Uterine Smooth Muscle Strips Stimulated by Oxytocin in Rats

ZHANG Jian-ying, CHU Geng-wu*, LIU Xiu-ping, NIE Jian

(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Danggui San on uterine smooth muscle in rats and the related mechanism of it. **Method:** The effect of Danggui San decoction on the spontaneous activity of uterine smooth muscle by was observed PowerLab 10T biological signaling system and the activity of isolated uterus smooth muscle was recorded. The indexes include the amplitude, frequency / period, baseline and mobility in rat's uterine smooth

[收稿日期] 2010-11-12

[基金项目] 2008 年云南中医学院科学研究基金立项。

[第一作者] 张建英, 讲师, 主要从事中医综合实验研究, Tel:15825294609, E-mail:lifangti126.com@126.com.

[通讯作者] * 楚更五, 教授, 从事情志致病机制及心身疾病防治规律研究, Tel:13518712100, E-mail:chugengwu@yahoo.com.cn.

- [9] 项昭保, 唐春红, 陈岗, 等. 木瓜中齐墩果酸测定方法的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4):23.
- [10] Naito T. 半夏厚朴汤对人血浆和唾液中神经肽水平的影响[J]. 国外医学. 中医中药分册, 2005, 27(1):36.
- [11] Naito T. 比较半夏泻心汤和六君子汤对人血浆 CGRP 和 P 物质水平的影响[J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(6):37.
- [12] 郑海兴, 周忠光, 何倜. 伸筋草煎剂对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 中医学报, 2005, 33(4):36.
- [13] 罗海, 孙中吉. 天麻素的基础药理研究和临床应用[J]. 武警医学院学报, 2007, 16(4):465.
- [14] 张泓, 魏文树, 陈敏珠. 白芍总甙的免疫调节作用及机理[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1990, 4(3):190.
- [15] 齐敏. 甘草酸药理作用及机制的研究进展[J]. 牡丹江医学院学报, 2009, 30(3):79.
- [16] 王龙妹, 傅惠娣, 周志兰. 枸杞子、白术、细辛、苍耳子对白细胞介素-2 受体表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2009, 9(3):172.
- [17] 黄青萍, 蔡乐. 钩藤的药理作用及临床应用[J]. 广西中医药, 2003, 26(4):6.

[责任编辑 何伟]