

黄芪注射液和有氧运动对一次力竭运动大鼠 外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

李永峰*, 韩勇, 郭勇力, 王传军, 李晔

(山东体育学院日照校区基础理论系, 山东日照 276826)

[摘要] **目的:**探讨黄芪注射液和有氧运动对一次力竭运动大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响,为改善力竭运动引起的免疫功能低下寻找有效的干预措施。**方法:**将 50 只大鼠随机均分为 5 组:对照组、一次性力竭运动组(取材前做一次力竭运动)、有氧运动+一次性力竭运动组(有氧运动 4 周后做一次力竭运动)、服药+一次性力竭运动组(灌服黄芪注射液 4 周后做一次力竭运动)、服药+有氧运动+一次性力竭运动组(灌服黄芪注射液并做有氧运动 4 周后做一次力竭运动),每组 10 只。经过 4 周的实验后,记录力竭运动时间,用流式细胞术测大鼠外周血 CD4⁺和 CD8⁺百分率,并测定实验前后大鼠体重。**结果:**一次力竭后大鼠 CD4⁺T 百分率和 CD4⁺/CD8⁺比例显著降低($P < 0.01$),CD8⁺T 百分率显著升高($P < 0.01$),黄芪注射液和有氧运动均预防 T 淋巴细胞亚群的这种变化;有氧+力竭组、服药+力竭组和服药+有氧+力竭组大鼠的力竭时间较一次力竭组大鼠长($P < 0.01$),并且服药+有氧+力竭组大鼠的力竭时间较有氧+力竭组、服药+力竭组大鼠长($P < 0.01$)。**结论:**黄芪注射液和有氧运动均可提高大鼠运动能力,可预防力竭运动大鼠免疫功能降低,两者配合在提高运动能力方面具有协同作用。

[关键词] 黄芪注射液;有氧运动;一次力竭运动;CD4⁺/CD8⁺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0181-04

Effect of Radix Astragali Injection and Aerobic Exercise on Quantities of Peripheral T Lymphocyte Subsets in Rats Performing once Exhausting Exercise

LI Yong-feng*, HAN Yong, GUO Yong-li, WANG Chuan-jun, LI Ye

(Shandong Sports University, Rizhao 276826, China)

[Abstract] **Objective:** In order to search potent intervening means for low-level exercise-associated cellular immune capacities, effect of Radix Astragali injection and Aerobic exercise on quantities of peripheral T lymphocyte subsets in rats was observed. **Method:** 50 Wister Rats were randomly divided into 5 groups: quiet control group ($n = 10$), once exhausting exercise group (once exhausting exercise before drawing materials) ($n = 10$), Aerobic exercise and once exhausting exercise group (once exhausting exercise after aerobic exercise for four weeks) ($n = 10$), Radix Astragali injection and once exhausting exercise group (once exhausting exercise after oraling Radix Astragali injection for four weeks) ($n = 10$), Radix Astragali injection and Aerobic exercise and once exhausting exercise group (once exhausting exercise after oraling Radix Astragali injection and for aerobic exercise four weeks) ($n = 10$). After 4 weeks test, time of exhaustive exercise were recorded, percentage of peripheral T Lymphocyte subsets in circulating blood were tested by FCM, and body weight were measured before and after experiment. **Result:** After exhausting exercise, percentage of CD4⁺ and the ratio of CD4⁺ to CD8⁺ in Lymphocyte subsets, as well as were lower ($P < 0.01$), percentage of CD8⁺ as well as were higher than that in normal control group ($P <$

[收稿日期] 20100325(005)

[通讯作者] *李永峰,医学硕士,讲师,研究方向:运动医学、中医学基础, Tel:13210631005, E-mail:liyongfeng@sdpei.edu.cn

0.01)。The change was prevented by Radix Astragali injection and aerobic exercise; the exhausting exercise time of aerobic exercise and once exhausting exercise group, astragali injection and once exhausting exercise group, Radix Astragali injection and aerobic exercise and once exhausting exercise group as well as were longer than once exhausting exercise group ($P < 0.01$), and the exhausting exercise time of Radix Astragali injection and aerobic exercise and once exhausting exercise group as well as were longer than aerobic exercise and once exhausting exercise group, Astragali injection and once exhausting exercise group ($P < 0.01$)。 **Conclusion:** Radix Astragali injection and aerobic exercise may improve exercise capacity and preven immunosuppression in rats after exhaustive exercise in rats, enhance effect after combining the two means.

[**Key words**] Radix Astragali injection; exhausting exercise; aerobic exercise; $CD4^+ / CD8^+$

大强度急性运动后,淋巴细胞浓度下降,增殖分化能力及活性降低,免疫球蛋白含量及功能也受到影响,运动员对疾病的易感率升高,影响运动员的身体健康和比赛成绩。所以预防大强度运动后的免疫抑制成为运动医学的重要研究课题。中药黄芪能补气固表,提高机体的免疫功能^[1],《医宗金鉴·删补名医方论》说:“惟黄芪能补三焦而实卫,为元府御风之关键”。有氧运动或适中负荷的运动能提高机体的免疫机能,预防感染性疾病的发生^[2-4]。本实验旨在研究黄芪注射液和有氧运动对一次力竭运动大鼠 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 百分率及 $CD4^+ / CD8^+$ 比例的影响,以探求有效的运动性免疫的调理措施。

1 材料与方法

1.1 动物及分组 雄性 SD 大鼠 50 只,8 周龄,体重 (200 ± 10) g,由山东中医药大学实验中心提供。动物许可证号 SCXK(鲁)2005 0015,分笼饲养,自由饮食,国家标准啮齿类动物饲料喂食,室温 $20 \sim 24$ °C,湿度 $50\% \sim 60\%$ 。将 50 只大鼠随机分为 5 组,每组 10 只,对照组(无运动,安静状态下取材)、一次力竭组(一次力竭运动后立即取材)、有氧+力竭组(有氧运动 4 周后,进行一次力竭运动,然后取材)、服药+力竭组(服药 4 周后,进行一次力竭运动,然后取材)、服药+有氧+力竭组(有氧运动并服药 4 周后,进行一次力竭运动,然后取材)。

1.2 药物、主要试剂和仪器 黄芪注射液,神威药业有限公司生产,10 mL/支(相当于含生药 20 g),批号 080113。服药组在每日训练后 1 h 灌胃,按黄芪生药 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 标准^[5],共 28 d。非服药组灌胃等量的生理盐水。动物跑台:型号为 PT-96,六跑道,速度 $0.07 \sim 2 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ 。淋巴细胞分离液购自 TBD 公司,荧光标记单克隆抗体 $CD4\text{-FITC}$, $CD8\text{-FITC}$ 购自深圳市达科为生物技术公司,流式细胞仪

为美国 Coulter 公司产品,酶标仪芬兰为 Lab System 产品。岛津 U-2000 紫外-可见分光光度计(HITACHI, Ltd. TOKYO, Japan);全自动高速冷冻离心机(Benkman);电热恒温水浴锅(江苏红旗医疗器械厂)。

1.3 运动方式 有氧运动:采用 Bedford 大鼠体重/摄氧量回归方程所建立的渐增负荷运动模型^[6]中的第一级负荷: $0^\circ, 8.2 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}, 15 \text{ min}$ (相当于 $53\% \text{ VO}_{2\text{max}}$)。持续 4 周。一次力竭运动:采用 Bedford 大鼠体重/摄氧量回归方程所建立的渐增负荷运动模型^[6]。第 1 级负荷: $0^\circ, 8.2 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}, 15 \text{ min}$ (相当于 $53\% \text{ VO}_{2\text{max}}$);第 2 级负荷: $5^\circ, 15 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}, 15 \text{ min}$ (相当于 $64\% \text{ VO}_{2\text{max}}$);第 3 级负荷: $10^\circ, 19.3 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ (相当于 $76\% \text{ VO}_{2\text{max}}$)运动至力竭。运动中使用电刺激维持运动强度。力竭标准:第 3 级负荷运动中,动物未能坚持本级负荷运动跑速,先后滞跑道后 1/3 处达 3 次以上,刺激驱赶无效。行为特征为:呼吸急深、幅度大,腹卧位,垂头,刺激后无反应^[7]。

1.4 方法 大鼠眼球取血,肝素抗凝,经淋巴细胞分离液(Ficoll)密度梯度离心分离淋巴细胞,细胞计数,取约 1×10^6 个细胞,稀释于 1 mL PBS 中,每例标本共做 2 管,各管分别加入 $CD4\text{-FITC}$, $CD8\text{-FITC}$ 抗体 $10 \mu\text{L}$ 混匀,于暗处反应 30 min, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 洗 2 遍,用流式细胞仪检测大鼠外周血淋巴细胞 $CD4^+$, $CD8^+$ 细胞的百分率,同时计算 $CD4^+ / CD8^+$ 。

1.5 数据处理 利用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行计算和统计处理,对各组数据进行描述性统计(数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示)、相关分析和方差分析。

2 结果与分析

2.1 黄芪注射液和有氧运动对大鼠体重的影响

见表 1。试验前各组体重差异不显著,无统计学意义。试验后大鼠的体重都有所增加,其中对照组和一次力竭组大鼠体重增加最多,服药 + 力竭组增加最少;一次力竭组大鼠体重增加与正常对照组无差异,有氧 + 力竭组、服药 + 有氧 + 力竭组大鼠体重增加较正常对照组缓慢,但差异不显著,服药 + 力竭组大鼠体重增加较正常对照组缓慢,有显著性差异 ($P < 0.01$);有氧 + 力竭组、服药 + 有氧 + 力竭组大鼠体重增加较服药 + 力竭组迅速,有显著性差异 ($P < 0.01$);服药 + 有氧 + 力竭组大鼠体重增加较有氧 + 力竭组体重增加缓慢,但差异不显著。

表 1 黄芪注射液和有氧运动对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	实验前/g	实验后/g	体重变化/g
对照	225.2 ± 11.66	291 ± 40.47	65.8 ± 23.03
一次力竭	224.5 ± 15.52	300.3 ± 38.87	65.9 ± 22.91
有氧 + 力竭	227.6 ± 18.06	283.5 ± 41.33	55.9 ± 24.44
服药 + 力竭	230 ± 16.17	255.8 ± 20.79	25.8 ± 17.97 ^{1,2,3)}
服药 + 有氧 + 力竭	227.8 ± 15.56	270.4 ± 30.18	42.6 ± 27.78

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与一次力竭组比较²⁾ $P < 0.01$;与有氧 + 力竭组比较³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

2.2 黄芪注射液和有氧运动对大鼠力竭时间的影响 大鼠力竭时间有氧 + 力竭组 (103.31 ± 3.32) min、服药 + 力竭组 (102.12 ± 4.89) min 和服药 + 有氧 + 力竭组 (111.09 ± 7.70) min 较一次力竭组 (92.47 ± 5.46) min 长,有显著性差异 ($P < 0.01$);有氧 + 力竭组与服药 + 力竭组大鼠的力竭时间无差异;服药 + 有氧 + 力竭组大鼠的力竭时间较有氧 + 力竭组、服药 + 力竭组大鼠长,有显著性差异。

2.3 黄芪注射液和有氧运动对大鼠 CD4⁺T 和 CD8⁺T CD4⁺/CD8⁺ 的影响 见表 2。有氧 + 力竭组、服药 + 力竭组、服药 + 有氧 + 力竭组大鼠 CD4⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺ 均显著高于正常对照组 ($P < 0.01$), 有氧 + 力竭组、服药 + 力竭组、服药 + 有氧 + 力竭组 CD8⁺T 显著低于正常对照组 ($P < 0.01$);一次力竭组大鼠 CD4⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺ 均显著低于正常对照组 ($P < 0.01$), 一次力竭组 CD8⁺T 显著高于正常对照组 ($P < 0.01$);有氧 + 力竭组、服药 + 力竭组与服药 + 有氧 + 力竭组相比, CD4⁺T 和 CD8⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺ 均无差异。

3 讨论

成熟的 T 淋巴细胞包括 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞亚群, CD4⁺ 淋巴细胞能增强和扩大机体的免疫应答,

表 2 黄芪注射液和有氧运动对大鼠 CD4⁺T 和 CD8⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	CD4 ⁺ T	CD8 ⁺ T	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照	28.87 ± 1.80	18.50 ± 1.37	1.59 ± 0.17
一次力竭	25.47 ± 1.83 ²⁾	20.30 ± 1.31 ²⁾	1.36 ± 0.13 ²⁾
有氧 + 力竭	30.10 ± 1.78 ³⁾	17.98 ± 1.27 ³⁾	1.82 ± 0.19 ³⁾
服药 + 力竭	29.05 ± 2.07 ³⁾	17.59 ± 1.39 ³⁾	1.81 ± 0.20 ³⁾
服药 + 有氧 + 力竭	29.53 ± 2.06 ^{1,4)}	17.04 ± 1.27 ³⁾	1.83 ± 0.25 ³⁾

注:与正常对照组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

CD8⁺ 淋巴细胞能抑制免疫应答过程,2 种作用相反的 T 淋巴细胞借助相互拮抗,调节机体的免疫应答。当 CD4⁺/CD8⁺T 细胞比例上升,则提示正相免疫调节占优势;CD4⁺/CD8⁺T 细胞比例下降,则提示负相免疫调节占优势^[8]。

Green K J 等^[9] 的报道认为,有时主要表现为 CD4⁺ 细胞上升或不变,而 CD8⁺ 细胞明显下降,结果是 CD4⁺/CD8⁺ 上升;有时则表现为 CD4⁺ 细胞下降,而 CD8⁺ 细胞上升或不变;也有时表现为 CD8⁺ 细胞增加的比例大于 CD4⁺ 增加的比例而导致 CD4⁺/CD8⁺ 下降。出现这种差异的主要原因,据 Katherine J 和 Pedersen B K 等^[10-11] 的研究报道认为,主要与机体对运动负荷与运动强度的适应状况有关。在本次实验中,一次力竭运动组大鼠 CD4⁺T 和 CD4⁺/CD8⁺ 明显低于正常对照组 ($P < 0.01$), CD8⁺T 明显高于正常对照组 ($P < 0.01$)。与 Bouix 等^[12] 的研究结果相似。说明一次力竭运动可以使大鼠正免疫调节能力降低,有害于健康。另外,本实验还表明一次力竭组大鼠的实验后体重增加与安静对照组无差异,是因为体重的测定是在力竭运动前,而在运动前一次力竭组与安静对照组的处理一样。

目前普遍认为适量运动可增强免疫力^[13]。何晓耘等^[14] 研究表明,适度的游泳运动锻炼可改变大鼠外周血液 T 细胞亚群的百分比,使 CD4⁺/CD8⁺ 明显提高。在本次实验中,有氧 + 力竭组大鼠 CD4⁺T 和 CD4⁺/CD8⁺ 明显高于一次力竭组,CD8⁺T 明显低于一次力竭组,有显著性差异, ($P < 0.01$),但与正常对照组相比,无统计学意义。说明 53% VO_{2max} 的有氧运动可以阻止因力竭运动引起的大鼠 CD4⁺T 和 CD4⁺/CD8⁺ 下降,CD8⁺T 升高。另外,本实验还表明有氧运动组大鼠力竭时间较力竭运动组长,是因为通过 4 周的有氧运动,大鼠的心肺功能增强,从而使大鼠的耐力增强,运动时间延长。

黄芪,味甘,性微温,归脾肺二经,具有补气升阳,益气固表等功能^[15]。张晓明等^[1]研究表明,黄芪可增强小鼠 NK 细胞的活性,提高机体抗病毒的能力,从而减轻病毒对机体的炎症伤害。

在本次实验中,服药 + 力竭组大鼠 CD4⁺T 和 CD4⁺/CD8⁺明显高于一次力竭组,CD8⁺T 明显低于一次力竭组,有显著性差异($P < 0.01$),但与正常对照组相比,无统计学意义。说明黄芪注射液可以防止因力竭运动引起的大鼠 CD4⁺T 和 CD4⁺/CD8⁺下降,CD8⁺T 升高。也可以认为黄芪注射液对细胞免疫的增强作用主要是通过促进 CD4⁺T 细胞,抑制 CD8⁺T 细胞来实现的,从而使两者比例增高,机体免疫应答能力增强。徐浩明等^[16]认为,中药黄芪可以抑制因耐力运动造成的 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺/CD8⁺降低的发生,改善细胞免疫功能。另外,本实验还表明服药 + 力竭组大鼠实验后体重增加较安静对照组缓慢,可能与实验过程中的饲养不当有关;服药 + 力竭组大鼠力竭时间较力竭运动组长,可能是因为黄芪通过减少 CEC 数量,降低血浆 ET 含量^[17],提高血清 NO 含量,提高 SOD 含量,降低 MDA 含量^[18],从而使大鼠的运动能力增强,运动时间延长。

本实验发现,服药 + 有氧 + 力竭组大鼠 CD4⁺T 和 CD8⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺与一次力竭组相比有显著性差异($P < 0.01$),但与正常对照组、有氧 + 力竭组、服药 + 力竭组相比无显著性差异。说明内服黄芪注射液和有氧运动配合应用对一次力竭运动后大鼠 CD4⁺T 和 CD8⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺的影响没有协同作用。可能是因为 CD4⁺T 和 CD8⁺T 及 CD4⁺/CD8⁺已经达到正常值。另外,本实验还表明服药 + 有氧 + 力竭组大鼠的力竭时间较力竭运动组、有氧 + 力竭组、服药 + 力竭组大鼠长,是因为有氧运动和黄芪的协同作用,使大鼠的耐力增强,运动时间延长。

[参考文献]

[1] 张晓明,杨景山. 白细胞介素-2 和黄芪多糖对小鼠 NK 细胞活性和增殖及形态的影响[J]. 北京医科大学学报,1991,23:176.
[2] 李晓明,李金容. 健身气功-易筋经锻炼对大学生免疫系统的影响[J]. 安徽体育科技,2006,27(5):46.
[3] Kohut M L, Arntson B A, Lee W, et al. Moderate exercise

improves antibody response to influenza immunization in older adults[J]. Vaccine,2004,22(2):2298.

[4] Akimoto T, Kumai Y, Akama T, et al. Effects of 12 months of exercise training on salivary IgA levels in elderly subjects[J]. Br J Sports Med, 2003,37(1):76.
[5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:1103.
[6] Bedford T G, Tipton C M, Wilson N C, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. J Appl Physiol, 1979, 47(6):1278.
[7] 李玉琳. 运动生理学的运动试验[J]. 中国运动医学杂志, 1986, 5(1):40.
[8] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京:科学出版社,2001:281.
[9] Green K J, David G, Rowbottom. Exercise induces changes to *in vitro* T-lymphocyte mitogen responses using CFSE[J]. J Appl Physiol,2003,95(1):57.
[10] Katherine J, Green, David G, et al. Exercise and T-lymphocyte function: a comparison of proliferation in PBMC and NK cell-depleted PBMC culture[J]. J Appl Physiol, 2002,92(6):2390.
[11] Pedersen B K, Laurie Hoffman-Goetz. Exercise and the immune system: regulation, integration and adaptation [J]. Physiol Rev, 2000,80(3):1055.
[12] Bouix O, Mezouini M, Orsetti A. Effects of naloxone opiate blockade on the immunomodulation induced by exercise in rats[J]. Inter J Sports Med,1995,16:29.
[13] Nie man D C. Exercise immunology:practical application [J]. Inter J Sports Med,1997,1:31.
[14] 何晓耘,许小琴,郜平光,等. 适度运动对摄入高能饲料大鼠 T 淋巴细胞亚群免疫的影响[J]. 西安体育学院学报,2007,24(4):66.
[15] 崔俊雪. 黄芪注射液的临床应用[J]. 继续医学教育, 2002, 16(8):25.
[16] 徐浩明,孔兆伟. 黄芪对耐力运动大鼠 CD4⁺/CD8⁺ 比值及身体成分的影响[J]. 北京体育大学学报, 2003,26(4):469.
[17] 肖军. 黄芪对大运动量训练大鼠内皮损伤及功能紊乱的保护作用[J]. 广州体育学院学报,2007,27(6):105,94.
[18] 徐芝芳,郭层城,曾锡银. 蒙古黄芪中药对提高连续运动大鼠心肌组织抗自由基能力的研究[J]. 体育科学,2005,25(2):76.

[责任编辑 邹晓翠]