

因中药免疫组学而对中药四君子汤免疫调节作用的研究

刘辉^{1*}, 林敬连¹, 郭月秋²

(1. 大连医科大学临床免疫学教研室, 辽宁 大连 116044;

2. 大连市药品检验所中药室, 辽宁 大连 116021)

[摘要] 目的: 探讨和验证中药免疫组学研究基本思路和方法。方法: 根据单味中药免疫效应评估数学模型计算出四君子汤每味中药有免疫效应的概率和四君子汤有免疫效应的概率; 以 SRBC 激发小鼠的免疫系统, 对小鼠 ig 四君子汤和生理盐水, 检测小鼠抗 SRBC 抗体水平; 比较对四君子汤免疫效应的计算判别和实验判别的结果。结果: 四君子汤计算判别有免疫作用; 实验组抗 SRBC 抗体生成水平高于对照组 ($P < 0.05$); 计算判定结果与实验结果相符。结论: 初步证明本文提出的中药免疫组学方法对阐述中药的免疫调节效应具有一定的指导意义。

[关键词] 免疫调节; 中药免疫组学; 中药药理

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 07-0125-03

中药的免疫调节作用一直是中药药理作用的研究热点^[1-3], 究其原因可能主要是由于中药的免疫调节作用确实有长于西药之处。另外, 中药的免疫调节作用可以解释中药在抗炎、抗肿瘤等作用中的辅助效应^[2-3], 因此对中药的免疫效应的研究有可以成为中西医结合研究的突破口。

传统的中药多以复方为主, 多种单味中药的不同组合构成了数量浩瀚的中药方剂, 为此作者提出中药免疫组学 (Immunomics of traditional Chinese medicine)^[4-5], 试图通过对单味中药的免疫效应推测和阐述任意中药组合 (方剂) 可能存在的免疫调节作用。作者根据文献信息学的原理, 对 1980 年以来的中药免疫方面的研究文献进行了汇总分析, 结合中药学特征提出了对单味中药免疫效应的判别方程^[4]。本文以此为基础, 对传统名方四君子汤的免疫效应进行分析并进行实验验证。

1 材料和方法

1.1 单味中药免疫作用的计算判定 根据中药免疫效应评估数学模型^[6] 计算评估某一中药有免疫效应的概率, 数学模型如下:

$$P_{\#} = (e^{A+B+C-4.087}) \div (1 + e^{A+B+C-4.087})$$

式中: $A = 0.235 \times \text{果实} + 0.626 \times \text{地下部分} -$

$1.134 \times \text{其他部分}$ (其他部分指果实、种子、根以外的部分入药)

$$B = 1.001 \times \text{性平} + 2.079 \times \text{味淡} + 1.374 \times \text{味酸} - 0.793 \times \text{味辛} + 1.172 \times \text{心经} + 0.811 \times \text{肾经} + 0.731 \times \text{脾经}$$

$$C = 0.774 \times \text{安神} + 3.706 \times \text{补益} - 17.532 \times \text{化湿} + 1.790 \times \text{化痰} + 2.251 \times \text{活血祛瘀} + 2.096 \times \text{解表} - 17.949 \times \text{理气} + 0.065 \times \text{利水渗湿} + 1.694 \times \text{清热} - 17.592 \times \text{驱虫} + 1.540 \times \text{祛风湿} + 0.678 \times \text{祛寒} - 1.241 \times \text{收敛} + 2.516 \times \text{外用} - 17.631 \times \text{消食} + 1.708 \times \text{泻下} + 2.266 \times \text{止咳平喘} + 0.082 \times \text{其他}$$

中药特性按 2005 年版《中国药典》一部记载为准, 某药有某一特性以 1 代入方程, 否则以 0 代入方程。 $P_{\#}$ 为判定概率, 以概率 0.5 为判断点, > 0.5 认为该药有免疫调节作用。

1.2 四君子汤免疫效应的计算判定 根据单味中药免疫效应评估数学模型计算出中药复方中每味中药有免疫效应的概率, $P_1, P_2 \dots P_n$, 那么, 中药复方免疫调节作用的计算判定概率为有免疫效应的前 50% 概率的均值。如四君子汤 (党参、白术、茯苓、甘草) 的单味药有免疫效应的概率分别为 0.878, 0.726, 0.654 和 0.878, 其复方的有免疫效应的概率为 $(0.878 + 0.878) / 2 = 0.878$ 。以概率 0.5 为判断点, > 0.5 认为该药有免疫调节作用。

1.3 四君子汤免疫效应的实验验证

1.3.1 四君子汤水煎剂制备 党参、白术 (炒)、茯苓、炙甘草从大连医科大学附属医院中药房购得, 经

[收稿日期] 20100130(002)

[基金项目] 辽宁省教育厅资助课题 (990221063)

[通讯作者] * 刘辉, 硕士, 教授, 主要从事中医药免疫研究,

Tel: (0411) 86110383, E-mail: liuhui60@mail.

dlptt.ln.cn

大连市药品检验所鉴定为正品。四君子汤按党参 50 g, 白术(炒) 50 g, 茯苓 50 g, 炙甘草 25 g 的比例配成, 炮制过程如下: 先将药品洗净, 党参去芦, 加水 1 500 mL 浸泡 60 min, 分两次煎, 一煎时用文火煎至 200 mL, 滤出, 再加水 800 mL, 文火煎至 200 mL, 滤出, 两次煎剂混合煎熬浓缩至 200 mL, 过滤, 高压除菌, 分装后于 4℃ 冰箱保存。

1.3.2 实验方法 取昆明种小鼠, 体重 18 ~22 g, 40 只雌雄各半, 先 ip 75% 压积绵羊红细胞 (SRBC) 0.2 mL/只; 1 d 后, 随机分成 2 大组, 每组 20 只, 分别 ig 四君子汤和生理盐水 0.5 mL/只, 每天 1 次, 连续 7 d; 于实验第 4 天, 将 2 大组再随机分成 2 小组, 每小组 10 只, 分别 ip 环磷酰胺 (CY) 0.2 mL (100 mg·kg⁻¹) 和生理盐水 0.20 mL/只。至此 4 小组分别为: 生理盐水对照组、环磷酰胺组、环磷酰胺 + 四君子汤组和四君子汤组。于实验第 8 天摘眼球取血, 分离血清备检。

1.3.3 血清抗 SRBC 抗体效价的检测 采用微量血球凝集实验, 过程简述如下: 用球形玻璃滴管吸取稀释液, 在微量血凝板小孔内各加一滴 (25 μL), 并设阴性对照; 用稀释棒蘸取受检血清 (25 μL) 后, 放入测定孔, 捻搓稀释棒 50 ~80 次, 使孔内血清与稀释液充分混匀, 然后将稀释棒移入第 2 孔, 依同法顺序作倍比稀释; 各孔加 5% 绵羊红细胞悬液 1 滴, 放微型振荡器上振荡 1 min, 置 37℃ 温箱 30 min, 观察结果, 以 50% 血球凝集 (++) 为判断抗体效价终点。

1.3.4 统计分析 实验结果以 1 X 表示, 将 1 X 转成对数后采用 t 检验比较两组间均值, 显著性水准 P < 0.05。用 SPSS 软件协助完成。

2 结果

四君子汤的单味中药, 党参、白术、茯苓、甘草 4 味中药有免疫调节效应的计算概率分别为: 0.878, 0.726, 0.654 和 0.878。四君子汤有免疫效应的概率为 0.878, 计算判定为有免疫效应。实验验证结果见表 1, 四君子汤组抗体效价显著高于生理盐水组 (P < 0.01); 环磷酰胺 + 四君子汤组抗体效价显著高于环磷酰胺组 (P < 0.01)。

3 讨论

传统中药的使用以复方水煎剂口服用药为主, 因此单味中药水煎剂口服给药的药理效应应该是研究传统中药的基本单位。我们的先期工作以实验研

表 1 ig 四君子汤对小鼠抗体生成水平的影响 (n = 10)

分组	平均抗体效价		P 值
	1:X	Log	
生理盐水对照	1 2.14	0.331	< 0.0001
四君子汤	1 8.71	0.940	
环磷酰胺对照	1 1.07	0.030	< 0.0001
环磷酰胺 + 四君子汤	1 2.00	0.301	

究和文献信息学为基础(将两个以上单位独立完成并发表两篇以上的支持有免疫调节作用的论文的中药认定为有免疫调节作用的中药)建立了单味中药免疫效应推定的数学模型^[6-8], 其最终目的是通过组成方剂的单味中药推定该方剂的免疫效应, 因此, 不同种类的有免疫效应的单味中药混合在一起后的免疫叠加效应是中药免疫组学要解决的关键问题。目前研究的一般看法是, 在中药中起免疫调节的主要成分各种中药多糖^[9-10], 由于多糖的化学性质较稳定, 因此, 我们认为对中药多数组合而言, 免疫的协同作用和拮抗作用并不占多数, 这是通过单味中药对复方中药的免疫效应进行推断的基础。我们以文献为先期的先期工作证明: 根据数学模型得到的单味中药免疫效应概率, 在其组方中 P₇₅ (四分位数) 可以较好地代表该方剂的免疫效应^[5], 本文提出的复方的概率判别原则与上述方法一致。本文以中医传统名方四君子汤为例进行分析: 组成四君子汤的 4 味中药有免疫调节效应的计算概率分别为: 0.878, 0.726, 0.654, 0.878, 四君子汤有免疫效应的概率为 0.878, 计算判定为有免疫效应。实验验证结果表明, 四君子汤可以显著提高机体生成抗体的水平, 有提高机体免疫能力的作用, 这与有关的研究结果一致^[11], 计算结果与实验结果得到了互相印证。本文的意义在于初步建立了中药免疫组学的分析方法并完成了对一个方剂分析的系统工作, 为中药免疫组学的深入研究提供有参考价值的思路和途径。

[参考文献]

[1] 刘翠艳, 赵宏坤, 韩春杨. 中药免疫调节剂对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, (2): 178.

[2] 王晓玉, 魏伟. 抗炎免疫中药的药动力学研究[J]. 时珍国医国药, 2006, (10): 2073.

[3] 杨金霞, 王学美. 中药抗肝癌免疫调节的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, (4): 281.

- [4] 刘辉, 常波, 刘微微, 等. 因中药免疫组学而进行的中药免疫调节作用的实验研究[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(8): 719.
- [5] 刘辉, 郭月秋. 基于中药免疫组学对中药方剂免疫调节作用的评估[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(24): 2958.
- [6] 王虹菲, 刘启贵, 刘辉. 构建中药免疫数据库及对中药免疫规律的研究[J]. 中草药, 2007, 38(2): 297.
- [7] 李艳菊, 刘辉. 基于中药信息学对三种中药免疫调节作用的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34(6): 834.
- [8] 王虹菲, 曾家琳, 刘薇薇, 等. 中药免疫数据库的构建与应用[J]. 中华医学图书情报杂志, 2007, 16(2): 12.
- [9] 李绍旦, 杨明会. 补益中药多糖的免疫调节作用及其机理研究进展[J]. 中国医学杂志, 2006, 4(12): 668.
- [10] 邓昊, 田国燕, 史亦谦. 中药多糖的免疫调节作用研究进展[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(4): 26.
- [11] 温庆祥, 古颖. 四君子汤对脾虚患者免疫功能影响[J]. 北京中医, 2006, 25(4): 239.
- [责任编辑 聂淑琴]

第三届中医药现代化国际科技大会学术征文通知

“第三届中医药现代化国际科技大会”将于 2010 年 11 月 25 - 26 日在四川成都召开。现将有关征文等事项通知如下:

1. 征文内容:

分会一 中医药创新与发展政府论坛

围绕中医药多边国际合作、标准化建设等征文。投稿邮箱: icetcm_1@ 163. com

分会二 中医药学的现代理念与基础理论研究

围绕中医药现代理念、基础理论及作用机理等征文。投稿邮箱: icetcm3rd@ 163. com

分会三 中医药防治慢性疾病与疗效评价研究

围绕慢性疾病中医药诊疗方案、疗效评价等征文。投稿邮箱: icetcm2010clinic@ 126. com

分会四 中医药防治重大传染病的研究

围绕重大传染病中医药诊疗方案、疗效评价等征文。投稿邮箱: hui931222@ sina. com

分会五 中药资源的可持续开发和保护

围绕中药资源保护、中药材规范化种植、质量标准等征文。投稿邮箱: liu_xianwu@ yahoo. com. cn

分会六 中药创新与产业发展

围绕中药新药研究开发、关键共性技术及产业发展等征文。投稿邮箱: tcm028@ 126. com

分会七 民族医药发展与创新

围绕民族医药的保护、传承与发展等征文。投稿邮箱: gujiancd@ 163. com

2. 联系人: 学术委员会办公室(成都中医药大学科技处) 彭腾, 电话: 86 - 28 - 61800101, 13880376673, E-mail: kjchjz@ 163. com

3. 详细征文要求及更多会议信息请关注大会网站, (<http://www.icetcm.org>) 邮编: 611137