

香芪四君子汤对小鼠红细胞免疫功能 和抗热应激的影响

史红专¹, 王恬², 王亚君¹

(1. 南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095; 2. 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095)

摘要:目的: 观察香芪四君子汤对小鼠红细胞免疫功能和抗热应激能力的影响。方法: 对昆明种小鼠进行脾虚造模, 以香芪四君子汤饲喂正常及脾虚小鼠, 10 天后测其红细胞免疫指标及其在高温环境中的生存时间。结果: 与空白对照组相比较, 香芪四君子汤能显著提高健康和脾虚小鼠红细胞膜受体花环率(RBC-C₃b-Rb) ($P < 0.01$), 降低小鼠红细胞膜免疫花环率(RBC-IC-RR) ($P < 0.01$); 能明显延长健康和脾虚小鼠在高温环境下的生存时间($P < 0.01$)。结论: 香芪四君子汤能显著提高小鼠红细胞免疫功能和抗热应激能力, 其红细胞免疫能力的高低与抗热应激的能力强弱成正相关。

关键词: 香芪四君子汤; 红细胞免疫; 热应激

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)06-0033-03

Effect of Xiangqi-sijunzi Decoction on Red Cell Immune Function and Anti-heat Stress in Mice

SHI Hong-zhuan¹, WANG Tian², WANG Ya-jun¹

(1. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiang Su 210095, China;
2. The Department of Animal Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiang Su 210095, China)

Abstract: Objective: To observe the effect of xiangqi-sijunzi decoction on red cellular immunity and anti-heat stress on mice. Method: spleen-asthenia model of kunming mice was made, then the normal mice and the spleen-asthenia mice were fed with xiangqi-sijunzi decoction. Test the index of red cellular immunity and survive time in high temperature after 10 days. Result: after xiangqi-sijunzi decoction treatment, the RBC-C₃b-RR of normal and spleen-asthenia mice can be

significantly improved comparing with control group ($P < 0.01$), the RBC-IC-RR was decreased ($P < 0.01$); the survive time of the normal and spleen-asthenia mice can be obviously prolonged ($P < 0.01$). Conclusion: the red cellular immunity and heat stress abilities can be significantly improved by xiangqi-sijunzi decoction treatment, the ability of red cellular immune and anti-heat stress activity have a positive correlation.

Key words: xiangqi-sijunzi decoction; red cellular immunity; heat stress

香芪四君子汤由健脾益气的代表方四君子汤(党参、白术、茯苓、炙甘草)和黄芪、香薷组成,以往的研究显示黄芪多糖和四君子汤具有较好的提高小鼠红细胞免疫功能的作用,但对其抗热应激的作用未见报道。本实验主要探讨香芪四君子汤对红细胞免疫和抗热应激作用,以便为相关研究的进一步开展提供依据。

1 实验材料

昆明种小鼠 80 只,雌雄各半,体重 $17 \pm 2\text{g}$,由南京中医药大学动物实验中心提供。

香芪四君子汤的制备(由黄芪、党参、茯苓、白术、甘草、香薷按 5:3:3:3:2:2 比例配伍)用 5 倍量水浸泡 30min,用武火煮沸 15min,然后用文火煎煮 1h,过滤后,药渣再用 3 倍量水重复煎煮 1 次,合并 2 次滤液,按 1:1 比例浓缩(每 mL 含生药 1g)。同法将生大黄煎液制成 1:1 的浓度备用。

酵母多糖和补体致敏酵母多糖冻干试剂由第二军医大学长海医院免疫室提供。

显微镜(XSP-16A 型,江南光学仪器厂),恒温水浴锅,电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9030A 型,上海精宏实验设备有限公司)

2 实验方法

2.1 脾虚小鼠模型的建立和分组

2.1.1 脾虚小鼠模型的建立 将 40 只小鼠(雌雄各半)每天上午灌服大黄煎液 20g 生药/kg 体重,当发现灌服大黄的小鼠出现精神萎靡不振、便溏、食少、皮毛不光滑时,脾虚模型可以成立(此过程需要 9d)。

2.1.2 分组 造模成功以后,将模型组平均分为脾虚中药组和脾虚组,每组为 20 只,分别灌服香芪四君子汤和自来水 0.2mL/只;同时将另 40 只小鼠分为空白组和中药组,分别灌服自来水和香芪四君子汤 0.2mL/只,每组 20 只小鼠。连续灌服 10d。

2.2 小鼠红细胞免疫实验 给药结束后,每组取 10 只小鼠摘眼球放血采血样。根据郭峰(1982)方法^[1]将红细胞制成 $1.25 \times 10^7 \cdot \text{mL}^{-1}$ 使用液,补体致敏酵母多糖和酵母多糖均配制成 $1 \times 10^8 \cdot \text{mL}^{-1}$ 使用液。

取两个试管,每管加待测 RBC 使用液 0.075mL,第 1 管再加补体致敏酵母多糖使用液 0.075mL,第 2 管再加酵母多糖使用液 0.075mL,混匀后放 37℃ 恒温水浴锅中水浴 30min,取出后加生理盐水 0.15mL,混匀后再加 0.25% 戊二醛 0.05mL,混匀后取 0.1mL 涂片,吹干,加甲醛固定,加少许瑞氏液和瑞氏缓冲液,用生理盐水冲洗后显微计数。一个红细胞上结 2 个或 2 个以上酵母菌为一朵花环。计数 200 个 RBC,算出百分率。第 1 管为 RBC-C₃b 受体花环率,第 2 管为 RBC-IC 花环率。结果见表 1。

表 1 复方中草药制剂对小鼠红细胞免疫的影响 ($n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	RBC-C ₃ b-RR(%)	RBC-IC-RR(%)
中药组	10	14.58 ± 1.76 ^{(2), (3), (5)}	8.41 ± 1.34 ⁽³⁾
脾虚中药组	10	11.00 ± 1.67 ^{(1), (3)}	8.50 ± 1.19 ⁽³⁾
脾虚空白组	—	8.87 ± 1.67 ^{(1), (2), (5)}	10.45 ± 1.56 ^{(1), (2)}
空白对照组	—	12.21 ± 2.49 ^{(1), (3)}	8.91 ± 1.94 ⁽⁴⁾

注:与中药组相比⁽¹⁾ $P < 0.05$;与脾虚中药组相比⁽²⁾ $P < 0.01$;与脾虚空白组相比⁽³⁾ $P < 0.01$,⁽⁴⁾ $P < 0.05$;与空白对照组相比⁽⁵⁾ $P < 0.01$ 。

2.3 小鼠抗热应激实验 给药结束后,将每组另 10 只小鼠分别逐个放入 55℃ 恒温鼓风干燥箱中,观察并记录小鼠死亡时间。结果见表 2。

表 2 香芪四君子汤对热应激小鼠存活时间的影响 ($n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	55℃ 时小鼠存活时间(min)
中药组	10	14.5 ± 1.16 ⁽²⁾
脾虚中药组	10	10.5 ± 1.53 ⁽¹⁾
脾虚空白组	—	8.98 ± 1.56 ⁽¹⁾
空白对照组	—	11.7 ± 2.50 ^{(1), (2)}

注:与中药组相比⁽¹⁾ $P < 0.01$;与脾虚中药组相比⁽²⁾ $P < 0.01$ 。

2.4 统计方法 试验数据先用 Microsoft Excel 作初步处理,然后采用 SPSS 软件包(Oneway A NOVA, LSD)进行分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 香芪四君子汤对小鼠红细胞免疫的影响 从表 1 可见小鼠脾虚时会影响到红细胞的免疫功能。脾虚组小鼠红细胞膜受体花环率(RBC-C₃b-RR)与其它四组相比明显降低($P < 0.01$),中药组小鼠红细胞膜受体花环率(RBC-C₃b-RR)最高,脾虚组小鼠红细

胞膜免疫花环率(RBC-IC-RR)最高,与中药组和脾虚中药组相比分别提高 24.25% 22.94% ($P < 0.01$)。

3.2 香芪四君子汤对小鼠抗热应激的影响 从表 2 可见在 55℃环境下,中药组小鼠存活时间最长,脾虚组小鼠存活时间最短。

4 讨论

红细胞的结构简单,没有细胞核和细胞器,只有细胞膜,以往一直认为其功能仅仅是作为运输呼吸气体的工具,直至 50 年代才发现红细胞和白细胞一样具有重要的免疫功能,其发挥免疫作用的基础是红细胞具有免疫黏附功能,并有促进白细胞吞噬的作用。到 20 世纪 60 年代证实这种免疫黏附功能是通过补体 C₃ 受体实现的。虽然这种受体在红细胞膜上的密度仅为白细胞的 1/20~ 1/60,但与白细胞相比,红细胞数量多(约为白细胞的 1000 倍),代谢快,又能反复黏附运输,消灭免疫复合物,因此红细胞具有不可忽视的免疫作用。1981 年美国生殖免疫学家 siegel 提出了“红细胞免疫系统”新概念^[2]。红细胞 C₃b 受体花环率(RBC-C₃b-RR)能反映红细胞免疫黏附能力的强弱,而红细胞免疫复合物花环率(RBC-IC-RR)可判断红细胞免疫黏附活性与免疫复合物之间的关系^[3]。

本实验中,中药组小鼠 RBC-C₃b-RR 比空白对照组显著提高,而 RBC-IC-RR 值比空白对照组低。说明香芪四君子汤能明显提高健康小鼠的红细胞免疫能力。脾虚组 RBC-C₃b-RR 明显下降,RBC-IC-RR 明

显升高,经服香芪四君子汤后 RBC-C₃b-RR 明显提高,RBC-IC-RR 明显下降,说明香芪四君子汤能明显提高脾虚小鼠的红细胞免疫能力。

Garvey(1982) 研究报道机体应激时会产生大量的免疫复合物 IC, IC 主要通过红细胞膜上的 C₃b 受体从机体中清除^[4]。因此 RBC-C₃b-RR 的高低从某些方面也反应了机体抗应激能力的强弱。本实验将小鼠置于 55℃的高温环境,使小鼠在外来应激条件下产生大量的 IC,结果表明,中药组存活时间最长,脾虚小鼠存活时间最短,其中脾虚中药组小鼠比脾虚组存活时间延长。可见香芪四君子汤能提高健康和脾虚小鼠的抗热应激能力。

综上所述,香芪四君子汤在提高健康和脾虚小鼠红细胞免疫功能的同时也提高了小鼠的抗热应激能力,且小鼠红细胞免疫功能的强弱和其抗热应激能力的强弱有一定的正相关性。

参考文献:

- [1] 郭峰,李承郃,赵中平,等. 正常人红细胞免疫功能的初步研究[J]. 第二军医大学学报, 1982, (3): 188.
- [2] Siegel I. The red cell immune system[J]. Lancet, 1981, 2: 556.
- [3] 郭峰,骆永珍. 红细胞免疫新探[M]. 南京: 南京大学出版社, 1993. 160.
- [4] Garvey JS. Immunity and the red blood cell[J]. Lancet, 1982, 1: 223.