

清肺口服液对免疫功能影响的实验研究

陈江全 任现志 汪受传

(南京中医药大学儿科教研室, 江苏 南京 210029)

摘要:目的: 观察清肺口服液对机体免疫功能的影响。方法: 采用依赖细胞株法和微量细胞病变抑制法, 检测其诱生 IL-2 和干扰素。结果: 清肺口服液能诱导单个淋巴细胞产生 IL-2, 以及 γ 干扰素。结论: 提示清肺口服液有一定的调节机体免疫力作用。

关键词: 清肺口服液; 白细胞介素-2; γ 干扰素; 巨噬细胞

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2003)04-0047-02

小儿肺炎是国家卫生部要求重点防治的小儿四病之一。临床研究表明清肺口服液(由炙麻黄、葶苈子、虎杖等组成), 对小儿病毒性肺炎有明显的疗效^[1], 为了明确清肺口服液对机体的免疫调节作用, 我们做了清肺口服液诱生 IL-2 和 γ 干扰素等研究, 现将实验结果汇报如下:

1 材料

1.1 受试药物 清肺口服液。每剂制成浓度为 100% 的口服液 100ml, (南京中医药大学第一附属医院药剂科提供, 批号 970423 下同)。

1.2 细胞因子及依赖性细胞株 rIL-2、CTL-2 由南京军事医学研究所提供。细胞与病毒 L₉₂₉ 细胞 NDV (血凝效价 1280u/ml) VSV (TCID₅₀ 为 10⁻⁶) 由南京医科大学提供; 细胞培养液 95% RPMI-1640 液含 10% 小牛血清加多抗, 细胞维持液 95% RPMI-1640 液含 5% 小牛血清加多抗; 动物 ICR 小鼠由南京中医药大学实验动物中心提供。

1.3 试剂 PHA, MTT (美国 FCAG 公司产品, 批号 000298-93-1)、二甲基亚砜、淋巴细胞分离液。

2 方法与结果

2.1 诱生白细胞介素-2 作用的研究 取新鲜血白细胞 2 个单位, 加入淋巴细胞分离液分离淋巴细胞, 用培养液调细胞至 2 × 10⁶ 个/ml。MTT 比色分析法检测 IL-2 的活性单位, 采用二甲基亚砜溶解甲臞, IL-2 活性单位计算参考 Gillis 介绍的方法^[2]。

将清肺口服液用加入含 6% AB 型血清的 1640 液稀释成 10mg/ml、5mg/ml、2.5mg/ml、1.25mg/ml、

0.625mg/ml 5 个不同浓度(下同), PHA 的终浓度为 0.2mg/ml。取 24 孔培养板, 加入调好浓度的淋巴细胞悬液及不同浓度的清肺口服液和 PHA, 另一培养板加入不同浓度清肺口服液及 PHA 的混合液, 混匀后置 37 °C 5% CO₂ 培养箱内培养 48h, 收集上清液, 分别检测 IL-2 的活性单位。结果见表 1:

表 1 清肺口服液诱生 IL-2 的作用

受试药物	清肺口服液					清肺口服液+ PHA					PHA
浓度(mg/ml)	0.625	1.25	2.5	5	10	0.625	1.25	2.5	5	10	0.2
IL-2 含量(IU/L)	0.236	1.76	1.54	2.76	4.69	8.5	9.7	64.6	95.9	17.4	30.95

从表 1 可以看出: 不同剂量清肺口服液协同 PHA 诱生 IL-2 的结果, 尤以 2.5mg/ml~5mg/ml 浓度协同 PHA 诱生 IL-2 的效价最高。且比 PHA 单独诱生的 IL-2 含量 30.95IU/L 要高。不同剂量清肺口服液单独诱生 IL-2 的结果, 尤以 5mg/ml 浓度诱生 IL-2 的效价为高。总体来说清肺口服液单独诱生 IL-2 是有作用的, 但所诱生 IL-2 的效价明显低于与 PHA 协同诱生者。

2.2 诱生干扰素作用的研究 采用微量细胞病变抑制法^[3]。取 ICR 小鼠 18 只随机分为 3 组, 每组 6 只, 分别腹腔注射清肺口服液 2g/ml NDV 和生理盐水各 0.5ml。24h 后无菌取血, 分离血清后检测干扰素效价, 结果见表 2。

表 2 清肺口服液诱在小鼠体内诱生干扰素的作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量	干扰素效价(log ₄ U/ml)
清肺口服液	0.5	3.50 ± 1.2
NDV	0.5	7.35 ± 1.33
生理盐水	0.5	1.67 ± 0.52

将腹腔注射 24h 后所取的小鼠血清(每组 6 只),分别用胰酶(Trypsin 0.25mg/ml)或 56℃水浴作用 1h,或 pH2.0 4℃处理 24h 后再测定其效价,结果见表 3。

表 3 清肺口服液诱生干扰素的型别($\bar{X} \pm S$)

处理方法	作用时间(h)	干扰素量(log ₂ u/ml)
空白		7.0 ± 1.47
0.25mg/ml 胰酶	1	3.4 ± 0.89
56℃水浴	1	4.7 ± 0.72
pH2.0 4℃	24	4.4 ± 0.56

从表 2 可以看出清肺口服液诱生干扰素的效价为 3.50log₄u/ml,而生理盐水组诱生效价为 1.67log₄u/ml,两组相比,有显著差异(P < 0.05),说明清肺口服液有诱生干扰素的作用,但清肺口服液诱生的干扰素效价与 NDV 诱生的相比则较低,说明清肺口服液诱生干扰素的能力较 NDV 弱。从表 3 可以看出清肺口服液诱生的干扰素经胰酶作用 1h 后其效价明显下降,而经 56℃水浴作用 1h 或 pH2.0 4℃作用 24h 后其效价也下降明显,表明清肺口服液诱生的干扰素对 56℃水浴和 pH2.0 作用敏感,符合 γ-干扰素(INF-γ)的性质。

另外,我们还进行了清肺口服液对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能影响的研究,结果发现清肺口服液可以提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力,增强小鼠的非特异性免疫力。

3 讨论

清肺口服液由麻黄、葶苈子、虎杖等药物组成,具有清热解毒,开肺化痰等作用,临床用于小儿病毒性肺炎疫热壅肺证疗效满意。病毒感染后,患儿特异性和非特异性免疫功能均下降,说明病毒感染可抑制患儿的免疫功能,降低机体的抗病毒能力。本实验研究表明清肺口服液具有诱生 IL-2 的作用,但

IL-2 本身并无直接的抗病毒活性,是 T 淋巴细胞受抗原刺激后所产生的一种具有多种生物学活性的免疫激活因子,在整个免疫系统的细胞调节中起着重要作用,并且参与机体的炎症调控。它是通过增强机体抗病毒免疫功能,如增强 CTL 活性 NK 活性,促进 B 细胞、LAK 细胞、ADCC 细胞分化增殖,诱生 INF-α 等介导其抗病毒作用的^[4]。

实验研究还发现清肺口服液能诱生 γ-干扰素,INF 是一种有多种功能的免疫活性物质,在机体的抗病毒感染中起着重要作用,它不仅参与形成抗病毒蛋白,阻止病毒在体内复制,还能促进细胞毒性 T 细胞、NK 细胞和巨噬细胞的增殖和活化。增强对病毒感染的靶细胞的杀伤作用,因此 INF 是体内的重要作用因子^[5]。

由此可见,清肺口服液作为辨证组方治疗小儿病毒性肺炎的中成药,它的治疗效果肯定,疗效机理则是多方面的,前期研究表明它不但具有直接抗病毒的作用^[6],而且能提高机体自身免疫力来达到治疗效果。

参考文献:

- [1] 汪受传. 小儿病毒性肺炎的辨证治疗[J]. 江苏中医, 2000, 21(5): 1.
- [2] Gills S, Fem MM, Ou wetal. T cell growth factor: parameters of production and a quantitative microassay for activity[J]. J Immunol, 1978, 12: 2027.
- [3] Robb RJ. Interleukin: the molecular and its function[J]. Immunol Today, 1984, 5(7): 203.
- [4] 田一玲,王仲文. 白细胞介素-2 的生物学活性及其临床应用[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1992, 4(3): 48.
- [5] 肖成祖. 干扰素研究进展和技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991. 44-46.
- [6] 李江全,任现志,汪受传,等. 清肺口服液对常见呼吸道病毒抑制作用的研究[J]. 辽宁中医学院学报 2002, 4(2): 153.