

长寿长乐口服液的免疫学研究

马 静¹, 黄文荣¹, 熊玉兰², 孙建辉², 周钟鸣², 王彦礼²

(1 贵州长寿长乐医药研究所, 遵义 563000; 2 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 本研究采用环磷酰胺制作小鼠免疫功能低下模型, 用以观察长寿长乐口服液的免疫调节作用。结果表明该口服液对免疫低下小鼠的免疫器官重量、网状内皮系统吞噬功能, 细胞免疫及体液免疫均有增强作用, 提示该口服液具有免疫调节作用。

关键词: 长寿长乐口服液; 免疫调节

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** D **文章编号:** 1005-9903(2000)05-0052-02

长寿长乐口服液由黄芪、人参、鹿茸、冬虫夏草等名贵药材及贵州特有地道药材 10 余味精制而成, 本文观察了其对小鼠免疫功能的调节作用。

1 材料

1.1 动物 BALB/C 纯系小鼠, 雄性, 体重 18~ 22g, 中国医学科学院实验动物中心提供。NIH 小鼠, 雄性, 体重 18~ 22g, 中国中医研究院实验动物中心提供。

1.2 药物试剂 长寿长乐口服液: 5g 生药/100ml, 批号 950801, 由贵州长寿长乐制药厂提供。实验时在水浴锅口蒸发浓缩至 0.25g 生药/ml。环磷酰胺注射液(Cy): 沈阳药学院制药厂出品, 批号 930624。Con-A: 美国 Sigma 公司出品。³H-TdR: 中国原子能研究所提供。L929 细胞: 北京中医药大学提供。

1.3 仪器 UV-754 分光光度计: 上海第三分析仪器厂。多头细胞收集器(Titerlek Cell Harvester 550)。液体闪烁仪(LS 9800 Beckman)。酶标仪 BIO BAD M 450。CO₂ 培养箱 YAMATO IP-31。

2 方法与结果

2.1 对小鼠碳廓清的影响 NIH 小鼠, 按体重均匀分成 5 组。3 个给药组分别每日 PO 口服液 8g、4g、2g/kg。给药第 5d, 三组动物 ip Cy 100mg/kg 一次, 并继续给口服液 3d, Cy 模型组小鼠每日 PO 常水, 第 5d ip Cy

100mg/kg 一次后连续 PO 给水 3d; 正常对照组 PO 常水 8d, 第 8d 给药 30min 后, 尾静脉注射印度墨汁 0.1ml/10g 体重, 分别于 1min, 5min 取血测光密度, 并计算廓清指数 K 值和吞噬活性 α 值, 结果见表 1。

表 1 口服液对小鼠碳廓清的影响

组别	n	剂量 (g/kg)	吞噬指数 K	吞噬活性 α
正常对照	9	—	0.060±0.025	6.886±0.922
Cy 模型对照	12	—	0.041±0.015 ^Δ	6.013±0.921 ^Δ
Cy+ 口服液	9	8	0.032±0.009	5.982±1.866
Cy+ 口服液	12	4	0.059±0.023*	7.765±1.324**
Cy+ 口服液	12	2	0.049±0.021	7.045±1.337

注: Cy 组与正常组比较 ^Δ $P < 0.05$; 给药组与 Cy 组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ (下同)

表 1 结果表明, 口服液 4g/kg 能明显提高 Cy 抑制的 K 值及 α 值(分别 $P < 0.05$, $P < 0.01$); 口服液 2g/kg 能提高 α 值($P < 0.05$), 以上结果表明口服液对小鼠网状内皮系统吞噬功能具有明显激活和增强作用。

2.2 对小鼠免疫器官重量的影响 取 BALB/C 小鼠, 分组, 给药情况基本同碳廓清实验, 但口服液给药时间为十天。第十一天将全部动物称体重后处死, 取胸腺、脾脏称重, 并计算指数, 结果见表 2。

表 2 结果表明口服液 4g/kg 组能明显增加 Cy 抑制的胸腺指数($P < 0.01$)。以上结果表明, 口服液能对抗 Cy 所致免疫器官重量下降的作用。

表2 口服液对小鼠免疫器官重量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 g/kg	胸腺指数	脾指数
			胸腺重/体重	脾重/体重
正常对照	9		1.5±0.20	4.3±0.9
Cy模型对照	9		0.6±0.2 ^{ΔΔΔ}	2.2±0.3 ^{ΔΔΔ}
Cy+口服液	10	8	0.7±0.1	2.3±0.2
Cy+口服液	10	4	0.9±0.1 ^{**}	2.4±0.4

2.3 对小鼠抗体形成细胞的影响 BALB/C小鼠分组给口服液同碳廓清实验。给药第5d, 3个给药组和Cy模型对照组每日ip Cy 15mg/kg一次, 连续3d。各组小鼠均于给药第5d ip 5%绵羊红细胞0.2ml/只致敏。末次给药24h后, 摘眼球放血处死小鼠, 取脾脏用RPMI 1640制成 5×10^6 /ml脾细胞悬液, 于每支试管中依次加入脾细胞悬液、2%绵羊红细胞和1:10豚鼠血清各0.5ml混匀, 置37℃水浴中温育1h后测定溶血反应, 以OD值表示, 结果见表3。

表3 口服液对小鼠抗体形成细胞的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量	OD值
		g/kg	
正常对照组	11		1.444±0.364
Cy模型组	11		1.116±0.267
Cy+口服液	9	8	1.401±0.365
Cy+口服液	11	4	1.459±0.419 [*]
Cy+口服液	11	2	1.358±0.326

表3结果表明, 口服液4g/kg能增强Cy抑制的OD值, 说明口服液对Cy抑制的体液免疫有增强作用。

2.4 对小鼠脾淋巴细胞转化的影响 取BALB/C小鼠分组、给药基本同前, 给药时间为10d, 第11d无菌取脾制成 5×10^6 /ml细胞悬液, 取此液100 μ l, 加入96孔培养板中, 每脾做3复孔, 一孔不加Con-A, 两孔加入Con-A 10 μ g/ml(终浓度), 使每孔内容物的终体积为200 μ l, 37℃、5% CO₂培养箱中培养72h。在终止培养箱前12h, 每孔加入1 μ ci ³H-TdR, 培养结束后, 测定掺入的放射性强度(cpm), 刺激指数 = $\frac{\text{加入Con-A的cpm}}{\text{未加入Con-A的cpm}}$, 结果见表4。

表4 口服液对小鼠脾淋巴细胞转化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量	刺激指数
		g/kg	
正常对照	9		89.08±62.66
Cy对照	9		18.33±23.04 ^{ΔΔ}
Cy+口服液	10	8	231.33±220.13 [*]
Cy+口服液	10	4	200.91±419.73

表4结果表明, 口服液8g/kg能促进Cy抑制的脾淋巴细胞转化, 说明口服液对小鼠细胞免疫有促进作用。

2.5 对小鼠脾自然杀伤细胞(NKC)活性的影响 BALB/C小鼠分组、给药同前。给药时间为12d, 第13d取脾制成 1×10^7 /ml NK细胞悬液备用。靶细胞为传代培养的L929细胞, 用0.25%胰蛋白酶消化1~2min, 给RPMI 1640离心、洗涤后调成 2×10^5 /ml, 将此细胞悬液加入96孔平底培养板中, 0.1ml/孔, 置37℃、5% CO₂培养箱中培养1h, 再每孔加入NK细胞悬液0.1ml, 继续培养至20h, 弃去上清液, 用生理盐水轻洗三遍后加入0.1ml 0.1%中性红染液, 37℃培养30min, 弃去染液, 加入细胞溶解色液, 用酶标仪测定OD值, 并计算杀伤率。

表5 口服液对小鼠活性的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量	OD值	NKC活性
	g/kg		
正常对照		0.103±0.020	71.7
Cy对照		0.144±0.021 ^{ΔΔ}	60.4
Cy+口服液	8	0.121±0.024 [*]	66.8
Cy+口服液	4	0.138±0.020	62.1
Cy+口服液	2	0.144±0.023	60.4

表5结果表明, 口服液8g/kg能拮抗Cy致脾脏NKC活性的抑制, 提高NKC杀伤率。

3 小结

实验研究表明, 长寿长乐口服液对Cy所致免疫功能低下小鼠具有明显激活和增强网状内皮系统吞噬功能; 增加免疫器官重量; 提高脾脏的抗体形成能力; 促进Con-A诱导的脾淋巴细胞的增殖反应; 增强脾脏NKC活性及杀伤率。证明该口服液具有免疫调节作用。