

回生胶囊对吸毒所致免疫功能低下 动物模型的影响

罗上武¹, 陈和亮¹, 周件贵¹, 席文胜¹, 隋艳华²

(1 广州中医药大学附属珠海市中医院, 珠海 519015; 2 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

关键词: 吸毒; 免疫功能低下; 回生胶囊; 海洛因

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005- 9903(1999)06- 0045- 03

回生胶囊是本院罗上武教授多年临床实践总结的经验方。处方组成: 红参 15g、黄芪

30g、仙茅 15g、竹茹 10g、山萸肉 15g、丹参 20g、淫羊藿 25g、白芍 15g、升麻 10g、巴戟天

15g、紫花地丁 15g。经现代工艺提取,浓缩精制而成胶囊剂。具有补气益肾、养血和血之功,兼能解毒化痰。口服每次 4 粒(每粒相当于生药 5g),每日 3 次,3 个月 1 疗程,临床疗效较好。本文采用药理方法,研究了回生胶囊对吸毒所致免疫功能低下的动物模型的影响。为临床用药提供药效学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材 红参: *Panax ginseng* C. A. Mery 的干燥根,蒸制。黄芪: *Astragalus membranaceus*(Fisch.) Bge 的干燥根,蜜炙。仙茅: *Curculigo orchoides* Gaertn. 的干燥根茎。竹茹: *Bambusa tuldoidea* Munro 的茎秆的中间层刮成的丝条。山萸肉: *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。黄酒蒸制。丹参: *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎。淫羊藿: *Epimedium brevicornum* Maxim. 干燥地上部分。白芍: *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,清炒。升麻: *Cimicifuga heracleifolia* Kom 的干燥根茎。巴戟天: *Morinda officinalis* How 的干燥根,甘草水制。紫花地丁: *Viola yedoensis* Makion 的干燥全草。以上药材来源和品种购于珠海市药材公司,均经珠海市药检所周晓东药师鉴定。

1.1.2 药品 回生胶囊:由珠海市中医院制剂室提供;海洛因(Hei):由协作单位提供。

1.1.3 动物 昆明种小鼠,雌雄各半,由贵州省中医研究所动物室提供。

1.2 方法 分组:取 30 只昆明小鼠,体重 18~22g,随机分为空白组、Hei 组、回生胶囊+Hei 组(回+Hei 组)。造模:除空白组外其余 2 组均按 10mg/kg 皮下注射海洛因,每日 1 次,连续 1 周。给药:空白组和 Hei 组均用淀粉胶囊 4 粒/kg(相当回生胶囊 4 粒/kg 量),用生理盐水混悬每日灌胃 1 次,回+Hei 组给回生胶囊 4 粒/kg(相当于 20g 生药/kg),用等体积生理盐水混悬每日灌胃 1 次,连续 1 周。实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表达;组间比

较,采用非成对资料的 t 检验。

1.2.1 对小鼠单核细胞吞噬功能及免疫器官重量的影响 在末次给药后 1h,分别称重,尾静脉注射印度墨汁 0.1ml/10g 体重,于第 2、12min 时从动物眼眶静脉取血 0.03ml,常规方法测定廓清指数(吞噬指数)K。同时立即取胸腺和脾脏称重,并计算脏器指数。

1.2.2 对小鼠血清溶血素的影响 按上述分组及给药,在给药的 2d,动物腹腔注射无菌 5% 鸡红细胞悬液(cRBC)0.2ml 致敏,给药结束后眼眶取血,分离血清,测定血清抗 cRBC 溶血素抗体含量,计算 HC₅₀ 溶血值。

1.2.3 对小鼠腹腔巨噬细胞(M Φ)吞噬作用的影响 按上述分组及给药,末次给药后,动物腹腔注射无菌 5% cRBC 0.5ml,于给 cRBC 后 1h,颈椎脱臼处死小鼠,腹腔注射 Hank's 液 2ml,轻揉腹部后,吸取腹腔冲洗液涂片,晾干后 Giemsa-wright 染色,光镜观察。计数 100 个 M Φ 按下列公式计算吞噬百分率和吞噬指数:

$$\text{吞噬百分率} = \frac{\text{吞噬 cRBC 的 M}\Phi}{100 \text{ 个 M}\Phi} \times 100\%$$

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{被吞噬的 cRBC 数}}{100 \text{ 个 M}\Phi}$$

1.2.4 对小鼠迟发性超敏反应的影响 按上述分组、造模及给药,给药第 1d,动物腹部用 1% DNFB(二硝基氯苯)丙酮麻油溶液 50 μ l 涂抹去毛区皮肤致敏,第 2d 再次强化;末次给药后用 1% DNFB 丙酮液 10 μ l 涂抹右耳两面进行攻击,左耳对照。24h 剪取左右耳相同部位直径 8mm 的耳片,分别称重,计算左右耳片重量之差(肿胀度 mg)。

1.2.5 对小鼠脾细胞溶血的影响 按上述分组、造模,给药时间为 12d;给药第 8d 用无菌 5% cRBC 0.4ml/只,腹腔注射,进行免疫,末次给药后处死小鼠取出脾脏,测定脾脏细胞溶血空斑(PFC)个数。

1.2.6 对小鼠玫瑰花结形成的影响 按上述分组、造模,给药时间为 12d;给药第 8d 用无菌 5% cRBC 0.4ml/只,腹腔注射,进行免

疫,末次给药后处死小鼠取出脾脏制成脾细胞 1×10^7 个/ml 混悬液,取 $100 \mu\text{l}$ 加入经 cRBC 吸收过的灭活 FCS $100 \mu\text{l}$,另加入 5% cRBC $200 \mu\text{l}$, 37°C 5min,低速离心 500rpm, 5min 置 4°C 冰箱 2h,取 1 滴置玻片上,盖上玻片,高倍镜计数 200 个淋巴细胞,凡能结合 3 个以上 cRBC 者为阳性花结形成。

1.2.7 对小鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群的影响

按上述分组、造模,给药时间为 12d;末次给药后处死小鼠取脾脏制成匀浆,按照北京医科大学微生物与免疫学教研室提供的《抗小鼠 Thy、L3T4、Tyt2 单克隆抗体》使用说明书 1~3 进行检测。

1.2.8 对小鼠白细胞介素-2(IL-2)活性的影响 按上述分组、造模,给药时间为 12d;末次给药后处死小鼠,无菌条件下取脾脏置无菌 Hank's 液中,制作脾细胞悬液,用 Tris-NH₄Cl 溶解红细胞后,再用 Hank's 液冲洗 3 次,用含 10% FCS 的 PRMI1640 培养液配成 5×10^6 /ml 悬液,加入 24 孔细胞培养板,同时每孔加 ConA(终浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$),置 37°C 5% CO₂ 温箱培养 48h 后收集上清,检验 IL-2 的活性。

2 结果

2.1 回生胶囊对小鼠廓清指数、免疫器官重量及血清溶血素的影响 结果见表 1。回生胶囊对海洛因造成的廓清指数,脾脏、胸腺指数及 HC₅₀ 的降低有一定的提高作用。

表 1 回生胶囊对小鼠廓清指数、免疫器官重量及血清溶血素的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	廓清指数		脏器指数 mg/10g·w		HC ₅₀
	K × 100		脾脏	胸腺	
空白组	5.2 ± 1.7		34.4 ± 11.4	19.1 ± 9.1	47.2 ± 22.4
Hei 组	3.1 ± 1.2**		21.2 ± 9.9*	15.8 ± 4.3	20.3 ± 17.8**
回+ Hei 组	6.1 ± 2.4##		38.6 ± 11.3##	18.4 ± 8.1	36.4 ± 11.4#

注:与空白组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 Hei 组比较# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; $n = 10$; 以下表同

2.2 回生胶囊对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬作

用的影响 结果见表 2。回+ Hei 组吞噬百分率和吞噬指数与模型组比较有明显升高,统计学处理有显著性差异。

表 2 回生胶囊对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬作用的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	吞噬%	吞噬指数
空白组	58.3 ± 14.5	53.6 ± 12.8
Hei 组	35.2 ± 12.3**	32.7 ± 11.7**
回+ Hei 组	56.8 ± 15.7##	52.2 ± 18.2#

2.3 回生胶囊对小鼠迟发超敏反应的影响

结果见表 3。回+ Hei 组耳壳肿胀度与 Hei 组比较有明显升高,统计学有显著性差异。

表 3 回生胶囊对小鼠迟发性超敏反应的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	耳壳肿胀度(mg)
空白组	1.2 ± 0.5
Hei 组	0.6 ± 0.3**
回+ Hei 组	1.1 ± 0.4##

2.4 回生胶囊对小鼠 PFC、玫瑰花结、IL-2 的影响 结果见表 4。回+ Hei 组可使因海洛因降低的 PFC 有明显升高作用,对玫瑰花结、IL-2 活性有升高趋势,但统计学无差异。

表 4 回生胶囊对小鼠 PFC、玫瑰花结、IL-2 活性的影响

组别	PFC(个数/10 ⁵)	玫瑰花结(个数/10 ⁷)	IL-2 活性
空白组	28.9 ± 8.8	15.7 ± 6.7	31.4 ± 3.6
Hei 组	19.2 ± 7.3*	10.5 ± 6.2	22.3 ± 6.8**
回+ Hei 组	28.3 ± 6.5##	14.6 ± 4.8	30.2 ± 9.8

2.5 对小鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群的影响

结果见表 5。Hei 组的 T 淋巴细胞总数、辅助 T 淋巴细胞数(T_H)和抑制 T 淋巴细胞数(T_S)的百分率与空白组比较均有明显的降低,回+ Hei 组的 T 淋巴细胞总数、辅助 T 淋巴细胞数的百分率与 Hei 组比较有明显的升高。

表5 对小鼠脾脏T淋巴细胞亚群的影响

组别	T%	T _H %	T _S %	T _H /T _S
空白组	37.2±11.8	26.2±4.3	18.3±5.1	1.4±0.6
Hei组	24.3±14.1*	14.1±5.2**	10.9±5.3**	1.3±0.1
回+ Hei	38.3±10.2#	20.6±7.4#	15.4±4.4	1.3±0.1

3 结论

由上述结果可见,海洛因模型组动物细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫均有明显降低;回生胶囊组动物细胞免疫、体液免疫和

非特异性免疫均有明显升高;说明回生胶囊对海洛因依赖者免疫功能有显著提高作用。本课题通过临床总结,说明成瘾者戒毒后体质属气虚血滞、阴精亏损;回生胶囊具有补气益肾、养血和血的功能。该药能提高吸毒动物模型的免疫功能,亦说明其动物病理体质与人基本相同。

(收稿日期:1998-09-21)