

甘草水煎剂对应激状态下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

辽宁中医学院微生物教研组

孙泽先 隋文作 林庶茹

近年来,一些研究者从免疫学角度探讨了中医方药对单核吞噬细胞系统的影响,发现许多方药(特别是某些具有补益作用的方药)能够促进巨噬细胞的吞噬能力,提高机体的非特异性免疫功能^(1,2)。但从应激学说的角度,探讨中医方药对应激状态下机体单核吞噬细胞系统功能的作用,国内尚乏报道⁽³⁾。为此,本文初步研究了甘草水煎剂对应激状态下小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响,报告如下。

材料和方法

一、动物:选用健康封闭群小鼠(Closed colony mouse),体重 $23\pm 2g$,雌雄各半,饲养在 $20^{\circ}C$ 的恒温环境中。

二、药物:所用甘草,由辽宁省药材公司购入,系植物 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 之根。用前按传统煎药法制成100%的水煎剂。

三、鸡红细胞悬液制备:自健康雄性莱亨鸡翼静脉无菌操作下取血,并混合于血量10倍的阿氏(Alsever)液中,置 $4^{\circ}C$ 冰箱保存。用前以无菌生理盐水洗涤三次,配成3%生理盐水鸡红细胞悬液。

四、激原选择与实验分组:本文选用三种激原,即冷刺激、热刺激和饥饿刺激。刺激的强度,使实验动物在观察期间出现明显的神态萎靡、蜷缩少动、体毛疏竖等反应,并在观察的最末时间达到耐受的极限。实验分为两个部分(共计四个大组):应激状态部分(冷刺激组、热刺激组、饥饿刺激组)和安静状态部分(安静状态组)。每一大组按观察的时间不同,各分为4、8、16小时等三个小组。每一小组取用小鼠48只,随机分为给药组与对照组。

1.冷刺激组:实验前2小时,将动物从 $20^{\circ}C$ 环境中移至 $4^{\circ}C$ 环境中,并持续至实验完毕。

2.热刺激组:实验前2小时,将动物从 $20^{\circ}C$ 环境中移至 $35^{\circ}C$ 环境中,并持续至实验完毕。

3.饥饿刺激组:实验在 $20^{\circ}C$ 环境中进行。实验

前24小时,动物禁食禁水,并持续至实验完毕。

4.安静状态组:实验在 $20^{\circ}C$ 环境中进行。除与以上三组同样给药(对照组给水)并注射鸡红细胞悬液外,不附加其它刺激。

五、巨噬细胞标本制作与检查:实验开始时,给药组每只小鼠灌胃给予100%甘草水煎剂0.5ml,对照组同样途径给予等量的凉开水。然后将两组小鼠于无菌操作下每只腹腔内注射3%鸡红细胞悬液0.5ml。注毕,开始计算实验观察时间。观察结束时,用颈椎脱臼法处死小鼠。局部消毒后,剪开腹部皮肤,经腹膜注入腹腔冲洗液(Hanks液)2ml。轻揉小鼠腹部。将腹膜剪孔,用吸管回收腹腔冲洗液并移于小试管内。

1.光学显微镜标本:将小试管内回收的腹腔冲洗液摇匀,吸出0.2ml,滴于载玻片上,涂成 $2\times 3cm$ 大小之“滴片”⁽⁴⁾。将此滴片盛于湿盒内,平置在 $37^{\circ}C$ 温箱中孵育30分钟,即有多量巨噬细胞粘附于载玻片上。再用生理盐水涮去浮于其上的鸡红细胞和其他细胞,电吹风冷吹至干,甲醇固定,瑞氏-姬姆萨染色,油镜下观察,计算巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬百分率及吞噬指数。

2.透射电镜标本:将回收的腹腔冲洗液离心后,经戊二醛、锇酸固定,Epont 812包埋,超薄切片,柠檬酸铅、醋酸铀染色,于JEM100CX透射电镜下进行观察。

3.扫描电镜标本:将回收的腹腔冲洗液离心后,经戊二醛、锇酸固定,干燥,碳与金喷镀后,于JEM100CX扫描电镜下进行观察。

实验结果

一、应激状态部分:即冷刺激组、热刺激组和饥饿刺激组,其实验结果如表1~3所示(表中数据为平均数±标准差)。

由表1~3可见,应激状态各组的给药组小鼠腹腔注入3%鸡红细胞悬液后的第4、8、16小时等不同时

表1 甘草水煎剂对冷刺激组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	吞 噬 百 分 率			吞 噬 指 数		
	4 小 时	8 小 时	16 小 时	4 小 时	8 小 时	16 小 时
给 药 组	56.64±6.43	62.33±7.12	64.54±7.27	0.91±0.10	1.32±0.25	1.76±0.34
对 照 组	37.84±4.89	40.75±6.02	41.17±4.92	0.64±0.11	0.81±0.16	1.02±0.20
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表2 甘草水煎剂对热刺激组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	吞 噬 百 分 率			吞 噬 指 数		
	4 小 时	8 小 时	16 小 时	4 小 时	8 小 时	16 小 时
给 药 组	49.83±6.20	60.88±6.42	61.67±5.93	0.77±0.09	1.25±0.18	1.31±0.25
对 照 组	33.33±4.29	42.92±4.79	44.08±7.18	0.54±0.09	0.77±0.12	0.84±0.19
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表3 甘草水煎剂对饥饿刺激组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	吞 噬 百 分 率			吞 噬 指 数		
	4 小 时	8 小 时	16 小 时	4 小 时	8 小 时	16 小 时
给 药 组	54.75±6.09	57.00±5.83	55.54±9.34	0.94±0.18	1.01±0.17	1.06±0.25
对 照 组	36.46±6.22	40.00±4.15	36.00±6.45	0.61±0.14	0.66±0.12	0.62±0.17
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

期内,其胸腔巨噬细胞的吞噬百分率和吞噬指数,均明显高于相应对照组, ($P<0.01$)。

光学显微镜(油镜)下观察:可见各给药组标本中,吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数以及单位巨噬细胞所吞噬的鸡红细胞数,均较各相应对照组明显增多,尤以16小时组最为显著(图1、2,见封三);且给药组标本中的巨噬细胞多体积增大,胞浆增宽,胞核浓缩,所吞噬的鸡红细胞消化级数增加。

透射电镜下观察:可见给药组巨噬细胞的细胞膜较完整,并有短穗状突起,细胞内溶酶体较多,核形不规则,核内异染色质多聚集成块,分布于核膜内侧,细胞内所吞噬的鸡红细胞有的边缘模糊不清,呈被消

化状态(图3、4,见封三)。对照组巨噬细胞呈圆形或不定形,细胞膜外有长短不一的突起,细胞内溶酶体较少,核呈肾形或圆形,染色质分布均匀(图5,见封三)。

扫描电镜下观察:可见巨噬细胞表面有形状不一的突起与皱褶,给药组并见有吸附的鸡红细胞,准备吞噬(图6,见封三)。

上述情况,显示在应激状态下,一定量的甘草水煎剂对小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能具有明显的促进作用。

二、安静状态部分:即安静状态组,其实验结果见表4。

表4 甘草水煎剂对安静状态组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	吞 噬 百 分 率			吞 噬 指 数		
	4 小 时	8 小 时	16 小 时	4 小 时	8 小 时	16 小 时
给 药 组	34.63±4.10	43.54±4.27	30.63±4.54	0.64±0.12	0.77±0.12	0.59±0.12
对 照 组	46.38±4.36	55.21±4.05	46.03±6.04	0.85±0.13	0.99±0.14	0.86±0.20
P 值	<0.05	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01

由表4可见, 安静状态给药组小鼠腹腔注入3%鸡红细胞悬液后的第4、8、16小时等不同时间内, 其腹腔巨噬细胞的吞噬百分率和吞噬指数均明显低于各相应的对照组, ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。油镜下可见给药组标本中, 吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数以及单位巨噬细胞所吞噬的鸡红细胞数, 均少于相应对照组; 且给药组标本中的巨噬细胞多呈圆形, 胞浆较窄, 核为肾形或圆形(图7、8, 见封三)。显示在安静状态下, 同一剂量的甘草水煎剂对小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能具有抑制作用。

讨 论

甘草, 是中医临床应用十分广泛的一味补气药物。《神农本草经》曾谓甘草“主五脏六腑寒热邪气, 坚筋骨, 长肌肉, 倍力, 金疮肿, 解毒”。现代药理学研究证明, 甘草的重要成份甘草素经水解后所产生的甘草次酸, 其物理化学特性与肾上腺皮质固醇类相仿, 故甘草具有肾上腺皮质激素样作用⁽⁶⁾, 并认为甘草可通过作用于巨噬细胞而具有抑制机体免疫功能的效应⁽⁸⁾。

应激学说指出, 在机体对抗刺激的应激反应中, 肾上腺皮质激素的活跃分泌, 具有动员机体抵抗力的重要作用⁽⁷⁾。机体对肾上腺皮质激素的需要量, 应激时要比安静时大得多⁽⁸⁾。并且, 当肾上腺皮质激素适量时, 能够促进单核吞噬细胞系统的吞噬功能; 但当过量时, 则可抑制其吞噬功能^(9,10)。本文同一剂量的甘草水煎剂对应激状态和安静状态的小鼠腹腔巨噬细胞之吞噬功能分别具有促进或抑制作用, 这可能与两种不同状态的机体对于肾上腺皮质激素的需要量各自不同有一定的关系。

甘草有效成份较多, 其作用亦较复杂, 例如甘草素可通过阻抑肾上腺皮质激素在肝脏中的代谢而增强该激素的作用, 另一方面又能通过与肾上腺皮质激素争夺靶细胞的受体蛋白而抑制该激素的作用⁽¹¹⁾; 同时, 单核吞噬细胞系统的吞噬功能与机体的神经——体液调节机制密切相关⁽¹²⁾; 因此, 本文的实验结果, 究竟为甘草的何种成分, 作用于哪些环节所形成等, 有待深入研究。本文结果略可说明, 甘草对机体单核吞噬细胞系统的吞噬功能可呈双向作用, 即因机体状态之不同而显示促进或抑制作用。

在实验观察期间, 应激各组小鼠渐次出现神态萎靡、蹒跚少动、体毛疏竖等反应, 而安静状态组小鼠则活跃如常, 显示前者机体抵抗力(正气)受到明显耗

损, 而后者机体抵抗力尚未明显受损⁽¹³⁾。一定量的甘草水煎剂对前者腹腔巨噬细胞的吞噬功能具有促进作用而对后者则有抑制作用, 说明中医所说甘草之补, 须用于已虚之体(虚则补之); 若用于未虚之体, 反生不利影响(即有实实之弊)。

甘草这种在机体不同状态下发挥不同药理作用的现象, 说明研究中医方药除了注意药物剂量、剂型、给药途径等因素外, 还应注意机体状态。还有一些中药(如淫羊藿、巴戟天、柴胡、大黄等), 其药理作用随机体状态不同而各异^(13~15)。这是因为, 中医方药的主治功能, 乃是从治病中体验而来, 是基于机体某种病理状态而发挥其作用的。中医的“辨证论治”, 即是对机体的病理状态进行分析, 从而选用适于该种状态的方药, 以取得最佳疗效。所以, 研究中医方药时注意机体状态的问题, 亦是中医辨证论治的原则问题。

参 考 文 献

1. 谢少文等: 中医虚证的免疫学研究. 北京医学 2: 65, 1979
2. 陈燕平: 中草药的免疫学实验研究概况. 中医药研究资料 2: 43, 1978
3. 戴豪良等: 现代理论医学与中医基础理论研究的联系. 国外医学(中医中药分册) 1: 1, 1981
4. 张蕴芬等: 当归补血汤及其单位药对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响. 新医药学杂志 3: 184, 1979
5. 张宝恒: 甘草药理作用研究的进展. 药学学报 11: 688, 1963
6. 大浦彦吉等: カンゾウの生理化学(3)カンゾウ成分の免疫抑制について. 代謝10(临时增刊): 651, 1973
7. Selye H: Stress and disease. Science 122(10): 625, 1955
8. 刘士豪: 塞里应激学说概要. 第一版, 23页, 上海科学技术出版社, 1963
9. 邱安堃: 适应病. 内科学报 8: 765, 1951
10. 石原 国等: 副腎ホルモン投与の生体防御力に及ぼす影响に関する实验的研究. 日本内科学会杂志 50(9): 905, 1961
11. 熊谷 朗: 三の和汉药有效成份の作用と臨床——甘草、柴胡、ニンジン. 汉方研究 43(7): 248, 1975
12. Besedovsky H, et al: Network of immune-neuro-endocrine interaction. Clinical and Experimental Immunology 27: 1, 1977
13. 邱安堃等: 某些助阳药对于大剂量皮质素所致耗竭现象的影响. 中华内科杂志 2: 113, 1963
14. 细野史郎等: 柴胡の药物试验. 日本东洋医学会志 21(1): 8, 1970
15. 小島喜久男等: 大黄的泻下作用について. 日本东洋医学会志 21(4): 1, 1971

甘草水煎剂对应激状态下 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

孙泽先等

(正文见 235 页)

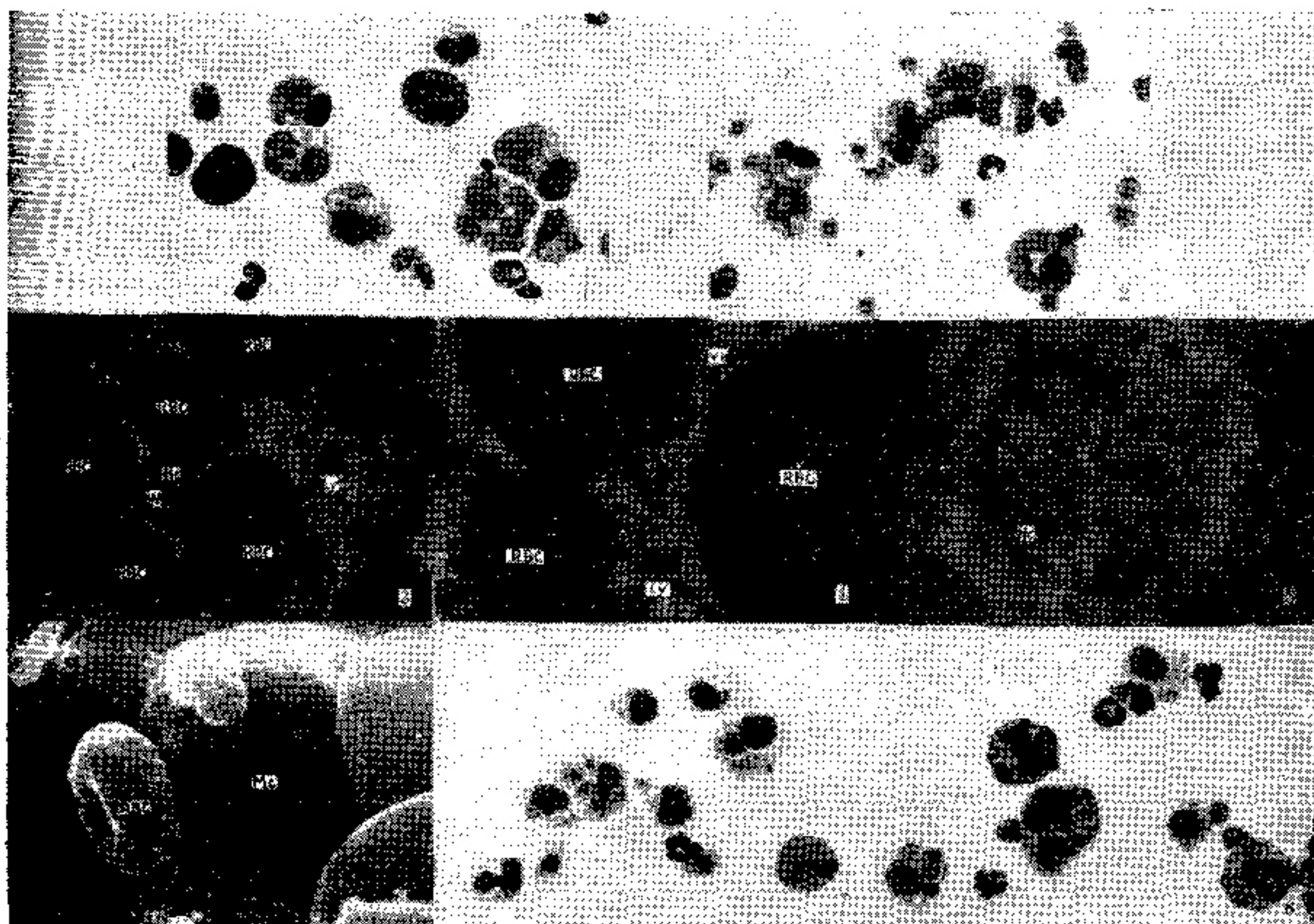


图1 应激状态(4°C, 16小时)给药组, ×800。图2 应激状态(4°C, 16小时)对照组, ×800。图3 应激状态(4°C, 16小时)给药组, 巨噬细胞核(N)、异染色质(Hc)、溶酶体(Ly)及所吞噬的鸡红细胞(RBC), ×3300。图4 应激状态(4°C, 16小时)给药组, 巨噬细胞内的溶酶体(Ly)、大液泡(Ve)及所吞噬的鸡红细胞(RBC), ×10,000。图5 应激状态(4°C, 16小时)对照组, 巨噬细胞核(N)及异染色质(Hc), 溶酶体较少见, ×6,600。图6 应激状态(4°C, 16小时)给药组, 巨噬细胞(M)及所吸附的鸡红细胞(RBC), ×8,000。图7 安静状态(16小时)给药组, ×800。图8 安静状态(16小时)对照组, ×800。

《中医杂志》敞开发行

本刊是中华全国中医学会和中医研究院主办的面向全国的中医学学术月刊。敞开供应, 扩大发行, 可破季订阅。国内定价每册 0.45 元。国内读者请在今年 11 月及时向当地邮局办理 1983 年预定手续。海外读者直接向北京 2820 信箱中国国际书店订阅。

《中国医学文摘——中医》 《国外医学中医中药分册》

扩大订户

两刊均为综合性情报刊物。阅读两刊能及时、全面了解国内外中医药、中西医结合研究新动向、新进展和新成就。

两刊均系双月刊。国内定价每册 0.40 元。请于今年 11 月向当地邮局办理 1983 年订阅手续。国外读者请向中国国际书店订阅。《文摘》代号 2-633, 国外代号: BM299。《分册》代号 2-611。

《中国针灸》扩大发行

本刊是中华全国针灸学会和中医研究院针灸研究所主办的面向国内外公开发行的针灸学术双月刊。国内定价每册 0.35 元。国内读者请于今年 11 月及时向当地邮局办理 1983 年预定手续。海外读者可向北京 2820 信箱中国国际书店订阅。