

冬虫夏草及其人工菌丝对小鼠腹腔巨噬细胞激活作用的实验观察

海军医学研究所

张淑兰 陈道明 程振球 刘晓平

内容提要 本文报告冬虫夏草及其人工菌丝水提物对小鼠腹腔巨噬细胞 (M ϕ) 激活作用的实验观察。结果表明, 每天肌注 5g/kg, 连续 4 天, 能使 M ϕ 的吞噬百分率和吞噬指数明显增加, 与对照组相比, $P < 0.001$, 而天然虫草与人工菌丝之间则无明显差异。还证明 M ϕ 内酸性磷酸酶活性也明显增强。提示人工菌丝具有与天然虫草类似的效应, 另外对该药激活 M ϕ 的机理还进行了初步探讨。

一些实验和临床资料表明, 冬虫夏草(简称虫草)能抑制小鼠艾氏腹水癌^[1,2], 增强机体免疫功能^[3], 对恶性肿瘤有一定疗效^[4]。为了进一步研究虫草对机体免疫功能的影响, 本文就天然虫草及其人工菌丝对小鼠腹腔 M ϕ 的激活作用, 进行了初步探讨, 报告如下。

材料与方法

一、天然虫草及人工虫草菌丝制剂: 市售正品青海产虫草水提物 (Qc); 市售正品西藏产虫草水提物 (Xc); 云南虫草菌摇瓶培养菌丝体水提物 (YcM); 青海虫草菌摇瓶培养菌丝体水提物 (QcM₁); 青海虫草菌发酵罐生产菌丝体水提物 (QcM₂)。

二、动物: 采用体重 18~22g 健康小鼠, 雌雄兼用, 随机分配于实验组和对照组, 各组鼠数相等。

三、给药方法: 于实验前 5 天开始给药, 实验组给上述制剂, 每天 5g/kg, 后腿肌肉注射, 连续 4 天。对照组给同体积生理盐水(NS)。于第三天给药的同时给各鼠腹腔注射 1ml/10g 体重的 0.5% 的水解乳蛋白液一次, 于末次给药结束后 24 小时进行实验。

四、体内吞噬试验: 各鼠腹腔注射 0.2ml/10g 体重的 2% 鸡红细胞(CRBC)悬液, 30 分钟后, 腹腔注射 1ml/10g 体重的 Hanks 液(内含肝素 6.25r/ml), 待 1~2 分钟, 拉颈处死。取腹腔液滴于载玻片中央, 并适当铺开, 置于装有冰块的湿盒内 60 分钟后, 用 NS 漂洗除去非粘附细胞, 再用蒸馏水快速漂洗 2 次以溶解未被吞噬的 CRBC, 立即放入 NS 中漂洗以恢复

等渗, 晾干, 瑞氏-姬姆萨染色, 油镜下计数 200 个 M ϕ , 记录其中吞噬了 CRBC 的 M ϕ 数和所吞噬的 CRBC 数, 求出吞噬百分率和吞噬指数。

五、体外交叉配对组合试验: 于试验前给各鼠腹腔注射 1ml/10g 体重的上述 Hanks 液, 待 1~2 分钟分别收集腹腔液于小试管内, 调整有核细胞数至 2×10^5 /ml 分装 2 支试管, 每管 0.5ml 于 2,000rpm 离心 5 分钟, 将其中的 1 管上清液和沉淀分开, 然后将实验鼠与对照鼠配对交叉组合, 另 1 管为自身对照, 再将上述各管混匀, 置 37°C 30 分钟, 向各管加入 2% 的 CRBC 0.1ml 混匀, 滴于载玻片中央并适当铺开, 放湿盒内 37°C 30 分钟取出按前法漂洗、染色、计数。

六、酸性磷酸酶活力的测定: 按上法收集腹腔液, 先取出 0.5ml 按上法进行体外吞噬试验, 余下的腹腔液放于小平皿中用粘附法提纯 M ϕ , 并进行 M ϕ 计数, 然后根据计数结果, 吸取 4×10^5 个 M ϕ 于试管中, 于 2,000rpm 离心 10 分钟, 弃去上清液, 加蒸馏水 1ml, 再经过饱和干冰酒精反复快速冻融数次, 使细胞全部裂解^[5], 采用磷酸苯二钠法^[6]进行测定。

结 果

一、西藏、青海产天然虫草和实验室摇瓶培养及发酵罐批量生产的虫草菌丝水提物, 对小鼠腹腔 M ϕ 吞噬功能的影响(见表1)。

由表1可见, 无论是天然虫草水提物还是人工摇瓶培养或发酵生产的虫草菌丝水提物, 经肌肉注射后, 均可明显增加小鼠腹腔 M ϕ 的吞噬百分率和吞噬指数,

表1 人工虫草菌丝及天然虫草对小鼠腹腔M ϕ 吞噬功能的影响

组 别	鼠数	吞 噬 百 分 率(%)		吞 噬 指 数	
		M $\pm$ SD	P 值	M $\pm$ SD	P 值
Xc	13	43.00 $\pm$ 7.21	<0.001	1.55 $\pm$ 0.31	<0.001
YcM	13	41.37 $\pm$ 4.49	<0.001	1.53 $\pm$ 0.24	<0.001
对 照	13	24.12 $\pm$ 4.59		0.61 $\pm$ 0.19	
Qc	16	44.59 $\pm$ 4.88	<0.001	1.64 $\pm$ 0.20	<0.001
QcM ₁	16	46.44 $\pm$ 5.40	<0.001	1.74 $\pm$ 0.24	<0.001
对 照	16	26.44 $\pm$ 4.28		0.71 $\pm$ 0.08	
QcM ₂	13	44.89 $\pm$ 7.48	<0.001	1.59 $\pm$ 0.29	<0.001
对 照	13	27.16 $\pm$ 5.72		0.66 $\pm$ 0.15	

注: 人工虫草菌丝与天然虫草之间吞噬百分率与吞噬指数无明显差异 $P>0.05$

与对照组比, 差异非常显著($P<0.001$), 证明虫草及其人工虫草菌丝均能明显激活小鼠腹腔M ϕ , 而二者之间则无明显差异($P>0.05$)。同时显微镜下还观察到实验小鼠腹腔 M ϕ 的体积明显增大, 胞浆内颗粒和空

泡增多, 吞噬小体增加, 且被吞噬的 CRBC 呈各级消化状态也较多见, 而对照组 M ϕ 形态变化则不明显。

二、配对交叉组合, 观察给药小鼠腹腔液对 M ϕ 吞噬功能的影响(见表 2)。

表2 配对交叉组合对M ϕ 吞噬功能的影响

M ϕ 来源	腹 腔 液 来 源	鼠数	吞 噬 百 分 率		吞 噬 指 数	
			M $\pm$ SD	P 值	M $\pm$ SD	P 值
给 药 鼠	给药鼠自身	6	45.0 $\pm$ 7.04	>0.05	1.08 $\pm$ 0.24	>0.05
给 药 鼠	对 照 鼠	6	42.33 $\pm$ 3.72		1.35 $\pm$ 0.12	
对 照 鼠	给 药 鼠	6	30.00 $\pm$ 4.38	>0.05	0.69 $\pm$ 0.12	>0.05
对 照 鼠	对照鼠自身	6	26.50 $\pm$ 6.19		0.63 $\pm$ 0.17	

表 2 可见, 给药组小鼠腹腔液对腹腔 M ϕ 吞噬功能无明显促进作用($P>0.05$)。

三、青海虫草菌发酵生产的菌丝水提物, 对小鼠

腹腔 M ϕ 内酸性磷酸酶活性的影响及该酶活性与 M ϕ 吞噬功能的关系(见表 3)。

表 3 可见, 给药组小鼠腹腔 M ϕ 内酸性磷酸酶的

表3 QcM₂对M ϕ 内酸性磷酸酶活性的影响及与吞噬指数关系

组 别	鼠数	酸性磷酸酶活性 金氏单位(M $\pm$ SD)	比 较		吞 噬 指 数 M $\pm$ SD	比 较	
			t	P		t	P
对 照 组	6	0.41 $\pm$ 0.06	8	<0.001	0.64 $\pm$ 0.15	7.8	<0.001
给 药 组	6	0.73 $\pm$ 0.07			1.42 $\pm$ 0.20		

活性明显增强, 且与吞噬指数呈正相关($r=0.85$, $P<0.01$)。

讨 论

实验结果表明, 无论是实验室摇瓶培养的虫草菌

丝水提物, 还是液体发酵批量生产的虫草菌丝水提物, 均能激活小鼠腹腔 M ϕ , 增强吞噬功能, 与对照组相比, 无论是吞噬百分率或吞噬指数均有明显增加, 与天然虫草水提物相比则无明显差异, 这与四川报道的结果基本相似⁽³⁾。同时还证明 M ϕ 内酸性磷酸酶的活

性也明显增强,且与吞噬指数呈正相关($r=0.85$, $P<0.01$),进一步证明该药对 $M\phi$ 细胞的激活作用。

为了探讨其对 $M\phi$ 激活作用的机理,采用体外交叉配对组合实验,以观察给药小鼠腹腔渗出液对小鼠 $M\phi$ 吞噬功能的促进作用,结果表明无明显促进作用,但是可见到当给药小鼠的无细胞腹腔液与对照 $M\phi$ 混合温育 30 分钟,能使对照鼠 $M\phi$ 的吞噬百分率和吞噬指数稍有提高,与自身相比, t 值分别为 1.13 和 0.71,而给药小鼠 $M\phi$ 加对照鼠腹腔液温育 30 分钟,进行吞噬试验,其结果与自身对照相比吞噬百分率及吞噬指数均有轻微下降, t 值分别为 1.03 和 1.18。从收集腹腔液的方法可知腹腔液是经高度稀释了的,但仍可有上述轻微促进作用,提示该药可能是一种非特异性免疫促进剂。它不仅能直接激活 $M\phi$,还可能通过包括 T 淋巴细胞和补体备解素系统在内的各种级联(cascade)活化得以实现⁽⁷⁾。被激活了的 $M\phi$,其运动能力、吞噬能力及各种酶的活力均明显增强,对 CRBC 则有明显的吞噬和消化作用。文献报道该药的抗癌作用可

能与它能激活 $M\phi$ 有关,尚待进一步探讨。

(本文承蒙天津医学院吴威中院长审阅,特致谢忱)

参 考 文 献

1. 丁 瑞,等.冬虫夏草抗小鼠艾氏腹水癌的研究.北京医学 1981; 3(6):364.
2. 矢萩信夫.冬虫夏草の人工培养と肿瘤性.医学中央杂志(日)1979; 3:335.
3. 崔之贵,等.冬虫夏草及人工虫草菌的药理作用.中草药 1982; 13(3):17.
4. 王玉润.冬虫夏草合剂治疗晚期恶性肿瘤.上海中医药杂志 1979; 5:28.
5. 林飞乡,等.小鼠巨噬细胞激活状态的测定——三种测定方法的比较.中华微生物学和免疫学杂志 1981; 1(4):274.
6. 金玉成.血清酸性磷酸酶测定.见:临床生化检验,第1版.上海:上海科技出版社,1979:360.
7. H. Wagner. 真菌及高等植物中的免疫促进剂药物研究.西德药用植物代表团报告专辑1981:48—63.

四肢骨骨折患者的指趾甲变化观察

绍兴卫生学校 詹爱菊
绍兴市人民医院骨科 张谢安

我们观察骨折患者血瘀征象在指趾甲的表现时,发现四肢骨骨折患者的患肢指趾甲有不同于健肢、正常人及其他疾病的特殊变化,并发现这些变化与骨折愈合有一定联系。现将初步观察结果报告于下。

观察方法 令患者指趾自然放松,手指呈微屈位,在自然光线下用肉眼观察指趾甲的变化。均作患侧与健侧对比;同时观察正常人和其他骨折患者的指趾甲表现,以便对照。

共无选择地观察了 51 例四肢骨骨折患者,其中男 33 例,女 18 例。年龄 9~58 岁。下肢骨折 32 例,上肢骨折 19 例。其中外伤引起的新鲜骨折 46 例,陈旧性骨折 4 例,骨髓炎引起的病理性骨折 1 例。有 3 例外伤性骨折并发骨髓炎。

观察结果 1. 某些正常人的指趾甲色泽虽也有改变,但两侧对称。2. 非四肢骨折患者指趾甲无改变。3. 外伤性新鲜骨折,一般约 20~30 天后,隐约可见甲体近端长出“新甲”(骨折之前原有的指趾甲部分称“旧甲”,骨折后甲体近端从甲根新长出的部分称“新甲”),红润有光泽。随着新甲逐渐生长,远端的旧甲渐渐变成粗糙、晦暗,呈淡棕黄色、灰白色或灰黑色,且表面高低不平、无光泽。新、旧甲之间渐渐形成分

界线,多数呈隆起的嵴状。当新甲长到甲体约 $1/3\sim 1/2$ 时, X 线显示骨痂生长良好,骨折线仍存在,但已模糊不清,正是骨折临床愈合阶段。新甲长到甲体 $2/3\sim 3/4$ 以上时, X 线显示骨折线消失,骨折愈合。最后新甲长满整个甲床。骨折部位只要有骨痂形成,就有上述指趾甲变化,与对位对线好差无关。骨折并发骨髓炎 1 例也有同样变化,但新甲的光泽、红润度较差。四肢骨骨折部位越趋远端,变化越明显。四肢骨骨折新甲出现的早晚及生长速度,与年龄密切相关,年龄越轻,新甲出现越早,生长速度越快。1 例陈旧性胫腓骨骨折患者患肢趾甲失去光泽,未能分辨出远近端新、旧甲的不同色泽,也未见明显嵴状隆起, X 线示假关节形成。另 1 例手舟状骨骨折,一个月后甲体近端发黑,无光泽,未见嵴状隆起, X 线片示骨折端分离面增大,有无菌性坏死及脱钙现象。

讨 论 1. 上述望诊指趾甲的变化规律,对判断四肢骨骨折愈合情况及预后,似有一定参考价值,值得进一步观察总结。2. 指趾甲色泽的变化,可能与甲床微循环状况及指趾甲的厚度有关。3. 中医学认为肝主筋,爪为筋之余;肾主骨。从肝肾同源角度考虑,爪甲与骨似有一定关系。

A Study on the Influences of Natural Cordyceps Sinensis and Its Cultured Mycelia on Murine Immuno-Organs and Functions of Mononuclear Phagocyte System

Chen Daoming (陈道明), et al

Navy Medical Research Institute of PL A, Shanghai

By means of immunological methods, we found that the natural Cordyceps sinensis and its cultured mycelia have significant effect on the immuno-organs of mice, such as splenomegaly, liver enlargement and the shrinkage of thymus. Under the light microscope we also observed that the Kupffer's cells and the phagocytes increased in the spleen. All these findings suggest that the functions of mononuclear phagocyte system are activated by these drugs. But there is no significant difference between natural Cordyceps sinensis and its cultured mycelia in their action ($P < 0.05$). The pharmacological functions of both are similar. The experimental results may throw some light on their clinical application.

(Original article on page 42)

Activation of Murine Peritoneal Macrophage by the Natural Cordyceps sinensis and Its Cultured Mycelia

Zhang Shulan (张淑兰), et al

Navy Medical Research Institute of PL A, Shanghai

Natural Cordyceps sinensis and cultured mycelia were given to experimental mice intramuscularly in dose of 5g/kg per day for 4 days. Results showed that phagocytic index and percentage of phagocytosis of the murine peritoneal macrophages (PM) increased markedly as compared with controls ($P < 0.001$). But there were no significant differences between natural Cordyceps sinensis and its cultured mycelia. The activity of the acid phosphatase in activated PM was also elevated ($P < 0.01$). All these results suggest that the natural Cordyceps sinensis and its cultured mycelia have similar effects.

(Original article on page 45)

Experimental Research of Yin-Yang Theory in TCM (II) Effect of Mankshood, Bark of Chinese Cassia Tree and Liu Wei Di Huang Fang on Urinary Aldosterone etc. in Renovascular Hypertensive Rats

Gu Deguan (顾德官), Kuang Ankun (邝安堃), et al

Shanghai Institute of Hypertension, Shanghai

This paper confirms that mankshood used singly or in combination with bark of Chinese cassia tree as Yang-tonifying drugs could obviously increase the blood pressure in two-kidney one-clip Goldblatt hypertensive rats, but Liu Wei Di Huang Fang (rehmannia compound Radix Rehmanniae, Fructus Corni, Rhizoma Dioscoreae, Rhizoma Alismatis, Cortex Moutan Radicis and Poria) of Yin-nourishing drug did not alter the blood pressure in them. On the other hand, the plasma renin activity (PRA), angiotensin I converting enzyme (ACE), urinary kallikrein (UKa) and urinary aldosterone (UA) were determined. Ten weeks after operation (four weeks after giving the drug) the effect of mankshood and Liu Wei Di Huang Fang on PRA was nearly the same, and their effect on ACE and UKa showed no significant change either. However, the level of aldosterone excretion in these rats was higher than that of normotensive rats ($P < 0.01$). mankshood further increased UA excretion in the hypertensive rats ($P < 0.001$), but Liu Wei Di Huang Fang made no change in UA excretion.

Just as the action of mankshood as a Yang-tonifying drug on the blood pressure, the action of mankshood on aldosterone might suggest that two-kidney one-clip Goldblatt hypertensive rats might be a Yin-Xu (Yin-deficiency) model of TCM.

(Original article on page 48)