

• 实验研究 •

党参提取液对正常小鼠及环磷酰胺处理小鼠免疫功能影响的初步研究

卫生学教研室 毛学礼 高慧珍 王东明
北京中医学院 中西医结合研究室免疫组 周勇 陶君娣 张丽

内容提要 报道党参提取液对正常免疫状态下小鼠的免疫增强作用不显著；但对免疫受抑状态小鼠能明显的增强淋巴细胞转化、抗体形成细胞的功能，以及提高血凝抗体滴度的水平。提示党参在机体内对细胞、体液免疫可能起免疫调整作用是与机体处于的免疫状态有着密切关系。

党参(*Codonopsis pilosula* (Franch) Nannf.)是中医常用的补益药。近年来国内若干文献报道党参对机体免疫功能有增强作用⁽¹⁾；并认为增强免疫作用是补益药扶正固本的药理作用的基础之一。目前对党参在免疫学方面的报道，多半是增强机体网状内皮系统吞噬功能，如固定性及移动性巨噬细胞吞噬活力方面的研究^(2,3)，但对免疫调整作用很少有报道。本文观察了党参对正常小鼠免疫功能的影响和对免疫受抑状态小鼠(环磷酰胺处理)免疫功能的作用，以期了解党参对机体免疫的调整作用，为更合理的临床应用及探讨其作用原理提供实验依据。

材料和方法

一、实验动物：Swiss小白鼠，体重20~24g，每批试验均为同一性别小鼠；由中医研究院动物室提供。

二、药物及主要试剂

党参酒精一水提取液(简称党参提取液)：潞党(购于北京药材公司)经粉碎后用60%乙醇煮提5次，将提取液合并、浓缩，并蒸发掉乙醇；然后用水配成200%溶液供实验用。由本校药化教研室制备。

环磷酰胺：上海第十二制药厂产品，批号771105。刀豆球蛋白A(Concanavalin A)，简称Con A，美国Sigma公司产品，批号79C-7620。Medium RPMI-1640：西德SERVA公司产品，批号47885。氚标记胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)：比活性22Ci/mM，中国科学院原子能研究所产品。

三、实验方法

1. 动物分组：随机将动物分成4组。

正常对照组：实验第2天起每只小鼠灌服生理盐

水0.3ml/日。第4天皮下注射生理盐水0.2ml。

党参组：实验第2天起每只小鼠灌服党参酒精一水提液0.3ml/日(相当于生药0.6g)。第4天皮下注射生理盐水0.2ml。

环磷酰胺组：实验第2天起每只小鼠灌服生理盐水0.3ml/日。第4天皮下注射环磷酰胺1次，药物剂量按每克体重0.1mg计算注射量。

环磷酰胺+党参组：实验第2天起每只小鼠灌服党参酒精一水提液0.3ml/日。第4天皮下注射环磷酰胺，剂量同环磷酰胺组。每组动物分别灌服党参或生理盐水均9天。

2. 方法：³H-TdR掺入淋巴细胞转化试验^(4,5)，实验第11天将小鼠由眼眶放血，脱颈椎法处死动物，无菌取脾，将脾置于RPMI-1640培养液中，用挤压法将脾轻轻碾过80目不锈钢布；最终配成10⁷/ml的细胞悬浮液，每只培养管加1ml，其中两只刺激管各加Con A 5μg/ml，另外两只作对照管。置37℃恒温箱中孵育，培养36小时换液1次，48小时加³H-TdR 1μCi/ml。72小时收获细胞。培养物用均相法处理；样本用国产FJ-2102型双道液体闪烁计数器测定。转化程度以每分钟平均脉冲数(cpm)或刺激指数(SI)表示。

$$\text{刺激指数} = \frac{\text{加Con A培养管的cpm}}{\text{不加Con A培养管的cpm}}$$

脾细胞介导羊红细胞定量溶血的分光光度计测定试验⁽⁶⁾：实验第6天各组动物腹腔注射5%羊红细胞悬浮液0.2ml/只，进行免疫。实验第11天摘眼球采血，再用脱颈椎法处死动物，取脾置于冷Hank's液(不加指示剂)中，用不锈钢布分离细胞，调整细胞数至5×10⁶/ml。每管加脾细胞悬液1.5ml，1:30豚鼠血清补体1.5ml及0.2%羊红细胞1.5ml。摇匀后，置

37°C水浴箱中孵育1小时。200转/分离心10分钟，吸上清液于721分光光度计413mμ波长处读取光密度值。

血凝抗体滴度(Hemagglutination(HA) Titers)试验^[4]：待血凝固后分离血清，56°C水浴箱中灭活30分钟。用生理盐水对倍稀释血清，每孔为0.2ml，然后每孔加1%羊红细胞0.2ml，室温2小时后看结果。以发生凝集的血清最高稀释度为阳性凝集反应终点。

结果及分析

一、动物外观及体重变化：注射环磷酰胺一周后，环磷酰胺组小鼠出现活动迟缓、体毛稀疏等症状体征；而环磷酰胺加党参组小鼠虽然也有上述表现，但程度较轻；正常对照组和党参组小鼠活动良好，毛有光泽，反应活跃。实验前后体重变化情况是：正常对照组小鼠平均增加3g，党参组增加3.8g，而环磷酰胺组则减少0.71g，环磷酰胺加党参组仅增加1.31g。

二、党参提取液对小鼠淋巴细胞转化反应的影响：我们给正常小鼠连续用药9天后取脾做试验，用Con A为有丝分裂原，观察³H-TdR掺入淋巴细胞转化的情况。结果党参组与正常对照组的刺激指数相近，无差别；环磷酰胺组比正常对照组明显降低，有非常显著性差异，说明动物模型成功。用环磷酰胺处理的动物同时喂服党参后，则刺激指数比单用环磷酰胺处理的动物组上升，两组比较有显著性差异，但与正常对照比较时仍明显低下(表1)。

表1 党参提取液对小鼠淋巴细胞转化的影响

	动物数	刺激指数 (M±SE)
正常对照组	11	27.03±7.55**
党参组	11	26.05±3.44**
环磷酰胺组	12	2.57±0.29
环磷酰胺+党参组	12	5.14±0.99*

注：与环磷酰胺组相比，*P<0.05，**P<0.01

三、党参提取液对小鼠QHS光密度的影响：从脾细胞介导羊红细胞定量溶血的分光光度计测定(QHS)的光密度结果来看，党参组小鼠的抗体形成细胞功能较正常对照组稍有增加，但差别不明显，而环磷酰胺组与正常对照组比较则有非常显著性差异；当环磷酰胺处理的动物同时加服党参后，则比环磷酰胺组明显提高，趋向恢复到正常水平，两组比较，有显著性差异(表2)。

表2 党参提取液对小鼠QHS光密度的影响

	动物数	QHS 光密度 (M±SE)
正常对照组	10	0.41±0.02**
党参组	9	0.44±0.02**
环磷酰胺组	10	0.22±0.02
环磷酰胺+党参组	10	0.34±0.03*

注：与环磷酰胺组相比，*P<0.01，**P<0.001

四、党参提取液对小鼠血凝抗体滴度的影响：党参组的血凝抗体滴度几何平均数略稍高于正常对照组，但差别不显著；环磷酰胺组明显低于正常组，与正常对照组相比较有显著差异；而环磷酰胺+党参组与环磷酰胺组比较则明显升高，趋向恢复到正常滴度水平，两组比较有显著性差异(表3)。

表3 党参提取液对小鼠血凝抗体滴度的影响

	动物数	血凝抗体滴度几何平均数	95%可信限
正常对照组	10	137**	197~95
党参组	9	149**	226~98
环磷酰胺组	10	64	96~42
环磷酰胺+党参组	10	119*	184~77

注：与环磷酰胺组相比，*P<0.05，**P<0.01

讨 论

从本次实验结果来看，正常动物灌服党参后，对小鼠淋巴细胞转化反应在刺激指数均值方面与正常对照组相似；而从脉冲数结果来看，党参组的对照管均值为797±147，刺激管为16,804±1,829，而同批试验的正常对照组其对照管为407±54，刺激管为8,741±2,075；说明灌服党参后，对正常免疫状态下的小鼠其淋巴细胞转化功能不论有无Con A存在，均有一定的增高现象，但差别不显著(P>0.05)。党参对正常小鼠的抗体形成细胞功能及血清凝集抗体滴度也均有轻度增高现象，差别也不明显。当用环磷酰胺处理使小鼠成为免疫受抑状态，再加服党参时，则淋巴细胞转化试验、抗体形成细胞功能测定以及血凝抗体滴度试验均有明显提高，差别显著。说明党参对免疫受抑小鼠无论是在细胞免疫还是体液免疫方面均有增强作用。以上实验结果也提示根据机体的不同免疫状态，党参在机体内可能起免疫调整作用。

中医治病强调辨证, 要求“方证一致”。对于有关虚证往往用党参与多种药物配伍组成补益方剂, 来调整人体某些功能之不足, 例如用四君子汤(党参、白术、茯苓、甘草)进行补气就是一个例证。近年来有人报道^[3]用四君子汤进行体外试验, 能明显地增强淋巴细胞转化率及活性花斑形成率, 说明该方剂对细胞免疫有促进作用; 根据我们这次对党参实验的结果, 推测可能是党参这味主药在免疫上起主要作用。党参在免疫方面是通过哪一个环节而起作用的, 这是值得进一步探讨的课题。另外从党参的有效部分中进一步分离出有效成份及其单体进行试验比较, 弄清是哪一种物质起免疫调整作用, 这也是需要进一步深入研究的内容之一。

(党参提取液由药化教研室负责制备, 刘加旺同志参加提取工作, 特此致谢)

参 考 文 献

1. 刘于中, 等。党参化学成份及药理作用研究进展。中

西医结合杂志 1983; 3(2):114.

2. 北京结核病研究所同位素实验室。中药对非特异性免疫作用的研究。新医药学杂志1974; 8:349.

3. 中医研究院中药研究所及中心实验室。党参提取物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活力和化学成分的影响。全国中西医结合学术讨论会论文摘要汇编1981:46.

4. 侯云德, 等。小鼠脾淋巴细胞转化反应的研究。流行病学杂志1980; 1(4):220.

5. 杨贵贞主编。医用免疫学。长春: 吉林人民出版社, 1980:385—387.

6. Simpson MA, et al. Spectrophotometric determination of lymphocyte mediated sheep red blood cell hemolysis in vitro. J Imm Methods 1978; 21:159.

7. 严宣佐, 等。活血化瘀中药对小白鼠体液免疫影响的初步研究。中医杂志1979; 9:61.

8. 苏州市第三人民医院中西医结合病区免疫室。四君子汤、四物汤、六味地黄丸及参附汤对细胞免疫功能影响的研究。江苏中医杂志1980; 1(2):32.

62 例肺心病急发期伴上消化道出血临床分析

南通医学院附属医院呼吸组 黄伯森 张春芳

我院 1973 年 10 月至 1983 年 10 月, 收治肺心病急发期伴上消化道出血患者 62 例。男 41 例, 女 21 例。年龄 49~86 岁, <60 岁 27 例, >61 岁 35 例。其中慢性支气管炎、阻塞性肺气肿 38 例, 肺心病伴冠心病 16 例, 肺心病伴哮喘 6 例, 肺心病伴严重胸廓畸形 2 例。

实验室检查 38 例做如下检查, 大便隐血试验阴性 5 例, “+”3 例, “++”6 例, “+++”12 例, “++++”12 例; 血小板计数 <10 万者 20 例(<5 万 9 例, 5~9 万 11 例); 凝血酶原时间 18 例较对照组延长, 白陶土部分凝血活酶时间测定有 7 例 >7 秒; 凝血酶原消耗时间 10 例较正常对照组缩短, 凝血酶时间 6 例较对照组延长。3P 试验 5 例, 3 例阳性。血尿素氮 10 例, 7 例为 40mg%, 2 例为 60mg%, 1 例达 80mg%。非蛋白氮 18 例, 10 例为 80mg%, 8 例达 100mg%。胃肠钡剂检查 10 例, 发现胃小弯部溃疡 3 例, 十二指肠溃疡 4 例, 胃窦炎伴胃下垂 2 例, 还有 1 例吞钡后频繁呕吐未成功。血液气体分析检查 10 例, 2 例 pH >7.45, 3 例 pH <7.35, 5 例在 7.35~7.45 之间。动脉血氧分压 <60 mmHg 有 7 例, 3 例正常。动脉二氧化碳分压 >50 mmHg 6 例, 4 例正常。

治疗与结果 以上按治疗时期划分三组, 一般情

附表 三组一般情况、治疗与结果比较

	例 性 别 年 龄				治 疗 方 法	死 亡
	数	男	女	>61		
1973.10 ~1976.10	24	17	7	10	输血、抗感染、胃肠减压、新斯的明注射	22
1976.11 ~1979.10	20	14	6	11	上栏加抗休克, 6 例加用小剂量肝素 50~100mg	16
1979.11 ~1983.10	18	10	8	14	同中栏, 全加肝素 50~100mg × 5 天, 并加用中药	8

况、治疗及结果见附表。

第三组 1979 年 11 月~1983 年 10 月加用中药采用益气活血化瘀法: 黄芪 30g 红参 10g 参三七粉 3g 分二次冲服 丹参 15g 当归 10g 炒丹皮 10g 黄芩 10g, 每日一剂水煎服, 分二次服完。存活的 10 例复查, 血小板、凝血酶原消耗时间、凝血酶时间全部恢复正常。采用中西医结合治疗本病, 减少了死亡率。

讨 论 本组病例上消化道出血、皮肤有出血点及瘀斑等表现, 在中医学属“血瘀”范畴。近年来有很多报道运用理气活血化瘀中药治疗肺心病取得良好效果。从本组加用中药及肝素组治疗情况看, 在控制感染、纠正心衰和存活率方面取得了较好的疗效。

Preliminary Study of Effects of Extract of *Codonopsis Pilosula* on Immunological Functions of Normal Mice and Immunosuppressed Mice Introduced by Cyclophosphamidum

Mao Xueli (毛学礼), Zhou Yong (周勇), et al

Beijing College of TCM, Beijing

In this study the *in vitro* ^3H -TdR incorporation lymphocyte transformation test, the test of spleen cell mediated sheep red blood hemolysis quantitated spectrophotometrically, and hemagglutination titers test are practised. The paper reports the action of *Codonopsis pilosula* on immunological functions of normal mice and immunosuppressed mice introduced by cyclophosphamidum. The result shows that this extract has immunoenhancing action of humoral immunity and cell-mediated immunity on immunosuppressed mice introduced by cyclophosphamidum, but there is no apparent immunoenhancement action in normal mice.

The result coincides with the TCM theory "reinforcement is applied in case of deficiency", therefore it is considered that the extract of *Codonopsis pilosula* can enhance immunity of "deficiency symptom-complex" organism. (Original article on page 742)

An Observation of the Granulocytic Preenitor Cells Affected by He Che Da Zao Wan (河车大造丸)

Zuang Jiedun (庄杰盾), et al

Xiyuan Hospital, Academy of TCM, Beijing

Aplastic anemia patients, were generally treated with prescriptions or herbs which have effects to replenish the vital energy and essence of Kidney, i.e., "Bu Shen" (补肾, tonify the kidney). He Che Da Zao Wan (HCDZW) is one of the prescription commonly used. In order to see how aplastic anemia patients have a good response to Bu Shen herbs, HCDZW was injected hypodermically to a group of mice. Normal saline was given to another group of mice as control. The bone marrow granulocytic prenenitor cells or CFU-D of the experimental group assayed by the diffusion chamber technique, were significantly greater than those of the control ($P < 0.01$). HCDZW does affect CFU-D through some humoral factors. This observation throws light on TCM theory: "Bu Shen" promotes hemopoiesis. (Original article on page 739)

Pharmacological Studies of the Extract of *Equisetum Pratense* on Tolerance

Towards Myocardial Hypoxia in Animals

Chang Fujin (常福久), Su Yunming (苏云明), et al

Department of Pharmacology, Heilongjiang College of TCM, Harbin

The extract isolated from the herb of *Equisetum pratense* was found to be effective on cardiovascular system. The ip. with 10-15 g/kg of this extract prolonged the survival time of mice under normobaric and hypobaric hypoxia significantly, increased notably the tolerance towards myocardial hypoxia induced by isoproterenol in mice (under hypobaric and normobaric condition) and slowed down the oxygen consumption rate by 32.8% compared with the control group. When this extract was given intraperitoneally at dosage of 10 g/kg and 15 g/kg, the percentage of myocardial uptake of ^{86}Rb , as well as propranolol, decreased by 8.2% and 26.4% as compared with control group respectively. This indicates that myocardial blood flow was not augmented. After the ip. with 15 g/kg of this extract in mice, the increase of the cAMP content of myocardium and plasma by isoproterenol was checked significantly.

Experimental myocardial ischemia was reduced by iv. 1.5-3.0 g/kg of this extract as indicated by improvement of ECG. A widening of the QRS complex and a prolongation of the RR, PQ, and QT intervals on ECG was observed. The toxic dose and minimal lethal doses of this extract given intravenously to guinea pigs were found to be 24.4 ± 1.95 g/kg and 31.3 ± 1.7 g/kg respectively. (Original article on page 744)

A Study on the Active Anti-Inflammatory Constituents in a Chinese Decoction for the Dissipation of Urinary Stones

Gu Lizhen (顾丽贞), Zhang Baishun (张百舜), et al

Guang'anmen Hospital, Academy of TCM, Beijing

The therapeutic effects of a Chinese traditional decoction Hua Yu Niao Shi Tang (化瘀尿石汤) for the dissipation of the calculus in urological system have been recognized and identified. This decoction is composed of 16 herbs. On the basis of qualitative analysis, main chemical compounds—volatile oils, phenolic acids and flavonoids compounds, were isolated from this decoction, and subsequently the pharmacological experiments were carried out to observe the acute and chronic inflammatory reactions in mice and rats. These laboratory experiments have been repeated with similar results.

Our laboratory results indicate that the anti-inflammatory action of the mixture of flavonoids and phenolic acids as well as the ethanol soluble components of this decoction is quite satisfactory with statistical significance, while that of the volatile oils is not remarkable. (Original article on page 747)