

# 外用中药抗感染作用的研究

## ——小鼠腹腔巨噬细胞Fc受体的观察

天津骨折研究所 李秀兰 王淑云  
南开大学生物系 徐尔真

**内容提要** 本文以 EA-花环形成百分率为指标, 评价外用中药生肌膏、金黄膏、黄连膏、玉红膏的外用抗感染作用。实验结果表明, 生肌膏与灭棒菌苗相似, 与对照组比较均有极显著差异,  $P$  值  $< 0.001$ 。金黄膏、黄连膏和玉红膏也呈极显著差异。证明上述外用中药均是良好的免疫增强剂。

本实验室对外用中药生肌膏、金黄膏、黄连膏和玉红膏的抗感染作用曾作研究, 结果表明外用中药不能直接抑菌, 也不能明显地降低细菌的毒力, 其良好的抗感染作用与增强巨噬细胞功能有关。为深入研究其机制, 我们对被外用中药激活后的巨噬细胞表面 Fc 受体作了观察。

巨噬细胞是一种多功能细胞。是机体三大免疫活性细胞之一。它几乎参与了机体的一切免疫反应, 并在其各个环节中均具有特殊作用<sup>(1)</sup>。这些作用的许多方面与细胞本身的受体有关, 其中重要受体之一就是 Fc 受体<sup>(2)</sup>。Fc 受体与巨噬细胞在免疫反应中识别、处理并传递抗原信息等重要功能有关<sup>(3)</sup>。显然, 研究巨噬细胞 Fc 受体数量和活性变化可以反映巨噬细胞的功能状态。因此, 我们选用 EA-花环形成率评价外用中药的抗感染作用, 并为探讨 Fc 受体变化与巨噬细胞功能之间的相互关系提供理论依据。

### 材料和方法

一、实验动物: 昆明种小白鼠, 体重  $18 \pm 2$  g, 鼠龄 6 ~ 8 周, 每次实验用全部雄性或全部雌性。

二、药液与试剂: (1) 生肌膏、金黄膏、黄连膏和玉红膏各用相当于 500g 药膏的生药加水浸煮, 经过反复浓缩, 低温静置, 获得上述各药液 50ml, 再以双蒸水稀释 50 倍。(2) 灭氧棒状杆菌菌苗 (下称灭棒菌苗, 上海生物制品研究所制) 选用浓度 25 mg/kg。(3) 溶血素 (上海生物制品研究所制)。(4) 绵羊红细胞 (自制)。

三、分组: 将小白鼠随机分组, 第一批实验分三

组: 生肌膏组、灭棒菌苗组和生理盐水对照组。第二批实验分四组: 金黄膏组、玉红膏组、黄连膏组和生理盐水对照组。各组分别腹腔注射 2 ml 药液, 翌日重复注射。隔日收集小鼠腹腔巨噬细胞, 作巨噬细胞 Fc 受体检测。

四、方法: 1. 巨噬细胞收集和单层巨噬细胞制备: 用眼眶放血法处死小鼠。每只小鼠腹腔注入 2 ml 生理盐水, 取出腹腔液 0.5ml 滴加在洁净的载玻片上,  $37^{\circ}\text{C}$  水浴培养箱内孵育 2 小时, 而后用生理盐水轻轻冲洗, 以除去非粘附的细胞及杂质。制备成单层巨噬细胞备用。

2. 8% 绵羊红细胞制备: 在无菌条件下, 从健康绵羊的颈外静脉采血, 将血装入含有抗凝剂的无菌瓶内。用生理盐水洗涤三次, 离心  $1500 \text{ rpm/min} \times 5$ 。用生理盐水将压积的绵羊红细胞配制为 8%。

3. 溶血素稀释: 取冰箱保存的溶血素, 用 pH7.4 的巴比妥缓冲液作 (1:8000) 稀释 (经效价测定)。

4. EA 制备: 取溶血素 (1:8000) 和 8% 绵羊红细胞作等量混合, 放入  $37^{\circ}\text{C}$  水浴培养箱中孵育 30 分钟。用生理盐水反复洗涤三次, 除去游离的 IgG, 生理盐水恢复原体积, 制备成抗体包被的绵羊红细胞 EA。

5. 巨噬细胞—EA-花环形成实验: 将 0.5ml EA 滴加在已制备好的单层巨噬细胞玻片上, 平置于  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱静置 2 小时, 而后用生理盐水充分冲洗, 以除去游离的 EA。

Wright's 染色, 油镜下检测, 以一个巨噬细胞周围有 5 个或 5 个以上 EA 作为一个花环, 随机计数 200 个巨噬细胞, 计算出花环形成百分率 (200 个巨噬细胞

中形成花环的巨噬细胞数), 并作统计学处理。

## 结 果

生肌膏对小鼠腹腔巨噬细胞 Fc 受体的影响见表 1。生肌膏与对巨噬细胞有较强激活作用的灭棒菌苗结果相似, 使巨噬细胞明显激活(胞体增大, 伪足增多), 其 EA-花环形成百分率与对照组比较均有极显著差异( $P < 0.001$ ), 见图 1、2。

表 1 生肌膏对小鼠腹腔巨噬细胞 Fc 受体的影响\*

	EA-花环形成百分率( $M \pm SD$ )	t	P
对 照 组	35.00 $\pm$ 5.13		
生 肌 膏 组	72.67 $\pm$ 5.01	12.73	<0.001
灭棒菌苗组	73.00 $\pm$ 6.81	10.93	<0.001

\* 各组 d.f=6

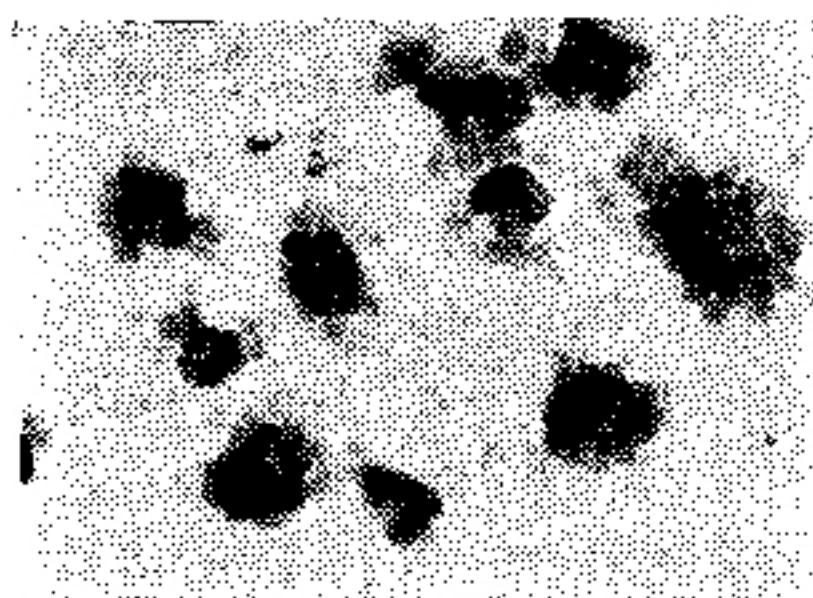


图 1 灭棒菌苗激活的小鼠腹腔巨噬细胞 EA-花环形成的数量多, 花环大。说明 Fc 受体的数量多, 活性较大

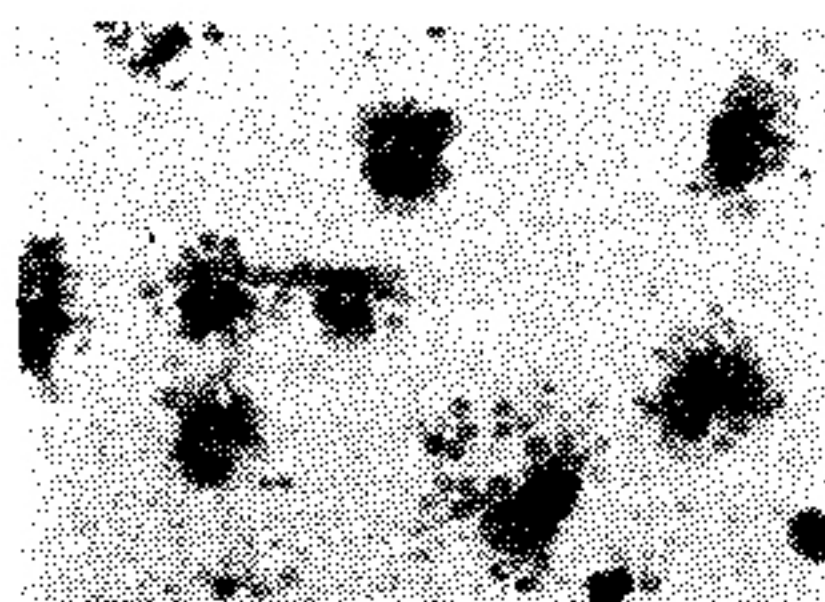


图 2 生肌膏激活的小鼠腹腔巨噬细胞, 与灭棒菌苗图示相似

金黄膏、黄连膏和玉红膏对巨噬细胞 Fc 受体功能影响的实验结果表明, 上述各药与生肌膏相同, 对巨噬细胞 Fc 受体有激活作用, 其 EA-花环形成百分率与对照组比较差异极显著( $P$  均  $< 0.001$ )。说明外用抗

炎中药对巨噬细胞 Fc 受体的影响是一致的(见表 2, 图 3、4)。

表 2 金黄膏、玉红膏、黄连膏对小鼠腹腔巨噬细胞 Fc 受体的影响

	d.f	EA-花环形成百分率( $M \pm SD$ )	t	P
对 照 组	6	45.50 $\pm$ 7.77		
金黄膏组	6	77.50 $\pm$ 3.02	9.41	<0.001
玉红膏组	6	76.67 $\pm$ 3.33	9.03	<0.001
黄连膏组	5	75.90 $\pm$ 2.74	8.29	<0.001

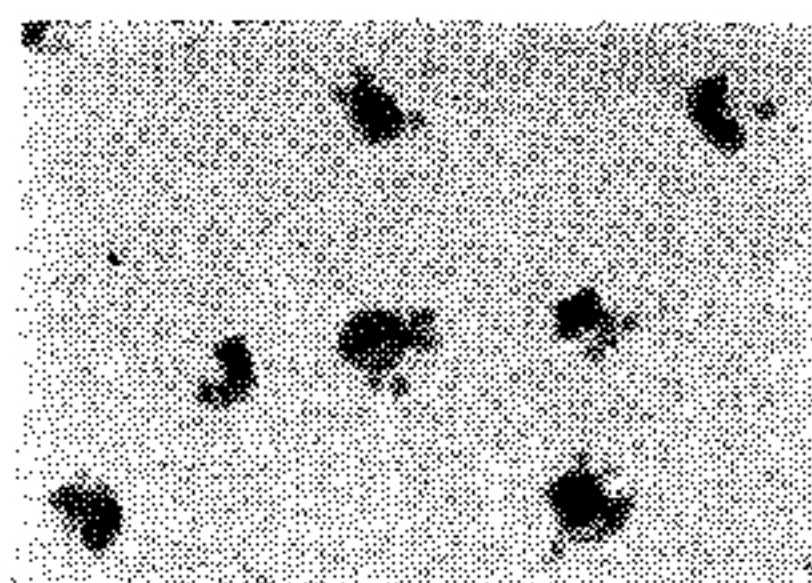


图 3 对照组 EA-花环形成数量较少

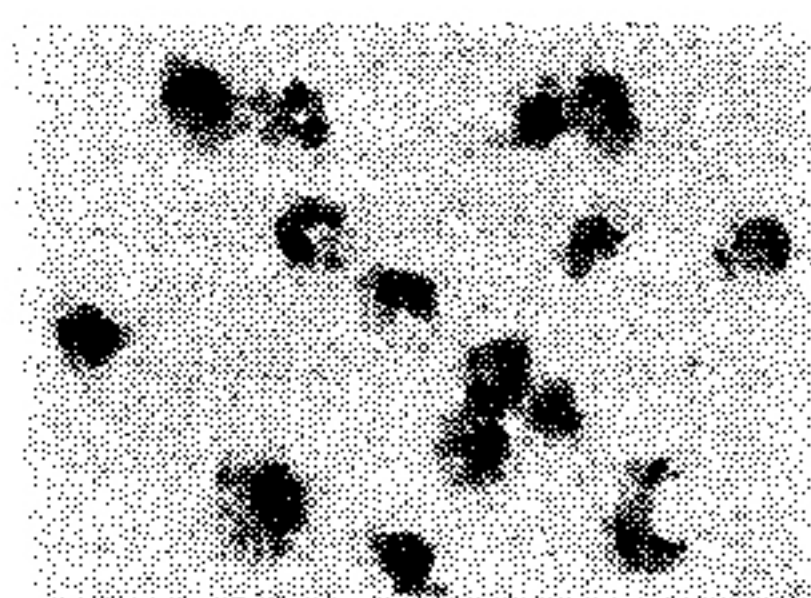


图 4 金黄膏组 EA-花环形成数量较多

## 讨 论

Fc 受体是巨噬细胞的一组最重要的表面标志<sup>(1)</sup>, 其功能状态可随机体的免疫水平而改变。以绵羊红细胞作为指示细胞, 使其与相应的抗绵羊红细胞抗体结合形成 EA。巨噬细胞可通过 Fc 受体与 EA 结合形成花环。其花环形成数量和活性变化可在一定程度上反映机体的免疫水平<sup>(2)</sup>。应该承认, 在炎症反应中巨噬细胞起十分重要的作用<sup>(3)</sup>。巨噬细胞 Fc 受体结合抗体或抗原抗体复合物, 借抗体的 Fab 段再与细菌结合并粘

附在巨噬细胞周围,使细菌—巨噬细胞—抗体“桥联”起来<sup>(7)</sup>。在C<sub>3</sub>b受体的协同作用下使巨噬细胞激活并发挥强大的调理作用。使细菌等微生物停止增殖或被杀伤<sup>(8)</sup>。因此,巨噬细胞Fc受体的数量和活性变化可以作为检测巨噬细胞活力的一个指标。

中医辨证论治认为,上述外用中药虽其药性各异,临床用于不同类型的感染病灶,但均属祛邪扶正中药。本实验研究也进一步说明,生肌膏及其类同的外用中药是一种良好的免疫增强剂,在激活巨噬细胞Fc受体方面不亚于灭棒菌苗。据此,为研究外用中药的抗感染作用提供了一个新依据。

为揭示中医“煨脓长肉”的机理,本文对应用生肌膏治疗的感染伤口其创面中的脓液进行观察,发现脓液中的巨噬细胞很多,我们将脓液中的巨噬细胞分离出来,对巨噬细胞表面的Fc受体进行初步观察,EA-花环形成百分率占50~60%。初步表明,应用外用中药后可使创面脓液中巨噬细胞表面的Fc受体数量增多,活性增强。这对加强脓液中巨噬细胞功能起着不可忽视的作用。创面的抗感染与巨噬细胞免疫功能有关,这点应为中医“煨脓长肉”机制的一侧面。然而,“煨脓长肉”之机理尚待深入探讨。

注:(1)生肌膏主要成分:当归12g 生血余12g 生龟板24g 生地24g 生石膏30g 生甘草30g 象皮粉6g。(2)

金黄膏主要成分:天花粉50g 片姜黄25g 大黄25g 黄柏25g 白芷25g 厚朴10g 陈皮10g 生甘草10g 生南星10g 毛苍术10g。(3)黄连膏主要成分:黄连25g 黄柏25g 元参25g 生地40g 当归20g 生龟板40g。(4)玉红膏主要成分:当归30g 生地40g 生甘草6g 紫草根10g 没药10g 乳香10g 血竭10g 象皮粉20g。

上述药分别加入植物油500g和蜡90g制备成各药膏。

## 参 考 文 献

- 1.李绍贤.巨噬细胞的免疫调节.国外医学免疫学分册 1984; 5:234.
- 2.Herscovitz HB. Immunology, Basic processes, Bettant, JA, eds. Philadelphia, London, Toronto, 1979:151.
- 3.夏邦顺.巨噬细胞Fc受体.国外医学免疫学分册 1984; 4:182.
- 4.Neson DS. Immunobiology of the macrophage. Academic press, New York San Francisco London, 1976: 261.
- 5.朱云凤.小鼠腹腔巨噬细胞Fc受体观察.上海免疫学杂志 1982; 2(2):1.
- 6.Oppenteim JJ, et al. Cellular functions in immunity and inflammation. London, Arnold, 1979:127.
- 7.赵文华译. Fc受体的特点与功能.国外医学免疫学分册 1985; 2:62.
- 8.侯健存.免疫病理学的分子与细胞基础.北京:科学出版社, 1984:75.

## 生大黄片治疗胆石症的临床观察

北京友谊医院 刘凤奎 赵淑颖 张淑文 王宝恩

从1985年4月~1986年7月,我们应用单味大黄,对62例胆石症患者,进行前瞻性排石临床观察。

**临床资料** 本文观察的62例,均经B型超声波、胆囊造影等检查确诊。治疗组42例中,男4例,女38例。年龄20~40岁4例,41~70岁38例占90.5%。胆囊结石30例,慢性胆囊炎胆石症10例,胆囊并胆管结石者2例。对照组20例,男1例,女19例。年龄31~70岁。胆囊结石12例,慢性胆囊炎胆石症8例。

**治疗方法** 口服生大黄片,每次0.6g,每日三次。对照组口服维生素E50mg,每日三次,30天为一个疗程。治疗组和对照组均进行筛选大便观察排石效果。

**结 果** 治疗组腹痛消失(36/40)90%,腹痛减轻2/40(5%);恶心呕吐消失(10/10)100%;腹胀消失(14/14)100%;压痛消失(13/15)86.7%;退热(6/6)100%。

我们采用北京医学院快速胆石定性诊断方法和内镜扫描检查,确定治疗组排出胆石者31例,证实为胆红素胆固醇混合结石24例,胆红素钙结石5例,胆固醇结石2例。这些患者多在一周内开始排石占80.6%。对照组20例,排石者2例,排石率为10%,治疗组排石率为73.8%,两组排石效果比较有明显差异( $P<0.01$ )。

**讨 论** 目前对胆道系统结石治疗方法比较多。尚未见用单味大黄排石的报道。近年来研究证明,大黄有利胆、促进胆汁分泌、扩张oddi氏括约肌作用,故我们采用生大黄治疗胆石症。观察到生大黄有排石作用,对临床症状体征减轻或消失有明显作用。大黄由于有消炎作用,对胆道感染的病例更适宜。对不宜手术、结石 $\leq 1.0\text{cm}$ 或泥沙样结石效果好。



considered as mainspring of the central aging clock located in hypothalamus. In an *in vitro* experiment about 57% inhibition of mouse brain MAO-B activity was shown by the preparation of Shi Jinmo's recipe. The result was consistent with that of *in vivo* experiment, suggesting a direct inhibitory effect of the medicines on brain MAO-B activity. A weak inhibition (about 20%) on liver MAO-B activity by the preparation was also observed. This met the requirement of a monoamine oxidase inhibitor to be used clinically, since an appropriate level of MAO activity in liver was required for the degradation of certain kinds of monoamines in order to avoid their harmful effect. Feeding the preparation showed no influence on the average body weight of animals, indicating that the medicines had no adverse effects on animal growth. In the life span test using female fruit flies, the preparation was fed to the flies for 3 days. The number of survivors was counted up every day and the life span of each fruit fly was recorded. The results showed that the average life span of *Drosophila melanogaster* was conspicuously increased by this medical treatment (21.63%).

The results were evidences on the anti-aging effect of Shi Jinmo's recipe in terms of the biology of aging.

(Original article on page 224)

#### **Effect of "Essence-Restoring Decoction" on Thymic Ultrastructure and Sex Hormone ( $E_2$ and DHT) Receptors in Senile Mice**

Zhao Weikang (赵伟康), Pan Yingxian (潘迎宪), Xu Fengxian\* (徐凤仙), et al  
Biochemistry Dept. and \*Electronmicroscopic Dept., Shanghai College of TCM, Shanghai

The clinical effect of "Essence-Restoring Decoction", a kidney essence tonifying recipe on retarding aging, has been reported. This paper presents the pharmacological effects of Essence-Restoring Decoction on thymic ultrastructure and thymic sex hormone ( $E_2$  and DHT) receptors in C<sub>57</sub>BL/6J senile mice. The results showed that "Essence-Restoring Decoction" was able to increase the thymic weight, or the thymic weight (mg) per body weight (g) ( $P < 0.001$ ), and markedly enhance the concentration of thymic cytosol protein as well as nuclear RNA and DNA of the senile mice ( $P < 0.001$ ). The senile change of ultrastructure of thymus was studied under electronmicroscope, the thymus of senile mice had an obvious atrophy. In cytoplasm of thymic lymphocytes, there were swelling degeneration of mitochondria, disappearance of its cristae, and reduction of the ribosome, while in epithelial reticular cell, besides the above change in mitochondria, the nuclear chromatin was concentrated. However, the senile change of the thymus of "Essence-Restoring Decoction"-treated aged mice was retarded. The ultrastructure of its thymus became nearly normal. The amount of thymic cytosol and nuclear  $E_2$  and DHT receptors were estimated respectively. It was found that the Essence-Restoring Decoction was able to reduce the amount of thymic nuclear  $E_2$  receptor ( $P < 0.01$ ) and DHT receptor ( $P < 0.05$ ), thus the effect of the inhibition and atrophy of  $E_2$  and DHT to thymus was reduced. The mechanism of the decrease of nuclear  $E_2$  and DHT receptors may be due to the obstruction on the translocation of the sex hormone receptors from cytosol to nucleus or the change of the permeability of nuclear membrane. It was suggested that the retardation of aging by the method of tonifying kidney essence may be related to the regulating of hypothalamus-pituitary-gonadal thymic axis.

(Original article on page 226)

#### **Study on Anti-Infection Effect of Chinese Ointment for External Application —The Fc Receptors on Peritoneal Macrophages in Mice**

Li Xiulan (李秀兰), et al  
Tianjin Institute of Orthopedics, Tianjin

The Fc receptors are the most characterized markers on the macrophage surfaces. This paper reports the using of EA-rosette formation test to investigate the Fc receptors for the evaluation of anti-infection effect of the Chinese drugs for external application. It was found that EA-rosette forming rate of Sheng Ji ointment (生肌膏) and *C. parvum*-activated peritoneal macrophages in mice were higher than that of control ( $P < 0.001$ ). The rates of Jin Huang (金黄膏), Yu Hong (玉红膏) and Huang Lian ointments (黄连膏) were also higher than control ( $P < 0.001$ ). The result indicated that these Chinese traditional ointments were good immunostimulants. Therefore Fc receptors were activated by these ointments and the vitality of macrophages was enhanced, due to the mechanisms of its anti-infection effect.

(Original article on page 229)