

参芪注射液对气虚证小鼠免疫反应影响的实验研究

北京中医学院免疫研究室

周 勇 严宣佐 徐 音 陶君悌 张 丽 顾立刚 刘宏阳*

内容提要 按照中医“饥则损气”理论，通过控制动物饲料量造成“气虚证”动物模型。与正常组小鼠相比，气虚组小鼠体重、胸腺指数、脾指数、细胞免疫(DTH)和体液免疫(PFC、HA)反应均有明显降低。同时发现参芪注射液对正常动物及“气虚证”动物的体重及正常小鼠脾指数无明显影响，其它指标均有明显的升高。但正常动物不如虚证动物升高明显。以SRBC 4×10^8 /只腹腔注射给正常供体小鼠进行超剂量免疫，能明显诱导Ts细胞产生，而参芪注射液能降低这种诱导的Ts细胞产生。本文论证了中医“气”与机体免疫反应的内在联系，证明了参芪注射液通过降低Ts细胞而起免疫促进作用。

中医有“正气存内，邪不可干，邪之所凑，其气必虚”记述，明确指出了“气”与机体对疾病抵抗力的内在联系。为了论证“气”与机体免疫功能的关系，我们根据中医“饥则损气”的理论，控制动物饲料量造成“气虚证”的动物模型，同时用代表性补气药——参芪注射液，观察小鼠细胞免疫及体液免疫反应的变化及其对免疫调节抑制性T细胞(Ts)的作用。

材料与方 法

一、实验动物：BALB/C 纯种小鼠，雄性，17~22g，由中国医学科学院流行病学研究所提供。

二、参芪注射液：每10ml 含生药党参 5g、黄芪 5g，由本院附属东直门医院制剂室提供。

三、补体：卫生部生物制品所产品，冷冻干燥豚鼠补体，批号87-1，效价1:100。

四、牛血清白蛋白(BSA)：北京红星生物化学制品厂提供，电泳纯。

五、气虚证模型动物的分组及处理：参照文献^①，本组所用的小鼠在本实验室自然饲养3~4天，随机分成四组：(1)正常对照组：常规饲养，每天生理盐水0.2ml/只腹腔注射。(2)正常给药组：常规饲养，每天参芪注射液0.2ml/只腹腔注射。(3)控制饲料(气虚)组：小鼠单笼分别控制饲料量饲养，每天给饲料2.5g/只，生理盐水0.2ml/只腹腔注射。(4)气虚给药组：每天参芪注射液0.2ml/只腹腔注射；其它同第3组。上述各组腹腔注射生理盐水和参芪注射液时间按不同

实验而不同，检测体液免疫为5天，检测细胞免疫为10天。

六、细胞免疫反应和胸腺指数测定方法：细胞免疫反应采用迟发型超敏反应(DTH)方法^②。上述四组小鼠试验前称取每只小鼠体重，用药当天用BSA致敏，致敏后第9天进行足垫攻击注射，24小时后称体重，求出试验前和处死前体重变化，放血处死动物，剪足测定肿胀足垫重量，代表DTH反应程度。同时取出胸腺称重，以胸腺重(mg)除以小鼠体重(g)得胸腺指数。

七、体液免疫反应和脾指数：体液免疫反应采用溶血空斑试验(PFC)方法^③和测定血凝抗体效价(HA)方法^④。上述四组小鼠于给药同一天，以10%羊红细胞(SRBC)0.2ml腹腔注射进行免疫，免疫后第5天，称取体重，摘除眼球取血，分离血清，用于测定血凝抗体效价；取出脾脏称重，以每鼠脾重(mg)除以体重(g)得到脾指数，然后分离脾细胞，测定PFC数(脾细胞为 5×10^6 ，SRBC为2%，补体为1:40)。

八、抑制性T细胞(Ts细胞)试验方法^⑤：正常供体小鼠以SRBC 4×10^8 /只，进行腹腔内超剂量免疫(SOI)以诱导Ts细胞产生，免疫后14天，取出脾脏用生理盐水制成细胞悬液(含活细胞 2×10^8 /ml)，将此按 4×10^7 /只静脉注射给同系正常受体小鼠，受体小鼠同时以SRBC 4×10^8 /只腹腔注射进行免疫，免疫后5天，摘除眼球，分离血清测定血凝抗体效价，取出脾脏分离脾细胞，分别测定PFC和脾细胞介导羊红细胞定量，采用溶血分光光度计测定^⑥。

供体小鼠分组及处理：(1)正常鼠：以正常鼠脾

* 本室进修生

细胞代替SOI供体脾细胞。(2)SOI鼠:小鼠进行SOI处理,每天生理盐水0.2ml/只腹腔注射,共14天。(3)SOI鼠加参芪注射液:小鼠进行SOI处理,同时参芪注射液0.2ml/只腹腔注射,共14天。

结 果

一、控制饲料量和参芪注射液对小鼠体重、胸腺指数和脾脏指数的影响:见表1。

气虚组与正常对照组比,体重明显下降($P<0.001$),胸腺指数及脾脏指数均明显降低($P<0.001$)。参芪注射液组与正常对照组比体重、脾指数无明显差别(P 分别 >0.05 、 0.2),但胸腺指数增加($P\leq 0.05$);气虚加参芪注射液组与气虚组比,体重无明显差别($P>0.3$),但胸腺指数增加($P<0.01$)及脾脏指数提高($P<0.05$)。以上表明参芪注射液对气虚小鼠的作用敏感性高于正常小鼠。

表1 四组小鼠体重变化、胸腺指数和脾脏指数的比较 ($M\pm SE$)

组别	动物数	体重增减(g)	胸腺指数(mg/g体重)	脾脏指数(mg/g体重)
正常对照	7	0.34 ± 0.29	1.32 ± 0.26	6.66 ± 0.62
正常参芪	7	1.27 ± 0.18	$2.23\pm 0.27^{**}$	7.33 ± 0.50
气 虚	8	$-3.38\pm 0.41^*$	$0.79\pm 0.10^*$	$4.17\pm 0.31^*$
气虚+参芪	8	-2.74 ± 0.54	$1.34\pm 0.08\Delta$	$5.39\pm 0.36\Delta\Delta$

注:与正常对照组比,* $P<0.001$,** $P\leq 0.05$;与气虚组比 $\Delta P<0.01$, $\Delta\Delta P<0.05$

二、四组小鼠细胞免疫和体液免疫反应的比较,见表2。

表2 四组小鼠细胞免疫反应和体液免疫反应的比较 ($M\pm SE$)

组别	小鼠数	细胞免疫		体液免疫	
		足垫重(mg)	PFC/ 5×10^6 脾细胞	HA几何均数	95%可信限
正常	7	21.14 ± 2.18	36.9 ± 3.76	158.49	± 1.82
正常参芪	7	27.0 ± 0.74	$67.57\pm 9.62^{**}$	380.19	± 1.41
气 虚	8	$10.70\pm 0.66^*$	$14.0\pm 5.27^*$	60.29	± 1.40
气虚+参芪	8	$30.13\pm 2.06\Delta$	$61.5\pm 12.05\Delta\Delta$	309.03	± 1.50

注:与正常对照组比,* $P<0.001$,** $P<0.025$;与气虚组比, $\Delta P<0.001$, $\Delta\Delta P<0.005$;与正常对照组比,* $P<0.05$,** $P<0.025$

气虚组与正常对照组比,细胞免疫(DTH)反应明显降低($P<0.001$),体液免疫(PFC、HA)反应也明

显降低(P 值分别 <0.001 、 <0.025),表明控制饲料量所造成的气虚模型,细胞免疫反应与体液免疫反应均低下。参芪注射液能明显提高气虚小鼠DTH反应($P<0.001$)及PFC、HA反应(P 分别 <0.005 、 <0.001);参芪注射液也能提高正常动物DTH反应($P<0.05$),但不如气虚证动物明显;也能提高PFC、HA反应(P 均 <0.025),也不如气虚证动物明显。

三、抑制性T细胞诱导及参芪注射液对抑制性T细胞的作用:表3表明供体鼠SOI后14天,脾脏可诱导出大量Ts细胞,明显抑制受体鼠的抗体生成水平。参芪注射液使供体鼠SOI诱导Ts细胞产生降低,减弱了对受体鼠抗体生成的抑制,使受体鼠抗体水平明显高于SOI组。

表3 小鼠Ts细胞诱导和参芪注射液对Ts细胞的影响 ($M\pm SE$)

组别	PFC/ 5×10^6 脾细胞	OD值	受体小鼠抗体生成水平	
			HA几何均数	95%可信限
正常	99.8 ± 4.0 (100)	0.549 ± 0.04 (100)	279 (100)	± 1.23
SOI	$14.2\pm 2.8^*$ (85.8)	$0.119\pm 0.01^*$ (78.3)	31 (88.9)	± 1.37
SOI+参芪	$56.8\pm 9.1^{**}$ (43.0)	$0.255\pm 0.02^{**}$ (53.6)	128** (54.1)	± 0.0

注:(1)三组供体鼠数顺序为6、10、10;受体鼠数均为8只。(2)与正常组比,* $P<0.001$;与SOI组比,** $P<0.001$ 。(3)括号内为抑制百分率

讨 论

关于气虚与免疫的关系中医已有明确论述,如寇宗奭说:“人之生以气血为本,人之病未有不先伤其气血者”。《医宗必读》:“气血者人之所赖以生者也,气血充盈,则有邪外御,病安从来;气血虚损,则诸邪辐辏,百病丛集”。我们的实验结果不但证明了“气虚”动物细胞免疫和体液免疫均低下,而且也证明了补气代表方药——参芪注射液能提高细胞免疫和体液免疫,说明了中医的“气”与免疫功能的内在联系,但这并不排除“气”与其它方面的关系。

参芪注射液对“气虚证”动物提高免疫反应较正常动物明显,符合中医“虚则补之”的原则,因为正常动物是阴阳各种对立因素平衡、免疫调节平衡的动物,所以正常动物对药物不如气虚动物敏感。

关于SOI诱导小鼠脾脏产生Ts细胞,王天然

等^④作了论证,本实验结果从PFC、脾细胞介导的SRBC OD值及HA三个体液免疫指标证实了SOI确能诱导SRBC抗原特异性的Ts细胞。

现代免疫学研究表明,机体免疫系统存在着极为复杂的调节机制,维持自身相对平衡,产生正常免疫反应。在免疫调节环路中Ts细胞具有十分重要的作用。许多免疫紊乱性疾病与Ts细胞功能有关,研究药物对免疫调节性细胞,特别是Ts细胞的作用,对调整机体免疫功能从而达到防治疾病的目的,具有十分重要的意义。本研究首次证明,参芪注射液是通过降低Ts细胞而起到促进机体免疫反应的作用。

参 考 文 献

1. 周梦圣,等. 四君子汤对控制饲料小鼠的肝脏和胸腺组织中核酸含量影响的实验研究. 辽宁中医杂志 1984; 3:36.
2. Titus RG, et al. A simple and effective method to assess murine delayed type hypersensitivity to proteins. J of Immunological Methods 1981; 45:65.
3. 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; 20(9):61.
4. 王天然,等. 淫羊藿多糖和淫羊藿甙对抑制性T细胞的作用. 中国免疫学杂志 1981; 2(2):74.
5. 周 勇,等. 补气助阳方药对小鼠免疫功能调整作用的研究. 中医杂志 1985; 26(6):67.

中医药治疗声带息肉19例

上海中医学院附属曙光医院 郑昌雄 忻耀杰

我们用活血化瘀中药治疗声带息肉19例,获得一定的疗效,现报告如下。

临床资料 本组19例门诊患者,男12例,女7例。年龄31~64岁,平均43岁。病程最短9个月,最长11年,其中大多数在3年左右。全部病例均因声嘶而就诊,以间接喉镜检查作为诊断标准。发病部位:息肉发生于单侧声带前、中三分之一游离部14例(左侧声带8例,右侧声带6例),两侧声带3例,前连合部2例。声带息肉呈灰白色如水泡样5例,充血(紫红或鲜红色)8例,呈灰白色而不透明者6例。合并高血压病者2例,冠心病1例,慢性支气管炎6例,胃及十二指肠溃疡或胃炎3例。有烟酒嗜好者9例。有7例为术后复发者。

治疗方法 中药基本方:夏枯草9g 桃仁9g 红花6g 赤芍9g 白芍9g 南沙参9g 明党参9g 炙僵蚕6g 天花粉9g 桔梗4.5g 蝉衣4.5g。声带息肉紫红或鲜红色者加玄参9g,生石膏24g,以清热泻火;声带息肉灰白色而不透明者,加炮山甲12g、煅牡蛎30g以软坚散结;高血压者加车前草12g,夏枯草改为24g以清热平肝;冠心病者加紫丹参18g、广郁金9g以和营养心;胃溃疡者上方去炙僵蚕,加广木香6g、合欢皮9g调气和中;大便干燥难解者加瓜蒌仁12g、制首乌9g,以养阴清热通便。

上方每日1剂,水煎,分2次饭后服。在接受中药治疗期间,均停用其它治疗措施,但不强调声休,服药后每两周用间接喉镜检查声带1次。

结 果 本组病例连续服用中药3个月后,按其症状的改善程度和间接喉镜检查结果,评定疗效。痊愈(声音恢复正常,声带息肉消失,或仅留痕迹者)5例;有效(声嘶好转,声带息肉约缩小一半以上者)6例;无效(症状和体征均无明显改善者)8例。总有效率为57.9%。其中以灰白色如水泡样者疗效最佳。在治愈的5例中,有2例只服中药64、70剂,声带息肉即见消失。治愈5例,经临床随访6~8个月,均未见复发。

体 会 现代医学认为本病的主要原因在于任克氏层水肿、血液凝积所致。中医学则认为声带息肉乃有形之物,其形成与血瘀有关。据此病因病机分析,当以活血化瘀中药治其瘀血闭阻。笔者用桃仁、红花、赤芍等活血化瘀之中药对声带息肉确有一定效果。其疗效机理虽不能阐明,但据晚近实验研究,提示活血化瘀之中药具有减轻炎症,促进组织修复,软化纤维组织,疏通血管闭塞,改善微循环等作用。推测我们所用的活血祛瘀中药也具有这些方面的优点,可能就是治疗声带息肉的主要机理,值得进一步探索。

Experimental Study on the Immunosuppressive Effects of Gui Zhi Tang(桂枝汤)

Lü Xiufeng(吕秀凤), et al

Beijing Medical University, Beijing

In this paper the immunosuppressive effects of Gui Zhi Tang (a famous Chinese medicine) on the murine immune functions are reported. Varying dosages of Gui Zhi Tang administrated orally, i.p. and i.m. were able to inhibit the amounts of PFC, SRFC and the DTH response induced by BSA and the proliferation response of murine spleen cells to Con A and LPS. Further studies showed that Gui Zhi Tang had the inhibitory effect on Interleukin-2 production of murine spleen cells, which might be one of the mechanisms leading to the immunosuppressive effects of Gui Zhi Tang.

(Original article on page 283)

Experimental Study of Qi(气)Deficiency Syndrome and *Codonopsis pillosulae* and *Astragalus* Injection on Immune Response of Mice

Zhou Yong(周 勇), Yan Xuanzuo(严宣佐), et al

Dept. of Immunology, Beijing College of TCM, Beijing

According to TCM theory "hunger impairs one's Qi(气)", the authors had made mouse model of Qi deficiency syndrome (QDS) through controlling amount of food fed. Compared with mice of normal group, the body weight, thymus index and spleen index obviously decreased in mice of QDS group. The similar effects on humoral immunity and cell-mediated immunity were also obtained. It was found that the *Codonopsis pilosulae* and *Astragalus* Injection (CPAI) possessed the promoting action of thymus index, spleen index, humoral immunity and cell mediated immunity on QDS mice and normal mice except spleen index. However, QDS mice were more sensitive to CPAI than the normal mice. 4×10^9 SRBC/mouse was administered to normal donor mice by i. p., the super-optimal immunization could obviously induce generation of Ts cells. The CPAI could also reduce generation of Ts cells. This paper had proved that the inherent relation between Qi and immune response of organism, and that the CPAI could promote immune response by means of reducing Ts cells.

(Original article on page 286)

Effect of Yin Zhi Huang(茵栀黄)on Bilirubin Excretion in Animals with Unconjugated Hyperbilirubinemia

Yin Jie(殷 杰), Richard Wennberg*, et al

Hunan Medical University, Changsha

*California University, Davis, U.S.A

Yin Zhi Huang (YZH) given stomach perfusion daily for three days in rabbits accelerated plasma clearance of infused unconjugated bilirubin. A similar but less dramatic effect could be obtained by using YZH or phenobarbital i. p. daily for three days in rats employing simultaneously with the method of bile duct ligation, plasma indirect bilirubin levels was lower but hepatic bilirubin content and plasma direct bilirubin levels were higher in both YZH and phenobarbital treated rats than those in the control animals. These observations suggested that YZH and phenobarbital shared a common mechanism of acting in lowering the indirect bilirubin levels of serum.

(Original article on page 289)