

扶正解毒冲剂诱生干扰素和抑制病毒的作用

中日友好医院(北京 100013) 中西医结合研究室 李建平 常春燕
中医肿瘤科 张代钊

内容提要 本文报道了不同浓度的扶正解毒冲剂对小鼠淋巴细胞均有明显的诱生干扰素的能力,对病毒在细胞上的繁殖亦有明显的抑制作用,并且可延长细胞在体外的寿命。

关键词 扶正解毒冲剂 干扰素 病毒

本文研究了扶正解毒冲剂诱生干扰素和抑制病毒的作用,为临床治疗肿瘤及病毒感染等疾病提供了客观的理论依据,现将结果报道如下。

材料与方法

一、材料

1. 动物:昆明系健康小鼠,由本院动物室提供。
2. 药物:扶正解毒冲剂(主要成分:生黄芪、大生地、元参、麦冬、银花、黄连、陈皮等),由本院中医肿瘤科张代钊主任提供处方,经北京向阳制药厂加工制成膏剂,用时配成所需浓度。
3. 干扰素诱生剂刀豆素 A (Con A, 美国Sigma公司产品),用时配成所需浓度。
4. 病毒株:滤泡性口腔炎病毒(VSV)Indiana株,其传代和滴定方法见文献^[1]。
5. 细胞株:小鼠L929B细胞系,由中国预防医学科学院病毒学研究所提供。传代方法见文献^[2]。Hela细胞,人胚肺二倍体细胞由中国医学科学院基础研究所提供,培养及传代方法见文献^[3]。

二、方法

1. 干扰素的诱生和活性测定:体重20~25g的健康昆明小鼠,雌雄兼用。无菌取其脾脏,制备脾细胞悬液,浓度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$,制备方法详见文献^[2]。将准备好的小鼠脾细胞等分于四组试管中,阴性对照组、阳性对照组、药物Ⅰ组、药物Ⅱ组,药物最终浓度Ⅰ组为1.6%,Ⅱ组为0.8%,方法见表1。各组按表中

量加毕后,置37℃培养箱中旋转培养48h,取出后离心15min(1500转/min),收集上清,冻存待测活性。干扰素的效价滴定详见文献^[4]。

2. 扶正解毒冲剂在人胚肺二倍体细胞和Hela细胞上的抗病毒作用:将人胚肺二倍体细胞和Hela细胞分别接种于96孔培养板中,待细胞长成单层以后,分为对照组和药物组,药物组分别加入0.8%、0.2%、0.05%、0.025%的药物,次日吸掉上清,用培养液洗一遍,加入不同滴度的VSV病毒,每一滴度均重复3孔,置37℃培养箱中培养。待病毒对照组细胞病变达++~+++时记录结果。

3. 扶正解毒冲剂对细胞体外生长动态的影响:用 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 人胚肺二倍体细胞接种于细胞培养管中,待细胞长成单层后,等分为三组:对照组、药物Ⅰ组、药物Ⅱ组。对照组加1640培养液(含10%小牛血清、1%P.S、1%NaHCO₃),药物Ⅰ组、药物Ⅱ组分别加0.8%、0.4%的扶正解毒液,在37℃培养箱中培养,每隔3天换液1次,在加药后不同天数随机每组各取2管,用0.25%的胰蛋白酶消化,吹打分散,离心,将细胞用0.2%的台盼蓝染色,计算每组细胞存活数的平均数。

结 果

一、不同浓度的扶正解毒冲剂刺激淋巴细胞产生干扰素的能力:结果可见0.8%、0.4%的药物均能诱

表1 γ 干扰素的诱生

组 别	脾细胞悬液 (ml)	ConA (200u/ml)	8%药 (ml)	4%药 (ml)	培养液 (ml)
阴性对照	3.0	—	—	—	3.0
阳性对照	3.0	0.6	—	—	2.4
药物Ⅰ	3.0	—	1.2	—	1.8
药物Ⅱ	3.0	—	—	1.2	1.8

表2 不同浓度的药物诱生干扰素的作用
($\bar{x} \pm S$ 下同)

组 别	实验次数	干扰素单位 (log ₂ u/200μl)	P
阴性对照	10	5.20±0.13	
阳性对照	10	12.13±0.13	<0.01
药物Ⅰ	10	7.82±0.17	<0.01
药物Ⅱ	10	7.75±0.14	<0.01

生干扰素,其能力基本平行,阳性对照组的值明显地高于阴性对照组,说明实验的可靠性很强(表2)。

扶正解毒冲剂在小鼠脾淋巴系统中所诱生的抗病毒物质,用200 μ g/ml胰蛋白酶37 $^{\circ}$ C处理1h,或酸处理2h后,均可使其灭活,而丧失活性,即在实验中无法测出干扰素滴度(均为零),说明这种抗病毒物质为 γ 干扰素。 γ 干扰素是免疫型干扰素,可以促进机体的免疫力增强。

二、扶正解毒冲剂在人胚肺二倍体细胞和Hela细胞上的抗病毒作用:结果可见人胚肺二倍体细胞和Hela细胞经不同浓度的扶正解毒液处理后,细胞的抗病毒能力与对照组相比有极显著性差异(表3)。在人

表3 药物在人胚肺二倍体和Hela细胞上的抗病毒作用

组别	实验次数	病毒滴度(TCID ₅₀)	
		人胚肺二倍体细胞	Hela细胞
对照	6	228.70 $\pm$ 0.82	230.80 $\pm$ 1.18
0.8%	6	40.60 $\pm$ 0.87*	29.50 $\pm$ 0.50
0.2%	6	45.60 $\pm$ 0.44*	33.20 $\pm$ 0.91 Δ
0.05%	6	51.66 $\pm$ 0.38*	38.40 $\pm$ 0.56 Δ
0.025%	6	57.86 $\pm$ 0.44*	47.20 $\pm$ 0.36 Δ

注:与对照组比,* P <0.01;与上组比, ΔP <0.01

胚肺二倍体细胞上对照组的细胞在病毒滴度为1:228.75时,病变就达50%,而药物组的细胞在病毒滴度为1:40.60~1:57.87时病变方达50%。在Hela细胞上对照组的细胞在病毒滴度为1:230.80时病变就达50%,而药物组的细胞在病毒滴度为1:29.50~1:47.20时病变方达50%,说明药物对病毒的繁殖有明显的抑制作用。从表中还可以看出不同浓度的药物抗病毒的能力也不同,随着药物浓度的降低,药物的抗病毒能力也相应地减弱(P <0.01)。

三、扶正解毒冲剂对人胚肺二倍体细胞在体外生长动态的影响:结果见表4。人胚肺二倍体细胞经药物处理后,培养到第10天,药物组的存活率显著地高于对照组(P <0.05),培养到第15天后,药物组细胞的存活率极显著地高于对照组(P <0.01)说明扶正解毒冲剂极显著地延长了细胞寿命。

讨 论

本实验结果表明,扶正解毒冲剂可以刺激小鼠淋巴系统产生干扰素。干扰素是一种广泛的抗病毒物质,几乎对所有的病毒都有一定程度的抑制作用,干扰素可以提高机体的免疫能力,如促进巨噬细胞的免疫功能,对NK细胞等都有激活作用。这为扶正解毒冲剂

表4 扶正解毒冲剂对人胚肺二倍体细胞在体外生长动态的影响

组别	实验次数	细胞生长数(万)					
		5天	10天	15天	20天	25天	30天
对照	5	40.0 $\pm$ 0.32	37.0 $\pm$ 0.28	29.3 $\pm$ 0.12	15.2 $\pm$ 0.34	7.2 $\pm$ 0.56	3.2 $\pm$ 0.22
0.8%	5	41.0 $\pm$ 0.29 Δ	40.0 $\pm$ 0.46*	34.8 $\pm$ 0.79**	31.4 $\pm$ 0.26**	16.8 $\pm$ 0.44**	8.4 $\pm$ 0.20**
0.4%	5	41.0 $\pm$ 0.45 Δ	38.7 $\pm$ 0.18*	32.4 $\pm$ 0.38*	30.4 $\pm$ 0.38**	16.0 $\pm$ 0.32**	7.2 $\pm$ 0.28**

注:与对照组比,* P <0.05,** P <0.01, ΔP >0.05

的抗病毒、抗肿瘤作用提供了可靠的理论依据。

扶正解毒冲剂对VSV病毒在人胚肺二倍体细胞上和Hela细胞上的繁殖都有很强的抑制作用,说明无论是人的正常细胞还是肿瘤细胞经扶正解毒冲剂处理后,都可以产生很强的抑制病毒繁殖的作用,肿瘤病人服用此药后,整个机体的抗病毒能力可明显增强,有利于机体的恢复。且不同浓度的药物的抗病毒能力也不同,这为临床治疗用药物的用量提供了客观的依据。

扶正解毒冲剂是一种在临床使用有效的抗肿瘤药物,服用此药后机体的免疫力明显增强。通过本文的研究,为临床药物的用量,治疗提供了依据。对了解中药的本质有一定的理论价值,为今后更多地发现中

药作为干扰素诱生剂开阔了新的道路。

参 考 文 献

- 1.周先正,等。白血病患者外周血白细胞诱生干扰素水平和NK细胞活性的体外研究。中华微生物学和免疫学杂志1987;7(6):365。
- 2.张智清,等。不同品系小鼠脾细胞对T细胞有丝分裂素的 γ 干扰素反应及其诱生特性。中华微生物学和免疫学杂志1981;6(1):428。
- 3.陈嘉华,等。应用酶释放检测原理作为观察NK、ADCC效应方法的研究。中华微生物学和免疫学杂志1983;3(4):231。
- 4.Khoroshikh EM, et al. Use of a rapid micromethod for determining the activity of interferon. Lab Devel 1988;8:57。