

实验研究

板蓝根多糖促进免疫功能的实验研究

南京中医学院(南京 210029) 许益民 陆平成 王永珍

南通市医药采购供应站 黄振新

内容提要 腹腔注射板蓝根多糖(IIP)50mg/kg可显著促进小鼠免疫功能, 表现如下: 能明显增加正常小鼠脾重、白细胞总数及淋巴细胞数, 对氢化可的松所致免疫功能抑制小鼠脾指数、白细胞总数和淋巴细胞数的降低有明显对抗作用; 显著增强二硝基氯苯所致正常及环磷酰胺所致免疫抑制小鼠的迟发型过敏反应; 增加正常小鼠外周血淋巴细胞ANAE阳性百分率, 并明显对抗氢化可的松所致的免疫抑制作用; 但IIP 体外实验对刀豆素A诱导的小鼠脾细胞淋转反应无明显增强作用; 此外, IIP还能明显增强抗体形成细胞功能, 增加小鼠静注碳粒廓清速率。

关键词 板蓝根 多糖 脾脏 白细胞 淋巴细胞 迟发型过敏反应 碳粒廓清速率 抗体形成细胞 酸性 α -醋酸萘酯酶阳性淋巴细胞 刀豆素A

板蓝根是中医常用的清热解毒中药之一, 临床上用于治疗流感、腮腺炎、乙脑、肝炎等, 是公认的有较好抗病毒效果的少数中药之一。板蓝根的化学成分, 现已分析出靛蓝、靛玉红、芥子甙等^①, 但未见报道这些成分有抗病毒作用。为探讨板蓝根的有效成分, 我们首次提取分离了一种多糖成分, 其药理作用迄今尚未见公开报道。本文观察板蓝根多糖对小鼠免疫功能的影响。

实验材料

板蓝根多糖(IIP)由菰蓝(*Isatis indigotica* Fort.) 根中提取(分离纯化过程及结构测定待另文发表), 使用时用生理盐水稀释至所需浓度。

环磷酰胺(CY): 上海第十二制药厂产品; 氢化可的松(HC): 扬州制药厂产品; 二硝基氯苯(DNCB): 北京化工厂产品; 刀豆素A(Con A): Sigma公司产品。

ICR 小鼠由本院实验动物房供应, NIH 小鼠及C₅₇BL/6小鼠由南京医学院动物实验中心供应, 体重均为18~22g, 雌雄兼用。

方法与结果

一、对免疫器官重量的影响: 取ICR 小鼠按表1分组并给药, 给药组腹腔注射IIP 50mg/kg, 每日1次, 共8天, HC组30mg/kg皮下注射, 隔日1次, 共4次, 对照组给同剂量生理盐水。末次给药后24h,

剖取胸腺和脾脏称湿重, 结果(表1)显示, 板蓝根多糖可增加正常小鼠的脾脏重量, 并使HC所致脾脏重量减轻恢复到正常水平, 但对胸腺重量无明显影响。

表1 板蓝根多糖对小鼠免疫器官重量的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	剂量(mg/kg)	鼠数(只)	胸腺指数(mg/10g)	脾指数(mg/10g)
正常对照	—	10	31.7 $\pm$ 4.8	61.4 $\pm$ 4.3
IIP	50	10	35.4 $\pm$ 3.8	75.5 $\pm$ 11.9**
HC	30	10	14.2 $\pm$ 3.5**	42.6 $\pm$ 5.3**
IIP+HC	50+30	10	18.8 $\pm$ 7.6**	61.8 $\pm$ 7.4

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 下同

二、对小鼠外周血白细胞及淋巴细胞数的影响: 取ICR 小鼠, 给药及分组同上, 末次给药后次日尾静脉采血按常规方法计白细胞总数, 同时涂血片, 按瑞氏染色法计算淋巴细胞总数及比例。结果表明(表2) IIP 明显增高小鼠白细胞总数及淋巴细胞数(但

表2 板蓝根多糖对小鼠外周血白细胞总数的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	剂量(mg/kg)	鼠数(只)	白细胞总数(个/mm ³)	淋巴细胞数(个/mm ³)
正常对照	—	10	14802 $\pm$ 3110	10805 $\pm$ 499
IIP	50	10	19440 $\pm$ 2412**	14350 $\pm$ 2730**
HC	30	10	11888 $\pm$ 2535**	7172 $\pm$ 695**
IIP+HC	50+30	10	15128 $\pm$ 2681	10856 $\pm$ 968

淋巴细胞比例与对照组无明显差别),并对 HC所致白细胞数及淋巴细胞数的减少有明显对抗作用。

三、对小鼠静脉注射碳粒廓清率的影响:取 ICR 小鼠 24 只,随机分成 2 组,给药组每日腹腔注射 IIP 50mg/kg,连续给药 7 天,末次给药后 24h,参照文献⁽²⁾方法,由尾静脉注射印度墨汁(用生理盐水稀释 5 倍)10ml/kg,注射后 2 和 10min 各从眼后静脉丛取血 20 μ l 加到 2 ml 0.1% Na₂CO₃ 中,摇匀,1 h 后于 680nm 波长比色测定,计算并比较各组的廓清指数。结果给药组 K 值为 0.055 $\pm$ 0.019,明显高于空白对照组的 0.028 $\pm$ 0.017 ($P < 0.05$)。

四、对抗体形成细胞功能的影响:取 NIH 小鼠 20 只,每鼠腹腔给 3×10^8 绵羊红细胞(SRBC)免疫,致敏前 5 天给药,致敏后 5 天剪头处死小鼠,采用脾细胞介导红细胞溶血分光光度测定法(QHC)^(3,4),将 2 只小鼠脾为一份样品,洗后浸于 Hanks 液中捣碎,八层纱布过滤,滤液调整细胞数至 5×10^6 /ml。每管加脾细胞悬液 1 ml,1:30 豚鼠补体 1 ml,0.2% SRBC 1 ml,另设不加 SRBC 而加 pH 7.2 的 PBS 1 ml 为空白管,于 37 $^{\circ}$ C 水浴中孵育 1 h 2000r/min 离心 10min,吸取上清液于紫外分光光度计 413nm 波长测定 OD 值。结果给药组 OD 值为 0.328 $\pm$ 0.079,显著高于对照组的 0.217 $\pm$ 0.045 ($P < 0.01$),说明 IIP 对抗体形成细胞功能有促进作用。

五、对外周血 ANAE⁺淋巴细胞比率的影响:取 ICR 小鼠,给药及采血方法同白细胞总数测定,按汤英龙等改良的微量快速 T 淋巴细胞酸性 α -萘醋酸酯酶测定法⁽⁵⁾涂片、孵育,按姜世勃等改进的复合对比染色法⁽⁶⁾染色,油镜下观察 100 个淋巴细胞,计数酯酶阳性细胞(ANAE⁺淋巴细胞)百分率。结果(见表 3)表

表 3 板蓝根多糖对外周血 ANAE⁺淋巴细胞百分率的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	剂量 (mg/kg)	鼠数 (只)	ANAE ⁺ (%)
正常对照	—	15	62.40 $\pm$ 3.22
IIP	50	15	72.78 $\pm$ 6.47**
HC	30	15	54.77 $\pm$ 4.68**
IIP+HC	50+30	15	61.38 $\pm$ 2.85

表 5 板蓝根多糖对 ConA 诱导小鼠脾细胞淋转的影响 (鼠数=6)

剂量 IIP(μ g/ml)	ConA 20 μ g/ml						
	0	12.5	25	50	100	200	400
刺激指数 ($\bar{x} \pm S$)	4.18 ± 0.90	4.72 ± 1.04	4.86 ± 1.23	4.85 ± 1.11	5.06 ± 1.26	4.93 ± 1.17	4.71 ± 0.98

明 IIP 可明显升高正常小鼠外周血 ANAE⁺淋巴细胞比率,使 HC 所致的 ANAE⁺淋巴细胞比率降低提高到正常水平。

六、对 DNCB 所致小鼠迟发型过敏反应的影响:取 NIH 小鼠,分组及给药见表 4,按文献⁽⁷⁾法用 7% DNCB 丙酮溶液 0.02ml 于背部皮下致敏,致敏当日给药(连续 9 天)及环磷酰胺(连续 4 天)。末次给药后在小鼠右耳涂 1% DNCB 甘油溶液 0.025ml 激发,16h 后处死小鼠。剪下两耳,用打孔器在两耳相同部位各取直径 9mm 的圆块,用电光分析天平称重并计算肿胀度。

$$\text{肿胀度} = \frac{\text{右耳重量} - \text{左耳重量}}{\text{左耳重量}} \times 100\%$$

结果表明 IIP 对 DNCB 所致无论是正常小鼠还是免疫抑制小鼠的迟发型过敏反应均有显著增强作用(见表 4)。

表 4 板蓝根多糖对 DNCB 所致小鼠迟发型过敏反应的影响

组别	剂量 (mg/kg)	鼠数 (只)	肿胀度 (%, $\bar{x} \pm S$)	肿胀增强率 (%)
正常对照	—	10	12.84 $\pm$ 5.15	—
IIP	50	10	32.24 $\pm$ 7.69**	151.08
CY	50	10	7.28 $\pm$ 4.73*	-43.30
IIP+CY	50+50	10	23.43 $\pm$ 9.68	82.48

七、对 ConA 诱导小鼠脾细胞淋转的影响:取 C₅₇BL/6 小鼠,体重 22 $\pm$ 0.5g,断颈处死后无菌取脾,玻片刮取法制成脾细胞悬液,用 Tris-NH₄Cl 缓冲液离心洗二次后计数,以 10% FCS-1640 配成 5×10^6 /ml 脾细胞悬液。将 50 μ l 倍比稀释的多糖溶液(用 pH 7.2 PBS 液配制)加入 96 孔培养板孔中,同时加 50 μ l 20 μ g/ml ConA 及 100 μ l 脾细胞悬液。将培养板置 CO₂ 孵箱(37 $^{\circ}$ C,含 5% CO₂,饱和湿度)培养 48h,取出吸弃 100 μ l 上清液,按文献⁽⁸⁾加入 MTT 10 μ l(5 mg/ml),再 37 $^{\circ}$ C 孵育 3 h。取出后各孔加入 100 μ l 酸化异丙醇(0.04 mol/L HCl-异丙醇)并充分混合,静置数分钟,用酶标光度计取波长 570nm,参考波长 630nm 测定 OD 值。以实验孔 OD 值和对照孔 OD 值之比作为刺激指数。结果(表 5)表明 IIP 对 ConA 诱导小鼠脾细胞淋转无明显影响。

讨 论

从免疫器官重量、外周血白细胞总数和淋巴细胞数的测定结果可见,腹腔注射IIP50mg/kg可增加脾脏重量,促进免疫细胞的分裂繁殖,完全或部分地纠正HC所致上述免疫指标的抑制作用。IIP能明显增强小鼠抗体形成细胞功能,提示它对体液免疫有一定的促进作用。T淋巴细胞百分率和迟发型过敏反应均是反映动物细胞免疫功能的指标,本实验结果表明IIP可升高循环ANAE阳性百分率及增强对DNCB所致小鼠迟发型过敏反应,并能完全对抗HC或CY所致的免疫抑制作用,说明IIP对细胞免疫功能有促进作用。据报道^⑧慢性肝炎患者常伴有细胞免疫功能低下,如迟发型过敏反应往往降低等,IIP对细胞免疫功能的促进作用与板蓝根抗肝炎的临床效果是相一致的。但IIP对Con A诱导的脾细胞淋转无明显影响,可能因IIP主要通过体内免疫系统起作用,而对体外免疫检测不敏感。此外,IIP还能促进单核巨噬细胞系统功能,巨噬细胞不仅具有吞噬作用,在机体抗感染,抗病毒、抗肿瘤免疫中起重要作用,还能提高识别抗原能力,在特异的体液免疫和细胞免疫应答反应中也有重要作用,因此IIP增强单核巨噬细胞系统功能亦与前述免疫增强作用有关。总之,通过实验初步证明,IIP无论对特异性免疫和非特异性免疫,体液免疫或细胞免疫均有一定的促进作用,提示IIP可能是板蓝根抗病

毒感染,防治肝炎、流感等疾病的重要活性物质之一。有关IIP的其它药理实验正在进行研究,其临床上的治疗价值亦有待实验证明。

参 考 文 献

1. 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上册. 上海人民出版社, 1977:1250.
2. 金筠芳,等. 甘蔗多糖的免疫活性. 中国药理学报 1981; 2(4):269.
3. 张罗修,等. 韭叶柴胡多糖对小鼠脾、胸腺重量,淋巴细胞增生和空斑形成细胞的影响. 中国药理学报 1986; 7(5):479.
4. Simpson MA, et al. Spectrophotometric determination of lymphocyte mediated sheep red blood cell-hemolysis in vitro. J Immunol Methods 1978; (21): 159.
5. 汤英龙,等. 一种改良的微量快速T淋巴细胞酸性 α -萘醋酸酯酶测定法. 中华医学检验杂志 1983; 6(3): 140.
6. 姜世勃,等. T淋巴细胞ANAE染色的复合对比染色法. 中华医学检验杂志 1983; 6(4):234.
7. 戴岳,等. 女贞子煎剂对小鼠免疫系统的作用. 中国药科大学学报 1987; (4):301.
8. 周道洪,等. 测定淋巴细胞转化和鼠白细胞内素2活性的新方法—MTT比色分析法. 中国免疫学杂志1986; (1): 39.
9. 李晓玉,等. 氧代赖氨酸对免疫反应的增强作用. 中国药理学报 1987; 8(2):173.

手针治疗急性腰、胸肋扭伤 311 例

甘肃省敦煌市医院(甘肃 736200) 刘荆林

笔者自1989年以来,用手针治疗急性腰、胸肋扭伤311例,疗效满意。

临床资料 311例中急性腰扭伤264例,急性胸肋扭伤47例,病程最短2小时,最长半月。临床表现:(1)突然发病,多发生于劳动或体育活动中用力过猛,动作失控;起床转身姿势不端;下楼梯踩空脚步;也有个别患者在偶然打喷嚏时发生腰或胸肋疼痛。(2)疼痛特点:扭伤部位酸、困、胀、硬、痛。发病当即可使患者处于被迫体位,活动受到明显限制。弯腰或伸腰、下蹲、咳嗽、打喷嚏均使疼痛加剧。少数患者腰痛可放散到小腹、会阴、睾丸。

治疗方法 取患者右手背(半握拳),术者位于患者右侧(操作方便),认准中指伸肌腱,在其肌腱左侧(避开血管),距腕横纹3cm处,进针皮下后,向上、向后,针体和皮面、针体和中指伸肌腱各持角度均

为35°,从肌腱下进针0.8~1寸,患者有针感后强刺激,同时嘱患者咳嗽数声,然后嘱患者活动腰部,弯腰、伸腰,反复做下蹲活动。活动速度越快、幅度越大,疗效越佳。胸肋扭挫伤患者以主动咳嗽、深呼吸扩胸等活动配合。总之,哪类活动能使疼痛加重,就用哪类活动配合之。以腰部或全身出汗为度。注意年老体弱和精神紧张者,以防晕针。只要按法操作,不分左右腰,胸肋痛,患者活动得休,多数患者可在数分钟至十多分钟内疼痛明显减轻或消失,活动自如。发病到治疗时间越短,治疗效果越好。

结果 疗效标准:治愈,疼痛消失,活动自如;有效:疼痛明显减轻,腰部稍有酸困感;无效:疼痛无减轻。结果:针1次治愈274例,腰扭伤236例,胸肋扭伤38例。针2次治愈37例,(腰扭伤28例,胸肋扭伤9例)。全部治愈

of pan-T cells was slightly increased, and the changed percentage of Ts cells and the ratio of Th/Ts cells mentioned above was recovered to normal, while in NS group all these indexes remained at abnormal range during the period we observed. The results suggested that YD could promote the recovery of abnormal T lymphocyte subsets in traumatized patients, and it possessed to some extent the function of immune regulation that was helpful to reduce the ratio of infection after trauma.

Key Words trauma, T-lymphocyte subsets, Yipanzhu decoction

(Original article on page 340)

Clinical Research on Treatment of Cervical Spondylosis with Jing Tong Ning (颈痛宁) Granule

Wang Yi-hu (王易虎), et al

Xijing Hospital, Xi'an (710032)

The authors treated 102 cervical spondylosis patients with Jing Tong Ning granule that made of herbs according to the TCM principle of promoting blood circulation to remove blood stasis. The 9 hemorheological indexes before and after treatment were observed. 15 patients of all were also observed the changes of eyeground microangium. Moreover, the animal experiments were taken in order to test and verify the effects further. The results revealed that the total effective rate was 96.1%. The main hemorheological indexes (eg. blood viscosity and plasma viscosity) showed significant difference in statistics before and after treatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The changes of eyeground microangium had significant difference too, ($P < 0.01$). The animal experimental results were the same as the clinical ones. Hence, the authors consider that Jing Tong Ning granule had the effects to decrease the blood viscosity, improve microcirculation and accelerate blood flow.

Key Words Jing Tong Ning granule, cervical spondylosis, hemorheology, eyeground microangium

(Original article on page 343)

Observations on the Treatment of Chemotherapy-Induced Leukocytopenia with Acupuncture and Moxibustion

Chen Hui-ling (陈惠玲), Huang Xi-mei (黄喜梅), et al

Dept. of Internal Medicine, Henan Tumor Hospital, Zhengzhou (450003)

The effect of acupuncture and moxibustion on 376 cases of chemotherapy-induced leukocytopenia was observed in patients with malignant tumors in the intermediary and advanced stages. Findings revealed that the total effect in 121 cases (88.4%) occurred in the group treated with acupuncture and moxibustion with warming needle; while the total effect in 221 cases (90.9%) was in the group treated with moxibustion with ignited moxa cone. A comparison made between the 2 groups showed no significant difference ($P > 0.05$). The total effective rate was 38.2% when compared with the control group using batylalcohol and pentoxyl and so the difference was significant ($P < 0.01$). Analysis found that with patients having higher basic WBC value, the effect would be higher. Conversely, those who had lower basic value in their WBCs, the expected effect would be lower. These findings suggest that acupuncture and moxibustion in raising the effect on the white cells were influenced by the extent to which the bone marrow was inhibited, having no relevance to the kind of disease, the chemotherapy regime, and the treatment course which the patient was in.

Key Words leucocytopenia, acupuncture and moxibustion therapy, warming needle, ignited moxa

(Original article on page 350)

Experimental Studies on Immunostimulatory Effects of the *Isatis indigotica* Polysaccharide

Xu Yi-min (许益民), Lu Pin-chen (陆平成), et al

Nanjing College of TCM, Nanjing (210029)

Polysaccharides extracted from the root of *Isatis indigotica* (IIP, 50 mg/kg · d, ip × 8d) significantly increased the weight of spleen and number of white blood cell and lymphocyte in