

• 实验研究 •

补肾和健脾对免疫系统不同作用方式的研究*

沈自尹¹ 蔡定芳¹ 张玲娟¹ 钟历勇² 陈晓红¹

内容提要 目的:探讨补肾药对免疫系统的作用方式。方法:用 3 类复方对皮质酮大鼠分别在 7 天与 14 天实验里,进行对神经内分泌及免疫系统不同作用方式的研究。结果:无论 7 天或 14 天,健脾组的免疫系统均得到保护,而神经内分泌系统却未有明显作用,说明健脾药是对免疫系统的直接作用;补肾组虽 7 天实验尚未见对各系统有何影响,至 14 天实验才显示对神经内分泌免疫系统的全面作用。结论:补肾药是先作用于神经内分泌系统,而后才影响于免疫系统,亦即是作用于神经内分泌免疫网络的下行通路。

关键词 补肾 健脾 皮质酮大鼠 右归饮

Study of Different Pattern of Immuno-Modulatory Mechanism by Tonifying Kidney and Invigorating Spleen SHEN Zi-yin, CAI Ding-fang, ZHANG Ling-juan et al *Huashan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai (200040)*

Objective: To observe the acting pattern on the immune system by tonifying the Kidney (TK). **Methods:** Three composite recipes were used on the 7-and 14-day corticosterone rat model to study the effect of recipes on the different pattern of immuno-modulatory and neuroendocrinological systems. **Results:** The immune system of Invigorate the Spleen (IS) group was well protected in either 7-day or 14-day experiment, without any effect of IS recipe acting on the neuroendocrine system, it suggested that IS recipe might have direct action on immune system, while TK group with no effect on neuroendocrine-immune (NEI) system in 7-day experiment, but showed the remarkable protective effect of the whole NEI system until 14-day experiment. **Conclusion:** The results indicated that TK recipe is acting on the neuroendocrine system first, and then influence the immune system. It means that the action was through down pathway of NEI network.

Key words tonify the Kidney, invigorate the Spleen, corticosterone rat, Youguiyin

在肾本质的研究中,发现补肾或健脾药均能提高老年人⁽¹⁾或皮质酮大鼠⁽²⁾(下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺 HPAT 轴受抑制模型)原已衰退或受抑制的免疫功能,而补肾药还能提高垂体—肾上腺皮质功能。本实验分别以 7 天与 14 天实验的“时间差”,从中比较右归饮、四君子汤、桃红四物汤 3 类复方对皮质酮大鼠免疫功能调节的作用方式,现报道如下。

资料与方法

1 动物分组 雄性 SD 大鼠 100 只,月龄 6 个月,体重 230~250g,由上海医科大学动物中心提供,分为 7 天与 14 天两个实验大组进行,每组各 50 只。

2 药物 补肾药选用右归饮,健脾药选用四君子汤,活血药选用桃红四物汤,药物组成、剂量比例及制备见参考文献⁽³⁾。

3 试剂及细胞株 造模所用皮质酮(CORT)购自 Sigma 公司,使用时溶于灭菌豆油中,工作浓度为 20mg/ml。内分泌实验所用³H-CORT 放射免疫药盒购自上海市内分泌研究所,¹²⁵I-促肾上腺皮质激素(ACTH)放射免疫药盒购自 Diagnostic Products 公

* 国家自然科学基金重点项目(NO. 39230370)

1. 上海医科大学华山医院(上海 200040); 2. 南京铁道医学院

司。淋巴细胞增殖反应所用³H-TdR 购自中国科学院上海原子核研究所(放射性比强度 22Ci/mmol,放射性浓度 1mCi/ml),自然杀伤(NK)细胞活性测定选 YAC-1 细胞作为靶细胞,购自中国科学院上海细胞生物研究所,每 2~3 天传代 1 次。

4 实验方法和观察项目

4.1 7 天实验组,将大鼠随机分为 5 组,每组各 10 只,CORT 组为模型组,按 10mg/kg 皮下注射 CORT,每天 1 次,连续 7 天,同时以蒸馏水代替药物灌胃;3 个用药组为 CORT 加右归饮组(YG 组)、CORT 加四君子汤组(SJ 组)、CORT 加桃红四物汤组(TH 组),除每天按前剂量皮下注射 CORT 外,同时按 10g/kg 的剂量根据各组所用药物灌胃;对照组以等体积(按 20mg/ml 换算)灭菌豆油代替 CORT、用蒸馏水代替药物灌胃,亦每天 1 次,连续 7 天。实验第 8 天,所有动物快速断头处死,无菌取脾脏置 1640 培养液作淋巴细胞增殖反应及 NK 细胞活性测定,检测方法见文献^[2];留取血用 4%EDTA 抗凝分离血浆,作 CORT 及 ACTH 含量测定,检测方法按药盒说明。

4.2 14 天实验组,本组的动物分组、给药、观察项目均与 7 天实验组相同,只是造模与给药期延长至

14 天,于第 15 天处死作实验。

5 统计学处理 组间比较采用 *t* 检验。

结 果

1 3 类复方在 7 天实验中对神经内分泌免疫(NEI)系统的影响 结果见表 1。CORT 组在注射 CORT 7 天后,与对照组比较,血浆 CORT 含量明显下降, $P<0.001$;ACTH 含量尚未见明显抑制。淋巴细胞增殖反应及 NK 细胞活性均受到明显抑制, $P<0.001$ 。YG 组及 TH 组所测指标,与 CORT 组比较均无显著性意义, $P>0.05$ 。而 SJ 组与 CORT 组比较,淋巴细胞增殖反应及 NK 细胞活性均明显上升, $P<0.01$ 。以上结果说明 7 天实验中,仅 SJ 组对免疫指标有作用。

2 3 类复方在 14 天实验中对 NEI 系统的影响 结果见表 2。CORT 组在注射 CORT 14 天后,与对照组比较,NEI 系统指标全部明显下降, $P<0.005$ 。TH 组与 CORT 组比较仍无显著性意义, $P>0.05$ 。SJ 组与 CORT 组比较,免疫指标仍明显上升, $P<0.01$ 。YG 组与 CORT 组比较,NEI 系统指标全部明显上升, $P<0.05\sim 0.01$ 。

表 1 3 类复方 7 天实验对 NEI 系统的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	鼠数	神经内分泌		免 疫	
		CORT(ng/dl)	ACTH(pg/ml)	淋巴细胞增殖反应(cpm)	NK 细胞活性(%)
对 照	10	7.22±2.48	74.29±53.97	117692±14608	61.80±8.20
CORT	10	0.95±1.13*	52.33±37.80	87698±29262*	15.60±7.80*
YG	10	1.57±1.05	43.52±25.47	90324±24603	18.35±10.20
SJ	10	1.76±1.20	46.76±22.99	112303±17206 [△]	30.21±10.40 [△]
TH	10	0.68±0.53	54.92±33.15	95238±21294	15.20±9.50

注:与对照组比较,* $P<0.001$;与 CORT 组比较, $\Delta P<0.01$

表 2 3 类复方在 14 天实验中对 NEI 系统的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	鼠数	神经内分泌		免 疫	
		CORT(ng/dl)	ACTH(pg/ml)	淋巴细胞增殖反应(cpm)	NK 细胞活性(%)
对 照	10	16.40±3.97	80.30±48.97	125612±14803	81.20±8.90
CORT	10	1.54±0.97*	31.30±25.58*	86393±38548*	37.47±5.34*
YG	10	2.82±1.22 [△]	66.05±23.57 [△]	101130±36334 [△]	62.92±12.89 ^{△△}
SJ	10	2.05±1.68	57.63±50.25	151917±68770 ^{△△}	65.21±10.53 ^{△△}
TH	10	1.86±1.51	37.41±26.05	78340±47687	33.82±9.45

注:与对照组比较,* $P<0.005$;与 CORT 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

讨 论

在肾本质的研究中⁽¹⁾，发现补肾与健脾两法在神经内分泌及免疫方面的作用各有所侧重，补肾法表现有更全面的调节作用，似是先作用于神经内分泌而后影响免疫系统，与 NEI 网络的调节有关，但尚未证实。本研究设计了 7 天与 14 天的两大组实验，企图了解补肾药对免疫系统的作用是直接的，抑或间接的，以及与 NEI 网络系统的关系。结果表明，健脾的 SJ 组在 7 天实验中即表现为免疫系统受到明显的保护作用，而补肾的 YG 组直至 14 天实验中才显示对 NEI 系统的全面保护作用。从 7 天与 14 天的时间差，充分说明补肾是先作用于神经内分泌系统，而后才影响于免疫系统。这与临床所见相符，即一般补肾药要服用两个月左右才会有神经内分泌系统的明显改善。我们曾观察到⁽²⁾ CORT 大鼠在体实验中，补肾药 YG 能明显提高淋巴细胞增殖反应，但在离体实验中，则无直接促进淋巴细胞增殖作用，这些都说明补肾药对免疫系统的作用是间接的。

近来，神经内分泌免疫学的很多研究资料证实：糖皮质激素对 HPAT 轴的抑制可以被免疫细胞产生的细胞因子如白细胞介素 (IL) 及干扰素 (IFN) 等所激活而调整。因此，假设是补肾药先作用于免疫系统，通过促进 T 淋巴细胞、NK 细胞，其所产生的 IL、IFN 等细胞因子，进而改善 HPA 轴功能，但本实验中 SJ 组的免疫系统无论 7 天或 14 天均得到保护，而神经内分泌系统却未有明显作用，足以否定此假设。Karalas⁽⁴⁾报道促肾上腺皮质激素释放因子 (CRF) 除在下丘脑外，尚在外周免疫组织细胞内出现自分泌 (Autocrine) 或旁分泌 (Paracrine) 现象，以“非肾上

腺依赖”途径可以直接增强免疫效应。我们观察到受外源性皮质酮抑制的大鼠，其下丘脑 CRF 基因表达及 HPAT 轴 (包括细胞免疫) 处于功能低下状态，3 类复方唯有补肾的 YG 可使 CRF 受抑状态得以恢复⁽³⁾，故可能既与 HPA 轴肾上腺依赖途径有关，也与非肾上腺依赖机制，即提高 CRF mRNA 表达量，促使 CRF 分泌增多，从而调节细胞免疫功能有关。也可以说补肾药的作用是通过 NEI 网络学说的下行通路 (即下丘脑—垂体及各靶腺分别产生的神经肽和激素等对免疫系统的调节作用) 而实现的。

至于活血药始终未观察到明显的作用，可能与所采用的动物模型反应状态有关，若选择血瘀或肿瘤模型，活血药对免疫系统的影响可能会表现出来，在此仅作为阴性对照组看待。同样的，健脾药若选择脾虚模型是否会出现上行通路 (即免疫细胞及细胞因子对神经内分泌系统的调节作用) 的表现，则有待以后的研究。

参 考 文 献

1. 沈自尹, 胡国让, 许得盛, 等. 补肾和健脾在延缓衰老作用中的对比研究. 中西医结合杂志 1987; 7 (10): 584—587.
2. 蔡定芳, 沈自尹, 张玲娟, 等. 右归饮对皮质酮大鼠细胞免疫及细胞因子的影响. 中国免疫学杂志 1995; 11 (4): 248—251.
3. 钟历勇, 沈自尹, 蔡定芳, 等. 补肾健脾活血 3 类复方对下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴及 CRF 基因表达的影响. 中国中西医结合杂志 1997; 17 (1): 39—41.
4. Karalas K. Autocrine or paracrine secretive action of corticotropin-releasing hormone in vivo. Science 1991; 254 (10): 421—425.

(收稿: 1996 10—04 修回: 1997—01—14)

欢迎订阅本刊《1997 年基础理论研究特集》

▲为了扩大学术交流, 提高理论水平, 应广大读者的要求, 并经上级有关部门批准, 本刊《1997 年基础理论研究特集》即将出版。本特集共收入论文近 140 篇, 附有英文摘要, 约 60 余万字。本特集选题广泛, 内容丰富, 学术水平较高, 科学性较强, 集中反映了我国中西医结合基础理论研究领域近 1~2 年的最新进展。每册定价 40.00 元 (另加邮费 4.00 元)。订阅办法: 可直接向本社汇款订购。本社地址: 北京西苑操场 1 号中国中西医结合杂志社 (邮编: 100091)。开户银行: 北京工商银行海淀区办事处, 中国中西医结合杂志社。帐号: 046098-24 务请写清收刊者详细地址、姓名及所在地邮政编码, 注明“购 1997 年特集”。

▲为了扩大学术交流, 提高临床研究水平, 本社向

广大读者提供本刊 1988~1995 年各年合订本, 每册 50.00 元, 1996 年合订本每册 60.00 元, 含邮资。1994~1996 年单行本 (无 1995 年第 1 期、第 2 期), 每本 3.90 元, 含邮资。1997 年已出版单行本, 每本 4.90 元, 含邮资。另外本刊 1986~1994 年基础理论研究特集 (增刊) 尚有部分余数, 其中 1986 年每册 2.90 元, 1988 年 (特 I) 每册 3.60 元、(特 II) 每册 4.50 元, 1989 年每册 4.90 元, 1990 年每册 6.50 元, 1991 年每册 15.00 元, 1993 年每册 18.00 元, 1994 年每册 25.00 元, 1995 年每册 36.00 元, 1996 年每册 38.00 元, 均另加邮费 10%。可直接从邮局或银行汇款向本社订购。地址同上。务请写清收刊者详细地址、姓名及所在地邮政编码, 注明“购某年合订本或增刊及册数”。