

膜荚黄芪茎叶总黄酮对小鼠细胞免疫功能的影响*

焦 艳[△] 闻 杰 于晓红 张德山

内容提要 目的:研究黄芪茎叶总黄酮(FAM)的免疫调节作用。方法:用单克隆抗体检测实验小鼠药物处理前后 T 细胞总数及亚群变化;用核素标记法测定 LAK 细胞活性的变化。结果:FMA 能促进 ConA 诱导的淋巴细胞增殖,增加 T 细胞总数并调整 T 细胞亚群紊乱;提高 rIL-2 所诱导的 LAK 细胞活性。结论:FAM 对免疫功能低下小鼠具有免疫刺激和免疫调整作用,为临床应用提供了实验依据。

关键词 黄芪茎叶总黄酮 T 淋巴细胞 淋巴因子激活的杀伤细胞 免疫调节

Influence of Flavonoid of *Astragalus membranaceus*'s Stem and Leaves on the Function of Cell Mediated Immunity in Mice Jiao Yan, Wen Jie, Yu Xiaohong, et al *Heilongjiang University of TCM, Harbin (150040)*

Objective: To investigate the immune regulation of flavonoid of *Astragalus membranaceus*'s stem and leaves (FAM). **Methods:** Changes of total T cell count and subsets in mice were determined by monoclonal antibody assay before and after treatment with FAM, and the LAK activity was tested simultaneously by isotope technique. **Results:** FAM could promote the proliferation of lymphocytes induced by ConA, raise the T cell count and regulate the T cell subsets disorder, elevate the LAK activity induced by IL-2. **Conclusion:** FAM possesses the effect of immune stimulation and immune regulation in treating immunosuppressive mice. This study provides the experimental basis for clinical application of FAM.

Key words flavonoid in stem and leave of *Astragalus membranaceus*, T lymphocyte, LAK cell, immune regulation

黄芪是中医最常用的补益药之一。我国药典规定以蒙古黄芪(*Astragalus mongholicus* Bunge)和膜荚黄芪(*Astragalus membranaceus* (Fisch) Bunge)的根为临床应用之正品,而同植物的地上部分茎叶却弃之不用。众多学者对黄芪药用部分黄芪根的化学成分、药理活性及临床应用进行了广泛的研究,已证实其具有明确的免疫药理作用^(1~3)。近年来,国内外学者开展了黄芪地上部分茎叶的研究工作,发现有很多化学成分与根类同^(4,5),吕曙华等对黄芪的根与茎叶进行了比较研究,在化学成分、药理指标等方面取得了一致的结果⁽⁵⁾。而黄芪茎叶在免疫学方面的药理作用研究文献报道甚少。本室以往的研究证明黄芪茎叶总黄酮(FAM)能增加 HC 模型小鼠免疫器官的重量;增加抗体形成细胞的数量;增强单核巨噬细胞的吞噬功能⁽⁶⁾。本实验以 T 细胞亚群、淋巴细胞增殖活性和淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)活性为指标,进一步探讨 FAM 对 HC 模型小鼠细胞免疫功能的影响。

材料与方法

1 药物与试剂 黄芪茎叶总黄酮(Flavonoids of stem and leaves of *Astragalus membranaceus*, FAM):棕褐色粉末,由黑龙江中医药大学植物化学教研室提供,用前以无菌双蒸水配成 2.5mg/ml 注射液。氢化考的松注射液(HC):哈尔滨制药三厂生产,批号 8903181。抗小鼠单克隆抗体(Thy-1⁺、L3t4⁺、Lyt2⁺)由北京医科大学免疫学教研室提供。重组白细胞介素-2(rIL-2):瑞士产,批号 20MD4YD;氚标胸腺嘧啶(³H-TdR)为中国科学院原子能研究所产品。

2 动物 昆明种小鼠由黑龙江中医药大学实验动物中心提供;BALB/C 小鼠由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所提供。以上小鼠体重(18±2)g,6~8 周龄,雌雄各半。

3 小鼠 T 淋巴细胞及其亚群的测定 取昆明小鼠随机分为模型对照组、FAM 药物组及正常对照组等 3 组,每组 9 只。模型对照组与 FAM 药物组小鼠每只臀部肌肉注射 HC 0.10ml/d(相当于每只 0.5mg/d),正常对照组注射等量生理盐水,连续 6 天。于第 5 天起,FAM 药物组每只小鼠腹腔注射 FAM 0.2ml/d,模

*国家自然科学基金资助项目(No. 3880922)的部分研究内容
黑龙江中医药大学微生物与免疫学教研室(哈尔滨 150040)

[△] 现在江西中医学院微生物教研室(南昌 330006)

型对照组及正常对照组腹腔注射等量生理盐水,连续 5 天。末次给药后 6h 处死小鼠,无菌取脾,参照北京医科大学免疫教研室 T 细胞特异性抗原检测的细胞毒方法,检测 Thy-1^+ 、 L_3T_4^+ 、 Lyt_2^+ 细胞百分率并计算 $\text{L}_3\text{T}_4^+/\text{Lyt}_2^+$ 比值。

4 小鼠脾淋巴细胞增殖实验 取正常 BALB/C 小鼠,无菌取脾,按文献方法⁽⁷⁾进行。

5 LAK 细胞活性测定 取正常 BALB/C 小鼠,无菌取脾,采用³H-TdR 后标记靶细胞法⁽⁸⁾进行。

结 果

1 FAM 对小鼠 T 细胞及其亚群的影响 各组小鼠的 T 细胞总数、 L_3T_4^+ 、 Lyt_2^+ 细胞百分率及 $\text{L}_3\text{T}_4^+/\text{Lyt}_2^+$ 比值:见表 1。结果显示,FAM 可明显提高由 HC 造成的免疫受抑小鼠的 T 细胞总数、 L_3T_4^+ 、 Lyt_2^+ 细胞百分率及 $\text{L}_3\text{T}_4^+/\text{Lyt}_2^+$ 比值,并使其与正常组小鼠相接近。

表 1 FAM 对小鼠 T 细胞及其亚群的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Thy-1 ⁺ (%)	L_3T_4^+ (%)	Lyt_2^+ (%)	$\text{L}_3\text{T}_4^+/\text{Lyt}_2^+$
FAM	9	36.38 $\pm$ 4.39*	25.10 $\pm$ 2.20*	12.17 $\pm$ 1.46*	2.10 $\pm$ 0.41*
模型	9	20.83 $\pm$ 3.49 Δ	10.90 $\pm$ 2.20 Δ	10.00 $\pm$ 1.73	1.13 $\pm$ 0.39 Δ
正常	9	39.94 $\pm$ 3.53	27.00 $\pm$ 1.94	12.39 $\pm$ 1.58	2.21 $\pm$ 0.29

注:与模型组比较,* $P<0.01$;与正常组比较, $\Delta P<0.01$

2 FAM 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 见表 2。单独 FAM 在 31.3~250.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内可轻度刺激小鼠脾细胞转化,其中 250.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 剂量最佳;当 FAM 与 ConA 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 共同刺激时,SI 明显提高,以 250.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 剂量为最高。

表 2 FAM 对小鼠淋巴细胞增殖的影响

组别	n	未加 ConA 的细胞增殖 (cpm, $\bar{x} \pm s$)	加 ConA 的细胞增殖 SI (cpm, $\bar{x} \pm s$)	SI
FAM($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
3.9	8	894 $\pm$ 117 [#]	1.02 20525 $\pm$ 6541	22.43
7.8	8	902 $\pm$ 136	1.03 22408 $\pm$ 6452	24.58
15.6	8	964 $\pm$ 163	1.10 23224 $\pm$ 6824	25.51
31.3	8	1095 $\pm$ 331	1.25 23151 $\pm$ 6043	25.43
62.5	8	1579 $\pm$ 1070	1.80 26534 $\pm$ 5341	29.29
125.0	8	2269 $\pm$ 1720*	2.59 30889 $\pm$ 11342 Δ	35.26
250.0	8	3450 $\pm$ 1916**	3.94 34824 $\pm$ 11030 $\Delta\Delta$	39.75
500.0	8	954 $\pm$ 173	1.09 19646 $\pm$ 5273	22.43
空白对照	8	876 $\pm$ 80	1.00 —	—
ConA(5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	8	—	— 20549 $\pm$ 7421	22.46

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 ConA 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

3 FAM 对小鼠 LAK 细胞活性的影响 见表 3。FAM 在 3.9~250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内与 rIL-2(10u/ml)合用对 LAK 细胞有促进作用,与单独用 rIL-2(10u/ml)比

表 3 FAM 对小鼠 LAK 细胞活性的影响

组别	n	LAK 细胞活性 (cpm, $\bar{x} \pm s$)	CI
FAM + rIL-2(10u/ml)			
3.9($\mu\text{g}/\text{ml}$)	8	2422 $\pm$ 328	0.31
7.8	8	2358 $\pm$ 288	0.33
15.6	8	2352 $\pm$ 214	0.33
31.3	8	2317 $\pm$ 192*	0.34
62.5	8	2282 $\pm$ 194*	0.35
125.0	8	2176 $\pm$ 264**	0.38
250.0	8	1720 $\pm$ 468***	0.51
500.0	8	2632 $\pm$ 369	0.25
rIL-2(10u/ml)	8	2492 $\pm$ 115	0.29

注:与 rIL-2 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

较有显著性差异;FAM 在 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度时 CI 值最高,高于此浓度,CI 呈下降趋势,可见 FAM 联合 IL-2 所诱导的 LAK 活性存在量效关系。而单独用 FAM 与效应细胞作用则未诱导出 LAK 活性,说明单独应用 FAM 无激活 LAK 活性的作用。

讨 论

实验结果表明 HC 模型鼠的 T 细胞总数、 L_3T_4^+ 细胞百分率明显降低, Lyt_2^+ 细胞下降不明显, $\text{L}_3\text{T}_4^+/\text{Lyt}_2^+$ 比例失调,而 FAM 对 HC 模型小鼠 T 细胞功能(T 细胞总数、 L_3T_4^+ 细胞)有增强作用,并通过增强 L_3T_4^+ 细胞纠正受抑小鼠 $\text{L}_3\text{T}_4^+/\text{Lyt}_2^+$ 比例失调,提示 FAM 不仅有免疫增强作用,亦有免疫调节作用。

在淋巴细胞增殖试验中,FAM 对小鼠脾淋巴细胞增殖有刺激作用,FAM 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,SI 达高峰,高于最佳剂量 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$,SI 下降,在 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度时有抑制作用,当与本实验确定的亚适量(ConA 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)共同作用时,可明显增高刺激指数,随浓度增加 SI 逐渐增强,在 FAM 125~250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时协同作用达高峰,浓度再大协同作用降低。FAM 对淋巴细胞的增殖作用有明显的量效关系,为何高剂量产生抑制作用,有待进一步深入研究。

实验亦表明,FAM 单独不能诱导 LAK 细胞活性,当与 rIL-2 10u/ml 联合诱导时 LAK 细胞毒指数(CI)较单独 rIL-2 10u/ml 明显增强,可见 FAM 可联合 rIL-2 用药,降低 rIL-2 用量,协同 rIL-2 诱导 LAK 细胞的活性,可减少临床上单独用 rIL-2 引起的副作用。这一结果提示,FAM 在免疫抑制的机体内,可激动免疫机制杀伤肿瘤细胞,促进抗癌免疫应答。

临床上中医辨证为虚证的患者多伴有细胞免疫功能降低,T 细胞亚群比例失调,因而易伴发感染或形成肿瘤,黄芪恰能提高机体的免疫功能,提高防御能力以

及抗瘤能力。从我们的实验中可以看出, FAM 对免疫有增强和调整作用, 与扶正药的一些研究结果很相近, 尤其与黄芪根有相似的免疫药理作用^(1,9)。本实验研究确定了 FAM 和黄芪多糖一样都是黄芪的有效成分, 为黄芪茎叶的开发利用提供了实验依据。

参 考 文 献

1. 耿长山, 邢善田, 周金黄. 黄芪对去 T 细胞小鼠促进抗体产生机理的探讨. 上海免疫学杂志 1985; 5(2): 69—72.
2. 毛小娟, 王军志, 王凤莲. 黄芪和红芪的免疫研究进展. 兰州医学院学报 1988; (1): 67—71.
3. 王文余, 常金兰, 高 静, 等. 北芪对老龄机体细胞因子产生影响的实验研究. 中国免疫学杂志 1995; 11(5): 167—169.
4. 马英丽, 田振坤, 苑春升. 黄芪茎叶化学成分的研究. 沈阳药学院学报 1991; (2): 121—123, 136.
5. 吕耀华, 朱永智, 吴寿金. 内蒙黄芪地上部分黄酮成分的研究. 中草药 1990; 21(6): 249—250, 265.
6. 焦 艳, 闻 杰, 张德山. 膜荚黄芪茎叶总黄酮对小鼠免疫功能的影响. 中医药信息 1997; 14(5): 44.
7. 关惠贞, 匡彦德, 秦惠莲, 等. 四种检测白细胞介素 2(IL-2) 方法的比较. 上海免疫学杂志 1986; 6(5): 298—301.
8. 马志章, 丁仁瑞, 申 屠, 等. 用³H-TdR 掺入法检测小鼠 LAK 细胞活性. 中国免疫学杂志 1989; 5(1): 20—21, 28.
9. 沈玉清, 那爱华, 杨正娟, 等. 12 种黄芪对小鼠免疫功能影响的比较. 中国免疫学杂志 1989; 5(2): 119—121.

(收稿: 1998-11-23 修回: 1999-03-10)

中西医结合治疗慢性上颌窦炎临床观察

毕瑞鹏 于国强 黄本成 邵国红 张胜利

1993~1997 年, 笔者收治慢性上颌窦炎 500 例, 采用收敛剂滴鼻、上颌窦穿刺、局部理疗、中药煎服、上颌窦根治手术等一系列综合治疗措施, 取得了较好疗效, 现报告如下。

临床资料 500 例中男 240 例, 女 260 例, 年龄 6~53 岁, 平均 24 岁; 病程 4 个月~20 年, 平均 21 个月。以《临床疾病诊断依据治愈好转标准》为依据, 结合病史, X 线摄片, 诊断为单侧上颌窦炎 131 例(26.2%), 双侧上颌窦炎 369 例(73.8%); 其中合并中鼻甲肥大或息肉样变 156 例(31.2%), 上颌窦囊肿 123 例(24.6%)。

治疗方法 (1) 6~10 岁儿童鼻腔无息肉形成或中鼻甲息肉样变, 采用 1% 呋麻液滴鼻剂每天 4~6 次滴鼻。每次每侧 2~4 滴。双侧上颌窦区超短波理疗, 每次 15min, 每天 1 次; 同时配合中药煎服, 中药采用自拟方剂: 苍耳子 30g 辛夷 12g 金银花 15g 白芷 25g 薄荷 15g 连翘 15g 黄芩 15g 蒲公英 15g 地丁 10g 川芎 12g 全蝎 4g 蜈蚣 2 条, 每日 1 剂; 上述治疗 5 天为 1 个疗程, 一般治疗 1~2 个疗程。对不愿服中药煎剂者可将同剂量中药加工成蜜丸服用, 每次 10g(生药量), 每天 4 次, 其余治疗措施不变。(2) 6~10 岁儿童合并有鼻息肉形成或中鼻甲息肉样变, 先将鼻息肉摘除或中鼻甲切除再进行(1)中所述治疗。(3) 10 岁以上患者摄片, 或副鼻窦 CT 扫描提示上颌窦腔混浊无粘膜肥厚及中鼻甲肥大或息肉样变和窦腔囊肿形成者, 采用 1% 呋麻液点鼻, 每天 4~6 次, 每次每侧 2~4 滴, 连用 5 天, 上颌窦腔穿刺, 甲硝唑液冲洗窦腔, 庆大霉素 15 万 u 推注窦腔留置, 隔日 1 次, 直至冲洗液干净为止, 一般 1~4 次。同时煎服中药, 方剂同前, 连用 5 天, 超短波理疗, 每次 15min, 1 天 2 次, 连用 5 天。(4) 10 岁以上患者, X 线摄片或 CT 提示窦腔腔粘膜肥厚或囊肿形成者, 采用上颌窦根治

术, 术后再进行(3)中所述治疗。(5) 10 岁以上患者, 合并有中鼻甲肥大或息肉样变以及鼻息肉形成者, 先进行中鼻甲切除或鼻息肉摘除。如上颌窦腔仅单纯性粘膜轻度增厚进行(3)中所述治疗, 如上颌窦腔粘膜明显增厚或囊肿形成者进行(4)中所述治疗。

结 果 (1) 疗效标准: 头痛、头闷症状消失, 记忆力明显好转, 呼吸通畅, 鼻腔分泌物极少或消失为痊愈; 头痛、头闷症状消失, 记忆力较前好转, 少许粘脓鼻涕, 呼吸基本通畅为显效; 头痛、头闷症状好转, 持续时间不足 4 个月, 时有发作, 有脓涕或粘脓涕为无效。(2) 疗效: 痊愈 370 例(74.0%), 显效 98 例(19.6%), 无效 32 例(6.4%), 总有效率 93.6%, 对临床痊愈的 370 例患者随访 6 个月~1 年未见复发。

讨 论 中医学认为慢性鼻窦炎为风寒侵袭鼻窦, 郁久化热或风热郁滞鼻窦。日久气血瘀滞, 久病入络, 不通则痛。治则散风清热, 消炎止痛, 祛风活血, 通络止痛。方剂中药物散风清热, 通窦窍, 解毒消肿, 辛温解表, 疏散风寒。特别是蜈蚣与全蝎二者皆有熄风止痛、解毒散结、通络止痛之功效。本方剂应用此剂量临床观察未见任何毒副作用, 可长期应用。超短波理疗可使鼻窦粘膜温度升高, 血管扩张, 血流加快, 改善局部血循环。

应用呋麻液滴鼻有利于鼻腔及鼻窦分泌物排除, 同时又可消除鼻腔粘膜炎症。因慢性上颌窦炎为需氧菌和厌氧菌在内的混合感染, 我们在临床上穿刺时给予甲硝唑注射液和庆大霉素针冲洗窦腔并给以留置。对于中西药物效果不良的病例, 多为上颌窦粘膜显著增厚、囊肿或息肉形成以及鼻道引流不畅者, 这种病例采用上颌窦根治术治疗。(本文承蒙商水县人民医院朱四开副主任医师审阅, 谨谢)

(收稿: 1998-02-12 修回: 1998-08-15)