

当归芍药散加味方及其拆方对中老年大鼠 淋巴细胞增殖的影响*

何宏文 王传恩 谢瑶 姚志彬

摘要 目的:研究当归芍药散加味方(DSS)及其拆方对中老年大鼠淋巴细胞功能的影响。方法:选用中老年大鼠(18月龄),分组灌服DSS全方及其拆方水煎液,3周后,各组大鼠脾细胞分别加入ConA、异丙肾上腺素(ISO)、心得安或DSS大鼠血清诱导淋巴细胞增殖,用四氮唑蓝比色法比较各组大鼠淋巴细胞增殖(A值)变化。结果:全方组、君臣药组、佐药组大鼠淋巴细胞增殖的A值与对照组比较,差异有显著性($P < 0.01$);加入ISO后全方组各ConA浓度A值明显减少($P < 0.01$),再加入心得安或DSS大鼠血清后,A值又恢复到未加ISO水平。结论:DSS及其拆方均可促进老年大鼠淋巴细胞增殖,DSS可拮抗ISO的抑制淋巴细胞增殖作用。

关键词 当归芍药散加味方 拆方 淋巴细胞增殖 老年大鼠

Effect of Supplemented Danggui Shaoyao Powder and Its Disassembled Prescriptions on Lymphocytes Proliferation in Aged Rats HE Hong-wen, WANG Chuan-en, XIE Yao, et al *Department of Anatomy, Sun Yat-sen College of Medical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou (510089)*

Objective: To study the effect of supplemented Danggui Shaoyao San (DSS) and its disassembled prescriptions on function of lymphocyte in aged rats. **Methods:** Rats aged 18 months were administered with decoction of DSS and its disassembled prescriptions separately in groups for 3 weeks to prepare drug containing serum. Samples of ConA induced rats splenic lymphocytes proliferation was treated respectively with prepared drug serum, for testing their effect on lymphocyte proliferation using methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method, and isoprel (ISO) and propranolol were taken as the controls. **Results:** The A value of lymphocyte proliferation in the drug serum treated groups was significantly different from that in the control groups ($P < 0.01$), which could be reduced markedly after treatment with ISO, but could restore to the level before ISO treatment by adding drug serum or propranolol. **Conclusion:** DSS and/or its disassembled prescriptions could raise the lymphocyte proliferation in aged rats significantly, it also shows antagonizing effect against the inhibition of ISO on lymphocyte proliferation.

Key words supplemented Danggui Shaoyao San, disassembled prescription, proliferation of lymphocyte, aged rat

有研究表明当归芍药散加味方(DSS)可调节成年或青年大、小鼠机体的免疫功能^[1-3],也可提高老年大鼠淋巴细胞 β 肾上腺素能受体(β -AR)含量。 β -AR对淋巴细胞的影响较为复杂,但大多数研究者认为 β -AR激动剂可提高淋巴细胞的cAMP浓度,cAMP浓度提高可抑制淋巴细胞的功能^[4-6]。本研究通过观察灌服DSS及其拆方对中老年大鼠脾细胞在刀豆球蛋白A

(ConA)诱导下T淋巴细胞增殖的影响,同时加入 β -AR激动剂和阻断剂,研究服用DSS后这些物质对中老年大鼠淋巴细胞的影响,阐明其对老年机体免疫系统的作用。

材料与方法

1 实验动物和分组 1级SD大鼠,雌雄兼有,月龄18~20个月(由中山医科大学实验动物中心提供)动物笼养,昼夜交替环境。大鼠分为对照组、DSS全方组(简称全方组)、君臣药组、佐药组,每组10只大鼠。

2 DSS水煎液制备及给药方法 选用当归10g

* 国家自然科学基金资助项目(No. 30070952)

广州中山大学中山医学院人体解剖学教研室、脑研究室(广州510089)

通讯作者:何宏文;Tel:020-87331961 转110;E-mail:hongwen@

gzsums.edu.cn
万方数据

白芍 30g 川芎 10g 白术 15g 泽泻 10g 茯苓 12g 益母草 12g 等中药(药材均购于广州药材公司,经广州中医药大学药鉴教研室鉴定),分别按 DSS(全方)、君臣药(当归、白芍、川芎等)、佐药(白术、泽泻、茯苓、益母草等)第 1 次用 8 倍水煎 2h,第 2 次用 6 倍水分煎 1.5h,两煎浓缩至含 1g 生药/ml,根据分组分别灌服相应的中药水煎液 5ml,对照组灌服蒸馏水 5ml,每天 1 次,连续 3 周。

3 DSS 大鼠药物血清的制备 用灌服 DSS 全方药物的大鼠,取血前 30min 作最后 1 次灌服 DSS,眼眶取血,将血液直接滴入 10ml 试管中,然后立即离心(750g/min, 10min),取血清,将血清放入 56℃ 水浴 30min,过滤除菌后置 4℃ 冰箱备用。

4 脾细胞分离培养 各组大鼠颈椎脱臼处死后,立即在无菌操作下取脾脏分离脾细胞,用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液稀释备用。

4.1 DSS 全方及其拆方对 ConA 诱导大鼠脾淋巴细胞增殖的影响 按文献^[7]方法将全方组、君臣药组、佐药组、对照组大鼠脾细胞分别移入 96 孔培养板内,加入 ConA,浓度分别是 10 μ g、5 μ g、2.5 μ g、1.25 μ g、0.625 μ g、0.312 μ g、0.156 μ g 和 0,加入含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液至 100 μ l,每孔细胞数为 2 \times 10⁶,放入 37℃、5% CO₂ 培养箱培养 3 天。

4.2 异丙肾上腺素对大鼠 T 淋巴细胞增殖的影响 按文献^[8]方法。将拆方组和对照组大鼠脾细胞分别移入不同的 96 孔培养板内,然后分别加入不同浓度 ConA、异丙肾上腺素(ISO, 2nmol/L)或 ConA、ISO、心得安(2 μ mol/L)或 ConA、ISO、全方大鼠血清(浓度为 5%),加入 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液至 100 μ l,细胞数为 2 \times 10⁶,放入 37℃、5% CO₂ 培养箱培养 3 天。

5 细胞活性的测定 按四氮唑蓝比色法(MTT 法)检测活细胞线粒体内琥珀酸脱氢酶活性,并以间接法测定细胞活性和数量。脾细胞培养 3 天后每孔加入四氮唑蓝 50 μ g,反应 4h,形成紫色结晶沉淀,吸出孔内上清液,加入 100 μ l(0.8mol/L)盐酸异丙醇溶液,用 8 通道可调移液器反复吹打至结晶完全溶解,在酶标仪上(波长 570nm 处)测定光密度(A)值。

6 统计学方法 用 ANOVA 软件包 Student-Newman-Keals 方法对各组数据进行统计学处理。

结 果

1 DSS 全方及其拆方药物对大鼠 T 淋巴细胞增殖方数据

增殖的影响 见图 1。与对照组比较,全方组、君臣药组和佐药组的 T 淋巴细胞增殖的 A 值明显升高,量效曲线差异有显著性(P < 0.01)。在 ConA 浓度为 0.156~0.625 μ g 之间全方组和君臣药组、佐药组的 A 值随 ConA 浓度的增加而增加,但 3 组间差异不明显(P > 0.05);当 ConA 达到 1.25 μ g 后君臣药组和佐药组 A 值没有升高,甚至有下降,呈浓度依赖性双向作用,而全方组仍明显升高,ConA 浓度为 5 μ g 时达到顶峰,10 μ g 时才下降,量效曲线 3 组间差异有显著性(P < 0.01)。

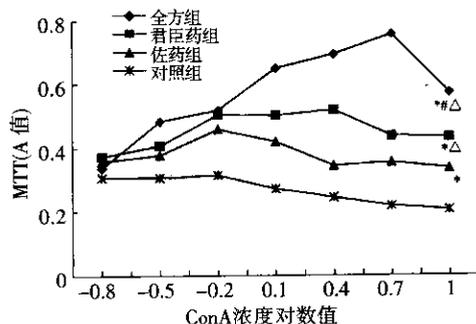


图 1 DSS 及拆方对 ConA 诱导大鼠 T 淋巴细胞增殖的影响 注:与对照组比较,*P < 0.01;与君臣药组比较,#P < 0.01;与佐药组比较,^P < 0.01

2 ISO 对 DSS 全方及其拆方对大鼠 T 淋巴细胞增殖的影响 见图 2(A~D)。在加入 ISO 和心得安或全方组大鼠血清后 ConA 诱导 T 淋巴细胞,随着 ConA 浓度增加全方组大鼠 T 淋巴细胞增殖的 A 值明显增加,呈剂量依赖性增加,5 μ g 时达到顶峰,之后有下降,加入 ISO 后各浓度组 A 值均明显减少,量效曲线两组间差异有显著性(P < 0.01)。同时再加入心得安或全方大鼠血清后,A 值又恢复到未加 ISO 的 ConA 组水平(见图 2A)。随着 ConA 浓度增加,君臣药组大鼠 T 淋巴细胞增殖(A 值)明显增加,在 ConA 浓度为 2.5 μ g 时达到高峰,之后有下降,其增殖呈现浓度依赖性双向作用;加入 ISO 后 T 淋巴细胞增殖(A 值)下降不明显,量效曲线两组间差异不明显(P > 0.05)加入心得安或全方大鼠血清后,与未加入 ISO 时比较差异无显著性(见图 2B)。佐药组、对照组大鼠淋巴细胞增殖 A 值变化与图 2B 相似的图形,不同的是峰值依次变小,依次前移到 ConA 浓度为 0.625 μ g 和 0.312 μ g(见图 2C、D)。

讨 论

1 DSS 及其拆方提高老年大鼠免疫功能 衰老

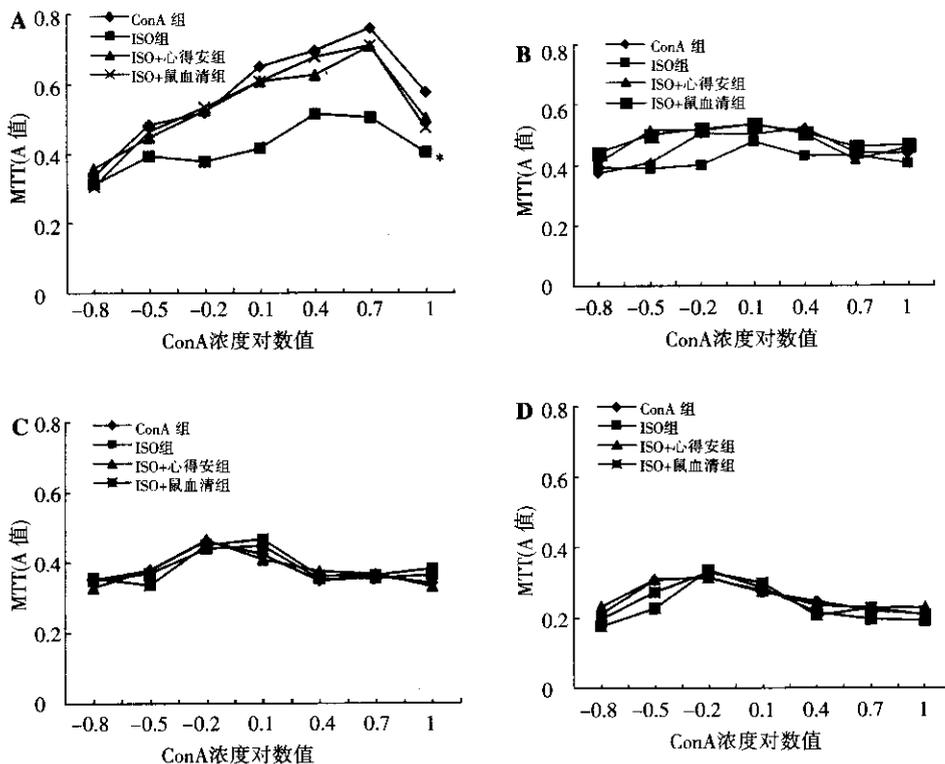


图 2 ISO 对 DSS 及拆方大鼠 T 淋巴细胞增殖的影响

注: A 为全方组, B 为君臣药组, C 为佐药组, D 为对照组; 与 ConA 组比较, * $P < 0.01$

时淋巴细胞增殖能力下降对细胞刺激因子应答能力亦下降,用细胞刺激因子测定淋巴细胞增殖,常作为测定衰老机体免疫功能的指标^[9,10]。我们的结果显示,全方组大鼠脾细胞 ConA 诱导 T 淋巴细胞增殖 A 值明显高于其他各组,说明服 DSS 后大鼠的 T 淋巴细胞对 ConA 刺激增殖能力明显提高,君臣药和佐药也在一定程度上提高了 T 淋巴细胞的增殖能力,在低浓度 ConA 时 3 组间增殖能力几乎相同,但随着 ConA 浓度增加君臣组和佐药组淋巴细胞增殖能力下降,而全方组大鼠脾细胞增殖能力却进一步增加,显示服 DSS 全方后大鼠脾淋巴细胞对 ConA 诱导增殖耐受能力提高。说明 DSS 有较强的提高老年大鼠细胞免疫功能的作用。

2 DSS 拮抗异丙肾上腺素抑制淋巴细胞增殖作用 本研究发现加入异丙肾上腺素后全方组大鼠 T 淋巴细胞增殖能力明显下降,且该作用能被心得安拮抗,说明异丙肾上腺素的这种抑制作用是通过兴奋 β -AR 完成的。我们的研究还发现服 DSS 大鼠血清同样有拮抗异丙肾上腺素对服 DSS 大鼠淋巴细胞增殖能力的抑制作用。说明其血清中有拮抗异丙肾上腺素对淋巴细胞增殖抑制作用的物质。因此我们认为服 DSS 后大鼠淋巴细胞 β -AR 含量提高的同时,血液中也出现有拮抗 β -AR 兴奋而引起免疫抑制作用的物质,因此,服 DSS 后大鼠脾淋巴细胞 β -AR 提高不会出现免

疫抑制作用。

3 DSS 配伍对大鼠脾淋巴细胞的影响 中药方剂组成中有君、臣、佐、使药,君药是针对主病或主证引到主要的作用,臣药有辅助君药加强治疗主病或主证的药物和针对兼病或兼证起主要治疗作用的药物。而佐药有协助君臣药加强治疗作用,消除或减少君臣药物的毒性作用,对 DSS 促进淋巴细胞功能增殖作用而言,服 DSS 全方、君臣药及佐药后大鼠脾淋巴细胞增殖均有不同程度提高,以全方组提高最明显,说明这是 DSS 君、臣、佐药共同作用的结果。加入异丙肾上腺素后可明显抑制淋巴细胞的增殖,从 DSS 影响淋巴细胞增殖的角度来看这是 DSS 的“副效应”。本实验显示服用 DSS 大鼠血清可明显拮抗异丙肾上腺素的抑制淋巴细胞增殖作用,似显示该方中有消除 DSS 这种“副效应”的功能,与其他研究显示白术多糖(DSS 佐药中白术的成分)可拮抗异丙肾上腺素的抑制淋巴细胞增殖作用相似^[8],DSS 全方中既有促进机体免疫功能起主要作用的药物,也有消除其“副效应”的物质,说明 DSS 君臣佐使配伍组合的合理性。

参 考 文 献

1 鸟居家生和. 当归芍药散对摘除卵巢小鼠、大鼠的免疫功能以及记忆的作用. 日本东洋医学杂志 1993 ;43(5): 145—147.

2 聂淑琴. 当归芍药散对小鼠巨噬细胞 Fc 受体和 CR3 表达的影响. 国外医学·中医中药分册 1998 20(1):42—44.

3 Iijima K, Tanaka M, Toriizuka K, et al. Effects of Kampo medicines on the clearance of circulating immune complexes in mice. J Ethnopharmacol 1994 41(1—2):77—79.

4 Li YS, Kouassi E, Revillard JP. Differential regulation of mouse B-cell activation by beta-adrenoceptor stimulation depending on type of mitogens. Immunology 1990 ;69(3):367—369.

5 Kalinichenko VV, Mokyr MB, Graf LH. Norepinephrine-mediated inhibition of antitumor cytotoxic T lymphocyte generation involves a beta-adrenergic receptor mechanism and decreased TNF-alpha gene expression. J Immunol 1999 ;163(5):2492—2495.

6 Borger P, Hoekstra Y, Esselink MT. Beta-adrenoceptor-mediated inhibition of IFN-gamma, IL-3, and GM-CSF mRNA

accumulation in activated human T lymphocytes is solely mediated by the β_2 -adrenoceptor subtype. Am J Respir Cell Mol Biol 1998 ;19(3):400—404.

7 王 斌, 陈敏珠, 徐叔云. 白芍总甙对佐剂性关节炎大鼠滑膜细胞功能和脾细胞增殖反应的影响. 中国药理学与毒理学杂志 1994 8(2):128—131.

8 毛俊浩, 吕志良, 曾群力, 等. 白术多糖对小鼠淋巴细胞功能的调节. 免疫学杂志 1996 ;12(4):233—235.

9 Aihara M, Dobashi K, Horie T, et al. Effect of β -agonists on production of cytokines by activated T cells obtained from asthmatic patients and normal subjects. J Asthma 1999 ;36(7):619—621.

10 Hokari R, Miura S, Fujimori H, et al. Altered migration of gut-derived T lymphocytes after activation with concanavalin A. Am J Physiol 1999 277(4 pt 1):763.

(收稿 2002-11-20 修回 2003-08-26)

新癍片合双氯芬酸钠栓治疗肛窦炎 50 例

耿学斯 陈赞庆 赵 斌

2000 年 3 月—2002 年 3 月, 我们应用新癍片合双氯芬酸钠栓治疗肛窦炎 50 例, 并与单用双氯芬酸钠栓治疗的 50 例作对照, 现报告如下。

临床资料

1 病例选择 (1) 症状: 肛门部下坠不适、坐卧不宁, 肛内微痛或灼痛, 排便时加重, 有时有少许粘液或血性分泌物自肛内溢出。(2) 指诊: 肛门紧缩, 有明显触痛, 齿线附近可触及稍硬的隆起或凹陷, 有压痛。(3) 肛门镜检查: 病变的肛窦有充血、水肿, 轻压肛窦有分泌物溢出。符合以上条件可诊断为本病, 并排除肛门异物及合并肛周化脓性感染疾病、肛乳头肥大、肛裂等。

2 一般资料 按数字表法随机分为两组。治疗组 50 例, 男 38 例, 女 12 例, 年龄 16~60 岁, 平均(36.0±14.7)岁, 病程 3~98 天, 平均(13.2±27.1)天; 伴内痔 13 例, 混合痔 11 例。对照组 50 例, 男 32 例, 女 18 例, 年龄 18~60 岁, 平均(38.0±15.6)岁, 病程 4~104 天, 平均(14.3±31.8)天; 伴内痔 15 例, 混合痔 12 例。两组均无用药禁忌症。两组资料经统计学处理差异无显著性 ($P>0.05$), 具有可比性。

治疗方法 治疗组采用新癍片(由肿节风、三七、人工牛黄、猪胆粉、肖梵天花、珍珠层粉、水牛角浓缩粉、红曲、川味姜辛组成, 每片 0.32g, 厦门鼎炉实业有限公司厦门中药厂生产), 每次 3 片, 每日 3 次口服, 同时予双氯芬酸钠栓(主要成分为双氯芬酸钠, 每粒 50mg, 湖北江陵制药厂出品)纳肛, 每晚睡前 1 粒。对照组单用双氯芬酸钠栓纳肛, 每晚睡前 1 粒。两组均连续用药(最长 14 天), 两组均于治疗过程中可随时来复诊(作指诊和肛门镜检查, 若第一次复诊已治愈则停止治疗), 以症状及体征消退情况评定疗效。治疗期间两组均不用其他方法治疗。注意进清淡饮食, 禁饮酒。

统计学方法 采用 t 检验和 χ^2 检验。

结 果

1 疗效判定标准 治愈: 症状及体征消失; 好转: 症状和体征有明显改善; 无效: 症状及体征无明显改善, 甚或加重。

2 两组疗效比较 治疗组 50 例, 治愈 46 例(92%), 好转 4 例, 总有效率 100%; 平均治愈时间(6.5±1.3)天。对照组 50 例, 治愈 32 例(64%), 好转 16 例(32%), 无效 2 例(4%), 总有效率 96%; 平均治愈时间(9.4±1.4)天。两组疗效比较, 治疗组治愈率、总有效率均明显高于对照组 ($P<0.01$), 平均治愈时间明显少于对照组 ($P<0.05$)。

3 不良反应情况 治疗组有 6 例患者用药 2~6 天出现轻微恶心、胃部嘈杂不适反应, 均为空腹服用新癍片者, 改为餐后服用后上述症状消失。

讨 论 肛窦炎是发生在肛窦及肛门瓣的炎症, 亦称肛隐窝炎, 多种肛肠病的发生与其密切相关。中医学认为本病形成多因饮食不节, 导致“湿热下注”、“肠燥热结”, 或粪便中残渣锐物损伤肛窦, 邪毒入侵, 局部气血瘀滞而发病。现代医学认为其发病与解剖相关, 由于肛窦开口向上, 当肛窦内存积粪便和分泌物堵塞, 或肛窦受损, 病菌入侵, 局部感染而发, 易反复发作。新癍片由肿节风、牛黄、三七、珍珠层粉等组成, 具有清热解毒、活血化瘀、消肿止痛之功效, 对急、慢性炎症具有明显的抗炎作用, 并能减轻组织水肿。此外, 还有明显的镇痛和退热作用, 能缓解肛门括约肌痉挛。双氯芬酸钠栓具有较强的抗炎、解热、镇痛作用。临床观察表明, 新癍片对消除肛窦炎所致的肛门疼痛及肛门坠胀不适有显著的效果, 与双氯芬酸钠栓合用, 内服与局部用药相结合能明显提高临床治愈率, 减少手术机会, 并能缩短疗程, 减轻患者痛苦。

(收稿 2003-04-06 修回 2003-08-25)