

黄芪注射液对小鼠免疫功能的影响

聂淑琴 薛宝云 杨 庆 李兰芳 武桂兰 王彦礼 姜廷良

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

何 民 杨 伟(成都地奥九泓制药厂 成都 610041)

摘要 黄芪注射液腹腔给药,对正常小鼠和氢化泼尼松小鼠胸腺有增重作用,并增加氢化泼尼松小鼠网状内皮系统吞噬功能;增加环磷酰胺小鼠血清溶血素抗体生成能力;增强正常及荷瘤小鼠淋巴细胞转化能力。

关键词 黄芪注射液 免疫

Immunological Effects of Huangqi Injection in Mice

Nie Shuqin, Xue Baoyun, Yang Qing, Li Langfang, Wu Guilan, Wang Yanli, Jiang Tingliang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

He Min, Yang Wei (Chengdu Diao Jiuhong Pharmaceutical Factory, Chengdu, 610041)

Abstract: Huangqi injection was shown to increase the thymus index both in normal mice and in immunosuppressed mice induced by hydroprednisolone, raise carbon-clearing ability in the immunosuppressed mice, and promote the production of serum hemolysin antibody in the immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide and lymphocyte proliferation in normal mice in vivo and cancer-bearing mice in vitro.

Key words: huangqi injection, immune

黄芪为补气升阳类补益药,具有增强机体免疫功能^[1]、促进造血功能、保肝、强心等作用。本文就黄芪注射液对正常小鼠、药物或荷瘤引起免疫功能低下小鼠的非特异免疫、体液免疫和细胞免疫的影响进行试验观察。

1 材料

1.1 黄芪注射液(简称黄芪)由中国科学院成都地奥九泓制药厂生产,批号:960723,浓度为10g生药/ml, pH5.0。临用前以灭菌生理盐水稀释至所需浓度。猪苓多糖注射液(简称猪苓)由中国中医研究院实验药厂生产,批号:960311, 20mg/支。环磷酰胺(CY)上海第十二制药厂生产,批号:951209。氢化泼尼松(简称泼尼松)上海第九制药厂生产,批号:920208。刀豆球蛋白(Concanavalin A, ConA)Sigma公司产,批号111H7140。³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)中科院原子核研究所产, 1mCi/ml。RPMI1640, Sigma公司产品。绵羊血,采自北京医科大学实验动物科学部。新生小牛血清,杭州四季青家畜配种站产。其它试剂均为北京化工厂生产,分析纯。

1.2 动物 昆明种小鼠,雄性, 19~21g; C₅₇小鼠,雄性, 18~20g。购自北京医科大学实验动物科学部,一级,合格证号:医动字第01-1051, 01-1046。

1.3 仪器 UV-754型分光光度计,上海产。LS9800型液闪仪,美国产。

1.4 统计处理 实验数据以平均数±标准

差表示,组间比较采用 t 检验。

2 方法与结果

2.1 对小鼠体内碳粒廓清的影响 昆明种雄性小鼠100只,按体重随机分为10组,分别为正常对照组,黄芪4, 10, 25g/kg组,猪苓0.1g/kg组,泼尼松10mg/kg组,泼尼松加黄芪4, 10, 25g/kg组,泼尼松加猪苓0.1g/kg组。每组10只动物。黄芪和猪苓各给药组每日ip给药1次,连续10d,泼尼松于开始实验后第7、8d im。各组动物于末次给药后24h(禁食16h)尾静脉注射4倍稀释印度墨汁0.1ml/10g体重^[2],注射后1、6min眼静脉窦取血,经比色计算出廓清指数 k ,校正廓清指数 α ,并称取胸腺、肝、脾重量,计算脏器指数。结果:(1)免疫器官重量:黄芪10, 25g/kg组对正常小鼠和泼尼松小鼠胸腺有显著增重作用。(2)碳粒廓清能力:黄芪3个剂量组对正常小鼠的碳粒廓清能力无显著影响,但能显著增强泼尼松小鼠网状内皮系统的吞噬能力,显著提高 k 值和 α 值。见表1。

2.2 对血清溶血素的影响 取C₅₇小鼠,按体重随机分为10组,每组10只动物,按表2所示剂量给药(ip),连续9d,环磷酰胺于开始给药后4、5d,按40mg/kg sc给与,实验第5d腹腔注射3:5(v/v)稀释的绵羊红细胞悬液0.2ml致敏^[2],致敏后第5d将动物摘眼球放血,分离血清^[2]于540nm测定各样品的吸收度,并计算其半数溶血值(HC₅₀)。结果:黄

表 1 黄芪对小鼠胸腺重量及碳粒廓清能力的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 g/kg	胸腺 mg/10g w	廓清指数 K	校正廓清 指数 α
正常对照		25.1 $\pm$ 5.7	0.0398 $\pm$ 0.0176	5.88 $\pm$ 1.23
黄芪	4	28.9 $\pm$ 10.0	0.0406 $\pm$ 0.0117	5.59 $\pm$ 0.55
黄芪	10	32.9 $\pm$ 4.7 ^{###}	0.0392 $\pm$ 0.0104	6.43 $\pm$ 0.62
黄芪	25	32.3 $\pm$ 7.7 [#]	0.0363 $\pm$ 0.0064	5.89 $\pm$ 0.48
猪苓	0.1	33.5 $\pm$ 8.7 [#]	0.0405 $\pm$ 0.0158	5.78 $\pm$ 0.93
泼尼松	0.01	7.9 $\pm$ 2.7 ^{####}	0.0269 $\pm$ 0.0083	6.05 $\pm$ 0.71
泼尼松+黄芪	4	9.5 $\pm$ 2.5	0.0357 $\pm$ 0.0060 [*]	6.69 $\pm$ 0.57
泼尼松+黄芪	10	11.3 $\pm$ 1.4 ^{**}	0.0444 $\pm$ 0.0083 ^{**}	6.96 $\pm$ 0.45 ^{**}
泼尼松+黄芪	25	9.5 $\pm$ 1.4	0.0300 $\pm$ 0.0066	6.04 $\pm$ 0.58
泼尼松+猪苓	0.1	11.3 $\pm$ 2.2 ^{**}	0.0139 $\pm$ 0.0102	6.16 $\pm$ 0.61

注: $n=10$,与正常对照组比[#] $P<0.05$,^{###} $P<0.01$,
^{####} $P<0.001$;与泼尼松组比^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ (下同)

芪 4~25g/kg 剂量对正常小鼠血清溶血素抗体生成无明显影响;在 25g/kg 剂量时对 CY 小鼠的溶血素抗体生成有增强作用,表明黄芪对免疫功能低下动物的体液免疫有促进作用。见表 2。

表 2 黄芪对 C₅₇小鼠血清溶血素抗体生成的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 g/kg	吸光度值 OD	HC ₅₀
正常对照	—	0.699 $\pm$ 0.103	64.6 $\pm$ 9.5
黄芪	4	0.669 $\pm$ 0.024	61.8 $\pm$ 2.2
黄芪	10	0.659 $\pm$ 0.073	60.9 $\pm$ 6.8
黄芪	25	0.677 $\pm$ 0.116	62.6 $\pm$ 10.7
猪苓	0.1	0.686 $\pm$ 0.063	63.4 $\pm$ 5.8
CY	0.04	0.041 $\pm$ 0.004 ^{###}	3.8 $\pm$ 0.4 ^{###}
CY+黄芪	4	0.043 $\pm$ 0.008	3.9 $\pm$ 0.7
CY+黄芪	10	0.047 $\pm$ 0.012	4.3 $\pm$ 1.1
CY+黄芪	25	0.179 $\pm$ 0.133 ^{**}	16.6 $\pm$ 12.3 ^{**}
CY+猪苓	0.1	0.046 $\pm$ 0.013	4.3 $\pm$ 1.2

注:与 CY 组比^{**} $P<0.01$

2.3 对细胞免疫功能的影响

2.3.1 体内给药对正常小鼠淋巴细胞增殖的影响(³H-TdR 掺入法^[2]) C₅₇小鼠,按体

重随机分为 5 组,每组 7 只,按表 3 剂量连续 ip 给药 16d,末次给药后 24h,小鼠摘眼球放血致死,无菌取脾,制备脾细胞悬液,计数脾细胞,用含 15%小牛血清的 RPMI1640 调节细胞浓度至 5 $\times$ 10⁶/ml,每孔加 200 μ l 即为 1 $\times$ 10⁶ 个细胞,每只动物加 6 孔,分别加 RPMI1640,ConA25,100 μ g/ml 各 5 μ l,各 2 孔,混和均匀后放 37 $^{\circ}$ C,5%CO₂ 孵箱中培养 48h,终止培养前 6h 每孔加入 ³H-TdR0.5 μ Ci/孔。以滤膜法在 LS9800 液闪仪上测定每个样品 1min 放射性强度 cpm 值。结果:(1)黄芪对正常小鼠脾细胞总数无明显影响。(2)黄芪在 4.0~25g/kg ip 给药 16d,对正常小鼠脾淋巴细胞增殖率无明显影响;对 ConA 诱导的淋巴细胞增殖率无明显促进作用;黄芪在 62.5g/kg 显著增强 ConA0.625、2.5 μ g/ml 剂量诱导的淋巴细胞增殖。(3)阳性对照药猪苓对 ConA 诱导的淋巴细胞增殖有明显促进作用,见表 3。

表 3 黄芪对正常 C₅₇小鼠脾淋巴细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 g/kg	cpm/1 $\times$ 10 ⁶ 细胞		
		Con A μ g/ml		
		—	0.625	2.5
生理盐水	—	772 $\pm$ 511	891 $\pm$ 480	2774 $\pm$ 746
黄芪	4.0	542 $\pm$ 325	579 $\pm$ 199	3974 $\pm$ 800
黄芪	10.0	880 $\pm$ 294	1324 $\pm$ 439	4107 $\pm$ 1614
黄芪	25.0	1226 $\pm$ 432	1014 $\pm$ 368	3020 $\pm$ 731
黄芪	62.5	957 $\pm$ 291	4949 $\pm$ 359 ^{**}	5772 $\pm$ 512 ^{**}
猪苓	0.1	1126 $\pm$ 538	4384 $\pm$ 2563 ^{**}	5916 $\pm$ 2050 ^{**}

注:与生理盐水比较^{**} $P<0.01$, $n=7$

2.3.2 体内给药对荷瘤小鼠淋巴细胞增殖的影响 C₅₇小鼠接种 S₁₈₀ 实体瘤于右腋下,瘤细胞浓度为 1:4,每只种 0.2ml。自接种之日起分组给药,每组 6 只动物,分组及给药剂量同实验 2.3.1。给药 16d 停药 24h,按 2.3.1 法进行淋巴细胞增殖实验,并称体重,瘤重。结果:黄芪 4.0~25.0g/kg,对荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖,体重,瘤重影响均不显

著,但可显著增加荷瘤鼠脾细胞总数,表明黄芪在给药期间对脾细胞增殖有促进作用,见表4。

表4 黄芪对荷瘤小鼠体重、瘤重及脾细胞总数的影响
($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 g/kg	体重(g)	瘤重(mg)	脾细胞总数 $\times 10^6$
生理盐水	—	18.2 $\pm$ 0.8	634 $\pm$ 392	52.4 $\pm$ 20.1
黄芪	4.0	18.6 $\pm$ 0.8	501 $\pm$ 169	79.6 $\pm$ 20.6*
黄芪	10.0	19.1 $\pm$ 0.5	557 $\pm$ 263	169.9 $\pm$ 30.1***
黄芪	25.0	19.9 $\pm$ 0.6	743 $\pm$ 223	125.9 $\pm$ 8.8***
黄芪	62.5	19.1 $\pm$ 0.8	513 $\pm$ 413	90.9 $\pm$ 15.8**
猪苓	0.1	17.8 $\pm$ 1.0	524 $\pm$ 202	151.2 $\pm$ 44.5***

注:与生理盐水组比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.3.3 体外给药对正常小鼠及荷瘤小鼠淋巴细胞增殖的影响 取正常昆明种小鼠和接种 S_{180} 实体瘤2~3周的荷瘤昆明种小鼠各4只,分别按2.3.1法制备脾细胞悬液,调节细胞浓度至 $1 \times 10^7/\text{ml}$,每孔加入 $100\mu\text{l}$ 细胞悬液,加入含药培养基 $100\mu\text{l}$,每个药物浓度6孔,其中3孔加ConA(终浓度 $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$),另3孔加入同量的RPMI1640,其它实验方法同2.3.1。结果对正常小鼠:黄芪在 $0.5 \sim 500\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内单独给药及ConA $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 联合给药对淋巴细胞增殖均无明显影响,见表5。对荷瘤小鼠:黄芪体外给药,在 $0.5 \sim 5.0\mu\text{g}/\text{ml}$ 单独给药促进荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖;在 $0.5 \sim 250\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度促进ConA $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 诱导的淋巴细胞增殖,见表6。

3 讨论

黄芪为传统的补益药,具有广泛的药理作用^[3],本研究所用黄芪注射液的主要有效成分为黄芪多糖。对药物或荷瘤诱发的机体免疫功能低下动物,可显著增强其非特异免疫、体液免疫和细胞免疫功能,成人每日用量相当生药8~32g。以 $8\text{g}/60\text{kg}$ 计算,体外给

表5 黄芪体外给药对正常小鼠脾淋巴细胞增殖的影响
($\bar{x} \pm s$)

药物终浓度 $\mu\text{g}/\text{ml}$	cpm/ 1×10^6 细胞	
	ConA ⁻	ConA $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$
0	246.7 $\pm$ 32.1	24524.7 $\pm$ 9368.9
0.5	229.3 $\pm$ 36.3	25565.7 $\pm$ 1014.9
5.0	236.0 $\pm$ 30.2	22413.7 $\pm$ 1678.2
50.0	297.7 $\pm$ 75.4	23316.7 $\pm$ 1624.2
250.0	263.0 $\pm$ 48.9	29321.7 $\pm$ 862.2

表6 黄芪体外给药对荷瘤小鼠脾淋巴细胞增殖的影响
($\bar{x} \pm s$)

药物终浓度 $\mu\text{g}/\text{ml}$	cpm/ 1×10^6 细胞	
	ConA ⁻	ConA $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$
0	321.3 $\pm$ 64.9	6838.7 $\pm$ 920.2
0.5	620.3 $\pm$ 151.7*	11262.3 $\pm$ 1041.1**
5.0	742.7 $\pm$ 272.8*	13279.3 $\pm$ 1958.1**
50.0	536.7 $\pm$ 134.9	9893.3 $\pm$ 482.0**
250.0	471.0 $\pm$ 113.6	9252.3 $\pm$ 1051.9*
500.0	506.3 $\pm$ 121.0	6803.0 $\pm$ 4659.8

药剂量 $0.5 \sim 250\mu\text{g}/\text{ml}$,是临床用量的 $1/133 \sim 189/100$ 倍,对荷瘤小鼠淋巴细胞增殖有显著促进作用,是一良好的免疫调节剂。猪苓多糖注射液 $100\text{mg}/\text{kg}$ 剂量相当于成人日用剂量的125倍,对胸腺有增重作用,对致裂原ConA诱导的正常及荷瘤动物脾淋巴细胞增殖有促进作用,但对体液免疫功能的影响不显著。

参考文献

- 1 中国医学科学院基础研究所免疫室. 正常人服黄芪后某些免疫指标及血中cAMP的变化. 中华医学杂志, 1979, 59(1): 23
- 2 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 934, 945, 952
- 3 周金黄, 刘干中. 中药药理与临床研究进展. 第一册. 北京: 中国科学技术出版社, 1992. 254

(收稿: 1998-03-19)