

2 讨论

西咪替丁为 H_2 受体抑制剂,能够抑制胃酸分泌,降低胃蛋白酶的活性,从而能够预防和减轻自身消化作用。林蛙皮提取物(RCSE)灌胃给药也减轻了小鼠应激性溃疡模型的 UI($P < 0.01$),溃疡抑制率为 21% ~ 50%,作用随剂量的增高而增强。在幽门结扎型溃疡模型中,RCSE 虽然使实验动物的溃疡程度减轻,但只有 $0.60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$);相应的,只有 $0.60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量对胃酸分泌和胃蛋白酶的活性有抑制作用。在醋酸诱发的胃溃疡模型中所得的实验结果与幽门结扎型胃溃疡基本相似。 0.30 、 $0.60\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ RCSE 可促进溃疡愈合,而在小剂量中未出现明显改观。结果表明:RCSE 对应激性溃疡有明显的抑制作用,而对幽门结扎性溃疡的抑制和醋酸诱发溃疡的愈合随着剂量的增高而增强,低剂量 RCSE 对胃酸的分泌和胃蛋白酶的活性无明显作用。RCSE 主要以活性多肽为主^[2,6],体外实验证实其具有强的抗氧化作用^[5]。RCSE 能够显著提高 3 种模型鼠血浆中 GSH-Px、T-SOD 活力,同时降低 MDA 含量;幽门结扎型溃疡大鼠胃组织中的 GSH-Px、T-SOD 活力和 MDA 含量测定也显示出相同的趋势。随着剂量的增加,RCSE 的抗氧化作用趋于增强,其

抗氧化作用可能是抑制应激刺激所致的胃酸分泌的作用机制之一。胃内幽门螺旋杆菌(HP)是导致消化性溃疡的重要病因之一。林蛙皮小分子活性肽对 G^+ 和 G^- 菌都具有一定的抗菌作用^[9],至于对 HP 是否有作用,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 赖仞.大溪铃蟾皮肤分泌液中抗菌活性肽的分离纯化及其性质[J].动物学研究,1998,19(4):257-262.
- [2] 韩俊友,赵瑞利,韩文瑜,等.4 种蛙皮肤活性肽的提取及生物活性比较[J].中国兽医学报,2009,29(5):576-579.
- [3] Prates MV, Sforca ML, Regis WC *et al.* The NMR-derived solution structure of a new cationic antimicrobial peptide from the skin secretion of the anuran *Hyla punctata* [J]. J Biol Chem, 2004, 279(13):13018-1326.
- [4] 赵东红,戴祝英,周亚开.昆虫抗菌肽的功能、作用机理与分子生物学研究进展[J].生物工程进展,1999,15(5):14-18.
- [5] 薛冰,金在久,施溯筠.林蛙皮的抗氧化性研究[J].华西药学期刊,2010,25(4):431-433.
- [6] 姚文兵,刘煜,余江河.蛙皮活性提取物的抗炎作用和体外抗菌活性研究[J].中国药科大学学报,1995,26(5):314-317.
- [7] 赵明宏,郭涛,刘玉兰,等.安胃微丸抗胃溃疡作用[J].沈阳药科大学学报,2002,19(2):118-121.
- [8] 陈奇.中药药理研究方法学[M].第二版.北京:人民卫生出版社,2006:443-444.
- [9] 姜丽丽,尚德静.中国林蛙皮肤抗菌肽抗菌的特性[J].动物学杂志,2004,39(6):70-72.

收稿日期:2010-10-15

肝舒胶囊对小鼠的免疫调节作用

何光星 江南 艾丽 张白嘉 彭龙玲

(四川省中医药科学院药理毒理研究所,四川 成都 610041)

摘要:目的 探讨肝舒胶囊的免疫调节作用。方法 测定环磷酰胺(CY)免疫抑制小鼠的血清溶血素和正常小鼠的血清溶血素;测定氢化可的松(HC)免疫抑制小鼠网状内皮系统吞噬功能碳粒的廓清指数;测定二硝基氯苯(DNCB)诱导小鼠迟发型超敏反应小鼠耳的肿胀度。结果 1.9 、 $0.95\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对 CY 所致小鼠血清溶血素低下有显著提高; $1.9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对正常小鼠血清溶血素有提高的作用趋势、能明显提高 HC 免疫抑制小鼠血清碳粒廓清指数、对 DNCB 致小鼠迟发型超敏反应有明显抑制。结论 肝舒胶囊对免疫抑制小鼠体液免疫及非特异性免疫功能均有明显的增强作用;对细胞免疫有一定的抑制作用。

关键词:肝舒胶囊;免疫调节;溶血素;吞噬功能;迟发型超敏反应

中图分类号:R96

文献标志码:A

文章编号:1006-0103(2011)05-0457-03

Effect of Ganshu capsule on immune function of mice

HE Guang-xing, JIANG Nan, AI Li, ZHANG Bai-jia, PEN Long-ling

(Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu, Sichuan 610041 P. R. China)

作者简介:何光星,副主任技师,从事中药药理及毒理学的研究工作。Email: hegxl211@163.com

Abstract: **OBJECTIVE** To study the immuno-modeling effects of Ganshu capsule in mice. **METHODS** Serum hemolysis test was used to observe the level of serum hemolysis in normal mice and immune hypofunction mice induced by cyclophosphamide, carbon particle clearance method was used to investigate the monocyte cytophagic index in normal mice and immune hypofunction mice induced by hydrocortisone, delayed type hypersensitivity (DTH) test was used to observe the level of ear swelling in normal mice and immune hypofunction induced by dinitrochlorobenzene (DNCB). **RESULTS** Ganshu capsule (1.9, 0.95 g·kg⁻¹) could elevate the serum hemolysis level in immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide, and Ganshu capsule (1.9 g·kg⁻¹) elevated the serum hemolysis level in normal mice but the difference was insignificant. Ganshu capsule (1.9 g·kg⁻¹) could increase the monocyte cytophagic index in immunosuppressed mice induced by hydrocortisone, and markedly inhibit dimethylbenzene-induced ear swelling. **CONCLUSION** Ganshu capsule significantly improves nonspecific and specific immunologic function and inhibits cellular immunologic function in immuno-suppressed mice.

Key words: Ganshu capsule; Immunoregulation; Serum hemolysis test; Carbon clearance test; Delayed type hypersensitivity test

CLC number: R96

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)05-0457-03

肝舒胶囊(GSC)是由黄芪、茵陈、灵芝、板蓝根等乙醇提取物制成的口服制剂,具有清热解毒、祛邪扶正的功效,用于治疗急、慢性肝炎。GSC对CCl₄致大鼠慢性肝损伤有一定保护作用^[1],对化学性急性肝损伤有一定的保肝降酶作用^[2]。现就肝舒胶囊的免疫调节作用进行了药理学研究。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与动物

UV-730的临床生化仪(日本岛津)。肝舒胶囊(GSC,四川省中医药科学院药学研究所,黄褐色细粉);环磷酰胺(CY,上海华联制药有限公司,批号:040503);左旋咪唑(江苏盐城制药有限公司,批号:040503,每片25 mg);氢化可的松(HC,西安利君制药股份有限公司,批号:050226,5 mg·mL⁻¹);云芝肝泰颗粒(吉林河辉制药股份有限公司,每袋5 g,含云芝多糖67 mg·g⁻¹);二硝基氯苯(DNCB,上海化学试剂分装厂,批号:830712)。NIH小鼠[四川省医学科学院实验动物研究所,许可证号:SCXK(川)2005-02]♀♂兼用。

1.2 方法与结果

1.2.1 GSC对CY致免疫抑制小鼠血清溶血素的影响^[3] 取68只NIH小鼠,按体重随机分为6组,每组10~12只,以表1所示剂量ig给药,共10次。除正常对照组外,其余各组于给药第3天ip 15 mg·kg⁻¹ CY,间日1次,共4次。给药3次后,ip 2%鸡红细胞生理盐水液(0.01 mL·g⁻¹体重)免疫。免疫后第8天从小鼠眼眶取血20 μL,加入1 mL生理盐水中摇匀,再加5%鸡红细胞悬液0.5 mL,在冰浴中加进补体0.5 mL,于37℃水浴中温育30 min,冰浴中终止反应。离心,取上清液1 mL,加3 mL都氏液,静置10 min后,于UV-730的临床生化仪上540 nm处比色,测定光密度(OD),以OD值表示血清溶血素的含量(表1)。1.9、0.95 g·kg⁻¹肝舒胶

囊对CY引起的小鼠血清溶血素低下有明显提高作用($P < 0.01$)。

表1 GSC对CY致免疫抑制小鼠血清溶血素的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of GSC on serum hemolysis level in immune hypofunction mice induced by CY ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Dose/g·kg ⁻¹	Mice	Serum hemolysis level
Control	-	10	0.352 ± 0.230
Model	-	12	0.126 ± 0.084 ^Δ
Levamisole	0.10	12	0.504 ± 0.170*
GSC	1.90	12	0.472 ± 0.187*
	0.95	11	0.370 ± 0.194*
	0.475	11	0.213 ± 0.208

Compared with control group: $\Delta P < 0.05$; compared with model group:

* $P < 0.01$

1.2.2 GSC对正常小鼠血清溶血素的影响 取58只NIH小鼠,按体重随机分为5组,正常对照组10只,其余各组12只,以表2所示剂量ig给药。除不用CY造模外,给药、免疫、溶血素检测均同“1.2.1”项。表2可见:肝舒胶囊各剂量组的血清溶血素生成与对照组比较无统计学差异,但1.9 g·kg⁻¹肝舒胶囊有提高血清溶血素的作用趋势。

表2 GSC对正常小鼠血清溶血素的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of GSC on serum hemolysis level in normal mice ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Dose/g·kg ⁻¹	Mice	Serum hemolysis level
Control	-	10	0.395 ± 0.174
Levamisole	0.10	12	0.593 ± 0.156*
GSC	1.90	12	0.491 ± 0.242
	0.95	12	0.385 ± 0.239
	0.475	12	0.372 ± 0.212

Compared with control group: * $P < 0.05$

1.2.3 GSC对HC致免疫抑制小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响^[4] 取NIH小鼠60只,按表3随机分为6组并ig给药,每天1次,共8次。预防给药3次后,用HC 25 mg·kg⁻¹·d⁻¹造模,连续ip 6次。末次给药后1 h,各鼠ip 印度墨汁0.01 mL·g⁻¹,于

30 S(t_1)、12 min(t_2) 分别从眼眶取血 0.02 mL 加入 2 mL 0.1% Na_2CO_3 溶液中,静置 1 h,于 650 nm 测定光密度(OD)。按 $k = (\log\text{OD}_1 - \log\text{OD}_2) / (t_2 - t_1)$ ” 计算廓清指数,同时,剖取肝、脾、胸腺称重,并计算脏体比。由表 3 可见: 1.9 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对

免疫抑制小鼠碳粒廓清指数有明显提高,与模型对照组比较有显著差异($P < 0.05$);肝舒胶囊各剂量对 HC 所致免疫器官萎缩有一定的对抗作用,但均无统计学差异。

表 3 GSC 对 HC 致免疫抑制小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s$ $n = 10$)

Table 3 Effects of GSC on spleen index , thymus index ,carbon clearance index in immunodepressive mice($\bar{x} \pm s$ $n = 10$)

Groups	Dose/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	k	Liver index	Spleen index	Thymus index
Control	—	0.0455 $\pm$ 0.0153	5.22 $\pm$ 0.90	0.609 $\pm$ 0.331	0.403 $\pm$ 0.171
Model	—	0.0249 $\pm$ 0.0103 $^{\Delta}$	4.69 $\pm$ 0.58 $^{\Delta}$	0.473 $\pm$ 0.102	0.181 $\pm$ 0.060 $^{\Delta}$
Yunzhigantai	7.50	0.0346 $\pm$ 0.0085*	4.72 $\pm$ 1.27	0.516 $\pm$ 0.154	0.216 $\pm$ 0.071
GSC	1.90	0.0344 $\pm$ 0.0121*	5.10 $\pm$ 0.67	0.506 $\pm$ 0.141	0.201 $\pm$ 0.043
	0.95	0.0339 $\pm$ 0.0122	4.94 $\pm$ 1.06	0.507 $\pm$ 0.150	0.210 $\pm$ 0.110
	0.475	0.0272 $\pm$ 0.0105	4.98 $\pm$ 0.92	0.503 $\pm$ 0.163	0.213 $\pm$ 0.122

Compared with control group: $^{\Delta}P < 0.01$; compared with model group: * $P < 0.05$

1.2.4 GSC 对 DNCB 致小鼠迟发型超敏反应的影响^[5] 取 NIH 小鼠 66 只,按表 4 分组及给药,每天给药 1 次,共 10 次。预防给药 3 次后,剪去各鼠腹毛,并用 6 号针头在剪毛处扎 20 个小孔,在扎孔处用 0.02 mL 7% DNCB 丙酮麻油液致敏,7 d 后用 0.01 mL 1% DNCB 均匀涂于小鼠左耳激发,24 h 后处死小鼠,用 8 mm 打孔器取下左右耳圆片称重,以二者重量差来表示耳肿胀度。由表 4 可见: 1.9 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对 DNCB 引起的迟发型超敏反应有明显的抑制作用($P < 0.05$)。

1.2.6 统计学处理 用 SPSS13.0 软件进行统计学处理, t 检验比较组间差异。

表 4 GSC 对 DNCB 致小鼠迟发型超敏反应的影响($\bar{x} \pm s$ $n = 11$)

Table 4 Effects of GSC on DNCB - induced delayed - type hypersensitivity in mice($\bar{x} \pm s$ $n = 11$)

Groups	Dose/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Ear swelling/mg
Control	—	2.45 $\pm$ 0.82
Model	—	7.55 $\pm$ 4.32 $^{\Delta}$
Yunzhigantai	7.50	3.82 $\pm$ 1.83*
GSC	1.90	3.91 $\pm$ 1.87*
	0.95	4.73 $\pm$ 4.17
	0.475	5.73 $\pm$ 2.76

Compared with control group: $^{\Delta}P < 0.01$; compared with model group:

* $P < 0.05$

2 讨论

1.9、0.95 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对 CY 引起的小鼠血清溶血素低下有明显的提高作用; 1.9 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对正常小鼠血清溶血素有提高的作用趋势。研究表明: 肝舒胶囊对 CY 造成血清溶血素低下有显著提高,说明其能提高免疫抑制小鼠的体液免疫功能。静脉注射一定大小的颗粒物质,机体内的单核

巨噬细胞会迅速吞噬颗粒,使其在血浆中的浓度降低,因此,可通过其廓清率的测定了解整个单核巨噬系统的吞噬功能,炭粉廓清试验主要反映机体非特异性免疫功能^[6]。1.9 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对免疫抑制小鼠的碳粒廓清指数有明显提高($P < 0.05$),各剂量组对 HC 所致免疫器官萎缩有一定的对抗作用,但均无统计学差异。迟发型超敏反应反映了机体的特异性细胞免疫功能,炎症反应的程度反映了机体对该抗原特异性细胞免疫力的强弱^[7]。1.9 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 肝舒胶囊对 DNCB 引起的迟发型超敏反应有明显的抑制作用($P < 0.05$),对 T 细胞参与的细胞免疫有抑制作用。综上,肝舒胶囊能提高免疫抑制小鼠的体液免疫功能;明显增加免疫抑制小鼠的非特异性免疫功能;对 T 细胞参与的细胞免疫有一定抑制作用。

参考文献:

[1] 何光力,刘洁,艾丽,等.肝舒胶囊对 CCl_4 致大鼠慢性肝损伤的影响[J].华西药理学杂志 2009 24(5):501-502.
[2] 何光力,刘洁,潘嘉,等.肝舒胶囊对急性肝损伤动物的保护作用[J].华西药理学杂志 2009 24(6):620-622.
[3] 徐学瑛.一个改进的体液免疫测定方法-溶血素测定法[J].药学报,1997,14(7):443-445.
[4] 赵艳玲,肖小河,袁海龙,等.肝得宁片对小鼠免疫功能的影响[J].中草药 2002 33(2):147-149.
[5] 徐叔云,卞如廉,陈修.药理实验方法学[M].第三版.北京,人民卫生出版社 2006:1429-1430.
[6] 邓文龙,刘家玉,叶尚钧.人参对网状内皮系统吞噬功能影响的研究[J].中医杂志,1983 24(7):546-547.
[7] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:708.

收稿日期:2010-10-18