

青钱柳对小鼠免疫功能的影响

★ 黄贝贝 肖凤仪 (江西中医学院 南昌 330006)

★ 张文平 (赣南医学院 赣州 341000)

★ 傅颖媛 徐江霞 (江西医学院 南昌 330006)

★ 叶丹玲 (浙江高等医药专科学校 宁波 315000)

摘要:目的:研究青钱柳对小鼠免疫功能的影响。方法:以青钱柳 1 000、500、250 mg/kg 经口给小鼠,用计数法测定腹腔巨噬细胞的吞噬百分率;用³H-TdR 掺入法测定 ConA 诱导脾 T 淋巴细胞的增殖反应;用免疫比浊法测定小鼠血清中免疫球蛋白的含量。结果:青钱柳高剂量组和中剂量组小鼠的吞噬百分率较生理盐水对照组明显升高($P<0.05$),而低剂量组则无明显升高($P>0.05$);青钱柳 3 个剂量组对小鼠脾淋巴细胞自发反应有促进作用($P<0.05$),且高剂量组对 ConA 刺激的脾淋巴细胞增殖反应较对照组明显升高($P<0.05$),而中剂量组和低剂量组较对照组则无明显升高($P>0.05$);3 个剂量的青钱柳对血清中 IgG、IgA、IgM 含量亦无明显改变($P>0.05$)。结论:青钱柳对小鼠免疫功能有一定的增强作用。

关键词:青钱柳;免疫功能

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk] 系胡桃科青钱柳属植物,是我国特有属树种和宝贵的中药资源,其叶甘甜滋润,具有生津止渴、清热解暑、延年益寿的作用。自 80 年代中期以来,已有多家大中医院和科研单位对其化学成分的生物活性进行了研究^[1,2],并且以青钱柳为主要原料配成的保健品梅山神茶已上市多年,经动物和临床研究发现其有降血压、降血糖、治疗神经衰弱等功效^[3]。为了进一步开发利用青钱柳,我们利用正常昆明小鼠为实验对象研究其对机体免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

昆明种小鼠,体重 18~22 g;雄鸡(提供鸡红细胞),由江西医学院动物部提供。

1.2 药物与试剂

受试药:青钱柳,粉状,用生理盐水溶解备用,由江西农业大学提供。其他试剂:RPMI 1640, GIBCO 产品;H-TdR,由中国科学院上海核技术开发公司产品;免疫球蛋白 G、M、A 试剂,上海复星长征医学科学有限公司;刀豆蛋白-A(Con-A),Sigma 产品。

1.3 仪器

净化工作台,苏州净化设备厂;双道 β-液体闪烁计数器(FJ-2101G),国营二六二厂;电子天平(AEG-120),SHINMADZU CO-RPORATION;多头细胞样品收集器,浙江绍兴卫星医疗设备有限公司;CO₂ 培养箱,SHELAB model 2300 ShelDON;高速离心机(TGL-16C),上海安亭科学仪器厂。

1.4 方法

1.4.1 小鼠巨噬细胞吞噬功能测定^[4] 选取 40 只健康小鼠,雌雄各半,随机分成 4 组,每组 10 只,分别为高剂量组(1 000 mg/kg)、中剂量组(500 mg/kg)、低剂量组(250 mg/kg)和生理盐水对照组,经灌胃给药,每日定时给药 1 次,每次 0.4 mL,共 14 天。第 11、12 天分别腹腔注射 0.5% 淀粉生理盐水溶液 0.4 mL,第 13 天腹腔注射 5% 生理盐水鸡红细胞悬液 0.4 mL,12 小时后,颈椎脱臼处死固定于鼠板上,剪开皮肤,经腹膜注入生理盐水 2 mL,转动鼠板 1 分钟,轻揉腹腔,然后吸出腹腔洗液 1 mL,平均滴 3 片载玻片上。干燥后,瑞氏染色,油镜下观察(每片观察巨噬细胞 200 个)小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率(吞噬百分率=吞噬红细胞的巨噬细胞/200 个巨噬细胞)。

1.4.2 青钱柳对小鼠脾 T 淋巴细胞增殖的影响^[4]

采用微孔板培养³H-TdR 掺入法测定脾 T 淋巴细胞的增殖反应。实验动物分组及剂量同上,连续灌胃 14 天后,按常规制备脾单细胞悬液。用含 10% 小牛血清的 RPMI1640 调成 1×10^7 /mL 浓度,在 96 孔板中每孔加入 0.1 mL 脾淋巴细胞,实验孔加入 ConA(终浓度为 4.0 μg/mL)100 μL,设不加 ConA 空白对照孔,每个样品做 3 个复孔。置 5% CO₂、37℃ 培养 60 小时;然后加 0.5 μCi/孔的³H-TdR,继续培养 12 小时。培养结束后,用多头细胞样品收集器收集细胞于 49 型玻璃纤维滤纸上,80℃ 2 小时干燥后置闪烁仪中,加入闪烁液浸泡过夜,用 β 液体闪烁计数仪测出每分钟脉冲数(cpm)。

1.4.3 小鼠血清免疫球蛋白的测定 实验动物分

组与处理同“1.4.2”,连续 14 天给药后,摘眼球取血清分离血清,按试剂盒说明书,采用免疫比浊法测定血清 IgG、IgA、IgM 含量。

1.4.4 统计方法 采用方差分析法进行分析。

2 结果

2.1 青钱柳对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响(见表 1)

表 1 青钱柳对小鼠巨噬细胞吞噬功能的结果

组别	n/个	剂量	吞噬率(%)
对照组	10	NS20.0ml/kg·d ⁻¹	44.1±8.1
低剂量组	10	250mg/kg·d ⁻¹	37.8±6.2
中剂量组	10	500mg/kg·d ⁻¹	59.4±13.2
高剂量组	10	1 000mg/kg·d ⁻¹	61±9.1

由表 1 中可见,中剂量组和高剂量组可明显提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能,与生理盐水比较差异有显著意义($P<0.05$),而低剂量组对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能无明显促进作用。

2.2 青钱柳对小鼠脾 T 淋巴细胞增殖的影响(见表 2)

表 2 青钱柳对小鼠脾淋巴细胞增殖的测定结果($\bar{x}\pm s$)

组别	n/个	自发增殖组/cpm	ConA 诱导组/cpm
对照组	10	788.5±424.8	3 503.0±2 266.8
低剂量组	10	1 746.7±766.9	5 013.7±3 751.8
中剂量组	10	1 045.0±268.9	4 390.0±3 676.0
高剂量组	10	1 556.3±575.5	5 212.6±2 178.0

结果表明在自发增殖检测中(空白对照),3 个实验组均高于对照组($P<0.05$),经 ConA 诱导刺激后,高剂量组的掺入明显增加,与对照组相比差异有显著性,而中剂量组和低剂量组的掺入也有增加趋势,但与对照组相比无统计学意义。

2.3 青钱柳对小鼠血清免疫球蛋白的影响(见表 3)

表 3 青钱柳对小鼠血清免疫球蛋白含量测定结果($\bar{x}\pm s$)

组别	n/个	剂量	IgG/mg·mL ⁻¹	IgM/mg·mL ⁻¹	IgA/mg·mL ⁻¹
对照组	10	NS20.0ml/kg·d ⁻¹	0.39±0.22	0.38±0.22	0.31±0.09
低剂量组	10	250mg/kg·d ⁻¹	0.58±0.25	0.53±0.27	0.25±0.17
中剂量组	10	500mg/kg·d ⁻¹	0.62±0.39	0.56±0.40	0.40±0.27
高剂量组	10	1 000mg/kg·d ⁻¹	0.53±0.27	0.53±0.27	0.37±0.17

结果表明,3 个剂量组对小鼠血清免疫球蛋白 IgG、IgM 和 IgA 水平无明显影响($P>0.05$)。

3 讨论

巨噬细胞是反映机体非特异性免疫力的重要指标。在免疫系统中巨噬细胞的表面具有多种受体,如 IgG 受体、补体 C₃ 受体等,可使巨噬细胞辨认异物,发挥有效的攻击和杀灭作用;同时巨噬细胞可被多种因素激活,如卡介苗、多种中草药等,被激活的巨噬细胞具有强大的吞噬功能及抑菌作用^[6]。在本项研究中,青钱柳 500~1 000 mg/kg 剂量有增强巨噬细胞的吞噬功能。

脾 T 淋巴细胞的增殖能力是衡量细胞免疫功能的重要指标之一。在本项研究中,3 个实验组小鼠脾淋巴细胞的自发增殖率均明显升高,且经 ConA 刺激后,高剂量组的增殖率较对照组明显升高。提示青钱柳有提高脾淋巴细胞自发增殖的作用,并且在适当剂量下能增强脾淋巴细胞对 ConA 诱导的反应能力。血清中免疫球蛋白的含量能反映机体的体液免疫功能状态,本研究中发现 3 个实验组的 IgG、IgM 和 IgA 的含量均明显较对照组高,但无统计学意义,可能与实验中药物的剂量、动物的种系个体差异大等有关。

参考文献

- [1]冷任轩.青钱柳的基础理论研究和临床观察[J].江西中医药,1994,25(2):64
- [2]谢明勇,李磊.青钱柳化学成分和生物活性研究概况[J].中草药,2001,32(4):365
- [3]冷任轩,夏小华.梅山神茶的实验研究和临床观察[J].江西中医药,1994,25(3):64
- [4]傅颖媛.香菇菌发酵液的免疫调节作用[J].微生物学通报,1995,22(3):172
- [5]陈慰峰主编.医学免疫学[M].第三版.北京:人民卫生出版社,2000

(收稿日期:2004-03-30)

Effects of *Cyclocarya paliurus* on Immunologic Function in Mice

Abstract: Objective: To explore the effects of *Cyclocarya paliurus* on immunologic function in mice. Methods: The mice were administered *Cyclocarya paliurus* orally at dose 1 000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg. The method of count, ³H-TdR incorporation and immunonphelometry were used to detect the phagocytosis percentage of peritoneal macrophage, proliferation activity of spleen T lymphocyte stimulated Con-A; the content of immunoglobulins in serum. Results: The phagocytosis percentage at middle and high group was significant higher than control group ($P<0.05$), but without obvious change at low dose group ($P>0.05$). Three dose *Cyclocarya paliurus* had promotional effect to the spontaneous proliferation of lymphocyte ($P<0.05$) and the proliferation at high dose group, stimulated con-A, was significant higher than control group ($P<0.05$). There were no obvious change in the content of IgG, IgA, IgM of serum at three dose groups ($P>0.05$). Conclusion: *Cyclocarya paliurus* in a suitable dose extent have effect on immunologic function.

Key word: *Cyclocarya paliurus*; mice; immunologic function