

逍遥丸对慢性心理应激小鼠免疫系统的的影响

★ 黄忠远¹ 杨军平² 邱丽瑛² (1. 江西省兴国县中医院 南昌 342400; 2. 江西中医学院附属医院 南昌 330006)

摘要:目的:探讨逍遥丸对慢性心理应激小鼠免疫器官结构和细胞免疫功能的调节作用。方法:利用应激箱诱发慢性心理应激模型,逍遥丸为抗慢性应激损伤中药,检测指标包括胸腺细胞凋亡率、胸腺病理、淋巴细胞转化率、血清糖皮质激素水平。结果:各应激组与非应激组比较,胸腺指数、淋巴细胞转化率下降($P<0.05$),胸腺细胞凋亡率升高($P<0.05$),胸腺病理损伤加重;逍遥丸应激组与生理盐水应激组比较,胸腺指数、淋巴细胞转化率升高($P<0.05$),血清糖皮质激素水平、胸腺细胞凋亡率下降($P<0.05$),胸腺病理损伤减轻;结论:逍遥丸对慢性心理应激造成的免疫系统结构和功能损伤有明显保护作用。

关键词:逍遥丸;慢性心理应激;免疫系统

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

本研究观察疏肝理气方逍遥丸调节慢性应激免疫系统结构和功能损伤。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 昆明种小鼠,由江西省实验动物中心提供,均为雄性,体重(20±2)g。适应环境1周,适应期自由摄食和饮水,实验期间所有动物按要求单笼饲养。

1.1.2 实验仪器 应激仪器:仿制北京大学心理系生物心理学实验室自制的条件反射箱。检测仪器:Imagepropus 图像分析系统、IC-9119 放射免疫分析仪。

1.1.3 主要试剂 Annexin-V 细胞凋亡检测试剂盒:购于北京宝赛生物技术有限公司,产品批号 052001。逍遥丸:长春人民药业股份有限公司生产,国药准字 Z20055346,使用时用1g丸加5ml水,慢慢搅匀。

1.2 实验方法

1.2.1 造模 电刺激应激箱是由形状大小完全相同的两个小箱子组成,底部都有电栅,中间用一块带孔的透明玻璃板隔开。实验开始时,两侧同时通电5s,然后一侧通电,另一侧不通电,不通电侧放入的是心理应激模型小鼠。通过5s的感受和随后的观察(听到被电击的小鼠发出的尖叫声,看到被电击小鼠的恐慌、跳跃状态,闻到气味等),使该小鼠始终处于紧张不安、担心害怕的状态。每天不定时应激1次,每次15min,持续6d,建立慢性心理应激动物模型。

1.2.2 动物分组 随机分为4组,每组10只,分别为生理盐水对照组、逍遥丸对照组、生理盐水应激组、逍遥丸应激组。对照组的小鼠也放入同样小室中呆相同时间,但不作应激处理。

1.2.3 实验步骤 逍遥丸剂量2g/kg,每日灌胃0.2ml;生理盐水对照组和生理盐水应激组每天灌胃0.2ml生理盐水。应激前半小时给药,第6天应激结束后,称重、断头取血,做糖皮质激素含量测定;在无菌层流净化台内取出脾脏,放入无菌的DMEM培养液内,检测淋巴细胞转化率;在冰面上取出胸腺,称重后计算胸腺指数(胸腺湿重/体重×100),一半

胸腺匀浆,行Annexin-V细胞凋亡试验,另一半胸腺放入4%甲醛固定液中,进行病理检查。

1.2.4 Annexin-V 细胞凋亡检测 方法严格遵照试剂盒要求。

1.2.5 胸腺组织病理学检查 石蜡切片,HE染色后在倒置显微镜下(4×10倍)观察组织结构并用Imagepropus 图像分析系统进行拍照和分析。

1.2.6 其他检测方法 糖皮质激素用放射免疫法;淋巴细胞转化率用同位素掺入法。

1.2.7 统计学方法 本实验结果用SPSS 12.0软件包进行统计分析,组间比较用单因素方差分析。

2 结果

2.1 胸腺指数、胸腺细胞凋亡率

见表1。

表1 各组胸腺指数、胸腺细胞凋亡率比较

Group	n	胸腺指数(%)	胸腺细胞凋亡率(%)
生理盐水对照组	10	0.35±0.09 [△]	16.88±5.16 ^{△△}
生理盐水应激组	10	0.26±0.07* [▲]	33.82±5.50** ^{▲▲}
逍遥丸对照组	10	0.34±0.06 [△]	19.12±3.71 ^{△△}
逍遥丸应激组	10	0.30±0.08 [▲]	26.37±4.58 [▲]

注:与生理盐水对照组比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与生理盐水应激组比, $△P<0.05$, $△△P<0.01$;与本组对照组相比, $▲P<0.05$, $▲▲P<0.01$ 。

2.2 血清糖皮质激素含量

见表2。

表2 各组血清糖皮质激素含量比较

Group	n	糖皮质激素/ $μg·L^{-1}$
生理盐水对照组	10	25.23±3.43 ^{△△}
生理盐水应激组	10	56.08±4.19** ^{▲▲}
逍遥丸对照组	10	23.27±4.31 ^{△△}
逍遥丸应激组	10	33.49±5.17 [▲]

注:与生理盐水对照组比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与生理盐水应激组比, $△P<0.05$, $△△P<0.01$;与本组对照组相比, $▲P<0.05$, $▲▲P<0.01$ 。

夏枯草醇提取物对大鼠离体胸主动脉条收缩作用的影响

★ 孙旭丽 周大兴* 陆晓波 周闻礼 沈丹萍 刘子伟 顾静 (浙江中医药大学 杭州 310053)

摘要:目的:研究夏枯草醇提液的降压机制。方法:采用大鼠离体主动脉平滑肌标本,分别用不同浓度的夏枯草乙醇提取液拮抗 KCl、去甲肾上腺素(NE)以及 CaCl_2 引起的血管收缩所致的主动脉条收缩作用。结果:夏枯草醇提液对 KCl、NE、 CaCl_2 所致的主动脉条收缩都有一定的拮抗作用。结论:夏枯草醇提物可能是一种钙拮抗剂。

关键词:夏枯草;大鼠;离体;胸主动脉;钙拮抗剂

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

民间和临床使用夏枯草治疗高血压由来已久^[1],且应用广泛^[2],但对夏枯草的降压机制研究甚少。本实验通过观察夏枯草醇提物对大鼠离体胸主动脉收缩作用的影响,研究夏枯草醇提液的降压机制,为进一步开发利用夏枯草治疗高血压提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物 SD 大鼠,雌雄兼用,200~250 g,由浙江中医药大学动物实验中心提供。

1.2 药物 夏枯草,由湖北黄冈县源和堂中药饮片有限责任公司提供,生产批号 070124;去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE),天津金耀氨基酸有限公司提供,生产批号:

20061011。

1.3 试剂 Krebs-Henseleit (K-H) 液 (mmol/L)^[3]: NaCl 118.0、KCl 4.75、 CaCl_2 1.8、 MgSO_4 1.2、 KH_2PO_4 1.2、 NaHCO_3 25、Glucose 11, pH7.4。

无 Ca^{2+} Krebs 液:按照正常 Krebs 液中去掉 CaCl_2 ,加入 EDTA 0.01 mmol/L。

无 Ca^{2+} 高 K^{+} Krebs 液:为无 Ca^{2+} Krebs 液中含有 K^{+} 40 mmol/L。

1.4 仪器 肌张力换能器,型号 JZJ101,量程 5 g,成都仪器厂产品;多道生理信号采集处理系统,型号 RM6240BD,成都仪器厂产品;超级恒温箱,型号 SC-15,宁波新芝生物科技股

2.3 淋巴细胞转化率

见表 3。

表 3 淋巴细胞转化率的变化(^3H -TdR 掺入值) cpm

Group	n	LPS 诱导	ConA 诱导
生理盐水对照组	10	13498 ± 422 ^{△△}	9431 ± 569 [△]
生理盐水应激组	10	7160 ± 541 ^{**▲▲}	5338 ± 219 ^{*▲}
逍遥丸对照组	10	13549 ± 520 ^{△△}	9256 ± 641 [△]
逍遥丸应激组	10	9879 ± 257 ^{*▲▲}	5629 ± 409 ^{*▲}

注:与生理盐水对照组比, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$;与生理盐水应激组比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与本组对照组相比, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.4 胸腺病理

慢性心理应激小鼠的胸腺组织形态发生轻度改变:皮、髓质见萎缩,皮质萎缩较髓质明显,皮质和髓质内的胸腺细胞分布较稀疏。逍遥丸应激组的小鼠的胸腺影响较小,胸腺体积较大,皮质和髓质内的胸腺细胞较多、较密集,髓质内上

皮性网状细胞较多,但与非应激组仍有区别。

3 讨论

逍遥丸是疏肝理气法治疗情志性疾病的代表方剂,由柴胡、当归、白芍、白术(炒)、茯苓、薄荷、生姜、甘草(炙)等组成,方中以柴胡疏肝解郁,使肝气条达为君药,临床使用疗效确切,但对其作用机制研究甚少。本实验证实逍遥丸对慢性心理应激造成的免疫系统结构损伤有保护作用,病理学检查可见服用逍遥丸的小鼠胸腺体积较应激组大,细胞多且密集。另外本研究也证实逍遥丸有降低应激性血清糖皮质激素水平、抑制胸腺细胞凋亡的作用,且对慢性心理应激动物的细胞免疫功能有改善作用(提高 NK 细胞活性、淋巴细胞转化率)。在实验过程中我们也观察到服用逍遥丸后应激小鼠的一般状态得到改善,如:理毛、修饰、睡眠时间增多、进食量增加,而单纯应激组的小鼠有明显表现出拒捕、抓咬、不安、烦躁和惊恐的行为特点。

(收稿日期:2007-07-16)

* 通讯作者:周大兴,教授,博士生导师,TEL:0571-86613603, Email:zdx205@163.com