

拳参乙醇提取物的免疫调节作用

李珂珂^a, 栾希英^b (滨州医学院, a.药学院; b.基础学院, 山东 烟台 264003)

摘要: 目的 研究拳参乙醇提取物(BRE)的免疫调节作用。方法 在小鼠体外实验中,通过比色分析法检测小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞吞噬中性红的能力。在小鼠体内实验中,通过测定胸腺、脾脏重量并计算脏器指数; MTT 法检测 T 淋巴细胞增殖和 NK 细胞活性; 鸡红细胞免疫后测定小鼠血清溶血素抗体水平; ELISA 法测定血清中 IL-2 含量。结果 BRE 能够显著增强 RAW264.7 细胞的吞噬能力,增加正常小鼠胸腺和脾脏重量,促进 T 淋巴细胞增殖,增强 NK 细胞的细胞毒作用,上调血清溶血素水平及血清 IL-2 水平。结论 BRE 具有一定的免疫调节作用。

关键词: 拳参; 乙醇提取物; 免疫调节

中图分类号: R965.1; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)01-0021-05

Immunoregulatory Function of Bistortae Rhizoma Ethanol Extract

LI Keke^a, LUAN Xiying^b (Binzhou Medical University, a.College of Pharmacy, b.College of Basic Sciences, Yantai 264003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study immunoregulatory function of Bistortae Rhizoma ethanol extract (BRE). **METHODS** The percentage of phagocytosis of neutral red by RAW264.7 cell line from mouse macrophages was detected by colorimetric assay, *in vitro*. *In vivo* normal mice, weigh the immunological organs, MTT method was employed to investigate T lymphocyte transformation efficiency and the cytotoxicity of NK cells; measurement of the level of serum hemolysin antibody in mice immunized by chicken red blood cells and the content of IL-2 in serum with ELISA. **RESULTS** BRE can improve phagocytosing function of RAW264.7 macrophage cell line, increase spleen index and thymus index, promote proliferation of T lymphocyte, increase the cytotoxicity of NK cells, raise the level of serum hemolysin antibody and the content of IL-2 in normal mice. **CONCLUSION** BRE possesses a potential immunoregulatory function.

KEY WORDS: Bistortae Rhizoma; ethanol extract; immunoregulatory

拳参又名紫参、草河车, 蓼科植物拳参 (*Polygonum bistorta* L.) 的干燥根茎, 具有清热解

毒、消肿止血的功效, 用于赤痢、热泻、肺热、咳嗽、痈肿、口舌生疮、吐血、痔疮出血、毒蛇

基金项目: 滨州医学院科技计划项目(BY2007KJ09)

作者简介: 李珂珂, 女, 硕士, 讲师

Tel: (0535)6913409

E-mail: like_tju@yahoo.com.cn

咬伤等症^[1]。文献报道拳参具有抗炎^[2]、抗突变^[3]、抗癌^[4]和抗心律失常^[5]等作用,并从拳参乙醇提取物中分离得到了没食子酸、丁二酸、槲皮素、槲皮素 5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、原儿茶酸、丁香苷、儿茶素、芦丁等化合物,但拳参乙醇提取物的免疫调节作用在国内外尚未见报道。本试验着重对拳参乙醇提取物(Bistortae Rhizoma ethanol extract, BRE)的免疫学活性进行研究,为进一步研究其免疫药理作用提供参考依据。

1 材料

1.1 实验动物

昆明种小鼠,♀♂各半,6~8周龄,体重(20±2)g,滨州医学院实验动物中心提供,实验动物合格证号:SYXK(鲁)2003-0020。小鼠饲养于空调实验室内,饲养温度(22±2)℃,相对湿度:(65±5)%,以标准颗粒饲料饲养。

1.2 细胞株

小鼠巨噬细胞系 RAW264.7,由山东省天然药物工程技术研究中心馈赠;K562 细胞株,由滨州医学院生物化学教研室馈赠。

1.3 药物与试剂

拳参(山东菏泽泰山中药饮片有限公司,批号:090209)购自山东烟台万民阳光医药有限公司,经滨州医学院中药研究室李治淮研究员鉴定为拳参 *Polygonum bistorta* L. 的干燥根茎。盐酸左旋咪唑(山东省莒南制药厂,批号:070505);MTT(Amresco 公司);ConA(Sigma 公司);改良型 RPMI-1640 培养基[赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司];小牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司);DMSO (Sigma 公司);中性红(北京化工厂);IL-2 ELISA 试剂盒(北京赛尔生物技术有限公司,批号:090417)。

1.4 仪器

DNM-9602 酶标分析仪(北京朗新技术有限公司);1500 型 CO₂ 恒温培养箱(Heraeus 公司);TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

2 方法

2.1 BRE 的制备

以 95%乙醇溶液浸泡 24 h 后,回流提取 30 min,共 3 次,将滤液合并,减压浓缩回收溶剂得浸膏,再用适量蒸馏水将其溶解制成含生药 100, 200, 400 mg·mL⁻¹ 的 BRE, 4℃ 冰箱保存。

2.2 体外巨噬细胞吞噬功能测定^[6]

RAW264.7 细胞于含 10%小牛血清的 RPMI-1640 培养基,37℃,5%CO₂ 条件下培养。调节细胞浓度为 1×10⁶ 个·mL⁻¹,以每孔 100 μL 接种于 96 孔板,培养 12 h 后洗去未贴壁细胞。每孔加入 100 μL 用 RPMI-1640 培养液稀释的不同浓度的 BRE,终浓度分别为 50, 100, 200, 500 μg·mL⁻¹,每个浓度设 8 个复孔,于 37℃,5%CO₂ 条件下培养 24 h 后,每孔加入 0.072%中性红生理盐水溶液 100 μL,继续培养 1 h,倾去上清液,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 遍,每孔加入细胞溶解液(醋酸:乙醇=1:1)100 μL,静置 10 min,振荡器上振荡 1 h,待细胞溶解后,在酶标仪上测定 560 nm 处吸光度(A),以 A 值表示吞噬能力大小。

2.3 免疫器官指数测定^[7]

取小鼠 50 只,♀♂各半,随机分为 5 组,每组 10 只。空白对照组,每只小鼠给予生理盐水 0.1 mL·d⁻¹;BRE 低、中、高剂量组,分别给药 0.5, 1, 2 g·kg⁻¹·d⁻¹;阳性对照组,给予盐酸左旋咪唑 0.03 g·kg⁻¹·d⁻¹。各组均灌胃给药,每天 1 次,连续 21 d。末次灌胃后 6 h 称量小鼠体重并记录,颈椎脱臼处死,无菌取出脾脏、胸腺,精密称重。按以下公式分别计算脾脏和胸腺的脏器指数:免疫器官指数=免疫器官重量(g)/体重(g)。

2.4 T 淋巴细胞增殖反应测定(MTT 法)^[8]

实验动物分组及给药同“2.3”项下所述,末次给药后 6 h 将各组小鼠脱臼处死,无菌取出脾脏,常规制备脾细胞悬液,并调整细胞浓度至 5×10⁶ 个·mL⁻¹,将其置入 96 孔板中,每孔 100 μL,每只动物设 3 个复孔,再分别加入 100 μL RPMI-1640 培养液。实验孔加入 ConA 10 μL(10 μg·mL⁻¹),并设空白对照孔,置 37℃,5%CO₂ 培养箱中培养 66 h。取出培养板,每孔加入 MTT 20 μL(5 mg·mL⁻¹),继续培养 4~6 h。取出培养板,1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,吸弃上清后,每孔加入 DMSO 150 μL,振荡、充分混匀后,在酶标仪 492 nm 处读取 A 值。计算刺激指数 SI 值[SI=(实验孔 A 值-本底 A 值)/(对照孔 A 值-本底 A 值)]。

2.5 NK 细胞活性测定(MTT 法)^[9]

实验动物分组及给药同“2.3”项下所述,末次给药后 6 h 将各组小鼠脱臼处死,无菌取出脾脏,常规制备脾细胞悬液,调整细胞浓度为 5×10⁶ 个·mL⁻¹,作为效应细胞;取对数生长期的

K562 细胞配成 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 细胞悬液作为靶细胞, 效、靶细胞各取 100 μL 加入 96 孔板, 各设 3 个平行孔。另设 3 个靶细胞对照孔和 3 个效应细胞对照孔, 于 37°C , 5% CO_2 培养箱中培养 4 h。再向每孔中加入 MTT 20 μL ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 继续培养 4 h, 离心, 弃去上清液, 每孔加入 DMSO 150 μL , 振荡、混匀, 在酶标仪 492 nm 处测定各组 A 值。取 3 个复孔的 A 均值, 按以下公式计算 NK 细胞活性, 以杀伤率 (%) 表示: $\text{NK 细胞活性}(\%) = [1 - (\text{实验孔 A 值} - \text{效应细胞对照孔 A 值}) / \text{靶细胞对照孔 A 值}] \times 100\%$ 。

2.6 血清溶血素的测定^[10]

取小鼠 24 只, 雌雄各半, 随机分为 3 组, 每组 8 只。空白对照组, 每只小鼠给予生理盐水 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$; BRE 组, 给药 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 阳性对照组, 给予盐酸左旋咪唑 $0.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。各组均灌胃给药, 每天 1 次, 于给药第 7 天每鼠皮下注射体积分数为 5% 的鸡红细胞 (CRBC) 混悬液 $0.2 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$ 进行免疫, 免疫 7 d, 末次给药后 2 h 摘眼球取血, 室温放置 1 h, $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取血清用生理盐水稀释 100 倍。取稀释血清 2 mL 与 1 mL 体积分数为 5% 的 CRBC 和 1 mL 体积分数为 10% 的新鲜豚鼠血清 (1:10) 混合, 在 37°C 恒温箱中保温 30 min 后, 置 0°C 冰浴中 10 min 终止反应, $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液于 540 nm 波长处测吸光度 (A) 值, 以 A 值读数作为判定血清溶血素的指标, 比较各组间差异。

2.7 血清 IL-2 含量测定

取小鼠 24 只, 雌雄各半, 随机分为 4 组, 每组 6 只。空白对照组, 每只小鼠给予生理盐水 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$; BRE 两个剂量给药组, 分别为 $1, 2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 阳性对照组, 给予盐酸左旋咪唑 $0.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。各组均灌胃给药, 每天 1 次, 连续给药 21 d, 按“2.6”项下方法制备血清, 用 ELISA 法测定血清 IL-2 含量。操作方法按试剂盒说明书进行。

2.8 统计分析

用 SPSS 软件进行统计分析, 对各组数据进行 *t* 检验, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 BRE 对小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 吞噬功能的影响

细胞培养液中含有 100, 200, 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ BRE

处理 24 h 后, 在 560 nm 波长处的 A 值均显著高于空白对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其中浓度为 100, 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时效果最显著, 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与 100, 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组间比较差异均有显著性 ($P < 0.05$), 而 100, 200, 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组间比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 结果见表 1。结果表明在一定给药浓度的范围内, BRE 对巨噬细胞吞噬功能的影响随浓度的增加而增强, 但到一定浓度后, 作用减缓甚至有所降低。提示 BRE 在一定浓度范围内能够激活巨噬细胞, 明显增强其吞噬功能。

表 1 BRE 对小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 吞噬功能的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of BRE on phagocytosing function of RAW264.7 cell line *in vitro* ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	A(560 nm)
空白对照组	0	0.316 \pm 0.036
BRE 1	50	0.349 \pm 0.045 ³⁾
BRE 2	100	0.411 \pm 0.055 ²⁾
BRE 3	200	0.409 \pm 0.062 ²⁾
BRE 4	500	0.370 \pm 0.049 ¹⁾

注: 与空白对照组相比, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与 BRE 2, 3 两组相比, ³⁾ $P < 0.05$

Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; compared with BRE (100, 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) groups, ³⁾ $P < 0.05$

3.2 BRE 对免疫器官重量的影响

与空白对照组相比, 阳性对照组、BRE 的 3 个剂量组均可显著提高正常小鼠的脾指数和胸腺指数 ($P < 0.01$)。其中 BRE $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组对脾指数的增加最为显著, 随给药剂量增加至 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 脾指数的增加有显著性降低 ($P < 0.05$)。BRE 对胸腺指数的增加在 3 个剂量间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3.3 BRE 对 T 淋巴细胞增殖反应的影响

与空白对照组相比较, 阳性对照组、BRE 的 3 个剂量组均可明显促进正常小鼠 T 淋巴细胞增殖反应 ($P < 0.01$), 且随 BRE 给药剂量的增加而逐步提高。其中低剂量组与中、高剂量组比较有显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而 BRE 中剂量组与高剂量组组间比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明 T 淋巴细胞增殖反应随 BRE 给药剂量的增加而有增高, 但到一定剂量后, 增加减缓甚至有所降低, 结果见表 3。

3.4 BRE 对 NK 细胞活性的影响

与空白对照组比较, 阳性对照组、BRE 各剂

表 2 BRE 对小鼠免疫器官重量的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of BRE on the weight of the immune organs in the mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	脾脏重/g	脾脏指数/g·g ⁻¹	胸腺重/g	胸腺指数/g·g ⁻¹
空白对照组	8	-	0.073±0.012	2.99±0.37	0.064±0.014	2.60±0.32
阳性对照组	8	0.03	0.149±0.030 ²⁾	5.58±1.22 ²⁾	0.148±0.025 ²⁾	5.53±0.96 ²⁾
BRE 低剂量组	10	0.5	0.101±0.020 ²⁾	3.90±0.56 ²⁾	0.093±0.012 ²⁾	3.66±0.23 ²⁾
BRE 中剂量组	9	1	0.109±0.015 ²⁾	4.14±0.36 ²⁾	0.109±0.028 ²⁾	4.12±0.67 ²⁾
BRE 高剂量组	10	2	0.088±0.013 ¹⁾	3.67±0.46 ²⁾³⁾	0.096±0.016 ²⁾	3.84±0.53 ²⁾

注: 与空白对照组相比, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01; 与 BRE 中剂量组相比, ³⁾P<0.05

Note: Compared with blank control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01; compared with BRE mid-dose group, ³⁾P<0.05

表 3 BRE 对小鼠 T 淋巴细胞增殖反应的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of BRE on the T cell proliferation in the mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	刺激指数 SI
空白对照组	10	-	1.13±0.08
阳性对照组	10	0.03	1.55±0.17 ¹⁾
BRE 低剂量组	10	0.5	1.37±0.19 ¹⁾²⁾
BRE 中剂量组	9	1	1.66±0.13 ¹⁾
BRE 高剂量组	10	2	1.55±0.14 ¹⁾

注: 与空白对照组相比, ¹⁾P<0.01; 与 BRE 中剂量组相比, ²⁾P<0.01; 与 BRE 高剂量组相比, P<0.05

Note: Compared with blank control group, ¹⁾P<0.01; compared with BRE mid-dose group, ²⁾P<0.01; compared with BRE high-dose group, P<0.05

量组均可显著增加正常小鼠脾脏 NK 细胞的自然杀伤率(P<0.01)。其中低剂量组与中剂量组比较有显著性差异(P<0.05), 但与高剂量组比较无显著性差异(P>0.05)。表明在一定的剂量范围内, BRE 对 NK 细胞活性的影响随剂量的增加而增高, 但到一定剂量后有所降低, 结果见表 4。

表 4 BRE 对小鼠 NK 细胞活性的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effects of BRE on the NK cell activated in the mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	NK 细胞活性/%
空白对照组	8	-	30.4±5.4
阳性对照组	8	0.03	47.3±8.9 ¹⁾
BRE 低剂量组	10	0.5	47.4±6.1 ¹⁾²⁾
BRE 中剂量组	10	1	55.0±5.8 ¹⁾
BRE 高剂量组	10	2	48.2±8.6 ¹⁾

注: 与空白对照组相比, ¹⁾P<0.01; 与 BRE 中剂量组相比, ²⁾P<0.05

Note: Compared with blank control group, ¹⁾P<0.01; compared with BRE mid-dose group, ²⁾P<0.05

3.5 BRE 对小鼠血清溶血素的影响

血清溶血素的测定结果显示, BRE 可明显上

调正常小鼠的血清溶血素水平(P<0.01)。提示 BRE 能增加小鼠血液中抗体含量, 从而增强免疫力, 结果见表 5。

表 5 BRE 对小鼠血清溶血素的影响(n=8, $\bar{x} \pm s$)

Tab 5 Effects of BRE on the production of serum hemolysin in the mice(n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	A 值(450 nm)
空白对照组	-	0.407±0.018
阳性对照组	0.03	0.553±0.042 ¹⁾
BRE 组	1	0.693±0.087 ¹⁾

注: 与空白对照组相比, ¹⁾P<0.01

Note: Compared with blank control group, ¹⁾P<0.01

3.6 BRE 对小鼠血清 IL-2 含量的影响

ELISA 检测结果表明, BRE 可显著上调正常小鼠血清 IL-2 含量, 与空白对照组比较有统计学意义(P<0.01), 结果见表 6。该结果与 T 淋巴细胞增殖反应结果一致。

表 6 BRE 对小鼠血清 IL-2 含量的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab 6 Effects of BRE on the IL-2 level in serum in the mice(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-2/pg·mL ⁻¹
空白对照组	-	33.1±5.4
阳性对照组	0.03	47.9±8.6 ¹⁾
BRE 低剂量组	1	43.7±3.9 ¹⁾
BRE 高剂量组	2	42.8±3.3 ¹⁾

注: 与空白对照组相比, ¹⁾P<0.01

Note: Compared with blank control group, ¹⁾P<0.01

4 讨论

吞噬是非特异性免疫的关键环节。巨噬细胞是机体早期抗感染的主要细胞, 主要参与非特异性免疫, 其吞噬功能是免疫系统维持自身内环境

稳定的重要手段, 并作为抗原提呈细胞参与特异性免疫应答。巨噬细胞是一种典型的炎症细胞, 对激活剂有很高的敏感性, 微量激活剂可使巨噬细胞体积增大, 吞噬活力增强。本试验观察了不同剂量的 BRE 对巨噬细胞吞噬能力的影响。结果表明巨噬细胞在 BRE 的诱导下, 吞噬中性红的能力明显提高。提示 BRE 对巨噬细胞有刺激作用, 可使其进一步活化, 明显增强其吞噬能力。

胸腺和脾脏重量指数的改变能够反应机体免疫功能的状态。免疫器官的重量在一定程度上可反映免疫器官内淋巴细胞的数量, 从而间接了解体内淋巴细胞总体水平。如果脾指数和胸腺指数均增加, 说明药物对细胞免疫和体液免疫都有促进作用, 在一定程度上能够比较客观的反映机体免疫功能。本实验结果表明, 高、中、低 3 个给药剂量的 BRE 对小鼠脾脏、胸腺指数均有明显的提高作用($P < 0.01$), 提示 BRE 能够增强脾脏和胸腺的免疫功能。

淋巴细胞增殖是反映细胞免疫最直接的指标。T 细胞受到抗原刺激后能辅助 B 细胞分裂增殖、介导体液免疫、产生抗体, 检测药物对 T 细胞功能的影响是探讨其免疫活性的首选对象。小鼠的 T 淋巴细胞增殖反应实验结果表明随 BRE 剂量的增加刺激指数有所增高, 但达到一定剂量($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)后, T 细胞增殖刺激指数增加减缓甚至有所降低。提示 BRE 具有一定的增强细胞免疫的功能。

NK 细胞在调节机体的非特异性免疫反应中起重要作用, 是非特异性免疫的检测指标之一。它可非特异性地与靶细胞结合, 直接杀伤靶细胞(肿瘤细胞、病毒感染细胞、较大的病原体等), 这种天然杀伤活性既不需要预先由抗原致敏, 也不需要抗体参与。小鼠的 NK 细胞活性测定结果表明 BRE 能增强正常小鼠 NK 细胞活性, 且对小鼠免疫功能的影响随剂量的增加而增强, 但到一定剂量($1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)后有所降低。

体液免疫是特异性免疫的重要组成部分, 在抗感染免疫中与细胞免疫相辅相成, 共同发挥免疫作用。血清中溶血素(抗体)的生成反映体液免疫水平的指标, 溶血素的含量与机体体液免疫能力呈正相关^[11]。实验结果显示, BRE 可上调正常小鼠血液中溶血素水平, 提示 BRE 可提高正常小鼠

的体液免疫功能。

IL-2 是免疫应答过程中重要的细胞因子, 可刺激 T 淋巴细胞生长、分化及增强细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的功能, 并能激活 NK 细胞和巨噬细胞, 在胸腺细胞分化过程中起着重要作用。实验结果显示, 给予 $1, 2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ BRE 可显著提高正常小鼠的血清 IL-2 含量。这一结果与上述 T 细胞增殖实验、NK 细胞活性检测实验结果一致。

资料显示拳参具有抗炎、抗突变、抗癌、抗心律失常等作用, 本试验首次报道了 BRE 的免疫调节作用, 试验结果表明 BRE 在一定剂量范围内对免疫调节有增强作用, 这为拳参在临床的合理应用, 深入探讨拳参提取物的作用机制及开发利用这一药用植物资源奠定了良好的基础。

REFERENCES

- [1] Ch.P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版.一部)[S]. 2005: 202.
- [2] DUWIEJUA M, ZEITLIN I J, GRAY A I, et al. The anti-inflammatory compounds of polygonum bistorta: isolation and characterization [J]. *Planta Med*, 1999, 65(4): 371-374.
- [3] NIKAWA M, WU A F, SATO T, et al. Effects of Chinese medicinal plant extracts on mutagenicity of Trp-P-1 [J]. *Nat Med*, 1995, 49(3): 329-331.
- [4] LI Z Q, WEI J J. Several anti-cancer traditional Chinese medicine and therapeutic issues [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med*(现代中西医结合杂志), 1997, 6(3): 407-408.
- [5] ZHOU J F, HUANG Z H, LI H L, et al. Experimental antiarrhythmic effect of *Polygonum bistorta* L. n-butyl alcohol extract [J]. *J Gannan Med Univ*(赣南医学院学报), 2008, 28(6): 795-796.
- [6] SHI Y F, LI P F, LI J L, et al. Regulation effect of taurochenodeoxycholic acid immunologic function in mice [J]. *Bull Chin Mater Med* (中药通报), 2007, 23(7): 859-865.
- [7] DENG J G, WU G, YUN C X, et al. Influence of Daganqing on the immunity in the mice [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2008, 25(4): 278-282.
- [8] KOU J P, HUA M, YAN Y Q. Effect of DSS on immune function in mice [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2003, 20(3): 171-173.
- [9] HE J S, LI R Z, SONG T Y. Investigation of NK cell activity measurement [J]. *Chin J Immunol*(中国免疫学杂志), 1996, 12(6): 356-358.
- [10] GENG D S, ZHANG W B, ZHOU J, et al. Effects of Juandupian on immune system in rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2002, 19 (6): 449-450.
- [11] QIN X Y, LI R C, TANG L, et al. Effects of extract of *Chirita longgangensis* var. hongyao on the immunological function in mice [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*(辽宁中医杂志), 2008, 35(6): 931-934.

收稿日期: 2010-02-26