

脑忆清胶囊对小鼠免疫功能的影响

陈 勤 曹炎贵(合肥 230039 安徽大学生命科学学院)

摘要 目的:观察脑忆清胶囊对小鼠免疫功能的影响。方法:采用显微镜观察腹腔巨噬细胞的吞噬百分率和吞噬指数,用分光光度测定血清溶血素含量,用 ^3H -TdR 掺入法测定脾细胞淋巴细胞增殖率。结果:脑忆清胶囊能明显增加正常小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬百分率及吞噬指数,显著拮抗环磷酰胺所致免疫功能低下小鼠的免疫器官重量减轻,显著增加血清溶血素含量,且能明显促进 ConA 诱导的脾 T 淋巴细胞增殖反应。结论:脑忆清胶囊对小鼠的免疫功能有较好的改善作用。

关键词 脑忆清胶囊;免疫功能;小鼠

Effect of Naoyiqing Capsule on Immune Function in Mice

Chen Qin, Cao Yangui (School of Life Science, Anhui University, Hefei 230039)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To observe the effect of Naoyiqing capsule on immune function in mice. **METHOD:** Phagocytic percentage and phagocytic index in peritoneal macrophages (PM ϕ) were observed by microscope, content of serum hemolysin was determined by spectrophotography, and proliferative rate of lymphocyte within the splenocyte was detected by ^3H -TdR dope method. **RESULTS:** Naoyiqing capsule significantly increased Phagocytic percentage and phagocytic index in PM ϕ of normal mice, obviously antagonized the immune organ weight loss induced by cyclophosphamide (Cy) and markedly increased the contents of serum hemolysin and obviously promoted proliferative response of splenic T-lymphocyte induced by ConA. **CONCLUSION:** These results suggested that Naoyiqing capsule significantly improved immune function in mice.

KEY WORDS naoyiqing capsule, immune function, mice

脑忆清胶囊系根据传统名方“庆世丹”研制的一种新中药制剂。主要由何首乌、枸杞子、山药、牛膝、酸枣仁、远志、石菖蒲等药物组成,具有补肾益精、养心安神、健脑益智的功效,主治中老年人因心肾亏虚所引起记忆功能减退及老年性痴呆症(Alzheimer's disease, AD)。药理试验证明,脑忆清胶囊具有提高拟痴呆大鼠或老年大鼠脑内 M 受体密度,降低脑内胆碱酯酶活性,提高脑组织中单胺类递质含量等药效^[1-3]。本文观察了脑忆清胶囊对小鼠免疫功能的影响。

1 材料和方法

1.1 动物 昆明种小鼠,雄性,体重 $20 \pm 2\text{g}$,由安徽医科大学动物实验中心提供,合格证为皖医动准第 01 号。

1.2 药物 脑忆清胶囊,由安徽省药物研究所制备。实验前用蒸馏水配制,灌胃给药。脑复康片,合肥制药厂产品,批号 960422;环磷酰胺(Cy),上海第十二制药厂,批号 960920;刀豆球蛋白(Concanavalin A, ConA),为 Sigma 产品; ^3H -TdR,上海原子能研究所产品,比活度 $814\text{ GBq} \cdot \text{mmol}^{-1}$; RPMI 1640 培养基,美国 Gibco 产品,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 腹腔巨噬细胞功能测定^[4] 末次给药 1 h 后,每鼠腹腔注射 2% 鸡红细胞(CRBC)生理盐水(NS)溶液 0.5 ml,10 h 后颈椎脱臼处死小鼠,消毒腹部,剪开腹腔皮肤,腹腔注射

Hank's 溶液或 NS 2 ml,轻揉腹部后,吸取腹腔冲洗液滴片,凉干后染色,制片,于油镜下观察并测定吞噬百分率及吞噬指数。

1.4 血清溶血素测定^[4] 末次给药后 1 h,眼球取血适量,分离血清。取用 NS 稀释好的血清样品 1 ml 加至反应管内,再加入 10% SRBC(约 10 亿个) 0.5 ml,置冰浴中,并于每管中加入 1 ml 以 NS 1:10 稀释过的豚鼠血清,37℃ 水浴以终止反应,离心($2000\text{rpm} \times 10\text{min}$),取上清,加 3 ml 都氏试剂,测定 OD 值并计算半数溶血值(HC_{50}),作为判定血清溶血素的指标。

1.5 免疫器官重量测定 处死动物,剖取胸腺及脾脏,滤纸吸去表面残血,立即于精密扭力天平称其湿重,计算脏器重量指数。

1.6 小鼠淋巴细胞增殖试验 末次给药后 1 h,小鼠颈椎脱臼处死,在无菌条件下取脾脏于培养皿中剪碎,在尼龙网上研磨成单细胞悬液,于 96 孔板中,每孔加 $1 \times 10^6 / \text{ml}$ 0.1 ml 和 $4\mu\text{g}$ ConA/ ml 0.1 ml,每份样本设复孔。于 37℃ 5% CO_2 恒温培养 56 h 后,加 ^3H -TdR(每孔 0.5 μCi)继续培养至 72 h。用多头抽滤器收获细胞,FF2107 型液闪仪测定其 cpm 值,结果以 cpm/ 10^6 个脾细胞计算。

2 实验结果

国家药品监督管理局新药管理中心青年科研基金资助课题(95-Q-09)

作者简介:陈勤(1958-),男,博士,副教授,高级工程师

2.1 对小鼠腹腔巨噬细胞功能的影响 取小鼠 50 只,随机分为 5 组。脑忆清组分别 ig 脑忆清胶囊 1.75, 3.50, 7.00g/kg,脑复康组 ig 脑复康 0.30g/kg,对照组给同途径给予 NS,连续用药 10 d。末次给药 1 h 后,按腹腔巨噬细胞功能测定法制片并测定吞噬百分率及吞噬指数。结果表明,脑忆清胶囊 3.50/kg,7.0g/kg 均可使正常小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬百分率及吞噬指数明显增加,见表 1。

2.2 对免疫功能低下小鼠免疫器官重量及血清溶血素形成的影响 取小鼠 60 只,随机分为 6 组,按表 2 中所示剂量 ig 给药或 NS,连续用药 10d。除正常对照组外,其它 5 组于给药后第 6d ip 3:5(v/v) 稀释的 SRBC 悬液 0.1 ml/10g 致敏;第 7、8d 分别每鼠 ip 环磷酰胺(Cy) 60 mg/kg,正常对照组 ip NS。末次给药后 1 h,眼球取血,分离血清,按血清溶血素测定法测定 OD 值并计算半数溶血值(HC₅₀)。结果表明,脑忆清胶囊能明显拮抗环磷酰胺所致免疫功能低下小鼠的免疫器官重量减轻,显著增加血清溶血素含量,提示本品能提高机体体液免疫功能,见表 2。

表 1 脑忆清胶囊对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量 (g/kg)	吞噬百分率 (%)	吞噬指数
对 照 组	NS	32.7 ± 5.7	5.25 ± 0.09
脑复康组	0.30	34.4 ± 4.1	5.71 ± 0.07
脑忆清组	1.75	36.7 ± 4.8	5.91 ± 0.09
脑忆清组	3.50	38.6 ± 4.3*	6.54 ± 0.06**
脑忆清组	7.00	41.2 ± 5.6**	7.16 ± 0.07**

与对照组比较 * $P<0.05$ ** $P<0.01$

表 2 脑忆清胶囊对 Cy 所致免疫功能低下小鼠免疫器官重量及血清溶素含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量 (g/kg)	胸腺指数 (mg/10g)	脾指数 (mg/10g)	HC ₅₀ 值
对 照 组	NS	27.05 ± 1.78	35.26 ± 4.28**	18.5 ± 1.7
Cy 模型组	NS	27.05 ± 1.78	14.39 ± 2.93	10.7 ± 1.19*
脑复康组	0.30	8.10 ± 2.14*	14.47 ± 3.02	15.2 ± 1.0
脑忆清组	1.75	9.11 ± 2.63*	16.45 ± 3.33	19.5 ± 1.5
脑忆清组	3.50	10.46 ± 2.41*	17.86 ± 2.55	20.0 ± 1.6
脑忆清组	7.00	45.00 ± 2.00**	21.97 ± 3.20**	00.00**

与 Cy 模型组比较 * $P<0.05$ ** $P_p<0.01$

2.3 对免疫功能低下小鼠体外 ConA 诱导淋巴细胞增殖反应的影响 取小鼠 60 只,随机分为 6 组,按表 3 中所示剂量 ig 给药或 NS,连续用药 10 d。于给药后第 7、8d 分别每鼠 ip

Cy 60 mg/kg,正常对照组 ip 等量 NS。末次给药后 1 h,小鼠颈椎脱臼处死,在无菌条件下取脾脏制成单细胞悬液,按小鼠脾细胞³H-TdR 掺入法测定其 cpm 值。结果表明,环磷酰胺能明显地降低小鼠淋巴细胞增殖反应值($P<0.01$),当免疫抑制小鼠连续口服脑忆清胶囊 10 d 后,结果可显著促进 ConA 诱导的 T 淋巴细胞增殖反应,并呈较好的量效关系,见表 3。

表 3 脑忆清胶囊对小鼠 T- 淋巴细胞增殖反应的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量 (g/kg)	增殖反应值 (cpm/10 ⁶ 脾细胞)	增殖率 (%)
对 照 组	NS	28384 ± 4257**	
模 型 组	NS	13548 ± 2903	
脑复康组	0.30	17205 ± 3098*	26.99
脑忆清组	1.75	18675 ± 2261**	37.84
脑忆清组	3.50	23884 ± 2698**	75.99
脑忆清组	7.00	24898 ± 3743**	83.78

与 Cy 模型组比较 * $P<0.05$ ** $P<0.01$

3 讨论

现代医学研究表明,机体免疫系统是一种清除致病微生物、处理和呈递抗原、分泌细胞因子和维持机体内环境稳定的重要系统。本研究证实,脑忆清胶囊能显著增加正常小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬百分率和吞噬指数,说明它能增强巨噬细胞的吞噬功能。环磷酰胺是一种免疫抑制剂,它能引起机体免疫功能减退,我们用环磷酰胺造成小鼠免疫功能低下模型来观察脑忆清胶囊对模型动物免疫功能的影响,结果发现脑忆清胶囊可显著增加免疫功能低下小鼠的免疫器官重量,并能明显增加血清溶血素含量。同时还证明本制剂能明显促进免疫功能低下小鼠 ConA 诱导的 T 淋巴细胞增殖反应,由此可见,脑忆清胶囊具有增强机体免疫和细胞免疫功能的作用,提示它对老年性疾病的康复大有裨益。

参考文献

1 陈勤,梁启勇,孙备,等.智力王胶囊对小鼠学习记忆及脑单胺递质的影响.中药药理与临床,1996,12(6):30.
2 陈勤,梁启勇,孙备,等.智力王胶囊抗自由基作用的研究.中药药理与临床,1995,1(增刊):89.
3 黄世福,梁启勇,陈勤,等.脑忆清胶囊对老年小鼠和拟痴呆大鼠记忆功能的影响.中药新药与临床药理,1999,(7):51.
4 陈奇主编.中药药理研究方法学.北京:人民卫生出版社,1993:750,757.

收稿日期:2001-06-21