

欧瑞血活素注射液对小鼠免疫功能的影响

李静梅 许 华¹ (太原 030001 山西医科大学基础医学院药理教研室,¹ 通讯联系人,山西医科大学 523[#])

摘要 目的:观察欧瑞血活素注射液对小鼠免疫功能的影响。方法:以腹腔注射方式给予昆明小鼠不同剂量的欧瑞血活素注射液 30d,并以生理盐水腹腔注射为阴性对照,干扰素腹腔注射为阳性对照。结果:欧瑞血活素注射液小、中剂量组均具有提高中性粒细胞的杀伤功能($P < 0.05$, $P < 0.01$);同等剂量组还可以显著地提高小鼠溶血素水平($P < 0.05$);小、中、大剂量组均具有提高碳粒廓清指数和吞噬指数的作用,显著地增加脾脏及胸腺的重量,其中以中剂量组增强单核巨噬细胞的吞噬功能,大剂量组增加脾脏重量,中剂量组增加胸腺重量的作用最为显著。结论:小、中剂量欧瑞血活素注射液可以提高昆明小鼠的特异性免疫、非特异性免疫以及中性粒细胞的吞噬功能。

关键词 欧瑞血活素注射液;硝基蓝四氮唑;溶血素;碳粒廓清;昆明小鼠

Effect of Blood Acting Polypeptide Injection on immunocompetence in mice

Li Jing mei, Xu Hua (Department of pharmacology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** Investigate the effect of BAP Injection on immunocompetence in mice. **METHOD:** The different doses of BAP were given to Kunming mice for 30 days, ip, continuously, and the negative control group was ip NS, the positive control group was ip INF. **RESULTS:** (1) Among the different doses of BAP tested (low dose: $0.05 \text{ ml} \cdot 10 \text{ g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, medium dose: $0.10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),

d^1 , high dose: $0.20\text{ ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$), the low and medium could increase the killing function of neutrophil in mice ($P<0.05$, $P<0.01$ vs. control). (2) The low and medium doses of HC_{50} showed significant difference compared with NS control group ($P<0.05$). (3) All doses could increase carbon clearance index and phagocytose index, low and medium doses showed significant difference with control group ($P<0.05$, $P<0.01$). The high dose could profoundly raise spleen index ($P<0.01$), and medium dose could largely raise thymus index ($P<0.01$). **CONCLUSION:** BAP has somewhat adjusting effects on specific immunocompetence, nonspecific immunocompetence and killing function of neutrophil in mice, the low and medium doses have beneficial effect.

KEY WORDS Blood Acting Polypeptide Injection, NBT, hemolysin, carbon clearance, Kunming mice

欧瑞血活素注射液(Blood Acting Polypeptide Injection)是从胎牛及其脏器精致提取的能量合剂型药物,药效学研究证明其具有明显的抗缺血、缺氧,改善代谢,调节血小板功能等作用。但目前尚未见到欧瑞血活素注射液对动物免疫调节方面的报道。本实验旨在观察欧瑞血活素注射液对小鼠免疫功能的影响,为其进一步临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 实验动物:昆明种小鼠,体重 $18\sim 20g$,♀♂各半,由山西医科大学实验动物中心提供。

1.2 药品与试剂:欧瑞血活素注射液:黑龙江江世药业提供,生产批号:991228;赛若金:基因工程干扰素 $\alpha 1b$,深圳科兴生物制品有限公司,批号:990901;硝基蓝四氮唑(NBT),Sigma公司;Ficoll 分层液,Sigma公司;瑞氏染液;绵羊红细胞(SRBC),山西医科大学免疫教研室提供;补体,三只豚鼠的新鲜血清 $1:10$ 稀释;都氏试剂:碳酸氢钠 $1.0g$,高铁氰化钾 $0.2g$,氰化钾 $0.05g$,用蒸馏水溶解至 $1000ml$;印度墨汁:北京西中化工厂,使用前用生理盐水稀释 4 倍,超声处理后离心,弃去沉淀物。

2 方法与结果

2.1 实验分组:将小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,即生理盐水阴性对照组, $0.10\text{ ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$,小、中、大剂量欧瑞血活素组,剂量分别为 $0.05\text{ ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$, $0.10\text{ ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$, $0.20\text{ ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$,干扰素阳性对照组, $0.015\text{ ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$,均 ip 给药,共 $30d$ 。

2.2 中性粒细胞杀伤功能测定—硝基蓝四氮唑(NBT)还原实验^[1]

最后一天给药 $1h$ 后,昆明小鼠眼眶肝素抗凝采血 $200\mu l$,与等量 NBT 应用液混合, $37^\circ C$ 15 min ,取出后置室温下 15 min ,应用 Ficoll 分层液分离,取白细胞层推片,自然干燥后,瑞氏染液染色,油镜观察:带有 Formazan 颗粒的中性粒细胞为 NBT 还原阳性细胞,计数 $100\sim 200$ 个中性粒细胞,得出 NBT 还原阳性细胞数的百分率。结果显示欧瑞血活素小剂量组、中剂量组均具有提高中性粒细胞的杀伤功能,其中以中剂量组作用更加明显,而大剂量欧瑞组的作用不明显(见表 1)。

2.3 对小鼠体液免疫功能的影响

本实验采用血清溶血素分光光度法^[2],测定血清中溶血素含量。小鼠分组及剂量设置同前。给药第 $26d$ 小鼠 ip 20% SRBC 0.20 ml/只 ,免疫后第 $4d$ 摘眼球取血,分离血清,将血清稀释 500 倍后供测定。反应管依次加入经稀释的血

清 1 ml , 5% SRBC 0.5 ml , 10% 补体 1 ml ,置于 $37^\circ C$ 恒温水浴中保温 30 min ,然后移至冰水浴中终止反应, 1500 r/min 离心 5 min ,取上清液 1 ml 加都氏试剂 3 ml ,摇匀放置 10 min 于 540 nm 波长处比色读取吸光度,测定 SRBC 半数溶血值:取 5% SRBC 0.25 ml 加都氏试剂至 4 ml ,比色读取吸光度值。计算血清 $HC_{50} = \text{样品的吸光度值} / \text{SRBC 半数溶血值} \times 500$ 。结果显示小、中剂量欧瑞血活素注射液组可以显著地提高小鼠溶血素水平,但大剂量欧瑞血活素注射液组无此作用(见表 2)。

表 1 欧瑞血活素对小鼠 NBT 还原实验的影响($n=10$)

组别	剂量($\text{ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$)	百分率
对照组	0.10	7%
小剂量 ABP	0.05	$10\%^{*1}$
中剂量 ABP	0.10	$14\%^{*2}$
大剂量 ABP	0.20	6%
干扰素	0.015	$13\%^{*1}$

注:与对照组相比, $^{*1} P<0.05$, $^{*2} P<0.01$

表 2 欧瑞血活素对小鼠半数溶血值的影响($n=10$)

组别	剂量($\text{ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$)	HC_{50}
对照组	0.10	251.17 ± 63.18
小剂量 BAP	0.05	$292.33\pm 68.54^{*1}$
中剂量 BAP	0.10	$312.15\pm 83.53^{*1}$
大剂量 BAP	0.20	242.86 ± 60.15
干扰素	0.015	288.43 ± 73.49

注:与对照组相比, $^{*1} P<0.05$

表 3 欧瑞血活素对小鼠碳粒廓清实验的影响($n=10$)

组别	剂量($\text{ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$)	K	α
对照组	0.10	0.0183 ± 0.0274	3.217 ± 0.370
小剂量 BAP	0.05	$0.0268\pm 0.0114^{*1}$	$4.594\pm 0.626^{*1}$
中剂量 BAP	0.10	$0.0342\pm 0.0109^{*2}$	$4.873\pm 0.933^{*1}$
大剂量 BAP	0.20	0.0210 ± 0.0171	3.376 ± 0.649
干扰素	0.015	$0.0293\pm 0.0134^{*1}$	$4.673\pm 0.511^{*1}$

注:与对照组相比, $^{*1} P<0.05$, $^{*2} P<0.01$

表 4 欧瑞血活素对小鼠脾、胸腺脏器指数的影响($n=10$)

组别	剂量($\text{ml}\cdot 10g^{-1}\cdot d^1$)	脾指数	胸腺指数
对照组	0.10	40.28 ± 6.73	24.10 ± 3.42
小剂量 BAP	0.05	$49.72\pm 5.39^{*1}$	28.37 ± 5.14
中剂量 BAP	0.10	$53.34\pm 7.12^{*1}$	$35.00\pm 6.93^{*2}$
大剂量 BAP	0.20	$63.56\pm 8.17^{*2}$	$32.18\pm 4.13^{*1}$
干扰素	0.015	$52.17\pm 5.56^{*1}$	27.46 ± 6.31

注:与对照组相比, $^{*1} P<0.05$, $^{*2} P<0.01$

2.4 碳粒廓清试验^[3]

最后一天给药后 1 h,各鼠尾静脉注射经稀释的印度墨汁 $0.05 \text{ ml} \cdot 10 \text{ g}^{-1}$,于注射后 1 min(t_1)、6 min(t_2)小鼠眼眶采血 20 μl ,加到 0.1 % Na_2CO_3 溶液 2 ml 中摇匀,用分光光度计在 680 nm 波长处比色,测定 t_1 和 t_2 的光密度(OD_1 和 OD_2),计算廓清指数 K 和吞噬指数 α 。之后,将小鼠处死,取肝脏、脾脏及胸腺称重,计算其脏器指数,廓清指数 $K = (\log \text{OD}_1 - \log \text{OD}_2) / (t_2 - t_1)$;吞噬指数 $\alpha = \text{体重} / \text{肝脾重} \times K^{1/3}$;脏器指数等于每 10 g 体重的脏器 mg 数。结果显示小、中、大剂量欧瑞血活素注射液组均具有提高碳粒廓清指数和吞噬指数的作用,小、中剂量组具有显著性,以中剂量组增强单核巨噬细胞的吞噬功能最明显(见表 3)。欧瑞血活素注射液小、中、大剂量组均能显著地增加脾脏及胸腺的重量,其中以大剂量组增加脾脏重量、中剂量组增加胸腺重量的作用最为明显(见表 4)。

3 讨论

在给予欧瑞血活素注射液 30 d 后,明显提高了昆明小鼠

的特异性免疫、非特异性免疫以及中性粒细胞的吞噬功能,其作用强度与剂量有一定关系,以 $0.05 \sim 0.10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 为最佳剂量范围,欧瑞血活素注射液有望发展为一种临床上的免疫增强制剂。

本实验只说明欧瑞血活素注射液能增强 4 ~ 6 周昆明小鼠的正常免疫功能,考虑到临床上免疫力低下的大多为中老年人,故下一步实验观察中年小鼠人为造成免疫功能低下欧瑞血活素注射液对其免疫功能的影响。

参考文献

- 1 王庭富,孟正木.人参皂苷 Rg_3 对免疫功能的影响[J].中国药科大学学报,1999,30(2):133
- 2 王言贵,郝素珍,刘蕾.医学微生物学与免疫学实验教程[M].山西高校联合出版社,1995,168
- 3 徐淑云主编.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991,1233

收稿日期:2001 - 07 - 10