

珍珠粉调节免疫功能的实验研究

钱荣华¹, 竹剑平¹ (1. 浙江省富阳市中医骨伤科医院, 浙江 富阳 311400; 2. 浙江省中医药研究院, 浙江 杭州 310007)

珍珠是我国传统名贵药材, 长期以来都被用作延缓衰老、美容养颜, 为观察珍珠粉的调节免疫作用, 我们进行了小鼠血清溶血素测定、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验、二硝基氟苯诱导小鼠迟发型变态反应试验(DTH)、NK 细胞活性测定、脏器/体重比值等实验研究, 现将结果报告如下:

1 样品处理

供试样品珍珠粉由浙江东方巨星珍珠制品有限公司提供, 为白色粉末, 用蒸馏水配制成各剂量, 混匀供试。

2 实验动物和检测条件

实验动物用昆明种小鼠由浙江省中医药研究院实验动物中心提供, 清洁级, 雌性, 体重 20 ± 2 g。饲料由浙江省实验动物中心提供, 执行标准 GB14924—1994。检测环境条件: 温度 $91 \sim 93^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $60 \sim 65\%$ 。动物于试验前在动物房环境中适应 3d。

3 剂量设计

实验设三个剂量组和一个蒸馏水对照组。低、中、高三个剂量分别为 0.33、0.67、2.00g/kg 体重, 相当于人体临床用量的 5、10 和 30 倍(临床量为 $4 \sim 6$ g/d/人)。

4 实验方法

4.1 小鼠血清溶血素测定(血凝法)

各组灌胃给样品, 每天 1 次, 连续 30d。在试验 d25, 小鼠腹腔注射 0.2mL2%(V/V) 压积绵羊红细胞(SRBC)悬液, 进行免疫。5d 后, 取血离心, 收集血清, 用生理盐水将血清倍比稀释, 37°C 温箱孵育 3h, 观察血球凝集程度, 计算抗体积数。

4.2 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验(半体内法)

各组灌胃给样品, 每天 1 次, 连续 30d。动物处死前 40min, 小鼠腹腔内注射 20%(V/V) 鸡红细胞悬液 1mL, 处死后再注入 2mL 生理盐水, 取腹腔液滴片, 37°C 温箱孵育 30min, 固定, 染色, 镜检, 计数 100 个巨噬细胞, 计算吞噬率及吞噬指数。

4.3 二硝基氟苯诱导小鼠迟发型变态反应试验(耳肿胀法)

各组灌胃给样品, 每天 1 次, 连续 30d, 在试验 d25, 小鼠腹部涂 50uL 二硝基氟苯溶液(涂皮前 24h 脱毛, 面积约 $3\text{cm} \times 3\text{cm}$)。5d 后用二硝基氟苯溶液 10uL 涂抹于小鼠右耳进行攻击, 24h 处死动物, 剪下耳壳, 用打孔器取下直径 8mm 的耳片, 称重。

4.4 NK 细胞活性测定(LDH 测定法)

各组灌胃给样品, 每天 1 次, 连续 30d。在试验 d30, 小鼠无菌取脾, 置于盛有适量无菌 Hanks 液的小平皿中, 用镊子轻轻撕碎, 制成单细胞悬液, 200 目筛网过滤, 洗涤, 计数, 最后用 RPMI1640 完全培养液调整细胞浓度为 5×10^6 个/mL。试验前 24h 将 YAC-1 细胞(靶细胞)传代培养, 应用前用 Hanks 液洗 3 次, 用 RPMI1640 完全培养液调整细胞浓度

为 1×10^5 个/mL。取靶细胞和脾细胞悬液(效应细胞)各 100uL(效靶比 50:1), 加入 U 型 96 孔培养板中, 靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100uL, 靶细胞最大释放孔加靶细胞和 1% NP40 各 100uL。上述各项均设三个复孔, 于 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 4h, 离心, 每孔吸取上清 100uL 置平底 96 孔培养板中, 同时加入 LDH 基质液 100uL, 反应 3min, 每孔加入 1mol/L 的 HCl30uL, 测光密度(OD)值, 计算 NK 细胞活性。

4.5 脏器/体重比值

各组灌胃给样品, 每天 1 次, 连续 30d。处死动物, 取其胸腺及脾脏, 称重, 计算胸腺/体重比值。

4.6 数据处理

采用方差分析。

5 实验结果

5.1 对小鼠血清溶血素影响

结果见表 1。与阴性对照组(蒸馏水)比较, 三个剂量组能提高小鼠血清溶血素抗体积数水平, 差异均有显著性(q 检验, $P < 0.05$)。

表 1 珍珠粉对小鼠血清溶血素影响

组别	动物数(只)	抗体积数值
阴性对照(蒸馏水)	10	181.1 ± 17.3
0.33g/kg	10	$216.2 \pm 22.9^{1)}$
0.67g/kg	10	$211.8 \pm 12.4^{1)}$
2.00g/kg	10	$208.6 \pm 21.1^{1)}$
P 值		6.842
F 值		0.00095

5.2 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的影响

结果见表 2。三个剂量组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率、吞噬指数和阴性对照组(蒸馏水)比较, 差异均无显著性(方差分析, $P > 0.05$)。

表 2 珍珠粉对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的影响

组别	动物数(只)	吞噬率(%)	吞噬指数
阴性对照(蒸馏水)	10	24.8 ± 8.3	0.43 ± 0.20
0.33g/kg	10	23.4 ± 5.4	0.43 ± 0.13
0.67g/kg	10	24.6 ± 7.0	0.47 ± 0.25
2.00g/kg	10	28.1 ± 10.3	0.53 ± 0.25
P 值		0.639	0.498
F 值		0.595	0.686

5.3 对二硝基氟苯诱导小鼠迟发型变态反应的影响

结果见表 3。三剂量组小鼠左右耳的差值和阴性对照组(蒸馏水)比较, 差异无显著性(方差分析, $P > 0.05$)。

表 3 珍珠粉对二硝基氟苯诱导小鼠 DTH 的影响

组别	动物数(只)	左右耳重量差
阴性对照(蒸馏水)	10	9.7 ± 4.3

组别	动物数(只)	左右耳重量差
0.33g/kg	10	10.0±3.2
0.67g/kg	10	9.9±3.4
2.00g/kg	10	10.6±4.4
P 值		0.092
F 值		0.964

5.4 对小鼠 NK 细胞活性的影响

结果见表 4。与阴性对照组(蒸馏水)比较,三个剂量组均能提高小鼠 NK 细胞活性,差异均有显著性(q 检验, $P < 0.05$)。

表 4 珍珠粉对小鼠 NK 细胞活性的影响

组别	动物数(只)	NK 细胞活性(%)
阴性对照(蒸馏水)	10	25.6±5.8
0.33g/kg	10	31.9±4.7 ^D
0.67g/kg	10	37.4±4.2 ^D
2.00g/kg	10	45.5±3.3 ^D
P 值		33.259
F 值		1.77E-10

q 检验:与阴性对照比较 $P < 0.05$

5.5 对小鼠脏器/体重比值的影响

结果见表 5。三剂量组小鼠胸腺/体重比值及脾脏/体重比值和阴性对照组(蒸馏水)比较,差异均无显著性(方差分析, $P > 0.05$)。

表 5 珍珠粉对小鼠脏器/体重比值的影响

组别	动物数(只)	胸腺/体重(mg/g)	脾脏/体重(mg/g)
阴性对照(蒸馏水)	10	3.3±0.9	5.5±2.9
0.33g/kg	10	4.4±0.7	4.6±1.4
0.67g/kg	10	4.0±0.9	3.7±0.5
2.00g/kg	10	4.0±0.9	4.5±2.2
P 值		2.800	1.316
F 值		0.054	0.284

6 讨论

珍珠粉含有多种氨基酸和生物钙等有效成分^[1],近年来对珍珠粉的研究发现其具有较好的抗感染和免疫调节作用^[2,3],并被临床实践所证实^[4,5],本实验结果表明,珍珠粉可明显增强细胞免疫和细胞吞噬功能,可能与其含有丰富的氨基酸成分有关。氨基酸是淋巴组织器官生长、发育成熟所必需的,且对细胞内蛋白质合成速率及其合成蛋白质类型有明显影响。有人认为,此与氨基酸对染色体特定部位基因的活性、DNA 合成过程、多核糖体的稳定性以及蛋白质合成过程的影响有关,这可说明氨基酸对淋巴细胞功能,特别是抗体形成过程产生的影响^[6]。珍珠粉对免疫功能的调节作用,其机制尚有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 褚小兰. 珍珠不同炮制品中氨基酸含量比较. 中药材, 1993, 16(7): 29.
- [2] 王坚. 珍珠口服液对动物免疫功能及学习记忆的影响. 苏州医学院学报, 1997, 7(2): 216.
- [3] 王潮临. 珍珠粉对大鼠免疫功能的影响. 广西医科大学学报, 1994, 11(3): 280.
- [4] 刘映海. 珍珠散治疗溃疡性口腔炎. 四川中医, 1989, 7(3): 43.
- [5] 党克军. 生白饮治疗放疗后白细胞减少症 30 例. 河南中医药学刊, 1999, 14(5): 59.
- [6] 郭长江. 氨基酸对免疫功能的影响. 氨基酸杂志, 1988, (3): 23.

收稿日期: 2003-07-10