

艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠免疫调节作用的实验研究

★ 张晓双^{1*} 宋延平² 白黎明¹ (1. 陕西中医学院 咸阳 712046; 2. 陕西中医药研究院 西安 710003)

摘要:目的:观察艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠免疫调节作用。方法:观察艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠脾指数和胸腺指数、淋巴细胞转化、溶血素 HC₅₀ 值及碳粒廓清能力的影响。结果:艾迪滴丸能提高 S180 荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数、淋巴细胞转化率、血清溶血素含量、网状内皮系统吞噬功能。结论:艾迪滴丸能增强 S180 荷瘤小鼠免疫功能。

关键词:艾迪滴丸;荷瘤小鼠;免疫功能

中图分类号:R 285.6 文献标识码:A

Experimental study of the immunological function regulated by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice

ZHANG Xiao-shuang¹, SONG Yan-ping², BAI Li-ming¹

1. Shanxi College of TCM, Xianyang 712046;

2. Shanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003

Abstract: Objective: To study the immunological function regulated by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice. Methods: To observe thymus and spleen index, Lymphocyte transformation, serum hemolysin HC₅₀, carbon clearance capacity by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice. Results: Aidi diwan can increase thymus and spleen index, lymphocyte transformation rate, serum hemolysin, reticuloendothelial system phagocytic function by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice. Conclusion: Aidi diwan can improve the immunity function in S180 tumor-bearing mice.

Key words: Aidi diwan; S180 tumor-bearing mice; immunity function

艾迪滴丸是根据艾迪注射液的处方,改变工艺,将注射剂改变成的滴丸制剂。艾迪注射液由斑蝥、人参、黄芪、刺五加组成,具有清热解毒、消瘀散结的

功效,临床主要用于治疗原发性肝癌、肺癌等。但考虑到艾迪注射剂使用不便、注射疼痛、易产生过敏反应等不良反应,所以将艾迪注射液改成口服制剂中

小鼠粒系造血也有刺激作用^[6]。

本实验结果显示:加味四物汤能在一定程度上使 AA 模型大鼠外周血的白细胞、红细胞、血小板上升,与生理盐水组比较有显著差异。能使模型大鼠血清中可促进细胞凋亡的负性造血调节因子 IL-2 的含量明显降低($P < 0.05$)。提示加味四物汤可能是治疗 AA 的有效中药方剂。其机制可能是通过调节造血微环境中负性调节因子的作用。

参考文献

[1] 伏春明,周立石,薛志中,等.慢性再生障碍性贫血患者白介素-2 和白介素-3 检测的临床意义[J].上海医学检验杂志,1998,13(3).

[2] 赵均铭,褚建新,丁顺利,等.5-氟尿嘧啶与白消安合用诱导建立大鼠急性再生障碍性贫血模型[J].中华血液学杂志,2001,22(4):202-204.

[3] 罗志勇,谭孟群,蒋德昭.中草药及其有效成分促粒系造血的研究进展[J].中草药,1995,26(12):653-656.

[4] 周志文,周金黄,邢善田.枸杞多糖对小鼠骨髓造血干细胞、粒单系祖细胞增殖分化的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,1991;5(1):44-45.

[5] 哈敏文,李振,何安光等.黄芪合剂防治化疗性骨髓抑制的实验研究[J].中国医科大学学报,1997,26(5):449-452.

[6] 李美芬,蒋德昭.黄芪促进小鼠粒系造血[J].湖南医科大学学报.1991,16(2):135-137.

(收稿日期:2008-12-17)

* 个人简介:张晓双(1978-),女,讲师,硕士,主要从事药理学教学科研工作。

吸收快的滴丸制剂,通过研究艾迪滴丸对荷瘤小鼠免疫功能的影响,旨在为临床用药提供药理学依据。现将实验结果报道如下。

1 实验材料

1.1 动物及瘤株 昆明系小白鼠,体重 18 ~ 22g,♀ ♂ 兼用,小鼠 S180 肉瘤细胞株,由第四军医大学实验动物中心提供。动物合格证号:scxk(军)2002-2005。

1.2 药品、试剂 艾迪滴丸,北京正大绿洲医药科技开发有限公司生产,批号:070110。每丸 0.225 g,每丸相当生药 1.5075 g,每 g 滴丸相当生药 6.7 g。艾迪注射液,贵州益佰制药股份有限公司生产,批号:20070404,规格:10 ml × 5 支/盒。植物血凝素(PHA),上海伊华医学科技有限公司生产,批号:20060703。都氏试剂(碳酸氢钠 1.0 g,高铁氰化钾 0.2 g,氰化钾 0.05 g,加蒸馏水至 1000 ml)。印度墨汁,北京笃信精细制剂厂生产,批号:0050426。瑞氏染料,上海试剂三厂生产。碳酸钠,分析纯,西安化学试剂厂生产。

1.3 仪器 ACZ-6A 型电子计重秤,上海三积分电子有限公司生产。AL104 型电子天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司生产。CHA-213 型生物显微镜,日本 Olympus 公司生产。721 型分光光度计,上海湖光科学仪器公司生产。LD4-2 型低速离心机,北京医用离心机厂生产。

2 实验方法

2.1 模型制作 取接种 S180 肉瘤细胞 7d 的小鼠,脱颈椎处死,无菌条件下抽取腹水,用无菌生理盐水调整瘤细胞浓度为 1×10^7 /ml,每只小鼠右侧腋窝消毒后皮下接种 0.2 ml 瘤细胞悬液。

2.2 分组及给药 实验动物接种肿瘤(成功)后随机分为 5 组,即荷瘤对照组、阳性对照组、艾迪滴丸大、中、小剂量组。于第 2 天开始给药,荷瘤对照组灌胃等容积生理盐水;阳性对照组腹腔注射艾迪注射液组 16.7 ml/kg,艾迪滴丸大、中、小剂量组分别灌胃艾迪滴丸 2.25 g/kg、1.125 g/kg、0.5625 g/kg。每组 12 只,雌雄各半。各组每天给药 1 次,给药容积 0.2 ml/10g,连续给药 10 d。

2.3 对 S180 荷瘤小鼠脾指数和胸腺指数的影响 各组小鼠末次给药后次日,称体重后处死小鼠,称脾及胸腺重量,计算脾指数和胸腺指数(mg/log 体重)。

2.4 对 S180 荷瘤小鼠淋巴细胞转化能力的影响^[1,2] 在给药后的第 8 天,各组小鼠均每天肌肉注射 PHA 10 mg/kg,共 3 次。末次给药后 1 h,各组

小鼠均剪尾取血推片,瑞氏染色,油镜下计数 100 个淋巴细胞,计算淋巴母细胞和过渡型淋巴细胞所占的百分率。

2.5 对 S180 荷瘤小鼠溶血素含量的影响^[3] 在给药后的第 4 天,每鼠腹腔注射 10% 绵羊红细胞(SR-BC)悬液 0.2 ml 免疫。末次给药后次日,自小鼠内眦静脉丛取血 1 ml,分离血清,用生理盐水将血清稀释 100 倍,取稀释血清 1 ml,与 10% 绵羊红细胞悬液 0.5 ml(约 10 亿个),10% 豚鼠血清(补体)1 ml,置 37℃ 水浴中保温 10 min,孵毕即放入冰浴已终止反应。2 000 rpm 离心 10 min,取上清液 1 ml 加 3 ml 都氏试剂混匀,置 10 min 后,用 721 分光光度计测定各管 540 nm 处测定光密度(OD)值,计算半数溶血值(HC₅₀)。样品 HC₅₀ = 样品吸收率值/SRBC 半数溶血吸收率值 × 稀释倍数。

2.6 对 S180 荷瘤小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响^[4,5] 末次给药后 1 h,小鼠称重,尾静脉注入 10% 稀释的印度墨汁生理盐水 0.1 ml/10g。在注入 2 min 和 10 min 时,分别用微量移液器从小鼠内眦静脉丛取血 20 μl,立刻加入到 2 ml 0.1% Na₂CO₃ 溶液中,摇匀。试验结束后,用 721 分光光度计测定 680 nm 处光密度(OD),最后处死小鼠,分别称取肝、脾重量,按下式计算碳廓清指数 K 及校正指数 α。K = (logOD₁ - logOD₂)/(t₂ - t₁),α = K^{1/3} × 体重/(肝重 + 脾重),t₁、t₂ 代表注射墨汁后的 2 次取血时间。

2.7 统计方法 实验数据用表示,组间进行 t 检验,P < 0.05 表示有统计学意义。

3 实验结果

3.1 对 S180 荷瘤小鼠胸腺指数和脾指数的影响 结果见表 1。

表 1 艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠胸腺指数和脾指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	脾指数 (× 10 ⁻⁴)	胸腺指数 (× 10 ⁻⁴)
荷瘤对照组	-	12	56.59 ± 13.94	28.92 ± 7.19
艾迪滴丸小剂量组	0.5625	12	68.02 ± 16.86 **	33.71 ± 10.52 **
艾迪滴丸中剂量组	1.125	12	65.17 ± 15.47 **	36.34 ± 10.06 **
艾迪滴丸的大剂量组	2.25	12	69.59 ± 18.24 **	35.71 ± 10.88 **
艾迪注射液组	16.7ml/kg	12	70.10 ± 14.41 **	36.49 ± 8.74 **

注:与荷瘤对照组比较:*P < 0.05; **P < 0.01。

由表 1 可见:艾迪滴丸 2.25、1.125、0.5625 g/kg 剂量组和艾迪注射液组的脾指数和胸腺指数,与荷瘤对照组比较均有显著的差异(P < 0.01),表明艾迪滴丸能使 S180 荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数明显增加。提示艾迪滴丸在体内能维护荷瘤小鼠免疫脏器的正常发育。

3.2 对 S180 荷瘤小鼠淋巴细胞转化能力的影响

结果见表 2。

表 2 艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠淋巴细胞转化能力的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	淋巴细胞转化率 (%)
荷瘤对照组	12	—	36.50 ± 5.16
艾迪滴丸小剂量组	12	0.5625	40.17 ± 4.80
艾迪滴丸中剂量组	12	1.125	42.25 ± 3.75 **
艾迪滴丸的大剂量组	12	2.25	44.50 ± 6.40 **
艾迪注射液组	12	16.7 ml/kg	47.33 ± 6.36 **

注:与荷瘤对照组比较: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

由表 2 可见:艾迪滴丸 2.25 g/kg、1.125 g/kg 剂量组以及艾迪注射液组的淋巴细胞转化率均明显高于荷瘤对照组($P < 0.01$)。表明艾迪滴丸在体内能明显促进 PHA 刺激 S180 荷瘤小鼠的淋巴细胞转化能力,提示艾迪滴丸能增强荷瘤小鼠的细胞免疫功能。

3.3 对 S180 荷瘤小鼠溶血素含量的影响 结果见表 2。

表 3 艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠溶血素生成作用的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	HC ₅₀
荷瘤对照组	12	—	45.00 ± 18.87
艾迪滴丸小剂量组	12	0.5625	64.57 ± 17.39 *
艾迪滴丸中剂量组	12	1.125	70.00 ± 19.79 **
艾迪滴丸的大剂量组	12	2.25	76.20 ± 8.40 **
艾迪注射液组	12	16.7 ml/kg	73.91 ± 9.61 **

注:与荷瘤对照组比较: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

由表 3 可见:艾迪滴丸 2.25、1.125、0.5625 g/kg 剂量组以及艾迪注射液组能显著增加 S180 荷瘤小鼠的 HC₅₀ 值($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠溶血素抗体的生成能力有促进作用,提示艾迪滴丸能增强荷瘤小鼠的体液免疫功能。

3.4 对 S180 荷瘤小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响 结果见表 4。

表 4 艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	碳廓清指数 K	校正指数 α
荷瘤对照组	—	12	1.24 ± 0.77	2.51 ± 1.47
艾迪滴丸小剂量组	0.5625	12	2.22 ± 0.13 *	3.45 ± 0.73
艾迪滴丸中剂量组	1.125	12	3.11 ± 0.69 **	3.80 ± 0.56 **
艾迪滴丸的大剂量组	2.25	12	3.87 ± 1.05 **	4.40 ± 0.48 **
艾迪注射液组	16.7 ml/kg	12	3.77 ± 0.99 **	3.91 ± 0.46 **

注:与荷瘤对照组比较: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

由表 4 结果可见:艾迪滴丸 2.25、1.125、0.5625 g/kg 剂量组以及艾迪注射液组的碳廓清指数均显著高于荷瘤对照组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);艾迪滴丸 2.25、1.125 g/kg 剂量组以及艾迪注射液组的校

正指数均明显高于荷瘤对照组($P < 0.01$)。表明艾迪滴丸能显著提高 S180 荷瘤小鼠的碳粒廓清能力,提示艾迪滴丸能明显增强荷瘤小鼠网状内皮系统的吞噬功能。

4 讨论

《内经》云:“正气存内,邪不可干”,中医认为,肿瘤的形成是机体的正气不足,而后邪气踞之所致,正气虚伴随着肿瘤的发生、发展以及治疗及预后的全过程。“正气内虚”是肿瘤的发病学基础。正胜则邪退,扶正培本是中医药防治肿瘤的基本法则,而最突出的就是对机体的免疫功能的调节。

艾迪滴丸是由斑蝥、人参、黄芪、刺五加 4 味中药组成。现代药理研究表明斑蝥的主要成分斑蝥素及其衍生物对多种恶性肿瘤尤其是原发性肝癌有肯定的治疗效果,能诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞蛋白质合成以并提高机体免疫力可能是其抗肿瘤的机制^[6]。人参大补元气,生津止渴,补脾益肺,促使 DNA、蛋白质及脂质合成,使球蛋白含量增加,增加恶性肿瘤患者免疫功能,抑制癌细胞生长^[7]。黄芪增强体液免疫、细胞免疫及非特异性免疫功能,诱生干扰素^[8]。刺五加可增强机体非特异性防御能力,具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗辐射、抗损伤及抗疲劳作用^[9]。四味药相互配合,相得益彰。

本实验结果表明艾迪滴丸能提高 S180 荷瘤小鼠的胸腺、脾指数指数、淋巴细胞转化率、血清溶血素含量、网状内皮系统吞噬功能。提示艾迪滴丸可能通过提高荷瘤小鼠的细胞免疫功能、体液免疫功能以及非特异性免疫功能来发挥抗肿瘤作用。

参考文献

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994: 37—49.
- [2] 宋延平,姚养正,朱自平,等. 万锁消瘤胶囊抗肿瘤作用研究[J]. 西北药学杂志,2001,16(3):115—117.
- [3] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科技出版社,1991:155—160.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:科学技术出版社,1991:115.
- [5] 刘巍,魏晓彬,李雅,等. 苦马豆素的抑瘤和免疫增强作用[J]. 西北药学杂志,2006,21(6):258—260.
- [6] 江励华,王明艳. 斑蝥的研究进展[J]. 医药导报,2004,23(6): 385—386.
- [7] 王筠默. 人参药理研究的进展[J]. 人参研究,2001,13(3):2—8.
- [8] 韩燕. 中药黄芪的研究概况[J]. 河南中医学院学报,2003,11, (6):86—88.
- [9] 王志睿,林敬,张忠义. 刺五加化学成分与药理研究进展[J]. 中成药,2003,26(8):603.

(收稿日期:2009-02-27)