维普资讯 http://www.cqvip.com

黄芪和杜仲对链脲霉素糖尿病模型小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能减损的影响

第一医院内科内分泌 梁亚明* 舒昌达 何 军

提 要 本文采用体外孵育、吞噬酵母菌方法，观察了黄芪和杜仲对链脲霉素糖尿病模型小鼠受损的腹腔巨噬细胞吞噬功能影响，并以转移因子作为这两种中药的对照药物。结果表明：黄芪和转移因子均能促进糖尿病模型小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的恢复，且黄芪作用优于转移因子；杜仲对糖尿病模型小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能无影响

关键词 黄芪；杜仲；糖尿病模型；巨噬细胞；链脲霉素
中图分类号 R551.1

许多研究结果表明，机体的防御机能低下是糖尿病易并发感染的主要原因之一。其中巨噬细胞（Mφ）功能受损是其免疫功能损害的一部分。国内外均有文献报导，无论糖尿病患者还是糖尿病动物模型都发现巨噬细胞吞噬功能减弱[1,2]。这些损害导致糖尿病患者感染发病率升高，且感染难于控制，严重威胁糖尿病患者的生存期和生存质量。

恢复或提高糖尿病患者受损Mφ功能是增强其抵御病原微生物侵袭的途径之一。因此，我们选用中药黄芪、杜仲和转移因子作用于链脲霉素糖尿病模型小鼠受损的腹腔Mφ，以期探索一条糖尿病感染防治的新途径。

材料和方法

1. **实验动物** C_{57}乳系小鼠，本校实验动物中心提供，体重17～25g，不分雌雄。

2. **试剂** 转移因子每安瓿3u，白求恩医科大学制药厂出品，批号890726。黄芪提取液，生药购自本院中药房，产地四川，参照易宁育等[3]报导方法水煎煮，醇沉淀提取。提取液每ml含生药1g。杜仲提取液，生药购自本院中药房，按徐诗伦[4]文献报导方法水煎煮、醇沉淀提取。提取液重量体积比为1ml:1g。

3. **糖尿病动物模型建立** 用pH4.5的柠檬酸缓冲液将链脲霉素（Streptozotocin，STZ，Sigma公司产品）溶解配制成1%溶液，按190mg/kg体重给小鼠一次性腹腔注射。注药后第五天用邻甲苯胺法测血糖。血糖值大于16.67mmol/L(300mg/dl)者视为糖尿病模型建立。

4. **腹腔Mφ的获取** 将注射STZ六天以上成为糖尿病模型的小鼠脱颈椎处死，75%酒精消毒腹部，剪开腹部皮肤，向小鼠腹腔内注射消毒Hanks液约8ml。轻揉小鼠腹部后抽出腹腔液置消毒试管中离心（1000g/min，10min）沉淀后，再用5mlHanks液制成细胞悬液并计数。同上条件再离心后，用配制好的RPMI1640(GIBCO产品）培养液（含10%灭活人AB型血清，且每ml含20u肝素、100u青霉素和100μg链霉素）制成细胞悬液（2×10^6/ml）。

5. **给药方法** 将每只糖尿病模型小鼠制成的细胞悬液分别加入五支试管中，每支各加500μl。黄芪提取液用生理盐水稀释成四种不同浓度，分别加20μl到相应管内。未加药物管作为空白对照加20μl

* 研究生，现成都中医学院附属医院内科 610072

维普资讯 http://www.cqvip.com

生理盐水。最终各管黄芪浓度为0、12.5、125、1250、12500μg/ml五个区组，每组重复10管。转移因子五个区组为0、30、300、3000、30000μu/ml；杜仲五个区组为0、25、250、2500、25000μg/ml。两种药物各区组亦为10管重复。放入37℃孵育箱中孵育24h。

6. 酵母菌液 本校微生物教研室提供菌种，传代接种于沙氏培养基。取生长24h酵母菌培养物经生理盐水洗涤两次，用配制好的RPMI1640培养液制成8×10^6/ml菌液。

7. 吞噬试验和吞噬率、吞噬指数的计算 将酵母菌液等量加入孵育后的细胞悬液中，使之成4:1比例。混匀后小心倾入放有小盖玻片($15\times15mm^2$)的小平皿(φ30mm)中，放入37℃孵育箱孵育60min，使腹腔Mφ贴附于盖玻片上。取出盖玻片，生理盐水漂洗除去未贴附细胞，空气中自然干燥后姬姆萨—瑞氏染色。晾干后中性树胶封固于载玻片上。显微镜下油镜计数200个Mφ及其所吞有的酵母菌数，计算出吞有酵母菌的Mφ百分率（吞噬率）和每个Mφ内平均酵母菌数（吞噬指数）。

结　果

1. 不同浓度黄芪的作用 四种浓度的黄芪分别与空白对照比较，均能显著增强糖尿病小鼠腹腔Mφ的吞噬功能。吞噬率较对照提高52～61%；吞噬指数提高53～81%，统计学处理各P均<0.01，增强效应十分明显。见表1。

2. 不同浓度杜仲的作用 四种浓度杜仲的吞噬率和吞噬指数的均值虽略大于空白对照的均值，但统计处理各P均>0.05，说明杜仲对糖尿病模型小鼠腹腔Mφ吞噬功能无影响。见表2。

3. 不同浓度转移因子的作用 各浓度转移因子与空白对照比较吞噬率提高40～43%；吞噬指数提高45～65%，统计处理均有显著性差异。除30μu/ml组的吞噬指数与对照比较$P<0.05$外，其余各$P<0.01$，说明四种浓度的转移因子均有增强糖尿病模型小鼠腹腔Mφ吞噬功能作用。见表3。

4. 药物间比较 从各种药物吞噬功能

表 1　黄芪对糖尿病模型小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能影响

黄芪(μg/ml)	n	吞噬率（%）($\bar{x}\pm SD$)	吞噬指数($\bar{x}\pm SD$)
0	10	18.5±2.91	0.2935±0.0874
12.5	10	28.45±1.95**	0.471±0.0875**
125	10	29.9±4.29**	0.5315±0.1448**
1250	10	29.4±2.08**	0.51±0.1141**
12500	10	28.3±2.63**	0.45±0.0872**

** $P<0.01$（与空白对照比较）

表 2　杜仲对糖尿病模型小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能影响

杜仲(μg/ml)	n	吞噬率（%）($\bar{x}\pm SD$)	吞噬指数($\bar{x}\pm SD$)
0	10	19.45±2.89	0.288±0.0569
25	10	21.75±3.07△	0.3375±0.0617△
250	10	20.87±2.60△	0.313 ±0.0538△
2500	10	21.45±2.79△	0.34 ±0.0594△
25000	10	20.25±3.95△	0.313 ±0.0688△

△ $P>0.05$（与空白对照比较）

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3　转移因子对糖尿病模型小鼠腹腔巨噬细胞吞表功能影响

转移因子 (μu/ml)	n	吞噬率（%） (x̄±SD)	吞噬指数 (x̄±SD)
0	10	19.41±3.20	0.3173±0.0766
30	10	27.1±5.06**	0.4615±0.1559*
300	10	27.3±5.68**	0.5025±0.1517**
3000	10	27.7±3.82**	0.4783±0.0713**
30000	10	27.6±3.48**	0.523 ±0.1262**

* $P<0.05$　　** $P<0.01$（与空白对照比较）

指标最大（绝对值）均值以及统计处理中与对照显著性最强的区组是：黄芪的125μg/ml组；转移因子的3000μu/ml 组。这两个区组即为这两种药物在本实验效应中的最适浓度。将这两组最适浓度与正常小鼠Mφ吞噬功能比较，除黄芪的吞噬率与正常对照无统计意义差异外，其吞噬指数和转移因子的两吞噬指标均有显著性差异。显然黄芪促进糖尿病模型小鼠腹腔Mφ 吞噬功能优于转移因子。见表4。三种药物作用曲线见图1、2。

表 4　黄芪、转移因子和正常小鼠Mφ吞噬功能比较

组　别	n	吞噬率（%） (x̄±SD)	吞噬指数 (x̄±SD)
正　常	15	34.97±10.91	0.766±0.3534
黄芪(125μg/ml)	10	29.9 ±4.29△	0.5315±0.1448*
转移因子 (3000μu/ml)	10	27.7 ±3.82*	0.4783±0.0713**

△$P>0.05$　　* $P<0.05$　　** $P<0.01$（与正常比较）

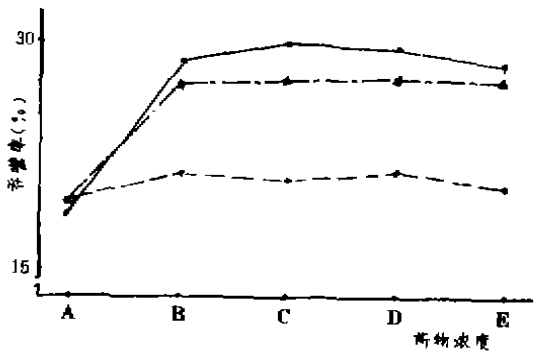


图2　三种药物吞噬率曲线

·—·黄芪　·-·-·转移因子　·----·杜仲

（注：A点三种药物均为0/ml。B点：黄芪12.5μg/ml，转移因子30μu/ml；杜仲25μg/ml。C点：黄芪125μg/ml；转移因子300μu/ml；杜仲250μg/ml。D点：黄芪1250μg/ml；转移因子 3000μu/ml；杜仲 2500μg/ml。E点：黄芪12500μg/ml；转移因子30000μu/ml；杜仲25000μg/ml。）

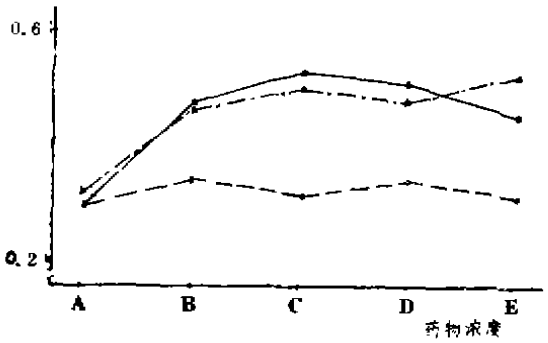


图2　三种药物吞噬指数曲线

（注：同图1注）

·—·黄芪　·-·-·转移因子　·----·杜仲

讨　论

中医理论研究认为，补益类中药多能促

维普资讯 http://www.cqvip.com

进机体的免疫功能。黄芪和杜仲均为此类药物。黄芪是"补中益气"的主药，研究证明它是一种调动机体免疫系统、抗感染、抗肿瘤、抗自身免疫的广谱免疫兴奋剂。国内有关黄芪的免疫药理作用研究很多。黄芪能促进小鼠T淋巴细胞生成和溶血空斑形成细胞生成[6,8]。溶血空斑形成细胞是反映体液免疫功能状况的可靠方法。黄芪多糖 F_B 在体外能明显增强亚适量ConA、PHA和PWM（刀豆蛋白A、植物血凝素和美洲商陆）所致的淋巴细胞增殖反应[7]。黄芪多糖尚有显著促进IL—2、白细胞介素—2产生的作用，推测IL—2作用增强可能是黄芪"扶正"的重要机制之一[8]。黄芪亦能促进正常小鼠淋巴结内Mφ和腹腔Mφ激活，增强其吞噬、杀菌功能[9]，提高小鼠腹腔Mφ膜上FcR、C_3bR活性[10]，直接诱生IL—1[11]等功能。

转移因子是从致敏淋巴细胞中提取的多肽、多核苷酸物质，能将免疫反应作用传递给与该抗原无关的个体，使正常T淋巴细胞致敏。转移因子尚能增强单核细胞和Mφ活性。因此本研究选用转移因子作为黄芪、杜仲两种中药的对照药物，比较它们对STZ糖尿病模型小鼠腹腔Mφ吞噬功能影响。

上述有关黄芪、转移因子对机体免疫功能增强作用的文献报导均以非糖尿病状态下的动物或人体为实验对象。我们将这两种药物作用于糖尿病模型小鼠的腹腔Mφ，结果表明黄芪和转移因子对STZ糖尿病模型小鼠受损的腹腔Mφ非特异性吞噬功能有显著恢复作用。黄芪促进其功能的恢复接近正常；转移因子促进其吞噬功能恢复与正常相比尚有显著差距（$P<0.05$）。提示黄芪对糖尿病模型小鼠Mφ吞噬功能的增强作用强于转移因子。

杜仲为中药之助阳补肾药之一。研究表明中医肾虚与肾上腺皮质机能低下有关外，亦见于免疫功能低下。徐诗伦报导杜仲能兴奋垂体—肾上腺皮质系统，增强肾上腺皮质功能[4]。且徐氏还报导杜仲能增强正常小鼠的单核吞噬系统功能[12]。但我们的研究结果表明杜仲对STZ糖尿病小鼠腹腔Mφ受损的吞噬功能无提高作用。

有关黄芪和转移因子对受损的糖尿病模型小鼠Mφ吞噬功能恢复的机制尚不清楚，有待进一步探讨。总之，本研究结果对黄芪和转移因子有关免疫效应方面提供了新的认识和补充，并且提供了一条从中药领域中寻找促进糖尿病受损免疫机能恢复的新途径。

参考文献

[1] Glass EJ. Clin Exp Immunol 1986; 65:614

[2] 李启富、等. 重庆医科大学学报 1990; 15(4):262

[3] 易宁育，等. 上海免疫学杂志1983; 3:2.

[4] 徐诗伦，等. 中草药1982; 13(6):264.

[5] 钱瑞琴，等. 北京医科大学学报 1987; 19(3):173.

[6] 沈玉清，等. 中国免疫学杂志1989; 5(2):1.

[7] 王德昌，等. 中华肿瘤杂志 1989; 11(3):180.

[8] 金虹、等. 中国免疫学杂志 1989; 5(5):308.

[9] 陈永仲，等. 中国药理学与毒理学杂志 1988; 2(4):305.

[10] 骆保、等. 中西医结合杂志1989; 9(4):228.

[11] 王姜英、等. 上海医科大学学报 1989; (5):386.

[12] 徐诗伦，等. 中草药 1983; 14(8):363.

注：本研究由重庆市科委小额基金资助

（收稿日期：1991-07-18）

维普资讯 http://www.cqvip.com

④
92,17(1)
15-18

输血后HBV EBV CMV感染的系列研究

Ⅱ输血后EBV CMV抗体反应的研究

流行病学教研室 贾庆良 马贵成
第一医院中心实验室 欧阳真纯

R512.6

提 要 用酶联免疫法对受血者及健康对照者进行为期6个月EBV CMV抗体反应的血清学追踪调查．发现受血者、对照者EBV感染再活动率分别为31.86%和15.24%，相对危险度（RR）为2.09；CMV感染再活动率分别为33.33%和10.48%，RR为3.18

关键词 输血；爱波斯坦—巴尔病毒；巨细胞病毒；再活动；追踪调查 EBV, HBV
中图分类号 R512.6

爱波斯坦—巴尔病毒（Epstein-Barr Virus，简称EBV）和巨细胞病毒（Cytomegaloviruss，简称(CMV)，是人类常见的寄生病毒，流行病学调查证明我国健康人

INFLUENCE OF ASTRAGALUS MEMBRANACEUS AND EUCOMMIA ULMOIDES ON IMPAIRED PHAGOCYTIC FUNCTION OF MACROPHAGES IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC MICE

Liang Yaming, et al

Division of Endocrinology, Department of Internal Medicine, The First Hospital

The effects of Astragalus membranaceus and Eucommia ulmoides on impaired phagocytic function of macrophages in diabetic mice induced by streptozotocin were studied by means of peritoneal macrophage culture in vitro and phagocytizing Saccharomyces albicans, and we chose transfer factor as contrast. It was shown that both Astragalus membranaceus and transfer factor could promote phagocytic function of peritoneal macrophages in diabetic mice and the effect of Astragalus membranaceus was better than that of transfer factor. The similar effect of Eucommia ulmoides failed to be observed

KEY WORDS Astragalus membranaceus; Eucommia ulmoides; Diabetic model; Macrophages; Phagocytic function; Streptozotocin