DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.10.015
第23卷第10期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 10
1164 2001年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)10-1164-03

三味中药配伍应用对改善烫伤小鼠受损免疫功能的作用

何保斌,罗中华,刘 敬,周 新,黄文华 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 观察对烫伤小鼠受损免疫功能具有调理作用的单味中草药,经过配伍应用后的协同作用。方法 采用1.034×10^5 Pa的蒸气烫伤10 s,烫伤面积16%,深度为Ⅲ度的致伤模型烫伤动物。通过观察MΦ的吞噬功能、枯否细胞清除能力、MΦ抗原提呈功能、血清TNF量、淋巴细胞增殖反应及IL-2产生能力、小鼠抗体产生能力、PMN H_2O_2释放量及PMN溶菌酶释放量、血清补体的趋化作用和聚集作用等指标,籍以了解单味中药与配伍中药对烧(烫)伤小鼠受损免疫功能的调理作用。结果 单味中药三七(PP),金银花(LJ)和虎杖(PC)对小鼠受损免疫功能有一定的改善作用。PC+LJ、PP+PC、PP+LJ等二味配伍的中药,除少数指标外,均比单味药的作用好。而PP+LJ+PC三味配伍药的调理作用,比单味药和二味配伍药的调理作用更佳。结论 单味中药经配伍应用后对烧(烫)伤小鼠严重受损的免疫系统功能,具有比单味药更好的协同调理作用。

关键词:中药;烧伤;免疫功能;调理作用
中图法分类号:R282.71;R392.12;R644.03 文献标识码:A

The effects of compatible application of three Chinese herbal medicines on the improvement of impaired immunological function of scalded mice

HE Bao-bin, LUO Zhong-hua, LIU Jing, ZHOU Xin, HUANG Wen-hua (Institude of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the effects of compatible application of three Chinese herbal medicine (PP, LJ, PC) which is effective when use seperately on the improvement of impaired immunological function of scalded mice. Methods Scald animal model was established, the phagocytic and antigen presenting function of macrophages(MΦ), the clearance ability of Kupffer cell, serum TNF content, lymphocytic proliferating reaction and its IL-2 producing ability, antibody productivity of mice, amount of H_2O_2-releasing and lysozyme-releasing by PMN, the chemotactic effect and polymerization of serum complements were evaluated respectively after the compatible application of three Chinese herbal medicine. Results PP, LJ and PC had certain effect on the impaired immuunological function of the mice when used separately. And when the three medicine were applied by pair, better effects could be achieved. Furthermore, when all the three were applied simultaneously, the best modulating effects was found. Conclusion Paired or tripled application of Chinese herbal medicine could exert better modulating effects on the impaired immunological function of burned mice.

Key words: Chinese herbal medicine; burn; immunological function; modulating effect

烧伤后机体易发生感染和多器官功能衰竭,其重要原因之一是伤后免疫功能严重受损。因此重建受损免疫功能已是烧伤防治研究中的一项重要课题。近年来我们观察了部分单味中药对烧伤后受损免疫功能的调理作用,获得一定效果。为观察中草药的协同作用,又将中药三七(*Panax pseudo-ginseng* Wall, PP),金银花(*Lonicera japonica* Thund, LJ)和虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc., PC)配伍后进行实验。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物及动物致伤模型

取体重20~24 g,雌雄各半的昆明种小鼠。剪去背毛,将背部固定在一特制的,有恒定面积暴露于高压蒸汽喷口处的支架上,致伤区至喷口距离3.5 cm,蒸汽压力1.034×10^5 Pa,致伤10 s,伤后立即于腹腔补给等渗盐水3 ml。此后分笼饲养,自由进食,该模型烫伤面积16 %,深度为Ⅲ度。

1.2 药物及给药方法

1.2.1 药液的制备 取三七(PP),金银花(LJ),虎杖(PC),分别以生物载留法提取小分子混合成分以供应用。100 g湿生药制成100 ml药液定为100%的浓度。此药液以紫外分光光度计分别进行全波长扫描含有多个吸收峰。证实为多种混合成分。

1.2.2 给药方法 在小鼠致伤24 h后开始给药,腹腔注射0.5 ml/次,2次/d,共7次。

1.3 实验分组

1.3.1 正常对照组 不烫伤,以等渗盐水代替药液。

1.3.2 单纯烫伤组 小鼠烫伤后以等渗盐水代替药液。

1.3.3 治疗组 ①单味用药组:分别给药,应用25%PP,25%LJ和20%PC液。②二味药配合应用组:50%PP+50%LJ等量混合,50%PP+40%PC等量混合,50%LJ+40%PC等量混合。③三味药配伍应用组:50%PP+50%LJ+40%PC等量混合。

1.4 免疫功能的检测

所有动物均在伤后8 d放血活杀,进行下列免疫功能的检测。

1.4.1 巨噬细胞(MΦ)功能的检测 ①MΦ吞噬功能:采用

基金项目:全军"九五"攻关课题(96L042-5)
作者简介:何保斌(1955—),男,四川省达川市人,主管技师,主要从事烧伤外科学方面的研究,发表论文10余篇。电话:(023)68754148-8023
收稿日期:2000-10-09;修回日期:2001-04-27

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

吞噬酵母菌的方法[1]。②枯否细胞清除能力: 参照本所以往的方法进行[2]。③MΦ 抗原提呈功能: 参照 Elsen[3] 和 Stephan 等[4] 方法进行。④血清肿瘤坏死因子(TNF)的检测: 参照文献[5] 方法进行。

1.4.2　淋巴细胞功能的检测　① 淋巴细胞(LT)增殖反应: 按常规方法以 5 μg/ml ConA 进行刺激。②白细胞介素 2(IL-2)产生能力: 采取 IL-2 依赖细胞株进行检测[6]。③小鼠抗体产生能力: 参照 Jemny 等[7] 的方法进行。

1.4.3　中性粒细胞(PMN)功能检测　① PMN H_2O_2 释放: 参照 Pick 等[8] 方法进行。② PMN 溶菌酶释放: 采取常规方法进行[9]。

1.4.4　补体活化功能的检测　① 烧伤血清对正常小鼠 PMN 趋化作用: 参照文献[10] 方法进行。②烧伤血清对正常 PMN 的聚集作用: 参照文献[10] 方法进行。

1.5　统计学处理

各数据均以每次实验时伴随的正常对照组为 100%, 计算得出相应的百分率变化, 并经单因素方差分析比较差异显著性。

2　结果

2.1　三味中药配伍对烫伤小鼠受损 MΦ 功能的作用

小鼠烫伤后 MΦ 功能明显变化, 吞噬功能和抗原提呈功能受损最为严重。在正常的 50% 以下, 血清 TNF 比正常升高近 7 倍。枯否细胞清除能力也只及正常的 58.6%。经用药后各单味药组均有显著的改善作用, 两味药配伍组多数都比单味的作用好, 而三味药配伍则比二味药配伍组更佳。均接近或调理到正常水平。但对 TNF 作用仅单 PP 或与 PP 配伍的才有作用见表 1。

表 1　中药对改善烫伤小鼠受损 MΦ 功能的影响(%, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Effects of Chinese herb medicine on MΦ function in scalded mice(%, $\bar{x}\pm s$)

Parameter	n	Phagocytosis	Kupffer cell function	Antigen presentation	TNF
Scald	12	45.9±8.8	58.3±9.4	35.1±9.3	689.0±165.0
PC	12	62.7±9.4	79.4±8.4 *	61.5±31.9 *	571.0±58.0
LJ	12	63.1±7.6 *	81.0±13.4 *	65.5±29.0 *	578.8±58.1
PP	12	70.6±15.6 *	85.9±14.2 **	78.3±25.1 **	380.2±33.1 **
PC+LJ	12	78.5±19.4 **	90.6±14.2 **	77.9±21.2 **	581.3±53.1
PP+PC	12	69.9±10.3 *	100.0±6.7 **	94.0±23.3 **	336.5±32.2 **
PP+LJ	12	77.1±15.1 **	77.1±15.1 **	100.0±31.3 **	325.0±80.0 *
PP+LJ+PC	12	97.9±9.4 **	97.9±9.4 **	106.8±30.7 **	323.9±57.6 **

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* scald

2.2　三味中药配伍调理烫伤小鼠受损淋巴细胞功能

烫伤后小鼠 LT 功能受到相当程度的损害, 其中增殖功能和 IL-2 产生能力受损最重。抗体产生能力受损程度虽然不如前二者, 但也只及正常的 78.0%。经用药后的各组均有显著的调理作用。除抗原产生能力外, 多数二味或三味用药组要比单味药好。甚至三味用药组能使受损较严重的 LT 增殖功能提高到正常以上水平, 见表 2。

2.3　三味中药配伍应用对烫伤小鼠 PMN 功能的改善作用

伤鼠 PMN H_2O_2 显著低于正常, 单味药 LJ, PP 能提高其 PMN H_2O_2 的释放能力。而二味药组比单味组更佳, 三味药组更优于前者。各药组对 PMN 溶菌酶过多释放也有显著降低作用, 其趋势也是三味用药组更佳, 见表 3。

表 2　中药对烫伤小鼠受损淋巴细胞功能的调理作用(%, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Modulating effects of Chinese herb medicine on lymphocyte function in scalded mice(%, $\bar{x}\pm s$)

Parameter	n	Proliferation	IL-2 producetion	Antibody production by mice
Scald	12	40.1±19.8	44.0±20.6	78.0±10.5
PC	12	60.0±33.9 *	57.0±30.6 *	102.3±18.0 *
LJ	12	73.5±24.4 *	66.0±24.9 *	100.0±28.1 *
PP	12	60.6±39.2 *	99.1±24.2 **	102.1±46.1 *
PC+LJ	12	62.5±39.2 *	99.1±24.2 **	102.1±46.1 *
PP+PC	12	78.9±50.7 **	99.1±21.2 **	99.8±19.4 *
PP+LJ	12	78.1±37.0 **	94.4±20.8 **	102.2±27.4 *
PP+LJ+PC	12	113.3±42.7 **	89.1±25.4 **	103.9±27.3 *

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* scald

表 3　中药对烫伤小鼠 PMN 功能的影响(%, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Effects of Chinese herb medicine on PMN function in scalded mice(%, $\bar{x}\pm s$)

Parameter	n	H_2O_2 released by PMN	Lysozyme released by PMN
Scald	12	17.5±8.0	307.7±71.4
PC	12	22.8±3.7	269.2±92.8 *
LJ	12	28.9±10.0 *	207.7±98.6 *
PP	12	43.9±28.1	169.2±24.1 **
PC+LJ	12	40.4±19.2 **	192.3±48.0 *
PP+PC	12	42.1±19.8 **	192.3±54.9 *
PP+LJ	12	40.4±8.2 **	161.5±42.0 **
PP+LJ+PC	12	71.9±26.9 **	146.2±73.0 **

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* scald

2.4　三味中药配伍调理补体系统活化的作用

单烫组血清补体对 PMN 的趋化作用为正常小鼠的(663.8±157.0)%, 对 PMN 的聚集作用为(309.8±154.1)%, 说明伤后机体的补体系统以被活化。经用药后各单味药组, 除有的聚集作用未见调理功效外, 其余均有显著作用。而二味和三味合用的均比单味药的作用好, 甚至三味药配伍应用可使活化的补体系统功能之聚集反应恢复到正常水平, 见表 4。

表 4　中药对烫伤小鼠补体系统的调理作用(%, $\bar{x}\pm s$)

Tab 4　Modulating effects of Chinese herb medicine on complement system in scalded mice(%, $\bar{x}\pm s$)

Parameter	n	Chemotaxis	Aggregation
Scald	12	663.8±157.0	309.8±154.1
PC	12	378.7±168.1 **	294.1±133.6
LJ	12	385.1±172.3 **	268.8±104.7 *
PP	12	338.3±101.5 **	202.2±84.0 *
PC+LJ	12	304.3±143.0 **	161.0±90.3 **
PP+PC	12	321.3±102.5 **	135.7±40.6 **
PPE+LJ	12	297.9±94.0 **	167.6±47.4 **
PP+LJ+PC	12	321.3±95.7 **	91.9±18.8 **

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* scald

3　讨论

烧伤后机体多脏器功能严重损害, 其原因之一与伤后免疫防御系统功能受损密切相关。对伤后免疫系统功能进行调理, 提高机体防御系统功能。对抗感染和预防多器官功能受损的发生发展都具有重要意义。中医中药是祖国的医学宝藏, 有待用现代科学技术和理论进行发掘。我们前阶段曾以单味中药对伤后受损免疫功能进行调理, 获得满意效果。为观察中药配伍应用后对受损免疫功能的调理是否具有更好的协同作用。将对受损免疫功能有效的单味中药三七(PP), 金

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

银花(LJ)和虎杖(PC)配合应用。结果显示，小鼠烫伤后机体免疫系统的巨噬细胞(MΦ)功能，淋巴细胞(LT)功能，中性粒细胞(PMN)功能和补体系统功能均受到不同程度的损害。经中药应用后，各单味药组对受损的MΦ功能均有调理和/或改善作用，但是，对血清TNF的作用只PP有效，该结果与以前实验结果趋势接近，说明实验具有较好的重复性。经中药配伍后，除LJ＋PC的配伍组对TNF无显著作用外，其余的二味和三味配伍对受损的MΦ功能也都具有较好的调理作用，并且多数二味配伍比单味药好，而三味药比二味的作用更佳。值得一提的是，虽然PC和LJ对TNF未见显著的作用，但与PP配伍后对TNF的调理作用则更好于单味PP。提示药物经配合后具有相当的协同作用。三种单味中药对LT功能有显著的调理作用，其中对LT增殖反应的作用LJ显示更好；对IL-2产生能力的作用PP较好；对LT抗体产生能力三种中均能使其恢复到正常的水平。经二味药配合的组除PC＋LJ对LT增殖反应；PP＋LJ对LT抗体产生能力未见增强作用外，其余的二味药组与单味药比从数据上看有较好的增强作用。而三味药组与单味药比较均有显著的增强作用($P<0.05$)。三种单味中药对PMN功能和补体系统功能均有不同程度的调理作用，经配伍应用后其作用也是配伍的比单味的好，三味药配伍的比二味药配伍的作用更佳。提示PP、PC和LJ三味中药相互配伍应用对烧伤后受损免疫功能的调理有较好的协同作用。

PP具有止血，消炎和治疗跌打损伤之功效；LJ具有清热功能；PC有清热解毒和活血化瘀双重功能。此三味中药配伍，以传统和现代处方尚未查到。但经我们实验证明，对调理烫伤后受损免疫功能确具有较好的协同功效。其机制尚不清楚，有待我们今后作更进一步的深入研究。

通过实验，我们认为应用中药配伍对烧(烫)伤后机体受损免疫功能进行调理是能够获得比单味用药更好的效果。也证明运用现代科学技术对传统中医药进行研究能获得满意结果。虽然本研究只是动物实验，但对中医药过渡于临床调理烧伤后受损免疫功能具有重要意义。

参考文献：

[1] 罗中华，黄文华，胡祖祥，等.中草药对改善烫伤小鼠受损免疫功能的作用[J].中华整形烧伤外科杂志，1993，9(1)：56－58.

[2] 罗中华，黄文华，蔡绍丽，等.三七等四种中药对烫伤小鼠巨噬细胞功能的作用[J].中华医学杂志，1994，74(10)：634－635.

[3] Elsen V J, Broek V M, Klasen I S, *et al*. Stimulation of antigen-specific murine T cell clones *in vitro* with antige-pulesd adherent cells fixed to a carrie[J]. J Immunol Methods, 1988, 112(1): 15－22.

[4] Stephan R N, Ayala A, Harkema J M, *et al*. Mechanism of immunosuppression following hemorrhage. Defective antigen presentation by macrophages[J]. J Surg Res, 1989, 46(3): 553-560.

[5] 罗中华，蔡绍丽，何保斌，等.三七皂甙对烫伤小鼠巨噬细胞产生NO和TNF的作用[J].第三军医大学学报，2001，23(6)：664－666.

[6] 罗中华，黄文华，王甲汉，等.中药对烧伤患者免疫功能及急性期蛋白的影响[J].中华外科杂志，1998，36(6)：366－369.

[7] Jermy W J, Omahaony J B, Rodrick M L, *et al*. Abnormalities of antibody production after thermal injury[J]. Arch Surg, 1986, 121(1): 108－113.

[8] Pick E and keisari D. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cell in culture[J]. J Immun Methods, 1980, 38(1－2): 161－168.

[9] 罗中华，黄文华，刘　敬，等.四种中药对烫伤小鼠外周血中性粒细胞的功能影响[J].中国免疫学杂志，1994，10(增刊)：113－116.

[10] 罗中华，黄文华，蔡绍丽，等.中药对烫伤小鼠补体系统的作用[J].上海免疫学杂志，1994，14(4)：210－211.

（编辑　谢义霞）

（上接1160页）

逐渐增加，＜1.5 cm的比例逐渐减少。提示随肝功能损害程度加重，门静脉进一步增宽。

表2　血清**HA**与**Child-Pugh**分级积分的关系

组别	n	Child-Pugh积分	血清HA(ng/ml)
对照组	20	——	57.35±27.21
A级	21	5.48±0.51	374.20±346.88[a]
B级	39	8.10±0.82	718.02±413.45[ab]
C级	29	11.69±1.00	993.16±465.85[ac]

a：$P<0.001$与对照组比较；b：$P<0.001$与A级比较；c：$P<0.05$与B级比较

3　讨论

近年来国内外研究表明，肝硬化患者血清HA浓度升高幅度与纤维化的程度呈正相关[1,2]，与门静脉高压有密切关系。本实验将血清HA的浓度变化，用于对门脉高压症的临床观察，取得较满意的结果，从分组情况分析门静脉增宽＜1.5 cm组与≥1.5 cm组血清HA浓度差异有显著性，并且≥1.5 cm组与门静脉增宽有显著的正相关。李春梅等[3]认为门脉高压症门脉直径在1.3～1.4 cm时93.5%阳性，李伟道[4]统计上海长海医院50例门脉高压症，门静脉直径平均(1.69±0.13)cm，最大者2.5 cm，故有作者认为B超探查时门脉直径＞1.5 cm时门脉高压症诊断可成立。血清HA浓度与肝功能Child-Pugh分级的改变差异显著，与国内外文献报道较一致。因此我们认为HA血清浓度的升高不仅能正确反映肝脏损害程度，而且可反映肝硬化时门静脉高压的程度，有望成为判断门静脉高压的可靠指标。

关键词：透明质酸；肝硬化；门脉高压
中图法分类号：657.34　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 王宝恩.肝纤维化诊断与严重度评估[J].中华肝脏病杂志，1998，6(4)：193－194.

[2] Oberti F, Valsesia E, Pilette C, *et al*. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis[J]. Gastroenterology, 1997, 113(5): 1 609－1 615.

[3] 李春梅，周永兴，郝春秋，等.B型超声对门脉高压的诊断价值[J].世界华人消化杂志，1999，7(4)：306－308.

[4] 李伟道.肝硬变的诊断[J].新消化病杂志，1997，5(5)：466－467.

（编辑　潘式文）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net