

- cholesterolemia [J]. Arch Intern Med 151: 43-49; 1991.
- [9] Sacks FM, Pfeffer MA, Mpye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators [J]. New Engl J Med 335: 1001-1009; 1996.
- [10] Moghadasian MH. Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl Coenzyme A reductase inhibitors [J]. Life Sci 65: 1329-1337; 1999.
- [11] 刘忠厚主编, 骨质疏松学[M]. 北京: 科学出版社, 1998, 443-456.
- [12] S. Nishida, A. Yamaguchi, T. Tanizawa, N. Endo, T. Mashba, Y. Uchiyama, T. Suda, S. Yoshiki, and H. E. Takahashi. Increased bone formation by intermittent parathyroid hormone administration is due to the stimulation of proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells on bone marrow [J]. Bone 156: 717-723; 1994.
- [13] Liu Zhang, Naoto Endo, Noriaki Yamamoto, Tatsuhiko Tanizawa and Hideaki E. Takahashi. Effects of single and concurrent intermittent administration of human PTH (1-34) and in cadronate on cancellous and cortical bone of femoral neck in ovariectomized rats [J]. Tohoku J Exp. Med. 186: 131-141; 1998.
- [14] Janiec W. Compendium of Pharmacology (Polish), PZWL, Warszawa 323-333; 2001.

全蚕粉对免疫功能影响的实验研究

杨辉¹, 黄亦琦¹, 马力达², 苏燕茹³, 罗友华¹ (1. 厦门市医药研究所 厦门 361003; 2. 厦门大学医学院 厦门 361000; 3. 福建中医学院药学系 福州 350000)

摘要:目的 探讨全蚕粉对小鼠免疫功能的影响。方法 观察全蚕粉对环磷酰胺所致免疫低下小鼠免疫器官指数、碳廓清功能和血清溶血素的影响。结果 全蚕粉可增强正常小鼠免疫功能, 显著提高免疫低下小鼠胸腺指数、脾脏指数、碳廓清能力和血清溶血素含量。结论 全蚕粉对机体免疫功能有一定增强作用。

关键词: 全蚕粉; 免疫调节; 碳廓清; 血清溶血素; 小鼠

中图分类号: R967 文献标识码: A 文章编号: 1006-3765(2009)-011-0032-03

Experimental study on effect of Silkworm powder on immunologic function

YANG Hui¹, HUANG Yi-qi¹, MA Li-da², SU Yan-ru³, LUO You-hua¹ (1. Xiamen medical institute, Xiamen 361003, China; 2. School of medical, Xiamen University, Xiamen 361000, China; 3. Pharmacy department, Fujian University of Chinese Traditional Medicine, Fuzhou 350000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the immunological regulation of silkworm powder in mice. **METHODS** The effects of silkworm powder were investigated in normal mice and immune hypofunction mice made by cyclophosphamide by spleen index, thymus index, mouse carbon function and HC₅₀ were investigated. **RESULTS** Silkworm powder can strengthen the normal mice immune function and enhanced the spleen index, thymus index, mouse carbon function, and HC₅₀ of immuned hypofunctional mouse. **CONCLUSION** Silkworm powder has definite reinforcement action on mouse's immune function.

KEY WORDS: Silkworm powder; Immunoregulation; Carbon granule clearance rate; HC₅₀; Mice

家蚕富含蛋白质、脂类、维生素等营养成分及黄酮类化合物、L-脱氧野尻霉素、蚕素、三碘甲腺原氨酸等药用成分^[1-3], 近年报道其具有降血糖、降血脂等作用, 可确切有效地改善2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗和胰岛β细胞受损^[4,5]。越南民间

流行以5龄幼虫与蜜蜂、桑叶熬制成药, 用于促进小儿生长发育和强身健体, 但目前对家蚕免疫调节作用的研究鲜见报道。为此, 本实验采用全蚕粉做为研究对象, 用环磷酰胺(cyclophosphamide, CY)造免疫低下模型, 考察全蚕粉对不同状态下小鼠免疫功能的影响, 现报告如下。

1 实验材料

1.1 动物 雄性健康昆明小鼠180只, 体重18~22g, 由厦门大学抗癌中心提供, 合格证号SCXK(闽)2008-001, SYXK(闽)2008-0003。动物自由摄食、饮水, 室温22~25℃, 通风,

作者简介: 杨辉, 女(1975-)。毕业于福建中医学院。职称: 主管药师, 从事中药研发工作。联系电话: 0592-2050262, 0592-8207926, E-mail: yanghui-hy@163.com

基金项目: 厦门市卫生局科研基金项目, 项目编号: WSK2004Z-1

自然采光。

1.2 药物 全蚕粉,取专用蚕品种5龄第三天幼虫(福建省桑蚕研究所提供),冻干、粉碎。注射用环磷酰胺,江苏恒瑞制药有限公司,批号 07122821。盐酸左旋咪唑,南京白敬宇制药有限公司,批号 070203。

1.3 试剂及配制

1.3.1 SRBC(压积红细胞)悬液的制备:绵羊血(福州康泰生物公司提供)放入有玻璃珠的灭菌锥形瓶中,盖上瓶塞朝一个方向摇动,至凝块完全形成,去除纤维蛋白,4℃冰箱阿氏液保存备用。用前取适量抗凝羊血用无菌生理盐水洗涤3次,每次离心 $2000r \cdot \text{min}^{-1}$, 10min。将压积SRBC用生理盐水配成2%(v/v)细胞悬液(溶血者弃用)。

1.3.2 补体的制备:豚鼠,由厦门大学抗癌中心提供,心脏取血,分离血清,离心取上清,-20℃保存。用时以生理盐水按1:10稀释。

1.3.3 都氏试剂:取 NaHCO_3 1.0g, KCN 0.05g, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.2g,蒸馏水 1000mL 溶解,5~10℃保存备用。

1.3.4 印度墨汁(北京笃信精细制剂厂):用前生理盐水4倍稀释。

1.4 仪器 UV-2501PC 可见紫外分光光度计,日本岛津;BP211D 电子天平,德国塞多利斯。

2 实验方法与结果

2.1 小鼠碳廓清实验^[6] 雄性健康小鼠90只,适应饲养3天后,随机分成9组,每组10只:正常对照组(正常组),环磷酰胺模型组(CY模型组),阳性对照组(阳性CY组),全蚕粉低、中、高剂量组,全蚕粉低、中、高剂量环磷酰胺组(蚕低、中、高剂CY组)。按0.1mL/10g灌胃,正常组、模型组给予生理盐水,低、中、高剂量组分别给予全蚕粉 $0.5g \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $1.0g \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $2.0g \cdot \text{kg}^{-1}$,阳性组给予左旋咪唑 $25\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每天灌胃1次,连续14d。于第八天、第九天,CY各组腹腔注射环磷酰胺 $80\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,余下各组腹腔注射等量生理盐水。末次灌胃1小时后,按0.1mL/10g尾静脉注射4倍稀释的印度墨汁,于注入墨汁后2、10min,分别从小鼠内眦静脉丛取血20μL,并立即将其加到2mL 0.1% Na_2CO_3 溶液中摇匀。以0.1% Na_2CO_3 溶液作空白对照,600nm 波长处测定吸光度。处死小鼠,取肝脏、脾脏,用滤纸吸干脏器表面血污,分别称重。计算吞噬指数a。以吞噬指数表示小鼠碳廓清的能力。吞噬指数 $a = (\text{体重}/\text{肝重} + \text{脾重}) \times [(\text{LgAbs}_1 - \text{LgAbs}_2) / (\text{T}_2 - \text{T}_1)]^{1/3}$ 。结果见表1。

表1 全蚕粉对小鼠吞噬指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($g \cdot \text{kg}^{-1}$)	吞噬指数
正常对照组		4.63±0.36
CY模型组	0.08	3.38±0.37** ^{△△}
阳性CY组	0.025	5.04±0.41 ^{△△}
蚕粉低剂组	0.5	4.58±0.47 ^{△△}
蚕低剂CY组	0.5	3.88±0.41** ^{△△}
蚕粉中剂组	1.0	5.54±0.60** ^{△△}
蚕中剂CY组	1.0	5.10±0.44 ^{△△}
蚕粉高剂组	2.0	6.09±0.60** ^{△△}
蚕高剂CY组	2.0	6.02±0.58** ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与环磷酰胺模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

由表1可见,全蚕粉能有效增强小鼠碳廓清能力,加快小鼠吞噬细胞吞噬速度,缩短碳廓清时间,其中,与正常对照组比较,正常给药各剂量组均有不同程度提高,但是低剂量组无显著性差异,中、高剂量组差异显著, $P < 0.01$ 。CY各剂量组与环磷酰胺模型组比较时,各给药组均显示明显的拮抗环磷酰胺作用,其中蚕粉低剂组 $P < 0.05$ 外,其余各组差异更为显著, $P < 0.01$ 。

2.2 小鼠血清溶血素抗体测定^[7] 动物分组、灌胃给药方法及环磷酰胺造免疫低下模型方法同2.1。在灌胃的第十天,除正常对照组外,每只小鼠腹腔注射2%SRBC.2mL进行免疫。末次给药前禁食12h,称重,给药1h后,摘除眼球取血,处死小鼠。各组小鼠分离脾脏、胸腺,滤纸吸干表面血污,称重,计算免疫器官指数,结果(见表2)。小鼠血清静置1h以上,离心分离血清,生理盐水将血清稀释100倍后进行实验。各组样品管中分别加入稀释后的小鼠血清1.0mL、10%补体血清1.0mL及10%SRBC 0.5mL混匀;同时做1份空白。各管于37℃温浴10min,移入冰浴中终止反应, $2000r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10min。取上清液1mL、都氏试剂3mL于试管内混匀,置37℃水浴10min,540nm处测吸光度值。同时取10%SRBC 0.25mL、都氏试剂4mL于另一试管中,充分摇匀,放置10min,于540nm吸光度值即为半数溶血吸光度值。溶血素量以小鼠的半数溶血值 HC_{50} 表示。 $\text{HC}_{50} = (\text{样品吸光度值}/\text{SRBC 半数溶血吸光度值}) \times \text{样品稀释倍数}$ 。结果见表3。

表2 全蚕粉对小鼠免疫器官的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($g \cdot \text{kg}^{-1}$)	免疫器官指数($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	
		脾	胸腺
正常对照组		4.88±0.53	2.26±0.17
CY模型组	0.08	3.18±0.71**	1.36±0.26**
阳性CY组	0.025	4.44±0.63 ^{△△}	1.99±0.32* ^{△△}
蚕粉低剂组	0.5	5.64±0.61* ^{△△}	2.38±0.34 ^{△△}
蚕低剂CY组	0.5	4.31±0.33 ^{△△}	1.90±0.20* ^{△△}
蚕粉中剂组	1.0	5.82±0.74** ^{△△}	2.65±0.29** ^{△△}
蚕中剂CY组	1.0	4.43±0.51 ^{△△}	2.12±0.20 ^{△△}
蚕粉高剂组	2.0	5.06±0.79 ^{△△}	2.48±0.35 ^{△△}
蚕高剂CY组	2.0	4.24±0.57 ^{△△}	1.98±0.24 ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与环磷酰胺模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

由表2可见,正常蚕粉组的脾脏指数和胸腺指数与正常对照组比较均有显著提高,中剂量组 $P < 0.01$,低剂量组 $P < 0.05$ 。各组的脾脏指数和胸腺指数与环磷酰胺模型组比较均有不同程度地提高, $P < 0.01$ 。

表3 全蚕粉对小鼠溶血素抗体生成的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量($g \cdot \text{kg}^{-1}$)	HC_{50}
正常对照组		91.78±10.45
CY模型组	0.08	43.54±9.06**
阳性CY组	0.025	98.24±9.22 ^{△△}
蚕粉低剂组	0.5	97.74±9.95* ^{△△}
蚕粉低剂CY组	0.5	72.78±8.26* ^{△△}
蚕粉中剂组	1.0	132.52±17.79** ^{△△}
蚕中剂CY组	1.0	85.72±8.39* ^{△△}
蚕粉高剂组	2.0	157.06±11.89** ^{△△}
蚕高剂CY组	2.0	101.88±12.49 ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与环磷酰胺模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

由表3可见,正常各组的溶血素含量与正常对照组比较均呈递进式地提高,中剂量和高剂量组均有非常显著性差异, $P < 0.01$ 。CY各剂量组与环磷酰胺模型组比较时均有显著提高。

3 讨论

3.1 机体的免疫系统是由非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫共同构成的防御系统。免疫器官的脏体指数是衡量机体免疫功能的初步观察指标,对细胞免疫和体液免疫具有广泛而深远的影响。在一定范围内小鼠体内碳颗粒被清除的速率与血碳浓度呈指数函数关系,可作为考察吞噬细胞吞噬能力的指标之一。小鼠腹腔注射绵羊红细胞(SRBC)数天后,B淋巴细胞产生抗SRBC抗体(IgM),在补体的参与下,可使SRBC溶解,若分离出小鼠血清,与SRBC一起孵育,在补体参与下产生溶血现象,通过测定血清中溶血素含量(HC₅₀)从而反映出药物对体液免疫的影响。因此,本实验选择脾脏指数、胸腺指数、碳廓清和HC₅₀作为衡量小鼠免疫能力的指标。

环磷酰胺作为化疗药物广泛应用于肿瘤的治疗,但又会引起脾脏、胸腺质量减轻,抑制淋巴细胞分泌抗体,降低免疫功能等,在治疗当中可导致人体免疫功能下降。通过参考文献和预实验结果,采用80mg·kg⁻¹的环磷酰胺剂量,小鼠的胸腺和脾脏萎缩,脾脏指数、胸腺指数、小鼠吞噬细胞吞噬能力和血清溶血素都有所降低,得到较好的免疫抑制小鼠模型。

3.2 研究结果证实了全蚕粉不仅对正常小鼠的免疫功能有一定的促进作用,还对环磷酰胺致免疫低下小鼠脾脏指数、胸腺指数、吞噬细胞吞噬能力和血清溶血素的降低均有恢复作用,且呈一定量效关系。表明全蚕粉在机体细胞免疫和体液免疫方面有较好的促进作用,具有提高机体免疫的功能,是一

种良好的免疫调节剂,其具体作用机理还有待进一步研究。

3.3 人类许多疾病的发生和发展都与免疫调节机能障碍有关,开发提高免疫力的保健药物颇有必要。中药在我国医疗保健事业中起着重要作用,目前占药品市场消费总量的40%。目前我国蚕茧的生产量占全球的70%以上,我们的祖先早就认识到蚕和桑在中医药方面的用途。蚕业发展的过程中,蚕桑资源综合利用的研究越来越受到人们的重视,蚕桑的医药价值引起人们广泛的关注,蚕桑资源综合利用的研究和发展极有可能形成新的产业^[8]。现代科技研究表明,蚕和桑的营养成分、功效成分、药理成分丰富,功效独特,投产快,产量高,蚕桑业蕴藏着不可估量的物质资源,具有极高的开发价值和经济价值。

参考文献

- [1]徐世松. 中药药理研究中的几个问题[J]. 中成药研究, 1984, (9): 24.
- [2]张双全, 屈贤铭, 戚正武, 等. 昆虫免疫应答及抗菌肽应用前景[J]. 生物化学杂志, 1987, 3(1): 11.
- [3]赵艳丽, 黄亦琦. 家蚕抗糖尿病有效成分及其药理研究进展[J]. 中医药通报, 2009, 8(2): 63-66.
- [4]桂仲争, 陈杰, 陈伟华, 等. 全蚕粉(SP)降血糖的作用效果及其机理的研究[J]. 蚕业科学, 2001, 27(2): 114-118.
- [5]康小红, 黄亦琦, 等. 全蚕粉对2型糖尿病胰岛素敏感性的影响[J]. 福建中医药, 2008, 39(2): 49-50.
- [6]徐叔云, 芑如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 934.
- [7]郑国华, 李会庆. 大蒜提取液对小鼠脾脏及血清溶血素抗体影响[J]. 福建中医学院学报, 2006; 16(4): 33.
- [8]姚锡镇, 廖森泰, 肖更生. 蚕业资源综合利用产业化探讨[J]. 蚕业科学, 2001; 27(4): 297-301.

通关藤新甙B的提取及体外抗肿瘤活性研究

孟昭珂, 吴春霞(杭州民生药业集团有限公司 杭州 310011)

摘要:目的 研究乌骨藤中的有效成分通关藤新甙B提取分离工艺,并对其进行系统的体外抗肿瘤活性研究。方法及结果 采用硅胶柱分离的方法,从乌骨藤中提取分离通关藤新甙B,经HPLC测定,得到含量达到99.16%的产品,收率1.75%,含量达到90.2%的产品,收率为5.8%;采用MTT法,测试通关藤新甙B对人胃癌SGC-7901细胞,人慢性髓原白血细胞K562细胞,人肝癌BeT7402细胞,人肝癌SMMC-7721细胞,低分化胃腺癌BGC-823,低分化胃癌MKN-45,恶性黑色素瘤A375,结肠腺癌LoVo,直肠腺癌HR-8348,人卵巢癌HO-8910细胞的体外抗肿瘤活性。结论 通关藤新甙B对人胃癌SGC-7901等10株癌细胞具有较强的体外抑制活性,其活性超过消癌平注射液和乌骨藤甙体总甙,是消癌平注射液中的主要成分和有效成分,开发潜力巨大。

关键词: 乌骨藤; 通关藤新甙B; 体外抗肿瘤活性

中图分类号: R965.1 文献标识码: B 文章编号: 1006-3765(2009)-011-0034-04

乌骨藤为萝藦科牛奶菜属植物通关散 *Mersolenia tenocissima* (Roxb) Wight et Am 的根、茎或叶,又名奶浆藤、通关

散、大苦藤、龙爪菜等,主要产于云南、贵州等地。乌骨藤是中药中常见的药材之一,具有清热解暑、止咳平喘、利湿通乳、抗癌的功效^[1,2,3]。云南地区将其作为治疗气管炎和抗肿瘤药用植物^[4]。中国人民解放军第33970部队自1970年以来应用乌骨藤水煎剂治疗各种恶性肿瘤,取得良好效果。目前用

作者简介: 孟昭珂,男(1979.2-)。毕业于郑州大学,药理学化学硕士。职称: 工程师。联系电话: 0571-89973633-235