

Regulation of Naoshu capsule on immune function of aging mice

Li Kunkun, Liu Jian, Zeng Yuan, Qin Dalian, Chen Haixia, Li Hua

Department of pharmacology, Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan, China

Received: Mar 05, 2015

Accepted: Mar 18, 2015

Published: Apr 15, 2015

DOI: 10.14725/gjicmwm.v3n1a1083

URL: <http://dx.doi.org/10.14725/gjicmwm.v3n1a1083>

This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Objective: To observe the effects of NaoShu capsule on immune function of aging mice. **Methods:** Aging mice was induced by subcutaneous injections model was induced by subcutaneous injections with 5% D-galactose at the neck for 6 weeks, IL-2 and IL-6 content in serum were detected by means of radio-immunity, and calculating the index of organ by a ratio of the weight of thymus and spleen and the weight of mice. **Results:** Compared with the control group, the thymus and spleen index of mice was decreased obvious; the IL-2 content was obvious decreased, and the IL-6 content was obvious increased in aging model group. Compared with the model group, the the IL-2 content was enhanced and the IL-6 content was obvious decreased in the therapeutic group with 1.33g/kg and 2.66g/kg Naoshu capsule ($P<0.05$, 0.01). **Conclusion:** There has a certain correlation between aging and immune, and there are obvious accommodation of Naoshu capsule on immune function of aging mice.

Key words

Naoshu; Mouse; Immunoregulation

脑舒胶囊对衰老小鼠免疫功能的调节作用

李琨琨, 刘剑, 曾媛, 秦大莲, 陈海霞, 李华

泸州医学院药理学教研室, 四川泸州, 中国

通讯作者: 秦大莲 Email: qindalian@sohu.com

【摘要】目的 观察脑舒胶囊对衰老小鼠免疫功能的调节作用。方法 5%D-半乳糖颈背部皮下注射连续 6 周制备衰老小鼠模型; 放射免疫法测小鼠血清 IL-2 和 IL-6 含量; 胸腺、脾脏重量比小鼠体重, 计算脏器指数。结果 与对照组比较, 衰老模型组小鼠胸腺、脾脏指数明显下降, 血清 IL-2 含量明显降低, IL-6 的含量明显提高。与模型组比较, 1.33g/kg 和 2.66g/kg 脑舒胶囊可明显提高衰老小鼠的胸腺和脾指数 ($P<0.05$, 0.01), 升高衰老小鼠血清 IL-2 含量 ($P<0.05$, 0.01), 降低血清 IL-6 含量 ($P<0.05$, 0.01)。结论 衰老与免疫存在相关性, 脑舒胶囊对衰老小鼠的免疫功能具有明显的调节作用。

【关键词】脑舒胶囊; 小鼠; 免疫调节

免疫衰老假说由 Walford 在 20 世纪 60 年代提出^[1], 免疫衰老是免疫系统全方位多系统并由基因严格控制的循序渐进的自然过程。免疫衰老始因在于增龄导致的胸腺萎缩, 其特征是细胞免疫及体液免疫应答的下降, 适应性免疫系统年龄相关改变与固有免疫系统年龄相关改变并存^[2]。细胞免疫、体液免疫和天然免疫与免疫衰老均存在一定的相关性。脑舒胶囊是泸州医学院附属二院用于治疗“痴症”的验方, 由人参、黄精、石菖蒲、郁金、葛根等组成。前期研究发现, 脑舒胶囊对免疫低下小鼠免疫功能具有很好的调节作

用^[3],为更进一步证明衰老与免疫的关系及脑舒胶囊对免疫衰老的调节作用,本文应用5%D-半乳糖颈背部皮下注射连续6周制备衰老模型小鼠,观察不同浓度脑舒胶囊对衰老小鼠的免疫功能调节作用。

1 材料

1.1 实验动物 昆明种小鼠,雄性,体重(14~18g);川实动证第07-16号(240115),泸州医学院实验动物科提供。

1.2 药物与主要试剂 脑舒胶囊(Naoshu Capsule):0.5g/粒,含原生药2.875g/粒,批号070403,泸州医学院药研所;维生素E胶丸,D-半乳糖(D-galactose, D-gal),上海试剂二厂;IL-2、IL-6试剂盒,武汉博士德制品有限公司。

2 方法

2.1 实验动物分组 取雄性昆明种小鼠60只,适应环境5天后,随机分为生理盐水对照组、衰老模型组、0.05g/kg维生素E干预组、0.67g/kg、1.33g/kg和2.66g/kg脑舒胶囊干预组。剂量确定根据人和动物体表面积折算^[4],维生素E相当于等效剂量,脑舒胶囊分别相当于等效剂量的1/2和2倍。

2.2 衰老模型制备及给药 衰老模型组及用药组以5%D-gal(100mg/kg)于每日上午注射于小鼠颈背部皮下,连续6周;生理盐水对照组:正常饮食,每日上午颈背部注射等容量生理盐水。用药组每天给予相应剂量的药物灌胃,模型组与生理盐水对照组给予等容量的生理盐水灌胃。

2.3 血清制备及血清IL-2和IL-6含量测定 各组小鼠于制模及给药后第6周,末次给药1小时后小鼠称重,小鼠眼球取血0.6ml,冰箱静置3小时后,3000r/min离心10min分离血清,放置-20℃冰箱保存。放射免疫法测血清IL-2和IL-6含量(专人完成)。

2.4 小鼠脏器指数测定 小鼠眼球取血后,立即脱臼处死,取胸腺、脾脏,滤纸吸干水分后称其重量,计算脏器指数。脏器指数=脏器重量(mg)/体重(g)。

2.5 统计学处理 计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS13.0软件进行统计分析,行单因素方差分析(组间比较用SNK法),检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 脑舒胶囊对衰老小鼠脏器指数的影响 见表1。模型组小鼠胸腺、脾脏指数均较生理盐水对照组明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,1.33g/kg和2.66g/kg脑舒胶囊可明显提高衰老小鼠的胸腺和脾脏指数($P < 0.05, 0.01$),0.67g/kg脑舒胶囊与模型组比较差异无物显著性。1.33g/kg脑舒胶囊作用与0.05g/kg维生素E相当。

表1 脑舒胶囊对D-gal所致衰老小鼠胸腺、脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	胸腺指数	脾脏指数
生理盐水对照组		2.21±0.12	4.09±0.23
模型组		1.36±0.13 [▲]	2.36±0.15 [▲]
维生素E组	0.05	1.66±0.12 [*]	3.22±0.15 [*]
脑舒胶囊低剂量组	0.67	1.59±0.08	2.74±0.19
脑舒胶囊中剂量组	1.33	1.70±0.11 [*]	3.35±0.16 [*]
脑舒胶囊高剂量组	2.66	1.94±0.08 ^{**}	3.89±0.17 ^{**}

注:与模型组比较,** $P < 0.01$,^{*} $P < 0.05$;与生理盐水对照组比较,[▲] $P < 0.01$

3.2 脑舒胶囊对衰老小鼠血清IL-2和IL-6含量的影响 与生理盐水对照组比较,模型组血清IL-2含量明显下降($P < 0.01$),而血清IL-6含量明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,1.33g/kg和2.66g/kg脑舒胶囊可

明显提高衰老小鼠血清 IL-2 含量 ($P < 0.05, 0.01$), 升高血清 IL-6 含量 ($P < 0.05, 0.01$), 0.67g/kg 脑舒胶囊与模型组比较均差异无显著性。其中, 1.33g/kg 脑舒胶囊的作用与维生素 E 相当。

表 2 各组小鼠血清 IL-2 和 IL-6 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(g/kg)	血清 IL-2(ng/ml)	血清 IL-6(ng/ml)
生理盐水对照组		7.05±0.56	114.42±10.23
模型组		5.82±0.60 [▲]	145.12±13.12 [▲]
维生素 E 组	0.05	6.66±0.58 [*]	120.32±10.87 [*]
脑舒胶囊低剂量组	0.67	6.04±0.50	127.66±11.65
脑舒胶囊中剂量组	1.33	6.32±0.57 [*]	116.24±15.35 [*]
脑舒胶囊高剂量组	2.66	6.65±0.63 ^{**}	117.259±12.77 ^{**}

注: 与模型组比较, ^{**} $P < 0.01$, ^{*} $P < 0.05$; 与生理盐水对照组比较, [▲] $P < 0.01$

4 讨论

免疫衰老学说认为, 在衰老过程中免疫系统的功能也随之衰退, 主要表现在胸腺萎缩^[5-6]。胸腺是 T 淋巴细胞发育成熟的场所及免疫系统的中枢器官, 对维持细胞免疫反应有重要作用, 其细胞增殖分化受抑, 使机体白细胞总数, 尤其是淋巴细胞总数降低, 机体免疫功能下降, 细胞免疫功能缺损; 同时 T 细胞在免疫调节中的作用减弱, 亦可使 T 细胞对 B 细胞抗体生成的调节效应功能降低, 引起体液免疫功能紊乱^[7-8]。脾脏是各类免疫细胞居住的场所, 也是对抗原物质产生免疫应答及产生免疫效应物质(如抗体等)的重要基地。本实验结果发现, 与生理盐水对照组比较, 衰老模型组小鼠胸腺及脾脏指数明显提高, 0.67mg/kg 和 1.33mg/kg 脑舒胶囊均可升高衰老小鼠的胸腺指数, 提示脑舒胶囊可提高 D-gal 所致的衰老小鼠的体液免疫和细胞免疫功能。

在免疫衰老中, IL-2 信号是 T 细胞在胸腺中发育和在外周扩增及维持的关键因素^[9,10]。研究发现, 老年小鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-1 及脾淋巴细胞产生 IL-2 的能力均明显下降。近期有研究显示源自 Th 细胞的 IL-2 对肿瘤或者持续自身抗原环境下诱导的自身反应 CD8⁺T 细胞的维持是关键性的, 因此人们认为 CD4⁺T 细胞分泌的内源性 IL-2 可能对启动由自身反应性细胞毒性 CD8⁺T 细胞介导的自身免疫是重要的^[11], 其次 IL-2 也是抗原激活的细胞毒性 T 细胞前体细胞转化为细胞毒性 T 淋巴细胞的主要因子^[12-13]。IL-6 也是一种多功能的细胞因子, 研究表明衰老时其水平增高, 并与许多老年疾病的发生有着密切关系, IL-6 是一种与蛋白分解有关的多效性炎症因子, 其浓度升高是导致机体免疫衰老的重要原因, 也是老年人感染与死亡的重要预测指标^[14,15]。本实验中, 与生理盐水对照组比较, 衰老模型组小鼠血清 IL-2 含量降低, IL-6 含量升高, 与上述文献报道一致。与模型组比较, 中、高剂量脑舒胶囊可明显提高衰老小鼠血清 IL-2 含量, 降低血清 IL-6 含量, 提示脑舒胶囊可通过提高血清 IL-2 水平和降低 IL-6 含量改善衰老小鼠的免疫功能。

【参考文献】

- [1] Ademokun A, Wu Yc, Dunn-Walters D. The aging B cell population: composition and function[J]. *Biogerontology*, 2010, 11(2):125-137.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10522-009-9256-9>
- [2] Weiskopf D, Weinberger B, Grubeck-Loebenstien B. The aging of the immune system[J]. *Transpl Int*, 2009, 22(11):1041-1050.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-2277.2009.00927.x>
- [3] 吴章怀, 秦大莲, 岳永花, 等. 脑舒胶囊对免疫低下小鼠免疫功能的调节作用. *时珍国医国药*, 2009, 20(9):2336-2337.
<http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1008-0805.2009.09.112>
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M], 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001:1465
- [5] Aspinall R, Andrew D. Thymic involution in aging[J]. *Clin Immunol*, 2000, 20(4):250-256.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1006611518223>

- [6] Min H, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Reduction in the development potential of intrathymic T cell progenitors with age[J]. *J Immunol*,2004,173(1):245-250.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.173.1.245>
- [7] 宋淑霞,吕占军.T、B 细胞衰老及其分子机制研究进展[J].*细胞与分子免疫杂志*.2002,18(3):306-308.
- [8] Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of aging[J]. *J Pathol*,2007,211(2):144-156.
<http://dx.doi.org/10.1002/path.2104>
- [9] Nelson BH. IL-2, Regulatory T Cells, and Tolerance. *J Immunol*,2004,172(7):3983-3988.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.172.7.3983>
- [10] Turka LA, Walsh PT. IL-2 signaling and CD45+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells. *Front Biosci*,2008,13(1):1440-1446
<http://dx.doi.org/10.2741/2773>
- [11] Feau S, Arens R, Togher S, Schoenberger S P. Autocrine IL-2 is required for secondary population expansion of CD8+T memory T cells [J]. *Nat Immunol*,2011,12(9):908-913.
<http://dx.doi.org/10.1038/ni.2079>
- [12] Boyman O, Cho JH, Sprent J. The role of interleukin-2 in memory CD8 cell differentiate on Adv Exp [J]. *Med Biol*,2010,648:28-41.
- [13] Pipkin ME, Sacks JA, Cruz-Guilloty F, et al. Interleukin-2 and inflammation induce distinct transcriptional programs that promote the differentiation of effector cytolytic T cells[J]. *Immunity*,2010,32(1):79-90.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2009.11.012>
- [14] Huang H, Pate, Manton KG. The immune system in aging: role of cytokines, T cell and NK cells[J]. *Front Biol Sci*,2005,10(10):192.
- [15] 陈慰峰.医学免疫学[M].北京:人民卫生出版社,2005:245-248.