

- [10] TIAN J, CHEN JW, GAO JS, et al. Resveratrol inhibits TNF- $\alpha$ -induced IL-1 $\beta$ , MMP-3 production in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via modulation of PI3kinase/Akt pathway[J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(7):1829-1835.
- [11] 王友莲, 皮慧, 张志勇, 等. IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 TNF- $\alpha$  与类风湿关节炎并发糖代谢异常的关系[J]. *广东医学*, 2014, 35(13):2065-2067.
- [12] 王圆圆, 姚茹冰, 蔡辉. TLR2、TLR4 与类风湿关节炎[J]. *安徽医药*, 2015, 19(6):1021-1024.
- [13] 许倩, 杨松鹤, 赵联伟, 等. 中药天年饮对衰老大鼠脾淋巴细胞增殖转化能力的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(12):2368-2370.
- [14] 汪悦, 郭海英, 耿元卿, 等. 痹痛灵颗粒对佐剂性关节炎大鼠脾淋巴细胞增殖的影响[J]. *中国中医药科技*, 2004, 11(5):276-277.
- [15] 杜欢, 许霞. 近 5 年来类风湿关节炎发病机制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(10):77-80.
- [16] 谷恒存, 丁兴红, 马哲龙, 等. 蕲蛇水提液对佐剂性关节炎大鼠的免疫调节作用[J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(10):2676-2678.
- [17] 张静, 孟楣, 王晓玉, 等. 新风胶囊对佐剂性关节炎模型大鼠的抗炎作用[J]. *中国药房*, 2015, 26(22):3083-3085.
- [18] 施利青, 董婷, 甸自金, 等. 类风湿关节炎患者血清白细胞介素及肿瘤坏死因子表达的研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(23):3416-3417.
- [19] 毕东敏, 魏建芬, 张万壮, 等. 麝香乌龙丸对中医不同证型类风湿关节炎血清 MIF、ICAM-1、VCAM-1 表达的影响[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2016, 13(4):129-132.
- [20] 智强, 阮晶晶, 夏丽娟, 等. 重组人内抑素抑制佐剂性关节炎大鼠滑膜组织中新血管生成及机制[J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44(5):341-344.
- [21] 袁立霞, 余志坚. 当归拈痛汤及其拆方对佐剂性关节炎大鼠滑膜组织 ICAM-1 调节作用的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(1):52-53.

(收稿日期:2017-05-07, 修回日期:2017-06-22)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.03.009

◇ 药学研究 ◇

## 石斛枸杞颗粒对小鼠免疫功能的影响

邱涵<sup>1</sup>, 吕晓君<sup>2</sup>作者单位:<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属荆州医院乳腺科, 湖北 荆州 434000;<sup>2</sup>湖北省药品监督检验研究院生物安全检测中心, 湖北 武汉 430064

通信作者:吕晓君, 女, 副主任药师, 研究方向为药理毒理, E-mail:lvxiaojunwhu@foxmail.com

**摘要:**目的 研究石斛枸杞颗粒对小鼠免疫功能的影响。方法 160 只小鼠采用随机数字表法分为阴性对照组、石斛枸杞颗粒高、中、低剂量组(7.5 g/kg BW, 5.0 g/kg BW, 2.5 g/kg BW), 每组 40 只, 连续灌胃 30 d, 每日 1 次。采用耳肿胀法观察其对小鼠细胞免疫功能的影响; 检测血清溶血素水平、抗体生成细胞数观察其对小鼠体液免疫功能的影响; 采用小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验观察其对小鼠吞噬功能的影响; 采用乳酸脱氢酶(LDH)测定法观察其对小鼠 NK 细胞活性的影响。结果 与阴性对照组比较, 石斛枸杞颗粒中、低剂量组能明显促进小鼠迟发型变态反应( $P < 0.05$ )、高剂量组可提高小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数( $P < 0.05$ )、高、中剂量组可显著增强 NK 细胞活性( $P < 0.05$ ); 但各剂量组对小鼠体质量、胸腺/体质量比值、脾脏/体质量比值、抗体生成细胞数、血清溶血素水平无明显影响( $P > 0.05$ )。结论 石斛枸杞颗粒小鼠的细胞免疫、单核巨噬细胞吞噬功能和 NK 细胞免疫功能均有不同程度的增强作用。

**关键词:** 石斛枸杞颗粒; 免疫功能; 小鼠

## Experimental study on enhancing immunity function of dendrobium medlar granules in mice

QIU Han<sup>1</sup>, LYU Xiaojun<sup>2</sup>

Author Affiliations: <sup>1</sup>Department of Lactaceae, Jingzhou Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Jingzhou, Hubei 434000; <sup>2</sup>Biosafety Testing Centre, Hubei Provincial Institute of Drug Supervision and Inspection, Wuhan, Hubei 430064, China

**Abstract:** Objective To study the impact of the *Dendrobium Medlar Granules* on immunity function in mice. **Methods** 160 mice were randomly divided into 4 groups: negative control group and the high, the medium and the low dosage groups of CPC (7.5 g/kg BW, 5.0 g/kg BW, 2.5 g/kg BW). Each mouse was orally administered once a day for 30 days. After the end of the administration, the cellular immunity activity in mice was tested using delayed type hypersensitivity experiment. The serum hemolysin level and antibody producing

cell count were tested to observe the humoral immune effects. The peritoneal macrophage phagocytic function in mice was carried out by detecting macrophage phagocytosis of chicken erythrocytes capacity. And the NK cell activity were tested by detecting the level of LDH.

**Results** Compared with the negative control group, the medium and low dosage groups of *Dendrobium Medlar Granules* could significantly strengthen the delayed type hypersensitivity of mice ( $P < 0.05$ ). The high dosage groups of *Dendrobium Medlar Granules* could significantly increase macrophage phagocytosis of chicken erythrocytes capacity ( $P < 0.05$ ). The high and medium dosage groups of *Dendrobium Medlar Granules* could significantly strengthen NK cells activity of mice ( $P < 0.05$ ). However, *Dendrobium Medlar Granules* had no significant effects on body weight increase, ratio of spleen weight to body weight, ratio of thymus weight to body weight, level of serum hemolysin and antibody producing cell count of mice ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** *Dendrobium Medlar Granules* may increase immunological functions to different degrees in mice, including cellular immune, peritoneal macrophage phagocytic function and NK cell activity.

**Key words:** *Dendrobium Medlar Granules*; Immunity Function; Mice

石斛、枸杞是我国传统的珍贵中药材,早在《神农本草经》中就有记载,石斛有滋阴清热、生津养胃、润肺止咳,明目强身等功效<sup>[1]</sup>,枸杞有滋阴补血、补肾养肝、润肺止咳、益精明目等功效<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明,石斛属和枸杞属植物均具有增强机体免疫力、抗肿瘤、抗氧化、治疗眼病等作用<sup>[3-9]</sup>。有研究报道,石斛复方制剂可通过增强巨噬细胞的吞噬能力、促进 T 淋巴细胞的增殖和分化和提高 NK 细胞活性的机制来调节小鼠的免疫功能<sup>[10]</sup>;枸杞的活性物质枸杞多糖可在体内外调节对小鼠巨噬细胞的免疫功能<sup>[11]</sup>,并对机体 T 细胞免疫功能、体液免疫功能、NK 细胞非特异性免疫功能均具有显著的调节作用<sup>[12]</sup>。石斛枸杞颗粒是由铁皮石斛、枸杞子等药材合理组方而成的复方制剂,本实验自 2017 年 1 月研究考察石斛枸杞颗粒对免疫器官、细胞免疫、体液免疫、单核-巨噬细胞功能和 NK 细胞功能的影响,研究其对小鼠免疫功能的影响,为石斛枸杞颗粒进一步开发利用提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 受试物** 石斛枸杞颗粒由湖北金鹰生物科技有限公司生产(规格:5 克/袋,批号 20160303),性状为棕色颗粒。人体推荐量为每日 3 次,每次 1 袋,计 0.25 g/kg/d(人按 60 kg 计算)。保存条件:储放于通风阴凉干燥处,保质期:24 个月。

**1.2 实验动物** 雌性 SPF 级昆明小鼠,160 只,体质量 18 ~ 22 g,购自武汉生物制品研究所有限责任公司,质量合格证号 42000400004987,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2012-0013。本研究中对于小鼠的处理符合动物伦理学标准。

**1.3 仪器与试剂** AB204-S 电子天平和 XS6001S 电子秤,瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司;YLS-25A 电动耳肿打耳器,济南益延科技发展有限公司;3K15 台式冷冻离心机,德国 Sigma 公司;HF90 二氧化碳培养箱,新仪器上海有限公司;BX53 显微镜,日本 OLYMPUS 公司;AU400 全自动生化仪,日

本 OLYMPUS 公司。RPMI 1640 培养基, Gibco 公司,批号 1645374;新生牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司,批号 20150616;乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产,批号 142714011。小鼠淋巴瘤细胞(YAC-1 细胞),购自中国典型培养物保藏中心。

## 1.4 方法<sup>[13]</sup>

**1.4.1 实验分组及受试物给予方式** 小鼠按体质量采用随机数字表法分成 4 个实验组,每个实验组的 40 只动物分为 4 组(高、中、低 3 个剂量组及阴性对照组)。设石斛枸杞颗粒高剂量组(7.5 g/kg BW,相当于人体推荐量的 30 倍)、中剂量组(5.0 g/kg BW,相当于人体推荐量的 20 倍)、低剂量组(2.5 g/kg BW,相当于人体推荐量的 10 倍)。临用前将受试物用蒸馏水配制成 0.375, 0.250, 0.125 g/mL 三种浓度的混悬液。各组小鼠灌胃给予不同浓度的受试物,灌胃体积为 20 mL/kg BW。阴性对照组给予等体积蒸馏水。每天灌胃 1 次,连续 30 d。灌胃结束后处死动物,4 个实验组分别按 1.4.2 ~ 1.4.7 进行实验:第 1 实验组,迟发型变态反应(DTH)实验;第 2 实验组,抗体生成细胞检测和血清溶血素测定;第 3 实验组,小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验;第 4 实验组,NK 细胞活性测定、免疫器官脏/体比。

**1.4.2 体质量及免疫器官脏/体比测定** 所有动物每周称量体质量一次,灌胃 30 d 后处死小鼠。第 4 实验组小鼠的取出胸腺和脾脏,称重并计算脏/体比值。脏/体(%) = 脏器重量/动物体质量 × 100%。

**1.4.3 迟发型变态反应实验** 采用二硝基氟苯(DNFB)诱导的小鼠 DTH 实验(耳肿胀法)。小鼠腹部脱毛,用 1% DNFB 溶液涂抹 50  $\mu$ L 致敏,5 d 后,再用 1% DNFB 溶液 10  $\mu$ L 均匀涂抹小鼠右耳(两面)进行攻击,攻击后 24 h 处死动物剪下左右耳壳。用打孔器取下直径 8 mm 的耳片后分别称重,

以左右耳的重量之差来反映 DTH 的程度。

**1.4.4 抗体生成细胞检测实验** 采用 Jerne 改良玻片法。将脱纤维处理后的羊血用生理盐水洗涤 3 次,离心  $1\,500\times g/\text{min}$  10 min,用生理盐水配成 2% (V/V) 的绵羊红细胞 (SRBC) 悬液,每只鼠经腹腔注射 2% (V/V) SRBC 0.2 mL 进行免疫。5 天后处死小鼠,取出脾脏,制备脾细胞悬液,调整脾细胞浓度为  $5\times 10^6$  个/mL。将 0.5 mL 0.5% 琼脂糖、50  $\mu\text{L}$  10% SRBC、20  $\mu\text{L}$  脾细胞悬液,迅速混匀,倾倒入已刷琼脂糖薄层的玻片上,待琼脂凝固后,37  $^{\circ}\text{C}$  温育 1.5h,然后加入补体,继续温育 1.5 h,计数溶血空斑数。以空斑数/ $10^6$  脾细胞表示抗体生成细胞数。

**1.4.5 血清溶血素测定实验** 采用血凝法,与 1.4.4 实验共用小鼠。免疫 5 d 后,小鼠摘眼球取血,制备血清。用生理盐水将血清倍比稀释,将不同稀释度的血清分别置于微量血凝板内,每孔 100  $\mu\text{L}$ ,再加入 100  $\mu\text{L}$  0.5% (V/V) 的 SRBC 悬液,混匀,37  $^{\circ}\text{C}$  温育 3 h,观察血球凝集程度,进行血清溶血素的测定,计算抗体水平。

**1.4.6 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验** 采用滴片法。每只小鼠腹腔注射 2% (V/V) SRBC 0.2 mL。4 d 后颈椎脱臼处死小鼠,每只腹腔注射加小牛血清的 Hank's 液 4 mL,充分洗出腹腔巨噬细胞,收集腹腔洗液至试管内。在试管内加入 0.5 mL 腹腔洗液、0.5 mL 1% 鸡血红细胞悬液,混匀,吸取

0.5 mL 混合液加入玻片上已晾干的 3% 琼脂圈内,37  $^{\circ}\text{C}$  温育 20 min,甲醇固定、Gimsa 液染色,显微镜观察,计数吞噬率和吞噬指数。

**1.4.7 NK 细胞活性测定**,采用 LDH 测定法 末次给予受试样品后,处死小鼠,无菌操作下取脾,研磨制成单个脾细胞悬液后,过 200 目筛网后 Hank's 液洗 2 次,用 RPMI 1640 培养液调整细胞浓度至  $2\times 10^7$  个/mL。以脾细胞悬液为效应细胞,取对数生长长期的 YAC-1 细胞,调整细胞终浓度至  $4\times 10^5$  个/mL 作为靶细胞,作用 4 h 后,离心取上清,全自动生化分析仪检测细胞上清液中 LDH 含量,计算 NK 细胞活性。

**1.5 数据学方法** 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,数据以  $\bar{x}\pm s$  表示,统计方法采用 ONE-WAY ANOVA 分析。先进行方差齐性检验,方差齐,采用 Dunnett 检验;方差不齐,采用 Dunnett's T3 检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 对小鼠体质量的影响** 结果见表 1,石斛枸杞颗粒各剂量组小鼠整个试验过程中体质量与阴性对照组比较,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

**2.2 对小鼠淋巴器官脏器/体质量比值的影响** 结果见表 2,石斛枸杞颗粒各剂量组小鼠胸腺/体质量比值和脾脏/体质量比值较阴性对照组差异无统计学意义。

表 1 石斛枸杞颗粒对小鼠体质量的影响/(g, $\bar{x}\pm s$ , $n=10$ )

| 实验组     | 时间    | 阴性对照组<br>(0.0 g/kg BW) | 高剂量组<br>(7.5 g/kg BW) | 中剂量组<br>(5.0 g/kg BW) | 低剂量组<br>(2.5 g/kg BW) | F 值   | P 值   |
|---------|-------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|-------|
| 第 1 实验组 | 第 0 周 | 19.0 $\pm$ 0.7         | 19.1 $\pm$ 0.9        | 19.1 $\pm$ 0.8        | 19.1 $\pm$ 0.9        | 0.039 | 0.990 |
|         | 第 1 周 | 24.2 $\pm$ 1.3         | 23.5 $\pm$ 1.6        | 23.9 $\pm$ 1.2        | 23.2 $\pm$ 1.2        | 1.178 | 0.332 |
|         | 第 2 周 | 26.1 $\pm$ 1.8         | 26.4 $\pm$ 1.9        | 26.8 $\pm$ 1.4        | 26.5 $\pm$ 1.5        | 0.327 | 0.806 |
|         | 第 3 周 | 27.0 $\pm$ 1.7         | 27.9 $\pm$ 1.8        | 28.3 $\pm$ 1.6        | 27.8 $\pm$ 1.9        | 0.938 | 0.443 |
|         | 第 4 周 | 28.3 $\pm$ 2.0         | 28.6 $\pm$ 2.1        | 28.9 $\pm$ 2.1        | 28.6 $\pm$ 2.0        | 0.127 | 0.934 |
| 第 2 实验组 | 第 0 周 | 19.0 $\pm$ 0.8         | 19.0 $\pm$ 0.8        | 19.0 $\pm$ 0.8        | 19.0 $\pm$ 0.8        | 0.005 | 1.000 |
|         | 第 1 周 | 23.6 $\pm$ 1.3         | 22.8 $\pm$ 0.7        | 22.9 $\pm$ 0.9        | 23.2 $\pm$ 1.2        | 1.075 | 0.372 |
|         | 第 2 周 | 26.7 $\pm$ 1.5         | 25.6 $\pm$ 1.2        | 25.9 $\pm$ 1.0        | 25.7 $\pm$ 1.3        | 1.444 | 0.246 |
|         | 第 3 周 | 27.9 $\pm$ 1.6         | 27.7 $\pm$ 1.1        | 27.2 $\pm$ 1.4        | 27.3 $\pm$ 1.4        | 0.565 | 0.641 |
|         | 第 4 周 | 29.0 $\pm$ 2.2         | 27.8 $\pm$ 1.9        | 27.9 $\pm$ 1.2        | 28.1 $\pm$ 1.8        | 0.999 | 0.404 |
| 第 3 实验组 | 第 0 周 | 19.1 $\pm$ 0.9         | 19.1 $\pm$ 1.0        | 18.9 $\pm$ 0.8        | 19.0 $\pm$ 0.8        | 0.071 | 0.975 |
|         | 第 1 周 | 24.4 $\pm$ 1.1         | 23.8 $\pm$ 1.6        | 23.8 $\pm$ 0.8        | 23.7 $\pm$ 0.8        | 0.722 | 0.545 |
|         | 第 2 周 | 26.4 $\pm$ 1.3         | 26.3 $\pm$ 3.7        | 26.9 $\pm$ 0.8        | 27.1 $\pm$ 1.6        | 0.311 | 0.817 |
|         | 第 3 周 | 27.4 $\pm$ 1.8         | 28.2 $\pm$ 3.6        | 28.1 $\pm$ 1.0        | 28.4 $\pm$ 1.3        | 0.452 | 0.717 |
|         | 第 4 周 | 28.4 $\pm$ 1.5         | 29.0 $\pm$ 3.6        | 29.0 $\pm$ 1.2        | 29.4 $\pm$ 1.8        | 0.380 | 0.768 |
| 第 4 实验组 | 第 0 周 | 19.0 $\pm$ 0.8         | 19.0 $\pm$ 0.8        | 19.0 $\pm$ 0.9        | 19.0 $\pm$ 0.8        | 0.021 | 0.996 |
|         | 第 1 周 | 24.7 $\pm$ 1.4         | 23.9 $\pm$ 1.2        | 23.5 $\pm$ 1.6        | 23.7 $\pm$ 0.9        | 1.442 | 0.247 |
|         | 第 2 周 | 27.4 $\pm$ 2.6         | 27.5 $\pm$ 2.2        | 25.8 $\pm$ 2.3        | 26.2 $\pm$ 1.2        | 1.592 | 0.208 |
|         | 第 3 周 | 28.5 $\pm$ 2.8         | 29.2 $\pm$ 2.1        | 26.8 $\pm$ 2.6        | 27.0 $\pm$ 1.0        | 2.685 | 0.061 |
|         | 第 4 周 | 29.2 $\pm$ 3.4         | 29.8 $\pm$ 2.2        | 28.1 $\pm$ 2.6        | 27.9 $\pm$ 1.3        | 1.260 | 0.303 |

表2 石斛枸杞颗粒对小鼠淋巴器官脏器/体质量的影响/(%, $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | 剂量/(g/kg BW) | 鼠数/只 | 胸腺/体质量比值    | F 值   | P 值   | 脾脏/体质量比值    | F 值   | P 值   |
|-------|--------------|------|-------------|-------|-------|-------------|-------|-------|
| 阴性对照组 | 0.0          | 10   | 0.372±0.099 | 0.460 | 0.712 | 0.510±0.206 | 0.758 | 0.525 |
| 高剂量组  | 7.5          | 10   | 0.399±0.156 |       |       | 0.561±0.150 |       |       |
| 中剂量组  | 5.0          | 10   | 0.422±0.062 |       |       | 0.540±0.086 |       |       |
| 低剂量组  | 2.5          | 10   | 0.383±0.059 |       |       | 0.474±0.059 |       |       |

2.3 对细胞免疫功能的影响 结果见表3,石斛枸杞颗粒中、低剂量组能增加耳廓肿胀度,与阴性对照组比较差异有统计学意义,说明其可促进小鼠对DNFB诱发的DTH反应,具有增强细胞免疫功能的作用。

表3 石斛枸杞颗粒对DNFB诱导小鼠DTH反应的影响

| 组别    | 剂量/(g/kg BW) | 鼠数/只 | DNFB 诱导 DTH                      | F 值   | P 值   |
|-------|--------------|------|----------------------------------|-------|-------|
|       |              |      | 左右耳质量差/<br>(mg, $\bar{x}\pm s$ ) |       |       |
| 阴性对照组 | 0.0          | 10   | 10.1±3.3                         | 3.579 | 0.023 |
| 高剂量组  | 7.5          | 10   | 12.6±5.9                         |       |       |
| 中剂量组  | 5.0          | 10   | 15.5±4.5 <sup>a</sup>            |       |       |
| 低剂量组  | 2.5          | 10   | 15.4±3.0 <sup>a</sup>            |       |       |

注:各剂量组与阴性对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$

2.4 对体液免疫功能的影响 结果见表4,石斛枸杞颗粒各剂量组的溶血空斑数、血清溶血素水平与阴性对照组相比,差异无统计学意义,说明其不能增强体内抗体生成细胞能力和增加抗体生成水平,即石斛枸杞颗粒对体液免疫功能无明显影响。

2.5 对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响 结果见表5,石斛枸杞颗粒高剂量组可提高小鼠腹腔巨

噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数,与阴性对照组比较差异有统计学意义,说明其可增强小鼠单核-巨噬细胞的吞噬能力。

2.6 对小鼠NK细胞活性的影响 结果见表6,石斛枸杞颗粒高、中剂量组能增强小鼠NK细胞活性,与阴性对照组比较差异有统计学意义。

3 讨论

免疫系统是机体执行免疫应答和免疫功能的重要系统,是生物体识别“非自体物质”并将其消灭或排除体外,抵御病原体入侵的保卫系统。免疫细胞、免疫分子和免疫器官共同构成机体的免疫系统,并与其他系统相互协调,共同维持机体生理功能的平衡。机体正常免疫功能状态的维持需要多种免疫细胞的相互作用和制约,免疫功能是在淋巴细胞、单核细胞和其他有关细胞及其产生的免疫分子的相互作用下完成的,主要包括细胞免疫功能、体液免疫功能、单核细胞吞噬功能和NK细胞功能,它们相互配合完成特异性免疫和非特异性免疫。细胞免疫和体液免疫属于特异性免疫,腹腔巨噬细胞吞噬能力和NK细胞功能属于非特异性免疫<sup>[14-16]</sup>。本研究观察了石斛枸杞颗粒对体质量和免疫器官的作用,同时从细胞免疫、体液免疫、

表4 石斛枸杞颗粒对小鼠抗体生成细胞和血清溶血素的影响

| 组别    | 剂量/(g/kg BW) | 鼠数/只 | 溶血空斑数/<br>(/10 <sup>6</sup> 脾细胞, $\bar{x}\pm s$ ) | F 值   | P 值   | 血清溶血素水平/<br>$\bar{x}\pm s$ | F 值   | P 值   |
|-------|--------------|------|---------------------------------------------------|-------|-------|----------------------------|-------|-------|
| 阴性对照组 | 0.0          | 10   | 177±63                                            | 0.038 | 0.990 | 139.6±15.4                 | 0.847 | 0.477 |
| 高剂量组  | 7.5          | 10   | 187±66                                            |       |       | 141.2±24.6                 |       |       |
| 中剂量组  | 5.0          | 10   | 181±60                                            |       |       | 149.6±23.5                 |       |       |
| 低剂量组  | 2.5          | 10   | 182±55                                            |       |       | 151.8±18.1                 |       |       |

表5 石斛枸杞颗粒对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的影响

| 组别    | 剂量/(g/kg BW) | 鼠数/只 | 吞噬率/(%, $\bar{x}\pm s$ ) | F 值   | P 值   | 吞噬指数/ $\bar{x}\pm s$ | F 值   | P 值   |
|-------|--------------|------|--------------------------|-------|-------|----------------------|-------|-------|
| 阴性对照组 | 0.0          | 10   | 26.97±4.28               | 2.665 | 0.042 | 0.368±0.065          | 2.490 | 0.046 |
| 高剂量组  | 7.5          | 10   | 31.64±2.45               |       |       | 0.441±0.042          |       |       |
| 中剂量组  | 5.0          | 10   | 28.65±3.07               |       |       | 0.393±0.049          |       |       |
| 低剂量组  | 2.5          | 10   | 29.53±4.77               |       |       | 0.402±0.079          |       |       |

表6 石斛枸杞颗粒对小鼠 NK 细胞活性的影响

| 组别    | 剂量/<br>(g/kg BW) | 鼠数/<br>只 | NK 细胞活性/<br>$\bar{x} \pm s$ | F 值    | P 值   |
|-------|------------------|----------|-----------------------------|--------|-------|
| 阴性对照组 | 0.0              | 10       | 19.6 ± 2.9                  | 15.317 | 0.000 |
| 高剂量组  | 7.5              | 10       | 40.2 ± 11.4 <sup>b</sup>    |        |       |
| 中剂量组  | 5.0              | 10       | 32.6 ± 10.6 <sup>a</sup>    |        |       |
| 低剂量组  | 2.5              | 10       | 19.0 ± 5.2                  |        |       |

注:与阴性对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05, <sup>b</sup>*P* < 0.01

吞噬功能、NK 细胞功能四个方面检测和其对小鼠免疫功能的影响。结果显示,石斛枸杞颗粒对小鼠体质量和脾脏脏/体比、胸腺脏/体比无显著性影响,说明其对免疫器官的作用不明显。迟发型变态反应是 T 细胞介导的一种超敏反应,二硝基氟苯(DNFB)是一种半抗原,将其涂抹小鼠腹部皮肤后,与皮肤蛋白结合形成完全抗原,刺激小鼠 T 淋巴细胞会增殖成致敏淋巴细胞,当再次涂抹至小鼠耳部时刺激记忆细胞迅速增殖,产生变态反应引起耳廓肿胀,发生以单核细胞浸润为主的炎症反应,属于细胞免疫应答功能;石斛枸杞颗粒可引起耳廓肿胀度增加,促进小鼠 DTH 反应,提示其可增强细胞免疫功能。用 SRBC 免疫小鼠数天,能够刺激小鼠 B 细胞产生抗体,用免疫后的小鼠血清对 SRBC 的溶解能力反映了小鼠抗体分泌细胞分泌抗体的能力,属于体液免疫应答功能;本研究中石斛枸杞颗粒对血清溶血素水平和抗体生成能力无明显影响,说明其对体液免疫功能无明显作用。巨噬细胞是一种非特异性免疫细胞,可通过直接吞噬外来异物或自身衰老的细胞来发挥提高机体免疫力的作用,因此,巨噬细胞吞噬活性的大小在一定程度上反应了机体的非特异性免疫功能,利用巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验,可以在体外观察巨噬细胞的吞噬功能;石斛枸杞颗粒可增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数,说明其可激活单核-巨噬细胞免疫系统,增强非特异性免疫功能。NK 细胞具有自然杀伤活性及抗肿瘤作用,活细胞胞浆内的 LDH 不能透过细胞膜,当 YAC-1 细胞(小鼠淋巴瘤细胞)受到 NK 细胞杀伤后,LDH 释放到细胞外,因此通过检测细胞上清液的 LDH 含量来反映 NK 细胞的活性;石斛枸杞颗粒可增加细胞上清液的 LDH 含量,说明其可增强 NK 细胞功能。

综上所述,本研究结果表明石斛枸杞颗粒对小鼠细胞免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬功能和 NK 细

胞活性均有增强作用,促进了小鼠的特异性免疫和非特异性免疫,具有增强免疫功能的作用,是一种具有良好开发前景的免疫调节剂。

参考文献

[1] 丁鸽,倪玉蓓,王萌萌,等. 药用石斛研究进展[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(11): 2561-2563.

[2] 高俊. 枸杞生理功效及活性成分研究[J]. 中国医学, 2012, 11(8): 99-100.

[3] 郭冕,江吉富. 石斛多糖药理作用的研究概况[J]. 医学综述, 2015, 21(24): 4525-4528.

[4] DENG Y, LI M, CHEN LX, et al. Chemical characterization and immunomodulatory activity of acetylated polysaccharides from *Dendrobium devonianum*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 180: 238-245.

[5] CHAOTHAM C, CHANVORACHOTE P. A bibenzyl from *Dendrobium ellipsophyllum* inhibits migration in lung cancer cells[J]. Journal of Nature Medicines, 2015, 69(4): 565-574.

[6] FANG H, HU X, WANG M, et al. Anti-osmotic and antioxidant activities of gigantol from *Dendrobium aurantiacum* var. *denneanum* against cataractogenesis in galactosemic rats[J]. Journal of Ethnopharmacol, 2015, 172: 238-246.

[7] BO R, ZHENG S, XING J, et al. The immunological activity of *Lycium barbarum* polysaccharides liposome in vitro and adjuvantcity against PCV2 in vivo[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 85: 294-301.

[8] 彭天元,刘家水,颜红专,等. 乙酰化修饰枸杞多糖及其抗氧化、抗肿瘤活性研究[J]. 安徽中医药大学学报, 2015, 34(6): 61-66.

[9] 邓永红,刘立夏,路雪婧. 枸杞及其提取物在眼科的应用研究概况[J]. 中医眼耳鼻喉杂志, 2011, 1(4): 233-235.

[10] 杨明晶,俞萍,陆罗定. 铁皮枫斗西洋参胶囊对小鼠免疫调节功能的影响[J]. 江苏预防医学, 2008, 19(4): 11-13.

[11] 罗亚坤,程燕. 枸杞多糖对小鼠体内外免疫巨噬细胞功能的影响[J]. 林业科技情报, 2013, 45(2): 10-11.

[12] 董淑楠,朱柯蕙,印虹,等. 枸杞多糖的理化性质及其免疫调节研究进展[J]. 中国医药生物技术, 2013, 8(1): 66-68.

[13] 邱涵,吕晓君,张鹏. 冬虫夏草西洋参复合物增强免疫力功能实验研究[J]. 中国医药导报, 2016, 13(9): 18-22.

[14] 曾俊芬,王新桂,鲁建武,等. 桂枝汤方剂不同提取部位免疫抑制活性的考察[J]. 安徽医药, 2016, 20(9): 1629-1632.

[15] 魏仙妮,吴玉林. 湿迪胶囊的免疫调节作用研究[J]. 安徽医药, 2015, 19(5): 838-841.

[16] MAJDALAWIEH AF, FAYYAD MW. Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review[J]. International Immunopharmacology, 2015, 28(1): 295-304.

(收稿日期:2017-10-16,修回日期:2017-12-11)