

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.04.002

甘草浸膏对小鼠免疫功能的影响研究*

徐海星¹, 胡伟²

(1. 武汉理工大学化学化工与生命科学学院, 湖北 武汉 430070; 2. 江西省卫生计生监督所, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 探讨甘草浸膏对小鼠免疫功能的影响。方法 测定刀豆蛋白 A (ConA) 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力, 二硝基氟苯 (DNFB) 诱导的小鼠迟发性变态反应 (DTH), 小鼠血清溶血素含量, 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞功能, 小鼠碳廓清能力, 抗体生成细胞能力, 小鼠自然杀伤细胞活性指标。结果 高剂量甘草浸膏能明显增强 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞的增殖能力, DNFB 诱导的小鼠 DTH, 小鼠血清溶血素水平, 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞功能, 小鼠碳廓清能力, 抗体生成细胞能力, 但高剂量甘草浸膏不能明显增强小鼠自然杀伤细胞活性。结论 甘草浸膏具有增强免疫功能的作用。

关键词:甘草浸膏; 细胞免疫; 体液免疫

中图分类号: R285.5; R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)04-0003-03

Effect of Extractum Glycyrrhizae on Immune Functions of Mice

Xu Haixing¹, Hu Wei²

(1. College of Chemistry and Life Science, Wuhan University of Technology, Wuhan, Hubei, China 430070; 2. Jiangxi Province Health Monitoring Institute, Nanchang, Jiangxi, China 330006)

Abstract: Objective To investigate the effect of extractum *Glycyrrhizae* on immune function of mice. **Methods** ConA-induced splenic lymphocyte proliferation ability, dinitrofluorobenzene-induced delayed hypersensitivity reaction, the content of serum hemolysin, phagocytic

*基金项目: 国家自然科学基金项目 [51572206]。

第一作者: 徐海星 (1973-), 男, 博士研究生, 教授, 研究方向为天然药物活性成分, (电话) 027-87152611。

- blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2015, 386(10011): 2404-2412.
- [7] Sheffrin M, Driscoll HC, Lenze EJ, et al. Pilot study of augmentation with aripiprazole for incomplete response in late-life depression: getting to remission[J]. J Clin Psychiatry, 2009, 70(2): 208-213.
- [8] Rutherford B, Sneed J, Miyazaki M, et al. An open trial of aripiprazole augmentation for SSRI non-remitters with late-life depression[J]. Int J Geriatr Psychiatry, 2007, 22(10): 986-991.
- [9] 孙祥虹, 景艳玲, 张红梅. 西酞普兰合并小剂量奥氮平治疗老年期抑郁症的对照研究[J]. 四川精神卫生, 2011, 24(2): 100-101.
- [10] 孙祥虹, 孙平. 草酸艾司西酞普兰联合小剂量奥氮平治疗老年期抑郁症的效果观察[J]. 临床合理用药, 2015, 8(6B): 20-21.
- [11] 刘宗和, 田旭, 张静. 文拉法辛合并奥氮平治疗老年抑郁症的对照研究[J]. 精神医学杂志, 2014, 27(3): 218-219.
- [12] 陈彩霞, 吴震卿, 徐清, 等. 米氮平合并小剂量奥氮平治疗老年抑郁症的临床研究[J]. 中国健康心理学杂志, 2010, 18(10): 1155-1157.
- [13] 马雁冰. 米氮平联合小剂量奥氮平治疗老年抑郁症研究[J]. 中国伤残医学, 2012, 20(8): 32-33.
- [14] 王百灵, 高振波. 小剂量奥氮平联合帕罗西汀治疗老年抑郁症的临床疗效及安全性研究[J]. 国际医药卫生导报, 2016, 22(1): 91-93.
- [15] Bymaster FP, Rasmussen K, Calligaro DO, et al. In vitro and in vivo biochemistry of olanzapine, a novel atypical antipsychotic drug[J]. Journal of Clinical Psychiatry, 1997, 58(Suppl 10): 28-36.
- [16] Shelton RC, Tollefson GD, Tohen M, et al. A novel augmentation strategy for treating resistant major depression[J]. Am J Psychiatry, 2001, 158(1): 131-134.
- [17] 鞠红珍, 于婷, 王深化. 利培酮合并帕罗西汀治疗老年性抑郁症临床疗效观察[J]. 中国民康医学, 2013, 25(1): 25-27.
- [18] 钱建军, 何炳福, 石永扬. 小剂量利培酮合并氟西汀治疗老年期抑郁症[J]. 现代实用医学, 2009, 21(10): 1084.
- [19] Keck PE Jr, Strakowski SM, McElroy SL. The efficacy of atypical antipsychotics in the treatment of depressive symptoms, hostility and suicidality in patients with schizophrenia[J]. J Clin Psychiatry, 2000, 61(Suppl 3): 4-9.
- [20] 郑学宝, 罗忠, 章旭东, 等. 奎硫平合并西酞普兰治疗老年期抑郁症的疗效[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(6): 957-958.
- [21] 周勤. 米氮平合并喹硫平治疗老年抑郁症的疗效[J]. 江苏医药, 2015, 41(9): 1057-1058.
- [22] 王东明, 刘琳琳, 景艳玲. 西酞普兰合并小剂量喹硫平治疗老年抑郁症的对照研究[J]. 四川精神卫生, 2011, 24(4): 215-217.
- [23] 钱永潮, 周振和, 杨雀屏, 等. 小剂量阿米舒必利合并西酞普兰治疗老年期抑郁症的对照研究[J]. 精神医学杂志, 2013, 26(6): 415-417.
- [24] 王伟, 周晓琴, 周振和. 氯磺必利合并度洛西汀治疗老年期抑郁症的对照研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(19): 2823-2825.

(收稿日期: 2017-11-12)

function of peritoneal macrophage(PM) phagocytizing chicken red blood cell(CRBC), carbon clearance ability, antibody producing cell ability, and natural killer cell activity(NKCA) indexes of mice were determined. **Results** The high dose of extractum *Glycyrrhizae* could significantly enhance ConA-induced splenic lymphocyte proliferation ability, dinitrofluorobenzene-induced delayed hypersensitivity reaction, the content of serum hemolysin, phagocytic function of PM phagocytizing CRBC, carbon clearance ability, and antibody producing cell ability, but didn't increase NKCA indexes of mice. **Conclusion** Extractum *Glycyrrhizae* can improve the immune function.

Key words: extractum *Glycyrrhizae*; cellular immunity; humoral immunity

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根和根茎, 春、秋季采挖, 除去须根, 晒干而得。甘草属多年生草本, 是一种补益中药。中医认为, 甘草有益气补中、缓急止痛、润肺止咳、泻火解毒、调和诸药的功效。近代医学研究发现, 甘草及其提取物具有抗细菌、病毒的作用^[1-3]。近来的一些研究表明, 甘草具有增强免疫力的作用^[4]。甘草提取物中, 研究最多的有效成分为甘草酸及其盐类(即甘草甜素)和甘草多糖。但关于甘草提高机体免疫力效关系的研究不多。本研究中拟以人体推荐日摄入量的10倍、20倍、30倍设置低、中、高3个剂量组, 以小鼠为模型进行试验, 以系统研究甘草提高机体免疫力作用的剂量。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级昆明种雌性小鼠40只, 体重18~22 g, 湖北省实验动物研究中心提供, 实验动物生产许可证号为SCXK<鄂>2003-0005。在温度为22~26℃、相对湿度为40%~70%的环境下饲养, 实验动物使用许可证号为SYXK<鄂>2003-0014。

1.2 方法

甘草浸膏提取: 取甘草饮片, 加水煎煮3次, 每次2 h, 合并煎液, 放置过夜, 沉淀, 取上清液, 浓缩至稠膏

状, 干燥, 磨成细粉, 即得。所得原料为棕褐色的块状固体或粉末, 有微弱的特殊臭气和持久的特殊甜味, 甘草提取得率为24%。

分组与处理: 将提取所得甘草浸膏直接溶于水, 配成适宜浓度, 按人群推荐日摄入量0.02 g/kg(1.2 g/d)扩大10倍、20倍、30倍, 设置低、中、高3个剂量组, 即0.2, 0.4, 0.6 g/kg, 将40只小鼠均分为空白对照组及低、中、高剂量组, 对各组小鼠连续灌胃30 d, 给药体积为每10 g体重0.20 mL。

免疫功能检测: 根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)中的功能学评价检验对小鼠免疫功能进行测定。试验包括迟发型变态反应(DTH)、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验、淋巴器官/体质量比值测定、碳廓清实验、小鼠淋巴细胞转化实验、自然杀伤(NK)细胞活性测定、血清溶血素的测定和抗体生成细胞检测。

1.3 统计学处理

采用SAS软件对数据进行分析, 计量资料以均数±标准差表示, 行 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

结果见表1至表4。各组动物间胸腺/体质量比值和脾脏/体质量比值无明显差异($P>0.05$)。与空白对照组比较, 甘草浸膏高剂量组小鼠刀豆蛋白A(ConA)诱导的脾淋巴细胞增殖能力显著增强($P<0.05$), 二硝基

表1 甘草提取物对淋巴器官/体质量比值的影响($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	胸腺/体质量比值		脾脏/体质量比值	
		$\bar{X} \pm s (\times 10^3)$	P 值	$\bar{X} \pm s (\times 10^3)$	P 值
空白对照组		2.55 ± 0.44		3.36 ± 0.43	
低剂量组	0.2	2.74 ± 0.35	0.300	3.48 ± 0.33	0.511
中剂量组	0.4	2.78 ± 0.30	0.194	3.48 ± 0.42	0.547
高剂量组	0.6	2.80 ± 0.20	0.122	3.53 ± 0.33	0.352

表2 甘草提取物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	吞噬百分率		吞噬指数	
		$\bar{X} \pm s (\%)$	P 值	$\bar{X} \pm s (\%)$	P 值
空白对照组		28.5 ± 1.9		0.378 ± 0.021	
低剂量组	0.2	29.5 ± 1.5	0.290	0.388 ± 0.014	0.389
中剂量组	0.4	29.7 ± 1.3	0.176	0.391 ± 0.018	0.197
高剂量组	0.6	30.5 ± 1.0	0.014	0.402 ± 0.010	0.006

表3 甘草提取物对小鼠细胞免疫功能及体液免疫功能的影响($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	ConA 诱导脾淋巴细胞增殖光密度差值		DNFB 诱导 DTH 左右耳质量差(mg)		血清溶血素(抗体积数)	
		$\bar{X} \pm s(\%)$	P 值	$\bar{X} \pm s(\%)$	P 值	$\bar{X} \pm s(\%)$	P 值
空白对照组		0.217 ± 0.106		20.75 ± 4.48		39.8 ± 11.3	
低剂量组	0.2	0.292 ± 0.168	0.407	22.82 ± 2.74	0.439	51.0 ± 14.6	0.183
中剂量组	0.4	0.295 ± 0.112	0.383	24.45 ± 4.25	0.070	51.1 ± 14.7	0.178
高剂量组	0.6	0.370 ± 0.103	0.026	25.67 ± 2.46	0.011	59.0 ± 14.0	0.010

表4 甘草提取物对小鼠碳廓清功能、抗体生成细胞功能及 NK 细胞活性的影响($n=10$)

组别	剂量(g/kg)	碳廓清功能		抗体生成细胞功能		NK 细胞活性	
		吞噬指数	P 值	溶血斑指数(/ 10^6 脾细胞)	P 值	细胞活性(%)	P 值
空白对照组		5.119 ± 0.75		272.6 ± 19.80		19.90 ± 7.51	
低剂量组	0.2	5.679 ± 1.01	0.287	280.0 ± 20.37	0.792	19.64 ± 11.94	0.993
中剂量组	0.4	5.825 ± 0.82	0.137	291.3 ± 22.77	0.157	19.22 ± 6.64	0.991
高剂量组	0.6	6.417 ± 0.55	0.002	299.5 ± 24.40	0.025	19.50 ± 7.05	0.999

氟苯(DNFB)诱发的 DTH 显著增强($P<0.05$),血清溶血素含量显著升高($P<0.05$),吞噬率、吞噬指数明显提高($P<0.05$),小鼠碳廓清吞噬指数显著提高($P<0.01$),抗体生成细胞能力明显增强($P<0.05$)。甘草浸膏各剂量组小鼠自然杀伤(NK)细胞活性未明显增强($P>0.05$)。

3 讨论

中医认为,人体精力旺盛,正气存内,邪不可干。甘草和中益气,有调补劳损内伤、脾气虚弱、元阳不足、肺气衰虚之功效,其甘温平补,可增强免疫功能。甘草作为一种食药两用的原料,在食品和保健食品中已得到广泛应用。甘草浸膏人体推荐用量为 1.2 g/d,甘草提取得率为 24%,折合每人每天食用甘草饮片 5 g。按照《保健食品检验与评价技术规范》的评价标准,每人每天 5 g 甘草对正常动物具有增强免疫力的作用;《中华人民共和国药典(一部)》规定,成人每天服用甘草的剂量为 2~10 g。本研究结果表明,药典推荐用量中位数具有免疫调节功能,为药典的用量制订提供了实验室依据。

甘草含三萜类、黄酮类、生物碱类和多糖类物质。甘草的根和根茎含三萜皂苷甘草酸,即甘草甜素,是甘草甜味的主要来源。其加水分解后可产生 2 分子葡萄糖醛酸和 1 分子 18 β -甘草次酸。甘草次酸是甘草甜素结构中的活性部分。甘草尚含 24-羟基甘草次酸等,亦含有甘草皂苷 A3, B2, C2, D3, F3, G2, H2, J2, K2。虽然甘草水提制得的甘草浸膏标志性成分非常复杂,包括三萜类(甘草酸)、黄酮类(甘草黄酮)、生物碱类和多糖类物质(中性多糖)^[15-91],但主要

为甘草酸。大量研究表明,甘草酸和甘草多糖可增强免疫功能^[8-10]。

本研究中,甘草浸膏的提取采用水煎煮 3 次,再经沉淀、浓缩、干燥制成,该工艺能有效提取甘草中的多糖和甘草酸有效成分。

本研究结果显示,高剂量甘草浸膏能明显增强 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力、DNFB 诱导的小鼠 DTH、小鼠血清溶血素水平、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞功能、小鼠碳廓清能力、抗体生成细胞能力。

但本研究中未采用免疫功能低下动物进行实验,而用免疫功能低下模型更能证明甘草的扶正作用能力。

参考文献:

- [1] 胡 聪. 甘草的抗菌与免疫作用及其他[J]. 新疆中医药, 1998, 16(2): 50-53.
- [2] 贺新怀, 席孝贤. 甘草对机体免疫功能的影响[J]. 陕西中医函授, 1994(2): 10-13.
- [3] 汲晨锋, 姜 薇, 王晓晶. 甘草多糖的化学与药理研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2014, 20(5): 515-518.
- [4] 郑 尧, 何景华. 甘草多糖对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响[J]. 中医药学刊, 2003, 21(2): 254-255.
- [5] 刘 霞, 谢建新. 甘草多糖免疫功能的研究[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(5): 572-573.
- [6] 高章圆, 张建新. 甘草酸抗炎抗病毒及免疫调节作用研究进展[J]. 解放军药学学报, 1999, 15(5): 27-29.
- [7] 史桂兰, 胡志浩. 甘草酸药理作用及临床应用研究进展[J]. 天津药学, 2001, 13(1): 10-12.
- [8] 梁再斌, 朱天孝, 洪文廉. 甘草甜素免疫调节机理初探[J]. 中国医科大学学报, 1991, 20(4): 257-259.
- [9] 李铁民, 梁再斌. 甘草甜素免疫调节作用研究进展[J]. 中草药, 1993, 24(10): 553-556.
- [10] 杨中林, 付启凤, 李晓毛. 炮制甘草对免疫功能的影响[J]. 中药材, 1991, 14(2): 29-30.

(收稿日期: 2017-11-28; 修回日期: 2018-01-05)

本栏自由
重庆赢英康医疗器械有限公司
协办