

三七黄精膏对正常小鼠免疫功能的影响

范苏苏^{1*}, 刘石磊^{2,3*}, 朱钰珊¹, 胡会泽^{2,3}, 张旋^{1#}

¹昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明

²云南三七科技有限公司, 云南 昆明

³三七资源保护与利用技术国家地方联合工程研究中心, 云南 昆明

收稿日期: 2022年11月29日; 录用日期: 2023年1月5日; 发布日期: 2023年1月16日

摘要

目的: 探讨三七黄精膏对正常小鼠免疫功能的影响。方法: 将150只SPF级雄性昆明小鼠随机平均分为3批。每批动物随机分为溶剂对照组(溶剂灌胃)、阳性对照组(灌胃给予盐酸左旋咪唑25 mg/kg)、三七黄精膏低剂量组(灌胃给予三七黄精膏200 mg/kg)、中剂量组(灌胃给予三七黄精膏400 mg/kg)、高剂量组(灌胃给予三七黄精膏800 mg/kg), 每组10只小鼠, 各组连续灌胃30天。第一批动物进行体质量、脏器指数测定、血清溶血素测定; 第二批动物进行小鼠淋巴细胞增殖转化和自然杀伤细胞活性测定; 第三批动物进行腹腔巨噬细胞吞噬功能检测。结果: 不同剂量的三七黄精膏对正常小鼠体质量、胸腺指数和脾脏指数、腹腔巨噬细胞的吞噬指数和吞噬百分率无明显影响($P > 0.05$); 不同剂量的三七黄精膏能明显提高正常小鼠脾淋巴细胞转化能力、血清溶血素滴度水平和自然杀伤细胞活性($P < 0.05$)。结论: 三七黄精膏具有免疫增强作用, 能明显增强正常小鼠细胞免疫功能、体液免疫功能和自然杀伤细胞活性。

关键词

三七黄精膏, 免疫功能, 细胞免疫, 体液免疫, NK细胞

Effect of Sanqi-Huangjing Ointment on Immune Function of Normal Mice

Susu Fan^{1*}, Shilei Liu^{2,3*}, Yushan Zhu¹, Huize Hu^{2,3}, Xuan Zhang^{1#}

¹School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan

²Yunnan *Panax notoginseng* Technology Co., Ltd., Kunming Yunnan

³National and Local Joint Engineering Research Center of *Panax notoginseng* Resource Protection and Utilization Technology, Kunming Yunnan

Received: Nov. 29th, 2022; accepted: Jan. 5th, 2023; published: Jan. 16th, 2023

*范苏苏与刘石磊对本文同等贡献。

#通讯作者。

文章引用: 范苏苏, 刘石磊, 朱钰珊, 胡会泽, 张旋. 三七黄精膏对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 生物医学, 2023, 13(1): 35-44. DOI: 10.12677/hjbm.2023.131004

Abstract

Objective: To investigate the effect of Sanqi-Huangjing ointment on immune function of normal mice. **Methods:** 150 SPF grade male Kunming mice were divided into 3 batches on average. Each batch of animals was randomly divided into solvent control group (solvent intragastric administration), positive control group (intragastric administration of levamisole hydrochloride 25 mg/kg), low dose group of Sanqi-Huangjing ointment (intragastric administration of Sanqi-Huangjing ointment 200 mg/kg), medium dose group (intragastric administration of Sanqi-Huangjing ointment 400 mg/kg) and high dose group (intragastric administration of Sanqi-Huangjing ointment 800 mg/kg), $n = 10$ in each group, all mice received continuous intragastric administration for 30 days. The body weight, organ indexes and serum hemolysin of the first batch of mice were measured; The second batch of mice were tested for lymphocyte transformation and NK cell activity; The third batch of mice were tested for phagocytic function of peritoneal macrophages. **Results:** Different doses of Sanqi-Huangjing ointment had no significant effects on body weight, spleen index spleen index and thymus index, phagocytosis percentage and phagocytosis index of peritoneal macrophages ($P > 0.05$). Different doses of Sanqi-Huangjing ointment significantly improved the transformation ability of spleen lymphocytes, serum hemolysin titer and natural killer cell activity in normal mice ($P < 0.05$). **Conclusion:** Sanqi-Huangjing ointment has immune enhancement effect, it can significantly enhance the cellular immune function, humoral immune function and natural killer cell activity of normal mice.

Keywords

Sanqi-Huangjing Ointment, Immune Function, Cellular Immunity, Humoral Immunity, NK Cells

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

三七(*Panax notoginseng*)为我国传统中药,来源于五加科人参属植物三七,入药部位为干燥根和根茎,主要产地为云南省文山州和广西百色等地。三七也是一种名贵的药食同源中药材,其主要成分有三七总皂苷、挥发油、氨基酸、三七多糖等[1][2]。三七性温,味辛,传统中医认为其有活血化瘀、消肿定痛等功效,现代医学发现,三七及其活性成分具有保护心血管、抗炎、抗肿瘤和免疫增强等活性[3]。多糖是许多中药发挥免疫调节作用的主要成分,三七多糖作为三七的重要活性成分之一,同样也具有增强机体免疫力的功效。研究已经证实,三七多糖能够从体液和细胞免疫功能、自然杀伤细胞活性和单核-巨噬细胞吞噬功能等多方面,提高小鼠的免疫功能[4][5]。

黄精也是我国传统的名贵中药,是为百合科黄精属植物的根状茎[6][7]。黄精性平、味甘,中医临床用于滋阴补气、健脾润肺、益肾等。作为中医常用的一种补益药,黄精在我国用药历史悠久。多糖、皂苷、氨基酸等是黄精的主要活性成分,其中黄精多糖是其发挥药理作用的主要成分之一[7]。黄精多糖具有许多药理活性,如免疫调节(增强小鼠免疫功能)、抗衰老(延缓大鼠衰老)、抗氧化(降低MDA含量,减少自由基生成,增强SOD和GSH-Px活力)、抗菌(对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草杆菌、伤寒沙门氏菌、副伤寒杆菌、藤黄微球菌等均有抑制作用)、抗炎(抑制二甲苯诱导的小鼠耳廓肿胀)作用等[8]。研

究发现,黄精多糖能明显提高小鼠淋巴脏器指数及脾淋巴细胞增殖指数、增强自然杀伤细胞活性,明显增强小鼠的免疫功能[9]。

传统中医认为,三七味辛、性温,熟食可补血养血;黄精味甘、性平,可滋养肺肾、补益脾胃;因此三七黄精配伍可补益脾胃虚弱,符合中药配伍原则。三七黄精配伍对机体免疫功能调节是否有影响,未见文献报道。因此,本研究拟从体液和细胞免疫功能、单核巨噬细胞吞噬功能和自然杀伤细胞活性方面综合评价三七黄精膏对正常小鼠免疫功能的影响。

2. 仪器与材料

2.1. 受试样品

三七黄精膏由云南三七科技有限公司提供,生产批号:20210802。样品为棕褐色膏状,色泽均匀,置于常温阴凉处、避光保存。

2.2. 实验动物

SPF级(specific pathogen free,无特定病原体)雄性昆明小鼠(体质量18~22g)150只,由昆明医科大学实验动物学部提供,生产许可证号:SCXK(滇)K2020-0004。动物饲养温度20℃~22℃,相对湿度50%~70%,动物自由进食和饮水,正式实验前先进行适应性喂养7天。本研究经昆明医科大学动物实验伦理审查委员会批准(KMMU2020111)。

2.3. 细胞株

YAC-1细胞(用于自然杀伤细胞活性检测)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

2.4. 试剂

胎牛血清、PBS缓冲液、脂多糖(LPS)、刀豆蛋白(Con A)、绵羊红细胞(SRBC)、鸡红细胞(CRBC)、LDH试剂盒(南京建成公司);RPMI1640培养基、PBS磷酸盐缓冲液、CCK-8试剂盒、96孔血凝板(U型有机玻璃)可溶性淀粉、瑞氏-姬姆萨染液、红细胞裂解液、红细胞保存液(阿氏液)、阳性药物盐酸左旋咪唑。

2.5. 仪器

二氧化碳培养箱(美国SHELLAB公司);Scientific Multiskan GO酶标仪(美国Thermoscientific公司);超净工作台(珠海再鑫公司);低温高速离心机(美国Sigma公司);ESJ50-5电子天平(沈阳神宇龙腾天平有限公司);倒置显微镜(日本Olympus公司);NikonDS-Ri2自动显微镜(日本Nikon公司)、电热恒温培养箱(上海习仁科技公司)。

3. 方法

3.1. 三七黄精膏的制备过程

三七须根小分子多糖提取物0.3g、黄精多糖提取物4.7ml(按干物质计算约2.6g),0.4%羧甲基纤维素钠溶液5ml,山梨酸钾适量;将以上4种物质混合,用匀浆机混合均匀后,加热灭菌10g/袋规格灌装。

3.2. 动物分组和处理

将小鼠按体质量随机分为3批,每批50只。称量每批实验小鼠的体质量,并按照体质量,随机分为下列5组:溶剂对照组(溶剂-蒸馏水)、阳性药物对照组(盐酸左旋咪唑25mg/kg)、三七黄精膏低剂量组

(三七黄精膏 200 mg/kg)、三七黄精膏中剂量组(三七黄精膏 400 mg/kg)、三七黄精膏高剂量组(三七黄精膏 800 mg/kg), 每组均为 10 只小鼠。各组小鼠均为灌胃给药, 每天灌胃一次, 给药体积为 20 mL/kg, 连续进行 30 d, 处死小鼠检测相关免疫指标。第一批小鼠: 用于小鼠体质量检测、脏器/体质量比值测定和血清溶血素测定。第二批小鼠: 进行淋巴细胞增殖转化实验和自然杀伤细胞活性测定。第三批小鼠: 进行小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能检测。

三七黄精膏给药剂量和时间的确定依据: 根据前期进行的三七黄精膏的急性毒性实验, 确定三七黄精膏的三个剂量(200 mg/kg、400 mg/kg 和 800 mg/kg), 最高剂量 800 mg/kg 连续给药 30 天的累计剂量不会对小鼠产生毒性反应。给药 30 天根据《保健食品功能评价规范》规定, 受试样品的给药时间一般为 30 天。文献报道调节免疫功能的药效评价大都采用给药 30 天。

3.3. 脏器指数测定

小鼠连续灌胃 30 天后, 测定各组小鼠体质量, 摘眼球进行采血, 颈椎脱臼方式对动物处死, 将胸腺和脾脏摘除, 剥除结缔组织后, 用天平称定脏器质量, 根据公式计算脏器指数: 脏器指数 = 脏器质量(mg)/体质量(g)。

3.4. 血清溶血素测定

在小鼠连续灌胃 26 d 后, 腹腔注射绵羊红细胞(2%, 0.2 mL), 继续灌胃 4 d 后摘眼球方法采集血样于离心管内, 静置 1 h, 使血清充分析出, 于 3000 转/分离心 10 分钟, 收集各组小鼠血清。用生理盐水将血清倍比稀释(每份样本稀释 5 孔)后, 转移至血凝板, 每孔 50 μ L, 再加入 0.5%绵羊红细胞 50 μ L, 充分混匀, 于 37 $^{\circ}$ C 孵育 3 h, 观察血球的凝集情况, 根据公式计算抗体积数:

抗体水平 = $(S_1 + 2S_2 + 3S_3 + \dots + nS_n)$, 其中 S 为凝集程度的级别, 1, 2, 3, ..., n 为倍比稀释的指数。抗体积数待测药物组高于对照组, 结果即可判定为阳性。

3.5. 小鼠脾淋巴细胞悬液的制备

小鼠用颈椎脱臼方法处死后, 将小鼠完全浸泡于 75%的乙醇溶液中进行灭菌 5 min, 无菌操作下, 手术分离取出脾脏, 置于预冷的 PBS 液中, 在 PBS 中剪去多余组织, 用 RPMI 1640 培养基进行漂洗。将脾脏剪碎, 置于匀浆器中, 加入不含血清的 1640 培养基进行研磨, 再经筛网(200 目)过滤后, 将细胞悬液转移至离心管, 1500 $r \cdot \min^{-1}$ 进行离心 5 min。弃上清, 加入不含血清的 1640 培养基 2 mL, 再加入红细胞裂解液(6 mL), 充分震荡混匀, 静置 5 min; 于 3000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清(上述操作重复两次)。加入不含血清的 1640 培养基 1 mL 充分混匀, 转移至细胞培养瓶中, 于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 4 h 去除贴壁细胞, 收集未贴壁的细胞, 即可得到小鼠的脾淋巴细胞悬液。采用血球计数板进行细胞计数(却保活细胞数在 95%以上)。

3.6. 小鼠淋巴细胞转化实验(CCK-8 法)

用 1640 完全培养基将小鼠脾淋巴细胞的浓度调整为 1×10^6 /mL, 设置对照孔: 加入脾淋巴细胞悬液 100 μ L; 刺激孔: 100 μ L 脾淋巴细胞悬液 + 5 μ g/mL (终浓度)刀豆蛋白 A、100 μ L 脾淋巴细胞悬液 + 10 μ g/mL 脂多糖(终浓度); 空白孔: 100 μ L 完全培养基, 置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 24 h 和 48 h 后, 各孔加入 CCK-8 试剂(10 μ L), 继续孵育 3 h 后, 450 nm 波长下测定各孔光密度值。

3.7. 自然杀伤细胞(NK)活性检测

小鼠连续给药三七黄精膏 30 d 后, 采用颈椎脱臼法处死, 完全浸泡于 75%的乙醇溶液中进行灭菌 5

min, 提取分离制备效应细胞(脾淋巴细胞), 制备方法同上。采用完全培养基将脾淋巴细胞的浓度调整为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 。NK 活性测定前 24 h, 传代培养靶细胞(YAC-1 细胞), 使用前用 PBS 洗 3 次, 用完全培养基将 YAC-1 细胞的浓度调整为 $2 \times 10^4/\text{mL}$ 。在 96 孔培养板中, 反应孔按照 50:1 的效靶比分别加入效应细胞(脾淋巴细胞)和靶细胞(YAC-1 细胞)各 100 μL , 在靶细胞自然释放孔中仅加入 200 μL 用培养基稀释 1 倍的靶细胞; 在靶细胞最大释放孔中 1% NP40 和靶细胞各 100 μL ; 上述各组均设置 8 个复孔, 于细胞培养箱中孵育 4 h, 然后将液体收集于 1.5 mL 的离心管中, 以 4000 转/分离心 5 分钟, 取上清液以备用。按照试剂盒说明书进行后续操作。

按下列公式计算 NK 细胞活性, 阳性结果判定标准: 待测药物的自然杀伤细胞活性明显高于对照组。

$$\text{NK细胞活性}(\%) = \frac{U - B}{M - B}$$

U: 测定孔 LDH 单位数; B: 靶细胞自然释放孔 LDH 单位数; M: 靶细胞最大释放孔 LDH 单位数。

3.8. 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验

小鼠连续灌胃 27 d 后, 腹腔注射 1 mL 淀粉溶液(2%), 每天一次。24 h 后, 再进行腹腔注射 1 mL 鸡红细胞(20%)悬液, 随即轻轻按摩小鼠腹腔, 30 分钟后处死小鼠, 后将其固定于固定板上, 切开腹壁正中部位皮肤, 腹腔注射 1 mL 无菌的生理盐水, 旋转固定板 1 min 使生理盐水充分灌洗腹腔, 吸出腹腔灌洗液体。在玻片上分别滴加 1 滴生理盐水和 1 滴腹腔灌洗液, 充分混匀, 进行细胞涂片, 然后静置 10 min, 使腹腔巨噬细胞充分贴壁, 然后将玻片倾斜, 用瑞氏液染色后, 光学显微镜下观察对被吞噬的鸡红细胞和吞噬鸡红细胞的巨噬细胞进行计数。并按照下式计算吞噬百分率(PP)和吞噬指数(PI)。

$$\text{吞噬百分率(PP)} = \frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数量}}{\text{计数的巨噬细胞总数}} \times 100\%$$

$$\text{吞噬指数(PI)} = \frac{\text{被吞噬的鸡红细胞总数}}{\text{计数的巨噬细胞总数}}$$

待测药物的吞噬百分率或吞噬指数与对照组相比差异有统计学意义, 可判断为阳性结果。

3.9. 结果判定标准

根据《保健食品功能评价规范》对实验结果进行判定。增强免疫力结果总体阳性判定标准: 在免疫功能测定的四个方面(体液免疫功能、细胞免疫功能、单核-巨噬细胞功能和 NK 细胞活性)中, 任意两个方面结果阳性。各分项结果阳性判定标准: NK 细胞活性测定实验的两个剂量组结果为阳性即可判定; 体液免疫、细胞免疫和单核-巨噬细胞功能结果阳性判定标准一致, 均为该项目测定实验中的两个实验结果均为阳性, 或任一个实验的两个剂量组结果阳性即可判定该免疫项目结果为阳性。

3.10. 统计学方法

数据均采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 使用 SPSS 23.0 统计分析软件包对实验数据进行统计和处理, 采用参数检验中的单因素方差分析比较多组之间差异变化; 组间则采用 SNK-*q* 检验进行两两比较, 以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

4. 结果

4.1. 三七黄精膏对小鼠体质量的影响

结果显示, 连续灌胃给药 30 d 后, 与溶剂对照组比较, 三七黄精膏各剂量组小鼠的初始体质量、试验末体质量和体质量增重的差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

Table 1. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on body weight of mice ($\bar{x} \pm s$)**表 1.** 三七黄精膏对小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	初始体质量	试验末体质量	体质量增重
	只	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
溶剂对照组	8	21.78 ± 1.20	39.17 ± 2.30	17.39 ± 1.71
阳性对照组	8	22.32 ± 0.59	36.03 ± 2.43	13.71 ± 2.23
低剂量组	8	22.39 ± 1.10	39.82 ± 2.04	17.44 ± 1.85
中剂量组	8	22.58 ± 0.55	39.63 ± 1.66	17.05 ± 2.00
高剂量组	8	22.01 ± 0.91	40.16 ± 2.33	18.15 ± 2.18

4.2. 三七黄精膏对正常小鼠胸腺、脾脏指数的影响

与溶剂对照组相比,三七黄精膏各剂量组脾脏指数差异无统计学意义($P > 0.05$),胸腺指数差异也无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

Table 2. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on organ/body weight ratio of mice ($\bar{x} \pm s$)**表 2.** 三七黄精膏对小鼠脏器/体质量比的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	脾脏指数($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	胸腺指数($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
	只	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
溶剂对照组	8	3.29 ± 0.27	3.55 ± 0.28
阳性对照组	8	2.71 ± 0.39	2.79 ± 0.22
低剂量组	8	2.81 ± 0.19	2.76 ± 0.24
中剂量组	8	2.86 ± 0.26	3.10 ± 0.35
高剂量组	8	3.40 ± 0.18	3.21 ± 0.23

4.3. 三七黄精膏对小鼠血清溶血素的影响

与溶剂对照组相比,三七黄精膏各剂量组抗体积数显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),但各剂量组之间抗体积数差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

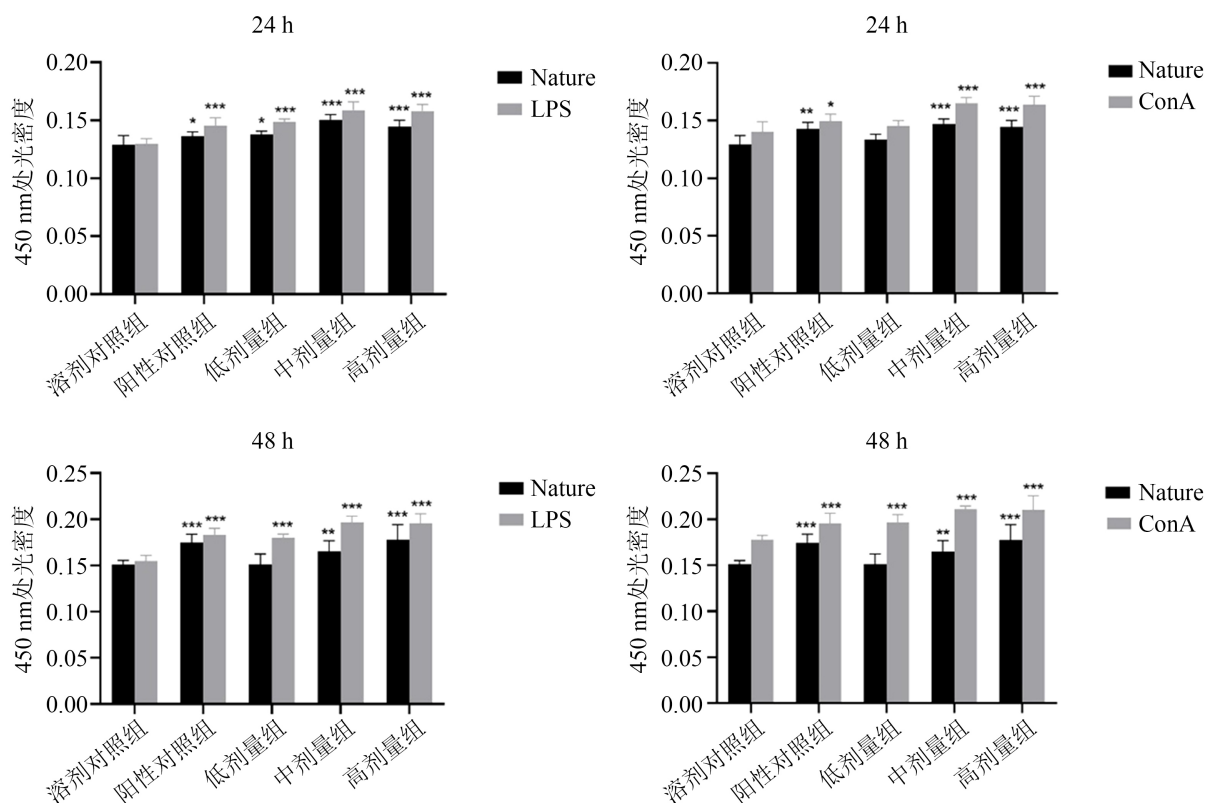
Table 3. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on serum hemolysin levels of mice ($\bar{x} \pm s$)**表 3.** 三七黄精膏对小鼠血清溶血素水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	抗体积数
	只	$\bar{x} \pm s$
溶剂对照组	8	82.75 ± 35.12
阳性对照组	8	114.25 ± 11.18*
低剂量组	8	106.13 ± 31.33*
中剂量组	8	112.25 ± 6.09*
高剂量组	8	112.00 ± 4.28*

与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$ 。

4.4. 三七黄精膏对小鼠脾淋巴细胞增殖和转化的影响

由图 1 可知,与溶剂对照组比较,24 h 后各药物组在自然和 LPS 刺激下光密度(OD)值均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.001$);与溶剂对照组比较,除三七黄精膏低剂量组外,24 h 后各药物组在自然和 ConA 刺激下光密度(OD)值均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。与溶剂对照组比较,48 h 后阳性对照组、三七黄精膏中、高剂量组自然条件下光密度(OD)值均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$),低剂量组未见明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$);各药物组在 LPS 和 ConA 刺激下光密度(OD)值均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.001$)。



与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Figure 1. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on splenic lymphocyte proliferation in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

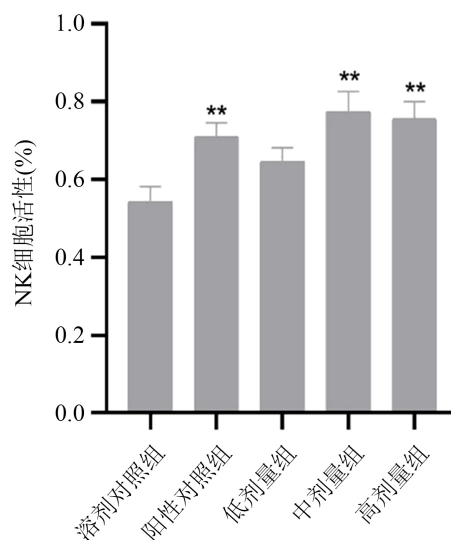
图 1. 三七黄精膏对小鼠脾淋巴细胞增殖转化的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

4.5. 三七黄精膏对小鼠 NK 细胞活性的影响

与溶剂对照组相比,三七黄精膏低剂量组的 NK 细胞活性未见明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$),三七黄精膏中高剂量组和阳性对照组 NK 细胞活性率显著增高,差异有统计学意义($P < 0.01$),见图 2、表 4。

4.6. 三七黄精膏对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

低、中、高剂量的三七黄精膏对正常小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬百分率(PP)和吞噬指数(PI)未见明显影响,与溶剂对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),表明三七黄精膏对小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力无明显影响,见表 5。



与溶剂对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

Figure 2. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on NK cell activity in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

图 2. 三七黄精膏对小鼠自然杀伤(NK)细胞活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 4. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on NK cell activity in mice ($\bar{x} \pm s$)

表 4. 三七黄精膏对小鼠自然杀伤(NK)细胞活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数		NK 细胞活性
	只		%
溶剂对照组	8		54.32 ± 11.05
阳性对照组	8		71.11 ± 9.99**
低剂量组	8		64.77 ± 9.62
中剂量组	8		77.48 ± 14.43**
高剂量组	8		75.72 ± 12.14**

与溶剂对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

Table 5. Effect of Sanqi-Huangjing ointment on phagocytosis function of peritoneal macrophages in mice ($\bar{x} \pm s$)

表 5. 三七黄精膏对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	吞噬率(PP) %	吞噬指数(PI)
	只	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
溶剂对照组	10	22.80 ± 3.70	0.25 ± 0.04
阳性对照组	10	23.65 ± 4.20	0.25 ± 0.04
低剂量组	10	23.18 ± 4.37	0.24 ± 0.04
中剂量组	10	26.85 ± 5.24	0.30 ± 0.06
高剂量组	10	26.80 ± 5.13	0.28 ± 0.06

5. 讨论

三七和黄精是我国医学宝库的名贵中药,传统中医上均有悠久的用药历史,均是传统的养生补益佳品,具有补气养阴润肺,补益脾胃的功效。多糖为三七和黄精的重要活性成分之一,具有免疫调节、抗炎、保护心血管、降血糖、保肝、保肾等多种药理作用[10][11]。

免疫系统是机体抵御和杀灭外源性微生物侵入的天然防线,可包括体液免疫、细胞免疫和非特异性免疫[12]。体液免疫即 B 细胞为主参与的免疫反应,机体血清溶血素滴度水平能够反映机体体液免疫功能[13]。细胞免疫是细胞介导的免疫反应,狭义来讲仅仅指 T 细胞介导的免疫反应,广义上来讲还包括其他细胞如 NK 细胞和巨噬细胞介导的免疫反应[14]。脾淋巴细胞的增殖和转化情况、NK 细胞活性可反映机体的细胞免疫功能。非特异性免疫是机体固有的生理防御反应,可对入侵的病原微生物和异物作出免疫应答。单核-巨噬细胞的吞噬功能的强弱反映非特异性免疫功能的情况[15][16]。

本研究采用 200 mg/kg、400 mg/kg 和 800 mg/kg 的三七黄精膏对正常昆明小鼠连续灌胃 30 天,通过检测多方面的免疫学指标,综合评价了三七黄精膏对正常小鼠的免疫调节作用,结果发现:体液免疫功能试验中,不同剂量的三七黄精膏能增加血清溶血素滴度水平;细胞免疫功能实验中,不同剂量的三七黄精膏明显促进脾淋巴细胞增殖和转化;NK 细胞活性实验中,不同剂量的三七黄精膏明显增加小鼠 NK 细胞杀伤能力。根据《保健食品功能评价规范》,本研究中三七黄精膏至少 2 个剂量在细胞免疫功能实验、体液免疫功能实验和 NK 细胞活性实验中结果呈阳性,表明三七黄精膏能够增强正常小鼠的细胞免疫功能、体液免疫功能和自然杀伤(NK)细胞活性。根据《保健食品功能评价规范》中增强免疫功能的阳性结果判定标准,三七黄精膏在免疫功能测定的四个方面中有 3 个方面结果呈阳性,因此可判断三七黄精膏具有增强免疫功能的作用。

综上所述,三七黄精膏具有免疫增强作用,能够明显增强正常小鼠细胞免疫功能、体液免疫功能和自然杀伤细胞活性,但三七黄精膏增强免疫功能的机制有待进一步研究。

基金项目

云南省重大科技专项计划项目“三七稀有皂苷等保健产品生物转化关键创新技术及产业化开发应用”(202002AA1000051);昆明医科大学生物资源数字化开发应用项目(202002AA100007)。

参考文献

- [1] 居乃香,孙静.三七药理作用的研究进展[J].北方药学,2014,11(11):90-91.
- [2] 高玉秋,李彬,张洁宏,等.三七原液增强免疫力的实验研究[J].中国热带医学,2012,12(12):1457-1459.
- [3] 黄依丹,成嘉欣,石颖,等.近五年三七化学成分、色谱分析、三七提取物和药理活性的研究进展[J].中国中药杂志,2022,47(10):2584-2596.
- [4] 陈新霞,顾呈华,杨明晶,等.三七多糖对小鼠免疫功能调节的研究[J].江苏预防医学,2007,18(3):10-12.
- [5] 钟媛媛,杨晓涵,张要武,等.三七多糖对小鼠免疫功能的影响[J].华西药学杂志,2016,31(6):573-576.
- [6] 国家药典委员会.中国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2020:319-320.
- [7] 杨迎,侯婷婷,王威,等.黄精多糖的药理作用研究进展[J].现代药物与临床,2022,37(3):659-665.
- [8] Cui, X., Wang, S., Cao, H., et al. (2018) A Review: The Bioactivities and Pharmacological Applications of *Polygonatum sibiricum* Polysaccharides. *Molecules*, **23**, 1170. <https://doi.org/10.3390/molecules23051170>
- [9] 吕品田,段昕波.黄精多糖对 MFC 胃癌荷瘤小鼠抑瘤及免疫调节作用[J].中成药,2020,42(8):2169-2172.
- [10] 蔡琳,彭鹏.三七药理作用的研究进展[J].山东化工,2021,50(3):70-71.
- [11] 李东洋,管贺,袁志鹰.黄精药理作用及其复方在中医临床中的应用[J].亚太传统医药,2021,17(7):197-200.
- [12] 李立,张新萍,王秋水,等.复合双歧胶囊对小鼠免疫功能的影响[J].郑州大学学报(医学版),2010,45(4):

635-637.

- [13] 郭爽, 张佐政, 曲佳乐, 等. 敖东酵素对小鼠体液免疫功能的影响[J]. 食品科技, 2014, 39(12): 43-46.
- [14] Iwasaki, A. and Medzhitov, R. (2015) Control of Adaptive Immunity by the Innate Immune System. *Nature Immunology*, **16**, 343-353. <https://doi.org/10.1038/ni.3123>
- [15] Artis, D. and Spits, H. (2015) The Biology of Innate Lymphoid Cells. *Nature*, **517**, 293-301. <https://doi.org/10.1038/nature14189>
- [16] 李立, 王勇, 王亚东, 等. 蜂胶胶囊对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国医药指南, 2012, 10(23): 9-10.