

中草药添加剂抗应激反应免疫药理试验研究*

贾英科, 高梅秀

(天津农学院, 天津 300384)

[摘要] 将中草药添加剂按常规方法煎煮, 制成质量浓度 1 g/mL 煎液。取体重 19~23 g 的健康小白鼠, 随机分组; 试验组每只每日口服煎液 0.5 mL, 对照组每只每日口服生理盐水 0.5 mL, 连续 7 d。停药后检测结果表明, 中草药添加剂可显著提高腹腔巨噬细胞吞噬功能 (t 测验 $P < 0.01$); 明显增加外周血液中 T.C 数量 (t 测验 $0.01 < P < 0.05$), 并显著提高血清抗体水平 (t 测验 $P < 0.01$)。因此认为, 该试验所用中草药添加剂能显著增强动物机体非特异性免疫功能和特异性免疫功能。

[关键词] 中草药添加剂; 抗应激反应; 免疫药理

[中图分类号] S865.1+30.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)04-0109-03

随着养鸡业的快速发展, 疫病的有效防治已摆在重要位置, 临床多采用生物疫苗(菌)苗预防或利用化学药物进行治疗, 亦有采用中草药添加剂进行预防和治疗的报道^[1], 都取得了显著的效果。由于这些药物的使用与环境及其他因素对鸡群的应激反应影响日益突出, 除了直接引起应激性疾病外, 还可引发一些条件性疾病, 导致鸡群生产性能下降, 死亡率提高。因此, 对鸡群应激反应进行综合防治已引起人们的高度重视。目前, 应用药物预防仍是一种简便、实用而有效的方法, 常用的抗应激药物主要有镇静剂类、维生素类、微量元素等, 但因其成本高, 且对鸡群生产性能有影响, 肉蛋内的残留不达标等原因, 使大面积推广应用受到限制^[1,2]。针对以上问题, 作者在研究天然中草药添加剂防治鸡群 B, BD, LT, EDS-76 等疫病的疗效和对鸡群药理、毒理及副作用的试验中, 发现将天然中草药作为添加剂的饲料, 不仅能预防和治疗鸡的某些疫病, 而且对防止鸡的应激反应, 提高生产性能有明显的效果, 为进一步探讨其免疫药理机制, 特设计了本试验。

1 材料与方法

1.1 药液制备

将用于防治 B, BD, LT, EDS-76 疫病的纯中草药添加剂分别依常规方法进行煎煮, 制成质量浓度 1 g/mL 的煎液, 无菌分装于试管中, 每管 20 mL, 加塞置 4~10 冰箱中备用^[3,4]。

1.2 试剂制备

体积分数 5% 鸡红细胞悬液、ANAE 反应液、绵羊红细胞悬液、都氏试剂等均按常规方法配制^[5]。

1.3 试验动物

选用体重 19~23 g 的健康小白鼠, 雌雄混用, 随机分为试验组和对照组, 试验重复 2 次。试验组每鼠每日口服添加剂煎液 0.5 mL; 对照组每鼠每日口服生理盐水 0.5 mL, 连服 7 d, 停药次日进行检测。

1.4 检测指标

1.4.1 腹腔巨噬细胞吞噬功能测定 检测前 1 天每鼠腹腔注射质量分数 0.5% 淀粉生理盐水 0.5 mL, 检测时每鼠腹腔注射体积分数 5% 鸡红细胞悬液 1 mL; 30 min 后拉颈致死小鼠, 从腹部正中剪开腹壁皮肤, 经腹膜注入生理盐水 2 mL, 轻揉腹部, 然后吸出腹腔洗液 1 mL, 平均滴于 2 片载玻片上, 温育, 漂洗, 晾干, 固定, 瑞氏染色, 每片油镜下计数 200 个巨噬细胞所吞噬的鸡红细胞数。按下列公式计算吞噬百分率和吞噬指数^[4,5]。

$$\text{吞噬百分率} = \frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{200 \text{ 个巨噬细胞 (已吞及未吞的)}} \times 100\%$$

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{被吞噬的鸡红细胞总数}}{200 \text{ 个巨噬细胞}} \times 0.5$$

1.4.2 外周血液淋巴细胞 ANAE 检测 小鼠尾尖采血推片, 血片不固定, 晾干后置于新鲜配制的 ANAE 反应液中 37 温育 2 h, 取出后流水冲洗 3 min, 晾干, 用质量分数 1% 甲基绿复染 1~2 min,

* [收稿日期] 2002-02-20

[基金项目] 天津市自然科学基金资助项目(973611911)

[作者简介] 贾英科(1955-), 男, 河北无极人, 教授, 主要从事动物预防医学的研究。

冲洗,晾干。油镜下计数 200 个淋巴细胞,计算 ANAE 阳性细胞百分率^[4,5]。

1.4.3 血清溶血素水平测定 于灌药第 4 天每鼠腹腔注射经无菌生理盐水稀释的浓度为 $20 \text{ 亿} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的绵羊红细胞 0.2 mL , 停药次日摘除小鼠眼球取血, 分离血清, 用生理盐水 500 倍稀释, 取 1 mL 加入冰浴中的反应管内, 依次加入 0.5 mL 绵羊红细胞, 1 mL 补体; 对照反应管以 1 mL 生理盐水代替鼠血清样品, 余同试验管。各管均在 37°C 恒温水浴中反应 10 min 后置冰浴中终止反应, 离心取上清液 1 mL , 加入 3 mL 都氏试剂; 另取 0.25 mL 试验用的绵羊红细胞, 加入 4 mL 都氏试剂, 用于检测绵

羊红细胞半数溶血时的血红蛋白吸收度值。加毕, 充分混匀后放置 10 min , 置分光光度计中 540 nm 比色, 按下列公式计算每只小鼠样品半数溶血值 HC_{50} ^[5]。

$$\text{HC}_{50} = \frac{\text{样品的吸收度值}}{\text{绵羊红细胞半数溶血时的吸收度值}} \times \text{稀释倍数}$$

2 试验结果

2.1 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

试验组吞噬百分率和吞噬指数均显著高于对照组 (t 测验 $P < 0.01$), 说明中草药添加剂能显著提高腹腔巨噬细胞吞噬功能(表 1)。

表 1 中草药添加剂对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

Table 1 Influence of Chinese herbal additive on macrophage phagocytosis of abdominal cavity

组别 Groups	鼠数 Mice	吞噬比率/% Engulfed ratio	吞噬指数 Engulfed index	
试验组 Test group	B	20	60.80 ± 4.45	1.06 ± 0.18
	BD	20	61.20 ± 4.76	1.04 ± 0.14
	LT	20	60.92 ± 5.00	1.05 ± 0.12
	EDS-76	20	62.00 ± 4.37	1.06 ± 0.15
对照组 CK	B	20	32.90 ± 3.14	0.63 ± 0.05
	BD	20	33.36 ± 3.12	0.64 ± 0.04
	LT	20	33.20 ± 3.14	0.70 ± 0.08
	EDS-76	20	32.70 ± 3.30	0.69 ± 0.02

注: 吞噬比率, t 测验 $P < 0.01$, 达极显著水平; 吞噬指数, t 测验 $P < 0.01$, 达极显著水平。

Note: Engulfed ratio, t inspection $P < 0.01$, extremely notable; engulfed index, t inspection $P < 0.01$, extremely notable

2.2 对外周血液 T 淋巴细胞(T. C)比率的影响

试验组 ANAE⁺ 细胞(T. C)比率与对照组比较差异显著 (t 测验, $0.01 < P < 0.05$), 说明中草药添加剂能明显增加外周血液中 T. C 数量(表 2)。

表 2 中草药添加剂对 T 细胞比率和溶血素水平的影响

Table 2 Influence of Chinese herbal additive on T. C ratio and level of haemolysin

组别 Groups	鼠数 Mice	T 细胞比率/% TC ratio	溶血素水平/ HC_{50} Level of haemolysin	
试验组 Test group	B	20	69.9 ± 6.3	135.2 ± 9.2
	BD	20	69.6 ± 7.0	134.8 ± 9.7
	LT	20	68.7 ± 6.5	134.7 ± 10
	EDS-76	20	70.4 ± 6.7	135.1 ± 8.9
对照组 CK	B	20	56.4 ± 5.8	83.6 ± 7.3
	BD	20	57.0 ± 6.0	82.9 ± 6.9
	LT	20	56.8 ± 4.9	83.1 ± 7.4
	EDS-76	20	57.2 ± 5.6	82.6 ± 7.2

注: T. C 比率, t 测验 $0.01 < P < 0.05$, 达显著水平; 溶血素水平, t 测验 $P < 0.01$, 达极显著水平。

Note: T. C ratio, t inspection $0.01 < P < 0.05$, notable; level of haemolysin white, t inspection $P < 0.01$, extremely notable

3 分析与讨论

1) 吞噬细胞是单核吞噬系统的重要组成部分, 在构成动物机体天然防御的非特异性免疫中起着重要作用。因此, 吞噬细胞吞噬活性大小在一定程度上代表着机体的非特异性免疫功能。动物机体外周血清中 T. C 比率主要反映机体的特异性细胞免疫功

能, T. C 比率越高, 则免疫水平也就越高^[6]。本试验结果表明, 应用防治 B, BD, LT, EDS-76 的中草药添加剂煎液均能显著提高小鼠巨噬细胞的吞噬功能(表 1), 吞噬比率和吞噬指数与对照组比较差异均达极显著水平; 同时可有效提高 T. C 在外周血液中的比率(表 2), 与对照组比较差异达显著水平。说明该中草药添加剂具有增强动物机体非特异性免疫

功能的作用。

2) 血清溶血素水平测定旨在检测药物对抗原诱导循环抗体水平的影响, 即通过B、C产生抗体——溶血素的变化反映机体体液免疫功能^[5]。试验结果表明, 中草药添加剂能显著提高小鼠血清溶血素的水平(表2), 与对照组比较差异极显著, 说明该中草药添加剂具有提高动物机体体液免疫功能的作用。

3) 动物机体对应激原刺激所产生的应激反应的强弱, 在较大程度上是机体免疫功能的反映, 也就是说, 机体的免疫功能, 尤其是非特异性免疫功能直接影响着机体的应激机制。机体的免疫力越强, 则对应激原刺激的耐受性越强, 应激反应就越轻微; 机体免疫力越弱, 则对应激原刺激的耐受力就越差, 应激反应就越强烈, 应激损害也就越严重^[7]。本试验显示, 中草药添加剂能显著提高机体腹腔巨噬细胞吞噬功能, 明显增加外周血液中T、C比率和血清溶血素水

平。说明该中草药添加剂能显著增强机体的非特异性免疫功能和特异性免疫功能, 这种增强机体免疫力的作用, 即是抗应激反应的一个重要的药理机制。

4) 当前, 临床应用中草药添加剂防治鸡B、BD、LT、EDS-76疫病取得了很好的效果, 尤其是对防疫效果不确切或禁止注射某种疫苗的非疫区的鸡群更显示出其优越性^[1, 8, 9], 在应用中草药添加剂有效防治鸡疫病的同时, 能够提高鸡群的生产性能和抵抗应激因素的能力。另外, 由于减少了化学药物的使用, 从而提高了产品质量, 对当前发展绿色食品, 保护生态环境和人民身体健康都具有重要的意义。由于中草药添加剂取材容易, 加工简单, 价格低廉, 高效无毒^[8-11], 本试验结果又进一步说明中草药添加剂具有增强机体免疫力的功能和抗应激反应的作用, 从而为开发我国中草药资源用于兽医临床实践提供了新的试验数据和途径。

[参考文献]

- [1] 于 船 动物疾病防治[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1995: 1-199.
- [2] 董漓波 家禽常用药物手册[M]. 北京: 金盾出版社, 1996: 124-168.
- [3] 贺生中 兽药制剂学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1999: 162-193.
- [4] 朱立平 免疫学常用实验方法[M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 151-188.
- [5] 陶文训 免疫学和免疫学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 96-111, 180-195.
- [6] 杨东亮 感染免疫学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998: 413-447.
- [7] 龚非力 基础免疫学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998: 263-284, 413-420.
- [8] 贾英科 鸡LT、B、BD中药防治技术研究[J]. 天津农学院学报, 1998, 5(4): 18-22.
- [9] 贾英科 法囊速效散防治鸡BD的研究[J]. 中兽医医药杂志, 1999, 18(1): 3-5.
- [10] 谢中权 天然中草药饲料添加剂大全[M]. 北京: 学苑出版社, 1996: 145-192.
- [11] 张 乔 饲料添加剂大全[M]. 北京: 北京工业大学出版社, 1996: 396-405.

Immunopharmacological studies of Chinese herbal additive on anti-allergic reaction

JIA Ying-ke, GAO Mei-xiu

(Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384, China)

Abstract: Several Chinese herbs including root of Chinese herbal additive were decocted in a conventional manner to be quality density 100% decoctum. Healthy mice of Kunming origin weighing 19-23 g, both male and female, were randomly divided into a treatment group and a control group. For 7 consecutive d, each of the treatment mice was poured with Chinese herbal additive decoctum every day a chicken 0.5 mL, and each of the control mice normal saline every day a chicken 0.5 mL. Percentage of phagocytosis, phagocytic index, ANAE+ cell (T cell) percentage and HC50 were determined the following day after withdrawal. It showed that Ying Ji Su enhanced the phagocytic function of abdominal macrophages (*t*-inspection $P < 0.01$), increased the number of T lymphocytes in the peripheral blood (*t*-inspection $0.01 < P < 0.05$), and improved serum antibody levels (*t*-inspection $P < 0.01$). It was concluded that Chinese herbal additive could significantly enhance both specific and non-specific immune functions of the body.

Key words: Chinese herbal additive; anti-allergic reaction; immunopharmacology