

·基础研究·

沙参麦冬汤对运动小鼠免疫功能的影响*

张继红¹ 焦晓明² 李儒新¹ 吴红娟³ 焦丝佳¹

摘要 目的:探讨沙参麦冬汤对运动小鼠免疫功能的影响。方法:40只雄性昆明种小鼠,随机分为4组:安静对照组、运动对照组、运动+小剂量沙参麦冬汤组、运动+大剂量沙参麦冬汤组,运动小鼠递增负荷游泳训练40d,游泳时间由40min开始渐增至100min,第40天游泳至力竭,24h后处死取血。测定小鼠免疫器官脏器/体重比值、外周血免疫球蛋白、外周血T细胞亚群。结果:服药组小鼠脾指数、外周血IgG、IgA、CD₄⁺T细胞百分比、CD₄⁺/CD₈⁺比值均显著高于运动对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$);大剂量组小鼠胸腺指数、血清IgM值显著高于运动对照组($P<0.05$)。结论:沙参麦冬汤具有提高高强度耐力训练小鼠免疫力的作用。

关键词 沙参麦冬汤;免疫器官;T淋巴细胞亚群;免疫球蛋白

中图分类号:G804.7 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2009)-05-0442-03

The effect of Radix Ophiopogon soup on the immune function of exercises mice/ZHANG Jihong, JIAO Xiaoming, LI Ruxin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(5):442—444

Abstract **Objective:** To study the effect of Radix Ophiopogon soup on the immune function of exercises mice. **Method:** Forty male Kunming mice were randomly divided into 4 groups: quiet control group, exercises control group, exercises + Radix Ophiopogon soup of low-dose group, exercises + Radix Ophiopogon soup of high-dose group. The exercises mice swam with progressively increased load for 40d, Twenty-four h after the last exhaustive swimming, the mice were sacrificed. The changes of immune organs/body weight ratio, the peripheral blood immunoglobulin, and peripheral blood T lymphocytes subsets of mice were determined. **Result:** Spleen index, peripheral blood IgG, IgA, CD₄⁺T cells percentage and CD₄⁺/CD₈⁺ ratio in two drug groups were significantly higher than that in exercises group ($P<0.01$ or $P<0.05$); Hymus index, serum IgM of high-dose group were significantly higher than that in exercises group ($P<0.05$). **Conclusion:** Radix Ophiopogon soup could enhance the immunity of mice with strong endurance training.

Author's address Department of Physical Education, Xiangnan College, Chenzhou, 423000

Key words Radix Ophiopogon soup; immune organ; T lymphocytes subsets; immunoglobulin

已有研究表明,中小负荷的运动训练可以提高机体的免疫功能;而长期大强度的运动训练,特别是长时间的耐力运动则抑制机体的免疫功能,从而导致运动员免疫功能降低,容易发生感染性疾病,影响运动能力的提高和发挥^[1-9]。因此,大运动量训练后免疫功能恢复手段的研究,为当今运动免疫学研究的热点之一。目前应用中药抗运动性免疫功能低下的研究虽有不少,但多从“补气助阳”入手,应用“养阴”方法调节运动免疫功能的研究报道很少^[10]。本研究采用滋阴清热代表方沙参麦冬汤,旨在观察清热滋阴药物对运动小鼠免疫指标的影响,为寻找能有效调节运动免疫功能的中药方剂提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康雄性昆明种小鼠50只,体重 20 ± 2.28 g,鼠龄6周(中南大学实验动物饲养中心),适应性喂养2天,筛选掉游泳能力低下的小鼠。然后随机分为4组:安静对照组、运动对照组、运动+小剂量沙参麦冬

汤组(6g/kg·d)、运动+大剂量沙参麦冬汤组(12g/kg·d),每组10只。沙参麦冬汤组小鼠每日灌胃0.2ml中药,两对照组每日灌胃0.2ml生理盐水,持续40d。

1.2 药物制备

沙参麦冬汤(原方剂量:沙参15g、玉竹12g、炙甘草4.5g、冬桑叶9g、麦冬12g、生扁豆9g、天花粉9g),所用生药从郴州市第三人民医院中药房购得,经湖南中医药大学中药剂科鉴定为地道药材。将所购药材加相当于药材量6倍的冷水浸泡1—2h,煮沸30min,过滤,药渣加3倍水煮沸20min,过滤,合并2次滤液,水浴上浓缩成0.6g/ml(小剂量组)和1.2g/ml(大剂量组)生药,4℃冰箱保存备用。

1.3 运动方案

除安静对照组外其余组大鼠每天进行无负重游

* 基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(08C802)

1 湘南学院体育系,郴州,423000

2 郴州市第三人民医院

3 湖南中医药大学

作者简介:张继红,女,副教授

收稿日期:2009-01-06

泳(水温 $28\pm 2^{\circ}\text{C}$, 水深 40cm 左右), 递增负荷游泳训练 40d, 第 1 周每天 40min, 第 2 周游泳时间每天增加 10min, 至第 14 天延长至 100min, 此后维持这一运动强度直至训练结束。最后一次训练游泳至力竭, 力竭判断标准为: 小鼠沉入水中超过 10s, 且放在平面时无法完成翻正反射。

1.4 样本采集

力竭小鼠休息 24h 后, 用乙醚麻醉, 断头取血 2ml, 肝素抗凝, 同时分离出胸腺和脾脏。取血 1ml 静置 30min 后 250 转/min 离心 10min, 取上清液体保存于小试管中, -20°C 冻存待测。

1.5 指标的测试和方法

1.5.1 血清免疫球蛋白的测定: 取待测血清 0.1ml, 加入生理盐水 0.3ml 混匀, 采用单向免疫扩散法检测小鼠血清 IgA、IgG、IgM 含量。IgA、IgG、IgM 免疫试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.5.2 脾指数和胸腺指数的测定: 采用称重法, 测量仪器为 JA3003 型精密天平。具体方法: 称量小鼠体重(g)后处死小鼠, 取出并称重脾脏(mg), 胸腺(mg), 分别计算脾指数和胸腺指数, 脾指数=脾重/体重(mg/g), 胸腺指数=胸腺重/体重(mg/g)。

1.5.3 T 淋巴细胞亚群的测定: 取 25 μl 肝素抗凝血, 分别加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗小鼠 CD_4 或 CD_8 McAb33ul (pH7.2 的 PBS 对倍稀释), 混匀, 室温孵育 30min, 加入 750 μl 双蒸水于抗凝血中溶血, 混匀后再加入 750 μl pH7.2 的 PBS 稀释血液, 流式细胞仪检测小鼠外周血 CD_4^+ T、 CD_8^+ T 淋巴细胞的百分率(各检测 5000 个细胞)。

1.6 统计学分析

用 SPSS10.0 软件对所测数据进行处理, 结果以均数 $\pm$ 标准差表示, 数据组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 沙参麦冬汤对小鼠血清免疫球蛋白的影响

表 1 显示, 运动对照组小鼠各血清免疫球蛋白值均低于其他 3 组, 其血清 IgG、IgA、IgM 含量显著低于安静对照组和运动+大剂量中药组 ($P<0.05$), 与运动+小剂量中药组比较, 其 IgG、IgA 含量显著降低

表 1 沙参麦冬汤对运动小鼠血清

IgA、IgG、IgM 含量的影响 ($\bar{x}\pm s$, g/dl)

组别	IgA	IgG	IgM
安静对照组	1.50 ± 0.24^{②}	15.02 ± 1.56^{②}	1.87 ± 0.31^{①}
运动对照组	1.10 ± 0.18	12.14 ± 1.89	1.36 ± 0.32
运动+小剂量中药组	1.28 ± 0.20^{①}	13.82 ± 1.62^{①}	1.41 ± 0.34
运动+大剂量中药组	1.43 ± 0.27^{②③}	14.45 ± 1.78^{②③}	1.64 ± 0.25^{②③}

①与运动对照组相比 $P<0.05$, ②与运动对照组相比 $P<0.01$, ③与安静对照组相比 $P>0.05$

($P<0.05$), IgM 含量无显著差异 ($P>0.05$); 运动+大剂量中药组与安静对照组比较, IgG、IgA、IgM 含量均无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.2 沙参麦冬汤对小鼠胸腺指数、脾指数的影响

表 2 显示, 运动对照组小鼠胸腺指数、脾指数分别低于其余各组, 与安静对照组和运动+大剂量中药组比较差异显著 ($P<0.05$), 与运动+小剂量中药组相比脾指数显著降低 ($P<0.05$), 胸腺指数差异不显著 ($P>0.05$); 运动+大剂量中药组与安静对照组比较, 均无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.3 沙参麦冬汤对小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

表 3 显示运动对照组小鼠外周血 CD_4^+ T 细胞百分比、 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 比值分别低于安静对照组、运动+小剂量中药组和运动+大剂量中药组, 与这三组差异显著 ($P<0.05$), 运动+沙参麦冬汤两组小鼠外周血 CD_8^+ T 细胞百分比与运动组比较有下降趋势, 但差异无显著性意义 ($P>0.05$)。运动+大剂量中药组和安静对照组相比差异不显著 ($P>0.05$)。

表 2 沙参麦冬汤对运动小鼠

胸腺指数、脾指数的影响 ($\bar{x}\pm s$, mg/g)

组别	胸腺指数	脾指数
安静对照组	4.68 ± 0.72^{②}	6.26 ± 1.45^{②}
运动对照组	3.25 ± 0.74	4.23 ± 1.68
运动+小剂量中药组	3.88 ± 0.89	5.5 ± 1.12^{①}
运动+大剂量中药组	4.14 ± 0.83^{①③}	6.33 ± 1.36^{②③}

①与运动对照组相比 $P<0.05$, ②与运动对照组相比 $P<0.01$, ③与安静对照组相比 $P>0.05$

表 3 沙参麦冬汤对小鼠外周血 T 细胞亚群的影响 ($\bar{x}\pm s$, %)

组别	CD_4^+ T	CD_8^+ T	$\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$
安静对照组	44.78 ± 3.14^{②}	16.35 ± 2.21	2.73 ± 0.38^{②}
运动对照组	33.56 ± 2.93	17.58 ± 1.72	1.90 ± 0.19
运动+小剂量中药组	36.43 ± 1.92^{①}	17.22 ± 2.13	2.11 ± 0.25^{①}
运动+大剂量中药组	42.20 ± 2.56^{②③}	15.94 ± 1.93	2.64 ± 0.45^{②③}

①与运动对照组相比 $P<0.05$, ②与运动对照组相比 $P<0.01$, ③与安静对照组相比 $P>0.05$

3 讨论

多数研究表明, 长时间大强度的耐力训练可以抑制机体免疫功能。沈维克^[1]发现长期大运动量训练可使运动员免疫功能受到明显抑制: 白细胞总数、免疫球蛋白 IgA、IgG 以及补体 C3 含量均显著降低。本试验结果表明, 运动小鼠免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 含量受到大强度运动训练的影响而显著降低, 与文献基本一致^[2]。而服用沙参麦冬汤后, 其血清 IgA、IgG、IgM 的含量显著升高, 并基本接近安静对照组, 提示沙参麦冬汤能提高 B 淋巴细胞免疫功能。

过度运动能损伤机体免疫器官, 从而导致脾脏和胸腺重量下降、微细结构的改变, 使器官的免疫反应降低^[7]。本研究结果亦提示长时间大负荷训练会降低胸腺、脾脏重量, 使胸腺指数和脾指数降低, 与文

献报道一致。本研究还提示沙参麦冬汤可抵抗长时间耐力训练引起胸腺指数、脾指数的下降,预防机体免疫器官的损伤,这一研究结果与其他报道沙参麦冬汤能拮抗阴虚模型小鼠脾指数下降的相关文献结果有所不同^[11]。

目前,多数研究表明过量运动会导致外周血 CD₄⁺百分比、CD₄⁺/CD₈⁺比值降低,从而抑制机体的细胞免疫反应^[8-9]。尹剑春^[8]的研究发现8周的120min游泳训练使得大鼠的CD₃⁺数目和CD₄⁺/CD₈⁺的比值以及IL-2水平显著下降,说明大强度运动训练抑制了机体的免疫机能。本研究亦提示长时间大负荷训练会降低机体外周血CD₄⁺T细胞百分比、CD₄⁺/CD₈⁺比值,与上述报道结果一致。之所以对CD₈⁺百分比影响不大,可能与过量运动引起血浆皮质醇和细胞因子IL-6的升高,从而刺激CD₄⁺细胞等有关。有研究表明,沙参麦冬汤具有增强机体免疫力的作用^[11-13]。杨敬宁等^[12]的实验说明沙参麦冬汤能提高阴虚模型组大鼠T淋巴细胞增殖和产生IL-2的能力,降低IL-6的含量,消除IL-6的免疫抑制效应,从而提高机体免疫功能。本研究结果显示运动+中药组小鼠外周血CD₄⁺T细胞百分比、CD₄⁺/CD₈⁺比值分别明显高于运动组,表明沙参麦冬汤能提高长时间大负荷训练小鼠T淋巴细胞免疫功能。胸腺是产生免疫的中枢淋巴器官,为免疫细胞分化的场所,主要功能是产生T细胞和分泌胸腺因子,发挥细胞免疫功能。沙参麦冬汤之所以能提高运动小鼠外周血CD₄⁺T细胞百分比、CD₄⁺/CD₈⁺比值,可能与沙参麦冬汤能抵抗长时间大负荷训练引起的机体免疫器官的损伤、提高胸腺指数有关。

由于运动过程中大量汗出,伤津耗液,可导致阴液不足,过度运动易伤津液,“燥气先伤于华盖”,外则卫受邪郁,内为肺失清肃,仅在肺卫之证。祖国医学认为津液是包括多种营养物质、具有多种生理功能的水液之总称,是人体“正气”的组成部分而参与抗邪御体。故伤津耗液不仅是水分的消耗,也可使正气受损,肺卫失固。本研究显示沙参麦冬汤能抵抗长时间大强度训练引起的血清IgA含量下降,由于分泌型IgA能阻止病原微生物由黏膜侵入体内,具有抗菌、抗毒素和抗病毒等多种作用,是黏膜局部抗感染的重要免疫物质,故能对抗过度运动引起的气道免疫防御屏障功能障碍。

沙参麦冬汤出自《温病条辨》,是清养肺胃,生津润燥代表方剂,近年来广泛应用于呼吸系统疾病疗效颇著。现代药理研究表明其方中的北沙参多糖、麦冬多糖、玉竹多糖等多种有效成分均具有免

疫活性。韩凤梅等^[14]研究表明山麦冬多糖能保护由⁶⁰Co- γ 射线全身照射和环磷酰胺造成的免疫低下小鼠的胸腺和脾脏,能显著增强免疫低下小鼠的胸腺和脾脏重量,还能升高注射环磷酰胺小鼠外周血的白细胞数。

综上所述,40d的耐力训练造成小鼠免疫球蛋白IgA、IgG、IgM的含量和CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺比值显著下降,脾脏和胸腺重量降低,表明长期大负荷耐力训练可以导致机体免疫功能的明显降低。而沙参麦冬汤能维持运动小鼠外周血免疫球蛋白、T淋巴细胞亚群等参数在正常范围,提高脾指数和胸腺指数,增强免疫功能,提示沙参麦冬汤对大强度耐力训练小鼠具有增强机体免疫力的作用。本文仅是动物实验,对运动员是否同样有效,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 沈维克, 万文君, 强太平. 中长跑运动员的免疫功能状态暨调理思路[J]. 北京体育大学学报, 2003, 26(3): 338—339, 346.
- [2] Krzywkowski K. Effect of glutamine and protein supplementation on exercise-induced decreases in salivary IgA [J]. J Appl Physiol, 2001, 91(2): 832.
- [3] 于洋, 杨贤罡, 崔荣荣. 运动对细胞因子动力学的影响及其机制探讨[J]. 中国康复医学杂志, 2007, 22(11): 1046—1050.
- [4] 文质君, 陈筱春, 朱梅菊. 密穗马先蒿对耐力运动小鼠红细胞参数、抗氧化和免疫功能的影响 [J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(11): 1022—1024.
- [5] 王家忠, 姜传银. 大强度训练对运动员NK、NKT免疫细胞的影响[J]. 天津体育学院学报, 2007, 22(2): 137—139.
- [6] 于洋, 杨贤罡. 运动对癌症患者免疫功能的影响及康复治疗应用的研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(9): 后插1—后插4.
- [7] Gruzdera ON, Chikhman UN. The structure of the white pulp of the spleen and the peripheral blood indices in rats under increased muscle activity [J]. Mortologia, 1999, 116(7): 658.
- [8] 尹剑春. 不同负荷运动训练对大鼠血清白细胞介素2、皮质酮、下丘脑和血清 β 内啡肽及血浆T淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(7): 593—595.
- [9] Steensberg A, Toft AD, Bruunsgaard H, et al. Strenuous exercise decreases the percentage of type 1 T cells in the circulation[J]. J Appl Physiol, 2001, 91(4): 1708—12.
- [10] 李梅, 姜欣. 中医药对运动免疫功能影响的研究进展[J]. 中医药学刊, 2006, 24(2): 318—319.
- [11] 马健, 卞慧敏, 龚婕宁, 等. 滋阴代表方对小鼠脑、免疫器官及其SOD、MDA的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(2): 46—48.
- [12] 杨敬宁, 周彬. 沙参麦冬汤对阴虚大鼠免疫功能的影响[J]. 实用中医药杂志, 2005, 21(17): 715—716.
- [13] 舒琦瑾, 吴良村. 新加沙参麦冬汤抗肿瘤的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(4): 34—36.
- [14] 韩凤梅, 刘春霞, 陈勇. 山麦冬多糖对免疫低下小鼠的保护作用[J]. 中国医药学报, 2004, 19(6): 347—348.