

茯苓木香配伍增强免疫实验研究

倪莺萍 赵 星

北京惠蜂高科生物技术有限公司 100024

【摘要】目的 研究茯苓、木香及配伍增强免疫的作用及安全性。方法 增强免疫实验：参考 2003 版保健食品检验与评价技术规范进行实验，茯苓、木香及茯苓、木香配伍组分别以 0.27g/kg.BW 剂量给予小鼠灌胃，平行设置阴性对照组，采用 MTT 法检测 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞增殖转化功能，耳肿胀法检测小鼠的迟发型变态反应，Jerne 改良玻片法检测小鼠抗体生成细胞数，血凝法检测小鼠血清溶血素水平，内眦静脉注射法检测碳廓清能力，半体内法检测小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力，乳酸脱氢酶测定法检测 NK 细胞活性。以茯苓木香复合物灌胃小鼠进行急性毒性实验，并以 0.83、1.67、3.33g/kg.bw（相当于人体推荐剂量的 25 倍、50 倍、100 倍）剂量对大鼠进行 30d 喂养，观察生长发育情况，进行血液学及血液生化指标检测，脏器系数和病理组织学检查。结果 各组小鼠体重及实验期间小鼠体重增长与阴性对照组间比较差异无统计学意义，生理体征、外观、行为等均未见异常；茯苓组、木香组及茯苓、木香配伍组 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验、迟发型变态反应（DTH）试验结果阳性；木香及配伍组抗体生成试验结果阳性；茯苓及配伍组血清溶血素试验结果阳性；各实验组碳廓清试验、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验结果阳性、NK 细胞活性测定结果阳性。茯苓木香复合物灌胃给药最大耐受剂量 > 15g/kg.bw，无急性毒性作用；30d 喂养实验未见明显毒副作用。结论 茯苓、木香二者均具有增强免疫力作用，二者合用免疫增强效果更佳，且安全无毒副作用。

【关键词】茯苓，木香，免疫

茯苓在我国食用的历史已有两千多年，《神农本草经》中将茯苓列为“上品”，称其“久服安魂养神，不饥延年”。茯苓性甘、淡、平，入心、脾、肾经，也是著名的食用菌，药理实验表明茯苓具有渗湿利尿、合胃健脾、宁心安神、抑菌、增强机体抗病能力及降低血糖的功效^[1-5]；木香系菊科植物木香的干燥根，性辛、苦、温，入脾、胃经，具有行气止痛、消食健脾之功效，是治疗胃肠疾病的常用药^[6]。药理实验表明木香具有利尿、增强免疫力等功效^[7-8]。

本实验分别对茯苓、木香及其配伍进行增强免疫的实验研究，参考《保健食品检验与评价技术规范》（2003 版）试验方法进行相关实验，并对其配伍的安全性进行实验研究，为茯苓、木香的临床应用提供一定的数据基础。

1 仪器与试剂

1.1 试剂

试剂：RPMI1640 培养液、小牛血清、ConA、异丙醇、PBS 缓冲液、MTT、Hank's 液、DNFB、鸡红细胞、补体（豚鼠血清）、绵羊红细胞（SRBC）、Gimsa 染液、2-ME、青霉素、链霉素、YAC-1 细胞、硝基氯化四氮唑、乳酸脲、氧化型辅酶 I。

茯苓、木香均采购自湖南省南国药都中药饮片有限公司。

1.2 实验动物

选用苏州大学新药研究中心培育的 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠 60 只（合格证编号 202100955），体重为 18~22g，Wistar 大鼠 60 只，雌雄各半，体重为 180~220g。

1.3 仪器

电子分析天平、洁净工作台、离心机、显微镜、酶标仪、二氧化碳培养箱、全自动生化分析仪等。

2 方法

2.1 动物分组与样品配制

2.1.1 动物分组

小鼠随机分四组，茯苓组（0.27g/kg.BW）、木香组（0.27g/kg.BW）、茯苓木香配伍组（0.27g/kg.BW），同时设 1 个阴性对照组，增强免疫力实验每组 10 只动物。

阴性对照组给予等体积的生理盐水，每天灌胃 1 次，连续 30d。

2.1.2 样品配制

茯苓组：称取茯苓 100g，加 10 倍量水煎煮两次，合并提取液，进行浓缩至浓度 1g/ml；木香组：称取木香 100g，加 10 倍量水煎煮两次，合并提取液，进行浓缩至浓度 1g/ml；茯苓木香配伍组：称取茯苓、木香各 100g，加 10 倍量水煎煮两次，合并提取液，进行浓缩至浓度 1g/ml，所有药液配制好后分装放置在 -18℃ 环境中冷冻保存，给药前取出室温解冻并恢复至室温相同温度。

2.2 动物生长和脏器 / 体重比值测定

末次给药结束后 2h，将称重后的小鼠处死，摘取胸腺和脾脏，在电子分析天平上精确称重，计算脏 / 体比值。

2.3 增强免疫力实验

采用 MTT 法检测 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞增殖转化功能，耳肿胀法检测小鼠的迟发型变态反应，Jerne 改良玻片法检测小鼠抗体生成细胞数，血凝法检测小鼠血清溶血素水平，内眦静脉注射法检测碳廓清能力，半体内法检测小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力，乳酸脱氢酶测定法检测 NK 细胞活性，参照《保健食品检验与评价技术规范》（2003 版）试验方法进行。

2.4 毒理学评价

2.4.1 急性毒性实验：小鼠随机分两组，每组 10 只，禁食 16h，于 24h 内灌胃给药 3 次，累计给药量 15g/kg。给药后观察 14d 内小鼠的行为活动、精神状态，眼口鼻有无异常分泌物，体重变化及死亡情况。

2.4.2 30 天喂养试验：大鼠 60 只，雌雄各半，随机分为茯苓木香配伍 0.83、1.67、3.33g/kg.bw（相当于人体推荐剂量的 25 倍、50 倍、100 倍）3 个剂量组和空白对照组，自由饮食，连续喂养 30d，每天观察并记录动物的外观行为，对体重增长、饮水量、摄食量、血液学（红细胞计数、白细胞计数、血红蛋白含量、中性粒细胞、血小板计数、淋巴细胞、单核细胞）、血液生化学（谷草转氨酶、谷丙转氨酶、尿素氮、肌酐、总胆固醇、总蛋白、白蛋白、甘油三酯、血糖）检测、并解剖进行脏器系数和病理组织学检查。

3 实验结果

3.1 样品对小鼠生长、体重和免疫器官脏器/体重比值的影响

在增强免疫力方面的实验中各组小鼠的生长状况良好，各组小鼠体重及实验期间小鼠体重增长与阴性对照组间比较差异无统计学意义，生理体征、外观、行为等均未见异常。增强免疫力实验不同实验组的胸腺 /

体重及脾脏 / 体重比值与阴性对照组比较差异均无统计学意义。

3.2 增强免疫力功能实验结果

3.2.1 样品对小鼠细胞免疫的影响

ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验：茯苓组、木香组及茯苓木香配伍组小鼠的淋巴细胞转化能力均高于阴性对照组，与阴性对照组比较差异具有统计学意义 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。迟发型变态反应 (DTH) 试验：茯苓组、木香组及配伍组小鼠的左右耳片重量差值均高于阴性对照组，与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。判定细

胞免疫试验结果阳性，结果见表 1。

3.2.2 样品对小鼠的体液免疫的影响

抗体生成细胞测定：木香组及茯苓木香配伍组小鼠的抗体生成细胞数均高于阴性对照组，与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)。血清溶血素测定：茯苓组及配伍组小鼠的抗体积数均高于阴性对照组，与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$)，显示体液免疫试验结果阳性，结果见表 1。

表 1 小鼠细胞免疫功能、体液免疫功能实验结果 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

分组	淋巴细胞增殖能力 (OD 值)	左右耳片重量差 (mg)	溶血空斑数 (1x10 ¹⁰ 脾细胞)	抗体积数
阴性对照组	0.13 ± 0.06	10.45 ± 0.88	156.7 ± 21.5	122.2 ± 21.7
茯苓组	0.18 ± 0.05*	15.71 ± 1.39*	175.6 ± 13.8	195.6 ± 32.1*
木香组	0.20 ± 0.08*	14.65 ± 1.57*	202.6 ± 16.4*	147.4 ± 36.4
茯苓木香配伍组	0.24 ± 0.07**	19.18 ± 1.42**	243.8 ± 24.6**	221.5 ± 46.2**

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

3.2.3 单核-巨噬细胞功能试验

小鼠碳廓清试验：茯苓组、木香组及茯苓木香配伍组小鼠的吞噬指数均高于阴性对照组，与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验：样品各剂量组小鼠的腹腔巨噬细胞对鸡红细胞的吞噬指数和吞噬率均高于阴性对照组，与阴性对照组相比

差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。判定单核-巨噬细胞功能试验结果阳性，结果见表 2。

3.2.4 样品对小鼠 NK 细胞活性的实验

与阴性对照组相比，各组小鼠的 NK 细胞活性均有不同程度的提高，茯苓组、木香组差异明显 ($p < 0.05$)、茯苓木香配伍组差异显著 ($p < 0.01$)，NK 细胞活性测定结果阳性，结果见表 2。

表 2 小鼠单核-巨噬细胞吞噬与 NK 活性细胞实验结果 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

分组	碳廓清吞噬指数	腹腔巨噬细胞吞噬红细胞		NK 细胞活性 (%)
		吞噬率 (%)	吞噬指数	
阴性对照组	8.01 ± 1.49	16.2 ± 2.1	0.51 ± 0.07	31.2 ± 10.4
茯苓组	11.88 ± 2.14*	24.9 ± 1.1*	1.02 ± 0.04*	39.5 ± 11.2*
木香组	11.65 ± 2.46*	26.9 ± 2.3*	1.18 ± 0.06*	40.6 ± 13.5*
茯苓木香配伍组	13.22 ± 1.56*	29.7 ± 1.7*	1.24 ± 0.05*	46.9 ± 14.7**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

3.3 毒理学评价

3.3.1 急性毒性实验

试验期间各组动物活动自如，毛色光泽、饮食正常、体重增长正常。未见明显异常反应，无死亡。灌胃给药最大耐受剂量 > 15/kg，无急性毒性作用。

3.3.2 30 天喂养试验

各组实验动物活动、行为正常，毛色光泽、饮食正常，体重增长、摄食量、饮水量均无异常，与对照组比较无明显差异 ($P > 0.05$)。各组实验动物的血液学及血液生化指标均在正常参考值范围内，与对照组比较均无明显差异 ($P > 0.05$)。经系统解剖、肉眼观察，各剂量组动物心、肝、肾、胃、脾和睾丸等主要脏器外观形态、色泽、轮廓体积等均未见异常病理改变，各组间未见显著性差异 ($P > 0.05$)。动物组织器官的病理组织学检查也未发现与受试品有关的毒性反应发生。

3.4 实验数据统计

所有实验数据经 SPSS22.0 统计软件进行统计并做方差分析处理。

4. 小结与讨论

茯苓是一种药食两用的真菌，茯苓多糖是茯苓的主要活性成分之一，有研究表明，茯苓多糖有针对性地保护免疫器官、增加细胞免疫的功能，从而改善机体状况，增强抗感染能力；茯苓多糖在一定程度上加快造血机能的恢复，并可改善老年人免疫功能，增强体质，保护骨髓，减轻和预防化疗的毒副作用，达到扶正固本、健脾补中的作用。木香行气止痛、健脾消食，是一种可用于保健食品的物品，含有木香的健脾消食丸可以有效地提高大黄所致脾虚小鼠的体液免疫功能^[9]，有研究表明，木香能升高免疫器官指数，增加抗体生成细胞数，具有减缓老年小鼠的免疫力降低的功效。

本次实验结果表明，茯苓木香复配物灌胃给药最大耐受剂量 > 15g/kg.bw，无急性毒性作用；30d 喂养实验未见明显毒副作用。茯苓组、木香组及茯苓、木香配伍组 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验、迟发型变态反应 (DTH) 试验结果阳性；木香组及配伍组抗体生成试验结果阳性；茯苓组及配伍组血清溶血素试验结果阳性；茯苓组、木香组及茯苓、木香配伍组碳廓清试验、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验、NK 细胞活性测定结果阳性。茯苓、木香二者均具有增强免疫力作用，且二者合用免疫增强效果更佳。

参考文献：

[1] 中国药科大学. 中药辞海 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 1272-1278.
 [2] 沈映君. 中药药理学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 87-89.
 [3] 徐锦堂. 中国药用真菌学 [M]. 北京: 北京医科大学/中国协和医科大学联合出版社, 1997: 547-573.
 [4] 应建浙, 卯晓岚, 马启明, 等. 中国药用真菌图鉴 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 202-203.
 [5] 杨冉, 李建军, 屈凌波, 等. 茯苓萜类的高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2004, 35 (3): 273-275
 [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 62-63.
 [7] 王永兵, 王强, 毛福林, 张玉凤, 黄芳, 窦昌贵. 木香的药理学研究 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32 (2): 146-148.
 [8] 戴柏勇, 王海珍. 木香不同溶剂提取物食用安全性与保健功效初探 [J]. 维吾尔医药, 2022 (5): 188-189.
 [9] 金鑫, 刘鸿雁, 周建平. 健脾消食丸药理学研究 [J]. 中成药, 2004, 26 (1): 43-45.