

本文引用: 黎壮伟, 罗英田, 彭麟斯, 张广丽. 龟板固本方对环磷酰胺诱导小鼠免疫抑制的改善作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(3): 483–489.

龟板固本方对环磷酰胺诱导小鼠免疫抑制的改善作用

黎壮伟¹, 罗英田², 彭麟斯², 张广丽^{1*}

1. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

〔摘要〕 **目的** 探讨龟板固本方对环磷酰胺(CTX)诱导的免疫抑制小鼠的免疫调节作用。**方法** 将 C57BL/6J 小鼠按体重随机分为正常对照组、模型组、胸腺肽组[100 μ g/(kg·d)]、龟板固本方低剂量组[5 g/(kg·d)]、龟板固本方高剂量组[20 g/(kg·d)], 每组 10 只。胸腺肽组腹腔注射相应剂量的胸腺肽, 龟板固本方低、高剂量组灌胃相应剂量的龟板固本方, 正常组和模型组灌胃等量生理盐水, 1 次/d, 连续 7 d。除正常对照组外, 其余各组小鼠在最后 3 d 内连续腹腔注射 CTX, 剂量为 80 mg/(kg·d), 以建立免疫抑制小鼠模型。测定各组小鼠的体质量及脾脏指数、胸腺指数、肝脏指数; 全自动血液分析仪检测各组小鼠白细胞数量、红细胞数量及血小板数量; 瑞氏染色检测各组小鼠巨噬细胞吞噬率和巨噬细胞吞噬指数; MTT 检测各组小鼠 T 淋巴细胞刺激指数; 乳酸脱氢酶(LDH)测定各组小鼠自然杀伤(NK)细胞杀伤活性; ELISA 测定各组小鼠血清免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)、白细胞介素(IL)-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 γ 干扰素(IFN- γ)水平。**结果** 与正常对照组比较, 模型组小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数、肝脏指数、白细胞数量、红细胞数量、血小板数量、巨噬细胞吞噬率和巨噬细胞吞噬指数、T 淋巴细胞刺激指数、NK 细胞杀伤活性及血清 IgG、IgM、IL-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6、IFN- γ 水平均显著降低($P<0.01$); 与模型组比较, 胸腺肽组和龟板固本方高剂量组小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数、肝脏指数、白细胞数量、红细胞数量、血小板数量、巨噬细胞吞噬率和巨噬细胞吞噬指数、T 淋巴细胞刺激指数、NK 细胞杀伤活性及血清 IgG、IgM、IL-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6、IFN- γ 水平均显著升高($P<0.05$, $P<0.01$); 与胸腺肽组比较, 龟板固本方低剂量组小鼠体质量、白细胞数量、血小板数量、巨噬细胞吞噬率及巨噬细胞吞噬指数、T 淋巴细胞刺激指数、NK 细胞杀伤活性及血清 IgM 水平均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$); 与龟板固本方低剂量组比较, 龟板固本方高剂量组小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数、肝脏指数、白细胞数量、血小板数量、巨噬细胞吞噬率及巨噬细胞吞噬指数、T 淋巴细胞刺激指数、NK 细胞杀伤活性和血清 IgG、IgM 水平均显著升高($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 龟板固本方通过改善免疫系统相关指标, 有效增强了 CTX 诱导的免疫抑制小鼠的免疫功能。

〔关键词〕 免疫抑制; 免疫功能; 龟板固本方; 环磷酰胺; 中药复方; 免疫球蛋白; 细胞因子

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.03.007

Improvement effects of Guiban Guben Formula on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice

LI Zhuangwei¹, LUO Yingtian², PENG Linsi², ZHANG Guangli^{1*}

1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China

〔Abstract〕 **Objective** To explore the immunomodulatory effect of Guiban Guben Formula (GBGBF) on cyclophosphamide (CTX)-induced immunosuppressed mice. **Methods** C57BL/6J mice were randomly divided by body weight into normal control group, model group, thymosin group (0.2 mL/d), low-dose GBGBF group (0.5 mL/d), and high-dose GBGBF group (1.0 mL/d), with 10 mice per group. The thymosin group received intraperitoneal injections of the corresponding dose of thymosin; the low- and high-dose

〔收稿日期〕 2025-12-13

〔基金项目〕 广东省中医药管理局中医药科研项目(20251273); 广东省普通高校特色创新类项目(2023KTSCX281); 广东食品药品职业学院校级科研项目(2023ZR08)。

〔通信作者〕 * 张广丽, 女, 博士, 主治医师, E-mail: 421739151@qq.com。

GBGBF groups were administered the corresponding doses of the GBGBF via gavage; and the normal control and model groups were administered the same volume of saline via gavage, once daily for 7 consecutive days. Except for the normal control group, mice in the other groups were intraperitoneally injected with CTX at a dose of $80 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}^{-1}$ for the last 3 days to establish an immunosuppressed mouse model. Body weight, spleen index, thymus index, and liver index were measured for each group. An automatic hematology analyzer was used to determine the counts of white blood cells, red blood cells, and platelets. Wright's staining was performed to measure macrophage phagocytic rate and phagocytic index. The MTT assay was used to evaluate T lymphocyte stimulation index. Lactate dehydrogenase (LDH) assay was conducted to check natural killer (NK) cell cytotoxic activity. ELISA was employed to determine serum levels of immunoglobulin G (IgG), immunoglobulin M (IgM), interleukin (IL)-3, IL-1 β , IL-4, IL-6, and interferon- γ (IFN- γ) in each group. **Results** Compared with the normal control group, the model group exhibited significant decreases in body weight, spleen index, thymus index, liver index, white blood cell count, red blood cell count, platelet count, macrophage phagocytic rate, macrophage phagocytic index, T lymphocyte stimulation index, and NK cell cytotoxic activity, as well as serum levels of IgG, IgM, IL-3, IL-1 β , IL-4, IL-6, and IFN- γ ($P < 0.01$). Compared with the model group, both the thymosin group and the high-dose GBGBF groups showed significant increases in body weight, spleen index, thymus index, and liver index, white blood cell count, red blood cell count, platelet count, macrophage phagocytic rate, macrophage phagocytic index, T lymphocyte stimulation index, and NK cell cytotoxic activity, as well as serum levels of IgG, IgM, IL-3, IL-1 β , IL-4, IL-6, and IFN- γ ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the thymosin group, the low-dose GBGBF group showed significantly lower body weight, white blood cell count, platelet count, macrophage phagocytic rate, macrophage phagocytic index, T lymphocyte stimulation index, NK cell cytotoxic activity, and serum IgM levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the low-dose GBGBF group, the high-dose GBGBF group demonstrated significant increases in body weight, spleen index, thymus index, liver index, white blood cell count, platelet count, macrophage phagocytic rate, macrophage phagocytic index, T lymphocyte stimulation index, NK cell cytotoxic activity, and serum levels IgG and IgM ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** GBGBF effectively enhances the immune function of CTX-induced immunosuppressed mice by improving immune system-related indicators.

[**Keywords**] immunosuppression; immune function; Guiban Guben Formula; cyclophosphamide; TCM compound formulas; immunoglobulin; cytokine

免疫系统作为机体抵御病原微生物侵袭及维持内环境稳态的关键防御机制,不仅能够识别并清除细菌、病毒等外来病原体,还具备监控并清除体内癌变细胞的功能,其正常运作是维持机体健康的基础^[1-2]。一旦免疫功能受损,机体防御体系将出现缺陷,导致感染风险显著增加,常见感染可能难以痊愈,甚至引发严重并发症^[3];同时,免疫监视能力的减弱亦会显著升高肿瘤发生的概率^[4]。

中药方剂在疾病防治中展现出独特优势,其遵循整体观念与辨证施治原则,通过多成分、多靶点的协同作用,调节人体阴阳气血平衡,不仅能够直接抗击病邪,更善于恢复和增强机体的自愈能力,实现标本兼治^[5-7]。龟板固本方由龟板(20 g)、黄精(30 g)、桑椹(30 g)、黄芪(15 g)及红参(10 g)等中药组成^[8],具有滋阴补肾、填精益髓的功效,针对贫血及骨髓抑制的病理机制,通过调节肾、脾、肝等脏腑功能,促进气血生化,从而改善贫血症状^[9]。已有研究表明,龟板、黄精、桑椹、黄芪及红参等中药具有调节机体免疫功能的作用^[10-14],但其对环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)诱导的免疫功能抑制是否具有改善效果,尚缺乏相关报道。本研究建立 CTX 诱导的小鼠免疫

功能抑制模型,给予龟板固本方治疗,系统观察其对免疫功能的调节作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

50 只雄性 C57BL/6J 小鼠,6 周龄,体质量(21 ± 2) g,由广州锐格生物科技有限公司供应,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2023-0059。动物饲养于广州中医药大学 SPF 级屏障设施,12 h 光照/12 h 黑循环暗,室温保持(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度约 50%,饲料与饮水自由摄取。在实验开始之前,小鼠经过为期 1 周的适应性饲养。该动物实验已获得广州中医药大学伦理委员会的批准(批准号:2025091823)。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 龟板固本方所用龟板、黄精、桑椹、黄芪及红参(批号:20250812、20258725、20250363、20257622、20257112)均购自广州致信药业股份有限公司;CTX(批号:C849559)、胸腺肽(批号:C860481)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒(批号:L43232)均购自麦克林生物科技有限公司;小鼠淋巴瘤细胞(YAC-1)(批号:E6814)、YAC-1 细胞

专用培养基(批号:W872)、RPMI-1640培养基(批号:E600028-0500)、刀豆蛋白A溶液(批号:C8110)和CCK8试剂盒(批号:BB-4221)均购自广州浩玛生物科技有限公司;小鼠免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)和小鼠免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)ELISA试剂盒(批号:DG30023M、DG30024M)均购自北京冬歌博业生物科技有限公司;小鼠白细胞介素(interleukin, IL)-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6和 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)ELISA试剂盒(批号:EK201BEG、EK201B、EK204、EK206、EK280HS)均购自联科生物科技有限公司;MTT试剂盒(批号:ST316)和瑞氏染色试剂盒(批号:26532)均购自上海碧云天生物科技有限公司。

1.2.2 主要仪器 全波长酶标仪(型号:Multiskan SkyHigh)购自美国赛默飞生物科技有限公司;血球分析仪(型号:BC-6000)购自深圳迈瑞医疗科技有限公司;Sartorius电子天平(型号:BSA224S-CW)购自玉崎科学仪器(深圳)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 模型建立、分组及给药处理 在经过7 d的适应性饲养后,选取50只C57BL/6J小鼠,依据体重随机分为5组:正常对照组、模型组、龟板固本方低剂量组[5 g/(kg·d)]、龟板固本方高剂量组[20 g/(kg·d)]及胸腺肽组[100 μ g/(kg·d)](剂量参照成人每日用量计算^[15]),每组10只。龟板固本方低、高剂量组每日灌胃给予相应剂量药物,剂量设定依据课题组前期研究方法^[8]。胸腺肽组则每日腹腔注射胸腺肽。正常对照组和模型组小鼠灌胃等量生理盐水。每日干预1次,连续干预7 d。除正常对照组外,其余各组小鼠在最后3 d内连续腹腔注射CTX,剂量为80 mg/(kg·d),以建立免疫抑制小鼠模型,以小鼠体质量显著下降及后续器官指数、血常规等指标显著降低作为造模成功的判断标准^[16]。

1.3.2 小鼠体质量及血常规检测 实验结束,称量各组小鼠体质量。随后以4%戊巴比妥钠腹腔麻醉,采用眼球眶后静脉取血收集全血样本,取200 μ L血液置于抗凝管中,利用全血自动分析仪对样本中的白细胞、红细胞及血小板等指标进行测定。

1.3.3 小鼠器官指数测定 经眶后静脉取血后,摘取小鼠脾脏、胸腺和肝脏,剔除附着结缔组织后称重,计算器官指数:胸腺(或脾脏或肝脏)指数=胸腺(或脾脏或肝脏)重量(mg)/体质量(g)。

1.3.4 瑞氏染色检测巨噬细胞吞噬功能 模型建立完成后,腹腔注射6%可溶性淀粉肉汤(1 mL)以激活小鼠巨噬细胞,连续干预3 d。在实验当日,每只小鼠腹腔注射10%鸡红细胞悬液(1 mL),随后轻柔揉搓腹部以促进细胞分散。注射30 min后,通过脱颈法处死小鼠,腹腔注射1 mL生理盐水并轻揉腹部以收集腹腔液。取腹腔液两滴制备涂片,采用瑞氏染色法染色,完成后在油镜下进行观察。根据观察结果计算巨噬细胞吞噬率和巨噬细胞吞噬指数:巨噬细胞吞噬率(%)=(吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数/巨噬细胞总数) $\times$ 100%;巨噬细胞吞噬指数=巨噬细胞吞噬的鸡红细胞总数/巨噬细胞总数。

1.3.5 MTT测定T淋巴细胞增殖能力 将小鼠进行麻醉处死后,在无菌条件下取出脾脏,使用无菌PBS缓冲液冲洗2次。随后,将脾脏置于配有细胞筛的50 mL离心管中,利用注射器推杆轻轻按压研磨,同时在研磨过程中用PBS冲洗4次。将所得细胞悬液转移至15 mL离心管中,离心,弃去上清液。加入1 mL红细胞裂解液,轻轻吹打混匀,静置1 min后加入5 mL PBS终止反应。再次离心,弃去上清液,加入5 mL PBS洗涤,重复离心步骤。最后,用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基重悬细胞,体积为3 mL。调整细胞浓度至 1×10^7 个/mL,备用。

取脾细胞悬液,调整至 1×10^6 个/mL,与终浓度为10 μ g/mL的刀豆蛋白A溶液(用培养基配制)混合后接种于培养板中,置于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中培养48 h。培养结束前6 h,取出培养板,在各孔中加入20 μ L、浓度为5 mg/mL的MTT检测液,继续培养6 h以促使结晶形成。随后取出培养板,弃去上清液,向各孔中加入100 μ L DMSO溶液,振荡10 min。利用酶标仪在490 nm波长处测定各孔的OD值。T淋巴细胞增殖能力通过刺激指数(stimulation index, SI)进行评估,SI=试验孔OD值/阴性对照孔OD值。

1.3.6 LDH检测自然杀伤(natural killer, NK)细胞杀伤活性 采用专用培养基对YAC-1细胞进行两次洗涤,离心后,使用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基重悬细胞,并将细胞浓度调整至 1×10^5 个/mL,备用。

取脾细胞悬液(浓度为 1×10^6 个/mL)与预先制备的YAC-1细胞悬液共同接种于培养板中,置于37 $^{\circ}$ C、含CO₂的培养箱内培养24 h。培养结束前1 h

取出样品。重新取一 96 孔板,吸取各孔中样品 120 μL 加入新板中,加入 LDH 检测试剂,利用酶标仪在 490 nm 波长处测定各孔的 OD 值。根据测得数据计算 NK 细胞的杀伤活性,计算公式为:杀伤率(%)=[(实验孔 OD 值-靶细胞自然释放 OD 值)/(靶细胞最大释放孔 OD 值-靶细胞自然释放孔 OD 值)] $\times$ 100%。

1.3.7 ELISA 检测血清 IgG、IgM 及细胞因子 IL-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 的水平 实验结束后,采集动物血液样本并分离血清,按照试剂盒说明书的操作规程,测定小鼠血清中 IgG、IgM 及细胞因子 IL-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 的水平。

1.4 统计学分析

使用 SPSS 26.0 软件和 GraphPad Prism10.0 软件对相关数据进行统计学分析和作图。计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。若数据符合正态分布且方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD- t 检验;若方差不齐,采用 Dunnett's $T3$ 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 龟板固本方对免疫抑制小鼠体质量、器官指数的影响

与正常对照组相比,模型组小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数及肝脏指数均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,胸腺肽组和龟板固本方高剂量组小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数及肝脏指数均升高($P<0.05$, $P<0.01$);与胸腺肽组相比,龟板固本方低剂量组小鼠体质量降低($P<0.05$);与龟板固本方低剂量组相比,龟板固本方高剂量组小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数及肝脏指数均升高($P<0.05$)。详见图 1。

2.2 龟板固本方对免疫抑制小鼠血常规的影响

与正常对照组相比,模型组小鼠的白细胞、红细胞和血小板数量均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,胸腺肽组及龟板固本方高剂量组小鼠的白细胞、红细胞及血小板数量均升高($P<0.05$, $P<0.01$);与胸腺肽组相比,龟板固本方低剂量组小鼠的白细胞和血小板数量均降低($P<0.05$);与龟板固本方低剂量组相比,龟板固本方高剂量组小鼠白细胞和血小板数量显著升高($P<0.05$)。详见表 1。

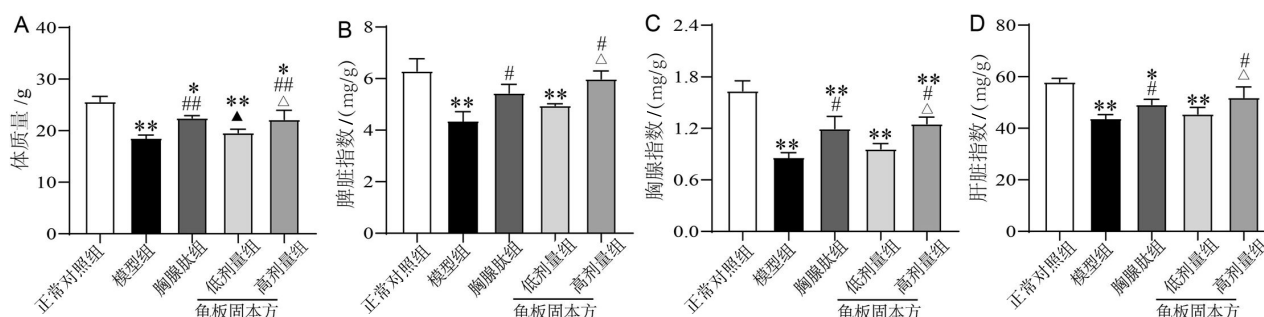


图 1 各组小鼠体质量及脏器指数比较

Fig.1 Comparison of body weight and organ indices among different groups of mice

注:A.小鼠体质量;B.小鼠脾脏指数;C.小鼠胸腺指数;D.小鼠肝脏指数。与正常对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与胸腺肽组相比,▲ $P<0.05$;与龟板固本方低剂量组相比,△ $P<0.05$ 。

表 1 各组小鼠白细胞、红细胞和血小板数量比较($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 1 Comparison of white blood cell, red blood cell, and platelet counts among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	白细胞数量/($\times 10^9/\text{L}$)	红细胞数量/($\times 10^{12}/\text{L}$)	血小板数量/($\times 10^9/\text{L}$)
正常对照组	1.372 $\pm$ 0.143	0.976 $\pm$ 0.072	109.373 $\pm$ 12.398
模型组	0.263 $\pm$ 0.025**	0.412 $\pm$ 0.063**	92.391 $\pm$ 10.376**
胸腺肽组	0.739 $\pm$ 0.071***	0.718 $\pm$ 0.051***	99.203 $\pm$ 12.321**
龟板固本方低剂量组	0.306 $\pm$ 0.027**▲	0.431 $\pm$ 0.021**	93.172 $\pm$ 9.732**▲
龟板固本方高剂量组	0.698 $\pm$ 0.031***△	0.672 $\pm$ 0.038***	98.375 $\pm$ 9.893***△

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与胸腺肽组比较,▲ $P<0.05$;与龟板固本方低剂量组比较,△ $P<0.05$ 。

2.3 龟板固本方改善免疫抑制小鼠的吞噬功能

与正常对照组相比,模型组小鼠巨噬细胞吞噬率及巨噬细胞吞噬指数均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,胸腺肽组和龟板固本方高剂量组小鼠巨噬细胞吞噬率及巨噬细胞吞噬指数均升高($P<0.05$, $P<0.01$);与胸腺肽组相比,龟板固本方低剂量组小鼠巨噬细胞吞噬率及巨噬细胞吞噬指数均降低($P<0.05$);与龟板固本方低剂量组相比,龟板固本方高剂量组小鼠巨噬细胞吞噬率及巨噬细胞吞噬指数均升高($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组小鼠巨噬细胞吞噬率和巨噬细胞吞噬指数比较
($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Comparison of macrophage phagocytic rate and macrophage phagocytic index among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	巨噬细胞吞噬率/%	巨噬细胞吞噬指数/%
正常对照组	68.322±3.482	3.736±0.276
模型组	37.448±2.931**	1.634±0.183**
胸腺肽组	57.827±3.182** [#]	2.623±0.273* [#]
龟板固本方低剂量组	40.381±5.389** [▲]	1.873±0.187** [▲]
龟板固本方高剂量组	55.374±4.928** ^{▲△}	2.589±0.281* ^{▲△}

注:与正常对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与胸腺肽组相比,[▲] $P<0.05$;与龟板固本方低剂量组相比,[△] $P<0.05$ 。

2.4 龟板固本方对免疫抑制小鼠 T 淋巴细胞刺激指数和 NK 细胞杀伤活性的影响

与正常对照组相比,模型组小鼠 T 淋巴细胞刺激指数及 NK 细胞杀伤活性均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,胸腺肽组与龟板固本方高剂量组小鼠 T 淋巴细胞刺激指数及 NK 细胞杀伤活性均升高($P<0.05$, $P<0.01$);与胸腺肽组相比,龟板固本方低剂量组小鼠 T 淋巴细胞刺激指数及 NK 细胞杀伤活性均降低($P<0.05$);与龟板固本方低剂量组相比,龟板固

本方高剂量组小鼠 T 淋巴细胞刺激指数及 NK 细胞杀伤活性均升高($P<0.05$)。详见表 3。

表 3 各组小鼠 T 淋巴细胞刺激指数、NK 细胞杀伤活性比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Comparison of T lymphocyte stimulation index and NK Cell cytotoxic activity among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	T 淋巴细胞刺激指数/%	NK 细胞杀伤活性/%
正常对照组	3.921±0.598	98.273±8.386
模型组	1.823±0.476**	65.399±9.283**
胸腺肽组	2.892±0.581* [#]	83.492±7.291* [#]
龟板固本方低剂量组	1.934±0.287** [▲]	69.384±10.382** [▲]
龟板固本方高剂量组	2.783±0.473* ^{▲△}	80.329±8.931* ^{▲△}

注:与正常对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与胸腺肽组相比,[▲] $P<0.05$;与龟板固本方低剂量组相比,[△] $P<0.05$ 。

2.5 龟板固本方对免疫抑制小鼠血清 IgG、IgM 和 IL-3 水平的影响

与正常对照组相比,模型组小鼠血清中 IgG、IgM 及 IL-3 水平均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,胸腺肽组和龟板固本方高剂量组小鼠血清中 IgG、IgM 及 IL-3 水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$);与胸腺肽组相比,龟板固本方低剂量组小鼠血清中 IgM 水平显著降低($P<0.01$);与龟板固本方低剂量组相比,龟板固本方高剂量组小鼠血清中 IgG、IgM 水平均显著升高($P<0.01$)。详见图 2。

2.6 龟板固本方对免疫抑制小鼠血清 IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 水平的影响

与正常对照组相比,模型组小鼠血清中 IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 水平均显著降低($P<0.01$);与模型组相比,胸腺肽组和龟板固本方高剂量组小鼠血清中 IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 3。

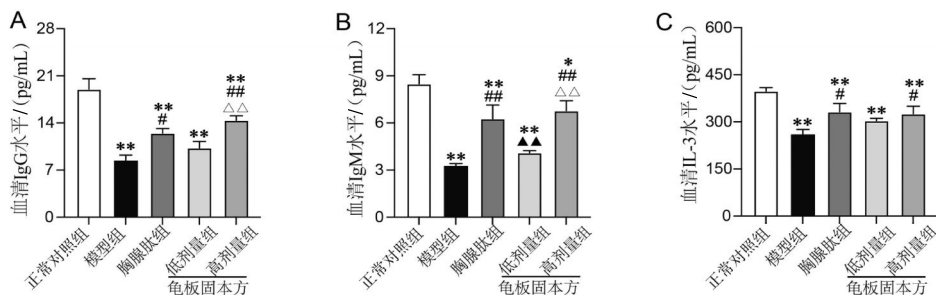


图 2 各组小鼠血清 IgG、IgM 和 IL-3 水平比较

Fig.2 The levels of serum IgG, IgM, and IL-3 among different groups of mice

注:A.小鼠血清 IgG 水平;B.小鼠血清 IgM 水平;C.小鼠血清 IL-3 水平。与正常对照组相比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组相比较,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与胸腺肽组相比较,[▲] $P<0.01$;与龟板固本方低剂量组相比较,[△] $P<0.01$ 。

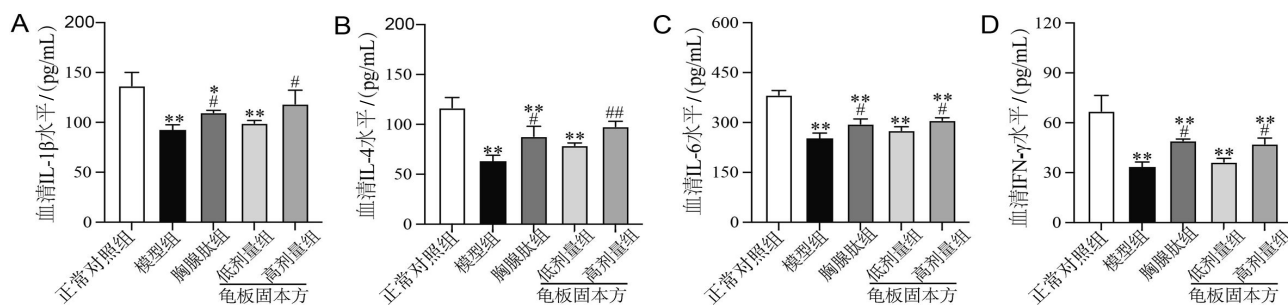


图3 各组小鼠血清 IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 水平比较

Fig.3 Comparison of serum IL-1 β , IL-4, IL-6, and IFN- γ levels among different groups of mice

注:A.小鼠血清 IL-1 β 水平;B.小鼠血清 IL-4 水平;C.小鼠血清 IL-6 水平;D.小鼠血清 IFN- γ 水平。与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3 讨论

龟板固本方包含龟板、黄精、桑椹、黄芪及红参等多种中药,具备多重药理活性,能够通过调控免疫细胞功能及促进免疫因子的合成与分泌,增强机体免疫防御能力^[8]。本研究探讨龟板固本方对 CTX 诱导的免疫功能抑制小鼠模型的影响,并对其免疫增强作用进行了系统性分析。

脾脏与胸腺作为重要的免疫器官,其发育水平在一定程度上能够反映机体免疫功能的状态^[17]。当免疫功能受损时,脾脏和胸腺的发育会受到抑制,进而影响其免疫效能^[18]。CTX 作为一种临床常用的烷化剂类免疫抑制剂及细胞毒性药物,能够诱导胸腺细胞和淋巴细胞发生凋亡,进而引起免疫器官的萎缩^[19]。在本研究中,CTX 诱导的免疫功能抑制小鼠表现出体质量以及脾脏、胸腺和肝脏指数的显著降低,提示免疫系统功能受到抑制。尤其是脾脏和胸腺的明显萎缩,反映出免疫细胞数量减少及功能减退,提示免疫系统受损^[20]。经龟板固本方治疗后,免疫抑制小鼠模型的体质量及脾脏、胸腺和肝脏指数均显著增加,显示该方剂对 CTX 所致免疫功能抑制具有明显的改善作用。

白细胞作为免疫系统中直接执行防御功能的主要细胞群体,涵盖具有吞噬细菌能力的中性粒细胞、负责产生抗体的 B 淋巴细胞以及具备杀伤异常细胞功能的 T 淋巴细胞,这类细胞负责执行特异性与非特异性免疫反应的核心功能^[21]。血小板则发挥多重辅助作用,不仅通过血栓形成阻止病原体的扩散,还能释放信号分子以招募并增强白细胞的免疫活性^[22]。红细胞表面表达的补体受体能够结合并清除循环中的免疫复合物,从而间接调控免疫反应的平衡^[23]。免

疫抑制剂(如 CTX)的作用会对上述免疫体系造成全面抑制,尤以对白细胞的影响最为显著,表现为淋巴细胞和中性粒细胞数量的急剧减少,直接削弱机体的核心防御和免疫监控能力,增加感染风险;同时,骨髓造血功能受抑制导致血小板数量下降,进而提高出血风险并削弱其免疫辅助功能^[24]。红细胞生成受阻可引发贫血,降低氧气运输效率,并可能影响免疫复合物的清除,进一步扰乱免疫稳态^[25]。综上所述,免疫抑制状态下白细胞、红细胞及血小板数量的减少对机体免疫功能产生了显著影响。本研究结果表明,CTX 诱导的免疫功能抑制小鼠不仅表现为上述三类细胞数量的减少,还伴随着巨噬细胞吞噬功能的减弱、T 淋巴细胞增殖能力的下降以及 NK 细胞杀伤活性的减退。经龟板固本方干预后,免疫细胞功能在一定程度上得到恢复,尤其体现在巨噬细胞吞噬功能、T 淋巴细胞增殖能力及 NK 细胞杀伤活性的显著提升。上述结果表明,龟板固本方具有增强机体免疫细胞功能的能力,有助于促进免疫系统的正常恢复与运行。

此外,免疫球蛋白(如 IgG、IgM)及细胞因子在免疫调节过程中发挥着关键作用^[26]。在免疫抑制状态下,IgG 和 IgM 的水平通常显著降低,导致体液免疫反应减弱,机体难以有效中和病原体并形成免疫记忆;同时,免疫抑制还会引起细胞因子分泌异常,表现为 IL-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6 及 IFN- γ 等细胞因子水平的下降^[21]。本研究结果显示,接受 CTX 处理的小鼠模型中,免疫球蛋白 IgG、IgM 及细胞因子 IL-3、IL-1 β 、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 水平均显著降低,而经龟板固本方治疗的小鼠则表现出上述免疫球蛋白和细胞因子水平的显著提升,进一步验证了龟板固本方在调节免疫反应中的潜在作用。

综上所述,龟板固本方在CTX诱导的免疫功能抑制小鼠模型中表现出显著的免疫调节作用。通过对免疫系统多项指标的改善,尤其是在免疫细胞功能及免疫因子水平的调控方面,进一步验证了龟板固本方提升机体免疫功能的有效性。本研究为龟板固本方在免疫相关疾病和恶性肿瘤免疫功能低下治疗中的应用提供了科学依据,同时为传统中药在现代医学领域的推广与应用开辟了新的研究方向。

参考文献

- [1] SONG X S, LIANG H T, NAN F, et al. Autoimmune diseases: Molecular pathogenesis and therapeutic targets[J]. *MedComm*, 2025, 6(7): e70262.
- [2] WANG H, KIM S J, LEI Y, et al. Neutrophil extracellular traps in homeostasis and disease[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9: 235.
- [3] 孔妮, 刘超, 杨方浩, 等. 原花青素对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *天津医药*, 2018, 46(12): 1291-1294.
- [4] 杨冰伟, 陈雪, 王成磊, 等. 调气解毒理论视域下细胞程序性死亡对肿瘤免疫稳态的调节及中医药的干预作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(7): 212-220.
- [5] 韩杨杨, 王海娟, 韩玉洁, 等. 基于网络药理学及实验验证探讨益气温阳活血利水中药组分配伍防治慢性心力衰竭作用机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(4): 677-692.
- [6] ZHAI Y Y, LIU L, ZHANG F Q, et al. Network pharmacology: A crucial approach in traditional Chinese medicine research[J]. *Chinese Medicine*, 2025, 20(1): 8.
- [7] 史俊豪, 丘琴, 黄春英, 等. 基于数据挖掘和网络药理学的含黄芪方剂治疗气虚血瘀型卒中用药规律及作用机制分析[J]. *药物评价研究*, 2024, 47(8): 1760-1775.
- [8] 张广丽, 黎壮伟, 宋卉. 龟板固本方对肺癌骨髓抑制小鼠骨髓细胞周期及凋亡相关蛋白表达的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2023, 32(16): 2249-2252.
- [9] 黎壮伟, 张广丽. 龟板固本方对肺癌骨髓抑制小鼠骨髓造血微环境的影响[J]. *中医肿瘤学杂志*, 2020, 2(4): 41-45.
- [10] 伍子贤. 龟板通过巨噬细胞极化抗SOP及促进骨愈合的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [11] 赖辰金, 金超英, 钱皓莹, 等. 黄精多糖激活TLR4增强小鼠特异性免疫反应的实验研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2025, 49(6): 690-699.
- [12] ABBAS Z, TONG Y C, WANG J Y, et al. Potential role and mechanism of mulberry extract in immune modulation: Focus on chemical compositions, mechanistic insights, and extraction techniques[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(10): 5333.
- [13] WANG H, ZHU W Z, HONG Y, et al. Astragalus polysaccharides attenuate chemotherapy-induced immune injury by modulating gut microbiota and polyunsaturated fatty acid metabolism[J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155492.
- [14] KIM J E, MONMAI C, ROD-IN W, et al. Immune enhancement effects of Codium fragile anionic macromolecules combined with red ginseng extract in immune-suppressed mice[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 29(9): 1361-1368.
- [15] 林燕飞, 张琴, 高芳芳. 盐酸左旋咪唑对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J]. *食品与药品*, 2018, 20(6): 460-464.
- [16] 胡晓笛, 杨成雄, 彭佩, 等. 十味清瘟汤对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *时珍国医国药*, 2025, 36(9): 1660-1665.
- [17] LI J Y, YI C, ZHU M Q, et al. Immunomodulatory actions of tonifying polysaccharides: Pharmacological effects, mechanisms and therapeutic applications[J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1640679.
- [18] YIMAM M, HORM T, O'NEAL A, et al. Botanical bioflavonoid composition from *Scutellaria baicalensis*- and *Acacia catechu*-protected mice against D-galactose-induced immunosenescence, and cyclophosphamide induced immune suppression[J]. *Nutrients*, 2024, 16(18): 3144.
- [19] NASERI S, ASGARPAHAH J, ALI ZIAI S. Immunomodulatory and antioxidant effect of liposomal auraptene against cyclophosphamide-induced immunosuppression in BALB/c mice[J]. *Experimental Gerontology*, 2024, 195: 112552.
- [20] XIE H L, FANG J Y, FARAG M A, et al. Dendrobium officinale leaf polysaccharides regulation of immune response and gut microbiota composition in cyclophosphamide-treated mice[J]. *Food Chemistry: X*, 2022, 13: 100235.
- [21] 张凤丽, 黄文琪, 赵立娜. 菌草灵芝醇提物对免疫损伤小鼠的改善作用[J]. *中国食品学报*, 2025, 25(1): 151-159.
- [22] WANG W T, WANG C F, DENG J, et al. Beyond hemostasis, the immunomodulatory nature of platelets [J]. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 2025, 9(7): 103182.
- [23] METTHEW LAM L K, KLINGENSMITH N J, SAYEGH L, et al. Red blood cells capture and deliver bacterial DNA to drive host responses during polymicrobial sepsis[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2024, 135(4): e182127.
- [24] PIERPONT T M, LIMPER C, ELMORE J, et al. Effects of PFOS and cyclophosphamide exposure on immune homeostasis in mice[J]. *Immunobiology*, 2023, 228(3): 152356.
- [25] 袁晓凡, 赵晓玫, 管庆磊. 菊苣川牛膝聚合物增强小鼠免疫力的研究[J]. *中医临床研究*, 2023, 15(4): 60-64.
- [26] 曾洁, 周珊, 谢静, 等. 加味银翘散对反复热性惊厥幼龄大鼠免疫功能及脑损伤的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2023, 39(4): 173-178.

(本文编辑 陈晨)