

苦豆子生物碱的免疫调节作用及其作用机制研究进展

李莉, 张文学, 张顺利

(河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 是豆科槐属植物, 广泛分布于我国西北荒漠地区。其味苦、性寒, 具有清热解毒、驱风燥湿等功效。主要含生物碱、酮类物质、有机酸、多糖等。大量的实验药理学研究表明, 生物碱是其主要生物活性成分。迄今已从苦豆子中分离出包括苦参碱(matrine)、槐果碱(sophocarpine)、氧化苦参碱(oxymatrine)等在内的25种生物碱^[1]。与早期研究多集中于苦豆子生物碱在心血管系统、中枢神经系统等方面的药理作用相比, 近年来, 其所具有的免疫调节活性日益受到研究者的重视。并且, 随着化学分离纯化技术的不断改进, 苦豆子生物碱得到了进一步的分离、纯化, 其免疫调节作用机制研究也取得了一定的进展。现就苦豆子生物碱的免疫调节作用和作用靶点及其信号转导分子等作用机制的研究进展作一简要综述, 以期为其免疫调节作用分子机制的深入研究提供参考, 并为临床上寻找成分及免疫药理作用明确的中药免疫调节剂提供理论基础。

1 免疫调节作用

1.1 对T淋巴细胞功能的影响: 李凡^[2]通过对苦豆子的生物总碱进行研究发现, 苦豆子总碱质量浓度为100 mg/L时, 在体外可以明显抑制刀豆蛋白A(ConA)诱导的小鼠T细胞增殖, 并且在同样浓度作用下还可抑制白细胞介素-2(IL-2)的产生, 从而影响T细胞亚群的数量和功能。张佩等^[3]报道, 通过对小鼠ip 15、20、25 mg/kg的苦豆子槐胺碱, 发现其可以显著降低E花环形成率, 并对T细胞介导的肿瘤相伴免疫和血清溶菌酶活性也有抑制作用。在研究氧化苦参碱对人扁桃体淋巴细胞的影响时发现, 该生物碱对ConA等刺激原低反应性细胞有促增殖作用; 而在研究氧化苦参碱对小鼠免疫功能的影响时则有其对T细胞介导的肿瘤相伴免疫有抑制作用的报道。推测氧化苦参碱的这种免疫调节不同效应结果的出现除了实验方法和观察指标的不同外, 也可能与其给药途径、剂量及作用细胞机能状态有关。据毛慧生^[4]报道, 苦参碱可作用于小鼠T细胞亚群来发挥免疫调节作用。选用MA737乳腺癌小鼠为试验材料, ip给予5 mg/mL苦参碱, 结果证实, 苦参碱可以显著提高荷瘤小鼠的辅助性T淋巴细胞(TH)与抑制性T淋巴细胞(TS)比值。以上不同的试验结果提示, 苦豆子所含不同生物碱对T淋巴细胞及亚群分别有促进和抑制作用。

1.2 对B淋巴细胞功能的影响: 苦豆子总碱质量浓度为100 mg/L时, 在体外可以明显抑制小鼠B细胞的增殖反

应^[2]。腹腔注射50 mg/kg苦豆子总碱可明显降低小鼠血清中IgM抗体的水平, 体外应用质量浓度为62.5~250 µg/mL内可抑制B淋巴细胞增殖^[5]。另据胡振林^[6]报道, 苦参碱在体外以剂量依赖方式(125~500 mg/L)显著抑制脂多糖诱导的小鼠B淋巴细胞增殖。

1.3 对巨噬细胞功能的影响: 巨噬细胞是体内重要的免疫细胞, 不仅参与非特异性免疫防御, 而且可以通过发挥对抗原的加工呈递作用参与特异性免疫应答, 并通过分泌各种介质广泛参与免疫调节作用。黄秀梅^[7]报道, 苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱和槐定碱分别在一定浓度范围内, 在体外可剂量依赖性地抑制脂多糖诱导的小鼠腹腔巨噬细胞产生肿瘤坏死因子-α(TNF-α)。林文^[8]的试验也证实, 苦参碱质量浓度为125、250、500 mg/L时, 在体外剂量依赖性抑制大鼠枯否细胞分泌TNF及IL-6; 质量分数为50、100 mg/kg时可显著降低小鼠体内TNF和IL-6的水平。此外, 胡振林在对小鼠进行的体外研究中发现, 苦参碱在125~500 mg/L, 以剂量依赖方式显著抑制脂多糖诱导的腹腔巨噬细胞释放IL-1和IL-6。综上所述, 以苦参碱为代表的具有四环喹啉类骨架结构的苦豆子类生物碱可以作用于巨噬细胞。TNF是介导多向性炎症反应和免疫调节反应的重要细胞因子之一, 而IL-1和IL-6是免疫应答过程中的重要介质。以上研究结果提示, 这些生物碱可以通过抑制这些细胞因子的释放来发挥对巨噬细胞的免疫抑制作用。

1.4 对淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)功能的影响: LAK细胞具有大颗粒淋巴细胞(LGL)的形态特征, 在体外可被IL-2诱导产生, 能杀伤NK细胞不敏感的肿瘤细胞, 具有广谱的抗肿瘤作用。毛慧生等^[4]选用MA737乳腺癌小鼠为实验模型, 研究了苦参碱对LAK细胞抗肿瘤活性的影响。结果表明, 20 mg/kg苦参碱可显著增强LAK细胞的免疫效应。前述曾提到苦参碱可以提高该荷瘤小鼠外周血淋巴细胞中TH/TS比值。由此分析苦参碱对LAK细胞免疫增强效应的机制可能是通过提高TH细胞数量及活性, 使其分泌更多的包括IL-2在内的一系列细胞因子, 而IL-2不仅可以诱导产生LAK细胞, 还可提高LAK细胞的杀瘤活性。与苦参碱可以增强LAK细胞免疫功能不同的是, 王会贤等^[9]发现, 氧化苦参碱可以抑制LAK细胞的杀瘤作用。他们选用由DBA/2小鼠衍生肥大细胞瘤获得的P₈₁₅细胞株作为靶细胞, 用500 µg/mL的IL-2和200 µg/mL的氧化苦参碱共同孵

收稿日期: 2006-09-08

基金项目: 河南省科技攻关项目(0524420040); 河南省动物学省级重点学科基金资助

作者简介: 李莉(1979—), 女, 河南信阳人, 讲师, 研究方向为分子免疫学。 Tel: (0373)3328105 E-mail: lizzie406@163.com

育 4 d 后,发现 LAK 细胞杀瘤能力(效靶比为 100:1 时)的 82.5% 被抑制。

2 对胞内信使物质的影响

近几年,虽然对苦豆子生物碱进行了广泛的免疫调节作用研究,但对其作用机制的研究较少报道。在淋巴细胞活化、增殖、分化的过程中,多种细胞内信使物质发挥重要作用。以下就苦豆子类生物碱对胞内信使物质,如环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、钙及蛋白激酶 C (PKC)的影响进行综述,进而对其作用机制进行探讨。

cAMP/cGMP 广泛存在于动物细胞内,以“第二信使”的形式对细胞功能起着重要的调节作用。王会贤等^[10]报道,氧化苦参碱可以降低经过植物血凝素(phytohemagglutinin PHA)活化 48 h 的人扁桃体淋巴细胞内 cAMP 水平,且在 10~500 $\mu\text{g/mL}$ 内降低作用呈剂量依赖性。一般认为,能升高 cAMP 水平的因素会抑制淋巴细胞的功能,但不能简单地将此作为氧化苦参碱是具有免疫增强作用还是免疫抑制作用的依据。因为不同外界因素而导致的 cAMP 同等程度的升高或降低所产生的生物学效应不同,而且不同部位的 cAMP 可以通过多条途径引起不同的生物学效应。因此,对氧化苦参碱的免疫调节作用及其对特定状态细胞 cAMP 变化之间的关系应结合胞内其他信使物质的变化和细胞状态来全面考虑。

钙是维持机体细胞功能和信号转导中必需的离子。在淋巴细胞活化过程中 Ca^{2+} 作为重要的信使物质,触发或调控多种细胞内事件。氧化苦参碱对小鼠脾淋巴细胞的胞浆游离钙水平有升高作用,且在 200~2 000 $\mu\text{g/mL}$ 内有明显的剂量效应关系,提示氧化苦参碱的免疫调节作用与 Ca^{2+} 有关^[10]。在对小鼠脾淋巴细胞钙摄取功能进行测定后,发现不同浓度的氧化苦参碱对脾细胞的钙摄取功能没有影响,从而进一步提示氧化苦参碱引起的胞浆钙升高无胞外钙参与,而主要是由于胞内钙库钙的释放。

蛋白激酶 C(PKC)是 Ca^{2+} 激活的蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶,是细胞磷脂酰肌醇代谢应答反应的中心环节,参与多种细胞信号传递。而现多认为,T 细胞、B 细胞活化途径主要是通过磷脂肌醇代谢途径发生。也曾有研究表明,巨噬细胞分泌 TNF 的过程也需要蛋白激酶 C 的参与^[11]。张俊平等^[12]通过测定小鼠腹腔巨噬细胞的 PKC 活性发现,苦参碱浓度为 0.5、1 mmol/L 时,对巨噬细胞胞浆和胞膜 PKC 活性均有显著的抑制作用,提示苦参碱可能是一个有效的 PKC 抑制剂,通过抑制 PKC 活性来影响免疫细胞的功能。

3 展望

苦豆子生物可作用于 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞等主要免疫活性细胞,调节机体的细胞免疫功能和体液免疫功能。从所报道的研究结果来看,不同的苦豆子生物碱对免疫细胞功能的影响不尽相同,或对同一免疫细胞有相反的免疫效应,或对同一免疫指标的影响程度有一定差别。虽然从这些结果中可看出这类生物碱具有广泛的免疫调节功效,但必须指出,对这些不同生物碱缺乏在同一试验水平或层次上进行

比较性的免疫药理研究,即横向比较性研究。同时比较多种苦豆子生物碱的免疫活性及其各自作用特点有助于从多个方面了解它们免疫调节作用的差异,从而为研制新型免疫调节剂提供更为确切的理论依据。

由于分离分析技术的限制,绝大多数用于实验研究的苦豆子生物碱都是从苦豆子中提取的粗制剂,这就使其作用机制及结构与功能之间关系的研究受到限制。随着结构分析技术的发展,进一步阐明苦豆子各类生物碱的结构,并深入探讨其构效关系,对从细胞水平及分子水平揭示其作用机制具有重要意义。

随着更多具有调节机体免疫功能作用的中药被发现,近年来,国内外学者多从免疫增强效应方面对中药进行实验研究。比较而言,对中药免疫抑制作用的研究报道很少。但现代免疫学理论的发展及人们对自身免疫反应研究的深入,使开发高效低毒的中药免疫抑制剤的研究日益受到重视。对苦豆子生物碱广泛的研究发现,其具有很多新药开发意义的药理作用,如其中一些生物碱具有免疫抑制活性,深入研究其作用特点及机制必将为开发作用强、毒性低的中药免疫抑制剤提供新的可能。

References:

- [1] Chen S X. Advances in study on pharmacological activities of alkaloids of *Sophora flavescens* Ait. [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25(1): 75-77.
- [2] Li F, Shi Y C, Huang H L, et al. Effect of aloperine on the immune cells in mice [J]. *J Norman Bethune Univ Med Sci* (白求恩医科大学学报), 1997, 23(6): 603-605.
- [3] Zhang P, Jin Y, Li S H. Effect of sophoramine on cellular immune [J]. *Shanghai J Immunol* (上海免疫学杂志), 1995, 15(3): 182.
- [4] Mao H S, Liu H Y, Li C, et al. Modulation of the malignant phenotype and immunological response of tumor cells by *Sophora flavescens* Ait. [J]. *Chin J Clin Oncol* (中国肿瘤临床), 1996, 23(11): 799-803.
- [5] Huang H, Hamu L T, Yang L L, et al. Study on hepatic protection and decrease of enzyme and immunomodulation effect of alkaloids of *Sophora alopecuroides* [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2005, 21(2): 16-19.
- [6] Hu Z L, Zhang J P, Qian D H, et al. Effect of matrine on mouse splenocyte proliferation and release of interleukin 1 and interleukin 6 from mouse peritoneal macrophages [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1996, 17(3): 260-261.
- [7] Huang X M, Li B, Shen L Z, et al. Inhibitory effects of four alkaloids of *Sophora alopecuroides* on TNF production by murine peritoneal macrophages [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2001, 17(3): 12-14.
- [8] Lin W, Zhang J P, Hu Z L, et al. Inhibitory effect of matrine on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and interleukin-6 production from rat Kupffer cells [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1997, 32(2): 93-96.
- [9] Wang H X, Zhang L H, Huang Y, et al. Effect of oxymatrine on LAK cell activity [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 1994, 10(1): 17-19.
- [10] Wang H X, Yu X Z, Qian Y K. The effects of oxymatrine on lymphocytes' second messengers [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 1993, 9(5): 315-317.
- [11] Kovacs E J, Rodzioch D, Yong H A, et al. Differential inhibition of IL-1 and TNF mRNA expression by agents which block second messenger pathways in murine macrophages [J]. *J Immunol*, 1988, 141(9): 3101-3104.
- [12] Zhang J P, Hu Z L, Lin W, et al. The inhibitory effect of matrine on tumor necrosis factor release from peritoneal macrophages and intercellular change of protein kinase C activity during the production process [J]. *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 1995, 16(6): 513-514.