

氧化苦参碱对淋巴细胞增殖的影响

北京医科大学免疫学教研室(100083) 王会贤* 章灵华** 杜守英 钱玉昆

摘要 研究了氧化苦参碱对人扁桃体淋巴细胞和小鼠脾淋巴细胞在不同丝裂原存在时对增殖能力的影响。结果表明:根据人扁桃体淋巴细胞对PHA, SAC反应能力的不同,氧化苦参碱可使低反应性的人扁桃体淋巴细胞增殖能力提高,而对高反应性的人扁桃体淋巴细胞及正常小鼠脾细胞增殖则表现为抑制作用。提示氧化苦参碱对淋巴细胞增殖的影响和细胞状态密切相关。

关键词 氧化苦参碱 淋巴细胞 增殖

中药苦参,苦豆子的有效成分之一是氧化苦参碱,它具有抗过敏,抗肿瘤和调节心肌收缩力等多种药理学作用(本室资料,待发表)。其对免疫系统的研究虽有一些报道,但结果并不一致,为了进一步分析问题,研究了氧化苦参碱对人扁桃体淋巴细胞和小鼠脾细胞增殖能力的影响,并对相关问题进行了探讨。

1 材料和方法

1.1 动物:6~8周龄的BALB/C纯系小鼠,雌雄兼用,由本校实验医学动物部提供。

1.2 氧化苦参碱:北京医科大学药学院提供,经HPLC分析其纯度达96%以上。

1.3 主要试剂和仪器:PHA:广州医药工业研究所产品。应用浓度50 μ g/ml。SAC:上海生物制品研究所生产,100 $^{\circ}$ C煮沸15min,分装于-20 $^{\circ}$ C待用。应用浓度0.01%。ConA:Sigma公司。应用浓度4 μ g/ml。LPS:Sigma公司。应用浓度10 μ g/ml。 3 H-TdR:中科院上海原子能研究所。 β -液闪仪:FJ-2107,西安二六二厂。

1.4 扁桃体淋巴细胞的制备:取手术切除的扁桃体,剔除结缔组织后置含高浓度双抗(青、链霉素各1000u/ml)的RPMI-1640培养液中浸泡60min,洗二遍后剪碎并滤除组织块,经淋巴细胞分层液离心分离,吸取淋巴细胞,洗涤后调至所需浓度待用。

1.5 巨噬细胞的去除:将上述分离好的人扁桃体淋巴细胞调至 1×10^6 /ml,置塑料培养瓶中37 $^{\circ}$ C,5%CO₂作用1h,冲洗吸出未贴壁细胞,即为去除巨噬细胞的细胞,洗涤后调至所需浓度待用。

1.6 小鼠脾细胞的制备:常规制备小鼠脾细胞,并经0.83%的Tris-NH₄Cl作用3min,PBS洗涤后调至所需浓度待用。

1.7 细胞增殖能力的检测:将上述分离好的细胞每孔100 μ l加入96孔培养板中,根据实验情况加入各种丝裂原及倍比稀释的各种浓度的氧化苦参碱,使每孔总体积为200 μ l。细胞终浓度为:人扁桃体淋巴细胞 2×10^5 /ml,小鼠脾细胞 2.5×10^5 /ml。每种浓度3个复孔。37 $^{\circ}$ C,5%CO₂培养56h,后每孔加入20 μ Ci/ml的 3 H-TdR20 μ l,继续培养16h,收获细胞,并测cpm。

每组实验至少重复3次。

2 结果

2.1 氧化苦参碱的细胞毒实验:为了区分氧化苦参碱的毒性剂量和实验效应剂量,首先用不同浓度的氧化苦参碱研究了它的细胞毒作用,结果表明:2mg/ml以下的氧化苦参碱在3d培养过程中没有明显的细胞毒作用,细胞存活率与对照无显著性差异(资料未列出)。由此我

*Address: Wang Huixian Department of Immunology, Beijing Medical University, Beijing

**中国医学科学院药用植物资源开发研究所

们正式实验中所选最大药物浓度为1mg/ml。

2.2 氧化苦参碱单独对人扁桃体淋巴细胞增殖能力的影响: 由图1可见,在没有任何刺激剂的情况下,氧化苦参碱并不能影响人扁桃体淋巴细胞的增殖能力。其对照cpm值仅211+99.6,而当加入1000μg/ml的氧化苦参碱后,其cpm值也不过286+100.5。

2.3 氧化苦参碱对PHA、SAC低反应性的人扁桃体淋巴细胞的促增殖效应: 此类人扁桃体淋巴细胞在最适剂量PHA、SAC作用下,其cpm值分别为9300.7±1659.8和2980±626.6。而3.90625μg/ml的氧化苦参碱即可使其增殖能力大大提高,氧化苦参碱的这种促增殖作用在15.31μg/ml时达峰值。以后随药物浓度增加而下降。并且这种增殖作用不因巨噬细胞的去除而消失。

2.4 氧化苦参碱对PHA、SAC高反应性的人扁桃体淋巴细胞增殖的抑制作用: 氧化苦参碱对PHA、SAC高反应的人扁桃体淋巴细胞呈现明显的增殖抑制效应。药物有效浓度范围在15.625~1000μg/ml。PHA对照cpm值49249.2±5467.4。氧化苦参碱1000μg/ml时cpm值仅4008.8±894.4。而SAC对照cpm值为17395.7±1931.6,氧化苦参碱为1000μg/ml时cpm仅为1848.5±331.1。并且这种抑增殖作用不因巨噬细胞的去除而改变。

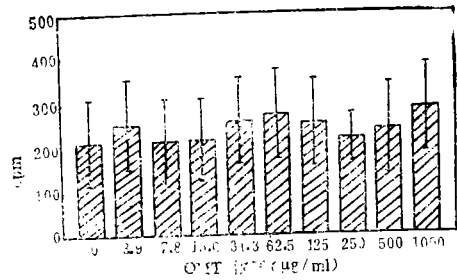


图1 氧化苦参碱单独对人扁桃体淋巴细胞的作用

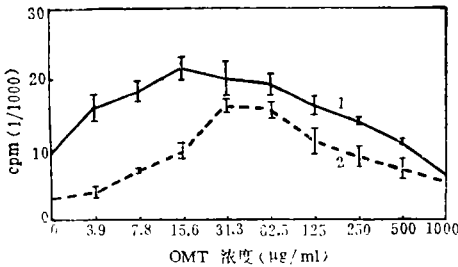


图2 氧化苦参碱对PHA、SAC低反应性的人扁桃体淋巴细胞的促增殖效应

1-OMT、PHA (150μg/ml)
2-OMT、SAC (1/10000)

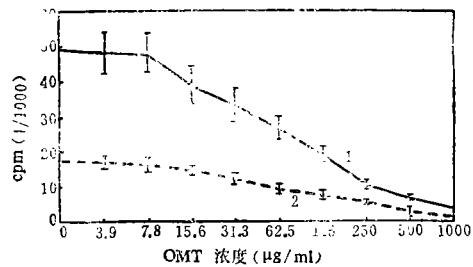


图3 氧化苦参碱对PHA、SAC高反应性的人扁桃体淋巴细胞的增殖抑制效应

1-OMT PHA (150μg/ml)
2-OMT SAC (1/10000)

2.5 氧化苦参碱对小鼠脾细胞的增殖抑制效应: 氧化苦参碱对ConA和LPS活化的小鼠脾细胞的作用和对PHA、SAC高反应性的人扁桃体淋巴细胞的作用相同。ConA活化小鼠脾细胞对照cpm值为18796.7±1810.6,氧化苦参碱1000μg/ml时cpm值为2185.3±279.9。LPS活化小鼠脾细胞对照cpm值为6525.7±339.8,氧化苦参碱1000μg/ml时cpm值仅80.1±21.8。

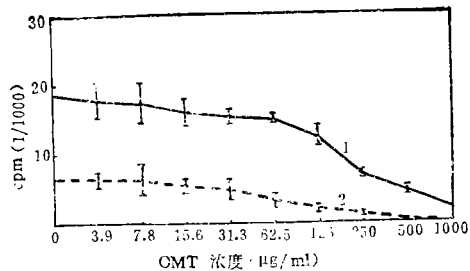


图4 氧化苦参碱对小鼠脾细胞的增殖抑制效应

1-OMT和ConA (4μg/ml)
2-OMT和LPS (10μg/ml)

(下转第389页)

告更为妥当。

6.1 动物种属性别, 体重范围, 4个剂量选用等比或等差数的组别, 每组只数。

6.2 药品来源与配制方法, 给药途径, 禁食小时, 实验观察日期和温室。

6.3 观察毒性症状与每鼠死亡日期, 毒性术语表达法(见表2)。

6.4 急性实验观察期指植物类粗提制剂类, 7~10d, 除部分动物即刻死亡外, 余存动物需再延长观察2d, 俗称稳定期观察日。

6.5 Bliss氏等统计法处理和附实验记录, 并署实验者姓名。

以上几点, 是我们多年实践经验的归纳, 供药理工作者参考。

表2 毒性术语表达法

系 统	中毒表现描述
神经系统	运动失调, 俯卧, 抽搐, 震颤, 活动的让减, 后肢无力和后肢反射, 角弓反张, 共济失调, 兴奋, 强直, 行动姿势改变。
呼吸系统	呼吸减少, 呼吸困难, 呼吸停止, 呼吸抑制而死亡。
胃肠系统	粪便不成形, 腹泻, 粪便出素, 呕吐、不随意排尿和排便, 恶心, 流涎。
外观症状	竖毛, 毛发松散, 潮湿狗的颤动, 消瘦, 行动速度。
外 感	疼痛感, 翻正反射, 角膜反射, 触觉敏感性及叫声。

致谢: 本文承吴良教授审阅

参 考 文 献

1 曲青山, 等编. 制定职业性有害因素标准的方法. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 54

2 Deichman W B, et al. Toxicology of Drug and Chemicals. New York: Academic press, 1969. 9

3 李建华. 中国药理通讯, 1992, 9(4): 35

4 徐淑云, 等主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 400

(1993-10-23收稿)

(上接第363页)

3 讨论

一般认为, 苦参及其有效成分氧化苦参碱是一种双向免疫调节剂^[1, 2], 即其在低浓度时可刺激淋巴细胞增殖, 高浓度时则抑制之。我室实验结果显示, 氧化苦参碱对一小部分扁桃体来源的淋巴细胞表现为促进作用, 而对大部分扁桃体来源的淋巴细胞及小鼠脾细胞则只表现为高浓度时的抑制作用。这小部分扁桃体淋巴细胞表现为PHA、SAC低反应性。关于扁桃体淋巴细胞对PHA反应性上的差异已有发现^[3]。正常人淋巴细胞不管其来源均可呈现良好的PHA反应性^[4]。由于扁桃体摘除术大多在炎症后进行, 因此, 我们可以设想, 由于炎症的影响, 在手术摘除的扁桃体中, 有一小部分扁桃体的细胞功能状态不同于正常而呈现出PHA、SAC的低反应性。这一点也可由氧化苦参碱对小鼠脾细胞的作用呈现和对PHA、SAC高反应性的扁桃体淋巴细胞一致而得到进一步地证实。另外, 据报道^[5], 氧化苦参碱可以影响细胞膜流动性, 它可能以某种方式作用于细胞膜, 从而影响细胞功能。本次报道则表明: 氧化苦参碱对人和小鼠T和B淋巴细胞均可发挥作用, 并且此作用不受巨噬细胞存在与否的影响。说明氧化苦参碱可能以一种非特异的方式作用于细胞膜, 并且根据细胞膜状态的不同而对细胞起不同的效应。关于其和细胞膜的作用方式则可能是完全解释它作用机制的关键。

参 考 文 献

1 卡如漱. 抗炎免疫药理学与临床应用. 北京: 北京医科大学/中国协和医科大学联合出版社, 1992. 317

2 钱玉昆, 等. 中华微生物和免疫学杂志, 1988, 8(5): 312

3 余 贺. 医用微生物学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 217

4 张 琪, 等. 中华微生物和免疫学杂志, 1992, 12(1): 41

(1993-07-08收稿)

by TLC-Scanning Method

Cai Meiming

TLC-scanning method for the quantitative determination of arteannuin in liposomes and dextrans was developed. The method is simple, accurate and sensitive. The recoveries were found to be 98.0% and 96.8%.

(Original article on page 353)

Determination of Psoralen and Isopsoralen in Malaytea Scurfpea

(*Psoralea corytifolia*) and Chinese Traditional Patent Medicine by HPLC

Liu Songqin, Ma Weaxiu, Tang Xianzhe, et al

A HPLC method was established for the determination of psoralen and isopsoralen in *Psoralea corytifolia* L. and its preparations. Psoralen and isopsoralen can be separated on μ -Bondapak C₁₈ column with a mobile phase of MeOH-H₂O (6:4) and detected at 245nm. The optimum conditions based on experimental results was to extract the sample by MeOH in an ultrasonicator for 30 min. The method is simple and accurate.

(Original article on page 355)

Oxymatrine's Effects on Lymphocyte's Proliferation

Wang Huixian, Zhang Linghua, Du Shouying, et al

Oxymatrine is an alkaloid from Traditional Chinese Medicine, *Sophora flavescens* Ait. which has many pharmacological effects. We studied the effects of oxymatrine on the proliferation of human tonsillar cells and mouse splenocytes with or without mitogens. The results show that, oxymatrine can augment the proliferation of the human tonsillar cells which show low PHA & tSAC response capacity. On the other hand, oxymatrine can inhibit the proliferation of the human tonsillar cells which show high PHA & SAC responses capacity. The effects of oxymatrine on mouse splenocytes are the same with the latter.

(Original article on page 362)

Protective Effects of Sophoramine on Acute Myocardial Infarction and Reperfusion Injury in Conscious Rats

Jin Ying, Wang Xiaodong, et al

The effects of sophoramine (SA) on myocardial infarction size and ischemia-induced and reperfusion-induced arrhythmia were studied in conscious rats. It was found that pretreatment with SA 13.3 and 15 mg/kg iv reduced significantly infarct size and cardiac LDH release at 6 h after left descending coronary artery ligation as compared with the control. SA 10.6, 13.3 and 15 mg/kg iv decreased markedly the early ischemic arrhythmia in conscious rats. Amiodarone 7.5mg·kg⁻¹ had the same effects on the prevention of ischemic arrhythmia. In reperfusion experiment, it decreased the incidence of ventricular fibrillation and significantly shortened the duration of arrhythmias. These results suggest that SA has protective effects on myocardial ischemia and reperfusion injury.

(Original article on page 364)