松籽壳酸性多糖生物学作用的研究

白求恩医科大学基础医学院（长春 130021） 侯芳玉* 孙延波 盛学成
吉林省医药工业研究所 于清华

摘要 通过对松籽壳酸性多糖（简称ST_{90}）生物学活性的研究，证明ST_{90}具有较强的抗肿瘤、抗菌和抗病毒作用，能明显抑制小鼠S180实体瘤的增殖、降低鼠伤寒杆菌感染小鼠的死亡率、对adv_3、adv_7、vsv和CB_4感染的FL细胞有明显的保护作用。

关键词 松籽壳 多糖 抗肿瘤 抗菌 抗病毒

松树的许多部位或成分都可以入药，如松节、松叶、松油、松香、松根和松球[1]。早在民间就流传用松籽壳煮水治疗胃癌，但未见有关松籽壳及其提取物药理作用的研究报道。我们从长白山区产的松籽壳中提取一种酸性多糖，并对其生物学活性进行初步研究。

1 材料

细胞：人羊膜细胞(FL)，本室保存。病毒株：腺病毒3型(adv_3)、腺病毒7型（adv_7）、柯萨奇病毒B_4型（CB_4）、水泡性口炎病毒（vsv），均为本室保存毒株。菌株：鼠伤寒杆菌，本室保存。S180瘤株：由吉林省医药工业研究所提供。培养液：IMDM培养基、美国GIB公司产品。

动物：Swiss小鼠，体重20±2g，雌雄兼用，用本校实验动物部提供。

药物：ST_{90}系从长白山区采集的松籽壳中提取，呈棕色颗粒状，由吉林省医药工业研究所提供。将药品用蒸馏水浸泡，水浴煮沸1h，离心去沉渣，然后将上清液调至20mg/ml，滤过除菌，置冰箱备用。

2 方法

2.1 ST_{90}对小鼠S_{180}实体瘤的抑制作用：小鼠随机分成5组。盐水对照组，腹腔注射生理盐水0.2ml/只；ST_{90}治疗组：共分3个剂量组，分别腹腔注射ST_{90} 25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg；5-氟脲嘧啶（5-Fu）组，腹腔注射5-Fu 150mg/kg，连续注射10d。于开始后第2天，在小鼠左前腋下接种S180肿瘤细胞1×10^6/0.1ml，第11天杀鼠，分别取肿瘤和胸称湿重，观察ST_{90}对小鼠S180实体瘤的影响。

2.2 ST_{90}对小鼠免疫功能的影响：a）ST_{90}对荷瘤小鼠免疫功能的影响。在杀鼠取肿瘤和胸腺的同时，以无菌方法取小鼠脾细胞按常规方法作^{3}H-TdR掺入法淋巴细胞转化试验。b）用含不同浓度的ST_{90}营养液作^{3}H-TdR掺入法淋巴细胞转化试验[2]，观察ST_{90}在体外对小鼠脾细胞转化的影响。

2.3 ST_{90}对小鼠抗菌作用的影响：将不同剂量的ST_{90}经腹腔给小鼠注射，每日一次，连续8d，对照组注射生理盐水0.2ml/只，停药次日用4.5×10^7/0.1ml鼠伤寒杆菌经腹腔感染小鼠，以小鼠的生存率表示小鼠抗菌能力。

2.4 ST_{90}抗病毒作用：a）毒性剂量的测定：用含20%小牛血清的IMDM分别配制ST_{90}不同浓度的维持液，培养FL细胞48h，光镜下观察细胞生长状态并按中性红染料摄入法[3]测定各浓度下FL细胞存活量，选择对FL细胞无毒剂量ST_{90}作实验。b）实验方法：将事先选

*Address: Hou Fangyu, Department of Microbiology, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun

择好对FL无毒剂量的ST_{90}用20%小牛血清IMDM配制成维持液，加入到培养的FL细胞孔内，18h后以病毒100$TCID_{50}$（50%感染单位）0.1ml攻击，同时设病毒对照组和正常细胞对照组，每组均设10个平行孔，24～48h后，待病毒对照孔出现病变+++～++++时，以中性红染料摄入法测定其在波长540mm下的OD值，观察ST_{90}对病毒增殖的影响，结果以对细胞保护率来表示[4]。

3 结果

3.1 ST_{90}对小鼠S_{180}实体瘤有明显抑制作用，50mg/kg、75mg/kg组小鼠体重增长比盐水组快（$P<0.05$），5-Fu组小鼠体重增长与盐水组相比没显著差异（$P>0.05$），5-Fu+ST_{90}组小鼠体重增长比5-Fu组快($P<0.05$)。5-Fu和ST_{90}治疗组小鼠的瘤重明显低于盐水组（$P<0.01$），但5-Fu组胸腺明显缩小（$P<0.05$）。5-Fu+ST_{90}组较单纯5-Fu组抑瘤作用增强，胸腺增大，接近盐水组（表1）。表明ST_{90}不仅单独使用有抑瘤作用，而且还可以加强5-Fu的抑瘤作用，拮抗5-Fu对胸腺的抑制作用。

表1 ST_{90}对小鼠S180实体瘤的抑制作用

药物与剂量(mg/kg)	n	体重（g）	瘤重（mg）	胸腺重（mg）	抑瘤率（%）
生理盐水0.2ml	10	25.7±4.9	2211.3±363.8	0.11±0.03	0
ST_{90}					
25	10	28.2±4.2	1477.4±416.9**	0.14±0.41	33.2
50	10	29.1±2.5*	1224.5±373.8**	0.12±0.02	44.6
75	10	29.6±2.3*	1161.4±224.2**	0.14±0.03	47.5
5-Fu 250	10	23.3±2.7	1083.7±291.6**	0.05±0.01*	51.0
5Fu+ST_{90}					
(150+50)	10	26.2±3.4$^{\Delta}$	793.2±320.7$^{\Delta\Delta}$	0.10±0.03$^{\Delta\Delta}$	64.1

与盐水组相比*$P<0.05$ **$P<0.01$ 与5-Fu组相比$^{\Delta}P<0.05$ $^{\Delta\Delta}P<0.01$

3.2 ST_{90}对荷瘤小鼠的免疫功能有明显的促进作用。治疗组小鼠脾细胞对有丝分裂原刺激的反应性显著高于对照组（$P<0.01$），25、50mg/kg组与对照组比自发转化率显著高于对照组（$P<0.01$）。表明ST_{90}对荷瘤小鼠T、B淋巴细胞的增殖有促进作用。而5-Fu治疗组小鼠脾细胞对ConA和LPS的反应性低，5-Fu+ST_{90}组小鼠脾细胞对有丝分裂原的反应性比单纯5-Fu组反应性显著增高（$P<0.01$），表明ST_{90}可以拮抗5-Fu对小鼠免疫功能的抑制作用（表2）。

3.3 ST_{90}在体外对小鼠脾细胞转化有明显的促进作用。ST_{90}在体外脾细胞培养中可显著增强ConA和LPS的有丝分裂原作用，50和100μg/ml剂量具有丝分裂原效应，可使脾细胞自发转化率增高，说明ST_{90}对T、B淋巴细胞的功能有促进作用（表3）。

3.4 鼠伤寒杆菌感染后，小鼠的死亡情况（表4）。用鼠伤寒杆菌感染小鼠后，给药组小鼠生存率为70%和80%，而对照组小鼠生存率仅为20%，重复实验结果相近，证明ST_{90}能提高小鼠抗感染能力。

3.5 毒性剂量测定结果表明ST_{90}在1000μg/ml浓度以内均未见到对FL细胞生长有抑制作用，在80～158μg/ml浓度范围内，细胞生长状态、活细胞数略多于正常细胞对照组（图1、图2）。

3.6 先加入ST_{90}（100μg/ml）培养FL细胞18h后再感染不同病毒。细胞存活的量和生长

表2　ST_{90}对S180荷瘤小鼠脾细胞对有丝分裂反应的影响

药物与剂量 (mg/kg)	n	^{3}H-TdR 掺入脉冲数 ($\bar{x}\pm SD$) 自发	ConA (5μg/ml)	LPS (50μg/ml)
盐水0.2ml	8	441±128	3668±1270	1577±274
ST_{90}				
25	8	619±228	10532±3315*	3409±420*
50	8	723±144*	13021±3790*	3721±329*
75	8	771±119*	12284±4053*	4132±405*
5-Fu150	8	527±214	3032±1162	1420±346
5-Fu+ST90				
150+50	8	634±247	6217±3204△△	2912±418△△

*$P<0.05$　**$P<0.01$与盐水组相比　△$P<0.05$　△△$P<0.01$与5-Fu组相比

表3　ST_{90}对小鼠脾细胞对有丝分裂原反应的体外效应

ST_{90}剂量 (μg/ml)	^{3}H-TdR 掺入脉冲数($\bar{x}$+SD) 自发	ConA(5μg/ml)	LPS(50μg/ml)
0	2190±425	1278±3281	2800±515
20	2727±241	25778±3514**	4066±627*
50	3881±306*	18254±1034*	4123±424*
100	3226±272*	17988±2728*	3876±723

有0相比　*$P<0.05$　**$P<0.01$

表4　ST_{90}对小鼠抗菌能力的影响

组别	感染活菌数	小鼠生存数/总数	P
盐水 0.2ml	4.5×10^7	2/10	
ST_{90} 5mg/kg	4.5×10^7	7/10	<0.05
25mg/kg	4.5×10^7	8/10	<0.05
50mg/kg	4.5×10^7	8/10	<0.05

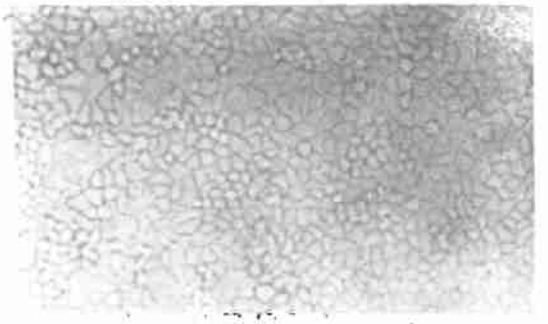

图1　正常生长状态的FL细胞

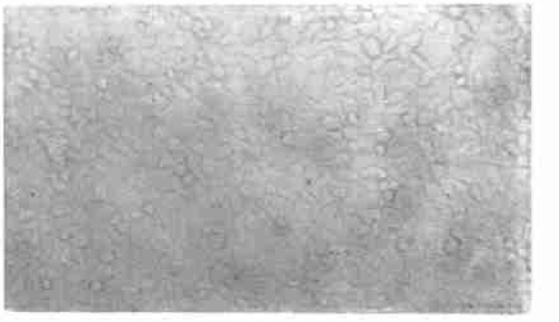

图2　加入ST_{90}维持液的FL细胞

状态比病毒对照组好。镜下观察CPE的基础上用中性红染色，测OD值，以便更客观地反映加药和不加药组的差别（表5）。

表5　ST_{90}对病毒感染FL细胞的影响

组别	OD值	组别	OD值	保护率(%)
细胞对照	0.11±0.01			
病毒对照		实验组		
adv_3	0.08±0.03	adv_3+ST_{90}	0.11±0.02	27.3
adv_7	0.07±0.03	adv_7+ST_{90}	0.11±0.03	36.4
vsv	0.05±0.03	vsv+ST_{90}	0.10±0.02	45.5
CB_4	0.06±0.03	CB_4+ST_{90}	0.12±0.02	55.5

4　讨论

结果表明ST_{90}具有抗肿瘤、抗感染和提高机体免疫功能的作用，这与文献中报道的某些高等植物中提取的多糖具有抑制肿瘤和提高机体免疫功能的作用是相符合的。ST_{90}可抑制小鼠S180实体瘤的增殖，给药组小鼠肿瘤湿重明显小于对照组（$P<0.01$），表明它有一定抑瘤作用。这种抑瘤作用与ST_{90}提高小鼠免疫功能有关。给药小鼠脾细胞对有丝分裂原的反应性明显增强，表明ST_{90}可增强T、B淋

巴细胞的分化和繁殖。T细胞是执行细胞免疫功能，其中Tc亚群可直接杀伤肿瘤细胞；T_H亚群功能增强，可使IL-2分泌增加，而IL-2能保持T细胞存活与增殖，促进T细胞产生淋巴因子，增加诱导杀伤性T细胞、NK细胞、LAK细胞的活性，这些细胞对肿瘤细胞都具有杀伤作用[5]。5-Fu虽然对小鼠S180实体瘤有抑制作用，但小鼠体重减轻，胸腺明显缩小($P<0.01$)，说明对小鼠的增长和免疫器官有抑制作用，这不利于小鼠发挥其抗病能力，恢复健康。ST_{90}与5-Fu合并使用可拮抗5-Fu对免疫器官的抑制作用。ST_{90}具有抗菌和抗病毒作用，可明显降低鼠伤寒杆菌感染后小鼠的死亡率，这种抗菌作用也与增强小鼠免疫功能有关。在体外培养的FL细胞中，在营养液中加入ST_{90}后可，保护FL细胞抵抗adv_3、adv_7、vsv和CB_4的感染，特别是对vsv和CB_4感染的保护作用更佳、许多人研究证明多种中药可促进干扰素等细胞因子的产生]，ST_{90}抗病毒作用机理是阻止病毒复制的某环节还是促进细胞产生干扰素，有待进一步研究。目前病毒性疾病尚缺乏有效的治疗药物。本研究结果初步为ST_{90}临床应用提供一条线索。

参 考 文 献

1 江苏新医学院编。中药大辞典。上册。上海：上海科学技术出版社，1985。1252。
2 张惠芸，等。中国中药杂志。1992。17(5)：30_7
3 常雅萍，等。中国中药杂志，1989，14(2)：44
4 侯云德，等。干扰素及临床应用。南京：江苏科学技术出版社，1981。189
5 Braakma, et al. Callular Immunology, 1986, 99476

(1994-04-09收稿)

(上接第186页)

随机按就诊先后分治疗组和对照组。治疗组97例，其中男63例，女34例，年龄最大61岁，最小2岁半，病程1～7d，皮损主要在暴露部位，其中57例合并有继发性感染。对照组35例，其中男21例，女14例，年龄4.0～57岁，病程1～7d，继发性感染18例。

5.2 治疗方法：治疗组用蛇参止痒剂，3～6次/d涂擦；对照组用30%酒精，3～6次/d外擦，观察2周。

疗效评定标准：参照江苏省卫生厅编著“疾病临床诊断和疗效标准”。治愈：全部消退，不痒，可有暂时性色素沉着。

5.3 治疗效果：治疗组97例全部治愈。治愈时间平均3.4d。感染带脓患者治愈较慢。治愈病例中对84例1个月后随访，未见复发。对照组35例，经30%酒精治疗1周，止痒只有一过性作用，病情未能控制，仅1例搔痒减轻。两组疗效经统计学处理，差异非常显著($P<0.01$)。

6 讨论

蛇参止痒剂内含苦参，蛇床子，百部，花椒等中草药，具有清热解毒，凉血祛风，止痛消肿，燥湿等作用。对虫咬皮炎有消炎止痒，收敛，减少渗出，防止感染，促进创面愈合等作用。通过临床观察，治疗组明显优于对照组，能缩短病程，有的病人用药3～5min即可见效。具有明显的消炎止痒作用，对合并化脓性感染也有效果。此方剂不仅对虫咬伤皮炎有效，同时对Ⅰ—Ⅰ°烧伤有效果，对足癣亦有一定的作用，且无明显副作用。

(1994-02-28收稿)

《贵阳中医学院学报》征订启事

《贵阳中医学院学报》是综合中医药学术刊物，属我国中医药核心刊物之一。本刊注意理论联系临床，提高兼顾普及，辟有“学术探讨”、“老中医经验”、“临床经验”、“针灸”、“医案医话”、“实验研究”、“综述”、“中药方剂”等专栏。

本刊为季刊，逢季末月25日出版，国内外公开发行，16开本，电脑排版，64内页，每期定价1.50元。国内邮发代号66—31，全国各地邮局均可订阅，脱订者可随时直接向本刊编辑部订阅。地址：贵州贵阳市市东路1号，邮编550002。

internal standard. The method isparticularly advantageous for the determination of Borneol.

(Original article on page 183)

Determination of Tanshenoside I in Taidangshen (*Codonopsis pilosula*) and Cultivated Ludangshen (*C. pilosula*) of Different Years Old

Dai Jing, Feng Li, Han Guiru et al

Amounts of tanshenoside I in cultivated Ludangshen of different years of cultivation history was determined by TLC densitometry in comparison with that in wildly grown Ludangshen and cultivated Taidangshen. Results showed that tanshenoside I in cultivated Ludangshen decreases with increased years of cultivation history while that in cultivated Taidangshen is slightly lower than that of Ludangshen of the same years of cultivation. Tanshenoside I in wild Taidangshen is also lower than that in cultivated Taidangshen.

(Original article on page 185)

Study on Biological Effects of Songzike Acidic Polysaccharide

Hou Fangyu, Yu Qinghua, et al

The biological effects of Songzike acidic polysaccharide (ST90) were studied in vivo and vitro. It was found that ST90 had distinct antineoplastic, antibacterial and antiviral effects. It markedly inhibits proliferation of S180 solid tumor in mice and reduces the mortality of mice infected by *Salmonella typhimurium*, and shows a protective effect on FL cells infected with adv_3, adv_7, vsv and CB_4.

(Original article on page 193)

Protective Effect of Tea Polyphenol on Rat Myocardial Injury Induced by Isoproterenol

Tang Shengxing, Ye Ting, Zhao Zhengdong

Iretreatment with tea polyphenol (TP) at a dose of 10mg/kg ip to rats five days before isoproterenol (ISO) challenge (1mg/kg sc, for two days), resulted in decreases of malonydialdehyde concentration, creatine phosphokinase, lactic dehydrogenase (LDH) and LDH_1, activities; increased LDH_2/LDH_1 ratio and inhibited the extent of myocardial injury, similar to the action of propranol. At the same time TP decreased rat plasma renin activity. The results suggested that the mechanism by which TP protects heart from ISO-induced myocardial injury is due to its antioxygen free radical and inhibition of renin activities.

(Original article on page 197)

Effects of Emodin on the Cytoplasmic free Ca^{2+} in Peritoneal Macrophages From Mice

Cui Rongfen, Lin Xiuzhen