

Hepatic fibrosis of rat was induced by CCl_4 and treated with tetrandrine (Tet). Results showed that Tet had obvious effect of anti-hepatic fibrosis which can be borne out by determining the activities of liver enzyme spectrum consisting of ALT, AKP, ChE, MAO and γ -GT in serum. The measurement can be observed dynamically, is noninvasive and more rapid, accurate and convenient than invasive hepatic biopsy. It provides valuable biochemical indexes for diagnosis, curative effect and prognostic judgement of hepatic fibrosis.

理气药对荷瘤小鼠免疫功能的影响

北京医科大学生化和分子生物学系(100083) 叶加* 蒋益民 钱伯文** 于尔辛***

摘要 实验中发现理气药有一定的抑制小鼠肿瘤(S180, Lewis 肺癌)生长的作用。当小鼠接种 S180 和 Lewis 肺癌后,其免疫功能降低,白细胞介素 I (IL-2)活性低下, T 细胞亚群比例失调, $\text{Th}/\text{Ts} < 1$ 。经理气药治疗,明显抑制了 IL-2 活性的降低,与对照组比较,差别有显著意义 ($P < 0.05$),并能提高 T 辅助细胞,调整 T 细胞亚群的比例,使 $\text{Th}/\text{Ts} > 1$ 。表明理气药能提高荷瘤机体的免疫功能,以达到抗肿瘤效应。

关键词 理气药 白细胞介素 I T 细胞亚群 免疫功能

恶性肿瘤与人体气机关系密切,气机失畅是导致肿瘤形成的重要原因之一,而肿瘤的生长又促进全身气机的紊乱^[1],临床上常配伍理气药治疗各种肿瘤,获得较好的疗效^[2,3]。本实验拟通过理气药对荷瘤小鼠 IL-2 活性和 T 细胞亚群的观察,探讨理气药的抗癌作用。

1 材料与方

1.1 动物与瘤源: BALB/c 小鼠, C₅₇BL 小鼠, 雄性, 体重 18~20g, 上海市计划生育研究所实验动物中心提供。小鼠腹水型 S180 瘤株, Lewis 肺癌, 由中科院上海药物研究所赠送。接种 2×10^6 个瘤细胞于小鼠右液部皮下。

1.2 药物及试剂: 理气药: 八月札、广木香、佛手购自上海市医药公司。水煎沸后 30min, 过滤浓缩至每 100ml 含生药 200g, 剂量 50g/kg·d。理气药的治疗剂量参照《医学动物实

验方法》(施新猷. 北京: 人民卫生出版社. 1980, 104), 并以此为基础, 通过不同剂量 (200、100、50、25、12.5g/kg) 的抗肿瘤实验, 确定 50g/kg·d 为最佳剂量。在接种肿瘤后第 2 天开始每天灌胃治疗, 用生理盐水作对照, 治疗 12d 后, 观察免疫功能指标, 治疗 21d 后, 观察肿瘤生长情况。正常组未予任何处理。ConA: 美国 Sigma 公司出品; ^3H -TdR: 中科院上海原子能研究所提供; IL-2 标准样品: Boehringer Mannheim GmbH. W-Germany 1000u/ml, CTLL-2 细胞: 浓度 1×10^5 /ml, 上海第二医科大学免疫室提供; 抗小鼠 T 细胞 McAb: Thy1, 2, L₃T₄, Lyt₂ 由北京医科大学免疫室生产; 第二荧光抗体, FITC 标记羊抗小鼠 IgG: 中国军事医学科学院生产; 淋巴细胞分离液: 上海试剂二厂生产。

1.3 方法

* Address: Ye Jia, Department Biochemistry, Beijing Medical University, Beijing

** 上海中医药大学 *** 上海医科大学附属肿瘤医院

1.3.1 理气药抗 BALB/c 小鼠 S180 和 C₅₇BL 小鼠 Lewis 肺癌的生长:小鼠接种瘤细胞后第 2 天,治疗组用理气药每天灌胃治疗,剂量 50g/kg·d,荷瘤组用同体积的生理盐水每天灌胃,正常组为未予任何处理的正常小鼠。21d 后,取局部实体瘤称重,观察瘤重及抑瘤率。

1.3.2 IL-2 活性测定:参考文献^[4,5]。a)IL-2 的诱生:无菌取出小鼠脾脏,用 RPMI1640 完全培养液配成 1×10^7 细胞悬液,加入 ConA 5 μ g/ml,5%CO₂,37℃ 培养 24h 后,离心收集上清,置 -20℃ 待检。b)IL-2 含量测定:取传代的 CTLL-2 细胞,配成 1×10^5 /ml 细胞悬液,接种于培养板,加不同稀释度的待测标本,以标准 IL-2 作阳性对照,RPMI1640 作阴性对照,5%CO₂,37℃ 培养 24h,于结束培养前 6h 每孔加入 0.5mCi ³H-TdR 50 μ l,收集细胞,用 Beckman β 检测仪测定 ³H 掺入量。

1.3.3 T 细胞亚群测定:参考文献^[6]。a)染色过程:小鼠眼球取血,肝素抗凝(12.5u/ml)PBS 1:3 稀释后缓慢加到淋巴细胞分离液上,离心 1500r/min,20min,吸取淋巴液,加红细胞溶解液 1:20,7min 后离心 1500r/min,5min,将所得淋巴液分 3 管,各加 50 μ l OKT McAb (1:100 稀释)Thy1,2,L₃T₄,Lyt₁ 及 50 μ l PBS,30min,离心 1500r/min,5min,加第二荧光抗体(1:19)各 20 μ l,经 45min 孵育后,PBS 洗涤,0.8%戊二醛 0.1ml 固定,染色在 -15℃ 下进行,荧光标记细胞的台盼蓝染色活细胞 >95%。b)流式细胞仪分析:Facstorplus 流式细胞仪系美国 Becton,Dickinson 公司产品,氩离子激光,切率 200mW,激发波长 488nm,绿荧光 530/30nm,记录 1024 道单参数直方图,所有数据在 HP310 数据分析计算机上进行,每个样本采样淋巴细胞 5000 个。

2 结果

2.1 理气药对 BALB/c 小鼠 S180 的影响: BALB/c 小鼠接种 S180 瘤细胞后,治疗组用

理气药每天灌胃治疗,共 21d,局部实体瘤重 1.09 ± 0.48 g,而荷瘤组用生理盐水灌胃 21d。局部实体瘤重 1.62 ± 0.58 g,两组差别有显著意义($P < 0.05$),治疗组的抑瘤率达 32.72%,正常组未见明显变化。可见理气药对小鼠 S180 的局部生长有一定抑制作用。

2.2 理气药对 C₅₇BL 小鼠 Lewis 肺癌实体瘤的影响:C₅₇BL 小鼠接种 Lewis 肺癌后,治疗组用理气药每天灌胃治疗,荷瘤对照组用生理盐水每天灌胃,21d 后,治疗组局部实体瘤重 0.91 ± 0.45 g,荷瘤组局部实体瘤重 1.59 ± 0.66 g,两组差别有显著意义($P < 0.05$),治疗组的抑瘤率为 42.77%。正常组无明显变化。表明理气药对小鼠 Lewis 肺癌局部生长有一定的抑制作用。

2.3 理气药对荷瘤小鼠 IL-2 活性的影响:如表 1。BALB/c 小鼠接种 S180 后,其脾脏 IL-2 活性明显降低,为 31.37 ± 8.73 u/ml,与正常组比较,差异有显著意义($P < 0.01$)。经理气药治疗 12d 后,测定 IL-2 活性,达 54.66 ± 16.46 u/ml,明显高于荷瘤对照组($P < 0.01$)。表明理气药有增强荷瘤小鼠 IL-2 活性的功能。

表 1 理气药对荷 S180 小鼠脾脏 IL-2 活性的影响

组别	n	IL-2(u/ml)
正常组	8	72.45 ± 12.13
治疗组	10	54.66 ± 16.46*
荷瘤组	10	31.37 ± 8.73**

与荷瘤组比较 * $P < 0.01$ 与正常组比较 ** $P < 0.01$

2.4 理气药对荷瘤小鼠 T 细胞亚群的影响:结果如表 2。C₅₇BL 小鼠接种 Lewis 肺癌 12d 后,Thy1.2(表达于小鼠成熟 T 细胞表面,代表 T₃),L₃T₄(表达于小鼠成熟的诱导一辅助 T 细胞表面,代表 T₄)下降,而 Lyt₂(表达于小鼠成熟的杀伤/抑制 T 细胞表面,代表 T₈)则相对升高,T₄/T₈ 为 0.87 ± 0.25 。表明荷瘤小鼠 T 细胞亚群比例失调,T₄/T₈ 比值倒置。经理气药治疗 12d 后,T₄ 达 $23.35 \pm 5.67\%$,明显高于荷瘤对照组 $16.8 \pm 6.22\%$,其差异有显著意义($P < 0.05$),而

T_4/T_8 比值达 1.62 ± 0.62 , 明显高于荷瘤对照组 ($P < 0.05$)。从理气组看, T_4 高于 T_8 , 与

正常组相近, 而荷瘤组则相反。结果表明理气药有调整荷瘤小鼠 T 细胞亚群的功能。

表 2 理气药对荷 Lewis 肺癌小鼠外周血 T 细胞亚群影响

组别	n	Th ₁ ,2(%)	L ₃ T ₄ (%)	Lyt ₂ (%)	L ₃ T ₄ /Lyt ₂
正常组	8	41.13 ± 4.02	25.66 ± 3.24	15.27 ± 4.13	1.71 ± 0.53
治疗组	10	39.47 ± 5.07	23.35 ± 5.67*	15.84 ± 5.62	1.62 ± 0.63*
荷瘤组	10	37.38 ± 7.37	16.8 ± 6.22	19.90 ± 5.58	0.87 ± 0.25

与荷瘤组比较 * $P < 0.05$

3 讨论

IL-2 对抗肿瘤效应细胞有调节作用。临床报道: 肿瘤病人 IL-2 活性普遍降低, 而经静脉注入体内的 IL-2, 在循环中的半衰期很短, 大剂量的 IL-2 虽可维持体内 IL-2 于一定水平, 但同时可引起多种副作用^[7], 所以寻找能诱导体内产生 IL-2 的药物较之体外注入 IL-2 更为安全可靠, 且体内的维持水平均衡长久。临床和动物实验已证明有些中药有提高 IL-2 产生的作用^[8]。目前研究较多的是补益类中药。理气药在调节机体气机紊乱, 纠正平衡失调方面有一定的作用, 是否对体内 IL-2 活性亦有所影响, 我们进行了理气药抗肿瘤及对诱生 IL-2 影响的实验。结果发现, 肿瘤的形成可使体内 IL-2 的产生降低, 抑制免疫系统的抗肿瘤功能, 以利于肿瘤的生长。而理气药有一定的抑制 BALB/c 小鼠 S180 和 C₅₇BL 小鼠 Lewis 肺癌生长的作用, 理气药的治疗能促进体内产生 IL-2 的功能提高, 改善了机体的免疫低下状态。由于理气药在此是作为诱导剂, 促进体内自身产生 IL-2 的能力提高, 较之外源性 IL-2 更完全有效。

T 细胞在肿瘤免疫中起着中心调控作用。据报道, 荷瘤状态下, T 细胞功能的不全和抑制, 会引起机体抗瘤功能降低, 这种变化

不仅有 T 细胞数量减少和功能改变, 还表现为 T 细胞亚群的比例失调^[9]。监视荷瘤机体内 T 细胞亚群的变化显得十分重要。随着肿瘤生长, 总 T 细胞和 Th 细胞进行性下降, 使 Th/Ts 比值降低。Th 细胞的减少与肿瘤生长的加速和扩散相一致。Ts 细胞的升高伴有肿瘤的转移和扩散。可见在抗肿瘤免疫中, T 细胞亚群起着重要作用。我们以理气药观察其对 T 细胞亚群的影响, 结果发现, 生长肿瘤后的小鼠, 其 T 细胞抗肿瘤免疫功能降低。Th/Ts 比值明显下降。而理气药的治疗调整了 T 细胞亚群的比例失调, 使 Th/Ts 接近正常, 表明理气药有改善 T 细胞抗肿瘤免疫功能的作用, 从而达到一定的抗肿瘤效应。

参考文献

- 1 钱伯文. 上海中医药杂志, 1985(10):26
- 2 金 岚. 上海中医药杂志, 1990(10):7
- 3 钱伯文. 中成药研究, 1982(4):22
- 4 张 蒲, 等. 中国免疫学杂志, 1986(6):23
- 5 匡彦德, 等. 上海医科大学学报, 1987(1):32
- 6 周 决, 等. 中国癌症杂志, 1991(1):56
- 7 王文章. 肿瘤免疫生化诊断与免疫治疗. 重庆: 科技文献出版社重庆分社, 1989
- 8 钟 飞, 等. 中国药理通讯, 1989(6):5
- 9 Robins RA, et al. Immunol Today, 1985(6):55

(1995-01-12 收稿)

Effect of "Qi" Regulating Herbs on Immunologic Function of Tumorbearing Mice

Ye Jia, Qian Bowen, Yu Erxin

Mice transplanted with S₁₈₀ or Lewis lung sarcoma will result in impairment of their immunologic function with lowering of IL-2 activity and abnormal ratio of T cells (Th/Ts < 1). When treated with herbs with "qi" regulating activity, their IL-2 activity and Th/Ts ratio increased apparently, suggested that the herbs are efficient for the adjustment of immunologic function.