

### 3 讨论

SOD 广泛存在于一切动植物组织中<sup>[5]</sup>, 它能清除自由基的毒性作用。LPO 是自由基对细胞毒性作用下产生的。正常情况时, 抗氧化剂、抗氧化酶类及一些中草药是对自由基反应的天然防御物质, 它们保护着机体健康和维持生命。SOD 此酶清除了超氧自由基( $O_2^-$ ), 从而保护了细胞膜结构及正常功能。

在实验中, 我们观察到随着大鼠增龄, 血清中和肝、脑、心、肾及肺等组织中 LPO 均有显著增加, 与此同时 SOD 在红细胞中和组织中有不同程度的明显降低, 这可能是老龄大鼠红细胞及组织中脂质过氧化对 SOD 损伤所致。

实验表明, 赤阳子可提高老龄大鼠红细胞和肝、脑、心、肾及肺等组织中 SOD 活性, 降低血清及相应组织中 LPO 的浓度, 具有一定抗自由基的作用, 对抑制自由基反应所导致的损伤和引起基因突变或癌变、衰老等方面, 都有保健价值。

#### 参考文献

- 1 羊茂·滇南本草, 第 1 卷, 第二版, 昆明: 云南出版社
- 2 柴立, 等. 贵阳中医学院学报, 1988(1): 39
- 3 丁克祥, 等. 老年学杂志, 1987, 1(2): 42
- 4 陈顺志, 等. 临床检验杂志, 1984, 2(1): 8
- 5 李文杰. 生命的化学, 1982, 2(5): 49

(1996-03-27 收稿)

1996-08-27 修回)

### Effects of Fructus of Fortune Firethorn (*Pyracantha fortuneana*) on SOD and LPO in Aged Rat

Wang Hesheng, Chai Li, Li Shoulan

Effects of fructus of *Pyracantha fortuneana* on SOD activity in tissues and red cells and LPO content in tissues and blood of aged rat were studied. Activities of SOD in tissues and red cells were determined by the method of pyrogalllic acid autoxidation. Contents of LPO in tissues and blood were determined by the method of thiobarbituric acid colorimetry. Results showed that the activity of SOD in rat tissues and red cells given fructus of *P. fortuneana* were significantly higher than that of control ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ) and the contents of LPO in rat tissues and blood were significantly lower than that of control ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). These results demonstrated that fructus of *P. fortuneana* has certain antisenile effect.

### 葛根提取物体外对 TNF、IL-1 及 IL-2 产生的影响<sup>△</sup>

四川省中药研究所(重庆 630065) 杜德极\* 聂梅\*\* 杨薇 胡友梅\*\*

**摘要** 体外用 LPS 刺激小鼠腹腔巨噬细胞(PM $\phi$ )分泌 TNF 及 IL-1, 用 PHA 刺激小鼠脾细胞分泌 IL-2 的方法来观察葛根提取物对这些细胞因子分泌的影响。结果表明葛根提取物在 0.08~2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度时, 对 LPS 刺激 PM $\phi$  TNF 的分泌无影响, 而对 LPS 刺激 PM $\phi$  分泌 IL-1, PHA 刺激脾细胞分泌 IL-2 有抑制作用。在 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 对 TNF、IL-1 及 IL-2 的分泌均呈抑制作用。

**关键词** 葛根提取物 TNF IL-1 IL-2

葛根提取物在动物体内能激活腹腔巨噬细胞的吞噬功能, 可启动 picibanil(OK<sub>432</sub>) 或

\* Address: Du Deji, Sichuan Institute of Chinese Materia Medica, Chongqing

\*\* 第三军医大学管理教研室 <sup>△</sup>国家自然科学基金资助项目

脂多糖(LPS)在动物血清中产生肿瘤坏死因子(TNF)<sup>[1]</sup>。为了进一步研究葛根对 TNF 产生影响的机理及对其它细胞因子产生的影响,作者观察了体外葛根对 LPS 诱导小鼠腹腔巨噬细胞产生 TNF 及 IL-1,对 PHA 刺激小鼠脾细胞产生 IL-2 水平的影响。

## 1 材料和方法

1.1 药物:葛根提取物为稀醇提取物(GD),由本所中药制剂室提供<sup>[1]</sup>。刀豆蛋白 A (ConA)、细菌脂多糖(LPS)、放线菌素 D 均为 Sigma 产品。植物血凝素(PHA,广州医工所),地塞米松(Dex,成都制药一厂),RPMI1640(Gibco),<sup>3</sup>H-TdR(上海原子能研究所),均由第三军医大学药理教研室提供。

1.2 动物及细胞株: BALB/c 小鼠,雌雄不拘,鼠龄 8~10 周,体重 20±2 g,第四军医大学动物实验中心提供。L929 及 CTLL 细胞株由第三军医大学药理教研室保存和提供。

1.3 小鼠腹腔巨噬细胞 TNF 及 IL-1 的诱导<sup>[2]</sup>:取小鼠数只,在无菌条件下以无胎牛血清(FCS)的 RPMI 1640 收集腹腔巨噬细胞,经离心,洗涤,用含 10%FCS 的 RPMI 1640 液调其细胞浓度为 2×10<sup>6</sup>/mL,将其加于 24 孔板,1 mL/孔,置 37℃,5%CO<sub>2</sub> 孵箱内培养,2 h 后吸弃上清,再每孔加入 20 μg/mL 的 LPS 及不同浓度的药液或 RPMI 1640 液,总体积 1 mL,另设 Dex 阳性对照及空白对照。培养一定时间(取 TNF 样品培养 6 h,取 IL-1 样品培养 24 h),收集上清,测 TNF 或 IL-1 活性。

1.4 TNF 活性检测<sup>[1,3]</sup>:采用 L929 细胞生物法,结晶紫染色后,在 540 nm 处测定 OD 值。活性以使 50%L929 细胞死亡时相应稀释倍数计算,并与 rh TNF 标准品校准。

1.5 IL-1 活性检测<sup>[4]</sup>:采用小鼠胸腺细胞为靶细胞,将胸腺制成单个细胞悬液,浓度为 1×10<sup>7</sup>/mL,加入 96 孔板 100 μL/孔。然后将收集上清样品加入各孔,每个样品多个复孔,在 CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 72 h,终止前 8 h 加入 <sup>3</sup>H-TdR 10 μL(18.5kBq/孔)。终止时用多头细

胞收集器将细胞收集于玻璃纤维膜上,80℃ 30min 烘干,置闪烁液中测定 DPM。

1.6 小鼠脾细胞 IL-2 的产生<sup>[5]</sup>:无菌取出小鼠的脾脏,将其分散,过滤,以 0.9%NH<sub>4</sub>Cl 破坏其红细胞,以无 FCS 的 RPMI 1640 液洗脾细胞 2~3 次,再用 10% FCS 的 RPMI 1640 液调其细胞浓度为 1×10<sup>6</sup>/mL,加入 96 孔板中,每孔 100 μL,然后加 PHA(终浓度 100 μg/mL)及不同浓度的药液或 RPMI 1640 液,总体积 200 μL/孔。另设 Dex 阳性组及空白对照组,在 37℃,5%CO<sub>2</sub> 培养箱中温育 24 h,收集上清液立即测定 IL-2 活性。

1.7 IL-2 活性检测<sup>[6]</sup>:采用 CTLL 细胞生物法,取 96 孔板,每孔加入 CTLL 细胞液(用完全 RPMI 1640 液调制为 4×10<sup>5</sup>/mL) 100 μL,再加入脾细胞培养上清,于 37℃,5%CO<sub>2</sub> 孵箱中培育 24 h,每孔再加入 18.5kBq <sup>3</sup>H-TdR,继续培育 4 h,将细胞收集于玻璃纤维上,于液闪中测定 DPM。

## 2 结果

2.1 GD 对 LPS 刺激小鼠腹腔巨噬细胞产生 TNF 的影响:先观察了 LPS 在 20 μg/mL 时对小鼠 PMφ 产生 TNF 时相变化,在 6、12 及 24 h 培养上清的 TNF 活性分别为 57.6±16.8、44.0±8.4 及 36.8±1.6 u/mL。表明 LPS 诱导 PMφ 产生 TNF 高峰在 6 h。因此以 6 h 为作用时点,观察了 GD 对 LPS 刺激 PMφ 产生 TNF 的影响,结果见表 1,0.08~2 μg/mL 对 TNF 产生无影响,当高浓度 10 μg/mL 时对 LPS 刺激 TNF 产生有一定抑制作用(P<0.05)。

表 1 葛根对 LPS 刺激 PMφ 产生 TNF 的影响

	药浓(μg/mL)	n	TNF u/mL 上清液
	0	7	57.8±16.8
	Dex	7	43.6±8.4
葛	0.08	7	55.6±9.6
	0.4	7	45.6±6.8
	2	7	47.2±2.8
根	10	7	42.4±4.4*

与 0 比较 \*P<0.05

2.2 GD 对 LPS 刺激小鼠腹腔巨噬细胞产

生 IL-1 的影响: LPS 在 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时对小鼠 PM $\phi$  产生 IL-1 的时相变化, 结果为: 6、12、24、36 h 的上清 dpm 分别为 2525.6  $\pm$  327.3、3078.6  $\pm$  501.0、5572.9  $\pm$  698.1 及 3312.5  $\pm$  432.8, 表明峰值时间为 24 h。因此以 24 h 为作用时间, 观察了 GD 对 LPS 刺激 PM $\phi$  产生 IL-1 的影响。结果见表 2, 0.08~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 GD 对 LPS 刺激作用有显著抑制作用。高浓度 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抑制率达 74%。

表 2 GD 对 LPS 刺激 PM $\phi$  产生 IL-1 的影响

	药浓 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	IL-1 dpm/mL
	0.08	3007.3 $\pm$ 547.3**
葛	0.4	3712.4 $\pm$ 687.7*
根	2.0	3606.3 $\pm$ 665.8*
	10.0	1440.7 $\pm$ 125.0**
LPS	20	5572.9 $\pm$ 698.1
Dex	50	4878.7 $\pm$ 577.2
	0	579.5 $\pm$ 68.7
ConA	3	2608.0 $\pm$ 340.9

与 LPS 比 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  ( $n=7$ )

2.3 GD 对 PHA 刺激小鼠脾细胞产生 IL-2 的影响: 脾细胞在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PHA 刺激 24 h 产生的上清 IL-2 活性很高, 葛根对其 IL-2 产生的抑制作用随着浓度增加而增强, 见表 3。

### 3 讨论

GD 在动物体内可促进 LPS 诱导家兔血清产生 TNF<sup>[1]</sup>, 而本次研究采用在体外与 PM $\phi$  直接接触, 观察对 TNF 诱生的影响, 结果 GD 在 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度以下对 LPS 刺激 M $\phi$  分泌 TNF 无影响, 而在 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时呈抑制作用, 这表明 GD 在体外与 M $\phi$  直接作

用与体内的作用不完全相同, 体内 GD 除了可能与 M $\phi$  的直接作用外, 还有机体一系列反应过程参与的多方面作用之故。本次实验结果还表明 GD 在浓度很低时 (0.08  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 就可以抑制 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS 刺激 M $\phi$  分泌 IL-1 及 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PHA 刺激脾细胞分泌 IL-2 的作用。由于 GD 是稀醇提取物, 内含成分复杂, 因此对 3 种细胞因子的影响是来自于相同物质或不同物质, 以及对这些细胞因子的影响有无因果关系等问题都需要进一步研究。

表 3 GD 对 PHA 刺激小鼠脾细胞上清液 IL-2 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

	药物 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	IL-2 dpm/mL
	0.08	130554 $\pm$ 12763*
葛	0.4	110147 $\pm$ 13320*
根	2.0	71349 $\pm$ 4834**
	10.0	62566 $\pm$ 4863**
PHA	100	169380 $\pm$ 19224
Dex	50	113095 $\pm$ 7964**
	0	52358 $\pm$ 6918

与 PHA 比 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  ( $n=6$ )

### 参考文献

- 1 杜德极, 等. 中药药理与临床, 1995, 11(1): 16
- 2 Xiang DaoBin, et al. 中国药理学报, 1993, 14(4): 332
- 3 Tomkins P, et al. J Immunol Methods, 1992, 151: 313
- 4 杨四句, 等. 上海免疫学杂志, 1989, 9(6): 363
- 5 陈奇, 等主编. 中药药理研究方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 774
- 6 Gillis S, et al. J Immunol, 1978, 120(6): 2027
- 7 杜德极, 等. 中药药理与临床, 1994, 10(2): 16

(1995-06-05 收稿)

## 《中华藏本草》出版发行

罗达尚主编, 民族出版社出版, 医药类, 16 开, 1200 千字, 精装定价: 128.00 元, 1997 年 3 月出版, (ISBN7-105-02664-2/R·51)。

《中华藏本草》共收载藏药 1859 种, 其中矿物药 60 种, 植物药 1411 种, 92 变种, 动物药 266 种。每种药一般记载有名称(汉文名、藏文名及译音、拉丁学名)、来源、生境分布、采集加工、药材性状、化学成分、药理作用、功能主治、附方、附注等项, 有插图 70 余幅。全书 120 余万字。

该书收载品种多, 资料丰富可靠, 可供国内外天然药物学、传统药物学之教学、科研、药检、医疗、开发利用、生产经营、引种栽培等科学工作者及相关部门参考使用。

购书款汇寄 100013 北京安外和平里北街 14 号民族出版社发行部收。外地单位购书须加 20% 邮挂费, 个人购书须加 10% 的邮挂费。联系电话: (010)64234411-6236; 64234411-6237; 开户行: 工商银行北京和平里分理处; 户名: 民族出版社北京图书发行部; 帐号: 065100-16。