

六味中药对内毒素刺激巨噬细胞分泌 IL-6 的影响

天津职工医学院(300052)

富光华

天津南开医院

许 锋 鲁焕章

内毒素血症时,巨噬细胞(MP)过度激活,产生、释放多种细胞因子,是造成机体过度炎症反应和全身性损伤的重要原因^[1]。抑制巨噬细胞的过度激活,减少细胞因子的过度分泌,可以保护脏器,降低死亡率。为此我们观察了六味中药对内毒素刺激巨噬细胞分泌细胞因子的影响。

1 材料

动物:Wistar 大鼠,雄性,体重 150~160 g,军事医学科学院实验动物中心提供。

细胞株:KD₈₃,北京医科大学陈慰峰教授提供。

标准品:人重组白细胞介素 6(IL-6, 1×10^6 U/mL),美国 DNAX 分子及细胞生物研究所赠送。

RPMI 1640 培养基:GIBCO 公司产品。细菌脂多糖(LPS),二巯基乙醇:北京生物制品所产品。

药物:丹参、大黄、白头翁、败酱草、茵陈、甘草,由天津市急腹症研究所药物研究室经醇提,浓缩成 100%(1 g/mL)的药液。灭菌,分装后置 4℃ 存放备用。

2 方法与结果

腹腔巨噬细胞的分离:Wistar 大鼠 3 只,腹腔注射 3%二巯基乙醇 3 mL,5 d 后股静脉放血处死大鼠,BS 冲洗腹腔 3 次,离心后弃上清。用 RPMI1640 将细胞调至 1×10^6 个/mL,加入 24 孔板中置 37℃,5%CO₂ 孵育箱中过夜。用 1640 冲洗 2 次,去除非粘附细胞,获得腹腔巨噬细胞。

应激大鼠肝细胞的分离:大鼠 3 只,麻醉后进入腹腔,夹闭大鼠肠系膜上动、静脉,45 min 后取下动脉夹,用 10 号丝线部分结扎末端回肠,关闭腹腔。造模 24 h 后进行肝细胞分离,参照文献^[2]的方法。用 RPMI1640 将肝细胞调整至 1×10^6 个/mL。

IL-6 测定方法:参照文献^[3]。

不同浓度 LPS 对 MP 的刺激作用:肝细胞和腹腔巨噬细胞培养 24 h 后,将腹腔巨噬细胞加入 24 孔板中静置 4 h,然后依次加入肝细胞培养上清液(终浓度 1×10^5 个/mL),LPS(终浓度分别为 1.25、2.5、5、10、20、40 μ g/mL)和 RPMI1640。置 37℃,5% CO₂ 孵育箱中培养 4、8、12 h 后取上清液测定 IL-6 活性。每种浓度、每个时间点复制 4 份。结果当 LPS 为 20 μ g/mL 时,IL-6 活性最大。

药物对 LPS 刺激 MP 分泌 IL-6 的影响:肝细胞和腹腔巨噬细胞培养 24 h 后,将腹腔巨噬细胞加入 24 孔板中静置 4 h,然后依次加入肝细胞培养上清液(终浓度为 1×10^5 个/mL),LPS(终浓度 20 μ g/mL),药物(终浓度 10 mg/mL)和 RPMI1640。培养 4、8、12 h 后取上清液测定 IL-6 活性。每种药物每个时间点复制 4 份。结果见表 1。除茵陈、甘草外,丹参、大黄、白头翁、败酱草四味中药对 LPS 刺激 MP 分泌 IL-6 均有明显的抑制作用,并且是连续的,随培养时间的延长而增强,这为内毒素血症的治疗开辟新的途径。

表 1 药物对 MP 分泌 IL-6 活性的影响($\bar{x} \pm s$, u/mL)

组别	孵 育 时 间		
	4 h	8 h	12 h
A	19.61 ± 3.96	50.26 ± 1.81	53.19 ± 3.40
A+丹参	12.45 ± 1.11*	17.03 ± 3.20***	17.17 ± 1.08***
A+大黄	9.52 ± 2.69**	16.64 ± 3.23***	17.57 ± 3.31***
A+败酱草	12.67 ± 2.90*	12.47 ± 4.23***	14.70 ± 2.11***
A+白头翁	8.15 ± 3.70**	12.60 ± 4.36***	16.98 ± 5.18***
A+茵陈	14.75 ± 2.22	25.25 ± 4.65***	49.33 ± 8.02
A+甘草	16.25 ± 3.30	26.75 ± 4.99***	60.67 ± 6.03

A-巨噬细胞培养上清液+肝细胞培养上清液+LPS+RPMI 1640

t 检验,与对照 A 比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

参 考 文 献

3 Mosmann T. J Immunol Med. 1983, 65: 55

1 Bellanti J A, et al. Pedia Clin North Am, 1994, 41: 597

2 Apini G, et al. Hepatology, 1994, 20: 494

(1996-06-21 收稿)