

刺五加多糖对白血病细胞系促诱生干扰素动力学研究

苏州医学院微生物学教研室 杨吉成 刘静山 徐培君 徐鸿贞

内容提要 用 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 的刺五加多糖针剂对本室自建的S801白血病细胞系进行了干扰素促诱生动力学试验。结果表明刺五加多糖促诱生干扰素动态曲线与不加刺五加多糖的常规诱生曲线均在4~16小时渐升, 20~24小时达高峰, 然后渐降。但在各相应时间的促诱生干扰素效价均明显比常规诱生组为高, 证明刺五加多糖具有促诱生干扰素效应, 其效应最佳时间在20~24小时。

刺五加 (*Acanthopanax senticosus* (Rupr et Maxim) Harms) 是五加科植物, 近年来国内外对刺五加进行了大量的化学、生理化学、实验药理和临床药理的研究, 普遍认为刺五加可提高机体免疫力而发挥抗感染、抗肿瘤和解毒作用^[1,2]。我们用 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 的刺五加多糖针剂对本室自建的S801白血病细胞系^[3] (来自急淋白血病患者外周血白细胞) 进行了干扰素促诱生试验, 并作了促诱生干扰素动力学试验。

材料和方法

一、细胞: 诱生细胞用S801白血病细胞系, 经实验证明该细胞系具有干扰素诱生能力^[4]。测定干扰素效价的细胞用自制的人胚肌皮细胞或人胚肺细胞次代培养物。

二、病毒: 诱生病毒用新城疫病毒 (NDV-F系)。测干扰素时所用的攻击病毒为滤泡性口腔炎病毒 (VSV-Indiana株)^[4]。

三、启动: 用自制的 $150\text{u}/\text{ml}$ 粗制干扰素。

四、促诱生剂: 刺五加多糖针剂。有以下二种批号: 801 由上海药物所冯胜初制备及惠赠, 840209 由上海第七制药厂制备。

五、干扰素诱生与促诱生试验及其动态观察: 收获对数生长期的S801细胞, 并用培养基调整活细胞浓度在 $5 \sim 8 \times 10^6$ 细胞/ ml , 在相同条件下进行分组试验。

1. 常规诱生对照组: 在诱生细胞中只加入NDV-F系进行常规诱生。作动力学试验时每间隔4小时取样, 收获细胞上清液。

2. 启动诱生对照组: 先用 $150\text{u}/\text{ml}$ 干扰素将诱生细胞于 37°C 水浴中处理2小时, 然后加入NDV-F系。

3. 刺五加多糖促诱生组: 用 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 刺五加多糖将S801细胞预处理48小时, 如需启动则加入 $150\text{u}/\text{ml}$ 干扰素启动2小时, 若不需启动则不加, 最后将诱生病毒 (NDV-F系) 同时加入上述各组中, 共同培养22小时左右收获细胞上清液, 经酸化、中性化处理后即为粗制干扰素。作促诱生动力学试验时则每间隔4小时取样, 按同样的方法处理分别收获各种样品的干扰素。

按常规法测定干扰素效价^[4], 并用北京中心血站供应的经G-023-901-527参考制剂标化的IFN- α 校正, 将本室测定的各样品工作单位 (u/ml) 换算成国际单位 (IU/ml)^[5]。

结 果

一、不同批号的刺五加多糖针剂对S801细胞干扰素促诱生的影响。

将同代次、同浓度的S801细胞在相同培养条件下, 同时进行干扰素诱生和促诱生试验, 并收获, 酸化、中性化和测定, 结果如附表。

附表 不同批号的刺五加多糖针剂对S801细胞促诱生干扰素的效应

实验次数	细胞次数	细胞浓度 $\times 10^6/\text{ml}$	干扰素效价 ($\log_{10} \text{IU}/\text{ml}$)			
			常规组	启动组	促诱生组 (经启动)	
					801批号	840209批号
1	55	520	3.68	3.98	4.38	4.38
2	60	500	3.55	3.85	4.55	4.55
3	64	600	3.55	3.85	4.25	4.25
4	70	800	3.25	3.85	4.25	4.25
$M \pm SD$			3.52 ± 0.187	3.88 ± 0.076	4.37 ± 0.131	4.37 ± 0.131

上述结果表明, 常规诱生组的干扰素效价可达 $3.52 \pm 0.187 \log_{10} \text{IU/ml}$, 经低浓度干扰素启动后可使细胞诱生干扰素的产量提高 2 倍左右 ($P < 0.01$), 而经启动和两种批号的刺五加多糖针剂处理诱生细胞的促诱生干扰素效价均比常规诱生组高 5~10 倍 ($P < 0.01$), 比启动诱生组高 2~5 倍 ($P < 0.01$), 两种批号间无显著性差异 ($P > 0.05$)。本次试验结果与以前结果也一致⁽⁶⁾。

二、刺五加多糖促诱生干扰素动力学与常规诱生的比较。

为了探索 S801 细胞常规诱生与刺五加多糖促诱生干扰素的关系和规律及产生最高浓度干扰素的时间, 我们在同一条件下收获同代次细胞, 调整同一活细胞浓度, 同时诱生和促诱生, 并收获、酸化、中性化和测定效价。

1. 仅用刺五加多糖促诱生干扰素动力学与常规诱生的比较。

用传至 63 代的 S801 细胞 (520万/ml) 进行常规诱生 (不加刺五加多糖) 和只用刺五加多糖的促诱生干扰素试验, 其动力学曲线如图 1。

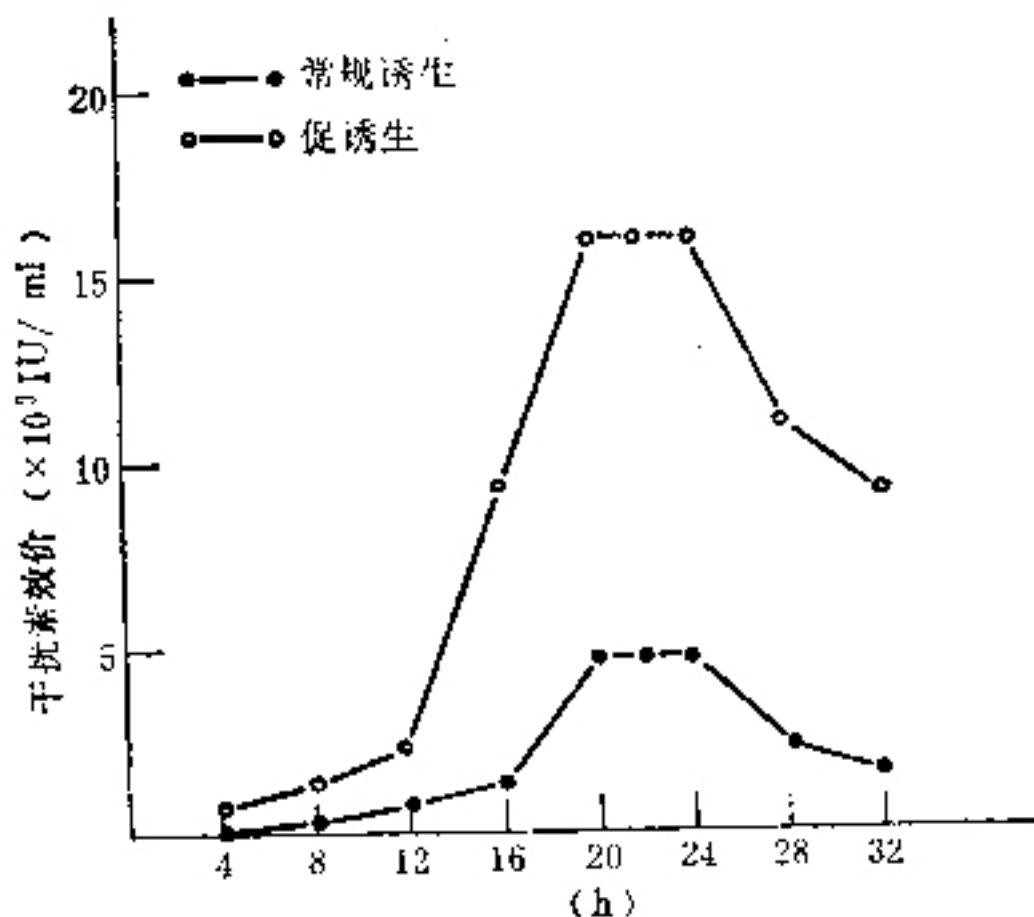


图1 S801细胞常规诱生与单用刺五加多糖促诱生干扰素的动态对比

图1结果表明: 未经启动只用刺五加多糖的促诱生干扰素动态曲线与常规诱生曲线均在 4~16 小时渐升, 20~24 小时达高峰, 后渐降, 但各相应时间刺五加多糖促诱生干扰素效价均高于常规诱生组的效价 (约 3~5 倍), 进一步证明刺五加多糖本身确具有促诱生干扰素的能力。

2. 刺五加多糖加启动的促诱生干扰素动力学与常规诱生的比较。

用传至 55 代 (520万/ml) 的 S801 细胞同时进行干

扰素常规诱生和刺五加多糖加启动的促诱生动力学试验, 结果如图 2。

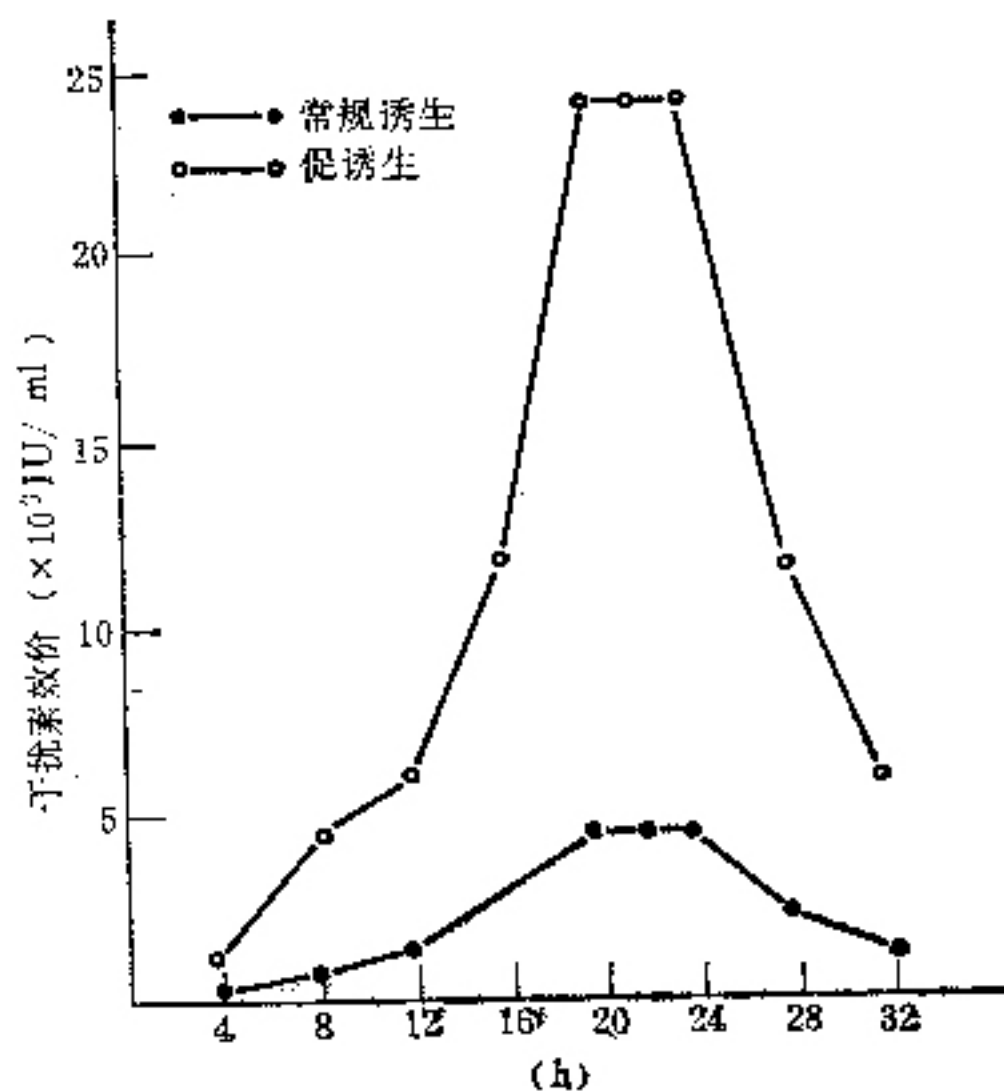


图2 S801细胞常规诱生与刺五加多糖加启动的促诱生干扰素动态对比

图2中的常规诱生曲线和刺五加多糖加启动的干扰素促诱生曲线分别与图1及预试验中的 81 代 S801 细胞 (560万/ml) 的常规诱生动态曲线和 75 代、50 代的 S801 细胞的两次刺五加多糖加启动的促诱生动态曲线的升降趋势一致 (动态图略)。均在 4~16 小时升高, 20~24 小时达高峰然后下降, 说明在 20~24 小时内收获干扰素是适宜的。

讨 论

刺五加多糖对 S801 白血病细胞系促诱生干扰素动力学结果表明: 产生高效价干扰素的时间是在加入诱生病毒后 20~24 小时, 这不仅为今后的干扰素生产提出适当的收获时间, 而且为临床用药时间提供参考依据。

由图 1、图 2 的结果还表明: (1) S801 细胞的常规诱生动态与刺五加多糖两种方法促诱生干扰素的动态是同步的, 说明干扰素促诱生作用是发生在转录后的水平上。(2) 刺五加多糖两种方法促诱生动态的各种时间干扰素效价均高于常规诱生的各相应时间。(3) 图 2 中促诱生曲线各时间刺五加多糖促诱生的干扰素效价也高于图 1。说明在促诱生前先经低浓度干扰素进行启动对提高细胞诱生干扰素的产量是有益的。由此我们推断若将该药物用于临床可提高机体内干扰素水平, 并能增强机体免疫功能^(1,2)。若用于细胞的干扰素生产可提高单位细胞的干扰素产量。从而

为我国盛产的刺五加中药的开发和利用提供新的途径。本实验还证明这两种不同批号的刺五加多糖针剂均能明显提高细胞产生干扰素的产量,为理想的干扰素促诱生剂。

经国内药理实验和临床证明,刺五加能增强机体的非特异抵抗力,可激发机体自卫机制,发挥抗感染(特别是抗病毒)、抗肿瘤及免疫调节作用^(7,8)。这与近年来发现干扰素具有的生物学活性颇为相似^(9~11)。我们认为刺五加的上述药理效应可能是由它诱生和促诱生的高活性多功能的干扰素发挥的。干扰素可能是刺五加发挥上述药理效应的一种重要介质,这将有助于从分子水平上揭示刺五加的上述药理效应的本质⁽¹¹⁾,从而进一步证明刺五加确为“扶正固本”的良药。

参 考 文 献

1. 徐任生,等。刺五加多糖成分的研究。科学通报1983; 3:185。
2. 黑龙江祖国医药研究所。中国刺五加研究。哈尔滨:黑龙江科技出版社,1981; 80—83。

3. 徐鸿贞,等。从急性淋巴细胞白血病病人建立的细胞系及其特性的观察。中华血液学杂志1983; 4(2): 81。
4. 杨吉成,等。S801和S7811白血病细胞系的干扰素诱生试验。江苏医药1983; 9(10):8。
5. 杨吉成,等。干扰素单位标准化测定方法。苏州医学院学报1985; 9(1):75。
6. 杨吉成,等。刺五加多糖、羧甲基淀粉钠对S801和S7811细胞系促诱生干扰素作用。中华微生物学和免疫学杂志1984; 4(5):329。
7. 曹先兰。刺五加国外实验研究。中草药1980; 11(6): 277。
8. 吴秉纯。刺五加国内研究概况。中成药研究1980; (6):10。
9. Attallah AM, et al. Proliferative and functional aspects of interferon-treated human normal and neoplastic T and B cells. Br J Cancer 1980; 42: 423。
10. Pattergate PK, et al. B-lymphocyte-derived leukemia Cells by interferon activated natural killer (NK) Cells. Int J Cancer 1982; 29:1。
11. 杨吉成。试论中药刺五加与干扰素的关系及作用。中草药1984; 11(4):38。

肾虚患者外周血总E花环水平测定

暨南大学医学院中医教研室 吴凌涛 刘巧云 周国雄*

国内有关肾虚证细胞免疫功能状况的报道,多集中在某一疾病或某一系统疾病所表现的肾虚证方面。以证统病是中医辨证论治的特点。为了探讨不同疾病的肾虚患者可能共有的免疫功能状况,本文采用T淋巴细胞总E玫瑰花结(Et)试验,检测了40例包括有七个系统的18种确诊疾病和5种待诊疾病肾虚患者的外周血Et花环百分率(ERFC%)。同时以30例正常人作对照,以此观察肾阴虚、肾阳虚患者外周血的ERFC%。

本文以中西医结合研究会1982年虚证会议制定的中医虚证辨证参考为基础诊断肾虚患者。随机抽样,凡辨证符合为肾虚证,无论患何种疾病(免疫缺陷疾病除外),患者皆可被列为检测对象。受检的患者要求未接受免疫抑制或促进剂治疗。本组年龄16~76岁,平均37.6岁。40例患者中肾阴虚型26例,其中男8例,女18例;肾阳虚型14例,其中男9例,女5例。

检测结果: 1. 肾虚组ERFC%值为 38.86 ± 20.1

($MS \pm 2SD$,下同),正常人组为 55.2 ± 15.3 ,二组比较有显著性差异($P < 0.001$)。提示肾虚患者的细胞免疫功能明显降低。免疫功能与中医的元气(包括元阴、元阳,亦称肾阴、肾阳)密切相关,元气与卫气皆为人体的正气核心部分,对人体的抗病力具有重要的影响作用。肾虚患者存在元气或/和卫气衰弱的病变,因而必对人体的抗病力有所影响。故无论何种疾患的肾虚患者,都有可能出现细胞免疫功能降低的病变。

2. 肾阴虚组ERFC%值为 38 ± 18.9 ,肾阳虚组为 40.46 ± 22.47 ,此二组分别与正常人组相比,皆有显著性差异($P < 0.001$)。提示无论是肾阴虚,还是肾阳虚,二者都存在细胞免疫功能低下的病变。

3. 肾阴虚与肾阳虚患者的ERFC%相比,无统计学差异($P > 0.05$)。此现象提示就本文所测的指标而言,肾阴虚与肾阳虚的病变在影响细胞免疫功能降低方面的程度无明显差异,至于二者在其它方面有何区别,有待于今后进一步探讨。

(本文病例由本校医学院附属医院及广州员村医院、中山大学第三附属医院协助供给,特此致谢)(参考文献略)

Observation on Experimental Glomerulonephritis Treated with Yu Ping Feng San (玉屏风散)

Chen Meifang (陈梅芳), Zhang Qingyi (张庆怡), et al

Research Laboratory of Renal Disease, Shanghai Second Medical University, Shanghai

A model of experimental glomerulonephritis was produced by modified Vassali method in 50 male rabbits, 25 of which were treated with Yu Ping Feng San (玉屏风散, Jade-Screen Powder) and 25 as control. The left kidney was removed on the 5th week and right kidney on the 9th for light and electronic microscopic examinations. Blood creatinine, lymphocyte transformation test, and urinary protein were determined. There were much less pathological changes in the treated group than in the control ($P < 0.001$). The rate of improvement was 83.33% in the former and 33.33% in the latter. In the 5th week blood creatinine was much lower in the treated group ($P < 0.05$), suggesting an early improvement of renal function. There was more urinary high molecular weight protein loss in the control than in the treated. This suggests Jade-Screen Powder may have some immunoregulatory function which is beneficial to the experimental glomerulonephritis both in pathological change and in renal function.

(Original article on page 229)

Dynamics Study of Interferon Stimulating Effect of Polysaccharide of Acanthopanax Senticosus on Leukemic Cell Culture

Yang Jicheng (杨吉成), Liu Jingshan (刘静山), et al

Department of Microbiology of Suzhou Medical College, Suzhou

The present study is an experiment in dynamics of interferon stimulating effect of 10 $\mu\text{g/ml}$ polysaccharide injection of Acanthopanax senticosus on leukemic cell line established by our department. The result has shown that the dynamic curve of inducing interferon with polysaccharide of Acanthopanax senticosus, as that of classical induction, is gradually rising in 4~16 hours, reaching the peak in 20~24 hours, then dropping gradually. In the same period of time the interferon titer induced by polysaccharide of Acanthopanax senticosus was found significantly higher than that of the classical induction. Thus, the polysaccharide of Acanthopanax senticosus possesses stimulating interferon effect, the most effective period of time of which is from 20 to 24 hours.

(Original article on page 234)

TCM-WM Treatment of Submaxillary Adenitis — 22 Cases Report

Chen Bisheng (陈必胜)

Department of Stomatology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, PLA

Submaxillary adenitis is a common disease of the submaxillary glands. Its pathogenesis is usually correlated with the sialolith. In the past it was treated with surgical operation, and the effective conservative treatment was lacking. Since 1977, TCM-WM treatment which took the "sialolith discharging decoction" as the chief measure, was used in 22 cases. The result of their follow-up for three to five years showed sialoliths of 19 cases were excreted, and the effective rate reached 86.4%. The symptoms of 16 cases were relieved and their submaxillary gland resumed normal size. The rate of clinical cure attained 72.7%. Therefore at present, it is an effective conservative therapy for chronic submaxillary adenitis.

(Original article on page 238)

Statistical Analysis of the Ethnopharmacologic Data Based on Chinese Medicinal Plants by Electronic Computer I. Magnoliidae

Xiao Peigen (肖培根), Wang Liwei (王立为), *Chou Guisheng (仇桂生), et al

Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences;

**Department of Mathematics, Peking University, Beijing*

Statistical analysis has been applied to the clarification of the ethnopharmacologic data based on Chinese medicinal plants, and hence trend and regularity of these data have been abstracted and quantitatively described. The main parameters of the present study involved: family medicinal coefficient (α_f), i.e. the ratio of medicinal/total genera within a certain family; genus medicinal coefficient (α_g), i.e. the ratio of medicinal/total species within a certain genus; traditional therapeutic usages coefficient (TRI) and extent of traditional therapeutic usages within a certain taxon (β).

The results may be of value to the resources utilization, new drug searching, as well as systematization of traditional Chinese and herbal drugs.

(Original article on page 253)