

雷公藤多甙对健康人单个核细胞 IL-6 和 IL-8 产生的影响

王振刚

内容提要 目的:探讨雷公藤多甙的抗炎作用机理。方法:应用不同的细胞培养技术,观察雷公藤多甙对健康人周围血单个核细胞产生细胞介素(Interleukin, IL) 6 及 IL-8 的影响,并与氢化可的松进行比较。结果:(1)两种药物均能抑制脂多糖诱导的 IL-6、IL-8 产生;剂量 $>1\mu\text{g/ml}$ 时,雷公藤多甙的作用较明显;(2)在单个核细胞培养条件下,雷公藤多甙的作用与氢化可的松相似,但在全血细胞培养时,此作用比氢化可的松弱。结论:(1)雷公藤多甙抑制 IL 产生的作用呈剂量依赖性;(2)在不同的细胞培养条件下,IL 对药物的敏感性不同;(3)雷公藤多甙的抗炎作用与其抑制产生 IL 有关,其作用机理可能与糖皮质激素不同。

关键词 雷公藤多甙 氢化可的松 细胞介素

Effect of Glucosidum Tripterygii Tororum on Interleukin-6 and Interleukin-8 on Human Peripheral Mononuclear Cells of Healthy Subjects WANG Zhen-gang *Beijing Hospital, Beijing (100730)*

Objective: To explore the effect of glucosidum Tripterygii tororum (GTT). **Methods:** Using different techniques of cell culture, the function of GTT in comparing with that of hydrocortison (HC) on interleukin (IL) -6 and -8 production by peripheral mononuclear cells of healthy Subjects was investigated. **Results:** (1) Both of GTT and HC inhibited IL-6, IL-8 production, the effect of GTT being stronger when the dosage was higher than $1\mu\text{g/ml}$; (2) In the isolated cells culture, the effect of GTT was similar to that of HC, but in the whole blood culture, the effect of GTT was much weaker than that of HC. **Conclusions:** (1) GTT inhibited interleukin production in a dose-dependent manner; (2) The sensitivity of interleukin to drugs was different in different culture conditions; (3) The anti-inflammatory effect of GTT was related to the interleukin inhibition, but the mechanism might be different from that of HC.

Key words glucosidum Tripterygii tororum, hydrocortison, interleukin

雷公藤的醇提取物——雷公藤多甙对多种自身免疫病如类风湿性关节炎的治疗有一定疗效;实验研究表明:雷公藤多甙对抗原/丝裂原诱导的 T 细胞增殖及 IL-2 的产生有抑制作用,在大剂量时 ($>1\mu\text{g/ml}$),对脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 诱导的单个核细胞产生 IL-1 亦有抑制作用^[1]。这些研究均是采用分离的细胞培育技术进行的。本研究利用全血细胞培养技术,通过观察雷公藤多甙及氢化可的松对单个核细胞产生细胞介素的影响,并与分离的单个核细胞培养的结果进行比较,探讨雷公藤多甙作用的机理。

材料与方法

1 材料来源 (1)雷公藤多甙溶液:将市售雷公藤多甙片(湖南株州制药厂,每片 10mg,生产批号:930419)溶于 PBS, 0.45μ 过滤即可。(2)氢化可的松溶液:荷兰红十字会中心实验室赠品。(3)LPS: Sigma 公司提供。

2 细胞的分离和培养 (1)健康人肝素化静脉血 10ml, 7 份。采用淘洗法分离单个核细胞。取 4×10^4 个单个核细胞(含单核细胞 19%~30%),一式 3 份,分

别与 0.01 μ g/ml、0.1 μ g/ml、1 μ g/ml、10 μ g/ml 的雷公藤多甙或氢化可的松共同培养在 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱中 (96 孔平底细胞培养皿, 超滤的 Iscove's 培养基)。空白管作为对照。16h 后, 取细胞培养上清液进行细胞介素测定。(2) 直接采用 20 μ l 健康人肝素化静脉血 (按 5×10^9 /L 为健康人周围血白细胞正常值, 单个核细胞 40%、单核细胞 8% 计, 含有相当于单个核细胞培养中单个核细胞的数量, 单核细胞约 33%), 一式 3 份, 培养在相同的条件下。16h 后, 取细胞培养上清液进行细胞介素测定。LPS (1ng/ml) 作为上述两种细胞培养时细胞介素产生的诱导剂。

3 IL-6、IL-8 的测定: 采用文献^(2,3)方法进行。

4 数据处理 原始数据进行正常化 (Normalization) 处理。以空白对照管 IL-6、IL-8 产生量为百分之百, 3 次实验数据均数的百分比做比较, 以实现两组实验数据的可比性。

结 果

1 在不同的培养条件下, 空白对照管细胞介素的产生量有很大的不同。在分离单个核细胞培养时, 细胞介素的产生量分别为 IL-6: 2.2 ± 0.5 ng/ml, IL-8: 36.2 ± 18.7 ng/ml; 在全血细胞培养时, IL-6: 3.3 ± 0.8 ng/ml, IL-8: 6.7 ± 2.3 ng/ml。

2 在不同的细胞培养时, 雷公藤多甙及氢化可的松对细胞介素产生的影响 在单个核细胞培养时, 雷公藤多甙对 IL-6、IL-8 的抑制作用与氢化可的松相似, 在剂量 $> 1\mu$ g/ml 时, 可使 IL-6、IL-8 减少 50% 以上; 在全血细胞培养时, 雷公藤多甙仍可抑制 IL-6、IL-8 的产生, 但与氢化可的松相比, 其作用明显减弱 (附表)。

附表 在两种细胞培养中雷公藤多甙及氢化可的松抑制细胞介素产生率 (%)

	药物浓度 (μ g/ml)	单个核细胞培养		全血细胞培养	
		IL-6	IL-8	IL-6	IL-8
雷公藤	0	100	100	100	100
	0.01	82	93	99	91
	0.1	73	89	100	83
	1	68	64	82	52
	10	32	14	43	14
氢化可的松	0	100	100	100	100
	0.01	86	102	93	85
	0.1	55	107	53	39
	1	45	61	24	13
	10	41	61	19	11

讨 论

自身免疫性疾病的发病机理还不明确, 但是, 越来越多的证据表明细胞介素异常在自身免疫性疾病的发病机制中发挥着重要作用。目前, 除 IL-2 外, 雷公藤多甙对其它细胞介素影响的研究尚不多。本实验发现: 在两种细胞培养条件下, 雷公藤多甙均能抑制 LPS 诱导的 IL-6、IL-8 产生, 在剂量大于 1 μ g/ml 以及全血细胞培养时此作用较明显。在分离的细胞培养时的结果与陶学灏⁽¹⁾的发现相似, 但全血细胞培养时结果尚未见报道。氢化可的松亦可抑制 IL-6、IL-8 的产生, 在全血细胞培养时, 此作用更明显, 且明显强于雷公藤多甙。Tobler⁽⁵⁾发现: 糖皮质激素抑制细胞介素产生的作用是通过影响细胞介素的蛋白及 RNA 合成实现的; 吴福国⁽⁶⁾发现: 雷公藤多甙可以抑制 PHA 诱导的 IL-2 mRNA 转录, 但抑制 LPS 诱导细胞介素产生的作用机制不明。本实验结果提示: 雷公藤多甙的作用机制可能不同于糖皮质激素。

IL-6 具有广泛的免疫生物学作用, 一般认为: 在 LPS 诱导下, 单核细胞是 IL-6 的主要产生者⁽⁷⁾。IL-8 具有趋化粒细胞、T 细胞及单核细胞的作用⁽⁷⁾, 并且在许多炎症性疾病的发病过程中发挥着一定作用⁽⁸⁾。IL-8 的主要产生细胞尚不明确, 但在 LPS 诱导下, 单个核细胞系统可以产生 IL-8。本研究中细胞介素产量的不同难以用单核细胞含量的不同来解释。有人认为: 雷公藤提取物抑制健康人及类风湿性关节炎患者周围血单个核细胞产生 PGE₂⁽⁴⁾ 及对 T、B 细胞的作用⁽¹⁾ 可能与雷公藤多甙治疗 RA 机制有关。本研究结果提示: 雷公藤多甙对 LPS 诱导的单核细胞产生细胞介素的抑制作用与其抗炎作用机理亦有关。

全血细胞培养是近年来兴起的一种新技术, 已被用来进行细胞免疫方面的研究。与分离的细胞培养方法相比, 它易操作, 用血少, 较少发生血细胞的预激活。由于各种血液成分均存在于培养基中, 具有与体内微环境相似的体外培养环境及较少细胞预激活等特点, 其结果较符合人体内的实际情况。

参 考 文 献

1. Xuelian Tao, Laurie SD, Lipsky PE. Effect of an extract of the Chinese herbal remedy Tripterygium Wifordii Hook on human immune responsiveness. Arthritis and Rheumatism 1991; 34(10): 1274-1281.
2. Helle M, Boeijs L, De Groot E, et al. Sensitive Elisa for IL-6. Determination of IL-6 in Biological Fluids; Synovial

- Fluids and Sera. J Immunol Method 1991;138(1): 47—56.
3. Hack CE, Hart M, Strack van Schijndel, et al. IL-8 in Sepsis, relation to Shock and Inflammatory Mediators. Infect Immunol 1992;60(7): 2835—2842.
4. 陶学廉, 代欢, 史艳萍, 等. 雷公藤多甙治疗类风湿性关节炎的机理. 中国医学科学院学报 1989;11(1): 36—40.
5. Tobler A, Meier R, Seity M, et al. Glucocorticoids down regulate gene expression of GM-CSF, NAP/IL-8 and IL-6, but not of M-CSF in human fibroblasts. Blood 1992;79(1): 45—51.
6. 吴福国, 朱立平, 崔莲仙, 等. 雷公藤多甙对 IL-2 及 IL-2R 基因转录的影响. 中华微生物与免疫学杂志 1993;13(3): 193—197.
7. Kato K, Yohru T, Takano N, et al. Detection by in situ hybridization and phenotypic characterization of cells expressing IL-6 mRNA in human stimulated blood. J Immunol 1990;144(4): 1317—1322.
8. Baggiolini M, Alfred W, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/Interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils. J Clin Invest 1989;84(4): 1045—1049.

(收稿: 1996—07—12 修回: 1997—02—28)

中西医结合治疗美尼尔氏病 58 例

段天苟

美尼尔氏病是由于植物神经功能失调, 内耳膜迷路水肿所引起的一种常见病。1992 年 6 月~1996 年 6 月, 我们采用中西医结合方法治疗本病, 效果较好, 现报告如下。

临床资料 98 例均系我院住院患者。均符合全国高等医药院校教材《耳鼻咽喉科学》之美尼尔氏病的诊断标准(武汉医学院主编, 第 1 版, 北京: 人民卫生出版社, 1982: 251)。将全部患者随机分为中西组和对照组。中西组 58 例, 男 32 例, 女 26 例, 年龄 26~56 岁, 平均 38 岁; 病程 6~48 个月, 平均 18 个月。对照组 40 例, 男 21 例, 女 19 例, 年龄 23~58 岁, 平均 36 岁; 病程 8~46 个月, 平均 17 个月。

治疗方法 中西组采用自拟五味定眩汤口服: 丹参 60g 泽泻 60g 黄芩 30g 半夏 30g 天麻 30g 水煎服, 每日 1 剂。同时, 伍用利多卡因 80mg(四川省长江制药厂生产, 批号: 920402-1) 加入 10% 葡萄糖 250ml 中静脉滴注, 每日 1 次, 3 日为 1 个疗程。对照组采用 654-2 注射液 20mg(徐州第二制药厂生产, 批号: 920216) 加入 25% 葡萄糖 250ml 中静脉滴注, 每日 1 次, 同时口服安定 2.5mg, 每日 2 次, 3 日为 1 个疗程。

结果 (1) 疗效标准: 痊愈: 眩晕、耳鸣、恶心呕吐、汗出、头胀满等消失, 听力恢复正常, 停药后无复发; 好转: 眩晕、耳鸣、听力较前明显好转, 恶心呕吐、汗出、头胀满消失; 无效: 治疗 3 个疗程后症状和体征无变化。(2) 治疗结果: 中西组治疗 58 例, 痊愈 46 例, 占 79.3%, 好转 12 例, 占 20.7%, 有效率 100.0%。其中,

第 1 个疗程治愈 35 例, 第 2 个疗程治愈 11 例, 平均 1.2 个疗程。对照组治疗 40 例, 痊愈 20 例, 占 50.0%, 好转 12 例, 占 30.0%, 无效 8 例, 占 20.0%, 有效率 80.0%。其中, 第 1 个疗程治愈 3 例, 第 2 个疗程治愈 8 例, 第 3 个疗程治愈 9 例, 平均 2.6 个疗程。两组比较, 有显著性差异($P < 0.01$)。

讨论 美尼尔氏病, 西医认为是由于植物神经功能失调, 引起迷路动脉痉挛, 使内淋巴液产生过多或吸收障碍, 导致膜迷路水肿及内淋巴系压力增高所致。目前多采用 654-2 静脉滴注治疗, 治愈率较低。中医辨证该病属“眩晕”范畴, 其病因病机, 刘河间主风火, 朱丹溪主痰, 张景岳主虚, 我们从临床观察中认为, 痰(内耳膜迷路水肿)乃是本病之主因。五味定眩汤中, 丹参活血化瘀, 对内耳微循环具有疏通作用, 能消除内耳迷路水肿。泽泻利水泄下, 能促进内淋巴液排泄。黄芩清热泻火, 能消除内耳迷路炎性水肿。半夏燥湿化痰, 天麻平肝熄风, 五药合用, 共奏化痰利水, 泻火熄风之功, 此为治本之法。伍用利多卡因静脉滴注, 可以稳定细胞膜, 阻滞钾离子外逸和钙离子内流所引起的再灌注水肿及缺氧, 解除膜迷路血管的痉挛, 改善前庭和内耳的微循环, 使内耳淋巴压力降低, 迅速消除眩晕症状。还能阻断 B 类和 C 类神经纤维传导, 引起植物神经麻痹, 有效地控制恶心呕吐、汗出、头胀满等症状, 此为治标之法。标本兼治, 故收效甚速, 疗效满意, 值得在临床上推广应用。

(收稿: 1996—11—02 修回: 1997—03—05)