

细胞电泳用于筛选几种作用于免疫活性细胞的中药

孙 玲

(北京铁路总医院 免疫室)

某些中草药在“扶正培本”方面有许多独特的功效。是世界医药学中一个有待开发的重要宝库。从免疫学角度探讨这些药物的药理作用具有重要的意义。刺参酸性粘多糖(SJAMP)和马蔺子甲素(Iq)在临床和动物实验中都表明有一定的“抗癌”作用^[1,2]。细胞电泳技术是近代研究淋巴细胞及其产物的一种较新的生物物理学方法,它敏感简便,因此适合于中草药的体外筛选。本文以细胞电泳技术观察了刺参酸性粘多糖,马蔺子甲素、黄芪、柴胡和“654-2”等对免疫活性细胞的作用,并初步探讨了其作用机理。

一、材料和方法

1. 材料

1) 淋巴细胞 取自正常的血库供血者以及昆明杂种小鼠(7—8 周龄,体重 20—30 克)。

2) 刺参酸性粘多糖和马蔺子甲素粉剂,天津药物研究所提供。黄芪注射液,北京药物研究所提供。654—2(盐酸山莨菪碱)注射液,北京制药厂生产。柴胡注射液,河南省第三制药厂生产。

3) 鞣酸羊红细胞 民主德国生产。

4) 巨噬细胞株(MMC-1) 中国肿瘤研究所免疫室提供。

5) PARMOQUANT 2 型细胞电泳仪 民主德国 Zeiss 厂生产,它是一种完全自动化和电脑化的仪器,测量前根据试验所需要的条件输入电脑、数据经电子计算机处理,自动输出结果(包括测量细胞总数、泳动率的均数和标准差以及组织分布图)。泳动率计算公式为 V/F , F

(电场强度)=电压/两电极间的距离, V (速度)=距离/单位时间。泳动率的单位以 $\mu\text{m} \cdot \text{cm} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 表示。

2. 方法

按常规方法获得人淋巴细胞,小鼠脾细胞和胸腺细胞。以 0.85% 氯化铵溶液溶解红细胞。用 Hank 氏液洗三次后作成细胞悬液。淋巴细胞数为 $1-5 \times 10^6$ 个/试管,脾细胞和胸腺细胞数为 $1-5 \times 10^7$ 个/试管。试管中加入不同剂量的中草药后再加入 Hank 氏液至三毫升。室温下温育 60 分钟。离心后沉淀与上清液分别进行电泳(EPM),鞣酸羊红细胞电泳(TEEM)和巨噬细胞电泳(MEM)试验。试验中每试管测 150—200 个细胞。每份样品作平行试验 3—5 个试管。测量温度为 25℃,介质为 pH 7.2 的 0.145M NaCl 溶液。

二、结果和讨论

1. 刺参酸性粘多糖,除在动物实验和临床观察中证明具有一定的抗癌作用外,在小鼠的试验中还证明它可以增强巨噬细胞的吞噬功能和增强迟发型超敏反应^[1]。当把 SJAMP 加入脾细胞悬液后温育,脾细胞的电泳速度加快。小鼠脾细胞在不同浓度 SJAMP 作用下(以 Hank 氏液为介质)其 EPM 值为 0.98 ± 0.244 至 $1.47 \pm 0.247 \mu\text{m} \cdot \text{cm} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 比对照组 0.91 ± 0.249 有明显增高。 P 值 < 0.05 。它和所采用的介质无关,换用生理盐水作介质其 EPM 值同样发生明显变化。当加入的 SJAMP 超过一毫克后脾细胞的 EPM 值趋于恒定。SJAMP 对小鼠胸腺细胞,和巨噬细胞的作用结果与小鼠

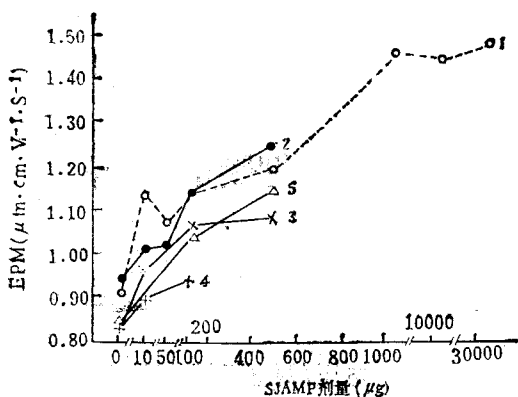


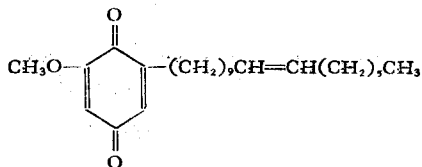
图1 SJAMP 的不同剂量对小鼠脾细胞和胸腺细胞,巨噬细胞 (MMC-1) 电泳速度的影响

- 1.小鼠脾细胞在 Hank 氏液中。
- 2.小鼠脾细胞在生理盐水中。
- 3.小鼠胸腺细胞在 Hank 氏液中。
- 4.小鼠胸腺细胞在生理盐水中。
- 5.巨噬细胞在 Hank 氏液中。

每种样本均测量 6—10 次,每次测量至少 500 个细胞。

脾细胞相似(图 1)。

2. 马薊子素 (I_q , $C_{24}H_{38}O_3$)。它是一种苯醌类化合物,其化学构造式如下:



用不同剂量的 I_q 和小鼠脾细胞悬液一起温育以后,可见脾细胞在电场下的运行速度降低,其致缓程度随 I_q 的浓度增加而递增(图 2)。提示 I_q 可以改变小鼠脾细胞的表面电荷。当 I_q 的剂量达到 100 微克以上则脾细胞溶解。这和

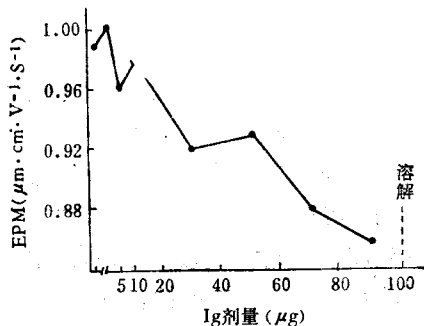


图2 I_q 的不同剂量对小鼠脾细胞电泳速度的影响

实验动物高剂量口服 I_q 后观察其骨髓、脾、胸腺等造血器官发生细胞减少和萎缩相符^[3,4]。

试验中用吐温 80 为 I_q 的溶剂,为除外吐温 80 对脾细胞的溶解作用,观察了溶解 I_q 所用最大浓度的吐温 80 与脾细胞进行作用,结果发现其电泳速度与对照试验组相比无差异。

3. 为了进一步探讨 SJAMP 对免疫活性细胞的作用是否具有选择性,作者做了 SJAMP 对人红细胞和鞣酸化羊红细胞影响的试验,结果表明它们在 SJAMP 作用下的电泳速度和对照

表1 “654-2”、黄芪和柴胡对脾细胞电泳速度的影响

中药 剂量(mg)	654-2	柴 胡	黄 芪
0.1	0.95±0.25/10		—
0.5	—	0.98±0.287/6	—
1	0.97±0.24/10	—	—
2	0.97±0.24/10	—	—
5	0.98±0.237/10	0.98±0.258/6	—
25	—	1.0±0.228/6	0.95±0.251/6
50	—	1.01±0.228/6	0.92±0.255/6
100	—	0.97±0.223/6	—
150	—	1.02±0.222/6	—
300	—	—	0.96±0.251/6
0(Hank 氏液)	0.95±0.261/10	1.01±0.209/6	0.95±0.252/6
P 值	>0.05	>0.05	>0.05

ⁿ 为样品数。每次样品测量细胞数 500 个以上。

家兔皮肤中 I 型胶原的提取与纯化

刘 平 蒋冰冰 张礼邦 唐民主
洪嘉禾 阮望春 刘 成 俞广声
徐列明 薛惠明 赵佩珠 王玉润

(上海中医学院)

胶原纤维是结缔组织中最重要成分,其生物合成及分解过程正逐步被阐明^[1]。胶原的提取与纯化,是测定生理及病理情况下胶原代谢有关酶活性所不可缺少的重要步骤。本文参照国外有关文献,加以适当改进,成功地从家兔皮肤中提取 I 型胶原 (type-I-collagen),现将结果报告如下:

材 料 与 方 法

一、皮肤的制备及胶原的提取

取成年家兔,由耳静脉注入空气致死,迅速

剥下兔皮,去毛及皮下脂肪,称重,然后将皮肤放入冰中(下述各步骤除特殊说明外,均在 4℃ 条件下进行),切碎,用绞肉机将其绞成肉泥状,置入烧杯中,加入 2.5 倍量的中性盐提取液(0.1 M Tris, 0.2 M NaCl, 0.1 mM EDTA, pH7.6),搅拌 2—3 小时后,12,000g 离心 30 分钟;弃上清液,沉淀部分加入 2.5 倍量的 3% 冰醋酸 (HAc) 溶液,抽提搅拌过夜;20,000g 离心 90 分钟。保存上清液以备纯化。其沉淀部分可再加入 3% HAc 进行第二、第三次提取。

二、胶原的纯化 参照文献[2]的方法。

照试验组没有区别,这说明 SJAMP 对脾细胞、胸腺细胞和巨噬细胞有作用,而对人的红细胞和鞣酸化羊红细胞无影响,从而证明 SJAMP 对免疫活性细胞的作用具有一定的选择性。

4. 为了了解 SJAMP 对免疫活性细胞的作用机理和淋巴细胞在 SJAMP 的刺激下能否产生某些淋巴因子,作者用 SJAMP 与小鼠脾细胞一起温育的上清液进行 TEEM 和 MEM 试验。结果表明鞣酸化羊红细胞和巨噬细胞在加有经 SJAMP 刺激的脾细胞温育的上清液后,细胞电泳速度显著高于不加经 SJAMP 刺激的脾细胞温育的上清液组 (P 值 <0.05), TEEM 值分别为 1.16 ± 0.186 — 1.53 ± 0.271 和 1.04 ± 0.102 — 1.12 ± 0.074 。这说明上清液中脾细胞在 SJAMP 作用下可能产生了某些物质。同时也证明 SJAMP 对鞣酸化羊红细胞没有直接作用。用巨噬细胞株 (MMC-1) 的巨噬细胞作为指示细胞,进行巨噬细胞电泳试验, SJAMP

加脾细胞组和只用 SJAMP 组(其 EPM 值分别为: 0.94 ± 0.42 , 0.94 ± 0.35) 皆高于对照(无 SJAMP) 组 (EPM 值为 0.84 ± 0.302), 这一点似乎说明 SJAMP 对巨噬细胞有直接作用。

5. “654-2”, 黄芪和柴胡对脾细胞电泳速度没有影响(表 1)。

参 考 文 献

- [1] 李唯敏等: 天津市医药科学研究所, 内部资料, 1984, 2。
- [2] 王士贤等: 天津市医药科学研究所, 内部资料, 1984, 4。
- [3] 李德华等: 《中国药理学报》, 2(2), 131, 1981。
- [4] 王士贤等: 《天津医药》, 5, 300, 1981。
- [5] J. N. Mehrishi: *International Meeting on Cell Electrophoresis*, Rostock G. D. R., Sep. 1984。
- [6] De Groot C. et al.: *Eur. J. Cell Biol.*, 24, 9—15, 1981。
- [7] Sainis K. B. et al.: *Biochim. Biophys. Acta.* 643, 134—139, 1981。

[本文于 1985 年 10 月 10 日收到]