

山核桃树枝水煎剂对荷瘤小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

★ 于晓红 赵春卉 于洋 (黑龙江中医药大学 哈尔滨 150040)

摘要:目的:探讨山核桃树枝水煎剂对荷瘤小鼠免疫功能的调节作用及其抗肿瘤机制。方法:采用 S₁₈₀ 肉瘤小鼠模型作为研究对象,观察其对 CD₄⁺T 细胞和 CD₈⁺T 细胞的调节作用。结果:山核桃树枝水煎剂可以使 CD₄⁺T 细胞表达增加,CD₈⁺T 细胞表达降低。结论:山核桃树枝水煎剂能够通过调节荷瘤机体异常的免疫状态而发挥抗肿瘤作用。

关键词:山核桃树枝水煎剂;T 淋巴细胞亚群;肿瘤细胞

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

山核桃树枝治疗肿瘤等疾病在民间广为应用,但目前尚无对山核桃树枝抗肿瘤作用的免疫机理的研究报道,本文选用荷瘤小鼠作为研究对象,观察了山核桃树枝水煎剂对 CD₄、CD₈ 分子的表达的影响,探讨山核桃树枝水煎剂的抗肿瘤效应的免疫学机理。

1 材料和方法

1.1 材料

实验动物:昆明(KM)小鼠,体重 18~22 g,6~8 周龄,雌雄兼用。黑龙江中医药大学实验动物中心提供。

山核桃树枝水煎剂:山核桃树枝采自林区,取山核桃树枝加水煎制而成。S₁₈₀ 瘤株:黑龙江省肿瘤研究所提供。

试剂:抗 CD₄-藻红蛋白(PE)和抗 CD₈-异硫氰酸荧光素(FITC)单抗等。

主要仪器:FACSCALIBUR 流式细胞仪(BD 公司,美国),微量加样器(SOCOREX,瑞士),高速离心机(国产)等。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制备及分组给药 模型制备:将接种 S₁₈₀ 后第 8 天的腹水瘤小鼠颈椎脱臼致死,无菌抽取腹水,放入无菌容器内,置冰块保存。用 0.4% 台盼蓝计数,用 Hank's 液调细胞浓度至 1×10^6 /mL。取纯系 KM 小鼠,每只鼠右侧腋下皮下注射 0.2 mL 瘤细胞悬液。于接种后第二天进行给药。

动物分组给药:将荷瘤小鼠随机分成 5 组,每组 3 只,分别为正常对照组、荷瘤对照组、实验组、环磷

酰胺组及山核桃树枝水煎剂与环磷酰胺联合用药组。正常对照组:生理盐水灌胃,0.4 mL/(20 g·天);荷瘤对照组:生理盐水 0.4 mL/(20 g·天)灌胃;实验组:山核桃树枝水煎剂 0.4 mL/(20g·天)灌胃;环磷酰胺组(CTX):生理盐水 0.4 mL/(20g·天)灌胃,腹腔注射 CTX 30 mg/(kg·d);联合用药组(山核桃树枝水煎剂 + CTX):山核桃树枝水煎剂 0.4 mL/(20 g·天)灌胃,腹腔注射 CTX 30 mg/(kg·d)。以上各组在接瘤后第 2 天开始给药,连续 7 天,第 8 天摘眼球取血 0.5 mL 放入肝素抗凝管内,分离血清。

1.2.2 T 淋巴细胞表型 CD₄、CD₈ 分子测定 取抗凝血 100 mL 放于试管中,分别加入抗 CD₄-藻红蛋白(PE)和抗 CD₈-异硫氰酸荧光素(FITC)单抗各 10 μL,置室温避光 20 分钟,加入红细胞裂解液 2 mL,离心弃上清,加 PBS 洗液 2 mL 混匀,离心后弃上清,加入固定液 600 μL,4 ℃ 存放至少 30 分钟后,流式细胞仪测定。

2 结果

2.1 对 S₁₈₀ 小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响 见表 1。

表 1 各组对荷瘤小鼠外周血中 CD₄⁺、CD₈⁺ 细胞的影响

分组	n	CD ₄ ⁺ 细胞	CD ₈ ⁺ 细胞	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺
正常对照组	33	8.16 ± 2.48	20.24 ± 0.38	1.89 ± 0.11
荷瘤对照组	33	3.85 ± 6.28 [△]	23.33 ± 3.68 ^{△△}	1.19 ± 0.19 ^{△△}
实验组	33	5.33 ± 4.328	19.05 ± 1.33 [*]	1.86 ± .028 [*]
环磷酰胺组	32	8.81 ± 1.91 ^{△△}	12.13 ± 1.72 ^{△△}	2.40 ± 0.36 ^{△△}
联合用药组	33	6.85 ± 4.48	19.72 ± 1.30 ^{☆☆}	1.86 ± 0.11 ^{☆☆}

注:与荷瘤对照组比,*P<0.05,**P<0.01;与正常对照组比较,△P<0.05,△△P<0.01;与环磷酰胺组比较,☆P<0.05,☆☆P<0.01。

痛痹颗粒对兔软骨细胞增殖及其分泌 NO 影响的实验研究

★ 董朝岚 (南京中医药大学 2003 级硕士研究生 南京 210029)

★ 朱莹莹 (江苏省中医院临床研究所 南京 210029)

摘要:目的:观察痛痹颗粒含药血清对兔软骨细胞增殖的影响,并初步探讨其作用机制。方法:兔软骨细胞体外培养技术及血清药理学方法。结果:痛痹颗粒含药血清能显著促进软骨细胞增殖,并降低软骨细胞培养上清液中 NO 的含量。结论:痛痹颗粒含药血清促进软骨细胞增殖、抑制 NO 的分泌可能是其防治骨性关节炎的机理之一。

关键词:痛痹颗粒;兔软骨细胞;NO;实验研究

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

痛痹颗粒是江苏省中医院风湿科治疗 OA 的经验方,临床疗效显著,本研究拟采用兔软骨细胞体外培养技术及血清药理学方法,观察痛痹颗粒含药血清对兔软骨细胞增殖和软骨细胞分泌 NO 的影响,进一步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

试剂:RPMI1640 培养液(Gibco)、II 胶原酶(南京夏斯生物公司)、胰蛋白酶(上海伯奥生物技术有限公司)、MTT(南京夏斯生物公司)、DMSO(分析纯)、新生牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司)。

司)、NO 试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

仪器:酶标分析仪(BIO-RAD3550)、培养箱(HeraeusBB16 CO₂)、超净台(苏州安泰空气技术有限公司 SW-CJ-1F)、倒置显微镜(重庆光学仪器厂 XDS-1B)。

动物来源:由南京青龙山动物饲养厂提供。

1.2 方法

1.2.1 兔血清制备 分别制备正常兔血清和痛痹颗粒含药血清:取正常新西兰大白兔,每组 3 只,雄性,体重在 2.25~2.50 kg 之间。痛痹颗粒为江苏省中医院院内制剂,按体表面积折算动物的等效剂

3 讨论

章赣湘^[1]曾报道核桃枝中含有肌醇、咖啡酸、没食子酸、挥发油等成分,对肿瘤有抑制作用。根据我们前期实验结果表明,山核桃树枝水煎剂对小鼠体内 S₁₈₀肉瘤生长有抑制作用,抑瘤率为 34.03%,山核桃树枝水煎剂与 CTX 合用,抑瘤效果更加明显,可达到 79.17%。体外实验未见山核桃树枝水煎剂对 S₁₈₀肉瘤细胞有直接杀伤作用,由此推测,山核桃树枝水煎剂的抗肿瘤作用是通过机体免疫系统的调节来完成的。

研究表明,抗肿瘤免疫反应主要是细胞免疫反应,其中 T 淋巴细胞亚群起主导作用。若 T 淋巴细胞亚群间数量的增减,功能改变或比例失衡,均可导致机体免疫功能紊乱,从而引起免疫缺陷病或肿瘤等疾病的发生。

本实验表明,荷瘤小鼠外周血 T 细胞亚群中不同细胞比例出现异常,表现为 CD₄⁺ 细胞减少,CD₈⁺ 细胞增多,这些变化可通过 CD₄⁺/CD₈⁺ 细胞比值得到更敏感的反映。荷瘤机体 CD₄⁺/CD₈⁺ 细胞比值下降,使小鼠机体免疫功能在很多方面都表现出减弱。而用山核桃树枝水煎剂治疗后,CD₄⁺ T 细胞增加,CD₈⁺ T 细胞降低,可明显改善 CD₄⁺/CD₈⁺ 细胞的失衡状态,恢复机体正常的免疫状态,而发挥抗肿瘤的作用。

综上所述,山核桃树枝水煎剂在荷瘤机体中抑瘤作用可能是通过调节荷瘤机体异常的免疫状态而发挥抗肿瘤作用的。

参考文献

[1]章赣湘.晚期恶性肿瘤的中医药治疗[J].江西中医学院学报,2000,12(3):6~7

(收稿日期:2005-09-22)