

研究简报

不同来源鳖组织浆对机体免疫功能影响

钱国英¹ 朱秋华¹ 钱莹莹²

(¹ 浙江万里学院, 宁波 315101; ² 宁波妇女儿童医院, 宁波 315010)

EFFECTS OF TURTLE PLASMASOL ON THE BODY'S IMMUNITY FUNCTION

QIAN Guo-ying¹ ZHU Qiu-hua¹ and QIAN Ying-ying²

(1. *Zhejiang Wanli University Ningbo* 315101; 2. *Ningbo Women and Children Hospital, Ningbo* 315010)

关键词: 鳖组织浆; 抑瘤率; 巨噬细胞(MΦ); 一氧化氮(NO); 细胞毒效应

Key words: Turtle plasmasol; Inhibiting tumor rate; Macrophage (MΦ); Nitric oxide;
Toxic effect on cell

中图分类号: Q947.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2000)04-0402-03

鳖素有滋阴清热、平肝益肾、破结化淤等功效之美称。将鳖作为滋补品和药品已有悠久的历史。为了探索对机体免疫作用的影响,用三种不同来源的鳖对肿瘤细胞的抑制和杀伤作用及抗衰老效果进行了研究,以期为鳖的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 野生鳖取自绍兴外荡的地笼内,4周龄,体重519g。仿生养殖鳖取自模仿自然生态环境养殖的加善六塔鳖业有限公司,2周龄,体重621g。温室养殖鳖取自绍兴鱼用饲料厂养鳖场,1周龄,体重498g。三种鳖均为雄性。取裙边和肌肉组织块用玻璃匀浆器匀浆,用蒸馏水稀释成浓度为50mg/mL的组织浆液,12000r/min离心15min,取上清液分装于10mL安培瓶中,置-20℃低温冰箱保存备用。

体内试验: 一级ICR小鼠100只,体重 23 ± 2 g;瘤源动物为传代10d的S₁₈₀实体瘤小鼠。

体外培养试验: 效应细胞为大鼠腹腔巨噬细胞(MΦ),用3%硫乙醇酸钠注射于BALB/C小鼠腹腔,4d后收集腹腔渗出液,按常规配成 4×10^6 / mL悬液,加于96孔细胞培养板,每孔100μL,37℃贴壁2h后去除非粘附细胞,洗涤后,取沉淀悬浮于10mL含10%小牛血清的DMEM中即成。靶细胞为宫颈癌细胞株(HL),NO试剂盒购自晶美公司;MTT及DMSO购自华美公司。

收稿日期: 1999-08-27; **修订日期:** 2000-02-17

基金项目: 浙江省重点攻关项目(991102253)

作者简介: 钱国英(1961—),女,浙江宁波人,副教授,主要研究方向为动物营养与免疫学

1.2 方法 体内抑瘤试验:将 S_{180} 实体瘤块匀浆,用生理盐水稀释成 1:3 的瘤细胞悬液,以 0.2mL 的用量接种于每只小鼠右前肢腋窝皮下。次日将接种小鼠随机分为四组,分别用野生鳖、仿生养殖鳖、温室养殖鳖和蒸馏水对各组小鼠进行灌胃,每 23g 体重 0.5mL。每天 1 次,连续 15d。试验结束后,分别测定抑瘤率和生命延长率。

细胞杀伤效应采用 MTT 比色法^[1]。试验分设四组。分别为 MΦ 细胞悬液 100μL 加野生鳖液 100μL、或仿生养殖鳖液 100μL、或温室养殖鳖液 100μL,对照组为 200μL 细胞悬液。以效靶细胞比为 10:1,20:1,30:1,40:1,50:1,60:1 分别加入靶细胞。每一处理设 3 个复孔。72h 后测 490nm。

NO 检测也分为四组。(1) MΦ + HL, (2) MΦ + HL + 100μL 野生鳖液, (3) MΦ + HL + 100μL 仿生养殖鳖液, (4) MΦ + HL + 100μL 温室养殖鳖液。效靶比 40:1。每组设 3 个复孔,72h 后收集上清液,按试剂盒说明测 500nm 处的吸光值(A)。

2 结果

2.1 抑瘤率 野生鳖、仿生养殖鳖和温室养殖鳖小鼠的平均瘤重分别为 0.498g、0.626g 和 1.187g,比对照组的 1.790g,抑瘤率分别达 70.69%、63.17% 和 30.18%。野生鳖和仿生养殖鳖的平均瘤重两者之间差异不显著 ($P > 0.05$),但都极显著地低于对照组 ($P < 0.01$),也显著地低于温室养殖鳖 ($P < 0.05$);温室养殖鳖的平均体重也显著地低于对照组 ($P < 0.05$)。说明野生鳖和仿生养殖鳖均有极显著的抑瘤效果。温室养殖鳖的抑瘤效果要低于野生鳖和仿生养殖鳖,但也有显著的抑瘤效果。

2.2 生命延长率 野生鳖、仿生养殖鳖、温室养殖鳖组小鼠的平均生存期分别为 35.12d、34.96d 和 31.04d,均极显著地高于蒸馏水对照组 (24.98d, $P < 0.01$),其生命延长率分别达 40.59%, 39.95% 和 24.26%。野生鳖、仿生养殖鳖和温室养殖鳖 3 组之间的差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 巨噬细胞的杀瘤效应 不同处理的 MΦ 活化作用见表 1。

表1 不同处理对吸光值(A)的影响
Tab.1 Effects of different treatments on A value

组别 Group	效靶细胞比 The rate of effect and target cell					
	10:1	20:1	30:1	40:1	50:1	60:1
1. MΦ+HL	0.561±0.03 ¹⁾	0.579±0.02	0.591±0.10	0.513±0.02	0.529±0.03	0.541±0.06
2. MΦ+HL+野生鳖液 ²⁾	0.532±0.01	0.516±0.06*	0.510±0.05*	0.416±0.03**	0.436±0.01*	0.509±0.01
3. MΦ+HL+仿生养殖鳖液 ²⁾	0.539±0.05	0.551±0.05	0.531±0.01*	0.461±0.02*	0.487±0.03	0.511±0.03
4. MΦ+HL+温室养殖鳖液 ²⁾	0.538±0.04	0.555±0.01	0.569±0.02	0.483±0.04	0.496±0.01	0.507±0.05

注: 1) $\bar{X} \pm S$; 2) 2、3、4组分别与1组比较的差异显著程度, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

由表 1 可见,添加野生鳖液的 A 值极显著地低于对照组 ($P < 0.01$),最佳效果靶细胞比为 40:1 添加仿生养殖鳖液的 A 值显著地低于对照组 ($P < 0.05$),而温室养殖鳖与对照组差异不显著。

表2 不同处理对NO合成的影响
Tab.2 Effects of different treats on synthesis of NO

组别 Group	MΦ+HL	MΦ+HL+野生鳖液 MΦ+HL+Wild turtle	MΦ+HL+仿生养殖鳖液 MΦ+HL+Biomimetic turtle	MΦ+HL+温室养殖鳖液 MΦ+HL+Normal turtle
NO浓度 (μmol/L) The content of NO	12.9	68.3	34.5	19.7

2.4 对 NO 合成的影响 由表 2 可见,添加鳖组织液的三个组,培养上清液的 NO 浓度均高于对照组。其中,野生鳖液组 NO 浓度极显著地高于对照组 ($P < 0.01$),仿生养殖鳖液组 NO 浓度显著地高于对照组 ($P < 0.05$),温室养殖鳖液组与对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

从试验的结果看,不同来源的鳖均对机体肿瘤具有不同程度的抑制作用,且能有效地增强机体对肿瘤的抵抗性,延长生命期。但从细胞毒效应来看,仅仅只有野生鳖和仿生养殖鳖才具有显著地促进巨噬细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,提示鳖对机体免疫系统的作用是多因子、综合作用的结果,不仅可通过促进细胞毒作用,而且有可能通过其他形式的免疫因子而起作用的。

NO 作为 $M\Phi$ 细胞毒效应的生物信使,在抗肿瘤免疫及促肿瘤生长、转移等方面起着重要的作用^[3,6]。单核巨噬细胞与肿瘤细胞共同培养时,诱导型 NO 合成酶 (iNOS) 被激活,使 NO 合成增多^[7],NO 又可使 $M\Phi$ 分泌 IL-1、TNF-2 增多,从而使抗肿瘤作用得到进一步加强。研究表明,野生鳖与仿生养殖鳖能明显促使 $M\Phi$ 的活化,从而激发 NO 合成显著增高,细胞毒效应增强。因此,可用作抗肿瘤免疫辅佐剂。其作用原理以及不同来源鳖的作用差异原因尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张志强,田志刚,崔正言等,MTT 法检测人胎脾巨噬细胞细胞毒效应的建立 [J]. 上海免疫学杂志,1994,14(1):48
- [2] Jenkins DC, Charles IG, Thomsen LL, et al., Roles of nitric oxide in tumor growth. [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92:4392
- [3] Hibbs J B, Vavrin Z, Taintor RR, et al., L-Arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. [J]. *Immunol*, 1987, 138:550
- [4] Keller R, Geiges M, Keist R, et al, L-Arginine dependent reactive nitrogen intermediates as mediators of tumor killing by activated macrophage, [J]. *Cancer Res*, 1990, 50:1421
- [5] 于学军,郝静,衣翠华等,恶性肿瘤者 NO、TNF- α 测定及其临床意义. [J]. 上海免疫学杂志, 1999, 19(2): 109—110
- [6] Moncada S, Palmer RMT, Higgs E A. Nitric oxide, Physiology, pathology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991, 43:109