

复方鲨鱼软骨素对荷瘤小鼠免疫功能的影响

苏开仲(福州市海洋生物工程研究开发中心,福建 福州 350026)

摘要 目的:探讨复方鲨鱼软骨素对荷瘤小鼠免疫功能的影响。方法:采用动物移植性肿瘤 S₁₈₀ 实体瘤为实验模型,选用 BALB/C 小鼠进行碳廓清和 DNCB 迟发型超敏反应实验,并观察其对免疫器官的影响。结果:复方鲨鱼软骨素高、中、低 3 个剂量组能使小鼠网状内皮系统吞噬功能增强;高、中剂量组能增强小鼠 DNCB 所致迟发型超敏反应;中、低剂量组能使胸腺和脾指数增加。结论:复方鲨鱼软骨素能改善荷瘤小鼠的免疫功能。

关键词 复方鲨鱼软骨素;免疫调节;BALB/C 小鼠

中图分类号:R965

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2005)04-0198-03

The effect of complex shark cartilage on immune function in tumor-bearing mice

SU Kai-zhong (Fuzhou Marine Bioengineering Research & Development Center, Fuzhou 350026, China)

ABSTRACT Objective: To study the the effect of complex shark cartilage on immune function in tumor-bearing mice. **Methods:** The carbon clearance, DBFB delayed hypersensitivity, and immune organs were examined in tumor-bearing BALB/C mice. **Results:** Complex shark cartilage enhanced significantly the carbon clearance and DBFB delayed hypersensitivity and markedly increased the index of spleen and thymus in a dose-dependent manner. **Conclusion:** complex shark cartilage may enhance the suppressed immune function in tumor-bearing mice.

KEY WORDS complex shark cartilage; immunological modulation; BALB/C mice

复方鲨鱼软骨素(以下简称:复鲨)系福州市海洋生物工程研究开发中心拟研发的抗肿瘤新药,由鲨鱼软骨素和数味中药组成的复方制剂。有关复鲨的抑瘤作用实验研究作者曾作过报道^[1]。本文是在原医院制剂工艺调整并经多次药效学跟踪实验的基础上,采用动物移植性肿瘤小鼠 S₁₈₀ 为实验模型,选用 BALB/C 小鼠为实验动物,初步研究观察复鲨及其组分对荷瘤小鼠免疫功能的影响,为该制剂的进一步研发提供依据。

1 材料

1.1 药品 复鲨(批号:030701),使用时用水配制成所需浓度的混悬液;中药复方(含黄芪、地龙、五味子、苦参等成分,批号:030701),使用时用水配制成混悬液,以上均由福州市海洋生物工程研究开发中心提供;鲨鱼软骨素系福州闽康生物医学工程公司出品,批号:021224;环磷酰胺系上海华联制药有限公司出品,批号:001005。

1.2 动物与瘤株 BALB/C 小鼠,体重 18~20g,雌雄兼用,由上海实验动物中心提供。小鼠 S₁₈₀ 肉瘤

由福建医科大学药理教研室提供,以实体瘤型传代保种。

2 方法^[2-5]

2.1 对小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响 实验时 BALB/C 小鼠接种 S₁₈₀ 肿瘤后 10d,肿瘤生长旺盛,且无破溃的动物颈椎脱臼致死,在无菌平皿内,将肿瘤组织剪成 2~3mm 的小块,向无菌套管内塞入一小块,接种于 BALB/C 小鼠右前肢腋窝皮下。接种后小鼠随机分为 7 组,每组 8 只。分别灌胃给予①复鲨高、中、低 3 个剂量组;②中药复方中剂量组;③鲨鱼软骨素中剂量组;④荷瘤对照组;⑤环磷酰胺阳性对照组。另取 BALB/C 小鼠 8 只作空白对照组给常水 0.2mL/(10g·d)。连续给药 10d。末次给药后 0.5h,每鼠尾静脉注入 10% 印度墨汁 0.1mL/10g 体重,按文献^[2]方法测定吞噬指数(K)和吞噬系数(α)。

2.2 对小鼠二硝基氯苯所致迟发型皮肤过敏反应的影响 分组及给药途径、剂量同 2.1。致敏前 1d,用 Na₂S 溶液脱去小鼠颈背部毛,首次给药后于已去毛的背部皮肤上滴 50% 二硝基氯苯(DNCB)丙酮溶液 2 μ L 致敏。致敏后连续给药 12d。12d 后,在每只小鼠腹部皮肤涂 2.5% DNCB 丙酮溶液 20 μ L 进行攻击。24h 后,每只鼠尾静脉注射 1% 伊文思蓝 10mg/kg,30min 后处

基金项目:福州市科技计划项目(2002-114)抗肿瘤新药复方鲨鱼软骨素工艺研究和药毒理预实验

作者简介:苏开仲(1949-),男。Tel:(0591)83451070;E-mail:skz49@sohu.com

死小鼠,取腹部蓝染皮肤剪碎,置盛有 1:1 丙酮生理盐水 4mL 的试管中浸泡 24h,离心取上清液,用 UV9100 型紫外光度计($\lambda = 610\text{nm}$)测光密度。以光密度值表示迟发超敏反应的强度。

2.3 对小鼠免疫器官和抑瘤作用的影响 在 2.1 和 2.2 实验结束时剖取胸腺、脾脏和肿瘤精密称重,按下列公式计算胸腺指数和脾指数,并观察抑瘤效果。

$$\text{胸腺(脾)指数}(\%) = \frac{\text{胸腺(脾)重量}(g)}{\text{小鼠重量}(g)} \times 100$$

3 结果

3.1 对小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响 各给药组与荷瘤对照组比较表明,复鲨高、中、低 3 个剂量组小鼠的吞噬指数(K)和吞噬系数(α)均显著高于荷瘤对照组($P < 0.01$);中药复方和鲨鱼软骨素组也有一定的提高($P < 0.05$)。而荷瘤对照组与空白对照组比较,其吞噬指数和系数却有所降低($P > 0.05$),结果见表 1。

表 1 复鲨对小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	吞噬指数(K)	吞噬系数(α)
空白对照组	水 20mL/kg	0.037 ± 0.01	6.177 ± 1.20
荷瘤对照组	水 20mL/kg	0.027 ± 0.08 ¹⁾	5.205 ± 0.59 ¹⁾
环磷酸胺组	0.02	0.032 ± 0.06 ²⁾	5.397 ± 0.69 ²⁾
复鲨高剂量组	5.0	0.045 ± 0.03 ³⁾	6.171 ± 0.39 ³⁾
复鲨中剂量组	2.5	0.046 ± 0.04 ³⁾	6.187 ± 0.41 ³⁾
复鲨低剂量组	1.25	0.041 ± 0.07 ³⁾	6.110 ± 0.24 ³⁾
中药复方组	1.5	0.034 ± 0.01 ²⁾	5.336 ± 0.85 ²⁾
鲨鱼软骨素组	1.0	0.035 ± 0.06 ²⁾	5.561 ± 0.52 ²⁾

注:1)表示荷瘤组 VS 空白对照组比较 $P > 0.05$;2)、3)表示各给药组 VS 荷瘤组比较 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$

3.2 对小鼠迟发型超敏反应的影响 各给药组与荷瘤对照组比较表明,复鲨高、中剂量组能明显增强小鼠 DNCB 所致的迟发型过敏反应($P < 0.01$);复鲨低剂量组和中药复方及鲨鱼软骨素组也有一定的增强作用($P < 0.05$)。而荷瘤对照组与空白对照组比较却能明显抑制 DNCB 所致的小鼠迟发型超敏反应,结果见表 2。

表 2 复鲨对小鼠 DNCB 迟发型超敏反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	皮肤反应(OD)
空白对照组	水 20mL/kg	0.053 ± 0.011
荷瘤对照组	水 20mL/kg	0.037 ± 0.014 ¹⁾
环磷酸胺组	0.02	0.037 ± 0.013
复鲨高剂量组	5.0	0.062 ± 0.016 ³⁾
复鲨中剂量组	2.5	0.063 ± 0.013 ³⁾
复鲨低剂量组	1.25	0.046 ± 0.014 ²⁾
中药复方组	1.5	0.047 ± 0.011 ²⁾
鲨鱼软骨素组	1.0	0.049 ± 0.014 ²⁾

注:1)表示荷瘤组 VS 空白对照组比较 $P > 0.05$;2)、3)表示各给药组 VS 荷瘤组比较 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$

3.3 对小鼠免疫器官和抑瘤作用的影响 复鲨中、低剂量组和鲨鱼软骨素组的胸腺指数上升,与荷瘤对照组比较有明显差异($P < 0.05$),提示复鲨中、低剂量和鲨鱼软骨素可促进胸腺的生长发育,缓解荷瘤小鼠所引起的胸腺抑制作用。同样复鲨中、低剂量和鲨鱼软骨素组的脾指数高于荷瘤对照组($P < 0.05$),提示复鲨中、低剂量即可促进荷瘤鼠脾脏的功能。实验还显示,复鲨具有剂量依赖式的抑制小鼠 S_{180} 肉瘤的生长,与作者以往报道基本一致^[1],结果见表 3。

表 3 复鲨对荷瘤小鼠免疫器官和抑瘤作用的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	胸腺指数	脾指数	抑瘤率(%)
空白对照组	水 20mL/kg	0.018 ± 0.031	0.046 ± 0.034	-
荷瘤对照组	水 20mL/kg	0.011 ± 0.024	0.044 ± 0.031	-
环磷酸胺组	0.02	0.012 ± 0.021	0.043 ± 0.021	58.9
复鲨高剂量组	5.0	0.016 ± 0.023	0.047 ± 0.023	50.2
复鲨中剂量组	2.5	0.021 ± 0.057 ¹⁾	0.054 ± 0.019 ¹⁾	38.1
复鲨低剂量组	1.25	0.022 ± 0.052 ¹⁾	0.053 ± 0.022 ¹⁾	32.3
中药复方组	1.5	0.014 ± 0.033	0.047 ± 0.024	14.6
鲨鱼软骨素组	1.0	0.021 ± 0.037 ¹⁾	0.052 ± 0.020 ¹⁾	12.6

注:1)表示各给药组 VS 荷瘤组比较 $P < 0.05$

4 讨论

网状内皮系统(RES)是机体重要的防御系统,它是机体保持内环境稳定的重要系统之一。碳廓清实验是观察当静脉注入特定大小的惰性炭粒后,它可被 RES 细胞吞噬,并从血流中廓清,从而可借助测定血流中炭粒消失速度来反映 RES 吞噬异物的

能力。本实验表示,复鲨高、中、低 3 个剂量组能显著增强小鼠 RES 吞噬功能(中药复方和鲨鱼软骨素也有一定作用),提示对广泛的继发性疾病具有防治功效。

迟发型超敏反应(DTH)是依赖 T 细胞的反应,DTH 反应中的 T 细胞在移植物排斥、抗宿主病、自身免疫和肿瘤免疫等方面起着关键作用。本实验发

现复鲨高、中剂量组能显著增强免疫低下功能小鼠 DNCB 所致的迟发型超敏反应。

胸腺是 T 细胞分化成熟的场所,因此,具有重要的免疫调节功能。脾脏除能贮存和调节血量外,也具有重要的免疫功能,它不仅是各类免疫细胞居住的场所,同时也是对血源性抗原物质产生免疫应答及产生免疫效应(如抗体)的重要基地。复鲨中、低剂量组和鲨鱼软骨素组的胸腺和脾指数明显高于茶瘤对照组,提示可促进胸腺的生长发育和促进脾脏的功能。

免疫功能的改善对增强体质、抵抗疾病有重要意义,本实验表明,复鲨兼有扶正、祛邪的功效,值得进一步系统的深入研究。

致谢:福建省医科所林建峰研究员对本实验进

行指导,李勇、黄慧琴、彭华毅、连建清同志参与实验。

参考文献:

- [1] 苏开仲,魏炜明,魏文树等. 复方鲨鱼软骨素抑瘤作用实验研究[J]. 中国海洋药物,2001,20(6):14.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000,703.
- [3] 徐叔云,卞如濂. 药理研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2002,1704.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 第1版,上海,上海科技出版社,1991,157.
- [5] 王劲,杨峰,张建雄等. 鲨鱼粉抗癌增效及调节免疫功能的研究[J]. 中国海洋药物,2000,19(2):14.

收稿日期:2005-06-08

雌激素及三苯氧胺对 MCF-7 乳腺癌细胞 BP1 基因表达的影响

王洋,郑唯强(第二军医大学长海医院病理科,上海 200433)

摘要 目的:检测乳腺癌 MCF-7 细胞在雌激素(E2)和三苯氧胺(TAM)作用后 BP1 基因的表达情况。方法:用雌激素(E2)和三苯氧胺(TAM)处理培养的处于对数生长期的 MCF-7 细胞,应用 MTT 比色分析法筛选最佳作用浓度。以筛选的浓度同步分组作用于 MCF-7 细胞 72h,同时设对照。用原位杂交法检测 BP1 基因在 ER 处于激活和抑制状态下的表达状况,用免疫组化检测 bcl-2 的表达,用 TUNEL 法检测细胞凋亡状况。分析 MCF-7 在 ER 处于不同表达状态下 BP1、bcl-2 的表达变化和细胞凋亡变化情况。结果:E2 在 10^{-8} mol/L、TAM 在 10^{-6} mol/L 的浓度时,刺激和抑制 MCF-7 细胞生长的作用最显著。在 E2 和 TAM 处理后,MCF-7 细胞 BP1 的表达率分别为 $95.0\% \pm 3.94\%$ 、 $58.5\% \pm 5.27\%$, bcl-2 的表达率为 $80.9\% \pm 1.73\%$ 、 $37.8\% \pm 2.39\%$,凋亡指数分别为 0.67 ± 0.27 、 6.7 ± 0.76 。分别较对照组 $76.1\% \pm 6.54\%$ 、 $63.5\% \pm 3.28\%$ 、 3.2 ± 0.79 之间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:在 ER 阳性的乳腺癌细胞,BP1 的表达受到 ER 传导通路的调节,E2 可能通过调节 BP1 的表达水平而在乳腺癌的发生中起作用。BP1 可能在调节细胞凋亡的过程中起到抑制作用。BP1 阳性表达可能成为预后不良的标志。

关键词 MCF-7 细胞;BP1;细胞凋亡;原位杂交;bcl-2;免疫组化

中图分类号:R965

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2005)04-0200-06

Effects of estrogen and tamoxifen on the expression of BP1 in MCF-7, a human breast carcinoma cell line

WANG Yang, ZHENG Wei-qiang (Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of BP1 gene after estrogen and tamoxifen effected on breast cancer cell line MCF-7 respectively. **Methods:** With screened concentration of estrogen (10^{-8} mol/L) and tamoxifen (10^{-6} mol/L) by MTT assay treated with MCF-7 72 hours, then detected the expressions of BP1 mRNA by in situ hybridization method and bcl-2 protein by immunohistochemistry. Determined quantitatively apoptosis cells of MCF-7 by TUNEL method. **Results:** The percents of BP1 mRNA expression of MCF-7 cells in E2 treated group and TAM treated group were ($95.0\% \pm 3.94\%$) and ($58.5\% \pm 5.27\%$), and those of bcl-2 protein were ($80.9\% \pm 1.73\%$) and ($37.8\% \pm 2.39\%$), howere, the expressions of BP1 and bcl-2 were ($76.1\% \pm 6.54\%$) and ($63.5\% \pm 3.28\%$) in control group respectively. There were all

作者简介:王洋(1975-),男,住院医师,助教. E-mail: docwy@sina.com.