

玉竹提取物 A 对小鼠巨噬细胞白细胞介素-1 和肿瘤坏死因子产生的影响

韩日新¹, 关玲敏², 潘兴瑜^{3△} (1. 辽宁鞍山师范学院附属卫生学校学校免疫教研室 114001; 2. 辽宁省铁岭市卫生学校免疫教研室 112000; 3. 中国医科大学基础医学院免疫学教研室, 沈阳 110001)

【摘要】 目的 研究玉竹提取物 A(extraction A of polygonatum odoratum, EA-PAOA) 对小鼠巨噬细胞和细胞因子产生的影响, 以探讨对免疫功能的作用。**方法** 检测小鼠体外巨噬细胞产生的白细胞介素-1(IL-1) 和肿瘤坏死因子(TNF- α)。**结果** 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上浓度的 EA-PAOA 对小鼠巨噬细胞产生的 IL-1 有抑制作用, 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 EA-PAOA 的抑制百分率(IP) 达 39.1%, 对 TNF- α 抑制作用比对 IL-1 的抑制作用明显, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 EA-PAOA 达 28.6%, 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的 EA-PAOA 的 CIP 达 78.6%。两者均呈量效依赖关系。**结论** EA-PAOA 对小鼠巨噬细胞产生的 IL-1 和 TNF- α , 均有抑制作用, 可抑制小鼠的免疫功能。

【关键词】 玉竹提取物 A; 白细胞介素 1; 肿瘤坏死因子 α

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.20.011

中图分类号: R73-3

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)20-2198-02

Effect of EA-PAOA on both IL-1 and TNF- α production of mice macrophages HAN Ri-xin¹, GUAN Ling-min², PAN Xing-yu^{3△}. 1. Department of Immunology, Affiliated Health School, Anshan Teachers College, Anshan, Liaoning 114001, China; 2. Department of Immunology, Tieling Health School, Tieling, Liaoning 112000, China; 3. Department of Basic Medicine and Immunology, China Medical University, Liaoning 110001, China

【Abstract】 Objective To research the effect of extraction a of polygonatum odoratum (EA-PAOA) on the cytokine production of mice macrophages(M) so as to explore the action of EA-PAOA on immunologic function. **Methods** To detect IL-1 and TNF- α produced by mice M ϕ in vitro. **Results** EA-PAOA in the concentration of $\geq 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ had the inhibitory action on IL-1 production of mice M ϕ . The inhibitory percentage (IP) in concentration of 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of EA-PAOA reached 39.1%. The inhibitory action of EA-PAOA on TNF- α production of mice M ϕ was higher than that on IL-1 production, the cytolytic inhibitory percentage (CIP) of EA-PAOA in concentration of 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ reached 28.6%, and in concentration of 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ which reached 78.6%. The inhibitory action of EA-PAOA on both IL-1 and TNF- α of mice M depended on the concentration of EA-PAOA. **Conclusion** There is a inhibitory action of EA-PAOA on both IL-1 and TNF- α production of mice M ϕ . EA-PAOA inhibits the immunologic function of mice.

【Key words】 extraction a of polygonatum odoratum; interleukin-1; tumor necrosis factor- α

玉竹 (polygonatum odoratum, PAOA) 为百合科黄精属中草药, 味甘平、性微寒, 具有生津止渴、养阴润燥、扶正固本和滋补强壮的功效。PAOA 含有多糖、单糖、生物碱和菸酸等成分。玉竹提取物 (EA-PAOA) 具有抑制小鼠脾淋巴细胞转化和白细胞介素-1(IL-1) 的作用, 对不同品系小鼠之间的淋巴细胞混合培养, 有较强的抑制作用^[1]。本文就 EA-PAOA 对巨噬细胞产生 IL-1 和肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的影响进行观察。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 小鼠, 6~8 周龄, 雌雄兼用 (由本校动物室提供)。

1.2 试剂 人脂多糖/内毒素 (LPS)、刀豆素 A 由美国 Sigma 公司提供; LPS、EA-PAOA 干品 (由本室研究人员采集和提取)。

1.3 巨噬细胞的分离 按文献[2]的方法分离巨噬细胞, 略加改动, 将从腹腔分离的 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 细胞液加入 24 孔板 1 mL, 于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 的条件下孵育 45 min 后, 摇动 1 次, 使巨噬细胞充分贴壁, 3 h 后完全快速原形巨噬细胞 1640 培养液洗 2

次, 去掉未黏附的细胞, 即为巨噬细胞单层。

1.4 IL-1 和 TNF- α 的产生 将 LPS 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和不同剂量的 EA-PAOA 加入 24 孔版, 培养 6 h 后, 弃掉培养液, 重新加入含有 5% FCS (胎牛血清) 的 RP 巨噬细胞 1640 培养液 (预热)。IL-1 的产生换液后继续培养 42 h; TNF- α 的产生换液后继续培养 24 h。分别收获上清液, 针头滤器除菌, -30 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏待测。

1.5 IL-1 活性测定 采用 BALB/c 小鼠的胸腺作为靶细胞^[2-3], 用 Con-A 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 诱导, 测定细胞密度为 $1 \times 10^7/\text{mL}$, 巨噬细胞上清液为 1:40 稀释, 各 0.1 mL 加入 40 孔培养板, 与不加 EA-PAOA 的巨噬细胞上清液为对照, 一式 3 份, 培养 72 h 后采用本室改进的四甲基偶氮盐比色法 (MTT)^[4] 测光密度 (OD) 值。结果: 等电点 (IP) = $[(1 - \text{实验组 OD 值} / \text{对照组 OD})] \times 100\%$ 。

1.6 TNF- α 测定 采用本室改进的 MTT 比色法测 OD 值^[5]。结果: CIP = $[(\text{实验组 OD 值} - \text{对照组 OD 值}) / \text{对照组 OD}] \times 100\%$ 。

△ 通讯作者, E-mail: aswxhrx@sohu.com.

1.7 统计学方法 采用 SPSS13.0 医学软件包进行数据统计,组间比较采用 *t* 检验。

2 结 果

2.1 1 000 μg/mL 浓度的 EA-PAOA 对小鼠巨噬细胞产生 IL-1 的 IP 为 39.1%,其抑制作用呈剂量依赖关系,EA-PAOA

浓度在 10 μg/mL 以下无抑制作用,见表 1。

2.2 1 μg/mL 浓度的 EA-PAOA 对小鼠巨噬细胞产生 TNF-α 的 CIP 达 9.5%,1 000 μg/mL 浓度的 EA-PAOA 对小鼠巨噬细胞产生 TNF-α 的 CIP 为 78.6%,EA-PAOA 对小鼠巨噬细胞产生 TNF-α 的抑制作用随剂量增大而加强,见表 2。

表 1 EA-PAOA 浓度对小鼠巨噬细胞产生 IL-1 的影响

项目	对照组	试验组(μg/mL)			
		1	10	100	1 000
OD(±s)	0.92±0.03	0.91±0.02	0.78±0.01	0.64±0.03	0.56±0.01
IP(%)	—	1.1	15.2	30.4	39.1
<i>P</i>	—	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01

注:—表示无数据。

表 2 EA-PAOA 浓度对小鼠巨噬细胞产生 TNF-α 的影响

项目	对照组	试验组(μg/mL)			
		1	10	100	1 000
OD(±s)	0.42±0.02	0.46±0.03	0.54±0.01	0.62±0.03	0.75±0.02
CIP(%)	—	9.5	28.6	47.6	78.6
<i>P</i>	—	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

注:—表示无数据。

3 讨 论

EA-PAOA 经本室多年研究对免疫功能具有较强的抑制作用,这种抑制作用不是由直接的细胞毒作用所导致,而是通过抑制 T 淋巴细胞的增值和 IL-2 的产生所引起,这至少是其抑制免疫功能的机制之一。以上实验结果证明,EA-PAOA 对巨噬细胞产生 IL-1 有一定的抑制作用,大剂量抑制作用明显,随着剂量下降,其抑制作用也随之低下,至 1 μg/mL 浓度时几乎没有抑制作用。EA-PAOA 对巨噬细胞产生 TNF-α 有显著的抑制作用,且 1 μg/mL 浓度的 EA-PAOA 也有一定的抑制作用,其抑制作用随剂量增大而加强。EA-PAOA 抑制小鼠巨噬细胞产生 IL-1 和 TNF-α,对其免疫功能起下调作用。PAOA 有养阴润燥,生津止渴的作用,中医认为这种作用可能与 PAOA 具有抑制细胞介导的免疫应答,抑制 IL-1 和 TNF-α 炎症反应介质的产生,减弱免疫应答对机体的损伤程度有关。因此,EA-PAOA 对 IL-1 和 TNF-α 产生的抑制作用在临床治疗自身免疫性疾病和在其他领域中的应用具有广阔的前景。

参考文献

[1] 丁一明,朱立玉,张淑珍.等.介绍一种测定 IL-1 活性的方法[J].上海免疫学杂志,1986,6(4):236-237.
 [2] 尚红生,邓玉澜,林志彬,等.小鼠 IL-1 测定方法的探讨及中药香菇菌多糖对 IL-1 产生的作用[J].中国免疫学杂志,1986,2(2):70-72.
 [3] 王兴林,高良恕,李求是.等.IL-1 和 IL-2 测定方法的某些改进[J].中国免疫学杂志,2006,5(2):107-109.
 [4] 潘兴瑜,付京晶,薛欣.等.MTT 比色法改进研究[J].中国免疫学杂志,1999,15(10):42-44.
 [5] 杨贵贞.免疫工程纲要与技术[M].长春:吉林科学技术出版社,2001:42-48.

(收稿日期:2010-05-14)

(上接第 2197 页)

肿瘤防治研究,2003,30(2):122-123.
 [4] 万文徽.肿瘤标志物临床应用与研究[M].2 版.北京:北京大学医学出版社,2007:9.
 [5] Marrelli D,Pinto E,De Stefano A,et al. Clinical utility of CEA, CA19-9, and CA72-4 in the follow-up of patients with respectable gastric cancer[J]. Am J Surg,2001,181(1):16-19.
 [6] Lai IR, Lee WJ, Huang MT, et al. Comparison of serum CA72-4, CEA, TPA, CA19-9 and CA125 levels in gastric

cancer patients and correlation with recurrence[J]. Hepatogastroenterology,2002,49(46):1157-1160.
 [7] Marrelli D,Pinto E,De Stefano A, et al. Clinical utility of CEA, CA 19-9, and CA 72-4 in the follow-up of patients with resectable gastric cancer[J]. Am J Surg,2001,181(1):16-19.
 [8] 朱俊义,毛果伟,陆芹.检测胃癌患者血清 TSGF、CA199 的临床意义[J].实用全科医学,2006,4(6):312-314.

(收稿日期:2010-05-11)