

近距离照射联合贻贝提取物对荷瘤鼠治疗效果的研究

李 翊¹ 毛文君² 王海青¹

(¹ 中国人民解放军 401 医院 青岛 266071)

(² 青岛海洋大学 266003)

提要 观察了近距离照射联合贻贝提取物对 U14 鼠免疫功能的影响,以期探讨贻贝提取物在放射治疗中的作用。结果表明,贻贝提取物使荷瘤鼠因近距离照射而下降的免疫指标明显回升,包括脾脏 NK 细胞杀伤活性,丝裂原诱发的淋巴细胞转化强度和外周血白细胞总数及脾指数,亦有效增强放疗的治疗效果。

关键词 贻贝提取物,近距离照射,增敏作用

近距离照射是肿瘤放射治疗中的一种重要手段。但杀伤和抑制癌细胞时,其对机体免疫功能会造成一定的不良影响。贻贝提取物(Mussel Extract——ME)是一种富硒提取物,能有效提高机体硒水平^[1]。大量研究证实,微量元素硒能增强机体免疫功能。但有关贻贝提取物对机体免疫功能的影响尚未见报道。

本研究通过观察贻贝提取物对近距离照射荷瘤鼠免疫功能的影响,以期了解贻贝提取物在放射治疗中的增敏效果。

收稿日期:1998-12-31;修回日期:1999-03-16

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 贻贝提取物 将贻贝软体匀浆,然后经磷酸缓冲液(pH=7)提取,离心分离(6 000 r/min,10℃),上清液经蛋白酶酶解,过滤,沉淀,透析,纯化,浓缩,冷冻干燥,得提取物粉末。

1.1.2 实验动物与瘤株 昆明种小鼠,雄性,6~8周龄,体重16~18 g,由山东省海洋药物研究所动物中心提供;小鼠宫颈癌瘤株(U14),自中国医学科学院引进,山东省海洋药物研究所保存和传代。

1.2 动物试验方法

取雄性昆明种小鼠50只,随机分为5组,每组10只,包括正常对照组,单纯照射组和3个照射实验组。在接种瘤株之前,实验组小鼠以ME水溶液灌胃7d,每天每只0.6 ml,3个实验组剂量分别为1.0 g/kg,2.0 g/kg,4.0 g/kg。瘤株按1:5(W/W)比例以生理盐水稀释,每只小鼠于右前肢腋下接种0.2 ml。接种瘤株当天,实验组继续按上述剂量以ME灌胃。单纯照射组,于接种瘤株后第5天,进行照射,方法为¹⁹²Ir后装贴敷治疗,治疗范围为1 cm×1 cm×1 cm,单次剂量为6 Gy,隔2 d 1次,共3次。实验组照射时间与剂量和单纯照射组相同,连续12 d。末次给药后的次日,取尾血进行白细胞总数测定;然后,将小鼠颈椎脱臼法处死,称重,取肿瘤称重,计算抑瘤率,取脾脏称重,观察脾脏重量的变化;同时取脾脏进行NK细胞活性测定,淋巴细胞功能测定。

1.3 测定方法

1.3.1 NK细胞杀伤活性测定^[2] 采用LDH释放法。经自动酶标仪读取实验组、自然释放组和最大释放组(以1% NP-40处理靶细胞)在波长490 nm

时的OD值,然后计算NK活性。

1.3.2 淋巴细胞功能测定^[2] 采用同位素掺入法。应用ConA及LPS刺激的体外淋巴细胞增殖强度分别评估小鼠T和B细胞功能。增殖强度以每组三复管的³H-TdR掺入Cpm值表示,并计算相应反应值RR。

1.3.3 外周血白细胞总数测定 取血,涂片,镜下观察计数。

1.4 数据处理

采用方差分析进行数据统计

2 结果与讨论

2.1 ME对NK细胞活性的影响

结果见表1。

表1 ME对脾NK细胞活性的影响

Tab. 1 Effect of ME on NK activity in spleen of mice (n=10, $\bar{X} \pm S$)

组别	剂量 (g/kg)	NK细胞活性 (%)
正常对照组	/	49.87±1.08
单纯照射组	/	36.11±1.71▲▲
ME	1.0	38.12±1.29**
	2.0	45.58±1.62**
	4.0	41.05±0.91**

** P<0.01, vs 单纯照射组;▲▲ P<0.01, vs 正常对照组。

由表1可见,荷瘤小鼠经照射后脾脏NK细胞活性有明显下降(P<0.01),补加ME后,NK细胞杀伤活性得以恢复,差异显著(P<0.01)。

2.2 ME对淋巴细胞功能的影响

结果见表2。

表2 ME对脾淋巴细胞功能的影响

Tab. 2 Effect of ME on founction of lymphocyte in mice (n=10, $\bar{X} \pm S$)

组别	剂量 (g/kg)	ConA		LPS	
		Cpm	RR	Cpm	RR
正常对照组	/	22 706±2 083	100	18 389±1 530	100
单纯照射组	/	14 710±930▲▲	64.78	13 296±1 739▲▲	72.30
ME	1.0	16 325±510*	71.89	15 789±1 879*	85.86
	2.0	19 073±1 088**	83.99	17 943±2 253**	97.57
	4.0	16 339±432*	71.95	17 413±2 097**	94.69

* P<0.05, ** P<0.01, vs 单纯照射组;▲▲ P<0.01, vs 正常对照组。

由表2可见,单纯照射组小鼠,致裂原ConA和LPS诱发的淋巴细胞转化降低,其相对反应值仅分别

为正常对照组的 64.78 %和 72.30 %，补加 ME 后，淋转强度增加，ConA 组部分恢复，LPS 接近完全恢复，差异显著($P<0.05$)。

2.3 ME 对外周血白细胞总数的影响

结果见表 3。

表 3 ME 对外周血白细胞总数的影响

Tab. 3 Effect of ME on white cell total number ($n=10, X\pm S$)

组别	剂量 (g/kg)	WBC ($\times 10^9/L$)
正常对照组	/	1.26 $\pm$ 0.02
单纯照射组	/	1.03 $\pm$ 0.04 $\blacktriangle\blacktriangle$
ME	1.0	1.17 $\pm$ 0.05*
	2.0	1.26 $\pm$ 0.06**
	4.0	1.25 $\pm$ 0.08**

表 4 ME 对肿瘤抑制作用的影响

Tab. 4 Tumor inhibitory effect of ME on U14-bearing mice($n=10, X\pm S$)

组别	剂量 (g/kg)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	脾指数 (mg/g)
阴性对照组	/	2.72 $\pm$ 0.47	/	6.74 $\pm$ 0.13
单纯照射组	/	0.27 $\pm$ 0.04**	90.07	6.41 $\pm$ 0.34
ME	1.0	0.24 $\pm$ 0.06**	91.17	9.37 $\pm$ 0.65 $\blacktriangle\blacktriangle$
	2.0	0.21 $\pm$ 0.04**	92.27	10.67 $\pm$ 0.56 $\blacktriangle\blacktriangle$
	4.0	0.25 $\pm$ 0.05**	90.80	9.85 $\pm$ 0.35 $\blacktriangle\blacktriangle$

** $P<0.01$, vs 阴性对照组; $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$, vs 单纯照射组。

贻贝提取物显著增强近距离照射鼠脾 T 细胞对 ConA, B 细胞对 LPS 反应。Abbas, AK. 等 1991 年指出, ConA 为 T 细胞刺激原, 能减少淋巴细胞 θ 抗原, 增加 H_2 表面抗原, 促进其成熟。在近距离照射时补充贻贝提取物后, 增强脾细胞对 ConA 反应这一事实说明, 贻贝提取物具有促进 T 细胞成熟之功能。贻贝提取物影响 B 细胞对 LPS 反应, 可能由于其协同胸腺因子, 产生成熟 T_H 细胞而该细胞为某些 B 细胞亚群与 LPS 反应所必需。另外, 贻贝提取物可明显提高近距离照射小鼠 NK 细胞活性, 增强其杀伤肿瘤细胞的能力, 越来越多的证据表明, NK 细胞在机体肿瘤监护、抵御感染及免疫功能调节中发挥重要作用, NK 细胞可以直

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs 单纯照射组; $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$ vs 正常对照组。

由表 3 可知, 单纯照射组外周血白细胞数明显减少($P<0.01$), 补加 ME 后, 白细胞总数显著回升, 2.0 g/kg 和 4.0 g/kg 剂量组达到正常对照组水平($P<0.01$)。

2.4 ME 对肿瘤抑制作用的影响

结果见表 4。

由表 4 可见, 照射对小鼠移植性宫颈癌(U14)肿瘤有极显著的抑制作用($P<0.01$)。抑瘤率为 90.07 %, 补充 ME 组抑瘤作用高于单纯照射组, 抑瘤率为 92.27 %, 由表 4 也发现, ME 可显著增加小鼠脾脏的重量。

接杀伤肿瘤细胞。而且本实验也观察到贻贝提取物可使外周血白细胞总数恢复正常, 脾脏重量增加。这些免疫指标的变化, 可说明贻贝提取物可帮助处于免疫抑制状态的动物调节与恢复免疫功能, 减少近距离照射对免疫功能损伤的作用。本实验结果表明近距离照射时, 贻贝提取物对免疫功能有较好增效作用, 但贻贝提取物影响免疫功能的机制有待深入探讨。

参考文献

1 Mao Wenjun. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 1998, 15(4): 304~307

STUDIES ON THE SYNERGISM EFFECTS OF THE UNITY OF CLOSE DISTANCE IRRADIATION AND MUSSEL EXTRACT IN RADIOTHERAPY

LI Yi¹ MAO Wen-jun² WANG Hai-qing¹

(¹401 Navy Hospital, Qingdao 266071)

(²Ocean University of Qingdao, 266003)

Received: Dec. 31, 1998

Key Words: Close distance irradiation, Mussel extract, Immunity function radiotherapy, Synergism effect

Abstract

The effects of unity of close distance irradiation and mussel extract (ME) on immunity function in tumor-bearing mice was investigation. The results showed that the close distance irradiation caused decreased immunological indicators including NK cell activity, the transformation strength induced by mitogens, spleen index increased markedly. The mussel extract can enhance immune function and have significant synergism effect in close distance irradiation.