

海龟组织浆对鼠免疫功能影响*

EFFECTS OF TORTOISE PLASMASOL ON THE IMMUNOLOGIC FUNCTION IN MICE

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 315010)

关键词 海龟组织浆, 抑瘤率, 免疫功能

海龟作为滋补品和药品已有悠久的历史。为了探索海龟对机体免疫作用的影响,本试验对海龟组织浆对肿瘤细胞的抑制和杀伤作用和抗衰老效果进行了研究,以期为海龟的全面开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

绿海龟 (*Chelonia mydas*) 取自海南三亚, 6 周龄, 体重 751 g, 雄性。取腿部肌肉组织块用玻璃匀浆器匀浆, 用蒸馏水稀释成浓度为 50 mg/ml 的组织浆液, 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液分装于 10 ml 安培瓶中, 置 -20 °C 低温冰箱保存备用。

体内试验: 一级 ICR 小鼠 100 只, 体重 23 ± 2 g; 一级 wistar 大鼠 24 只, 雄性, 体重 220 ± 20 g; 瘤源动物为传代 10 d 的 S₈₀ 实体瘤小鼠。

1.2 方法

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, 4 d 后收集腹腔渗出液, 按常规配成 4 × 10⁶/ml 悬液, 加于 96 孔细胞培养板, 每孔 100 μl, 37 °C 贴壁 2 h 后去除非粘附细胞, 洗涤后, 取沉淀悬浮于 10 ml 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。

体内抑瘤试验: 将 S₈₀ 实体瘤块匀浆, 用生理盐水稀释成 1:3 的瘤细胞悬液, 以 0.2 ml 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 2 组, 分别用海龟组织浆和蒸馏水对各组小鼠进行灌

胃, 每 23 g 体重 0.5 ml。每天 1 次, 连续 15 d。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。试验分设两组。分别为 MΦ 细胞悬液 100 μl 加海龟液 100 μl, 对照组为 200 μl 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, 加 MTT。72 h 后在波长 490 nm 处测吸收光值 A。

NO 检测也分为 2 组。(1) MΦ + HL, (2) MΦ + HL + 100 μl 野生海龟液。效靶比 40:1。每组设 3 个复孔, 72 h 后收集上清液, 按试剂盒说明测 A500 nm 值。

抗衰老试验: 取大鼠 20 只, 随机分成两组, 每组 10 只。分别用海龟和蒸馏水灌胃。每天 1 次, 每 100 g 体重 1 ml, 连续 10 d, 从眼眶静脉丛采血, 同时取脑和肝脏, 测定 SOD 活性。SOD 试剂盒购自海军总医院生物研究所。SOD 活性以亚硝酸单位表示, 即 U/ml。

2 结果

2.1 抑瘤率

海龟组小鼠的平均瘤重为 0.467 g, 对照组为 1.590 g, 抑瘤率达 70.37%, 极显著地低于对照组 ($P < 0.01$)。说明海龟有极显著的抑瘤效果。

2.2 生命延长率

海龟组小鼠的平均生存期为 37.18 d, 极显著地

* 浙江省重点攻关项目 9915265 号。

收稿日期: 1999-12-27; 修回日期: 2000-02-21

高于蒸馏水对照组 (25.39 d, $P < 0.01$), 其生命延长率达 46.44%。

2.3 巨噬细胞的杀瘤效应

表 1 不同处理对吸光 A 值的影响

组别	A 值					
	效靶细胞比					
	10:1	20:1	30:1	40:1	50:1	60:1
1. MΦ+HL	0.573 ± 0.03 ¹⁾	0.565 ± 0.02	0.603 ± 0.10	0.519 ± 0.02	0.533 ± 0.03	0.547 ± 0.06
2. MΦ+HL+海龟液	0.551 ± 0.01 ²⁾	0.522 ± 0.06*	0.518 ± 0.05*	0.446 ± 0.03**	0.468 ± 0.01*	0.511 ± 0.01

1) 均值 ± 标准差, 2) t 检验比较组间的差异显著程度, * 表示差异显著, ** 表示差异极显著。

大高于对照组, 其最佳效果靶细胞比为 40:1。

2.4 对 NO 合成的影响

由图 1 可见, 添加海龟组织液组, 培养上清液的 NO 浓度极显著高于对照组 ($P < 0.01$), 表明培养时 NO 合成增多, 从而可有效地增强 MΦ 的细胞毒作用。

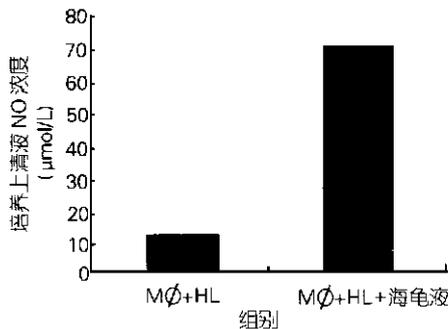


图 1 不同处理对 NO 合成的影响

表 2 海龟组织浆对大鼠 SOD 活性的影响

组别	SOD 活性 (U/ml)		
	脑	肝脏	血液
1. 蒸馏水	56.85 ± 10.01	178.51 ± 6.54	456.17 ± 21.01
2. 海龟	153.37 ± 10.76**	194.58 ± 7.44**	449.95 ± 21.61*

注: * 表示差异显著, ** 表示差异极显著。

活化, 从而激发 NO 合成显著增高 ($P < 0.01$), 细胞毒效应增强。因此, 可用作抗肿瘤免疫辅佐剂。其作用原理尚待进一步研究。

Tompson, C.B. 1995 年认为, 有氧代谢过程以及感染、衰老等生理原因, 都将使细胞内产生大量的活性氧自由基, 若这些自由基得不到及时清除, 则可启动细胞自杀程序而发生细胞凋亡。SOD 作为抗氧化酶, 在自由基的清除中起着关键性的作用, 从而提高

不同处理的 MΦ 活化作用见表 1。

由表 1 可见, 添加海龟液的 A 值极显著地低于对照组 ($P < 0.01$), 表明巨噬细胞对靶细胞的吞噬力大

2.5 对 SOD 活性的影响

海龟灌胃组的大鼠脑、肝脏、血液中的 SOD 活性均高于空白对照组, 差异显著 ($P < 0.01$, 见表 2), 表明海龟组织液可有效地提高机体 SOD 的活性。

3 讨论

从本试验的结果看, 海龟对小鼠 S₈₀ 肿瘤的生长具有明显的抑制作用 ($P < 0.01$), 其抑瘤率可达 70.37%, 且能有效地增强机体对肿瘤的抵抗力, 延长生命期。从细胞毒效应来看, 海龟能显著地促进巨噬细胞对肿瘤细胞的杀伤作用, 其巨噬细胞的细胞毒活性和 NO 水平均显著地高于空白对照组 ($P < 0.01$), 提示海龟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 MΦ 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^[1, 2]。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, NO 又可使 MΦ 分泌 IL-1、TNF-2 增多, 从而使抗肿瘤作用得到进一步加强。本研究表明, 海龟能明显促使 MΦ 的

机体的解毒免疫功能和防病的能力。从本试验的结果看, 海龟可显著地提高大鼠脑、肝、血中的 SOD 活性, 提示海龟液的滋补和增加机体免疫作用可能与其具有清除活性氧的能力有关。

由此可见, 海龟组织浆可显著地提高鼠免疫功能, 促进对肿瘤细胞的抑制和杀伤作用, 同时可增强机体的抗衰老能力。

主要参考文献

1 于学军,郝静,衣翠华等。上海免疫学杂志,1999,19
(2):109~110

2 Jenkins, DC., Charles, IG., Thomsen, LL. *et al.*. *Proc .
Natl. Acad. Sci. USA*,1995,92:4 392

(本文编辑:李本川)