

人参三醇组甙对雄性大鼠阿片肽与免疫功能的辐射防护作用

刘伟宏 龚守良 李修义 李新民 刘树铮

(白求恩医科大学放射生物教研室, 长春 130021)

摘要 采用 5 Gy X 射线全身照射雄性大鼠模型, 大鼠于照射前 24 h 及照射后, 每天腹腔注射 5 mg/0.2 ml 人参三醇组甙, 共注射 14 d, 观察人参三醇组甙对其阿片肽与免疫功能的辐射防护作用。结果表明, 照射组下丘脑阿片肽含量及胸腺和脾脏免疫参数均降低; 而在照射加人参组下丘脑阿片肽组水平, 所有的免疫参数虽降低但却高于照射组。结果提示, 人参三醇组甙可减轻下丘脑阿片肽含量及含量接近对照胸腺和脾脏免疫参数的降低, 具有辐射防护作用。

关键词 人参三醇组甙, 辐射防护, 阿片肽, 免疫参数

人参具有显著的辐射防护作用^[1,2]。离体实验表明, 人参三醇组甙的辐射防护作用大于二醇组甙^[3]。本实验选用以人参三醇为甙元的甙类化合物, 采用 5 Gy X 射线全身照射雄性大鼠模型, 观察人参三醇组甙对其阿片肽含量与免疫功能的辐射防护作用。

1 材料与 方法

1.1 动物处理

实验用成年健康 Wistar 雄性大鼠, 体重 250 ± 30 g, 由本校实验动物部提供。大鼠随机分为对照组(Control)、照射组(Rad)、人参组(Pan)和照射加人参组(Rad + Pan)。大鼠于照射前 24 h 和照射后每天腹腔注射 5 mg/0.2 ml 人参三醇组甙(本校有机化学教研室提供), 共注射 14 d。对照组和照射组注射同等量生理盐水。照后 14 d 断头处死大鼠, 摘取下丘脑、胸腺和脾脏。

1.2 动物照射

将大鼠置于木制盒内, 用 Philips 深部 X 射线机照射, 管电压 200 kV, 电流 10 mA, 0.5 mm 厚滤片铜、1.0 mm 厚铝, 动物距线源 50 cm, 剂量率为 0.31 Gy/min, 全身照射总剂量 5 Gy。

1.3 阿片肽放射免疫测定

提取 β -内啡肽(β -EP)、甲硫氨酸脑啡肽(M-EnK)和亮氨酸脑啡肽(L-EnK)方法: 大鼠断头后立即取脑及垂体, 放入生理盐水中煮沸 2—3 min, 分离下丘脑, 称重, 然后用 0.1 mol/L 的 HCl 匀浆, 并经 1 mol/L 的 NaOH 调至 pH 7.6 后, 加 20% 容量 PELH 溶液 (100 ml 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.6, 含 0.11 g EDTA, 1.0 mg 溶菌酶及 200 mg 洗必泰), 离心 ($1250 \times g$, 30 min), 取上清液贮于 -20°C 待测。 β -EP 标准品为 Sigma 产品, 其抗血清为 DAKD 产品, 采用氯胺 T 法进行 β -EP¹²⁵I 标记。¹²⁵I-M-EnK 和 ¹²⁵I-L-EnK 药盒为上海高血压研究所产品。应用双抗体放免方法测定 3 种阿片肽, 其标准曲线经 Logit 转换, 线性良好, r 值分别为 -0.968 、

收稿日期: 初稿 1993-05-04, 修改稿 1993-10-20

-0.983 和 -0.954。所用仪器为美国 Packard 公司产 A 5412 型 γ 多探头自动计数器。

1.4 胸腺和脾细胞制备

将胸腺(或脾脏)置于 RPMI 1640 培养液中, 剪碎并挤压出全部细胞, 洗涤后经尼龙网过滤, 制成单细胞悬液。

1.5 胸腺细胞 ^3H -TdR 掺入

取 96 孔培养板, 每孔加 200 μl 细胞悬液, 细胞数为 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 和 $1 \times 10^7/\text{ml}$, 三复孔培养, 设自身对照, 每孔加 $1.85 \times 10^4 \text{Bq}/25 \mu\text{l}$ ^3H -TdR, 在恒温 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 中培养 4 h 后收获细胞。应用美国 Packard 公司产 Tri-Carb 460 CD 自动液体闪烁计数器测 ^3H -TdR 掺入量。

1.6 胸腺和脾细胞对 ConA 反应

取 96 孔培养板, 每孔加 100 μl 胸腺(或脾)细胞悬液(细胞数为 $2.5 \times 10^6/\text{ml}$)、100 μl ConA ($5 \mu\text{g}/\text{ml}$), 三复孔培养, 设自身对照。在 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 中培养 72 h, 终止培养前 6 h 每孔加 $1.85 \times 10^4 \text{Bq}/25 \mu\text{l}$ ^3H -TdR, 多头细胞收集器收获细胞, 测其 ^3H -TdR 掺入量。

2 结 果

从图 1 可以看出, 5Gy X 射线全身照射后 14 d, 下丘脑 3 种阿片肽含量均降低, 其中 L-EnK 含量明显低于对照组($p < 0.01$); 而照射加入参组或人参组与对照组比较, 皆无明显变化。

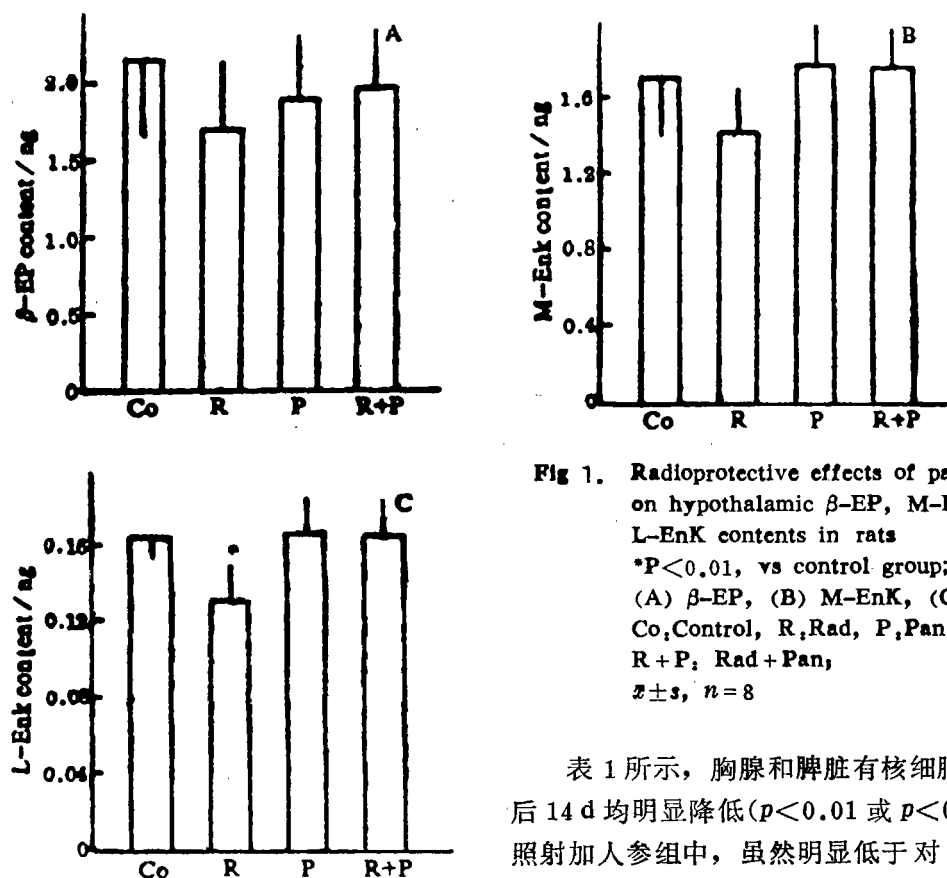


Fig 1. Radioprotective effects of panaxatriol on hypothalamic β -EP, M-EnK and L-EnK contents in rats
* $P < 0.01$, vs control group;
(A) β -EP, (B) M-EnK, (C) L-EnK,
Co, Control, R, Rad, P, Pan,
R + P, Rad + Pan,
 $\bar{x} \pm s$, $n = 8$

表 1 所示, 胸腺和脾脏有核细胞数在照射后 14 d 均明显降低($p < 0.01$ 或 $p < 0.001$); 在照射加入参组中, 虽然明显低于对照组($p < 0.05$), 但却明显高于照射组($p < 0.05$), 说明其降低程度不及对照组; 在人参组, 均高于对照组, 但无显著性差异。

Tab 1. Radioprotective effects of panaxatriol on the nucleated cells of thymus and spleen in rats

	Control	Rad	Pan	Rad + Pan
Thymus	58.70 ± 4.38	19.10 ± 8.24 ⁽³⁾	66.90 ± 15.68	41.20 ± 11.03 ⁽¹⁾⁽⁴⁾
Spleen	77.60 ± 22.06	30.20 ± 7.28 ⁽²⁾	91.60 ± 25.73	43.20 ± 9.02 ⁽¹⁾⁽⁴⁾

$\bar{x} \pm s$ (1×10^7 cells/thymus or spleen), $n = 5$;

⁽¹⁾ $p < 0.05$, ⁽²⁾ $p < 0.01$ and ⁽³⁾ $p < 0.001$, vs control group;

⁽⁴⁾ $p < 0.05$, vs Rad group

胸腺细胞的 ^3H -TdR 掺入能力 在照射组, 无论细胞数是 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 还是 $5 \times 10^6/\text{ml}$, 均明显低于对照组 ($p < 0.05$); 在照射加入参组, 虽然低于对照组, 但却高于照射组; 而人参组则无明显变化 (见表 2)。

Tab 2. Radioprotective effects of panaxatriol on the incorporation of ^3H -TdR into thymus cells in rats

Cells/ml	Control	Rad	Pan	Rad + Pan
1×10^7	40071 ± 20205	17334 ± 8506 ⁽¹⁾	39454 ± 14068	22291 ± 6969
5×10^6	19058 ± 8830	8995 ± 4022 ⁽¹⁾	18869 ± 6715	10662 ± 2861

$\bar{x} \pm s$, $n = 4$; ⁽¹⁾ $p < 0.05$, vs control group

胸腺和脾细胞对 ConA 反应性及其指数, 照射组明显低于对照组 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.001$); 照射加入参组低于对照组, 但也高于照射组; 在人参组其反应性均高于对照组 ($p > 0.05$) (见表 3)。

Tab 3. Radioprotective effects of panaxatriol on the responses of thymus and spleen cells to ConA stimulation in rats

	Control	Rad	Pan	Rad + Pan
Response of thymocytes to ConA stimulation	68055 ± 18295	31869 ± 20629 ⁽¹⁾	91059 ± 7169	53664 ± 19865
Stimulating index	400 ± 70	119 ± 61 ⁽²⁾	404 ± 46	178 ± 23 ⁽²⁾
Response of splenocytes to ConA stimulation	60075 ± 15305	28687 ± 15417 ⁽¹⁾	76126 ± 38904	44981 ± 19681 ⁽¹⁾
Stimulation index	168 ± 145	52 ± 23 ⁽¹⁾	186 ± 145	140 ± 59

$\bar{x} \pm s$, $n = 4$; ⁽¹⁾ $p < 0.05$ and ⁽²⁾ $p < 0.001$, vs control group;

⁽²⁾ $p < 0.05$, vs Rad group

3 讨 论

大剂量头部 X 射线照射可引起下丘脑阿片肽含量变化, 照射后 2 d 脑啡肽含量下降^[4]。本研究证实, 5 Gy X 射线全身照射雄性大鼠后 14 d, 下丘脑 β -EP、M-EnK 和 L-EnK 含量均降低, 说明大剂量电离辐射可损伤下丘脑阿片肽神经元, 使其产生和分泌减少。然而在照射加入参组, 下丘脑 3 种阿片肽含量接近对照组水平。提示人参三醇组甙可减轻受照大鼠下丘脑阿片肽含量的降低, 对神经系统分泌阿片肽功能具有辐射防护作用。但在人参组中, 下丘脑 3 种阿片肽含量

变化不明显,这可能由于机体处于正常生理情况下,人参三醇组甙对下丘脑阿片肽的产生和分泌不起作用。

大剂量电离辐射可抑制免疫系统功能^[6]。本研究证实,雄性大鼠经 5 Gy X 射线照射后 14 d,胸腺和脾有核细胞数明显减少,胸腺和脾细胞对 ConA 反应性及其指数明显降低,胸腺细胞 ³H-TdR 掺入能力明显下降。说明亚致死剂量电离辐射可致胸腺和脾脏免疫器官功能降低。

但是,在照射加人参组中,虽然上述免疫参数均低于对照组,但却高于照射组。该结果提示,人参三醇组甙可减轻免疫功能的降低,对免疫器官具有辐射防护作用。中医理论已阐明,人参具有“扶正固本”作用。现代医学也指出,人参皂甙可增强网状内皮系统的吞噬功能^[6],增加血中补体浓度^[7],同时人参可诱导人外周血淋巴细胞产生干扰素^[8],增加 NK 细胞活性^[9],增加正常及荷瘤小鼠 PFC 反应及抗体生成量^[10]。在人参组也发现人参三醇组甙对机体免疫功能具有增强作用的趋势。上述有关研究,提供了机体受电离辐射影响后人参对免疫功能具有保护作用的根据。

有关阿片肽对免疫功能的影响,国内外学者实验证明阿片肽可调节动物的抗体形成,增强 NK 细胞的杀伤功能,影响淋巴细胞促有丝分裂反应^[11]。在本实验中,胸腺和脾免疫参数在各实验组的变化趋势与下丘脑阿片肽含量变化趋势基本一致,可能与下丘脑阿片肽参与神经内分泌对免疫功能的调节有关。但也有报道,吗啡和脑啡肽能加强大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统功能,而肾上腺皮质激素是免疫抑制剂,可致免疫功能降低^[12],则与上述看法矛盾。有关这方面问题,尚需进一步深入探讨。

参 考 文 献

- 1 李修义等.白求恩医科大学学报,1991,17:430
- 2 李新民等.白求恩医科大学学报,1988,14:293
- 3 Hahn D K. Proceedings of the 2nd International Ginseng Symposium. Seoul, Korea Ginseng Research Institute, 1978: 135-141
- 4 尉 军等.辐射研究与辐射工艺学报,1990,8:235
- 5 Anderson R E, Warner N L. Adv. Immunol., 1976, 24: 215
- 6 刘爱晶等.吉林医学,1982,3(3):56
- 7 王本祥等.吉林医学,1982,17:66
- 8 Gupta et al. Clin. Res., 1980, 28: 504 (A)
- 9 Yun Y S et al. Proceedings of 4th International Ginseng Symposium. Daejeon, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, 1984: 27
- 10 钱伯初等.中国药理学报,1987,8:277
- 11 林嘉友等.中国医学科学院学报,1992,14(3):233
- 12 龚守良等.中国病理生理杂志,1990,6:1

RADIOPROTECTIVE EFFECTS OF PANAXATROIL ON OPIOID PEPTIDES AND IMMUNE FUNCTIONS IN MALE RATS

Liu Weihong Gong Shouliang Li Xiuyi Li Xinmin Liu Shusheng

(Department of Radiation Biology, Norman Bethune University of

Medical Sciences, Changchun 130021)

ABSTRACT The present study was designed by ip panaxatroil (5 mg/0.2 ml·d × 14 d) 24 h before and after 5 Gy whole-body X-irradiation in male rats to observe the radioprotective effects of panaxatroil on opioid peptides and immune functions. The results showed that the hypothalamic opioid peptide contents and the immune parameters of thymus and spleen cells all decreased 14 d after irradiation, while hypothalamic opioid peptide contents approached the control level and all immune parameters decreased in irradiation plus panaxatroil group but higher than that in control group. The above results suggest that panaxatroil may alleviate the decrease of hypothalamic opioid peptide contents and immune parameters of thymus and spleen cells, and have radioprotective effects.

KEYWORDS Panaxatroil, Radioprotection, Opioid peptides, Immune parameters