DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.04.011

梭曼对小鼠腹腔吞噬细胞的影响

董兆君 王廷治（毒理学教研室）

提 要 用化学发光法研究了Balb/c小鼠急性梭曼中毒后腹腔吞噬细胞吞噬活性的动态变化规律。154μg/kg梭曼皮下中毒后5～15min出现典型的胆碱能中毒症状，阵发性惊厥持续6～8h，24h死亡率为46%。中毒后第1天，腹腔吞噬细胞吞噬发光峰值由对照组的26.03±3.76（$10^4/10^6$个细胞）降至13.22±5.92；发光均值由对照组的0.10±0.02降至0.04±0.02，吞噬活性激发时间由3.8±1.1（s）延长至8.2±1.6，均与对照组有显著差异（$P<0.05$）。此后，三者与全血胆碱酯酶活力平行回升，发光均者与酶活力呈正相关（$r=0.550$，$P<0.01$）。毒扁豆碱合用阿托品预防，能有效缓解梭曼对吞噬细胞活性的抑制作用。

关键词 吞噬作用；梭曼；毒扁豆碱；阿托品；乙酰胆碱酯酶

文献报道，敌敌畏，对硫磷，马拉硫磷，丙氟磷（DFP）等有机磷化合物对免疫系统有抑制作用[1-4]，其机制尚不清楚，可能与丝氨酸酯酶的抑制有关[5]，抑或系过度胆碱能刺激所致[6]。军用毒剂梭曼与上述化合物同属有机磷酸酯类胆碱酯酶抑制剂[7]，关于梭曼对吞噬细胞功能的影响，国内外未见报道。我们采用化学发光法，研究了梭曼中毒小鼠腹腔吞噬细胞吞噬活性的动态变化规律及其与全血胆碱酯酶活力的关系，探讨了常用预防药毒扁豆碱合用阿托品的预防效果，以便为阐明梭曼的免疫毒理作用和提高梭曼中毒的临床救治水平提供实验依据。

1 材料和方法

主要试剂和器材 梭曼，军事医学科学院毒物药物研究所提供，纯度96.88%；毒扁豆碱，英国产品，纯度>99%；阿托品，上海化学试剂站分装厂，纯度98%；碘化乙酰硫代胆碱，瑞士Fluka，纯度>99%；RPMI-1640培养基，日本制药株式会社产品；酵母多糖（Zymosan），美国Serva；鲁米诺（Luminol），北京化工厂，纯度98%；SHG-1型生物化学发光测量仪，上海市标准计量局实验工厂产品。

动物处理 Balb/c纯系小鼠120只，体重18～22g，雌雄兼用，本校动物所提供。将动物随机分为对照、中毒、预防等三大组。对照组动物背部皮下注射灭菌生理盐水0.1ml/10g体重。中毒组动物背部皮下注射梭曼154μg/kg。预防组梭曼剂量同中毒组，中毒前30min和10min分别皮下注射毒扁豆碱100μg/kg和阿托品17.4mg/kg。上述处理后1、3、5、7天，每组取10只动物，眼眶取血，用DTNB法测全血胆碱酯酶活力，颈椎脱臼处死动物，测定腹腔吞噬细胞吞噬发光活性。

吞噬发光实验 实验前24h向小鼠腹腔注射1%硫代乙醇酸钠肉汤培养液1ml，实验时处死动物，腹腔注入0.15mol PBS（pH7.2），轻揉腹部3min。取腹腔灌洗液，1000rpm×3min离心，沉淀中加RPMI-1640培养液2.5ml，混匀后行细胞计数并测活力。最后稀释成每毫升含10^6个活细胞的悬液。

化学发光管中加细胞悬液1ml，10^{-4}mol鲁米诺50μl，经调理的酵母多糖1mg。立刻置发光仪中测吞噬发光强度，每2min测10s，连测10次。测量结束，微机自动打印吞噬发光曲线，每次发光强度（10s计数），发光峰值及峰值时间，计算发光均值。

数据处理 于苹果Ⅱ微机上用FLSD法对实验数据作双因素方差分析，以显著水平$\alpha=0.05$判定显著性。对部分数据作直线相关分析。

2 结果

未经预防的动物中毒后5～15min内出现肌颤、惊厥、流涎等严重胆碱能中毒症状，阵发性惊厥持

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

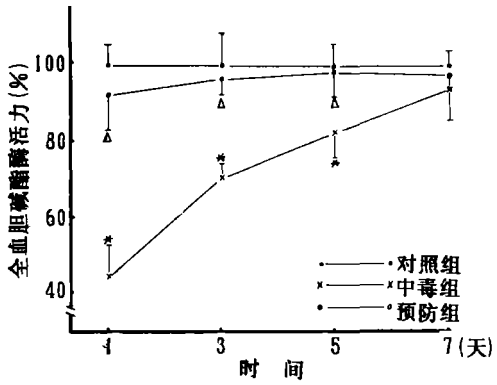


图 不同处理对小鼠全血胆碱酯酶活力的影响
*与对照组比较$P<5.05$,Δ与中毒组比较$P<0.05$。

续6～8h。24h死亡率为46%，预防组动物除活动减少、倦缩等表现外，未出现上述中毒症状。各组胆碱酯酶活力变化见图。

中毒后第1天，吞噬细胞发光峰值（$10^4/10^6$个细胞）由对照组的26.03±3.76降至13.22±5.92，发光均值由0.10±0.02降至0.04±0.02，分别为对照组的51%和40%，均有显著差异（$P<0.05$）。峰值时间（s）也由3.8±1.1推迟至8.2±1.6（$P<0.05$）。第3天发光峰值为12.63±6.49（$P<0.05$），第5天虽有明显回升，但仍低于对照组（$P<0.05$），第7天方恢复至对照水平。中毒后第3天起发光均值和峰值时间逐渐恢复，二者均于第7天回至对照水平。相关分析表明，吞噬发光均值与全血胆碱酯酶活力呈正相关，相关系数为0.55（$P<0.01$）。（表1、2）

表1 不同处理对小鼠腹腔吞噬细胞吞噬发光峰值(万)和每秒发光均值(万)的影响(X±SD)

	处理后时间(天)							
	1		3		5		7	
	峰值	均值	峰值	均值	峰值	均值	峰值	均值
对照组	26.03 ± 3.76	0.10 ±0.02	24.52 ± 6.97	0.11 ±0.03	27.47 ± 3.88	0.11 ±0.02	27.32 ± 2.88	0.12 ±0.02
中毒组	13.22 ± 5.92*	0.04 ±0.02*	12.63 ± 6.49*	0.06 ±0.01*	23.63 ± 2.00*	0.09 ±0.01*	27.59 ± 5.27	0.11 ±0.03
预防组	14.63 ± 4.58*	0.06 ±0.02*Δ	23.96 ± 2.72Δ	0.09 ±0.01*Δ	24.28 ± 4.03	0.11 ±0.03Δ	27.18 ± 1.65	0.12 ±0.01

*与对照组比较$P<0.05$，Δ与中毒组比较$P<0.05$，各组动物均为10只。

表2 不同处理对小鼠腹腔吞噬细胞吞噬发光峰值时间(s)的影响

	时间(天)			
	1	3	5	7
对照组	3.8±1.1	4.0±0.9	4.1±0.9	3.9±0.7
中毒组	8.2±1.6*	6.2±0.7*	5.8±0.9*	4.2±0.6
预防组	6.4±0.9*Δ	4.4±0.7Δ	4.1±0.8	4.0±1.1

说明同表1。

预防组动物吞噬细胞发光峰值于第1天与中毒组无显著差异，但第3天起即恢复至对照水平。发光均值在1～5天明显高于中毒组（$P<0.05$），但1、3天低于对照组（$P<0.05$）。峰值时间于第1天明显长于对照组（$P<0.05$），但短于未预防组（$P<0.05$），3天起恢复正常。

3 讨论

梭曼是难防难治的军用神经性毒剂之一，对以丝氨酸羟基为活性中心的胆碱酯酶有强大

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

抑制作用，是中毒死亡的主要原因。本实验结果表明，小鼠梭曼中毒后第1天，腹腔吞噬细胞吞噬发光峰值、均值分别降低到对照组的51%和40%，吞噬活性激发时间（峰值时间）也延长到对照组的216%，提示梭曼中毒动物非特异性免疫功能明显降低。1985年Clement[8]报道，梭曼中毒小鼠脾脏空斑形成细胞明显减少。我们的前期工作已证实，梭曼对小鼠B-，T-淋巴细胞有抑制作用，其抑制程度与中毒剂量相关[10]。这些结果都说明，梭曼对免疫系统有严重干扰作用。

本实验观察到，梭曼中毒小鼠腹腔吞噬细胞吞噬发光均值与全血胆碱酯酶活力平行回升，二者密切相关，与Wysocki等[9]报道敌敌畏等其他有机磷毒剂免疫毒理作用结果相吻合。Musson等[6]认为DFP通过抑制“活化的”和“可活化的”丝氨酸酯酶而抑制吞噬细胞活性。胆碱酯酶亦为丝氨酸酯酶，梭曼对胆碱酯酶的抑制作用可能是吞噬细胞吞噬活性下降的原因之一。但毒扁豆碱合用阿托品预防，虽能有效缓解但不能完全逆转梭曼对吞噬细胞活性的抑制作用。提示除胆碱酯酶抑制外，还有其他因素参与了吞噬细胞活性的抑制过程，其机制尚待深入研究。

（向对本文工作予以热情指教的黄文华、谢佩蓉、朱锡华等教授致谢。）

参 考 文 献

1. Desi I.et al.Studies on the immunosuppressive effect of organochlorine and organophosporic pesticides in subacute experiments. J Hyg Epidemiol Microbiol Immnuol 1978; 22:115
2. Casale GP, et al. Effects of parathion on the IgM and IgG responses to sheep red cells in two mouse stians.Toxicologist. 1982; 2:94
3. Casale Gp, et al. Parathion-induced suppression of humoral immunity in inbred mice. Toxicology Letter 1984; 23:239
4. Street JC,et al. Alteration of inducfd cellular and humoral immune responses by pesticides and chemicals of environmental concern:quantitative studies of immunosuppresion by DDT, Aroclor-1254,Carbaryl,Carbofuran, and Methylparathion.Toxicol Appl Pharmcol 1975; 32:587
5. Musson RA, et al. The role of an activatable esterase in immunedependent phagocytosis by human neutrophils. J Immunol 1977; 118:1354
6. Casale GP, et al. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody responses to sheep erythrocytes in inbred mice.Toxicol Appl Pharmacol 1983; 68:19
7. 王廷治。神经性毒剂。欧阳子倩、王廷治主编，防化医学。第1版，上海：上海科学技术出版社，1985：137～261.
8. Clement JG. Hormonal consequences of organophosphorus poisoning. Fundam Appl Toxicol 1985; 5:s61
9. Wysocki J, et al. Effect of organophosphoric pesticides on the behaviour of NBT-dye reduction and E rosette formation tests in human blood. Int Arch Occup Environ Health 1987; 59:63
10. 董兆君、王廷治。梭曼对小鼠淋巴细胞增殖能力的影响。第三军医大学学报 1989，11(6)：447

（收稿：1989，11，14；修回：1990，01，09）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Effect of Soman on Phagocytic Activity of Peritoneal Cells in Mice

Dong Zhaojun and Wang Tingzhi. (Depertment of Toxicology, Third Military Medical College)

By using a chemiluminescence assay the effects of soman on phagocytic activities of mice peritoneal cells are investigated kinetically. Balb/c mice are used. soman (154 μg/kg sc) or physostigmine(100μg/kg sc) + atropine(17.4mg/kg sc) + soman (154μg/kg sc) are injected into the animals. 1 d after treatment with soman the peak value of chemiluminescence (count $10^4/10^6$ cells) decreases from 26.03 ±3.76 to 13.22±5.92 and the mean value in every second is reduced from 0.1± 0.02 to 0.04±0.02 ($P<0.05$). Both the 2 parameters return slowly to the control levels on the 7th day. The phagocytic ability of peritoneal cells shows a positive relation to the blood cholinesterase activity. The prophylactic treatment with a combination of physostigmine and atropine can efficaciously diminish the toxic effect of soman.

Key words: phagocytosis/DE; soman/TO; physostigmine/PD; atropine/PD; acetylcholinesterase

---

(上接302页)

change more significantly at high altitude than at sea level; naloxone make these parameters recover and the survival time prolong both at sea level and high altitude; blood plasma β-EP increases after bleeding, especially at high altitude.

Suggestions: at high altitude hemorrhagic shock may be induced easilier, and symptomy is severer, development occurs rapider, and mortality higher is higher; change of β-EP is related to the patholgical process of hemorhagic shock and the effect of β-EP on cardiac contractility may be one of causes affecting hemorrhagic shock; naloxone has a role to antagonize hemorrhagic shock at high altitude;

Key words: endorphins/PD; shock; hemorrhagic/ES; altitude; survival; naloxone

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net