DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.06.017

军事医学

梭曼对小鼠淋巴细胞增殖能力的影响

董兆君 王廷治（毒理学教研室）

提 要 研究了梭曼对小鼠淋巴细胞增殖能力的影响。大剂量（154μg/kg，SC）梭曼中毒后第1天起，B细胞对LPS的反应明显下降，3～5天抑制最甚，第10天方恢复至对照水平；ConA诱导的T细胞反应呈先增强后抑制的双相变化。T-、B-细胞丝裂原反应的下降及早期T-细胞反应的增强都与梭曼剂量密切相关而与全血胆碱酯酶活力的变化似无直接关系。

关键词 梭曼；淋巴细胞增多症；胆碱酯酶类

敌敌畏（Dichlorphos,DDVP）[1]、对硫磷（Parathion）[2]、马拉硫磷（Malathion）[3]等杀虫剂对人及其他哺乳动物免疫功能有抑制作用。军用毒剂梭曼(Soman)与上述农药同属有机磷酸酯类胆碱酯酶抑制剂，关于梭曼对免疫功能的影响，国内未见研究报道。本实验对急性梭曼中毒小鼠淋巴细胞增殖能力进行了动态观察，并探讨了中毒剂量及全血胆碱酯酶活力与淋巴细胞增殖能力之间的关系。

材料与方法

BALB/C纯系小鼠8～12周龄，雌雄不拘，本校动物所提供。将动物随机分为对照、中毒Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ等4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Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组动物背部皮下注射梭曼（军事医学科学院毒物药物研究所提供，纯度96.88%），剂量分别为154（0.8 LD_{50}）、96（0.5 LD_{50}）和38.4（0.2 LD_{50}）μg/kg体重。上述处理后1、3、5、7、10天，眼眶取血置于干燥抗凝瓶内，按文献方法[4]测全血胆碱酯酶活力；颈椎脱臼处死动物，无菌条件下取脾脏备做淋巴细胞转化实验。

剪碎脾脏，加RPMI-1640培养液（日本制药株式会社）2.5ml，经100目尼龙网过滤。1000rpm×5min离心，等量培养液洗3次。弃上清液，沉淀中加完全培养液3ml，混匀，进行细胞计数和活力检查，再将样品稀释成每毫升含5×10^6个活细胞的悬液。采用96孔微量培养板，每孔加细胞悬液200μl，共6孔，两孔对照、两孔加刀豆素A（Con A，美国Sigma）、两孔加脂多糖（LPS，北京生物制品研究所），Con A和LPS的终浓度均为5μg/ml细胞悬液。培养板置二氧化碳烛缸中，37℃培养66h。培养结束前18h加^{3}H-胸腺嘧啶核苷（^{3}H-TdR，中国原子能研究所）0.5μCi/孔。将细胞收获于49型玻璃纤维滤膜上，80℃×20min烘干后于液体闪烁仪上行放射活性测定。结果以双管净计数（CPM）均值表示，净计数=实验孔计数-对照孔计数。

实验数据于APLLE-Ⅱ微机上作双因素方差分析，用最小差值法（FLSD）以显著水平$\alpha=0.05$判定显著性。对部分数据直线相关分析。

结果

表1、给出了各组动物全血胆碱酯酶活力变化情况。

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

表1 不同处理对小鼠全血胆碱酯酶活力（AcTCh μmol/ml/min）的影响

	时间（天）				
	1	3	5	7	10
对照组	0.97±0.06	0.99±0.09	0.96±0.06	0.97±0.06	0.95±0.07
中毒Ⅰ组	0.44±0.09*	0.70±0.12*	0.80±0.17*	0.91±0.13*	0.94±0.08
中毒Ⅱ组	0.59±0.09*	0.76±0.08*	0.98±0.06	0.96±0.04	0.95±0.09
中毒Ⅲ组	0.87±0.06*	0.99±0.09	0.99±0.06	0.97±0.04	0.96±0.09

注：各组动物均为10只，　* 与对照组比较$P<0.05$

由表2可见，中毒后第1天，Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组动物Con A诱导的T淋巴细胞增殖能力均明显增强（$P<0.05$），且与梭曼剂量相关（$r=0.544, P<0.001$），此后逐渐下降，Ⅰ组3-7天和Ⅱ组5天的T细胞增殖能力均显著低于对照水平（$P<0.05$）。第5天各组T细胞反应强度与梭曼剂量呈负相关（$r=-0.713$, $P<0.001$）。

中毒Ⅰ、Ⅱ组B淋巴细胞对LPS的反应分别于第1～7天和3～5天明显低于对照组（$P<0.05$），尤以Ⅰ组3、5天下降最剧烈，各为对照组的23%和28%。第5天B细胞反应强度与中毒剂量呈明显负相关（$r=-0.674$, $P<0.001$）。（见表3）。

表2 不同处理对小鼠T淋巴细胞 ^3H-胸腺嘧啶核苷掺入量（CPM）的影响（$\bar{X}\pm SE$）

	时间（天）				
	1	3	5	7	10
对照组	43072±6874 (10)	42470±2634 (10)	44253±1783 (10)	46471±3234 (10)	44376±2389 (9)
中毒Ⅰ组	80853±6874* (10)	29008±2876* (10)	25626±2847* (10)	28180±5448* (10)	42580±5573 (10)
中毒Ⅱ组	72460±11630* (10)	49736±3922 (14)	29410±3476* (14)	38245±4126 (14)	62814±7495 (14)
中毒Ⅲ组	61133±3868* (11)	56663±4257 (15)	41694±2554 (11)	39239±3070 (11)	46977±3879 (11)

括号内为动物数，　* 与对照组比较$P<0.05$

表3 不同处理对小鼠B淋巴细胞 ^3H-胸腺嘧啶核苷掺入量（CPM）的影响（$\bar{X}\pm SE$）

	时间（天）				
	1	3	5	7	10
对照组	21249±3139 (10)	24886±3163 (10)	20660±2244 (10)	21481±2437 (10)	24980±3143 (9)
中毒Ⅰ组	15552±1173* (10)	5750±1316* (10)	5860±2029* (10)	14370±1538* (10)	21068±4130 (10)
中毒Ⅱ组	20007±3302 (10)	15487±1228* (14)	10979±1248* (14)	19162±1554 (14)	20011± 783 (14)
中毒Ⅲ组	20422±1541 (11)	21305±1169 (15)	21155±2585 (11)	20587±1622 (11)	20703±1846 (11)

括号内为动物数，　* 与对照组比较$P<0.05$

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

讨　论

实验结果说明，梭曼对小鼠T-、B-淋巴细胞的增殖能力有严重的干扰作用。

1．时相差异　大剂量梭曼中毒后第1天B细胞反应即迅速下降，第3天达最大抑制程度，中毒第1天的T细胞反应却上升88%，3天起也明显降低，第5天降至最低值。提示，T-、B-细胞对梭曼的敏感性不同，其丝裂原反应增强或降低的起始环节可能也不相同。

2．剂量——效应关系　实验中观察到，中毒剂量愈大，胆碱能症状愈剧烈，T-、B-细胞增殖能力的变化愈明显。第1天T-细胞反应的增强及第5天T-、B-细胞反应的抑制都与梭曼剂量密切相关。提示梭曼中毒剂量与其对淋巴细胞增殖能力的干扰作用之间存在着剂量——效应关系，与Desi[5]、Casale[6]等报道敌敌畏、对硫磷、马拉硫磷免疫抑制作用的结果相吻合。

3．全血胆碱酯酶抑制与淋巴细胞增殖能力变化的关系　大剂量梭曼中毒后40min，全血胆碱酯酶活力最低，为对照组的9%，此后呈渐升趋势，第7天回升至对照水平。但T-、B-细胞反应却在3～5天降至最低值。提示全血胆碱酯酶抑制与淋巴细胞增殖能力的变化无直接关系。

（承蒙黄文华教授、谢佩蓉教授、朱锡华教授的悉心指点，作者表示由衷的感谢。）

参考文献

1. Desi I, et al. The effect of DDVP, organophosphorus pesticide on the humoral and cell-mediated immunity of rabbits. Arch Toxicol 1980; suppl 4:171
2. Casale GP, et al. Parathion-induced suppression of humoral immunity in inbred mice. Toxicology Letters 1984;23:239
3. Rodgers KE, et al. In vitro effects of malathion and O,O,S-trimethyl phosphorothioate on cytotoxic T-lymphocyte responses. Pestic Biochem physiol. 1985;84:260
4. 荣康泰。用DTNB显色测定胆碱酯酶活力。防化医学简讯 1975；31:1
5. Casale GP, et al. Effects of parathion on the IgM and IgG responses to sheep red cells in two mouse strains. Toxicologist 1982; 2:94
6. Casale GP, et al. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice. Toxicol Appl Pharmacol 1983; 68:198

（收稿：1989.5.8　修回：1989.8.10）

Effects of Soman on Lymphocyte Proliferation in Mice

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

Effects of soman on lymphocyte proliferation are investigated in mice. 1 d after soman (154 μg/kg, sc) poisoning B-lymphocyte reaction to lipopolysaccharide (LPS) is inhibited significantly and is persistent. T-cell proliferation response stimulated by concanavalin (Con A) has a 2-phase change: on the 1st day an increase followed by a dramatical reduction. Both the decreases of T-and B-lymphocyte mitogenic response and the primary increase of T-cell response show a close correlation with the doses of soman in this experiment. It has no relation to the change of the whole blood cholinesterase activity.

Key words: Soaman/PD; Lymphocytosis/DT; Cholinesterase

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