DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.01.008

几种植物多糖对白细胞功能及细胞内环核苷酸含量的影响

姚丹帆 唐汝愚 何凤慈 刘义侠 李淑惠

(药理教研室)

提 要 云芝多糖(KPS)、人参多糖(PPS)对诱发的小鼠腹膜炎，可使渗出液中细胞内cAMP含量显著升高($P<0.01$)，cAMP/cGMP值增大，同时白细胞游走至腹腔受到明显抑制，而吞噬功能并无明显影响。提示二药具有一定的抗炎效用。而黄芪多糖(APS)虽也明显抑制白细胞游走($P<0.01$)，但吞噬功能反略增高，细胞内cAMP水平升高不明显($P>0.05$)，故有别于前二药的作用，尚待进一步探讨。

关键词 云芝多糖；人参多糖；黄芪多糖；环磷酸腺苷；环磷酸鸟苷；白细胞游走。

近年实验研究证明，白细胞内环核苷酸对炎症反应及吞噬功能有着重要的介导作用，而炎症细胞的聚集和释放多种活性物质又直接受其cAMP、cGMP的影响[1][2]。本文报道人参、云芝及黄芪等植物多糖对白细胞的活动、巨噬细胞的吞噬功能的影响，及其与白细胞内cAMP、cGMP水平之间的关系，为发掘有效抗炎药提供理论依据。

材料与方法

一、药品和试剂

人参多糖(Panax ginseng polysaccharide PPS)、黄芪多糖(Astragalus polysaccharide APS)由上海药物研究所植化室提供；云芝多糖Ⅰ(Krestin polysaccharide KPS-Ⅰ)系成都抗生素研究所提供。

致炎剂：蛋白胨市售(上海东海制药厂生化试剂)。

cAMP、cGMP放免分析药盒由上海第二医科大学同位素室供应。

灭活金葡菌的制备：取金黄色葡萄球菌菌落，置于pH7.4 PBS液中，经100℃水浴30分钟灭活，离心去上清液，用PBS配成菌悬液，经72-Ⅰ型分光光度计波长为600μm，D=0.2比浊，分装备用。用前再用PBS稀释5倍。

二、方法

取健康昆明株小白鼠，体重22±0.3g，50只，雄性，随机分成5组。连续灌胃给药5天，在给药第三天腹腔注射5%灭菌蛋白胨液2ml致炎，48小时后脱颈椎处死。用无钙镁Hank's液灌洗腹腔，参照常规方法[3]，用光镜作渗出液白细胞计数。1000 rpm离心10分钟，取沉淀细胞，加入灭活金葡菌液和小牛血清各0.1ml，置37℃孵育30分钟后推片，瑞氏染色，计数巨噬细胞吞噬率和吞噬指数(每鼠二片，取其均值)。

小鼠腹腔渗出液吞噬细胞内cAMP、cGMP的提取：按Shi Jing等提取cAMP的方法[4]略加修改，用无钙镁Hank's液灌洗腹腔，收集渗出液2 ml，1500rpm离心10分钟，弃上清液，再用含有EDTA-Hank's液反复洗涤两次，用灭菌生理盐水制备细胞悬液(2×10^6/ml)，并镜检细胞存活率(应>95%)，再加10%三氯醋酸(2:1)，-20℃静止过液，经冻融处理后，镜检细胞破碎率应>98%。用水饱和乙醚反复提取三次，水层置55℃水浴4分钟，速置冰浴冷却，3500 rpm离心10分钟，计量总体积，分样，真空干燥待测。采用放免分析法(cAMP RIA[5]及cGMP RIA[6])测定细胞内cAMP、cGMP的含量，并计算出pmol/10^6cell的含量。

结 果

一、对白细胞活动及巨噬细胞吞噬功能的影响

空白对照组用蛋白胨致炎48小时后，腹腔渗出液中白细胞总数平均为5000/mm^3左右，盐水组与空白对照组比较白细胞数量变

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

化不明显；植物多糖类各组白细胞总数与对照组相比均有明显减少（P<0.01～P<0.05）。提示白细胞游走均受到限制。对巨噬细胞的吞噬功能除APS略有增高外，PPS、KPS对吞噬功能无明显影响（P>0.05）（见表1）。

表1 植物多糖类对白细胞活动及吞噬功能的影响（$\bar{X}\pm SD$）

组别	剂量 mg/kg/日	动物数	白细胞总数（千/mm³）	吞噬功能	
				吞噬率(%)	吞噬指数
空白对照组		10	5.16±1.20	29.8±4.94	0.41±0.09
生理盐水	等容量	10	4.25±0.59	29.2±4.83	0.38±0.11
云芝多糖(KPS)	100	10	**3.42±1.0	29.3±3.09	0.39±0.05
人参多糖(PPS)	50	10	*3.56±1.5	28.1±3.14	0.37±0.07
黄芪多糖(APS)	100	10	**3.20±0.49	33.1±2.23	0.44±0.05

注：与空白对照组比较 *p<0.05　　**p<0.01

二、对巨噬细胞内cAMP、cGMP含量及比值的影响

空白对照组与生理盐水组在致炎48小时后，腹腔巨噬细胞内cAMP含量分别为0.55±0.24 pmol/10⁶cell及0.79±0.3pmol/10⁶cell；cGMP含量分别为0.047±0.02pmol/10⁶cell及0.066±0.028 pmol/10⁶cell，两组间无显著差异（P>0.05），cAMP/cGMP值无改变（P>0.05）。而植物多糖类对腹腔巨噬细胞内cAMP的水平均有不同程度的提高，PPS和KPS提高cAMP水平十分显著（分别为1.80±1.45pmol/10⁶cell，P<0.05及1.23±0.68 pmol/10⁶cell，P<0.01），而cGMP水平无明显变化（分别为0.086±0.03pmol/10⁶cell及0.067±0.025 pmol/10⁶cell）（P>0.05），但两组cAMP/cGMP值均明显增大（P<0.05）。APS组cAMP含量虽亦有增加(0.83±0.49pmol/10⁶cell)，但无统计学意义（P>0.05）。cGMP亦无明显变化（P>0.05）（见图1）。

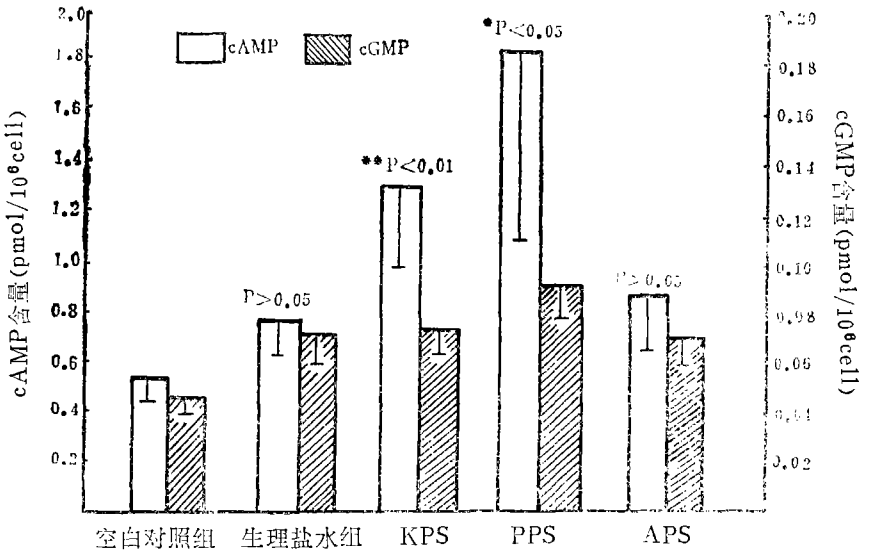


图1 几种植物多糖对巨噬细胞内cAMP和cGMP含量及比值的变化
（与空白对照组比 *P<0.05，**P<0.01）

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

实验结果提示，KPS、PPS具有一定的抗炎活性。

讨　论

在急性炎症中体内白细胞向炎症部位游走即趋化反应，在炎症发展过程中起着重要作用，因此能抑制白细胞趋化是某些药物具有抗炎作用的一个方面[7]，然而至今对细胞内cAMP对白细胞有无趋化性，尚少直接证据[8]。Biokin（1976）曾用趋化盒进行实验，若加入较高浓度cAMP则可抑制白细胞移动[9]。本实验初步证明了KPS、PPS能显著提高巨噬细胞内cAMP水平，使cAMP／cGMP值增大，同时使白细胞游走至腹腔受到明显抑制，即趋化反应减弱。由于cAMP的升高，可使膜稳定，包括多形核白细胞和巨噬胞细内溶酶体膜，防止酶的释放，同时也抑制炎性介质的释放[10]，这对降低炎症反应、阻碍炎症的发展起着积极有利的作用。故KPS、PPS的抗炎作用与甾体类和非甾体类抗炎药有着相似的抗炎基础，但KPS、PPS对吞噬功能并无明显影响是其不同之处，值得重视。APS它虽然也显著抑制白细游走，但对吞噬功能反略增高，且细胞内cAMP水平升高不显著，cAMP/cGMP值亦未增大，故APS对白细胞功能的影响，与国内报道[11]有免疫促进作用尚值得进一步商榷。

参 考 文 献

1. Bourne HR, et al: Modulation of inflammation and immunity cAMP. Recetors for vasoactive hormones and mediators of inflammation regulate many leukocyte functions. Science 1974; 184(4132):19～28

2. 富田有祐等：Cycli Nucleotide の细胞机能に对する影响。临床免疫 1976; 8(4):381

3. 周金黄主编：药理学进展（抗炎免疫药理分册）“抗炎药筛选规程”。人民出版社，P. 176，1982

4. Shi Jing, et al: Hog Lymphocyte E Rosette Formation and Its Effect on Changes in Endogenous Lymphocyte cAMP Levels. Chinese Medical J 1980; 93(10) :709

5. Goldber ML: Radioimmunoassay for cAMP & cGMP in Human Blood,Urine & Cerebrospind Fluid. Clin Chem 1977; 23:576

6. cAMP & cGMP放射免疫测定药盒使用说明书，1984

7. Ferreira SH, et al: Handb Exp Pharmacol 50 (2-Antiinflammatory Drugs) P. 348, 1979

8. Gallin JI, et al: Agents that increase cAMP inhibit accumulation of cGMP and depress human monocyte locomotion. J Immunol 1978; 120(2) :492～496

9. Biokin I: Effect of exogenous cAMP and other adenine nucleotides on neutrophil chemotaxis and motility. Int Arch Allergy 1976; 50(1) :95

10. Weissmann G, et al: Leukocytes as secretary organs of inflammation: Control by cyclic nucleotides and autonomic agonists in (6):P.176～188, 1974

11. 上海药物研究所：黄芪多糖的免疫促进作用。科学通报 1979; 16:764

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

Effects of Three Phyto-saccharides on Functions of Leucocytes and Levels of Intracellular Cyclic Nucleotides

Yao Danfan, et al

(Department of Pharmacology, Third Military Medical College)

Krestin polysaccharide (KPS) and Panax ginseng polysaccharide (PPS) could signifcantly increase the level of intracellular cAMP ($P<0.01$) of the mouse leucocytes in the exudate of experimental peritonitis so as to increase the cAMP/cGMP ratio; the migration of the leucocytes to the peritoneal cavity was markedly inhibited while the phagocytosis of the leucocytes was not interfered with. These results might suggest that these two compounds possess considerable anti-inflammatory capacity. Astragalus polysaccharide (APS) under similar conditions, however, could only slightly increase the level of intracellular cAMP ($P>0.05$); the migration was also significantly inhibited ($P<0.01$), but the phagocytosis, on the contrary, was exaggerated slightly.

The effects of APS are different from those of KPS and PPS, and the characteristics of three phyto-polysaccharides await further investigation.

Key words: Krestin polysaccharide (KPS); Panax ginseng polysaccharide (PPS); Astragalus polysaccharide (APS); cAMP; cGMP; Migration of leukocytes

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