

注射用核糖核酸对小鼠免疫功能的影响

陈忠华 (南京军区福州总医院肿瘤科,福建 福州 350025)

摘要 目的:探讨注射用核糖核酸对免疫系统功能的影响。方法:以小鼠为动物模型,观察不同剂量(0.2、1、5、25 mg/kg)注射用核糖核酸对小鼠体重、免疫器官相对重量、细胞免疫功能、体液免疫功能、小鼠迟发性变态反应及巨细胞吞噬功能的影响。结果:与对照组相比,注射用核糖核酸各剂量对小鼠体重及脾脏和胸腺相对重量没有明显影响。注射用核糖核酸4个剂量组小鼠DTH足增加厚度分别为 0.34 ± 0.18 , 0.47 ± 0.14 , 0.53 ± 0.17 , 0.52 ± 0.20 mm,而对照组为 0.24 ± 0.09 mm,有显著差异;ConA刺激的脾淋巴细胞增殖试验中注射用核糖核酸4个剂量组A增加值分别为 0.44 ± 0.12 , 0.52 ± 0.14 , 0.56 ± 0.09 和 0.60 ± 0.12 ,明显高于对照组 0.34 ± 0.15 ; IgM - PFC数目明显增加,每 5×10^6 个脾细胞中PFC数目分别为: 3444 ± 842 , 4652 ± 1114 , 5656 ± 1569 , 6560 ± 1812 ,对照组仅为 2335 ± 442 ;3个剂量组明显增强小鼠巨嗜细胞吞噬功能,吞噬率(%)分别为 0.36 ± 0.07 , 0.39 ± 0.07 , 0.46 ± 0.05 ,对照组仅为 0.28 ± 0.06 。结论:核糖核酸具有增强小鼠免疫功能的作用。

关键词 注射用核糖核酸;免疫功能

中图分类号:R965 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2008)01-0028-03

Effects of ribonucleic acid II on murine immune functions

CHEN Zhong-hua (Department of oncology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Fuzhou 350025, China)

ABSTRACT Objective: To study the effects of ribonucleic acid II on murine immune functions **Methods:** Kunming mice (6~8 weeks old) were administered with ribonucleic acid II at dosages of 0.2, 1, 5, 25 mg/kg respectively. Spleen and thymus were weighted and cell-mediated immune functions, humoral immune functions, delayed type hypersensitivity reaction and macrophage function assays were performed by conventional methods **Results:** In comparison with control group (0.24 ± 0.09 mm), 0.2, 1, 5, 25 mg/kg ribonucleic acid II increased the foot pad swelling to 0.34 ± 0.18 , 0.47 ± 0.14 , 0.53 ± 0.17 , 0.52 ± 0.20 mm respectively. Lymphocyte proliferation capacity was also enhanced IgM - PFC number increased significantly to 3444 ± 842 , 4652 ± 1114 , 5656 ± 1569 , and 6560 ± 1812 per 5×10^6 spleen cell respectively at the dose of 0.2, 1, 5, 25 mg/kg, significantly higher than that of control Also, phagocytosis capacity was significantly enhanced **Conclusion:** Ribonucleic Acid II could improve the immune functions in mice

KEY WORDS ribonucleic acid ; immune function

恶性肿瘤是威胁我国人民健康的严重疾病之一。目前肿瘤治疗方法虽然很多,但术后复发、转移、患者免疫功能低下等仍然是困扰医患的主要问题。其中免疫功能低下可对患者健康造成严重的威胁。本研究以小鼠为模型,观察核糖核酸对免疫功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 注射用核糖核酸 II商品名 Bp素,由吉林敖东药业集团提供,批号:050322

1.2 动物 昆明种小鼠,雌雄兼用,6~8周龄,18~22 g,由上海第二军医大学实验动物部提供。

1.3 试剂 刀豆素 A (ConA) (上海华舜生物工程有限公司);四甲基偶氮唑盐 (MTT); (美国 B DTEC 公司);二甲基亚砷 (DMSO) (天津市大茂化学仪器供应站);琼脂糖、十二烷基硫酸钠 (SDS)为美国 Sigma产品;RPMI1640培养液为美国 GBCO产品;绵羊红细胞 (SRBC)由北京大学医学部实验动物中心提供。

1.4 方法

1.4.1 剂量分组及给药方法 昆明雌性小鼠 160只,按体重随机分成5组,即溶剂对照组(生理盐水)、注射用核糖核酸4个剂量组(0.2、1、5、25 mg/kg),每天1次,肌注。实验期间动物自由进食、饮水。

1.4.2 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验^[1] 每组小鼠 8只,肌注生理盐水或注射用核糖核酸 30

d后(4个剂量组 0.2、1、5、25 mg/kg,每天 1次),颈椎脱臼处死动物,检测体重及胸腺、脾脏的相对重量。取脾,磨碎,过滤(200目),洗涤,悬浮,制备成细胞浓度为 5×10^6 个/mL脾细胞悬液,以 MTT法检测 ConA 诱导的淋巴细胞转化能力。

1.4.3 迟发型变态反应实验(DTH)^[1] 每组小鼠 8只,肌注生理盐水或注射用核糖核酸 20 d后(4个剂量组 0.2、1、5、25 mg/kg,每天 1次),于各处理组小鼠的左足垫注射体积分数为 2%的绵羊红细胞(SRBC)悬液 0.2 mL,4 d后,以游标卡尺测量左后足跖部厚度,然后在测量部位皮下注射体积分数为 20%的 SRBC悬液 20 μ L 攻击左足。于注射后 18 h测量左后足跖部厚度,以攻击前后足跖厚度的差值为足肿胀,表示 DTH的程度。

1.4.4 抗体生成细胞检测^[1] 每组小鼠 8只,肌注生理盐水或注射用核糖核酸 30 d后(4个剂量组 0.2、1、5、25 mg/kg,每天 1次),以体积分数为 2%的 SRBC免疫小鼠,4 d后,摘眼球取血,然后颈椎脱臼处死动物,取脾,磨碎,过滤(200目),洗涤,悬浮,制备成细胞浓度为 5×10^6 个/mL脾细胞悬液,采用 Jeme改良玻片法检测抗体生成细胞的功能。

1.4.5 血清溶血素测定^[1] 眼球取血后分离血清,用 SA 缓冲液稀释 200倍,取稀释后血清 1 mL置试管内,依次加入 10% SRBC 0.5 mL、1:8稀释豚鼠补体 1 mL。采用半数溶血值(HC₅₀)法检测血清溶血素水平。

1.4.6 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验^[1] 每组小鼠 8只,肌注生理盐水或注射用核糖核酸 30 d后(4个剂量组 0.2、1、5、25 mg/kg,每天 1次),以体积分数为 2%的 SRBC激活小鼠巨噬细胞,采用半体内法检测腹腔巨噬细胞吞噬功能,以 100个巨噬细胞中吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数(吞噬率)及每个巨噬细胞吞噬鸡红细胞的个数(吞噬指数)作为评价指标。

1.5 统计学方法 所有结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS10.0软件进行单因素方差分析,比较各实验组与对照组的差异。

2 结果

2.1 注射用核糖核酸对小鼠体重及免疫器官相对重量的影响 注射用核糖核酸各剂量对小鼠体重及脾脏和胸腺相对重量没有明显影响,见表 1。

2.2 注射用核糖核酸对小鼠细胞免疫功能的影响

注射用核糖核酸明显促进 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖能力,而且具有剂量依赖性。迟发型超敏反应是反应机体 T细胞对外源物质敏感性的指标,其

值高低代表机体的 T细胞免疫能力。结果表明,注射用核糖核酸能提高小鼠迟发型变态反应,增强 T细胞免疫,且有良好的量效关系。由此可见,注射用核糖核酸可促进小鼠细胞免疫功能见表 2。

表 1 注射用核糖核酸对小鼠体重和免疫器官相对重量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别 (mg/kg)	动物数 (只)	体重增长 (g)	脾 (mg/g体重)	胸腺 (mg/g体重)
对照组	8	9.3 \pm 1.5	5.65 \pm 0.54	3.01 \pm 0.32
0.2	8	9.6 \pm 1.2	5.44 \pm 0.45	3.15 \pm 0.52
1	8	9.9 \pm 1.6	5.67 \pm 0.59	3.16 \pm 0.45
5	8	10.2 \pm 1.7	5.58 \pm 0.67	3.21 \pm 0.32
25	8	9.8 \pm 1.8	5.93 \pm 0.56	3.12 \pm 0.63

表 2 注射用核糖核酸对小鼠细胞免疫功能的影响($\bar{x} \pm s$)

组别 (mg/kg)	动物数 (只)	ConA 刺激的淋巴细胞转化(A增加值)	DTH足增加厚度(mm)
对照组	8	0.34 \pm 0.15	0.24 \pm 0.09
0.2	8	0.44 \pm 0.12 ¹⁾	0.34 \pm 0.18 ¹⁾
1	8	0.52 \pm 0.14 ¹⁾	0.47 \pm 0.14 ¹⁾
5	8	0.56 \pm 0.09 ¹⁾	0.53 \pm 0.17 ¹⁾
25	8	0.60 \pm 0.12 ¹⁾	0.52 \pm 0.20 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.3 注射用核糖核酸对小鼠体液免疫功能的影响

注射用核糖核酸各组脾细胞中 IgM-PFC 数目明显高于对照组($P < 0.05$),且各剂量之间有明显的剂量反应关系,表明注射用核糖核酸可以增加脾脏抗体生成细胞的数目。注射用核糖核酸各组半数溶血值(HC₅₀)明显高于对照组($P < 0.05$)。上述结果提示,注射用核糖核酸具有一定的促进体液免疫功能的作用,见表 3。

表 3 注射用核糖核酸对小鼠体液免疫功能的影响($\bar{x} \pm s$)

组别 (mg/kg)	动物数 (只)	IgM-PFC (5×10^6 脾细胞)	HC ₅₀
对照组	8	2 335 \pm 442	94.4 \pm 13.5
0.2	8	3 444 \pm 842 ¹⁾	104.4 \pm 14.2
1	8	4 652 \pm 114 ¹⁾	119.5 \pm 14.4 ¹⁾
5	8	5 656 \pm 569 ¹⁾	125.3 \pm 15.1 ¹⁾
25	8	6 560 \pm 812 ¹⁾	129.2 \pm 14.0 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.05$, 与对照组比较

2.4 注射用核糖核酸对小鼠单核巨噬细胞功能的影响 注射用核糖核酸各剂量组可明显增加腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数没有明显

影响见表 4。

表 4 注射用核糖核酸对腹腔巨噬细胞吞噬细胞功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别 (mg/kg)	动物数 (只)	吞噬率 (%)	吞噬指数
0	8	0.28 ± 0.06	1.24 ± 0.05
0.2	8	0.29 ± 0.06	1.30 ± 0.07
1	8	0.36 ± 0.07 ¹⁾	1.35 ± 0.14 ¹⁾
5	8	0.39 ± 0.07 ¹⁾	1.43 ± 0.11 ¹⁾
25	8	0.46 ± 0.05 ¹⁾	1.52 ± 0.10 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.05$, 与对照组比较

3 讨论

机体抗肿瘤免疫是以细胞免疫为主,包括淋巴细胞、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞在内的完整体系,通过这些机制特异地识别肿瘤抗原引起一系列特异性和非特异的抗肿瘤免疫反应。当人体免疫监视功能失调时,即可导致肿瘤的发生和发展。

免疫调节剂(immunomodulator)是广义上免疫佐剂,其特点是具有双向免疫反应调节功能,即对于不同免疫状态下的机体可作为免疫增强剂提高免疫反应,或作为免疫抑制剂降低机体免疫反应性。目前免疫调节剂已在肿瘤防治上显示出特殊的应用价值。免疫调节剂中研究较多的是多糖类免疫调节剂。如香菇多糖,是从香菇子实体中提取、分离、纯化获得的多糖。它在抑制肿瘤生长、转移及增强机体对细菌、病毒和寄生虫感染的抵抗力方面均具有一定作用。戴金珠等报道应用香菇多糖治疗化疗后休疗期肺癌患者 30 例,结果显示治疗前后各项体液免疫指标均无明显改变,NK 细胞,CD3⁺细胞,CD4⁺细胞的百分率显著增加,淋巴细胞转化率增加,CD8⁺细胞百分率下降,CD4⁺/CD8⁺细胞比值上升,提示香菇多糖对肺癌患者免疫功能有正向调节作用^[2]。何学斌等观察生漆多糖(CPSM)对人体肝癌细胞有一定的杀灭作用,体内试验表明生漆多糖对 S180 和 EAC 荷瘤小鼠抑瘤率达 60% 左右,生漆多糖与 5-氟尿嘧啶伍用,能提高荷瘤小鼠抑瘤率,对 5-Fu 所致的荷瘤小鼠胸腺、脾脏重量萎缩有明显的保护作用。对 5-Fu 引起的骨髓抑制,中性粒细胞减少,体重减轻均有不同程度的拮抗作用^[3]。

近年的研究发现核糖核酸也具有免疫调节剂的作用。李永喜等报道卡介菌多糖核酸可提高正常小鼠上述胸腺、脾脏、外周血中 CD4⁺, CD8⁺细胞的比例,促进 T 细胞的分化与成熟^[4]。冉宗学对术后常

规治疗的 45 例乳腺癌患者加用免疫调节剂介菌多糖核酸治疗,并与 25 例常规治疗者对照,以观察斯奇康对细胞免疫功能的影响。结果显示斯奇康组 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺/CD8⁺比值升高。提示斯奇康能激活 T 淋巴细胞亚群,改善机体免疫功能,表明其可作为乳腺癌患者较好的辅助治疗手段^[5]。

注射用核糖核酸(BP 素)是从健康的牛胰腺中提取的生化药物。可以非特异性地促进 T 细胞的成熟、分化,调控人体的免疫功能,同时,它还可使受到抑制的免疫功能得以部分恢复,增强抗肿瘤能力。严冬等报道大剂量 BP 素联合化疗对恶性肿瘤患者近期疗效的影响,对其 T 细胞群的影响。采用单盲随机分为化疗加 BP 组(实验组)和单独化疗组(对照组)。结果实验组化疗后 CD3⁺, CD4⁺ 和 NK 细胞明显高于化疗前和对照组化疗后水平。实验组近期疗效的有效率为 62.9%, 对照组近期疗效的有效率为 40%, 二者相比有显著性差异。实验组化疗后的白细胞下降倒数及程度均明显低于对照组,差异有显著性^[6]。提示量 BP 素可显著提高肿瘤化疗病人机体的免疫功能,并能减少化疗毒副反成及保护骨髓功能

我们的研究发现注射用核糖核酸具有增强小鼠免疫功能的作用。它能增强小鼠 DTH 反应;提高 ConA 刺激的脾淋巴细胞增殖能力,提高腹腔巨噬细胞吞噬功能。结合他们的研究结果提示:核糖核酸有显著的抗肿瘤和提高机体免疫功能的作用,同时又可减轻化疗药物的毒副作用,其抗肿瘤作用的途径可能是通过增强小鼠免疫功能间接实现的,机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 王军波,沈小毅. 枸杞复合制剂对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国预防医学杂志, 2005, 6(3): 184.
- [2] 戴金珠,吴问华. 香菇多糖对肺癌患者免疫功能的调节作用[J]. 肿瘤防治研究, 1998, 25(2): 144.
- [3] 何学斌,薛存宽. 生漆多糖抗肿瘤作用的实验研究[J]. 肿瘤防治研究, 2003, 30(1): 42.
- [4] 李永喜,陈兴平,邓云华,等. 卡介菌多糖核酸对正常小鼠 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 青岛大学医学院学报, 2004, 40(4): 328.
- [5] 冉宗学,谢邦贤. 卡介菌多糖核酸(斯奇康)对乳腺癌患者细胞免疫功能的影响[J]. 肿瘤防治研究, 1999, 26(6): 434.
- [6] 严冬,张建军,初玉萍,等. BP 素联合化疗对 60 例恶性肿瘤患者的临床观察[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2001, 8(4): 70.

收稿日期: 2006-09-04