

银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能、骨髓造血功能及蛋白质、核酸合成的影响

北京医学院药理教研室 林志彬 孙曼琴 柴宝玲 马俊江 焦柯

银耳多糖是担子菌纲真菌银耳(白木耳)所含重要有效成分。初步药理实验证明:银耳多糖对小鼠 S_{180} 肉瘤有抗肿瘤作用,能提高健康人和白血病人的淋巴细胞转化率,并具有一定的抗放射作用⁽¹⁻³⁾。为进一步探讨银耳多糖的药理作用,我们观察了银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能和骨髓造血功能的影响,并初步研究了银耳多糖对蛋白质、核酸合成的影响。

材 料

银耳粗多糖和半纯多糖(以下简称多糖a和多糖b)由福建三明真菌研究所提供,系从中国福建产银耳(*Tremella fuciformis Berk*)子实体热水提取液中分离,其组成中含葡萄糖、甘露糖、木糖、岩藻糖和葡萄糖醛酸,易溶于水,实验时用生理盐水稀释。注射用环磷酰胺(批号771112)系上海第十二制药厂出品,DL-(4,5- ^3H)亮氨酸、 ^3H -尿嘧啶核苷和甲基- ^3H -胸腺嘧啶核苷(以下分别简称 ^3H -Leu、 ^3H -UR和 ^3H -TdR)为中国科学院上海原子核研究所生产,放射比度分别为54、20和25居里/毫克分子,用无菌生理盐水稀释成40微居里/毫升,贮于冰箱备用。

闪烁液配方:2,5-二苯基噁唑3克、1,4-双-[2'-(5'-苯基噁唑)]-苯0.5克、蔡60克、二氧六环500毫升。

方 法

一、巨噬细胞吞噬功能实验方法

取18~22克昆明种小白鼠(雌雄各半),按已报道的观察巨噬细胞功能的滴片法进行实验⁽⁴⁾。

二、 ^{60}Co γ 射线或环磷酰胺所致骨髓抑制实验方法

取18~22克昆明种小白鼠(雌雄各半),按我们以前报告的方法⁽⁵⁾,用 ^{60}Co γ 射线对动物作全身照射(剂量为51.4伦琴/1分钟,照射时间为17.5分钟,总照射剂量为900伦琴)。照射后5天处死动物,取出

左右两侧股骨,剔去附着的肌肉,剪去两端骨垢,用白细胞稀释液1毫升冲洗出骨髓细胞,在试管中混匀后,计数股骨有核细胞数,求出各组股骨有核细胞数的均值,并进行比较。环磷酰胺所致骨髓抑制实验除用环磷酰胺(100毫克/公斤,腹腔注射)代替 ^{60}Co γ 射线照射引起骨髓抑制外,余皆同前。

三、 ^3H -Leu 掺入血清蛋白质方法

取14~16克昆明种小白鼠,按我室改进的Oura氏方法^(6,7)进行实验。实验前小白鼠禁食14小时,不限饮水。末次给药后1小时,每鼠腹腔注射 ^3H -Leu 4微居里/10克体重,4小时后断头取血,在室温下自然凝血后,离心分离血清。取0.1毫升血清,经10%三氯醋酸洗涤2次和1:1醇醚混合液洗涤1次后,加0.5毫升88%甲酸,在90℃水浴上消化20分钟,然后取消化液0.1毫升,置于闪烁液中,用FJ-353双道液体闪烁计数器测量掺入的放射性强度。

四、 ^3H -Leu 掺入肝脏蛋白质方法

实验动物及掺入 ^3H -Leu剂量均同 ^3H -Leu掺入血清蛋白质实验。掺入4小时后,处死动物,取适量肝脏加入生理盐水,制成肝匀浆,肝匀浆浓度为50毫克/毫升,取此匀浆0.5毫升,按前述制备血清蛋白质程序操作后,取0.1毫升消化液,置闪烁液中测量其放射性强度。

五、 ^3H -UR 掺入肝脏RNA和 ^3H -TdR 掺入肝脏DNA方法

除将掺入的标记前体分别改为 ^3H -UR和 ^3H -TdR(剂量均为4微居里/10克体重,腹腔注射)外,余皆同 ^3H -Leu掺入肝脏蛋白质方法。

上述掺入实验的放射性强度测量结果,经用内标标准源法进行猝灭校正证明,给药组与对照组计数效率无明显差异。为简便起见所有放射性强度均以每分钟脉冲数(CPM)表示。

六、血清蛋白质含量测定方法

取18~22克小白鼠(雌雄各半),禁食后按Lowry

等报道的 Folin-酚法进行实验^(*)。

结 果

一、对巨噬细胞吞噬功能的影响

连续皮下注射多糖 a 或多糖 b (剂量均为 200 毫克/公斤/天) 4 天, 能增强小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力, 使吞噬百分率和吞噬指数均显著增加 (见表 1)。多糖 a 组此两项指标, 与皮下注射等容量生理盐水的对照组相比较, 分别增加 47.8% 和 63.6%; 多糖 b 组分别增加 87% 和 159.7%。可见多糖 b 的作用较多糖 a 为强。

表 1 银耳多糖 a 和 b 对小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

组 别	吞噬百分率 $\bar{X} \pm SE (n)$	吞噬指数 $\bar{X} \pm SE (n)$
多糖 a 组	$34.0 \pm 2.9^*(14)$	$0.72 \pm 0.04^*(14)$
对 照 组	$23.0 \pm 2.1(14)$	$0.44 \pm 0.07(14)$
多糖 b 组	$57.6 \pm 3.5^{**}(12)$	$1.61 \pm 0.16^{**}(12)$
对 照 组	$30.8 \pm 3.5(12)$	$0.62 \pm 0.08(12)$

* 与对照组比较 $P < 0.01$; ** 与对照组比较 $P < 0.001$

二、对⁶⁰钴 γ 射线或环磷酰胺所致骨髓抑制的影响

多糖 a 组在用致死剂量的⁶⁰钴 γ 射线全身照射小白鼠 1 小时后, 皮下注射多糖 a 200 毫克/公斤, 以后每天注射 1 次, 共给药 3 天, 照射后 5 天, 处死动物, 计数骨髓有核细胞; 实验对照组于照射后皮下注射等容量生理盐水; 正常对照组不予照射, 只给予等容量生理盐水。结果表明, 多糖 a 能减轻⁶⁰钴 γ 射线全身照射所致骨髓抑制 (见表 2), 多糖 a 组的骨髓有核细胞平均数较实验对照组者多 186%, 两组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。

给小白鼠腹腔注射环磷酰胺 100 毫克/公斤后, 多糖 a 组每天皮下注射多糖 a 200 毫克/公斤, 共注射 5 天; 实验对照组于腹腔注射环磷酰胺 (剂量同上) 后,

表 2 银耳多糖 a 对⁶⁰钴 γ 射线或环磷酰胺所致骨髓抑制的影响[△]

组 别	⁶⁰ 钴 γ 射线 $\bar{X} \pm SE (n)$	环 磷 酰 胺 $\bar{X} \pm SE (n)$
多糖 a 组	$6.32 \pm 1.37^*(10)$	$4.18 \pm 0.62^*(10)$
实验对照组	$2.21 \pm 0.25(10)$	$2.36 \pm 0.42(10)$
正常对照组	$10.68 \pm 0.48(10)$	$8.27 \pm 0.71(10)$

[△] 表内数字为小白鼠股骨髓有核细胞数 $\times 10^6$

* 与实验对照组比较 $P < 0.05$

每天皮下注射等容量生理盐水; 正常对照组不给环磷酰胺, 只给予等容量的生理盐水。结果显示, 多糖 a 也能显著减轻环磷酰胺引起的骨髓抑制 (见表 2), 多糖 a 组的骨髓有核细胞平均数较实验对照组者多 77.1%, 两组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。

三、对³H-Leu 掺入血清蛋白质的影响

连续皮下注射多糖 b (100 毫克/公斤/天) 4 天, 或腹腔注射多糖 b (剂量同上, 最后 1 次改为皮下注射) 3 天, 使³H-Leu 掺入小白鼠血清蛋白质的放射性强度较注射等容量生理盐水的对照组分别增加 23.8%、37.5% (见表 3), 说明腹腔注射的作用较皮下注射为强。

表 3 银耳多糖 b 对³H-Leu 掺入小白鼠血清蛋白质的影响

组 别	³ H-Leu 掺入放射性强度 [△]	
	皮下注射 $\bar{X} \pm SE (n)$	腹腔注射 $\bar{X} \pm SE (n)$
多糖 b 组	$1030 \pm 54^{**}(15)$	$1305 \pm 139^*(9)$
对 照 组	$832 \pm 46(15)$	$949 \pm 88(9)$

[△] 放射性强度单位为 CPM/0.02 毫升血清

* 与对照组比较 $P < 0.05$; ** 与对照组比较 $P < 0.01$

四、对³H-Leu 掺入肝脏蛋白质的影响

多糖 b 组小白鼠每天皮下注射多糖 b 200 毫克/公斤/天, 给药 4 天; 对照组注射等容量生理盐水。实验结果见表 4, 多糖 b 组掺入的放射性强度较对照组增加 13.4%, 两组比较有显著性差异 ($P < 0.05$), 说明多糖 b 能使³H-Leu 掺入小白鼠肝脏蛋白质明显增加。

表 4 银耳多糖 b 对³H-Leu 掺入肝脏蛋白质、³H-UR 掺入肝脏 RNA 和³H-TdR 掺入肝脏 DNA 的影响

组 别	³ H-Leu 掺入 放射性强度 [△] $\bar{X} \pm SE (n)$	³ H-UR 掺入 放射性强度 [△] $\bar{X} \pm SE (n)$	³ H-TdR 掺入 放射性强度 [△] $\bar{X} \pm SE (n)$
多糖 b 组	$9574 \pm 296^*(10)$	$5201 \pm 458^*(14)$	$6236 \pm 581(8)$
对 照 组	$8446 \pm 273(10)$	$4019 \pm 241(14)$	$6087 \pm 822(8)$

[△] 放射性强度单位为 CPM/100 毫克肝重

* 与对照组比较 $P < 0.05$

五、对³H-UR 掺入肝脏 RNA 和³H-TdR 掺入肝脏 DNA 的影响

多糖 b 组每天皮下注射多糖 b 200 毫克/公斤/天,

共4天;对照组注射等容量生理盐水。表4结果表明,多糖b能使 ^3H -UR掺入小鼠肝脏RNA明显增加,掺入的放射性强度较对照组增加29.4%,两组比较有显著性差异($P<0.05$);但同样剂量的多糖b,对 ^3H -TdR掺入小白鼠肝脏DNA则几无影响。

六、对血清蛋白质含量的影响

连续腹腔注射多糖b(100毫克/公斤/天)5天,15只小白鼠的血清蛋白含量为 36 ± 2.02 毫克/毫升,与注射等容量生理盐水的15只小鼠血清蛋白含量 39.7 ± 2.67 毫克/毫升相比较,经统计学处理,无显著性差异。

讨 论

本文观察了银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能的影响以及对理化因素所致骨髓抑制的保护作用,并首先探讨了银耳多糖对蛋白质、核酸合成的影响,为在分子水平研究银耳多糖的药理作用提供了初步根据。

银耳多糖能增强小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力,使吞噬百分率及吞噬指数均显著增加,说明银耳多糖能激活巨噬细胞,并提高其吞噬功能。巨噬细胞吞噬活力增强,不仅能提高机体的非特异性免疫能力,还能增强机体在抗原刺激下产生特异性免疫的能力,这对一些免疫缺陷性疾病,特别是对肿瘤的治疗是非常重要的。日本学者Ukai等曾报告,从日本和中国产银耳子实体中提出的酸性异多糖能抑制小鼠 S_{180} 肉瘤生长,并推测其抗肿瘤作用机制是通过增强机体的抗肿瘤免疫能力间接抑制肿瘤生长⁽¹⁾。本实验结果提示,银耳多糖增强巨噬细胞吞噬功能可能是其增强机体抗肿瘤免疫能力的一个重要方面。

银耳多糖能显著减轻 ^{60}Co γ 射线照射或注射环磷酰胺引起的小白鼠骨髓有核细胞减少,表明银耳多糖能减轻理化因素对骨髓造血组织的损伤,促进骨髓的造血机能。由于骨髓不仅是造血器官,还是中枢免疫器官之一,参与制造T和B淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞,因此银耳多糖对骨髓的保护作用亦与其免疫增强作用有关。

银耳多糖的抗肿瘤作用及对理化因素所致骨髓抑制的保护作用均表明,在肿瘤的放射治疗和化学治疗时,并用此药,可抑制肿瘤生长并提高机体对放射治疗和化学治疗的耐受性。银耳多糖对理化因素引起的白细胞减少症等血液疾病亦可能有一定的治疗价值。

银耳多糖多次给药能显著增加 ^3H -Leu掺入血清蛋白质的速率,但对血清蛋白质含量无明显影响,这

与我们用银耳孢子多糖和Shibata等用人参皂甙 R_1 及 R_2 所获结果类似^(8,10),可能是由于银耳多糖增加血清蛋白质更新率(Turn-overrate)所致。血清蛋白质是在肝脏合成的,其更新速度加快反映肝脏蛋白质合成能力增强。银耳多糖能使 ^3H -Leu掺入肝脏蛋白质的速率增加,表明银耳多糖能促进肝脏蛋白质的合成。但银耳多糖加速 ^3H -UR掺入肝脏RNA,但不加速 ^3H -TdR掺入肝脏DNA,说明它能促进转录过程,加速RNA的合成,但对DNA合成几无影响。可见促进转录和加速DNA合成是银耳多糖促进蛋白质合成的主要作用环节。

肝脏是参与机体生物合成和物质代谢的重要器官,具有多种多样的功能。蛋白质、核酸是肝脏结构和功能的基础,促进蛋白质、核酸的合成将有助于提高肝脏的功能。还可以推测,银耳多糖对蛋白质、核酸合成的影响不会只限于肝脏,银耳多糖对其它器官、组织的蛋白质、核酸合成亦可能有较多影响,值得深入研究。

结 论

银耳多糖能增强小白鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能,具有免疫增强作用。对 ^{60}Co γ 射线照射或注射环磷酰胺所致骨髓抑制具有保护作用,表明其能兴奋骨髓造血机能。

银耳多糖能促进 ^3H -Leu掺入小白鼠血清蛋白质和肝脏蛋白质,还能促进 ^3H -UR掺入肝脏RNA,但对 ^3H -TdR掺入肝脏DNA几无影响,说明银耳多糖能促进肝脏合成蛋白质的功能,其促进蛋白质合成的主要作用环节是促进转录过程,增加、促进RNA的合成。

参 考 文 献

- (1) Ukai S, et al. Chem Pharm Bull 20 (10):2293, 1972.
- (2) 沈阳医学院附属第二医院检验科:内部资料,1975.
- (3) 徐承熊等:放射医学(2):9,1978.
- (4) 张蕴芬等:北京医学院学报 11(2):114,1979.
- (5) 林志彬等:科学通报 25(4):187,1980.
- (6) 丛铮等:北京医学院学报 12(3):209,1980.
- (7) Oura H, et al; Chem Pharm Bull 20(5):980,1972.
- (8) Lowry OH, et al; J Biol Chem 193(1):265,1951.
- (9) 林志彬等:银耳孢子多糖对血清蛋白质合成的影响。北京医学院学报 14(1):14,1982.
- (10) Shibata Y, et al; Chem Pharm Bull 24 (11):2818, 1976.