

人参多糖对肿瘤及荷瘤小鼠免疫功能的影响

钱伯初、臧星星、李波¹、许初阳²、彭小英 (浙江医学研究院药物研究所药理室, 杭州 310007)

提要 人参多糖(PSG)能明显抑制小鼠 Ehrlich 腹水癌细胞增殖, 延长 S 180 小鼠存活时间。体外对 Ehrlich 腹水癌细胞无直接杀灭作用。ig 人参多糖对正常

小鼠的免疫功能无明显影响, 但可使荷 S 180 小鼠脾脏空斑形成细胞(PFC)、特异玫瑰花形成细胞(SRFC)、血清抗 SRBC 抗体和脾细胞的抗体分泌量明显增加。提示人参多糖可能在荷瘤机体增强免疫功能。

1985年11月15日收稿 1986年6月5日修回

¹ 南京药学院 81 级毕业实习生

² 浙江医科大学 81 级毕业实习生

关键词 人参; 多糖; 免疫性; 免疫活性; 抗体形成; 空斑形成细胞; 玫瑰花结形成

植物多糖类药物以其增强机体免疫功能的优点而被广泛注意。近年来,低等和高等植物如云芝⁽¹⁾、香菇⁽²⁾、刺五加^(3,4)、黄芪⁽⁵⁾等多糖已有较多的研究。人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)是著名的强壮补益药,人参皂甙药理作用的研究已有大量论著^(6,7),人参多糖(ginseng polysaccharides, PSG)的免疫作用亦有报道⁽⁸⁾,但对小鼠移植性肿瘤及荷瘤小鼠免疫功能的影响尚未见详细报告。本文观察了PSG对肿瘤及荷瘤小鼠免疫功能的影响。

材 料

人参多糖(PSG) 系从红参中提取的深红色粉状物,由杭州第二中药厂提供。用蒽酮法测定总含糖量为96.7%,用重蒸馏水配成所需浓度,过滤后经100℃煮沸30 min灭菌,置4℃备用。

绵羊红细胞(SRBC) 取绵羊血去纤维蛋白后放Alsever液中置4℃备用。临用前用灭菌生理盐水洗涤3次后配成所需浓度。

补体 新鲜豚鼠混合血清经SRBC(10:1)于4℃吸收30 min后置-20℃冰箱保存备用。

小鼠 抗肿瘤实验用NIH系小鼠,免疫实验用BALB/c系小鼠,♀,体重20±SD 3 g,由本院动物所供应。

肿瘤 Sarcoma 180小鼠右腋sc 1×10⁶ (0.2 ml)/mouse。Ehrlich腹水癌细胞,小鼠ip 1×10⁷(0.2 ml)/mouse。

方法和结果

对肿瘤的影响

1. PSG在体外对Ehrlich腹水癌细胞的影响 将用磷酸缓冲液(pH 7.4)稀释的PSG和小鼠Ehrlich腹水癌细胞(2×10⁶)等量混合,经37℃孵育1,2,3 h后用0.05%伊红染色,镜检癌细胞赤染率,以染色细胞表示死亡,观察PSG在体外对癌细胞的直接杀灭作用。结果发现PSG 0.5, 1.0, 2.0 mg/ml三个浓度组与癌细胞孵育,均随时间延长而使死亡癌细胞

%增加,但与对照组无明显差别,表明PSG在体外对肿瘤细胞无明显的直接杀伤作用。

2. PSG延长荷S 180小鼠存活时间 小鼠接种S 180后次日起ig PSG 20 d,记录存活天数,计算平均寿命和延长%。结果表明ig PSG 200, 400, 800 mg/kg各组的存活时间均较对照组有显著延长(表1)。

Tab 1. Effect of ginseng polysaccharides ig on life span in mice bearing S 180. n=12, $\bar{x}\pm SD$. **p<0.05, ***p<0.01

PSG (mg/kg)	Life span (d) ($\bar{x}\pm SD$)	Average life span increase (%)
0	26.0±2.4	-
200	29.6±3.7**	13.8
400	29.8±5.8**	14.6
800	31.2±3.8***	20.0

Sarcoma 180 tumor cells were transplanted sc into the right axillae of NIH ♀ mice. One day after the transplantation, PSG was given ig for 20 d. Life span from transplantation to death was recorded.

3. PSG抑制小鼠Ehrlich腹水癌细胞增殖 小鼠腹腔内接种Ehrlich癌细胞后次日起ig PSG共10 d, d 11处死小鼠,吸取腹水,进行癌细胞计数。结果提示PSG 400-800 mg/kg ig对Ehrlich腹水癌细胞增殖有明显抑制作用(表2)。

Tab 2. Effect of ginseng polysaccharides ig on proliferation of Ehrlich ascites carcinoma cells *in vivo* in mice. n=12, $\bar{x}\pm SD$. *p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01

PSG (mg/kg)	Volume of ascites (ml)	Concentration of cancer cell ($\times 10^{-7}$ /ml)	Number of cancer cell ($\times 10^{-7}$)
0	6.7±1.2	10.5±2.4	69±14
400	5.1±1.8	7.2±2.5***	38±11***
800	7.0±2.5	8.2±1.9**	58±23*

NIH mice were inoculated ip with Ehrlich ascites carcinoma (10⁷cells/mouse). One day after inoculation of carcinoma cells PSG was given ig for 10 d. On d 11 ascites volume total number and concentration of carcinoma cells in ascites were measured.

Tab 3. Effect of ginseng polysaccharides ig on immunological functions in normal and S180-bearing mice. n = 8, $\bar{x} \pm SD$. *p > 0.05, **p < 0.05, ***p < 0.01

Mice	PSG(mg/kg)	Hemolysin(HC ₅₀)	QHS(OD)	PFC/10 ⁶ SC	SRFC/10 ⁶ SC
normal	0	109 ± 38	0.242 ± 0.120	49 ± 34	2096 ± 1411
	400	129 ± 44*	0.233 ± 0.071*	65 ± 28*	2293 ± 1031*
	800	140 ± 45*	0.236 ± 0.040*	75 ± 34*	3057 ± 1498*
S180-bearing	0	293 ± 20	0.404 ± 0.187	103 ± 64	2747 ± 1723
	400	488 ± 30**	0.579 ± 0.124**	352 ± 198**	7493 ± 3626***
	800	434 ± 66*	0.546 ± 0.018**	245 ± 106**	6470 ± 3820**

Hemolysin, QHS, PFC and SRFC were determined after ig PSG for 10 d (d -6~d 3) in BALB/c mice; 0.2 ml 20% SRBC ip d 0; S-180 tumor cells (10⁶/mouse) sc d 7; test d 4.

SC = spleen cells; HC₅₀ = (sample tube OD/50% SRBC tube OD) × dilution of serum.

对正常及荷瘤小鼠免疫功能的影响 小鼠 ig PSG 10 d(d -6~d 3), d 0 ip SRBC 4 × 10⁸ (0.2 ml)/mouse, d 4 测定各项免疫功能, 荷瘤小鼠则在 d 7 接种 S 180。血清溶血素按文献(9)方法测定, 结果以半数溶血值 HC₅₀ 表示。脾细胞介导的羊红细胞溶血分光光度测定(quantitative spleen cell mediated SRBC hemolysis spectrophotometry, QHS)按文献⁽¹⁰⁾方法进行, 将脾细胞悬液(10⁷/ml) 1 ml, 0.2% SRBC 1 ml 与 1:10 补体 1 ml 加入试管摇匀, 置 37°C 水浴 1 h 后离心取上清液于 413 nm 测定 OD。空斑形成细胞(PFC)测定按文献⁽¹¹⁾略加改进。将脾细胞悬液(10⁸/ml) 0.1 ml, 0.4% 琼脂糖 0.8 ml, 5% SRBC 0.1 ml 和补体 0.05 ml 迅速混匀后均匀铺于预先铺有 2-3 ml(1.4%) 琼脂底层的平皿内, 37°C 温育 3-4 h 后计算溶血空斑数, 结果以 PFC/10⁶ 脾细胞表示。特异玫瑰花形成细胞(SRFC)按文献⁽¹²⁾方法测定, 将脾细胞悬液(10⁷/ml) 0.1 ml, 1% SRBC 0.1 ml 及小牛血清 0.1 ml 混合, 1000 rpm 离心 10 min, 置 4°C 2 h 后加 1% 甲苯胺兰 20 μl, 用血细胞计数板计数 SRFC, 结果以 SRFC/10⁶ 脾细胞表示。结果表明 PSG 对正常小鼠的免疫功能无明显影响, 但 PSG 能明显改善荷 S 180 小鼠的各项免疫功能, 尤以 SRFC 和 PFC 更为显著(表 3)。

讨 论

本文在一批实验中同时用 4 种方法测定免疫功能, 以试图从不同环节观察 PSG 的作用。SRBC 免疫后的脾脏抗体分泌细胞(PFC)反映免疫应答后期的体液免疫状态, 抗原结合细胞(SRFC)则反映免疫应答早期免疫活性细胞的反应性, 其中包括 T 细胞, B 细胞的前体细胞, 抗体产生细胞与少数抗体分泌细胞, 因此与体液免疫和细胞免疫均相关连⁽¹³⁾。脾细胞体外溶血反应是反映一定量脾脏细胞在体外分泌抗体的能力, 而血清溶血素则表示体内包括脾、淋巴结、骨髓产生的循环抗体的总量。荷 S 180 小鼠的免疫功能低下已经证明⁽¹⁴⁾, 本文显示 PSG 对荷瘤而致小鼠免疫功能低下有较好的保护作用, 且提示对免疫反应的早期或晚期以及免疫反应的不同环节有较广泛的作用。但本文表明 PSG 对癌细胞并无直接杀伤作用, 故其对小鼠 S 180 肉瘤, 小鼠 Ehrlich 腹水癌的抑制作用可能与增强机体的免疫功能密切相关。

本文与文献⁽⁸⁾报告不同, 未见 PSG 对正常小鼠的免疫促进作用。是否与人参品种及实验条件有关。另有资料报告有些多糖如云芝多糖并不影响正常动物的免疫功能, 但可恢复和增强荷瘤机体的免疫功能⁽¹⁾, PSG 是否属于后者, 当深入研究。

致谢 杭州第二中药厂中成药研究所戴培兴副所长提供人参多糖

参 考 文 献

- 1 Nomoto K, Yoshikumi C, Matsunaga K, Fujii T, Takeya K. Restoration of antibody-forming capacities by PS-K in tumor-bearing mice. *Gann* 1975; 66 : 365
- 2 李兆兰. 真菌多糖对肿瘤的免疫作用. 微生物学通报 1983; 10 : 222
- 3 徐任生、冯胜初、范芝芸、叶淳渠、翟世康、沈美玲. 刺五加多糖成分的研究. 科学通报 1983; 28 : 185
- 4 程秀娟、李佩珍、商晓华、李伯军、朱春来. 刺五加多糖的抗肿瘤作用及免疫作用. 癌症 1984; 3 : 191
- 5 沈美玲、翟世康、罗英德、王球达、李兆康、陈惠兰、刘明章. 黄芪多糖生物活性的初步研究. 中西医结合杂志 1984; 4 : 615
- 6 王本祥. 人参药理研究的进展. 药学学报 1965; 12 : 477
- 7 王本祥. 人参药理学研究的新进展. 同上 1980;

15 : 312

- 8 王本祥、崔景朝、刘爱晶. 人参多糖对免疫机能的影响. 同上 1982; 17 : 66
- 9 徐学瑛、李元、许津. 一个改进的体液免疫测定方法——溶血素测定法. 同上 1979; 14 : 443
- 10 Simpson MA, Gozzo JJ. Spectrophotometric determination of lymphocytes mediated sheep red blood cell hemolysis *in vitro*. *J Immunol Methods* 1978; 21 : 159
- 11 Jerne NK, Nordin AA. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science* 1963; 140 : 405
- 12 基础部微生物教研组. 中药对免疫细胞及其功能的作用 I. 免疫特异玫瑰花方法 (RFC) 的探讨及中药对抗原结合细胞的作用. 北京医学院学报 1978; 10 : 156
- 13 龙振洲、谢蜀生、马大龙、吕秀凤. 五仁醇对小鼠抗体分泌细胞及特异玫瑰花形成细胞的抑制作用. 中华医学杂志 1984; 64 : 369
- 14 张宗梁、叶庆炜、王球达, 等. 肿瘤宿主的免疫状态 I. 几种带瘤小鼠脾脏溶血空斑形成细胞的动态观察. 动物学报 1975; 21 : 309

Acta Pharmacologica Sinica 1987 May, 8 (3) : 277-280

Effects of ginseng polysaccharides on tumor and immunological function in tumor-bearing mice

QIAN Bo-Chu, ZANG Xing-Xing, LI Bo, XU Chu-Yang, PENG Xiao-Ying

(Dept Pharmacology, Institute of Materia medica, Zhejiang Academy of Medicine, Hangzhou 310007)

ABSTRACT Investigations were made on antitumor activity and immunological effect of ginseng polysaccharides (PSG) in normal and tumor-bearing mice. The life span of tumor-bearing mice lasted longer after ig PSG 200-800 mg/(kg·d) for 20 d. PSG also markedly inhibited the growth of Ehrlich tumor cells inoculated 2×10^6 /mouse, but did not exhibit cytotoxic action on Ehrlich tumor cells *in vitro*.

The numbers of plaque forming cells (PFC) and specific rosette forming cells (SRFC) in tumor-bearing mice immunized with SRBC were markedly increased after

ig PSG 400-800 mg/(kg·d) for 10 d. PSG also increased both serum hemolysin and SRBC hemolysis mediated by quantitative spleen cells *in vitro*. In normal mice, however, there were no significant changes in these immunological parameters.

This study indicated that the tumor-inhibiting effect of PSG may be related to immunological reaction in host.

KEY WORDS ginseng; polysaccharides; immunity; immunocompetence; antibody formation; plaque forming cells; rosette formation