

粉防己碱对肥大细胞功能的抑制

李 玮、周汉良、杨秋火、卞如濂 (浙江医科大学药理教研室, 杭州 310006)

提要 Tet 250 $\mu\text{mol/L}$ 能抑制精制天花粉 10 $\mu\text{g/ml}$, compound 48-80 1 $\mu\text{g/ml}$ 或 卡西霉素 (calcimycin, A-23187) 0.15 $\mu\text{mol/L}$ 诱导的大鼠腹腔肥大细胞 (MC) 脱颗粒、MC 组胺释放, 以及精制天花粉 0.2 mg/ml 诱导的 $\text{MC}^{45}\text{Ca}^{2+}$ 内流。提示 Tet 是一个过敏介质阻释剂。其作用可能是通过多种途径的。它既能作用于 MC Ca^{2+} 通道, 抑制 Ca^{2+} 内流, 又能抑制 MC 动员、利用内源性 Ca^{2+} 。

关键词 粉防己碱; 肥大细胞; 组胺释放; ^{45}Ca 氯化钙; 卡西霉素 (A-23187); 化合物 48-80

粉防己碱 (tetrandrine, Tet) 具有消炎、镇痛、降压及舒张平滑肌等作用。近年来发现,

它还具有广泛的抗过敏作用⁽¹⁾。Tet 既能拮抗过敏介质的作用, 又可能阻滞过敏介质的释放。为了进一步了解 Tet 对过敏介质的阻释作用, 本文在大鼠腹腔肥大细胞 (mast cell, MC) 上观察了 Tet 对 MC 脱颗粒与介质释放的抑制作用及其机制。

方 法

Wistar 大鼠, 体重 $220 \pm \text{SD } 20 \text{ g}$, ♀♂ 兼用。在抗原 (精制天花粉) 攻击 MC 的实验中, 用精制天花粉主动致敏大鼠⁽²⁾, 15-20 d 后收集腹腔 MC, 以牛血清白蛋白纯化法分离 MC⁽³⁾。

MC 纯度为 $98.9 \pm 1.3\%$ ($n = 11$)。

Tet 对 MC 脱颗粒的形态学影响 MC 与 Tet $250 \mu\text{mol/L}$ 的混悬液中, 分别加入精制天花粉(上海有机化学研究所产品) $10 \mu\text{g/ml}$ 、组胺释放剂 compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$ 、离子载体 (ionophore) 卡西霉素 (calcimycin, Cal, A-23187) $0.15 \mu\text{mol/L}$, 与抗原同时加入的有磷脂酰丝氨酸 $10 \mu\text{g/ml}$, 对照组不加 Tet。 37°C 温育 2 min。加入 3% 戊二醛, 制备 MC 的透射电镜与扫描电镜标本⁽⁴⁾。其中扫描电镜标本采用纯化的 MC。

Tet 对 MC 组胺释放的抑制作用 在未纯化的 MC 与 Tet 混悬液中, 分别加入抗原与磷脂酰丝氨酸、compound 48-80 或 Cal(浓度与上同)。对照组不加 Tet。 37°C 温育 10 min。按荧光分光光度法测定释放与残余的组胺含量⁽⁵⁾, 计算组胺释放率。

Tet 抑制抗原诱导的 MC $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 内流 $^{45}\text{CaCl}_2$ 水溶液为北京原子能研究所产品, 放射性比度为 703 MBq/g , 222 MBq/ml 。在纯化的 MC 与 Tet、 $^{45}\text{CaCl}_2$ 185 kBq/ml 的混悬液中, 加入抗原 0.2 mg/ml 。对照组不加 Tet。 37°C 温育 1 min。MC 经含 LaCl_3 的缓冲液冲洗后, 采用液体闪烁计数测定内流的 ^{45}Ca 量⁽⁶⁾。

结 果

Tet 对 MC 脱颗粒的形态学影响

1. 透射电镜观察 正常的 MC 表面有绒毛, 胞浆内有大量的分泌颗粒, 分布在核周围。颗粒多为圆形, 含电子致密物质。

抗原 $10 \mu\text{g/ml}$ 攻击 MC 2 min 后, MC 膜溶解, 颗粒外排, 一些颗粒周围出现较小的胞浆空泡, 颗粒内容物溶解, 电子密度降低。Compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$ 攻击 MC 2 min 后, MC 膜不溶解, 在胞浆中出现较大空泡, 内含数个变性颗粒, 颗粒及其内容物可溶解其中。Tet $250 \mu\text{mol/L}$ 能抑制抗原 $10 \mu\text{g/ml}$ 、compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$ 对 MC 形态学的影响, 使 MC 形态基本完整。

2. 扫描电镜观察 正常的 MC 为圆形或椭圆形, 平均直径为 $11.5 \pm 1.7 \mu\text{m}$ ($n = 24$)。细胞表面有大量皱折状绒毛, 呈不规则弯曲分布, 并可相互重迭与分枝。

抗原 $10 \mu\text{g/ml}$ 攻击 MC 2 min 后, MC 膜溶解, 然后颗粒外排。外排的颗粒为圆形, 形态完整。细胞表面可出现深入胞浆的膜孔。Cal $0.15 \mu\text{mol/L}$ 或 compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$ 分别攻击 MC 2 min 后, 膜不溶解, 但形状严重扭曲变形, 并有少数颗粒排出。细胞表面也可出现膜孔。Tet $250 \mu\text{mol/L}$ 能抑制抗原 $10 \mu\text{g/ml}$, Cal $0.15 \mu\text{mol/L}$ 与 compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$ 对 MC 形态学的影响, 使 MC 形态基本完整, 表面结构也基本正常。结果表明, Tet 具有稳定 MC 膜, 抑制不同刺激剂引起的 MC 脱颗粒的作用。(图 1, 见后图版 1)。

Tet 对 MC 组胺释放的抑制作用(表 1)

1. 抗原诱导的组胺释放 在 CaCl_2 0.9 mmol/L 缓冲液中, Tet 125 、 $250 \mu\text{mol/L}$ 能抑制抗原 $10 \mu\text{g/ml}$ 诱导的 MC 组胺释放。

2. Cal 诱导的组胺释放 在 CaCl_2 0.9 mmol/L 缓冲液中, Tet $250 \mu\text{mol/L}$ 能抑制 Cal $0.15 \mu\text{mol/L}$ 诱导的 MC 组胺释放。

3. Compound 48-80 诱导的组胺释放 在无 Ca 缓冲液中, Tet 125 、 $250 \mu\text{mol/L}$ 能抑制 compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$ 诱导的 MC 组胺释放。

Tab 1. Inhibitory effect of tetrandrine on histamine release from mast cells stimulated by antigen (purified Radix Trichosanthis) $10 \mu\text{g/ml}$, ionophore calcimycin $250 \mu\text{mol/L}$ or compound 48-80 $1 \mu\text{g/ml}$. $n = 5, 4$, and 5 , respectively, $\bar{x} \pm \text{SD}$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Tetrandrine ($\mu\text{mol/L}$)	Histamine release (%)		
	Antigen (CaCl_2 0.9 mmol/L)	Calcimycin	Compd 48-80 (Non- CaCl_2)
0	40 ± 8	52 ± 8	25 ± 5
25	$33 \pm 6^*$	$49 \pm 7^*$	$30 \pm 5^*$
125	$21 \pm 10^{***}$	$47 \pm 9^*$	$11 \pm 5^{***}$
250	$10 \pm 6^{***}$	$20 \pm 5^{**}$	$6 \pm 4^{***}$

Tet 抑制抗原诱导的 MC $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 内流 在 $^{45}\text{CaCl}_2$ 185 kBq/ml 缓冲液中, Tet 125、250 $\mu\text{mol/L}$ 使精制天花粉 0.2 mg/ml 诱导的 MC $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 内流由对照组的 $1040 \pm 280 \text{ cpm}/2.5 \times 10^5 \text{ MC}$ ($n=8$) 分别减少为 780 ± 260 ($n=4$, $p>0.05$)、 720 ± 210 ($n=6$, $p<0.05$) $\text{cpm}/2.5 \times 10^5 \text{ MC}$ 。

讨 论

Ca^{2+} 在 MC 的刺激-分泌偶联(stimulus-secretion coupling)中是必不可少的一种物质⁽⁷⁾。本文观察到 Tet 对抗原诱导的 MC $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 内流的抑制作用,说明 Tet 作用于 Ca^{2+} 通道,抑制 Ca^{2+} 内流与组胺释放。但鉴于国产 $^{45}\text{CaCl}_2$ 放射性比度较低,未能证明 Tet 对低浓度抗原诱导的 MC $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 内流的抑制作用。

抗原、compound 48-80 或 Cal 诱导 MC 脱颗粒时,颗粒或是形态完整地排到细胞外,或是溶解在胞浆空泡中。MC 表面的膜孔与胞浆空泡可能就是细胞外环境与分泌颗粒之间存在的一种联系通道⁽⁸⁾。由于 MC 脱颗粒时,组胺等可溶性物质从肝素-蛋白质复合物上释放到胞浆空泡中⁽⁹⁾。故本文可见抗原诱导 MC 脱颗粒时,颗粒的电子密度降低。

Cal 能与 Ca^{2+} 结合,形成脂溶性的复合物,并可通过细胞膜,将 Ca^{2+} 带入细胞内,促进 MC 释放介质⁽¹⁰⁾。一般药物不影响这一转运。然而, Tet 却能抑制 Cal 诱导的 MC 组胺释放,这可能与 Tet 抑制 Ca^{2+} -钙调素(calmodulin)复合物的形成与活性有关。

在无 Ca^{2+} 缓冲液中,不存在 Ca^{2+} 内流的可能性,compound 48-80 可能是促进了 MC 动员、利用细胞内的 Ca^{2+} ,使 MC 释放介质⁽¹¹⁾。Tet 能抑制 compound 48-80 诱导的 MC 组胺释放,这可能与 Tet 抑制 compound 48-80

动员、利用内源性 Ca^{2+} 有关。

参 考 文 献

- 1 卞如濂、周汉良、谢强敏、唐法娣、杨 稳、王 砚. 汉防己甲素抗过敏作用的观察. 中草药 1984; 15 (6) : 22
- 2 少年红协作组药理小组. 改良被动皮肤过敏(PCA)试验法和少年红制剂对 PCA 反应的抑制作用. 中华医学杂志 1977; 57 : 81
- 3 Tanizaki Y, Townely RG. Effect of BSA on Ca^{2+} influx in mast cells stimulated by ovalbumin. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1983; 70 : 143
- 4 朱丽霞、程乃乾、高信曾. 生物学中的电子显微镜技术. 第 1 版. 北京: 北京大学出版社, 1983 : 1-72, 236-58
- 5 Shore PA, Burkhalter A, Cohn VH Jr. A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 1959; 127 : 182
- 6 Grosman N, Jensen SM. Influence of glucocorticoids on histamine release and ^{45}Ca uptake by isolated rat mast cells. *Agents Actions* 1984; 14 : 21
- 7 Fanta CH. Role of calcium in airway smooth muscle contraction and mast cell secretion. *J Asthma* 1984; 21 : 387
- 8 Lagunoff D. The mechanism of histamine release from mast cells. *Biochem Pharmacol* 1972; 21 : 1889
- 9 Thon IL, Uvnäs B. Degranulation and histamine release, two consecutive steps in the response of rat mast cells to compound 48-80. *Acta Physiol Scand* 1967 ; 71 : 303
- 10 Pearce FL, Truneh A. Inhibition of histamine release from rat peritoneal mast cells treated with the ionophore A-23187. Implications for the mode of action of anti-allergic compounds. *Agents Actions* 1981; 11 : 44
- 11 Atkinson G, Ennis M, Pearce FL. The effect of alkaline earth cations on the release of histamine from rat peritoneal mast cells treated with compound 48-80 and peptide 401. *Br J Pharmacol* 1979; 65 : 395

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Sep; 8 (5) : 450-453

Inhibition on function of rat peritoneal mast cells by tetrandrine

LI Wei, ZHOU Han-Liang, YANG Qiu-Huo, BIAN Ru-Lian

(Department of Pharmacology, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006)

ABSTRACT Tetrandrine (Tet) 250 $\mu\text{mol/L}$ prevented the degranulation of rat peritoneal mast cells induced by antigen (purified Radix Trichosanthis) 10 $\mu\text{g/ml}$, ionophore calcimycin (A-23187) 0.15 $\mu\text{mol/L}$ or compound 48-80 1 $\mu\text{g/ml}$ under transmission and scanning electron microscopes. Tet inhibited not only the histamine release from mast cells induced by antigen (10 $\mu\text{g/ml}$),

calcimycin (0.15 $\mu\text{mol/L}$) or compound 48-80 (1 $\mu\text{g/ml}$), but also the $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake in purified mast cells induced by antigen 0.2 mg/ml.

KEY WORDS tetrandrine; mast cells; histamine liberation; $^{45}\text{calcium}$ chloride; calcimycin(A-23187); compound 48-80

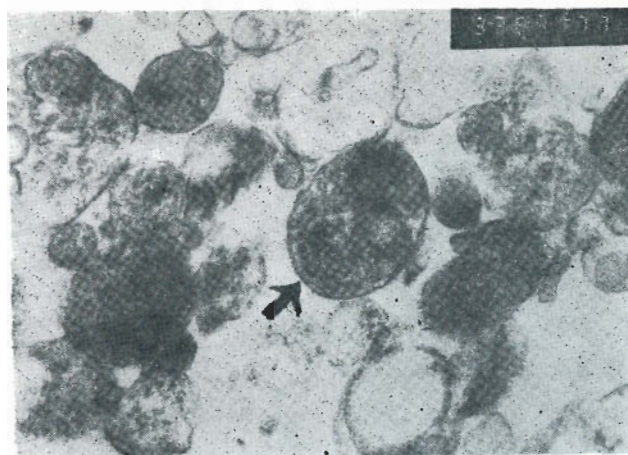


Fig 1. Electron micrograph of presynaptosome components in mouse brain ($\times 33\,000$). Arrow: synaptic vesicles

(See p 394)

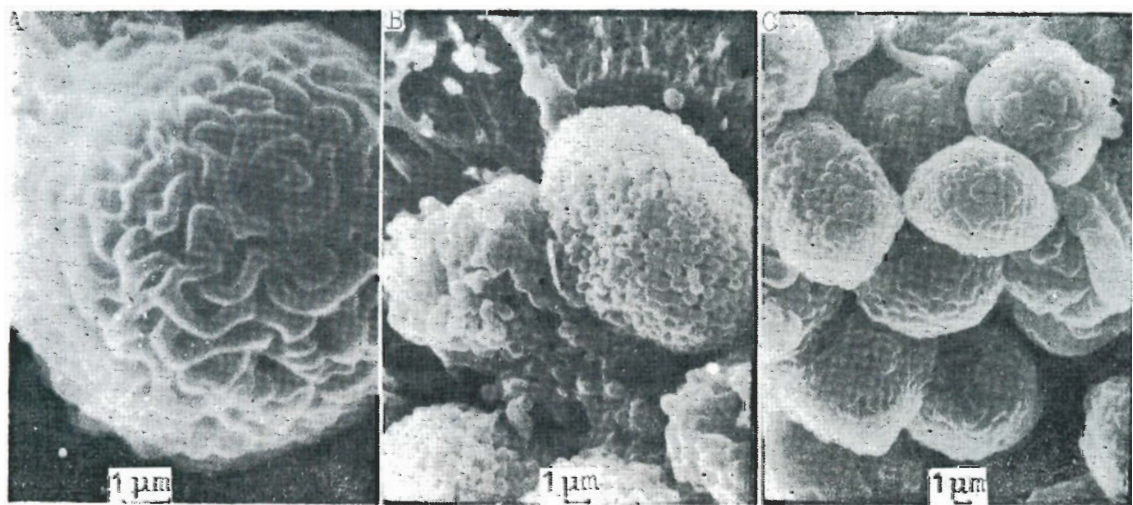


Fig 1. Rat peritoneal mast cells (MC) under scanning electron microscope. A: normal MC, $\times 10\,000$; B: MC incubated with antigen (purified Radix Trichosanthis) $10\ \mu\text{g/ml}$ for 2 min, $\times 5\,000$; C: MC incubated with tetradrine $250\ \mu\text{mol/L}$ and antigen $10\ \mu\text{g/ml}$ for 2 min, $\times 3\,000$.

(See p 451)