

**ACKNOWLEDGMENT** 杨保津女士提供丹参酮 II-A 磺酸钠并给予协助。

## REFERENCES

- 1 Chien MK, Young PT, Ku WH, Chen ZX, Chen HT, Yeh HC. Studies on the active principles of Dan-Shen I. The structure of sodium tanshinone II-A sulfonate and methylene tanshinquinone. *Acta Chim Sin* 1978; 36 : 199
- 2 Wang ZM, Chen LX, Zhang YF, *et al*. Effects of sodium tanshinone II-A sulfonate on myocardium and haemolysis. *Acta Physiol Sin* 1980; 32 : 18
- 3 Wang YP, Chen YH, Xu DZ, Jiang WD. Effect of "tanshinone IIA" sodium sulfonate on the hemodynamics and extent of myocardial infarct in coronary occluded dogs. *Acta Acad Med Shanghai* 1980; 7 : 347
- 4 Li CZ, Yang SC, Zhao FD. Effect of tanshinone II-A sulfonate on thrombus formation, platelet and coagulation in rats and mice. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 39
- 5 上海丹参201临床协作组. 丹参酮IIA磺酸钠注射液治疗 108 例冠心病疗效观察. *中草药通讯* 1978; 1(1) : 37
- 6 Fu NW, Fan XJ, Wan YQ, Zhang LS, Quan LP. Effect of Danshen on the growth and metastases of experimental tumors and the preliminary study of its mode of action. *Chin J Oncol* 1981; 3 : 165

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Nov; 12(6) : 537-542

## 红花总黄素对免疫功能的抑制作用<sup>1</sup>

陆正武、刘 发<sup>2</sup>、胡 坚、边 棣、李芳桂<sup>3</sup> (新疆医学院药理教研室、乌鲁木齐 830054、中国)

### Suppressive effects of safflower yellow on immune functions<sup>1</sup>

LU Zheng-Wu, LIU Fa<sup>2</sup>, HU Jian, BIAN Di, LI Fang-Gui<sup>3</sup> (Department of Pharmacology, Xinjiang Medical College, Urumqi 830054, China)

**ABSTRACT** Safflower yellow (SY) extracted from *Carthamus tinctorius* L contained chalconoid compounds, 75% of which was safflomin A. SY ip 50-450 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> × 6-8 d in mice decreased serum lysozyme concentration and phagocytosing functions of both peritoneal macrophages and peripheral leukocytes; diminished the production of plaque forming cells, specific rosette forming cells, and antibody; inhibited delayed type hypersensitivity

reaction and the activation of T suppressor cells elicited by supraoptimal immunization. Experiments *in vitro* showed inhibitory effects on [<sup>3</sup>H]TdR incorporation during human peripheral T- and B-lymphocyte proliferation by SY 0.03-3.0, 0.1-2.0 mg · ml<sup>-1</sup> respectively, murine mixed lymphocyte culture response and the production of interleukin-2 by SY 0.1-2.5 mg · ml<sup>-1</sup>.

In conclusion, SY produced declines in both nonspecific and specific immune functions.

**KEY WORDS** safflower yellow; phagocytosis; delayed hypersensitivity; rosette formation; suppressor cells; cultured cells; interleukin-2; immunosuppression

**提要** 探讨红花总黄素(SY)对正常小鼠免疫功能和人外周血淋巴细胞转化反应的影响。发现 SY 降低血清溶菌酶含量、腹腔巨噬细胞和全血白细胞吞噬功能; 使 PFC, SRFC 和抗体产生减少; 抑制 DH 反应和 SOI 诱导的 T<sub>H</sub> 细胞活化。体外, SY 0.03-3.0, 0.1-2.0 和 0.1-2.5 mg · ml<sup>-1</sup> 抑制 [<sup>3</sup>H]TdR 参入的 T, B 淋巴细胞转化、MLC 反应、IL-2 的产生及其活性。

Received 1990 Aug 15 Accepted 1991 Jul 29

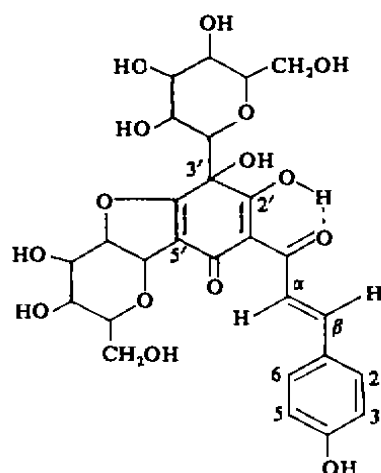
<sup>1</sup> Project supported by the National Natural Science Foundation of China, № 28960011

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed

<sup>3</sup> Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830001, China

**关键词** 红花总黄素; 吞噬作用; 迟发型超敏感性; 玫瑰花结形成; 抑制细胞; 培养的细胞; 白细胞介素-2; 免疫抑制

红花 (*Carthamus tinctorius* L) 系菊科植物, 是活血祛瘀的传统中药。临床报道, 对慢性肾炎、过敏性紫癜和红斑性狼疮等多种免疫性疾病治疗有效, 且延长移植组织的存活时间。红花总黄素(safflower yellow, SY)是从红花提取的查耳酮类化合物。安熙强等从新疆红花提取 SY, 并进行分离鉴定, 发现其主要成分的化学结构与 Onodera 等(1981)报道的 safflomin A<sup>(1)</sup>相吻合, 占总 SY 75%。近年证实, SY 具有抗炎镇痛<sup>(2)</sup>、降压、抗血栓形成以及抗缺氧等多种药理效应。但该药对免疫功能有何影响, 国内外均未见报道。本文探讨其免疫药理作用, 为 SY 的临床应用提供理论依据。



Safflomin A

## MATERIALS AND METHODS

昆明种、C57BL/6J 及 BALB/c 小鼠,  $23 \pm s$  2 g, 均由本院动物房提供,  $\sigma$  和  $\delta$  兼有。人外周全血, 采自本市中心血站 20-45 岁健康男性志愿献血员。

红花总黄素, 黄色粉末, 总黄素含量

98%, 新疆北庭天然红花色素厂出品, 经新疆药物研究所分离鉴定, 含 safflomin A 75%, SY-2 15% 余为 SY-3, 4。化学鉴定均为查耳酮类化合物。临用前以灭菌生理盐水(NS)配制。地塞米松(dexamethasone, Dex)注射液, 无锡制药厂出品。环磷酰胺(cyclophosphamide, CY), 上海第十二制药厂出品。RPMI-1640 培养基, 美国 Life Technologies Inc 产品。HEPES, 德国 E Merck 产品。溶菌酶, 中国科学院上海生物化学研究所出品。糖原, 英国 Edward Gurr Ltd 出品。植物血凝素(phytohemagglutinin, PHA), 美国 Difco Lab 出品。葡萄球菌 A 蛋白(staphylococcal protein A, SPA), 卫生部上海生物制品研究所出品。2-巯基乙醇(2-mercaptoethanol, 2-ME), 上海试剂四厂出品。刀豆素 A (concanavalin A, Con A), 美国 Sigma Chemical Co 出品。丝裂霉素 C (mitomycin C, MMC), 日本 Kyowa Hakko Kogyo Co Ltd 出品。新生牛血清(newborn calf serum, NCS)新疆种牛场出品, 用前  $56^{\circ}\text{C}$  灭活 30 min。 [ $^3\text{H}$ ]TdR 740 GBq  $\cdot$  mmol<sup>-1</sup>, 中国原子能科学研究院出品。

G-49 型玻璃纤维滤膜, 上海红光造纸厂出品。微球菌及白葡萄球菌肉汤培养液, 均由本院微生物学教研室供给。

**血清溶菌酶含量**(serum lysozyme concentration, SLC) 眼眶取血, 分离血清, 再 1:1 稀释, 用光学法<sup>(3)</sup>测定。

**迟发型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH)** 用 10% SRBC (sheep red blood cell) 50  $\mu\text{l}$  左足跖 sc 免疫小鼠, 4 d 后给右足跖相同剂量 SRBC 攻击, 测量攻击后 20 h 右足跖肿胀度<sup>(4)</sup>。

**血清溶血素**(serum hemolysin concentration 50%, HC<sub>50</sub>)和脾特异性玫瑰花形成细胞(specific rosette forming cells, SRFC) 取眼眶血测定吸收率(absorbance, A), 换算成

HC<sub>50</sub><sup>(5)</sup>; 取脾细胞测定 SRFC<sup>(6)</sup>。

**腹腔巨噬细胞(peritoneal macrophages, PMΦ)吞噬能力** 采用改良<sup>[3]H</sup>TdR 参入法<sup>(7)</sup>。小鼠 ip 0.1% 糖原 NS (qd×3 d), 再 ip 10% NCS-1640 液, 收集腹腔细胞, 洗 2 次, 重悬于上述营养液中。台盼蓝染色, 存活率大于 95% 者, 调整 PMΦ 浓度至  $3 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ 。取细胞悬液、白葡萄球菌液(在  $\lambda=620 \text{ nm}$  处用 NS 调 A 至 0.5, 再稀释 32 倍)及 1640 液混匀于 24 孔培养板的孔内, 37℃ 温育 1 h。各孔加<sup>[3]H</sup>TdR 37 kBq, 继续温育 1 h。滤膜法<sup>(8)</sup>测定 dpm, 并按下式计算吞噬指数(phagocytosis index) PI(%) = 1 - (实验孔 dpm / 空白孔 dpm)。

**<sup>[3]H</sup>TdR 参入的全血白细胞(leukocyte, Leu)的吞噬能力** 按 1:8:1 (vol), 取白葡萄球菌液(在  $\lambda=620 \text{ nm}$  处用 NS 调 A 至 0.5, 再稀释 200 倍)、5% NCS-1640 及肝素化全血混匀。其余方法同 PMΦ 吞噬能力测定。

**空斑形成细胞(plaque forming cells, PFC)的溶血能力** 用溶血分光光度法<sup>(9)</sup>测定脾抗体形成细胞 *in vitro* 裂解 SRBC 而释放血红蛋白的相对含量, 并略加修改。取脾细胞  $5 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$  悬液、1:20 豚鼠血清和 0.2% SRBC 各 1 ml 混匀, 37℃ 温育 1 h, 2000×g 离心 10 min, 吸取上清 1 ml 加 3 ml Drabkin 试剂, 混匀。在  $\lambda=540 \text{ nm}$  处测定 A 值。

**淋巴细胞转化(lymphocyte transformation, LT)** 每瓶总量为 3 ml 的 1640 营养液, 内含 NCS 15%, PHA 0.5 mg·ml<sup>-1</sup> 或 SPA 20 μg·ml<sup>-1</sup>, 肝素 15 U·ml<sup>-1</sup>, HEPES 20 mmol·L<sup>-1</sup>, 2-ME 50 μmol·L<sup>-1</sup>, 青、链霉素各 100 U·ml<sup>-1</sup>, 人外周全血 0.3 ml 及不同浓度的 SY 液 0.2 ml。37℃ 温育 48 h, 各瓶加<sup>[3]H</sup>TdR 74 kBq, 依前法测定 dpm, 并按下式计算刺激指数(stimulation index) SI = 实验瓶 dpm / 阴性对照瓶 dpm。

**混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte cul-**

**ture, MLC)** 采用单向法<sup>(10)</sup>。以 MMC 处理 BALB/c 小鼠脾细胞后, 用大量 Hank's 液洗 3 次, 去除 MMC, 再以 10% NCS-1640 液调整细胞浓度至  $5.0 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ , 作为刺激细胞。制备 C<sub>57</sub>BL/6J 小鼠脾细胞悬液, 调整浓度为  $2.5 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ , 作为反应细胞。取刺激、反应细胞悬液各 0.2 ml, NCS 0.15 ml 及不同浓度的 SY 液 50 μl 混匀。置 37℃ 温育 88 h, 各管加<sup>[3]H</sup>TdR 33.3 kBq, 再温育 8 h。依前法测定 dpm 值, 并计算抑制率(%) = 1 - (药物组 dpm / 阳性对照组 dpm)。

**白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)的诱生及活性** 参照活化小鼠脾母细胞测定 IL-2 的活性法<sup>(11)</sup>, 并加以改进。用 C<sub>57</sub>BL/6J 鼠。

**1 脾母细胞制备** 取鼠 2 只, 无菌取脾, 制备混合脾母细胞悬液(d 0)。洗涤 3 次, 以 10% NCS-1640 液调至  $5.0 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ , 内含 Con A 7 μg·ml<sup>-1</sup>。37℃ 温育 72 h (d 0-3)后, 再洗 3 次, 制备  $1 \times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$  的脾母细胞。

**2 IL-2 的诱生** 在 d 2 取鼠 7 只, 制备  $1.0 \times 10^7 \cdot \text{ml}^{-1}$  的脾细胞悬液, 内含 Con A 3 μg·ml<sup>-1</sup> 及不同浓度的 SY 液。37℃ 温育 24 h 后, 700×g 离心 20 min, 上清液即为含 IL-2 的粗制品。

**3 IL-2 的活性** 在 d 3 取 IL-2 上清、脾母细胞悬液及 20% NCS-1640 各 0.3 ml 混匀, 37℃ 温育 16 h, 每管加<sup>[3]H</sup>TdR 37 kBq, 再温育 8 h。按前述滤膜法<sup>(8)</sup>测定 dpm。

**T 抑制细胞(T suppressor cells, T<sub>s</sub>)的诱导及活性** 用超适剂量免疫法<sup>(12)</sup> (supraoptimal immunization, SOI)诱导 T<sub>s</sub> 细胞的活性。BALB/c 小鼠 30 只, 随机分组。除对照组外, 每鼠皆 ip  $4 \times 10^9$  个 SRBC。用药 I 组 SOI + CY; 于 SOI 当日 ip 一次 CY 50 mg·kg<sup>-1</sup>; 用药 II 组 SOI + SY; 于 SOI 当日 ip 不同剂量 SY, 连续 7 d。在 d 15 取供体鼠脾, 制备混合脾细胞悬液, 以 NS 洗涤 2 次, 调整

至含活细胞  $2 \times 10^8 \cdot \text{ml}^{-1}$  的悬液, 按  $4 \times 10^7$  / 只 iv 同系受体小鼠, 同时每鼠 ip  $4 \times 10^8$  个 SRBC. 在 d 19 用前述溶血分光光度法<sup>(9)</sup>测定受体鼠脾细胞抗体生成水平.

## RESULTS

### 对 SLC, DTH, $\text{HC}_{50}$ 和 SRFC 的影响

SY 降低 SLC, 抑制 DTH 反应和  $\text{HC}_{50}$  的产生, 使 SRFC 形成减少 (Tab 1). 上述作用均呈现一定的剂量依赖关系, 但作用强度皆低于 Dex  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

Tab 1. Effects of ip SY and Dex daily  $\times 6-8$  d on immune function in mice. NS 0.2 ml / mouse in control. \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs NS; + $P > 0.05$ , ++ $P < 0.05$ , +++ $P < 0.01$  vs Dex.

|                                                                             | Durg | $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ | n  | $\bar{x} \pm s$        |
|-----------------------------------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------|----|------------------------|
| Serum lysozyme concn / $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$                   | NS   | —                                                    | 9  | $38 \pm 6$             |
|                                                                             | Dex  | 5                                                    | 9  | $13 \pm 6^{**}$        |
|                                                                             | SY   | 100                                                  | 9  | $21 \pm 4^{***++}$     |
|                                                                             |      | 400                                                  | 9  | $15 \pm 7^{***+}$      |
| Increased thickness of footpad / mm                                         | NS   | —                                                    | 8  | $0.28 \pm 0.04$        |
|                                                                             | Dex  | 5                                                    | 8  | $0.12 \pm 0.07^{**}$   |
|                                                                             | SY   | 50                                                   | 7  | $0.20 \pm 0.09^{++}$   |
|                                                                             |      | 150                                                  | 7  | $0.16 \pm 0.07^{++}$   |
|                                                                             |      | 450                                                  | 7  | $0.14 \pm 0.06^{***+}$ |
| 50% hemolytical concn of serum hemolysin                                    | NS   | —                                                    | 8  | $108 \pm 9$            |
|                                                                             | Dex  | 5                                                    | 8  | $32 \pm 13^{**}$       |
|                                                                             | SY   | 100                                                  | 8  | $67 \pm 29^{***++}$    |
|                                                                             |      | 400                                                  | 8  | $38 \pm 10^{***+}$     |
| $10^{-2} \times$ Immune specific rosette forming cells / $10^6$ splenocytes | NS   | —                                                    | 10 | $217 \pm 53$           |
|                                                                             | Dex  | 5                                                    | 9  | $36 \pm 6^{**}$        |
|                                                                             | SY   | 50                                                   | 8  | $86 \pm 14^{***+++}$   |
|                                                                             |      | 150                                                  | 8  | $59 \pm 12^{***+++}$   |
|                                                                             |      | 450                                                  | 8  | $47 \pm 7^{***+++}$    |

对  $^3\text{H}$ TdR 参入的 PM $\Phi$  和 Leu 吞噬功能的影响 实验发现, No PM $\Phi$  或 No blood 空白组 dpm 均明显高于相应的 NS 组, 说明 M $\Phi$  和 Leu 吞噬白葡萄球菌的作用很强; SY 组的 dpm 均显著高于 NS 但低于 Dex. 提示

SY 抑制 PM $\Phi$  和 Leu 吞噬功能, 但其抑制程度均低于 Dex  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Tab 2).

Tab 2. Effects of ip SY and Dex daily  $> 7$  d on abilities of peritoneal macrophage (PM $\Phi$ ) and peripheral leukocytes phagocytosing Staphylococcus with  $^3\text{H}$ TdR incorporation in mice.  $\bar{x} \pm s$ . \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs NS; +++ $P < 0.01$  vs Dex.

|              | $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | n  | dpm                           | phagocytosis index / % |
|--------------|----------------------------------|----|-------------------------------|------------------------|
| No PM $\Phi$ |                                  | 10 | $20\,451 \pm 2\,846^{***+++}$ |                        |
| NS           |                                  | 9  | $7\,912 \pm 1\,017$           | $61 \pm 5$             |
| Dex          | 5                                | 8  | $15\,164 \pm 1\,864^{**}$     | $26 \pm 9^{**}$        |
| SY           | 100                              | 8  | $9\,913 \pm 1\,78^{***++}$    | $52 \pm 9^{***+++}$    |
|              | 400                              | 8  | $11\,289 \pm 1\,485^{***+++}$ | $45 \pm 7^{***+++}$    |
| No blood     |                                  | 9  | $8\,560 \pm 987^{***}$        |                        |
| NS           |                                  | 10 | $4\,074 \pm 737$              | $52 \pm 9$             |
| Dex          | 5                                | 9  | $7\,054 \pm 402^{***}$        | $18 \pm 5^{***+++}$    |
| SY           | 90                               | 10 | $5\,265 \pm 666^{***+++}$     | $39 \pm 8^{***+++}$    |
|              | 180                              | 9  | $5\,763 \pm 488^{***+++}$     | $33 \pm 6^{***+++}$    |
|              | 360                              | 10 | $5\,849 \pm 453^{***+++}$     | $32 \pm 5^{***+++}$    |

对 PFC 溶血能力的影响 SY 3 个剂量均抑制 PFC 的溶血能力, 且随剂量加大作用增强, 但其抑制程度小于 CY  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Tab 3).

Tab 3. Effects of ip SY and CY on hemolytic ability of spleen plaque forming cells in mice.  $\bar{x} \pm s$ . \*\*\* $P < 0.01$  vs NS; +++ $P < 0.01$  vs CY.

|    | $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 8 \text{ d}$ | n  | $10^{-3} \times$ Absorbance |
|----|-------------------------------------------------------------------------|----|-----------------------------|
| NS | —                                                                       | 9  | $72 \pm 8$                  |
| CY | 20                                                                      | 9  | $19 \pm 7^{**}$             |
| SY | 90                                                                      | 9  | $53 \pm 12^{***+++}$        |
|    | 180                                                                     | 10 | $45 \pm 7^{***+++}$         |
|    | 360                                                                     | 9  | $38 \pm 10^{***+++}$        |

对人血 LT 的影响 体外 SY  $0.03-3.0$ ,  $0.1-2.0 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  抑制  $^3\text{H}$ TdR 参入的 T, B 淋巴细胞增殖反应, 作用呈剂量依赖性 (Tab 4).

对 MLC 和 IL-2 的影响 *In vitro* 均给予 SY  $0.1, 0.5, 2.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  处理的小鼠脾

Tab 4. Effects of SY on PHA ( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) or SPA ( $20 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) induced human peripheral blood lymphocyte transformation of  $^3\text{H}$ ]TdR incorporation.  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \*\*\* $P < 0.01$  vs control.

| SY<br>/ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ | dpm                   | Stimulation<br>index | Suppression<br>/ % |
|------------------------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
| 0                                        | $305 \pm 69^{***}$    |                      |                    |
| 0 PHA                                    | $8440 \pm 1485$       | $27.7 \pm 4.9$       |                    |
| 0.03 PHA                                 | $4814 \pm 1287^{***}$ | $15.8 \pm 4.2^{***}$ | 43                 |
| 0.3 PHA                                  | $3947 \pm 1572^{***}$ | $12.9 \pm 5.2^{**}$  | 53                 |
| 3.0 PHA                                  | $1032 \pm 338^{***}$  | $3.4 \pm 1.1^{***}$  | 88                 |
| 0                                        | $748 \pm 25^{***}$    |                      |                    |
| 0 SPA                                    | $2452 \pm 305$        | $3.3 \pm 0.4$        |                    |
| 0.1 SPA                                  | $1648 \pm 193^{**}$   | $2.2 \pm 0.3^{**}$   | 33                 |
| 0.5 SPA                                  | $1389 \pm 81^{***}$   | $1.9 \pm 0.1^{***}$  | 43                 |
| 2.0 SPA                                  | $977 \pm 127^{**}$    | $1.3 \pm 0.2^{**}$   | 60                 |

细胞, 其 dpm 值分别为  $2518 \pm 130$ ,  $1921 \pm 293$ ,  $1610 \pm 403$  ( $n=5$ ) 和  $1968 \pm 562$ ,  $1343 \pm 392$ ,  $1139 \pm 219$  ( $n=5-7$ ). 与相应的对照组 dpm ( $3342 \pm 264$ ,  $2993 \pm 501$ ) 相比, 差异显著 ( $P < 0.01$ ). 表明 SY 抑制 MLC 反应, 降低 IL-2 的产生及其活性, 且作用均随剂量加大而增强.

对  $T_h$  的产生及其活性的影响 在 SOI 实验中, 接受 SOI 供体鼠脾细胞输注后的受体鼠 A 值明显减小; 接受 SOI+SY 或 SOI+CY 处理的供体鼠脾细胞输注后, 其相应受体鼠的 A 值明显大于 SOI 受体鼠 (Tab 5). 提示 SY 或 CY 抑制  $T_h$  的产生及其活性.

Tab 5. Effects of ip SY and CY on supraoptimal immunization (SOI) in mice.  $\bar{x} \pm s$ . \*\*\* $P < 0.01$  vs SOI; + $P > 0.05$ , + $P < 0.05$  vs control.

|          | $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$<br>· d | n | Absorbance             | Suppression<br>/ % |
|----------|-------------------------------------------------------------|---|------------------------|--------------------|
| Control  | —                                                           | 5 | $0.43 \pm 0.07^{**}$   |                    |
| SOI      | —                                                           | 4 | $0.18 \pm 0.3$         | 58                 |
| SOI + SY | $90 \times 7$                                               | 5 | $0.33 \pm 0.05^{***+}$ | 23                 |
|          | $360 \times 7$                                              | 4 | $0.39 \pm 0.13^{***+}$ | 9                  |
| SOI + CY | $50 \times 1$                                               | 5 | $0.33 \pm 0.04^{***+}$ | 23                 |

## DISCUSSION

溶菌酶主要由巨噬细胞 (macrophage,  $M\Phi$ ) 产生和分泌, 其血清水平高低可反映  $M\Phi$  的功能状态<sup>[13]</sup>. 本研究中 SY 降低血清溶菌酶含量, 使  $^3\text{H}$ ]TdR 参入的  $PM\Phi$  和全血 Leu 吞噬白葡萄球菌的能力下降, 提示该药抑制  $M\Phi$  和中性粒细胞 (neutrophil, Neu) 的吞噬功能, 从而影响这两种细胞参与多种免疫应答和炎症过程, 此与文献报道的 SY 抗炎作用结果<sup>[2]</sup>一致.

SRFC 是筛选药物对免疫应答较前期阶段抗原结合细胞作用的简易定量指标<sup>[6]</sup>. SY 减少 SRFC, 推测是影响 T, B 淋巴细胞对抗原的识别或阻断抗原受体位点的作用结果. SY 亦降低 PFC 溶血能力及血清溶血素的产生, 且二者表现出一定的平行关系, 说明 SY 抑制抗体产生与分泌. 已知丝裂原 PHA, SPA 分别诱导 T, B 淋巴细胞的增殖分化, SY 对人血 T, B 细胞转化反应均有抑制作用. 但  $0.03 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  的 SY 对 T 细胞转化的抑制率 43% 明显大于其在  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  时对 B 细胞转化的抑制率 33% ( $P < 0.01$ ), 提示 T 细胞对 SY 的作用更敏感. MLC 反应是检测两群同种异体淋巴细胞组织相容性程度的方法, SY 抑制 MLC 反应与其抑制人血 T 细胞转化的结果一致, 似为红花延长移植组织存活时间的作用机制之一.

IL-2 主要由  $T_h$  细胞产生. SY 体外抑制小鼠脾细胞 IL-2 的产生及其活性, 提示 SY 可能抑制了  $T_h$  细胞的活性. 在 SOI 实验中, 于供体鼠  $T_h$  细胞诱导期 ip SY 可增加相应受体鼠的抗体生成水平, 表明该药抑制 SOI 诱导的  $T_h$  细胞产生及其活性. 本文还观察到 SY 减轻小鼠 DTH 反应, 这一结果可能与该药降低  $M\Phi$  吞噬活性、抑制 T 细胞的增殖分化及减少 IL-2 的产生等作用有关.

本研究结果表明, SY 以剂量依赖方式降

低非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫功能。此效应是通过通过对 MΦ, Neu, T 或 T<sub>h</sub>, T<sub>s</sub> 及 B 细胞的综合作用的结果。提示 SY 可能是红花治疗多种免疫性疾病的主要有效成分。该药对免疫病理模型的作用有待研究。

**ACKNOWLEDGMENTS** 本室郑慧琴实验师协助技术指导, 程瑞芬助理实验师参加部分工作。本院微生物学教研室李素娥实验师提供白葡萄球菌和微球菌肉汤培养液。

## REFERENCES

- 1 An XQ, Li YH, Chen J, Li FG, Fang SD, Chen Y. Separation and identification of safflower yellow-A and carthamin from *Carthamus tinctorius* L. *Chin Trad Herb Drugs* 1990; 21 : 188
- 2 Huang ZL, Gao QM, Cui ZM. Pharmacological studies on safflower yellow from safflower (*Carthamus tinctorius* L). *Chin Trad Herb Drugs* 1984; 15 (8) : 12
- 3 杨贵贞. 溶菌酶测定法. 见: 余贺, 谢少文, 杨贵贞, 许以平, 主编. 临床免疫技术. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社. 1982: 388-9
- 4 Lagrange PH, Mackaness GB, Miller TE. Influence of dose and route of antigen injection on the immunological induction of T cells. *J Exp Med* 1974; 139 : 528
- 5 Xu XY, Li Y, Xu J. A modified humoral immune assay method. A method of hemolysin determination. *Acta Pharm Sin* 1979; 14 : 443
- 6 基础部微生物教研室. 中药对免疫细胞及其功能的作用 I 免疫特异性玫瑰花方法(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; (3) : 156
- 7 康漫天, 杨家驹. 改良<sup>3</sup>H-TdR掺入法测定腹腔巨噬细胞吞噬杀菌功能. 放射免疫学杂志 1989; 2 : 331
- 8 陈敏珠, 史敏言. 细胞免疫测定法. 见: 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 主编. 药理实验方法学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 951-3
- 9 Simpson MA, Gozzo JJ. Spectrophotometric determination of lymphocyte mediated sheep red blood cell hemolysis *in vitro*. *J Immunol Methods* 1978; 21 : 159
- 10 Li G, Fraker PJ. Methionine-enkephalin alteration of mitogenic and mixed lymphocyte culture responses in zinc-deficient mice. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 216
- 11 Wang XL, Gao LS, Li QS, Zhang ZY. Some improvements for the determination methods of interleukin-1 and 2. *Chin J Immunol* 1989; 5 : 106
- 12 Wang TR, Xing ST, Zhou JH. The effect of polysaccharides and glycosides of Yin-Yang-Ho (*Epimedium koreanum*) on T<sub>s</sub> cells. *Chin J Immunol* 1986; 2 : 74
- 13 Kokoshis PL, Luzio NRD. Serum lysozyme: an index of macrophage function. *J Reticulo Soc* 1979; 25 : 85

## Instructions to authors

Please read *Acta Pharmacol Sin* 1991 Jan; 12 (1) : 1-6

*N Engl J Med* 1991 Feb 7; 324 (6) : 424-8

and *Br Med J* 1991 Feb 9; 302 (6772) : 338-41