

西咪替丁对小鼠的免疫调节作用

孙 兵、刘 发、李观海 (新疆医学院药理学教研室, 乌鲁木齐 830054)

提要 西咪替丁 (cimetidine, Cim) 10, 70 mg/kg, 对正常小鼠和荷 Lewis 肺癌 C 57 BL/6 小鼠 有免疫调节作用。Cim 可增强 DTH 反应, 促进淋巴细胞转化; 使 PFC, SRFC 增多, 并使荷瘤鼠被抑制的 HC₅₀ 和

SRFC 明显回升。雷尼替丁 (ranitidine, Ran) 对正常鼠的 DTH, HC₅₀, SRFC 和淋巴细胞转化无促进作用; 对荷瘤鼠低下的 HC₅₀ 和 SRFC 亦无回升作用。

关键词 西咪替丁; 雷尼替丁; 组胺 H₂ 受体; T-抑制细胞; Lewis 肺癌; 溶血素; 迟发性超敏感性; 玫瑰花结形成; 溶血性空斑技术

1986年9月3日收稿 1987年5月8日接受

西咪替丁(cimetidine, Cim)为组胺 H₂ 受体阻断剂,用于治疗消化性溃疡和其他病理性胃酸分泌过多症。Cim 具有免疫促进作用,在临床上与干扰素合用治疗黑色素瘤,有显著疗效⁽¹⁾。

本文用 Cim 和雷尼替丁(ranitidine, Ran)二种组胺 H₂ 受体拮抗剂,比较他们对小鼠免疫功能的影响。选用因 Ts 细胞(具有组胺 H₂ 受体)增多,而免疫功能低下的特异性 Lewis 肺癌小鼠模型,观察 Cim 和 Ran 对这种荷瘤鼠低下的免疫功能有何影响,以探讨 Cim 的免疫调节作用。

材 料 和 方 法

Swiss 种小鼠 160 只,♀♂兼用,体重 20±SD 2 g,新疆医学院动物室提供。C57 BL/6 种小鼠 60 只,♂,体重 20±2 g,中国科学院上海动物中心提供。Lewis 肺癌(Lewis lung carcinoma)小鼠模型,中国科学院上海药物研究所提供。

Cim 结晶状粉末,西南制药厂出品。Ran 针剂,英国 GLAXO 公司出品。PRMI-1640 培养基和 Con A,美国 Sigma 公司出品。^[3H]TdR 740 GBq/mmol,中国科学院原子能研究所出品。

G-49 型玻璃纤维滤膜,上海红光造纸厂出品。多头样品收集器,绍兴坡塘医疗器械厂制造。

迟发型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH)的测定 给小鼠一侧足跖 sc SRBC (sheep red blood cells) 诱发 DTH 反应,用小鼠足跖厚度增量表示肿胀度,进行 t 检验⁽²⁾。

溶血空斑形成细胞(plaque forming cells, PFC)溶血能力的测定 用 SRBC 致敏小鼠,以溶血定量分光光度法(QHS)⁽³⁾,测定脾细胞中 PFC 的溶血能力,用光密度值(OD)表示。

脾特异性玫瑰花形成细胞(specific rosette forming cells, SRFC)和血清溶血素(hemolysin

concentration fifty percent, HC₅₀)的测定 用 SRBC ip 免疫小鼠,用脾细胞测定 SRFC⁽⁴⁾,取含有抗 SRBC 抗体的小鼠动脉血测定 HC₅₀⁽⁵⁾。

[³H]TdR 参入的淋巴细胞转化的测定 无菌取脾,剪碎,过滤,用蒸馏水破坏 RBC,以含双抗的 1640 液洗二遍,配成终浓度为 1.5×10⁶/ml 脾细胞悬液,取细胞悬液 0.2 ml,药液 10 μl,加入 40 孔微孔培养板中。观察药物与 Con A 的协同作用时,除加药物外,每孔加 100 μg/ml 的 Con A 10 μl(终浓度为 5 μg/ml),加盖置 CO₂ 孵箱中培养 72 h,培养结束前 6h,每孔加 10 μl [³H]TdR 74 kBq。用多头样品收集器收集细胞,将 G-49 型纤维滤膜 80℃ 烘干,纸片放入闪烁杯中,用国产 FJ-2101 液体闪烁计数器计数。

结 果

Cim 对正常小鼠免疫功能的影响 ip Cim 70 mg/(kg·d)×7 d,能使正常小鼠的 DTH 反应增强,SRFC 值升高,与对照组比较皆有显著差异。ip Cim 10 mg/(kg·d)×7 d,亦能使正常小鼠的 PFC 和 HC₅₀ 值明显提高,与对照组比较,其差异皆有显著意义。见表 1。

Tab 1. Influence of ip cimetidine (Cim, mg/(kg·d)×7 d) on immunological responses in normal mice. Normal saline 0.2 ml/mouse in control. n=9, $\bar{x}\pm SD$. **p<0.05, ***p<0.01 vs control.

Experiment	Cim	Result
Increased thickness of footpad (mm)	0	0.34±0.14
	70	0.44±0.10**
Specific rosette forming cells/10 ⁶ spleen cells	0	14571±2507
	70	25000±5800***
Plaque forming cells optical density value	0	1.316±0.035
	10	1.361±0.012***
Hemolysin concentration fifty percent (HC ₅₀)	0	200±50
	10	364±100**

在 [³H]TdR 参入的淋巴细胞转化中,不加 Con A 时, Cim 0.25, 2.5, 25 μg/ml 三个剂

量, 皆能升高 cpm 值, 其中 2.5 μg 尤为明显, 从对照组的 306 上升到 1642 ($p < 0.01$)。当加 Con A 时, Cim 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 三个剂量, 对 cpm 值无明显作用 ($p > 0.05$)。

Ran 对正常小鼠免疫功能的影响 (见表 2)

1. 对 SRFC 的影响 ip Ran 40 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d}) \times 7 \text{ d}$, SRFC 为 $11875/10^6$ 脾细胞, 与对照组 12714 比较, 其差异无显著意义; 而 Cim 能明显增加 SRFC ($p < 0.01$)。

Tab 2. Influence of ip cimetidine (Cim) and ranitidine (Ran) $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d}) \times 7 \text{ d}$ on immunological responses in normal mice. Normal saline 0.2 ml/mouse in control. $n=9$, $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Experiment	Group	Result
Specific rosette forming cells/ 10^6 spleen cells	Control	12714 ± 4271
	Cim(70)	$19143 \pm 3132^{***}$
	Ran(40)	$11875 \pm 4051^*$
HC ₅₀	Control	100 ± 20
	Cim(10)	$250 \pm 35^{**}$
	Ran(10)	$110 \pm 30^*$
Increased thickness of footpad (mm)	Control	0.24 ± 0.07
	Cim(70)	$0.44 \pm 0.10^{***}$
	Ran(25)	$0.30 \pm 0.08^*$

2. 对 HC₅₀ 的影响 ip Ran 10 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d}) \times 7 \text{ d}$, HC₅₀ 为 110, 与对照组 100 比较, 其差异无显著意义; 而 Cim 能明显升高 HC₅₀ ($p < 0.05$)。

3. 对 DTH 的影响 ip Ran 25 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d}) \times 7 \text{ d}$, 对 DTH 反应无明显作用; 而 Cim 可明显增强 DTH 反应 ($p < 0.01$)。

4. 对 [³H]TdR 参入的淋巴细胞转化的影响

4.1 单独刺激作用 Ran 0.25, 2.5, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 对 cpm 值无影响; 而 Cim 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 能明显提高 cpm 值 ($p < 0.01$)。

4.2 与 Con A 协同作用 Ran 5, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 Cim 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 与 Con A 皆无协同作用 ($p > 0.05$)。

Cim 对 Lewis 肺癌的作用

1. 对 Lewis 肺癌生长的抑制作用 用匀浆法给 C 57 BL/6 小鼠接种 Lewis 肺癌, 从接种次日开始给药, 连续 14 d, d 15 解剖称瘤重。

Cim 50 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 能明显抑制 Lewis 肺癌的生长, 平均瘤重为 $1.5 \pm 0.5 \text{ g}$ 与对照组 $2.7 \pm 0.9 \text{ g}$ 比较, 肿瘤明显缩小 ($p < 0.05$), 抑瘤率为 42%。

2. 对荷瘤鼠免疫功能的影响 (表 3) C 57 BL/6 小鼠皮下接种 Lewis 肺癌, d 9 (可见明显的瘤结节) 开始给药, 持续 7 d. 给药后 d 3, 给小鼠 ip 10% SRBC 0.4 ml, 免疫后 d 4, 取小鼠血和脾测定 HC₅₀ 和 SRFC。

Tab 3. Influence of ip cimetidine and ranitidine $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d}) \times 7 \text{ d}$ on HC₅₀ and specific rosette forming cells (SRFC) in C 57 BL/6 mice bearing Lewis lung carcinoma. Normal saline 0.2 ml/mouse in control. $n=9$, $\bar{x} \pm \text{SD}$. *** $p < 0.01$ vs normal control. † $p > 0.05$, †† $p < 0.01$ vs cancer control.

	Group	Result
SRFC/ 10^6 spleen cells	Normal control	18000 ± 4928
	Cancer control	$4625 \pm 2669^{***}$
	Cimetidine (70)	$13125 \pm 4155^{\dagger\dagger}$
	Ranitidine (25)	$3750 \pm 1389^{\dagger}$
HC ₅₀	Normal control	916 ± 272
	Cancer control	$100 \pm 70^{***}$
	Cimetidine (70)	$272 \pm 131^{\dagger\dagger\dagger}$
	Ranitidine (25)	$89 \pm 60^{\dagger}$

结果, 荷瘤小鼠与正常小鼠比较, SRFC 值从正常小鼠的 $18000/10^6$ 脾细胞, 下降为 4625 ($p < 0.01$); 而 HC₅₀ 由正常的 916 降低到 100 ($p < 0.01$)。

用 Cim 治疗荷瘤鼠后, SRFC 由 $4625/10^6$ 脾细胞回升到 13125 ($p < 0.01$); 而 HC₅₀ 由 100 回升到 272 ($p < 0.01$)。Ran 对荷瘤鼠低下的 HC₅₀ 和 SRFC 均无回升作用。

讨 论

荷 Lewis 肺癌 d 9 的 C 57 BL/6 小鼠, 其脾

细胞中具有组胺 H₂ 受体的淋巴细胞明显增多⁽⁶⁾。这种细胞主要为 Ts 细胞, 对小鼠免疫功能有抑制作用⁽⁷⁾。为了说明 Cim 对具有 H₂ 受体的 Ts 细胞的作用, 选用荷 Lewis 肺癌的 C 57 BL/6 小鼠为动物模型结果, Cim 明显抑制小鼠肺癌的生长, 并使荷瘤鼠低下的 HC₅₀ 和 SRFC 显著回升。提示 Cim 既提高正常小鼠的细胞免疫和体液免疫, 又能恢复荷瘤鼠低下的免疫功能。其原理可能是 Cim 阻断了 Ts 细胞上的组胺 H₂ 受体, 从而抑制了有很强免疫抑制作用的组胺诱生的抑制因子(histamine-induced suppressor factor, HSF)的产生⁽⁸⁾。

Cim 和 Ran 均为组胺 H₂ 受体拮抗剂, 但 Ran 抑制胃酸分泌的作用为 Cim 的 4-8 倍。而 Ran 对正常小鼠的免疫功能无作用⁽⁹⁻¹⁰⁾, 对荷瘤鼠低下的免疫功能亦无明显作用。因此, 作者认为 Ts 细胞上组胺 H₂ 受体与胃壁细胞上的 H₂ 受体似为两种不同的亚型。鉴于实验室条件, 本文未能直接测定 Ts 细胞上的 H₂ 受体和 Cim, Ran 与此受体亲和力的差异, 故组胺 H₂ 受体两种亚型之说, 有待研究。

致谢 杨藻宸、胥彬和李晓玉三位教授指教, 部分工作在上海药物研究所药理室完成。

参 考 文 献

1 Plodgren P, Borgström S, Jönsson PE, Lindström C, Sjögren HO. Metastatic malignant

- melanoma: Regression induced by combined treatment with interferon [HuIFN- α (Le)] and cimetidine. *Int J Cancer* 1983; 32 : 657
- 2 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
- 3 Simpson MA, Gozzo JJ. Spectrophotometric determination of lymphocyte mediated sheep red blood cell hemolysis in vitro. *J Immunol Methods* 1978; 21 : 159
- 4 北京医学院微生物教研组. 免疫特异性玫瑰花方法的探讨. 北京医学院学报 1978; (3) : 156
- 5 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. 药学报 1979; 14 : 443
- 6 Osband ME, Hamilton D, Shen YJ, et al. Successful tumor immunotherapy with cimetidine in mice. *Lancet* 1981; 1 : 636
- 7 Plaut M, Lichtenstein LM, Gillespie E, Henney CS. Studies on the mechanism of the lymphocyte mediated cytolysis. IV. Specificity of the histamine receptor on effector T cells. *J Immunol* 1973; 111 : 389
- 8 Beer DJ, Rocklin RE. Histamine-induced suppressor-cell activity. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73 : 439
- 9 Descotes J, Tedone R, Evreux JCl. Effects of cimetidine and ranitidine on delayed-type hypersensitivity. *Immunopharmacology* 1983; 6 : 31
- 10 Peden NR, Robertson AJ, Boyd EJS, et al. Mitogen stimulation of peripheral blood lymphocytes of duodenal ulcer patients during treatment with cimetidine or ranitidine. *Gut* 1982; 23 : 398

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Jan; 9 (1) : 89-93

Immunomodulation of cimetidine in mice

SUN Bing, LIU Fa, LI Guan-Hai

(Department of Pharmacology, Xinjiang Medical College, Wulumuqi 830054)

ABSTRACT Cimetidine (Cim) 70 or 10 mg/kg ip had immunopotential in normal mice and C57BL/6 mice-bearing Lewis lung carcinoma. Cim increased delayed type

hypersensitivity (DTH) reaction and promoted the formation of plaque forming cells and specific rosette forming cells (SRFC). At 2.5 μ g/ml Cim also promoted lymphocyte

transformation of [^3H] TdR incorporation without concanavalin A. The suppressed hemolysin concentration fifty percent (HC_{50}) and SRFC of tumor bearing mice were increased significantly by Cim. Ranitidine neither promoted DTH, HC_{50} , SRFC and lymphocyte transformation in normal mice nor rose HC_{50} and SRFC in tumor-bearing mice. The results suggested that

histamine H_2 receptors in T-suppressor cells are different from H_2 receptors on stomach wall cells.

KEY WORDS cimetidine; ranitidine; histamine H_2 receptors; T-suppressor cells; Lewis lung carcinoma; hemolysins; delayed hypersensitivity; rosette formation; hemolytic plaque technic

* * * * *