

盐藻提取物对尘肺病人抗氧化及细胞免疫功能影响的研究

河南省职业病防治所(450052) 张惠贞 梁宏立 刘金星 王小丽
河南医科大学 马丽萍 马晓英

提 要 本文观察了盐藻提取物(EDS)对尘肺病人抗氧化和细胞免疫功能的影响。尘肺病人口服EDS胶丸,每次15mg,每日两次,疗程1个月。结果显示,血清BC和VA含量明显升高的同时,脂质过氧化物(LPO)含量骤降($P<0.01$),血超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性明显升高($P<0.01$);细胞免疫功能也有所改善,表现为肿瘤坏死因子(TNF)活性升高($P<0.01$)和淋巴细胞转化率(LCT)增加($P<0.05$)。本研究结果提示,EDS是一种具有抗氧化、提高免疫功能安全有效的药物,值得在尘肺防治中进一步研究。

关键词 尘肺 β -胡萝卜素(BC) 盐藻提取物(EDS) 抗氧化作用 免疫功能

关于 β -胡萝卜素(β -carotene, BC)和盐藻提取物(Extracts of Dunaliella Salina, EDS)的药理作用,近几年已进行了一些研究^[1-4],但其对尘肺病人的抗氧化及细胞免疫功能的作用尚未见报道。作者在完成尘肺病人血清BC与抗氧化功能研究的基础上,又深入研究了富含BC的EDS对抗体内脂质过氧化和提高细胞免疫的生物作用,以其作为尘肺的预防 and 治疗的辅助药物提供依据。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 河南省职业病防治所住院和门诊尘肺病人34例,均为男性,年龄38~65岁,平均51岁。病人职业史明确,尘肺分期诊断标准根据我国目前实施的《尘肺X线诊断标准及处理原则》(GB5906-86)^[5]。清晨空腹采血共两次,第一次在EDS治疗前,抽血前一周内未服用含有BC或维生素A类制剂;第二次在EDS治疗30天后的次日。

1.2 试验药物及用法 海力士胶丸(商品名)由广东省佛山市植生生物工程公司提供(批号:921101),每丸含EDS15mg。口服每次1丸,一日两次,30天为一疗程。

1.3 主要试剂和仪器 BC标准品为Art 2236 β -Carotin Synthetisch fur Biochemische Zweck($C_{40}H_{56}$), Merck。VA标准品为Vitamin A Acetate($C_{29}H_{50}O_2$), Serva。其他试剂如

无水乙醇、氢氧化钾等均为国产,分析纯。RF-540 荧光分光光度计(日本岛津),二氧化碳培养箱(日本平津),751型分光光度计(上海)。

1.4 测定指标与方法 血清VA和BC含量测定包括:(1)血清VA用微量荧光测定法;

(2)血清BC用比色测定法。抗氧化指标包括:(1)脂质过氧化物(LPO)含量测定,用TBA显色法;(2)超氧化物歧化酶(SOD)活性测定,用邻苯三酚自氧化法;

(3)谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性测定,用DTNB直接法。免疫学指标包括:

(1)血肿瘤坏死因子(TNF)和淋巴毒素(LT)测定,取全血0.5ml,加入含PHA或CPS培养液中,置5%CO₂中37°C培养24h,取离心上清液加入含L929成纤维细胞的板中,观察对L929细胞的杀伤率,以百分率(%)表示。(2)淋巴细胞转化率(LCT)测定采用全血法,取抗凝血0.1ml加入含PHA的培养瓶中,置5%CO₂中37°C培养72h,计算转化的淋巴母细胞数,以百分率(%)表示。

1.5 疗效判断 免疫功能和抗氧化作用的疗效判断分为下列三级。

显效:检测指标较用药前(自身比较)或对照组提高(如LCT、SOD)或降低(LPO)在50%以上。

有效：检测指标较用药前变化在25~50%之间。

无效：检测指标变化在25%以下。

1.6 数据处理 本临床研究数据以均值 ± 标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示, 用 t 检验法进行显著性测验。

2 结果

2.1 血清BC和VA水平 尘肺病人服用 EDS 前后血清BC和VA含量见表1。

表1 服用EDS前后血清BC和VA含量比较 ($\bar{X} \pm S$)

时间	BC(μg/L)	VA(μg/L)
前	695.9 ± 275.5 (34)	564.1 ± 307.8 (33)
后	2283.4 ± 987.1* (34)	893.6 ± 213.7* (27)

*与服用EDS前比较P<0.01。

括号内数字为检查例数。

从表1可见, 尘肺病人服用 EDS 后血清BC含量明显升高, 为服用 EDS 前的3倍多 (P<0.01); 同时VA含量亦升高 (P<0.01)。

表3 服用EDS前后细胞免疫功能的变化(%)

时间	n	TNF	LT	LCT
前	30	27.21 ± 13.21	25.18 ± 10.95	57.78 ± 7.77
后	30	51.74 ± 18.12**	23.23 ± 12.32	65.82 ± 11.18*

与服用DES前比较, * P<0.05, **P<0.01。

2.4 EDS提高免疫及抗氧化功能疗效分析 表4显示, EDS 能提高尘肺病人的细胞免疫功能, 其中以提高TNF为显著, 显效率达50%。

表4 EDS对尘肺病人免疫功能和抗氧化作用的影响

	TNF			LT			LCT			LPO			SOD			GSH-Px		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
例数	15	4	11	5	5	20	0	9	21	0	16	14	10	13	7	2	9	19
%	50.0	13.3	36.7	16.7	16.7	66.6	0.0	30.0	70.0	0.0	53.3	46.7	33.3	43.4	23.3	6.7	30.0	63.3

注: A、B、C分别代表显效、有效和无效。

2.5 毒副作用 尘肺病人在服用上述剂量的EDS 期间, 未出现任何与该药物相关的不良反应。

3 讨论

人们最早是从胡萝卜中提取天然胡萝卜素, 但由于其含量甚低, 而失去应用价值。近十年来, 发现生长在海水或盐湖中的一种微藻——盐藻(Dunaliella Salina)含有大量胡萝卜

2.2 服用EDS前后血LPO含量 SOD和GSH-Px活性的变化 结果表明, 血LPO (以MDA量计) 含量在服用EDS 一个月后明显降低, 与服用EDS前比较, 差异均非常显著 (P<0.01)。血SOD和GSH-Px活性在服用EDS后则明显升高 (P<0.01) (表2)。

表2 服用EDS前后抗氧化功能的变化($\bar{X} \pm S$)

时间	LPO(nmol MDA/ml)	SOD(u/ml)	GSH-Px(u/L)
前	12.47 ± 1.91 (34)	87.83 ± 11.23 (33)	116.32 ± 15.35 (34)
后	9.81 ± 1.27* (33)	117.07 ± 7.94* (33)	135.88 ± 13.72* (34)

与服用EDS前比较, * P<0.01。

括号内数字为检查例数。

2.3 EDS对细胞免疫功能的影响 见表3。

从表3可见, 服用EDS后, TNF较用药前明显升高 (P<0.01)。LCT亦升高, 与服用EDS前比较, 差异显著 (P<0.05)。但是, LT在服用EDS前后无明显改变 (P>0.05)。

EDS同样具有明显抗氧化功能, 表现为血LPO含量降低以及SOD和GSH-Px活性升高, 其中SOD显效率达33.3%。

素。其每个细胞中胡萝卜素含量是胡萝卜细胞的数千倍。我国继美国、澳大利亚后于1990年成功地实现从盐藻中提取“天然胡萝卜素”, 并投入商业化生产。事实上, 这种所谓“天然胡萝卜素”实为一种脂溶性混合物, 除含有90%左右的胡萝卜素外, 尚含有维生素E(VE)、番茄红素等物质, 故本文称之为盐藻提取物(EDS)。目前国内多将EDS作为食品天然色

素添加剂和营养强化剂，而将EDS用作尘肺病人的辅助治疗剂，国内外文献尚未报道。

本文的研究结果表明，尘肺病人口服 EDS 一个月后，随着血清BC和VA含量的提高，其抗氧化功能增强，表现为血LPO含量明显降低 ($P < 0.01$)，同时血SOD和GSH-Px活性明显升高 ($P < 0.01$)。这与我们过去在动物实验中观察到的EDS抗氧化作用的结果相一致⁽⁸⁾。

作者曾报道⁽⁹⁾，尘肺病人血清BC含量低于健康人和慢性支气管炎病人，而血LPO含量则明显升高，SOD和GSH-Px活性明显降低。推测尘肺病人抗氧化功能减弱可能与血清BC含量低有关。本文结果显示，尘肺病人抗氧化功能减弱可通过口服富含BC的EDS而明显提高。这进一步证明，尘肺病人抗氧化功能低下确与血清BC含量低有关。

关于EDS抗氧化作用的机理，我们认为可能是由于它含有大量类胡萝卜素以及其他抗氧化物质，如VE。业已证明，BC在哺乳动物组织的低氧分压下是一种脂溶性链阻断抗氧化剂⁽⁹⁾。VE在体内可保护某些易氧化物质，如不饱和脂肪酸及一些酶中的巯基，从而减少LPO产生，VE的抗氧化作用是在动物组织高氧压下才生效，这正好弥补了BC抗氧化作用的不足。

此外，本研究结果还显示，尘肺病人细胞免疫功能低下，我们认为这是一种营养缺乏性免疫抑制(nutritional-deficiency-induced-immune depression)。病人服用EDS后，随着血清BC和VA水平的提高、机体抗氧化功能的增强，细胞免疫功能也明显改善，表现为TNF升高 ($P < 0.01$)和LCT增强 ($P < 0.05$)。Bendich认为⁽⁷⁾，BC可以保护吞噬细胞免遭自动氧化损害，增强T和B淋巴细胞增殖反应；刺激效应T细胞功能；增强巨噬细胞、细胞毒T细胞和自然杀伤细胞功能。BC免疫增强作用是与其抗氧

化如淬灭单线态氧有关。而VA的抗氧化能力弱并且不能淬灭单线态氧⁽¹⁰⁾。可见，BC并非单纯地作为一种VA原，而其他生物学效应，如抗氧化作用、增强免疫功能则是十分重要的，并且日益引起人们的重视。

总之，本研究结果表明，抗氧化功能和免疫功能低下的尘肺病人，通过口服富含BC的EDS，随着血清BC含量的增高，抗氧化功能增强、细胞免疫功能得到改善。因此在尘肺病人的辅助治疗中，EDS有着重要的应用价值。

4 参考文献

- 1 Donald A. Rising star of preventive medicine. Bestways 1987; Aug. 12
- 2 Ziegler RG. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. J Nutr 1989; 119:116
- 3 Ben-Amotz A. The biotechnology of cultivating Dunaliella for production of beta-carotene rich algae. Bioresoure Technology 1991; 38:233
- 4 Schwartz J and Shklar G. Regression of experimental hamster cancer by beta-carotene and algae extracts. J Oral Maxillofac Surg 1987; 45:510
- 5 Burton GW. Antioxidant action of carotenoids. J Nutr 1989; 119:109
- 6 Burton GW. Zngold Beta-carotene, an unusual type of lipid autioxidant. Science 1984; 224:569
- 7 Bendich A. Carotenoids and the immune response. J Nutr 1989; 119:112
- 8 薛乐勋, 等. 盐藻提取物预防肌氨酸乙脂盐酸诱发的小鼠前胃鳞癌. 中华预防医学杂志 1993; 27(6): 350
- 9 张惠贞, 等. 尘肺病人血清Beta-胡萝卜素和抗氧化功能的研究. 中华劳动卫生职业病杂志1994; 12(2): 89
- 10 Edes TE, et al. Beta-carotene and aryl hydrocarbon hydroxylase in the rat; An effect of beta-carotene independent of vitamin A activity. J Nutr 1989; 119:796
- 11 中华人民共和国国家标准. 尘肺X线诊断标准及处理原则. GB3906-86. 北京: 标准出版社, 1986; 11: 01

更正：本刊1994年第7卷第6期336页“《中国工业医学杂志》第二届特邀编委”左栏第二行中的“王培成”，应为“刘培成”，特此更正，并向本人致歉。

Abstracts of Original Articles

P₃₀₀ in 32 Patients with Acute Carbon Monoxide Poisoning

Wang Yuping, et al

Event-related potential (P₃₀₀) and neurobehavioral core test battery (NCTB) have been widely used for reflecting the dysfunction of central nervous system.

32 cases of acute carbon monoxide poisoning were examined with P₃₀₀ and NCTB.

The results showed that the latency of P₃₀₀ was extended and the amplitude was lowered in poisoning group extended than that of control group. It was found that the latency of P₃₀₀ of 9 cases were significantly delayed among 17 cases whose coma-time lasted more than 12 hours during acute period. It was suggested that P₃₀₀ might be used for predict the occurrence of the toxic delayed encephalopathy by CO.

The results also showed that there was a good correlation between NCTB and P₃₀₀.

Key words: acute carbon monoxide poisoning, event-related potential (P₃₀₀), neurobehavioral core test battery (NCTB)

Effect of Extracts of Dunaliella salina (EDS) on Antioxidation and Cellular Immune Functions in Patients with Pneumoconiosis

Zhang Huizhen, et al

The effect of EDS on antioxidation and cellular immune function in patients with pneumoconiosis who took EDS capsules (15mg each, twice a day) for 30 days was observed in the study. The results showed that while serum beta-carotene and vitamin A levels increased, blood lipid peroxides (LPO) content markedly decreased ($P < 0.01$), and the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione per-

oxidase (GSH-Px) were significantly increased ($P < 0.01$) than those before administration of EDS. Cellular immune functions, such as the activity of tumor necrosis factor (TNF) and lymphocyte transformation rate (LCTR) improved, that was TNF activity increased ($P < 0.01$) and LCTR raised ($P < 0.05$). It was suggested that was effective in improving antioxidation and immunologic functions of pneumoconiosis patients and was safe at the dose tested, and that it is worthy to do further study on the action of this drug in prevention and treatment of pneumoconiosis.

Key words: pneumoconiosis, beta-carotene (BC), extracts of dunaliella salina (EDS), antioxidation, immunologic function

A Field Trial of Anti-fluoride Effect of Jiefurui

Chen Rongan, et al

80 workers who had continuous exposure to fluoride for 5 or more than 5 years were divided into two groups: group A 42 workers and group B 38 workers. The workers in group A took jiefurui, a mixture made of boron, trace elements, and chinese traditional herbs, for one month. Group B was served as control. In addition, group C of 20 workers was served as an unexposed control group. All workers were observed for one month during exposure to fluoride. The results showed that the concentrations of urinary fluoride and tetrafluoroborate in workers of group A, as compared with two control groups, were significantly increased, the alkaline phosphatase activity reduced, the content of zinc, copper in serum increased, the ability of red cell immune adherence was enhanced. It suggested that jiefurui might have an