

4,4'-亚甲基双(2-氯苯胺)对小鼠免疫功能的影响

宋春华¹, 许放², 甄铁梅¹, 孟庆瑜¹

(1. 大连大学医学院, 辽宁 大连 116622; 2. 大连市疾病预防控制中心, 辽宁 大连 116021)

摘要: 选择 18~22 g BARB/C 小鼠, 每组 12 只, 以 4,4'-亚甲基双(2-氯苯胺)(MOCA) 0.01 mg/kg、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、1.0 mg/kg 剂量, 每日一次经腹腔注射染毒, 7 d 后进行体液免疫、细胞免疫、非特异性免疫功能及免疫器官脏器系数测定。实验组的抗体形成细胞数、巨噬细胞吞噬指数及吞噬百分数均显著低于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。提示 MOCA 可能对小鼠的体液免疫和非特异性免疫功能产生抑制作用。

关键词: MOCA; 免疫功能; 小鼠

中图分类号: R994.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)06-0375-02

Effect of 4,4'-methylene-(2-ortho-dichloroaniline) (MOCA) on immune function of mice

SONG Chun-hua¹, XU Fang², ZHEN Tie-mei¹, MENG Qing-yu¹

(1. Department of Health Management, Medical School, Dalian University, Dalian 116622, China; 2. Dalian Municipal Center for Disease Prevention and Control, Dalian 116021, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of 4,4'-methylene-(2-ortho-dichloroaniline) (MOCA) on immune function in mice.

Method BARB/C mice (18—22 grams) were divided into six groups each with 12 mice (half males and half females). Four groups of mice were intraperitoneally exposed to 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg and 1.0 mg/kg of MOCA daily for 7 days respectively, with other two groups of mice as control. Their humoral immunity, cellular immunity, nonspecific immune function and viscera coefficient of immune organs (weight ratio) were all measured after exposure. **Result** Plaque forming cells (PFC), phagocytic index and percentage of macrophages were all lower in the exposed mice than those in the controls ($P < 0.05$ and $P < 0.01$).

Conclusion MOCA can inhibit their humoral immunity and nonspecific immunity in mice.

Key words: 4,4'-methylene-(2-ortho-dichloroaniline) (MOCA); Immune function; Mice

4,4'-亚甲基双(2-氯苯胺)(MOCA)是合成橡胶和环氧树脂的熟化剂, MOCA 的致癌性已得到公认, 但其免疫毒性却未见系统报道。本文对 MOCA 的免疫毒性进行了探讨, 报告如下。

1 材料与方法

1.1 试剂

MOCA, 纯度 90%~100%, 购于日本 Tokyokasei 公司。

1.2 实验动物及染毒

选 18~22 g 的 BARB/C 小鼠, 由中国农业科学院黑龙江兽医研究所实验动物中心提供。将实验动物随机分为空白对照(蒸馏水)、溶剂对照(二甲基亚砜, 简称 DMSO)、染毒 MOCA 0.01 mg/kg、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、1.0 mg/kg 共 6 组, 每组 12 只(雌雄各半), 每日一次经腹腔注射, 连续染毒 7 d。

1.3 免疫实验方法

1.3.1 抗体形成细胞(plaque-forming cell, PFC)测定 琼脂平板法^[1]: 染毒第 3 天, 小鼠腹腔注射 0.2 ml (含 3×10^8 个细胞) 绵羊红细胞, 4 d 后处死取脾, 形成脾细胞悬液 (1×10^6 个细胞/ml)。取上述免疫脾细胞与绵羊红细胞各 0.1 ml 制成琼脂平板, 37℃温育 1.5 h 后加入补体, 45 min 后计数空斑

数, 并计算每百万脾细胞内含 PFC 数。

1.3.2 巨噬细胞吞噬功能测定 滴片法^[2]: 染毒结束前 12 h, 小鼠腹腔注射 0.3 ml 5% 鸡红细胞生理盐水悬液, 12 h 后腹腔注射 2.5 ml Hank's 液, 轻轻按摩小鼠腹部后处死, 用长嘴吸管吸出腹腔洗液滴于载玻片上, 置于有湿纱布的搪瓷盘中 37℃温育 30 min, 生理盐水冲洗, 干燥后固定, 油镜下分析 100 个巨噬细胞, 计算其吞噬百分数及吞噬指数 (100 个巨噬细胞吞噬的鸡红细胞总数除以 100)。

1.3.3 酸性 α -醋酸萘酯酶 (ANAE) 活性测定^[3]: 染毒结束后, 取小鼠静脉血 1 ml 用聚蔗糖-泛影葡胺分层液分离单个核细胞, 洗涤沉淀后取 1 滴细胞悬液涂片。取 2.5% 戊二醛滴加于载玻片上, 4℃冰箱固定 10 min 后浸入反应液, 37℃恒温水浴 3 h。甲基绿复染后, 油镜下计数 100 个淋巴细胞, 计算 ANAE 阳性率。

2 结果

2.1 MOCA 对小鼠脏器系数的影响

各实验组小鼠胸腺和脾脏的脏器系数与 DMSO 组比较, 差异未见显著性。

2.2 MOCA 对小鼠体液免疫和非特异性免疫功能的影响

各染毒组的 PFC 数、巨噬细胞吞噬百分数和吞噬指数均显著低于 DMSO 组, 并有剂量-反应关系, 见表 1。

收稿日期: 2004-01-13; 修回日期: 2004-03-01

作者简介: 宋春华(1963-), 女, 教授, 研究方向: 免疫毒理学。

表 1 抗体形成细胞及巨噬细胞吞噬功能测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

受试物	剂量	动物数 (只)	PFC 数 (个/10 ⁶ 细胞)	吞噬百分数	吞噬指数
蒸馏水	10 ml/kg	12	160.1 ± 28.9	74.0 ± 12.5	2.5 ± 0.5
DMSO	10 ml/kg	12	152.0 ± 32.7	72.1 ± 11.5	2.4 ± 0.5
MOCA	0.01 mg/kg	12	52.6 ± 4.1 *	63.1 ± 9.1 *	2.2 ± 0.3 *
	0.1 mg/kg	12	17.3 ± 2.8 **	56.8 ± 11.1 **	1.9 ± 0.2 **
	0.2 mg/kg	12	3.3 ± 0.6 **	42.4 ± 10.0 **	1.7 ± 0.2 **
	1.0 mg/kg	12	2.5 ± 0.5 **	38.4 ± 6.1 **	1.5 ± 0.1 **

与 DMSO 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.3 MOCA 对小鼠细胞免疫功能的影响

蒸馏水对照组的 ANAE 阳性率为 (59.4 ± 6.4)%, DMSO 组为 (57.1 ± 6.0)%, 各染毒组的 ANAE 阳性率均在 40% ~ 60% 之间, 与 DMSO 组比较差异无显著性。

3 讨论

目前国际癌症研究机构已将 MOCA 列为动物肯定致癌剂, 人类潜在致癌剂^[4]。机体免疫系统对外源性化学物质极为敏感。本次实验从体液免疫、细胞免疫、非特异性免疫及免疫器官脏器系数等方面探讨了 MOCA 对 BARB/C 小鼠免疫功能的影响。

在本实验条件下, MOCA 对小鼠的体液免疫功能和非特异性免疫功能表现出明显的抑制作用, 提示 MOCA 进入动物体内后, 可能首先引发体液免疫功能和非特异性免疫功能的改变, 细胞免疫功能的变化相对落后。

MOCA 对小鼠免疫功能的损伤作用, 可能与 MOCA 在体内的代谢过程有关。MOCA 在体内代谢时可形成活性中间产物, 其与组织氧反应生成活性氧自由基, 使细胞膜发生脂质过氧化, 损伤了细胞膜, 使膜流动性降低^[5]。MOCA 对人类是否也有类似的作用尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 靳菊情. 长松萝多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国药杂志, 2003, 6: 431-433.
- [2] 王林跃. 补金片对小鼠免疫功能的影响 [J]. 长春医学院学报, 2002, 18 (2): 52.
- [3] 张德明. 法氏囊提取物对小鼠免疫功能的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2002, 25 (3): 70-74.
- [4] WHO IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans [Z]. 1974, 4: 65-71.
- [5] 徐晓莹. MOCA 对大鼠红细胞膜流动性的影响 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 1998, 32 (6): 428-429.

镍对大鼠脑组织一氧化氮、一氧化氮合酶的影响

孙应彪, 朱玉真

(兰州医学院公共卫生学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 给大鼠腹腔注射染毒硫酸镍 1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5.0 mg/kg 每日 1 次, 连续 2 周。用原子吸收分光光度法检测脑组织中 Ni 含量; 酶法检测脑组织中一氧化氮 (NO) 含量和一氧化氮合酶 (NOS) 活性。结果显示硫酸镍腹腔注射染毒后脑组织中镍含量显著增多, 使一氧化氮合酶 (NOS) 活性增强的同时引起一氧化氮 (NO) 含量的升高。提示镍可透过血脑屏障进入脑组织, 引起一氧化氮 (NO) 过量合成而致中枢神经损伤。

关键词: 硫酸镍 (NiSO₄); 中枢神经损伤; 一氧化氮 (NO); 一氧化氮合酶 (NOS)

中图分类号: O614.813 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)06-0376-02

Effects of nickel sulfate on nitric oxide and nitric oxide synthase in brain tissues of rats

SUN Ying-biao, ZHU Yu-zhen

(School of Public Health, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Nickel sulfate was injected intraperitoneally for normal Wistar rats with sexual maturation at varied doses of 1.25 mg/kg, 2.50 mg/kg and 5.00 mg/kg daily for two weeks. Brain homogenate of the rats was prepared. Content of nickel in brain tissues was assessed with atomic absorption spectrophotometry, and activity of nitric oxide synthase (NOS) and content of nitric oxide (NO) were examined by enzyme assay. Results showed that contents of nickel and NO in the brain tissues increased and activity of NOS boosted up significantly in the rats exposed to nickel sulfate. All these indicate that excessive exposure to nickel sulfate, which can permeate through the blood-brain barrier and accumulate in the brain tissues, can cause over-synthesis of NO and increase activity of NOS in the brain tissues of the rats so as to damage their central nervous system.

Key words: Nickel sulfate (NiSO₄); Central nervous system; Injury; Nitric oxide (NO), Nitric oxide synthase (NOS)

镍是常见的工业和环境污染物之一。镍化合物是一类

多器官毒物, 可累及心、肝、肾、肺、血液等多种重要器官^[1,2]。据报道可溶性镍盐动物急性毒性可致震颤、舞蹈症、瘫痪等神经系统症状及中枢神经系统水肿^[3]。但镍化合物对中枢神经系统损伤机制的探讨, 国内外少见报道。因此, 本

收稿日期: 2003-08-21; 修回日期: 2003-10-08

作者简介: 孙应彪 (1967-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 重金属镍、铬、钴毒性及其防治。