

老化对人体白细胞功能的影响

王 鑫 吴梧桐

(生物化学教研室)

摘要 本文比较了不同年龄不同性别的人体外周血白细胞在PHA诱导下DNA和蛋白质合成的能力及IL-2的产生水平。结果表明，在30岁至65岁年龄组之间，上述三项指标均平行下降，DNA合成下降50%，蛋白质合成下降43%，IL-2水平下降47%；同时发现该三项指标在两性间似无明显差异。说明在人体衰老过程中人外周血白细胞的IL-2产生明显下降，这可能与老龄人群免疫功能系统功能降低有关。

关键词 老化；白介素-2；人外周血白细胞

大量实验证明，动物随着年龄的增长免疫功能明显降低^[1,2]，尤其是丝裂原诱导的T淋巴细胞增殖分化的降低。白介素-2(IL-2)是由T淋巴细胞在丝裂原刺激下产生的，它与T淋巴细胞表面受体相结合，促使了T淋巴细胞的增殖和分化^[3]。

最近我们发现，老龄大鼠淋巴细胞IL-2的产生明显降低，同时导致了T淋巴细胞增殖作用的下降。进一步研究表明，IL-2水平的降低是由于老龄大鼠淋巴细胞IL-2 mRNA水平降低造成的^[4,5]。为了进一步研究人体老化过程中IL-2产生和变化与IL-2基因表达的关系，我们初步以不同年龄、不同性别的人群为对象，分别测定人体外周血白细胞(WBC)在PHA诱导下DNA和蛋白质的合成能力以及IL-2的产生水平。实验结果表明，老人无论男性或女性，其外周血白细胞IL-2的产生水平都呈下降趋势，并与DNA合成、蛋白质量合成以及淋巴细胞增殖变化相平行。

材料与方法

一、WBC的分离

将不同性别健康人的新鲜血液分为两个年龄组，每组8人。肝素抗凝并按常规法分离白

细胞，适当洗涤后重新悬于20%CS-RPMI 1640培养液中，调整细胞浓度 2×10^6 cell/ml。

二、DNA合成的测定

将WBC(5×10^5 cell/孔)置于96孔培养板，加PHA使最终浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ，在 37°C 含5%CO₂的条件下培养42 h后加入[³H]-TdR，继续培养6 h，用多孔细胞收集器收集细胞，加闪烁液进行计数。

三、IL-2的产生及活性测定

WBC(2.5×10^6 cell/ml)在PHA刺激下($10 \mu\text{g}/\text{ml}$)培养48 h，离心收集上清液，然后按改进的Gillis法分析IL-2的活性^[6]。即以上清液支持依赖于IL-2的CTC的生长情况测定IL-2的活性。测定时将CTC配成 5×10^6 cell/ml的细胞悬液(其中不含IL-2)并置于96孔板中，每一孔中加入适量待测上清液，培养18 h后加[³H]-TdR，继续培养6 h，收集细胞并加闪烁液进行计数。

四、蛋白质合成的测定

将WBC(1×10^6 cell/孔)置于96孔培养板，加PHA使其浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ，同时加入 7.4×10^4 Bq [³H]-Val，在 37°C 含5%CO₂的环境下培养6 h，加入定量的三氯醋酸，然

后收集细胞并测定沉淀物的放射活性。

结 果

一、不同年龄人体 WBC 的增殖变化

用常规的细胞计数法观察三个年龄组的 WBC 在 PHA ($10 \mu\text{g/ml}$) 诱导下培养 48 h 后的细胞数, 结果表明其细胞数随着年龄的增长明显下降, 在 30 岁到 65 岁之间下降了近 50%, 如图 1 所示。

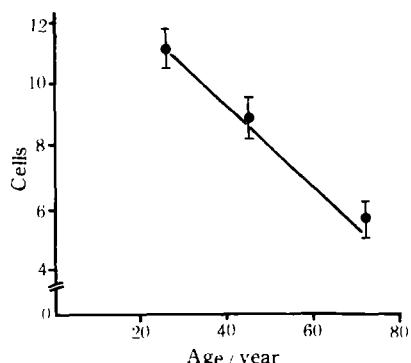


Fig 1. Change of WBC proliferation with age

二、不同年龄及不同性别人体 WBC DNA 合成和 IL-2 产生水平的改变

为确定 PHA 诱导的 WBC DNA 合成和 IL-2 产生水平的最适剂量和最佳反应时间, 实验观察了 WBC 合成 DNA 和产生 IL-2 的剂量反应曲线和时间动态曲线(见图 2, 3)。

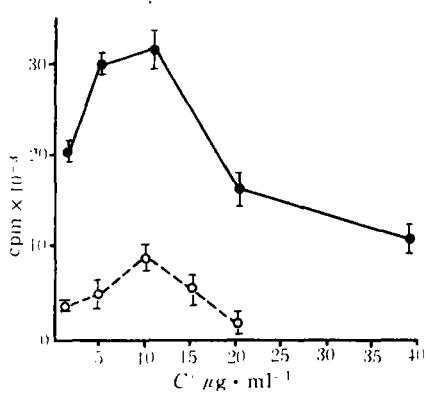


Fig 2. Effect of PHA concentration on DNA synthesis and IL-2 production in WBC

●—● DNA synthesis; ○—○ IL-2 production

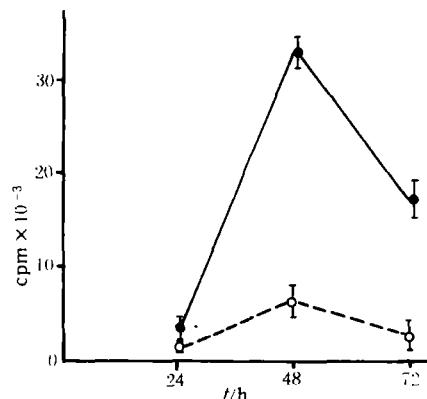


Fig 3. Time course of DNA synthesis and IL-2 production of WBC with PHA stimulation

●—● DNA synthesis; ○—○ IL-2 production

结果表明, PHA 诱导 WBC 合成 DNA 和产生 IL-2 的最适剂量均在 $10 \mu\text{g/ml}$ 左右; 最佳时间为 48 h。为进一步分析老化过程中不同性别人体 WBC 产生 IL-2 和合成 DNA 的动态变化, 在最适剂量 PHA ($10 \mu\text{g/ml}$) 刺激下, 于最佳时间 (48h) 比较了不同性别的小于 30 和大于 65 岁年龄组人体 WBC 产生 IL-2 和 DNA 合成的变化。(见表 1, 2)。

Tab 1. IL-2 Production by PHA-induced human WBC of different ages and sexes

Age	Sex	No. stimulated,	Control, CPM ± SE		Index %	Change, %
			CPM ± SE	Index %		
30	men	8	8065 ± 524	519 ± 20.8	15.5	100
	women	8	9915 ± 655	534 ± 26.5	18.5	100
65	men	8	3861 ± 214	417 ± 51.8	8.2	52.9
	women	8	4230 ± 303	522 ± 62.6	8.1	44

Index = $\frac{\text{CPM}_{\text{test}}}{\text{CPM}_{\text{control}}}$

Tab 2. Effect of age and sex on DNA synthesis in human WBC stimulated with PHA

Age	Sex	No.	Stimulated cultures, CPM ± SE	Control, CPM ± SE		Index %	Change, %
				CPM ± SE	Index %		
30	men	8	40001 ± 1431	2640 ± 124	15.2	100	
	women	8	83903 ± 3880	4220 ± 201	19.9	100	
65	men	8	17233 ± 844	2266 ± 101	7.6	50.2	
	women	8	33881 ± 1661	4214 ± 212	8.0	40.2	

结果表明, 老化过程中 WBC 产生 IL-2

的能力明显下降，在30岁到65岁之间，WBC产生的IL-2水平均降低了50%。WBC DNA合成下降了近60%，其中男性下降了50%，女性下降了59.8%。

三、不同年龄及不同性别人体WBC蛋白质合成的改变

在分析WBC DNA合成和IL-2产生水平的同时，我们还发现人体WBC蛋白质合成也随年龄的增加而明显下降，见表3。

Tab 3. Effect of age and sex on protein synthesis in human WBC stimulated with PHA

³ H-Valine incorporation						
Age	Sex	No.	Stimulated cultures, CPM ± SE	Control, CPM ± SE	Index	Change, %
30	men	8	12217 ± 654	1012 ± 43.9	11.9	100
	women	8	13582 ± 641	1037 ± 13.1	13.1	100
65	men	8	6878 ± 426.1	1010 ± 40.8	6.8	57
	women	8	6790 ± 454.2	996 ± 43.8	6.8	51.9

结果表明，由30岁到65岁，WBC的蛋白质合成下降了近50%。其中男性下降43%，女性下降了48.1%。

通过对不同年龄和不同性别人体WBC DNA合成，IL-2产生以及蛋白质合成的实验观察，发现在老化过程中这些参数都明显下降，而且变化动态基本相平行，见图4。

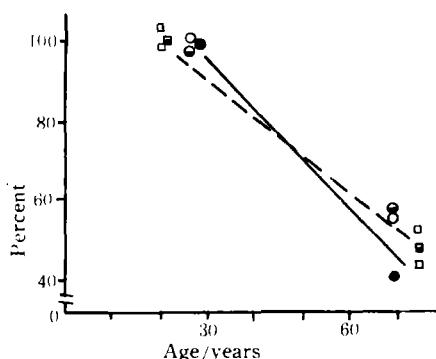


Fig 4. The effect of age on DNA synthesis, IL-2 production and protein synthesis

- men women DNA synthesis
- ■—■ IL-2 production
- □—□ Protein synthesis

讨 论

实验表明，无论性别如何，随着年龄的增加，其WBC的DNA和蛋白质合成以及IL-2的产生均呈平行下降趋势，并与WBC的增殖变化相一致，这说明随着年龄的增长，WBC在细胞水平和分子水平上都表现出对丝裂原的增殖应答明显降低，而且和IL-2产量的减少密切相关；这与以大鼠为研究对象得出的结论完全一致^[4, 5]。已有许多证据表明，不论是对于人类还是实验动物，IL-2的产量会因老化大量减少^[7-9]，而且与IL-2基因表达的下降密切相关^[4, 5]。因此推断，IL-2基因表达的下降是老化过程中淋巴细胞有丝分裂下降的关键因素，很可能是淋巴细胞老化进程的重要标志，是老化机体免疫功能减退的重要分子基础。根据这一机理，拟设想以IL-2的产生及其基因表达作为研究抗衰老药物的有关指标。本实验室正以此来筛选具有恢复IL-2基因表达功能的抗衰老药物，并已取得初步结果^[10]。

因为女性平均寿命高于男性，实验试图从免疫学角度对这一现象予以探讨。初步结果表明，两性间在老年期其WBC的DNA和蛋白质合成以及IL-2的产量方面似乎无明显差别。

参 考 文 献

- 1 Makinodan T. Mechanism of senescence of immune response. *Fed Proc* 1978; 37: 1239-42
- 2 Krogsrud RL and Perkins EH. Age-related change in T cell function. *J Immunol* 1977; 118: 1607-10
- 3 Robb RJ. T cell growth factor receptors. *J Exp Med* 1981; 154: 1455-8
- 4 吴梧桐, Cheung HT, Richardson A, et al. 老化过程中IL-2基因表达的改变. 生物化学与生物物理学报 1988; 20(1): 21-7
- 5 Wu WT, Cheung HT. The effect of aging on the expression of interlukin 2 messenger ribonucleic acid. *Cellular Immunol* 1986; 100: 224-7
- 6 Cheung HT, Richardson A. Mechanism of the age-related decline in lymphocyte proliferation: Role of IL-2 production and protein synthesis. *Exp Gerontol* 1983; 18: 451-60
- 7 Chang MP, and Makinodan T. Role of T cells and adhesion

- ent cells in age-related decline in murine interleukin 2 production *J Immunol* 1982; 129 : 2426-30
- 8 Thoman ML and Weigle WO. Cell-mediated immunity in aged mice: An underlying lesion in IL-2 synthesis *J Immunol* 1982; 128 : 2358-62
- 9 Thoman M L and Weigle W O. Lymphokines and Aging: Interleukin-2 production and activity in aged animals. *J Immunol* 1981; 127 : 2102-8
- 10 吴梧桐, 高向东. 当归及其成分阿魏酸对小鼠脾淋巴细胞的作用. 中国药科大学学报 1989; 20(4) : 219-22

Effect of Aging on the Function of Human White Blood Cell

Wang Xin, Wu Wutong

Department of Biochemistry

We reported that the expression of IL-2 gene in rat decreased distinctly with aging. In these further studies, DNA and protein synthesis and IL-2 production of WBC from human peripheral blood of different ages and different sexes were determined by PHA stimulation. The results demonstrated that DNA, protein synthesis, and IL-2 production declined simultaneously in the age group of sixty five years in contrast with the age group of thirty years. All three parameters decreased by 50%, 43% and 48% respectively in men and 59.8%, 48.1% and 56% in women, but no difference was found between old men and old women. The results demonstrated that the IL-2 production from human peripheral WBC declined drastically with aging. The lowered production of IL-2 contributed to the overall decline in T cell proliferation by mitogenic stimulation. Therefore, the decline of IL-2 production appears to be the cause of the age-related decline in immune function of old people.

Key words Aging; Interleukin 2; Human white blood cell

粉防己地上部分的化学成分研究

司端远 导师: 赵守训

(中草药化学教研室)

为全面了解中药防己的化学成分, 我们继续从粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 植物地上部分中得到十一个单体。鉴定为防己双黄酮甲 (stephaniaflavone A)、防己双黄酮乙 (strphaniaflavone B)、 β -谷甾醇和正三十五烷、防己醌碱 (stephadione)、紫堇醌碱 (corydione)、南天竹啡碱 (nantenine)、氧化南天竹啡碱 (oxonantenine)、无根藤新碱 (cassythicine)、无根藤米里丁 (cassameridine) 和粉防己碱 (tetrandrine)。其中除 β -谷甾醇和粉防己碱外均属首次自该植物中得到, 防己醌碱为新的 4,5-二氧阿朴啡类化合物, 防己双黄酮甲和防己双黄酮乙为具有新结构类型的双黄酮类化合物, 这也是首次在防己科植物中发现双黄酮。

我们广泛地研读了有关文献, 对测定双黄酮类化合物的化学结构时曾使用过的化学沟通反应、全合成以及各种光谱方法进行了总结; 还综述了 1990 年前所发现的全部 4,5-二氧阿朴啡类化合物的植物来源、生物合成途径、物理化学性质及人工合成方法, 并总结出了该类化合物的光谱特征与规律。 (全文待发表)

头花千金藤块根的化学成分研究

邓京振 导师: 赵守训

(中草药化学教研室)

头花千金藤系防己科千金藤属植物 *Stephania cephaelanthoides* Hayata, 其块根为民间常用草药, 俗称“白药”。其化学成分研究始于 1938 年, 从中分离得到了多种生物碱, 但我国大陆产头花千金藤的化学成分研究则未见报道。我们对江西头花千金藤的块根进行了初步化学成分研究, 从中分离得到七种生物碱, 通过理化性质、光谱分析和化学方法鉴定了其中五种, 分别为 isocorydine (I), cycleanine (II), cepharanthine (III), berbamine (IV) 和 (V)。V 为新化合物, 命名为头花藤啡碱 A (Cepharanmorphine A)。 (全文待发表)