

[文章编号] 1000-4718(2007)07-1368-05

氧化苦参碱对淋巴细胞增殖和调节性 T 细胞 (Tr) 数量的影响

伍斌¹, 曾耀英^{3△}, 蔡小嫦², 施军², 丛林², 王通³, 曾祥凤³
(¹中南大学湘雅一医院皮肤科, 湖南长沙 410008; ²暨南大学²附属第一医院皮肤科,
³组织移植和免疫中心教育部重点实验室, 广东广州 510632)

[摘要] 目的: 分析氧化苦参碱(OMT)对小鼠外周血调节性 T 细胞(Tr 细胞)数量及其对刀豆蛋白 A(Con A)刺激的小鼠淋巴结 T 细胞增殖的影响, 探讨 OMT 治疗 ACD 的免疫学机制。方法: 建立 DNFB 诱发的小鼠 ACD 模型, 腹腔注射(ip)不同剂量的 OMT、PBS、氢化可的松(HCT), 在实验的第 1 d、7 d、14 d、21 d、28 d 小鼠尾静脉采血, 应用抗-CD3、抗-CD4、抗-CD25 单抗进行免疫荧光标记, 流式细胞术检测各组 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量。利用羧基荧光素乙酰乙酸(CFDA-SE)染色, 流式细胞术检测 OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖的影响。结果: 500、125 和 31 mg/L OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖呈剂量依赖性抑制, 而 16、8、4、2 mg/L OMT 可促进小鼠淋巴结 T 细胞增殖, 但剂量依赖关系不明显。腹腔注射 OMT 能明显提高小鼠外周血中 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量, 与 HCT 组、PBS 组比较(P<0.01)。结论: OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖呈双向作用; 腹腔注射 OMT 能明显提高小鼠外周血中 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量; 提示: OMT 是一种双向免疫调节剂。

[关键词] 苦参碱; T 淋巴细胞

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Effects of oxymatrine on lymphocyte proliferation and the quantity of regulatory T cells

WU Bin¹, ZENG Yao-ying³, CAI Xiao-chang², SHI Jun², CONG Lin², WANG Tong³, ZENG Xiang-feng³

(¹ Department of Dermatology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; ² Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital, ³ Laboratory of Tissue Transplantation and Immunology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

[ABSTRACT] AIM: To analyze the effects of oxymatrine (OMT) on the quantity of murine regulatory T cells (Tr cells) in the peripheral blood and mouse lymphocyte proliferation stimulated by Con A, and to probe into the immunological mechanism that OMT treats allergic contact dermatitis (ACD). METHODS: An ACD mouse model stimulated by dinitrofluorobenzene (DNFB) was established. Different dosages of OMT, PBS and hydrocortisone (HCT) were intraperitoneally injected (IP) into the mice. Blood samples were collected at 1 d, 7 d, 14 d, 21 d and 28 d, then the T cells were isolated and marked with anti-CD3, anti-CD4, anti-CD25 three-colored immune fluorescence antibody to detect the quantity of CD4⁺CD25⁺T cells with flow cytometry. The fluorescence intensity changes of lymphocytes which were isolated from mouse's lymph node and co-stimulated by polyclonal stimulator Con A and OMT were examined by carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFDA-SE) staining and flow cytometry. RESULTS: OMT at concentrations of 500, 125 and 31 mg/L had the ability to restrain the proliferation of lymphocytes from lymph node in a dose dependent manner. However, OMT at concentrations of 16, 8, 4 and 2 mg/L promoted the proliferation of T lymphocytes from lymph node, but was not obviously dependent on its concentration. Intraperitoneal injection of OMT increased the numbers of CD4⁺CD25⁺T cell in peripheral blood obviously (P<0.01). CONCLUSION: The effects of OMT on the proliferation of T lymphocytes from mouse's lymph node cells are observed, OMT also increases the CD4⁺CD25⁺T cells in the peripheral blood, implying that OMT is a kind of immunoregulator with dual effects.

[KEY WORDS] Matrine; T-lymphocytes

[收稿日期] 2005-10-08 [修回日期] 2005-12-19

△通讯作者 Tel: 020-85226219

氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)又名苦参素,是从中药苦参中提取的主要生物碱。研究表明:OMT对小鼠脾脏T细胞、B细胞分化、增殖和细胞因子的产生有明显的调节作用,可明显抑制I-IV型变态反应^[1]。OMT对免疫系统影响的文献报道不多,对调节性T细胞影响的研究罕见报道。羧基荧光素乙酰乙酸(carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester, CFDA-SE)是一种染细胞结构蛋白的荧光染料,可在活细胞中稳定存在2周以上并随细胞分裂而平均分布到子代细胞中。因此,利用流式细胞术检测CFDA-SE荧光强度可分析细胞在不同分裂代数中的数量分布^[3]。本研究利用CFDA-SE染色、流式细胞术研究OMT对刀豆蛋白A(Con A)刺激的小鼠淋巴结T细胞增殖的影响,同时采用三色免疫荧光抗体标记,流式细胞术量化研究OMT对小鼠外周血调节性T细胞^[4,5]数量的影响,从体内、外观察OMT对小鼠免疫系统的影响,为临床应用OMT治疗变态反应性疾病和其它相关皮肤病提供理论依据。

材 料 和 方 法

1 材料

1.1 实验动物 SPF级BALB/c小鼠48只,雌性,8-10周龄(20±2)g,用于检测其外周血中Tr细胞数;SPF级BALB/c小鼠20只,雌雄各半,8-10周龄,体重(20±2)g,用于制备淋巴细胞悬液;以上动物均购自广东省医学实验动物中心。

1.2 仪器 Megafuge 1.0R型恒温离心机,德国Herculeus公司生产;FACScalibur流式细胞仪,美国BectonDickin公司生产。

1.3 药品及试剂 苦参素注射液(塞奇松),批号:20040701,兰州大得利生物化学制药有限公司生产;DNFB由日本生产,批号:20040301;橄榄油(olive oil)批号:F20030725,上海化学试剂厂生产;丙酮(acetone),批号:030980,天津市化学试剂一厂;Vybrant™CFDA-SE Cell Tracer Kit(c-1288),购自Molecular Probes公司,Con A、RPMI-1640、胎牛血清、L-谷氨酰胺、β-二巯基乙醇均购自Sigma公司。FACScalibur流式细胞仪为Becton Dikison公司产品;rat-anti-mouse CD3-PE、rat-anti-mouse CD4-cy-chrome、rat-anti-mouse CD25-FITC等购自BD Pharmingen公司。多聚甲醛和红细胞裂解液本实验室配置。

2 方法

2.1 建立DNFB小鼠变态反应性接触性皮炎(ACD)模型 BALB/c小鼠于实验开始当天腹部去毛,面积约3 cm×1 cm,在去毛部位涂0.5%的DNFB(DNFB在临用前用4:1的丙酮橄榄油配制)30 μL致敏1次,致敏后第7 d于小鼠右耳背、腹两

面涂0.2% DNFB共计25 μL诱发ACD,左耳涂等量的AOO基质(acetone:olive oil=4:1)作为对照。于第21 d再在腹部致敏1次,第28 d再在右耳诱发ACD^[10]。

2.2 给药方法 将48只BALB/c小鼠随机分成6组,即PBS组(该组小鼠每天ip 20 mL/kg PBS),OMT 0组、OMT 1组、OMT 2组、OMT 3组(4组小鼠分别每天ip氧化苦参碱50、25、50和100 mg/kg)以及HCT组(每天ip氢化可的松25 mg/kg),均给药28 d。

2.3 淋巴细胞悬液的制备及CFDA-SE染色 将BALB/c小鼠断髓处死,无菌分离双侧腋窝、锁骨下、腹股沟浅表淋巴结和肠系膜淋巴结,去掉被膜,于200目尼龙网筛用PBS过滤。收集细胞,用冷PBS离心(300×g,5 min)洗涤细胞2次,悬浮于PBS。CFDA-SE用DMSO溶解成10 mmol/L的储存液,-20℃保存,临用前,取适量用PBS稀释成2 μmol/L工作液,平衡至室温备用。调整淋巴细胞悬液的浓度为2×10¹⁰ cells/L,加入等体积CFDA-SE工作液(终浓度1 μmol/L),充分混匀后在室温下轻轻振荡10 min,然后用PBS离心(300×g,5 min)洗涤细胞2次,悬浮于含100 mL/L FBS的RPMI-1640完全培养液中,并调整细胞浓度为2×10⁹ cells/L。

2.4 OMT对淋巴细胞增殖的影响 将上述经CFDA-SE标记的淋巴细胞接种于24孔细胞培养板,分别设置空白对照组(control)、Con A、Con A+OMT 500 mg/L、Con A+OMT 125 mg/L、Con A+OMT 31 mg/L、Con A+OMT 16 mg/L、Con A+OMT 8 mg/L、Con A+OMT 4 mg/L、Con A+OMT 2 mg/L等组,定容1 mL/well,各浓度设立3个复孔,上述各实验组Con A终浓度均为10 mg/L。在37℃、5% CO₂条件下培养,培养48 h和72 h检测各代细胞的CFSE荧光强度(FI1)。

2.5 小鼠外周血CD4⁺CD25⁺T检测 第1 d、7 d、14 d、21 d和第28 d小鼠尾静脉采血,每只小鼠采血40 μL,肝素钠抗凝,每组采血8只,各样本加入anti-CD3-PE 2 μL(浓度为0.2 g/L)、anti-CD4-cy-chrome 1.5 μL(浓度为0.2 g/L)、anti-CD25-FITC 1 μL(浓度为0.5 g/L)混匀后避光染色15 min,然后加入37℃预热的红细胞裂解液2 mL,37℃水浴裂解红细胞5 min,离心(300×g,5 min),去上清液,加3 mL PBS离心洗涤2次,加400 μL PBS悬浮细胞,流式细胞仪检测。

2.6 淋巴细胞增殖分析 全部数据经FACScalibur流式细胞仪获取。在前散射(forward scatter, FSC)和侧散射(side scatter, SSC)二维散点图中划出淋巴细胞区R1分别对每个组别的细胞FI1强度进行检测。每管样品检测10 000个细胞,所得数据用CELL Quest软件分析。

2.7 流式细胞仪分析 CD4⁺CD25⁺T 细胞表型 全部数据经 FACSCalibur 流式细胞仪获取。先在 FSC 和侧向散射 SSC 的二维散点图中划出淋巴细胞区, 然后对淋巴细胞做 FITC、PE、Cy - chrome 荧光强度检测, 其中 FITC 为荧光 1 (FL1)、PE 为荧光 2 (FL2), Cy - chrome 为荧光 3 (FL3)。每个样品检测 10 000 个细胞。数据表示于散点图中, 以分析 CD3⁺T 细胞中 CD4⁺CD25⁺ 表达情况。确定每次检测阳性细胞百分率之前, 首先根据同类型 (isotype) IgG2_b - FITC 或 IgG1_a - PE 或 IgG1_a - Cy - chrome 染色的非特异性荧光强度设定荧光强度标记, 以确定双阴性、双阳性及单阳性区域。获得数据用 CELLQuest 软件进行分析。

3 统计学处理

所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 for Windows 进行处理, 使用重复测量的方差分析以及两样本均数比较的单因素方差分析。

结 果

1 OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖的影响

1.1 31 - 500 mg/L OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖的影响 培养 48 h 后, 流式细胞仪检测各代细胞的 CFSE 荧光强度变化: 对照组未出现子代峰, 仅仅 1 个原代峰 (图 1A)。Con A 组 (图 1B) 明显出现 3 个峰, 从右至左分别是原代峰、子 1 代峰、子 2 代峰, 与

对照组相比各代细胞荧光强度差异显著。在 Con A + OMT 各剂量组中, 高剂量组即 OMT 500 mg/L 组 (图 1 B), 原代峰显著高于 Con A 组, 而子 1 代峰及子 2 代峰显著低于 Con A 组, 但荧光强度轻度高于对照组; 中剂量组即 OMT 125 mg/L 组 (图 1 C) 亦出现较为明显的子 1 代和子 2 代峰, 原代峰仍然显著高于 Con A 组, 子 1 代和子 2 代峰显著低于 Con A 组; 低剂量组即 OMT 31 mg/L 组 (图 1 D) 亦出现 2 个明显的子代峰, 和 Con A 组比较差异无显著, 和对照组比较, 各代细胞荧光强度差异显著。培养 72 h 后, 各组间荧光强度变化与 48 h 的情况基本一致, 对照组仍为单峰 (图 2A), 未见细胞增殖。Con A 组 (图 2B) 出现多子代峰即细胞增殖明显。Con A + OMT 各剂量组中, 高剂量组即 OMT 500 mg/L 组 (图 2B) 中原代峰显著高于 Con A 组, 各子代峰却显著低于 Con A 组; 中剂量组即 OMT 125 mg/L (图 2 C) 原代峰亦显著高于 Con A 组, 子代峰显著低于 Con A 组; 低剂量组即 OMT 31 mg/L 组 (图 2D) 与 Con A 组比较各代细胞增殖峰值差异无显著, 但和对照组比较差异显著。因此, 培养 72 h 后 OMT 仍显著抑制小鼠淋巴结增殖, 其抑制作用呈明显剂量依赖关系。综上所述: 无论是培养 48 h 还是 72 h, 500、125 和 31 mg/L OMT 均呈剂量依赖地抑制小鼠淋巴结淋巴细胞增殖。

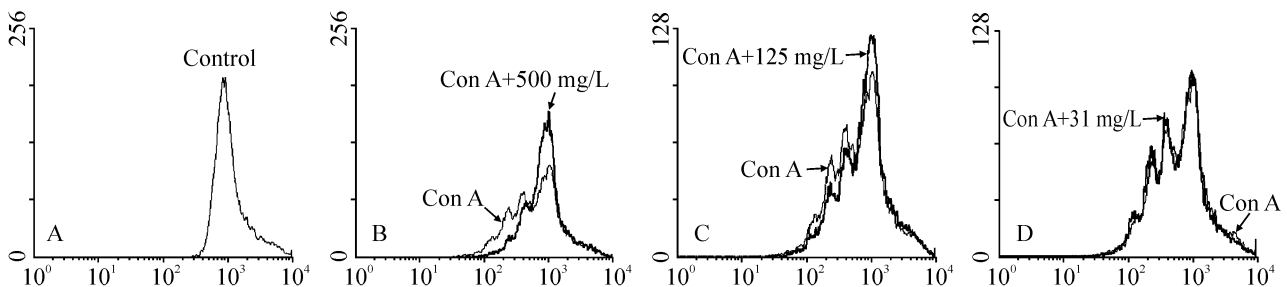


Fig 1 Fluorescence intensity of lymphocytes in each group after culture of 48 h.

图 1 培养 48 h 后各组淋巴细胞的 CFSE 荧光强度 (FL1)

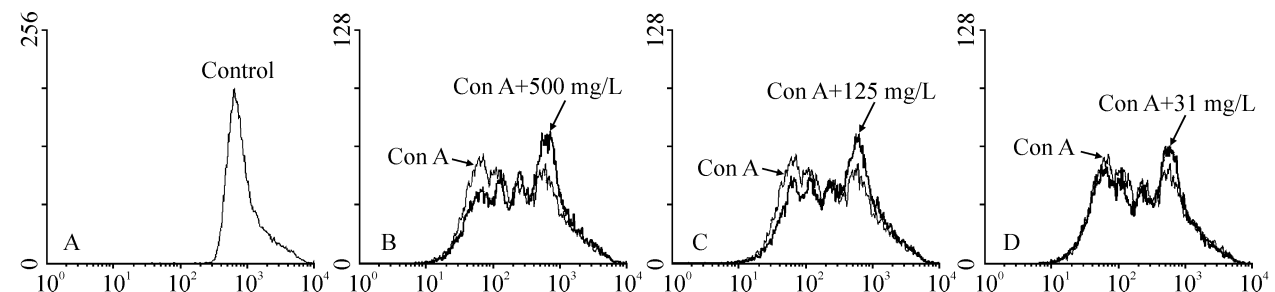


Fig 2 Fluorescence intensity of lymphocytes in each group after culture of 72 h.

图 2 培养 72 h 后各组淋巴细胞的 CFSE 荧光强度 (FL1)

1.2 2 - 16 mg/L OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖的影响 培养 48 h 后, 流式细胞仪检测各代细胞的 CFSE 荧光强度变化: 对照组未出现子代峰, 仅一个原代峰 (图 3E)。Con A 组 (图 3 A) 明显出现 3 个

峰, 从右至左分别是原代峰、子 1 代峰、子 2 代峰, 与对照组相比各代细胞荧光强度差异显著。Con A + OMT 各剂量组中, 在 OMT 16 mg/L 组 (图 3 A), 原代峰和子 2 代峰与 Con A 组无显著差异, 而子 1 代峰

显著高于 Con A 组,且原代峰荧光强度显著低于对照组;在 OMT 8 mg/L 和 OMT 4 mg/L 组(图 3 B、C),亦出现明显子 1 代和子 2 代峰,原代峰显著低于 Con A 组,子 1 代和子 2 代峰显著高于 Con A 组,差异显著;在 OMT 2 mg/L 组(图 3 D)原代峰和 Con A 组比较差异无显著,子 1 代和子 2 代峰较 Con A 组轻度增高,与对照组比较差异显著。培养 72 h 后,各组间荧光强度变化与 48 h 的情况基本一致,对照组仍

为单峰(图 4 E),未见细胞增殖。Con A 组(图 4A)出现多个子代峰即细胞增殖明显。Con A + OMT 各剂量组中,OMT 16 mg/L 组(图 4 A)中原代峰显著低于 Con A 组,各子代峰却显著高于 Con A 组;在 OMT 8 mg/L 和 OMT 4 mg/L (图 4B、C)原代峰亦显著低于 ConA组,子代峰显著高于ConA组;在 OMT 2 mg/L 组(图 4 D)与 Con A 组比较各代细胞增殖峰值无显著差异,但和对照组比较差异显著。

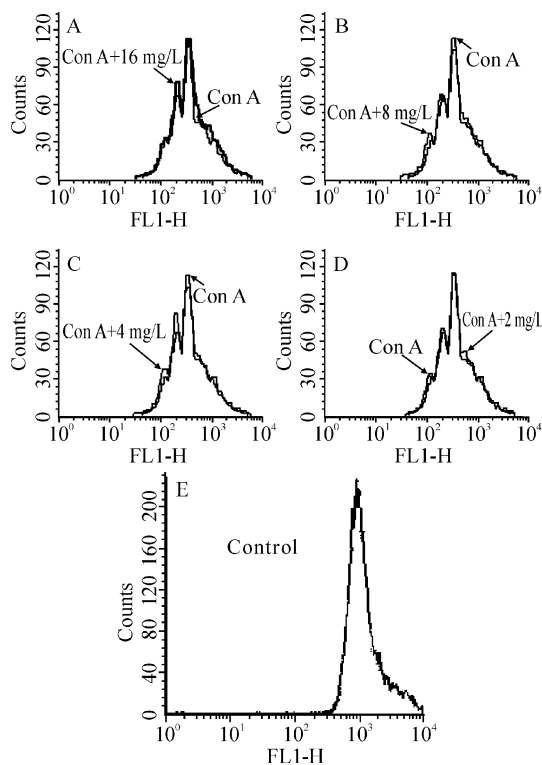


Fig 3 Fluorescence intensity of lymphocytes in each group after culture of 48 h.

图 3 培养 48 h 后各组淋巴细胞 CFSE 荧光强度 (FL1)

2 OMT 对小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞的影响

OMT 各剂量组和 PBS 组小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比例在第 7 d 开始上升,到第 14 d 达最高峰,以后逐渐下降;PBS 组升高和下降幅度都不大,基本维持在正常范围;而 HCT 组小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比例在第 7 d 已下降到最低点,以后维持在 5% 左右

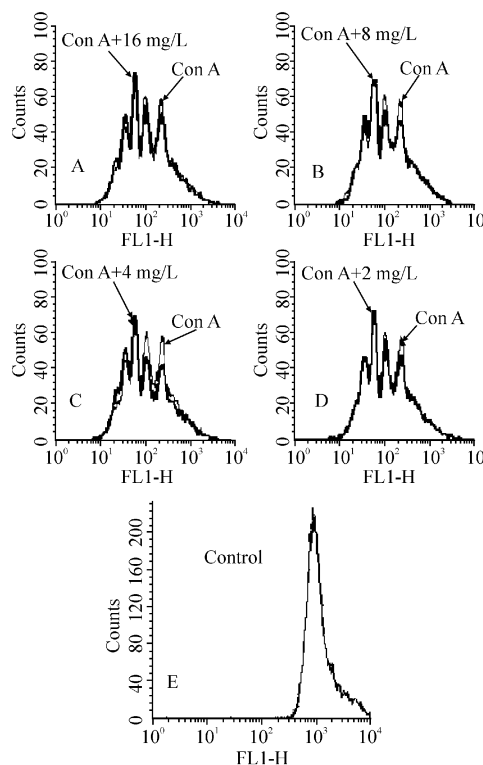


Fig 4 Fluorescence intensity of lymphocytes in each group after culture of 72 h.

图 4 培养 72 h 后各组淋巴细胞的 CFSE 荧光强度 (FL1)

(图 5)。OMT 0、1、2、3 各剂量组以及 HCT 组与 PBS 组比较有显著差异 ($P < 0.01$),而 OMT 0 组与 PBS 组比较亦有显著差异 ($P < 0.05$),HCT 组与 OMT 各剂量组及 PBS 组比较同样有显著差异 ($P < 0.01$)。由表 1 可见 OMT 各剂量组外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比例明显升高,而 PBS 组维持在正常范围, HCT 组外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞占

表 1 OMT 对小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞占 CD4⁺T 比率

Tab 1 Ratio of CD4⁺CD25⁺T to CD4⁺T cells in peripheral blood of mouse (G. $\bar{x} \pm s$. $n = 8$)

Group	Dosage(mg/kg)	d 1	d 7	d 14	d 21	d 28
PBS	0	5.87 ± 0.73 [#]	6.91 ± 0.60 [#]	9.02 ± 0.52 [#]	8.26 ± 0.95 [#]	6.84 ± 0.55 [#]
HCT	25	6.03 ± 0.87 [*]	4.33 ± 0.61 [*]	5.09 ± 0.32 [*]	5.05 ± 0.87 [*]	5.11 ± 0.35 [*]
OMT 0	50	6.15 ± 0.59	9.77 ± 0.14	12.43 ± 0.62	12.74 ± 0.48	11.89 ± 0.30
OMT 1	25	5.96 ± 0.92	9.50 ± 0.38	14.83 ± 0.75	14.46 ± 0.57	11.97 ± 0.47
OMT 2	50	5.97 ± 0.85	12.15 ± 0.37	15.52 ± 1.87	15.41 ± 0.80	12.38 ± 0.88
OMT 3	100	5.99 ± 0.79	12.26 ± 0.57	22.56 ± 0.62	22.08 ± 1.67	15.71 ± 0.91

[#] $P < 0.01$ vs HCT, OMT 0, OMT 1, OMT 2 and OMT 3 groups, respectively; ^{*} $P < 0.01$ vs PBS, OMT 0, OMT 1, OMT 2 and OMT 3 groups, respectively.

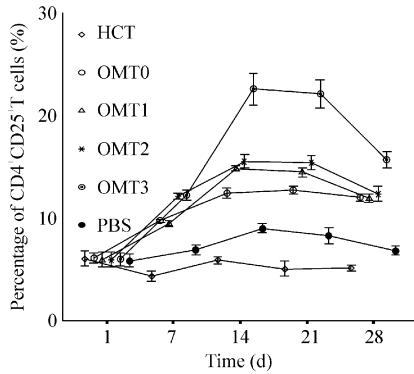


Fig. 5 Variety trend of mice's CD4⁺CD25⁺T cells in each group along with time.

图5 各组小鼠 CD4⁺CD25⁺T 细胞随时间变化趋势

CD4⁺T 细胞的比例明显降低。

讨 论

OMT 具有抗炎、抗病毒、抗肝纤维化和保肝降酶、抗癌、升高白细胞、抗心率失常等多种药理作用，且不良反应较少^[2,6,7]。OMT 被广泛用于治疗乙型肝炎^[13]、皮炎、湿疹^[11]、心率失常和恶性肿瘤^[9]等疾病，疗效确切，但作用机制不甚清楚。OMT 对免疫系统的影响表现为双向调节，但以免疫抑制为主^[2]，可抑制 IL-2 对小鼠 LAK 细胞的促增殖作用及杀瘤活性^[8]、抗体形成细胞产生^[8]、小鼠腹腔巨噬细胞经 LPS 刺激生成肿瘤坏死因子 α (TNF-α)^[12]，降低大鼠血清及胰腺组织内 IL-1、IL-6 和 TNF-α 水平^[12]。我们的研究^[10]发现，OMT 具有强烈抑制 DNFB 诱发的小鼠耳部 ACD 作用，这可能与 OMT 降低小鼠体内 IL-1、IL-6 和 TNF-α 水平密切相关。本研究发现：31-500 mg/L OMT 对小鼠淋巴结 T 细胞增殖呈剂量依赖抑制作用，而低剂量(2-31 mg/L)可促进小鼠淋巴结 T 细胞增殖，显示其免疫调节作用与用药剂量有关。皮下注射较高剂量(75 mg/kg) OMT 可显著抑制小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能，而腹腔注射时无论高(100 mg/kg)、低剂量(5 mg/kg)均无显著影响，显示其免疫调节作用与用药途径有关^[6,7]。有关 OMT 对调节性 T 细胞影响的研究目前罕见报道。本实验重点研究 OMT 对小鼠体内 CD4⁺CD25⁺T 细胞即 Tr 细胞数量的影响并进行了动态观察，结果发现，OMT 能明显提高小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量，而 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量上升的幅度和时间与其抗炎强度和时间密切相关。我们也研究其抗炎强度与用药剂量的关系^[10]，以小鼠双耳厚度差作为判断指标，即在安全剂量范围内(0-375 mg/kg)抗炎强度与剂量呈正相关，推测 OMT 的抗炎作用除与其本身可促进抗炎介质释放外，还与其升高 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量密切相关，实验中发现，停药一段时间后，OMT 仍保持较强抗炎作用，而 PBS 组和 HCT 组无此作用，推测该抗炎作用可能是通过 Tr 细胞维持。至于 OMT 为

什么能升高小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺T 细胞数量本研究未做深入探讨，本研究根本目的意在证实中药免疫调节剂能否诱导 CD4⁺CD25⁺T 细胞产生。推测 OMT 通过影响胸腺和脾脏发育而影响 CD4⁺T 在胸腺和脾脏内发育及 Tr 细胞产生。此外，由于 OMT 能诱导 CD4⁺T 细胞分化，产生 IL-2、TGF-β、IL-10 等细胞因子，也促使 CD4⁺T 细胞分化成 CD4⁺CD25⁺Tr 细胞。再者，DNFB 作为一种半抗原可与机体表皮角质形成细胞蛋白结合形成完全抗原，被皮肤郎罕氏细胞捕获后亦能促使 Trm 细胞扩增并诱导 CD4⁺T 细胞变成 CD4⁺CD25⁺T 细胞^[4]，这一作用也许被 OMT 所强化，这也许是同剂量致敏组(OMT 2 组)和非致敏组(OMT 0 组)之间 CD4⁺CD25⁺占 CD4⁺T 细胞比例不同的原因之一。

[参 考 文 献]

- [1] 马俊江, 陈学荣, 斯拉甫, 等. 氧化苦参碱对 I-IV 型过敏反应的抑制作用[J]. 北京医科大学学报, 1991, 23(6): 445-447.
- [2] 韩春雷, 陈学荣, 马俊江. 氧化苦参碱对大鼠变应性接触性皮炎药效学作用[J]. 北京医科大学学报, 1996, 28(1): 59-61.
- [3] 肇静娴, 曾耀英, 何贤辉, 等. 活体染料 CFDA-SE 在淋巴细胞增殖研究中的应用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2003, 19(2): 109-111.
- [4] Yamazaki S, Iyoda T, Tarbell K, et al. Direct expansion of functional CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells by antigen-processing dendritic cells[J]. J Exp Med, 2003, 198(2): 235-247.
- [5] Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. Regulatory T cells generated *ex vivo* as an approach for the therapy of autoimmune disease[J]. J Immunol, 2004, 16(10): 135-143.
- [6] 张凤玲, 唐永, 张景梅. 苦参碱、氧化苦参碱的药理作用及其制剂的研究进展[J]. 河南中医学院学报, 2004, 19(112): 84-86.
- [7] 李正蓉. 苦参素的药理与临床研究进展[J]. 华西药理学杂志, 2003, 18(6): 435-437.
- [8] 王会贤, 张灵华, 黄义, 等. 氧化苦参碱对 LAK 细胞活性的影响[J]. 免疫学杂志, 1994, 10(1): 17-19.
- [9] 胡雅妮, 王四旺, 谢艳华, 等. 苦参素抗肿瘤作用研究[J]. 辽宁中医学院学报, 2003, 5(1): 3-5.
- [10] 伍斌, 蔡小嫦, 曾耀英, 等. 氧化苦参碱抑制二硝基氟苯所致小鼠接触性皮炎及淋巴细胞增殖[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(5): 931-935.
- [11] 沈志鸿, 吴伊旋, 毛维翰. 苦参素注射液治疗各型湿疹[J]. 中国新药与临床杂志, 2000, 19(6): 473-474.
- [12] 黄秀梅, 李波. 氧化苦参碱对 TNF-α, IL-6 和 IL-8 的影响[J]. 中成药, 2003, 25(11): 903-906.
- [13] 李常青, 李小平. 氧化苦参碱治疗肝病的研究进展[J]. 热带医学杂志, 2003, 3(2): 243-246.