

# 中药异构制斑素对白色念珠菌碱性磷酸脂酶的影响

张永圣 代文英 郭润身\*

(辽宁省大连医学院附属医院真菌室)

近年来对白色念珠菌感染疾病的实验诊断,多限于培养、生化发酵等,需时较长,而且缺乏理想的有效治疗方法。我们应用细胞化学法发现白色念珠菌在培养过程中,菌细胞内碱性磷酸脂酶的阳性指数有一定变化。此发现对快速诊断法的探讨,和抑菌药物的探寻具有实际意义。现将实验结果报告如下。

## 材料与 方法

### 一、材料

1. 白色念珠菌(*C. albicans*):由我室分离保存。该菌在实验前接种在沙伯氏(Sabouraud)培养基上,置 28℃ 温箱培养 24 小时后备用。正常白色念珠菌碱性磷酸脂酶阳性指数为 165。

2. 异构制斑素(即异构补骨脂素):由大连星海药厂供给。

3. 黑光灯:国产 20 瓦,5 支并列安装。测红斑量,灯距 5 厘米,照光 35 分钟,皮肤轻度潮红。

### 二、方法

1. 染色法:先用人血清涂于载玻片上,再将菌细胞悬液均匀涂抹,干燥固定,应用碱性磷酸脂酶金属盐沉淀法染色,而后油镜镜检。

2. 实验方法:将异构制斑素用生理盐水制成 0.5、0.25、0.125 毫克浓度溶液,各溶液取 0.5 毫升置入小试管,高压灭菌。接种白色念珠菌

\* 现山西医学院附属二院皮肤科主治医师。

培养 24 小时后,置 28℃ 温箱培养 1 小时,取出照黑光 1 小时,以后再置温箱培养 24、48 小时后,各照黑光 1 小时。在每次照光后取菌落接种于沙伯氏培养基上,观察菌生长情况。涂片染色,计算碱性磷酸酯酶阳性指数。

3. 菌落观察标准:“—”无菌落生长;“+”5—10 个菌落生长;“++”10 个以上菌落,部分融合成片;“+++”菌落融合成片。

4. 碱性磷酸酯酶阳性指数计算法:观察涂片不同部位的菌细胞 100 个,分级分类计数,各级分类结果乘以级别数,再相加即得。如:在 100 个菌细胞中阳性反应强度分五级“+”:40 个菌细胞;“++”:20 个;“+++”:15 个;“++++”:5 个;“0”:20 个。阳性指数为  $40 \times 1 + 20 \times 2 + 15 \times 3 + 5 \times 4 = 145$ 。

五级的符号表示:“0”阴性;“+”极弱的阳性反应,细胞浆中仅部分区域有棕色沉淀,呈弥散状无颗粒。“++”反应较强,全部细胞浆呈均匀棕色,仅部分见有棕黑色片状沉淀。“+++”反应强,细胞浆充满棕黑色沉淀,黑色密度较低,块状沉淀较少。“++++”反应最强,全部细胞浆呈深黑色,充满致密的块状沉淀,甚之细胞核被遮。

## 实验结果

### 一、照光及药物对菌生长的影响(见表 1)

表 1 照光及药物对菌生长影响\*

菌生长 含药浓度(mg)	照光次数			对照 I
	1	2	3	
0.5	-	-	-	+++
0.25	-	-	-	+++
0.125	-	-	-	+++
对照 III	+++	+++	+++	
对照 II	+++			

\* 对照 I: 含药不照光; 对照 II: 不含药不照光; 对照 III: 不含药照光。

表 1 表明,含不同浓度异构制斑素加黑光照射的,对白色念珠菌有明显抑菌作用。而对照 I、II、III 菌落生长正常。

## 二、照光和药物对菌细胞内碱性磷酸酯酶阳性指数的关系(见表 2)

表 2 照光和药物对碱性磷酸酯酶阳性指数关系

阳性指数 含药浓度(mg)	照光次数			对照 I
	1	2	3	
0.5	100	55	13	134
0.25	100	54	20	131
0.125	100	60	18	157
对照 III	182	184	183	
对照 II	176			

注: 对照 I、II、III 同表 1。

表 2 表明,对照 I 菌细胞内的碱性磷酸酯酶阳性指数是随药物浓度的增高而降低。但含药照光组的碱性磷酸酯酶阳性指数,随照光次数的增加而明显逐渐低下。由此认为异构制斑素加黑光照射对菌细胞内的碱性磷酸酯酶是有破坏作用的。

## 讨 论

近年发现补骨脂的主要成分补骨脂素(制斑素)和异构补骨脂素(异构制斑素)均为感光性物质,而在长波紫外线(320—380 毫微米)作用下活化,因而使细胞核中 DNA 双螺旋发生损害,螺旋间脱开,隆起,其两个相邻的胸腺嘧啶间形成环丁烷环,成为胸腺嘧啶二聚体,抑制 DNA 合成。从而在长波紫外线作用下,也证明对某些真菌和细菌呈抑菌作用<sup>[1,2,3]</sup>,由表一证明了异构制斑素加黑光照射明显抑制白色念珠菌的生长。

碱性磷酸酯酶的作用,为水解有机磷酸盐之磷酸根,供代谢作用的需要,对骨形成,对肾小管上皮细胞和小肠吸收碳水化合物及脂肪有重要作用。此酶对细胞的分化、生长、修复、分泌亦有关系。在分裂、分化和修复的细胞内,本酶的消长与细胞核酸、酶成比例<sup>[4]</sup>。至于白色念珠菌细胞内本酶水平消长的研究,尚未见报道。但用细胞化学染色法检查,发现白色念珠菌从生活到死亡的整个培养过程中,细胞内碱性磷酸酯酶的含量水平逐渐减少,以致完全消失。而

(下转第 80 页)

(上接第74页)

在异构制斑素加黑光照射下,本酶阳性指数逐渐减弱或消失。因此认为本酶的消长,可作为白色念珠菌活力和毒性消长的指标和抗白色念珠菌药物探寻的有效方法之一。

#### 参 考 文 献

[1] 张国威:国外医学(皮肤病分册),2: 63, 1980。

- [2] Oberste-Lehn, H. et al: *Dermatologica*, **154**: 193, 1977。
- [3] 堀尾武等:日皮会誌, **90(2)**: 172, 1980。
- [4] 北京医学院主编:《生物化学》,人民卫生出版社,北京,1978。p.50。