

蒲黃對大白鼠巨噬細胞活力 及膽固醇肉芽腫的影響

上海第二醫學院病理生理教研室 任文華 黃桂秋 孔潤蓮*

內容提要 本文共觀察 75 只雄性 Wistar 大白鼠，除測其腹部皮下膽固醇肉芽腫重量及總膽固醇含量外，還作血清溶菌酶活性及肺、腹腔巨噬細胞吞菌功能檢查，部分動物並做肉芽腫電鏡等形態觀察。結果表明：口服中藥蒲黃能激活體內單核—巨噬細胞系統，有利於肉芽腫中脂質的吸收，故加強單核—巨噬細胞系統，可能有助於動脈粥樣硬化病變的消退。

蒲黃是傳統的活血祛瘀中藥，研究證明可以防治人類、大白鼠及家兔的高膽固醇血症，並可預防家兔動脈粥樣硬化斑塊的形成^(1,2)。此外，還發現應用蒲黃可誘導家兔肺泡巨噬細胞吞噬功能的增強。為了進一步探索蒲黃在防治動脈粥樣硬化方面是否與巨噬細胞的活力增強有關，我們採用 Adams 等⁽³⁾方法，首先造成大白鼠腹部皮下膽固醇肉芽腫，並用蒲黃進行治療，同時應用弗氏佐劑、脂多糖等免疫增強劑治療以資比較。觀察上述物質能否激活體內單核—巨噬細胞系統，以及單核—巨噬細胞功能的改變是否會影響肉芽腫的消退。

材料和方法

膽固醇肉芽腫的誘發：75 只雄性 Wistar 大白鼠，體重 200g 左右，在全麻下，腹部去毛，皮膚消毒，于四個象限的中心，用套管及其插芯將膽固醇結晶 20mg 壓緊並植入皮下。然後將動物隨機分組，作不同的處理。

第一次實驗：觀察弗氏佐劑的作用，共取動物 8 只，其中 4 只每只後肢皮下注射弗氏佐劑 0.2ml (含 BCG25 μ l)，每周一次，另 4 只每只皮下注射生理鹽水 0.2ml 作為對照。四周後，處死動物，先用肝素生理鹽水 8ml 從氣管內沖洗，以獲取肺泡巨噬細胞，加定量白色念珠菌 ($4\sim5\times10^7$ /ml 加 2 滴，于 56°C 滅活 30 分鐘)，保溫 37°C 30 分鐘，每隔 10 分鐘搖動一次。嗣後，以 1,000 轉/分速度離心 5 分鐘，棄去上清液，取沉渣塗片，以 Wright 方法染色，觀察巨噬細胞吞噬白色念珠菌的百分數；同時，仔細剝離腹部皮下肉

芽腫，以扭力天平稱量後制勻漿，用氯仿—甲醇 (2:1) 抽提其中脂質，用醋酸酐快速法測定其中總膽固醇含量。

第二次實驗：觀察蒲黃的作用，以脂多糖、右旋糖酐乳化劑為對照。取動物 37 只，分成四組：(1) 對照組：10 只，進普食，不用藥。(2) 蒲黃組：9 只，每日飼蒲黃藥糕 (以蒲黃粉 8g/只計算，所用蒲黃產于江蘇淮安，經上海中藥三廠鑑定，屬香蒲科植物水烛香蒲 (*Typha angustifolia*)。)(3) 脂多糖組：9 只，每周後肢皮下注射脂多糖 5 μ g/只 (脂多糖針劑由本院免疫室供應)。(4) 右旋糖酐組：9 只，隔周皮下注射右旋糖酐乳化劑 0.8ml/只 (含分子量為 70 萬的右旋糖酐 40mg)。9 周後處死，作肉芽腫總膽固醇測定，方法同前。

觀察指標：除測肉芽腫重量及總膽固醇含量外，還作血清溶菌酶活性、腹腔巨噬細胞吞噬功能及形態學檢查。

1. 血清溶菌酶測定：于動物種植膽固醇前及處死前，從尾部采血各測血清溶菌酶一次。採用微量琼脂平板測定法，即將含有微球菌 (40 億/ml 10ml) 的 1% 琼脂磷酸緩沖液 100ml，倒入已消毒的平皿內，使其厚度為 0.4cm，待凝固後，每隔 20mm 打一個 3mm 直徑的小孔。加動物血清 15 μ l 在小孔中，室溫下 24 小時後，測定因溶菌酶對微球菌的溶菌作用所形成的透明圈，再對照已知溶菌酶濃度的標準曲線，推算出每毫升血含溶菌酶的微克數。

2. 腹腔巨噬細胞吞噬功能測定：在大白鼠腹腔內注入 1640 培養液 (含小牛血清 30%) 5ml，按摩腹部 1~2 分鐘後，吸出腹腔內液，作細胞計數，並調節細胞懸液到 200 萬個/ml。取 0.2ml 細胞懸液滴置于 3.3×1

em盖玻片上, 37°C温育 30 分钟, 用 Hank's 液进行冲洗, 以去除未贴壁细胞, 再将盖玻片放到链霉素小瓶内培养 24 小时, 取出盖玻片, 按 4:1 加入白色念珠菌悬液, 于 Hank's 液内漂去未被吞噬的细菌, Wright-Giemsa 染色, 镜检 200 个细胞, 计算其吞噬百分比。

第三次实验: 30 只动物, 先造成腹部皮下胆固醇肉芽肿, 一个月后分为两组: (1) 对照组 10 只, 进普食, 不作任何处理; (2) 蒲黄组 20 只, 饲蒲黄 8g/只/日, 共饲蒲黄 2 个半月。实验全程 3 个半月, 处死动物, 观察指标同前。

结 果

第一次实验结果表明, 用弗氏佐剂的动物, 皮下肉芽肿净重(肉芽肿重减去未吸收的总胆固醇量)平均为 78.7mg, 对照组为 82.4mg, 每个肉芽肿所含胆固醇量为 9.56mg, 对照组为 9.97mg。肺泡巨噬细胞吞噬菌的百分比, 用药组为 40%, 对照组为 28.5%。用药组与对照组相比, 可增强巨噬细胞的吞噬功能, 促进胆固醇肉芽肿的吸收。但因实验动物较少, 未作统计处理。

第二次实验观察蒲黄、脂多糖及右旋糖酐的作用, 结果见表 1、2。

表1 不同药物对大鼠腹腔巨噬细胞皮下胆固醇肉芽肿的影响

	对照组 (n=10)	蒲黄组 (n=9)	脂多糖组 (n=9)	右旋糖酐组 (n=9)
每只动物平均肉芽肿净重(mg)	64.62 ±11.7	62.09 ±9.4	63.4 ±9.5	58.32 ±8.8
每只动物平均肉芽肿胆固醇含量(mg)	9.78 ±1.4	8.01 ±2.0	9.42 ±1.7	9.43 ±1.1
腹腔巨噬细胞吞噬率(%)	10.29 ±5.5	16.71 ±7.5	30.85 ±15.4	12.5 ±4.8

注: 肉芽肿净重各组无显著差异; 胆固醇总量蒲黄组与对照相比 $P<0.05$; 巨噬细胞吞噬率脂多糖组与对照相比 $P<0.01$, n=动物数。

从表 1 可见平均肉芽肿净重及未被吸收的总胆固醇量, 各实验组均比对照组减少, 但均未达统计学显著性。检测腹腔巨噬细胞吞噬能力结果可见, 各实验组的吞噬率均增高, 统计处理脂多糖与对照组有显著性差异 ($P<0.01$)。从表 2 可见蒲黄、脂多糖及高分子右旋糖酐乳化剂, 均可使血清溶菌酶活性明显升高 ($P<0.001$)。

此外, 用弗氏佐剂的动物及对照动物曾作电镜观察, 见前者的肉芽肿中巨噬细胞膜皱折及细胞器数量

表2 不同药物对大白鼠血清溶菌酶含量的影响

组 别	溶菌酶直径 (cm)	溶菌酶含量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	P 值
对 照 组 (n=10)	1.59±0.07	454±100.02	
蒲 黄 组 (n=9)	1.82±0.08	762±113.41	<0.001
脂 多 糖 组 (n=9)	1.82±0.12	772.2±94.84	<0.001
右旋糖酐组 (n=9)	1.82±0.05	763.3±66.14	<0.001

注: n=动物数

增多, 提示巨噬细胞呈激活状态。各组肉芽肿组织切片光镜检查结果见肉芽肿中含有大量巨噬细胞且吞噬脂质, 未吸收的脂质周围也可见吞噬染料小滴的细胞, 其差异见图 1~8 及说明(封三)。

第三次实验所测各项指标结果见表 3。

表3 蒲黄对大白鼠肉芽肿净重及其胆固醇含量、血清溶菌酶含量、巨噬细胞吞噬百分比的影响

	肉芽肿净重 (g)	肉芽肿胆固醇含量(mg)	血清溶菌酶含量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	巨噬细胞吞噬百分比
对 照 组 (n=10)	0.19±0.03	25.02±1.72	107±29.07	18.2±9.6
实 验 组 (n=20)	0.18±0.03	22.4±4.1	126±23.5	20.5±7.5
P 值	>0.1	<0.001	<0.001	<0.001

注: n=动物数

从表 3 可见: 除肉芽肿净重外, 对照组和实验组 P 值均 <0.001 , 二组有显著性差异。实验组肉芽肿净重的减少, 理论上应和胆固醇含量的减少平行, 而不见减少的原因, 推测和此时胆固醇虽有减少, 但肉芽肿中结缔组织增生有关, 有待进一步证实。

讨论与小结

一、本实验结果见蒲黄如同脂多糖、高分子右旋糖酐及弗氏佐剂一样, 也可使大白鼠巨噬细胞吞噬率增高, 说明蒲黄对动物的单核-巨噬细胞系统具有激活作用, 但其程度不如脂多糖显著。

二、溶菌酶是体内粒细胞、单核细胞和巨噬细胞分泌的酶, 故其活性可反映体内单核-巨噬细胞系统的激活程度, 本实验证明, 各实验组血清溶菌酶活性均显著升高, 而且在血清溶菌酶活性上升的同时, 巨噬细胞吞噬率也增加, 说明蒲黄和免疫增强剂一样有刺激单核-巨噬细胞系统的作用。

三、本文实验结果指出,肉芽肿组织切片镜检见组成肉芽肿的细胞主要是巨噬细胞,成堆的巨噬细胞吞噬脂质,并伴有巨细胞、成纤维细胞和少量肥大细胞的存在,未吸收的脂质周围及脂质裂缝中还可见吞噬苏丹染色小滴的细胞,这些说明在胆固醇肉芽肿形成时巨噬细胞功能活跃。这一现象和 Bayliss 对人体的观察基本一致, Bayliss 报道 37 例病理解剖材料⁽⁴⁾,发现在人体动脉粥样硬化病变修复期间,有单核细胞进入,且可融合成巨细胞,围绕在胆固醇的周围。凡胆固醇少的部位,巨细胞和巨噬细胞浸润明显,这意味着这些细胞对病灶中脂质的吸收起了一定的作用。此外,从三次实验结果来看,实验组动物中肉芽肿净重及未吸收的胆固醇量与对照组相比均有下降,说明巨噬细胞激活后,可使肉芽肿的脂质吸收加快,故加强单核-巨噬细胞系统的功能,可能有助于动脉粥样

病变的消退。

(本文承王振义教授、徐也鲁副教授审阅,电镜室韩玉昇医师及病解切片室陈瑞珍同志协作,特致谢)

参 考 文 献

1. 上海第二医学院病理生理教研室: (1) 蒲黄对大白鼠实验性高胆固醇血症的影响。(2) 几种蒲黄制剂对大白鼠的降脂效应。《科研资料汇编》, 内部资料, 62 页, 1980
2. 上海第二医学院病理生理教研组等: 蒲黄防治家兔实验性动脉粥样硬化的观察。新医药学杂志 11:47, 1978
3. Adams CWM, et al: Phospholipids in atherosclerosis: The modification of the cholesterol granuloma by phospholipid. J Path Bact 86:431, 1963
4. Bayliss OB, et al: The role of macrophages and giant cells in advanced human atherosclerosis. Atherosclerosis 36:441, 1980

中药保留灌肠治疗慢性结肠炎 60 例疗效观察(摘要)

白求恩医科大学第一临床学院中医科

魏庆玲 赵树华 杨国晶 张国成 于亚欣 李有田 郝 钢

我院自 1976 年以来门诊、病房共用中药保留灌肠观察治疗慢性结肠炎病人 60 例, 取得较好疗效。

一般资料 本组 60 例病人中, 男 47 例, 女 13 例, 男:女为 3.6:1, 发病年龄最小 18 岁, 最大 54 岁; 病程最短 3 个月, 最长达 25 年; 先后接受过多种抗菌素治疗未能显效, 有一例连服链霉素片 5 年, 每次 5 片, 每日 6 次仍未见效; 本组病人治疗前均有全身无力, 食欲减退, 腹痛及体重下降等症状, 查体有左侧腹部轻度压痛, 纤维结肠镜及乙状结肠镜检查全部病人均有肠腔粘膜充血、水肿, 其中有溃疡者 11 例(占 18%)。全部病人都做了肝功、肝脾超声及血沉检查, 除外因肠结核、肝炎及菌痢所致之慢性腹泻。

治疗方法 用马齿苋 50g、白头翁 50g、黄柏 50g 水煎成 100ml, 加 2% 普鲁卡因 20ml 备用。每晚睡觉前保留灌肠一次, 令病人左侧卧位, 臀部抬高, 药液加热至 40~45°C 左右吸入注射器, 连接导尿管, 插入直肠 12~15cm 左右, 7~10 分钟推完药液, 嘱病人保持左侧卧位至少 30 分钟, 15 天为一疗程。

疗效标准及结果 疗效标准: 以每日排便次数恢复到发病前, 大便成形, 外观无粘液及脓血, 大便常规化验正常, 腹痛、里急后重等症状完全消失, 纤维结

肠镜及乙状镜检查, 结肠病变恢复正常或仅有局限性轻度充血者为痊愈; 每日大便次数明显减少, 尚未恢复到发病前, 大便成形, 外观偶见有少许粘液, 大便常规少量白细胞, 仍有轻度腹痛, 镜检复查较治疗前好转者为好转; 以上各项指标与治疗前对比无变化者为无效。

治疗结果: 本组 60 例中, 近期完全治愈者 46 例(占 76.7%); 好转者 12 例(占 20%); 无效者 2 例(占 3.3%); 总治愈好转率达 96.7%。本组 60 例中随访 32 例, 治愈后 6 年、4 年未复发者各 1 例, 3 年未复发者 2 例, 2 年、1 年未复发者各 8 例, 半年未复发者 4 例, 随访 32 例中复发者 8 例, 其中 5 例为非完全治愈时出院。治愈病人中绝大多数在灌肠 30 次以内痊愈, 各种临床症状及检查恢复正常。

体 会 组成本方中药白头翁、黄柏、马齿苋均为治疗热痢之品, 现代药理研究证明这些药物直接作用于病变局部, 有抑菌、消肿、收敛、镇痛、减轻水肿渗出等作用。2% 普鲁卡因 20ml 加入 100ml 中药中, 浓度大约 0.3%, 对粘膜起保护作用, 可减轻肠腔局部的疼痛, 对机体是一种良性刺激, 故有利于病变恢复。