

• 实验研究 •

党参对巨噬细胞作用的细胞化学研究

中医研究院

谢锦玉 屠国瑞 李凤文 王玉萍 何伟 刘铭福 王勤明

内容提要 应用细胞化学定性、定位和定量技术研究了党参对小白鼠腹腔巨噬细胞的细胞化学成份的变化。实验证明党参能使巨噬细胞的数量明显增加,细胞体积增大,伪足增多,吞噬能力增强。细胞内的 DNA、RNA,糖类,ACP 酶,ATP 酶,酸性酯酶及琥珀酸脱氢酶活性均显著增强。并用显微分光光度计对上述单个细胞的某些化学成份进行定量测定,结果党参组与对照组有显著差异。本研究为扶正固本中药的应用和作用机理提供了一定的实验依据。

近五年来我们研究党参制剂给小白鼠腹腔、肌肉和静脉注射后,用细胞化学技术观察党参对巨噬细胞的某些化学成份的定性、定位和定量的变化,以探讨党参对机体作用的免疫细胞化学方面的一些机理。

材料和方法

选择体重 22~25g 瑞士纯系健康小白鼠,雌雄各半,实验分二批进行,共用小白鼠 80 只,党参组 40 只,对照组 40 只。

对照组:生理盐水腹腔注射 0.2ml/日,7 天,20 只;生理盐水肌肉注射 0.1ml/日,7 天,10 只;正常空白对照,10 只。党参组:党参制剂腹腔注射 0.2ml/日,7 天,20 只;党参制剂肌肉注射 0.1ml/日,7 天,10 只;党参制剂静脉注射 0.2ml/日,7 天,10 只。

注:党参为山西潞党,腹腔注射的党参由本院中药所谭洪根同志提取,静脉和肌肉注射的党参由本院中心实验室郭玉芝同志提取。

动物处死后,随即腹腔注入 Hanks 液 (pH6.6~7.0),经轻揉后,剖腹取液,放入离心管中,滴加鸡红细胞悬液,振荡均匀,加小盖片,体外 37°C 培养半小时。每只动物有数张培养盖片,以进行数种细胞化学的染色,以作对比观察。我们用 8 种细胞化学方法⁽¹⁾,包括(1)吖啶橙(Ao)显示 RNA 和 DNA,荧光显微镜观察;(2)Feulgen 反应显示 DNA;(3)PAS 反应显示糖类,并用淀粉酶消化作为对照;(4)、用 Gomori 改良法显示 ACP 酶;(5)用 Glick 法显示 ATP 酶;(6)用 α -醋酸奈酯显示酸性酯酶(ANAE);用硝基蓝四氮盐法显示琥珀酸脱氢酶(SDH)。

应用本室 MpV₂ 型显微分光光度计对上述单个巨

噬细胞的化学成份进行定量测定。每张标本测 50~100 个细胞,取其平均值。根据不同的标本吸收光谱的差异,选用方法和波长也不同。ACP 酶应用扫描法,每个细胞扫描数百点。DNA、ATP 酶,ANAE,SDH 用双波法。糖类应用荧光法。

观察结果

本实验发现无论应用党参腹腔或肌肉或静脉注射,均使动物的巨噬细胞数量大大增加,体积增大,伪足增多,吞噬鸡红细胞的能力增强。而空白对照组的巨噬细胞多数为圆形,盐水对照组亦一样,吞噬数目均很少,只见鸡红细胞聚集于巨噬细胞的周围(图 1~6)。说明党参组与对照组有明显的区别。关于巨噬细胞的吞噬率和吞噬指数另有报道⁽²⁾。

巨噬细胞的化学成份的定性、定位和定量观察。

一、核酸:荧光显微镜观察到各个对照组的腹腔巨噬细胞多为圆形,核的 DNA 呈绿黄荧光,胞质的 RNA 呈淡红色荧光。各个党参组的腹腔巨噬细胞体积变大,突起增多, DNA 和 RNA 的荧光强度比对照组强(图 2)。

Feulgen 反应:细胞核的 DNA 被显示呈紫红色。显微分光光度计测定单个细胞的 DNA 量,党参组与盐水组有明显的差异($P < 0.05$,见附表)。

二、糖类:应用 PAS 反应显示糖类呈紫红色颗粒,分散于胞质中。各个对照组的糖类颗粒分布稀少,位于细胞一侧(图 3)。用淀粉酶消化后仍有阳性反应,说明它包含糖元和粘多糖。单个细胞的定量测定,党参组和盐水组有明显差异($P < 0.01$,见附表,图 3、4)。

三、ACP 酶和 ATP 酶,两种酶均呈黄棕色颗粒位

于细胞质内。各个对照组细胞内酶均稀少,而各个党参组的酶增多充满于胞质和突起中。单个细胞酶活性的定量测定,党参组与盐水组有明显差异($P<0.001$ 和 $P<0.05$,见附表,图7,8)。

四、酸性酯酶(ANAE):各个对照组的ANAE呈红褐色颗粒或团块散布于胞质或偏于一侧,核无色(图5)。而各个党参组的酯酶显著增多,充满于胞质中(图6)。单个细胞酶活性定量测定,二组有显著差异($P<0.01$,见附表,图5,6)。

五、琥珀酸脱氢酶(SDH):巨噬细胞的SDH呈蓝色颗粒,各个党参组的SDH比各个对照组明显增多,充满于细胞质和突起中。单个细胞内酶活性测定,二组有显著差异($P<0.01$,见附表)。

附表 显微分光光度计对巨噬细胞的化学成份定量测定

化 学 成 份	条 件	例 数	测 细 胞 数	化 学 成 份 相 对 含 量 M ± SE	t	P
DNA	对照组	10	1000	30.1 ± 3.6	2.175	$P<0.05$
	党参组	10	1000	37.7 ± 3.5		
PAS	对照组	10	1000	11.6 ± 0.07	3.487	$P<0.01$
	党参组	10	1000	27.3 ± 4.3		
ACPase	对照组	5	500	52.7 ± 5.9	7.232	$P<0.001$
	党参组	5	500	101.3 ± 3.1		
ANAE	对照组	5	500	64.9 ± 10.3	3.355	$P<0.01$
	党参组	5	500	200.08 ± 3.0		
ATPase	对照组	10	1000	117.7 ± 1.34	2.569	$P<0.05$
	党参组	10	1000	195.1 ± 26.9		
SDH	对照组	5	250	40.3 ± 3.0	3.355	$P<0.01$
	党参组	5	250	66.9 ± 5.6		

注 表内党参组为腹腔注射组,对照组为腹腔注射盐水组,各10例或5例。每例同时取6张涂片,分别用不同化学方法显示

讨 论

中医学的扶正药物对增强单核巨噬细胞系统的功能,提高机体的免疫力,维持体内免疫功能的相对稳定是有一定的作用的,尤其是在提高非特异性免疫力方面,其独特之处是现代医学所不及^(3,5)。本文研究的巨噬细胞就是属于一种非特异免疫细胞,它已成为机体免疫系统中的重要成份,经过动物实验表明,它参与抗原加工、免疫信息的传递,吞噬和细胞内消化以及放出细胞毒等多方面功能,巨噬细胞与细菌、碎块、红细胞、碳末及可溶性物质等接触即显示活跃的

吞噬作用^(8~10)。

从我们实验表明,无论腹腔、肌肉、静脉注射党参液,均能大大增加小白鼠巨噬细胞的数目和体积,细胞的伪足明显增多,吞噬功能显著增强,这说明党参有激活巨噬细胞的作用。

我们发现党参可明显增加巨噬细胞的酸性磷酸酶和酯酶的活性。这二种酶均为溶酶体的酶,尤其酸性磷酸酶是代表巨噬细胞活化主要的一个标志^(6,7,10)。

活化巨噬细胞的线粒体有明显增多现象^(3,4,7),线粒体内含有ATP酶和琥珀酸脱氢酶。前者与能量代谢、细胞运动、吞噬和物质转运均有很大关系,后者是参与三羧循环代谢的酶,我们实验表明党参有增加这二种酶活性的作用。

我们亦已证明党参有增强巨噬细胞的糖代谢作用。同时也发现党参组动物的单个细胞DNA含量增高,与对照组比较有明显的差异。

由此可见,无论党参给小白鼠静脉、肌肉、腹腔注射均能增强巨噬细胞的能量代谢,增加核酸代谢及增强细胞内溶酶体内的酶活性,提示扶正固本药物的药理作用可能是通过多种生理和免疫机能来实现的。本实验应用细胞化学技术,研究党参对巨噬细胞的细胞化学成份的变化,为扶正固本药物的应用和作用机理提供了一定的实验依据。

参 考 文 献

1. 谢锦玉,显微组织化学方法,见:鲍鉴清主编,组织学技术,长春:吉林人民出版社,1962:245—306。
2. 屠国瑞,党参提取物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活力的影响,广州中国药理学会方法讨论会汇编,1980:5。
3. 章文亮,探讨祖国医学与免疫学中若干问题,新医药学杂志1979;2:23。
4. 余 贺,等,巨噬细胞与肿瘤免疫,国外医学免疫分册1980;11:1。
5. 张 薇,扶正固本与免疫的研究,甘肃省中西医结合研究汇编,1981:10—17。
6. 郭仁强,巨噬细胞的发生分化和功能,临床免疫学基础,南京:江苏科学出版社,1982:72—86。
7. Carr I, The macrophage, Academic press inc, 1973:60。
8. Cohn Z A, The structure and function of monocyte and macrophage, Adv immunol, 1968:163—214。
9. Gordon S, et al, The macrophage, J International Review of Cytology 1973; 36:171。
10. Ralph Von Furth editor, Mononuclear phagocytes, Part I and II 1980:1—31, 1273, 1579。