

当归对链脲佐菌素糖尿病小鼠腹腔巨噬细胞受损吞噬功能的影响

成都中医学院附属医院内科(成都 610072) 梁亚明

重庆医科大学第一附属医院 舒昌达

当归增强正常小鼠的细胞免疫和体液免疫功能以及提高其单核吞噬系统的非特异性吞噬能力的研究,国内外均有文献报道。本实验仅就当归对糖尿病状态下小鼠受损的巨噬细胞吞噬功能的影响和高浓度葡萄糖对当归效应的作用作了观察,现将结果报告如下。

材料和方法

一、动物: C₅₇纯系小鼠, 重庆医科大学实验动物中心提供, 体重19~24g, 不分雌雄。

二、当归注射液: 四川雅安制药厂出品, 批号850912, 每安瓿2ml含生药0.22g。

三、糖尿病模型建立: 用pH4.5的柠檬酸缓冲液将链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ, Sigma公司产品)配制成1%溶液, 按190mg/kg体重给小鼠1次性腹腔注射。注药后第5天用邻甲苯胺法测血糖。血糖值 $>16.67\text{mmol/L}$ (300mg/dl)的小鼠视为糖尿病模型成立。

四、小鼠腹腔巨噬细胞(M ϕ)的制备: 将糖尿病模型小鼠脱颈椎处死, 75%酒精消毒腹部。剪开小鼠腹部外层皮肤, 向其腹腔内注射消毒Hank's液约8ml, 轻揉小鼠腹部后抽出腹腔液置消毒试管内离心(1000g/min, 10min)沉淀, 弃上清液, 再加Hank's液5ml制成细胞悬液计数。同上条件离心后用配制好的RPMI 1640(GIBCO产品)培养液制成细胞悬液($2 \times 10^6/\text{ml}$ 和 $2.5 \times 10^6/\text{ml}$)。

五、给药方法: (1)不同浓度当归培养液配制: 将每只小鼠制成的细胞悬液分别加入5支试管, 每支各为500 μl 。当归用生理盐水稀释成四种浓度, 分别加20 μl 到相应的管中使各管最终当归浓度为4.4、44、440、4400 $\mu\text{g/ml}$ 。不含当归的空白管加20 μl 生理盐水各浓度组重复10管。放入37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱孵育24h。(2)不同浓度葡萄糖培养液配制: 将每只小鼠的 $2.5 \times 10^6/\text{ml}$ 细胞悬液分注5支试管, 每管各400 μl 。各管再加不同浓度葡萄糖的RPMI 1640培养液100 μl 和等浓度当归20 μl 使最终葡萄糖浓度分别是11.1、16.7、22.2、27.8和33.3 mmol/L 。最终当归浓度均为440 $\mu\text{g/ml}$ 。每浓度组重复10管。放入37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱孵育24h。

六、酵母菌悬液: 取传代接种于沙氏培养基上生

长24h的酵母菌培养物, 经生理盐水洗涤2次, 再用配制好的RPMI 1640培养液制成 $8 \times 10^6/\text{ml}$ 菌液。

七、吞噬试验: 酵母菌液等量加入孵育后的细胞悬液中使之成4:1比例。混匀后倾入放有小盖玻片(15 $\times$ 15mm)的小平皿(ϕ 30mm)中。放入37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱孵育60min, 使M ϕ 吞噬酵母菌并贴附于玻片上。取出小盖玻片在生理盐水中漂洗, 除去未粘附细胞。空气中干燥后姬姆萨—瑞氏染色。显微镜下油镜计数200个M ϕ , 计算出吞噬率(M ϕ 吞噬酵母菌的百分率)和吞噬指数(每个M ϕ 中平均酵母菌数)。

结果

一、当归对糖尿病小鼠腹腔M ϕ 的影响: 见表1。四种浓度当归均能明显增强糖尿病小鼠腹腔M ϕ 的吞噬功能。与模型空白对照相比, 吞噬率及吞噬指数均提高(P 均 <0.01)。

表1 不同浓度当归对糖尿病小鼠腹腔M ϕ 影响 ($\bar{x} \pm S$)

当归($\mu\text{g/ml}$)	鼠数	吞噬率(%)	吞噬指数
0(正常)	15	34.97 ± 10.91	0.766 ± 0.353
0(模型)	10	18.5 ± 1.97	0.305 ± 0.049
4.4	10	$29.3 \pm 4.34^*$	$0.499 \pm 0.099^* \Delta \Delta$
44	10	$30.9 \pm 6.38^*$	$0.572 \pm 0.159^* \Delta$
440	10	$33.85 \pm 5.95^*$	$0.628 \pm 0.154^*$
4400	10	$30.58 \pm 5.57^*$	$0.548 \pm 0.178^* \Delta$

注: 与正常空白比 $\Delta \Delta P < 0.01$, $\Delta P < 0.05$, 与模型空白比 $^* P < 0.01$

此外将各浓度组当归与正常小鼠组比较吞噬率无显著差异($P > 0.05$); 吞噬指数除当归浓度440 $\mu\text{g/ml}$ 组外, 其余各浓度与正常对照比较均有显著差异, 表明440 $\mu\text{g/ml}$ 组效应最强。

二、不同浓度葡萄糖对当归效应的影响: 见表2。含当归440 $\mu\text{g/ml}$ 的不同浓度葡萄糖培养液与未加当归葡萄糖浓度为11.1 mmol/L 糖尿病小鼠的吞噬功能对照比较均有显著差异($P < 0.01$)。随葡萄糖浓度升高, 虽然吞噬率和吞噬指数呈下降趋势, 但含当归的各不同浓度葡萄糖组的吞噬功能无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 不同浓度葡萄糖对当归促 M ϕ 效应影响
($\bar{x} \pm S$)

葡萄糖 (mmol/L)	当 归 ($\mu\text{g/ml}$)	鼠 数	吞噬率 (%)	吞噬 指数
11.1	0	10	18.5 ± 1.97	0.3045 $\pm 0.0487^*$
11.1	440	10	34.05 $\pm 2.84^*$	0.6575 $\pm 0.0864^*$
16.7	440	10	32.95 $\pm 2.64^*\Delta$	0.611 $\pm 0.0704^*\Delta$
22.2	440	10	33.4 $\pm 3.82^*\Delta$	0.6315 $\pm 0.1034^*\Delta$
27.8	440	10	31.5 $\pm 3.24^*\Delta$	0.5895 $\pm 0.0877^*\Delta$
33.3	440	10	32.3 $\pm 3.76^*\Delta$	0.5955 $\pm 0.1033^*\Delta$

注:与空白对照比较* $P < 0.01$;与11.1mmol/L加药组比较 $\Delta P > 0.05$

五种浓度葡萄糖组所得吞噬指标数据经直线回归和直线相关处理,其吞噬率回归方程 $\hat{y} = 34.82 - 0.00495x$
 $r = -0.7949$;吞噬指数回归方程 $\hat{y} = 0.6752 - 0.000145x$
 $r = -0.8257$ 。两方程的回归系数和相关系数经检验 P 均 > 0.05 。

讨 论

本实验用STZ诱导C₅₇纯系小鼠制成糖尿病模型,以其腹腔M ϕ 为受试对象。这种模型的腹腔M ϕ 的非特异性吞噬功能明显受损。我们的实验结果发现当归对糖尿病模型小鼠受损的M ϕ 非特异性吞噬功能有显著提高,其最适浓度(440 $\mu\text{g/ml}$)促进受损M ϕ 吞噬功能的恢复效应尤为突出,与正常小鼠腹腔M ϕ 比较无显著差异。当归对小鼠腹腔M ϕ 吞噬功能增强的机理尚不明。有报道M ϕ 吞噬功能障碍在抗原摄取过程,当归是否作用于受损M ϕ 吞噬过程的此环节有待探讨。总之,我们的实验结果提示当归能保护和恢复糖尿病小鼠腹腔M ϕ 受损的吞噬功能。

高浓度葡萄糖对吞噬细胞影响的报道颇不一致。国外许多文献表明高浓度葡萄糖能抑制M ϕ 膜上植物血凝素受体活性,从而影响M ϕ 吞噬颗粒。高浓度葡萄糖还可使中性粒细胞能量代谢减少,吞噬能力下降。亦有不少实验发现高浓度葡萄糖并不影响中性粒细胞的杀菌能力,高血糖状态并非是M ϕ 等吞噬细胞功能损害的唯一原因。我们的结果显示在葡萄糖浓度为11.1~33.3mmol/L范围内对当归促进受损M ϕ 吞噬功能的恢复无影响,提示高血糖状态对当归作用于受损M ϕ 的效应无明显干扰。

麝香消肿散治疗痈肿疮疖20例

湖北省宜昌地区公路工程处医务室(湖北 443002) 周功祥

自1986年~1991年元月,用自制中药制剂麝香消肿散治疗痈肿疮疖,取得了较好的疗效。介绍如下。

一般资料 本组病例20例,均为门诊治疗,其中男性12例,女性8例;年龄:5~60岁,平均24岁。耳后痈6例,后颈部6例,右下肢2例,踝关节2例,腹部4例。病程:平均一天半左右。

治疗方法 药物组成:苍术50g,白术50g,草乌50g,黄柏20g,白芨20g,栀子20g,花粉50g,黄连50g,破血子100g,薄荷50g,七叶一枝花50g,以上药物共研细末,过细筛,入容器备用,麝香少许,用时加入。制法:先将麝香少许入容器内,研成细末,加菜油调匀,再将药粉倒入,调为糊状;从患处周围往里涂敷疮疖顶部敷厚些;患处毛发较多,则剃除之。视病情轻重;可1日1次换敷,或1日2次。

结 果 20例患者,除4例因就诊较晚,化脓以外;其余16例均已痊愈。治愈率达80%。16例都用药3日,即红肿消退,体温正常,局部功能亦恢复。

典型病例 戴某,1987年7月24日就诊,耳后疼

痛异常,并迁延到耳心痛,体温38°C,左耳后侧皮肤红肿,边缘不清,有3×2cm大小疮块一个,质硬拒压,伴有全身不适,曾用抗生素服用1天,无效,且症状加重。后改用麝香消肿散治疗,当天疼痛减轻,并能入睡;连续用药3天,症状消失,体温正常,红肿消退而痊愈。

体 会 痈肿疮疖,多因湿热火毒内蕴,复感毒热之邪,而致毒热壅阻经络,气血凝滞,壅不能行经络;红肿灼痛;或因肾水亏损,阴虚火盛,复感外邪而发病,治疗则以清热解毒,活血化瘀为主,方可达到治疗目的。此方能治疮疖,白芨有理血毒,活血蕴热毒之功,草乌能以毒解毒,且有止痛功效,破血子有破血祛瘀功能,随着湿热火毒的清除,活血祛瘀,通经活络,改善局部血液循环和新陈代谢,有草乌止痛,协调缓解局部症状,药物直接作用于患处,所以显效较快,此治疗方法简单,并可一方多用。如跌打损伤,用酒调敷,丹毒用醋调敷,都有一定的效果。