

大蒜油诱发瘤灶内中性粒细胞和巨噬细胞的超微结构观察

空军总医院临床分子生物中心(北京 100036) 高玉民 谢锦玉* 朴英杰**

内容提要 给腹水型及实体型荷瘤小鼠的瘤灶注射大蒜油后, 瘤灶内的中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞数量增多, 以中性粒细胞和巨噬细胞的数量最为显著。可观察到多个中性粒细胞或巨噬细胞包围一个肿瘤细胞, 并有突起顶入肿瘤细胞的现象。实验结果表明, 大蒜油可能具有增强中性粒细胞及巨噬细胞的抗肿瘤作用。

关键词 大蒜油 中性粒细胞 巨噬细胞 抗肿瘤

我们以往的实验曾证明大蒜油具有显著的肿瘤细胞杀伤、抑制作用^[1~3]。本实验进一步观察了给小鼠瘤灶局部注射大蒜油后, 瘤灶局部中性粒细胞、巨噬细胞与肿瘤细胞相互作用的形态学特征。

材料和方法

一、实验动物与瘤株 雄性健康昆明种和 C₅₇BL 小鼠, 共 80 只, 体重 20~22 g, 由中国中医研究院和第一军医大学动物中心提供。S 180 实体型和腹水型肿瘤株由中国中医研究院中药研究所引入。

二、大蒜油制剂的制备 大蒜油制剂由中国中医研究院基础理论研究所沈联慈教授提供。其制作过程取以蒸馏提取的大蒜油 1 g, 加 2 g 吐温 80 研成初乳, 加蒸馏水 100 ml, 研匀, 4℃ 冰箱保存。

三、给药方法 腹水型荷瘤鼠给药: 小鼠荷瘤后 4 天随机分为对照和实验两组, 每组 20 只小鼠。对照组每天腹腔注射生理盐水(NS)0.2 ml, 实验组每天腹腔注射大蒜油 100 mg/kg, 连续注射 10 天后将两组动物同时处死, 抽取腹水细胞进行光镜和电镜样品制备。

实体型荷瘤小鼠给药: 小鼠荷瘤后第 7 天随机分为对照和实验两组, 每组 20 只小鼠。对照组瘤块周围每天注射 NS 0.2 ml, 实验组注射大蒜油 10 ml/kg, 连续注射 4 天后取材进行光学和电镜样品制备。

四、观察方法

1. 光镜样品制备 腹水细胞涂片, 甲醇固定, Giemsa 染色, 光镜观察。实体瘤块用 2.5% 戊二醛固定, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜观察。

2. 电镜样品制备 腹水细胞置底部放有半凝固琼脂的离心管离心(1 000 rpm, 20 min), 拨出沉淀块, 用 2.5% 戊二醛固定(实体瘤块亦用此固定)。上述两种固定细胞均经 1% 锇酸后固定, 丙酮逐级脱水, Spurr 包埋剂包埋, LKB 型切片, JEM-12000 EX 型透射电镜观察。

结 果

一、腹水型瘤灶的光镜与电镜观察 光镜下对照组肿瘤细胞量多, 细胞形态完整。肿瘤细胞间的中性粒细胞和巨噬细胞数量较少(图 1)。实验组肿瘤细胞较少, 瘤细胞间有大量的中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞, 其中以中性粒细胞和巨噬细胞的数量最多(附表), 并能看到数个中性粒细胞或巨噬细胞包围一个肿瘤细胞的现象。

附表 瘤灶内各类细胞的比例

		各类细胞的百分比(%， $\bar{x} \pm S$)				
组别	细胞数	标本	肿瘤细胞	中性粒细胞	巨噬细胞	淋巴细胞
对照	20000	10	92 $\pm$ 3.50	2.5 $\pm$ 2.10	1.5 $\pm$ 5.20	4 $\pm$ 3.50
实验	20000	10	45 $\pm$ 4.30	35 $\pm$ 4.85	15.5 $\pm$ 4.50	4.5 $\pm$ 4.50

透射电镜观察实验组瘤灶内中性粒细胞和巨噬细胞的形态不规则。中性粒细胞多为分叶状, 胞质内充满特殊颗粒和嗜天青颗粒(见图 2), 巨噬细胞质内充满吞噬颗粒。部分中性粒细胞膜与肿瘤细胞膜紧密相贴, 并有突起顶入肿瘤细胞(见图 3)。

二、实体瘤灶细胞的光镜与电镜观察 光镜观察对照组肿瘤细胞密集, 结构完整, 肿瘤细胞多排列成密集的团索状, 瘤细胞索之间充填有结缔组织, 其间有少许中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞。实验组入

*中国中医研究院; **第一军医大学

部分肿瘤细胞核固缩，细胞结构破坏。在肿瘤细胞之间出现大量的中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞。

电镜观察对照组瘤灶内肿瘤细胞形态完整，结构清晰(见图4)。中性粒细胞与巨噬细胞形态亦不规则，中性粒细胞质内的特殊颗粒与嗜天青颗粒极其丰

富(见图5)。中性细胞膜多与肿瘤细胞相贴，并有突起顶入肿瘤细胞内，与中性粒细胞微绒毛或细胞膜呈斑点状接触的肿瘤细胞核通常呈固缩状态，胞体碎解(见图6)。巨噬细胞体内的吞噬体较多。



图1 对照组腹水瘤灶内肿瘤细胞。TEM×6 500 图2 实验组腹水瘤灶内巨噬细胞(M)和中性粒细胞(N)，中性粒细胞内颗粒成份较多(↑)。TEM×8 000 图3 实验组腹水瘤灶内中性粒细胞的突起顶入肿瘤细胞(↑)，肿瘤细胞解体。TEM×10 000 图4 对照组实体瘤灶内肿瘤细胞。TEM×8 000 图5 实验组实体瘤灶内巨噬细胞，胞质内溶酶成份增多。TEM×10 000 图6 实验组实体瘤灶中性粒细胞膜与肿瘤细胞紧密相贴(↑)，肿瘤细胞解体。TEM×6 000

讨 论

中性粒细胞和巨噬细胞是机体内两种较为重要的免疫效应细胞。中性粒细胞的抗肿瘤作用近年来受到许多学者的重视。一些研究结果表明用某些活化物诱发的中性粒细胞的抗肿瘤细胞毒性显著增高⁽⁴⁾。巨噬细胞对多种肿瘤细胞的毒性杀伤作用已为实验所证实,巨噬细胞与肿瘤细胞结合,为向肿瘤细胞释放细胞毒性物质创造了先决条件⁽⁵⁾。

本结果证明随腹水型瘤灶局部注射大蒜油次数增加,肿瘤细胞数量减少,而中性粒细胞与巨噬细胞的数量显著增加。实体瘤灶内注射大蒜油后短期内即可观察到大量肿瘤细胞解体死亡或呈退行性改变,瘤灶内亦出现大量的中性粒细胞与巨噬细胞。无论在腹水型或实体型瘤灶内部都可以看到该两类免疫效应细胞与肿瘤细胞相贴,并有突起顶入肿瘤细胞。这种现象在实体瘤灶内尤为显著。上述实验结果表明大蒜油除了具有直接的肿瘤细胞毒性杀伤作用外,还可以间接

地诱发中性粒细胞、巨噬细胞抑制或杀伤肿瘤细胞,并起到清除瘤灶的作用。

总之,大蒜油诱发中性粒细胞或巨噬细胞抗肿瘤作用的确是个十分诱人的问题,其中许多细节尚需进一步研究。

参 考 文 献

1. 高玉民,等.大蒜乳剂对小鼠 S 180 腹水瘤细胞作用的电镜和电镜细胞化学观察.解剖学报 1992; 23(2):219.
2. 谢锦玉,等.流式细胞术分析大蒜油对癌细胞周期的影响.中国中西医结合杂志 1992; 12(2):92.
3. 高玉民,等.大蒜乳剂抗实体型 S 180 肿瘤细胞的组织细胞化学研究.解剖学杂志 1992; 15(4):273.
4. Tomobiro H, et al. The mechanisms of cytotoxicity to tumor cells by polymorphonuclear leukocytes stimulated with cytokines. Jpn J Cancer Res(Gann) 1988; 79:375.
5. Thierry GP, et al. Modification induced by activation to tumor cytotoxicity in the protein secretory activity of macrophage. J Leukocyte Biol 1986; 40:1.

马应龙麝香痔疮膏治疗各种疮疡 86 例

江苏省淮阴县新渡医院(江苏 223302) 杜中文 卢国珍

笔者自 1989~1992 年,用马应龙麝香痔疮膏(以下简称麝香痔疮膏),治疗各种疮疡 86 例,收效满意,现报告如下。

临床资料 本组治疗的 86 例中,男 47 例,女 39 例。年龄 3~72 岁,平均 32.1 岁。病种包括:会阴部湿疹 18 例,烫伤 16 例,口唇疱疹 15 例,烧伤 8 例,蜂类螫伤 6 例,新生儿脐部感染 6 例,外伤伤口感染 8 例,恶性肿瘤放疗后皮损 7 例,褥疮 2 例。

治疗方法 将疮面用生理盐水洗净,外涂麝香痔疮膏(本药含麝香、珍珠、琥珀、牛黄,每支 10 g,武汉第三制药厂生产),适量为宜,用无菌纱布覆盖,胶布固定,1 日 2 次。如伴有其他感染或表现有明显毒血症状,需配合抗生素治疗,孕妇忌用。

结 果 疗效标准:治愈:创面愈合,功能恢复,1 年未复发。显效:创面基本愈合,功能恢复。无效:治疗 10 天创面无改变或加重。结果:本组治疗的 86 例经 10 天治疗,治愈 84 例(97.6%),显效 2 例(2.4%),未见不良反应。

典型病例 朱某,男,46 岁,1989 年 3 月 6 日

初诊,左颈部皮肤损伤 4 个月。患者因喉癌 10 个月前手术,术后 2 月⁶⁰Co 放射治疗,1 周 5 次,总量 4 000 CGy,放疗结束后致左颈部皮肤损伤,经 4 个月治疗,收效不满意。体检:体温、脉搏、呼吸、血压均正常,左颈部可见 16×18 cm 皮肤破溃,有黄色液体渗出。心肺、肝脾均正常,浅表淋巴结不肿大,血常规检查正常。诊断:左颈部放射性损伤。治疗用麝香痔疮膏外涂,方法同上。经过 9 天治疗,共用药膏 5 支,左颈部破溃愈合结痂,1 年随访未复发。

体 会 笔者用麝香痔疮膏治疗多例痔疮、肛裂、肛周湿疹等病,均收到良好效果,联想到该药对肛门部位的损伤有效,而对病理相同的其他部位病损也应有效。因此,笔者用该药试治外科创疡,也收到较好疗效。

麝香痔疮膏经传统的工艺和现代的科学方法精制而成,有很好的清热解毒活血化淤的功能。患者普遍反映:该药局部外用后,立即有舒适、清凉、止痒、止痛的效果。

Effects of Replenishing Kidney Herbs on Estrogen and 1,25-(OH)₂-D₃ of Dexamethasone-induced Rats Model with Osteoporosis

Liu He-di (刘和娣), Li En (李恩), Tong Xiao-xu (佟晓旭)

Dept. of Biochemistry, Hebei Medical College, Shijiazhuang (050017)

Estrogen and 1,25-(OH)₂-D₃ change in rats with osteoporosis induced by dexamethasone (DXM) was observed. The calcium and replenishing Kidney Herbs (RKH) was used in treating osteoporosis. The results shown: The level of estrogen and 1,25-(OH)₂-D₃ in rats with osteoporosis was lower than that of the normal. Calcium and RKH were effective in treating osteoporosis and they could recover the level of estrogen and 1,25-(OH)₂-D₃ to normal state, the effect of RKH was better than that of calcium. There was positive correlation between the level of estrogen and 1,25-(OH)₂-D₃. The treatment of RKH might be an optimal method for osteoporotic treatment.

Key word osteoporosis, calcium, estrogen, 1,25-(OH)₂-D₃

(Original article on page 544)

Ultrastructural Observation of Intratumoral Neutrophils and Macrophages Induced by Garlic Oil

Gao Yu-min (高玉民), Xie Jin-yu (谢锦玉), Piao Ying-jie (朴英杰)

General Hospital of Air Force, PLA, Beijing (100036)

After injection of garlic oil in tumor focus a large amount of neutrophils, macrophages and lymphocytes appeared. Some neutrophils and macrophages located adjacent to the tumor cells, some processes of neutrophils and macrophages penetrated into intracellular body of tumor cells. This result showed that garlic oil could induce neutrophils and macrophages against tumor.

Key word garlic oil, neutrophils, macrophages, antitumor

(Original article on page 546)

Effect of Glycerol-Induced Acute Renal Failure in Rabbit with *Ligusticum Wallichii* on TXB₂, 6-keto-PGF_{1α} and 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂

Hu Wei-lie (胡卫列), Ma Yong-jiang (马永江), et al

Dept. of Urology, Guangzhou General Hospital of PLA, Guangzhou (510010)

The effect in preventing and treating glycerol-induced acute renal failure (ARF) in rabbit with *Ligusticum wallichii* (LW) has been studied. 33 male and female rabbits weighing 2.0–3.0 Kg were divided into three groups randomly: (1) LW treated group. (2) pathological control group and (3) normal control group. The measurement of plasma 6-keto-PGF_{1α}, TXB₂ concentration and 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ ratio were carried out with radioimmunoassay after 24 hr, 48 hr and 72 hr of ARF. The results showed that plasma TXB₂ concentration obviously increased ($P < 0.01$), 6-keto-PGF_{1α} concentration had no obvious changes ($P > 0.05$), 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ ratio markedly decreased and LW could reduce plasma TXB₂ concentration, slightly increase the plasma 6-keto-PGF_{1α} concentration, keep 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ ratio in normal level after ARF. It showed that LW could inhibit effectively platelet activation, correct 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂ imbalance and have a preventing and treating effect for ARF.

Key word *Ligusticum wallichii*, acute renal failure, TXB₂, 6-keto-PGF_{1α}

(Original article on page 549)