

山東師範大學
研究生論輯

第三輯

生物學專輯

一九八七年九月

山 东 师 范 大 学
研 究 生 论 辑
(第 三 辑)

编 辑 者：《山东师范大学研究生论辑》编委会

通讯地址：济南市文化东路 山东师大校内

电话：43711—594

印 刷 者：山东师范大学印刷厂

· 内 部 交 流 ·

研究生是科研队
伍的一支主力军

管梅谷
1987.7.4

校长管梅谷同志题词

把科研成果迅速转
化为生产力

副校长陈龙飞同志题词

陈龙飞
一九八七年
六月

山东师范大学研究生论辑(第Ⅲ辑)

生物学专辑

编辑委员会

顾问 滕怡群

主编 耿越

副主编 张立勇

编委 (按姓氏笔划为序)

万军利 王洪民

衣建龙 林少明

前 言

姚 敦 义

(生物系主任)

研究生是我国教师和科技队伍的重要后备力量。有一些研究生甚至在学习期间就对科学作出了重大贡献，荣获1958年诺贝尔奖的G. W. Beadle就是其中一个明显的例子。在科学史上，许多重大突破性工作是由年轻人作出的，例如W. S. Sutton 建立遗传的染色体学说和J. D. Watson提出DNA结构模型时都只有二十多岁。Barbara McClintock 在青年时根据她的工作就敢于向当时的权威学者 T. H. Morgan 挑战，提出基因可动的见解，当时虽被斥责为异端邪说，但最后终于得到公认而荣获诺贝尔奖。

这本小册子汇集了我系研究生一些比较好的论文，目的在于促进交流，活跃学术空气，希望能通过这种方式使研究生成长得更快些。

目 录

前 言.....	姚敦义
S180细胞姐妹染色单体互换的初步研究.....	史建国 (1)
小鼠腹腔巨噬细胞 (Mφ) 吞噬花粉过程中几种酶变化的研究.....	孙虎山 (3)
急性肝功能衰竭 (EHF) 的脂肪及PAS阳性物质的变化.....	耿 越 (6)
花粉激活的巨噬细胞吞噬活性的研究.....	贾同春 (9)
山莨菪碱 (654-2) 对大鼠束缚-水浴应激性溃疡的影响.....	张伟荣等 (12)
黄花烟草 (<i>Nicotiana rustica</i> L.) “黑老虎” 品种叶肉细胞原生质体 分化植株.....	赵彦修 (18)
腔梗草原生质体再生及遗传转化.....	刘春明 (24)
不同盐度下ATP对玉米幼苗Na ⁺ 和K ⁺ 吸收的效应.....	侯旭光 (31)
同一培养物内过氧化物酶的比较.....	刘林德 (34)
长白山低山带典型类群——林下繁殖鸟类群落结构的研究.....	胡东宇 (38)
济南市灵岩寺植物初步调查.....	樊守金 (44)
论原生动物的社会意义.....	景 晓等 (49)
原生动物的分类史.....	郭祖宝等 (56)
原生动物的寄生与共生.....	赫崇波等 (61)
不稳定基因组——植物可动基因研究的某些进展.....	张立勇 (64)
高等植物的遗传转化.....	刘春明 (72)
DNA结合蛋白质对远距离基因转录的调控.....	师祥洪 (82)
盐渍条件下, 植物细胞膜的膜脂组成和ATP酶的变化.....	衣建龙 (89)
从能量角度看动物营养方式的演化.....	王成胜 (94)
日本青萍6746种质保藏.....	邹 宁 (97)
进化中离子通道的起源.....	赵敬国 (98)
封二 管梅谷校长、陈龙飞副校长的题词	
封三 编辑委员会名单	

S₁₈₀细胞姐妹染色单体互换的初步研究

史建国

(85级动物细胞专业)

提 要

本文利用紫外线照射加吉姆萨染色的方法进行了小鼠S₁₈₀细胞姐妹染色单体的分化染色,并观察了SCE频率,平均每条染色体上SCE频率为0.037±,均在正常范围之内。

1974年Latif首先利用BrdU—Hoechst 33258荧光技术制备了人类淋巴细胞姐妹染色单体分化染色(SCD)标本;以后许多研究者改进了SCD标本的制作方法,使这一技术趋于简便可行,同时也使细胞姐妹染色单体互换(SCE)的研究得到广泛的应用。例如在细胞动力学、环境监测以及遗传疾病诊断等方面的研究。

小鼠腹水型肉瘤180(Sarcoma 180),简称S₁₈₀是一种超二倍体的肿瘤^[1]。根据其染色体结构和数量的异常来研究肿瘤发生的机制,探讨肿瘤治疗的方法,这一方面国内外有很多报导^[2]。但S₁₈₀SCE的研究国内尚未见报导。而且SCE频率比染色体和染色单体断裂频率的测定敏感性要高200倍以上^[3]。所以S₁₈₀SCE频率测定有利用更深入地研究肿瘤发生的机理,同时也对S₁₈₀细胞本身的变异情况进行监测。本文采用UPG法^[4]略加改进,对S₁₈₀SCE频率进行了初步的观察。

材 料 和 方 法

1. S₁₈₀细胞染色体的制备:

S₁₈₀细胞由山东省医学科学院供给。实验动物为体重25克左右的昆明小鼠。首先按 4.4×10^7 个细胞/ml的浓度腹腔接种0.5毫升/只。接种后照Kanda和Katô^[5]方法腹腔注射5-溴脱氧尿苷(BrdU);45小时按2r/g剂量注射秋水仙素;再过3小时处死动物,抽取腹水(肿瘤细胞)0.5ml,洗几遍后于37℃的0.075MKCl溶液中低渗19分钟。然后常规方法制片。

2. UPG染色

染色体标本在37℃烘干24小时后,放入2×SSC溶液(等量的0.3MNaCl和0.03M柠檬酸钠混合液,PH6.9)内,溶液高度以不浸满玻片为度。在玻片上面盖上一小块擦镜纸,保持温度50—55℃。在30瓦紫外灯下垂直照射30分钟,照射时距离为7cm。照射完后以蒸馏水洗去擦镜纸,7%吉姆萨(PH7的Sorénson's缓冲液)染色5分钟,水洗,干燥镜检。

结 果 与 讨 论

通过上述步骤,我们获得了预期的结果,不仅中期细胞的数量高,而且SCD细胞的出现频率也很高。在100个中期细胞中, M_2 细胞占81%, M_1 细胞占19%,在所观察的片子中未见 M_3 细胞(见表1)

表1 $S_{1.0}$ 细胞各期数量比较(个)

M期	M_1	M_2	M_3	M_2/M
100	0	81	19	81%

可以看出, $S_{1.0}$ 细胞并非全部均处于增殖状态,但在BrdU掺入的48小时后,至少有80%的中期细胞是同时经历了二个细胞周期。这部分细胞在完成了第一个分裂周期后,中间没有停止在G₀期或其它时相,而是同时进入第二周期。从周期时间说明,肿瘤细胞本身的增殖速度并不快,比其正常母细胞要慢。另一方面,肿瘤细胞同时启动的数目比一般细胞要高,所以从整体上看,肿瘤细胞比一般细胞的增殖速度要快。

从10个中期细胞的1005条染色体的观察中共查出SCE37个,平均每个细胞有3.7个左右。在这10个细胞中,最少的每个细胞有1个SCE,最多的达到9个。平均每条染色体上SCE出现频率是 $0.037 \pm$ (见表2)。这些数值均在正常范围之内。但应该注意地是不同时期的 $S_{1.0}$ 细胞,其SCE频率有没有差异,与细胞龄的关系如何,还有待进一步的研究。另外接种、制片、镜检分辨率等都影响SCE的频率。BrdU浓度过高也提高SCE频率。本文所用BrdU浓度为30 mg/ml。

表2 $S_{1.0}$ 细胞SCE频率统计

染色体数	SCE数	SCE/染色体数	SCE/细胞数(10个)
1005	37	0.037	3.7

对于SCE的研究,国内多用Korenberg(1974)或Perrg等(1974)等方法,但这种方法有时结果不稳定,易受许多因素的影响和干扰。Perrg's方法需要荧光染料Hochst 33258国内不易得到。根据我们的试验证明了荧光染料并非必需,单用紫外线照射加吉姆萨染色,仍能得到分化清晰的染色体。而且方法简单,重复性强。为科研和教学提供了一种新的SCE研究方法。

参 考 文 献

- [1] 张耀平等,常用实验动物肿瘤细胞染色体的研究6(4): 441-446, 1979遗传学报。
- [2] 同上
- [3] 闻仲权等,2BS细胞姐妹染色单体互换的研究,遗传8(4): 39-41 1986
- [4] 贺维顺等,一种简单的姐妹染在单体分化方法—紫外线照射加吉姆萨染色(UPG自然杂志3(8): 638 1979。
- [5] N.Kanda and H.kato A Simple technique for in vivo observation of SCE in mouse ascites tumor and spermatogonial cells

小鼠腹腔巨噬细胞($M\phi$)吞噬花粉过程中

几种酶变化的研究

孙 虎 山

(85级动物细胞专业)

提 要

本文用细胞化学方法显示了小鼠腹腔 $M\phi$ 吞噬花粉过程中 $M\phi$ 内的髓性过氧化物酶(POD), 酸性 α -醋酸萘酚酶(ANAE)及酸性磷酸酶(ACP), 发现花粉可使 $M\phi$ 内的此三种酶的活性显著提高, 包围消化花粉的 $M\phi$ 酶活性都比较高, 且在整个吞噬过程中持续较高的水平。

活化的巨噬细胞($M\phi$)在吞噬^[1]、代谢^[2]、抑制肿瘤^[3,4]以及分泌生物活性物质等方面都比未活化的 $M\phi$ 明显的增强。早在六十年代就发现许多因子可激活 $M\phi$ ^[5,6], 八十年代更受到人们的重视。活化 $M\phi$ 是提高免疫力、治疗肿瘤等疾病的一条很有前途的途径。近来我们实验室发现, 蜂源植物花粉对 $M\phi$ 有明显的直接激活作用^[7]。对 $M\phi$ 吞噬花粉过程中酶变化的研究尚未见有报道。本实验通过对小鼠腹腔 $M\phi$ 吞噬花粉过程中三种酶的细胞化学显示, 证明花粉可使腹腔 $M\phi$ 的酶活性显著提高。

材 料 与 方 法

昆明小鼠: 由山东师范大学生物系动物饲养场提供。

蜂源油菜花粉: 由中国农业科学院养蜂研究所提供。

取油菜花粉由5%的次氯酸钠消毒, 然后用无菌生理盐水洗三次, 最后用生理盐水配成浓度为每毫升 10^5 — 10^6 个花粉细胞的悬液。

取成年健康小鼠, 每只腹腔注射5%蔗糖1ml两天后再注射上述的花粉悬液每只1ml。

分别于注射后1、1.5、2、4、8、16、24、32、48、72小时取腹腔液, 生理盐水洗, 离心, 去上清, 留少许涂片, 然后用细胞化学方法显示POD、ANAE和ACP三种酶, 并取正常小鼠以及注射5%蔗糖的小鼠腹腔 $M\phi$ 显示此三种酶。

显示POD用Kaplow(1965)^[8]的方法, ANAE用偶联偶氮法^[9,10], ACP用Gomori的钨铅法^[11,12]。对照片在沸水中处理5分钟。

结 果 与 讨 论

注射花粉后1小时, $M\phi$ 的酶活性即有所增强。1.5小时 $M\phi$ 开始包围花粉细胞。4小时包围花粉的 $M\phi$ 达1—2层, 包围花粉的 $M\phi$ 酶活性都比较高。8—16小时, $M\phi$ 已达许多层, 达到高峰, 花粉已开始被消化分解, $M\phi$ 活性一直很高。24小时左右有的花粉细胞周围的 $M\phi$ 开始减少, 32—48小时 $M\phi$ 已减少到1—3层, 髓性过氧化物酶活性有所降低, 而ANAE和

ACP酶活性无明显降低,此时,有些花粉的细胞质已被消化降解完,有些 $M\phi$ 进入花粉细胞内,将花粉细胞的三片外壁包围开始消化花粉壁。72小时,大多数花粉被消化完毕, $M\phi$ 已完全散开,有的 $M\phi$ 内还有吞噬的花粉壁或花粉碎片。髓性POD活性降低但仍比注射花粉前活性高,ANAE和ACP活性仍处于较高的水平。

$M\phi$ 包围吞噬花粉时的髓性POD活性显示及其对照见图1—4,ACP活性显示及对照见图5—8。

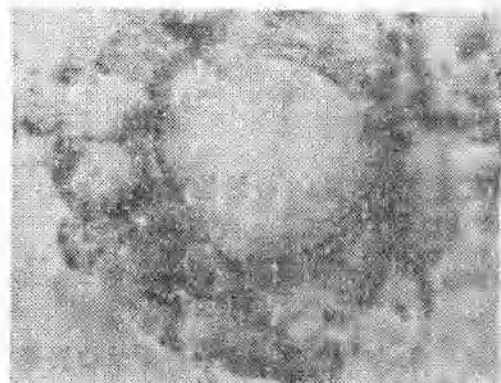


图1 注射花粉4hr显示POD



图2 16hr POD

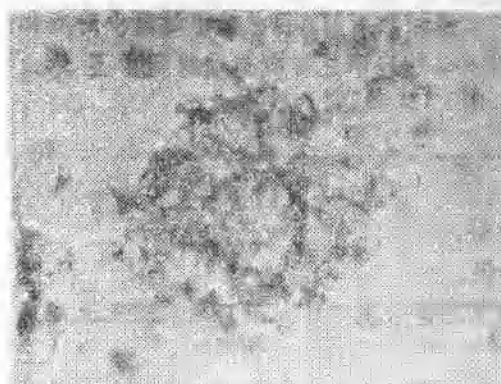
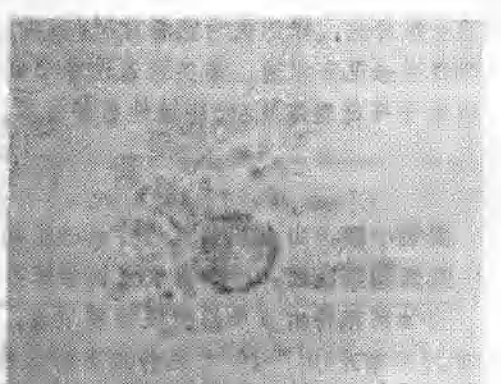


图3 24hr POD



4图 POD对照

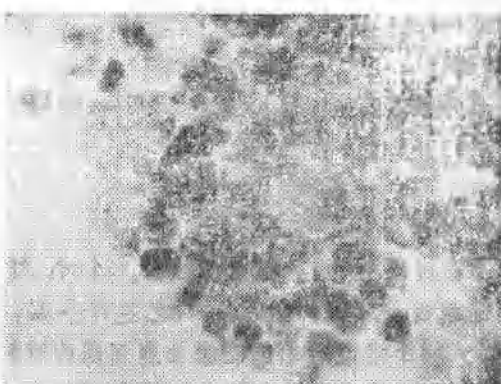


图5 4hr ACP

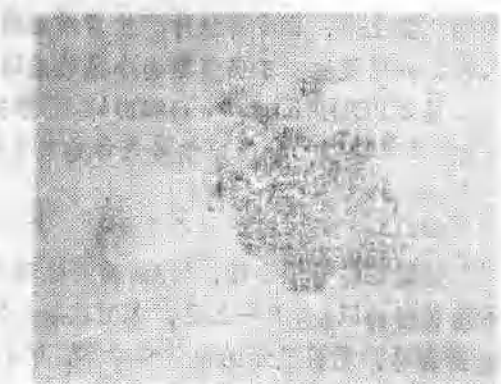


图6 16hr ACP

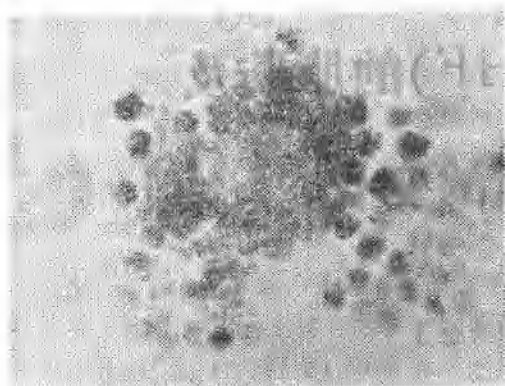


图7 24hr ACP



图8 ACP 对照

从实验结果可以看出,花粉对腹腔 $M\phi$ 的POD、ANAE和ACP活性有显著的增强作用,说明花粉对 $M\phi$ 有激活作用。同时,在实验过程中可以观察到注射花粉的腹腔 $M\phi$ 体积增大,常有巨细胞,并有变形,细胞表面皱褶丰富,常有细胞分裂,还常可见到 $M\phi$ 融合形成的双核或多核细胞,这些都是活化 $M\phi$ 的特征,进一步证实了上面的观点。花粉可以提高 $M\phi$ 的质量,从而提高动物体的免疫能力。这对于抵抗衰老、抑制肿瘤等很可能有作用,还需要进一步的研究去证实。

正常小鼠的腹水细胞中,嗜中性白细胞占优势,而注射花粉后的腹水中, $M\phi$ 占绝对优势。这些迅速增加的 $M\phi$,大部分可能来自血液中的单核细胞以及别的组织中的 $M\phi$ 还有部分可能是通过腹腔固有 $M\phi$ 的分裂产生的。说明花粉既可提高 $M\phi$ 的质又可提高 $M\phi$ 的量。

花粉可使大量的 $M\phi$ 趋向于它,并把它包围起来,可达许多层。这说明,花粉中一定存在一种因子,可作用于 $M\phi$,使 $M\phi$ 趋向于它。这对于诱导 $M\phi$ 趋向于病灶可能是有意义的。而这种因子是何物质以及其应用也需要进一步去探讨。

实验中,我们还观察到 $M\phi$ 把花粉包围起来后,先消化细胞质,质被消化完后再把花粉壁包围起来,降解成碎片再分别被 $M\phi$ 所吞噬,最后被消化成在光镜下看不到结构的物质。花粉的内壁是由纤维素和果胶质组成的,外壁是由很难被酸碱降解的孢粉质组成的。我们设想, $M\phi$ 能否分泌纤维素酶等?再进一步是否 $M\phi$ 具有编码此酶的基因?推广一下是否所有动物细胞都有此基因?这些问题的解决将有十分重要的意义,而这些问题的最终解决也离不开纤维素酶等的细胞化学定位。当然也可能是在花粉中具有这些酶或酶原, $M\phi$ 只是起激活作用,那么激活机理怎样呢?

在显示POD过程中,发现 $M\phi$ 明显地分为两类,POD阳性 $M\phi$ 和POD阴性 $M\phi$,这可能是 $M\phi$ 的两个亚群,分别称为炎症性 $M\phi$ 和组织固有 $M\phi$ ^[13,21],包围花粉的 $M\phi$ 大多数是前者。

本文只是从细胞化学的角度对 $M\phi$ 吞噬花粉过程中酶变化进行了初步研究,当然还可以利用生化手段定量进行研究,以搞清其酶活性变化的规律。

参 考 文 献

- [1] 上海市医学化验所(1983)临床医学检验(上册),P126,上海科学技术出版社

急性肝功能衰竭(FHF)的脂肪及 PAS阳性物质的变化

耿 越

(85级动物细胞专业)

提 要

本文用1.5mg盐酸D-氨基半乳糖/g体重的剂量注射大白鼠,造成急性肝功能衰竭。发现注射24小时后脂肪含盐最高,四天后恢复正常。24—48小时后存在PAS阳性物质。这种PAS阳性质不含脂类、 Fe^{+++} 及 Fe^{++} ,可能是粘多糖类物质。糖原变化六天后仍未恢复正常。

急性肝功能衰竭(Fulminant Hepatic Failure 简称FHF)一般是指无肝脏病史的患者在短时间内急骤发病而造成肝功能衰竭者。此病病程短促,来势凶险,死亡率高达80%以上。其中尤以青少年患者为多。本文试从组织化学的角度研究大白鼠FHF模型脂肪及PAS阳性物质的变化。为临床研究提供可靠的观察指标。

材 料 及 方 法

实验动物为Wistar系大白鼠来自本系动物饲养场。体重110g—160g,年龄3个月左右。

盐酸D-氨基半乳糖(D-Galactosamine)由重庆医学院化学教研组提供。

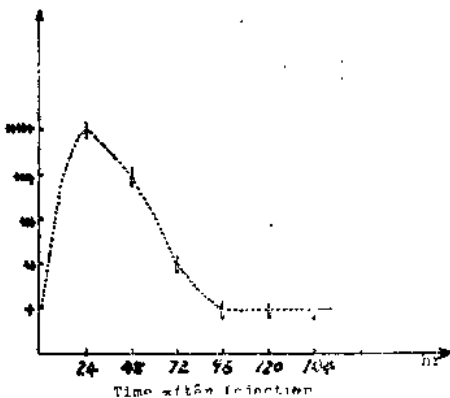
将盐酸D-氨基半乳糖(简写为D-gal)用无菌生理盐水配成10%的浓度,以1N NaOH

-
- [2] Nathan C.F.etal (1984) Cell 38(2):569
 - [3] Nakahashi H.etal (1984) Cancer Res 44(12):5906
 - [4] Vaage J. et al (1985) Cancer Res 45(1):659
 - [5] Old L.J. et al (1961) Cancer Res 21:1281
 - [6] Castro J.E. (1978) Immun Asp Cancer P132 MTP
 - [7] 冯静仪 (1986) 中国细胞生物学学会第三次会议论文摘要汇编 P157
 - [8] Kaplow L.S. (1985) Blood 26(2):215
 - [9] Lojda Z. (1977) Histochemistry 54:299
 - [10] Hoefsmit E.C.M.etal (1985) Histochemical J.17:235—241
 - [11] Gomori G (1950) Stain Technol 25:81
 - [12] Philip L.S.&L Scotl H.R. (1985) Histochemical J.17:43—56
 - [13] Ginsel L.A. (1983) Histochemistry 79:295
 - [14] De Water R. et al (1981) Histochemistry 172:333

将PH调至PH6.8—7。注射剂量参照安立国^[1]的工作。每克体重1.5mg D-gal腹腔注射。注射后饲以正常饲料。按24小时、36小时、48小时以后每隔24小时取材一次。取大白鼠断头处死。Carnoy固定石蜡切片做PAS反应，Formalin固定石蜡切片做Sudan IV染色。另外用注射针管反复抽打的方法得到分离的单个肝细胞。涂片，分别用Carnoy和Formalin固定后做PAS反应和Sudan IV反应。光镜下检查。

结 果

1. **Sudan IV 反应**：正常肝细胞脂肪含量较少，以“+”表示。注射D-gal 24小时后，即可看到FHF细胞内脂肪急剧增加，达到“++++”。48小时后，脂肪含量有所下降，“++++”。72小时后，含量仅“++”，四天以后，脂肪含量已基本恢复至对照组的正常水平。如图所示。



注：“+”表示正常大白鼠肝细胞内脂肪含量。

“++”、“+++”、“++++”

依次表示脂肪含量的增加及相对含量。“++++”表示脂肪最高含量。

2. **PAS反应**：正常大鼠肝细胞内含有丰富的糖原物质。注射D-gal 36小时后肝细胞内有颗粒状的PAS阳性物质。用唾液淀粉酶消化后仍为阳性。颗粒多为圆形，也有椭圆形及不规则的其它形状，轮廓明显，直径约 $9.61 \pm 3.86 \mu$ ，小的直径约 5.34μ ，大的可达 24.03μ 。多数颗粒内质均一，有的内部有着色较浅的似空泡状物质。单细胞涂片所做的PAS反应只在24小时，48小时以后的FHF细胞内有PAS阳性颗粒。48小时以后未发现有此物质，而是呈PAS阴性反应。观察到第六天糖原含量仍未能恢复到正常水平。

讨 论

1. **脂肪的变化**：正常情况下，脂肪由脂肪组织进入肝脏，在肝脏内被完全氧化，形成脂蛋白及各种复合脂类，如卵磷脂，然后运出肝脏。肝衰竭时，肝细胞内的与脂肪代谢有关的某些酶活性受到破坏，进入肝细胞的脂肪不能迅速地被合成利用，致使脂肪累积起来。临床上有的肝衰病人形成脂肪肝。本实验在注射D-gal后24—48小时，少数大白鼠急骤发病而死；96小时后，大多数昏迷鼠苏醒，开始恢复吃食。FHF肝细胞脂肪的变化在24小时含量最高，其后逐渐不降，96小时后已恢复正常。可以认为注射D-gal后24—48小时，酶活性丧失最严重，此时进入肝细胞的脂肪大量累积起来。随着病情的减缓，累积的脂肪在活性迅速恢复的各种酶的作用下，逐渐被合成利用，转化成脂蛋白及各种复合脂类，运出肝脏，供机体

恢复之用。肝脏脂肪的变化与肝衰大鼠个体的变化是同步的。

2. 糖原的变化: 正常肝脏储存有大量的糖原物质,借助于G-6-P酶的作用,可使糖原分解成葡萄糖,用以维持血糖之恒定水平。肝衰竭时,肝糖原分解减弱,可出现低血糖,引起昏迷。Keppler^[2]认为肝衰时不存在组织学可鉴定的糖原物质。实验结果发现,注射D-gal24-48小时期间存在不能被唾液淀粉酶所消化的PAS阳性物质。野田健一^[4]用0.4 mg/g体重剂量注射大白鼠,20小时后发现PAS阳性物质弥散于肝细胞中,颗粒的形状不规则,在部分区域形成集聚。野田健一^[5]用同样剂量注射D-gal2小时后,发现某些肝细胞中存在质地均匀的阳性颗粒。Wajchenberg^[3]观察到暴发性肝病患者的肝细胞内有分散的PAS阳性物质,PAS颗粒无明显界限,但有荧光。本实验发现,PAS阳性颗粒数量有限,边缘清晰,多数形状规则,质地均匀,也有不均者。这与上述几位作者的工作有不同之处。关于PAS阳性物质的形成野田健一等^[5]曾提出一个假说,认为D-gal作用于细胞膜,使5-核苷酸酶(5-Nase)的量下降,细胞质膜蛋白质合成下降,D-gal与UTP结合形成UDP-Hexosamine(UDP-己糖胺),此物质聚合形成PAS阳性物质。为鉴定该PAS阳性物质本实验用Schmorl反应、油红O检查,结果为阴性,该物质不含脂类。用Nile兰反应检查结时也为阴性,且其最小直径在5 μ 以上,不能肯定其与脂褐素有直接关系。普鲁士兰、吞本氏兰反应结果也为阴性,证明这些颗粒物质不含Fe⁺⁺⁺及Fe⁺⁺。Wajchenberg^[3]认为该类物质很可能是粘多糖。从以上实验结果出发,本文倾向于这一观点。至于其多糖成分的性质,尚有待于进一步研究。

3. 观察到脂肪变化的恢复与糖原变化的恢复是不同步的。前者四天后即恢复正常,后者大约六天后仍未有恢复迹象。其原因可能是:(1)EHF恢复过程中需要大量的能量,脂肪完全氧化产生的能量比糖原要大得多,首先被利用来产能。(2)脂肪及糖原代谢中的各种酶受损伤程度及修复的快慢不同。(3)糖原的分解合成是与滑面内质网相联系的。注射D-gal后可能会造成滑面内质网的解聚。膜结构的恢复又依赖于蛋白质及复合脂类的合成。因此滑面内质网修复要在脂肪正常代谢恢复之后,使得糖原的改变也恢复得晚。

结 论

本文用Wistar大白鼠按1.5mg/g体重腹腔注射D-gal造成急性肝功能衰竭。石蜡切片及单个肝细胞涂片做Sudan IV及PAS反应等,光学显微镜下观察。得到的结论如下:

1. 注射24小时后脂肪含量最高,其后逐渐下降,四天后已恢复到正常。
2. 注射D-gal24-48小时后肝细胞存在PAS阳性物质。其性质可能是粘多糖。糖原的变化六天后仍未恢复。
3. 糖原与脂肪的变化存在不同步性。这可为临床研究及护理提供一定的动物学实验依据。

参 考 文 献

- [1] 安立国 待发表
- [2] Keppler D. et al (1963) Experimental and Molecular pathology
9: 279—290
- [3] Wajchenberg B.L. A. M. A. Archives of pathology
- [4] 野田健一 (1976) 肝脏 17卷 12号 12: 874—22: 884
- [5] 野田健一等 (1978) 肝脏 19卷 4号 13: 339—18: 344

花粉激活的巨噬细胞吞噬活性的研究

贾 同 春

(85级动物细胞专业)

摘 要

本文利用体内法就花粉对腹腔巨噬细胞对鸡红细胞及酵母细胞吞噬活性的影响进行了研究。结果表明花粉可以激活腹腔巨噬细胞, 十分明显地提高了腹腔巨噬细胞对鸡红细胞 ($p < 0.001$) 和酵母细胞 ($p < 0.001$) 的吞噬活性, 从而可以提高机体的免疫功能。

自从Alexander (1972) ①提出了活化巨噬细胞的概念以来, 已经发现许多因子可以作用于巨噬细胞, 使其激活, 从而增强其吞噬功能②、③。由于近年来各种各样的花粉产品相继问世, 得到了人高的普遍欢迎, 花粉对免疫系统的作用因此引起了研究者的注意。但迄今为止, 花粉对巨噬细胞直接激活作用的研究除本室已有报导外尚未见其它详细报导。本文采用体内法就花粉激活巨噬细胞后对鸡红细胞(CRBC)、酵母细胞的吞噬活性进行了初步探讨。

材 料 和 方 法

(一) 实验动物: 昆明种小白鼠

(二) 试剂:

1. 花粉悬液的制备:

取蜂花粉花粉粒(中国农业科学院养蜂研究所)溶于生理盐水中, 500rpm离心2分钟, 浸于5%的次氯酸钠中, 再用生理盐水洗三次, 稀释成浓度为 5×10^6 个/ml的花粉悬液。

2. CRBC悬液制备:

从鸡翅静脉采血, 肝素抗凝, 保存于Alsever液中, 临用前2500rpm离心洗三次最后用生理盐水配成浓度 6×10^6 个/ml的细胞悬液。

3. 酵母细胞悬液制备:

取培养了24小时的酵母菌落用生理盐水打散, 在螺旋式混合器上振荡10分钟, 1000rpm离心5分钟, 连续洗二次, 用生理盐水稀释成浓度为 3×10^7 个/ml的菌悬液。

4. 5%的蔗糖作为巨噬细胞的诱导剂

(三) 吞噬活性的观察:

1. 巨噬细胞对CRBC吞噬活性的观察:

取正常的小白鼠随机分为实验组和对照组。实验组小鼠每只先腹腔注射5%的蔗糖1ml 24小时后腹腔注射花粉悬液1ml, 3天后腹腔注射CRBC悬液1ml, 30分取腹腔浸出液, 生理

盐水洗涤, 涂片, 以甲醇固定, Wright's染色15分, Giemsa复染5分, 封片, 镜检100个巨噬细胞中吞噬了CRBC的巨噬细胞数目和吞噬的CRBC的总数, 求出吞噬率和吞噬指数。对照组每只注射5%的蔗糖1ml, 再注射生理盐水1ml, 3天后同上法进行。

2. 巨噬细胞对酵母细胞吞噬活性的观察

实验组小鼠先腹腔注射5%的蔗糖1ml, 24小时后注射花粉悬液1ml, 2天后注射酵母细胞悬液1ml, 30分后取腹腔浸出液, 用生理盐水洗涤, 涂片, 95%酒精固定, 先经唾液消化40分钟, 再经PAS反应, 1%甲绿复染细胞核, 封片镜检。对照组只注射5%的蔗糖和生理盐水, 3天后同上法进行。

实 验 结 果

一、巨噬细胞对CRBC吞噬活性的观察

腹腔巨噬细胞经花粉激活后对CRBC的吞噬活性有明显增强的趋势, 实验组和对照组数据经统计学处理, 差异极为显著 ($P < 0.001$) (见表1 图I)

2. 巨噬细胞对酵母细胞吞噬活性的观察

巨噬细胞被花粉激活后对酵母细胞的吞噬活性也明显增强。吞噬指数提高, 差异极为显著 ($P < 0.001$), 吞噬率差异显著 ($P < 0.05$) (见表2及图II)

TABLE 1

phagocytosis of peritoneal macrophages to chick red blood cells

	control $\bar{X} \pm SD$	experimental $\bar{X} \pm SD$	P value
phagocytic Percentage	64.83 ± 12.18	82.13 ± 7.53	< 0.001
phagocytic index	1.37 ± 0.38	2.53 ± 0.48	< 0.001

TABLE 2

phagocytosis of peritoneal macrophages to yeast cells

	control $\bar{X} \pm SD$	experimental $\bar{X} \pm SD$	P value
phagocytic Percentage	86.10 ± 7.66	93.22 ± 4.65	< 0.05
phagocytic index	1.58 ± 0.59	2.90 ± 0.57	< 0.001



图1 吞噬CRBC的巨噬细胞(1000×)



图2 吞噬酵母的巨噬细胞(1000×)

讨 论

巨噬细胞是具有吞噬功能的免疫活性细胞,在细胞免疫中起着很重要的作用。巨噬细胞的吞噬功能可被激活剂活化而得到加强。已经报导卡介苗④,短小棒状杆菌⑤,淋巴因子②③,左旋咪唑等可以非特异性地激活巨噬细胞。某些中药如新芪苓⑥等也能使巨噬细胞活化。活化巨噬细胞在形态、代谢及功能等方面都发生了很大变化⑦、⑧、⑨。从而提高机体防御异物侵袭及抗肿瘤的能力⑩~⑭。给小鼠注射花粉,通过巨噬细胞对CRBC及酵母细胞吞噬活性的观察发现巨噬细胞也能被花粉激活,明显提高了吞噬活性。这可能表明花粉在抗老延衰中对抵制肿瘤和其它免疫性疾病的发生具有重要的意义。花粉中激活巨噬细胞的有效成分及花粉对体液免疫及细胞免疫的其他影响等方面的问题尚有待今后进行更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Alexander P. & Evans R. 1972 Nature 238:168
- [2] Gastro J. E. 1978 Immunological aspects of Cancer P132 MTP
- [3] Ogmundottir H. M. et al 1980 Clin Exp. Immunol 40:223—
- [4] Oid L. J. et al 1961 Cancer Res. 21:1 281
- [5] 于俊阁 1984 动物学报 (1):18
- [6] 余济等 1982 肿瘤与免疫 P207 上海科学技术出版社
- [7] Buys S. S. et al 1984 Cell 38 (2):569
- [8] Nathan C. F. et al 1971 J. EXP. Med. 133:1356
- [9] Geczy C. I. et al 1983 J. Immunol 130 (6):2743
- [10] Halpern B. N. et al 1966 Nature 212:853
- [11] Likhite V. H. & Halpern B. N. 1973 Int. J. Cancer 12:999
- [12] Meltzer M. S. et al 1975 Cell Immunol. 17:30
- [13] Stewart C. C. 1983 J. Reticuloendothel Soc. 34:23
- [14] Vaage J. & Pepin K. G. 1985 Cancer Res. 45 (1):659