

黄芪多糖对小鼠吞噬功能的影响

陈丽娟 沈美玲 王美瑛 翟世康 刘明章 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 本文研究了 APS 对小鼠吞噬细胞吞噬功能的影响。APS 经 ip 可使腹腔巨噬细胞数增加, 显著提高腹腔巨噬细胞吞噬 SRBC 的吞噬%和吞噬指数。扫描电镜见 APS 组的腹腔巨噬细胞中很多呈高度伸展的扁平状, 而对照组多为球状。APS 组脾脏中呈伸展状的巨噬细胞也比对照组为多。给小鼠 ig APS 2 g/kg, 未见促进腹腔巨噬细胞吞噬功能的作用, 但用黄芪水煎剂 ig 25 g 生药/kg, 则腹腔巨噬细胞吞噬 SRBC 的%和吞噬指数均显著提高。

关键词 黄芪多糖; 巨噬细胞; 吞噬作用; 扫描电镜; 碳廓清率

黄芪是祖国医药中常用的理气药。近来研究表明它是一种免疫调节剂^(1,2), 我所从内蒙黄芪(*Astragalus mongolicus* Bunge)中提取到一种多糖成分(简称 APS), 水溶性粉末, 经 Sephadex G-200 层析表明是均匀体⁽³⁾。APS 具有解毒和抗菌等生物活性⁽⁴⁾, 本文研究它对小鼠吞噬功能的影响。

方 法

印度墨汁为英国 Winsor & Newton 厂出品, 用 1% 明胶生理盐水制备成 20% 墨汁。JCR 小鼠体重 20-22 g。

一、腹腔巨噬细胞吞噬羊红细胞 (SRBC) 功能的测定^(2,5) 在无菌条件下取羊血, 加入阿氏液中, 密封后放 4℃ 保存。临用前用生理盐水洗涤 3 次, 于 125 × g 离心 2-3 min, 按 SRBC 的体积, 用生理盐水配成 5% 的悬液。实验时每鼠 ip SRBC 悬液 1 ml, 于 0.5 h, 3 h

和 6 h 后, 分别给小鼠 ip 2 ml 生理盐水, 揉摸腹部后处死小鼠。剪开腹部, 吸出腹液, 于 125 × g 离心 5-10 min。弃去上清液, 加入 1-2 滴血清。将沉淀物混匀、涂片、最后用 Wright 氏法染色。在油镜下计数 100 个巨噬细胞中吞噬了 SRBC 的巨噬细胞数(吞噬%)以及 100 个巨噬细胞吞噬的 SRBC 总数, 求出每一个巨噬细胞平均吞噬 SRBC 数目(吞噬指数)。

二、碳廓清率的测定 取印度墨汁自小鼠尾 iv 0.3-0.4 ml, 2 和 20 min 后分别从眶静脉取血 20 μl 加到 2 ml 0.1% NaHCO₃ 溶液中摇匀, 用 72 型分光光度计在波长 670 nm 下比色。计算碳廓清率公式⁽⁶⁾如下:

碳廓清率 = $[\log(100-T_2) - \log(100-T_{20})] / 18$
式中 T₂ 和 T₂₀ 分别为 2 和 20 min 时取血制得的待试液的透光率。

三、巨噬细胞扫描电镜样品的制备⁽⁷⁾ 取用过 APS 和对照的小鼠, 每鼠 ip 2 ml RPMI 1640 培养液(简称培液)。按方法一所述取出腹腔细胞悬液, 放入试管中, 于 32 × g 离心 2 min, 弃去上清液。再用培液洗涤 3 次后稀释, 使 APS 和对照组腹液的细胞浓度相同。取 2 ml 细胞悬液, 放入装有玻片(0.8 cm²)的

1980年6月3日收稿 1981年2月23日修回
部分工作文摘已投 Abstracts of 4th International Congress of Immunology.

表 1. Effects of APS on intraperitoneal phagocytosis in mice ($\bar{x} \pm SD$)

Time (h) after ip SRBC	Phagocytotic ratio (%)		Phagocytotic index	
	control	APS	control	APS
0.5	0.6±0.9 (5)	10±7** (6)	0.03±0.04	0.4 ±0.5 *
3	10 ±16 (5)	22±15 (5)	0.18±0.27	0.8 ±0.7
6	8 ± 4 (5)	18±12 (5)	0.48±0.17	1.0 ±0.8
0.5	0.8±0.9 (5)	18±13** (4)	0.013±0.018	0.35±0.27*
3	15 ±13 (3)	24±19 (5)	0.21±0.19	0.38±0.19
6	8 ± 4 (3)	20±11 (6)	0.15±0.09	0.43±0.24

() number of mice * P<0.05 ** P<0.01

烧杯内, 于 37℃ 孵育 1.5-2 h 后取出玻片, 先后于培液和磷酸缓冲液 (pH 7) 中充分洗涤 3-4 次, 以洗去大部分非巨噬细胞。再将玻片放入 1% 戊二醛磷酸缓冲液内。次日用磷酸缓冲液洗去固定液后, 相继放入 30% 乙醇中, 逐步到高浓度乙醇、无水乙醇、无水乙醇加醋酸乙酯, 纯醋酸乙酯内进行脱水。然后放入临界点干燥器内进行干燥。喷金后, 在扫描电镜下观察巨噬细胞形态变化。

小鼠脾脏剪碎后, 用 6 层纱布过滤, 将滤过的单细胞如上处理。

结 果

一、APS 对腹腔巨噬细胞吞噬 SRBC 功能的影响 将小鼠随机分为 2 组, 1 组 ip 生理盐水, 另 1 组 ip APS, 连续给药 5 d。于末次给药后 24 h, ip SRBC, 分别于 30 min、3 h 和 6 h 测定腹腔巨噬细胞的吞噬功能。可见有些巨噬细胞可以吞噬好几个 SRBC, 特别是 APS 组, 1 个巨噬细胞甚至可以吞噬十几个 SRBC, 体积增大 4-5 倍。表 1 是 2 次实验的结果, 可见给 APS 后 30 min 吞噬 % 提高 15-20 倍 (P<0.01); 吞噬指数也明显提高。3 和 6 h 后, 吞噬 % 和吞噬指数仍较对照组稍高。

如改变用药方案为 1, 3 和 5 d, 均于末次给药后 24 h ip SRBC, 30 min 后测其吞噬功能。对照组, 给药 3 d 组和给药 5 d 组的吞噬 % 分别为 3.4±(SD) 1.3, 16±4 和 18±3,

吞噬指数分别为 0.94±0.04, 0.68±0.20 和 0.72±0.20, 可见不论给药 3 d 或 5 d, 腹腔巨噬细胞吞噬功能均显著增强。如给药 1 d, 腹腔巨噬细胞吞噬功能也有增加, 但不稳定。

不同途径给药对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响见表 2。在同一实验条件下 ip APS 连续 5 d, 腹腔巨噬细胞的吞噬 % 和吞噬指数均比对照组显著提高 (P<0.01)。而其它途径给药, 尽管剂量增大到 2 g/kg, 仍没有观察到对腹腔巨噬细胞的促进作用。

二、APS 对小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响 取小鼠 10 只, 平分为 2 组。1 组每 d ip 生理盐水, 另 1 组每 d ip APS 200 mg/kg 连续给药 5 d, 于末次给药后 24 h iv 印度墨汁 0.4 ml, 测碳廓清率, 两次实验结果为: 对照组为 7±4 和 2±6, APS 组为 13±5 和 12±10。APS 组碳廓清率比对照组有升高趋势。

三、用扫描电镜观察 APS 对小鼠巨噬细胞的作用 将小鼠分为对照、iv APS 和 ip APS 共 3 组。APS 剂量为 200 mg/kg, 连续给药 5 d。于末次给药后 24 h, 取腹腔细胞作扫描电镜观察。对照组的腹腔巨噬细胞多数为球形 (图 1A, B), 高度伸展的扁平状巨噬细胞约占 1%。在 ip APS 组可见高度伸展的扁平状巨噬细胞约占 50% 以上, 直径增大, 表示他们的活性增强 (图 1C, D)。但 iv APS 组腹腔巨噬细胞的形状与对照组相似。不论 ip 或 iv APS, 脾脏内伸展的巨噬细胞都比对照

表 2. Effects on intraperitoneal phagocytosis by different routes of administrations to mice ($\bar{x} \pm SD$)

Route	APS (mg/kg)	Phagocytotic ratio (%)	Phagocytotic index
—	—	0.4 ± 1.0 (10)	0.02 ± 0.04
ip	200	$16 \pm 8^{**}$ (5)	$0.8 \pm 0.5^{**}$
iv	200	0.2 ± 0.5 (5)	0.006 ± 0.010
ig	200	0 ± 0 (5)	0 ± 0
im	200	1.4 ± 3.1 (5)	0.06 ± 0.13
im	2000	1.6 ± 3.6 (5)	0.03 ± 0.06

() number of mice * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

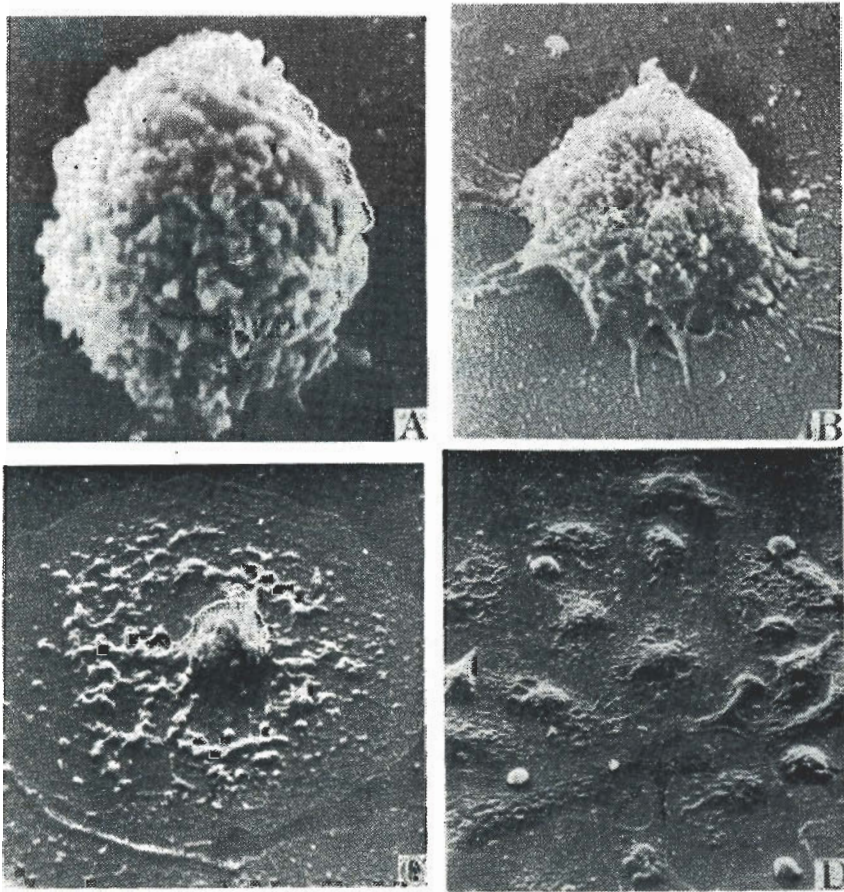


图 1. Scanning electron microscopy of mouse intraperitoneal macrophages. A) Control $\times 5000$ Ball-like macrophage. B) Control $\times 5000$ Macrophage with flattened pseudopodium. C) APS-treated $\times 3000$ Extensively extended macrophage with bulbs on the surface. D) APS-treated $\times 1000$ Extensively extended macrophages connected into a layer.

组多(图 2), 但与 ip APS 组腹腔巨噬细胞比较, 伸展型的巨噬细胞远为少, 且伸展的程度也较低。

讨 论

APS 是从黄芪中抽提到的一种有生物活

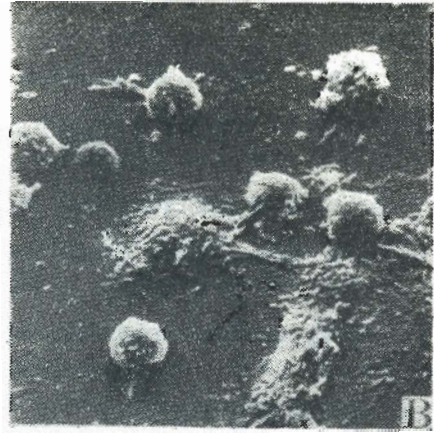
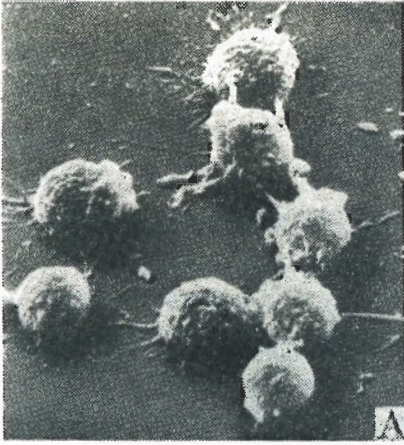


图 2. Scanning electron microscopy of mouse spleen macrophages. A) Control $\times 2500$ Most macrophages are ball-like. B) APS-treated $\times 1000$ Several flattened macrophages are observed.

性的多糖。如给小鼠 ip 200 mg/kg 腹腔巨噬细胞的吞噬功能明显增强。例如腹腔巨噬细胞吞噬 SRBC 的能力增强, 用扫描电镜技术也观察到 APS 组中高度伸展的扁平状细胞数增多, 这些作用与国外报道葡聚糖 (glucan)⁽⁷⁾ 的作用极为相似。从不同途径的给药实验结果可见, 除 ip 外, 其它给药途径对小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能都无促进作用。提示 APS 对腹腔巨噬细胞的吞噬功能的促进作用似以直接刺激为主。碳廓清实验结果表明, APS 有促使小鼠碳廓清率增加的趋势。电镜扫描也观察到 APS 组中, 表明 APS 对脾脏内的巨噬细胞功能有促进作用。APS 组中伸展的扁平状巨噬细胞比对照组为高。

黄芪水煎制成 1g 生药/ml, 按 25 g 生药/kg 的剂量 ig, qd \times 5 d, 停药 1 d 后, 测定腹腔巨噬细胞的吞噬%。3 批实验结果对照组分别为 7.0 ± 2.7 , 3.4 ± 2.9 和 4.3 ± 1.7 , 而黄芪水煎剂组为 14 ± 5 , 19 ± 11 和 12 ± 5 。给药组腹腔巨噬细胞吞噬%均比对照组显著提高

1 倍以上, 吞噬指数也有所增加。而 APS 即使 ig 剂量高达 2 g/kg, 也无促进腹腔巨噬细胞吞噬功能的作用。黄芪水煎剂和 APS 的这种差异提示黄芪可能含有不止 1 种免疫促进成分。

致谢 得到高怡生教授的关怀, 中国科学院上海昆虫研究所电镜室马金鑫工程师摄制电镜扫描图。

参 考 文 献

- 1 刘天培. 江苏医药 1978年2月; 4(2): 32
- 2 张蕴芬, 崔文英, 李顺成, 李卫东, 骆保. 新医学杂志 1979年3月; (3): 56
- 3 中国科学院上海药物研究所. 待发表
- 4 中国科学院上海药物研究所, 上海第二医学院病理解剖教研组电镜室. 科学通报 1979年8月30日; 24(16): 764
- 5 董长治. 山东医学院学报 1978年4月; (4): 60
- 6 Hudson L, Hay EC. *Practical immunology*. 1st ed. Oxford: Blackwell, 1976: 75
- 7 Golde DW, Burgaleta C, eds. *Immune modulation and control of neoplasia by adjuvant therapy*, vol 7. New York: Raven, 1978: 201-5

EFFECT OF *ASTRAGALUS* POLYSACCHARIDES ON PHAGOCYTTIC FUNCTION IN MICE

CHEN Li-juan, SHEN Mei-ling, WANG Mei-ying, ZHAI Shi-kang, LIU Ming-zhang
(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Intraperitoneal injections of the polysaccharids (APS) isolated from *Astragalus mongolicus* caused an increase in the number of intraperitoneal macrophages and in the ability of phagocytosis of sheep rbc. As seen by scanning electron microscopy the macrophages of the APS group were mostly flattened, while those of the control were mostly spherical. The activated macrophages in the spleen of

APS group were also increased. If APS was given iv or ig, even at higher dosages, the phagocytic function of the intraperitoneal macrophages did not change significantly.

KEY WORDS *Astragalus* polysaccharide; macrophages; phagocytosis; scanning electron microscopy; carbon clearance rate