

一种简单的巨噬细胞体内吞噬试验

柯 岩

(首都医科大学微生物学和免疫学教研室 北京 100054)

摘要 巨噬细胞能吞噬鸡红细胞。我们采用小鼠腹腔巨噬细胞体内吞噬鸡红细胞试验,来观察巨噬细胞内的鸡红细胞的形态,并计算吞噬鸡红细胞的巨噬细胞的百分比和吞噬指数,效果很好。据此判断巨噬细胞的吞噬功能和消化功能。提示巨噬细胞体内吞噬鸡红细胞试验,是一种观察巨噬细胞吞噬功能的简捷的方法。

关键词 巨噬细胞, 鸡红细胞, 体内吞噬试验

巨噬细胞是机体免疫系统中重要的细胞成分之一,可以吞噬微生物和其它异物颗粒,在机体免疫应答中起着相当重要的作用。目前,各高校在微生物学和免疫学等内容的教学中都有巨噬细胞吞噬实验,且在药物对免疫功能的影响作用的研究中,巨噬细胞吞噬试验也是一个重要的非特异性免疫功能的观察指标。但是,常规的体内吞噬细菌法对巨噬细胞吞噬和消化细菌的时间不容易掌握,因为细菌很小,巨噬细胞不是未吞噬就是细菌已被消化,结果很不易观察。因为鸡红细胞个大,且易吞噬,易观察,所以效果很好。因此,我们采用体内巨噬细胞吞噬鸡红细胞法。现将方法介绍如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 小鼠, 18~22g, 雌雄皆可。

1.1.2 吞噬物: 鸡红细胞悬液: 鸡心脏取血, 将其置于内有 Alsever 液的离心管中, (血与 Alsever 液的比例为 1:5), 混合后, 用生理盐水洗涤三次 (1500r/min, 10min/次, 离心洗涤), 沉积物用生理盐水配制成 2% 悬液。

1.1.3 金黄色葡萄球菌悬液: 用标准金黄色葡萄球菌菌株, 培养后经生理盐水洗涤, 制备成 5 亿个细菌 /ml 悬液。

1.1.4 动物腹腔稀释液: RPMI1640 液。

1.1.5 染色液: 瑞氏染液。

1.1.6 注射器, 载玻片, 小剪子, 小镊子, 滴管。

1.2 方法

1.2.1 取小鼠一只, 腹腔注射 1ml 金黄色葡萄球菌悬液, 以诱导巨噬细胞游离出。

1.2.2 48h 后, 小鼠腹腔注射 2% 的鸡红细胞悬液 1ml, 轻揉小鼠腹部, 使鸡红细胞分散。

1.2.3 30min 后, 小鼠腹腔内注入 RPMI1640 液 1ml, 轻揉腹部, 然后处死小鼠, 剖腹取出腹腔液, 并注入 1ml RPMI1640 液, 37℃ 静置 30min, 1500r/min, 离心 10min。

1.2.4 取一滴沉淀物, 于载玻片上, 涂片, 自然干燥后, 进行瑞氏染色, 水洗, 滤纸吸干, 油镜下观察。

2 结果

观察小鼠腹腔巨噬细胞对鸡红细胞的吞噬现象。计算吞噬百分比, 即每 100 个吞噬细胞中吞噬有鸡红细胞的吞噬细胞数。亦可用吞噬指数表示, 即将 100 个吞噬细胞所吞噬的鸡红细胞的总数除以 100, 即得吞噬指数。吞噬百分比和吞噬指数一般是并行的。

并注意观察鸡红细胞被消化的程度: 1. 未消化: 鸡红细胞核清晰, 着色正常, 胞质浅红

色或浅黄绿色,胞核紫红色;2.轻度消化:鸡红细胞胞质深黄绿色,核固缩,紫红色;3.重度消化:鸡红细胞核模糊,核肿胀,染色淡,胞质浅染,胞核呈浅灰黄色;4.完全消化:鸡红细胞核溶解,染色极淡,巨噬细胞内只见形状类似鸡红细胞大小的空泡,边缘整齐,胞核隐约可见。

3 讨论

吞噬细胞有大小两类,小吞噬细胞即血液中的中性粒细胞,大吞噬细胞即组织中的巨噬细胞和血液中的大单核细胞。它们对外来异物和微生物有吞噬和消化的功能,在机体非特异性免疫中具有重要意义。

巨噬细胞在免疫反应中有多种重要功能,其中之一,是在抗胞内菌感染和肿瘤免疫中起重要作用,许多药物和免疫增强剂,如卡介苗、脂多糖、小棒状杆菌、灵菌素、甾类药物,以及一些中药等,可通过激活巨噬细胞而增强免疫反应^[1]。

因常规巨噬细胞体内吞噬细菌法不易观察,所以有人改进为巨噬细胞体外吞噬试验^[2,3],虽然体外法克服了体内吞噬细菌法的缺点,效果较好,但它只能用于观察药物在体内作用后巨噬细胞在体外吞噬功能,和用于观察药物与巨噬细胞在体外直接作用后对巨噬细胞吞噬功能的影响。巨噬细胞的吞噬功能在体内还受到诸多因素的影响,因此只观察巨噬细胞的体外吞噬作用是不够的。在药物研究中,我们更加关注的是药物在体内对巨噬细胞等免疫功能的影响作用,即关注巨噬细胞在体内的吞噬功能。因此,研究某些药物或免疫增强剂激活巨噬细胞的作用和抗病能力,以及选择有

效的免疫增强药物,常需检测巨噬细胞的体内吞噬功能,从细胞水平测定巨噬细胞的功能,从而评价研究的药物的作用及机体的免疫状态。

在巨噬细胞吞噬试验中,有报道^[4,5]在实验前2~3天给小鼠腹腔注射6%的淀粉肉汤或0.5%的蛋白胨1ml,来提高巨噬细胞的吞噬百分比和吞噬指数,因为理论上淀粉可吸引巨噬细胞移动并集中于腹腔,糖原、蛋白胨等物质可激活巨噬细胞,而使其吞噬异物的能力大大加强。但根据我们的多次试验,效果不十分理想。因此,我们摸索出一条新方法,即采用在实验前48h,小鼠腹腔注射5亿个细菌/ml的金黄色葡萄球菌悬液,可促使巨噬细胞大量游离出,实验效果很好。

此法我们已成功地应用于“疗毒丸对小鼠巨噬细胞活性的抑制作用的观察”^[6]和“鹭鸶咯口服液对小鼠巨噬细胞的活化作用”^[7]两次实验中,可为广大研究人员在巨噬细胞吞噬功能的观察中,提供一种简捷的方法。

参 考 文 献

- [1] 上海市医学化验所主编.临床免疫学检验.上海:上海科学技术出版社.1983,122.
- [2] 祖若夫,胡宝龙,周德庆编著.微生物学实验教程.上海:复旦大学出版社.1993,252.
- [3] 宋大新,范长胜,徐德强,陆妙康主编.微生物学实验技术教程.上海:复旦大学出版社.1993,336.
- [4] 周德庆主编.微生物学实验手册.上海:上海科学技术出版社.1983,566.
- [5] 林清华.微生物学通报,1988,15(3):127.
- [6] 柯岩,赵文明.首都医学院学报,1993,14(1):16.
- [7] 柯岩,刘振龙,陈哲生.上海免疫学杂志.1995,15(6):355.