

## 研究工作

## 巨噬细胞的 FC 受体及其与吞噬功能的关系\*

于 一 郭艳茹 岳旭 曹威

(北京中日友好临床医学研究所细胞生物室)

巨噬细胞(Macrophage M $\phi$ )是机体内重要的免疫细胞之一,在免疫反应的各环节中起重要作用。这些作用的发挥均与 M $\phi$  表面的受体有关。例如, M $\phi$  对细菌、寄生虫等的调理吞噬效应、杀伤肿瘤细胞的抗体依赖性细胞毒(ADCC)效应,以及触发细胞内 O $_2^-$  及 H $_2$ O $_2$  生成和溶酶体释放,都是通过 FC 受体完成的<sup>[1,2]</sup>。此外, FC 受体具有磷脂酶活性,可以促进花生烯酸代谢产物及前列腺素的合成<sup>[3]</sup>。最近有些学者报告 FC 受体具有离子通道作用<sup>[4]</sup>。总之, FC 受体与 M $\phi$  功能有密切关系。本研究主要观察不同种系、不同年龄以及不同免疫机能状态下巨噬细胞 FC 受体的改变及 FC 受体与吞噬功能的关系。

## 材料与方 法

一、动物 分为 3 个大组。第 1 组为健康小鼠,雌雄皆有。包括昆明、BALB/c、C $_{57}$ BL/6 及 NIH 4 个品系。在昆明及 BALB/c 种系中又分为青年组(8 $\pm$ 2 周龄)及老年组(1 年以上)。本组小鼠在取材前未做任何处理。第 2 组为给药组。其中包括(1)免疫抑制剂处理组:分别经小鼠腹腔注射秋水仙碱 5 $\mu$ g/只, 10 $\mu$ g/只或氢化可的松 5 mg/kg、25 mg/kg 及 50 mg/kg, 连续注射 5 天。(2)用激活 M $\phi$  的药物处理组:25%黄芪水、黄芪多糖 5 mg/只, 3%巯基乙醇酸钠溶液每鼠每日腹腔注射 1 ml, 连续注射 5 天。第 3 组为腹腔注射生理盐水对照组。第 2 及第 3 组动物均为 BALB/c 小鼠, 体重 18—20 克, 8 $\pm$ 2 周龄。

二、FC 受体测定方法 采用 EA 花环法检测<sup>[5]</sup>。将红细胞用抗体(Ab)包被后成为 EA 细胞, EA 与 M $\phi$  表面 FC 受体结合形成玫瑰花环即 EA 花环, 用花环率表示 FC 受体的数目与功能。具体步骤: 1. 制备抗鸡红细胞(CRBC)血清 参照文献<sup>[6]</sup>的方法。抗血清

效价在 1:320 以上。2. EA 细胞悬液的制备 参照文献<sup>[7]</sup>的方法, 制成 EA 悬液(2.5%)。3. EA 花环试验 在制成的单层 M $\phi$  涂片上, 滴加 EA 细胞悬液, M $\phi$  与 EA 比例为 1:20, 在 4 $^{\circ}$ C 下静置 2 小时, 洗去游离 EA, 待标本干后用戊二醛固定, 瑞氏(Wright)染色, 显微镜下观察。凡 1 个 M $\phi$  粘附 5 个或 5 个以上的 CRBC 计作 1 个花环, 随机计数 200 个 M $\phi$ , 算出 EA 花环率。

三、吞噬功能测定方法 取 M $\phi$  悬液(浓度  $1 \times 10^6$ /ml) 0.1 ml 与 2.5% EA 悬液或 CRBC(A)悬液 0.1 ml 混合后, 在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 分钟, 制成滴片, 再孵育半小时后, 用生理盐水洗去未贴壁细胞及游离在 M $\phi$  外的 CRBC, 待标本干后, 用瑞氏染色。在油镜下随机观察 200 个 M $\phi$ , 记录有吞噬 CRBC 的 M $\phi$  数(吞噬是指部分或整个 CRBC 进入 M $\phi$  的胞浆内, 如 CRBC 仅仅粘附于 M $\phi$  表面不被视为吞噬)并计算吞噬率。本文用吞噬率表示 M $\phi$  的吞噬功能。

## 结 果

一、不同种系及不同年龄小鼠 M $\phi$  的 EA 花环率不同

用不同浓度的抗 CRBC 血清包被的鸡红细胞与 M $\phi$  形成的 EA 花环率不同。一般表现为随抗体的稀释 EA 花环率亦降低。在不同种系小鼠中 EA 花环率以昆明鼠为高, BALB/c、C $_{57}$ BL/6 及 NIH 3 种小鼠之间没有差别, 但均比昆明鼠为低, 经统计学处理  $p < 0.001$ , 表明差别有显著意义。在不同年龄的小鼠中, 无论是昆明小鼠, 还是 BALB/c 小鼠, 皆为青年组高于老年组。经统计学处理  $p < 0.001$ , 表明两组的差别有非常显著的意义(表 1)。

二、药物对 M $\phi$  EA 花环率的影响

1. 用免疫抑制剂处理 用秋水仙碱处理后 M $\phi$  的 EA 花环率比对照组明显减少, 且随用药剂量的增大, EA 花环率有所降低。在抗

\* 本研究得到国家自然科学基金资助。

表1 不同种系、不同年龄小鼠腹腔M $\phi$ 的EA花环率

组别	例数	EA花环率( $\bar{X} \pm SD$ )				
		抗CRBC血清的稀释度				
		1:500	1:1000	1:2000	1:4000	
昆明	青年组	10	54.6 $\pm$ 9.2	49.3 $\pm$ 6.5	46 $\pm$ 7.3	39 $\pm$ 10
	老年组	8	21.5 $\pm$ 2.1	20.3 $\pm$ 1.9	16.8 $\pm$ 2.1	16 $\pm$ 2.6
BALB/c	青年组	10	32.3 $\pm$ 5.5	28.2 $\pm$ 3.1	26.6 $\pm$ 3.4	24.6 $\pm$ 6.5
	老年组	5	18.0 $\pm$ 0.7	17.4 $\pm$ 1.1	16.6 $\pm$ 0.6	8.8 $\pm$ 0.8
C <sub>57</sub> BL/6	青年组	10	36.6 $\pm$ 6.3	34.4 $\pm$ 6.4	31.8 $\pm$ 5.9	24.6 $\pm$ 3
NIH	青年组	10	35 $\pm$ 4.7	27.3 $\pm$ 4.9	28.4 $\pm$ 3.7	25.2 $\pm$ 0.9

注 青年组与老年组相比,  $p < 0.001$ , 不同种系小鼠分别与昆明种小鼠相比,  $p < 0.001$

体稀释度为1:500至1:4000的情况下, 不同剂量用药组M $\phi$ EA花环率成规律性的降低(表2)。此后, 我们选择一种抗体稀释度(1:1000), 观察不同剂量氢化可的松对M $\phi$ EA花环形成率的影响。结果: 当氢化可的松剂量为5 mg/kg时, M $\phi$ EA花环率为33.3 $\pm$ 5.7; 剂量增大到25 mg/kg, EA花环率降至14.3 $\pm$ 4.2; 剂量再增至50 mg/kg时, EA花环率降至7.5 $\pm$ 2.3。这表明小剂量氢化可的松不抑制M $\phi$ 的

EA花环率, 反而有某种程度的激活作用, 但大剂量氢化可的松可以明显抑制EA花环率的形成。经统计学处理, 后两组均与对照组有显著差别,  $p < 0.001$ 。

2. 用激活M $\phi$ 的药物处理组 用黄芪水, 黄芪多糖及巯基乙醇酸钠注射后, M $\phi$ 的数目增加, 体积增大, EA花环率升高, 经统计学处理各组均与对照有显著差别,  $p < 0.001$ (表2)。

表2 不同药物处理后小鼠腹腔M $\phi$ EA花环率的改变

组别	例数	EA花环率( $\bar{X} \pm SD$ )				
		抗CRBC血清稀释度				
		1:500	1:1000	1:2000	1:4000	
生理盐水组	12	31 $\pm$ 5.4	27.8 $\pm$ 3.3	26.6 $\pm$ 2.9	26 $\pm$ 7.6	
秋水仙碱	5 $\mu$ g	10	18.6 $\pm$ 3.3*	13.6 $\pm$ 3.1*	14.8 $\pm$ 4.1*	11.4 $\pm$ 2.2*
	10 $\mu$ g	10	12.8 $\pm$ 1.9*	8.6 $\pm$ 2.0*	9.6 $\pm$ 2.0*	6.8 $\pm$ 2.4*
	氢化可的松	5 mg	10	33.3 $\pm$ 5.7*		
	25 mg	10		14.3 $\pm$ 4.2*		
	50 mg	8		7.5 $\pm$ 2.3*		
黄芪水	10	65 $\pm$ 8.7*	50.6 $\pm$ 3.1*	44.3 $\pm$ 13.1*	36 $\pm$ 7.7*	
黄芪多糖	10	68 $\pm$ 3.9*	59.2 $\pm$ 7.2*	46.7 $\pm$ 14.3*	43 $\pm$ 9.5*	
巯基乙醇酸钠	10	60.6 $\pm$ 5.4*	60.4 $\pm$ 5.1*	43.9 $\pm$ 4.4*	47.5 $\pm$ 6.7*	

注 与对照组相比 \* $p < 0.001$  \* $p > 0.05$  全部动物为BALB/c年轻小鼠

### 三、M $\phi$ 的吞噬功能

M $\phi$ 与异物接触时诱发吞噬效应, M $\phi$ 的吞噬能力在体内比在体外强。从我们体外实验的结果看: (1) 不同种系小鼠M $\phi$ 的吞噬功能不同。昆明鼠高于BALB/c小鼠。青年小鼠吞

噬功能明显高于老年小鼠。M $\phi$ 的吞噬作用有两种: 一为特异性的吞噬, 即由FC受体介导的调理吞噬作用, 在本文中用M $\phi$ 对抗体包被的CRBC的吞噬表示之。二为非特异性的吞噬, 在本文之中用M $\phi$ 对未经抗体包被的CRBC的

表 3 不同种系、不同年龄小鼠腹腔 M $\phi$  吞噬功能的改变

组别	例数	吞噬 CRBC		吞噬 Ab-CRBC 吞噬率( $\bar{X} \pm SD$ )			
		吞噬率 ( $\bar{X} \pm SD$ )		抗 CRBC 血清稀释度			
				1:500	1:1000	1:2000	1:4000
昆明	青年组	10	25.4 $\pm$ 1.1	54.6 $\pm$ 10.5	49.0 $\pm$ 8.9	40.7 $\pm$ 4.0	37.3 $\pm$ 3.2
	老年组	8	7.2 $\pm$ 1.2	19.6 $\pm$ 2.5	19.5 $\pm$ 2.0	15.3 $\pm$ 2.4	15.1 $\pm$ 2.0
BALB/c	青年组	10	15.9 $\pm$ 1.3	40.3 $\pm$ 4.0	40.3 $\pm$ 5	34.5 $\pm$ 5.2	31.4 $\pm$ 2.4
	老年组	5	4 $\pm$ 0.7	18.5 $\pm$ 1.5	16.4 $\pm$ 1.1	14.6 $\pm$ 1.1	8.0 $\pm$ 0.7

注 同种小鼠青年与老年相比,  $p < 0.001$ ; 不同种鼠同龄相比  $p < 0.001$

吞噬来表示。从我们的实验可以看出 M $\phi$  对抗体包被的 CRBC 的吞噬明显高于对未经抗体包被的 CRBC 的吞噬, 表明调理吞噬作用明显大于一般非特异性吞噬, 而且吞噬效应与抗体浓度成正相关(表 3)。(2) 用不同药物处理后

M $\phi$  的吞噬功能有一定的改变, 其中用免疫抑制剂处理后, M $\phi$  的吞噬功能显著降低。用激活 M $\phi$  的药物处理后 M $\phi$  的吞噬功能增强。M $\phi$  吞噬功能的强弱与 EA 花环率的高低相平行(表 4)。

表 4 不同药物处理后小鼠腹腔 M $\phi$  吞噬功能及 EA 花环率的改变

组别	例数	吞噬率( $\bar{X} \pm SD$ )		用 1:1000 抗 CRBC 血清包被 CRBC	
		吞噬 CRBC		吞噬率( $\bar{X} \pm SD$ )	
				吞噬 Ab-CRBC	EA 花环率( $\bar{X} \pm SD$ )
生理盐水对照	12	20.3 $\pm$ 2.9	42.2 $\pm$ 7.4	27.8 $\pm$ 3.3	
黄芪水	10	41.5 $\pm$ 6.8*	64.0 $\pm$ 8.4*	50.6 $\pm$ 3.1*	
黄芪多糖	10	41.4 $\pm$ 8.1*	58.4 $\pm$ 5.2*	59.2 $\pm$ 7.2*	
巯基乙醇酸钠	10	40.8 $\pm$ 4.9*	68.5 $\pm$ 8.3*	60.4 $\pm$ 5.1*	
秋水仙碱 5 $\mu$ g	10	6.6 $\pm$ 1.0*	13.3 $\pm$ 1.7*	13.6 $\pm$ 3.1*	
氢化可的松 25 mg	10	4.5 $\pm$ 1.2*	11.0 $\pm$ 4.1*	14.3 $\pm$ 4.2*	

注 与对照组相比 \* $p < 0.001$  全部动物为 BALB/c 年轻小鼠

## 讨 论

Boyden 和 Berken 指出抗体分子的 FC 段能与 M $\phi$  表面的 FC 受体结合, 此种结合不依赖补体, 即使在抗体浓度很低的情况下亦可发生反应<sup>[8,9]</sup>。因此, EA 花环试验可以作为检测 FC 受体的灵敏方法之一。但是由于 EA 花环形成率受抗体浓度、M $\phi$  本身 FC 受体数目与活力以及抗体亚型及其与细胞亲和力不同等因素的影响, 故单一 EA 花环试验是代表 M $\phi$  FC 受体的数目和功能状态的一项综合指标。

M $\phi$  的 FC 受体与吞噬功能有密切关系:

已知吞噬作用分为两种, 其一为非特异性吞噬, 即细菌、异物与 M $\phi$  相互接触后诱发的吞噬效应, 此种吞噬不需要抗体或补体的存在。另一种是调理吞噬, 此种吞噬作用与 FC 受体有关或由 FC 受体介导, 它是机体自我稳定的重要因素。Kay<sup>[10]</sup>曾指出细胞老化后, 膜的改变激发机体产生自身抗体, 自身抗体与老化细胞特异结合, 可被 M $\phi$  识别与清除。在我们的实验中看到了两种吞噬作用。M $\phi$  对 Ab-CRBC (抗体包被的 CRBC) 的吞噬作用明显高于对 CRBC 的吞噬。M $\phi$  吞噬 Ab-CRBC 的多少与抗体浓度及 M $\phi$  EA 花环率的高低相平行, 这些结果说明调理吞噬作用比非特异性吞噬作用更

为强大与重要。

M $\phi$ 的FC受体与M $\phi$ 的激活状态及机体免疫机能状态有关,学者们曾指出厌氧棒状杆菌苗及卡介苗以及干扰素<sup>[11]</sup>等可以激活M $\phi$ ,在激活的M $\phi$ 表面FC受体数目明显升高。我们的结果与之相似,如致炎药物巯基乙醇酸钠可以激活M $\phi$ ,同时M $\phi$ 的EA花环率及吞噬功能亦增强。M $\phi$ 的FC受体又随机体的免疫机能状态而改变,当机体免疫机能状态良好时,M $\phi$ 的FC受体数目多,功能强,反之则否。如以纯种动物和杂种动物相比,杂种动物的免疫机能要强;老年动物与青年动物相比,老年动物的免疫机能要弱。我们及朱云凤等<sup>[6]</sup>都发现昆明小鼠比纯种小鼠M $\phi$ 的EA花环率高,吞噬功能强;老年小鼠比青年小鼠的EA花环率低,吞噬功能弱。最近Věšvička等<sup>[12]</sup>报告老年小鼠M $\phi$ FC受体的表达降低。此外,从临床角度看,扶正固本中药黄芪可以增强机体的免疫功能。动物实验证明黄芪使M $\phi$ 的EA花环率升高,FC受体的数目及活力增强,吞噬功能增强。临床经验还表明长期应用糖皮质激素类药物治疗后机体的防御功能降低。实验室报告考的松抑制M $\phi$ 的趋化性,减少弹性蛋白酶及胶原酶的分泌<sup>[13]</sup>,降低吞噬及细胞内消化的能力<sup>[14]</sup>,抑制IgG FC受体及补体受体<sup>[15,16]</sup>。我们发现大剂量的氢化可的松可以使M $\phi$ EA花环率及吞噬功能降低。由此看来,M $\phi$ 的FC受体可以部分地反映机体的免疫机能状态。

目前关于M $\phi$  FC受体与其他种受体的关系,FC受体的亚型,M $\phi$ FC受体的异质性及影响M $\phi$ FC受体表达的诸因素正在深入研究<sup>[17-21]</sup>,相信这些问题的解决对于进一步认识M $\phi$ 在免疫反应中的作用有十分重要的意义。

### 摘 要

本文用EA花环试验及体外吞噬实验检测了小鼠腹腔巨噬细胞(Macrophage, M $\phi$ )的EA

花环率及吞噬功能,结果发现昆明小鼠比同龄C<sub>57</sub>BL/6、BALB/c及NIH小鼠M $\phi$ 的EA花环率高。在昆明及BALB/c小鼠中青年鼠的EA花环率又较老年鼠为高。用黄芪水,黄芪多糖及巯基乙醇酸钠处理后M $\phi$ 的EA花环率升高;用秋水仙碱及氢化可的松处理后M $\phi$ 的EA花环率降低。M $\phi$ EA花环率的高低与M $\phi$ 吞噬功能的高低相平行。M $\phi$ 对抗体包被的CRBC的吞噬能力比对CRBC的吞噬为高,吞噬效应随抗体浓度而改变,表明FC受体介导的吞噬作用大于非特异性吞噬作用。M $\phi$ FC受体的数目及其功能与M $\phi$ 的激活状态及机体的免疫功能状态密切相关。

### 参 考 文 献

- [1] 夏邦顺, 1984, 国外医学免疫学分册, 7 (4): 182—185.
- [2] 赵斌华, 1985, 国外医学免疫学分册, 8 (2): 62—66.
- [3] Suzuki, T. et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 79: 591—595.
- [4] Unkeless, J. C., 1986, In *Macrophage Biology*, ed. by Reichard, S. and Kojima, M., pp. 407—416. Alan R. Liss, Inc., New York.
- [5] Stewart, J. et al., 1986, In *Handbook of Experimental Immunology*, ed. by Weir, D. H., Vol. 4, pp. 48.1—48.17, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- [6] 朱云凤, 1982, 上海免疫学杂志, 2 (2): 65—68.
- [7] 上海市医学化验所主编, 1982, 临床免疫学检验 p 63—66, 上海科学技术出版社, 第一版.
- [8] Berken, A. et al., 1966, *J. Exp. Med.*, 123: 119—144.
- [9] Boyden, S. V. 1964, *Immunology*, 7: 474—487.
- [10] Kay, M. M. B., 1978, In *Basic and Clinical Immunology*, ed. by Fudenberg, H. H. et al., pp. 267—278, Lange Medical Publications Los Altos, California.
- [11] Hamburg, S. I. et al., 1978, *J. Exp. Med.*, 147: 593—598.
- [12] Věšvička, V. et al., 1985, *Immunology*, 56: 73—79.
- [13] Wers, Z., 1978, *J. Exp. Med.* 147: 1695

- 1712.
- [14] 明道化, 1983, 上海免疫学杂志, 3(1): 57—60.
- [15] Schreiber, A. D. et al., 1975, *J. Clin. Invest.*, 56: 1189—1197.
- [16] Wardle, E. N. 1985, In *Cell Surface Science in Medicine and Pathology*, ed. by Wardle, E. N., pp. 80—105. MTP Press Limited, Lancaster, England.
- [17] Hibbs, M. L. et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 6980—6984.
- [18] Hibbs, M. L. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 2240—2244.
- [19] Macintyre, E. A. et al., 1988, *J. Immunol.*, 141: 4333—4343.
- [20] Tominaga, M. et al., 1990, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 168(2): 683—689.
- [21] Klan, M. J. et al., 1990, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 103: 198—205.

## 甲<sub>2</sub> 巨球蛋白制剂对正常人外周血淋巴细胞周期的影响

何介薇 邵松生 邹美君

(上海医科大学放射医学研究所)

甲<sub>2</sub> 巨球蛋白( $\alpha_2M$ )的理化特性及其在病理生理和免疫调节方面的重要性已逐渐被人们认识<sup>[1-4]</sup>, 并且公认为 $\alpha_2M$ 有免疫抑制的特性, 能抑制培养的人淋巴细胞的增殖<sup>[5]</sup>。为了进一步了解 $\alpha_2M$ 对培养的人淋巴细胞增殖周期的影响。我们采用外周血淋巴细胞姐妹染色单体差别染色法(SCE)检测技术, 观察 $\alpha_2M$ 对淋巴细胞周期的影响。

### 材料和方法

人血甲<sub>2</sub> 巨球蛋白( $\alpha_2M$ )制剂: 由卫生部上海生物制品研究所提供, 用培养液(RPM 1640)稀释成不同浓度(1.25 mg/ml、2.5 mg/ml、5.0 mg/ml、10.0 mg/ml), 在培养淋巴细胞时, 使每毫升培养液所含 $\alpha_2M$ 分别为0.25 mg、0.50 mg、1.00 mg、2.00 mg。

采集受试者6例(健康男、女各3例)静脉血肝素抗凝、全血微量方法培养。每只培养并含RPM 1640培养液4 ml, 小牛血清1 ml和盐水提取PHA 0.02 ml及不同浓度的 $\alpha_2M$ , 37℃培养24小时后加BudR, 使最终浓度为5  $\mu$ g/ml, 继续避光培养48小时终止培养。在终止培养前4小时加秋水仙胺使最终浓度为0.02  $\mu$ g/ml, 常规制片。

室温保存3天以上的染色体标本经吖啶橙( $3 \times 10^{-3}$  mol/L)染色20分钟后用 $2 \times SSC$ 溶液封片, 标本放在恒温水浴箱铝板上, 水浴箱事先预热并使铝板

表面温度恒定在50℃左右, 同时用20瓦消毒用紫外灯照射样品30分钟, 灯管距标本约5 cm。标本经流水冲洗后用10%Giemsa染色7分钟。进行计数。共计数200只细胞。

凡两条染色单体都着色深者分类为第一次细胞周期( $M_1$ ), 即第一代分裂细胞, 一条染色单体着色深, 另一条单体着色浅者分类为第二次细胞周期( $M_2$ ), 属于第二代分裂细胞, 凡四分之一染色单体着色深, 四

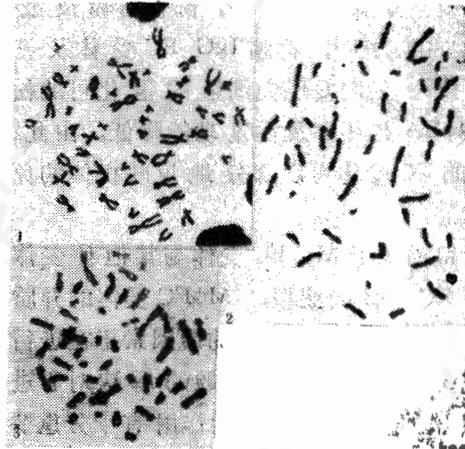


图1 人外周血淋巴细胞  
第1代中期分裂细胞

图2 人外周血淋巴细胞  
第2代中期分裂细胞

图3 人外周血淋巴细胞  
第3代中期分裂细胞