

小鼠腹腔活化巨噬细胞的酸性磷酸酶测定

高玉民 尹 昕 朱秀雄

(白求恩医科大学)

巨噬细胞(M ϕ)广泛地分布于体内不同器官,具有多方面的功能。它既能清除入侵的微生物及体内死亡破碎的细胞,又参与机体的免疫反应,并在抑制肿瘤方面发挥着重要的作用。

正常条件下, M ϕ 处于休止状态,活性较低,但一经活化,则在形态、代谢和功能上表现出一系列的显著变化,如膜活性增高,吞噬杀伤病原微生物及破坏肿瘤细胞的能力增强,溶酶体及溶菌酶含量增加,酸性磷酸酶(Acp)活性显著^[1,2]。许多物质能激活 M ϕ , 增强 Acp 活性。其中, 葡聚糖(Dextran T 500)是一种较理想的 M ϕ 诱导物^[3,4]。

本试验采用测定 Acp 的金氏改良法和 Gomori 氏硝酸铅改良法, 分别测定了注射葡聚糖的小鼠及正常小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 含量, 旨在进一步探讨用葡聚糖活化后小鼠腹腔 M ϕ 的功能特性。

材 料 和 方 法

一、试验动物

本校动物室饲养的、体重 20—25 g 的雌性健康非纯系小白鼠。

二、小鼠腹腔 M ϕ 的收集

试验用小白鼠 40 只, 分为两组, 每组 20 只。注葡聚糖组: 每日向小鼠腹腔注入分子量为 500000 的葡聚糖(Dextran T 500)10 mg, 连注 3 日, 第 4 日取材; 对照组: 小鼠腹腔注入 0.85% 生理盐水 2 ml, 连注 3 日, 第 4 日取材。取材时, 用颈椎脱臼法处死小鼠, 用含 1% 小牛血清的 Hanks' 液洗出腹腔 M ϕ 。每组取 10 只用于金氏改良法^[5], 另取 10 只用于硝酸铅法^[6]。

三、Acp 测定

将用 Hank's 液洗出的两组小鼠腹腔 M ϕ 分置于

培养瓶内, 于 37℃ 水浴中温育 1 小时, 倾去培养液, 将贴壁的两组 M ϕ 数用含 1% 小牛血清的 Hanks' 液分别调至 4×10^6 /ml, 然后等量分放于培养瓶内, 于 37℃ 水浴中再温育 30 分钟, 使 M ϕ 重新贴壁, 倾去培养液, 经液氮和 37℃ 水浴反复冻融 5 次, 取细胞裂解物用金氏改良法测定 Acp 含量。

计算公式:

$$\text{Acp 金氏单位/样品} = \frac{\text{测定管 OD} - \text{对照管 OD}}{\text{标准管 OD} - \text{空白管 OD}} \times 5$$

四、Gomori 氏硝酸铅改良法

将用 Hanks' 液洗出的小鼠腹腔 M ϕ 置于放有盖玻片的培养瓶内, 于 37℃ 水浴温育 30 分钟, 取出盖玻片用生理盐水反复漂洗、干燥, 然后放入 Acp 孵育液 (0.05 mol/L pH 5 的醋酸缓冲液 100 ml, β -甘油磷酸钠 0.5 g, 醋酸铅 0.5 g, 5% 氯化镁 5 ml) 置 37℃ 水浴中 90 分钟, 再经 2% 醋酸及 1% 硫化铵处理, 封片后于普通光学显微镜下观察, M ϕ 质内出现棕黑色颗粒者即为 Acp 阳性反应细胞。

结 果 和 讨 论

表 1 为金氏改良法测得的小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 结果, 从表中可见两组间小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 含量明显不同。其中, 注葡聚糖组小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 含量明显高于对照组, 统计处理表明两组结果差异显著, P 值 < 0.01。

表 1 小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 含量

实验组别	正常小鼠(10 只)	注葡聚糖小鼠(10 只)
酶含量 ($\bar{x} \pm \text{SD}$)	1.6980 $\pm$ 0.9494	3.0109 $\pm$ 1.0762
P 值	<0.01	

Gomori 氏法组织化学染色结果也表明, 两组小鼠腹腔 M ϕ 的胞质内均能看到棕黑色的 Acp 颗粒, 颗粒的多少随细胞体积的大小而

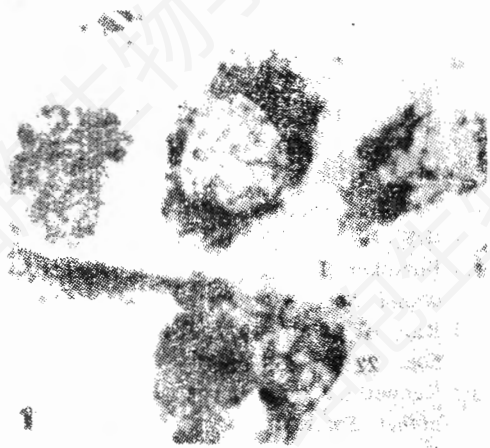


图1 注葡聚糖小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 染色 $\times 1450$

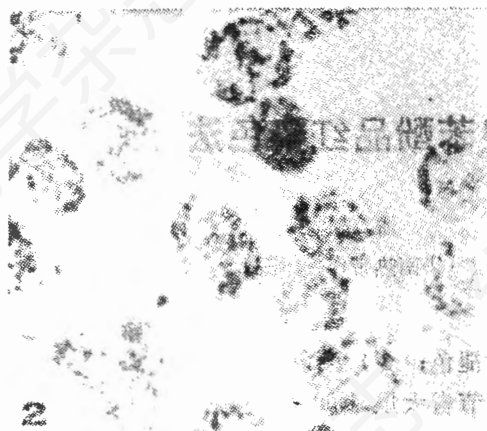


图2 注生理盐水小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 染色 $\times 1450$

异,胞体较小的单核细胞或 M ϕ ,其胞质中的 Acp 阳性颗粒较少;反之,胞体较大的 M ϕ ,其胞质中酶的阳性颗粒较多。与对照组相比,注葡聚糖组小鼠腹腔 M ϕ 多数胞体较大,铺展明显,酶颗粒较粗大,故细胞质中的 Acp 阳性颗粒明显多于对照组(见图1、2)。

用金氏改良法测定注入葡聚糖小鼠和对照组小鼠腹腔中 Acp 含量,是在数量相同的情况下进行的,较之普通组织化学标本的定性观察有一定的实用性。考虑正常小鼠腹腔中 M ϕ 约占腹腔细胞的半数以上,其余的腹腔细胞,如中性粒细胞也含有 Acp,且体积较小的 M ϕ 与淋巴细胞在形态上不易区别。我们将获取的

腹腔细胞先经含1%小牛血清的 Hanks' 液短时温育(60分钟),使绝大多数 M ϕ 贴附于培养瓶的瓶壁上,而悬于液体中的其它种类细胞被弃之,从而获得了较纯的 M ϕ ,避免了直接从腹腔细胞中计数 M ϕ 所带来的误差。将获取的腹腔液置于带有小盖玻片的培养瓶内短期培养(30分钟),使 M ϕ 贴壁并得到充分伸展,再进行 Gomori 氏硝酸铅染色,标本中 M ϕ 纯而密集,细胞铺展充分, Acp 阳性颗粒清晰。

M ϕ 最主要的形态特点是细胞内含有丰富的微丝和大量的溶酶体。Acp 是溶酶体的标志, M ϕ 杀伤病原微生物、消化异物、以及对肿瘤细胞的抑制作用主要是通过 Acp 等活性物质来实现的。正常情况下, M ϕ 内 Acp 含量一般是较为恒定的,一旦活化,其 Acp 的含量和活性显著增加^[7]。将正常小鼠腹腔 M ϕ 用含20%小牛血清的培养基培养48小时,其 Acp 活性仅比培养1小时增加3倍,而用刀豆蛋白 A(con A) 刺激1小时的小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 活性就是正常时的5倍^[8]。可见, M ϕ 内 Acp 含量显然是随细胞的活化程度而变化。活化 M ϕ 产生 Acp 的能力还受诱导激活物本身的化学性质所决定,与正常小鼠腹腔 M ϕ 相比,用巯基己酸盐(Thioglycollate)诱导的 M ϕ ,其 Acp 显著增多,而用酵母聚糖诱导的腹腔 M ϕ 与正常小鼠腹腔 M ϕ 相比,该酶含量无明显差别^[9]。Garolyn 证明由葡聚糖诱出的小鼠腹腔 M ϕ 数量要比单纯注射盐水的对照小鼠多4倍,其粘附能力、迁移速度、吞噬能力、对肿瘤细胞的抑制活性均明显增高^[10]。本试验的结果也证明用葡聚糖(Dextran T 500)活化的小鼠腹腔 M ϕ ,其 Acp 含量增加、活性增强,这说明葡聚糖(Dextran T 500)具有明显增加 M ϕ 的 Acp 活性的作用。

摘 要

在两组 M ϕ 数量相等的条件下,用金氏改良法测定小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 含量,结果注射葡聚糖后小鼠腹腔 M ϕ 的 Acp 含量明显高于对

照组。同时,从 Gomori 氏硝酸铅染色的标本上,亦看到用葡聚糖活化后的小鼠腹腔 M ϕ 胞体明显增大,细胞铺展明显,细胞质中的 Acp 阳性颗粒多而粗大,个别 M ϕ 细胞质中的 Acp 颗粒呈强阳性反应。结果表明葡聚糖 (Dextran T 500) 是一种较理想的 M ϕ 活化物,具有明显增强 Acp 活性的作用。

参 考 文 献

- [1] 高玉民, 1983, 白求恩医科大学学报, 9(3): 114.
- [2] Morland, B. et al., 1978, *J. Reticuloen-*

dothel. Soc., 23(6): 469.

- [3] 高玉民等, 1983, 白求恩医科大学学报, 9(4): 1.
- [4] 许屏等, 1985, 中国科学, 1: 31.
- [5] 林飞卿等, 1981, 中华微生物学和免疫学杂志, 4: 274.
- [6] 谢锦玉, 1986, 细胞化学技术, 11 页, 中国中医研究院医教处印刷。
- [7] Bursuker, I. et al., 1983, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 33: 207.
- [8] Raz, A. et al., 1977, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 22(5): 455.
- [9] Kenneth, J. et al., 1982, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 3: 339.
- [10] Carolyn, A. et al., 1985, *J. Leukocyte. Biol.*, 37: 209.

果蝇唾腺染色体的改良苯酚品红染色法

王崇英 刘志学
(兰州大学生物系)

潘志强
(华南热带作物学院)

果蝇的唾腺染色体多年来一直作为细胞学和遗传学教学和科研的重要材料。关于果蝇唾腺染色体的染色通常采用醋酸洋红和醋酸地衣红法^[1-3]。近年来,也有人用乳酸-醋酸-地衣红染色法^[4-6]。自 1983 年以来,我们在实验课

易褪色; 3) 染色时间短, 仅需 15 分钟左右, 可节省大量时间, 便于在实验课教学中应用。本实验的条件和方法如下:

一、染液的配制

改良苯酚品红染色液的配制方法见^[7]。

二、制片及染色

1、依常规法解剖出果蝇唾腺。

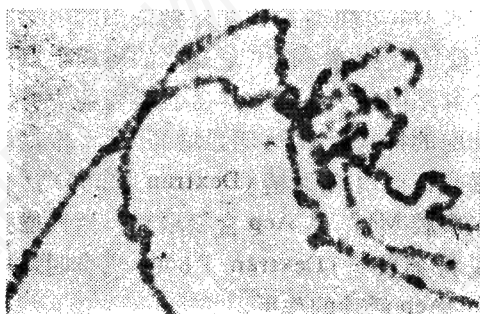
2、在腺体上加一滴 1 mol/L HCl 水解 1 分钟左右, 随后用蒸馏水洗 1—3 次。

3、在腺体上加 1—2 滴染液, 染色 15 分钟左右, 可获得较好的染色效果。延长染色时间(几小时以上), 虽然细胞质会有不同程度的着色, 但用 45% 醋酸分色后效果依然很好。

4、吸去染液, 加一滴 45% 醋酸, 依常规法压片、镜检和制作永久片。

三、注意事项

1、为了在较短时间内获得较好的染色效果, 染色过程可在低倍镜下观察, 至核染成紫



教学时将一种植物材料中常用的优良核染色剂——改良苯酚品红应用于果蝇唾腺染色体的染色, 取得了较为满意的效果。通过五年的实际应用, 效果很稳定(见插图)。此法 1) 操作简便、可行、易于掌握; 2) 制成的永久标本不