

胸腺素对带瘤小鼠胸腺淋巴细胞 有丝分裂指数影响的研究

虞 研 原

曹 明 富

(杭州大学生物系, 310012) (杭州师范学院生物系)

摘要 本文报道胸腺素对正常及带瘤小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数的影响。试验结果表明, 注射胸腺素组的胸腺淋巴细胞有丝分裂指数均高于对照组。其中不同瘤龄之间有一定差异。

胸腺是机体重要的中枢免疫器官, 在免疫系统的建立过程中具有重要作用。正常机体在不同生长发育时期胸腺淋巴细胞是发展变化的。当发生肿瘤时, 胸腺发生急性萎缩; 其萎缩的程度与肿瘤生长的速度呈正相关性。胸腺淋巴

细胞迅速减少, 原有规律就会随之发生改变^[1]。由胸腺所产生的胸腺素可促进T细胞的发育、分化、成熟; 调节免疫细胞功能, 因而在免疫中起着重要的作用^[2]。在一些实验模型中可以代替胸腺而重建免疫功能^[3]。带瘤小鼠经注射胸

腺素后,其胸腺淋巴细胞的转化率有所提高^[3,5]。说明胸腺通过胸腺素来增强小鼠胸腺淋巴细胞对 Con A(刀豆球蛋白 concanavalin, 简称 ConA) 的刺激反应,控制 T 细胞发育分化、促进不成熟细胞 DNA 合成,进一步调节机体免疫功能具有一定作用,同时可通过增强特异性淋巴细胞功能有助于恢复胸腺功能低下小鼠的免疫平衡^[6]。研究资料还表明胸腺素能提高正常及带瘤小鼠胸腺淋巴细胞部分 LDH 同工酶的活性,通过调节糖代谢途径来促进机体的免疫功能^[6]。本文从胸腺素对正常及带瘤小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数的影响,探讨胸腺淋巴细胞经外源性胸腺素作用后所产生的细胞增殖反应,进一步来说明带瘤小鼠免疫功能的调控关系。

(一) 材料和方法

1. 动物及肿瘤模型 NIH 纯系小鼠,5—7 周龄。体重 18 ± 2 克,雄性。艾氏腹水癌细胞,接种浓度为 1×10^7 /毫升。腹腔注射 0.2 毫升/只。

2. 试剂 胸腺素(江苏泰州生化制药厂生产)。

3. 实验分组 正常和瘤龄 5 天、10 天及 15 天小鼠均设试验组和对照组。胸腺素由右前

肢腋下肌注。0.2 毫升/只/次。浓度为 2.5 毫克/毫升,隔日一次,共五次。对照组在相应部位肌注等量的生理盐水。

4. 胸腺淋巴细胞悬液的制备与制片 将上述小鼠于取材前 2 小时,由腹腔注射秋水仙素(按 4 毫克/4 克体重用量)。处死小鼠取胸腺,于 BSS 生理盐溶液中制成单个细胞悬浮液,并按低渗、固定、气干的常规方法制备玻片标本^[7]。Giemsa 染色液(pH 6.8)染色,清水漂洗后干燥待检。

5. 有丝分裂指数的统计 将上述制片于光镜下随机观察每个样本 2000 个有核细胞(包括中期分裂细胞),每组重复 12 个样;并按下式求出分裂细胞数占观察细胞总数的百分比。即得各样本的有丝分裂指数,其换算公式如下:

$$\text{有丝分裂指数}(\%) = \frac{\text{分裂细胞数}}{\text{观察细胞总数}} \times 100\%。$$

(二) 实验结果

1. 正常小鼠以及带瘤后、不同瘤龄小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数的变化(见图 1、2)

正常小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数平均为 0.95 ± 0.05 。小鼠带瘤 5 天后,其淋巴细胞有丝分裂指数为 1.05 ± 0.29 ,高于正常小鼠。带

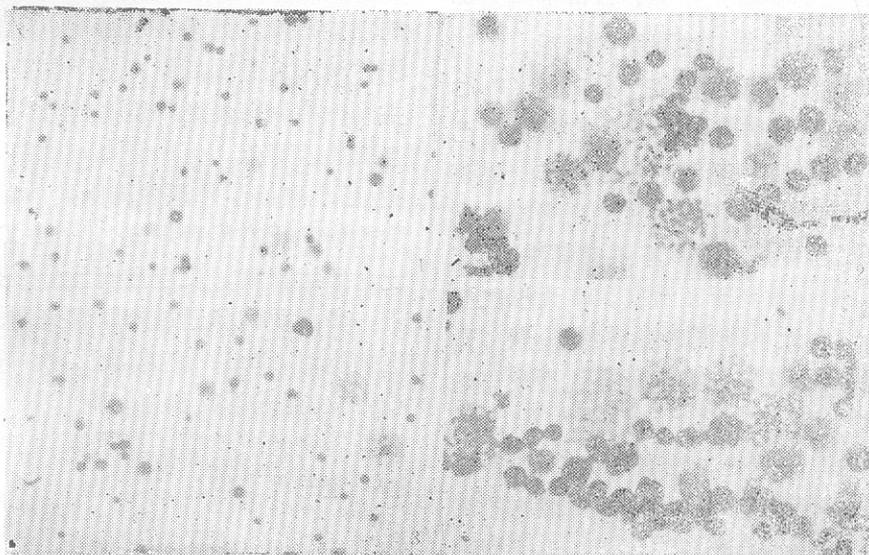


图 1 正常小鼠胸腺淋巴细胞及其分裂相(180×); 图 2 正常小鼠注射胸腺素后的胸腺淋巴细胞及其分裂相(265×); 图 3 带瘤 5 天小鼠胸腺淋巴细胞及其分裂相(180×); 图 4 带瘤 5 天小鼠注射胸腺素后的胸腺淋巴细胞及其分裂相

瘤 10 天及 15 天小鼠的细胞分裂指数均低于正常小鼠, 其中带瘤 15 天小鼠略高于带瘤 10 天小鼠(见表 1)。

表 1 正常及不同瘤龄小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数

组别	观察细胞总数	有丝分裂细胞数	有丝分裂指数(%)
正常小鼠	8730	83	0.95±0.05
带瘤小鼠	5天	101	1.05±0.29
	10天	22	0.13±0.08
	15天	13	0.17±0.02

2. 胸腺素对正常及带瘤小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数的影响(见图 3、4) 当正常小鼠注射胸腺素后, 其胸腺淋巴细胞有丝分裂指数平均为 7.10 ± 1.55 。带瘤 5 天鼠为 8.77 ± 0.76 , 高于正常小鼠。带瘤 10 天小鼠显著降低到 1.18 ± 0.14 , 而带瘤 15 天小鼠则略有升高。但远低于带瘤 5 天小鼠(见表 2)。

表 2 胸腺素对正常及带瘤小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数的影响

组别	观察细胞总数	有丝分裂细胞数	有丝分裂指数(%)
正常小鼠	10050	711	7.1±1.55
带瘤小鼠	5天	973	8.77±0.76
	10天	175	1.18±0.14
	15天	708	5.87±0.74

3. 试验组与对照组小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数比较 正常小鼠注射胸腺素后, 其胸腺淋巴细胞有丝分裂指数远高于对照组 ($P < 0.05$)。带瘤小鼠注射胸腺素后, 其胸腺淋巴细胞有丝分裂指数亦均高于对照组, 非常显著 ($P < 0.01$)。说明胸腺素能明显促进胸腺淋巴细胞的有丝分裂, 带瘤小鼠从不同瘤龄来看, 5 天小鼠细胞分裂指数高于正常鼠, 10 天小鼠低于 5 天小鼠, 15 天小鼠则略有增高(见图 5)。因此带瘤小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数与瘤龄期不呈线性关系。

(三) 讨论 胸腺是 T 细胞发育的主要场所, 机体内胸腺所产生的胸腺素对 T 细胞的发育、分化、成熟起着十分重要的作用。小鼠胸腺淋巴细胞主要为不成熟的 T 细胞, 在离体培养时的成活率随着培养时间延长而逐渐降低。在

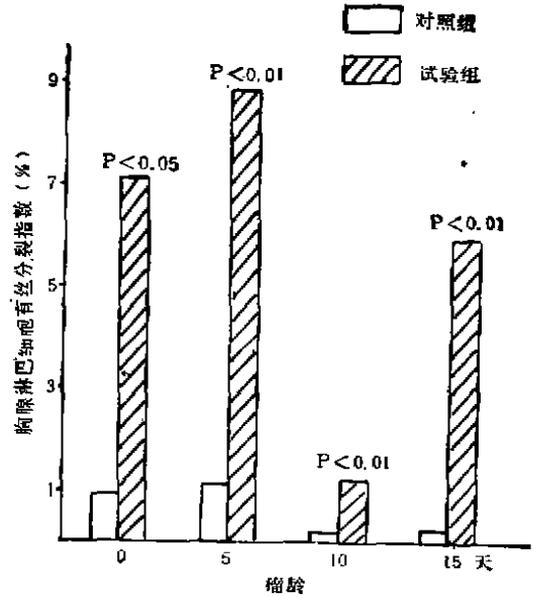


图 5 试验组与对照组小鼠胸腺淋巴细胞有丝分裂指数比较

含条件培养液和致有丝分裂原诱导下淋转反应较低, 其胸腺淋巴细胞有丝分裂指数亦很低, 在体内的情况也是一致。小鼠带瘤后, 随着肿瘤的发展, 胸腺发生急性萎缩, 未成熟的皮质细胞受损, 同时使胸腺中 T 细胞出现排空现象, 其基本结构遭破坏, 分泌胸腺素和促使 T 细胞成熟的功能下降。结果显示带瘤小鼠胸腺淋巴细胞的淋转反应受到抑制, 由于肿瘤生长而导致宿主胸腺内胸腺淋巴细胞有丝分裂指数和 DNA 合成显著降低, 但抑制率与肿瘤发展不呈正相关。当小鼠给予外源性胸腺素后, 则胸腺淋巴细胞的增殖反应显著增高, 对 $^3\text{H-TdR}$ 的掺入率比对照组提高, 反应在有丝分裂指数增加。这进一步说明胸腺通过胸腺素来增强小鼠胸腺淋巴细胞对 Con A 的刺激反应。控制 T 细胞发育分化, 促进不成熟型细胞 DNA 合成, 由不成熟型转变为成熟型, 进而调节小鼠免疫功能具有一定的促进作用。

参 考 文 献

- [1] 张若麟等 1982 人类染色体方法学 139-146 河北人民出版社

- [2] 虞研原 等 1989 猪胸腺素对增强带瘤小鼠免疫力的观察生化药物杂志 (1): 41
- [3] —— 1989 胸腺素对带瘤及免疫功能低下小鼠胸腺中 Tt、Tr 及 T μ 细胞数量变动的影响 生化药物杂志 (3): 20
- [4] —— 1989 猪胸腺素对正常及带瘤小鼠胸腺淋巴细胞 LDH 同工酶谱型变化的影响 上海免疫学杂志 (2): 87
- [5] —— 1990 猪胸腺素对带瘤小鼠胸腺细胞及其富含

PNA⁻ 和 PNA⁺ 细胞淋转反应的研究 杭州大学学报 (1): 80

- [6] Hooper, J. A. et al. 1975 The purification and properties of bovine thymosin. *Ann. N. Y. Acad. Sci* 249:125
- [7] Trainin N. et al. 1983 Thymic hormones: Inducers and regulators of the T cell system. *Immunology Today* 4: 16—20