

研究简报

红细胞广泛吞噬作用的发现和研究

THE DISCOVERY AND STUDIES OF THE EXTENSIVE ERYTHROCYTIC PHAGOCYTOSIS

王旭东 饶家荣

(云南农业大学, 昆明 650201)

Wang Xudong and Rao Jiarong

(Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

关键词 两栖动物, 鱼类, 红细胞, 吞噬

KEYWORDS amphibious animals, fish, erythrocyte, phagocytosis

迄今, 国内外被证实有红细胞免疫功能的哺乳和鸟类动物渐多[王旭东等, 1993; 张德成等, 1993; Molina 等, 1992]。国内最常用来检测哺乳和鸟类动物红细胞表面补体 C3b 受体(CR₁) 活性和粘附免疫复合物能力的方法, 分别是在补体存在或无补体时按一定比例混合红细胞和酵母菌(花环法)[王旭东等, 1993; 黄盛东等, 1993]。沿用此法探讨青蛙红细胞免疫性时, 我们惊讶地发现其具有一定的吞噬能力。继之, 以 4 种不同的方法将另一种两栖动物和 3 种鱼类的红细胞和酵母菌混合并进行了观察和统计分析, 结果 5 种动物红细胞均显示出一定的吞噬能力。本文即为这些发现的汇总。目前, 国内外尚无类似的报道。

1 材料和方法

1.1 供血健康动物

12 只青蛙、38 只牛蛙、8 尾鲤、33 尾鳙(花鲢)和 2 尾草鱼。酵母菌为啤酒业酿酒酵母。

1.2 红细胞酵母菌混合法 A

(1) 以 PBS 稀释抗凝静脉血, 接着用 Ficoll 分离液离心, 除去其它血细胞, 再用 PBS 洗涤、稀释获得 $1.25 \times 10^7/\text{ml}$ 的红细胞悬液。(2) 新鲜酵母菌经 PBS 洗涤、过滤, 然后煮沸 40 分钟, 再洗涤、摇振, 配成 $2 \times 10^9/\text{ml}$ 的酵母 PBS 悬液后, 加等体积小白鼠血清(提供补体)混匀, 37℃ 孵育 15 分钟即得 $1 \times 10^9/\text{ml}$ 的补体致敏酵母菌悬液。(3) 上述两液等体积混合, 37℃ 孵育 30 分钟, PBS 适量稀释、再以 0.25% 戊二醛固定, 后涂片并用 Gimesa - Wrights 液染色、镜检, 统计 200 个红细胞中吞噬酵母菌者所占百分率。规定: 胞浆中含酵母或接触酵母且自身变形(甚至伸出伪足)者为噬酵母红细胞。

1.3 红细胞酵母菌混合法 B

操作基本同 EYA 法, 只是所用酵母菌悬液($1 \times 10^9/\text{ml}$)未加补体致敏。

收稿日期: 1994 - 11 - 18。

1.4 红细胞酵母菌混合法 C、D

操作依次类似于 EYA 和 EYB, 不同之处在于未用 FicolI 分离液, 即以血细胞悬液代替了红细胞悬液(浓度仍为 $1.25 \times 10^7/\text{ml}$)。

2 实验结果

2.1 红细胞吞噬率统计

青蛙、牛蛙、鲤、鳙和草鱼红细胞吞噬酵母菌百分率及统计和比较, 见表 1、2。

表 1 五种两栖和鱼类动物红细胞的吞噬率 (PR) *

Table 1 Phagocytotic rates (PR) of the erythrocytes from 5 species of amphibious and piscine animals

种 类	EYA		EYB		EYC		EYD	
	例数	PR (%)						
青蛙	12	9.92 ± 7.88	12	29.63 ± 11.87				
牛蛙	38	29.07 ± 16.72	36	30.06 ± 13.16	33	30.44 ± 14.45	37	31.16 ± 14.00
鲤	8	21.94 ± 8.11	8	26.13 ± 13.12	8	26.69 ± 11.15	8	24.69 ± 12.12
鳙	33	42.94 ± 17.83	33	46.08 ± 21.75	34	29.68 ± 9.97	33	39.50 ± 16.20
草鱼	2	23.5	1	23.00	2	19.75	1	18.00

注: 吞噬率以算术平均数 ± SD 表示。

表 2 五种两栖和鱼类动物红细胞吞噬率 (PR) 的 SSR 法统计

Table 2 Statistics with SSR method for phagocytosis rates (PR) of the erythrocytes from 5 species of amphibious and piscine animals

方 法	PR 平均值 (%)				
	青 蛙	牛 蛙	鲤	鳙	草 鱼
EYA	9.9a	29.1abcd	21.9abcd	42.9ab	23.5
EYB	29.6b	30.1abc	26.1ab	46.1a	23.0
EYC		30.4ab	26.7a	29.7a	19.8
EYD		31.2a	24.7abc	39.5abc	18.0

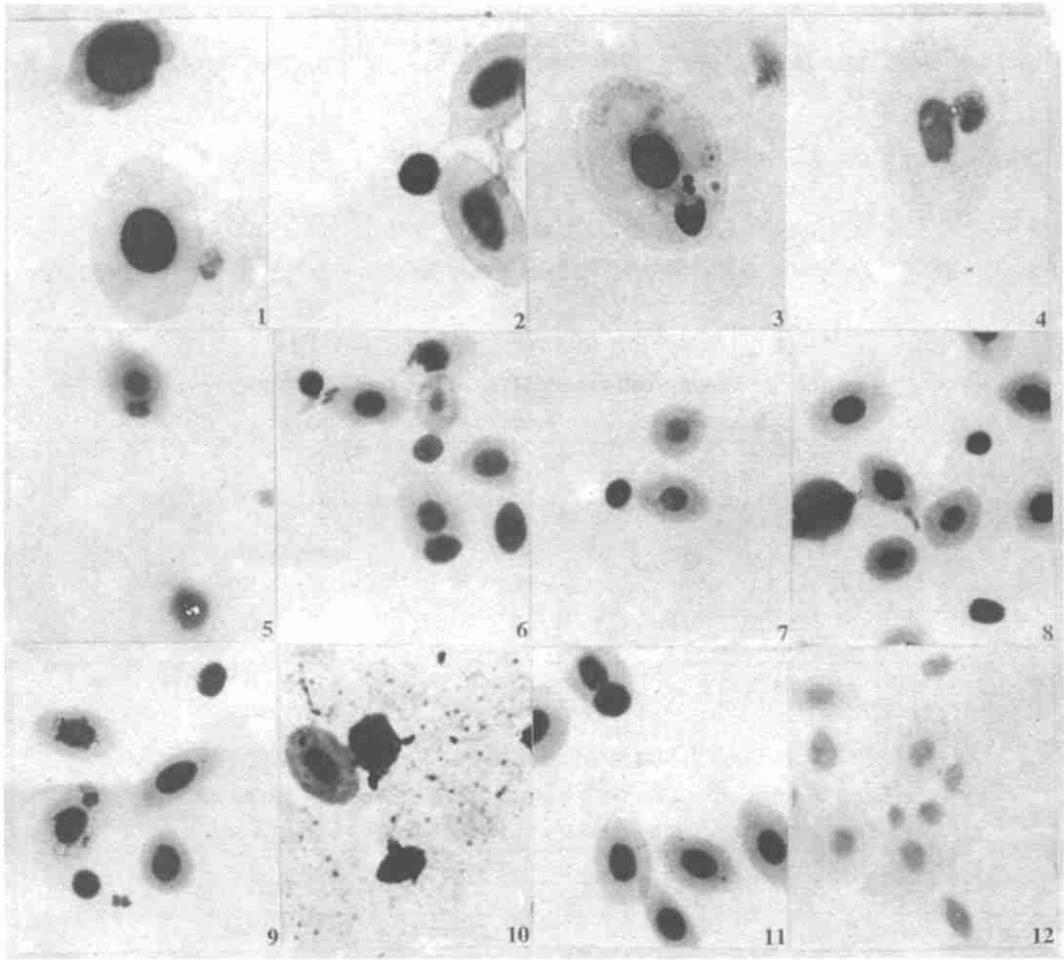
由表 1、2 及试验方法可看出: 一定程度的红细胞吞噬现象在这五种两栖和鱼类动物广泛存在; 补体和自身白细胞对红细胞吞噬率多数无显著影响 ($P > 0.05$)。例外者: 补体可十分显著降低青蛙红细胞吞噬率 ($P < 0.01$), 白细胞可十分显著降低鳙红细胞吞噬率 ($P < 0.01$)。

2.2 红细胞吞噬现象和过程

光镜下可见五种两栖和鱼类动物红细胞吞噬酵母菌的全过程。起初, 红细胞膜正常(图版-1), 红细胞接触酵母后浆膜向核方向下陷并出现伪足, 最后, 红细胞将整个酵母吞噬(图版-1)。有时, 青蛙和鲤红细胞吞噬的酵母菌结构已不完整(图版-3, 9)。红细胞伸出牵拉酵母的伪足有粗、细、长、短的不同(图版-2, 6, 10, 12), 少数为 2 个(图版-8), 还有一个鲤红细胞和 1 个酵母间形成 1 管状结构将二者联接起来(图版-7)。数个红细胞吞噬 1 个酵母菌, 或 1 个红细胞吞噬 2 个或更多的酵母的现象亦可见到(图版-2, 6, 12)。

3 讨论

许多医学资料及分子生物学研究表明人的红细胞可单独、或通过协同和调控白细胞的免疫活动来实现



图版 五种两栖和鱼类红细胞吞噬酵母菌的现象($\times 1000$)

Plate The phagocytotic phenomena on the yeast of the erythrocytes from
5 species of amphibious and piscine animals

1. 红细胞刚接触酵母(青蛙, EYA); 2. 红细胞伸出细长的伪足牵拉酵母(牛蛙, EYA); 3. 红细胞完全吞噬了酵母(牛蛙, EYB); 4. 红细胞完全吞噬酵母(牛蛙, EYC); 5. 红细胞完全吞噬酵母(鳊, EYC); 6. 红细胞完全吞噬酵母, 另2个红细胞合力开始吞噬酵母(鲤, EYA); 7. 1个红细胞伸出双伪足牵拉酵母(鲤, EYA); 8. 红细胞和酵母菌间形成管状结构(鲤, EYA); 9. 红细胞完全吞噬酵母(鲤, EYB); 10. 红细胞牵拉酵母的粗短伪足(鲤, EYC); 11. 红细胞完全吞噬酵母(鲤, EYD); 12. 1个红细胞伪足牵拉酵母, 另1个红细胞开始吞噬2个酵母(鲤, EYD)。

自身免疫功能。人的成熟红细胞借助其表面 LFA-3、CD₃₀、CR₁、SOD、淋巴细胞和吞噬细胞表面的 CR₁、CR₂、CR₃、F_C受体, 以及 T 和 B 淋巴细胞前体表面的 CD₂, 来对补体活性、T、B、LAK 细胞和吞噬细胞的功能进行调控、粘附和参与清除免疫复合物, 还可识别携带抗原、进行抗原提呈[王旭东等, 1993]。特别是 Shau 等[1993]证实幼稚红细胞(erythroid cell)浆内存在可促进 NK 细胞活性的因子(NKEF)。其它哺乳和鸟类动物红细胞亦有类似功能[Molina 等, 1992; 王旭东等, 1993]。在电镜下可见人成熟红细胞能直接粘附和溶破肿瘤细胞浆膜[黄盛东等, 1993], 人类[朱大翔, 1993]及其它哺乳类和鸟类红细胞偶尔亦可表现出吞噬功能。本试验也初步证实两栖和鱼类动物红细胞有一定程度的吞噬功能。故笔者认为红细胞吞噬作用至少为红细胞免疫

功能在两栖和鱼类动物的主要体现形式之一。

从个体发育角度看,一切动物的红、白细胞均源于造血干细胞。以后白细胞获得各种免疫防御机能,而红细胞则成为携带氧及调节体液中酸碱和离子平衡者[何泽涌等,1983]并兼有某些免疫功能[Molina等,1992;王旭东等,1993;张德成等,1993;中国免疫学会红细胞免疫专业小组委员会,1993;黄盛东等,1993;Fletcher等,1992;Virella,1988;Deckert等,1992;Muraguchi等,1992;Shau等,1993;朱大栩等,1993]。所以从种系进化角度看,是否可以认为哺乳和鸟类动物红细胞仅残存偶尔的吞噬现象[朱大栩,1993],而两栖和鱼类红细胞仍保留一定程度的吞噬作用,反映出了彼此间红细胞分化程度的不同。

糖基磷脂酰肌醇(GPI)膜锚蛋白无穿膜部分、通过 GPI 锚连于细胞膜、一定条件下极易被细胞内吞[朱大栩,1993]。人红细胞补体受体 CR₁ 和 CR₃ 均系 GPI 锚蛋白[朱大栩,1993],且可粘附免疫复合物[王旭东等,1993],故可将人红细胞偶尔的吞噬与 GPI 锚联系起来思考。GPI 广泛分布于各种动物细胞膜,甚至见于寄生性原虫、如锥虫[赵修竹,1993],故可否将两栖和鱼类红细胞对酵母的吞噬与某种 GPI 锚蛋白相联系。

参 考 文 献

- [1] 王旭东等,1993. 九种动物红细胞免疫功能研究、分析和意义. 红细胞免疫学研究进展(下卷),125~128. 南京大学出版社。
- [2] 中国免疫学会红细胞免疫专业小组委员会,1993. 全国红细胞免疫理论与实践协作成果综述. 红细胞免疫学研究进展(下卷),239~243. 南京大学出版社。
- [3] 朱大栩,1993. 红细胞免疫的基础研究进展. 红细胞免疫研究时展(上卷),3~26. 南京大学出版社。
- [4] 何泽涌等,1983. 组织学与胚胎学,42~54,99~115. 人民卫生出版社(北京)。
- [5] 赵修竹,1993. CD₃₅——一种具有补体溶破同源限制作用的膜锚蛋白. 国外医学免疫学分册,(3):113~116。
- [6] 张德成等,1993. 红细胞 C₃b 受体测定研究. 红细胞免疫学研究进展(下卷),123~124. 南京大学出版社。
- [7] 黄盛东等,1993. β -内啡肽对红细胞粘附肿瘤细胞的调节作用. 红细胞免疫学研究进展(上卷),43~46. 南京大学出版社。
- [8] Deckert, M. *et al.*, 1992. CD₃₅ molecule; a second ligand for CD₂ in T cell adhesion. *Eur. J. Immunol.*, 22:2943~2947.
- [9] Fletcher, A. *et al.*, 1992. New monoclonal antibodies in CD₃₅: use for the analysis of peripheral blood cells from paroxymal nocturnal haemoglobinuria (PNH) patients and for the quantitation of CD₃₅ on normal and decay accelerating factor (DAF) - deficient erythrocytes. *Immunol.*, 75:507~512.
- [10] Molina, H. *et al.*, 1992. Distinct receptor and regulatory properties of recombinant mouse complement receptor I and Crry, the two genetic homologues of human CRI. *J. Exp. Med.*, 175:121~129.
- [11] Muraguchi, A. *et al.*, 1992. Expression of CD₂ molecule on human B lymphoid progenitors. *Int. Immunol.*, 4:841~849.
- [12] Shau, H. *et al.*, 1993. Identification of a natural killer enhancing factor (NKEF) from human erythroid cells. *Cell Immunol.*, 147: 1~11.
- [13] Virella, G., 1988. The interaction of CD₂ with its LFA-3 ligand expressed by autologous erythrocytes results in enhancement of B cell responses. *Cell Immunol.*, 116:308~319.