

菊糖对家兔免疫反应影响的试验研究

鄭厚旌 罗仲愚

(北京农业大学兽医学系, 北京)

关于注射不同化学物质增强机体抗病能力的现象, 近年来已有不少报导, 其中以酵母多糖较为显著^[1-4]。由于酵母多糖的实用价值尚未肯定, 我们想寻求与酵母多糖作用相类似的其他化学物质, 进一步探索其实用的可能。因鉴于酵母多糖的活性部分一般认为是多糖部分, Cseh 等 (1961)^[5] 应用酶消化也证明酵母细胞壁主要成分为甘露聚糖与葡萄糖。另外有人报导^[6] 菊糖 (Inulin) 在与备解素 (Properdin) 相结合的能力上和酵母多糖有很类似之处, Fesce 氏 (1958)^[7] 曾证明小白鼠腹腔注射后可增高血液内备解素的含量。为了了解菊糖在增强机体免疫反应上是否与酵母多糖有类似的作用, 因而作了一些试验观察。

试验材料

1. 试验动物 成年家兔, 体重基本相等, 营养良好。
2. 布氏杆菌凝集反应抗原 中国农业科学院哈尔滨兽医科学研究所生物制品厂出品 (检 6027), 每毫升含菌 100 亿。
3. 菊糖 (Inulin) 最纯, 日本武田化学药品株式会社出品, 白色粉末, 注射前配成 3% 溶液, 微微加热使完全溶解成透明液体, 现配现用。
4. 3% 枸橼酸钠溶液 高压灭菌后备用。
5. 大肠杆菌 (Q138) 来自卫生部中央生物制品检定所。普通琼脂斜面培养 24 小时, 用灭菌生理盐水洗下菌苔制成每毫升含菌 50 亿的混悬液。
6. 绵羊红血球悬液制备 以无菌操作法, 从绵羊颈静脉处采血, 放入有玻璃珠灭菌瓶中, 振荡 10—15 分钟脱纤, 然后将血移入离心管中, 1500/分转离心 5 分钟, 吸出上清液, 再加灭菌生理盐水重复离心 2 次后, 用生理盐水将血球泥配成 1.25% 血球悬液备用。

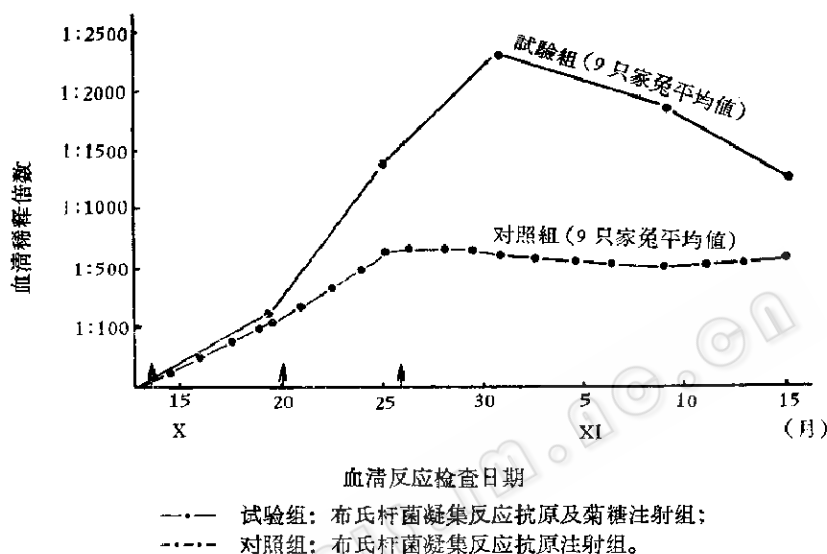
方法及结果

(一) 菊糖对家兔血中凝集形成及白血球吞噬作用的影响

将 18 只家兔分成两组, 一组为试验组, 一组为对照组, 各组 9 只。在注射菊糖前, 从每只家兔采血 1 毫升, 用布氏杆菌抗原及 Q138 的大肠杆菌分别作 1 次正常的凝集反应及白血球吞噬反应 (计算出吞噬百分数及吞噬指数)。正常凝集价为阴性者作为试验用兔。试验组及对照组的每只家兔皮下注射布氏杆菌抗原 1 毫升, 共 3 次, 间隔 7 天。在注射抗原的同时, 试验组的每只家兔另在颈部皮下注射 3% 菊糖溶液 2 毫升 (相当于 60 毫克), 对照组不注射。注射后的第 5 日采血 1 毫升作试管凝集反应及白血球吞噬反应的检查。血

清試管凝集反应及白血球吞噬反应共检查 5 次。

(1) 血清試管凝集反应的測定及結果 注射后第 1 次检查, 血清为倍量稀释。每管加血清稀释液 1 毫升及布氏杆菌抗原 0.05 毫升 (含菌 5 亿), 混合均匀后置于 37°C 温箱内 12 小时, 以后置于室温 12—14 小时, 观察并判断凝集反应的结果。判断结果以“++”的凝集现象者为阳性反应。每次测定后计算出試驗組及对照組 9 只家兔平均凝集滴度。試驗組及对照組平均血清凝集反应滴度检查结果见图 1。



(2) 血中白血球吞噬反应的測定及結果 作血液白血球吞噬反应測定以前, 准备大腸杆菌悬液; 用普通琼脂斜面培养大腸杆菌 24 小时, 用灭菌生理盐水洗下菌苔, 充分振荡, 使細菌分散成均匀混悬液, 然后用麦氏比浊管的比浊法, 将其稀释成每毫升含菌 50 亿的菌液; 菌液浓度系用麦氏比浊管加以測定。取灭菌試管 1 支, 滴入灭菌的 3% 枸橼酸鈉 0.3 毫升, 采試驗家兔心血 0.5 毫升, 迅速加上述置有枸橼酸鈉的試管中, 輕輕振搖以防血凝, 此时加入准备好的大腸杆菌悬液 0.2 毫升 (含菌 10 亿), 輕輕地混合均匀, 置于 37°C 温箱内 50 分钟, 取出制成抹片 (为便于寻找白血球, 抹片可涂厚些), 自然干燥后, 用瑞氏 (Wright) 染色法染色, 用油鏡检查。

吞噬百分数計算法 在抹片不同部位, 数 100 个嗜中性白血球, 计算出吞噬有大腸杆菌的白血球数即为吞噬百分数。

白血球吞噬指数計算法 采用苏联改良的赫氏 (Huddleson) 計算法, 即在抹片的不同部位, 检查 100 个嗜中性白血球, 根据每个白血球内所吞噬大腸杆菌的多少分别以不同数值代表之: 未吞噬者为 0, 吞噬大腸杆菌 1—20 为 1, 吞噬 21—40 为 2, 吞噬 40 个以上者为 3。最后将每类白血球乘以相当的数字, 各組数乘积相加总和即为吞噬指数。最后所得的吞噬指数用 4 来除。試驗家兔平均白血球吞噬反应检查结果见表 1。

(二) 菊糖对家兔血中溶血素形成的影响

将制备好的綿羊紅血球悬液及菊糖溶液, 分別給試驗組及对照組家兔注射 (对照組家

表 1 試驗家兔白血球吞噬反应检查的结果

组 别	注射前		注 射 后									
	吞噬百分数 (%)	吞噬 指 数	吞噬百分数(%)					吞 噬 指 数				
			检 查 日 期					检 查 日 期				
			10月		11月			10月		11月		
			19日	25日	1日	8日	15日	19日	25日	1日	8日	15日
试 验 组	8.14	2.64	12	20	28.1	28.8	22.7	3.3	5.0	6.7	7.9	5.99
对 照 组	8.2	2.19	7.9	14	14.9	20.6	14.4	2.08	3.5	3.8	5.2	3.8

兔不注射菊糖), 綿羊紅血球悬液注射部位为耳靜脉, 菊糖溶液注射部位为頸部皮下, 其注射剂量及次数为: 試驗組及对照组家兔綿羊紅血球注射, 11 月 4—13 日注射 4 次, 每次間隔 2—3 天, 剂量 2—4 毫升, 12 月 18—23 日注射 3 次, 每次間隔 2 日, 每次剂量 5 毫升。試驗組家兔菊糖溶液之注射, 11 月 3—13 日注射 3 次, 每次間隔 1—7 天, 每次剂量 0.5 毫升。12 月 2—22 日注射 3 次, 每次間隔 6—14 天, 注射剂量为 2—5 毫升。試驗組及对照组在末次注射綿羊紅血球間隔 2 周后作第 1 次溶血素滴度的測定。以后每間隔 1 周測定 1 次溶血素滴度, 直到血中溶血素基本消失为止, 前后共測 5 次。溶血素滴度測定步驟及操作方法是按一般溶血素滴度測定法进行的。每次測定試驗組及对照组家兔血中平均溶血素滴度結果見图 2。

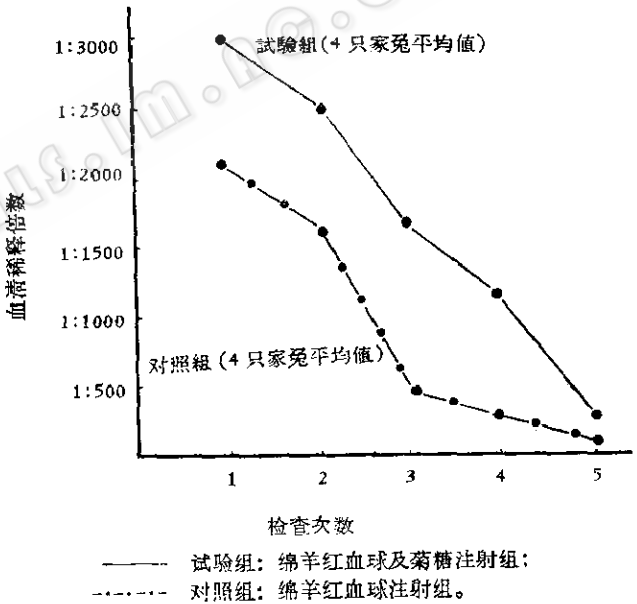


图 2 試驗組及对照组家兔平均溶血素滴度检查结果曲线示意图。

(三) 菊糖单独注射对家兔血中白血球吞噬反应的影响

試驗前每只家兔做 1 次正常血中白血球吞噬反应的检查, 然后給試驗組 5 只家兔每只皮下注射 3% 菊糖溶液 2 毫升 (相当于 60 毫克), 对照组 5 只不注射; 間隔 5 日用同法再給試驗組家兔注射菊糖 1 次。第 1 次注射菊糖后, 分別給試驗組及对照组家兔检查 4 次血中白血球吞噬反应, 每次間隔 5—7 日, 其具体操作方法及吞噬百分数和吞噬指数的計算法均同上所述。試驗組及对照组实验及检查结果見下表。

表 2 家兔血中白血球吞噬反应检查的结果*

组 别	注 射 前		注 射 后							
	吞 噬 百 分 数 (%)	吞 噬 指 数	吞噬百分数(%)				吞 噬 指 数			
			检 查 日 期				检 查 日 期			
			1 月		2 月		1 月		2 月	
			24日	31日	6 日	11日	24日	31日	6 日	11日
试 验 组	6.4	1.6	15.6	12.4	11.3	8	3.9	3.0	2.8	2.0
对 照 组	6.0	1.5	6.6	6.2	6.8	6	1.8	1.7	1.7	1.6

* 试验组家兔因故死亡 2 只, 2 月 6 日, 2 月 11 日的两次检查的结果均为 3 只家兔平均值。

討 論 及 結 論

(一) 从試驗結果可以看出, 家兔連續 3 次皮下同时注射布氏杆菌抗原及菊糖 60 毫克后, 它所产生的布氏杆菌凝集素的滴度比单纯注射布氏杆菌抗原者的滴度为高; 注射菊糖组平均最高凝集滴度达 1:2320, 而未注射菊糖组则为 1:644, 相差将近 4 倍; 最低滴度也相差 1 倍(1:213:1:115)。注射菊糖的家兔的凝集素維持時間也有較长的傾向(15—30 天)。这表明菊糖与布氏杆菌抗原給家兔皮下同时注射时, 有促进机体凝集素抗体形成的作用。

(二) 試驗表明菊糖不仅能促进机体抗体的形成, 同时在检查血中嗜中性白血球吞噬反应时, 发现菊糖試驗組在注射抗原及菊糖以前吞噬百分数为 8.14%, 吞噬指数为 2.64, 注射后吞噬百分数最低为 12%, 最高达 28.8%, 吞噬指数最低为 3.3, 最高达 7.9。而对照組在注射抗原以前吞噬百分数 8.2%, 吞噬指数为 2.2, 基本上与試驗組相同, 但注射抗原而未注射菊糖以后, 吞噬百分数最低仅为 7.89%, 最高也只 20.6%, 吞噬指数最低为 2.08, 最高仅为 5.2, 試驗組比对照組吞噬百分数及吞噬指数高于 1 倍以上。这可以說明菊糖也有引起机体网状内皮系統活性增強的傾向。

(三) 試驗还表明用菊糖溶液給家兔連續注射(15—150 毫克), 比沒有注射菊糖的对照組家兔血中溶血素产生的滴度为高, 平均最高相差 3 倍多(1:1575:1:500), 最低也相差 1/3 倍(1:3000:1:2000), 并且試驗組滴度維持時間也較长, 消失較慢, 可以說明菊糖具有增強血中溶血素抗体形成的作用。

(四) 菊糖单独注射的試驗也表明試驗組家兔的中性白血球吞噬反应显然較对照組为高。这說明菊糖与抗原物质同时注射时, 菊糖的作用不是一种普通的佐剂作用, 它与抗原之間似乎存在着一种“协同”作用。

(五) 从試驗中看出菊糖的 2 次注射对抗体形成似有再度增強作用, 而对已增強的吞噬反应則无明显影响。此外, 試驗中未曾試用各种不同菊糖剂量和注射時間, 以观测其最适宜的剂量和注射時間。有关注射次数, 剂量与時間等問題, 还須进一步試驗。

(六) 菊糖及类似的有关物质对机体免疫反应增強作用的机制及实际应用价值如何, 值得作进一步的探討。

参 考 文 献

- [1] Kiser, J. S. et al.: *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, **66**:312, 1956.
- [2] Cutler, J. L.: *J. Immunol.*, **84**:416, 1960.
- [3] Cutler, J. L.: *J. Immunol.*, **86**:73, 1961.
- [4] Brown, H. et al.: *J. Animal Sc.*, **20**:323, 1961.
- [5] Cseh, G. et al.: *Acta Microbiol., (Hungaria)* **8**:181, 1961.
臧人杰等转引, 免疫学进展 (一), 45 页, 上海科学技术出版社 1962.
- [6] Яковлев, А. М., Комлева, Т. Т. и Яковлева, С. Д.: *Ж. М. Э. Н.*, (11) 58—63, 1960.
- [7] Fesce, A.: *Bull. Inst. Sieroterap., (Milan)* **37**(7/8):364, 1958.

THE EFFECT OF INULIN ON IMMUNE REACTIONS IN THE RABBIT

CHENG HOU-CHIN AND LO CHUNG-YU

(Peking Agricultural University, Peking)

Using rabbits as the test animal, inulin has been found to increase agglutinin titer against *Br. abortus* and to enhance sheep hemolysin production when injected simultaneously with the respective antigens. In other experiments, stimulation of phagocytosis by inulin was also shown. It is of interest to note that this effect of inulin is very similar to that of zymosan as previously reported, though its chemical composition is much simpler. The theoretical as well as practical significance of this synergistic phenomena is considered to be worthy of further investigation.