

黄芪和何首乌对老龄小鼠胸腺影响的超微结构研究

魏锡云 张锦堃 李运曼¹ 宋继志² 洪大蓉²

(汕头大学医学院, 515031; ¹ 生理学教研室; ² 南京铁道医学院, 210009)

摘要 观察了单用黄芪(A组)、何首乌(P组)和两药联用(AP组)对15月龄小鼠胸腺超微结构的影响。对照组(C组)胸腺呈明显退化。A、P、AP组与C组相比,细胞密度明显增大,其胸腺细胞一般呈圆形或卵圆形,并多见有线分裂相;而在明型上皮性网状细胞、巨噬细胞和交错突细胞内,线粒体嵴部分或全部清晰可见,粗面内质网或轻度扩张、或呈扁平囊状;明型上皮性网状细胞、巨噬细胞和交错突细胞各自与胸腺细胞紧贴形成的花环也较常见。上述变化在AP组尤为明显,表明黄芪何首乌均有促进老龄小鼠胸腺超微结构明显逆转变化的作用,两药联用,作用增强。

关键词 黄芪; 何首乌; 胸腺; 超微结构

黄芪和何首乌作为中药免疫促进剂用于防老抗衰,在中医临床和现代医学应用上都取得一定效果,引起了普遍注意。这两味药对机体的作用是多方面的^[1-3],其中对胸腺和细胞免疫的影响在当今颇受重视,但很少有人从形态学上进行详细研究。我们曾应用形态计量学方法分析了该药促使老龄小鼠胸腺光镜结构逆转的现象^[4],本研究在此基础上,通过电镜观察,描述单用和联用黄芪和何首乌后老龄小鼠胸腺的超微结构变化,从而进一步为这两味药的抗衰老作用提供形态学依据。

1 材料和方法

1.1 药物

黄芪注射液(Injectio astragari)(江苏省六合县制药厂,每支2 ml,含药材2 g);何首乌(*Polygonum multiflorum*)(江苏省中药材公司,用水煎制后浓缩成0.5 g/ml)。

1.2 动物

15月龄昆明种小鼠40只,雌雄各半。分别随机分成C、A、P和AP4组,每组10只。小鼠由本校动物室提供。

1.3 给药方法

C组为对照组,正常喂养;A组给黄芪注射液,1 g/(kg·d),ip;P组给何首乌煎剂,6 g/(kg·d),ig;AP组以同样方法同时给A组和P组药量。连续给药14 d。

1.4 标本制备

A、P和AP组均于末次给药24 h后与C组同时放血处死,取出胸腺,切成小块,按常规4%戊二醛预固定和1%锇酸后固定,乙醇逐级脱水,EPON 618浸透包埋,半薄切片定位,LKB-8800-Ⅲ型切片机超薄切片,醋酸铀和枸橼酸铅双染色,日立H-600型透射电镜观察。

2 结果

2.1 胸腺细胞

C组多见呈不同程度的退化变性细胞,有时成群存在。其细胞形态有的不规则,有的明显肿胀,有的细胞膜完全消失、细胞轮廓不清。细胞核形态也不一,有的核肿胀,有的核固缩(图1-1)。细胞质一般较清亮,游离核糖体极少,线粒体数量虽多少不等,但线粒体嵴均明显减少、变短、排列紊乱,甚至完全溶解而呈空泡样变(图1-3)。实验组细胞多呈圆形或卵圆形,细胞密度明显增大(图1-2)。在皮质浅层,细胞

较大,核异染色质较少而核仁明显,胞质内游离核糖体较多。在皮质深层和髓质,细胞较小,核异染色质较多并呈斑块状分布,而胞质电子密度则大小不一。电子密度较高的细胞较为多见,其核质比例也较高,胞质呈一薄层围绕于核周围,胞质内游离核糖体较多而线粒体较少;电子密度较低的细胞较为少见,其核质比例也较低,胞质内游离核糖体相对较少而线粒体较多。两群细胞的线粒体嵴均部分或全部清晰可见。此外,实验组中有丝分裂相也较多见,而退化变性细胞在 A 组和 P 组已少见,仅单个散在;在 AP 组更为少见。

2.2 上皮性网状细胞

C 组和实验组细胞均有明显的突起,相邻细胞突起可见桥粒连接;胞质内有中间丝束和微丝束。各组细胞也均有明、暗两型。暗细胞胞核多不规则,核内异染色质较多,胞质电子密度也较高。与实验组比较,C 组暗细胞较多见,核周隙常有明显扩张,胞质内有较多空泡,细胞内和细胞周围含有较多微丝束和胶原原纤维(图 1-4)。明细胞胞核多呈椭圆形,核内异染色质较少而细小,胞质电子密度也较低。各组比较,C 组胞质内可见肿胀的高尔基复合体,明显肿胀变性的线粒体,有的嵴大部消失。仅少量残留于周边部,有的则全部消失而空泡化(图 1-3),粗面内质网呈不同程度扩张,空泡和溶酶体样致密颗粒较多,有的细胞内还可见胶原原纤维(图 1-5);实验组胞质内高尔基复合体呈扁平囊状或小泡状,游离核糖体较丰富,线粒体嵴部分或全部清晰可见(图 1-6),含一些膜被囊泡,而溶酶体样致密颗粒较少,粗面内质网在三组实验组则表现不一,在 A 组和 P 组多呈轻度扩张(图 1-6-a、b),而在 AP 组多呈扁平囊状(图 1-6-c)。此外,实验组明细胞的细胞密度较大,胞体和突起周围常有胸腺细胞紧贴形成花环。在 AP 组,还偶见明细胞突起伸入退化的胸腺细胞内直达胞核附近。

2.3 巨噬细胞

C 组和实验组细胞的形态均不规则,多突起,胞核呈椭圆形或不规则形,核内异染色质较多,胞质内细胞器丰富,特别是大量溶酶体、吞噬体和脂褐素等。各组比较,C 组胞质内线粒体多呈肿胀退变或空泡化(图 1-3),可见髓鞘样小体,偶见数个线粒体融合而成的巨线粒体,嵴断裂,含大量致密颗粒;实验组胞质内线粒体增多,嵴排列规则,粗面内质网有的呈扁平囊状(图 1-7),有的明显肥大和增生,并偶见

同心性板层小体。三组实验组细胞形态无明显差别,也均见胞体和突起周围常有胸腺紧贴形成花环。

2.4 交错突细胞

细胞胞体和突起的切面呈各种不同的形态;胞核不规则,常有多处较深的凹陷,核内异染色质较少,偶见核仁;胞质电子密度较低,细胞器不发达,有中等量核糖体和线粒体,线粒体常成群分布,嵴发育良好(图 1-8),溶酶体少而小。该细胞在 C 组仅偶而见到,且线粒体多空泡化;在实验组较多见,且周围有胸腺细胞紧贴形成花环。A、P 和 AP 组无明显差别。

2.5 浆细胞

实验组胸腺髓质见少量前浆细胞和成熟浆细胞(图 1-9)。前浆细胞呈圆形或椭圆形,核内异染色质沿核膜下排列成辐射状,胞质内粗面内质网有不同程度扩张,线粒体散在,嵴清楚,含少量分泌颗粒。成熟浆细胞胞浆内含大量平等排列、呈扁平囊状的粗面内质网,高尔基复合体发达,线粒体数量较前浆细胞多,嵴清晰易见,也有少量分泌颗粒。A、P 和 AP 无明显差别,而 C 组仅偶见单个散在的细胞。

讨 论

本实验比较了 C 组和实验组胸腺细胞的超微结构,发现 C 组胸腺细胞符合老龄退化的形态变化,而 A、P 和 AP 组细胞密度增大,细胞核和细胞器的超微结构均明显恢复正常或趋于正常。在皮质深层和髓质,所见为数较多、胞质电子密度较高的群体符合辅助性 T 细胞的形态,而另一群为数较少、胞质电子密度较低的群体又符合抑制性 T 细胞的形态,提示 T 细胞亚群的分化也趋于正常。表明黄芪和何首乌有促使老龄小鼠胸腺细胞呈明显形态学逆转变化的作用。

本实验的明细胞胞质内,与分泌激素有关的线粒体、粗面内质网、游离核糖体、高尔基复合体和膜被囊泡等结构在 C 组呈明显退化而在三组实验组已不同程度地趋于正常或恢复正常,与胸腺细胞直接接触形成的花环在实验组也较多见,这正是明细胞功能在实验组中明显恢复的形态表现。而所见 AP 组明细胞突起伸入退化胸腺细胞内的现象又



Fig 1. Results of mice-ultrastructural study

1-1. Group C, degenerative thymocytes show the pycnotic nuclei ($\times 4000$); 1-2. Group A, normal thymocytes ($\times 4000$); 1-3. Group C, arrows indicate mitochondria of vacuole-shaped degenerative change in thymocyte, light epithelial-reticular cell and macrophage ($\times 6000$); 1-4. Group C, a dark epithelial-reticular cell shows perinuclear space swelling (Δ) and more collagenous fibril bundles (\blacktriangle) ($\times 5000$); 1-5. Group C, a degenerative light epithelial-reticular cell contains many vacuoles and more collagenous fibril bundles ($\times 8000$); 1-6. Light epithelial-reticular cell show discernible cristae mitochondriales, light-degree swelling (Δ) and flattened vesicle-shaped (\blacktriangle) rough endoplasmic reticulum. 1-6-a, in group A ($\times 15000$); 1-6-b, in group P ($\times 20000$); 1-6-c, in group AP ($\times 17000$); 1-7. Group P, the cytoplasm of macrophage shows abundant organelles. arrows indicate discernible cristae mitochondriales (\blacktriangle) and flattened vesicle-shaped rough endoplasmic reticulum (Δ) ($\times 8000$); 1-8. Group AP, the cytoplasm of interdigitating cell shows moderate amount of mitochondria ($\times 8000$); 1-9. Group AP, a plasma cell and a proplasmacyte ($\times 5000$)

可能与明细胞有微弱的吞噬功能有关。至于暗细胞,通常认为有分泌基质和纤维的功能,在胸腺退化时可产生较多胶原原纤维沉积在细胞组织内。C组有的明细胞内也见胶原原纤维,提示这些明细胞可能转化为暗细胞。

巨噬细胞和交错突细胞也参与组成胸腺微环境。巨噬细胞-胸腺细胞花环和交错突细胞-胸腺细胞花环在胸腺细胞分化和功能上成熟、死亡胸腺细胞处理、参与胸腺细胞受体选择中都可能具有重要作用,近来还发现它们能分泌白细胞介素 I,促使胸腺分化与增殖^[6-8]。这两种细胞在C组呈现退化状态,在实验组的超微结构形态则表明处于活跃的功能状态。此外,前浆细胞和浆细胞的增多也提示在胸腺髓质尚能进行部分体液免疫反应。

A、P 和 AP 组胸腺细胞及胸腺微环境的超微结构表明黄芪和何首乌有促使老龄小鼠胸腺呈明显形态学逆转的作用;在胸腺细胞

和明型上皮性网状细胞,AP 组的逆转变化更明显,提示黄芪和何首乌联合作用增强。

参考文献

- 1 秦凤华,谢蜀生,张文仁等. 何首乌对小鼠免疫功能的影响. 免疫学杂志,1990;6(4):252
- 2 张凤蕴,徐红薇,韩梅等. 黄芪对老年人 CMSC 的影响. 免疫学杂志,1991;7(1):48
- 3 钱瑞生. 中草药免疫促进剂. 中医杂志,1980;3:75
- 4 魏锡云,张锦华,李运曼等. 黄芪和何首乌对老龄小鼠胸腺影响的形态计量研究. 中国药科大学学报,1991;22(6):359
- 5 Fink PJ, Weissman IL, Kaplan HS, et al. The immunocompetence of murine stromal cell-associated thymocytes. *J Immunol*, 1984;132(5):2266
- 6 Kendall MD, Manning MJ, Ali AM, et al. *Thymus gland*. London: Academic press, 1981;63
- 7 Ken S, David V, Angela D, et al. Nature of the thymocytes associated with dendritic cells and Macrophages in thymic rosettes. *Cellular Immunology*, 1989;119:85
- 8 Marielle L, Diane L, Nelly BB, et al. IL-1 production by human thymic dendritic cells; studies on the interrelation with DC accessory function. *Cellular Immunology*, 1991;135:431

Effects of *Astragalus Mongholicus* and *Polygonum Multiflorum* on Thymus in Aged Mice-Ultrastructural Study

Wei Xiyun, Zhang Jinkun, Li Yunman¹, Song Jizhi², Hong Darong²

Shantou University Medical College, 515031; ¹Department of Physiology; ²Nanjing Railway Medical College, 210009

The method of electron microscopic observation was used to study the effect of *Astragalus mongholicus* (A), *Polygonum multiflorum* (P) and the Combination of A and P (AP) on thymus in both male and female mice 15 months old. The results showed that in the controls (group C), their thymus revealed obvious degeneration, while in group A, P and AP (the mice were treated for 14 days with A, P and AP respectively), as compared with group C, the cell density was markedly increased. Most of the thymocytes were spherical or spheroidal. The mitotic figures of thymocytes increased notably. The Whole or part of the cristae mitochondrial was clearly discernible, and the rough endoplasmic reticulum showed flattened vesicles or light- degree swelling within the light epithelial- reticular cells, macrophages and interdigitating cells. The thymocytes was around and closed to the light epithelial- reticular cells, macrophages or interdigitating cells frequently. In group AP, the above changes were the most remarkable. It is suggested that A and P could promote the thymus of aged mice to regenerate, and A+P could give rise to the highest effect.

Key words *Astragalus mongholicus*; *Polygonum multiflorum*; Thymus; Ultrastructure