维普资讯 http://www.cqvip.com

四氧嘧啶糖尿病大鼠外周血嗜中性粒细胞吞噬功能改变

第一医院内科学教研室 李启富* 舒昌达

提 要 本文报道四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠外周血嗜中性粒细胞对中华墨汁颗粒的吞噬功能测定，结果显示：(1) 糖尿病大鼠嗜中性粒细胞吞噬率和吞噬指数明显降低($P<0.01$)；(2) 体外试验观察到在高葡萄糖浓度下，正常大鼠嗜中性粒细胞吞噬率和吞噬指数显著下降，并与葡萄糖浓度呈负相关关系 ($P<0.01$)，但相关关系不密切。高血糖可能是糖尿病状态下粒细胞吞噬功能受损的原因之一

关键词 糖尿病，嗜中性粒细胞，吞噬功能，四氧嘧啶

糖尿病患者容易并发感染，常见于肺、泌尿系、皮肤等处。研究表明感染是糖尿病患者的主要死亡原因之一[1]。感染易患性增高，常归因于糖尿病患者抗感染免疫防御功能的缺损。嗜中性粒细胞的吞噬和杀灭病原菌作用，在抵御感染发生的过程中发挥重要的作用。有文献报道，控制不良的糖尿病患者，多核白细胞吞噬和杀菌功能受损，并与高血糖有关，当严格控制高血糖后，吞噬和杀菌功能恢复正常[2-4]。

有关糖尿病实验动物外周血粒细胞的吞噬功能研究，尚未见报道。我们采用四氧嘧啶诱导糖尿病大鼠模型，取外周血试验，动态观察嗜中性粒细胞的吞噬功能，并探讨高血糖对吞噬功能的影响。

材料和方法

1. 糖尿病大鼠模型的建立 雄性Wistar大鼠，鼠龄5-7月，体重185-270g，自由进食和饮水。四氧嘧啶（Alloxan，本校人工细胞室制备提供），按200mg/kg，皮下注射，连续二天，注药前和注药后48h各测血糖，此后每周测一次血糖（邻甲苯胺法）。大鼠于注射四氧嘧啶后48h内，出现神萎、多尿、多饮、食量增加、皮毛皱缩、尿糖强阳性、血糖持续增加。若两周后血糖持续超过16.67mmol/L，则认为该鼠为糖尿病模型。本组资料共获得糖尿病模型大鼠12只。其注药前血糖为5.16±0.77mmol/L，注药后第2周血糖为20.76±4.68mmol/L、第4周为22.51±4.94mmol/L、第6周为22.86±6.14mmol/L。

2. 外周血嗜中性粒细胞吞噬功能的测定 采用吞噬墨汁方法[5]。显微镜下计数100个嗜中性粒细胞，观察对墨汁颗粒的吞噬情况，计算吞噬率及吞噬指数。观察判断细胞吞噬墨汁颗粒的分级标准："+"为细胞内含1-5个颗粒，"++"为细胞内含6-15个颗粒；"+++"为细胞内含小颗粒15个以上，或大颗粒10个以上；"++++"细胞内颗粒很多，呈块状，占细胞面积一半以上。吞噬指数是各反应级与该级细胞数乘积之和。

3. 高葡萄糖浓度对嗜中性粒细胞吞噬功能的影响（1）配制9个不同浓度（0—38.9mmol/L）的葡萄糖生理盐水，且肝素化（60u/ml）；（2）上述液体各取50ul加入9支硅化小试管；（3）在小试管中各置入同一大鼠尾血120ul，轻轻摇匀后，取出40ul作血糖测定（邻甲苯胺法）；（4）小试管中各

* 研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

加墨汁10ul，测定嗜中性粒细胞吞噬率和吞噬指数，测定方法同前。

4. **统计学处理** 采用单因素方差分析，直线相关与回归分析，以及t检验。数据用$\bar{X}\pm SD$表示。

结 果

1. 四氧嘧啶（Alloxan）糖尿病大鼠外周血嗜中性粒细胞吞噬功能的改变（表Ⅰ）

注射Alloxan前大鼠嗜中性粒细胞吞噬率和吞噬指数分别为85.8±8.1%、134.9±25.5；注射Alloxan后第2天，吞噬率和吞噬指数均有下降，但无统计学显著性（$P>0.05$）；第4天吞噬率和吞噬指数明显下降，与注药前和第2天比较均有显著统计学意义（$P<0.01$）；注射Alloxan后第7天至42天，嗜中性粒细胞吞噬率和吞噬指数持续在低水平，虽略有波动，但与第4天比较，以及相互间比较均无统计学意义（$P>0.05$）。可见，注射Alloxan后第4天嗜中性粒细胞吞噬功能明显减弱，此后吞噬功能减弱持续存在，提示糖尿病状态下，嗜中性粒细胞吞噬功能受损。

表1 Alloxan糖尿病大鼠外周血嗜中性粒细胞吞噬功能的变化

	注药前	注药后（天）							
	(n=12)	2 (n=12)	4 (n=12)	7 (n=12)	14 (n=12)	21 (n=9)	28 (n=9)	35 (n=6)	42 (n=6)
吞噬率（%）	85.8 ±8.1	79.3* ±8.1	62.8** ±14.3	58.0△ ±14.0	56.8△ ±18.2	62.8△ ±12.3	59.2△ ±15.7	54.3△ ±10.6	58.7△ ±12.6
吞噬指数	134.9 ±25.5	121.9* ±26.4	71.3** ±19.4	68.1△ ±17.6	70.1△ ±22.7	83.0△ ±23.9	71.2△ ±24.1	70.5△ ±22.4	77.7△ ±20.7

* 与注药前比较$P>0.05$
** 与注药前比较$P<0.01$
△ 与第4天比较$P>0.05$

2. 高葡萄糖浓度对正常大鼠外周血嗜中性粒细胞吞噬功能的影响

采用体外高葡萄糖浓度（1约9个不同浓度），观察对同一正常大鼠嗜中性粒细胞吞噬功能的影响。重复试验10次，共获得87组数据（每组含血糖值及对应的吞噬率、吞噬指数）。将血糖浓度与吞噬率、吞噬指数，分别进行相关与回归统计学处理，结果如图1、图2所示。观察到葡萄糖浓度与吞噬率、吞噬指数均有直线负相关关系，经检验P值小于0.01，具有显著统计学意义。葡萄糖浓度越高，粒细胞吞噬率和吞噬指数下降越明显，提示高血糖可导致嗜中性粒细胞吞噬功能降低。但葡萄糖浓度与吞噬率、吞噬指数间相关系数分别为−0.4466、−0.3770，相关系数绝对值偏小，说明相关关系不甚密切。

讨 论

我们采用四氧嘧啶糖尿病大鼠外周全血进行试验，观察到糖尿病时嗜中性粒细胞吞噬功能减弱，结果与同类报道相类似。Drachman等建立四氧嘧啶糖尿病大鼠模型，用淀粉和麦蛋白混合液刺激获取腹腔渗出细胞（70%为粒细胞），体内试验发现渗出细胞对肺炎球菌吞噬作用减弱[6]。Kitahara等发现链脲霉素糖尿病小鼠外周血白细胞对绿脓杆菌的杀灭力明显低于正常[7]。在糖尿病病人中，亦发现控制不良的患者粒细胞吞噬和杀菌作用减弱[2-4][8]。

糖尿病状态下，粒细胞吞噬和杀菌功能受损，其原因尚未完全阐明。现有研究提示高血糖是一个重要因素。Drachman等观察

维普资讯 http://www.cqvip.com

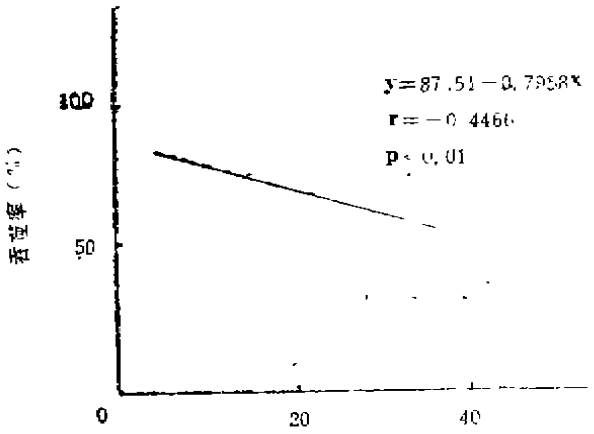


图1 葡萄糖浓度与嗜中性粒细胞吞噬率的关系

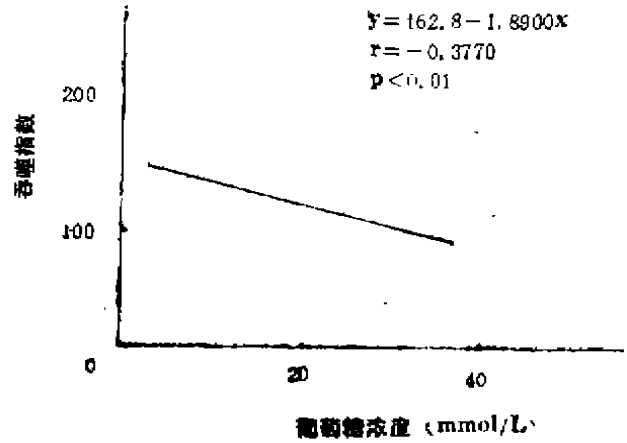


图2 葡萄糖浓度与嗜中性粒细胞吞噬指数的关系

到只有在高葡萄糖浓度状态下，渗出细胞吞噬作用才减弱，并认为是高血糖的高渗透压作用抑制了渗出细胞的吞噬功能[6]。给予控制不良的糖尿病患者注射胰岛素等治疗，使血糖下降，发现治疗后粒细胞吞噬和杀菌作用增强，并且观察到空腹血糖与粒细胞吞噬作用呈直线负相关关系[2-4]。

但是，高血糖可能并非糖尿病患者粒细胞吞噬和杀菌功能受损的唯一原因。Gin 和 Bagdade的研究表明，即使将糖尿病患者血糖控制在正常范围内，仍不能将患者粒细胞吞噬和杀菌功能完全恢复至正常水平[2,3]。Tan等将嗜中性粒细胞、血清、细菌混合液在葡萄糖浓度500mg%条件下孵育，发现嗜中性粒细胞吞噬和杀菌功能无明显减弱[8]。Miller等则报道糖尿病患者粒细胞对酵母菌吞噬功能正常，即使在高血糖状态下，吞噬作用无明显受损[9]。Bybee等认为发生酮症酸中毒时，粒细胞吞噬功能受损[10]。

我们的结果显示葡萄糖浓度与粒细胞吞噬率、吞噬指数有统计学相关关系，提示糖尿病状态下粒细胞吞噬功能受损与高血糖相关，血糖越高，吞噬功能受损越明显。但葡萄糖浓度与吞噬率、吞噬指数之间的相关系数绝对值偏小，提示相关关系不密切，这可能是由于高血糖并非粒细胞吞噬功能受损的唯一原因。

糖尿病患者感染易患性增高，其机制尚不清楚。粒细胞吞噬和杀菌功能的异常是一个重要的原因。本文结果表明糖尿病状态下，嗜中性粒细胞吞噬功能缺损，并与高血糖有关，强调临床上控制高血糖的重要性，并为进一步研究奠定基础。

（致谢：本文部分工作得到黄维、童善荣同志的支持，谨此致谢！）

参 考 文 献

[1] 高立民，等.中华内分泌代谢杂志 1988；4:178
[2] Bagdade JD,et al.Am J Med Sci 1972；263:451
[3] Nolan CM, et al.Diabetes 1978；27:889
[4] Gin H, et al.J Clin pathol 1984；37:1029
[5] 陈群芳，等.中华血液学杂志 1981；2:121
[6] Drachman RH, et al.J Exp Med 1966；124:227
[7] Kitahara Y, et al.Clin Exp Immunol 1981；43:590
[8] Tan JS, et al. J Lab Clin Med 1975；85:26
[9] Miller ME, et al.pediatr 1971；81:979
[10] Bybee JD,et al.J Lab Clin Med 1964；64:1