

白血病细胞相关抑制物对红细胞系造血影响的初步探讨

黄仁魏 梁锦华 李明权 廖适生

(附属第三医院血液病研究室)

提 要 本文以体外红系祖细胞培养方法,观察白血病细胞相关抑制物对正常红系祖细胞(CFU-E)的抑制作用。10/10例初发未治急性白血病病人的白血病细胞培养液对CFU-E的生长均有抑制,抑制率25.4~67.4%,平均抑制率为44.35%。结果提示,白血病细胞相关抑制物对正常红细胞系造血也有抑制作用。

关键词 红系祖细胞(CFU-E);白血病细胞条件培养液(LCCM);白血病细胞相关抑制物(LAI)

中图分类号 R733.7

白血病细胞相关抑制物(LAI)对正常粒-巨噬系祖细胞(CFU-GM)生长有抑制作用,国内外近年已有较多报道^[1~4]。在体外CFU-GM培养中加入白血病细胞条件培养液,正常CFU-GM的生长受明显抑制,而LAI对正常红系造血的影响,报道不多。我们以体外红系祖细胞(CFU-E)培养方法,研究LAI对正常红系造血的影响。

材 料 和 方 法

临床资料 初发未治急性白血病10例,男性6例,女性4例,年龄最大67岁,最小15岁。其中M₁4例, M₂3例, M₅3例。所有病人均经血液、骨髓及组织化学检查确诊。

白血病细胞条件培养液的制备 无菌取白血病病人骨髓或外周血2~3毫升,离心分离白血病细胞,制备白血病细胞悬液,按以前报道的方法培养白血病细胞,收集白血病细胞条件培养液(LCCM)^[2]。按同样方法取健康体检者外周血或骨髓检查正常者骨髓,分离白细胞,制备正常白细胞条件培养液(NLCM)。

正常CFU-E培养方法 髂后上棘穿刺取骨髓液2毫升,按前述方法制备单个核细胞悬液^[2]。以甲基纤维素半固体方法作CFU-E培养。培养体系每毫升含谷氨酰胺 2×10^{-3} mol/L, 2-巯基乙醇 10^{-5} mol/L, 马血清30%(V/V),

牛血清白蛋白1%, 红细胞生成素2U, 单个核细胞数 2×10^5 , 甲基纤维素最终浓度0.83%, IMDM培养液适量。每体系培养2皿, 每皿接种1毫升。37℃、5%CO₂、全湿度培养7天, 计数CFU-E集落数, 细胞群集 ≥ 8 个为一个集落单位。

实验分组 按以上CFU-E培养方法配制培养体系, 不加任何影响因素, 为空白对照组。LCCM实验组: 在空白对照组基础上加2%容积LCCM。NLLM对照组: 在空白对照组基础上加2%容积NLCM。

白血病细胞相关抑制物对CFU-E的抑制作用以抑制率表示:

$$\text{抑制率} = 1 - \frac{\text{实验组CFU-E产率}}{\text{空白组CFU-E产率}} \times 100\%$$

以t检验作统计学处理。

结 果

甲基纤维素半固体法CFU-E培养, 空白对照10例CFU-E的集落产率为 $84.9 \pm 43.7/2 \times 10^5$ 骨髓单个核细胞(MNC), 产率范围47~170/ 2×10^5 MNC, 正常白细胞培养液对照组10例CFU-E集落产率为 $92.5 \pm 41.4/2 \times 10^5$ MNC, 产率范围48~158/ 2×10^5 MNC, 两组比较差异无显著性($t = 1.928, P > 0.5$)。加2%容积的白血病细胞条件培养液的LCCM实验组

附表 各组 CFU-E 集落产率

组别	例数	CFU-E产率/ 2×10^5 MNC $\bar{x} \pm s$	产率范围/ 2×10^5 MNC
空白对照组	10	84.9 ± 43.7	47~170
NLCM对照组	10	92.5 ± 41.1	48~159
LCCM实验组	10	47.5 ± 31.0	22~104

10例, CFU-E 产率为 $47.5 \pm 31.0/2 \times 10^5$ MNC, 产率范围 $22 \sim 104/2 \times 10^5$ MNC, CFU-E产率明显低于空白对照组及正常白细胞培养液对照组, 差异有显著性(t 分别为6.23及8.254 $P < 0.01$)。

正常白细胞条件培养液对 CFU-E 的生长无抑制作用, 加 2% 容积的白血病细胞条件培养液的 LCCM 实验组 10 例, CFU-E 产率均减少, CFU-E 的生长受抑制, 最高抑制率为 67.4%, 最低抑制率为 25.4%, 平均抑制率为 44.35%。结果与白血病细胞条件培养液对正常 CFU-GM 的抑制作用相似^[2]。

讨 论

Broxmeyer 以白血病细胞抽提物加于体外 CFU-GM 培养中, 发现白血病细胞代谢物对 CFU-GM 的生长有抑制作用^[1]。此后, 人们对 LAI 在白血病时对正常骨髓造血受抑制中的作用, 不断地进行了研究探讨。白血病细胞代谢物对正常 CFU-GM 的抑制作用, 已得到不少实验的证实。作者曾以白血病细胞条件培养液 (LCCM) 2% 容积加于体外 CFU-GM 培养中, 发现 CFU-GM 的生长受到明显抑制, 对 CFU-GM 的抑制率是 40.93%, 而且这种抑制作用随着病情的缓解、抑制活性逐渐减弱^[2]。Kuniaki、曾氏及敖氏等亦有相同报道^[3-5]。为探讨 LAI 对骨髓其它造血细胞的影响, 作者把 LCCM 加于 CFU-E 培养中, 观察 LAI 对正常红系造血的影响。在 LCCM 中加入 CFU-E 培养的 10 例中, CFU-E 产率明显低于空白对照组及正常白细胞培养液对照组, CFU-E 的生长受到抑制, 平均抑制率为 44.35%, 最高抑制率为 67.4%。结果提示 LAI 对正常 CFU-E 的生长

也有抑制作用。与 Steinberg 报道的相符, Steinberg 以人白血病细胞株 K₅₆₂、HL₆₀ 细胞与正常骨髓细胞混合培养, 见到 CFU-E、BFU-E 的生长受到抑制, 同时以上述细胞株细胞培养液加于 CFU-E、BFU-E 培养体系中, CFU-E、BFU-E 的生长同样受到抑制^[6]。作者曾在巨核系祖细胞 (CFU-MK) 培养中加入 LCCM, 发现 LAI 对 CFU-MK 的生长也有抑制作用 (结果未报告)。以上提示, LAI 不仅对正常粒系造血有抑制作用, 对其它细胞系列的正常造血也有抑制作用。

作者认为, 白血病细胞产生的抑制物质、是白血病时引起骨髓抑制, 导致外周血粒细胞减少、贫血以及血小板减少的重要原因。临床上寻找这种抑制物的拮抗剂, 在白血病治疗时减轻病人的骨髓抑制, 提高周围血细胞可能会有很大帮助作用。

参 考 文 献

1. Broxmeyer HE, et al. In vitro Suppression of Normal Granulocytic Stem Cells by Inhibitory Activity Derived from Human Leukemia Cells. J Natl Cancer Inst. 1978; 60(3):497
2. 黄仁魏, 等. 白血病细胞相关抑制物对正常 CFU-GM 影响的研究. 广东医学 1988; 9(5):34
3. Kuniaki ITOH, et al, Leukemic Cell-associated Inhibitory Activity against CFU-C of Normal Bone Marrow. Acta Haematologica Japonica 1985; 48(1):47
4. 曾波航, 等. 白血病相关抑制活性对正常骨髓 CFU-GM 的作用. 中华血液学杂志 1990; 10(1):24
5. 敖忠芳, 等. 白血病患者骨髓细胞冻融物对

正常 CFU-GM 抑制作用的初步观察. 中华血液学杂志 1990; 10(2):77

6. Steinberg HN, et al. Loss Suppression of Normal Bone Marrow Colony Formation

by Leukemic Cell Lines After Differentiation is Induced by Chemical Agents. Blood. 1985; 65(1):100

(1991-10-03收稿 1992-06-19修回)

THE STUDY OF THE INFLUENCE OF LEUKEMIC-CELL ASSOCIATED INHIBITOR ON NORMAL CFU-E

Huang Renwei Liang Jinhua Li Mingquan Liao Shisheng

(The Department of Hematology, The 3th Affiliated Hospital)

The in vitro CFU-E culture was used to research the suppression of leukemic-cell associated inhibitor on CFU-E. The influence of Leukemic Cell Conditioned Media(LCCM) from 10 cases of untreated acute leukemia patients was reported. 10/10 LCCM specimen showed inhibition on normal CFU-E growth in vitro. The inhibition rate ranged from 25.4% to 67.% with the mean of 44.35%. The result indicates that leukemic cell-associated inhibitor also has inhibitory activity on normal erythropoiesis.

Key words colong forminy unit-erythrocyte(CFU-E); leukmic cell conditioned media (LCCM); leukemic-cell associated inhibitor(LAI)

Tamm-Horsfall 蛋白在肾脏疾病中作用的临床与实验研究

课题负责 尹培达(附属第一医院内科)

作者通过自行提取尿 THP, 制备抗 THP 抗体, 在此基础上建立电疫扩散技术定量测定尿 THP 含量方法及采用自制的荧光标记的抗人 THP 抗体检测尿 THP 包裹游离细胞, 以研究对肾脏疾病及尿路疾病诊断与鉴别诊断有重要临床价值。方法实用、经济、简便、可靠, 容易推广基层医疗单位应用。此外, 对 THP 诱导小管-间质性肾炎的致病作用进行了动物模型制作成功, 并初步作了免疫发病机理及防治等一系列研究, 进一步证实 THP 肾损害作用。经鉴定认为该研究为该病的发病机理和防治提供了理论依据, 为今后开展该病研究打下了良好的基础, 并在实践中得到了公认。

(科 学)