

II型登革病毒对骨髓红系造血细胞的影响

刘元生 梁锦华 廖适生

(附属第三医院血液病研究室)

提 要 用体外造血祖细胞培养技术证明Ⅱ型登革病毒对红系造血祖细胞(CFU-E)也有生长抑制作用,CFU-E的抑制效应与病毒的浓度呈正相关。说明登革热病人虽然无贫血表现,但骨髓红系造血已受到病毒的影响。

关键词 登革热 Ⅱ型登革病毒 红系造血祖细胞

登革热是登革病毒引起的急性传染病,病毒分4个血清型(I-Ⅳ型);出血,血小板及白细胞减少是该病的常见症状。已有报道,在发病初期有不少患者的骨髓表现增生减低^[1]。实验研究证明Ⅱ型登革病毒对粒-巨噬造血祖细胞(CFU-GM)集落的生长有显著抑制作用^[2]。本文作者在此基础上进一步探索Ⅱ型登革病毒对红系造血祖细胞(CFU-E)的生长是否也有影响。

材 料 与 方 法

标本来源 12例CFU-E培养用的骨髓取自非血液病患者髂后上棘或手术切除的肋骨,年龄21~68岁,男性7例,女性5例。

病毒 Ⅱ型登革病毒(D₂V)为新几内亚株,感染滴度 $10^{-6.6}$ TCID₅₀, -70℃保存。

操作方法 骨髓液用淋巴细胞分离液分离,吸出界面层细胞制成单个核细胞悬液。

CFU-E 培养采用甲基纤维素半固体单层培养法^[3],依次加入二巯基乙醇(10^{-5} m),谷氨酰胺(2×10^{-3} m),马血清(30%),牛血清白蛋白(1%),红细胞生成素(2u/ml),细胞悬液(2×10^5 ml)、甲基纤维素(0.83%),Iscove's培养液适量。每个体系分别接种在两个35mm直径的玻璃平皿中,每平皿接种1ml,在5%CO₂,饱和湿度,37℃条件下,在CO₂培养箱培养7天。

病毒感染 采用持续感染方法,将D₂V原液以 10^{-2} , 10^{-3} ……至 10^{-7} 不同稀释度加入

CFU-E体系中共同培养,同时设立不加病毒的对照组作实验对照。

细胞群集 ≥ 8 个为一个集落,计数两个平皿的集落数取其均值。

结 果

12例不加病毒对照组的CFU-E集落产率均值为 $96.68 \pm 33.67 / 2 \times 10^5$ 单个核细胞(MNC),范围为 $37 \sim 159 / 2 \times 10^5$ MNC。实验组D₂V在 10^{-2} 至 10^{-6} 浓度范围内加入于CFU-E培养体系中,能明显抑制CFU-E集落的产率,各例与不加病毒对照组相比较,两者集落产率有明显差异(表1)。

表1 D₂V浓度与CFU-E集落产率的关系(集落/ 2×10^5 MNC)

编号	无病毒 对照组	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
1	133	0	0	7	11	49	97
2	159	3	17	31	33	47	118
3	94	3	11	21	31	61	94
4	84.5	0	4	8	18	43	86
5	104	7	15	15	23	64	91
6	37	0	10	13	21	28	41
7	88	8	17	23	41	78	83
8	84	0	7	11	29	51.5	73
9	63	4	23	26	60	64	78
10	114	9	13	43	71	81	95
11	92	0	9	17	30	57	80
12	71	0	0	11	18	48	88

D_2V 在 10^{-2} 至 10^{-5} 浓度范围 CFU-E 集落产率与对照组比较, 差异极显著($P < 0.01$)。 D_2V 在 10^{-6} 浓度时集落产率与对照组比较仍有显著差异($P < 0.05$)。当稀释至 10^{-7} 浓

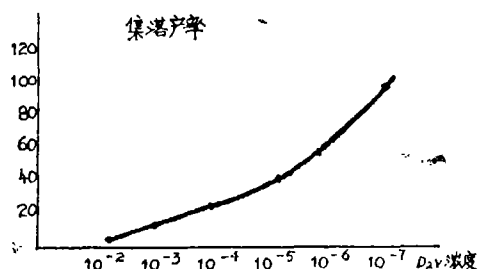
度, CFU-E 集落产率与对照组比较, 差异已无显著意义($P > 0.05$) (表 2)。说明 D_2V 在 10^{-7} 浓度以后对 CFU-E 集落生长的抑制作用已基本消失。

表2 12例不同浓度 D_2V 与 CFU-E 集落数关系

无病毒对照组	例数	范围	$\bar{x} \pm s$	P值
	12	37~159	92.68 ± 33.67	
D_2V 感染组 (浓度)				
10^{-2}	12	0~9	2.83 ± 3.46	<0.001
10^{-3}	12	0~23	10.50 ± 7.04	<0.001
10^{-4}	12	7~43	18.83 ± 10.6	<0.001
10^{-5}	12	11~71	32.17 ± 17.67	<0.001
10^{-6}	12	28~81	56.12 ± 14.94	<0.05
10^{-7}	12	41~118	82.73 ± 19.93	>0.05

注: 集落/12 × 10⁶MNC

D_2V 对 CFU-E 生长的抑制效应与病毒的浓度相关, 且呈线性正相关关系 (附图), 说明这种抑制作用与病毒的作用有关。



附图 不同浓度 D_2V 对 CFU-E 生长的影响

讨 论

病毒引起骨髓造血衰竭, 近年已得到临床和实验研究的支持^[1,2,4]。作用机理在不同的病毒不尽相同, 如微小病毒 B_{19} 只抑制红系造血细胞^[4], EB 病毒及肝炎病毒对粒、红、巨核三系造血细胞均有抑制^[6]。我室叶子青等已经证明 D_2V 加入 CFU-GM 中作体外细胞培养, 能明显抑制 CFU-GM 集落的生长^[2]。 D_2V 对 CFU-E 集落的生长是否也有影响, 还未见报道。

本文研究显示在体外 D_2V 同样能抑制

CFU-E 集落的生长, 但 CFU-E 抗 D_2V 的能力似乎比 CFU-GM 强, 前者 D_2V 浓度在 10^{-8} 以上对集落生长起抑制, 而 D_2V 在 10^{-7} 浓度时对 CFU-GM 集落仍具抑制作用^[2]。据报道^[1], 登革热病人在病程 1~5 天有 88% 骨髓表现增生度减低, 在此同时, 骨髓红系各阶段细胞的百分比也均低于正常对照组, 差异有高度显著性。在病程第 6 天以后, 随着骨髓增生度的恢复、红系各阶段细胞的百分比也逐步回复正常, 认为登革热病毒在体内可抑制红系细胞的生长与发育。本文的研究结果与临床的观察相一致, 并进一步从体外实验上支持 D_2V 有抑制红系细胞生长作用。

临床业已证明, 登革热骨髓受抑制的特征是短暂一过性的, 而成熟红细胞的平均寿命为 120 天, 短暂红细胞生长受抑制, 不致产生红细胞明显下降或贫血。文献也有报道^[4,6], 微小病毒 B_{19} 已证实对红细胞造血有一过性抑制作用。正常人感染微小病毒 B_{19} 不会发生贫血, 只有在患先天性慢性溶血性贫血, 病人红细胞寿命已明显缩短, 当感染该病毒时才发生贫血。因此登革热病人临床虽然一般无贫血表现, 不能因此认为红系造血未受到疾病的影响。

参 考 文 献

1. 叶子青, 等. I型登革病毒对骨髓造血功能影响的形态学研究. 中华血液学杂志 1990; 11(2):93
2. 叶子青, 等. I型登革病毒对 CFU-GM及 CFU-L 作用的研究. 中华血液学杂志 1990; 11(3):152
3. 张 辉, 等. 急性非淋巴细胞性白血病过程细胞克隆的变化. 中山医科大学学报 1990; 10(4):56
4. Young N, et al. Virus and bone marrow failure. Blood 1984;65(4):729
5. Baranski B, et al. Epstein-Barr virus in the bone marrow of patients with aplastic anemia. Ann Intern Med 1988;109(1):695
6. Black LH, et al. Crisis and other effects of the human parvovirus infection. Clin Hematol 1984;13(3):679

THE EFFECT OF DENGUE-2 VIRUS ON MARROW CFU-E COLONY GROWTH

Liu Yuansheng Liang Jinhua Liao Shisheng

(Hematological Research Unit, Third Affiliated Hospital)

Dengue-2 virus (D₂V) can inhibit CFU-E colony growth by in vitro hematopoietic progenitor cell culture technique, CFU-E colony growth inhibition was in linear relationship with the concentration of the virus. This suggested that D₂V can effect bone marrow erythroid hematopoiesis although Dengue fever is usually not accompanied with anemia.

Key words Dengue fever Dengue-2 virus CFU-E