

# 早产儿贫血时外周血红系祖细胞 及其对红细胞生成素的反应<sup>①</sup>

李文益<sup>②</sup> 黄绍良<sup>1</sup> 庄思齐<sup>2</sup> 侯玲玉<sup>1</sup> 郑念时<sup>1</sup>

(1 中山医科大学孙逸仙纪念医院小儿科 2 附属第一医院小儿科;广州 510120)

**提 要** 本文对 15 例早产儿(9 例贫血和 6 例无贫血)的外周血进行体外红系祖细胞培养,同时以足月产儿的脐带血和健康成人外周血为对照。结果显示各组爆式红系集落形成单位(BFU-E)数随重组人红细胞生成素(rHuEPO)浓度升高而递增,早产儿贫血组 BFU-E 数显著高于早产儿无贫血组( $P < 0.05$ )和健康成人组( $P < 0.01$ )。提示早产儿贫血时其骨髓对贫血的刺激反应良好,其循环池有较丰富的红系祖细胞并对 rHuEPO 反应良好。说明红细胞生成素不足是早产儿贫血的原因之一,采用 rHuEPO 防治早产儿贫血是合理的。

**主题词** 婴儿,早产;贫血;红细胞生成;红系祖细胞

**中图分类号** R722.6

有关早产儿贫血的病因,目前尚未完全清楚。自从 Brown 等证明早产儿贫血时血清红细胞生成素(EPO)浓度低下<sup>[1]</sup>以后,EPO 不足与早产儿贫血之间的本质关系以及能否采用重组人红细胞生成素(rHuEPO)来防治早产儿贫血,是近年研究的热点。本文采用甲基纤维素为支持物的体外红系祖细胞培养方法,通过观察早产儿外周血中红系祖细胞数及其对 rHuEPO 的反应,以探索 EPO 不足在早产儿贫血的发病中的作用及 rHuEPO 防治早产儿贫血的可行性。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

1.1.1 病例选择 所有入选的早产儿均符合以下条件:①妊娠龄 $< 35$ 周;②临床情况稳定,无严重感染;③呼吸稳定不需人工辅助呼吸,需吸氧者吸入氧浓度 $< 25\%$ ;④无先天性心脏病或其它严重畸形;⑤每周抽血量不超过 $7.5\text{ml/kg}$ ;⑥未接受输血或实验前 2 周无输血史。

1.1.2 病例来源及分组 15 例早产儿全部来自作者所在两间医院 1994 年 1~11 月间住院病例,其临床情况总结于表 1。为探索早产儿造血系统对血红蛋白下降的刺激的反应,将他们分成 2 组:生理性贫血

组(简称贫血组,例 1~9),无贫血组(例 10~15)。两组间妊娠龄和出生体重无显著差异( $P > 0.05$ )。同时以足月产儿的脐带血 6 份和健康成人外周血 6 份作为对照组。

表 1 15 例早产儿临床和血液学资料

序号	性别	孕龄 (周)	出生体重 (克)	年龄 (日)	Hb (g/l)	网织红细胞 ( $= 100\%$ )
1	男	31	1 150	37	101	0.005
2	女	32	1 500	49	110	0.005
3	男	32	1 600	35	110	0.01
4	男	31	1 400	36	108	0.022
5	男	34	2 080	21	98	0.008
6	男	34	2 060	21	101	0.011
7	女	31	1 300	70	88	0.01
8	女	31	1 100	70	84	0.015
9	男	34	1 930	24	107	0.02
10	女	34	2 300	16	140	0.01
11	男	33	1 900	28	141	0.03
12	女	34	2 300	15	155	0.01
13	男	32	1 800	17	158	0.02
14	男	32	1 900	17	182	0.03
15	女	32	1 500	18	195	0.005

### 1.2 实验方法

1.2.1 标本采集 实验采用肝素抗凝外周静脉血

① 中山医科大学基金资助课题;

② 第一作者,1946 年 3 月出生,男,副教授

2.0~2.5ml。对贫血需输血者在输血前抽血,并注意在输血时补充抽血量;不需输血者在其它实验时顺便取血,保证抽血量每周不超过7.5ml/kg。

1.2.2 单个核细胞悬液制备 按本室方法<sup>[2]</sup>。

1.2.3 培养体系和方法 采用体外甲基纤维素法,2ml 体系中含:30%胎牛血清(Sigma 产品),10g/L 牛血清白蛋白(Sigma 产品),10% PHA-LCM(中国军事科学院基础医学研究所产品), $10^{-5}$ mol/L 2-巯基乙醇,0.45g/L L-谷氨酰胺,9.9g/L 甲基纤维素(Sigma 产品),rHuEPO(AMGen Co 产品)浓度分别为1000U/L、100U/L、20U/L和0U/L 4组,细胞终浓度为 $2 \times 10^8$ /L,1MDM 培养液适量。经充分混匀后加入直径33mm 塑料培养皿中,每皿1ml,然后置于37℃、50mmol/L(5%)CO<sub>2</sub>、饱和湿度的二氧化碳孵育箱中培养,14d 后观察结果,≥50个细胞的集落为爆式红系集落形成单位(BFU-E),计数后用联苯胺染色以证实是否BFU-E 集落。

### 1.3 统计学处理

结果均数间差异行 *t* 测验。

## 2 结果

在 rHuEPO 存在的条件下,各组 BFU-E 生长良好,并经联苯胺染色证实为红细胞系的集落。各组 BFU-E 集落数列于表 2,其中脐带血组 BFU-E 集落数与我们以前观察的结果<sup>[2]</sup>一致。

从表 2 可见,各组 BFU-E 集落数都随着 rHuEPO 的浓度升高而递增,各组内不同浓度之间 BFU-E 集落数都有非常显著的差异( $P < 0.01$ )。经统计学分析,当 rHuEPO 浓度在 20U/L 以上时,早产儿贫血组的 BFU-E 集落数在各种浓度组都非常显著高于健康成人组( $P < 0.01$ ),显著高于早产儿无贫血组( $P < 0.05$ )。

表 2 不同 r-HuEPO 浓度时各组 BFU-E 集落数  
( $\bar{x} \pm s/2 \times 10^5$  PBMNC)

rHuEPO (U/L)	健康成人外 周血(n=6)	脐带血 (n=6)	早产儿贫血 (n=9)	早产儿无贫血 (n=6)
0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
20	4.33±1.08	15.92±3.71	16.67±5.37	10.08±3.61
100	14.17±4.22	71.08±16.95	53.05±17.20	30.58±4.67
1000	26.67±7.34	120.08±29.17	90.39±25.27	57.25±3.21

## 3 讨论

关于早产儿贫血的原因,至今尚未完全清楚,普遍认为,红细胞数量不足是根本的原因<sup>[3]</sup>。是什么原因造成红细胞数量不足呢?目前尚未明了。经过多年的研究,排除了铁、维生素 B<sub>12</sub> 和叶酸等造血物质缺乏因素;维生素 E 缺乏的作用尚有不同的研究结果<sup>[3]</sup>。关于早产儿贫血是否由于其骨髓对贫血刺激反应的功能下降所致,曾有较大争议<sup>[4]</sup>。本组结果显示早产儿贫血组的 BFU-E 集落数显著高于早产儿无贫血组( $P < 0.05$ ),提示早产儿接受贫血的刺激后,其循环池红系祖细胞增加,由此说明早产儿骨髓对贫血刺激的反应是正常的。但本组例数不多,有待进一步研究。

Brown 等已证明,与同等程度的成人相比,早产儿贫血时 EPO 的浓度明显低下<sup>[1]</sup>。由此提出一个重要的问题:是否 EPO 不足是早产儿贫血的原发原因呢?本文研究结果显示早产儿贫血组 BFU-E 集落数非常显著高于健康成人组( $P < 0.01$ )、显著高于早产儿无贫血组( $P < 0.05$ ),而且早产儿贫血组与其它 3 组一样,BFU-E 集落数随着 rHuEPO 浓度增加而递增,说明早产儿贫血期其循环池存在较丰富的红系祖细胞并且对 EPO 的刺激的反应是正常的。此结果与 Shannan 等研究结果<sup>[5]</sup>基本一致。由此提示 EPO 不足是早产儿贫血的重要原因之一。

关于早产儿贫血的防治,目前尚无理想的方法。虽然输血是最直接治疗方法,但是很难掌握输血来预防早产儿贫血的指征,而且输血的潜在危害性日益受到重视。因此,能否采用 rHuEPO 来防治早产儿贫血颇受关注。本研究 and Shannan 等人的结果都证明早产儿贫血时循环池红系祖细胞对 rHuEPO 反应良好,Rhondeau 等还证明了早产儿贫血时骨髓晚红系祖细胞对 EPO 的反应良好<sup>[6]</sup>。这些结果都为采用 rHuEPO 治疗早产儿贫血提供理论依据。本文资料还显示早产儿出现贫血之前其循环池红系祖细胞对 rHuEPO 反应正常,为采用 rHuEPO 来预防早产儿贫血的发生提供依据。

(孙逸仙纪念医院产房协助采集脐带血、卫防科协助采集健康成人外周血,特此致谢)

## 参 考 文 献

1 Brown MS, Phibbs RH, Garcia JF, et al. Post-

- natal Changes in erythropoietin levels in untransfused premature infants. J Pediatr, 1983, 103 : 612
- 2 黄绍良,李文益,侯玲玉,等. 人胎盘血粒单系和红系祖细胞体外培养观察. 中国实用儿科杂志, 1994,9(4) : 225
  - 3 Oski FA, Naiman JL, Hematologic Problems in the Newborn. 3ed. Philadelphia: Sawnders, 1982,75
  - 4 李齐岳. 未成熟儿贫血. 见:秦振庭主编. 小儿血液学. 第2版,上海:上海科学技术出版社, 1982,549
  - 5 Shannon KM, Naylor GS, Torkildson JG, et al. Circulating erythroid progenitors in the anemia of prematurity. N Engl J Med, 1987, 317(12) : 728
  - 6 Rhondeau SM, Christensen RD, Ross MP, et al. Responsiveness to recombinant human erythropoietin of marrow erythroid progenitors from infants with the anemia of prematurity. J Pediatr, 1988, 112(6) : 935

(1995-04-13 收稿 1995-07-20 修回)

### THE ERYTHROID PROGENITOR CELLS OF PERIPHERAL BLOOD AND THEIR RESPONSIVENESS TO ERYTHROPOIETIN IN THE ANEMIA OF PREMATURE INFANTS

Li Wenyi Huang Shaoliang Zhuang Siqi Huo Lingyu Zheng Nianshi

(Department of Pediatrics of Memorial Hospital and First Teaching Hospital,  
Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510120)

In this paper, 15 premature infants, 9 with anemia and 6 with no anemia, were studied by using the culture of erythroid progenitors in vitro, compared with the blood from 6 healthy adults and the umbilical cord blood from 6 term infants. The results showed that the number of BFU-E was clockwise increasing with the increment of concentration of recombinant human erythropoietin (rHuEPO), the number of BFU-E in prematurity with anemia group was significantly more than that in prematurity with no anemia group ( $P < 0.05$ ) and that in healthy adults group ( $P < 0.01$ ). These results suggested that the responsiveness of bone marrow of prematurity to the stimulation of anemia is normal, the circulating erythroid progenitors are present during the anemia of prematurity, and that the intrinsic responsiveness of circulating erythroid progenitor to erythropoietin is normal. It was implicated that inadequate erythropoietin level is one of the causes of the anemia of prematurity, and suggested that rHuEPO might provide a preventive and therapeutic effect for the premature infants with risk of severe anemia.

**Subject headings** infant, premature; anemia; erythropoiesis; erythroid progenitor cells