

人尿集落刺激因子对受照小鼠的保护作用

张军宁 汪涛 许昌韶 王洪云

(苏州医学院放射医学系, 苏州 215006)

摘要 观察了自制人尿集落刺激因子(CSF)对受照小鼠存活情况、外周血白细胞总数和脾结节数(CFU-S)的影响。结果表明: 1. 无论单次 ^{60}Co γ 射线 6 Gy 照射, 还是 3 Gy 分次照射, 累加剂量为 9 Gy, CSF 大剂量组存活率、存活时间较对照组明显提高($p < 0.01$)。2. CSF 能减轻外周血白细胞的降低, 促进白细胞的恢复。3. 单次腹腔注射 CSF 的供体小鼠的骨髓输注到受照小鼠后, 其脾结节数较对照组明显提高($p < 0.01$), 以粒细胞集落为主。提示: 本 CSF 制剂具有一定的辐射保护作用。

关键词 集落刺激因子, 脾结节, 造血功能。

Pluznik 等^[1]于 60 年代首先发现集落刺激因子。该因子的最初研究是与其促进血细胞生成有关。80 年代中期开始对它临床试验, 用于预防和治疗肿瘤化疗后所引起的白细胞减少及其伴发感染、促进骨髓移植后白细胞的恢复和增加肿瘤化疗剂量^[2]。而在放射病和放射治疗中的应用报道不多^[3~5]。本文报告了自制人尿 CSF 对受照小鼠的保护作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物及照射条件

选用雄性昆明小鼠, 体重 18~20 g, 经 FYC-50 H 型 ^{60}Co 治疗机 γ 射线全身照射, 剂量率 66 cGy/min, 钴源离受照小鼠垂直距离 70 cm。将小鼠随机分组, 室温下分别以 6 Gy 单次、或 3 Gy 分次量于第 1、第 4 和第 7 d 照射, 累加剂量 9 Gy。

1.2 治疗条件

单次照射小鼠随机分成大小剂量 CSF 组和对照组; 分次照射小鼠则分成大剂量 CSF 组和对照组。人尿 CSF 由本组制备^[6], 主要成分为 GM-CSF, 其比活性为 $10^6\text{IU}/\text{mg}$ 。大、小剂量治疗组照射后当天即给药, 此后隔日分别连续腹腔注射 58 μg 和 29 μg CSF; 对照组在相应的时间内注射 0.2 ml 灭菌生理盐水。疗程为 2~10 次。

1.3 观察指标

1.3.1 白细胞总数 照射前、照射后 1、3、5、10、15、20、25、30 d 各随机取 5 只小鼠, 尾静脉采血, 进行白细胞计数。

1.3.2 照射后小鼠存活率 观察受照小鼠 30 d 的存活情况, 并分别统计存活率、存活时间及保护指数。保护指数 = 给药组动物平均寿命/对照组动物平均寿命; 保护指数大于 1.2 为有效。

1.4 CFU-S 的测定

(1) 实验组的供体小鼠均先单次腹腔注射 0.2 ml 人尿 CSF; 对照组的供体小鼠仅先予以相

江苏省科委资助课题

收稿日期: 1994-11-21, 修改稿 1995-01-15

应体积的生理盐水。

(2) 3 d后取3~4只供体小鼠的6~8根股骨,用RPMI-1640培养液冲出全部骨髓,用带4°针头注射器推吸20次,制成单细胞(BMC)悬液,计数 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 备回输用。

(3) 受照小鼠按Till及Muculloch法^[7], γ 射线照射8 Gy后2~3 h,由静脉输入上述单细胞悬液 10^6 BMC,8 d后杀鼠取脾,Bouin's液固定24 h,用放大镜计数脾脏表面的脾结节数。

(4) 脾脏固定、包埋、超薄切片、HE染色,对CFU-S进行分类。

2 结 果

2.1 CSF对单次受照小鼠存活情况的影响

观察了一次全身均匀性6 Gy γ 射线照射后30 d的存活情况。结果发现,对照组存活率为2/25,存活时间为 14.76 ± 6.58 d;小剂量CSF组存活率为2/25,存活时间为 16.72 ± 5.94 d,保护指数1.13,与对照组比较差别不显著;大剂量组存活率为9/25,存活时间 21.36 ± 7.12 d,保护指数1.45。大剂量CSF组存活率、存活时间较对照组显著提高($p < 0.01$)(见图1)。

2.2 CSF对单次受照小鼠白细胞总数的影响

外周血白细胞总数于照射后第1 d明显下降,3 d时降到最低值,10 d后逐渐回升。给予CSF组的动物外周血白细胞总数与对照组相比下降较少,第5~10 d明显回升,第30 d时,两组白细胞总数,都恢复到照前水平(见图2)。

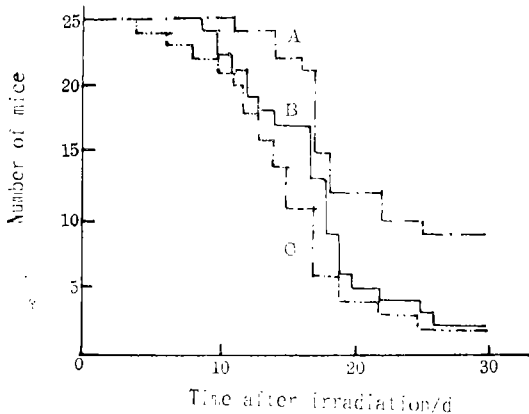


Fig 1. Survival of mice 6 Gy irradiated treated with and without CSF (A) high-dose CSF group, (B) low-dose CSF group, (C) control group

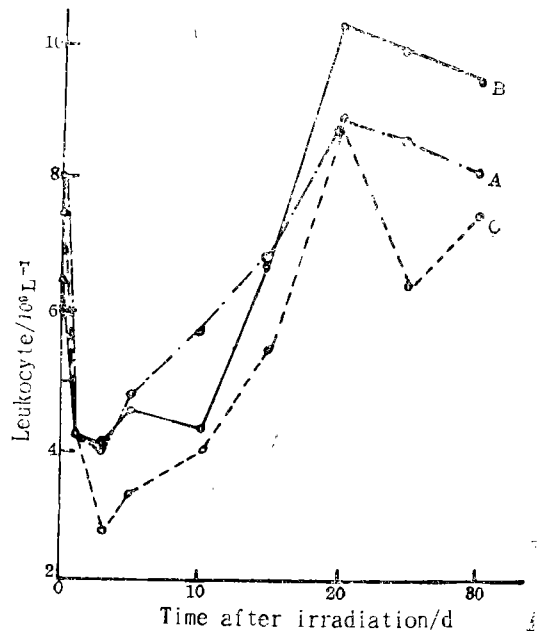


Fig 2. White blood cells counts in mice 6 Gy irradiated treated with and without CSF (A) high-dose CSF group, (B) low-dose CSF group, (C) control group

2.3 CSF对分次照射小鼠存活情况的影响

小鼠经3 Gy分次照射3次后,对照组30 d的存活率为4/13,存活时间 20.9 ± 7.17 d;而CSF组的存活率为10/13,存活时间 27.54 ± 5.11 d,保护指数为1.32。CSF组的存活率、存活时间均显著高于对照组($p < 0.01$)(见图3)。

2.4 CSF对分次照射小鼠白细胞总数的影响

外周血白细胞总数于首次照射后第1天已有下降,第二次照射后,即第5d降至最低值,此后一直维持在较低水平,直至第15d后开始恢复;CSF组亦有类似规律性改变,照后第1d开始下降,第二次照射后出现一过性增高,第三次照射后,即第10d降到最低值。但下降较对照组少,处于较高水平。也自第15d后开始恢复(图4)。

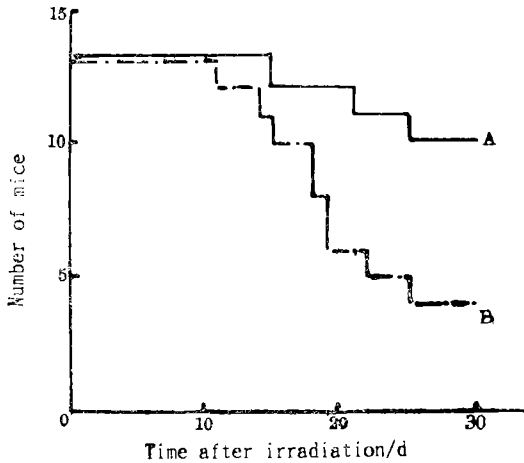


Fig 3. Survival of mice 3 Gy irradiated three times in 7 days treated with and without CSF (A) high-dose CSF group (B) control group

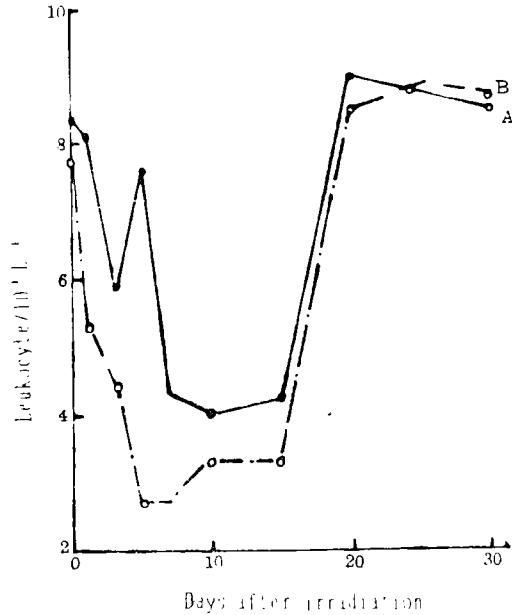


Fig 4. White blood cells counts in mice 3 Gy irradiated three times in 7 days, treated with and without CSF (A) high-dose CSF group, (B) control group

2.5 CSF处理对CFU-S产率及分类的影响

一般认为CFU-S计数是评价辐射保护作用的可靠指标之一^[10]。本实验观察到,单次腹腔注射CSF的供体小鼠的骨髓细胞,输注到受照小鼠后第8d杀鼠取脾,其CFU-S数(23.8 ± 4.82)较对照组(9.4 ± 4.39)明显增高($P < 0.01$);脾脏经固定、包埋、切片、HE染色后,镜检发现:对照组红系集落占56.6%,粒系集落占27.6%,混合集落(红系+粒系)占15.8%;CSF组红系集落占50.6%,粒系集落占42.9%,混合集落(红系+粒系)占6.5%,较对照组粒细胞集落提高显著。

3 讨 论

电离辐射可造成骨髓造血功能抑制,引起外周血白细胞减少。在肿瘤放疗中白细胞减少直接影响肿瘤的继续治疗和疗效。因此,如何保护骨髓和防止白细胞降低是提高对放射病及放疗效果的重要因素。

本实验发现,单次受照小鼠外周血白细胞的变化规律与文献^[8]的结果一致;分次照射外周血白细胞的变化规律是:首次照射后第1d已有下降,第二次照射后降至最低值,此后一直维持在较低水平,第15天后才恢复;无论单次受照,还是分次照射动物,使用CSF后均能减轻白细胞的降低,促进白细胞的恢复,提高受照小鼠的存活率、延长存活时间,其保护指数大于1.2。

表明自制人尿 CSF 具有保护受照骨髓、升高外周血白细胞及提高受照动物存活率的作用。这与他使用重组 GM-CSF 和 G-CSF 对动物亚致死剂量和致死剂量照射有预防和治疗作用的研究结论一致^[6]。巴西 Goniania ¹³⁷Cs 辐射事故引起的放射损伤患者,使用重组人 GM-CSF 治疗,中性粒细胞都获得回升,8 例患者中 4 例治愈^[3]。但 SWOG 组的资料却显示: GM-CSF 在与化疗和放疗配伍治疗小细胞肺癌中,中性粒细胞下降率虽减低,而血小板下降率明显增加,认为 GM-CSF 用于化放疗可能有害^[9]。而本实验证明了人尿 CSF 能促进受照小鼠造血功能恢复。其机理可能是: 1. CSF 通过保护祖细胞和终末细胞,从而减轻初期的白细胞下降; 2. 促进造血干细胞增殖、分化,从而使白细胞数量恢复; 3. 造血功能的迅速恢复、粒细胞吞噬功能的增强,从而提高受照动物的存活。此外,本文认为,CSF 虽能使 G₀ 期骨髓细胞进入增殖周期,可能对射线更敏感易损伤,但放疗范围多是局部照射,本试验结果似提示 CSF 的辐射保护作用可能大于其辐射增敏作用。

参 考 文 献

- 1 Pluznik D V, Sachs L. J. Cell Physiol., 1965, 66: 319
- 2 Ardizzoni A, Sertoli M R, Corcione A. Eur. J. Cancer, 1990, 26: 937
- 3 Butturini A, Cale R P, Lopes D M, et al. Lancet, 1988, 2: 471
- 4 Socinskima, Cannistra S A, Eliasa, et al. Lancet, 1988, 1: 1194
- 5 Grant S, Pettit G R, Mccrady C. Exp. Hematal., 1992, 20: 34
- 6 王洪云, 汪涛, 杨宏德等. 苏州医学院学报, 1994, 14(3): 249
- 7 Till J E, McCulloch E A. Radiat. Res., 1961, 14: 213
- 8 汪涛, 曹霞, 王洪云等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1994, 12(1): 52
- 9 陈冬福, 殷蔚伯译. GM-CSF 在肺癌治疗中的作用. 国外医学临床放射学分册, 1994, 17(4): 251
- 10 山根兴. 电离辐射对造血功能的影响. 见: 金为翘, 王洪复主编. 电离辐射损伤基础与临床. 第 1 版. 上海: 上海医科大学出版社, 1992, 95

RADIOPROTECTIVE EFFECT OF COLONY-STIMULATING FACTOR ON MICE IRRADIATED WITH ⁶⁰CO γ -RAYS

Zhang Junning Wang Tao Xu Changshao Wang Hongyun
(Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

ABSTRACT Adult male mice were irradiated with γ -rays 6 Gy once or 3 Gy three times in 7 days and intraperitoneally injected with colony-stimulating factor (CSF) in high doses or low doses. Mice of the control group were injected with normal saline only. Within 30 days after irradiation, the survival rate of mice irradiated with 6 Gy γ -rays once and treated with high dose CSF was 9/25, while that in the control group was 2/25. The survival rate of mice irradiated with 3 Gy three times and treated with high dose CSF was 10/13, while that in the control group was 4/13. Moreover, the survival times of both irradiated groups treated with high dose CSF were much longer than the control groups ($p < 0.01$). This experiment also showed that CSF could reduce the lowering of peripheral blood white blood cell counts and promote their recovery. The number of CFU-S in mice treated with CSF was much higher (23.8 ± 4.82) than in the control group (9.4 ± 4.39) ($p < 0.01$). Therefore, CSF could recover and reconstruct the hematopoietic function of bone marrow, and prolong the survival of irradiated mice.

KEYWORDS Colony-stimulating factor, CFU-S, Radiation, Hematopoietic function