

重组人粒细胞——巨噬细胞集落刺激因子 在放烧复合伤中的治疗作用

梁明至 罗成基 郭朝华 周燕虹

(第三军医大学复合伤研究所 重庆 400038)

摘要 研究了 rhGM-CSF 对受 6.0Gy γ 射线照射复合 15%Ⅲ度体表烧伤小鼠的造血刺激作用。结果表明:放烧复合伤后,造血功能严重受损,外周血白细胞数明显减少,以伤后 3~5d 最低。骨髓有核细胞计数在伤后 2d 内降至最低点。CFU-GM 也明显低于伤前水平。伤后立即腹腔注射 rhGM-CSF (10^5 u/kg·d⁻¹, 每日一次,连续 10d)后,能明显提高放烧复合伤小鼠白细胞,骨髓有核细胞和粒系祖细胞数。提示 rhGM-CSF 能从多层次促进放烧复合伤造血功能的恢复。

关键词 粒细胞——巨噬细胞集落刺激因子,放烧复合伤,造血祖细胞,辐射损伤治疗

放烧复合伤是战时核爆炸与平时意外核事故的主要伤类之一,骨髓是射线损伤的主要靶器官。损伤所致的造血功能障碍并由此引发出血、感染等多种临床并发症,给治疗带来了诸多困难。造血功能的重建是放烧复合伤治疗的重要途径。本文探讨了 rhGM-CSF 在放烧复合伤治疗中促进造血的效应,为放烧复合伤的治疗提供有效的实验依据。

1 材料和方法

1.1 动物的分组与致伤

1.1.1 动物分组 选用昆明种雄性健康小鼠,体重 20~25g,随机分为正常对照组(N)、单纯烧伤对照组(B)、单纯烧伤治疗组(BT)、单纯放射损伤对照组(R)、单纯放射损伤治疗组(RT)、放烧复合伤对照组(C)、放烧复合伤治疗组(CT)。

1.1.2 动物致伤 (1)单放组。采用⁶⁰Co γ 射线一次 6Gy 全身照射,剂量率为 52.68cGy/min。(2)单烧组。按体表面积 15%背部剪毛,3%凝固汽油烧 7s,致成Ⅲ度烧伤。(3)放烧复合伤组。照射后立即烧伤。各组动物伤后立即腹腔注射 2mL 生理盐水,治疗组动物同时给予 rhGM-CSF 10^5 u/ μ g。用前配制成 0.5 μ g/mL 浓度。各损伤治疗组动物伤后立即腹腔注射 0.5mL,连续 10d,每天 1 次;损伤对照组动物给予等量生理盐水腹腔注射。

1.2 外周血白细胞计数

采用常规方法

1.3 骨髓有核细胞计数

采用常规方法

1.4 CFU-GM体外培养

于伤后 2、5、10、15d, 各组取 5 只小鼠活杀。RPMI 1640 培养液冲出两侧股骨骨髓, 制成单细胞悬液, 按 $1.0 \times 10^5/\text{mL}$ 接种于粒系培养体系中。体系由 4.4mL 1640 液, 2.0mL 马血清, 0.8mL 小鼠肌浸液, 0.4mL 琼脂。5%CO₂、37° 饱和湿度下培养 5d, 计数 >50 个细胞数的 CFU-GM 集落。

2 结 果

2.1 不同伤类外周血白细胞计数(WBC)

B 组和 BT 组伤后 WBC 变化不明显。R 组 WBC 呈急剧下降趋势, 伤后 5d 达最低点, 伤后 15d 开始回升。RT 组伤后 2~5d 与 R 组无显著差别, 但 RT 组回升早于 R 组, 伤后 20d 恢复至伤前的 74.2%。C 组与 CT 组伤后 WBC 迅速下降, 但 CT 组恢复早于 C 组, 伤后 20d C 组达伤前的 71.7%, 而 CT 组已达伤前的 76.3%(见表 1)。

Tab.1 The changes of WBC in number

Groups	Number of WBC/percent of control ($\bar{x} \pm s$)				
	2d [#]	5d	10d	15d	20d
B	95.3±0.4	110.8±0.1	117.3±0.6	98.5±0.4	95.4±0.8
BT	97.5±0.3	119.6±0.4	125.6±0.3	104.8±0.7	100.3±0.1
R	20.6±0.7	11.8±0.6	22.5±0.2	36.4±0.8	68.4±0.9
RT	22.8±0.2	14.9±0.5	30.3±0.7 ⁽¹⁾	62.6±0.2 ⁽²⁾	74.2±0.3
C	21.1±0.5	14.6±0.1	23.5±0.4	45.8±0.7	71.7±0.7
CT	23.7±0.3	15.4±0.7	40.6±0.8 ⁽¹⁾	80.2±0.3 ⁽²⁾	76.3±0.4

[#]The days past injury; ⁽¹⁾ $p < 0.05$; ⁽²⁾ $p < 0.01$ compared with control group of same injury

2.2 不同伤类骨髓有核细胞计数(BMC)

在观察过程中,BT 组与 B 组的 BMC 无明显变化, 一直在伤前水平上下波动。变化无统计意义。R 组伤后 BMC 急剧下降, 于伤后 2d 降至最低点。RT 组伤后初期与 R 组相似, 但回升较 R 组快, 伤后 10、15d 明显高于 R 组。CT 组与 C 组伤后 BMC 较伤前明显下降, 最低点在伤后第 2 d。CT 组在伤后 10、15d,BMC 明显高于 C 组(见表 2)。

Tab.2 The dynamic changes of BMC in number

Groups	BMC/femur, percent of control ($\bar{x} \pm s$)			
	2d [#]	5d	10d	15d
B	96.4±0.3	99.5±0.3	102.7±0.5	96.6±0.8
BT	92.6±0.7	97.4±0.4	100.3±0.4	102.7±0.6
R	18.4±0.5	21.7±0.2	30.3±0.5	42.8±0.4
RT	16.2±0.3	25.5±0.2	63.6±0.4 ⁽¹⁾	75.8±0.5 ⁽¹⁾
C	10.3±0.4	16.3±0.6	47.4±0.6	58.7±0.6
CT	12.6±0.5	22.3±0.5	72.3±0.2 ⁽¹⁾	76.4±0.7 ⁽¹⁾

[#]The days past injury; ⁽¹⁾ $p < 0.01$ compared with control group of same injury

2.3 不同伤类粒系祖细胞数(CFU-GM)

BT 组与 B 组 CFU-GM 产率在伤后各时相点均较伤前明显升高,BT 组均值虽在 B 组之上,但无统计学意义。RT 组与 R 组伤后各时相点 CFU-GM 产率明显低于伤前水平, 伤后第

10、15d, RT 组 CFU-GM 产率明显高于 R 组。CT 组和 C 组与 R 组相似, 各时相点均低于伤前。伤后 10、15d, CT 组较 C 组明显升高。在整个实验过程中, CT 组与 RT 组无明显差异(见表 3)。

Tab.3 The dynamic changes of CFU-GM in number

Groups	CFU-GM/ $\times 10^5$ BMC, percent of control ($\bar{x} \pm s$)			
	2d [#]	5d	10d	15d
B	127.4 $\pm$ 0.8	160.7 $\pm$ 0.6	167.4 $\pm$ 0.8	175.6 $\pm$ 0.7
BT	129.6 $\pm$ 0.7	165.7 $\pm$ 0.8	182.3 $\pm$ 0.9	177.5 $\pm$ 0.6
R	22.5 $\pm$ 0.4	8.1 $\pm$ 0.3	12.5 $\pm$ 0.3	30.7 $\pm$ 0.4
RT	25.6 $\pm$ 0.3	10.8 $\pm$ 0.6	40.5 $\pm$ 0.6 ⁽¹⁾	52.4 $\pm$ 0.3 ⁽¹⁾
C	25.3 $\pm$ 0.5	10.6 $\pm$ 0.4	25.3 $\pm$ 0.5	34.5 $\pm$ 0.6
CT	22.5 $\pm$ 0.2	12.4 $\pm$ 0.5	40.3 $\pm$ 0.7 ⁽¹⁾	65.4 $\pm$ 0.8 ⁽¹⁾

[#]The days past injury; ⁽¹⁾ $p < 0.01$ compared with control group of same injury

3 讨 论

在放射损伤治疗中, 重组细胞因子显示了良好的促进造血恢复的作用。Rogacheva^[1]等对受 10Gy 照射小鼠连续应用 rhGM-CSF, 能有效提高 CFU-S 和 CFU-GM 数, 使受照小鼠存活率从对照组的 25% 提高到 90%。Farese 对受 4.5Gy 全身照射的猴皮下注射 rhGM-CSF, 能有效升高外周血白细胞数, 并使粒细胞缺乏症发生的时限从 5~20d 缩短到 6~16d^[2]。本实验 rhGM-CSF 不仅能使受 6.0Gy 照射小鼠外周血白细胞提高, 而且伤后 10、15d 单放治疗组骨髓有核细胞和粒系祖细胞也明显高于单放对照组。说明 GM-CSF 能有效刺激体内残存的造血祖细胞的增生、分化, 使之成熟并释放入外周血, 促进造血功能的恢复。

Cioffi^[3]报道, 烧伤病人静脉输注 rhGM-CSF, 外周血白细胞数升高 50%。Reilly^[4]给烧伤小鼠接种假单孢菌后, 连续皮下注射 rhGM-CSF, 能明显改善烧伤感染后小鼠的存活率。本实验烧伤治疗组 WBC、BMC、CFU-GM 虽较对照组高, 但均无统计意义。这可能是由于未作其它任何抗感染处理, 烧伤感染刺激了内生性 CSF 活性物质的分泌, 从而在一定程度上掩盖了 GM-CSF 的效应。

Ulianova^[5]提出, 急性辐射和放烧复合伤后, 可表现全血细胞减少, 但骨髓细胞反应没有明显改变。本实验证明放烧复合伤后, 不仅白细胞明显减少, 而且骨髓有核细胞和粒系祖细胞在伤后 2~5d 迅速下降到最低水平。其变化规律与单放组相似, 说明放烧复合伤时其主要伤情特点仍以放射损伤为主。给 rhGM-CSF 治疗后, 其 WBC、BMC、CFU-GM 都明显高于复合伤对照组。提示 GM-CSF 能有效促进放烧复合伤后体内残存的造血祖细胞的增殖、分化, 提高造血祖细胞的成灶能力, 有助于放烧复合伤后的造血重建。

参 考 文 献

1 Rogacheva S A, Luzanow V M, Kirillova E N. Radiobiologiia 1990, **30**(6):769~773

2 Farese A M, Williams D E, Seiler F R. Blood, 1993, **82**(10):3012~3018

3 Cioffi W G, Burleson D G, Jordan B S. Arch Surg, 1991, **126**(1):74~79

4 Reilly M O, Silver G M, Gamelly R E. J Trauma, 1994, **36**(4):486~491

(C)1994-2025 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www

5 Ulianova L P, Budagov R S. Radiats-Biol-Radioecol, 1997, 37(2):182~189

EFFECTS OF rhGM-CSF ON TREATMENT OF COMBINED RADIATION-BURN INJURY IN MICE

LIANG Mingzhi LUO Chengji GUO Zhaohua ZHOU Yanhong

(*Institute of Combined-injury, Third Military Medical University, Chongqing 400038*)

ABSTRACT Effects of rhGM-CSF on reconstruction of hemopoietic function in mice exposed to total body gamma irradiation with a dose of 6.0Gy combined with 15% TBSA full thickness burn were further investigated. The result showed that hemopoietic function was damaged severely after the combined injury. There was a significant decrease of peripheral blood white cells, bone marrow mononuclear cells and CFU-GM. The lowest values occurred at the initial period after injury. After administrating rhGM-CSF at $10\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}^{-1}$ continuously for 10 d, the significant increase of peripheral blood white cells was observed from day 11 to day 20 postinjury. The highest values could be restored to pre-injury levels. Bone marrow mononuclear cells and CFU-GM also show a remarkable increase at day 10 and day 15 postinjury. All of these indicated that rhGM-CSF could stimulate hematopoietic progenitor cell to proliferate and differentiate, give support to recovery of hemopoietic function after combined radiation-burn injury at different levels.

KEYWORDS GM-CSF, Combined radiation burn injury, Hematopoietic progenitor cell, Treatment of radiation injury