

- 16 (9):752-757
- 9 Neta R et al. Prog Immunol, 1987; 6: 900-908
- 10 Neta R et al. Radioprotection by interleukin-1. In Immune regulation by characterized polypeptides. New York; Alan R Liss, 1987;429-441
- 11 Neta R et al. AD-A203940
- 12 Neta R et al. Lymphokine Res, 1988; 7 (4):403-412
- 13 Weiss JF et al. Int J Radiat Biol, 1990; 57 (4):709-722
- 14 Dinarello CA. J Clin Immunol, 1985; 5 (5):287-297
- 15 Dinarello CA. Rev Infect Dis, 1984; 69 (1):51-59
- 16 Neta R et al. J Immunol, 1989; 139(6):1863-1866
- 17 Ramadori G et al. J Exp Med, 1985; 162 (3):930-942
- 18 Goldstein IM et al. Ceruloplasmin, an acute phase reactant and antioxidant. In Lymphokines, Vol 8, Pixk E (ed). New York; Academic Press, 1983;383-411
- 19 Thormally RJ et al. Biochem Biophys Radiat Res, 1985; 18:96-105
- 20 Vaishav YN et al. Induction of Superoxide Dismutase; A Mechanism for Radioprotection by Interleukin-1 (IL-1). Abstracts of the 37th Annual Meeting of the Radiation Research Society, Seattle WA. 1989; 185
- 21 Manori I et al. Clin Exp Immunol, 1986; 63 (3):526-532
- 22 Laver J et al. Exp Hematol, 1988; 16 (5):482 (Abstr 96)
- 23 Mortensen RF et al. J Immunol, 1988; 140 (7):2260
- 24 Neta R et al. Fed Proc, 1987; 46:1200 (Abstr)
- 25 Neta R et al. Inf Immunol, 1981; 34(1):160-165
- 26 Lvovsky E et al. Texas Rep Biol Med, 1977; 35:388-394
- 27 Urbaschek R et al. Inf Immunol, 1983; 39 (3):1488-1490
- 28 Yang Y et al. J Cell Physiol, 1988; 134:292-296
- 29 Kaushansky K et al. J Clin Invest, 1988; 81 (1):92-97
- 30 Zsebo KM et al. Blood, 1988; 71 (1):99-103
- 31 Billiau A et al. Immunobiology, 1986; 172:323-335
- 32 Smith KA, et al. J Exp Med, 1980; 157:1151-1156

细胞因子抗放作用的研究进展

Ⅱ.造血生长因子对急性放射病的治疗作用

军事医学科学院 黄向东综述 汤家骥 张卿西审

摘要:急性放射病时使用造血生长因子治疗, 不仅有一定的理论依据, 而且得到各种动物整体病理模型试验, 大剂量化疗及骨髓移植等与急性放射病有类似病理过程的一些疾病 临床试验的间接证实, 以及两起核事故病人临床治疗资料的直接证实。在核事故的复杂情况下, 使用造血生长因子有着显著的优越性。造血生长因子的使用为急性放射病的治疗提供了一种新的手段, 标志着急性放射病治疗研究新时代的开始。

近年来,分子生物学技术的进展、一些造血生长因子性质的明确及其通过重组DNA技术的大量表达, 不仅促进了造血调控分子机制的研究, 而且使造血生长因子的临床应用成为现实。当前, 一些造血生长因子已广泛试用于血液病、肿瘤及感染性疾病的许多

临床状态, 造血生长因子作为新型临床治疗药物的地位已经确立。

一、造血生长因子

外周血中的成熟血细胞主要来源于骨髓造血细胞。为保证在健康及各种疾病状态下,

外周血细胞成份能够得到及时的替代,机体在长期进化过程中形成了复杂的包括正负调节机制在内的网络调节体系,以维持造血细胞自我更新,定向增殖及分化的动态平衡。对造血调控分子机制的研究是伴随着60年代中期造血细胞体外培养技术的建立而发展起来的^{〔1〕}。当时的实验研究提示人及动物的血清中存在一些微量的“生长刺激因子”,在

半固体培养基中加入含有这些“生长刺激因子”的血清,造血细胞可以形成各种血细胞集落。近年来,随着蛋白质化学及分子生物学技术的进展,这些与造血调控有关的生物学介质的分子性质得以明确,先后得以纯化、克隆并在大肠杆菌、酵母或哺乳动物细胞中获得大量表达^{〔2〕}。表1为目前已经克隆的一些重要的造血生长因子。

表1 一些重要的造血生长因子

因子	染色体定位	mRNA长度(kb)	氨基酸数目	分子量(KD)	主要靶细胞系
EPO	7q11,q22	1.6	164	34~39	红系
G-CSF	17q11,q22	1.6	174,177	18~22	中性粒细胞
GM-CSF	5q21,q32	1	127	14~35	中性粒,嗜酸性细胞 单核细胞
M-CSF	5q33	1.5~4.5	256,435,554	36~90	单核细胞
IL-1 α	NR	2.2	269,152	31,17	多能干细胞
IL-1 β	2q14	1.6	269,152	31,17	多能干细胞
IL-2	4q26-28	0.9	133	14.5~17	T, B淋巴细胞
IL-3	5q	1	133	14~28	多能干细胞
IL-4	5q	0.9	129	15~20	T, B淋巴细胞
IL-5	5q	1.7	134	12~18	B淋巴细胞

NR: 未见报道

大量纯化的重组造血生长因子的获得,不仅促进了造血调控的体外、体内研究,扩展了我们对造血调控分子机制的认识,也使造血生长因子的临床应用成为现实。近年来,EPO(促红细胞生成素)、GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-3 及IL-1 等造血生长因子已先后进入临床试验,用于血液病、肿瘤及感染性疾病的许多临床状态的治疗。临床试验表明,这些造血生长因子均可通过扩展各自的靶细胞群体,使各种原因的骨髓功能低下所引起的血细胞减少得到显著改善^{〔3,4〕}。

二、急性放射病时使用造血生长因子的基本依据

除了考虑到造血生长因子本身在造血调控的体外、体内研究及临床试验中所表现出

的明显的造血刺激作用外,急性放射病时使用造血生长因子,还有以下二点基本依据:

1. 一些动物试验及临床观察提示,在10Gy乃至更大的照射剂量下,体内仍有少数造血干细胞存活下来。在小鼠及犬大剂量全身照射异基因骨髓移植试验中,造血的恢复过程总是表现为供体骨髓最初成功植入,随后逐渐被排斥并为受体自身造血所最终取代^{〔5,6〕}。临床上,接受骨髓移植的白血病病人,移植前照射预处理的剂量为10~15Gy(分1~6次完成),但在一些病人中仍可见到残留的白血病细胞,这间接提示了少数自体造血干细胞也存活下来的可能性^{〔7〕}。的确,在对一些长期存活的骨髓移植病人体内造血细胞来源的随访观察中,常可见到数量不等的自体造血细胞在体内持续存在^{〔8〕}。此外,在切尔诺贝利核事故中,8例照射剂

量在4.4~9.0Gy之间的病人,也全都存在自身造血恢复的迹象^[9]。

2. 大剂量电离辐射损伤时,体内只要有极少数造血干细胞存活,即可实现体内造血功能的重建。这一点同样受到一些动物试验和临床观察的支持。1985年,吴祖泽等的小鼠脾集落移植试验表明,具有克隆源性的脾集落细胞可以重建受致死性照射小鼠的体内造血^[10]。在近年开展的小鼠带有逆转录病毒遗传标志的同基因骨髓移植试验中,常可见到一个带有遗传标志的造血干细胞克隆(单克隆)或少数几个带有遗传标志的造血干细胞克隆(寡克隆)重建造血的现象^[11]。最重要的支持来自Spangrude GJ等的造血干细胞分离试验,他们根据不同分化阶段的造血细胞表型标志(Phenotypic marker)的不同,通过阳性选择和阴性选择的方法,在小鼠上获得了高度浓集的造血干细胞群体,进而证实只要有30个Thy-1¹⁰Lin⁻Sca-1⁺造血干细胞即可重建受致死性照射小鼠的体内造血^[12]。此外,临床上在某些化疗后处于缓解期的急性非淋巴细胞性白血病人中,有时也可见到形态正常的由同一克隆源性的细胞组成的骨髓象^[13]。

三、动物整体病理模型中的试验结果

动物整体病理模型主要包括两种,第一种为经射线照射或细胞毒化疗药物处理造成的骨髓抑制模型,第二种为骨髓移植模型。

1. 小鼠整体病理模型

对经射线或化疗药物处理造成骨髓抑制的小鼠,通过皮下注射或腹腔注射途径予以GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-1 或 IL-3 治疗,持续1~2周,可以显著促进实验小鼠骨髓及脾脏中CFU-S及CFU-GM的恢复,降低外周血粒细胞减少的严重程度,缩短其持续时间,提高小鼠的活存率^[14-16]。尤以G-CSF和GM-CSF作用更为显著。同时, G-CSF对小鼠红细胞及血小

板的恢复, GM-CSF对血小板的恢复也有促进作用。相关分析表明,血液学参数的改善与动物活存率的提高显著相关。此外,在此模型中, G-CSF与IL-1对实验小鼠有着明显的协同造血刺激作用。最近,小鼠异基因骨髓移植模型中的初步试验结果提示: GM-CSF, G-CSF, 或IL-1在移植后早期使用,在不影响供体骨髓植入率及GVHD(移植物抗宿主病)发生率的情况下,也可显著促进移植后受体小鼠外周血粒细胞的恢复,提高小鼠的活存率^[1]。

2. 犬整体病理模型

受到2.0Gy, 3.5 Gy或4.0Gy剂量照射犬,照后立即开始用G-CSF治疗,静脉输注,每日两次,给药14~21天。结果表明,在这些犬中, G-CSF均可显著促进照后犬骨髓中CFU-GM及外周血粒细胞的恢复,提高受照犬的活存率^[18, 19]。3.5 Gy照射(LD_{50/30})的治疗犬三十天死亡率降至零,5只受4.0Gy致死性照射的治疗犬中,有4只存活下来。试验还提示, G-CSF治疗对部分受照射犬血小板的恢复也有促进作用。除了G-CSF在上述犬照射病理模型中的试验外,目前尚未见到其它造血生长因子在犬骨髓抑制或骨髓移植模型中的试验报道。

3. 灵长目动物整体病理模型

两组试验观察了G-CSF和IL-1对化疗药物处理造成的猴骨髓抑制模型的影响^[20, 21]。为了使化疗药物从体内清除,避免过早使用造血生长因子加重骨髓造血损伤,在给予环磷酰胺或5-氟脲嘧啶后72小时开始使用G-CSF或IL-1治疗,皮下注射或静脉输注,给药1~2周。试验结果表明, G-CSF和IL-1均可显著促进给药猴骨髓中CFU-GM及外周血粒细胞的恢复,但对血小板的恢复似乎没有影响。

为了更接近核事故条件下的照射情况, Monroy等建立了猴不均匀照射(部分屏蔽)模型,评价GM-CSF对受照后骨髓造血祖

细胞及外周血细胞恢复的影响。结果提示,对于受8Gy不均匀照射(屏蔽双侧胫骨)的猴,通过皮下微渗透泵植入连续给药的方法予以GM-CSF治疗7天,可以显著促进受照猴骨髓CFU-GM及外周血粒细胞和血小板的恢复^[22]。

此外,猴自体骨髓移植模型中的一些试验表明,移植前后使用GM-CSF或G-CSF治疗,可以显著缩短自体骨髓移植后粒细胞减少的持续时间^[23]。对在移植前收集自体骨髓细胞时即开始使用GM-CSF的猴子,从输注自身骨髓到粒细胞在外周血中重新出现的时间也有所缩短。在其中两组使用GM-CSF的试验中,某些动物中血小板的恢复也有所加快。

四、在与急性放射损伤有类似病理过程的一些疾病中的临床试验结果

1. 大剂量化疗病人

临床试验表明,大剂量化疗后出现骨髓功能衰竭的晚期癌症病人或白血病病人,在化疗后短时间内(2周左右)使用GM-CSF或G-CSF进行治疗,可显著促进化疗后骨髓造血功能的恢复,降低粒细胞减少的严重程度,缩短其持续时间^[24-28]。在这些临床试验中,与同期对照或历史对照病例相比,接受GM-CSF治疗的病人粒细胞减少($<0.5 \times 10^9/L$)的持续时间平均缩短3~5天。由于这些试验多为临床I期或II期试验,病例数较少,对于GM-CSF和G-CSF治疗是否确实能降低感染并发症的发生率、提高病人的存活率等问题,各组试验的结果不太一致,目前很难得出确定性的结论。

有关M-CSF, IL-3, IL-1等造血生长因子在大剂量化疗病人中的临床试验报道还不多。初步试验结果提示,对大剂量化疗引起的骨髓抑制,这儿种造血生长因子也可显著地促进骨髓粒系造血的恢复^[29-31]。

2. 骨髓移植病人

造血生长因子在骨髓移植病人中的临床使用已有广泛的报道。由于担心使用造血生长因子有可能会通过增强免疫活性细胞的功能促进GVHD的发生,迄今为止除个别试验报道与异基因骨髓移植有关外,大多数试验主要涉及自体骨髓移植病人。

临床试验的结果表明,在移植后短时间内使用GM-CSF或G-CSF治疗,可以显著促进外周血粒细胞的恢复。与历史对照病例比较,接受G-CSF或GM-CSF治疗的病人粒细胞减少($<0.5 \times 10^9/L$)的持续时间平均缩短9天左右。接受治疗的病人,有病案记载的感染及败血症的发生率下降1/3左右。GM-CSF对某些骨髓移植病人血小板的恢复也有促进作用,尤其见于皮下注射间断给药时。此外,对骨髓移植后病人抗生素全身使用的时间、成分输血的次数、洁净病房隔离时间、肠道外营养时间及住院时间等指标的初步分析,也显示出GM-CSF和G-CSF治疗的优越性^[32]。

M-CSF在骨髓移植病人中的临床试验目前仅有个别的报道,初步结果提示其疗效不如GM-CSF及G-CSF^[33]。IL-3的临床试验则刚开始,由于IL-3作用于造血细胞发育的早期阶段,临床试验的目的不仅限于证实它对粒系造血恢复的促进作用,更指望能证实它对血小板恢复的促进作用^[34]。

五、在核事故病人中使用的初步结果

1987年巴西¹³⁷Cs核事故中,共有8例患者在治疗过程中使用了重组GM-CSF^[35]。这些病人在3~14天左右的时间里,受到累计约为3~6Gy的大剂量全身照射。6例病人在粒细胞计数低于 $0.1 \times 10^9/L$ 已达2~6天的情况下,开始接受GM-CSF治疗,剂量为 $500\mu g/m^2 \cdot d$,静脉滴注给药。除1例病人在用药刚开始不久即死亡,无法对治疗反应进行评价外,其它5例病人对GM-CSF治疗均有良好反应。给药后12~

48小时,病人外周血粒细胞即开始回升,给药后4~8天,3例存活的病人外周血粒细胞均已恢复到正常水平,2例给药后5天死亡的病人(死于给药前即已存在的感染性败血症),外周血粒细胞也表现出明显的回升趋势。另有2例病人在粒细胞计数回升到 $0.1 \times 10^9/L$ 时,开始接受GM-CSF治疗,这2例病人在给药后12小时,外周血粒细胞即显著增加。对其中1例病人与另外2例估计照射剂量相当,未接受GM-CSF治疗的病人的外周血粒细胞恢复情况的比较表明,接受GM-CSF治疗的病人,外周血粒细胞计数从最低值恢复到 $0.5 \times 10^9/L$,大致需要12天,而2例未接受GM-CSF治疗的病人则需要25天。此外,在1989年,圣·萨尔瓦多核事故病人治疗中也使用了GM-CSF,据报道,GM-CSF对事故病人粒细胞恢复的促进作用也相当显著。

六、使用造血生长因子治疗 可能出现的副作用

理论上的潜在副作用包括:

1. 过早使用造血生长因子有可能打乱造血干细胞自我更新及分化成熟之间的平衡,造成干细胞池耗竭。

2. 过早使用造血生长因子可能会使受照射造血干细胞的潜在致死性损伤在有丝分裂前获得修复的可能性减少,从而增加了造血干细胞的辐射敏感性,或使遗传损伤固定下来,增加继发性白血病的发生率。

3. 导致外周血粒细胞或血小板水平的过度升高或功能的过度增强,加重其它组织如肺组织的损伤。

4. 刺激造血干细胞向某一特定的血细胞系分化,可能会影响造血干细胞向其它血细胞系的分化,如使用GM-CSF可能会延缓或阻止红系或巨核系造血的恢复。

5. 在患者继续受到射线照射、如体内核素沾染形成内照射的情况下,使用造血生

长因子有可能增加处于增殖状态的造血干细胞的比,或缩短从造血干细胞受到射线损伤到细胞分裂之间的时间,从而加重射线所引起的造血损伤。

此外,在造血生长因子的实际临床应用中,在一些病人中还可可见到某些造血系统之外的副作用或毒性反应,包括发热、寒战、体液潴留、肺部白细胞浸润、低血压、中央静脉血栓形成、白细胞淤积、头痛、肌痛及恶心、呕吐等。不过比较严重的毒性反应如体液潴留、中央静脉血栓形成等仅见于大剂量使用时,在停药或减量后迅速缓解。对于多数病人,副作用的发生率很低,症状轻微,而且常随着治疗的进行逐渐消失。

七、结 语

造血生长因子对急性放射病治疗作用的研究,反应了当前分子生物学的进展对急性放射病治疗的影响。从目前的研究进展看,急性放射病时使用造血生长因子治疗,不仅有一定的理论依据,而且得到各种动物整体病理模型试验、大剂量化疗及骨髓移植等与急性放射病有类似病理过程的一些疾病的临床试验及两起核事故病人治疗资料的充分支持。因此,造血生长因子作为急性放射病的一种新的治疗手段的地位已经基本确立。但是现有的资料还很有限,有许多重要的问题需要进一步澄清,如造血生长因子治疗是否的确有助于减少感染的发生并减轻其严重程度、降低死亡率、缩短病程、减少治疗费用,以及在不同的情况下使用哪种造血生长因子效果最好、最佳剂量和给药时机、合并用药等问题。这些问题有些可以在与急性放射病有类似病理过程的一些疾病的临床试验中加以解决,有些则还得借助于整体动物试验或体外试验进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Metcalf D. The haematopoietic colony sti-

- mulating factors. Amsterdam: Elsevier, 1984; 1-3
- 2 Platzer E. Eur J Haematol, 1989; 42(1): 1-15
- 3 Nathan DG et al. Clinical application of hematopoietic growth factors. In: growth factors and their receptors: Genetic control and rational application. New York: Alan R Liss, 1989; 259-269
- 4 Golde DW. Semin Hematol, 1990; 27 (3Suppl 3); 1-7
- 5 Lapidot T et al. Bone Marrow Transplant, 1988; 3: 157-164
- 6 Monroy RL et al. Bone Marrow Transplant, 1987; 2: 375-384
- 7 Petz LD et al. Blood, 1987; 70: 1331-1337
- 8 Schattenberg A et al. Blood, 1989; 73: 1367-1372
- 9 Baranov AE et al. N Engl J Med, 1989; 321: 205-212
- 10 Wu CT et al. Exp Hematol, 1986; 14: 307-314
- 11 Lemischka IR et al. Cell, 1986; 45: 917-927
- 12 Spangrude GJ et al. Science, 1988; 241: 58-64
- 13 Fialkow P et al. N Engl J Med, 1987; 317: 468-473
- 14 Kobayashi Y et al. Jpn Cancer Res, 1987; 78: 763-764
- 15 Talmadge JE et al. Blood, 1988; 72: 1093-1095
- 16 Patchen ML et al. Exp Hematol, 1990; 18: 1042-1048
- 17 Blazar BR et al. Blood, 1989; 74: 2257-2263
- 18 MacVittie TJ et al. Int J Radiat Biol, 1990; 57: 723-736
- 19 Schuening FC et al. Blood, 1989; 74: 1308-1313
- 20 Welte K et al. J Exp Med, 1987; 165: 941-948
- 21 Gasparetto C et al. Blood, 1989; 74: 547-550
- 22 Monroy RL et al. Exp Hematol, 1988; 16: 334-342
- 23 Nienhuis AW et al. J Clin Invest, 1987; 80: 573-577
- 24 Antman K et al. N Engl J Med, 1988; 319: 1624-1628
- 25 Morstyn G et al. Lancet 1988; I: 667-672
- 26 Bronchud MG et al. Br J Cancer, 1987; 56: 809-815
- 27 Gabrilov J et al. N Engl J Med, 1988; 318: 1414-1422
- 28 Lieschke GJ et al. Ann Internal Med, 1989; 110: 357-364
- 29 Motoyoshi K et al. Exp Hematol, 1986; 14: 1069-1075
- 30 Ganser A et al. Exp Hematol, 1989; 17: 40(Abstr)
- 31 Crown J et al. Blood, 1989; 74(suppl 1): 15A(Abstr no 117)
- 32 Mertelsmann R et al. Bone Marrow Transplant, 1990; 6: 73-77
- 33 Masaoka T et al. Bone Marrow Transplant, 1988; 3: 121-128
- 34 Ganser A et al. Blood, 1989; 74(suppl 1): 50A(Abstr no.177)
- 35 Butturini AB et al. Lancet, 1988; I: 471-475

内污染核素对免疫细胞的损伤及细胞因子的辐射防护

苏州医学院放射医学系 赖冠华综述 朱寿彭审

摘要: 机体免疫细胞对辐射敏感性很高, 内污染核素能抑制免疫细胞的功能, 不同性质的射线对免疫细胞分泌细胞因子功能的影响也不同, 外源性加入细胞因子能增加免疫细胞的功能, 提高受致死剂量照射小鼠的生存率。

机体免疫细胞的辐射敏感性很高, 内污染放射性核素摄入体内的滞留能明显影响免

疫细胞功能。50年代人们观察到 PHA (植物血凝素), ConA (刀豆球蛋白), LPS