

文章编号：1001-098X(2003)01-0038-04

GM-CSF在辐射后的变化及其在辐射损伤治疗中的应用

王治东

摘要：GM-CSF是较早发现的一种造血生长因子，在某些刺激条件下可由多种细胞合成分泌，能够刺激骨髓造血祖细胞增殖和分化，刺激中性、嗜酸性粒细胞及巨噬细胞增殖和成熟，也可以促进巨核细胞生长，对红细胞生长有辅助调节作用。GM-CSF水平在辐射后动物体内发生明显的变化，对辐射损伤后造血的恢复具有很好的治疗效果。

关键词：GM-CSF；辐射；造血

中图分类号：R818.05 **文献标识码：**A

Expression of GM-CSF level after radiation and application in the radiation injury

WANG Zhi-dong

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

Abstract：GM-CSF is the early discovered hematopoietic growth factor. Various kind of cells can synthesize and secrete GM-CSF by some stimulation. GM-CSF can stimulate the proliferation and differentiation of bone marrow hematopoietic progenitor cells and activate the proliferation and maturity of neutrophils, eosinophils, and macrophages. GM-CSF also stimulate growth of megakaryocyte and erythrocyte. Some change of GM-CSF level can be found after radiation in animal, which can accelerate the recovery of radiation injury.

Key words：GM-CSF；irradiation；hematopoiesis

1 GM-CSF与造血细胞的关系

GM-CSF(粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子)对多种细胞有生物学作用，能由造血干细胞和祖细胞水平刺激其向髓系分化、增殖和成熟，GM-CSF还能促进造血细胞的成熟并提高其功能。

大多数GM-CSF基因剔除小鼠外观健康并能正常生育，骨髓各系祖细胞、外周血细胞和组织造血细胞群(包括脾脏的树突状细胞)在数目上均正常^[1]。由此可以看出，GM-CSF并非造血所必需。

在GM-CSF转基因动物的实验研究中发现，GM-CSF转基因小鼠的血液中，GM-CSF水平持续偏高，大约高于正常值40倍。然而，无论是骨髓、血液、

还是脾脏，细胞数或组成均无异常，骨髓或脾脏中的CFU-GM(粒细胞巨噬细胞集落生成单位)外周血中新形成单核细胞速率亦无异常，CFU-GM对GM-CSF和其他造血生长因子的反应也是正常的^[2]。

在GM-CSF受体转基因小鼠的研究中发现，hGM-CSF(人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子)刺激hGM-CSF受体转基因小鼠骨髓细胞形成CFU-GM、红细胞、巨噬细胞和肥大细胞，但骨髓内的细胞构成随hGM-CSF剂量的增加而逐渐降低，其中红系变化最明显，这可能与hGM-CSF将造血细胞从骨髓动员到外周血中有关。GM-CSF受体转基因小鼠脾脏和肝脏造血与骨髓造血表现明显不同。GM-CSF受体转基因小鼠的脾脏明显增大，所有造血祖细胞和血细胞均表现为增加，其中以红系最明显。给予hGM-CSF后，GM-CSF受体转基因小鼠外周血中的网织红细胞和白细胞的数目明显增加，并有剂量依赖关系；中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的数目均有所增加。在淋巴细胞的变化中，除

收稿日期：2002-09-27

作者简介：王治东(1977-)，男，军事医学科学院放射医学研究所(北京，100850)硕士研究生，主要从事辐射血液学研究。

审校者：军事医学科学院放射医学研究所 毛秉智

了具有成熟T细胞和B细胞外,还含有大淋巴细胞^[3]。

Muench MO等^[4]研究了来源于人胎肝细胞的两个祖细胞系: CD34⁺⁺CD38⁻Lin⁻细胞系和更成熟的CD34⁺⁺CD38⁺Lin⁻细胞系,检测了不同细胞因子对它们产生CD56⁺CD3⁻NK(自然杀伤)细胞和CD19⁺B细胞的影响,其中GM-CSF对CD34⁺⁺CD38⁺Lin⁻细胞系具有明显的髓系造血作用,GM-CSF能够促进CD34⁺⁺CD38⁺Lin⁻细胞系来源的NK细胞的生长。Battaglia A等^[5]研究了GM-CSF/EPO(促红细胞生成素)融合蛋白(MEN11303)对造血的影响。MEN11303比单用等量的GM-CSF、EPO和联合应用GM-CSF/EPO更有效地促进CFU-GM、BFU-E(红系爆增式集落形成单位)、LTC-IC(长期培养启动细胞)和CD34⁺细胞的形成,并推测MEN11303可能是改变了其与EPOR(促红细胞生成素受体)的结合力,从而更好地促进造血作用。

2 辐射后GM-CSF的变化

造血组织对射线非常敏感,辐射后造血干、祖细胞因凋亡坏死而数量急剧减少,残存者的增殖分裂能力受到抑制,同时辐射后细胞因子及其受体亦发生一定变化。

1995年Chang CM等研究证明,用7.75Gy γ 射线照射后,B6D2F1雌性小鼠骨髓中的GM-CSF mRNA水平从照射后2d开始增高持续到照射后第10天,脾脏内GM-CSF mRNA水平在照射后4~10 d亦显著增高($P < 0.05$);但是骨髓和脾脏内的GM-CSF蛋白水平没有增加,血清中的GM-CSF蛋白水平同样没有增加。结果表明,照射后GM-CSF mRNA的变化并不与其蛋白的变化相一致。

Escribano S等^[6]观察到5GyX射线(1.03Gy/min)照射后6个月小鼠LTBM(长期培养骨髓细胞)的上清液中GM-CSF水平显著提高,但是血清中检测不到GM-CSF水平;其上清液明显促进GM-CFC(粒细胞-巨噬细胞集落形成细胞)的生长,加入GM-CSF单克隆抗体后,显著抑制了GM-CFC的生长。将LTBM培养的上清液、GM-CSF(1.3nmol)和Fischer's培养基分别与中性粒细胞培养,于培养3、6、15和30 h检测中性粒细胞生存率和中性粒细胞中DNA的完整性,结果:培养3h,三组中性粒细胞生存率没有差别;培养6h,Fischer's培养基组的中性粒细胞生存率轻度下降;培养15h,Fischer's培养基组的中性粒

细胞生存率(60%)明显低于GM-CSF组(80%)和LTBM培养的上清液组(75%),且Fischer's培养基组的中性粒细胞可见典型的细胞凋亡DNA变化,而其他两组未见此变化。上述实验显示,5GyX射线(1.03 Gy/min)照射后,小鼠GM-CSF在骨髓细胞中的表达增加,其对成熟中性粒细胞的代谢功能有重要作用,可能在一定程度上抑制照射引起的中性粒细胞凋亡。

Chang CM等^[7]利用RT-PCR(逆转录-聚合酶链反应)和Southern印迹杂交技术检测显示,单纯7.0 Gy照射后GM-CSF mRNA与未照射组相比增加明显,在照射后第3天达高峰,第10天仍高于对照组;单纯1.0 Gy照射后GM-CSF mRNA与未照射组相比没有明显变化。在7.0 Gy照射后,受到细菌感染脾脏中GM-CSF mRNA与单纯细菌感染组相比在感染后4、8和24 h分别增加2.6、3.2和2.1倍($P < 0.05$)。

Fedorocko P等^[8]观察了小鼠受9 Gy γ 射线照射后脾脏、骨髓、胸腺、淋巴结条件培养液的CSA(集落形成能力),结果显示,照射后脾脏、骨髓、胸腺、淋巴结条件液的CSA明显增加($P < 0.001$),但是对血清的检测结果显示,只是在照射后第3~7天CSA有轻微的增加,而其他各个时间点均没有变化;进一步的研究显示,在rmIL-3(重组鼠白细胞介素3)存在下,照射组血清具有增强集落形成的能力;利用ELISA(酶联免疫吸附测定)方法检测照射前后两组动物血清中GM-CSF、IL-6和TNF- α 的蛋白水平,结果表明,照射后小鼠的血清具有一定的促进GM-CFC集落形成的能力,然而无论照射与否,在血清中均不能检测到GM-CSF,但是血清中TNF- α 、IL-6水平与照射前相比增加明显。

照射后,机体组织和体液中GM-CSF mRNA水平增高而且有一定的剂量、时间关系,但是蛋白水平却并不与mRNA水平相平行。

3 GM-CSF治疗辐射损伤的实验研究

Nothdurft W等^[9]观察了11.7 Gy照射犬头盖骨后应用rhGM-CSF(重组人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子)促进造血恢复情况,在照射后24 h起每日注射rhGM-CSF 30 mg/kg,共应用7 d,结果显示,rhGM-CSF的应用虽然没能完全阻止粒细胞下降,但是在照射后第5天粒细胞开始恢复,一直延续到第15天仍没有完全恢复。

Nothdurft W等^[10]观察了2.4 Gy全身照射后rhGM-CSF促进造血恢复的情况：皮下注射rhGM-CSF 10或30 mg/kg，每日一次，连续注射21 d，结果显示，外周血中性粒细胞急剧但是短暂地增加，单核细胞也出现短暂增加，并呈剂量依赖关系，而淋巴细胞只是在高剂量给药时有所增加，血小板在给药过程中有短暂的下降。照射组rhGM-CSF的应用减轻了中性粒细胞减少的程度，缩短了中性粒细胞减少的持续时间，但是对单核细胞和淋巴细胞的恢复没有影响。

1989年，Tanikawa S等研究了BDF1小鼠受到7.5 GyX射线照射后GM-CSF对造血损伤的恢复： 3.75×10^5 IU(1IU=16.67 $\times 10^{-9}$ mol/s)，每日注射两次，照射后14 d外周血中血小板明显提高，在第21天外周血中白细胞计数明显增加，骨髓中CFU-Meg(巨核细胞集落形成单位)在照射后第14天显著增加。

Patchen ML等^[11]研究了SCF(干细胞因子)、IL-3和GM-CSF在体内外对受照小鼠造血恢复的影响：7.75Gy⁶⁰Co γ 射线，照射后1~17 d皮下注射SCF、IL-3、GM-CSF及它们的组合，分别在照射后第14天和第17天检测骨髓的恢复情况和脾脏的CFU-S(脾集落形成单位)、GM-CFC和外周血白细胞、红细胞及血小板计数，结果SCF和GM-CSF联用与单用GM-CSF相比并没有明显的作用。这与体外的实验结果相矛盾，说明造血因子体内外的作用存在一定差异，体外的实验结果不能完全适用于体内治疗。

Hartong SC等^[12]报道，小鼠受8Gy X射线全身照射后进行骨髓移植，然后给予GM-CSF/TPO(血小板生成素)，结果，缩短了全身照射引起的全血细胞减少的持续时间，然而与移植后单独给予TPO相比，GM-CSF/TPO的应用没有进一步促进血小板、网织红细胞、白细胞和骨髓祖细胞的恢复；但是，在5 GyX射线全身照射后骨髓抑制模型中，与单独应用TPO相比，GM-CSF/TPO的应用明显促进血小板、红细胞和中性粒细胞的恢复。这个结果提示，GM-CSF/TPO对造血的作用可能与其他因子的协同作用有关。

5 GM-CSF在辐射事故中的应用

在1987年巴西¹³⁷Cs辐射事故病人的治疗中，首次应用了造血生长因子：8例受到2.50~6 Gy照射的急性放射病病人(合并有内污染)在照射后24~

47d开始应用GM-CSF，剂量为500 μ g/($m^2 \cdot d$) (以含有0.9%白蛋白的生理盐水稀释)，24 h连续输注，直至粒细胞 $> 2 \times 10^9/L$ ，延续3 d，此后剂量减半用3 d，再以1/4剂量用3 d后停药，结果，8例病人中除1例无明显反应外，其他病人的粒细胞数均有升高。

在1989年萨尔瓦多的辐射事故中，3例急性放射病病人在治疗中也用了GM-CSF，亦观察到加快血细胞恢复的效果。在1990年以色列索万(Sor-Van)辐射事故中，1例病人受到10 Gy以上 γ 射线全身照射(照射量率为1.25 Gy/min)，照后4d移植同胞的HLA(人白细胞抗原)半相合骨髓，供体骨髓经单克隆抗体处理除去T细胞，病人于照后1~18 d应用了GM-CSF250 μ g/($m^2 \cdot d$)，照后第5~18天加用了剂量为125 μ g/($m^2 \cdot d$)的IL-3，结果，移植的骨髓顺利植活，在移植后10 d外周血白细胞数开始回升，5 d后基本达到正常水平。这可能与应用了GM-CSF和IL-3有关。

1991年，白俄罗斯1例辐射事故病人全身受照12~15 Gy，照后2~7 d、16~31 d应用了GM-CSF，照后8~31 d加用IL-3，结果，照后20 d白细胞数开始回升，60~100 d为 $(1.0 \sim 5.0) \times 10^9/L$ ，但血小板数未见恢复，照后100 d仍在 $10 \times 10^9/L$ 以下。

6 展望

近年来，关于照射后GM-CSF变化的研究取得了较大的进展，在辐射损伤治疗中的应用也积累了不少经验，但是对照射后GM-CSF表达变化的机理还不是很清楚，对GM-CSF基因表达的调控、与其他造血因子相互作用机理的研究还不够深入。在临床应用，GM-CSF与其他造血因子的配伍、动员外周血干细胞、在骨髓移植中的应用、以及由于GM-CSF应用不当引起的造血衰竭等方面的研究还有待进一步深入。

参考文献：

- [1] Dranoff G, Crawford AD, Sadelain M, et al. Involvement of granulocyte-macrophage colony stimulating factor in pulmonary homeostasis[J]. Science, 1994, 264: 713-716.
- [2] Metcalf D, Elliott MJ, Nicola NA. The excess numbers of peritoneal in granulocyte macrophage colony-stimulating factor transgenic mice are generated by local proliferation[J]. J Exp Med, 1991, 175: 877-884.
- [3] Nishijima I, Nakahata T, Watanabe S, et al. Hematopoietic responses in human granulocyte-macrophage colony stimu-

lating factor (GM-CSF) receptor transgenic mice injected with human GM-CSF [J]. Blood, 1997, 90: 1031-1038.

[4] Muench MO, Laurent H, Bettina P, et al. Differential effects of interleukin-3, interleukin-7, interleukin-15, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor in the generation of natural killer and B cells from primitive human fetal liver progenitor[J]. Exp Hematol, 2000, 28: 961-973.

[5] Battaglia A, Fattorossi A, Pierelli L, et al. The fusion protein MEN11303 (granulocyte macrophage colony stimulating factor/ erythropoietin) acts as a potent inducer of erythropoiesis[J]. Exp Hematol, 2000, 28: 490-498.

[6] Escribano S, Cuenllas E, Gaitan S, et al. Delayed neutrophil apoptosis after total body irradiation in mice. The role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in neutrophil function [J]. Exp Hematol, 1998, 26: 942-949.

[7] Chang CM, Elliott TB, Dobson ME, et al. Ionizing radiation and bacterial challenge alter splenic cytokine gene expression[J]. J Radiat Res (Tokyo), 2000 , 41(3): 259-277.

[8] Fedorocko P, Egyed A, Vacek A, et al. Irradiation induces increased production of haemo-poietic and proinflammatory cytokines in the mouse lung[J]. Int J Radiat Biol, 2002 , 78 (4): 305-313.

[9] Nothdurft W, Kreja L, Selig C, et al. Acceleration of hemopoietic recovery in dogs after extended-field partial body irradiation by treatment with colony-stimulating factors : rhG-CSF and rhGM-CSF [J] . Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1997, 37(5): 1145-1154 .

[10] Nothdurft W, Selig C, Flidner TM, et al. Haematological effects of rhGM-CSF in dogs exposed to total-body irradiation with a dose of 2.4 Gy[J]. Int J Radiat Biol, 1992, 61(4) : 519-531.

[11] Patchen ML, Fischer R, Macvittie TJ, et al. Mast cell growth factor (C-kit ligand) in combination with granulocyte-macrophage colony stimulating factor and interleukin-3: in vivo hemato-poietic effects in irradiated mice compared to in vitro effects[J]. Biotherapy, 1993, 7(1): 13-26 .

[12] Hartong SC, Neelis KJ, Visser TP, et al. Lack of efficacy of thrombopoietin and granulocyte-macrophage colony stimulating factor after total body irradiation and auto-logous bone marrow trans-plantation in Rhesus monkeys [J]. Exp

(上接第 37 页)

及血小板计数均开始渐进性恢复。血红蛋白的数值从大约170 g/L降至100 g/L。 血红蛋白的数量达到最低值后,网织红细胞数开始增加,并持续了大约1个月的时间。 淋巴细胞下降到大约 500 时开始逐渐恢复。血清免疫球蛋白水平大致正常。第1天的骨髓穿刺检查显示增生下降,红系细胞减少,一些巨核细胞形态异常。

表 3 患者 C 的血液学参数

	9月30日*	10月20日**
血红蛋白(g/L)	175	116
淋巴细胞($\times 10^9/L$)	8.0	5.5
中性粒细胞($\times 10^9/L$)	12.2	1.05

* 入院当天; ** 中性粒细胞数降至最低值的时间

受照后第2天,患者的血清淀粉酶升高至1 094 IU/L, 并且通过同功酶分析证实其主要来自唾液;尿酸值与他以前的数值相比,大约升高了10 mg/L。虽然他在整个病程中基本上没有出现过明显的感染,但他的CRP(C反应蛋白)以及血沉的数值出现过一过性的升高,惟一可能的感染灶是牙龈。在事故当天出现了一过性的缺氧(氧分压:62.6 mmHg, 1mmHg=133.322Pa),为此通过面罩给氧。缺氧可能

与其CT所见的肺间质性水肿有关。病人出现斑片状的脱发,胡须生长缓慢,口腔黏膜脆性增加,以至于出现局灶性、无痛性的口腔黏膜缺损。

2.3 治疗方案

患者C一直在NIRS住院治疗,并且没有接受造血干细胞移植治疗。最初所采用的治疗方案与另两例患者基本相同。为了维持他身体内体液的均衡,采用了在中心静脉压力监视器监测下静脉滴注电解质及血浆。使用了促进其骨髓功能恢复和预防感染的方法,包括应用G-CSF、胃肠道灭菌(直至其粪便结果阴性为止),必要时预防性地使用抗真菌以及抗病毒的药物并采取逆向隔离措施。应用己酮可碱改善患者的微循环,并应用谷氨酰胺,以促进其肠上皮的修复。患者已于1999年12月20日出院,目前仍在门诊继续随诊治疗。

参考文献:

[1] Hirohiko TSUJII, Makoto AKASHI . International symposium on the criticality accident in Tokaimura medical aspects of radiation emergency proceedings [C].Chiba(Japan) : NIRS14-15 ,2000. 211-276.