

急性辐射损伤的细胞因子联合治疗研究进展

邢爽 李明 黄海潇 罗庆良

【摘要】 细胞因子对急性辐射损伤的治疗作用日益受到重视,尤其是造血生长因子抗辐射作用的研究取得了长足进展。但随着照射剂量的增加,造血干/祖细胞大量死亡及皮肤和胃肠道等非造血系统损伤加重,单一的细胞因子难以逆转严重损伤,因此细胞因子的联合应用成为必然。当前,细胞因子联合治疗急性辐射损伤的研究主要集中于造血生长因子及抗凋亡细胞因子联合应用效果的评价,结果提示,照射后早期细胞因子联合应用是事故性辐射损伤的有效治疗措施。

【关键词】 辐射损伤;细胞因子;造血生长因子

【中图分类号】 Q691, R818.05 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2008)01-0047-04

Cytokines combination in acute radiation injury management

XING Shuang, LI Ming, HUANG Hai-xiao, LUO Qing-liang

(Department of Experimental Therapy of Radiation Sickness, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

【Abstract】 Cytokine-based treatment was well applied to manage acute radiation injury in recent years. Unfortunately, efficacy of single cytokine was reduced because of multiple organs severe injury caused by high dose irradiation. It is the rationale for cytokines combination. Anti-radiation efficacy of cytokines combination were reviewed, especially hematopoietic growth factors and antiapoptotic cytokines combined in acute radiation injury management were documented. Emergency cytokines combination would be an alternative for acute radiation injury treatment.

【Key words】 Radiation injuries; Cytokines; Hematopoietic growth factors

随着科学技术的发展和进步,核能技术的运用越来越广泛,但由于操作不当或其他原因,事故性急性辐射损伤时有发生,于是细胞因子对急性辐射损伤的治疗作用日益受到重视。研究证明,许多细胞因子如粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、白细胞介素-11 (interleukin-11, IL-11)、血小板生成素(thrombopoietin, TPO)、红细胞生成素(erythropoietin, EPO)等均具有抗辐射损伤的作用,它们或阻止造血细胞凋亡,或加速细胞增殖、分化,增强机体免疫,从而促进受损机体恢复。但是,随着照射剂量的增加,造血干/祖细胞大量死亡及皮肤和胃肠道等非造血系统损伤加重,此时单一的细胞因子治疗势单力薄,难以逆转病情发展。因此,在急性辐射损伤治疗研究中,细胞因子的联合应用成为必然。

1 不同造血生长因子(hematopoietic growth factors, HGFs)的联合应用

辐射所致的损伤尤其是大剂量照射所引起的重症急性辐射损伤往往涉及多组织、多器官,病理生理学过程复杂,临床救治困难^[1,2]。造血和免疫系统严重损伤诱发的出血、感染及多脏器功能衰竭是导致重症急性辐射损伤患者临床救治失败的主要原因。因此,促进造血与免疫功能的恢复与重建一直是放射医学关注的重点。事故性大剂量照射后体内仍有造血干/祖细胞残留,但其数量严重减少且功能受损,这为 HGFs 的应用提供了物质基础和客观依据^[3]。然而,由于有些细胞因子在辐射损伤治疗中作用靶标相对单一,如 G-CSF、TPO 和 EPO 分别能促进髓系、巨核系和红系造血的恢复,单一的细胞因子却难以逆转重症急性辐射损伤患者各系造血的严重损伤,因此应考虑将作用于不同细胞发育阶段或系列的 HGFs 配合使用,通过它们的共同作用而加速患者造血功能恢复。目前,用于治疗急性

基金项目:“十一五”全军医药卫生科研项目(06Z064)

作者单位:100850 北京,军事医学科学院放射与辐射医学研究所放射病实验治疗研究室

通信作者:罗庆良(E-mail:luoqingliang52@yahoo.com.cn)

辐射损伤的 HGFs 主要有粒-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、干细胞因子 (stem cell factor, SCF)、Flt-3L (由 T 细胞和基质细胞产生的集落刺激因子)、G-CSF、IL-1、IL-3、IL-6、IL-11、EPO 和 TPO 等, 组合方式主要有以下两种。

1.1 作用于同系细胞的不同发育阶段

1.1.1 GM-CSF+G-CSF

GM-CSF 可以促进较早期造血祖细胞的增殖和分化, 并维持造血祖细胞和成熟粒细胞及单核巨噬细胞的存活; G-CSF 主要作用于分化后期细胞, 在促进骨髓粒细胞巨噬细胞集落形成单位 (colony-forming unit-granulocyte macrophage, CFU-GM) 形成的同时诱导中性粒细胞终末分化并增强中性粒细胞功能。将二者联合应用可加速受致死或超致死剂量照射小鼠粒细胞的生成与功能恢复。然而, 由于 GM-CSF 的不良反应, 因此近年来几乎不再采用。

1.1.2 IL-11+TPO

IL-11 是一种多效性的 HGFs, 在早期阶段促进巨核系祖细胞的分化和成熟, 增加外周血中血小板数; TPO 则主要是促进巨核细胞的细胞质成熟, 从而加速血小板的生成。受 10 Gy ^{137}Cs γ 射线照射的 C57BL/6J 小鼠于照射后 2 h 给予 IL-11+TPO 治疗, 动物 30d 存活率明显高于单因子组, 并且二者在刺激造血恢复方面有协同作用^[4]。但是, 一般不建议将二者联合应用, 以防止造血干/祖细胞池耗竭。此外, TPO 可以刺激血小板的活化, 可能导致血栓的形成。

1.2 作用于不同细胞系

1.2.1 TPO+G-CSF

巨核细胞生长与发育因子 (megakaryocyte growth and development factor, MGDF) 与 TPO 相同, 可促进血小板的形成。研究表明, 聚乙二醇化重组 MGDF 联合重组人 G-CSF (recomb-inant human G-CSF, rhG-CSF) 治疗受 7.0 Gy γ 射线照射的恒河猴, 促进血小板恢复的效果不亚于 TPO, 而且促进红细胞和中性粒细胞恢复的效果较单独 G-CSF 好^[5]。Karen 等^[6]报道, 用 rhTPO+rhG-CSF 治疗 5.0 Gy X 射线照射的恒河猴, 结果表明, 联合用药组外周血小板数、白细胞数、网织红细胞数、血红蛋白、骨髓有核细胞数、CD34⁺细胞数、CFU-GM 和红系爆

式集落形成单位均明显高于 rhTPO 或 rhG-CSF 单因子治疗组。

1.2.2 IL-11+G-CSF

IL-11 和 G-CSF 二者联用可同时加速外周血小板和白细胞的恢复, 从而起到抗出血和抗感染的作用。用 rhIL-11+rhG-CSF 治疗致死剂量照射猴或犬, 照射后 45 d 治疗组动物全部活存, 一般状况和外周血象基本恢复正常, 骨髓增生活跃, 而照射对照组猴于照射后 12~21 d 全部死亡、照射对照大于 7~13 d 全部死亡^[7,8]。此外, rhIL-11+ rhG-CSF 体内应用能延长同种异基因骨髓移植后受体鼠的生存时间, 降低死亡率, 减少移植宿主病的发生率并降低其严重程度, 联合应用优于单因子作用, 其机制可能与受者体内 T 细胞向 Th2 细胞极化、肿瘤坏死因子 α 等炎性介质降低有关^[9]。此结果提示, rhIL-11+rhG-CSF 用于诱导供者免疫耐受方面可能发挥协同作用, 将有利于重症辐射损伤后的骨髓移植。

1.2.3 IL-3+GM-CSF

用 rhIL-3+rhGM-CSF 联合治疗 3.5 Gy γ 射线照射猴, 外周血白细胞数明显高于单因子治疗组, 白细胞数<50%的持续时间缩短, 骨髓 CFU-GM 数显著升高^[10]。崔玉芳等^[11]观察了 rhIL-3 和 rhGM-CSF 单用或联用对 3.0 Gy γ 射线照射猴外周血淋巴细胞的防护作用, 结果显示, rhIL-3 和 rhGM-CSF 联用组的外周血淋巴细胞数量及 T 细胞、Th 细胞数较单独 rhIL-3 或 rhGM-CSF 明显升高。以上结果提示, IL-3+GM-CSF 不仅能促进受照射机体造血功能恢复, 还促进免疫功能恢复。

此外, G-CSF 或 GM-CSF 与造血辅助因子如 IL-3、IL-6、IL-18 等同时应用也有一定的辐射防护作用。

2 HGFs 与其他细胞因子联合应用

大剂量照射除导致造血系统严重损伤外, 消化、免疫和神经系统也有不同程度的损伤^[2], 提示 HGFs 应与其他能促进胃肠道或免疫系统恢复的细胞因子联合应用。

体外实验表明, SCF+Flt-3L+TPO+IL-3 (SFT3) 四因子联用可使受 2.5 Gy 和 4.0 Gy 照射的 CD34⁺细胞凋亡率分别降低 15% 和 12%, 而各因子单用时

却无此保护作用;此外, SFT3 培养 7 d 后 CD34⁺细胞增加 4.3 倍, 并分化成巨核系和中性粒细胞系前体细胞^[12]。结果提示, 早期应用有抗凋亡作用的细胞因子可在防护造血干/祖细胞辐射损伤过程中起关键作用。

Hérodin 等^[13]用 SFT3 四因子或 SFT3 + 基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1) 五因子联合治疗 8.0 Gy γ 射线照射小鼠, 30 d 存活率分别提高 73% 和 79%, 而单一 TPO 或 SDF-1 治疗小鼠的 30 d 存活率仅提高 50% 和 21%, SCF + Flt-3L + TPO 三因子组仅提高 42%。在上述实验的基础上, Drouet 等^[14]给 5 Gy γ 射线照射猴一次性静脉注射 SFT3, 结果 4 只动物无一发生血小板减少症, 仅一只实验猴发生短暂性粒细胞减少, 而照射对照组 4 只猴在照射后 5~12 d 均发生粒细胞减少症, 照后 5~31 d 发生血小板减少症; SFT3 治疗猴 0~90 d 外周血粒细胞、血小板、白细胞和红细胞数显著高于照射对照组; 照射后 24 h 和 4 d 治疗猴骨髓细胞增殖能力受到明显保护, 15 个月长期培养启动细胞显示, 造血干细胞池已无受损迹象。此外, 还观察到 SFT3 对 7.0 Gy γ 射线照射猴的部分保护作用^[15]。

基于上述实验结果, 有人提出以 SFT3 为主体的紧急抗凋亡细胞因子联合 (emergency anti-apoptotic cytokine combination, EACK) 的概念。辐射后早期造血细胞凋亡在造血干细胞的损耗中占主导地位, EACK 可以保护这些细胞免于死亡并进一步刺激包括红系在内的各系造血干/祖细胞持续增殖与分化。动物实验证明, SFT3 是目前最有效的细胞因子组合, 尤其对血小板减少症的治疗显示出重要作用^[15,16]。而在临床上比较推崇的因子组合是 G-CSF + EPO/SCF。因此, Hérodin 等^[17]比较了 SCF + EPO + 聚乙二醇化-G-CSF (SEG) 和 SFT3 的疗效: 9.0 Gy ^{60}Co γ 射线照射 B6D2F1 小鼠后早期腹腔注射 SFT3 或 SEG, 30 d 动物存活率分别为 60% 和 55%, 虽然 SEG 与 SFT3 在提高动物存活率方面没有显著性差异, 但照后 300 d 的骨髓集落培养结果显示, SEG 组造血活性明显下降, 提示此组细胞因子照后早期应用时是以损耗长期造血能力来维持早期动物存活率的。因此, SEG 似乎不宜用于照后早期治疗。

近年来的研究发现, 多脏器功能障碍和多器官功能衰竭常常是急性放射病患者死亡的重要原因^[18]。为探讨细胞因子在防止重症急性辐射损伤患者发生多脏器功能障碍或多器官功能衰竭中的作用, 将 SFT3 与角质细胞生长因子联合应用, 结果, 9.0 Gy ^{60}Co γ 射线照射 B6D2F1 小鼠的 30 d 和 100 d 的存活率比 SEG、SFT3 组至少增加 15%, 然而其骨髓细胞集落生成率的变化却不大^[17]。其主要原因可能在于角质细胞生长因子对胃肠道和胸腺上皮具有保护作用, 而对维持骨髓长期造血无明显促进作用^[19,20]。

为模拟事故性辐射损伤患者的救治, 探讨延迟给予细胞因子组合的治疗效果, 实验发现, 9.0 Gy ^{60}Co γ 射线照射 B6D2F1 小鼠后 48 h, 注射 SFT3 或 SFT3 + EPO/角质细胞生长因子/透明质酸却不能提高动物存活率。这可能是造血干细胞凋亡在照射后 48 h 基本结束的缘故, 提示抗凋亡作用的细胞因子应在照后尽早用药。然而, 5.0 Gy 照射恒河猴后 48 h 单次注射 SFT3 却仍然有保护作用^[15]。两组实验中呈现的差异可能与照射剂量和动物种属有关。

虽然许多实验均已证实 SFT3 四因子联用可明显提高受照动物存活率, 但在确保受致死剂量照射患者存活的同时保证细胞不发生癌变或染色体变异是评价辐射防护药物的一个重要指标, 尤其是抗凋亡细胞因子是否会诱发细胞癌变是 EACK 应用的关键。Hérodin 等^[13]报道, 经 8.0 Gy ^{137}Cs γ 射线照射的雄性 B6D2F1 小鼠接受 SFT3 治疗后一年内未发生明显的癌症, 这为 EACK 的进一步研究带来了希望^[13]。

3 问题与展望

细胞因子具有多效性和相互作用的特点, 提示细胞因子联用在治疗急性辐射损伤过程中可能有潜在不良反应, 如长期给予 HGFs 可能诱发促炎性反应或免疫原性反应。HGFs 持续使用是否会导致造血干/祖细胞池耗竭, 抗凋亡细胞因子是否会诱发细胞癌变或染色体畸变等目前还不十分清楚。虽然多细胞因子联用的实验研究取得了一定进展, 但如何优化配合方案、明确用药时机及用药剂量、以及确定临床试验效果等都需要深入探讨。此外, 所用

细胞因子多为生物工程制剂,多细胞因子联用时的稳定性及成本问题也不容忽视。

目前,多细胞因子的联用主要停留在细胞和动物实验水平,各细胞因子的辐射防护作用机制及联用时相互影响的机制了解不多,随着对其作用机制的深入探讨,将有助于细胞因子配伍方案的建立与优化。目前采用的配伍多为 HGFs 或具有早期抗凋亡作用的细胞因子,若能将其与作用于微环境的细胞因子或基质细胞联用,或与促进上皮、内皮等组织或免疫系统恢复的细胞因子联用,则可能为急性辐射损伤的治疗提供新的选择。

参 考 文 献

- [1] Li Z, Wenyi Z, Liang'an Z. General situation of radiation accidents in China[J]. Radiat Prot Dosimetry, 2007, 124(2): 177-180.
- [2] Weisdorf D, Chao N, Waselenko JK, et al. Acute radiation injury: contingency planning for triage, supportive care, and transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(6): 672-682.
- [3] 罗庆良,从玉文,郝静,等.造血因子与急性放射病[J].解放军医学杂志,2005,30(3): 186-190.
- [4] Van der Meeren A, Mouthon MA, Gautgler MH, et al. Administration of recombinant human interleukin-11 after supralethal radiation exposure promotes survival in mice: interactive effect with thrombopoietin[J]. Radiat Res, 2002, 157(6): 642-649.
- [5] Farese AM, Hunt P, Grab LB, et al. Combined administration of recombinant human megakaryocyte growth factor enhances multilineage hematopoietic reconstitution in nonhuman primates after radiation induced marrow aplasia[J]. J Clin Invest, 1996, 97(9): 2145-2151.
- [6] Karen KJ, Dubbelman YD, Luo QL, et al. Simultaneous TPO and G-CSF treatment following cytoreductive treatment of rhesus monkeys prevents thrombocytopenia, accelerates platelet and red cell reconstitution, allevates neutropenia and promotes the recovery of immature bone marrow cells[J]. Exp Hematol, 1997, 25(10): 1084.
- [7] 郝静,罗庆良,熊国林,等. rhIL-11 加 rhG-CSF 对 8.0Gy 照射猴的治疗作用[J]. 解放军医学杂志,2001,26(10): 730-732.
- [8] 邢爽,黄海潇,熊国林,等.重组人粒细胞集落刺激因子和重组人白介素 11 对 3.5Gy 照射狗的治疗作用[J]. 军事医学科学院院刊,2007,31(4): 394-396.
- [9] 赵杰,赵翔宇,黄晓军.白细胞介素 11 联合粒细胞集落刺激因子对小鼠异基因骨髓移植后移植宿主病影响的研究[J]. 中华医学杂志,2005,85(35): 2497-2503.
- [10] Farese AM, Williams DE, Seiler FR, et al. Combination protocols of cytokine therapy with interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in a primate model of radiation-induced marrow aplasia[J]. Blood, 1993, 82(10): 3012-3018.
- [11] 崔玉芳,杨红,罗庆良,等. rhIL-3 和 rhGM-CSF 对 γ 线照射猴外周血淋巴细胞损伤的防护作用研究[J]. 中国危重病急救医学,2004,16(1): 22-25.
- [12] Drouet M, Mourcin F, Grenier N, et al. The effects of ionizing radiation on stem cells and hematopoietic progenitors: the place of apoptosis and the therapeutic potential of anti-apoptosis treatments[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2002, 80(7): 700-709.
- [13] Hérodin F, Bourin P, Mayol JF, et al. Short term injection of antiapoptotic cytokine combinations soon after lethal gamma irradiation promotes survival[J]. Blood, 2003, 101(7): 2609-2616.
- [14] Drouet M, Mourcin F, Grenier N, et al. Single administration of stem cell factor, Flt-3 ligand, megakaryocyte growth and development factor, and interleukin-3 in combination soon after irradiation prevents nonhuman primates from myelosuppression: long-term follow-up of hematopoiesis[J]. Blood, 2004, 103(3): 878-885.
- [15] Hérodin F, Roy L, Grenier N, et al. Antiapoptotic cytokines in combination with pegfilgrastim soon after irradiation mitigates myelosuppression in nonhuman primates exposed to high irradiation dose[J]. Exp Hematol, 2007, 35(8): 1172-1181.
- [16] Hérodin F, Drouet M. Cytokine-based treatment of accidentally irradiated victims and new approaches[J]. Exp Hematol, 2005, 33(10): 1071-1080.
- [17] Hérodin F, Grenier N, Drouet M. Revisiting therapeutic strategies in radiation casualties[J]. Exp Hematol, 2007, 35(4 suppl 1): 28-33.
- [18] Meineke V, Flidner TM. Radiation-induced multi-organ involvement and failure: challenges for radiation accident medical management and future research[J]. BJR Suppl, 2005, 27: 196-200.
- [19] 邢爽,黄海潇,罗庆良.角质细胞生长因子对上皮细胞损伤的防护作用[J]. 国外医学药学分册,2006,33(2): 97-99.
- [20] Alpdogan O, Hubbard VM, Smith OM, et al. Keratinocyte growth factor (KGF) is required for postnatal thymic regeneration[J]. Blood, 2006, 107(6): 2453-2460.

(收稿日期: 2007-10-09)