

## IL-11在半相合混合骨髓移植造血恢复中作用的研究

申 红<sup>1</sup>,汪运山<sup>1</sup>,唐天华<sup>2</sup>,任海全<sup>2</sup>,姜国胜<sup>2</sup>

中图分类号: R818 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)04-0394-01

**【摘要】** 目的 观察白介素-11 IL-11在活化半相合混合骨髓移植小鼠造血恢复中的作用。方法 以急性放射病 615小鼠模型为受鼠, 615×C57BL/6杂交 F<sub>1</sub>代小鼠为半相合供鼠。半相合鼠骨髓和脾细胞中混合一定比例的同基因脾细胞, 进行半相合混合骨髓移植。观察移植后小鼠死亡率、白细胞系造血重建、骨髓集落形成、脾结节及病理学改变。结果 加用 IL-11的半相合混合骨髓移植组(供受体小鼠脾细胞比例 2:1)为外周血白细胞及骨髓集落数量明显高于未加用 IL-11组。结论 IL-11可以明显促进半相合混合骨髓移植小鼠造血恢复。

**【关键词】** 骨髓移植; 半相合; GVHD反应

Effect of IL-11 on Hematopoiesis in Mice with Half-matched Mixed Bone Marrow Transplantation SHEN Hong WANG Yun-shan TANG Tian-hua et al. Jinan Centre Hospital Jinan 250014 China

**【Abstract】** Objective To observe effect of IL-11 on hematopoiesis in mice with half-matched mixed BMT. Methods Mice 615 with acute radiation disease were used as recipient mice model with 615×C57BL/6 hybrid F<sub>1</sub> mice being half-matched donor mice. Half-matched murine bone marrow and spleen cells mixed with certain percent of syngeneic spleen cells (2:1) and underwent mixed half-matched BMT to observe their death rate, hematopoietic recovery of WBC lineage, GM-CFU, spleen node count and pathological changes. Results The half-matched mixed 2:1 BMT group with high percentage of syngeneic spleen cells could lessen the extent of GVHD, as manifested by the quick recovery of peripheral blood WBC count and bone marrow GM-CFU formation. Conclusion IL-11 could promote the recovery of hematopoiesis in half-matched mixed BMT mice.

**【Key words】** Bone Marrow Transplantation (BMT); Half-matched BMT; Graft Versus Host Disease

异基因骨髓移植 (Allo-BMT) 是治疗或治愈白血病或 MDS 等患者的重要手段<sup>[1]</sup>。随着其预处理和移植方案的改进, 以及辅助药物的应用, 已使约 50% 患者获得长期治愈存活。但其最大的障碍仍是移植物抗宿主病 (GVHD), 并成为移植相关死亡的主要原因<sup>[2]</sup>。多数实验结果已证明去除供体骨髓中 T 细胞可以减少 GVHD 反应, 但随后发现白血病的复发率和移植失败率也明显升高<sup>[3,4]</sup>。进一步证明其归因于异基因骨髓中的 T 细胞的去除, 因为它是移植物抗白血病 (GVL) 的主要效应细胞<sup>[5]</sup>。虽然发现供受体混合脾细胞可以减轻 GVHD 反应, 受体鼠造血恢复慢仍然是影响骨髓移植效果的原因之一。本研究则针对性探讨 IL-11 在活化半相合骨髓移植小鼠的造血恢复作用。

### 1 材料与方法

1.1 实验动物 受体鼠 615 小鼠 (H-2k), 18~20 只雄性 (中国医学科学院动物中心提供)。半相合供鼠为 F<sub>1</sub> 代 615×C<sub>57</sub>BL/6 杂交鼠, 雌性。异基因鼠为 C<sub>57</sub>BL/6 小鼠 (H-2b)。辐照受鼠: <sup>60</sup>Co 照射剂量率为 10 cGy/min, 总剂量 8.0 Gy 于山东省农科院辐射中心进行。

1.2 骨髓移植及分组 半相合骨髓移植组: 供体脾细胞 5×10<sup>6</sup> 与 615×C<sub>57</sub>BL/6 杂交 F<sub>1</sub> 代鼠骨髓细胞 1.0×10<sup>7</sup> 移植给 615 鼠; 半相合 2:1 混合组: 供受体 2:1 混合脾细胞 5×10<sup>6</sup> 与 615×C<sub>57</sub>BL/6 杂交 F<sub>1</sub> 代鼠骨髓细胞 1.0×10<sup>7</sup> 移植给 615 鼠。于照射后当天开始小鼠注射等量的 rhIL-11 溶剂。IL-11 治疗半相合 2:1 混合组: 供受体 2:1 混合脾细胞 5×10<sup>6</sup> 与 615×C<sub>57</sub>BL/6 杂交 F<sub>1</sub> 代鼠骨髓细胞 1.0×10<sup>7</sup> 移植给 615 鼠后, rhIL-11 (1.8 ml/支, 蛋白含量为 1.2 mg/ml) 给药前用溶剂临时配制制成所需浓度, 每次皮下注射 300 μg/(kg·d), 小鼠注射等量

的溶剂, 于照射后当天开始给药。

1.3 观察与检测指标 ①一般 GVHD 反应: 脱毛、体位、大小便。②常规病理学检查。③ 30 d 死亡率观察。④外周血象的变化: 按常规方法进行, 观察移植后 7、14 和 21 d 时的外周血象变化。⑤骨髓 GM-CFU 测定: 按实验室常规半固体琼脂培养法进行, 结果以集落/1×10<sup>6</sup> 表示。⑥小鼠脾结节测定。移植后 12 d 拉颈处死小鼠, 取出整体脾脏, 立即放入 Bouin 氏液中固定, 0.5 h 后, 解剖镜下计数脾结节。

### 2 结果

#### 2.1 GVHD 反应

2.1.1 一般状况 半相合混合 2:1 组 GVHD 反应较轻, 以弓背体位及腹泻为主。根据皮肤、脾脏、肝脏和小肠的病理改变, 半相合混合 2:1 组为 GVHD Ⅱ级反应。

2.3 受体鼠外周血白细胞的变化 对不同受体鼠外周血白细胞的变化比较后, IL-11 半相合混合 2:1 组白细胞升高明显, 高于溶剂对照半相合混合 2:1 组 (P>0.05)。两组均高于半相合对照组。说明 IL-11 可以促进 2:1 的半相合混合骨髓移植的造血恢复, 减少死亡率 (参见表 1)。

2.4 受体鼠骨髓 GM-CFU 的变化 受体鼠接受不同骨髓移植后, 均有较高水平的 GM-CFU 生成率。其中以 IL-11 半相合混合 2:1 组为最高, 溶剂对照半相合混合 2:1 组次之, 半相合对照组较低 (参见表 1)。

#### 2.5 GM-CFUc 及外周血细胞测定 (表 1)

2.6 受体鼠脾脏结节的变化 移植后第 14 天, 观测各实验组脾脏结节点数, 半相合、半相合混合 2:1 和 IL-11 半相合混合 2:1 组的脾结节点数分别为 (66±7.5)/脾膈面、(84±11.7)/脾膈面、(129±31.2)/脾膈面。从受体鼠脾脏结节点的计数结果发现, IL-11 半相合混合 2:1 组结节点数最高, 半相合混合 2:1 组次之。两组明显高于半相合对照组。说明 IL-11 可以明显促进受体鼠造血恢复。

作者单位: 1 济南市中心医院中心实验室, 山东 济南 250014; 2 山东医学科学院基础所

作者简介: 申红 (1959~), 女, 山东济南人, 副主任技师, 从事细胞生物及临床检工作。

(下转第 396 页)

表 1 暴露组 and 对照组染色体畸变率情况比较

组别	例数	染色体畸变率		微核细胞率	
		阳性人数	阳性率(%)	阳性人数	阳性率(%)
暴露组	342	12	3.51	44	12.87
对照组	280	2	0.72	3	1.07

2.2 受照剂量、工龄、岗位与淋巴细胞微核率、染色体畸变阳性率的关系

2.2.1 工作岗位受照剂量监测 测得年人均受照剂量最高 26.36mSv/a 最低 2.86mSv/a 平均为 6.73mSv/a。年人均受照剂量最高的岗位为工业探伤和核子秤(分别为 13.78mSv/a 和 11.89mSv/a) 最低为放射性仪器维修(2.48mSv/a), 医用 X 射线岗位 3.25 mSv/a 料位计 9.54 mSv/a。按照国家标准<sup>[1]</sup>(年人均有效剂量< 20 mSv/a 单一年份不应超过 50 mSv/a) 监测结果表明共有 6 年人均受照剂量超过国家标准(> 20 mSv/a) 占总检测人数的 1.75%。

2.2.2 年人均受照剂量与微核阳性检出率、染色体畸变阳性率的比较(表 2) 经统计分析, 微核阳性检出率与年人均受照剂量之间呈线性正相关关系( $r=0.9445$ ,  $Y=0.0286+0.0047X$ ,  $P<0.01$ ); 染色体畸变阳性率与个人年受照剂量也呈线性正相关关系( $r=0.9337$ ,  $Y=0.0022X-0.0111$ ,  $P<0.05$ )。说明

(上接第 394 页)

表 1 BMT 后 GM—CFU<sup>c</sup>及外周血细胞测定

分组	实验动物(只)	第 7 天		第 14 天		第 21 天	
		WBC ( $\times 10^9$ )	CFU—GM (集落/ $10^5$ )	WBC ( $\times 10^9$ )	CFU—GM (集落/ $10^5$ )	WBC ( $\times 10^9$ )	CFU—GM (集落/ $10^5$ )
半相合	10	0.33 $\pm$ 0.04	24.1 $\pm$ 3.2	0.83 $\pm$ 0.12	53.0 $\pm$ 4.7	6.37 $\pm$ 0.45	75.2 $\pm$ 6.7
半相合混合 2:1	10	0.47 $\pm$ 0.05	36.5 $\pm$ 5.3	1.05 $\pm$ 0.26	66.3 $\pm$ 4.7	9.18 $\pm$ 0.61	93.3 $\pm$ 6.9
IL—11 半相合混合 2:1	10	0.59 $\pm$ 0.04	46.8 $\pm$ 5.6	1.51 $\pm$ 0.23	78.0 $\pm$ 5.2	12.53 $\pm$ 0.61	102.7 $\pm$ 6.2
正常对照	10	11.5 $\pm$ 0.74	116.0 $\pm$ 8.2	1.3 $\pm$ 0.73	117.6 $\pm$ 8.5	11.3 $\pm$ 0.77	115.0 $\pm$ 9.2

3 讨论

骨髓移植过程中发生的 GVHD 反应关系到异基因 BMT 的成功与否, 所以, 国内外学者根据 GVHD 反应的发生机制, 在如何防止 GVHD 方面进行了较多的探索与实验<sup>[3][4]</sup>, 并取得了某些进展。如经过单克隆抗体等方法清除移植骨髓中的 T 细胞的方法<sup>[1]</sup>。虽然较多的实验结果证实该方法的确可以减少或者消除 GVHD 反应, 但伴随移植治疗白血病失败或复发率升高的事实又不支持单纯清除 T 细胞的移植方式<sup>[3][4]</sup>。经过进一步的研究与尝试, 证实少量多次骨髓移植<sup>[7]</sup>及混合骨髓移植<sup>[8][9]</sup>等方法可以不同程度的减轻 GVHD 反应。但是, 在减少 GVHD 反应的不同实验组中, 其造血功能的恢复仍然缓慢于同基因移植组。因此, 如何促进骨髓移植患者或动物模型造血恢复, 成为国内外学者关注的重点。本实验在证实半相合骨髓移植减轻 GVHD 反应基础上, 又借鉴其他学者利用混合供受体骨髓细胞移植方法可以减少 GVHD 反应的结果<sup>[9]</sup>, 以及白细胞介素—11(IL—11)可促进骨髓祖细胞的增殖和分化, 明显升高外周血小板数, 加速肿瘤患者放、化疗后外周血象恢复的事实<sup>[10]</sup>。将半相合混合骨髓移植与 IL—11 治疗相结合, 进行半相合混合骨髓移植造血恢复研究。

结果表明作为对照的半相合骨髓移植发生明显 GVHD 反应, 而半相合混合 2:1 组 GVHD 反应明显减弱。外周白细胞数量增高, 骨髓 GM—CFU 集落形成较多。而 IL—11 半相合混合 2:1 组在较低水平 GVHD 反应的同时, IL—11 可以明显促进造血功能的恢复, 表现为高于半相合混合 2:1 组的外周血白细胞总数和骨髓 GM—CFU 集落形成数, 以及较高水平的脾结节数。因此, 研究结果初步表明供受体脾细胞在一定合适比例下, 可以明显的减少移植排斥反应。合并 IL—11 治疗可以在不增加 GVHD 反应的同时, 促进造血恢复。为进一步临床治疗模式的应用, 提供了指导作用。

随着年人均受照剂量的增加, 二者的阳性率随之相应升高。

表 2 年人均受照剂量和微核阳性检出率、染色体畸变阳性率之间的关系

年人均受照剂量(mSv/a)	接触射线人数	微核细胞率		染色体畸变率	
		阳性人数	阳性率(%)	阳性人数	阳性率(%)
< 5	162	15	9.25	4	2.47
~ 10	84	11	13.10	2	2.38
~ 15	66	9	13.64	2	3.03
~ 20	24	6	25.00	1	4.16
~ 25	4	2	50.00	2	50.00
~ 30	2	1	50.00	1	50.00
合计	342	44	12.87	12	3.51

2.2.3 工龄与微核阳性检出率、染色体畸变阳性率的关系(表 3) 从表中可看出, 微核阳性检出率从工龄 5a 以后急剧升高, 阳性率从 9.25% 到 13.10%, 工龄 20a 以上阳性率达到 25.00%。经统计学分析, 放射工龄< 5a 组微核阳性检出率显著高于工龄> 5a 组( $\chi^2=25.1458$ ,  $P<0.01$ ); 染色体畸变阳性率在工龄> 10a 组和工龄< 10a 组进行比较, 经用校正的  $\chi^2$  检验( $\chi^2=3.572$ ,  $0.05<P<0.1$ ); 工龄组> 5a 组和工龄< 5a 组两组比较( $\chi^2=2.999$ ,  $0.05<P<0.1$ )都还不能说明两组阳性

参考文献:

[ 1 ] 异基因骨髓移植专题笔谈。异基因骨髓移植治疗血液病 [ J ]. 中华血液学杂志, 1992 13(11): 594

[ 2 ] 罗辉, 胡盛惠, 杨平地. 清除小鼠特异性活化淋巴细胞预防移植抗宿主病的研究 [ J ]. 中华血液学杂志, 1995 16(10): 521—523

[ 3 ] BUTLURNIA GALE R P T cell depletion in bone marrow transplantation for leukemia: current results and future directions [ J ]. BMT 1988 3: 185—192

[ 4 ] PAUL J M JOHN A HANSEN C Effects of in vitro depletion of T cells in HLA—identical allogeneic marrow grafts [ J ]. Blood 1985 66: 664

[ 5 ] SYKES M HARTY M W SZOT G L IL—2 inhibits graft versus host disease promoting activity of CD4+ cells while preserving CD4 and CD8 mediated graft versus leukemia effects [ J ]. Blood 1994 83: 2560—2569

[ 6 ] GALE R P Graft—versus—host disease [ J ]. Immunol REV 1985 88: 193

[ 7 ] 项莺松, 杨如俊, 孟祥顺, 等. 小鼠骨髓程序移植的实验研究 [ J ]. 中华血液学杂志, 1998 19: 634—637

[ 8 ] ILDSIAD S T WREN S M BLUESONE J A Effects of selective T cell depletion of host and/or donor bone marrow on lymphopoietic repopulation tolerance and graft—versus—host disease on mixed allogeneic chimeras( B10<sup>+</sup> B10D2→ B10 ) [ J ]. J Immunol 1996 136: 28—33

[ 9 ] 罗辉, 杨平地, 贺福初. 混合骨髓移植的实验研究 [ J ]. 中华血液学杂志, 1998 19: 418—421

[ 10 ] HANGOC G Y N T COOPER S et al In vivo effects of recombinant interleukin—11 on myelopoiesis in mice [ J ]. Blood 1993 81: 965