

辐射小鼠 GVHD 中肺部巨噬细胞分泌细胞因子变化的研究

侯乐志¹, 芮清龙¹, 王怀明¹, 唐天华², 张玉昆², 任海泉², 马庆恒²

中图分类号: R691.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2006)03-0282-02

【摘要】目的 探讨辐射小鼠 GVHD 反应前后肺部巨噬细胞分泌细胞因子变化与意义。方法 以 C57BL/6 小鼠急性放射病为模型, 进行异基因骨髓移植, 观察移植后小鼠 GVHD 反应, 采用支气管肺泡灌注方法获取巨噬细胞, ELISA 方法测定巨噬细胞分泌 IL-1 β 和 TNF α 水平。结果 小鼠异基因骨髓移植后表现典型 GVHD 反应, 肺部巨噬细胞分泌细胞因子呈现短暂降低, 继而分泌升高的变化特点。结论 异基因骨髓移植时肺泡巨噬细胞分泌细胞因子水平与 GVHD 反应程度呈现一致性。

【关键词】GVHD; 巨噬细胞; 细胞因子

Variation of Cytokines of lung macrophage in mice with GVHD. HOU Le-zhi, RUI Qing-long, WANG Huai-ming, et al. The Central Hospital of Zaozhuang Mining Bureau, Zaozhuang 277011 China.

【Abstract】Objective To detect the modulation of production of some cytokines of lung macrophage in mice after allogeneic bone marrow transplantation. Methods IL-1 β and TNF α levels in macrophage culture supernatants were estimated by ELISA method. Results The extent of mixed lymphocyte reaction in vivo was higher in allogeneic but not in syngeneic BMT group. The peripheral blood WBC count and bone marrow CFU-GM colonies in allogeneic BMT group were lower than that in the syngeneic group. The secretion level of IL-1 β or TNF α was higher in the allogeneic group than that in syngeneic group. Conclusion The results indicated that IL-1 β and TNF α secretion play an important role in the GVHD reaction.

【Key words】GVHD; Cytokine; Lung Macrophage

急性白血病的异基因骨髓移植(ALLo-BMT)中, 移植植物抗宿主病(GVHD)成为移植死亡的主要原因之一^[1,2]。在其机理的研究方面已获得较肯定结果, 主要与供者的 T 细胞有关^[3]。

活化 T 细胞经过释放多种淋巴细胞因子, 引起组织损伤。但是, 有关 GVHD 发生的机制中, 探讨 GVHD 反应过程中肺部巨噬细胞分泌细胞因子的变化具有重要意义的报道较少。本研究在建立异基因骨髓移植 GVHD 模型基础上, 检测肺泡巨噬细胞分泌细胞因子水平变化, 以及是否参与 GVHD 过程。

1 材料与方法

1.1 实验动物 C57BL/6 小鼠(H-2b), 18~20 g, 雄性, 40 只, 中国科学院实验动物中心提供。BALB/c 小鼠(H-2d), 18~20g, 雌性, 40 只, 中国科学院实验动物中心提供。

1.2 骨髓移植方法 ①辐射小鼠: 按剂量率 11.6CGy, 总剂量 8.12Gy, 进行 C57BL/6 受体小鼠⁶⁰Co 照射。②供体骨髓单个核细胞数制备: 无菌条件下采集 BALB/c 小鼠股骨, 按 200 目筛网研磨成单个细胞悬液, 调细胞数 2×10^7 /ml。脾脏经剪切成小组织块后, 同法研磨成单个细胞, 以 Ficoll 分离单个核细胞, 调至 2×10^7 /ml。③GVHD 试验: 取供体 BALB/c 鼠骨髓细胞(1×10^7)与脾脏细胞(5×10^6)混合液, 经尾静脉注入受体 C57BL/6 辐射小鼠, 作为 GVHD 组。同时取 C57BL/6 小鼠骨髓细胞(1×10^7), 经尾静脉注入辐射后 C57BL/6 小鼠体内, 作为同基因骨髓细胞移植组。

1.3 造血功能指标测定 ①外周血白细胞计数。按本室常规进行。②骨髓 CFU-GM 测定。按本室以往报道的半固体琼脂培养方法进行。

1.4 观测指标 ①GVHD 试验: 一般状况(活动、饮食、皮毛、体位); GVHD 反应(大小便、脱毛、体位改变); 外周血白细胞; 病理学检查(肝、脾、小肠及皮肤); 30d 死亡率观察。

1.5 肺巨噬细胞分离 肺泡巨噬细胞采用传统支气管肺泡冲洗法, 以 106 巨噬细胞/ml 培养 0、1、3、5、7d(37℃, 5%CO₂, 饱和

湿度), 收集培养上清液, 1 000 g/min 离心 5 min。

1.6 上清液 IL-1 β 和 TNF α ELISA 测定 细胞培养上清中 IL-1 β ELISA 试剂盒来自 Endogen INC (Boston, MA, USA), TNF α 和 G-CSF ELISA 试剂盒来自 PHARMAGIN Co. 所用试剂已经证实无交叉反应。IL-1 β 的敏感度为 2 pg/ml, TNF α 敏感度为 4pg/ml。

1.7 统计学方法 结果表示为均数±标准差, 采用 T test 进行统计学分析。

2 结果

2.1 GVHD 反应 ①一般状况: 异基因骨髓移植组出现典型的 GVHD 反应, 如脱毛, 弓背体位及大小便次数增多等。②体内混合淋巴细胞培养: 单纯骨髓细胞移植、异基因骨髓移植¹²⁵I-UdR 摄取率(cpm/min)分别为 476.6 ± 81.4 和 785.6 ± 98.7 。单纯骨髓细胞移植 BMT 的¹²⁵I-UdR 摄取率明显低于异基因 BMT 组的($P < 0.05$)。③病理学改变: 异基因组反应符合 II~III 级。④造血功能恢复的观察: 外周血白细胞及骨髓 CFU-GM 的变化详见表 1。同基因 BMT 组外周血白细胞及骨髓 CFU-GM 数高于异基因 BMT 组。30 d 死亡率结果表现为, 异基因 BMT 组 30d 死亡率为 100%(20/20), 同基因 BMT 组为 15%(3/20), 两组差别明显($P < 0.05$)。

经统计学处理, 第 6 天时, 两实验组 WBC 或 GM-CFUc 无明显差别($P > 0.05$), 但均低于正常对照。移植后第 12 天时, 异基因组 WBC 偏低, 与同基因组比较, 其差别明显($P > 0.05$)。第 18 天时, 各组 WBC 均明显升高。但是, 异基因组 WBC 和 GM-CFUc 低于同基因组($P < 0.05$)。

2.2 GVHD 反应前后肺泡巨噬细胞分泌细胞因子变化 表 2 显示, 肺部巨噬细胞分泌细胞因子呈现短暂降低, 继而分泌升高, 与 GVHD 反应程度相关。

3 讨论

近年来, 急性白血病的异基因骨髓移植(ALLo-BMT)的研究与应用有了较大进展。然而, 主要组织相容性抗原复合屏障的存在, 使移植植物抗宿主病(GVHD)成为移植死亡的主要原因之一^[1,2]。在其机理的研究方面已获得较肯定结果, 主要与供者的 T 细胞有关^[3]。即骨髓移植后, 供者 T 细胞识别受者主要组织相容性抗原系统, 从而激活细胞毒 T 细胞。活化 T 细胞

作者单位: 1 山东省枣庄矿务局中心医院, 山东 枣庄 277011

2 山东省医学科学院 山东省中药免疫与肿瘤免疫重点实验室

作者简介: 侯乐志, 男, 山东枣庄人, 副主任医师, 从事呼吸系统疾病防治与发病机制的研究。

又释放多种淋巴细胞因子,引起组织损伤。所以减少 GVHD 是 保证移植成功的关键之一。

表 1 BMT 后 GM—CFUc 及外周血白细胞水平变化

分 组	第 6 天			第 12 天		第 18 天	
	n	WBC(× 10 ⁹)	CFU—GM(集落/10 ⁵)	WBC(× 10 ⁹)	CFU—GM(集落/10 ⁵)	WBC(× 10 ⁹)	CFU—GM(集落/10 ⁵)
同基因组	10	0.37±0.05	27.0±3.4	0.92±0.13	52.0±5.20	4.35±0.57	97.0±7.5
异基因组	10	0.28±0.07	19.0±4.7	0.66±0.18	39.8±5.2	3.16±0.51	19.3±6.9
对照组	10	10.7±0.64	106.0±7.6	10.3±0.67	107.0±9.2	11.2±0.57	112.0±8.7

表 2 GVHD 反应前后肺巨噬细胞细胞 ILβ 和 TNFα 分泌水平变化

	n	control	1d	3d	5d	7d	9d
ILβ	3	9.6±3.2	6.5±3.4	7.8±4.3	12.6±7.5	22.1±8.9	27.7±11.4
TNFα	3	6.4±3.1	5.6±2.3	6.2±4.5	17.4±6.9	20.8±8.7	25.3±7.6

但是,有关 GVHD 发生的机制比较复杂,可以涉及多种器官与组织的参与,并往往与细胞因子的变化有关。而肺部巨噬细胞可以释放多种细胞因子,其分泌水平的变化一定程度上与体内细胞因子的消长一致^[4,5]。因此,探讨 GVHD 反应过程中肺部巨噬细胞分泌细胞因子的变化具有重要意义。研究结果表明小鼠异基因骨髓移植后表现典型 GVHD 反应,肺部巨噬细胞分泌细胞因子呈现短暂降低,继而分泌升高的变化特点。表明异基因骨髓移植时肺泡巨噬细胞分泌细胞因子水平与 GVHD 反应有关。

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

[] . 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物抗宿主病的研究[] . 中华血液学杂志, 1995; 16(10): 521—523.
[3] Gale RP. Graft—versus—host disease[J] . Immunol REV, 1985, 88: 193.
[4] 陈佰义, 姜莉, 赵洪文, 等. 肺纤维化大鼠肺泡巨噬细胞释放肿瘤坏死因子—α 和血小板源细胞因子的研究[] . 中华结核和呼吸杂志, 1996, 19(4): 209.
[5] 陈雅萍, 宋志芳. 脂类介质、细胞因子与矽肺炎症、纤维化[] . 职业卫生与病伤, 1999, 14(1): 48.

(收稿日期: 2006—06—19)

【工作报告】

职业卫生工作中的健康教育

门金龙¹, 邹 薇¹, 张 超², 于锡山¹

中图分类号: R135 文献标识码: D

职业卫生工作的根本目的在于避免职业病危害因素的直接接触对工人的不良影响,预防职业病、职业多发病的发生,从而提高企业的生产效率。健康教育是通过传播与教育的方法,向全社会普及卫生科学知识,健全或改变与健康相关的行为,促进人群健康的一项事业。随着社会的发展与进步,健康教育越来越受到人们的重视,目前人群卫生知识水平较低、某些企业中职业病危害因素无法减轻或消除的情况下,在职业卫生工作中开展好健康教育工作,将成为改变职工的不卫生行为,预防或减轻职业病危害因素对职工身体健康所带来影响的有效手段。

1 职业卫生工作离不开健康教育

职业卫生是人类健康的一个重要组成部分,职业卫生是人类享有的基本权利。无病就是健康的观念是不准确的,健康是身体的、心理的及社会的完全良好状态,而不单是没有疾病或虚弱。一个人具有丰富的卫生知识,并能在个人的日常生活中改进自己的不良行为,就可以促进健康;在职业卫生工作中,预防职业危害及保护人体健康是一个问题的两个方面。健康教育则是通过宣传职业危害因素对人体产生的损害及对其预防的方法,以提高自我防护意识,从而达到促进健康的目的。

2 在职业卫生工作中开展健康教育是社会发展的需要

随着社会的发展与进步,新的职业危害因素在不断出现,三资、乡镇、个体企业以及某些新的生产工艺中,存在着发达国家的“危害转嫁”与新的职业危害因素。管理者及作业工人,只

有在正确认识这些职业危害因素的前提下,才能促使劳动环境的改善。达到预防职业危害的目的。同时对职业危害因素的预防越来越受到人们的关心与重视,这是劳动者应该享受的基本权利,《中华人民共和国职业病防治法》第四条:劳动者依法享有职业卫生保护的权利,用人单位应当为劳动者创造符合国家职业卫生标准和卫生要求的工作环境和条件,并采取措施保障劳动者获得职业卫生保护。

3 在职业卫生工作中开展健康教育是职工的需要

目前我国的经济尚不发达,许多作业环境存在严重的职业病危害因素,加之职工的卫生知识水平较低,缺乏自我保护意识,同时某些企业领导对职业卫生知识知之甚少,或为追求高额利润而忽视职工身体健康广泛开展职业卫生健康教育,可以提高职工和企业管理者的职业卫生知识水平,提高管理人员控制职业病危害因素的意识,提高作业工人的自我防护意识,从而达到促进健康的目的。

4 做好健康教育的有效途径

首先做好职业卫生知识的培训工作,使管理人员和作业工人充分了解职业病危害因素可能对人体造成的损害及其预防措施,使他们认识到职业性疾病的危害性及可预防性。最大限度的减少职业病危害因素所造成的损害。其次,建立健全职业卫生健康教育网络,让每一个管理者和作业工人都主动或被动的接受关于职业病危害因素的健康教育,从而达到对职业病危害因素的预防及促进职工的身体健康。

(收稿日期: 2005—12—30)

作者单位: 1 山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062; 2 济南市儿童医院