维普资讯 http://www.cqvip.com

22-24

维生素A缺乏对红系早期祖细胞增殖影响的研究*

(8)

儿科学院病毒室 刘 瑜** 李廷玉 王亚平 姜 蓉 瞿 平

R591.41
R556.2

提 要 采用造血祖细胞体外培养，造血生长因子生物活性检测等实验血液学技术，研究维生素A缺乏(VAD)对大鼠红系早期祖细胞(BFU－E)增殖调控的影响。结果发现，与对照组比较，VAD使BFU－E集落增殖明显减少；用VAD的脾及骨髓基质细胞培养上清液明显抑制BFU－E集落增殖。结果提示，VAD可能通过抑制造血生长因子白细胞介素3(IL－3)和粒单系集落刺激因子(GM－CSF)等表达而影响红系造血。

关键词 维生素A缺乏/大鼠；红系早期祖细胞；造血生长因子 贫血
中图分类号 R153.2

维生素A缺乏(VAD)和贫血关系的研究，为改善发展中国家营养性贫血状况提出了很好的措施，全世界广泛地用于干预治疗。但VAD引起贫血的机理尚不清楚，我们曾发现VAD引起大鼠红系祖细胞增殖分化障碍，尤其是红系早期祖细胞(BFU－E)增殖明显减少[1]。但是VAD引起红系祖细胞增殖分化的机理目前未见报道。本文采用造血祖细胞体外培养，造血生长因子生物活性检测等实验血液学技术，研究VAD对大鼠BFU－E增殖调控的影响，以期为VAD引起贫血因素的研究提供实验资料。

1 资料与方法

1.1 VAD大鼠模型[1] 断乳期21～23天Wistar大鼠，由本校实验动物中心提供。对照组含VA6000IU/kg饲料，VAD组饲料不含VA，二组基础配方相同。饲养二周后断头取血测血清VA(SVA)，取股骨骨髓作红系祖细胞培养，取脾及骨髓基质细胞作病理切片。

1.2 红系祖细胞体外培养 将对照组及VAD组大鼠的股骨，用DMEM培养液冲出全部骨髓细胞，分离洗涤骨髓有核细胞(BMC)，制备单细胞悬液计数并调整细胞悬液浓度为2×10^6个/ml备用。参照刘氏法[2]，培养大鼠BFU－E，培养3～5天后，观察计数BFU－E集落数。

1.3 脾细胞条件培养液(HFSCM)制备[3] 分别取对照组和VAD组大鼠脾组织，剪碎呈米粒状，用培养液DMEM或1640漂洗离心，按脾组织块、马血清、培养液(1:2:8)培养体系，置37℃、5%CO_2培养箱培养3～5天，离心后收集上清液，－20℃保存、备用。

1.4 骨髓基质细胞条件培养液(BMSCM)制备[3] 分别取对照组和VAD组骨髓有核细胞，按照Dexter等法[4]，进行骨髓基质细胞培养，培养1～2周后收集培养上清液，－20℃保存、备用。

1.5 脾及骨髓基质细胞病理切片 脾按常规石蜡切片，HE染色；贴片的骨髓基质细胞直接采用HE染色。

1.6 VAD组HFSCM及BMSCM对BFU－E增殖的影响 按照刘氏法[2]，取同一正常三周龄大鼠骨髓BMC分为四组。在红系祖细胞培养体系中分别加入对照组HFSCM及BMSCM(终浓度10%)，VAD组HFSCM及BMSCM，培养4～5天，镜下计数各组BFU－E集落增殖数量。

1.7 统计学处理 二组比较采用t检验，显著性水平$P<0.05$。

2 结果

2.1 VAD和对照组SVA水平及VAD对BFU－E增殖的影响(表1)

表一显示，与对照组比较，VAD组SCA水平明显降低，其BFU－E增殖的集落数明显减少。

2.2 VAD－HFSCM和VAD－BMSCM对BFU－E增殖的影响(表2)

从表二可见VAD大鼠脾及骨髓基质细胞制备的HFSCM、BMSCM对红系祖细胞增殖调控活性明显降低。其BFU－E增殖数明显低于对照组，尤其是BMSCM组下降更明显。VAD－HFSCM组BFU－E集落下降19%，VAD－BMSCM组BFU－E集落组下降30%。

2.3 脾组织及骨髓基质细胞病理变化 与对照组比较，VAD组脾脏可见脾小结明显消失，其淋

* 本课题由国家自然科学基金资助(39370598)

** 女，1958－04出生，实验师

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 VAD对BFU－E增殖的影响

组 别	SVA(μmol/l)	BFU－E($\bar{x}\pm s$/2×10⁶个BMC)	集落下降率(%)
Control组	1.60±0.14	62.5±10.85	
VAD组	1.23±0.11	45.5±8.35	27
*P*值	<0.05	<0.05	

表2 VAD－HFSCM和VAD－BMSCM对BFU－E增殖的影响

组 别	BFU－E($\bar{x}\pm s$/2×10⁶个BMC)	集落下降率(%)
Control－HFSCM组	91±11.94	
VAD－HFSCM组	73±8.25 *	19
Control－BMSCM组	108.33±18.72	
CAD－BMSCM组	75.75±25.52 *	30

* <0.05

巴细胞呈崩解状;贴片的VAD骨髓基质细胞数明显减少。

3 讨论

红系造血从早期红祖细胞(BFU－E)开始增殖分化成晚期红系祖细胞(CFU－E),后者进一步增殖分化为形态上可识别的原始组细胞。造血祖细胞体外培养不仅可观察各种因素对造血祖细胞增殖分化的影响,而且可检测造血生长因子的生物活性。我们以往工作[1]显示VAD大鼠红系祖细胞出现明显增殖分化障碍,尤其是对BFU－E的影响比CFU－E更明显。本文结果显示VAD与对照组比较其SVA水平及BFU－E增殖数明显降低,与我们从前结果相同,但VAD影响BFU－E增殖机理不清,已有研究认为[5],在BFU－E增殖分化中白细胞介素3(IL－3)及粒单系集落刺激因子 (GM－CSF) 及其受体起重要调控作用。Fabian I 曾报道IL－3对BFU－E的增殖有调控作用[6],在HFSCM中含有IL－3,BFU－E膜表面有IL－3受体[7],通过IL－3可促进BFU－E增殖而影响造血。本文发现VAD大鼠脾淋巴小结明显减少,小结周围淋巴细胞崩解;加VAD－HFSCM的BFU－E增殖数明显减少,提示VAD可能通过影响脾T、B淋巴细胞增殖减少致IL－3合成降低,引起红系祖细胞增殖减少。

造血微环境(Hematopoietic inductive microenvironment,HIM)对红细胞的发育起重要调控作用,骨髓基质细胞构成HIM的核心成份,它可通过直接作用和分泌造血生长因子(Hematopoietic growth factor,HGF)如"GM—CSF"等来调节红系祖细胞生成,在BFU－E表面有GM－CSF受体[8]。本文研究显示,VAD大鼠的骨髓基质细胞增殖数明显减少,加VAD－BMSCM组的BFU－E增殖数明显减少,且似比VAD－HFSCM组下降更明显,提示VAD可能通过抑制骨髓基质细胞增殖,减少GM－CSF合成而影响造血,且这种作用比IL－3的影响似乎更为重要。本文结果从VAD－HFSCM及VAD－BMSCM对正常大鼠红系祖细胞增殖的抑制,推测VAD可能通过IL－3及GM－CSF变化,从而影响BFU－E增殖。由于只有BFU－E表面存在IL－3及其GM－CSF受体,故本文结果可推测和解释前文为什么VAD对BFU－E的作用比CFV－E影响更明显。

参考文献

1.李廷玉,等.营养学报 1995;17(1):1
2.刘秀珍.造血细胞培养技术实验手册 北京出版社 1993
3.王亚平,等.重庆医科大学学报 校庆特刊 1996;21:7
4.Dexter TM,et al. J Cell Physiol 1977;91:325
5.陈文洁,等.血液分子细胞生物学 中国医药科技出版

维普资讯 http://www.cqvip.com

社第一版 1993;10
6.Fabian I,et al. Blood 1985;65(4):990
7.Gordon MY, et al. Cancer Cell 1991;3(4):127
8.程 违,等.免疫生理学 上海科学技术出版社 第一版 1993;8

(收稿日期 1997－06－18)

Effect of Vitamin a deficiency on the proliferation of erythroid progenitors

Liu Yu, et al
College of Pediatrics

The effect of vitamin A deficiency (VAD) on the proliferation of erythroid progenitor cells and its mechanism were studied by using the culture of hematopoietic progentor cells and assaying biological activation of hematopoietic growth factor (HGF). The results indicated that the proliferation of BFU－E in vitro was decreased 27% ($P<0.05$) in VAD rats as compared with the control. BFU－E treated by using the spleen cell and bone marrow stromal cell conditioned media with VAD rats also decreased 19% and 30% respectively ($P<0.05$) compared with the control. It suggests that erythropoiesis in VAD rats was inhibited by the stromal cell in hematopoieic inductive microenvironment and lymphocyte to produce some HGF (such as IL3,GM－CSF and so on)

KEY WORDS Vitamin A deficiency; Rat; Erythroid early progenitor cell; Hematopoietic growth factor

24-26 (9)

多系统脏器衰竭患者血浆胃动素水平的初步研究

R590.4
R446.6

临床学院急诊科 刘 琼* 张仪端

提 要 应用放射免疫分析法测定了38例多系统脏器衰竭(MSOF)患者和42例健康正常人血浆胃动素(MTL)浓度。结果显示:①MSOF患者危重期血浆MTL浓度较恢复期和正常对照组明显升高($P<0.01$),而MSOF恢复期与正常对照组相比则无显著性差异($P>0.05$);②随着衰竭脏器的增多,MTL浓度也随之增高($P<0.01$);③MSOF组中合并有中枢神经系统功能衰竭、胃肠功能衰竭、肝功能衰竭患者MTL水平明显高于无合并上述系统脏器衰竭者,死亡组明显高于生存组($P<0.01$);④MSOF患者血浆MTL水平与病情危重度评分呈正相关。本文对MSOF患者血浆MTL水平增高的机理及临床意义作了初步探讨。

关键词 多系统脏器衰竭; 胃动素; 放射免疫测定
中图分类号 R333.2

多器官衰竭

胃动素(motilin,MTL)是一种由22个氨基酸组成的多肽类胃肠激素,主要由小肠上部的M_0细胞分泌,多分布于十二指肠液,也存在于中枢神经及周围神经组织中,属于一种脑肠肽。其主要生理功能是调节胃肠道运动。国内于1990年建立起MTL的放射免疫分析法[1],但有关MSOF与血浆MTL水平的关系国内尚无报道。为深入研究MSOF的防治,作者前瞻性分析了38例MSOF患者血浆MTL水平,并对其变化的机理及临床意义进行探讨。

1 病例与方法

* 女,1966－02出生,主治医师