维普资讯 http://www.cqvip.com

再生障碍性贫血白细胞介素2和肿瘤坏死因子的改变

检验系临床血液教研室 罗云萍 黄宗干 曹唯希

提 要 本文检测了一组再生障碍性贫血患者血浆和细胞诱生的肿瘤坏死因子(TNFa)和细胞诱生上清的白细胞介素2(IL-2)。与正常对照比较，再障病人血浆和细胞诱生上清的TNFa活性水平明显增高($P<0.01$)，IL-2的诱生水平也明显增高($P<0.05$)，本研究提示TNFa和IL-2在再障的发病中可能有一定的作用。

关键词 肿瘤坏死因子 白细胞介素2 再生障碍性贫血
中图分类号 R730.43

再生障碍性贫血的发病机制，一直是研究的热点，近年来，大量的资料表明各种细胞因子的产生异常与再障的发生密切相关[1]。TNF和IL-2均是机体的单核，巨噬细胞产生的细胞因子，它们在调控机体的造血机能中均起着重要作用[2,3]。我们采用TNF单克隆抗体的ELISA方法检测再障患者血浆和细胞培养上清中的TNF的活性水平，并测定了细胞诱生的IL-2的活性，从细胞因子的水平探讨再障发病的机制。

材料和方法

1. 检测对象

健康献血员20名，年龄25—35岁，由重庆市中心血站提供。再生障碍性贫血患者10例，均为住院患者，其中男7例，女3例，年龄21—56岁，平均38.5岁，临床诊断均符合1987年宝鸡全国再障会议制定的诊断标准，所选病例均在近期内无感染情况。

2. 主要试剂及细胞株

TNFa-ElA检测药盒，由军事科学院提供(军科院)。植物血凝素(PHA-P)，内毒素脂多糖(LPS)，美国Difco公司产品，^3H-TdR上海原子能所产品。CTLL细胞株，第三军医大学提供。

3. TNFa和IL-2的诱生

抽取患者静脉血5ml，肝素抗凝。Ficoll淋巴细胞分离液分离外周单个核细胞，以含10%小牛血清的RPMI-1640调整细胞浓度至2×10^6/ml，加入终浓度为2μg/mlLPS和0.5%PHA-P，置24孔细胞培养板(Nunc，丹麦)，于37℃，5%CO_2饱和温度培养箱中培养24小时，收集上清待测，同时收集病人血浆。

4. TNFa检测

采用抗TNFa单克隆抗体T_5和E_6(浓度400μg/ml)包板，4℃过夜，洗涤后，以10%小牛血清PBS液封闭0.5小时，洗涤后分别加入待测血浆及诱生上清同时制作标准曲线，37℃孵育1小时，洗涤后加底物显色，最后用2M H_2SO_4终止反应，用自动酶标仪(Bio-Red，美国)测定光密度值，根据标准曲线，计算待测标本TNFa含量，以μg/ml表示。

5. IL-2检测[4]

按照匡彦德方法进行，即以IL-2依赖细胞株CTLL，以不同浓度IL-2为参照，测定培养上清中的IL-2活性。

结 果

1. TNF测定结果(表1)

再障患者血浆TNF活性水平与正常对照比较明显高于正常($P<0.01$)，细胞诱生水平

维普资讯 http://www.cqvip.com

也高于正常对照($P<0.01$)。

2. IL-2测定结果(表2)

再障患者细胞诱生上清中IL-2活性水平明显高于正常对照($P<0.05$)。

表1 再生障碍性贫血患者TNF活性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TNF活性(ng/ml)	
		血浆	诱生
正常人	20	0.210±0.192	0.151±0.129
再障患者	10	3.478±1.349	2.856±1.717
*P*值		<0.01	<0.01

表2 再生障碍性贫血患者IL_2活性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-2活性(u/ml)
正常人	20	342±123
再障患者	7	824±438
*P*值		<0.05

讨 论

白细胞介素2和肿瘤坏死因子均为参与了机体多种生理机能的细胞因子，近年来的研究发现它们同样在机体造血因子调节网络中发挥着重要作用，它们产生的异常可以引起机体造血调控机制的失调。从而导致血液系统疾病的发生[6]。

再生障碍性贫血的发病机制，目前认为有多种因素参与，而机体免疫异常是引发再障的重要因素，在因免疫异常而导致的再障中干扰素(IFN-r)的作用已经得到了公认，一般认为部分再障的发病与IFN-r抑制造血的作用密切相关[8]。而大量的实验已经证明，在造血调节因子网络中TNF与IFN-r所发挥的作用基本相同，均为造血的负调节因子，并且它们二者的功能在许多方面还具有明显的协同作用[7]。在我们的研究中发现再障病人血浆和细胞诱生上清中的TNFa都明显高于正常对照，因此我们认为，在再障患者中异常增高的TNF与IFN-r一样，可能直接对机体的造血产生过强的负调节作用、也可能是通过对IFN-r的协同，增强IFN-r的功能而间接的导致对机体造血的抑制。

白细胞介素2作为一种多效淋巴细胞的增殖因子，它可以通过对淋巴细胞的刺激作用，而使其大量的增殖、分化，从而调节机体的免疫机能。实验发现，在再障病人中异常分泌的IL-2可使得机体的免疫机制出现紊乱、大量的淋巴细胞被刺激增殖，从而分泌大量的IFN-r，并且IL-2还具有激活INF-r的作用[8]。这样机体高活性水平的IFN-r，可对血细胞的生长造成过强的抑制。这与我们检测到的再障病人细胞诱生上清中高活性水平的IL-2这一结果相一致。也有报告发现，外源性的重组IL-2所诱导的Tac^+细胞可抑制红系统(BFU-E)的生长[9]。

再生障碍性贫血的发生与发展是一非常复杂的过程，其影响因素繁多，细胞因子在其中的作用也越来越得到肯定，但各种异常水平的细胞因子在再障发病中的作用机制，作用环节以及产生的后果还有待于我们进行更深入的研究。

参 考 文 献

1 储榆林，等.中华血液学杂志 1991;12:169
2 Arima N,et al.J Immunol 1987;138:3069
3 Laiho MJ,et al.Cancer Rev 1989;49:2533
4 匡彦德，等.上海医科大学学报 1987;191:1
5 候健，等 中华血液学杂志 1993;9:459
6 Kawana Y,et al.Br.J Haemotol 1988;69:545
7 周廷冲，等.多肽生长因子、中国科学技术出版社 第一版 1992;535
8 杨贵贞，等.免疫生物工程纲要与技术 吉林科学技术出版社.第一版 1991;38
9 Stefan EG,et al.Blood 1987;69:5

(收稿日期 1994-01-20)

(下转120页)