DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.03.013

军事医学

输血对骨髓移植大鼠淋巴细胞的影响

魏书庆 阎永堂 冉新泽（卫防系 复合伤研究室）

提 要 本文以8～12Gy^{60}Coγ线全身照射研究了输血对骨髓移植(BMT)大鼠淋巴细胞的影响。实验结果表明：照前1天输血受体鼠BMT90天活存率比单给 BMT 的对照组显著提高（P<0.01）；死亡鼠与长期活存鼠相比，可见输血组总淋巴细胞数提前(10～30天)回升发生率(2.1%)明显低于对照组（46%）；总淋巴胞细和T细胞数低于对照组的发生时间相符，但不影响B细胞数的上升。这些说明输血有抑制T细胞的作用，与提高BMT活存有关。

关键词 骨髓移植；输血作用；全身照射；大鼠

骨髓移植(BMT)后所致大鼠免疫并发症仍然严重地影响着BMT的效果[1]。近年来，我们以不同剂量照射研究了照前1天一次非特异性输血对BMT大鼠的影响,结果表明，输血有助于骨髓细胞 (BMC) 植入和提高 BMT 耐受性的作用[2]。为了进一步认识BMT前输血的显效作用，通过长期活存鼠和死亡鼠总淋巴细胞和 T、B 淋巴细胞数量、动态变化的对比观察，发现移植前输血抑制淋巴细胞数提前回升与提高BMT活存率有明显关系。

材 料 和 方 法

动物

用Wistar大鼠，15周龄，体重 160～200g。为避免同窝BMT，受体用本校雌性大鼠，骨髓和血供体分别用四川省中药研究所和重庆医科大学繁殖的雄性大鼠。

照射条件：照射源为^{60}Coγ线，照射距离2 m，照射量率 0.13—0.17Gy/min，全身一次均匀照射，分设8、9、10、11和12Gy组。

BMC悬液制备及输注时间：将供体断颈活杀，在无菌条件下分离出两侧股骨和胫骨，然后用1.0 ml生理盐水冲出BMC，进行细胞计数，细胞数达1～4×10^{8}/ml时即可注射。受体在照射后2～3小时内由尾静脉输注1.0ml BMC。

输血

用健康雄性供血鼠，在乙醚麻醉下，每只鼠取心血4～6 ml，用肝素抗凝。受体在照前24小时由尾静脉输注新鲜全血1.0ml。

检查指标

1. 淋巴细胞总数：外周血白细胞总数与分类之淋巴细胞的乘积；2.淋巴细胞 ANAE^{+}率：酯酶染色后，在油镜下计数100个淋巴细胞中的ANAE^{+}细胞数，得出阳性率，并算出每立方毫米血液中ANAE^{+}和ANAE^{-}淋巴细胞(下称T、B淋巴细胞)绝对数。

酯酶染色的方法及判定标准

1. 在葛日萍报道方法[3]的基础上稍加改进，省去戊二醛溶液固定，染色后不复染而直接计数；2.判定标准：T淋巴细胞—胞浆内有大小不同、数量不等的棕红色颗粒或斑块，细胞浆呈棕黄色；B淋巴细胞—细胞呈棕黄色，胞浆内无反应颗粒。

实 验 结 果

一、输血对大鼠BMT活存的影响

除8和12Gy组外，9、10和11Gy组8个月活存率比单给BMT的对照组显著提高（P<0.01），见表1。

二、对淋巴细胞数量的影响

移植前输血各照射组淋巴细胞数量的变化与单给BMT组相比基本相似。但BMT后死亡鼠与长期活存鼠相比，见输血BMT各组淋巴细胞提前回升发生率（2.1%）明显低于单给BMT组（46%），16～68天内死亡鼠于BMT后10～20天淋巴细胞数提前回升的数量高于长期活存鼠的2倍（表2）。

三、T、B淋巴细胞数量的变化

BMT后10～30天，输血BMT组T细胞数明显低于单给BMT组，两者差别显著（P<0.01）；20天B细胞超常（150%），而后者仅占85%。BMT

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 BMT和移植前1天输血各照射组3个月内活存率

照射剂量(Gy)	组别	动物数(只)	不同月活存率 1	2	3
8	BMT	10	90	90	90
	输血+BMT	14	100	93	93
9	BMT	9	78	56*	56*
	输血+BMT	10	90	90	80
10	BMT	18	83	55*	55*
	输血+BMT	20	95	90	80
11	BMT	20	55	33*	25*
	输血+BMT	20	65	65	60
12	BMT	10	10	0	0
	输血+BMT	10	10	10	10

* $p<0.01$

表2 BMT后各组淋巴细胞数量的比较

组别		动物数(只)	不同天淋巴细胞数(%) 10	20	30
>90天活存鼠	BMT	28	32	55	94
	输血+BMT	47	32	57	86
16～68天内死亡鼠	BMT	13	101 (4只)	108 (7只)	132 (2只)
	输血+BMT	1	70		

后90～100天，两组T细胞波动于正常值，但B细胞数大于正常值的2倍。单给BMT组2只鼠于BMT后20～30天T细胞数分别上升至70%和110%后动物死于52和55天，不见于移植前输血组（表3）。

表3 各组T细胞的动态变化

组别		动物数(只)	不同天T细胞数(%) 7	10	20	30	60	90	100
BMT	>90天活存鼠	10	30	36	59	85	74	122	128
	52、55天死亡鼠	2	22	31	70	110	…	…	…
输血+BMT	>90天活存鼠	8	17	21	26	66	…	115	…

讨 论

辐射治疗疾病或小鼠同种BMT[3]及大剂量照射屏蔽肢体，自体BMT（未发表的材料）淋巴细胞重建相当缓慢已为一些作者所证实。本文所见，BMT后16～68天死亡鼠与长期（>90天）活存鼠相比，其中单给BMT组淋巴细胞数提前回升发生率（46%）明显高于移植前输血组（2.1%），两者差别非常显著（$P<0.01$），10～20天淋巴细胞的提前回升数量大于输血BMT组（长期存活）的2倍（表2）。这说明移植前输血有抑制淋巴细胞数提前回升的作用。表3可见，移植前输血组于BMT后10天T淋巴细胞数略低于对照组，20～30天差别显著（$P<0.01$），但B细胞超常（150%）。单给BMT组于照后20～30天，2只鼠T淋巴细胞数分别上升至70%110%后分别死于52和55天，但总淋巴细胞和T细胞数提前回升的时间相符。这说明输血对BMT早期有抑制T细胞的作用，不抑制B细胞数的上升，这表明照射后单给BMT时，仍有一部分T细胞在受体内迅速增殖是外周血T细胞数提前回升发生率高的结果，这些T细胞攻击宿主发生GVHR致受体死亡。关于照前1天非特异性输血BMT对淋巴细胞影响的报道非常少见，但小鼠经植皮前输血可强化T抑制细胞的功能[4]及输血后供受体混合淋巴细胞培养显示细胞增殖减少的现象[5]已有报道。这提示BMT前输血首先刺激受体反应强化T抑制细胞的功能，从而杀伤或抑制活性T细胞保持共同耐受性，提高BMT活存是可能的。本文所见BMT前1天输血T细胞数提前回升发生率低，可能是T抑制细胞杀灭或抑制活性T细胞反应的结果。12Gy照射BMT死亡率高多由辐射所致[2]。BMT前1天输血使T细胞亚群变更保持供受体共同耐受性的细胞机制尚不清楚，值得进一步研究。

综上所述，本实验条件下，移植前输血有提高BMT活存的作用。此作用与淋巴细胞受抑制有关，表现移植前输血组死亡鼠淋巴细胞数提前回升发生率（2.1%）明显低于对照组（46%）；总淋巴细胞数和T淋巴

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

细胞数低于对照组的发生时间相一致，这说明输血抑制T细胞的作用与提高BMT活存有关。

（参加本实验工作的还有肖皓昆、向明章同志）

参 考 文 献

1. Mathe C. 骨髓移植（1958—1978）：再生障碍性贫血和白血病患者的移植指征、预处理及移植物抗宿主病。国外军事医学资料（放射医学）1983（增刊）：11
2. 葛日萍，等。酸性α-醋酸萘酯酶的测定。临床免疫学检验（上册），上海科学技术出版社，1983：44
3. 朱启，等。受致死剂量照射小鼠骨髓移植后造血与淋巴组织重建。中华放射医学与防护杂志，1981；1(5)：23～28
4. Wood ML, et al. The effect of timing of mutiple donor-specific of monspecific blood transfusion on skin allograft sarvial in ALS-treated mice. Transplantation 1983:36(4):388
5. Maki T, et al. Impaired T-cell function after alloqenic blood transfusion in mice. Transplantation proceedings 1983:15:997

Effects of Blood Transfusion on Lymphocytes in Peripheral blood of Rats after Total Body Irradiation Treated with Bone Marrow Grafting

Wei Shuqing, et al (Department of Antiatomic Medicine, Third Military Medical College)

The effects of blood transfusion on the lymphocytes in the peripheral blood of the rats inflicted with 8～12 Gy total body irradiation from a ^{60}Co source and treated with bone marrow transplantation(BMT) were studied.

Bood transfusion was given to the rats 24 hours before the irradiation. The 90-day-survival rate of the rats with combined treatment of blood transfusoin and BMT was significantly higher than that of the animals with only BMT ($P<0.01$). In the first 20～30 days after BMT, the increase rate of lymphocytes was only 2.1% in the dead rats which received blood transfusion; while it was 46% in those survival rats without blood transfusion. The former was significantly lower than the latter($P<0.01$). The result indicate that blood transfusion can markedly suppress the regeneration of lymphocytes in rats after total body irradiation even though there has been BMT. However blood transfusion can only exert its suppression on the T-cells since it was observed that the increase of B-cells was not affected in the blobd transfusion group. The fact that the suppression of T-cells due to blood transfusion can explain why the rats with BMT alone can survive longer than those with both blood transfusion and BMT.

Key words: Bone marrow transplantation; Blood transfusion; Total body irradiation; Rat.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net