

克癌 7851 对荷瘤小鼠造血与免疫功能的影响

迟永春 周舒 万方 杜皓萍 赵武述 张玉琴

(临床医学研究所病理生理室 免疫室)

摘要 本文观察了克癌 7851 对荷瘤小鼠骨髓造血和免疫功能的影响。结果表明, 对照组每根股骨造血祖细胞数量为 16856.7 ± 3237.8 , 给药组为 32355.7 ± 4568.9 。给药动物的胸腺及脾指数高于对照动物, 对淋巴细胞转化及 IL-2 产生也有不同程度的促进作用。

关键词 克癌 7851 造血祖细胞 胸腺和脾指数 淋巴细胞转化 白细胞介素 2

EFFECTS OF ANTICANCER-7851(AC-7851) ON HEMOPOIETIC AND IMMUNOLOGIC FUNCTIONS IN TUMOR BEARING MICE

Chi Yongchun, et al

1991.5(3):135

(Department of Pathophysiology, Institute of Clinical Medical Sciences)

Abstract: The effects of AC-7851 on the bone marrow hemopoietic progenitor (GM-CFU), thymus and spleen in BALB/c mice bearing liver cancer were observed. The results showed that, in lower dosage, the GM-CFU was increased. The GM-CFU per femur in control was 16856.7 ± 3237.8 , while in AC-7851 treated group it was 32355.7 ± 4568.9 . Both the weight and index of thymus and spleen in AC-7851 treated group were higher than those in control. The thymus index in control was 1.7 ± 0.6 , while in AC-7851 group it was 2.6 ± 0.9 ; the spleen index in control was 7.7 ± 1.6 , in AC-7851 group it was 9.3 ± 1.6 . T lymphocyte and IL-2 were also enhanced. In higher dosage of AC-7851, however, the GM-CFU was decreased, but no obvious damage of hemopoietic and immunologic functions was observed.

Key words: anticancer 7851; hemopoietic progenitor (GM-CFU); index of thymus and spleen; T cell transformation; IL-2

抗癌药物例如化疗药物对骨髓和免疫均有明显抑制作用^[1]。克癌 7851 是否也象化疗药物那样对肿瘤有抑制作用, 对骨髓造血及免疫功能也有毒副作用, 尚有待回答。由于造血和免疫是密切相关的两个系统, 同时进行这两方面功能的检测有着特殊的意义。

1 材料与方法

1.1 动物模型

BALB/c 小鼠, 雄性, 18~22g。用小鼠肝癌

(H₂₂) 细胞, $5 \times 10^5/\text{ml}$ (0.2ml/只) 接种于动物右腋后皮下造成实体瘤模型。

1.2 给药剂量与时间

将铜、铁等微量元素按 1:6 组成主药。按 32mg/kg 和 640mg/kg 给药, 每天上午灌喂小鼠, 0.2ml/只。用黄芩、连翘、金银花、玄参、当归、丹参、桃仁、莱菔子、大黄等清热解毒与活血化瘀中药组成辅药, 制成 100% 水煎剂, 0.3ml/只/d。从接种肿瘤次日开始, 连续给药 20 天。

1.3 骨髓造血祖细胞 (hemopoietic progenitor, GM-CFU) 测定

观察期末处死动物, 取瘤之前, 在无菌条件下取出股骨, 每只小鼠取 1 根股骨, 同一组 3 根股骨之骨髓合并冲入 2ml RPMI-1640 培养液中 (1ml 注射器, 7 号针头), 再将细胞通过 4 号针头, 进一步分散混匀。计数后稀释成 5×10^6 /ml 之浓度。

用改良双层培养法, 上层培养体系为培养液 2.5ml、马血清 1.2ml、小鼠肺条件培养基 0.7ml, 骨髓细胞悬液 (5×10^6 /ml) 0.2ml 和 3% 的琼脂 0.4ml、底层为培养液 5.0ml、马血清 2.5ml 和 3% 琼脂 1.0ml。每个 30mm 直径的平皿先注入 1ml 底层体系, 待凝后, 每皿再加注上层体系 1ml, 待琼脂凝后, 置 CO₂ 温箱中, 37℃, 5%CO₂ 和饱和湿度下培养 5 天, 在 40 倍镜下计数细胞集落数 (每个集落含细胞数为 ≥ 50), 每实验组平行培养 3 个平皿。

小鼠肺条件培养基的制备: 无菌下, 取 10~20 只健康小鼠的肺, 称重, 用眼科剪刀剪碎 (肺块直径 3mm 以下), 每克肺块放入 50ml 含 10%FCS 的培养液中。置于培养瓶中, 37℃ 培养 7 天后, 收集上清液, 并测定其活性, 分装, 一 20℃ 以下贮存备用。

1.4 免疫器官——胸腺和脾脏的测量

在杀死动物取瘤的同时, 亦取胸腺和脾脏, 称重, 计算胸腺和脾指数, 并作统计分析。

1.5 淋巴细胞转化及白细胞介素 2(interleukin 2, IL-2) 测定

BALB/c 小鼠随机分 A、B、C 3 组, 每组 5

只, A 组每日灌 64mg/kg 的药液 0.2ml; B 组灌同样浓度的药液 0.4ml; C 组灌生理盐水 0.4ml, 连续 5 日, 于第 7 日处死动物, 检查脾淋巴细胞转化和 IL-2 产生能力, 详细方法参见文献[2]。

2 结果

2.1 骨髓造血祖细胞

克癌 7851 对荷瘤小鼠骨髓粒-单造血祖细胞 (GM-CFU) 的影响是双向的 (表 1)。结果表明, 32mg/kg 剂量组对小鼠造血祖细胞不但无抑制作用, 反而有一定的促进作用, 造血祖细胞数量明显高于对照组 ($P < 0.01$); 而 640mg/kg 剂量组, 造血祖细胞明显减少。

2.2 对胸腺和脾脏的影响

多数给药动物的胸腺重于对照组动物, 而有时给药动物的胸腺与对照之间并无明显差别 ($P > 0.05$, 表 2, 3)。

荷瘤对照与正常动物比较, 无论胸腺还是脾脏均见缩小, 而给药动物的胸腺、脾脏不但比对照组大, 而且还超出了正常水平 (表 4)。给药动物的胸腺指数和脾指数均高于对照 (表 5)。

表 2 药物对荷瘤动物的胸腺和脾脏的影响

实验分组	胸腺重 (g)	P 值	脾重 (g)	P 值
	($\bar{X} \pm SD$) (n)		($\bar{X} \pm SD$) (n)	
正常动物	0.09 $\pm$ 0.02 (5)		0.14 $\pm$ 0.02 (5)	
荷瘤对照	0.08 $\pm$ 0.03 (11)	> 0.05	0.12 $\pm$ 0.03 (11)	> 0.05
荷瘤给药	0.12 $\pm$ 0.002 (9)	< 0.01	0.16 $\pm$ 0.016 (9)	< 0.01

表 1 给药与对照荷瘤动物骨髓粒-单造血祖细胞的比较

实验	GM-CFU 数 ($\bar{X} \pm SD$) / 每根股骨		t 检验
	对照组 (n)	给药组 (n)	
1	16856.7 $\pm$ 3237.8 (6)	32355.7 $\pm$ 4568.9 (6)	$P < 0.01$
2	16856.7 $\pm$ 3237.8 (6)	6600.0 $\pm$ 762.1 (6)	$P < 0.01$
3	25250.0 $\pm$ 1322.9 (6)	17966.7 $\pm$ 1598.3 (6)	$P < 0.01$

注: 1 组给药为成人剂量 (32mg/kg), 2 和 3 组为成人剂量的 20 倍 (640mg/kg)。

表 3 三批实验给药动物与对照动物的胸腺大小比较

实验 批次	胸腺重量 (g, $\bar{X} \pm SD$)		t 检验
	对照组 (n)	给药组 (n)	
1	0.08 $\pm$ 0.03 (11)	0.12 $\pm$ 0.002 (9)	$P < 0.01$
2	0.12 $\pm$ 0.04 (9)	0.12 $\pm$ 0.02 (9)	$P > 0.05$
3	0.03 $\pm$ 0.01 (8)	0.048 $\pm$ 0.017 (9)	$P > 0.02$

表 4 三批实验给药与对照动物的脾脏大小比较

实验 批次	脾脏重量 (g, $\bar{X} \pm SD$)		t 检验
	对照组 (n)	给药组 (n)	
1	0.12±0.03 (11)	0.16±0.016 (9)	P<0.001
2	0.16±0.03 (9)	0.187±0.02 (9)	P<0.05
3	0.13±0.03 (8)	0.177±0.03 (9)	P<0.01

表 5 服用克癌 7851 后小鼠脾和胸腺指数的变化

实验分组	胸腺指数	脾指数
	($\bar{X} \pm SD$) (n)	($\bar{X} \pm SD$) (n)
对照组	1.7±0.6 (8)	7.7±1.6 (8)
给药组	2.6±0.9 (9)	9.3±1.6 (9)
t 检验	P<0.02	P<0.05

2.3 对 T 细胞及 IL-2 的影响

克癌 7851 对 PHA 和 Con A 刺激的淋巴细胞转化均有促进作用,而且对 PHA-P 刺激的淋巴细胞转化更为明显(图 1)。在适宜剂量下对小鼠脾淋巴细胞产生 IL-2 能力也有一定促进作用(图 2)。

3 讨论

造血功能与免疫功能对化疗药物非常敏感,因此骨髓造血功能和免疫功能往往是化疗药物首先伤害的重要部门,这是化疗药物难以克服的一个弊端^[1]。本研究的结果表明,克癌 7851 在小剂量,即常规用量下不但未表现出对骨髓造血和免疫功能的抑制作用,反而有一定的促进作用,表现为骨髓单核-粒细胞造血祖细胞增加,动物的胸腺和脾脏增大,胸腺指数和脾指数升高;对 T 淋巴细胞和 IL-2 也有不同程度的促进作用;对 T 细胞亚群中的辅助性 T 细胞有着明显的促进作用,结果显示出 PHA-P 刺激的淋巴细胞转化的反应更为明显,辅助性 T 细胞在抗肿瘤方面有重要作用。当药物剂量加大到 640mg/kg,相当于临床用量的 20 倍时,骨髓造血祖细胞数有所下降,从而提示临床用药剂量不宜过大。

本研究的结果表明,克癌 7851 对造血和免疫功能的影响是相似的,根据现代造血一元

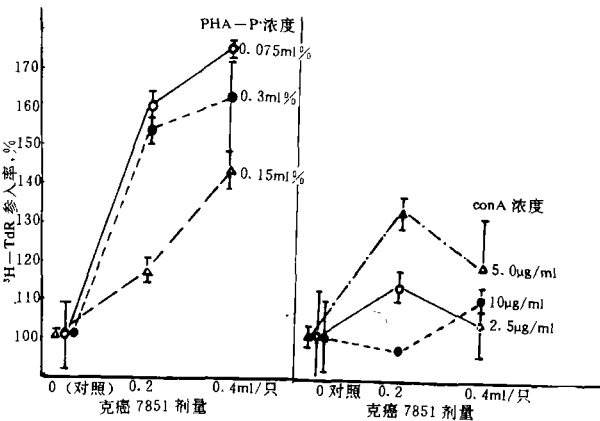


图 1 克癌 7851 对 BALB/c 小鼠 T 细胞的影响
左图为 PHA 刺激的淋巴细胞转化率;右图为 ConA 刺激的淋巴细胞转化率

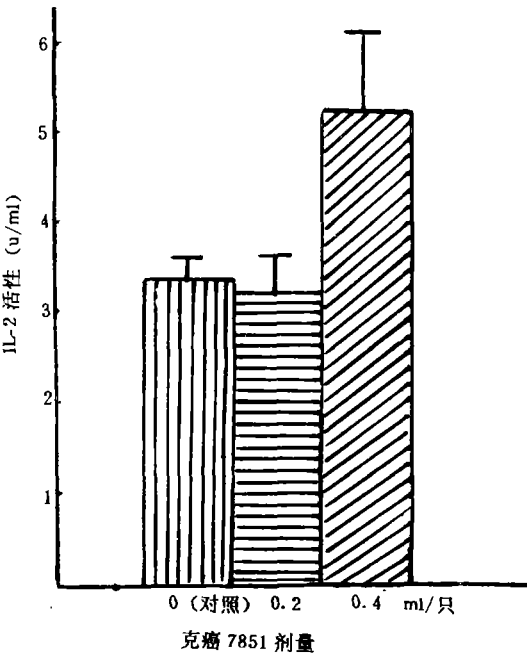


图 2 克癌 7851 对机体 IL-2 水平的影响
论的观点,即一切血细胞包括红细胞、白细胞和淋巴细胞均来自骨髓造血母细胞(或干细胞)^[3]。因此,对造血有促进作用也必然对免疫有促进作用。

克癌 7851 对造血和免疫功能的增强作用,可能是其抗肿瘤作用的机理之一。这种作用与生物学反应调节剂颇为相似^[4~6]。本实验结果

表明,克癌 7851 既具有一定的抗肿瘤作用,又未见有明显的毒副作用,对造血和免疫功能还有一定的生物反应调节剂的作用。

4 参考文献

- 1 PerryMC. Chemotherapy, toxicity and clinician seminars in oncology. 1982, 9: 1
- 2 赵武述,等. 黄芪脂多糖、金钱草多糖和山茱萸糖促免疫作用的研究. 中日友好医院学报, 1989, 3 (4): 184
- 3 MaxwellMW. Clinical Hematology, Printed in the United States of America. 8th ed. Lea & Febiger, Philadelphia,

1981. 35

- 4 PinedoHM, et al. Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers, Annual 9, Elsevier Science Publishers BV, Elsevier Amsterdam-New York-Oxford, 1987. 454
- 5 Sun Y. Chinese medicinal herbs as biological response modifiers. Lotzova Herberman (eds) Natural Immunity, Cancer and Biological Response Modification, 1986. 206
- 6 Dutcher JP, et al. Biological response modifier in gynecologic malignancies. Yale J Biol Med, 1988, 61: 367

• 诊疗新技术 •

固相血吸附试验用于梅毒螺旋体特异性

IgM 抗体的检测

侯林浦 费书颖 (检验科)

我们参考国外文献略加改变建立了适于一般实验室应用的检测梅毒患者特异性 IgM 抗体的固相血吸附试验(solid phase hemabsorption, SPHA), 介绍如下:

1 材料与方法

1.1 材料 96 孔 U 型底聚苯乙烯板; 马抗人 IgM 血清, 购自北京生物制品研究所; 梅毒螺旋体血凝试验(treponema pallidum hemagglutination, TPHA) 试剂盒, 购自日本富士公司; RPR 试剂盒, 购自北京协和医学科学技术开发公司; 血清标本为本室自开院来保存的 TPHA 阳性血清标本共 32 份; 任意取 14 份献血员标本作阴性对照。另有两例 RPR 阳性但 TPHA 阴性的标本。

1.2 方法 RPR 试验及 TPHA 试验均按试剂盒之说明书进行。SPHA 试验: 用经 50% 饱和度的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀粗提的抗人 IgM 血清的 IgG 包被 96 孔板, 每孔 100 μl , 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 甩去包被液加入标本血清(从 1:4 开始倍比稀释), 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1.5~2 小时, 甩干后用缓冲液洗 3 次, 然后每孔加入 50 μl 1:14 稀释的用于 TPHA 试验的致敏羊红细胞, 放室温 3~4 小时观察结果, 根据血球凝集情况按常规血凝试验方法判断结果。

2 结果

2.1 TPHA 试验为阳性的 32 例梅毒患者血清用 SPHA 试验检测 IgM 抗体, 其中 2 例为 1:32、1 例为 1:16、12 例为 1:4 呈阳性反应, 共计 15 人 (46%)。

2.2 14 名健康对照 SPHA 试验均为阴性; 2 例 RPR 试验阳性而 TPHA 试验为阴性的标本, SPHA 试验也为阴性。

3 讨论

3.1 检测梅毒患者血清 IgM 抗体具有重要的临床意义, 因为感染后患者首先出现 IgM 抗体, 然后逐渐出现 IgG 抗体, 因此检测特异性 IgM 抗体可作早期诊断; 其次还可作近期感染和已往感染的鉴别诊断; 此外由于患者经充分治疗后 IgM 抗体逐渐下降并消失而 IgG 抗体一般仍维持, 因此检测特异性 IgM 抗体可作为疗效观察的指标。

3.2 SPHA 方法先用抗 IgM 抗体包被然后捕捉检测标本中的 IgM 抗体而与 IgG 抗体分开, 解决了 IgG 抗体与 IgM 抗体竞争共同抗原的现象, 因而敏感性高。

3.3 SPHA 方法具有血凝方法及 ELISA 方法的优点而且方法简便, 不需任何特殊设备, 所需的试剂和器材国内均可购到, 特别是国产 TPHA 试剂盒已有产品, 因此 SPHA 方法可用于国内任何级别的医院。