

• 临床研究 •

集落刺激因子对化疗者血液白细胞介素-4 和肿瘤坏死因子- α 的影响*

李庆端, 林俊山, 高凌云, 叶少毅
(福建省漳州市中医院, 福建漳州 363000)

摘要:目的 探讨集落刺激因子(CSF)对化疗患者血液中白细胞介素-4(IL-4)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。方法 采用 ELISA 法,分别检测使用 CSF 前后、细菌感染组以及健康对照组静脉血浆中 IL-4 和 TNF- α 的水平。结果 化疗者使用 CSF 后可使血中 IL-4 水平轻度升高,但与健康对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);与细菌感染组比较明显降低($P<0.05$);使用 CSF 后可使化疗者血中 TNF- α 水平明显高于健康对照组($P<0.05$),同时也高于细菌感染组($P<0.05$)。结论 化疗者使用 CSF 后可明显地提高血液中 TNF- α 的水平,这也是停用 CSF 后,外周血液中白细胞水平迅速下降的原因之一。

关键词:集落刺激因子; 白细胞介素-4; 肿瘤坏死因子- α

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)17-2551-02

白细胞是机体防御系统的主要组成部分。当病情恶化,炎症介质因子刺激继续增强,机体的应激反应无法达到防御作用时,就会通过加强细胞-体液免疫调控,促进骨髓内细胞成熟,调节骨髓屏障,加速成熟细胞释放,达到提升血液中白细胞的作用。而运用集落刺激因子(CSF)刺激骨髓提升外周血液中白细胞数的机制与上述不同,人为注射 CSF 主要是刺激多能造血干细胞和不同发育分化阶段的造血干细胞进行增殖、分化并引导骨髓细胞从 G0 期进入 S 增殖期^[1],促进细胞的成熟,改变骨髓屏障的微循环,加速细胞由骨髓释放入外周血从而达到提升血液中白细胞的作用。本研究旨在探讨 CSF 对化疗者血白细胞介素-4(IL-4)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 6 月至 2014 年 7 月于本院住院化疗的肿瘤患者 30 例作为化疗组,排除发热、细菌感染和近期手术患者,男女不限,年龄 43~68 岁,使用 CSF 前白细胞小于或等于 $4.0 \times 10^9/L$,使用 CSF 后白细胞大于或等于 $15 \times 10^9/L$;同期住院明确诊断细菌感染的患者 30 例作为细菌感染组,外周血液白细胞升高大于或等于 $15 \times 10^9/L$,细菌培养阳性,临床明确诊断为感染性肺炎患者,男女不限,年龄 38~70 岁;健康体检者 30 例作为健康对照组,外周血液白细胞 $4.0 \sim 10.0 \times 10^9/L$,近期内无发热,无感染体征并排除孕妇、血液系统疾病和服用影响粒细胞数量功能药物的人群,男女不限,年龄 25~51 岁。

1.2 仪器与试剂 希森美康-1800i 血细胞全自动分析仪与配套试剂为日本希森美康公司产品;IL-4 和 TNF- α 酶联检测试剂盒为美国 Cloud-Clone Corp 公司产品;酶标仪 RAYTO-RT6500 和全自动洗板机 TW960 为美国 Rayto 雷杜公司产品。

1.3 方法 用 ELISA 方法,分别检测化疗组使用 CSF 前后、细菌感染组以及健康对照组静脉血浆中 IL-4 和 TNF- α 的水平,操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS20.0 统计软件进行统计分析,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

各组血清 IL-4 和 TNF- α 水平的检测结果见表 1。从表中

可见使用 CSF 后可使化疗者血中 IL-4 水平轻度升高,但与使用 CSF 前比较差异无统计学意义($t=0.364, P>0.05$),与健康对照组比较差异无统计学意义($t=0.269, P>0.05$),但与细菌感染组比较明显降低($t=4.281, P<0.05$)。使用 CSF 后可使化疗者血中 TNF- α 水平明显高,与使用 CSF 前、健康对照组和细菌感染组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 各组血液中 IL-4 和 TNF- α 检测结果 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

患者类型	n	TNF- α	IL-4
化疗组			
使用 CSF 前	30	1.705 \pm 1.608	1.148 \pm 1.102
使用 CSF 后	30	3.894 \pm 1.724*	1.257 \pm 1.213 Δ
细菌感染组	30	1.987 \pm 1.421	2.897 \pm 1.705
健康体检组	30	1.739 \pm 1.574	1.174 \pm 1.172

*: $P<0.05$,分别与细菌感染组、使用 CSF 前、健康体检组比较; Δ : $P<0.05$,与细菌感染组比较。

3 讨论

正常情况下,外周血液循环中的白细胞升高是一种机体的应激反应。是由于体内存在炎症介质因子(如组织挫伤、感染、中毒等因素产生)刺激下,通过体液免疫系统的调控作用,使得血管张力发生变化,舒张血管内皮细胞,调节微血管的通透性,抑制血小板和白细胞在血管壁上的黏附能力,使得边缘池的白细胞迅速向循环池移动。同时启动活化细胞免疫系统,活化致敏免疫细胞,分泌多种细胞因子发挥细胞免疫调控作用,增强白细胞的变形、趋化、游走、吞噬和消化能力,调节白细胞凋亡时间,延长成熟白细胞存活时间等以提升外周血中白细胞数。肿瘤化疗者使用重组人 CSF 提升血液中白细胞数的同时,体内因白细胞的波动导致一系列细胞因子量的变化,尤其是与白细胞调节相关的细胞因子。本研究表明,使用 CSF 后化疗者体内的 TNF- α 的水平明显升高,而 IL-4 升高的幅度不明显。这与急性创伤导致 IL-4 明显升高不同^[2],亦与糖皮质激素导致 IL-4 明显升高而 TNF- α 水平下降不同^[3]。细菌感染组 IL-4 的水平明显升高而 TNF- α 升高的幅度不明显,这与使用 CSF 后诱发体内产生的细胞因子种类和量不同。外周血中可见白细胞出现核质发育不一致的现象^[4]。TNF- α 是由活化的单核-

* 基金项目:2013 年福建省中青年教育科研项目(科技 B 类 JB13111)。

巨噬细胞产生一种糖蛋白包括可溶性 sTNF- α 和膜相关性 mTNF- α , 属于 II 型膜蛋白, 以三聚体的形式发挥作用的。TNF- α 通过与靶细胞膜上的肿瘤坏死因子受体 TNFR 结合实现细胞毒性、抗病毒、免疫调节等生物学功能。同时, TNF- α 作为细胞死亡因子之一参与细胞凋亡调节, 又作为一种炎症介质, 能增加血神经屏障的通透性^[5], 刺激中性粒细胞, 使其黏附在血管内皮细胞上, 产生超氧化物释放溶酶体酶, 增加补体受体的表达。本次结果表明 CSF 可以激活单核-巨噬细胞产生 TNF- α , TNF- α 是调节血循环中白细胞的主要因素之一, 也是外周粒细胞在光学显微镜下可见到异常增粗颗粒原因之一。这与停用 CSF 后外周循环中白细胞总数急剧下降相符。IL-4 是由活化 T 淋巴细胞分泌的, 促进 B 淋巴细胞增殖和分泌抗体; 诱导单核细胞分泌 CSF, 增强粒细胞介导的吞噬、杀伤活性和 ADCC 作用同时抑制单核细胞分泌 TNF、IL-1、IL-6。本次研究结果中 IL-4 升高的幅度不明显, 提示 CSF 对 T 淋巴细胞的激活不明显, 与细菌感染机制不同, 这与机体处于非应激状态有关, 为的是稳定内环境, 达到负反馈作用, 进一步调节骨髓细

• 临床研究 •

胆红素对小胶质细胞 BV-2 表面分子 Toll 样受体 4 mRNA 表达的影响^{*}

关小勇, 李雪丽[△], 陈华干, 高 干

(柳州市妇幼保健院检验科, 广西柳州 545001)

摘要:目的 探讨不同浓度胆红素对小鼠小胶质细胞系 BV-2 表面分子 Toll 样受体 4 (TLR4) mRNA 表达的影响。方法 体外培养小鼠细胞系, 加入不同浓度的胆红素孵育 1 h, 再加入脂多糖 (LPS) 刺激 24 h, 收集小鼠细胞, 提取 RNA 进行逆转录, 利用 TLR4 的特异性引物进行 DNA 扩增, 观察不同组别 TLR4 mRNA 表达的水平。结果 LPS 对照组与空白对照组比较 TLR4 mRNA 的表达没有显著差异; 而两者与 4 个不同浓度的胆红素干预组比较有差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。4 个不同浓度的胆红素干预组两两比较小胶质细胞系 BV-2 表面分子 TLR4 mRNA 的表达随着胆红素浓度的增高呈现逐渐降低趋势。结论 胆红素可抑制 BV-2 表面分子 TLR4 的表达, 且随着胆红素浓度的升高, 抑制作用越明显。

关键词:胆红素; 小胶质细胞; Toll 样受体 4; mRNA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)17-2552-03

新生儿高胆红素血症以非结合胆红素为主, 可引起胆红素脑病, 遗留神经系统后遗症^[1]。小胶质细胞是神经胶质细胞的一种, 约占全部胶质细胞的 5%, 起到类似巨噬细胞的作用, 是中枢神经系统中的第一道, 也是最主要的一道免疫防线^[2]。Toll 样受体 (TLRs) 是机体重要的天然免疫受体分子之一, 主要表达于单核巨噬细胞, 可识别革兰阴性细菌细胞壁成分脂多糖 (LPS), 启动信号传导, 介导天然免疫^[3]。有研究对新生儿黄疸的原因进行调查发现, 母婴同室前引起新生儿高胆红素血症的主要原因是感染^[4]。新生儿感染性疾病如肺炎、脐炎、眼结膜炎、脓疱疹等, 其内毒素即 LPS, 以及产生的细胞因子可以抑制肝脏功能, 使红细胞破坏产生溶血, 加重新生儿黄疸的程度^[4]。因此, 本研究拟通过观察经胆红素孵育后小胶质细胞系在 LPS 刺激后 BV-2 表面分子 TLR4 mRNA 的表达情况, 探讨胆红素对小胶质细胞免疫功能的影响。

1 材料与与方法

1.1 实验材料 小鼠小胶质细胞系购自上海桥社生物科技公司, 二甲亚砜 (DMSO) 购自美国 Sigma 公司, 胎牛血清购自杭州四季青生物工程有限公司, RPMI1640 基础培养基为 Gibco 公司产品, 胆红素为 Fluka 公司生产脂溶性的非结合胆红素

胞的分裂和释放速度。

参考文献

- [1] 石小玲. 集落刺激因子对造血的调控作用及其检测的临床意义 [J]. 实用医技杂志, 2007, 14(15): 2091-2092.
- [2] 白黎智, 邢嵘, 路小光, 等. 创伤患者血浆肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-4 动态变化及其意义 [J]. 中国实用医药, 2007, 2(15): 22-24.
- [3] 刘江红, 李小松, 叶静. 糖皮质激素对多发性硬化患者血清肿瘤坏死因子- α 和白介素-4 水平的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2010, 23(2): 105-106.
- [4] 兰海霞, 博晓真, 新燕, 等. 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的研究进展 [J]. 临床儿科杂志, 2005, 23(12): 895-896.
- [5] Ramkalawan H, Wang YZ, Hurbungs A, et al. Pioglitazone, PPAR γ agonist, attenuates experimental autoimmune neuritis [J]. Inflammation, 2012, 35(4): 1338-1347.

(收稿日期: 2015-03-18)

(UBC), 清蛋白为 Sigma 公司产品, RNAisoPlus 总 RNA 提取试剂盒、SYBR Green Real-time PCR 试剂盒为 TaKara 公司产品, 逆转录试剂盒购自 Fermentas 公司, 引物合成由 Invitrogen 公司完成。其余所用试剂为国产分析纯。

1.2 主要仪器 低温高速离心机为美国 Beckman 公司生产的 AvantiTM30, CO₂ 恒温培养箱为 Thermo 公司产品, PCR 分析仪为美国 ABI 生产, 型号为 Veriti96。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 实验用小鼠小胶质细胞株 BV-2 为贴壁细胞, 复苏 BV-2 细胞, 置于 RPMI-1640 培养液 (含 10% 胎牛血清, 100 U/mL 青霉素和链霉素) 中, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 根据细胞代谢情况, 1~2 d 换液, 至指数生长期收集细胞悬液, 细胞计数板计算细胞数, 以 RPMI-1640 培养液调整成 1×10^5 /mL 细胞悬液备用。

1.3.2 实验分组 制备好的细胞悬液接种于 24 孔塑料培养板, 分为 6 个组。空白对照组和 LPS 对照组只加调整好的细胞液使反应体系为 1 mL; 4 个不同浓度的胆红素干预组加入