

强血流阻断效果。

正常肝组织终末小动脉直径 20—50 μm , 终末门静脉的直径为 35 μm , 肝窦宽 7—15 μm , 正常毛细血管的管径为 1—3 μm , 肿瘤边缘新生动脉血管的直径大多 < 55 μm 。本实验所用顺铂微囊直径为 50—400 μm , 平均 200 μm 左右, 基质为性能稳定, 不被生物降解的苯乙烯, 可有效地栓塞门静脉末梢分支致栓塞区肝组织缺血坏死。新生小血管出现迟而局限。肝窦、肝静脉、肺组织内均未见异位栓子。

顺铂微囊和针剂的药代动力学对比观察显示顺铂微囊化后血药浓度峰值降低, 分布相半衰期为 1.201 ± 0.445 小时, 明显大于顺铂针剂值 (0.277 ± 0.049 小时), 顺铂微囊药时曲线后部平稳, 提示了良好的缓释放性能。

四、小结

本实验研究表明, 浙江省人民医院研制的顺铂苯乙烯微囊有较好的药物缓释放性能, 经门静脉给药可有效地栓塞门脉末梢分支引起栓塞组织缺血坏死, 并不越过肝窦引起异位栓塞。门脉分支栓塞后肝功能有一过性损伤, 于 2 周后趋向恢复。

参 考 文 献

1. Ackerman NB et al. Arch Surg, 1972, 101: 636
2. 林贵. 肿瘤, 1984, 4: 152
3. Nakamura H et al. Radiology, 1983, 147: 401
4. Kinoshita H et al. World J Surg, 1986, 10: 803
5. Norio N et al. Radiology, 1986, 161: 303

集落刺激因子(CSFs)的来源及其调控产生

第二军医大学药学院药理教研室(上海 200433) 王洪斌综述 郑钦岳审校

1966 年, Bradley TR 和 Metcalf D 等体外骨髓细胞半固体培养的成功为实验血液学开辟了新路, 在动物和人骨髓细胞半固体培养体系中, 造血祖细胞的增殖分化, 成熟及存活依赖于一种特异的糖蛋白——集落刺激因子(CSFs, colony stimulating factors)的参与, 至今发现的集落刺激因子有 GM-CSF, M-CSF, G-CSF, multi-CSF (IL-3), Erythropoietin. CSFs 是一类作用于非淋巴系、红系、白系前体细胞以及巨核细胞的造血调控因子, 并且还参与淋巴因子的链式反应, 具有免疫增强(如促进白细胞介素 1 产生)作用。CSFs 来源很广, 单核巨噬细胞、淋巴细胞、内皮细胞、肿瘤细胞及机体组织

都可产生刺激粒单系祖细胞生长的集落刺激活性。本文就 CSF 的来源, 产生及调控的研究作一综述, 以反映目前 CSF 在免疫, 炎症, 造血等调控中的作用以及与其它淋巴因子关系的研究进展。

一、组织和器官

本世纪七十年代初期, 许多学者就报道了小鼠胚胎, 肺组织, 注射内毒素后的小鼠血清、肌肉组织等条件培养液中含有 GM-CSA (granulocyte macrophage colony stimulating activity)。在此之后, 在猪肺、猪肾中也提到了集落刺激活性。Burgess AW 等在人胚胎肾、胎盘、人肺的条件培养液中均发现了集落刺激活性。国内外学者

对各组织活性进行了比较, Moore 认为肺组织中 CSF 活性较高, 葛忠良等认为肌浸液中 CSA 最高。随着研究的进一步深入及基因工程技术的应用, 越来越多的组织器官被发现能够产生 CSA, 同时其活性类型也得到了阐明。1979 年, Nicolo 等人在小鼠的体内外实验中表明小鼠的唾液腺、肺、胸腺、肾脾、肺、淋巴结、胰腺、脑、心、小肠、睾丸、骨骼肌、肝和皮肤都能产生 GM-CSA。应用 cDNA 杂交技术, Raiava Shisth 等发现在小鼠所有组织(除肠以外)中都存在 M-CSF 的 mRNA, Chan JY 等报道了包括肝结肠、食管以及实体瘤、白血病细胞在内的 64 种组织在未受刺激时没有发现 GM-CSF 的 mRNA, 刺激 8—12h 后可出现 GM-CSF mRNA。Trout 等又对造血生长因子及其他因子 mRNA 的分布进行了细致的研究, 发现注射 LPS 小鼠 GM-CSF 的转录片段在肺, 心脏中聚集而 G-CSF 的转录片段则集中在心脏中, 注射 LPS 小鼠与对照组相比较, GM-CSF 和 G-CSF 转录片段在聚集部位大大增加, 而 M-CSF 的转录片段在注射 LPS 与对照组之间无差别,

来自各种组织的条件培养液成份是复杂的。Ishizaka 等人发现人尿中提取的集落刺激活性(HuCSF)不能刺激人骨髓细胞集落形成, 但能够刺激鼠骨髓细胞形成集落, HuCSA 能够刺激单核细胞分泌 G-CSF, 因此 HuCSA 能够刺激人来分化骨髓细胞形成粒系簇(cluster), 故 HuCSA 既能刺激小鼠单核祖细胞早期分化又能刺激人粒系祖细胞末期分化。鼠肺产生的 CSA 既可刺激粒系又可刺激单核系祖细胞形成集落。胎盘条件培养液中的 CSA 含有多重 CSF, 经苯基葡聚糖凝胶可分离出 CSF_α 和 CSF_β。CSF_α 可刺激粒系, 单核系, 嗜红系祖细胞分化, 而 CSF_β 仅能刺激粒系和巨噬系祖细胞形成集落。低浓度 CSF_α 可选择性刺激单核系祖细胞, 而低浓度 CSF_β 只能刺激粒系祖细胞。人胎盘

CSF_α 活性与鼠的 GM-CSF 性质相近, 而低浓度人胎盘 CSF_β 又酷似鼠的粒系 G-CSF。小鼠注射内毒素后血清中的 CSA(LPS-sera-CSA)很复杂。80 年代初期, 有两个实验对此 CSA 活性进行分析, 他们都发现 LPS-sera-CSA 都能诱导白血病细胞分化, 此 LPS-sera-CSA 诱导的大部分集落可被 L-cell 条件培养液的抗血清中和, 但 L-cell 条件培养液抗血清并不能使 LPS-sera-CSA 诱导 WEHI3B(D⁺) 细胞分化能力降低。Loten 等人在 LPS-serum 中未检出促进正常粒单系祖细胞分化的诱导因子, 因此他所提出了一个关于增殖和分化相关理论: 造血调控因子要么诱分细胞分化, 要么促进细胞增殖。而 Burgess AW 等则认为 LPS-serum 诱导 WEHI 3 B(D⁺) 细胞分化与其中 CSF 有关, LPS-serum 刺激的集落全由粒细胞组成, 因此他们认为诱导 WEHI3B(D⁺) 白血病细胞分化的是 G-CSF, 进一步实验证明从鼠肺条件培养液纯化的 G-CSF 既可促进正常粒系祖细胞增殖, 又可诱导 WEHI3B(D⁺) 细胞分化。

正常机体的组织和体液中 CSA 的浓度是很低的, 除了上面提到内毒素注射后血清中 CSA 升高外, 还有其他病理情况, 如肿瘤患者的粒细胞增多, 再障病人的尿中, 感染, 淋巴瘤的化疗等都出现 CSA 升高, 目前对这些病理状态下的 CSA 类型还没有完全确定, 人们正在试图用酶联, 放免等检测方法检测病理状态下的 CSA 类型及含量, 以确定 CSF 与疾病的关系。

细胞是以上组织器官产生 CSA 主要来源, 它们包括单核、巨噬细胞, 内皮细胞, 成纤维细胞, T 淋巴细胞及骨髓基质细胞。

二、单核细胞(monocyte)

利用 Northern 分析法对人单核细胞的 mRNA 分析表明单核细胞能够产生 G-CSF 和 M-CSF, 而没有 GM-CSF 和 IL-3 的合成。利用短期贴壁来分离人外周血单核细胞

(1 小时), 在单核细胞内几乎检测不出 G-CSF, M-CSF 的 mRNA, 随着贴壁时间延长, 单核细胞就开始表达 M-CSF 基因, 分泌 G-CSF, 这说明在贴壁过程中, 单核细胞的激活, 可使其表达或分泌 M-CSF, G-CSF。许多丝裂原, 血凝素如 LPS, PHA, PMA 可刺激单核细胞产生 CSF。Stephen 等认为 LPS 可选择性地刺激 G-CSF 的分泌, Wang 等人在研究 LPS 刺激人单核细胞来源的含脂质的巨噬细胞 (MDLM) 发现, LPS(0.5—10ug/ml) 能促进 MDLM 产生 GM-CSA, 而 LPS(10—40ug/ml) 反而抑制 GM-CSA 的产生, 他们同时又观察了 PGE₂ 的含量, 发现 GM-CSA 活性降低时, PGE₂ 含量升高。在人单核细胞内加入 PHA, PMA 后, 6 小时就可见 G-CSF 和 M-CSF mRNA 在单核细胞内合成。进一步实验表明丝裂原和血凝素刺激单核细胞释放 G-CSF 需要 T 淋巴细胞的参与, G-CSF 的释放从第 4 小时开始到 48 小时完成。单核细胞分泌和表达 G-CSF, M-CSF 还受许多淋巴因子的调控, r-IFN、GM-CSF 和 IL-3 可激活单核细胞 M-CSF 的基因表达和蛋白分泌。Motoyoshi, K 等人发现重组和天然人尿中的 CSF 可促进人外周血单核细胞分泌 G-CSF, GM-CSF, 可见 M-CSF 和 GM-CSF, G-CSF 可互相调控。Oster, W 等证明了 TNF_α (非 TNF_β) 可促进人单核细胞分泌 M-CSF, 而体内注射 TNF_α, TNF_β 时, 血清中有 CSA, 在肺中发现有 GM-CSF 转录, 脾中有 M-CSF, IL-1 的转录。Weister, M 等最近报道 IL-4 能诱导外周血单核细胞产生 G-CSF, M-CSF。综上所述无论单核细胞主动吞噬还是经刺激后被动激活都能释放或表达 GM-CSF, GM-CSF, GM-CSF, 这样可增加组织损伤部位的单核吞噬细胞, 增强抗病能力, 在细菌感染时出现的粒细胞增多, 这与内毒素诱导了单核细胞 G-CSF 的分泌有关, 而真菌感染和结核菌感染的病人

机体中出现的单核细胞增多, 这可能是 T 细胞介导的免疫被激活了, 使得激活的 T 细胞释放 GM-CSF, rIFN, IL-3, IL-4 等淋巴因子, 它仍可以刺激单核细胞释放 M-CSF。

三、内皮细胞、成纤维细胞及其它间质细胞

造血干、祖细胞的生长繁殖需要造血微环境的存在, 造血微环境的主要组成部分是骨髓基质细胞, 包括原始纤维细胞, 巨噬细胞, 内皮细胞和巨脂肪细胞, 研究这些细胞的 CSF 产生, 对临床血液学、实验血液学及一些疾病的病因 (如再生障碍性贫血) 的意义极为重要。经过长期研究发现成纤维细胞、骨髓基质细胞能够自发分泌 M-CSF, 而不能产生 G-CSF, GM-CSF。目前认为这些间质细胞产生 M-CSF 与血清中血小板生长因子有关, 它可能调控着 M-CSF 的基因表达。人胸腺非淋巴样细胞及胸腺髓质上皮细胞在内源性 IL-1 和 rIFN 作用下能产生 CSF, 在此基础上 Ogatam 等建立了一株胸腺基质细胞克隆, 能分泌 CSF。成骨细胞系 Mc 3T3-E₁ 在各种亲骨试剂作用下可诱生出 GM-CSF, 修饰后的低密度脂蛋白可诱导内皮细胞产生 G-CSF, M-CSF, 乳酸铁蛋白体内可激活 CSA 产生, 这些结果表明机体中正常存在的物质对维持正常的造血功能起着一定的作用。

Kaushansky, K 等最近实验表明成纤维细胞、内皮细胞在未受到外源性物质刺激时无 GM-CSF 的 mRNA 或蛋白, 当受到淋巴因子或丝裂原刺激后, 可出现 GM-CSF 的 mRNA 及蛋白。TNF, IL-1 可刺激内皮细胞和成纤维细胞表达 M-CSF 基因, 并可促进 G-CSF, M-CSF, GM-CSF 分泌, 最近有实验表明 IgE 受体介导的肥大细胞活化时能够产生 GM-CSF 和 IL-3, 激活的 B 淋巴细胞也可产生 CSF。当机体受到感染, 炎症及机体免疫系统被激活后, 可产生一系列淋巴因子 (如 IL-1, TNF 等) 及抗体分泌, 它们

可进一步激活成纤维细胞、内皮细胞及骨髓基质细胞产生 CSFs, 为炎症效应细胞的产生提供了条件。

病毒感染后的细胞、自发过度生长的 EBV-B 细胞、反转录病毒作用下的成纤维细胞, 人息肉的刮出物的培养液、间皮瘤细胞均发现有 CSF 基因的表达及产生, 这些实验可为 CSF 与肿瘤的关系及肿瘤的发生、发展、生长提供依据, 为最后攻克肿瘤奠定基础。最近有实验表明在怀孕时, 子宫小腺上皮细胞在卵巢激素的作用下可表达 M-CSF 的基因, 妊娠时小鼠血清中 M-CSF 的含量几乎是正常的 1000 倍, 并在分娩时达到最高, 产生的 M-CSF 可能作用于胎盘滋养层细胞 (这些细胞与单核吞噬细胞类似, 含有 M-CSF 的受体), 为胚胎的发育提供了条件这一发现可为生殖避孕药物发展提供一条途径。

四、T 淋巴细胞

T 淋巴细胞是机体中重要的免疫效应细胞, 在肿瘤免疫等一系列免疫调节中起着重要的作用, 70 年代初, 人们相继发现在混合淋巴细胞培养上清, ConA, LPS, PMA, PWM 等丝裂原刺激的淋巴细胞上清都有 CSA, 当时人们认为淋巴细胞的爆式转化是 CSA 产生的必要条件, 后来研究发现 ConA, LPS 刺激淋巴细胞分泌 CSA 依赖于丝裂原与淋巴细胞的持续接触及激活 RNA, 同时还依赖于蛋白质的合成而不依赖于 DNA 的合成。经纯化后的淋巴细胞在 LPS 作用下仅分泌少量的 CSA 当加入 5—10% 的 M 后, 可大大促进 CSA 的分泌, Apte 等认为 M 在调控淋巴细胞产生 CSA 时起到关键作用, 并且是呈单方向调节, 即由 M 产生的淋巴因子, 促进淋巴细胞产生 CSA, 作者用 LPS 刺激 T 细胞缺陷的 nu/nu 小鼠淋巴细胞, 仅有少量的 CSA 产生, 而用 LPS 诱生正常小

鼠 M 上清来作用于 nu/nu 小鼠脾细胞则出现理想的 CSA 活性, 而用 LPS 刺激 B 细胞缺陷 CBA/N 小鼠脾细胞可产生大量的 CSA, 由本实验可知 LPS 刺激 M 产生的细胞因子在调节淋巴细胞产生 CSA 起到关键作用。利用 Northern blot 检测 mRNA 技术发现在未激活的 T 淋巴细胞内无任何 CSF 的表达及分泌, 利用丝裂原或 anti-T_{H1,3} (CD₂) 激活的 T 细胞可分泌刺激粒系、单核系、嗜酸粒细胞形成集落的 GM-CSF, 但是没有 G-CSF, M-CSF 的分泌。随着细胞分离技术发展和重组活性物质的制备, T 细胞分泌 CSF 依赖的途径得到了进一步阐明, Th1 细胞在 IL-2 和 PGE₂ 的协同下可促进 GM-CSF 的产生。Roben 等实验表明 IL-2 维持存活下的 Th 细胞上清中有 GM-CSF 活性, 但在 IL-2 受体单克隆抗体存在的情况下, 加入放射后的抗原提呈细胞及抗原后, Th 细胞上清中仍然存在 GM-CSF 的活性, 说明 Th 细胞产生 GM-CSF 存在依赖和不依赖 IL-2 两条途径。以往一直认为激活的 T 细胞是 IL-3 的唯一来源, 但最近有实验证明一部分血中单个核细胞可产生 IL-3 的 mRNA, 激活的肥大细胞也发现有 IL-3, GM-CSF 的分泌。综上实验表明只有激活的 T 细胞才能分泌 IL-3 或 GM-CSF, 说明在维持正常机体造血功能方面, T 细胞的功能是不大的, AID'S 病人在 T 细胞缺陷的情况下, 其造血机能可以说几乎没有破坏。当异物侵入机体或感染情况下, T 细胞在调节造血机能及提高效应细胞的机能方面起到了重要的作用, 激活的 T 细胞通过释放 GM-CSF, IL-3 增强单核吞噬细胞吞噬功能, 促进粒单系祖细胞增殖和分化, 使炎症效应细胞在炎症部位募集而达到抗感染作用。

(参考文献 38 篇, 略)