

川芎嗪对免疫介导再生障碍性贫血小鼠骨髓细胞 CD₃₄ 抗原表达的影响*

舒砚君 孙汉英 董凌莉 徐慧珍 路武 刘文励

内容提要 目的:探讨川芎嗪对免疫再生障碍性贫血(再障)小鼠骨髓细胞 CD₃₄ 抗原分子表达的影响。方法:建立免疫介导的再障小鼠模型,6.0Gy⁶⁰Co γ-射线照射和尾静脉输注淋巴细胞造成小鼠再障。分为正常组、再障组(对照组)、川芎嗪组,除正常组外均胃饲川芎嗪注射液 4mg/次,1 天 2 次,第 10 天用流式细胞仪检测各组小鼠骨髓细胞膜上 CD₃₄ 抗原表达量。结果:川芎嗪 CD₃₄ 抗原表达量的荧光强度(77.6±6.5)明显高于再障组(68.6±4.5, $P<0.05$),与正常组(80.0±2.6)比较无明显差异。结论:川芎嗪通过影响骨髓微环境促进免疫再障小鼠的造血干、祖细胞增生,增加 CD₃₄ 抗原分子的表达。

关键词 川芎嗪 再生障碍性贫血小鼠 CD₃₄ 抗原

Effect of Ligustrazine on CD₃₄ Antigen Expression of Bone Marrow Cells in Immune-Mediated Aplastic Anemia Mice Shu Yanjun, Sun Hanying, Dong Lingli, et al Tongji Hospital, Tongji Medical University, Wuhan (430030)

Objective: To explore the effect of ligustrazine on CD₃₄ antigen expression of bone marrow cells in immune-mediated aplastic anemia (AA) mice. **Methods:** The model of immune aplastic anemia mice was induced by means of 6.0Gy⁶⁰Co γ-ray irradiation and lymphocyte infusion through tail vein. The mice were divided into 3 groups: the normal group, the AA control group and the ligustrazine group. Mice of the ligustrazine group were fed by 4 mg of ligustrazine injection twice a day by gastrogavage. On the 10th day, CD₃₄ antigen expression intensity of bone marrow cell membrane was measured by flow cytometer analysis system. **Results:** CD₃₄ antigen expression intensity of ligustrazine group was 77.6±6.5, with no statistic difference from that in the normal group (80.0±2.6), while that of the control group was much higher (68.6±4.5, $P<0.05$). **Conclusions:** Ligustrazine could promote proliferation of stem and progenitor cell of AA mice through influencing on bone marrow micro-environment so as to increase the CD₃₄ antigen expression of bone marrow cells.

Key words ligustrazine, aplastic anemia mice, CD₃₄ antigen expression

姚军等用⁶⁰Coγ-射线加淋巴细胞输注建立免疫再生障碍性贫血(再障)小鼠后⁽¹⁾,有作者又报道了免疫诱导再障小鼠骨髓造血干细胞的改变⁽²⁾。川芎嗪能影响骨髓造血微环境,有利于造血细胞增生⁽³⁾,本研究进一步探讨了川芎嗪对免疫再障小鼠骨髓细胞 CD₃₄ 抗原表达的影响及其意义,报告如下。

材料与方

1 实验动物 近交系 BALB/c 小鼠(H-2^d,

MLS^b),雌性,平均 10 周龄,17~20g,由湖北省医学科学院提供。DBA/2 小鼠(H-2^d,MLS^b),8 周龄,雌雄兼用,由中山医科大学实验动物中心提供。

2 药物及试剂 川芎嗪注射液每毫升含川芎嗪 20mg,常州福民制药有限公司生产,批号:960520。FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD₃₄(Pharminge 公司产品),抗体稀释度为 1:100。

3 仪器 流式细胞仪机型为 FACS420(BD 公司产品)。

4 分组及处理 BALB/c 小鼠 24 只,随机分为 3 组,每组 8 只,正常组未作任何处理,再障组 BALB/c 小鼠,6.0Gy⁶⁰Co γ-射线全身照射,4h 内由尾静脉输注 DBA/2 小鼠的胸腺、淋巴结混合细胞悬液 0.2ml,

* 国家自然科学基金(No. 39470883);湖北省自然科学基金资助(No. 96J080)

同济医科大学附属同济医院(武汉 430030)

细胞数为 1×10^6 个/只, 制模后即胃饲生理盐水 0.2ml/只, 每天 2 次, 连续 9 天。川芎嗪组 BALB/c 小鼠用以上方法制模后即胃饲川芎嗪注射液 0.2ml/只, 用法同上。

5 外周血白细胞和骨髓有核细胞(bone marrow nucleated cell, BMNC)计数 制模后第 10 天, 先采集尾静脉血, 按常规方法测白细胞计数, 然后断颈处死, 取股骨用 PBS 冲出股骨骨髓细胞, 制成单个核细胞悬液, 按白细胞计数方法计数 BMNC。

6 尺骨骨髓切片组织学观察 取尺骨固定, 塑料包埋切片, Giemsa 染色, 采用浦权等的方法⁽⁴⁾, 高倍镜下作骨髓造血组织容量百分率的测定, 并观察微血管数、脂肪细胞。

7 骨髓细胞 CD_{34} 细胞检测 将冲出的 BMNC 用

附表 小鼠外周血白细胞及骨髓核细胞数、 CD_{34} 抗原表达量(荧光强度)的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	鼠数	体重 (g)	白细胞 ($\times 10^9/L$)	骨髓有核细胞计数 ($\times 10^6$ 个/根股骨)	荧光强度
正 常	8	17.3 ± 0.9	6.5 ± 0.8	12.8 ± 2.8	80.0 ± 2.6
再 障	7	11.5 ± 0.7	0.9 ± 0.7	2.2 ± 0.3	$68.6 \pm 4.5^*$
川芎嗪	8	15.3 ± 0.9	$2.4 \pm 1.2^\Delta$	$5.8 \pm 0.3^\Delta$	$77.6 \pm 6.5^\Delta$

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与再障组比较, $^\Delta P < 0.05$

微血管扩张、瘀血, 甚至断裂。扩张的静脉窦之间, 散在着少量固缩的细胞, 夹杂着较多的脂肪细胞, 其中造血组织容量显著减低, 为 $(24.9 \pm 9.6)\%$ 。川芎嗪组也可见血管扩张, 无血管断裂, 造血组织容量百分率为 $(52.8 \pm 15.6)\%$, 显著高于再障组($P < 0.001$)。

3 制模后第 10 天各组小鼠 CD_{34} 抗原表达的强度 川芎嗪组骨髓细胞 CD_{34} 表达的荧光强度明显高于再障组($P < 0.05$), 而与正常组(80.0 ± 2.6)之间无显著性差异($P > 0.05$)。

讨 论

按姚军等方法制备免疫性再障小鼠模型是成功的。考虑到川芎嗪有扩张血管, 改善微循环, 抑制血小板聚集等作用。而再障的发生除有骨髓干细胞的损伤外, 还有骨髓微环境的损伤, 故我们试用川芎嗪以改善骨髓微血管系统, 促进骨髓微环境的修复和造血细胞的增生。本研究川芎嗪组外周血白细胞和骨髓有核细胞计数、骨髓造血组织容量百分率均显著高于未治疗的再障组, 证明了川芎嗪的这种治疗作用。

本实验观察川芎嗪明显增加了再障小鼠骨髓细胞 CD_{34} 抗原的表达强度, 进一步说明川芎嗪能使再障小

鼠骨髓造血干、祖细胞增生, 其原因与川芎嗪促进骨髓微血管的修复、增加微血管供氧, 促进基质细胞粘附功能有关, 这已为我们的另一实验所证实。本研究为我们治疗再障患者并用川芎嗪取得较好疗效提供了科学的实验依据。

结 果

1 外周血白细胞计数和骨髓有核细胞数的变化 见附表。再障组和川芎嗪组较正常组均有降低, 但川芎嗪组明显高于再障组($P < 0.05$)。

2 尺骨骨髓切片形态学观察 再障组小鼠可见

参 考 文 献

1. 姚 军, 李树浓. 淋巴细胞与再生障碍性贫血的实验研究. 中华血液学杂志 1991; 12(5): 229—231.
2. 陈 俊, 赵 波, 李树浓, 等. 免疫诱导再障小鼠骨髓造血干细胞的改变及其机理. 中山医科大学学报 1991; 12(1): 32—35.
3. 谢仁敷, 廖军鲜, 袁淑雯. 活血化瘀药对骨髓造血的影响. 中西医结合杂志 1988; 8(10): 616—617.
4. 浦 权, 李世俊, 杨梅如主编. 骨髓活检病理学. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1993: 59—62.
5. 张建忠. CD_{34} 造血祖细胞的研究进展. 国外医学输血及血液学分册 1995; 18(4): 224—227.
6. Krause DS, Ito T, Fackler MJ. Characterization of murine CD_{34} , a marker for hematopoietic pro-genitor and stem cells. Blood 1994; 84(3): 691—701.

(收稿: 1997-04-30 修回: 1997-09-06)