

- [4] Jaffe, E. A. et al., 1973, *J. Clin Invest.*, 52: 2745—2756.
- [5] Jaffe, E. A. et al., 1975, *J Immunol*, 115: 730—733.
- [6] 盛民立等, 1988, 第一届全国分子生物物理学术大会。
- [7] Jaffe, E. A. et al., 1989, *J. Immunol*, 143: 3961—3966.
- [8] Hsu, S. M et al., 1981, *J. Histochem Cytochem.*, 29: 577.
- [9] 张宏等, 1991, 中华肿瘤杂志, 3: 165—167.

## 凝集素及其受体相互作用对人红细胞变形性的影响\*

董 群 苏雅娴 李田勳\*\* 文宗耀\*\*

(北京医科大学细胞生物教研室 100083)

研究红细胞变形性,无论在理论研究还是临床实践中均具有重要意义。它对于认识不同因素如外界物质、细胞膜及骨架、不同病理状态等对细胞结构及功能的影响有一定帮助,也为深入研究不同因素对细胞作用的机制及某些疾病的诊断提供线索和依据。

激光衍射法(Ektacytometry)是70年代以来兴起的一种测量红细胞变形性的方法<sup>[1]</sup>。同其它方法相比,此法具有用血量少(50 $\mu$ l全血)、迅速直观等优点。人们采用激光衍射技术已经对某些病理情况下,如遗传性球形红细胞<sup>[2]</sup>、镰刀型贫血、非稳定性血红蛋白失调等的红细胞变形性,以及红细胞膜变形性<sup>[3]</sup>、骨架蛋白对膜变形性的影响<sup>[4]</sup>等进行了研究。但采用激光衍射法研究配体与受体作用对红细胞变形性的影响尚未见报道。

本文采用激光衍射仪,研究了两种不同凝集素伴刀豆蛋白A(ConA)及麦胚凝集素(WGA)作用前后,红细胞变形性的改变,从而为进一步研究配体与受体相互作用对细胞结构及功能的影响提供直接依据。

### 材料与方 法

激光衍射仪由北京医科大学物理教研室与北京地质仪器厂共同研制。

溶液渗透压用美国 Advanced Wide Range Osm-

ometer 3 WZ 型渗透压测量仪测量。

人新鲜红细胞来自北京红十字血液中心。伴刀豆蛋白A及麦胚凝集素均为美国Sigma公司产品。其余试剂均为分析纯。

#### 一、样品制备

1. 对照组:以PBS(0.12 mol/L NaCl, 0.02 mol/L  $\text{Na}_2\text{H-PO}_4$ , 0.005 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH=7.4, 295 mOsm/kg  $\text{H}_2\text{O}$ )清洗红细胞3次。然后将红细胞悬浮于5 ml 15%PVP液中(PVP, 聚乙烯吡咯烷酮,加0.02 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.005 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 再加NaCl调整渗透压至295 mOsm/kg  $\text{H}_2\text{O}$ ),细胞浓度约为 $2 \times 10^7$ /ml。

2. 加ConA组:清洗后红细胞分别加入3个试管中,以等渗PBS稀释至5 ml,使红细胞浓度约为 $2 \times 10^7$ /ml,加入ConA溶液使终浓度分别为10、30、50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,混匀,作用10 min,离心去上清液,洗3次。以15%PVP等渗液稀释至 $2 \times 10^7$ /ml,备用。

3. 加ConA及D-葡萄糖组:如2.进行。加ConA清洗后,再加D-葡萄糖溶液使其在ConA浓度为10、30、50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的3管中,终浓度分别为0.5、1.5、2.5 mmol/L,作用10 min,清洗2次,以15%PVP等渗液稀释细胞至 $2 \times 10^7$ /ml,备用。实验中同时对红细胞单纯加D-葡萄糖组作为对照。

4. 加WGA组:分两管,如2.进行,WGA终浓度分别为0.05、0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

5. 加WGA及N-乙酰葡萄糖胺组:分两管,如

1.\* 国家自然科学基金资助项目。本实验得到北医大生物物理教研室于桂芬及徐家鹤老师的指导,特表感谢。

2.\*\* 北京医科大学物理教研室。

3. 所述,使WGA浓度为0.05,0.1  $\mu\text{g/ml}$ 的两管内N-乙酰葡萄糖胺的终浓度分别为0.75,1.5  $\text{mmol/L}$ 。实验中同时做红细胞单纯加N-乙酰葡萄糖胺组作对照。

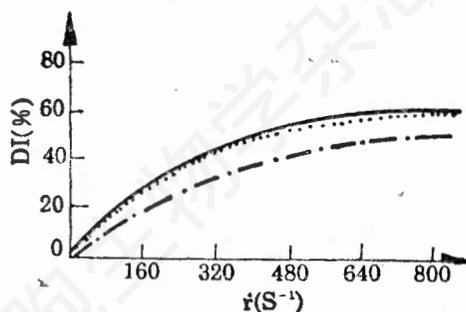
## 二、测量

用激光衍射仪在800  $\text{S}^{-1}$ 切变率范围内,测量变形指数(DI)随切变率( $\dot{\gamma}$ )的变化曲线<sup>[4]</sup>。实验温度为:25 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ 。

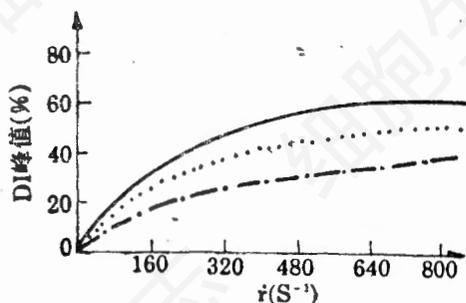
## 结果与讨论

### 一、ConA对红细胞变形性的影响

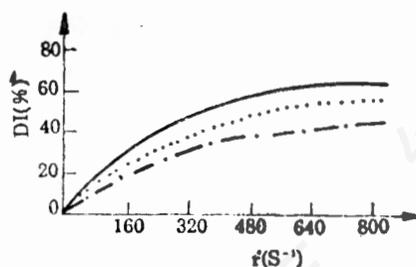
图1(a)、(b)、(c)分别为ConA浓度为10、30、50  $\mu\text{g/ml}$ 时,对照组、加ConA组及加ConA同时分别加0.5、1.5、2.5  $\text{mmol/L}$ 终浓度D-葡萄糖组的DI- $\dot{\gamma}$ 曲线。表1为DI峰值与ConA浓度的关系。由图1及表1可见,随ConA的加入,实验组变形系数(DI)较对照组有显著降低,而分别加入相应浓度ConA抑制剂D-葡萄糖液后,DI值能够恢复至接近对照水平。由此可见,随着ConA浓度的增加,红细胞变形性逐渐降低,而加入相应浓度的抑制剂时,可以使变形性恢复至近正常



(a) ConA 为 10  $\mu\text{g/ml}$ ; D-葡萄糖为 0.5  $\text{mmol/L}$



(b) ConA 为 30  $\mu\text{g/ml}$ ; D-葡萄糖为 1.5  $\text{mmol/L}$



(c) ConA 为 50  $\mu\text{g/ml}$ ; D-葡萄糖为 2.5  $\text{mmol/L}$

图1 ConA 对人红细胞DI- $\dot{\gamma}$ 曲线的影响

—: 对照组;  
- - - : 加 ConA 组;  
.....: 加 ConA 及 D-葡萄糖组

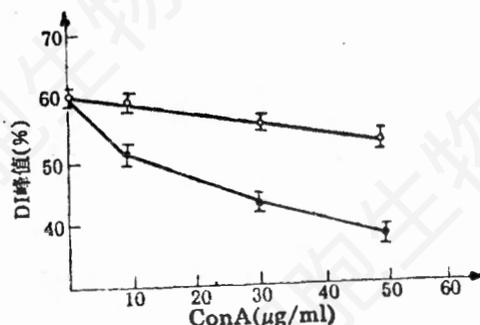


图2 红细胞变形性(DI峰值)随ConA浓度变化曲线

□: 加 ConA 组; ○: 加 ConA 及 D-葡萄糖组

水平。

图2为以ConA浓度为横坐标,DI峰值为纵坐标所做曲线。亦可见随ConA浓度增加,红细胞变形性逐渐减小,而加入相应浓度D-葡萄糖后,变形性恢复至近对照水平。

### 二、WGA对红细胞变形性的影响:

图3(a)、(b)分别为WGA浓度为0.05、0.1  $\mu\text{g/ml}$ 时,对照组、加WGA组、及加WGA同时加N-乙酰葡萄糖胺分别为0.75、1.5  $\text{mmol/L}$ 组的DI- $\dot{\gamma}$ 曲线。表2为红细胞变形性(DI峰值)与WGA浓度的关系。其变化趋势与加ConA各组实验类似。只是WGA在0.05、0.1  $\mu\text{g/ml}$ 时,DI峰值分别下降到49.3及32.8,而ConA在10、30、50  $\mu\text{g/ml}$ 时,

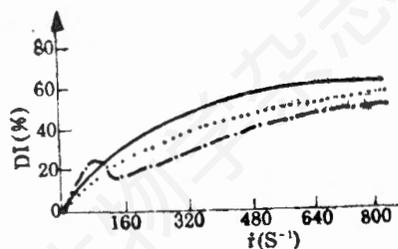
表1 红细胞变形性(DI峰值)与 ConA 浓度的关系

抑制剂 DI 峰值(%) ConA 浓度( $\mu\text{g/ml}$ )	无 D-葡萄糖时	加入相应浓度 D-葡萄糖
	0	$60.3 \pm 0.6 (n=15)$
10	$48.1 \pm 0.5 (n=5)$	$59.0 \pm 1.4 (n=4)$
30	$42.4 \pm 1.0 (n=3)$	$55.4 \pm 0.5 (n=3)$
50	$38.0 \pm 0.6 (n=4)$	$53.0 \pm 0.8 (n=4)$

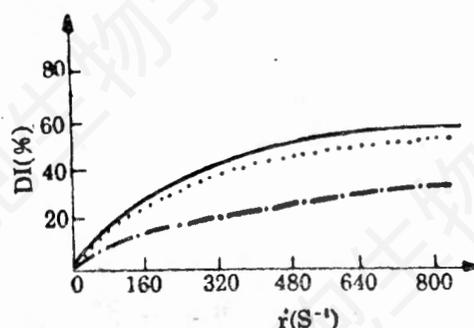
DI 峰值分别为 48.1、42.4、38.0, 可见 WGA 较 ConA 能更显著、更敏感地影响红细胞变形性。

综上所述, 加入凝集素 ConA 或 WGA 后, 变形系数显著降低, 即红细胞变形性减小; 而加入相应抑制剂后, 凝集素的结合位点被竞争抑制, 所以变形性恢复至接近对照水平。

红细胞的变形性主要取决于三个因素: 1)



(a) WGA 为  $0.05 \mu\text{g/ml}$ , N-乙酰葡萄糖胺为  $0.75 \text{ mmol/L}$



(b) WGA 为  $0.1 \mu\text{g/ml}$ , N-乙酰葡萄糖胺为  $1.5 \text{ mmol/L}$

图3 WGA 对人红细胞 DI-t 曲线的影响

—: 对照组;  
- - -: 加 WGA 组;  
.....: 加 WGA 及 N-乙酰葡萄糖胺组

细胞膜的粘弹性; 2) 细胞的几何形状, 包括表面积——体积比; 3) 细胞内液粘度<sup>[4]</sup>。可见, 红细胞变形性的改变可能是膜性质、外形、内部成份变化等的一个综合指标。

表2 红细胞变形性(DI峰值)与 WGA 浓度的关系

抑制剂 DI 峰值(%) WGA 浓度( $\mu\text{g/ml}$ )	无 N-乙酰葡萄糖胺	加入相应浓度 N-乙酰葡萄糖胺
	0	$60.3 \pm 0.6 (n=15)$
0.05	$49.3 \pm 2.2 (n=5)$	$57.4 \pm 0.2 (n=3)$
0.1	$32.8 \pm 3.5 (n=4)$	$51.0 \pm 2.7 (n=3)$

配体与膜受体的结合对红细胞变形性的影响,也可能涉及多方面因素:

首先,凝集素与膜受体结合后,其本身可能形成一个较致密的外被(Coat),由此可引起细胞粘弹性降低,变形性减弱。此外,凝集素与受体作用,可能影响膜上蛋白及脂分子的运动,特别是受体分子的运动,从而影响膜的变形性。

另外,配体与膜受体结合对细胞内骨架成份将产生影响,这也会对细胞变形产生很大作用。有文献报道<sup>[5]</sup>红细胞骨架带4.1对维持红细胞变形性有很大作用。骨架蛋白常通过膜上内在蛋白与膜相连,例如:ConA的受体带Ⅲ蛋白就是锚蛋白(ankyrin)与膜连结的部位;而WGA的受体血型糖蛋白则与带4.1蛋白相

结合。故凝集素与受体作用后,可能会通过这些连接蛋白的作用引起骨架结构发生变化,从而导致细胞变形性的改变。

本实验是以激光衍射技术研究配体与受体作用引起细胞变形性改变的一次尝试,有关配体对红细胞变形性影响的分子机理尚需进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] Bessis, M et al., 1975, *Blood Cells*, 1: 307.
- [2] Bessis, M et al., 1980, *Blood Cells*, 6: 315.
- [3] Heath, B. P. et al., 1982, *Biochim. Biophys. Acta*, 691: 211.
- [4] 文宗耀, 1987, *中华物理医学杂志*, 9:117.
- [5] Takakuwa, Y. et al., 1989, *Biorheology*, 26: 478.

## 一个抗造血祖细胞单克隆抗体能特异性抑制 IL3 生物活性

陈 璋 沈德诚 杨希峰 白金芬 孙同哲 汤美华 余 鸣 苏月来

(天津,中国医学科学院血液学研究所 300020)

Stephen C. Peiper, Kenneth S. Zuckerman

(美国阿尔巴马大学)

IL3是一种重要的造血调节因子,对多能和定向造血祖细胞及成熟嗜酸、嗜碱和巨噬细胞等都有刺激作用<sup>[1,2]</sup>。有报道它在白血病细胞的发生和发展中也有重要作用,例如体外实验证明IL3能够刺激急性髓性白血病细胞增殖<sup>[3]</sup>,也能促进非造血肿瘤细胞的体外生长<sup>[4]</sup>。用IL3基因转染的小鼠干细胞进行造血重建时,可引起髓系增生紊乱,导致髓细胞浸润内脏,4周内动物死亡<sup>[5]</sup>。因此,阐明IL3与其受体结合后的信号传递,对我们认识该因子在体内的生物学作用机制具有重要意义。

目前已获得了M-CSF、GM-CSF和白细胞介素(IL1、IL2、IL4及IL6)受体基因的分子克隆<sup>[6-13]</sup>,但对IL<sub>3</sub>受体的分子生物学特征还不

完全清楚。我们曾报道HI 98——一个抗髓细胞单抗能够特异地抑制IL3与KG<sub>1</sub>或正常人周血单核细胞的结合<sup>[14,15]</sup>。为深入研究上述作用的生物学意义,本文进一步观察了HI 98单抗对IL3刺激人造造血祖细胞增殖分化的影响。

### 材 料 与 方 法

**造血细胞集落培养:**取正常人骨髓,经密度梯度离心分离单个核细胞,用含10%胎牛血清Hank's平衡盐液(HBSS)洗3次,然后将 $2 \times 10^7$ 细胞/10 ml接种于100 mm培养皿(含13%大AB血清HBSS)中,37℃过夜,取出非粘附细胞转至另一平皿进行第二次去粘附细胞。再用Leu 1和Leu 56单抗(BD公司)通过Panning法去除T细胞,剩余非T非粘附细胞(经染色检测单核细胞污染率<4%)用于实验。集落培养采