

血祖细胞。因此,生物学试验进一步验证了今年维也纳会议上 Lewis 报告的结果:他们在筛选国际 157 个抗粒细胞单抗中发现仅有一个编号为 M₁₄₁(即 HI 98)单抗有明显封闭 IL3 与相应靶细胞 KG 1 表面 IL3 受体的结合反应。而对重组人 GM-CSF、G-CSF 和 IL4 与相应靶细胞的结合没有影响。提示 HI 98 单抗的特异性可能是针对人类 IL3 受体。HI 98 对小鼠 IL3 反应体系没有明显抑制作用,表明人和小鼠 IL3 受体亦存在种间差异。

众所周知 IL3 在调节造血中起着十分重要的作用,它调节着从多能干细胞到粒单系统细胞的分化、成熟和功能表达。在 EPO 等其他因子参与下又可调节其他造血细胞的分化与成熟。因此研究 IL3 的反应性是十分重要的。目前已知 M-CSF 受体是 *c-fms* 癌基因产物,各种因子受体与细胞癌变的关系是当前极具竞争性的研究领域。因此 HI 98 单抗为研究人类 IL3 受体提供了重要的工具,为研究一些造血系统疾病的发病机制提供了新的可能性。

我们还初步对 103 例白血病患者细胞表面 HI 98 抗原表达情况进行了研究,发现 76% 急非淋、100% 慢粒患者白血病细胞表达 HI 98 或 IL3 受体,为今后深入比较研究正常与恶变造血细胞表达 IL3 受体的质与量及其与细胞恶变的关系打下基础。对 IL3 受体在造血调节中的作用将有新的认识。

摘 要

本文报道一种抗髓系细胞分化抗原单抗 HI98,属于 IgM,与 90% 以上人外周血粒细胞,72% 单核细胞和 56% 骨髓细胞反应。与一些上皮细胞有交叉反应。HI 98 单抗能抑制胎肌浸液诱导的人 GM-CFU 集落形成,最大抑制率达 75%。用基因重组的 IL3 和 GM-CSF 纯品研究证实 HI 98 单抗只能特异性地抑制 IL3 诱导的 GM-CFU 和 BFU-E 集落形成,而对 GM-CSF 诱导的 GM-CFU 和 BFU-E 集落形成没有影响。因而生物学试验的结果与 Lewis 在今年维也纳会议上报告的 IL3 结合抑制试验结果完全一致,表明 HI 98 单抗的特异性是针对人类 IL3 受体,是一个抗 IL3 受体抗体,在国内外尚未见报道。为研究人 IL3 受体的基因调控及其与造血细胞增殖、分化、癌变之间的关系和造血因子间的相互作用提供了一个重要的工具。

参 考 文 献

- [1] 陈璋, 1989, 中华血液学杂志, 10(1): 48。
- [2] 沈德诚等, 1989, 中华血液学杂志, 10(7): 350。
- [3] Lewis, a. j. et al., 1989, *Tissue antigen*, 33(2):227.
- [4] Stanken, L. H., et al., 1985, *J. Immunol Method.*, 76:157.

电离辐射对内皮细胞分泌 TXA₂ 和 PGI₂ 的影响

盛民立 朱涵能 沈立刚 季小蓉 金慰芳

(上海医科大学放射医学研究所)

出血是电离辐射后的主要症状之一,也是主要致死原因之一⁽¹⁾。血管壁特性的改变和血液凝固系统的变化对于病理性出血起着重要作用。内皮细胞作为分隔血液和内皮下结构的屏障,是防止出血的第一道防线,在研究辐射损

伤造成的出血机理上是具有重大意义的。

本实验通过血管内皮细胞的培养^(5,6)直接测定培养细胞中 PGI₂ 和 TXA₂ 的含量,并观察辐射前后的差别,以探求辐射损伤出血的原因。

PGI_2 和 TXA_2 是花生四烯酸的两个代谢产物, 分别在前列腺素合成酶、血栓素合成酶的作用下产生。 PGI_2 具有很强的抑制血小板聚集及抑制血管收缩、促使血管舒张的作用, TXA_2 具有很强的聚集血小板及收缩血管作用, PGI_2 的半衰期为 3—6 分钟, 很快被代谢为作用弱 100 倍的 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$, TXA_2 也极不稳定, 半衰期约 30 秒。很快转变为稳定的但无生物活性的 TXB_2 。由内皮细胞产生的 PGI_2 与血小板分泌的 TXA_2 之间具有强烈的拮抗作用, 并保持一定的平衡。 PGI_2 和 TXA_2 的不稳定性对平衡有着瞬时性和高效性的调节作用。是保持体内环境的稳定因素。

据有关文献报道⁽⁴⁾血管内皮细胞不仅能分泌 PGI_2 , 而且还能合成 TXA_2 , 但后者在内皮细胞中产量远低于 PGI_2 , 约只有 PGI_2 的 1/5—1/10, 内皮细胞分泌的 TXA_2 对 PGI_2 - TXA_2 平衡作用还不清楚, 辐射对内皮细胞内 TXA_2 分泌的影响, 在辐射后 32 小时内 PGI_2 和 TXA_2 分泌情况, 还没有人观察过, 而这些指标都是有助于进一步研究辐射造成的出血机制, 对出血原因作更深入了解, 为寻找治疗急性放射病出血药物提供可靠的依据。

材 料 和 方 法

出生 48 小时内雄性胎牛, 放血处死后, 无菌条件下取其胸主动脉, 参照本室已形成的内皮细胞培养方法, 分离出细胞, 以 1×10^4 个/cm 2 密度接种于培养瓶内, 放入 37℃ 含有 5% CO_2 的孵育箱中培养。每隔 3 天换一次培养液, 3—5 天后内皮细胞汇合并铺满瓶底形成密集的内皮细胞单层, 融合后的细胞用胰酶消化进行传代培养。

内皮细胞含有特异性第Ⅷ因子相关抗原。可用双酶抗酶法进行鉴定, 若呈阳性反应, 即可证明为内皮细胞, 第四代内皮细胞用于本实验^[5,6]。

第四代内皮细胞以 2 万个/孔的密度接种于 24 孔板中, 长满后, 在室温下 ^{60}Co 源 γ 射线照射, 剂量为 15 Gy, 剂量率为 249.2 r/分, 照射距离为 60 厘米。

照射后的内皮细胞用花生四烯酸诱导分泌 PGI_2 ,

TXA_2 , 用熏蒸的乙酸乙酯提取上层有机相, 抽干, -30℃ 保存待测。

样品用中国人民解放军总医院提供的 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ TXB_2 放射免疫分析药盒测定, 花生四烯酸是美国 sigma 化学公司产品, 浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 。

结 果

如表所示, 为辐射之前及辐射之后间隔的 4 小时的 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$, TXB_2 测量值, 共 8 个时相点, 在第 1、4、7、8 等时相点都表现了不同程度的差异性, 尤其是 TXA_2 , 其 8 个时相点与辐射前差异极为显著 ($p < 0.01$)。

表 1 电离辐射后, 动脉内皮细胞 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 和 TXB_2 的分泌 (pg/孔)

| 时间 (小时) | 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$) | n | TXB $_2$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$) | n |
|---------|---|----|--------------------------------------|----|
| 0 | 1850.20 \pm 534.89 | 12 | 292.97 \pm 129.46 | 10 |
| 4 | 812.36 \pm 776.90* | 8 | 595.63 \pm 95.71* | 12 |
| 8 | 1669.41 \pm 915.49 | 8 | 707.19 \pm 157.73* | 10 |
| 12 | 2329.71 \pm 1234.68 | 11 | 580.97 \pm 112.01* | 12 |
| 16 | 999.61 \pm 671.71* | 9 | 587.96 \pm 142.16* | 12 |
| 20 | 1537.90 \pm 724.31 | 10 | 552.63 \pm 73.67* | 8 |
| 24 | 1677.44 \pm 712.53 | 12 | 609.09 \pm 115.39* | 9 |
| 28 | 1226.72 \pm 726.40** | 10 | 502.04 \pm 172.33* | 11 |
| 32 | 990.38 \pm 493.44* | 12 | 455.59 \pm 99.67* | 12 |

* $p < 0.01$ ** $p < 0.05$

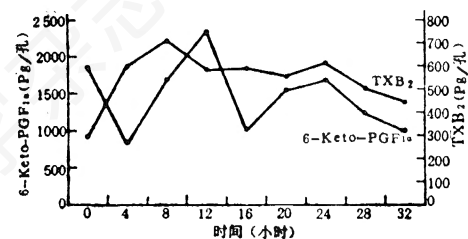


图 1 辐射对内皮细胞分泌 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$, TXB_2 的影响

图 1 所示, 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$, TXB_2 的测量值在辐照后 8 个时相点的变化情况, TXB_2 上升, 而 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 下降。在第一时相点, TXB_2 上升, 6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ 下降最为显著, 在以后的时相点中, TXB_2 值逐渐向正常值靠拢。

但仍与正常值相差很大, 6-keto-PGF_{1α} 值有反复, 大趋势是下降的, 这一点在讨论中还要提到。

如图2所示, 15 Gy⁶⁰Co-γ 射线照射后, 细胞的生长曲线, 照射后各天细胞数与照射前相比近乎相等, 可见照射后细胞存活率不会影响 PGI₂、TXA₂ 值的测定。

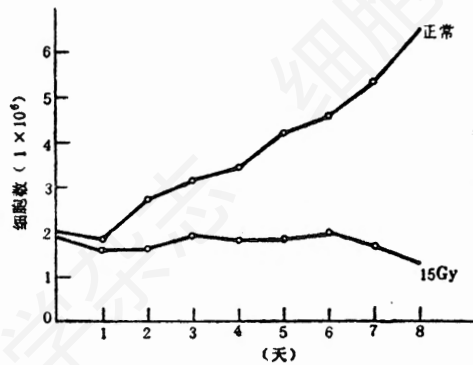


图2 辐射对内皮细胞存活率的影响

讨 论

在内皮细胞中 PGI₂、TXA₂ 含量极少, 不利于测量, 但内皮细胞含有丰富的 PGI₂ 合成酶及少量 TXA₂ 合成酶, 能够在多种诱导剂的刺激下产生较多的 PGI₂ 和 TXA₂, 花生四烯酸、Melittin 钙离子激活剂 A₂ 3187, PGH₂ 都是内皮细胞 PGI₂ 和 TXA₂ 的诱导剂, 其中以 20 μM 的花生四烯酸诱导能产生最大量的 PGI₂。而对 TXA₂ 的诱导也是花生四烯酸为最好。花生四烯酸是合成 PGI₂ 和 TXA₂ 的前体物质, 与内皮细胞一起孵育时, 一部分能直接被氧化酶氧化代谢, 另一部分能渗入到胞膜的磷脂成份中, 再在磷脂酶的作用下被释放出来, 然后在环氧化酶和 PGI₂ 合成酶, TXA₂ 合成酶的作用下, 生成较多的 PGI₂ 和 TXA₂。

TXA₂ 和 PGI₂ 相互间有拮抗作用, 两者在血液, 内皮界面保持以 PGI₂ 为优势的平衡状态, 电离辐射打破了这一平衡, 使 PGI₂ 减少, 而 TXA₂ 增多, 并使 PGI₂ 失去优势而代之以 TXA₂ 优势, 于是血小板在内皮细胞表面

粘附聚集并释放平滑肌增殖因子, 导致内皮损伤, 而引起出血⁽¹⁾。

对于辐射后内皮细胞中 PGI₂ 的分泌量的测定有许多相互矛盾的结果, 认为 PGI₂ 值是增长的, 无论内皮细胞是粘附于培养皿表面还是处于游离状态, 离壁内皮细胞 PGI₂ 分泌增长, 而贴壁内皮细胞 PGI₂ 分泌减少, 在辐射后血管内皮 PGI₂ 减少⁽¹⁾。

本实验结果表明, 在 15 Gy γ 射线照射后, PGI₂ 的分泌量逐渐减少, 而 TXA₂ 的量则逐渐增大, 辐射后 4 小时, TXA₂ 上升, PGI₂ 下降变化幅度相当大。在之后的时相中, TXA₂ 略有下降仍远远高于正常值, 而 PGI₂ 的变化过程则有反复, 总之呈下降趋势, 这可能与内皮细胞的自然修复以及 PGI₂ 应激性增强有关。以上表明 γ 线照射能激活内皮细胞中的环氧化酶和血栓素合成酶, 使 TXA₂ 的分泌量增大, 并通过 TXA₂ 对 PGI₂ 生成的反馈性抑制, 使 PGI₂ 分泌减少。

据文献报道, 200—2000 rad 范围内的辐射对血小板 TXA₂ 的生成无影响^[7]。在正常情况下 PGI₂ 和 TXA₂ 的平衡是指内皮细胞内的 PGI₂ 和血小板中的 TXA₂ 之间的平衡, γ 射线辐射打破了这一平衡。本实验表明, 辐射后 TXA₂ 上升, PGI₂ 下降。而 1500 rad 处于对血小板分泌 TXA₂ 无影响范围, 故认为 PGI₂ 与 TXA₂ 的平衡为内皮细胞内 PGI₂ 和血小板及内皮细胞中 TXA₂ 的平衡。其中内皮细胞 TXA₂ 分泌在平衡中起重要的作用, 是平衡的关键, 当血小板 TXA₂ 分泌增多或减少时, 内皮细胞中的 TXA₂ 可相应减少或增多, 以保持 TXA₂ 和 PGI₂ 的平衡, 减少内皮的破损, 辐射破坏了内皮细胞的 TXA₂ 的调节作用, 是产生出血的重要原因之一。

摘 要

本实验通过血管内皮细胞的体外培养, 用 RIA 法直接测定细胞培养液中, 6-keto-PGF_{1α} 和 TXB₂ 的含量并以此反映培养细胞合成分泌

PGI₂ 和 TXA₂ 的量。同时观察 15 Gy γ 射线辐照前后的差别,以探索辐射损伤出血的原因。

实验结果表明,在辐射后 32 小时中 TXA₂ 上升, PGI₂ 下降。正常组 PGI₂ 分泌量为 TXA₂ 的 6 倍。在血液内皮界面保持以 PGI₂ 为优势的平衡状态。 γ -射线照射能激活内皮细胞中的环氧化酶和血栓素合成酶破坏这一平衡,使 TXA₂ 的量增加,促使血小板在内皮细胞表面粘附聚集并释放平滑肌增殖因子,导致血管内皮细胞损伤,从而造成出血。

参 考 文 献

[1] [苏] T. K 扎拉克扬,急性放射病出血综合征,原子能出版社,上海。pp 46~52,

82—108, 1983。

[2] Macarak, E. J., 1977, *Lab Invest.*, 36 : 62—67.

[3] Hymie L., Nossel Henry J. Voger, 1982 In *Pathobiology of The Endothelial Cell* pp. 253—306, Academic Press, N Y.

[4] Ingeman, C., 1981, *J. Clin Invest.*, 67: 1292—1296.

[5] 盛民立等, 1987, 上海医科大学学报, 14 (1):71—74

[6] Jaffe, E. A. et al., 1973, *J. Clin. Invest.* 52:2745—2756.

[7] Allen, J. B., 1981, *Lancet*, 2:1193—1195.

[8] Mitchell, Friedman, 1986, *Radiation Research* 106:171—181.

[9] Moncada, S., 1979, *N. Engl. J. Med.*, 300:1142—1147.

实验技术

双光电描记体外培养心肌细胞搏动的方法*

冯 鸣 国

(江西省医学科学研究所)

程 建 云

(邮电部五四 0 厂)

体外培养的心肌细胞能维持正常心肌细胞所具有的结构和功能特点,利用它可以从活细胞水平,进一步从分子水平研究心肌的结构、功能及能量代谢。自发性、节律性搏动是体外培养心肌细胞的重要特征,是反映细胞功能的一项主要观察指标,已经广泛应用于细胞学、药理学、生理生化学等领域的研究中。应用连续拍摄电影、闭路电视和微电极的方法^[1,2],虽可完好地显示出细胞搏动变化,但过于复杂,且成本高;采用单光道光电换能^[3-5],仅能对单一细胞(簇)进行描记。本文报道一种新的培养心肌细胞搏动多细胞(簇)同步光电描记方法,能同时描记出同一视野不同细胞的搏动变化,并能反映出心肌细胞间的功能联系。

* 本方法已在第 5 届亚太地区药理学家会议上报告。

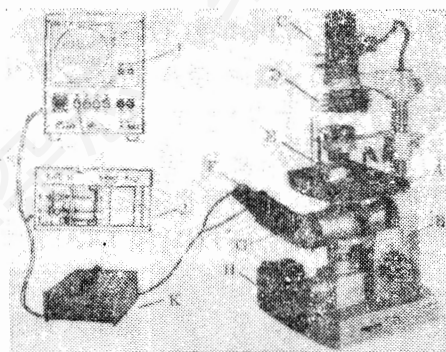


图 1 实验装置简图

A. 物镜 B. 调节手轮 C. 显微镜光源 D. 滤色片 E. 培养瓶 F. 光电换能器 G. 光栅 H. 照相机 I. 双线示波器 J. 多导生理记录仪 K. 放大器

一、装置与原理

本系统如图 1 所示,由光学、光电换能、