

510.6 nm 激光对脐血造血细胞的 增殖作用*

厉位阳

(浙江大学物理系生物光学室 杭州 310027)

提要 介绍了 510.6 nm 激光对造血细胞的刺激作用,促使颗粒-巨噬细胞集落形成单位(GM-CFUc)增多。从人脐带血中分离制备的有核细胞中,加入集落刺激因子(CSF)后进行体外培养,形成的 GM-CFUc 为 $18.6 \pm 12.6/10^4$; 如果加入的 CSF 是经激光照射后的细胞制成的,其 GM-CFUc 为 $40.5 \pm 20.2/10^4$; 如果先用激光照射脐带血的有核细胞,在培养时加入的 CSF 是未经激光照射后的细胞制成的,也有增殖效应,GM-CFUc 为 $36.5 \pm 18.5/10^4$; 如果脐带血中的有核细胞和制备 CSF 的细胞都用激光照射,发现 GM-CFUc 明显增多,其值为 $57.4 \pm 41.2/10^4$, 是未经激光处理者的三倍多。

关键词 激光, 脐带血, 造血细胞, 增殖

1 引 言

在“低能量激光对胎肝造血细胞的增殖作用”^[1]一文中,介绍了低能量激光对造血细胞具有刺激作用,它可以促进体外培养的造血细胞分裂增殖;用激光处理制备造血细胞集落刺激因子(Colony stimulating factor, CSF)也具有同样作用。由于骨髓或胎肝造血细胞的来源受到制约,因此建立细胞库来缓解骨髓细胞移植/输注的需要,就要寻找新的造血细胞来源, Nakahata 与 Ogawa^[2]曾报道人脐带血中也有造血细胞。能否从人脐带血中分离出造血细胞,用激光技术处理,使造血细胞在体外培养体系中扩增细胞数量,来满足造血细胞移植/输注的需要,这是一个值得研究的问题,无论从理论上或社会需要方面来看都具有重要意义。在以往工作的基础上,对此问题进行了研究,现将实验结果报告如下。

2 材料与方 法

该实验采用准连续的脉冲 CuBr 激光,输出波长为 510.6 nm,脉冲频率为 22 kHz,激光波形的脉冲宽度约为 30 ns,所以该脉冲激光束的占空比大,平均功率为瓦级的 CuBr 激光其脉冲功率可达数千瓦。分光后的 510.6 nm 绿激光耦合入球头弥散石英光纤,调整光纤输出端面与样品池的距离改变照射激光功率密度,调整光纤的耦合角保证输出光斑在样品池区域内激

* 国家自然科学基金资助项目(编号: 68978037)。

收稿日期: 1998-11-02; 收到修改稿日期: 1998-12-28

光功率密度均匀。照射样品的平均光功率密度为 50 mW/cm^2 , 照射时间为 10 s 。

人脐带血来自顺产或剖腹产正常婴儿, 剪断脐带后一次可获得 $20\sim 30 \text{ ml}$ 全血, 用无防腐剂肝素抗凝, 在 12 h 内送实验室处理, 分离除去红细胞后可获得 $3\sim 5\times 10^8$ 个有核活细胞, 取出一部分有核活细胞进行激光照射, 然后将激光照射后的细胞和未经照射者分别用液态/半固态双层培养体系在 24 孔培养板进行体外培养, 每个培养孔中加入 1×10^4 个有核活细胞, 在培养体系中一半加入经激光照射细胞后制成的 CSF, 其余的一半加入同批未经激光处理细胞制成的 CSF, 培养 8 天后, 以多于 50 个细胞的细胞团作为集落, 在显微镜下计算每孔集落数。

3 结果与讨论

在我们的实验条件下, 正常脐带血中有核细胞加入 CSF 后, 进行体外培养, 形成颗粒-巨噬细胞集落(GM-CFU_c) 数为 $18.6\pm 12.6/1\times 10^4$ ($n = 22$, 下同); 若加入的 CSF 是经过激光处理细胞制成的, 所得的 GM-CFU_c 数为 $40.5\pm 20.2/1\times 10^4$, 比上述正常对照组增加了一倍以上。如果先用激光处理脐带血中有核细胞后再进行接种培养, 培养体系中加入的是未经激光处理细胞制成的 CSF, 其结果所得的 GM-CFU_c 数为 $36.5\pm 18.5/1\times 10^4$, 与上述用激光照射的 CSF 增殖效应大体相近; 若培养体系中加入的是经激光处理细胞制成的 CSF, 则可以见到 GM-CFU_c 数明显增多, 其值为 $57.4\pm 41.2/1\times 10^4$, 比未经激光照射的正常对照组增加了三倍多。上述结果经 t 检验表明, 用激光照射脐带中的有核细胞或配制 CSF 的细胞, 其集落形成率和未经照射者比较两者均有明显差别 ($t \geq 2.4, P < 0.05$)。用激光照射造血细胞产生的增殖效应是激光的直接效应; 而激光照射细胞后制成 CSF 的增殖效应是激光的间接效应。这种增殖效应可能与造血细胞内自然存在的卟啉类物质有关, 在激光的照射下, 产生非常微弱的单态氧, 增强细胞的活性, 从而刺激细胞内的代谢活动和细胞增殖。更具体的作用机制有待于进行深入研究。

骨髓移植已经成为治疗严重再生障碍性贫血、髓性贫血病以及某些有高度复发危险性的急性淋巴细胞和非淋巴细胞白血病、重度放射病等疾病的有效方法。但是骨髓移植产生的免疫排斥反应——移植物抗宿主病(GVHD) 以及骨髓细胞的来源困难制约了骨髓移植的临床应用。因此体外人骨髓细胞三维培养、人胚胎肝造血细胞、人末梢血液中分离富集造血细胞以及白血病人血液净化恶性细胞等工作, 国内外都有人在探索研究, 而且取得不同程度的进展。唐天华^[3]把培养了一周的人胚胎肝细胞用于治疗再生障碍性贫血患者, 并未见到有副作用, 他们检查了培养 5 天的细胞中 OKT3 细胞及 LHA-D_r 抗原, 阳性表示细胞明显地减少, 体外培养降低了免疫排斥反应。

由于该激光照射的剂量很小, 增殖的细胞变异可能性极小。所以激光照射体外培养的造血细胞, 不仅能使 GM-CFU_c 增殖, 还可能使排异反应降低。因此, 这一工作是很有意义的。

致谢 本工作是在浙江省医学科学院欧阳淹研究员的精心指导下完成的, 在此深表感谢。

参 考 文 献

- 1 Ouyang Yan, Sun Choujing. Low energy laser effect on the proliferation of hematopoietic cells in fetal liver. *Chinese Journal of Laser Medicine* (中国激光医学杂志), 1993, **3**(3): 35~ 36 (in Chinese)
- 2 T. Nakahata, M. Ogawa. Hematopoietic colony forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono and multi-potential hematopoietic progenitors. *J. Clin. Invest.*, 1982, **70**(4): 1324~ 1328

- 3 Tang Tianhua. Cultivating fetal liver cell for the anaemia treatment with regenerative obstruction. *Chinese Journal of Hematology* (中华血液学杂志), 1990, 11(6): 309~ 311 (in Chinese)

510.6 nm Laser Effect on the Proliferation of Hematopoietic Cells in Human Umbilical Cord Blood

Li Weiyang

(Department of Physics, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract Effect of a 510.6 nm laser on the proliferation of hematopoietic cells in human umbilical cord blood was studied. Mononuclear hematopoietic cells were prepared from human umbilical cord blood, and cultured with CSF in vitro, the GM-CFU_c was $18.6 \pm 12.6/10^4$. If the mononuclear cells were cultured with CSF which was prepared by laser irradiated cells, the GM-CFU_c was $40.5 \pm 20.2/10^4$. If the mononuclear cells were irradiated by laser and then cultured with CSF, the GM-CFU_c was $36.5 \pm 18.5/10^4$. If both the mononuclear cells and the cells for CSF preparation were irradiated by laser, the GM-CFU_c was increased significantly, it was $57.4 \pm 41.2/10^4$.

Key words laser, umbilical cord blood, hematopoietic cells, proliferation