

小鼠骨髓基质祖细胞低剂量辐射效应研究

马淑梅 刘晓冬 姚 远¹ 于洪臣

(白求恩医科大学预防医学院 长春 130021)

¹(总后深圳三九医院 深圳 518029)

摘要 采用体外液体单层和半固体培养方法, 研究小鼠骨髓细胞在受到 0、25、50、75、100 mGy 照射后, 骨髓基质祖细胞的形成、特性及功能变化。结果表明: 各照射组 CFU-F 有不同程度增多, 50、75mGy 组有显著意义; CFU-F 基质层对粒系祖细胞集落形成单位 (CFU-GM) 的支持作用明显增加; CFU-F 基质层对骨髓细胞的粘附能力在 50、75mGy 组有显著提高。结论是骨髓基质祖细胞低剂量照射时具有兴奋效应。

关键词 骨髓基质祖细胞, 低剂量, 辐射效应, 粘附能力

自 Luckey^[1] 和 Olivieri^[2] 提出低剂量辐射可诱导生物体的兴奋效应和适应性反应以来, 国内、外学者广泛开展了有关研究。本文介绍以骨髓基质祖细胞为研究对象, 通过研究 CFU-F 形成能力, CFU-F 对 CFU-GM 作用及骨髓基质细胞的粘附能力的变化, 探讨骨髓基质祖细胞低剂量辐射效应。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性昆明种小鼠, 购自白求恩医科大学动物学部, 5 周龄, 体重 $18 \pm 2\text{g}$ 。

1.2 照射条件

Phillips 深部 X 射线治疗机, 电压 220kV, 电流 10mA, 滤过板 0.5mm Cu+1.0mm Al, 球靶距离 212~220cm, 照射剂量 0、25、50、75、100mGy。小鼠骨髓细胞悬液一次性照射。

1.3 骨髓单个细胞制备

小鼠脱臼处死, 75% 酒精浸泡 3~5min, 无菌取双侧股骨, 用带有 7# 针头的注射器吸取 IMDM 培养液冲洗骨髓腔, 将所得细胞悬液过 4# 针头, 分离出单个细胞, 计数骨髓有核细胞数, 调浓度为 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 备用。

1.4 骨髓基质祖细胞集落形成单位 (CFU-F) 培养

采用 12.5cm^2 底面积的国产玻璃培养瓶, 含培养物 5.0mL, 其中 5×10^6 个细胞, 20% 小

国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 初稿 1998-12-16, 修回 1999-03-15

牛血清, 于 37℃、饱和湿度、5% CO₂ 孵箱中培养, 于第 5 天换全液, 第 14 天甲醇固定, 姬母萨染色, 计数 CFU-F 集落数 (50 个以上细胞为一集落)^[3]。

1.5 CFU-F 单层对 CFU-GM(粒系造血祖细胞) 的支持作用测定

用 24 孔板培养 CFU-F, 每孔含培养物 1.0mL (2×10⁶ 骨髓单个细胞), 常规培养 (5% CO₂, 饱和湿度, 37℃孵箱) 至 CFU-F 形成单层时 (至少 2/3 以上瓶底长满细胞), 去上清洗 2 次, 置入 1.0mL 培养物, 内含骨髓单个细胞 1.5×10⁵, 25% 小牛血清, 0.8% 甲基纤维素, 同上条件培养 7d, 观察 CFU-GM 集落 (每集落 >30 个细胞)^[3]。

1.6 骨髓有核细胞对骨髓基质细胞层粘附能力的测定

用 24 孔板培养骨髓细胞形成基质细胞层后, 用 IMDM 培养液轻轻冲洗 2 次, 以去除悬浮细胞, 在培养的基质细胞层上加入浓度为 5×10⁶/mL 小鼠骨髓有核细胞悬液 1mL (含 20% 小牛血清), 在培养箱中培养 2h 后, 用 IMDM 培养液轻轻冲洗 2 次, 收集并计数未粘附的骨髓有核细胞。

骨髓有核细胞对骨髓培养基质细胞层粘附能力 = (1 - 未粘附的骨髓有核细胞 / 5×10⁶) × 100%

1.7 统计

统计方法采用 *t* 检验。

2 实验结果

2.1 低剂量辐射对 CFU-F 集落形成的影响

由表 1 可见, 骨髓细胞经低剂量照射后, CFU-F 集落形成单位增加, 50、75mGy 组与对照组相比, *p* < 0.01。

Tab.1 The effects of low dose radiation on the proliferation of bone marrow stromal progenitor cells, the growth of CFU-GM supported by CFU-F and the adhesive capacity of CFU-F for bone marrow cells ($\bar{x} \pm s$)

Dose/mGy	Number of CFU-F (<i>n</i> = 6)	Number of CFU-GM (<i>n</i> = 6)	Adhesive capacity of CFU-F/% (<i>n</i> =9)
0	173.7±24.7	27.5±4.0	77.78±8.24
25	185.0±14.8	46.5±13.8 ⁽¹⁾	82.00±4.24
50	255.5±16.4 ⁽¹⁾	61.8±15.1 ⁽¹⁾	83.77±5.33 ⁽²⁾
75	279.7±21.0 ⁽¹⁾	69.8±9.1 ⁽¹⁾	87.79±5.80 ⁽¹⁾
100	156.5±13.7	45.0±8.4 ⁽¹⁾	74.78±8.45

⁽¹⁾*p* < 0.01 vs 0 mGy ⁽²⁾*p* < 0.05 vs 0mGy

2.2 低剂量辐射后形成的骨髓基质细胞层对粒系祖细胞造血的影响

由表 1 可见, 低剂量照射后形成的 CFU-F 对 CFU-GM 支持作用均显著高于对照组。

2.3 低剂量辐射后形成的骨髓基质细胞层对骨髓有核细胞粘附能力的影响

由表1还可见, 50、75mGy组与对照组相比, 粘附能力显著增加。

3 讨 论

低剂量电离辐射的生物效应是目前放射生物学研究热点之一。刘树铮^[4]发现低剂量照射培养人成纤维样祖细胞时, 对细胞增殖产生刺激作用。于洪臣等^[5]在研究小鼠脾基质细胞时也发现了低剂量对小鼠脾基质细胞有刺激作用, 与本实验对CFU-F成集落的观察结果相似, 即在50、75mGy照射时CFU-F数明显高于对照组, 表明低剂量照射骨髓细胞后, 对CFU-F产生促增殖作用。骨髓正常造血有赖于造血干细胞与基质的直接粘附作用, 这种粘附作用由造血细胞及基质细胞表面的粘附分子和基质蛋白介导, 它不仅影响造血细胞在骨髓微环境中迁移分化、增殖, 而且影响细胞因子分泌与释放^[6]。本实验发现在50、75mGy照射后, 骨髓基质细胞层对造血细胞的粘附能力明显增加, 表明低剂量照射后, 骨髓基质的粘附力增加。低剂量辐射可能通过增加基质细胞数量使基质细胞表达的粘附分子及其分泌的蛋白增多而起作用。自从建立了体外双层造血培养体系起, 人们在骨髓基质如何对造血细胞的增殖发挥调节作用做了大量工作。证明了基质细胞除可以通过细胞间的直接接触外, 还可以产生可溶性或细胞接触性的细胞因子对造血过程进行调控^[7]。低剂量照射骨髓细胞形成基质贴壁层对粒系祖细胞CFU-GM生成明显增加, 而且在各照射剂量组均有显著意义, 可能是由于低剂量辐射后造血基质细胞数量增多, 功能增强, 而且分泌的粒系集落刺激因子(CSF)增多导致集落形成增多。

本实验在以往基础上用低剂量辐射强化骨髓基质细胞后, CFU-F集落生成能力提高, CFU-F支持粒系造血功能提高, CFU-F对造血细胞的粘附能力明显增加, 这一结果有助于进一步揭示基质祖细胞对造血调控的机理, 从而为其更有利于支持造血重建提供一个思路。

参 考 文 献

- 1 Luckey T D. Health Phys, 1982, 43(6):771~789
- 2 Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Science, 1984, 223(4636):594~597
- 3 张鸿来, 刘 及. 白求恩医科大学学报, 1988, 14(3):211~213
- 4 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1986, 6(4):280~282
- 5 于洪臣, 张红梅, 凌 翎等. 中华放射医学与防护杂志, 1996, 16(1):35~36
- 6 黄 伟. 国外医学生理病理与临床分册, 1997, 17:244~246
- 7 Mayani H, Guilbert L J. Eur J Haematol, 1992, 49:225~233

EFFECTS OF LOW DOSE RADIATION ON MICE BONE MARROW STROMAL PROGENITOR CELLS

MA Shumei LIU Xiaodong YAO Yuan YU Hongchen

(*School of Preventive Medicine, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021*)

ABSTRACT Experiments with liquid single layer culture and semisolid culture in vitro were performed to evaluate the effect of low dose radiation(LDR) on bone marrow stromal progenitor cells. It was found that after the treatment of LDR the proliferation function of CFU-F increased, the supporting effect of CFU-F on CFU-GM and the adhesive capacity for bone marrow cells enhanced, especially in the groups treated with 50mGy and 75mGy. The results confirmed the homesis effect of LDR on bone marrow stromal progenitor cells.

KEYWORDS CFU-F, LDR, Radiative effect, Adhesive capacity