

腹水型网状细胞肉瘤在不同剂量 ^{60}Co γ 线照射后超微结构的变化

蒋铁男 杨静莹 孟珊珊 李志旺

(中国医学科学院放射医学研究所)

摘要 本文用扫描电镜和透射电镜观察网状细胞肉瘤 SRS 于 γ 线照射后超微结构的变化。瘤细胞经 1000~5000 rad γ 线照射后 3 小时, 扫描电镜下可见其表面皱折减少, 变细; 微绒毛也减少, 变粗, 末端膨大, 呈鼓锤状。5000 rad 照射后, 还见瘤细胞表面膜破溃和脱落。透射电镜下可见线粒体, 高尔基氏器, 核染色质和核仁均发生明显的退行性变化。可见 SRS 经 γ 线照射后早期, 细胞原浆膜系统即发生明显变化

关键词 腹水型网状细胞肉瘤; 细胞膜; 超微结构; 扫描电镜; 透射电镜; ^{60}Co γ 线照射。

引言

为寻找一个适宜于作放射生物学研究的肿瘤细胞株, 能观察辐射损伤后细胞膜系统的变化。我室于 1979 年引入了一株小鼠腹水型网状细胞肉瘤^[1]。该瘤株用我所繁殖的成年昆明种小鼠反复传代, 其生物学特性比较稳定^[2]。在此基础上, 我们观察了 ^{60}Co γ 线对该瘤细胞的效应。本文报道照射后瘤细胞膜系统的超微结构方面的变化。

材料和方法

1. 实验动物

昆明种成年雌鼠, 体重 20~25 g, 每只小鼠均接种 0.2 ml 网状细胞肉瘤腹水^[2]。接种后 3~8 天各组断椎处死小鼠, 取三只病鼠腹水, 每只病鼠取三滴腹水, 移入装有 10 ml 磷酸缓冲液 (1/15 M, pH = 7.2~7.4) 的离心管中混匀, 离心 (1500 r.p.m, 5 min) 沉淀, 弃去上清液。

2. 扫描电镜标本制备

上述标本制备成细胞悬液, 滴在 $0.1 \times 0.3\text{cm}$ 盖玻片上, 在室温静置 5min 后, 将小玻片置 2% 戊二醛磷酸缓冲液固定 4℃ 2 小时。用 pH = 7.2 的 1/15 M 磷酸缓冲液洗三次, 在 0.1% 锇酸磷酸缓冲液中固定 1 小时, 双蒸水洗 3~4 次, 再用 1% 锇酸磷酸缓冲液在 4℃ 冰箱中固定 30 min。双蒸水洗净后将标本置于 4℃ 2% 单宁酸溶液中过夜, 次日取出, 双蒸水洗净。最后再用 1% 锇酸磷酸缓冲液固定 30 min, 双蒸水充分洗净, 梯度乙醇脱水, 醋酸异戊酯置换样品中的酒精。临界点干燥, 金镀膜, 扫描电镜下观察^[3]。

3. 透射电镜标本制备

细胞悬液离心后在 3.8% 戊二醛磷酸缓冲液预固定 1 小时, 1% 锇酸磷酸缓冲液固定 2 小时,

梯度乙醇脱水(以上均在4℃下进行)E_{pon}812环氧树脂包埋,LKB-IV型超薄切片机切片,H-600透射电镜下观察。

结 果

在扫描电镜下可见,腹水型网状细胞肉瘤自接种后第3~8天,其形态有规律性的变化。接种后第三天瘤细胞大小比较均一,以中小型者居多;表面有许多粗大的皱折,微绒毛较少,有

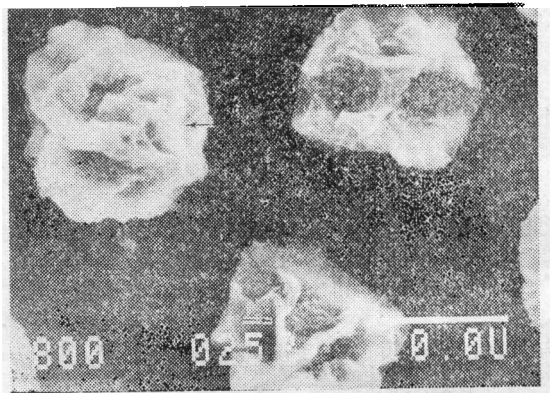


图1 SRS腹水型网状细胞肉瘤接种后第三天(瘤细胞大小均匀,瘤细胞表面有许多粗大皱折,(→)微绒毛少见。有的细胞无微绒毛。比例尺:10.0μ)

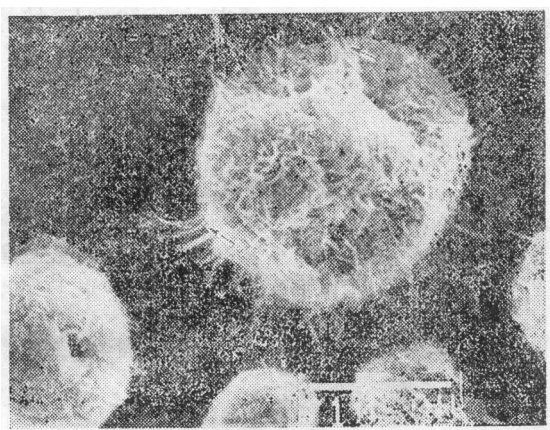


图2 SRS腹水型网状细胞肉瘤接种后第七天(细胞大小不一,大细胞表面有许多小皱折,微绒毛(→)明显增多。比例尺:10.0μ)

的细胞无微绒毛(图1);随着接种后天数增加,胞体逐渐增大,接种后五天细胞表面的皱折由粗变细,微绒毛逐渐增多。到接种后第七天,大细胞进一步增多,其表面皱折更细,微绒毛明显增多,状似棘刺或小棒(图2),接种后第八天,这类细胞占优势,幼稚细胞比较少见。腹水型网状

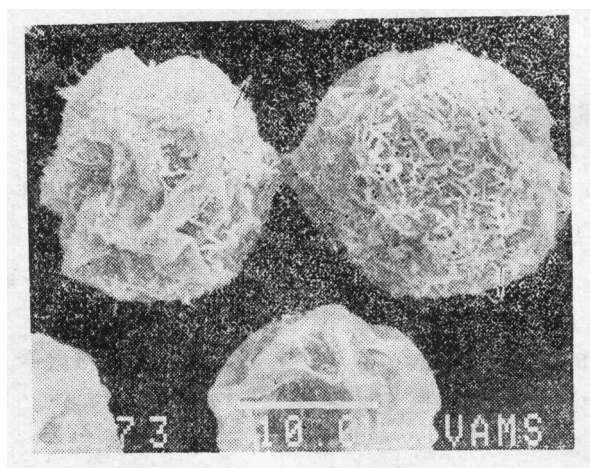


图3 SRS腹水型网状细胞肉瘤接种后第五天(⁶⁰Co γ线照射约1000 rad后3小时。可见瘤细胞表面皱折减少,变细,微绒毛变粗,其末端膨大,呈鼓锤状(→)比例尺:10.0μ)

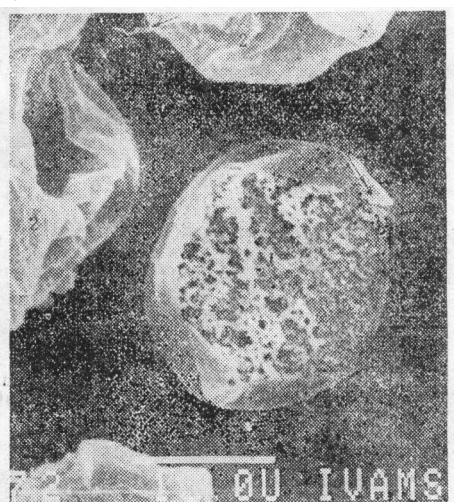


图4 SRS腹水型网状细胞肉瘤接种后第五天(经约5000 rad γ线照射后3小时。可见瘤细胞表面膜严重破溃,剥落(→⊙);有的细胞(2)表面绒毛变粗,末端膨大(→)。比例尺:10.0μ)

细胞肉瘤,于接种后第五和第七天,分别用γ射线1000,3000和5000 rad照射。γ线1000 rad照射后3小时即可见瘤细胞表面皱折减少,变细,微绒毛也减少,变粗,其末端膨大,甚至呈鼓锤状(图3)。随照射剂量的增大和照射后时间的延长,上述变化愈益明显。经γ线约5000rad照射后3小时,可见瘤细胞表面的微绒毛均明显减少,细胞膜皱折几乎消失,并可见表面出现破溃和剥脱等现象(图4)。

腹水型网状细胞肉瘤自接种后3~8天,在透射电镜下可见肿瘤细胞为单个,初期大小比较均匀,中小型居多;后期大型细胞相对增多。瘤细胞切面一般呈卵圆形,胞浆周边可见大量微绒毛状突起,微绒毛的数量似与接种后的天数有关。胞浆内有丰富的核糖体,线粒体,粗面内质网

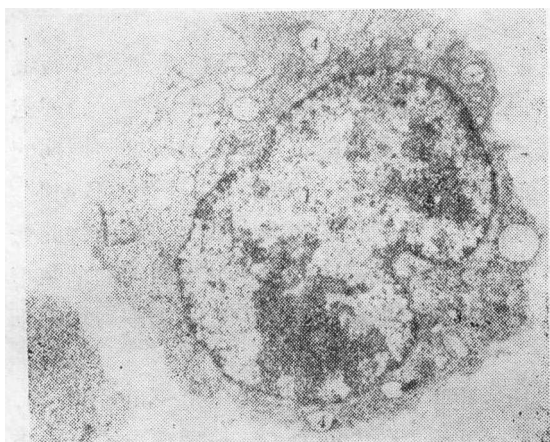


图5 SRS腹水型网状细胞肉瘤细胞接种后第五天(胞浆内有丰富的核糖体、线粒体(4)、粗面内质网、高尔基氏器(3)。胞核(1)大,核质的大部份为颗粒细微的常染色质,核膜周围有一薄层异染色质,核内有大核仁(2)。比例尺:15000×)

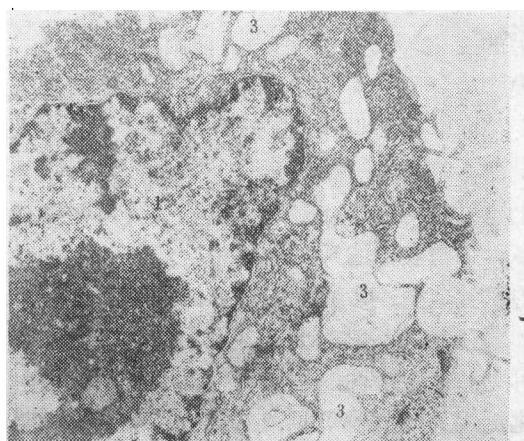


图6 SRS腹水型网状细胞肉瘤细胞接种后第五天(经约1000rad γ线照射后3小时的变化。可见线粒体(3)明显肿胀,空化,核(1)内核仁(2)肿胀。比例尺:15000×)

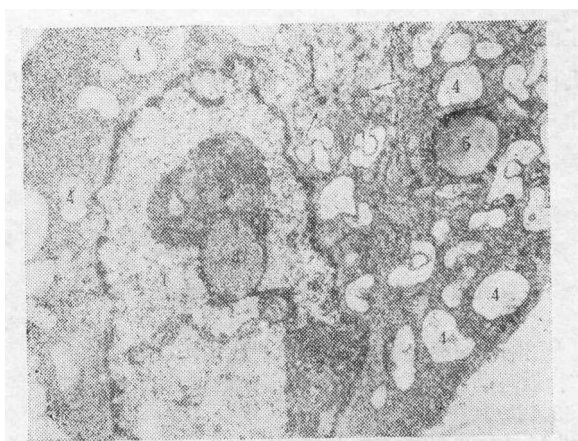


图7 SRS腹水型网状细胞肉瘤细胞接种后第五天经约3000rad γ线照射后3天(可见细胞内有病毒颗粒(→),细胞核(1)高度不规则,内凹,核仁(2)轻度分离,线粒体严重肿胀(4),脂肪变性(5), (3)为核袋(核内胞浆成分)。比例尺15000×)

和高尔基氏器。在粗面内质网中可见A型病毒颗粒。胞核大而不规则,核质的大部份是颗粒细微的常染色质,在核膜周边有一薄层异染色质,核内有大核仁。由于胞核大而且呈不规则的扭曲(图5),核内可出现假包涵体。随着接种后天数增加,细胞内部细微结构出现退行性变化。接种后5天即可见少数线粒体轻度肿胀,嵴排列紊乱或空化。

腹水型网状细胞肉瘤经⁶⁰Co γ线约1000、3000和5000 rad照射,于照射后10 min,3小时,一天和三天,在透射电镜下观察,照射后3小时即见瘤细胞染色质凝聚,核仁肿大,核仁颗粒成份和纤维成份分离。此外,还见线粒体肿胀,部分高尔基氏器呈囊泡样变,内质网未见明显变化(图6)。照后一天线粒体和高尔基

氏器的变化更为显著,内质网也可见轻度肿胀。

随着照射剂量增大,上述变化更为明显。瘤细胞照射约 3000rad 后 10min,即可见线粒体,高尔基氏器明显肿胀,核仁裂解,部份细胞胞浆中出现脂滴。照射约 5000 rad 的瘤细胞,于照射后即刻可见核仁分离,核仁变性以及线粒体肿胀,但未见破碎细胞。照射后 3 天,各种细胞器的变化更为严重,许多线粒体极度肿胀呈圆球形,很不规则,嵴突破坏,线粒体空化,核仁有分离变性现象(图 7)。

讨 论

从腹水型网状细胞肉瘤的扫描电镜标本可见,在接种后 3~8 天,细胞表面出现皱折和微绒毛的变化。人们认为细胞表面微绒毛可能作为细胞膜的贮存器官,保存当细胞呈圆形时过剩的细胞膜^[3]。细胞表面微绒毛不是持久的结构,与细胞的繁殖过程有着密切的关系,其随着细胞周期的变化而变化。当细胞处于 G_1 期时,细胞表面出现大量的微绒毛、水泡和皱折,当其进入 S 期时,微绒毛减少,细胞表面也变得比较平滑^[4]。我们观察到的腹水型网状细胞肉瘤细胞表面结构的变化也可能与该瘤细胞生长过程有关。在接种后 3~5 天,细胞大量繁殖,处于分裂周期的细胞增多,细胞表面的微绒毛减少,而随着接种后天数增加,细胞增殖率逐渐减慢,进入细胞周期的细胞日益减少,多数细胞表面的微绒毛乃增多。

经 ^{60}Co γ 射线大剂量照射后,瘤细胞表面的膜结构发生了损伤。 γ 照射约 1000~3000rad 后,可见瘤细胞表面的皱折变平,微绒毛减少,其末端膨大。 γ 照射约 5000rad 后,瘤细胞的上述变化更明显,同时可见细胞膜大片破溃和剥脱,推测这些变化与瘤细胞膜表面电荷及功能的变化有关系^[5~6]。

腹水型网状细胞肉瘤经约 1000、3000 和 5000 rad γ 照射后,在透射电镜下可见瘤细胞核发生明显变化。包括染色质凝聚,核仁各种退行性变化,甚至裂解。胞浆内可见多聚核糖体解聚,线粒体的变性和破坏,高尔基氏器和内质网扩张等细胞器诸病理变化。细胞核特别是核仁在核糖体的合成上占有很重要的地位,辐射引起细胞核及核仁的变化必然影响瘤细胞的生长、发育和繁殖^[7]。线粒体是细胞进行生物氧化产生能量的一个主要机构,线粒体的形状改变必然导致细胞能量供应的障碍。其它细胞器的变化也会破坏瘤细胞的生命活动。目前电离辐射日益广泛地应用于肿瘤治疗,上述实验结果为阐明肿瘤的放射治疗机理提供了资料。

参 考 文 献

- [1] 季文琴,吴厚生,朱益栋,程立,金丕焕,小鼠 SRS 腹水型网状细胞肉瘤的实验性研究,淋巴瘤学刊,3, 133(1979).
- [2] 蒋铁男,杨静莹,孟珊珊,李志旺, ^{60}Co γ 线对腹水型网状细胞肉瘤的效应,(付印中).
- [3] 王静一,应国华,李向应,李淑荣,张玉英,中华物理医学杂志,2, 3(1980).
- [4] A. C. Follet and R. D. Goldman, *Exp Cell Res.*, 59, 124(1970).
- [5] C. Sato, K. Kojima, K. Nishizawa, S. Shimizu and M. Inoue, *Biochim Biophys Acta.*, 448, 379(1976).
- [6] C. Sato and K. Kojima, *Exp Cell Res.*, 98, 90(1976).
- [7] S. S. Barham and R. A. Walters, *Rad Res.*, 76, 105(1978).

(1982 年 12 月 6 日收到)

THE CHANGES OF ULTRASTRUCTURE IN ASCITIC RETICULOCYTIC SAROCMA CELLS AFTER γ -IRRADIATION

Jiang Tienan Yang Jingying Meng Shanshan Li Zhiwang

(Institute of Radiation Research, Chinese Academy of Medical Sciences)

ABSTRACT The changes of ultrastructure in ascitic reticulocytic sarcoma cells (SRS) after γ -ray irradiation were studied with scanning and transmission electron microscopes. Various alterations at the cell surface membrane could be seen under the scanning electron microscope 3 hours after γ -ray irradiation with doses of 1000~5000 rad. Folds decreased in number and thinned. Villi also decreased but thickened with enlarged ends expanded as drumsticks. The surface membrane ulcerated and fell off after a 5000 rad irradiation. Obvious degeneration of mitochondrias, Golgi apparatuses, chromatin and nucleoli occurred. All these revealed that the plasma membrane system of SRS changed significantly in the early period after γ -ray irradiation.

KEY WORDS Ascitic reticulosarcoma; Cell membrane; Ultrastructure; Scanning electron microscope; Transmission electron microscope; ^{60}Co γ -ray Irradiation.