

造血微环境与造血机能 XX IX . 骨髓CFU-f的放射敏感性测定及其 亚群分类探讨*

孙慧斌 刘 及 李荣贵

(白求恩医科大学, 长春)

摘要 本文依据集落细胞密度进行了豚鼠骨髓CFU-f的剂量-存活曲线测定。结合有关放射生物学资料的分析和集落形态观察, 证明该CFU-f为非均一性群体, 可区分为致密型($D_0 = 2.17 \text{ Gy}$, $N = 1.14$)和疏松型($D_0 = 4.09 \text{ Gy}$, $N = 1.13$)等两个放射敏感性不同的亚群。这一结果对于加深理解CFU-f的放射生物学特性和放射损伤与修复规律, 探讨CFU-f的亚群分类有着重要意义。

关键词 CFU-f, 放射敏感性, CFU-f 亚群

前 言

研究造血基质祖细胞的亚群分类对造血放射损伤发病机理及放射病的防治研究具有重要意义。近年来, 造血微环境在正常造血和造血辐射损伤与修复中的作用日益受到重视, 其中成纤维样(基质)祖细胞(CFU-f)的研究尤为引人注目^[1-5]。关于骨髓CFU-f的放射敏感性的研究颇多^[6], 并指出存在着放射敏感性不同的亚群^[7], 然而对该群体的生物学特性及其与放射敏感性的关系, 缺乏必要的了解。我们在以往骨髓CFU-f的研究中注意到, 豚鼠CFU-f集落的细胞密度不同, 可明显地区分为致密和疏松二类, 二者所占比例所因照射剂量不同呈规律性变化。本文根据集落细胞密度的差异, 对豚鼠骨髓CFU-f的放射敏感性进行了分类测定, 就该细胞群体的放射敏感性的不均一性及亚群分类进行了初步探讨。

材 料 与 方 法

实验材料为豚鼠股骨骨髓。所用豚鼠系本校动物室繁殖, 雄性, 体重 $400 \pm 20 \text{ g}$ 。

同批实验的3只动物, 在杀后立即剥取其同侧之3条股骨。以199培养液冲出全部骨髓, 制成 1×10^7 有核细胞/ml的骨髓细胞悬液。然后分装, 于 4°C 下进行 ^{60}Co γ线照射。剂量率: 0.75 Gy/min , 剂量分别为0.0、1.0、2.0、3.0、4.0和5.0 Gy。将照射后的骨髓细胞悬液调制成浓度为 1×10^6

* 中国科学院科学基金资助课题

有核细胞/ml,由含 20% 马血清(长春生物制品研究所制备)的 199 液构成的培养体系。每个 30 ml 培养瓶中加入上述培养体系 5 ml,植入量为 5×10^6 有核细胞,每剂量组 8 瓶。置于 5% CO_2 、饱和湿度、37℃条件下培养。9 天后,弃去培养液,经甲醛固定,HE 染色后,置光镜下观察。将 > 60 个细胞的细胞团计为一个集落,根据集落中近心 2/3 半径范围内有无细胞间隙分为密、疏二类;再依集落大小(小: $\phi < 3.9 \text{ mm}$,大: $\phi \geq 4 \text{ mm}$)分类计数,进而推算 D_0 、 n 等参数,绘制剂量-存活曲线,分析实验结果。

结果与讨论

在不同剂量照射后,经体外培养所得豚鼠骨髓 CFU-f 集落的统计结果,见表 1。

根据求得的密、疏二类集落 CFU-f 的存活分数,分别建立各自的直线回归方程(相关性检验 P 均小于 0.01),并以直线方程回归法绘制剂量-存活曲线。曲线的 D_0 和 n 值列于表 2。

从表 2 可见,疏集落 CFU-f 的 D_0 值明显高于密集落,为 4.09 Gy;密集落的 CFU-f D_0 则较小(为 2.17 Gy)。这一现象提示,豚鼠骨髓 CFU-f 并非均一的群体,而是由放射敏感性及生物学特性有所不同的亚群构成的。对此,从放射敏感性和成集落特性等方面的研究入手,对二种集落所代表的 CFU-f 作了进一步的分析比较。依据原始数据,对密集落与疏集落之间的各组 CFU-f D_0 值进行的统计分析表明,密集落 CFU-f 与疏集落 CFU-f 的 D_0 值之间有高度显著差异($P < 0.01$)。

从统计学角度看,随着照射剂量的增大,疏集落在全部集落中相对比例的增高,是导致这种差异的直接原因。而这一比例的增高只有在 CFU-f 群体内存在着放射敏感性不同亚群时才可能出现。即使出现了某些在正常情况下生成密集落的 CFU-f 在照射后转而生成疏集落的情况,也只能说明电离辐射使得 CFU-f 群体出现了不同亚群之间的转化。实际上,这也是一种支持而不是否定 CFU-f 群体中存在着放射敏感性不同亚群的假设。

为了解随照射剂量改变,密、疏二种集落大小的变化规律,我们对不同剂量照射后二种 CFU-f 集落的大小进行了分类统计分析。发现不同剂量照射后 CFU-f 所生成的密和疏二种集落的大小有着相同的变化趋势(见图 1)。

由图 1 可见,随照射剂量增大,密与疏集落均有大型化趋势。零剂量时,集落之间的竞争性抑制作用明显,所生成的密、疏集落均以小集落为主。较小剂量照射时,由于射线的作用,CFU-f 之间的竞争性抑制有所降低;因而大集落的比例稍有增加而小集落的比例略有减少。随照射剂量的增大,具有增殖能力的 CFU-f 的绝对数逐渐减少。在竞争性抑制趋于消失的情况下,残存的少量 CFU-f 有机会增殖形成大的集落。由此可见,射线对 CFU-f 集落大小的影响是由于辐射的杀伤作用使得具有增殖能力的 CFU-f 减少,因而集落生成过程中的竞争性抑制作用减弱所致。

对 CFU-f 集落的形态所作观察分析表明,密集落的形态特征是:集落中细胞有明显的向心性,呈年轮状排列,细胞间紧密接触。这些特点明显地区别于疏集落。在疏集落中,细胞排列松散、向心性差。集落形态的差异,反映出形成这些集落的 CFU-f 在成集落特性方面的不同。

基于上述分析,并经统计计算可初步确认,豚鼠骨髓 CFU-f 存在着放射敏感性和成集落特性不同的二个亚群:生成致密型集落的 CFU-f 亚群, $D_0 = 2.17(2.02 \sim 2.34) \text{ Gy}$, $n = 1.14(1.03 \sim 1.27)$;生成疏松型集落的 CFU-f 亚群, $D_0 = 4.09(3.71 \sim 4.51) \text{ Gy}$, $n = 1.13(1.05 \sim 1.21)$ 。二

者的剂量-存活曲线见图 2。

结 语

本文采用放射生物学分析和集落形态观察的方法,在 CFU-f 的剂量-存活曲线测定的基础上,通过实验分析证明,豚鼠骨髓 CFU-f 群体中存在着放射敏感性和成集落特性不同的两个亚群。这对于加深理解 CFU-f 的放射损伤与修复规律和生物学特性具有重要意义。

Tab 1. CFU-f colonies from bone marrow following various doses of γ -rays irradiation($\bar{x} \pm SE$ /bottle)

Types of colonies	Doses (Gy)					
	0	1	2	3	4	5
Dense	69.87 $\pm$ 2.53	57.63 $\pm$ 6.16	33.83 $\pm$ 3.06	20.50 $\pm$ 1.87	10.57 $\pm$ 1.72	8.75 $\pm$ 1.28
Sparse	39.75 $\pm$ 2.87	37.25 $\pm$ 3.20	30.17 $\pm$ 2.32	21.50 $\pm$ 1.87	18.00 $\pm$ 2.52	11.88 $\pm$ 1.81

Tab 2. Parameters of dose-survival curve of CFU-f

Types of colonies	D_0 (Gy)	n(extrapolation)
Dense	2.17(2.02~2.34)	1.14(1.03~1.27)
Sparse	4.09(3.71~4.54)	1.13(1.05~1.21)

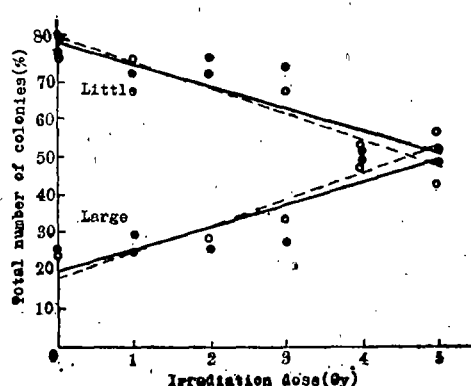


Fig 1. The change tendencies of sizes in dense and sparse colonies of bone marrow stromal cells following various doses of γ -ray irradiation

—, ●: dense
--, ○: sparse

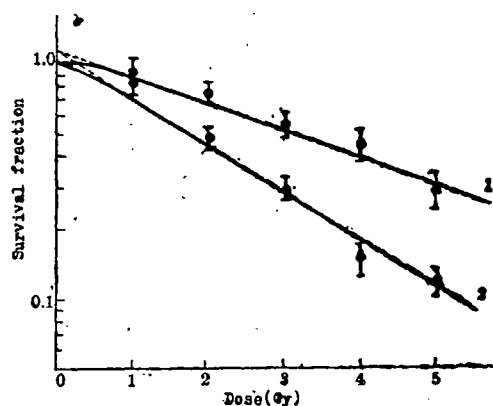


Fig 2. The survival curve of two CFU-f subpopulations in the guinea-pig bone marrow

1. $Y = 0.05 - 0.11 X$ (sparse type)
2. $Y = 0.06 - 0.20 X$ (dense type)

参 考 文 献

- [1] 刘及, 范洪学, 国外医学放射医学分册, 2(3), 7 (1978).
[2] 于洪臣, 国外医学放射医学分册, 6,1 (1982).
[3] Z. X. Song and P. J. Quesenberry, Exp. Hematol., 12, 523 (1984).
[4] S. M. Bruzzone and J. J. Minguell, Act. Haemat., 73,75 (1985).
[5] S. A. Bentley and T. S. Tralka, Exp. Hematol., 11,129 (1983).
[6] 陈家佩, 国外医学放射医学分册, 6,140 (1982).
[7] Л.А. Суворова, И Др, лрбрд тематод передцв крови 26(6), 30 (1981).

(稿件收到日期: 1986年11月5日)

AN APPROACH OF RADIOSENSITIVITY OF THE CFU-F IN THE BONE MARROW AND ITS SUBPOPULATION CLASSIFICATION

Sun Huibin, Liu Ji and Li Ronggui

(Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun)

ABSTRACT The cell survival curve of the CFU-f in the guinea-pig bone marrow, which is distinguished according to the cellular density of colony, is assayed. By the analysis of the relative data from the experiment and the observation of the morphology of colony, we have proved that there are two distinct subpopulations in radiosensitivity and colonial morphology among the CFU-f populations in the guinea-pig bone marrow. The dense cellular colony type subpopulation of the CFU-f: $D_0 = 2.17$ Gy, $N = 1.14$; the sparse cellular colony type subpopulation of the CFU-f: $D_0 = 4.09$ Gy, $N = 1.13$. The studies may have important implication in acquiring a better understanding of the characteristics of the radiation biology as well as the rule of the radiation injury and recovery of the CFU-f.

KEY WORDS CFU-f, Radiosensitivity, Subpopulation