

持续性小剂量率 γ 射线照射妊娠中期母鼠 对子鼠造血组织的影响

蒋 铁 男

(中国医学科学院放射医学研究所, 天津 300192)

B. I. Lord J. H. Hendry

(Paterson Institute for Cancer Research, Christie Hospital, Manchester, England)

摘要 造血组织是辐射高敏感组织之一, 胚胎动物的造血组织对辐射更为敏感。本文观察了持续性小剂量率 γ 射线照射妊娠中期母鼠, 对出生子鼠股骨骨髓有核细胞数(BMC)、造血干细胞(CFU-S)数及其在股骨骨髓腔中分布状况的改变, 和对造血组织基质细胞(CFU-F)的变化。本实验观察到正常小鼠股骨骨髓CFU-S分布, 接近骨髓皮质部分的CFU-S浓度最高, 约为 $41/10^5$ BMC, 近骨髓中心静脉窦CFU-S浓度最低, 大约是 $22/10^5$ BMC。 ^{60}Co γ 射线从妊娠13 d到出生前持续性照射6 d, 分为15 cGy/d剂量组和60 cGy/d剂量组, 出生子鼠成长到8周龄时, 可见到股骨骨髓中CFU-S的分布紊乱, 特别是在接近骨髓皮质部分的CFU-S数量明显下降, 股骨骨髓中CFU-S总数也明显下降, 15 cGy/d组下降了20%, 60 cGy/d组下降了33%, 骨髓基质中CFU-F数量在15 cGy/d组下降12%, 而60 cGy/d组下降33%。统计学处理均有显著性差异。

关键词 妊娠鼠, 造血干细胞, 子鼠, γ 辐射。

造血干细胞(CFU-S)是一切血细胞的祖先, 起源于胚胎早期的卵黄囊, 经血流迁入胚肝, 出生后造血干细胞主要存在于红骨髓, 已由Till^[1]的脾集落生存实验所证实。造血干细胞在小鼠股骨骨髓的分布是有规律的。骨髓长轴中心静脉窦CFU-S浓度最低, 约为 $22/10^5$ 骨髓有核细胞, 近骨皮质骨髓中CFU-S浓度最高, 约为 $41/10^5$ 骨髓有核细胞^[2,3]。

造血组织是辐射高度敏感组织之一, 胚胎动物的造血组织对辐射更为敏感。本文观察了小剂量率持续性 γ 射线照射妊娠中期母鼠, 其子鼠成长至8周龄时, 股骨有核细胞数(BMC)、造血干细胞(CFU-S)数及其在股骨骨髓腔中分布状况的改变和造血组织中基质细胞(CFU-F)的变化, 本实验可以看出持续性小剂量率 γ 射线照射孕鼠对子鼠造血组织的影响。

1 材 料 和 方 法

1.1 实验动物

C57B1雌鼠和DBA2雄鼠, 10~12周龄用Whitten方法^[4]使雌鼠动情, 3d后将雌雄配对小鼠放入笼中。第二天检查雌鼠阴道, 如雌鼠有阴栓即为妊娠开始时间。孕鼠妊娠第13 d开始, 用 ^{60}Co γ 射线持续照射6 d, 剂量率分别为15 cGy/d和60 cGy/d直到子鼠出生。子鼠3周龄时离乳, 8周龄时测定各项指标。

收稿日期: 初稿 1994-09-28, 修改稿 1994-12-12

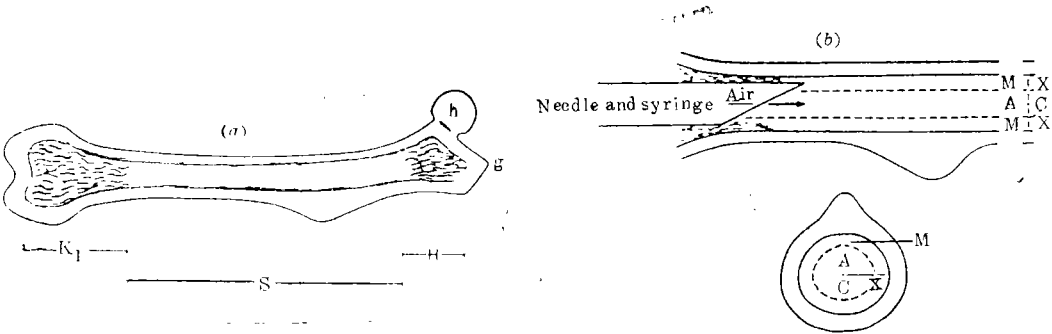


Fig 1. a) Diagram of mouse femur split longitudinally showing external distinguishing features and areas of epiphyseal trabecular bone. h = head of femur, g = greater trochanter, K₁ = length of knee trabeculae, S = length of shaft marrow cavity, H = length of hip trabeculae
b) Illustration of the division of femoral marrow into axial and marginal regions using a needle and syringe, C = central axis, A = axial zone, M = marginal zone, X = position of boundary between A and M

Tab 1. CFU-S content of femur

Treatment	n	8 day	12 day	Mean
Control	21	4935 ± 115 100%	4780 ± 100 100%	4858 ± 99 100%
15 cGy continuous γ -irradiation from 13 d to birth	14	4030 ± 111 82%	3734 ± 126 78%	3882 ± 111 80%
60 cGy continuous γ -irradiation from 13 d to birth	21	3344 ± 95 68%	3137 ± 70 66%	3241 ± 78 67%

n: Number of donors animals
8 day, Recipients were killed at 8 d after transplant
12 day, Recipients were killed at 12 d after transplant
Mean date for 8 day and 12 day

Tab 2. Cellularity, CFU-S and CFU-F content of femur

Treatment	n	Cells	CFU-S	CFU-F ⁽¹⁾
Control	21	15.16 × 10 ⁶ ± 0.26 × 10 ⁶ 100%	4858 ± 99 100%	497 ± 20 100%
15 cGy continuous γ -irradiation from 13 d to birth	14	13.37 × 10 ⁶ ± 0.35 × 10 ⁶ 88%	3882 ± 111 80%	437 ± 32 88%
60 cGy continuous γ -irradiation from 13 d to birth	21	12.09 × 10 ⁶ ± 0.29 × 10 ⁶ 80%	3241 ± 78 67%	335 ± 8 67%

n: Number of donors animals
(1) Mean data for three experaments

1.2 股骨骨髓腔中 CFU-S 分布的测定

对正常小鼠股骨骨髓腔 CFU-S 分布状况 Lord 和 Hendry^[2,3] 已有详细描述。小鼠 颈椎脱臼

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

处死后,取出股骨,清除肌肉等组织用剪刀剪去两端,留下骨干,用一个 19 G 针头插入骨髓端(见图 1)。用 1 毫升空气或者培养液注入,冲出骨髓轴心部分(A),注入无菌培养液中(每根股骨 1 毫升,每组三根股骨)。周边部分骨髓(M)用培养液冲洗到另一个无菌容器中。用不同大小的压力推挤注射器,冲出骨髓轴心部分(A)和周边部分(M)。分别计数两部分的骨髓有核细胞数,可以得到一系列 A 与 M 的值。因为股骨骨干可以视为一个圆柱体,根据 A 与 M 值计算出 A 与 M 部分的分界点(X),以及 A 部分和 M 部分在骨髓腔中的空间位置。适当稀释上述骨髓有核细胞后,测定其 CFU-S 数量,按 Lord 方法计算出 CFU-S 在股骨骨髓腔中的分布。

1.3 CFU-S 测定

用剂量率为 0.95 Gy/h 的 γ 射线,剂量为 15.25 Gy 照射 BDF 1 受体小鼠,除去其内源性 CFU-S,然后每只受体尾静脉注射 0.2 ml 含有供体小鼠 $4 \times 10^4 \sim 6 \times 10^4$ 个骨髓有核细胞悬液,每组 20 只,8 d 和 12 d 后各处死 10 只动物,取脾脏,固定在 Tellesniczky's 溶液中,计数脾脏表面克隆数。

1.4 CFU-F 测定

取上述实验小鼠股骨骨髓细胞 5×10^6 个,种在含有 5 ml IMDM 和 15% 胎牛血清的培养液的培养瓶中,每个样品接种三个培养瓶。培养瓶放在 37℃ 含有 5% 二氧化碳 孵箱中培养,7 d 后,弃去每瓶内培养液,每个培养瓶中加入 2 ml May-Grünwald/Giemsa 染液,室温保持 20 min,使生长在培养瓶壁上的纤维母细胞染色,然后在显微镜下计数 50 个细胞以上的纤维母细胞克隆数。

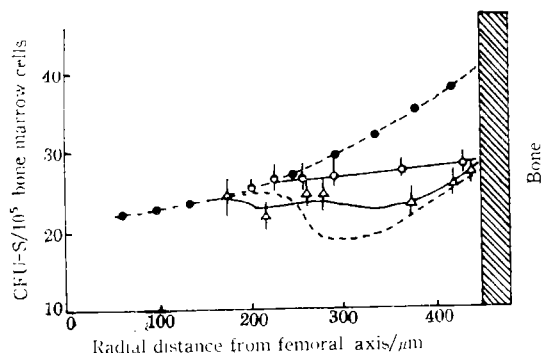


Fig 2. Distribution of CFU-S across the radial axis of an 8-week-old mouse femur. The experimental mice were given 15 cGy (○) or 60 cGy (△) per day whole body continuous γ -radiation in utero for 6 days from 13 d gestation. The control mice were broken line (●) The other broken line were distribution of CFU-S in offspring of mice injected with 30 Bq g^{-1} ^{239}Pu at 13 day of gestation (—) Their spatial distribution in the marrow is also perturbed

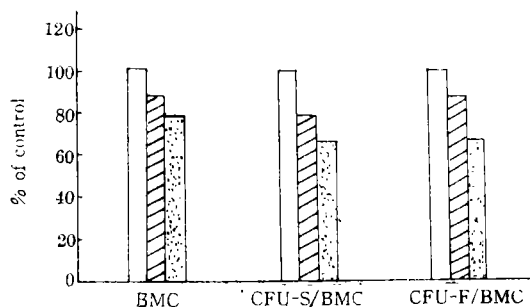


Fig 3. Number of BMC, CFU-S and CFU-F content of femoral cells are for mice given 15 cGy/d or 60 cGy/d γ -rays, per day whole body continuous γ -radiation in utero for 6 days from 13 d gestation. Mean data for three experiments. (□) Control, (▨) 15 cGy/d, (■) 60 cGy/d

2 实验结果

本实验中正常小鼠股骨骨髓 CFU-S 的分布与 Lord 和 Hendry^[2,3]所发表的结果是一致的,

CFU-S 最高浓度约为 $41/10^5$ 骨髓有核细胞, 位于接近骨皮质部。最低浓度接近于骨髓中心静脉窦, 大约是 $22/10^5$ 骨髓有核细胞。

^{60}Co γ 射线从妊娠 13 d 到出生前。持续照射 6 d 后, 出生的子鼠当成长到 8 周龄时, 可见在 15 cGy/d 组和 60 cGy/d 组股骨骨髓中 CFU-S 的分布均紊乱, 特别是在接近骨皮质部分的 CFU-S 数量明显下降(见图 2)。

股骨骨髓中 CFU-S 总数也有明显下降(见表 1), 15 cGy/d 组下降约 20% ($p < 0.02$), 60 cGy/d 组下降约 33% ($p < 0.001$), 均有显著性差异。

γ 射线照射后出生的子鼠, 长到 8 周龄其骨髓基质中 CFU-F 数量在 15 cGy/d 组下降 12%, 而 60 cGy/d 组下降 33% ($p < 0.001$)(见表 2)。

在上述相同条件下, 股骨有核细胞总数在 15 cGy/d 组下降 12%, 60 cGy/d 组下降 20%, 辐射效应不大(见表 2)。

综上所述变化, 从妊娠 13 d 开始至出生前持续以 γ 射线照射, 剂量分为 15 cGy/d 组与 60 cGy/d 组, 孕鼠的子代成长至 8 周龄时, 其造血组织仍残留较严重辐射损伤, 无论是造血干细胞或者是造血基质纤维母细胞形成克隆的能力均显著下降(见图 3), CFU-S 在股骨骨髓中的分布也出现紊乱(见图 2)。

3 讨 论

正常小鼠股骨骨髓 CFU-S 分布是有规律的, 从骨髓腔中心到骨皮质其数量逐渐增加(见图 2), γ 射线持续性长期小剂量率宫内照射, 可导致子鼠出生后成长到 8 周龄时, 体内造血系统仍残留较严重辐射损伤, 并影响子代鼠体内造血功能的恢复。 γ 射线照射 60 cGy/d 组股骨中 CFU-S 数下降 33%, CFU-F 数下降 33%。

这个结果接近于 Mason 和 Lord^[5~7]报道的 ^{239}Pu 宫内照射实验结果。虽然 ^{239}Pu 宫内污染剂量很小, 在胚胎肝中 α -粒子照射总剂量仅为 10~14 mGy, 但对胚胎造血组织的残留损伤类似于本实验 γ 射线 60 cGy/d 持续照射组, 且骨髓中 CFU-S 总数下降比 γ 射线照射组更为显著^[8]。用体外实验测 α 粒子与 X 射线生物效应比值时, RBE 值是较低的, 而从长期体内照射实验证明, ^{239}Pu 对胚胎肝造血组织损伤远比 γ 射线严重, α 粒子与 γ 射线的 RBE 值可达 130~360^[8]。目前人类愈来愈多地应用核能, 大大增加了核污染的可能性。因此不仅要重视对 γ 射线和 X 射线等的辐射防护, 更应考虑到它们对子代影响的长远性, 尤其对 α 粒子的危险性应给予高度重视。

参 考 文 献

- 1 Till J E and McCulloch E A. Radiat. Res., 1961, 14: 213
- 2 Lord B I and Hendry J H. Brit. J. Radiol., 1972, 45: 110
- 3 lord B I, Testa N G and Hendry J H. Blood, 1975, 46: 65
- 4 Whitten W K. J. Endocrinol, 1958, 17: 307
- 5 Lord B I, Mason T M and Humphreys E R. Radiat. Prot. Dosim., 1992, 41: 163
- 6 Mason T M, Lord B I, Molineux G and Humphreys E R. Int. J. Radiat. Biol., 1992, 61: 393
- 7 Mason T M, Humphreys E R and Lord B I. Int. J. Radiat. Biol., 1991, 59: 467
- 8 Jiang T N, Lord B I and Hendry J H. Radiat. Res., 1994, 137: 380

EFFECTS ON OFFSPRINGS HEMOPOIETIC TISSUES AFTER γ -RAY CONTINUOUS IRRADIATION OF THE MICE DURING MID-TERM GESTATION

Jiang Tienan

(Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192)

B. I. Lord J. H. Hendry

(Paterson Institute for Cancer Research, Christie Hospital, Manchester M20 9 BX England)

ABSTRACT The radial distribution of CFU-S in the femur of a normal 8 weeks old mouse is shown and corresponds closely to Lord and Hendry. The highest concentration (about $41/10^5$ cells) was near to the bone surface and the lowest (about $22/10^5$ cells) was close to the central venous sinus which runs roughly along the longitudinal axis of the bone shaft. Continuous exposure to γ -rays for 6 d from 13d of gestation to birth had a smaller effect on the total femoral cellularity at 8 weeks of age, decreasing it by 12%~20%. The 15 cGy/d regimen caused a significant (20%) CFU-S deficit ($p < 0.02$) in the marginal zones. The 60 cGy/d schedule increased the deficit to a level (33%) and the change in the femoral CFU-S distribution after γ -ray irradiation is also shown. The 60 cGy/d schedule also reduced the fibroblastoid, CFU-F population, to 67% of control ($P < 0.001$). The 15 cGy/d reduced to 88% of control.

KEYWORDS Pregnant mice, Offspring of mice, γ -irradiation