

- 2: 177, 1973
 12. Мороз Б.Б.: Радиобиол 12: 98, 1972
 13. Хамидов Д.Х.等: Радиобиол(11): 656, 1971; (13): 537, 1973,
 14. Yogo N 等: Int J Radiat Biol 21: 1, 1972
 15. 刘树铮, 扬刚: 全国放射生物学和放射医学学术会议论文选集, 放射生物分册, 134页, 1964
 16. 刘树铮等: 内分泌, 代谢和肾脏病学术会议(广州)资料, 1964
 17. 刘树铮等: 吉林医科大学通讯, 2: 192, 1973
 18. 鲁安平等: 吉林医科大学通讯 2: 195, 1973
 19. Тешенко Г.А. и Монатрыская П.И.: Радиобиол 17: 41, 1977
 20. Dubis K: NSA 30: 1004, 1974
 21. 刘树铮等: 吉林医科大学通讯, 2: 253, 1973
 22. 中国科学院生物物理所一室, 内部资料, 1974
 23. 李风兰, 刘树铮, 未发表的资料, 1977
 24. 张铭, 刘树铮, 未发表的资料, 1975
 25. Popescu H. I. 和 Lancranjan I.: Proc 3rd Int Cong Int Radiat Protection Ass p501, 1974
 26. Кокина Л. П. 等: Вopr Онкол 21 (3): 7, 1975
 27. Robaczynski J 等: NSA 33: 1786, 1976
 28. Молдавский М.И.: Радиобиол 17: 129, 1977
 29. Чудиновская Г.А. 等: Ж. Общ Биол 34: 305, 1973
 30. Sahinen F. M. 和 Soderwall A. L.: Radiat Res 24: 412, 1965
 31. Yamashita K 等: J Endocr 71: 447, 1976
 32. Cook D. M.: J Clin Endocr 43: 295, 1976
 33. Rosenthol M. B. 和 Goldfine I. D.: JAMA 236: 1591, 1976
 34. Fuks Z 等: Cancer Suppl 73: 1152, 1976
 35. Casarett A. P. 和 Brayer F. T.: NSA 14: 3265, 1960
 36. 刘树铮等: 吉林医科大学通讯, 2: 182, 1973
 37. Geierhaas B. 和 Flemming K.: Acta Radiol Suppl 310: 137, 1971
 38. Saito Y 等: INIS Atomindex 8: 375, 1977
 39. Власенко С. П. 等: Радиобиол, 13: 106, 1973
 40. Цырыва И. Г. 等: Радиобиол 17: 108, 1977
- 〔吉林医科大学工卫系刘树铮综述 陆如山审校〕

造血微环境在辐射造血损伤和恢复中的意义—— 骨髓基质在造血损伤与修复中的作用

作为急性放射病治疗基础的造血型放射病,至今尚无强有力的治疗措施。在治疗途径上,许多研究者一直致力于骨髓细胞的移植,

以协助造血机能的恢复。这无疑是重要的。但从造血全面概念考虑,也就是从造血细胞与造血基质的相互作用考虑,还必须对另一

治疗途径,即全面发挥骨髓的自身恢复潜力进行研究。这就需要加强研究骨髓基质成分在正常造血和造血损伤和恢复过程中的作用。目前国内外学者已开始注意这一问题〔2·3·4〕。本文将有关的一些实验资料,主要是关于骨髓基质在造血损伤和恢复中的作用进行综述。关于造血微环境的一些基本问题,前已作过讨论〔1〕,这里不再赘述。

一、骨髓造血基质的结构与功能

骨髓的基质是微环境的重要组成部分。从功能上看,它也是维持造血细胞增生和分化的主要成分。虽然目前还不能对基质下一严密的定义,但从已知的实验资料看,可分成细胞性与非细胞性基质两种〔5〕。前者有网状细胞、内皮细胞、巨噬细胞、成骨细胞、成纤维细胞、脂肪细胞、原始间叶细胞(或结缔组织细胞)等;后者则包括微循环结构,神经组织,骨小梁以及上述各类细胞的分泌物及其纤维等。

1、细胞性基质结构与功能:

细胞性基质的成分中,以网状细胞、内皮细胞、成纤维细胞和原始间叶细胞(即血管外膜或结缔组织细胞)最为重要。

网状内皮系统(RES)功能增高时,其蛋白清除速度就快,若阻塞RES后则清除蛋白质受滞。因而认为,RES在代谢过程中可能对血浆蛋白质有破坏并将之由血管输送到管外的作用。肝、淋巴结和骨髓等器官中RES有吞噬、贮存并释放类脂质的功能。如用电镜观察可见到在毛细血管内皮细胞饮液泡上有传递电解质的酶活性存在。也有的作者甚至指出,网状细胞有管外毛细血管的功能。故认为在某些疾病的发生上(如再障)也与网状细胞的损伤有密切关系,从而强调网状细胞的增生及其机能增强是保证良好的HIM的必要条件。我们也发现在一些抗放和增强造血的药物作用后,骨髓造血

机能恢复时,都伴有明显的网状细胞的活跃增生〔6〕。不仅如此,网状细胞还具有(1)干细胞的选择定居;(2)诱使造血细胞的分化;(3)体液因素的调节;(4)创造适宜的HIM条件等作用。可见,造血HIM中最重要细胞性基质成分就是网状细胞,加强造血器官网状细胞的深入研究,将对研究造血损伤的恢复,对攻克极重度急性放射病的难关,都具有极为重要的意义。

内皮细胞分布在骨髓血窦和小动脉的内膜上。一个血窦只内衬一个内皮细胞,其中富含糙质网。血窦与集合窦的内皮细胞都并非互相融合,故可形成空隙。通过此空隙可使细胞入于血窦。而中央静脉的内皮细胞则互相融合,且有一薄层胶原纤维围绕。因此,全身受大剂量电离辐射作用后头几天,只在血窦和集合窦部容易遭受破坏而出血,形成以静脉窦部的破坏为主的微循环病变,而中央静脉则损伤较轻〔7〕。小动脉的内皮细胞突入管腔,此细胞外有一厚层弹力膜及一层平滑肌细胞和基质。内皮细胞中一般有多量饮液泡,一些线粒体和少量的糙质网。

目前,人们越来越注意到骨髓基质细胞成分的细胞动态学及其在造血过程中的作用。为了观察这些细胞的更新状况和动态变化,可用 ^3H -TdR的“全标记法”。该法是将妊娠的大鼠,在尾静脉内插一塑料管,在妊娠的9~22天进行 ^3H -TdR持续灌流。

^3H -TdR的用量是288微居/日。经此处理的大白鼠的后代,其每个细胞核均可受到标记。若生后不久就停止注射 ^3H -TdR,则在所有的组织,器官内细胞的标记率和标记强度便降低。依此可判定其更新的特点和与造血活动的关系。观察这种处理后的仔鼠骨髓时,可见分化中的幼粒、幼红、原血细胞及淋巴样细胞在10天内便消失标记;而网状细胞、内皮细胞以及部分小淋巴细胞仍见有标记残留。网状细胞及内皮细胞的标记强度,在生后头12小时,可见股骨中约下降至出生

时的一半。这表明, 生后12小时每个网状细胞和内皮细胞均分裂一次。而在生后10周, 该两种细胞的平均标记颗粒数可下降至出生时的 $\frac{1}{2}$, 而标记率也从100%降至50~80%。看来, 这是新生大鼠生长最快的时期。10周后则标记率及强度的下降均进一步减慢。至20周, 骨髓中网状细胞和内皮细胞仍可标记40~50%。至于骨髓中的小淋巴细胞(核染色质密, 有一狭带胞浆), 则有2~5%并不在生后失去标记, 每细胞中的平均标记颗粒数约有7~8个。这些细胞在生后2~20周时标记下降很慢, 至少在21周仍有标记细胞存在。因而许多人认为这种细胞具有骨髓原始造血细胞的性质。

Haas等〔8〕用全标记法观察了胎生及新生大鼠的造血过程。作者见到每骨髓腔中的造血细胞都来源于完全而强标记的软骨周带且移入骨髓腔的细胞群。而这些骨髓腔则是由个别的软骨细胞经骨皮质间隙侵入而形成的。这一过程在生后任何时间均可重演。作者发现, 高度标记的掌、跖骨等, 在出生时仍处在软骨时期, 生后2~3天则开始形成髓腔, 再由软骨周带的细胞群形成造血灶。可见, 有些软骨周带细胞在生后头几天直到在骨髓腔形成造血灶而建成骨髓基质之前, 都是静止态的。

为进一步观察骨髓基质细胞更新的适宜刺激, 作者又设计了一个观察受成年造血调节下全标记的动物骨髓基质细胞的实验。在妊娠第九天就给大鼠注射 ^3H -TdR, 直至分娩, 每天288微居/只。生后每12小时继续皮下注射 ^3H -TdR (0.5微居/克体重) 4周。停止注射后, 大鼠骨髓中每个细胞核均可完全标记。其后, 由注射最后一次 ^3H -TdR起, 每隔一定时间杀死一批大鼠, 直到30周。由骨髓涂片及切片可见, 在停止注射后10天, 全部幼粒、幼红、原血及淋巴样细胞中的标记均迅速消失, 只在内皮细胞, 网状细胞及约12%的骨髓淋巴细胞中, 在两周后

仍可见到。在其后的28周中, 标记的内皮细胞和网状细胞渐从100%减至约70~80%。这表明, 这些细胞的生活周期已超过14~15个月。标记的小淋巴细胞至30周时约减为4~5%, 平均颗粒数降至10~7个/细胞。由此可见, 成年大鼠骨髓中内皮、网状细胞以及小淋巴细胞的更新很慢, 已形成的结构平均需要一年才能分裂一次。

成纤维祖细胞的研究也取得很大进展。Friedenstein〔9〕曾对造血纤维祖细胞进行了体内外培养的系统研究。他将骨髓组织移植于肾被膜下时, 见在植入部位形成骨及骨髓组织。并认为这就是基质的祖细胞, 因它能创造局部新的特殊HIM而引起了人们的重视。不仅如此, Wilson还在体外培养中发现, 成纤维细胞所形成的灶斑(PFU-c), 可以产生CSF, 为HIM的重要成分。根据这种灶斑的形成状态可测知造血基质的功能。Knudtzon等〔10〕最近在体外培养中加入静脉管碎片或从中分离的内皮细胞作滋养层时, 其刺激成灶的作用远较白细胞所制的CSF为强。因此, 作者认为骨髓的内皮细胞也是调节粒系造血的重要成分。

目前, 在细胞性造血基质尚未确定是何种细胞的情况下, 其检测方法侧重用机能法。当前主要用的是股骨或骨髓皮下移植法。此法是将欲检的股骨(或骨髓条块)在无菌下切除, 修洁所附软组织, 直接埋入同种受体的皮下, 6~8周后杀取移植体或制片观察组织结构, 或冲出所生成的造血细胞, 制成细胞悬液再移注给另一致死剂量照射的受体。9天后杀检脾结节进行分析。此外, 也有用遗传性贫血小鼠SI/SId(干细胞正常但基质有缺损)和W/W^v(基质正常而干细胞有缺损)或用PFU(或CFU-F)法检测成纤维祖细胞的成灶机能的方法分析。

造血基质的辐射敏感性虽较CFU-S低, 但也较易受射线损伤, 而且伤后恢复较慢。根据Fried等的研究, 600拉德照射便可引

起小鼠骨髓基质的损伤。若照射 1000 拉德时, 则骨髓基质机能可降至对照组的 1/3 以下, 并且 4 周也未见有明显的恢复。Chamberlin 等曾观察到 950 拉德照射后的小鼠骨髓基质, 在移植后 9 周仍未完全恢复, 而股骨的 CFU-s 在 6 周内便已恢复正常。

Fried 等用先天性贫血小鼠 SI/Sid 股骨移植给同种小鼠的皮下, 8 周后见该股骨骨髓的有核细胞数及 ^{59}Fe 摄入量均较正常对照者大大减少。作者又用照射、冰冻后移植和形态观察及细胞计数等方法实验后认为, SI/Sid 小鼠的骨髓基质中缺少造血细胞增殖所必须的, 似乎是细胞性成分。作者推测这种成分就是血管外膜细胞。虽然从 Fried 等的实验资料尚缺乏足够的证据, 但他们提出这一问题供作研究思考, 还是有意义的。

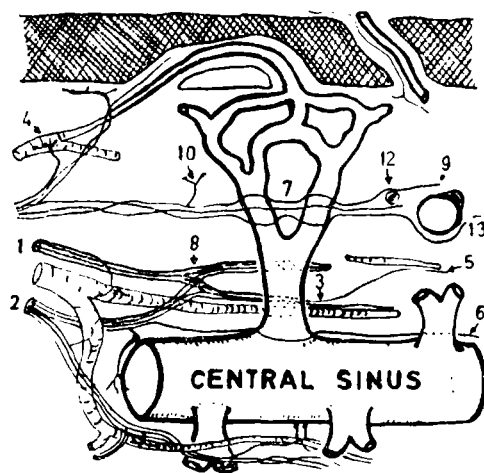
2、非细胞性基质的结构与功能

近年来, 不少人〔5〕对骨髓结构进行了仔细的研究, 骨髓被封闭在骨质腔中, 以防外界压力的影响并保持内部容积的恒定。因而形成一个特殊的“生态学腔”。Lord 等〔11〕测定股骨纵切面的细胞分布时, 见 CFU-s 由中心轴至骨表面逐渐增多, 几乎形成一正方形区; 而 CFU-c 则由中心轴开始渐渐增加, 至 330 微米处最高, 以后至骨表面时又复下降。Mohandas 等〔12〕在研究红细胞造血岛时发现, 其中心部为巨噬细胞, 周围为原红及幼红细胞。仔细分析此幼红细胞时, 可见这些细胞都是处于同一成熟阶段的同步细胞。当这些细胞处在嗜碱性早幼红细胞时, 均紧密相连接, 而至中幼红细胞后, 则不再紧密相连。Tavassoli〔13〕发现红骨髓可用 PFAS (Performic acid schiff) 染色阳性, 但黄骨髓则不能被 PFAS 着色。若红髓区扩大造血时, 则 PFAS 阳性消失, 阴性不变。这表明红、黄髓中类脂质成分不同, 这与造血范围扩大密切关系。红髓之脂肪细胞中类脂质为流动态, 当造血扩展时, 吸收以维持固定不变的骨髓腔, 骨髓

则无此反应。

总之, 从造血机能上可将骨髓分为相对的若干微区段。该区段内的 HIM 不同, 所含成分也不一致, 造血机能与细胞分布也各不相同。为了摸清造血机能的分布情况, 以便找到造血损伤时病变的发生规律, 从而寻求防治损伤措施, 注意分析骨髓微区段的特征是有重要意义的。

骨髓微循环结构也是非细胞性基质的重要组成部分。当骨髓平行小动脉再分多数细动脉后, 即连于毛细血管, 随后交连成弯曲网状的血窦。在骨髓中央区, 此血窦至相融接而成较直的集合窦。从血窦到集合窦这一区段, 构成解剖和功能上的基本单位, 称为“窦段”。此“窦段”形如树状, 其枝分向四周, 其干即中央静脉窦。中央静脉窦收纳窦段血后即出骨髓 (图 1)。



骨髓血管神经结构模式图: 血窦经集合静脉将血液注入中央静脉。小动脉沿骨髓长轴最终形成毛细血管和血窦相连。1~5 为营养血管的神经支配, 6~13 为骨髓实质的神经分布。这些神经束也与血窦密切相连接。有少量神经纤维分布于骨内膜, 有些可穿入大的哈氏管。

骨髓的神经干入髓腔后即靠近动脉壁, 然后分细神经纤维而达小动脉壁。依此可刺

激血管壁平滑肌细胞收缩而使小动脉腔缩小,从而调节骨髓的血流。用连续切片追踪观察时,可见其后的神经纤维不再依从血管分布,但有时也可分布在毛细血管壁。大多数神经纤维在其走行中均与骨髓造血细胞密切相接,也可与毗邻的血窦壁相连。

在电子显微镜下观察神经纤维及血管结构时,见骨髓基质的细胞成分和非细胞成分与造血细胞间均有密切关系。骨髓的神经邻接小动脉界于造血细胞间。电镜下可见其许旺氏细胞及数个无髓轴突。成年大鼠骨髓神经有无髓和有髓两种神经纤维,比例约为6:1。骨髓神经纤维之髓鞘形成大约始于生后2周,而于4周时完成〔5〕。Lucarelli等认为,在此时期大鼠骨髓细胞生成的控制,已属成年型,而神经在此控制功能上起重要作用。神经纤维与窦内皮细胞间的联系也很密切。常见无髓神经纤维及轴突附于窦壁边缘以与内皮细胞相接。

最近研究表明,骨髓内除压力和血管运动神经纤维外,尚有化学感受神经纤维〔14〕。

从上述资料可以看出,骨髓具有不断产生血细胞且向循环血中释放血细胞的功能。这是与其本身处在硬骨腔中、且具有神经与血管的微妙结构有密切关系的。可以推定,神经纤维的作用是,一方面接受由实质细胞不断分裂增生而出现的内压变化和代谢性化学物质刺激信号;另一方面,又可感纳在血管树内由血流而发生的压力冲动。这些信号或冲动可使骨髓某部分的血流增加或减少,从而调节血压、氧及有关物质的增减或排供。硬骨壁可保护骨髓免受外界压力冲击,以减轻对骨髓内环境的干扰,从而保证骨髓造血所必须的稳定环境。

从上可见,造血基质与造血机能间是有密切关系的。随着观察技术的不断革新,造血基质的作用也将进一步得到阐明。

从造血组织损伤后的再生 与恢复中看造血基质的作用

1、对骨髓损伤恢复的新认识:

过去大多数研究骨髓造血恢复的资料,都集中在研究骨髓造血细胞的再生与恢复方面,而不将骨髓看做是一个有机的造血组织整体。例如在LD₅₀剂量照射后,骨髓的再生是只靠残存于基质中的一些数量的造血干细胞;但当骨髓结构严重破坏时,即或有足够数量的干细胞,也不能获得再生。因为造血的再生涉及到造血基质与干细胞在恢复过程中的相互作用。

造血的早期需要有造血祖细胞与基质的局部细胞间的相互作用〔3〕。Gordon〔15〕用每公斤体重50及200毫克环磷酰胺处理受体小鼠后3天,将同样处理的供体小鼠骨髓细胞放在扩散盒内植入受体腹腔中培养6天后,检查扩散盒内成灶数时发现,只有供、受体都用200毫克环磷酰胺处理时有最大的成灶力。而供体仅以50毫克处理者,因造血祖细胞本身的反应性不高,故成灶力也差。当然,仅以50毫克处理的受体,由于HIM因素未达到最适宜程度,产灶力也只达用2000毫克处理的一半。因此,正常的造血机能必须有造血干细胞和造血基质间的相互作用才能实现。

Patt等将家兔股骨干骨髓用机械方法吸空,或以右旋糖酐灌流洗空后观察其骨髓的再生过程,颇似骨折时再次重复个体发生的过程,以形成原始骨髓。此时,骨组织的形成和吸收,骨髓网状支架和血管结构的再建,是造血细胞的先决条件。其全部再生过程的基础是局部结构的恢复。这就是说,损伤局部可以产生与骨和间叶细胞成分有关的一系列组织。骨组织中保留有损伤或缺失成分的原始再生能力,其中也包括骨髓成分。因此,研究骨髓损伤的恢复时,不仅要

研究造血实质细胞的再生与恢复,而同样重要的也要研究骨髓造血基质结构的恢复,才能得到实际效果。下面介绍机械性损伤和放射性损伤时骨髓的恢复过程。

2、机械性骨髓损伤恢复的基本过程:

骨髓机械损伤后的恢复,可包括开始的机化期和以后较长时期的造血细胞再生期。全部再生过程可于数周内完成。无论是外科切除骨髓,灌注或二者并用,其基本表现均大致相同。

基本过程:骨髓在除空后,立即有大量多形核白细胞浸润性血凝块充满髓腔,巨噬细胞及未分化细胞随后便可出现,且形成“肉芽组织”。这种原始的非特异性再生期与扩张的哈氏管结缔组织的激活是有密切关系的。哈氏管中的间叶成分可明显被 $^3\text{H-TdR}$ 所标记,且在形成原始再生细胞团过程中起有重要作用。在第一周末,便可见结缔组织出现,形成良好的结缔组织性基质,并生成血管。其后,形成许多骨小梁。于第二周末骨髓腔中骨小梁开始被吸收,并出现血窦,随之而形成明显的造血灶。

血流的重建:当骨髓被切除后,骨内膜及周围骨质的血供应也被破坏。作者用放射性塑料小球检查时,见切除骨髓后,髓腔血微循环立即断绝,骨外膜的侧支循环很快便由哈氏系统建立。若以塑料小球的摄入为指标,用测定单位重量骨髓组织放射强度比较观察其股骨血液回流时,见单纯结扎股骨营养血管的血流,比切除骨髓者快。前者在第四天就已达到正常水平,而后者在第八天仍未达到完全正常。这种差别的产生,就是由于在切除骨髓的股骨中,必须有血管的完全再生,而结扎营养血管的股骨,只需建立侧支循环即可达到完全回流。由此可见,切除骨髓的股骨,若完全恢复血流时,必须在切除八天以后才能实现。

细胞动力学表现:Maloney〔16〕等以 $^3\text{H-TdR}$ 掺入家兔骨髓细胞DNA合成

指标,观察了切除骨髓的再生情况。发现各种造血细胞的增生速度是随细胞成分的扩大而逐渐减慢的。切除骨髓后的头两周内,细胞群在分类上变化很快。许多类型的造血细胞均可在此时出现。例如从未分化的细胞,成纤维细胞、成骨细胞直至幼稚阶段的造血细胞和成熟血细胞都可见到。但至第三周,则增生型与非增生型细胞的比例与对照骨髓相似。造血细胞的成熟与幼稚型细胞的发展是一致的。较成熟的血细胞的增加速度大致与幼血细胞的增加速度相同,只是幼血细胞有少数几天甚至还可能明显减少。因此,在骨髓恢复中的成熟延迟,主要并非由于细胞处于静止态所造成的,而可能主要是与造血基质的状态有关。一般看来,在恢复过程中,粒系细胞较红系细胞快。这表明,粒系细胞对扩大细胞的再生能力方面较红系者大。

再生细胞起源与性质:Maloney等认为,虽然干细胞可在血中出现,且可由一处骨髓转向损伤部位的骨髓,但这样转移在小容积骨髓切除的再生过程中并非关键性因素。因为他们观察到,在屏蔽一侧股骨体全身照射800伦后,并不见屏蔽以外骨髓的再生有延迟。相反,若以同样800伦只照射股骨,则见到骨髓的再生有一定的障碍〔16〕。作者为了进一步追查骨髓再生的局部起源,用大白鼠的骨髓细胞(碱性磷酸酶阳性)移植给受X线全身照射只屏蔽一股骨干的小鼠后,见该股骨干部的骨髓细胞消失,尽管在各处造血组织中都可见到造血细胞,但于再生骨髓中,只见有小鼠的骨髓细胞。这样看来,骨髓的再生也是和骨折的修复一样,是以局部增殖为基础的。

Maloney等以 $^3\text{H-TdR}$ 标记后,用骨髓涂片作放射自显影观察时,最初就可见骨髓再生并非由骨端骨髓的增生部分开始,而是由散在于整个骨髓腔各处的细胞逐渐增生的。因而认为,再生是由残存在骨组织中的细胞而来的。这种细胞在正常骨髓中是存在

的,可能起着成灶祖细胞作用。而且已发现供体骨髓细胞在一定程度上还总可使受体一部分骨髓细胞再生成灶。可是,骨髓组织的发生,是由间叶细胞及其衍生组织的相互作用的结果。这种相互作用与骨折后的再生方式相似。许多作者发现,在切除骨髓的头几天内就已有很多哈氏小管内皮细胞被 ^3H -TdR所标记,而对照股骨中则只偶见有标记现象。在切除24小时后,则见标记细胞已超出40%,这种标记的大量增加,就反映了由哈氏管中的未分化细胞向切除骨髓的髓腔中移入并开始分裂的情况。这说明,哈氏小管的间叶细胞由未分化态逐渐经分化增殖而可导致骨髓的再生。至于骨髓再生中骨组织的作用问题,这要根据损伤情况具体分析。当股骨移植时,骨髓再生中是有骨组织作用的。股骨在移植后,首先见有造血细胞的消失和随之而来的网状细胞与受体间叶细胞成分的相互作用,以形成骨梁和血窦,然后恢复植入股骨的造血。骨髓再生过程中,骨小梁的形成和吸收是一个带有根本性的问题。骨小梁侵入髓腔是骨源性刺激的特殊现象。这种情况下,骨形成和吸收也是骨髓修复的一个必要条件。Amsel等^[17]观察到骨小梁的形成是恢复血窦的一个关键性步骤。因为临时性骨梁可提供修复的刺激因素,且可作为血窦再生的支架。从骨梁开始吸收时才形成血窦的情况看来,骨梁对创造适宜的HIM或提供造血祖细胞等方面可能起有重要作用。但是,在其它情况下,如放射损伤的骨髓再生时,就未必有骨组织的参与。这点将在下面讨论。

3、放射性骨髓损伤的恢复过程:

Knospe^[18]在给受照射后衰竭的家兔骨髓腔内注入自家骨髓时,很快便可见到骨髓细胞再生,而不需要有骨组织的形成。这可能与骨髓的造血基质尚未遭到严重破坏有关。因为只要造血基质与造血细胞处在其自然环境下,即可维持其骨髓的再生过

程。但若照射剂量超过2000伦以上时,便可发生被照射局部骨髓的持续性衰竭^[18]。这是由于血窦基质成分在数月内不能恢复所造成的。当然,也可能在此时有一时性再生,这是由未受照部迁徙来的干细胞或损伤细胞修复后增生的结果。作者认为,在大剂量局部照射后,骨髓的造血功能必然再次导致衰竭。这是由于骨髓中更新慢的基质细胞失去补充,导致血窦破坏的结果。因为基质细胞的前身不象造血干细胞,是不能经血流迁移的。这些原始的网状内皮细胞成分存在于骨髓基质、骨及哈氏小管中。这些成分的辐射敏感性虽低,但可能因其更新率极慢,在照射发生退行性变后的恢复也需一定的时间。

大白鼠若全身照射1000伦后3天,则全身骨髓造血枯竭。骨髓腔中无造血细胞存在,只残有基质成分。其中主要是网状细胞、内皮细胞、成纤维细胞和血管外膜细胞以及浆细胞。血窦和血管严重充血并有不同程度出血及水肿。此时如不输注骨髓或大量输血,一般在照后5~6天便可死亡。存活较久的动物,其骨髓常可见再生造血灶。这种造血灶的发生,一方面可以由保留的少数干细胞迁徙至骨髓增殖而成,因而为数极少,且再生例数也不多;另一方面也可能由骨髓网状细胞经造血细胞化生而逐渐形成造血灶。但无论如何,若不加其它治疗,动物将终因造血基质损伤后恢复很慢而使造血灶又行消失。

最近,方等^[19]用联体动物法观察了1000伦X线照后骨髓的恢复过程指出,联体后6、12、18、24小时依次在受照体骨髓内出现成熟粒、中幼粒、早粒和原粒细胞;有些大型粒细胞于术后6小时可见RNA合成,中幼粒和早幼粒中于术后18小时出现DNA合成。作者认为,这是由于粒细胞的分化解除致使骨髓出现再生的结果。

Гуськова等曾观察到照射后恢复期骨髓中有网状细胞向造血细胞的过渡过程和类

型。Oughterson等也在日本原子弹受害者尸检中发现,在已空虚的骨髓增生时,网状组织及其各成分开始在脂肪细胞中形成薄隔,有些网状细胞变圆,并与其它网状细胞分离,核膜变厚,染色质集结,周边部集成块状。这在一些大细胞中显得很突出。作者在观察遭受严重照射的牺牲者时指出,在照后1、2周,偶也可见网状内皮细胞向某些造血细胞的增生。这表明,病人存活的最关键问题是网状细胞的增生,造粒、造红细胞的发展、形态化生的速度和范围。他们描述网状细胞再生像时指出,网内细胞先肿大,游离于窦间隙中,随后形成血管外常见的造血细胞团。内皮细胞肿大后变为血管内型而形成红系细胞。我们也在实践中见到^[20],在照射800伦两天后的小鼠骨髓中经常见有肿大且变圆的网状细胞。这种细胞在游离后逐渐变椭圆染色质变浓,外形缩小,最后便形成灶状的造血细胞。此时颇似按个体发生的原理出现的骨髓再生的代换过程。

但是,Haas及Fliedner等均一致强调在照后或注射细胞毒剂后,便可出现一母细胞的标记波。这可能就是由标记的,在骨髓恢复中起重要作用的骨髓淋巴细胞。

从实际观察来看,照射后骨髓的再生也是一个复杂的过程。因为损伤程度不同,机体和动物种属不一,都会出现不同的表现。一般情况下,大剂量照射后的自身再生恢复常见网状内皮细胞的造血化生;而偏轻剂量照射时,由于尚残留一定量的造血干细胞,故骨髓淋巴细胞的出现也属多见。当然,在适当剂量照射后,两者兼有的情况也是存在的。这些情况都是从整体观察的结果,至于体外或体内培养时,由于机体条件,特别是HIM的变化,上述网状细胞过渡型或化生阶段的造血细胞,常常不易看到。

从上可见,骨髓机械性损伤和放射损伤的恢复过程是不同的。机械性骨髓损伤恢复特点是,常常表现为明显的局部征象,需

要再生的刺激和反应细胞的存在。再生细胞的来源可由哈氏小管的间叶组织干细胞开始增生,其过程颇似骨折的再生。再生过程一般要有骨组织参加,以便创造造血微环境和提供祖细胞。而放射损伤骨髓的恢复特点主要是需要造血基质的机能完整和保留有造血干细胞或促进造血基质的细胞成分化生或出现再生的某些代换过程形成造血细胞从而增殖和分化为造血灶。

三、影响造血基质的因素

深入研究造血基质在造血损伤和恢复中的作用、必须研究影响造血基质的因素。尽管这方面工作才开展不久,但已发现一些重要的影响物质和措施。

1、影响基质网内细胞的物质:胶体碳^[21]被网状细胞吞噬后,由于释放抑素量减少,并为造血干细胞创造适宜的HIM,故能增强和加速恢复造血机能。锂除有类似碳的作用外,尚可刺激组织合成CSF^[22]。食母生则能刺激网状细胞增生,并提高其机能活动。

2、影响造血HIM的物质:红细胞生成素(Ep)能刺激干细胞向红系分化,改善微循环,有利于红细胞的成熟与释放^[23]。硫化镍(Ni_3S_2)^[24]肾内注射后可促Ep增多,加强红细胞造血。ACTH可使血浆中11羟皮质醇增高,血管壁透性降低,抑制干细胞迁徙和增殖,故红系造血降低。

3、造血基质传送或神经传导影响造血的物质:氧浓度高时,适于红系分化;低氧则粒多糖由中性向酸性转变,适于幼红、幼粒系的增殖和粒系分化。cGMP^[25]能启动静止干细胞进入增殖期,以促进粒灶生长。cAMP及db-cAMP^[26]以及腺苷酸环化酶相关机理均可促进红系造血。近来研究了解,PGE可促进红系及粒系造血^[27·28]的机理是先通过cAMP增多,使CSF产量增

加后发挥作用的。各类血细胞均可产生PGE并向基质释放。不同类固醇的作用途径和靶细胞也不一样。一般在Ep和CSF存在下,都可以加强红、粒造血。雌激素可使造血基质增生,血窦扩张瘀血。小剂量1次应用可减轻微循环辐射损伤,保持适量的粘多糖,使造血恢复加快。肾上腺皮质激素可使红细胞 ^{59}Fe 掺入降低,有时可见一过性增高。

4、基质源性CSF的影响:用氨脲处理小鼠,见内皮细胞标记指数明显升高,刺激干细胞造血增强。脾和骨质培养物或断片均可产生CSF而刺激CFU-c或促进干细胞分化、增生^[29]。加PHA的白细胞条件培养基也可明显增强造血。

体外培养的成纤维细胞灶(PFU-c或CFU-F)可产生CSF,是一种反应HIM的重要成分^[30]。急性粒细胞性白血病急性期PFU-c增多;经治疗后的缓解期则减低^[31],故认为促进PFU-c成灶的因素便可活跃造血^[32]。因此,最近已引起人们对PFU-c研究的普遍重视。

5、影响整体HIM的措施:予先照射整体、局部或醋酸纤维膜(CEM)巨噬层,因可改善干细胞增殖所需的HIM,故可明显提高CFU-s或CFC产量^[33]。将同种骨髓移植至肠系膜^[34]、肾内^[35]时,都可对整体HIM产生不同的反应。皮下植入造血器官^[6、10]也是反应整体HIM影响因素的有效方法。

6、造血组织及血细胞提取物:在EP或CSF存在下,脾碎片或细胞可明显促进红、粒系分化与增生^[29]。红细胞溶成物^[35]能明显提高CFU-E产量。粒细胞提取物则因改变早期DC内环境故可显著减少粒系灶的生成。

7、细胞抑制剂:长春花碱、阿糖胞苷^[36]、环磷酰胺^[15]、放线菌素D、氯霉素、羟基脲^[37]、Myleran等均有报导,这里不再介绍。

四、促进造血损伤恢复的研究与展望

造血损伤恢复的问题,尽管在整体、组织器官、细胞和分子水平上都进行了不少的研究和探索,但目前仍没有突破性的进展。如何能在现有成果的基础上迅速突破这一课题,这是值得重视和研究的。

造血的现代概念已明确提出,就是造血干细胞同造血微环境,尤其是造血基质相互作用,在机体对造血器官的统一调节和控制下,经过一定的增殖与分化阶段,不断补充功能池衰减的各类血细胞,以保证其恒定的血细胞数量的动态平衡过程。这就是说,造血包括造血细胞和造血基质这样相互作用、相互依存的两个方面。早年的研究,由于认识的限制,多偏重于造血细胞方面的观察,这是必要的,合乎规律的。但从目前研究所揭示的现象看,单从一方面而忽视另一方面的研究,想要攻克这一课题是困难的。因为造血是由造血细胞和基质两方面的活动组成的统一体,缺少一方面显然是不能实现其造血功能的。况且Knospe等^[18]也早已证实,在大剂量照射损伤的股骨基质中,即或移植骨髓暂时恢复了造血,也必然在一定时间后,再次出现造血障碍。同时,造血基质也并不仅仅起保证干细胞活动环境的作用,根据上述大量资料^[18、20],在适宜的条件下,造血基质或间叶组织成分本身是否可以转化为造血干细胞的问题,也应引起重视和研究。因此,造血损伤恢复的研究,必须同时注意对两个方面的观察,尤其对造血基质的观察,有更重要的意义。所以,从研究造血微环境着手,阐明造血损伤恢复的规律,来攻克这一课题,也是当然迫切的重要途径之一。因为根据前述,(1)造血微环境对造血机能的完全恢复十分重要;(2)造血微环境的研究刚开始不久,许多重要的作用还未揭示出来,尤其影响造血微环境的各种

复杂因素, 刚刚开始发现; (3) 在一定条件下, 造血基质成分似乎可以转化为造血细胞。例如, Maniatis 等^[38] 将大鼠尾骨去皮后, 固定移植到自身腹腔内, 再剪取另一段埋入同体的皮下。结果发现, 单纯植入腹腔和皮下者, 因温度和血流变化, 只能使造血轻度增强; 但同时加用盐酸苯胍者, 则可促进造血明显加强。这表明, 正常造血组织的结构与功能, 是具有其内在决定性因素的, 也就是保存着间叶组织所具有的造血潜能的。但只改变温度和血流这样一般的影响因素, 并不能产生大的触动而使造血有重大变化, 而必须加用苯胍使微环境和体液因素都有深刻强化时, 造血机能才有明显的增强, 使黄髓也转变为红髓。这里, 影响因素的探索和研究是十分重要的。为此, 设法寻找有效措施, 使极严重放射损伤的骨髓, 在残留基质的基础上, 能重复个体发生的造血过程, 则造血的恢复便可实现。而如前所述, 这种造血的恢复过程在一定条件下也应是可能的。因此, 加强造血基质的研究, 将从根本上解决造血损伤恢复问题的重要关键。这无论从机械损伤后骨髓的再生和体内髓外移植时造血的恢复上看^[34], 或从移植到肾囊下的造血基质向造血发展的过程^[9]上看, 都显示了其重建造血的可能性。这也表明, 在这几种情况下, 已有某些条件和因素是适应了造血发生需要的。所以, 研究影响造血的因素, 自然就成为这一课题的重要组成部分。

自从放射性同位素、造血干细胞以及骨髓体内外培养等技术在造血血液学领域里应用以来, 血液学的研究的确有了飞跃的发展。从当前动态看来, 人们从造血细胞与基质相互作用的整体出发, 对造血基质及其影响因素的各方面, 以造血细胞的反应为指标, 进行深入的探讨, 将广泛展开。可以预见, 造血损伤恢复问题的解决, 将不会是很遥远的将来了。

五、结 语

本文综述了造血微环境重要成分的造血基质在造血损伤和恢复中的作用及其研究动态。强调了关于造血现代概念的重要意义。主要是造血干细胞与造血基质的相互作用和统一整体的关系。根据目前的科学成就, 分析了突破造血损伤和恢复问题的目标和途径。要点是从研究造血基质微环境着手, 阐明造血损伤和恢复的规律, 可能是从根本上解决这一问题的重要方面之一。

参 考 资 料

1、刘及和范洪学: 放射医学与防护资料汇编, (1): 44, 1977。

2、田牛: 国外军事医学资料, 二分册(3): 44, 1973。

3、Tavassoli M: Exp Hematol, 3: 213, 1975。

4、Fong pL et al 等 Exp Hematol 6: 67, 1978。

5、Forteza-vila J 和 Calvo W: Amer J Anat 126: 355, 1969。

6、吉林医大工卫系693组: 693会议资料汇编, 苏州, 1976。

7、范洪学等: 吉林医科大学通讯(2): 36, 1973。

(8) Haas RJ等: Blood 34: 791, 1969°

(9) Friedenstin AY: Transplantation 17: 331, 1974。

(10) Knudtson S等: Blood 46: 937, 1976。

(11) Lord BI等: Blood 46: 65, 1975。

(12) Mohandas N等: Blood 48: 978, 1976。

(13) Tavansoli M: Arch Path Lab

- Med 100 : 167, 1976。
- 〔14〕沙家涉等:医学と生物学93:59,1976。
- 〔15〕Gordon MY: Cell Tissue Kinet 10 : 497, 1977。
- 〔16〕Maloney MA和Patt HM: Science 165 : 71, 1969。
- 〔17〕Amsel S: Anat Rec 164 : 101, 1969。
- 〔18〕Knospe WH等: Blood 31 : 400, 1968; 28 : 398, 1966。
- 〔19〕方肇辉等:日血会志 37 : 621, 1974。
- 〔20〕吉林医大工卫系693组: 693会议资料汇编, 上海1976。
- 〔21〕Mori KJ等: Rad Res 69 : 134, 1977。
- 〔22〕Harker WG等: Blood 49 : 263 1977。
- 〔23〕De Gowin RL等: Exp Hematol 6 : 220, 1978。
- 〔24〕Salymoss B等: Exp Hematol 6 : 43, 1978。
- 〔25〕Oshita AA Blood 49 : 585, 1977
- 〔26〕Brown JE等: Cell Tissue Kinet 10 : 289, 1977。
- 〔27〕佐藤允富等: 医学 のあゆみ, 102 : 695, 1977。
- 〔28〕Kurland J等: Exp Hematol 5 : 357, 1977。
- 〔29〕Cline MJ等: J Cell Physiol 90 : 105, 1977。
- 〔30〕Влидимирская ЕБ: Проб Гематол Перел Крови (1) : 28, 1977。
- 〔31〕Тарубарова НА Проб Гематол Перел Крови (11) : 315, 1977。
- 〔32〕Lau L等: Exp Hematol 6 : 114, 1978。
- 〔33〕Buurman WA等: Cell Tissue Kinet 10 : 15, 1977。
- 〔34〕Umar MH等: Exp Hematol 6 : 110, 1978。
- 〔35〕Bateman AE等: Brit J Hematol 36 : 150, 1977。
- 〔36〕Blackett NM等: Exp Hematol 6 : 2, 1978。
- 〔37〕Hosthorpe S等: Exp Hematol 5 : 348, 1977。
- 〔38〕Maniatis A Blood 37 : 581, 1971
(吉林医科大学工卫系放射医学研究室刘及、范洪学综述)

体外培养条件下细胞造血的调解问题: 环状核苷酸对红灶生长的促进作用

绪 言

业已了解,腺苷酸环化酶和cAMP的相关机理有调节各组织的细胞机能和增殖的作用。然而,该系统在红细胞造血的调节作用仍然不清。可是,在体外培养中,cAMP对红系造血的刺激效应已有些研究者作了报导。也见另外一些研究者未发现这种作用。

这些研究中的不同结果可能是由于使用不同种属的动物所造成。在犬、绵羊、人和兔的骨髓细胞悬液培养时,血红蛋白的合成可被cAMP促进,而在小鼠、大鼠和豚鼠的骨髓细胞作同样培养时则见不到这种刺激作用。业已证明,cAMP的靶细胞和对E_p最敏感的细胞是不同的,因而可以推测,cAMP可能是E_p作用在细胞水平上的“第二信使”,