

成熟度或细胞周期的时期。

这些材料表明,腺苷酸环化酶相关机理是可以在体外培养中影响红系造血增殖能力的。这种效应可表现在环状核苷酸本身或作用到与腺苷酸环化酶有关的细胞表面受体的药剂的影响上。因此,许多其它的激素和简

单分子化合物均可与细胞表面受体相作用,以激活腺苷酸环化酶从而发挥对Ep与靶细胞的调节作用。

[Brown JE和Adamson JW: Cell Tissue Kinetics 10 (3): 289, 1977 (英文) 范洪学节译 刘及校]

环磷酰胺处理的小鼠骨髓成灶细胞对体液因素的反应性

腹腔扩散盒培养细胞的方法为研究骨髓祖细胞和体液环境间的关系提供了条件。即在盒植入前预先处理受体动物并观察其所培养细胞的影响。灶检查技术的建立使我们能更直接地测定体液因素对粒系祖细胞的作用,而这粒系祖细胞是与体外培养中成灶细胞(CFU-c)有密切关系的。

预先用环磷酰胺处理受体小鼠,可促进扩散盒内正常粒系细胞的增殖。同时,任何可引起受体动物体液因素改变的药物都能影响造血组织。为此,应当以作过同样方法处理过的供体细胞作为查明此类变化的对象是适宜的。本研究目的在于探讨供体经与受体相同方法处理后其细胞对体液环境的反应是否和正常细胞相同。

材料和方法

全部实验均使用雄性C57B1小鼠,2~3月令。供体和受体均在细胞培养和植入扩散盒前不同时间腹腔注射环磷酰胺。

骨髓细胞培养是用琼脂扩散盒技术。当利用未处理供体时使 2.5×10^4 个骨髓细胞悬浮于0.3%琼脂培养基中,注入扩散盒。用环磷酰胺处理的供体骨髓植入未加处理的受体小鼠进行培养时,其细胞数应调整至每盒大约长30个灶左右。封好的扩散盒植入受体小鼠腹腔,6天以后查数琼脂中的灶数。每次

实验组和对照组都重复做4个扩散盒。

为了研究预先处理的受体对于供体细胞灶形成的影响,在实验前1~7天给受体动物注射环磷酰胺,同时也对供体进行了同样处理。而且供体的每一份骨髓细胞都分别在预处理和未处理的受体小鼠中进行了扩散盒培养。

结 果

当受体小鼠在盒植入前1天注射环磷酰胺(200毫克/公斤体重)时,产灶数比对照增加一倍而在盒植入前3~7天注射未见增多。

为了测定用药物处理的细胞和正常细胞对受体环境反应的变化是否相同,我们进行了下面实验。即在盒植入前的1~7天给受体和供体每公斤体重分别注射200,100和50毫克环磷酰胺。然后将各组供体骨髓细胞均培养在同剂量、同时间用环磷酰胺处理和未处理的受体腹腔。结果仍用处理组与对照组之间产灶的比值表示。结果表明,在植入前三天注射每公斤体重200毫克环磷酰胺的供体骨髓细胞植入同样处理的受体时,有最大的成灶促进作用。每公斤体重注100毫克环磷酰胺时产灶值轻度增加,而50毫克时则未见增加。

这些资料提出了一个问题,即受体和供体的用药时间和用药剂量都是有意义的。

当每公斤体重用200毫克环磷酰胺培养

前三天处理的供体骨髓细胞,培养在盒植入前不同时间以同剂量环磷酰胺处理的受体体内时,其产灶峰值仍出现在3天前处理的受体中,与正常细胞产灶峰值时间不同。与此实验相反,我们用环磷酰胺处理后三天的受体和植入前不同时间处理供体进行第二个实验。结果表明在盒植入前3~7天每公斤体重200毫克环磷酰胺处理的供体细胞对植入前3天处理的受体体液环境反应性有了加强。第三个实验是盒植入前一天受体用每公斤重200毫克环磷酰胺处理(正常骨髓细胞培养的高峰时间)。而供体则在细胞植入前不同时间处理。盒植入前一天用环磷酰胺处理的供体细胞比正常供体细胞反应性低,在该药处理后7天的供体细胞才恢复到正常。

为了弄清给药剂量对细胞反应性和对作用于细胞的体液刺激素产生的影响,将供体小鼠分为注环磷酰胺按每公斤体重50及200毫克之二组。三天后,将这些小鼠的骨髓细胞植入到同样处理的受体小鼠腹腔培养,同时也植入未处理的受体小鼠做为对照。

结果说明,当供体和受体都用每公斤体重50毫克的环磷酰胺处理时,对扩散盒内成灶数并无影响;但供体用200毫克,受体用50毫克环磷酰胺处理时,则产灶数与正常对照受体相比稍有下降。当受体用200毫克而供体用50毫克环磷酰胺处理时,则成灶数有所增多,大约为供、受体均用200毫克环磷酰胺处理时的一半。

讨 论

本研究结果表明,同正常细胞相比,用环磷酰胺事先处理的供体细胞与用药物预先处理的受体细胞的反应是不同的。产灶刺激程度与供体、受体给药时间有密切关系。供体和受体均在盒植入前三天给以每公斤体重200毫克环磷酰胺时产灶最多。对产生刺激素来说,受体需要大剂量的环磷酰胺(每公斤

体重200毫克)。但当供体每公斤体重给50毫克环磷酰胺时,也见细胞反应性有某些提高。这些资料表明,在这种情况下,体液因素的变化可对灶增长起着重要的决定性作用。

很多资料表明,受体小鼠中性粒细胞减少对正常骨髓细胞有刺激作用,并且发现在这种情况下可促进扩散盒内的粒系细胞生成。影响扩散盒内灶生长的这种体液因素已被认为是体内培养下粒系细胞生成的一种可能体液调节物。这种调节物可能与体外培养中粒系刺激素(CSF)是有密切关系的。CSF是粒系造血的重要体液调节物之一,而且已知在粒细胞减少的动物中其含量增高。在某些情况下,CSF含量与粒细胞产生的变化成正相关。然而,这并不总是如此。因为Udapa和Reissmann曾发现雄激素可以促进中性粒细胞减少的恢复,但未见到血清中CSF的变化。

粒系造血的控制无疑是很复杂的,可能涉及到已在体外实验及扩散盒培养中发现的抑制物和刺激物。然而,如果细胞对这些因素的反应性有了改变,正像它们在中性粒细胞减少症恢复中所起的作用那样,那么这种情况发生时并不出现体液调节物平衡的明显变化。这样一来,CSF在恢复过程中就显得不起重要作用,从而也就和细胞数的变化或形态和机能(灶形成)的变化没有什么关联。因此,靶细胞反应性的这些变化可能是与CSF和其它因素的生理作用的资料相矛盾的。

虽本篇资料没肯定细胞对体内培养中灶恢复是否有重要的影响,但实验确实表明,在测定恢复情况时若利用常规的测量系统(CFU-s CFU-c),来测定造血组织中祖细胞的真实数目,就会得出错误的结果,因为这些细胞对刺激的反应是随着时间改变而发生了变化。

另外一个问题是化疗后应用自己储存的骨髓的可能性问题。业经证明,病人接受这

种处理后并不能明显加速其造血恢复。但是,当供体给小剂量,受体给大剂量的环磷酰胺的实验表明,“起动的”小剂量可能刺激造血细胞,使能对大剂量用药后骨髓枯竭的刺激发生较强的反应。为了确定将小剂量

环磷酰胺处理的骨髓移植到受体小鼠后是否能促进再生问题,现正进行这一实验。

(Gordon MY: Cell and Tissue Kinetics 10(5): 497, 1977(英文)
鲁新节译 刘及校)

小鼠粒细胞成熟率的调节

本研究的目的是探讨粒细胞的成熟是否能由一般的抑制粒细胞产生的各种措施来予以加速。

作者利用了密闭的体内培养体系进行了粒细胞成熟的研究。这种培养体系对粒细胞来说,培养条件是良好的,就象在骨髓的自然环境中一样能很快的增殖。

材 料 和 方 法

动物:将成年雌性WHT或NMRI/Bom小鼠股骨骨髓细胞培养在植入各种受体腹腔内的扩散盒中。使用了同系受体(雌性WHT),同种受体(雄、雌性CB-20, DBA-20和NMRI/Bom)及异种受体(雄、雌性Wistar大鼠,1~4月龄,60~180克重)

再生骨髓细胞:将环磷酰胺处理过的小鼠股骨剪开,收取骨髓细胞(环磷酰胺200mg/kg体重,前三天腹腔注射)。

扩散盒技术见以前的报导。将不透过细胞、无菌的DC、植入受体腹腔内,每只小鼠植入2个,大鼠则植入3~4个。通常每组6个盒,培养1、2、3和4天后取出。

培养1和2天,因细胞数过少,用一般方法计数不够准确,故把经戊二醛固定的一定量的鸡红细胞加到细胞悬液内计数,然后在涂片上分出有核红细胞所占比例。并进行分类计数。

放射自显影:将已培养三天的DC孵育

在含有1.0或2.5微居里/毫升 ^3H -TdR的组织培养基内1小时,37℃(^3H -TdR5居里/毫克分子)。如在体内标记,则给培养三天的受体腹腔内注射 ^3H -TdR,以后23小时取出扩散盒(注入 ^3H -TdR量:10微居里/小鼠(2毫升),20微居里/大鼠(4毫升))。

用Ilford L4乳剂,大部分试验均按标准程序操作。后期的试验,自显影前,在已染色的涂片上涂上薄层氯化聚乙烯(PVC)保护膜。

细胞核内有10个或10个以上的颗粒即算作标记细胞。随机任选100个标记细胞中平均颗粒数为55,而在100个非标记细胞中的颗粒数为1。在自显影中,将缺乏粒细胞特点的一些幼稚细胞归为“原始细胞”类。其中多数细胞在普通涂片或自显影片上(PVC)均可见有嗜苯胺兰颗粒。实际上这些都是增殖阶段的粒细胞。

粒细胞生成的抑制和DC受体的障碍:在某些实验组中使DC内细胞含量高于对照组15倍,或用大鼠代替小鼠做受体,从而使粒细胞产率降低。有些大鼠在2~4周龄时,皮下注射 $2\sim 3\times 10^6$ Shay绿色瘤细胞,接种后2~5周做DC受体,此时大鼠皮下绿色瘤已经很大。前已述及这种肿瘤可分泌生长抑制素(粒细胞抑素),能使腹腔DC粒细胞生成降低。

有些DC经粗制或半纯制的白细胞提取物(粒细胞抑素)处理后,在体内和体外培养