

(或HVGR)消失,并可能建立对供,受体双方抗原的免疫耐受性。

为了详细分析这个过程,作者把在SPF条件下诱生的 $B10(H-2^b) \rightarrow B10 \cdot BR(H-2^k)$ 嵌合体小鼠的脾细胞和供体,受体及第三者 $[B10 \cdot D_2(H-2^d)]$ 小鼠脾细胞分别混合进行培养,观察杀伤性T细胞活力的变化。发现 $B10 \rightarrow B10 \cdot BR$ 嵌合体对宿主型细胞表现出明显的杀伤性T细胞活力,在骨髓移植后3周达到高峰,以后减弱,对于第三者细胞,则从骨髓移植后3~4周,迅速出现杀伤性T细胞活力,2个月达高峰,而对供体细胞,始终没有查出杀伤性T细胞活力。这个结果,是在几乎不发生继发病的SPF环境的小鼠得出的,其对宿主型抗原的杀伤性T细胞活力达到高峰的第三周,恰是在普通环境下同种骨髓移植的宿主开始发生继发病的时刻。这表明,用本法检出的抗宿主活性的出现和继发病发生之间可能有密切的因果关系。

### 三、同种骨髓嵌合体免疫系统

#### 恢复的异常及其免疫学机制

在可引起细菌感染的普通环境下进行同系骨髓移植,受致死剂量照射的受体也可长时间存活,但若移植同种骨髓,则因继发病可使多数受体死亡。比较两种骨髓嵌合体对羊红细胞(SRBC)产生抗体能力的恢复动态变化时发现,同种骨髓嵌合体小鼠明显迟于同系骨髓嵌合体。用SPF动物重复上述实验,两组受体动物全部存活,但抗体产生的恢复能力仍是同种骨髓嵌合体小鼠恢复的速度慢,水平低。

为阐明同种骨髓嵌合体免疫恢复异常的免疫学机制,作者观察了 $B6C3F_1 \rightarrow C3H$ 和 $C3H \rightarrow B6C3F_1$ 两种嵌合体小鼠。本来能发生GVHR的 $C3H \rightarrow B6C3F_1$ 嵌合体,免疫恢复的速度却与 $C3H \rightarrow C3H$ 嵌合体相同,而不引起GVHR的 $B6C3F_1 \rightarrow C3H$ 嵌合体,免疫恢复速度反而明显推迟。这表明,这种免疫恢复障碍

的机制除GVHR外,还有其他因素。观察骨髓细胞移植后、两周(移植细胞开始增殖)的 $B6C3F_1 \rightarrow C3H$ 嵌合体,对脾重和有核细胞计数显著降低的宿主进行研究时,常常发现其脾细胞均为宿主的T细胞,这些细胞对 $B6(H-2^b)$ 系小鼠细胞(供体)具有明显的损伤作用。作者认为,在 $B6C3F_1 \rightarrow C3H$ 嵌合体见到的抗体产生能力恢复的推迟,是由于宿主残留的T细胞引起了HVGR,抑制移植细胞增殖的结果。

### 四、免疫细胞间协同作用的免疫遗传学和T细胞在组织不相容宿主环境中的适应性分化

实验表明, $C3H \rightarrow C3H$ 嵌合体在骨髓移植后两周,对SRBC抗体产生能力几乎没有恢复,然而在骨髓移植后一周,再植入正常C3H小鼠的胸腺细胞,则嵌合体小鼠显示出显著的抗体应答反应。这意味着 $C3H \rightarrow C3H$ 嵌合体小鼠,在骨髓移植一周后,B细胞机能已基本恢复。作者往这一模型中移入各类小鼠胸腺细胞,通过对SRBC抗体产生情况分析主要组织相容性抗原在T-B细胞间的协同作用。结果发现,在 $C3H \rightarrow C3H$ 嵌合体内,移植C3H或 $B6C3F_1$ 的胸腺细胞时,均可产生SRBC抗体,而 $B6(H-2^b)$ 系胸腺细胞则几乎完全不产生这种抗体(T-B细胞间协同不良);另外,作者又把 $B6 \rightarrow C3H$ 和 $B6 \rightarrow B6C3F_1$ 嵌合体小鼠的胸腺细胞植入在 $C3H \rightarrow C3H$ 嵌合体内,发现二者对SRBC均能产生高效价的抗体,也就是说,即便在遗传方面是由 $B6(H-2^b)$ 来的T细胞,在 $C3H(H-2^k)$ 或 $B6C3F_1(H-2^b/k)$ 小鼠胸腺内分化,也能与C3H的B细胞形成很好的协同作用。Katz博士指出,供体的造血干细胞在组织不相容宿主的胸腺内向T细胞分化时,由于某些机制,已把宿主的组织(抗原)作为“自身”的组织。并把其称为“淋巴细胞的适应性分化”。目前,这个问题已成为现代免疫生物学最中心的研究课题之一。

(范洪学节译 刘及 张卿西审校)

## 骨髓基质成纤维样祖细胞的 辐射敏感性和照射后的变化

Friedenstein AJ et al, Int J Radiat Biol 39(5): 537~546, 1981 (英文)

造血组织照射后的变化首先是由于造血细胞损伤引起的,但这些变化也发生在维持造血细胞增殖和分化的造血基质中。局部受大剂量照射后,继发的骨髓

造血障碍以及受照供体骨髓异位移植后不能形成新骨髓,表明这些效应是由造血微环境的辐射损伤引起的。细胞损伤机理尚待查清。越来越多的事实表明,

体内骨髓成纤维样细胞可转移并能维持骨髓微环境。并已发现,骨髓异位移植后,新造血器官的形成就取决于基质成纤维样细胞而非造血细胞的植入,而且供体的造血微环境对异位骨髓造血仍发挥作用。此外,体外培养的成纤维样细胞系或二倍体成纤维样细胞株在移植时有转移骨髓微环境的作用。

### 材料和方法

用成年远系豚鼠作为骨髓细胞的供体。从股骨和胫骨骨干部取出骨髓片块,以注射器在培养基中吹散制备细胞悬液,尼龙网过滤。

用检测骨髓成纤维样细胞成灶单位(CFU-F)的方法,将骨髓细胞培养在250毫升ROUX瓶中,内装入含20%胎牛血清的199全培养基。每瓶中还加入5千拉德照射的 $1.5 \times 10^7$ 个同种骨髓细胞为滋养层。每次实验均植入2~3种不同浓度的细胞,每种浓度均培养3瓶。培养10~12天,用乙醇固定,天青伊红染色,解剖显微镜下计数50个以上细胞的成纤维样细胞灶数。

将全培养基骨髓细胞悬液( $3 \times 10^6$ 细胞/毫升)和骨髓片块用钴源在4°C下作体外照射,剂量率为89拉德/分,剂量为75~600拉德。照射后半小时,将受照射的骨髓片块在新培养基中制成细胞悬液。各瓶细胞悬液在照射后换液一次。

局部照射用250KV, 15mA X线机照射股骨中段左后肢远侧端,剂量率为250拉德/分,照射剂量为400和2000拉德。身体其它部位用4毫米铅屏蔽,照后15分,6~8小时和1~45天取出骨髓进行移植。

### 结果

在3~5只供体的骨髓细胞混和培养与单独培养同时进行,可见前者成灶率(每10万植入细胞形成的成纤维样细胞灶数)是相加的,其灶数近似于每个单独培养者所得灶数的总和。为此,本实验取3~4只供体的细胞用以测定CFU-F值(即植入细胞数与培养物生成的成纤维样细胞灶数之比)和CFU-F含量(每个骨髓腔的CFU-F数)。在六批实验中,每批植入细胞均取自3只正常豚鼠,其结果,CFU-F值为 $2.9 \pm 1.0 \times 10^4$ ,股骨的CFU-F含量为 $3800 \pm 900$ 。

用体外照射后的存活曲线测定CFU-F辐射敏感性,受照射细胞培养生长的灶与未照细胞者相比,形态没有本质区别。但当照射量增加时,成灶率则进行性下降。体外照射骨髓片块或骨髓细胞悬液可得CFU-F存活曲线。此曲线反映出受照射细胞与同一供体未照射者相比成灶的抑制程度。还确定了骨髓细胞贴壁后照射得到的CFU-F存活曲线,其结果与其贴壁前

照射所得结果无明显差异。

全身照射后的CFU-F含量,由有核细胞数和CFU-F值计算受照射供体骨髓的CFU-F含量。每批实验中,均将未照射动物细胞与受照射供体的植入细胞作平行培养。结果是以受照射动物与对照者比较,CFU-F含量抑制的百分率表示的。

400拉德照射豚鼠所得结果如下表。

照射后 时 间	每个股骨的有核细胞 (相当于对照的%) ( $M \pm n$ )	每个股骨的CFU-F 含量(相当于对照的 %) ( $M \pm n$ )
15分	$107 \pm 4$	$29 \pm 14$
6小时	$75 \pm 25$	$82 \pm 20$
8小时	$39 \pm 6$	$46 \pm 11$
24小时	$17 \pm 2$	$24 \pm 5$
2 天	$9 \pm 1$	$11 \pm 3$
3 天	$7 \pm 3$	$27 \pm 10$
5 天	$6 \pm 1$	$12 \pm 3$

由8只供体混合的骨髓细胞。每瓶植入 $2 \sim 3 \times 10^6$ 个细胞。每批实验中,植入受照射的供体细胞和未受照射的对照细胞同时进行。每批实验重复五次。

照射后15分,CFU-F含量为正常的29%,但6小时则增加2.5倍以上,然后下降。照射后48~120小时,低于照射后的早期水平。其后CFU-F含量又增加。

局部照射后CFU-F含量。将照射和屏蔽胫骨的CFU-F含量作了比较。用400拉德局部照射后的1~90天,屏蔽胫骨骨髓的细胞数和CFU-F含量分别是正常豚鼠胫骨相应值的 $108 \pm 9\%$ 和 $115 \pm 5\%$ ;2000拉德局部照射后1~120天,相应值分别是 $85 \pm 5\%$ 和 $69 \pm 14\%$ 。

400拉德局部照射后的3~5天,造血损伤达最高峰。此后,骨髓细胞数急剧增加,14~20天达到正常值。CFU-F含量变化的动力学却不同,照射可损伤CFU-F的85%,6小时后,其数目又急剧增加,而后开始下降,3天达最低值。第2周至第3个月,CFU-F数目逐渐增加,但持续低于正常水平。而2000拉德局部照射后,骨髓有核细胞变化的动力学到第20天仍与400拉德照射后的结果相似,但此期间CFU-F却消失了。从第3周至第4个月,继发性骨髓造血抑制逐渐发展。这时期的CFU-F数目不超过正常值的1~3%,即接近于零。

### 讨 论

当灶数和植入细胞数呈线性关系时,便可用灶数估算CFU-F含量。在标准营养层中进行培养。在

此系统中,行未照射细胞和体外照射细胞混合培养,其成灶数比单独培养时明显增高,这与正常和受照射供体细胞的混合培养结果相同。这表明,辐射引起成灶率的变化反映出CFU-F含量不同,而且也不取决于骨髓细胞亚群的辐射损伤。

本实验结果正如以前用其它实验方法所表明的那样,这种基质成纤维样细胞灶即是成纤维样细胞系。本研究用体外的由50个以上成纤维样细胞组成的灶数估算骨髓成纤维样细胞的成灶细胞(FCFC)数。这一估算中,包括了因照射失活的细胞。但从移植前和贴壁后受照射细胞所获得的CFU-F存活曲线以及照射细胞悬液和照射骨髓片块制备的细胞悬液所得的CFU-F存活曲线都是一致的情况看来,在制备细胞悬液过程中,照射不损伤FCFC的贴壁能力,也不能提高其对损伤的敏感性。因此,辐射诱发灶抑制的作用主要是通过抑制FCFC的增殖而实现的。

400拉德全身照射豚鼠后,其CFU-F数目即刻下

降,而6小时后确有增加,这种增加用静止期原位基质成纤维样细胞的亚致死损伤的修复来解释为宜。

局部和全身照射后,CFU-F数目恢复的动力学实质是相同的。这说明CFU-F未迁移到骨髓的照射部位,即FCFC与造血细胞不同,它属于局部而不是造血器官的再生细胞。本文结果表明,2000拉德局部照射后,造血功能的暂时恢复,实际是在完全缺乏FCFC情况下完成的。因此,根据它们在形成造血微环境中所起的作用,可分为两种不同类型的细胞:异位移植中转移微环境的基础细胞和真正产生微环境因子的效应细胞。单独移植骨髓成纤维样细胞灶表明,形成细胞系的成纤维样细胞即是前者,而后者,也许是FCFC的子代和其它来源的细胞,如巨噬细胞和内皮细胞。这些细胞似乎参与由基质成纤维样细胞诱生的造血微环境。

(张儒林译 刘及审校)

## 辐射诱发的肺动脉灌注缺损: 经用青霉胺后的改进

[Ward WF et al; Radiology 139(1): 201~204 1981(英文)]

作者报导抗胶原D-青霉胺( $\beta$ 、 $\beta$ -dimethylcysteine)能推迟鼠肺放射性纤维化的发生。给予鼠右半侧胸部单次照射25Gy(2500rad)后3~6个月,用药组出现的由于纤维变性所致肺泡的闭塞要比未用药组少得多。本文研究的目的是测定与组织学改善有关的药物是否同时伴有肺功能的改善。用动脉灌注作为肺功能的指标。

实验用雄性Sprague-awley大鼠,体重350~400克。用戊巴比妥钠30mg/kg腹腔内麻醉,给予右半侧胸部 $2 \times 2\text{cm}^2$ 射线单次照射25Gy(2500rad)。身体其余部分用2cm铅遮挡。辐射源为 $^{60}\text{Co}$ 治疗机,剂量率为3Gy(3000rad)/分,全部照射在12~13小时之间完成。模拟非照射动物作为对照组。照射后,半数动物的饲料中加入D-青霉胺每天10mg,为了防止D-青霉胺的抗维生素B<sub>6</sub>的作用,用药组还补充了维生素B<sub>6</sub>每天2mg口服。而对照组和模拟非照射组仅补充维生素B<sub>6</sub>。照射后1~9个月,每一组均进行肺扫描检查,用戊巴比妥钠麻醉动物, $^{99\text{m}}\text{Tc}^{99.25 \times 10^6}\text{Bq}$ (250μ

Ci)标记的大颗粒白蛋白溶于0.3ml的生理盐水中注入股静脉。以Pho-Gamma 3照像机,配用针孔型准直器以25万计数摄取的胸部闪烁图,测定右肺和左肺的动脉灌注总放射性。而且进行肺扫描摄影,并描记右及左肺的表面灌注区,以便计算表面的不规整形态。

结果:模拟非照射动物观察9个月期间肺动脉灌注无明显与年龄有关的变化。模拟非照射动物扫描右/左肺放射性比例为 $1.10 \pm 0.08$ ,右/左肺表面区放射性比例为 $1.03 \pm 0.04$ 。未照射组灌注缺损少见。

照射组(未用药组)照射后(4~6周)右/左肺放射性比例为 $1.25 \pm 0.06$ ,提示有右肺充血。而照射后8~10周未用药组,右/左肺灌注减少至 $0.75 \pm 0.06$ ,明显低于非照射组的数值。照射后18~20周减少至最低值 $0.54 \pm 0.06$ ,38~40周后逐渐不规则的增加到 $0.81 \pm 0.09$ 。右与左肺表面灌注区比例也有类似的变化。

未用药组,照射后一个月肺灌注缺损率未见增加,两个月时60%以上动物出现灌注缺损,四个月时增加