

W/W^v和SL/SL^d鼠造血功能的特征及其辐射效应

中国医学科学院放射医学研究所 刘淑华综述 李志旺 朱壬葆* 审

正常的造血功能依赖于两个因素,一是能够自我复制、增殖与分化的造血干细胞,二是提供干细胞增殖与分化的场所——造血微环境。

基因型W/W^v和SL/SL^d鼠是美国Jackson实验室杂交和培育的一对很有价值的小鼠。这两株小鼠的造血干细胞或造血微环境有先天性的缺陷。多年来人们利用其造血功能上的特征,采用各种实验方法,进行了大量的工作,阐明了不少问题,现将部分资料综述如下。

一、W/W^v和SL/SL^d鼠的一般特点

W/W^v和SL/SL^d鼠是有基因变异的小鼠,它们分别在W和SL位点上出现等位基因变异,并表现出基因变异的多效性,其中受影响最大的是造血干细胞,生殖细胞和色素细胞,因而动物出现贫血、不孕和皮毛缺少色素等。它们都有正常的同窝仔鼠(下称+/+鼠),后者常常是前者实验的正常对照鼠。

二、W/W^v和SL/SL^d鼠造血功能的特征

W/W^v和SL/SL^d鼠造血功能异常,其共同特征是贫血。它们的末梢血红细胞数量少,但体积大,故称巨细胞性贫血。其红细胞比积和血红蛋白都低于+/+鼠,然而网织红细胞数却偏高,末梢血白细胞及血小板的数量与形态均属正常^[1~3]。

(一) W/W^v鼠的造血功能

W/W^v鼠的骨髓和脾脏造血基质功能正常,但造血干细胞不仅数量少,且其功能也有缺陷,因而导致动物贫血。

1. W/W^v鼠造血干细胞异常

W/W^v鼠的胫骨骨髓有核细胞数少,约为

+/+鼠的72%。将W/W^v和+/+鼠的骨髓和脾脏细胞注射给照射的小鼠,发现W/W^v鼠的上述造血细胞在受体鼠的脾上形成的集落数和集落的体积明显地小于+/+鼠者。其集落细胞的组成是红系少于粒系,而+/+鼠造血细胞所形成的集落是红系多于粒系^[2~4]。给受体鼠注射⁵⁹Fe,在细胞移植后的第5天,移植了W/W^v鼠造血细胞的受体鼠,脾脏摄取⁵⁹Fe的量明显地比+/+鼠低^[6]。

Jedrzejczak^[6]和Sharkis^[7]做了一些有意义的实验。他们用抗Thy1、2血清及补体(C¹)处理+/+鼠的骨髓细胞,并注射给W/W^v鼠。发现在受体鼠的脾上不能形成大体可见的集落,同时也不能改善W/W^v鼠的贫血。但是用抗Thy1、2血清及补体处理的+/+鼠的骨髓细胞,再加入+/+鼠的胸腺细胞,则能恢复+/+鼠骨髓治愈W/W^v鼠贫血及形成脾集落的能力。用血浆凝块的培养方法,将+/+鼠的胸腺细胞和其骨髓细胞一起培养时,能使CFU-E数明显增多,但是W/W^v鼠的胸腺细胞没有这种作用。因此,作者提出了一个θ敏感调节细胞(Theta-Sensitive-Regulation Cell TSRC)的理论,认为这种细胞存在于正常小鼠的骨髓和胸腺中,有调节造血的作用,而W/W^v鼠缺少这种细胞。此外, W/W^v鼠脾脏的天然杀伤细胞(NK细胞)数量少于+/+鼠。NK细胞和红系造血有密切关系,这也可能是W/W^v鼠红系造血失调的原因之一^[8]。

虽然W/W^v鼠的造血干细胞在受体脾脏形成集落的能力极差,但是在体外,用半固体的培养体系进行实验,发现W/W^v鼠骨髓CFU-GM, CFU-E含量大致与+/+鼠相等,仅B-FU-E稍低于+/+鼠^[9]。近来Hara等^[10]

*军事医学科学院放射医学研究所

也报告W/W^v鼠骨髓和脾脏CEU-Mix含量与+/+鼠无显著差别。以上实验结果说明W/W^v鼠骨髓CFU-S虽然少,但其定向祖细胞并不少。对此现象的一个解释是由于W/W^v鼠造血干细胞的增殖放大,使其有正常数量的定向祖细胞。另一种解释是W/W^v鼠多向性造血干细胞的增殖与分化在体外优于体内。

2. W/W^v鼠造血器官基质功能正常

W/W^v鼠的脾脏和+/+鼠一样,能够支持多向性造血干细胞增殖与分化。给W/W^v鼠注射+/+或SL/SL^d鼠的骨髓细胞能纠正其贫血,并能在其脾脏上形成集落^[11~12]。若将W/W^v和SL/SL^d鼠做成联体,则联体双方的贫血都得以纠正,如果将联体分开,尽管SL/SL^d鼠又复归贫血,而W/W^v鼠的贫血却永远得到改善或治愈。由于W/W^v鼠脾脏基质功能正常,而其干细胞又有缺陷,所以输以正常小鼠的骨髓细胞,便能在其脾上形成集落,且形成集落数与注入细胞数呈线性关系。W/W^v鼠毋须照射就可以做为集落实验的受体,避免了照后受体的死亡。故W/W^v鼠优于照射鼠做受体。

Adler等^[13]将W/W和+/+鼠的股骨移植到正常受体鼠皮下。发现二者股骨的骨髓基质对CFU-S, CFU-E和CFU-GM,有同等的支持功能。用W/W^v鼠的骨髓细胞进行体外培养建立贴壁细胞层,再加入+/+或SL/SL^d鼠的骨髓细胞,尔后每周测定悬浮细胞中的CFU-C和CFU-S。W/W^v鼠的骨髓贴壁细胞层能够支持+/+或SL/SL^d鼠造血细胞增殖与分化。将悬浮细胞注射给W/W^v鼠,可使其贫血得到改善^[14,15]。

(二) SL/SL^d鼠的造血功能

SL/SL^d鼠造血功能异常,出现贫血的原因是其造血微环境,即造血器官的基质有先天性的缺陷。

1. SL/SL^d鼠造血干细胞功能正常

尽管SL/SL^d鼠胫骨骨髓有核细胞及CFU-S数少于+/+鼠,但就骨髓中每10⁶个有核细胞中的CFU-S浓度来说,二者差别不大。

其脾脏有核细胞及CFU-S数也无明显差异^[16]。当将SL/SL^d和+/+鼠的骨髓细胞注射给照射的受体时,二者的骨髓细胞有同等的集落形成能力。若将SL/SL^d和+/+鼠的骨髓细胞进行体外培养,定期测定培养的细胞数及细胞形态时,二者差别也不甚显著。

2. SL/SL^d鼠造血器官基质功能异常

将SL/SL^d和+/+鼠的股骨和脾脏移植到SL/SL^d和+/+鼠的皮下,给受体鼠注射⁵⁹Fe,发现不管移植到任何受体(+/+或SL/SL^d鼠)中的SL/SL^d鼠的股骨和脾脏所参入放射性铁的比率及CFU-S数较+/+鼠低得多。二者之间的差别以脾脏更为明显^[17]。Dexter^[14]将SL/SL^d和W/W^v鼠的骨髓细胞进行体外培养,建立贴壁细胞层,观察它们对SL/SL^d和W/W^v骨髓细胞生长的支持功能,实验结果表明,SL/SL^d鼠的骨髓贴壁细胞层不能支持上述各种小鼠造血细胞在体外生长。尤其对W/W^v鼠的骨髓细胞支持功能更差,所测得的CFU-C很少,培养出来的细胞多为巨噬细胞。因而表现出了SL/SL^d鼠造血微环境与W/W^v鼠造血干细胞缺陷的相加作用。由于SL/SL^d鼠造血基质有缺陷,欲纠其贫血必须移植+/+或W/W^v鼠的脾脏或股骨^[18~20]。

(三) W/W^v和SL/SL^d鼠的巨核系造血

W/W^v和SL/SL^d鼠末梢血有数量与形态正常的血小板,但其骨髓和脾脏的巨核细胞数明显地少于+/+鼠,分别为+/+鼠的50%和18%,然而其巨核细胞的体积却大于+/+鼠,为+/+鼠的1.2~1.8倍。故W/W^v和SL/SL^d鼠是以少量的巨核细胞维持正常数量的血小板,其机理尚不清楚,但大的细胞可产生多的血小板,因而推测是从体积上的增大,补偿了数量上的减少^[2,3]。

二、基因型W/W^v和SL/SL^d鼠的辐射效应

W/W^v和SL/SL^d鼠较其正常同窝仔+/+鼠对射线有更高的辐射敏感性。

+/+鼠为全黑色,有正常的生育能力,LD₅₀为680R。W/W^v鼠皮毛缺少色素,为白色,

无生育能力, LD_{50} 为 240~280 R。Gregory⁽²¹⁾ 等将 W/W^v 和 +/+ 鼠全身照射 400、600 和 800 rad, 观察照后第 5 天时小鼠脾脏的内源性集落数。发现照射 400 和 600 rad 的 W/W^v 鼠脾脏集落很少, 当照射后动物经放血或给予红细胞生成素等处理后, 内源性脾集落不见增多。只有加大红细胞生成素的量, 每个脾的集落数才由 0.1~0.2 个增加到 3 个。当照射 800 rad 时, W/W^v 鼠的脾脏没有集落形成, 此时给予大剂量的红细胞生成素也不能使集落出现。然而 +/+ 鼠照射 600 和 800 rad 时, 脾脏出现的集落很多, 每个脾脏有 5~15 个。当照后给予小剂量的红细胞生成素时, 则脾脏的集落数明显增多。

Boggs 等⁽²²⁾ 报告, 用 X 射线照射 W/W^v 和 +/+ 鼠, 照射剂量为 100~200 rad, 以红细胞比积和网织红细胞数为指标, 观察它们的损伤与修复规律。发现照射剂量每增加 100 rad 时, W/W^v 鼠的红系造血的恢复时间便推迟 3.4 天。而 +/+ 鼠只推迟 1.2 天。但 W/W^v 鼠的损伤与修复规律与 +/+ 鼠基本一致。40 只 +/+ 鼠照射 200 R, 30 天内未出现死亡, 红细胞比积及网织红细胞数未见明显下降。然而等数量的 W/W^v 鼠照后贫血加重, 30 天内死亡了 10 只, 组织学检查, 发现照后前三天两株小鼠骨髓的改变差别不大, 均出现血窦扩张, 血窦数目增多, 造血细胞密度减低。从第 4 天起出现差异, 此时 +/+ 鼠开始恢复, 骨髓血窦数目减少, 口径变小, 造血细胞再生。照后第 8 天部分小鼠已经恢复到正常。但是 W/W^v 鼠恢复缓慢, 直到照后 16 天才开始恢复, 在照后 23 天才接近正常。给 W/W^v 鼠输以 +/+ 鼠的骨髓细胞或胚肝细胞, W/W^v 鼠的贫血得到纠正, 其寿命也得以延长(由 550 天延长到 775 天) 而其 LD_{50} 也升高到 +/+ 鼠的水平。但其皮毛颜色及生育能力都没有改变。

SL/SL^d 鼠比 W/W^v 鼠的辐射敏感性更高。其 LD_{50} 为 125~170 rad。照射 50~150 rad 时, SL/SL^d 鼠死亡率高于 W/W^v 鼠。照射 50 rad 时, W/W^v 鼠的红细胞比积下降的程度比 SL/SL^d 鼠轻, 且恢复得早, 如照后 11 天, W/W^v

鼠的红细胞比积已恢复, 但 SL/SL^d 仍继续下降。SL/SL^d 鼠红系造血的损伤与修复规律与 +/+ 鼠不同。照后其网织细胞下降的最低值与照射剂量无明确的关系。如照射 100、125 及 150 rad 其平均网织细胞最低值分别为 0.2、0.9、1.3%, 并且个体之间的差异很大, 而且照射后网织红细胞不曾全部消失, 甚至在致死剂量照射后, 造血干细胞仍能进行分化⁽²²⁾, 这似乎与其比 W/W^v 鼠有更高的辐射敏感性相矛盾, 对此现象尚不能解释。

为什么 SL/SL^d 鼠比 W/W^v 鼠辐射敏感性更高? 其造血细胞是否对射线更敏感, 更易受损伤? 将 SL/SL^d 和 +/+ 鼠的骨髓细胞进行体外照射 150 rad, 再注射给照射的受体, 测定照射骨髓细胞的集落形成能力。结果表明, 照射的 SL/SL^d 和 +/+ 鼠的骨髓细胞在受体脾中的活存曲线基本一样, 即它们集落形成能力无明显差异⁽²¹⁾。但若将 +/+ 鼠的骨髓细胞注射给照射的 SL/SL^d 受体鼠, 或者将 SL/SL^d 鼠和 +/+ 鼠做成联体后进行照射, 再注射 +/+ 鼠的骨髓细胞, 发现 +/+ 鼠的骨髓细胞在 SL/SL^d 鼠的脾内的生长受到了明显地抑制, 其脾脏集落少, 并且小。取第 9 天的脾做组织学观察, 发现 SL/SL^d 鼠脾脏红髓空虚, 仅有少数小的造血灶, 造血灶中的细胞少, 只有几十个细胞。但与此同时进行实验的 +/+ 鼠脾脏集落多且大, 造血灶由数百个细胞组成。但是二者脾脏的白髓, 脾小体生发中心的再生程度却没有差别^(23, 24)。以上实验进一步说明了 SL/SL^d 鼠造血器官基质功能的缺陷。SL 位点基因变异对 SL/SL^d 鼠造血功能影响更大, 其贫血的程度较 W/W^v 鼠重 (SL/SL^d 鼠照前红细胞比积为 31%, W/W^v 鼠为 40%)。所以照射后 SL/SL^d 鼠的损伤比 W/W^v 鼠更严重一些。

药物对基因变异小鼠辐射防护作用的研究报道的不多。Boggs⁽²⁵⁾ 曾观察细菌内毒素对 W/W^v 鼠的辐射预防作用。每天给 W/W^v 和 +/+ 鼠注射 25 微克类伤寒内毒素一次, 连续 9 次, 发现二者脾脏明显增大。增大的脾脏充满了红、粒及巨核系造血。若在照射 700 或 800 rad 前

一天给动物注射内毒素25微克,能明显地提高+/+鼠的存活率,但是不能提高W/W^v鼠的存活率。当照射剂量降低到300rad时,经预防的W/W^v鼠存活率才有所提高,由23%升高到77%,此时W/W^v鼠的血红蛋白及红细胞数均比对照组恢复得快。此外,照前或照后给予内毒素能促进小鼠脾脏内源性集落形成。+/+鼠照射700rad前给予内毒素,集落形成的高峰出现在4~7天,第9天起集落数下降。照射对照组不出现这个峰。照射300rad的W/W^v鼠,于照后第7天集落数仅轻度增加。如果照前给予内毒素,照后第5天开始出现集落,第7天时集落数已接近内毒素处理并照射700rad的+/+鼠在照后4~7天的水平。总之,内毒素能够减轻辐射对W/W^v和+/+鼠在造血方面的损伤,由于W/W^v鼠造血功能有缺陷,其效果远不如对+/+鼠的防护作用。

小 结

W/W^v和SL/SL^d小鼠由于W和SL位点出现基因变异,而使造血功能异常。W/W^v鼠造血器官基质功能正常,然而造血干细胞功能有缺陷。相反,SL/SL^d鼠造血器官基质有缺陷,其造血干细胞功能正常。揣测W位点基因变异可能是作用于W/W^v鼠造血干细胞本身,影响干细胞的增殖与代谢。而SL位点基因变异可能是作用于机体调节造血的某个环节,间接影响造血基质的功能。W/W^v和SL/SL^d鼠均有其正常同窝仔(+/+)鼠。它们均是用于研究造血功能失调机理非常有价值的动物模型。这两株

小鼠对辐射的敏感性均高于其正常同窝仔鼠,内毒素对其辐射防护作用也较差。

参 考 文 献

1. Harrison DE and Ressel ES: Br J Haematol 22:155, 1972.
2. Ebbe S: Blood 42:857, 1973.
3. Ebbe S et al: Blood 42:865, 1973.
4. Kitamura Y et al: Cell Tissue Kinet 8:145, 1975.
5. Bennett M et al: J Cell Physiol 71:211, 1968.
6. Jedrzejczak WW et al: Science 196:313, 1977.
7. Sharkis SJ et al: Blood 55:524, 1980.
8. Seaman WE, Tala N: Exp Hematol 9:691, 1981.
9. Sawada U & Adler SS: Exp Hematol 8:702, 1980.
10. Hara H et al: Cell Tissue Kinet 15:25, 1982.
11. Gallagher M: Fed Proc 30:684, 1971.
12. Tavassoli M: Exp Hematol 3:213, 1975.
13. Adler SS et al: Exp Hematol 8:666, 1980.
14. Dexter TM: Nature 269:412, 1977.
15. Rober K et al: Exp Hematol 11:70, 1982.
16. McCarthy KF et al: Cell Tissue Kinet 10:121, 1977.
17. Frid JJ: Brit J Haematol 24:643, 1972.
18. Bernstein SE et al: Am J Surg 119:448, 1970.
19. Trentin JJ: Am J Pathol 65:621, 1971.
20. Altus MS et al: Proc Soc Exp Biol Med (N.Y) 138:985, 1971.
21. Gregory CJ et al: J of Cell Physiol 86:1, 1975.
22. Boggs SS et al: Radiat Res 74:312, 1978.
23. Wole NS: Cell Tissue Kinet 7:89, 1974.
24. Migno Y et al: Cell Tissue Kinet 11:103, 1978.
25. Boggs SS et al: Rad Res 56:481, 1973.

镱——一种被忽视的锕系元素: 生物学和环境文献综述

Thompson RC, Radiat Res 90(1):1~32, 1982(英文)

在环境生物学行为及生物医学效应方面,过去对镱同位素研究很少,这是因为较常见的Np同位素半衰期或者短得不足以构成生物或环境危害,或者长得可

以忽略其放射性。唯一的长寿命 α 同位素²³⁷Np(半衰期 2.1×10^6 年)是中子与铀反应或²⁴¹Am的 α 衰变子体。