

骨髓基质细胞的超微结构研究及其辐射血液学意义

白求恩医科大学 孙慧斌综述

刘 及 王玉芝* 陈家佩*审

CFU-f (colony forming unit-fibroblastoid) 或 FCFC (fibroblast colony forming cell) 是造血组织中具有相当增殖潜能, 在维持细胞池自身恒定的同时, 尚可不断分化生成各类基质细胞的原始阶段细胞。通常认为, 这就是造血器官的基质祖细胞 (Stromal Precursor)。体外培养中, CFU-f 能够产生由成纤维样细胞 (相当于体内造血器官网状细胞)、脂肪细胞、内皮细胞、巨噬细胞等组成的贴壁基质细胞集落^[1]。在骨髓或体外培养中, 这些基质细胞参与造血微环境的构成^[2], 分泌基底膜蛋白 (laminin)、纤维结合素 (fibronectin) 和氨基多糖等物质^[3, 4], 为正常造血创造必要条件, 并在造血放射损伤修复和再生中起重要作用^[5]。基质细胞超微结构的研究对于深入揭示和全面了解基质在造血及造血放射损伤修复中的作用具有重要意义, 可为骨髓型急性放射病的诊治及发病机理研究提供线索和依据。本文仅就骨髓基质细胞超微结构研究及其辐射血液学意义, 简要综述如下。

一、研究概况

骨髓超微结构的研究始于60年代。1970年后, 与基质有关的窦壁和造血网状结缔组织的研究才逐渐深入。同时, 随着 CFU-f 液体和甲基纤维素两种培养方法及贴壁细胞为底层的长期骨髓液体培养体系的先后建立, 基质细胞及其放射生物学的研究有了发展。近年来, Weiss 用扫描和透射电子显微镜观察了大鼠的骨髓基质。Shaklai 等用冰冻蚀刻和特殊电子染色方法, 进行了骨髓基质细胞相互关系和超微结构的研究。Bentley 等用生化、组化、免

疫电镜等方法探讨了贴壁基质细胞的性质。^[6, 7, 8] Фриденштейн 等围绕造血微环境的细胞基础, 就基质祖细胞的特性、造血微环境的转移和放射损伤修复以及基质细胞对造血和免疫的影响等方面进行了研究^[9]。Lichtman 和 Allen 分别就原位和体外培养中骨髓造血微环境的超微结构进行了研究^[10, 11]。Yoshimine 等就骨髓基质细胞电镜细胞化学的某些方面进行了研究^[12]。Tavassoli 研究了体外骨髓连续长期培养中电离辐射引起的基质细胞的放射损伤^[13]。Piersma 等研究了放射损伤后基质重建和造血再生与 CFU-f 的关系^[14]。总的看来, 造血基质超微结构及其放射损伤和修复的研究尚属薄弱环节, 亟待努力加强。

二、骨髓基质细胞的超微结构与功能

网状细胞: 骨髓网状细胞包括吞噬性网状细胞和非吞噬性网状细胞。有学者认为, 所谓吞噬性网状细胞就是巨噬细胞而不属于网状细胞^[15]。当前, 骨髓中网状细胞、巨噬细胞及成纤维细胞的超微结构在观察时容易混淆, 电镜下的准确鉴别有时尚较困难。

骨髓网状细胞的超微结构具有多样性。典型的网状细胞, 核为卵圆形, 轮廓清晰, 核仁明显, 常为1~2个, 染色质纤细而疏松, 核膜不甚规则, 边缘具有染色质致密带。胞质中核蛋白体贫乏, 可见粗面内质网, 高尔基体、微管、初级溶酶体、膜表面平滑的小泡。细胞表面, 特别是细胞突起表面附着有胶原蛋白、氨基多糖等。某些网状细胞胞质中有纤维和纤维致密体。另一些与网状纤维接触的网状细胞含有脂滴和约10nm的纤维^[15]。

某些网状细胞胞体与窦壁邻接, 大量的细胞突起包裹窦外壁形成窦鞘并有部分突起伸入

造血组织, 这些细胞又称外周(亦称“外膜”)网状细胞(adventitial reticular cell)或周细胞(adventitial cell)。在血细胞穿越窦壁时, 周细胞可以通过局部原质转移、细胞突起或整个细胞的运动, 改变窦壁的通透性, 调节血细胞的释放和物质交换。由于网状细胞镶嵌于窦壁, 细胞膜具有高浓度的碱性磷酸酶, 故能在蛋白、脂肪等物质的窦内外转运中起重要作用^[10、11]。

骨髓胚胎发育过程中, 网状细胞较造血细胞出现早, 为干细胞植入骨髓所不可缺少。网状细胞呈星状、有多个突起, 相邻细胞的胞突可彼此连接, 与其分泌的胶原等物质一起构成网架, 网眼中充满各种游离细胞。网状细胞不仅起支持造血细胞的作用, 而且是造血细胞发育的基质微环境。后者可活化、诱导和调节造血干细胞的增殖、分化和发育。培养中, 网状细胞能产生成纤维细胞集落, 并保持网状细胞的功能特性。网状细胞如由于先天缺陷(如SL/SL^d贫血小鼠)或后天损害(如电离辐射)而受损, 则即使有足够数量的正常造血干细胞, 亦同样会发生造血障碍, 且其能否再生最终取决于网状细胞及造血微环境的恢复。此外, 网状细胞与内皮细胞、脂肪细胞、成纤维细胞和巨噬细胞均有密切的结构、功能关系, 一定条件下与某些细胞还可相互转化^[11]。

成纤维细胞: 体外培养的成纤维细胞的性质因来源不同而有所不同。在扩散盒中可被诱生成骨质的成纤维细胞可能是来自骨髓动脉外膜、神经鞘或与骨有联系的细胞。而培养得到的与支持造血有关的成纤维细胞, 则来自骨髓网状细胞。这些细胞呈双极性, 仍具有网状细胞分泌胶原, 释放细胞团刺激因子(CSF), 支持、调节造血, 创造和转移造血微环境的功能^[11、12、16、17]。

脂肪细胞、骨髓脂肪细胞具有多数小脂滴形成的中央脂肪泡, 其超微结构特征是缺少糖元, 脂肪合成期间内质网减少^[11]。骨髓脂肪细胞比一般脂肪细胞稍小, 中性脂肪含量较高, 脂肪酸成分也有差异。饥饿状态下, 骨髓

脂肪细胞的脂肪不但不分解, 反而合成增强。骨髓前脂肪细胞向脂肪细胞的转变也并非由胰岛素所激发, 但可由培养物中加入氢化可的松而引起。红骨髓的脂肪细胞PAS染色阳性, 而黄骨髓及其它器官的脂肪细胞则为阴性。红、黄骨髓脂肪细胞的类脂成分也有所不同, 红髓的呈流动态, 造血增强时可被吸收以增大造血空间, 黄髓则无此反应。可见, 红、黄骨髓及其它器官的脂肪细胞在形态、脂肪成分、代谢调节和生理功能等方面均有差异^[10、18]。

骨髓脂肪细胞由网状细胞或成纤维细胞转化而来。这种转化是可逆的, 经过脂肪分解, 这些细胞可重新转变为原来的细胞。骨髓中, 脂肪细胞与网状细胞之间具有类似相邻网状细胞之间的解剖关系, 在支持和调节造血方面具有独特作用, 可通过与网状细胞之间的形态化生来调节和稳定造血空间, 可为增殖的造血细胞提供营养和支持面, 能灭活CSF, 促进干细胞向红系分化, 并与聚集于其周围分化中的粒细胞有选择性的密切关系。骨髓脂肪细胞可能还是造血调节因子的来源之一。人和鼠类的骨髓脂肪细胞在造血中的作用可能有所不同。某些研究表明, 人骨髓脂肪细胞在骨髓长期体外培养中对造血无支持和刺激作用^[19]。

内皮细胞: 细胞形态宽扁, 为衬于骨髓窦腔表面的膜性结构^[20]。核区常在窦壁外侧形成梭状突起。核区以外, 细胞厚度不超过2 μ m。电镜下, 可观察到线粒体、微管、微丝、不发达的高尔基体、溶酶体、核蛋白体及内皮细胞特有的圆形致密的Weibel-Palade小体^[11]。细胞质中富含被有单层膜的小泡, 是内皮细胞超微结构的一个显著特点。吞饮过程中形成的小泡起源于细胞膜涎酸密度降低的部位。小泡的功能多与细胞自身合成或外来物质的贮存、运输有关。电镜观察分析表明, 窦壁内皮有0.1~0.3 μ m的空穴和局部胞质变薄形成的“膜窗”结构以及与细胞通过窦壁有关的移行孔, 可能是细胞穿越窦壁过程中内皮细胞一系列动态变化的几个重要阶段^[10]。

内皮细胞能合成基底膜蛋白。体外骨髓培

养的研究表明,内皮细胞参与造血调节和微环境的构成,具有CSF活性,能刺激粒系造血,对于细胞的增殖、分化有重要影响^[21]。骨髓中,巨核细胞与内皮细胞有着密切的解剖关系。巨核细胞最终是通过内皮将胞浆突伸入窦腔释放血小板的。因此,内皮细胞有可能参与血小板的成熟与释放过程。

巨噬细胞:与其它基质细胞不同,巨噬细胞起源于造血干细胞,是由单核细胞演化来的。某些单核细胞成熟后不离开骨髓造血组织,而进一步发育成体积较大,多皱褶、多突起并与周围造血和基质细胞有着密切联系的巨噬细胞,终生留在这里,发挥基质细胞的作用。骨髓巨噬细胞含有大量的初级、次级溶酶体、吞噬体和成束的微管、微丝,具有吞噬和游走细胞的超微结构特点,因而在应激条件下能迅速重新分布于骨髓任何区域并具有吞噬即将成熟的网织红细胞核和巨核细胞裸核的功能。此外,胞质中还含有载铁蛋白聚合体和较小的粗面内质网。细胞核较大,有许多核孔和散在的染色质^[15]。

骨髓巨噬细胞分布广泛,功能活跃,与各类细胞均有不同形式的结构功能关系,以类似网状细胞的方式参与造血中各类细胞的相互作用并调节造血^[22]。在幼红细胞岛中,幼红细胞紧密围绕中央巨噬细胞,从原红细胞到中幼红细胞有序地沿着巨噬细胞的胞体和突起排列并发育,直至接近成熟才逐渐脱离巨噬细胞。伸展于幼稚红细胞之间的巨噬细胞突起经常伸缩摆动,有时甚至可伸至这些细胞内,以饮液方式为后者提供铁和其它物质,并通过分子转运,改善分子调节谱调节造血。骨髓巨噬细胞能合成、分泌GM-CSF,并可释放具有刺激红系造血和使培养中的巨核祖细胞增殖的刺激因子。

三、骨髓基质细胞超微结构研究的辐射血液学意义

造血的放射损伤包括实质和基质两个方面。基质细胞的损伤程度随剂量增加而加重。

通常认为骨髓基质细胞对辐射的抗性较强,导致造血实质细胞严重显微损伤的剂量,可能并不引起光镜下基质细胞形态上的可见变化。但此时基质细胞可能业已出现超微结构的损伤,只是由于光镜分辨率的限制而无从鉴别。与光镜相比,电镜可在更早的时相上观察到细胞器和生物大分子水平的形态变化、细胞精细的立体结构和解剖关系的改变。因此,分析超微结构的变化能更灵敏地反映造血基质的放射损伤。目前对骨髓基质细胞超微结构的放射敏感性和放射损伤与修复及导致基质细胞超微结构损伤的剂量阈值均缺乏了解。这些研究为在早期更准确地揭示基质及造血的放射损伤、修复所必需。D₀值是放射生物学的重要指标,研究该剂量照射后基质细胞的超微结构变化有助于了解细胞增殖死亡与超微结构损伤的关系,加深对D₀值意义的全面理解。此外,还可运用电镜进行基质细胞功能损伤与超微结构损伤的关系及超微结构损伤发展成为显微结构损伤的动态变化的研究。

研究表明,5Gy剂量的照射即可阻碍贴壁细胞集落的建立,又可破坏已建立的贴壁细胞层支持造血的潜能。较小剂量的照射主要干扰细胞的贴壁、分裂和支持造血的功能。大剂量照射可导致局部基质细胞的永久损伤,甚至完全破坏这些细胞^[13]。基质细胞的贴壁、分裂和支持造血的功能主要与细胞核、微管、微丝等结构和纤维结合素、氨基多糖等的合成、分泌系统有关。功能损伤与结构破坏有密切关系,超微结构的研究有助于对损伤机理的探讨。因为,无论是射线对细胞的直接杀伤作用,或由对物质合成、运输系统的破坏间接引起的结构损伤,还是因照射造成的细胞间正常结构关系的改变,都可通过透射电镜和扫描电镜的观察反映出来。必须指出,基底膜蛋白、纤维结合素、氨基多糖等存在于基质细胞与造血细胞相互作用的部位,是细胞和纤维建立稳定内环境的调节因素并能影响细胞的增殖、分化和迁移,是基质细胞支持与调节造血的重要介质。这些物质的数量和结构改变与造血的放

射损伤修复有密切关系。^[3, 4, 23]从超微结构角度进一步研究基质细胞中这些物质的合成, 分泌及其在基质细胞支持造血中所起的作用, 有可能丰富目前关于造血微环境和基质细胞支持造血作用的认识。致死剂量照射后, 骨髓造血持续衰竭。此时, 基质细胞损伤严重, 更新及修复速度慢, 是造血恢复的主要障碍。从超微结构的研究入手, 揭示基质细胞修复、更新慢及其不可逆损伤的机理, 对于全面认识基质细胞的辐射敏感性和照射引起造血持续衰竭的原因, 寻找有效的治疗措施, 均有重要意义。

基质严重放射损伤的股骨移植于同系小鼠皮下后, 其造血重建的研究发现, CFU-f 是移植股骨基质再生的基础, 射线由对移植股骨髓中 CFU-f 的损伤而影响基质的再生^[14]。培养中的 CFU-f 经静脉输注给受 9Gy 照射的同系小鼠后, 对受体的造血恢复具有明显的促进作用^[24]。静脉输注的 CFU-f 可在骨髓实现造血微环境的转移。将带有 T₂ 染色体标志的 CFU-f 培养细胞输注给经致死剂量照射的小鼠, 发现 1 天后即有 72% 的输注 CFU-f 到达受体骨髓, 3 个月时, 输注的 CFU-f 仍占股骨 CFU-f 总数的一半^[25]。Friedenstein 将经胰蛋白酶解离得到的 CFU-f 集落细胞吸入多孔海绵移植于同系小鼠肾被膜下, 可形成含有骨髓的小骨, 实现了造血微环境转移, 而用经机械方法分离的 CFU-f 集落细胞进行同样的实验则不能实现这种转移^[26]。这显然是机械分离过程对细胞的某种损伤造成的。利用上述实验模型, 通过电镜观察分析, 进一步研究 CFU-f 及其分化产生的各类细胞的动态变化和结构功能关系, 寻找导致 CFU-f 微环境转移机能丧失的超微结构损伤, 可能是揭示基质放射损伤本质、阐明造血基质微环境重建过程及基质与造血再生关系的重要途径之一。另外, 采用 CFU-f 体外不同剂量照射后输注给经一定剂量照射的同系小鼠的方法, 研究照射剂量与造血微环境重建的关系, 探讨 CFU-f 功能损伤的阈值及该剂量照射后基质细胞的超微结构变化, 对进一步阐明基质细胞在造血损

伤发病与修复中的作用是有益的。

Chertkov 在将 Dexter 骨髓培养体系中的基质细胞层异位转移的研究中发现, 基质祖细胞经 5~6 周培养后即失去成骨的潜能, 但仍保持创造稳定的造血微环境的能力。因此认为, 基质祖细胞至少存在着两个不同的分化水平^[27]。如果基质祖细胞确实存在着分化潜能上的差异, 那么这种差异必然因结构基础不同而在超微结构方面表现出来。因此, 电镜技术很可能成为研究这一课题的重要手段。

人骨髓基质的酶组织化学研究表明, 网状细胞、内皮细胞及破骨细胞呈碱性磷酸酶 (ALP) 反应阳性, 而巨噬细胞呈 α -萘酚醋酸酯酶 (ANAE) 反应阳性^[28]。目前, Bentley、Yoshimine 等已开展了基质细胞免疫电镜^[23]和酶电镜细胞化学^[12]的工作, 使超微结构的研究深入到酶及免疫化学水平。这些新技术的运用, 将使基质细胞超微结构研究在辐射血液学的发展中起到更大作用。

四、结 语

骨髓基质细胞超微结构的研究, 运用先进的电镜手段, 与其它方面的研究相结合, 推动了造血基质微环境及其放射损伤修复研究的发展。虽这方面的研究还不多, 特别是基质细胞超微结构放射损伤与修复的研究尚很薄弱, 但确是辐射血液学的一个重要研究领域。目前看来, 照射后基质细胞超微结构的观察分析, 有助于造血放射损伤修复新的灵敏指标的建立并可为骨髓型放射病的诊治提供有价值的线索和依据。因此, 从超微结构角度深入研究 CFU-f 和各类基质细胞的起源、性质、功能、增殖、分化及相互关系, 探索基质细胞在造血放射损伤及造血重建中的作用, 可能成为辐射血液学研究中迅速发展的重要方面。

参 考 文 献

1. Gordon MY, Brit J Haematol, 53:317, 1983.
2. Bentley SA et al, Exp Hematol, 10:367, 1982.

3. Noordegraaf EM et al; Exp Hematol, 9:326, 1981.
4. Zuckerman KS et al; Blood, 61:540, 1983.
5. Greenberger JS; Biol Phys, 8:312, 1982.
6. Bentley SA et al; Blood, 56:1006, 1980.
7. Bentley SA et al; Exp Hematol, 9:313, 1981.
8. Bentley SA et al; Scan J Haematol, 28: 381, 1982.
9. Фриденштейн АЯ и др. Клеточные Основы Кровотворного Микроокружения, Медицина, М. 1980.
10. Lichtman MA; Exp Hematol, 9:391, 1981.
11. Allen TD; In "Microenvironment in Hemat Lymph Different (Ciba Found Symp 48)" p.38, Pitman Medical, London, 1981.
12. Yoshimine Y et al; 日本临床电子显微镜学会志, 16:646, 1983.
13. Tavassoli M; Exp Hematol, 10:435, 1982.
14. Piersma AH et al; Exp Hematol, 11:884, 1983.
15. Trubowitz S et al; In "The Human Bone Marrow(Trubowitz S et al Eds)", Vol.I, P.43 CRC Press, Florida, USA, 1982,
16. Brockbank GM et al; Acta Haematol, 69:369, 1983.
17. Gordon MY et al; Brit J Hematol, 53: 483, 1983.
18. Patt HM et al; Exp Hematol, 10:738, 1982.
19. Touw I et al; Blood, 61:770, 1983.
20. Hirasawa Y et al; Acta Haematol Jp, 45:730, 1982.
21. Tavassoli M et al; Am J Anat, 164:91, 1982.
22. Cline MJ et al; Nature, 277:177, 1979.
23. Bentley SA et al; Exp Hematol, 11:129, 1983.
24. 于洪臣等; 白求恩医科大学学报, 8(增):213, 1982.
25. Piersma AH et al; Brit J Haematol, 5:4 285, 1983.
26. Friedenstein AJ et al; Exp Hematol, 10: 217, 1982.
27. Chertkov JL et al; Exp Hematol, 11: 231, 1983.
28. Burgio VL et al; Acta Haematol, 71:73, 1984.

尿中铀钍镭钋的测定方法

浙江卫生实验院 陆龙根综述 刘书田* 王功鹏**审

引 言

在核企业和同位素使用单位, 平时尤其是在事故情况下, 放射性核素通过各种环境介质进入人体。进入人体的放射性核素又经呼吸、汗、尿及粪便等途径排出体外⁽¹⁾。因此通过测定生物样品(例如血、毛发和排出物)中放射性核素的排出量可推算出体内放射性核素的体负荷量和体内内照射剂量^(2、3)。

在各种生物样品分析中, 以分析排出物的

**表1 四种放射性核素的生物半排期、
最大允许体负荷和调查水平**

放射性核素	生物半排期 T _b (天)	最大允许体 负荷(μci)	调查水平* (Pci/天)
可溶性天然U	100	0.005 (肾)	
可溶性浓缩 ²³⁴ U		0.05 (肾)	10
不溶性 ²³⁵ U	200	0.03 (骨)	
不溶性 ²³⁸ U	200	0.06 (骨)	
²²⁶ Ra	1.6×10 ⁴	0.1 (骨)	1
²¹⁰ Po	60	0.03 (脾)	4
²³² Th	7.3×10 ⁴	0.04 (骨)	

*北京原子能研究所 **军事医学科学院

* 参考文献见[3,5,6]。