

其中以成纤维细胞为主要群体。

8~12周龄的C57BL/6供体小鼠,分别照射300、500、700或1000rad,照后即刻静脉输注 $10^7$ 个新鲜骨髓细胞。将此供体小鼠的 $5 \times 10^5$ 个股骨骨髓细胞与2ml Dulbecco's MEM(补加20%马血清)混合,接种于35mm平皿中,于5%CO<sub>2</sub>孵箱37℃培育9天后,向培养物中加入适量变性绵羊红细胞,37℃再孵育30分钟。然后,以盐水洗脱,甲醇固定,用Giemsa染色。以单个核的细胞数大于50而且未吞噬红细胞的细胞团计为成纤维细胞集落(CFU-F)。照射剂量在300rad或以上时,CFU-F随X线剂量加大而成比例地明显下降,至照后20周仍未见恢复。

以8ml Fisher's培养基补加 $10^{-6}$ M氢化考的松和20%马血清冲洗出供体小鼠的胫骨骨髓,置组织培养瓶中于5%CO<sub>2</sub>孵箱37℃培育,每周以新鲜培养基替换半量含细胞的培养基。培育3周后,以900rad照射清除其中的CFU-S,然后倒去含非贴壁细胞的全部培养基,换入含 $10^7$ 个骨髓细胞悬液的新鲜培养基。再培育3周后,收集所有细胞,将其制成 $5 \times 10^4$ 个细胞悬液,静脉输注给850rad X线照射的受体小鼠,7天后取脾固定,肉眼计脾结节数。观察结果表明,300rad照射小鼠的骨髓贴壁单层细胞与未照射骨髓无明显差异。照射剂量大于500rad时,贴壁单层细胞维持的CFU-S数随剂量加大而下降。1000rad照射的供体小鼠,其骨髓贴壁单层细胞支持CFU-S的增殖能力低下,约相当于未照射对照组的30%。这种辐射引起的基质细胞功能损伤持续20周以上。

本研究证实,以CFU-F为代表的基质前体细胞对辐射较敏感。供体小鼠用500rad以上剂量照射后,其基质功能随X线剂量的增加而成比例地下降,但却仍能支持CFU-S的生长。Knospe等用肢体局部照射法证明,造血基质比造血干细胞更具辐射耐受性,破坏其功能需2000rad以上的剂量。本观察表明,体内和体外的造血基质,其放射敏感性是不一样的。体内已建立的造血基质有辐射耐受性,是因其细胞动力学的更新率较低之故。而长期骨髓培养物中的贴壁单层细胞,必须从其前体细胞形成,而此前体细胞对辐射则是比较敏感的。

(许廷贵摘 徐承熊校)

#### 041 小鼠NIH3T3细胞辐射损伤的修复及其抑制(川崎祥二,组织培养 10:42,1984(日文))

影响辐射杀伤细胞的因素中,有辐射损伤细胞的修复能力。其中之一是潜在性致死损伤的修复(Potentially lethal damage repair, PLDR),这在

放射治疗中,是必须考虑的重要因素。

此修复,是受照射细胞在所处环境中表现的。如对身体内肿瘤照射时,肿瘤便可出现PLDR。本文从细胞动态及抑制剂的作用方面,报告了照射后PLDR的研究结果。

#### 材料和方法

细胞培养:使用小鼠NIH3T3细胞(下简称3T3)和地鼠HAL细胞(下简称HAL)。3T3在DMEM中加入10%小牛血清传代培养。用低于1%血清培养并不见增殖,几乎所有细胞均停留在G<sub>1</sub>期,此时可视为G<sub>0</sub>期。HAL在DMEM中加10%胎牛血清传代培养。照射:将长满瓶壁的或G<sub>0</sub>期细胞,在室温下照射。抑制剂:用3'-脱氧鸟苷(下简称3-dG)。

结果,每皿植入 $10^5$ 个3T3细胞时,其倍增时间约为18小时,移入后4天则长满瓶壁,第10天仍维持恒定的细胞数。培养后不同时间进行1500rad照射,照射后即刻再植的存活率,随着细胞的增殖而增加;照射后24小时再植者,又进一步增加,长满瓶壁的,PLDR更为显著。其次,3T3照射后4小时便形成高平坦峰,而HAL在照后12小时才出现。可见修复速度是不同的。另外,为了研究细胞周期和PLDR的关系,使G<sub>0</sub>细胞增殖后,在不同时间照射1500rad,计算12小时的存活率。刺激后10小时出现S期细胞,若0~10小时为G<sub>1</sub>期,则G<sub>1</sub>期存活率较高。从G<sub>1</sub>/S来看,存活率逐渐下降。另外也观察到3'-dG对PLDR的影响。使用3'-dG 50μg/ml,24小时内未见毒性,但用100μg/ml时,则有轻微毒性。1500rad照射后,加3'-dG(50μg/ml,100μg/ml),便可抑制各时间点PLDR的出现。

此外,还观察了3'-dG应用的时间和抑制效应间的关系,发现照射后0~12小时3'-dG的抑制效应可随时间延长而逐渐增强,至24小时则大体上保持一定的数值。

讨论:PLDR提出以后,以辐射生物学的意义和辐射治疗的应用方面均进行了各种研究,特别是自从报道了抗辐射的恶性骨肉瘤细胞具有很强的PLDR以来,细胞对辐射的敏感性与PLDR的关系已引起人们的重视,PLDR越强,存活曲线中的D<sub>0</sub>值越大,所需的体内辐射量也越大。现已明确,实体肿瘤照射后,其细胞的存活率随时间的推移而逐渐升高,这从体外照射结果来看,很大可能表示肿瘤中存在着休眠期细胞。处于细胞周期内的细胞,则PLDR能力小,但在细胞周期中的G<sub>0</sub>或G<sub>1</sub>期细胞,可明显表现出最强的PLDR能力。

肿瘤表现出的PLDR, 可给放射治疗带来困难。因此, 使用各种抑制剂, 以抑制肿瘤细胞的PLDR进行辐射致敏的尝试。使用某种抗癌剂或高温, 也能抑制PLDR的出现, 在抑制剂中, 3'-dG毒性小, 而低浓度就能显示出效果。故可预见, 随着抑制剂使用的广泛研究, 对不断阐明PLDR发生机制的今天, 在这一领域中很可能为临床使用开创新的途径。

(许连文摘 刘及 高风鸣审校)

#### 042 放射线影响研究所(RERF)进行的遗传生化学调查——原子弹爆炸的遗传学效应〔佐藤 千代之等; 医学のあゆみ, 129(5):T-113, 1984(日文)〕

为了了解广岛长崎的原子弹爆炸后辐射对遗传的影响, 放射线影响研究所进行了广泛而长期的研究。本文报告了自1976年至1983年遗传生化学的调查结果。

观察对象分为两组:

1. 近爆心受照(调查)组: 父母亲(或一方)在广岛长崎受照射时位于距爆心2000米以内, 在1946年5月以后所生的全部子女, 达12岁时进行检查。双亲所受剂量合计平均为 $\gamma$ 线76拉德, 中子11拉德。

2. 远爆心受照(对照)组: 父母亲(或一方)在广岛长崎原子弹爆炸时位于距爆心2500米以外与第一组同时期所生的子女, 按第一组对象的性别、年龄匹配选出。双亲所受剂量合计在1拉德以下。

对两组人员用ACD抗凝采血, 分离血浆与红细胞。用淀粉凝胶电泳法、聚丙烯酰胺凝胶电泳法及等电聚焦法分析了30种血液蛋白质, 测定其电泳迁移率, 观察有无变异型出现。所检查的蛋白质是: 清蛋白、血浆铜兰蛋白、结合珠蛋白、铁传递蛋白、血红蛋白A<sub>1</sub>与A<sub>2</sub>、酸性磷酸酶、腺苷脱氢酶、腺苷酸脱氢酶、碳酸酐酶I与II、酯酶A、B、D、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、磷酸葡萄糖异构酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、异柠檬酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、核苷磷酸化酶、肽酶A、肽酶B、葡萄糖磷酸变位酶I、II和III、磷酸葡萄糖酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶、磷酸甘油酸激酶。

同时, 还测定红细胞的11种酶的活力及7种酶的热稳定性。

当发现观察对象出现“稀有变异型”时, 对其双亲进行上述全部蛋白质的检查。

作者用蛋白质电泳共检查调查组11534人, 对照组9092人, 发现“稀有变异型”分别为590例及448例, 再通过对他们的双亲进行检查后, 发现大部分属

于遗传变异型, 调查组中突变型只有3例, 而对照组2例。经计算每代每基因位点的突变率分别为 $0.55 \times 10^{-5}$ 及 $0.52 \times 10^{-5}$ , 两组间无显著差异。

而对红细胞酶活力的检查及热稳定性的测定均只检出了少数的遗传变异型, 未发现突变型。

作者认为: 要想判定调查组与对照组的突变率间确实不存在有意义的差别, 还必须将检查的基因数比现在增加1位数, 以便检出更多的变异。关于这种蛋白质水平上的检查, 作者正探索用双向电泳法进行的可能性, 如在DNA水平上检查, 可考虑用对内切限制酶所致片段进行筛选的方法。

(魏康摘 田牛 刘及审校)

#### 043 抑制前列腺素生物合成, 对受照小鼠造血功能的影响〔Склобовская ИЭ и пр.: Радиобиология 24(1):56, 1984(俄文)〕

前列腺素的生物活性非常广泛, 它对cAMP的合成、血小板凝集、脂类代谢、激素分泌都有影响, 因此, 认为它参与辐射损伤的调节作用, 特别对造血的调节作用。已证明它抑制造血的增殖而对CFU-S的分化有刺激作用。在体外培养中, 前列腺素抑制定向造血干细胞的生长。为了阐明前列腺素在造血型放射病综合征中的作用, 作者研究了抑制前列腺素生物合成对受照小鼠造血恢复的作用。

实验使用520只(CBA和C57Bl杂交)F<sub>1</sub>代雄性小鼠, 体重24~26克。一次照射 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线6或7戈瑞(0.117戈瑞/秒), 照后5~10分钟和随后的5天, 每天给小鼠灌胃一次混入1%淀粉凝胶内的各种前列腺素合成抑制剂。部分动物于照后1天静注正常供体小鼠骨髓细胞 $10 \sim 14 \times 10^4$ 。以白细胞数, 骨髓有核细胞总数和CFU-S数来评价照后小鼠造血状态。照后每天给所有实验小鼠用链霉素(60mg/kg)灌胃。为了研究而选用了下列药物: 环氧合酶的抑制剂——消炎痛(6~10mg/kg)和二氯苯胺苯乙酸钠(10mg/kg), 血栓合成酶抑制剂烟酸(10~20mg/kg)。

实验结果。注入 $10 \sim 14 \times 10^4$ 的正常骨髓有核细胞不影响受照小鼠造血的恢复: 如内源性对照组和外源性对照组第9天, 每根股骨的有核细胞数分别为 $3.2 \pm 1.0 \times 10^6$ 和 $3.8 \pm 0.8 \times 10^6$ , 白细胞数分别为 $0.19 \pm 0.02 \times 10^9/\text{升}$ 和 $0.2 \pm 0.02 \times 10^9/\text{升}$ 。给受照小鼠注入前列腺素生物合成抑制剂能减轻放射病极期外周白血细胞的下降和增加骨髓有核细胞数, 接受6戈瑞剂量同时用消炎痛或二氯苯胺苯乙酸钠治疗的小鼠, 在放射病极期(9~15天), 血液白细胞和股骨骨髓有核细胞都高于照射对照小鼠。如第9天时, 消