

# 正常骨髓细胞的分化与 SCE 值<sup>1)</sup>

冯宝章 雷健玲 曹三星<sup>2)</sup>

(中国医学科学院血液学研究所,天津)

有关 SCE 率变化的生物学意义至今仍不明了,尽管有人认为不均等 SCE 可能导致基因的扩增<sup>[1]</sup>,但 SCE 变化是否与细胞的增殖和分化有关,现仍不清楚。总结应用 BrdU-SCE 方法十多年来的工作<sup>[1-12]</sup>,特别是我们自己工作的结果<sup>[1-3]</sup>,我们得出一个印象: SCE 率上升代表细胞的转化<sup>[12]</sup>,而 SCE 率下降则可能代表细胞的分化和成熟。为了进一步证实细胞分化、成熟与 SCE 下降的相关,本文应用 3 种不同剂量的 BrdU 活体注射的方法,观察了小鼠骨髓细胞的 SCE 水平,并结合小鼠脾集落实验和光分解效应进行了研究。

## 材料与 方法

### (一) 实验动物体内 SCE 方法

取本所动物房正常 615 纯系小鼠 30 只,体重 18—22g。共分为 3 组: 第一组 21 只,每只给 BrdU (Sigma 产品) 18mg; 第二组 5 只,每只给 BrdU 9 mg; 第三组 4 只,每只给 BrdU 4.5mg。共分 9 次腹腔注射 BrdU 水溶液 (10 mg/ml),每只分别注射 0.2、0.1 和 0.05ml。

### (二) 骨髓染色体标本的制备

取下小鼠股骨并剪去两端的骨髓,用注射器吸 1ml 2% 的柠檬酸钠溶液将骨髓冲入离心管,加入 0.075M KCl 4ml,37℃ 水浴中低渗 15 分钟。常规气干制片,紫外光照射加 2 × SSC 溶液温育,以显示 SCD。

### (三) 骨髓有核细胞分类与 SCE 值

5 只注射过 18mg BrdU 的小鼠,同一只鼠一侧股骨骨髓制备染色体标本,另一侧作骨髓细胞涂片,瑞氏染色,油镜观察细胞形态,并作有核细胞分类。

### (四) BrdU 标记的骨髓细胞的光分解作用

按时取 BrdU 标记过的小鼠骨髓细胞,用 RPMI 1640 培养液制成细胞悬液 (24 万/ml),分成两组在 37℃ 下培养,分别照光与不照光,每隔 1 小时取骨髓细胞作胎盘蓝染色,计数死、活细胞数。

### (五) 经光分解作用的小鼠骨髓细胞之脾集落形成能力测定

1. 按上述方法将小鼠骨髓细胞标记并作光分解。每隔 15 分钟取骨髓细胞作死、活细胞计数。

2. 昆明种成年小鼠 20 只 (体重 20—25g),分成 4 组,每组 5 只。实验前 2—3 小时用 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  线照射 850 拉德 (致死剂量)。将上述经光分解的细胞悬液由尾静脉注射,每只 0.2ml,约 4.8 万/只。9 天后处死小鼠,取脾,苦味酸甲醛固定,24 小时后计数脾集落数,求每组小鼠中的平均值。

## 结果与 讨论

### (一) 不同 BrdU 剂量与 SCE 率及细胞周期动力学变化

在我们的实验条件下,小鼠骨髓细胞分裂指数为 6.7—6.9%,随机观察 100 个中期分裂相,计算 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub> 和 M<sub>3</sub> 细胞的百分数 (CK 值)。大多数小鼠根据 30 个第二周期细胞的

Feng Baozhang et al.: The Differentiation of Bone Marrow Cells and Their SCE Values

1) 感谢吴旻教授对本文的指导和审阅;感谢本所姜学英、郭志鸿二同志在实验技术上的协助。

2) 山西省肿瘤研究所。

本文于 1984 年 12 月 28 日收到。

表 1 30 只 615 小鼠骨髓细胞 SCE 率和 CK 值

分 组	动物数(只)	BrdU 剂量 (mg/只)	SCE 率 ( $\bar{x} \pm S.D.$ )	CK 值 ( $\bar{x} \pm S.D.$ %)		
				M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
1	21	18	7.02 ± 1.22	31.59 ± 9.81	49.18 ± 14.77	16.45 ± 5.48
2	5	9.0	2.66 ± 0.53	33.20 ± 8.40	66.20 ± 8.72	0.60 ± 0.89
3	4	4.5	1.62 ± 0.44	78.20 ± 16.00	21.60 ± 15.75	0-1

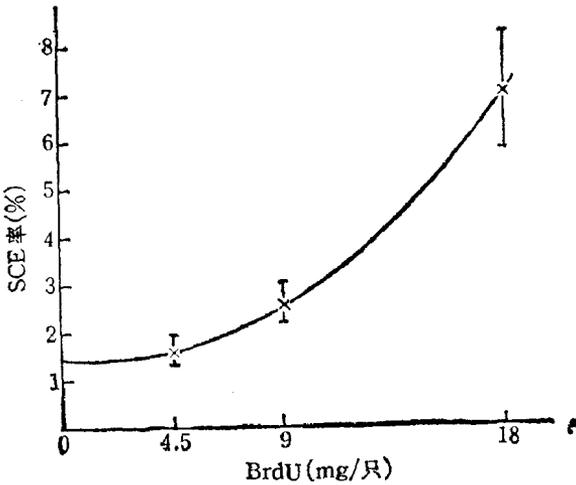


图 1 不同剂量 BrdU 对骨髓细胞 SCE 率的影响

SCE 总数计算其 SCE 值。结果见表 1 和图 1。随着 BrdU 剂量的增加, M<sub>2</sub>、M<sub>3</sub> 细胞百分数明显增加。而 SCE 率的增加呈抛物线式, 明显不同于外周血淋巴细胞<sup>[5,8]</sup>。由于两者对 BrdU 的敏感性不同, 致使不同作者在不同的 BrdU 剂量时获得明显不同的结果, 即骨髓细胞 SCE 率有时高于、有时低于外周血淋巴细胞 (当 BrdU 剂量分别为 30 μg/ml 和小于 10 μg/ml 时), 有时差别不显著<sup>[6,7,9,10]</sup>。

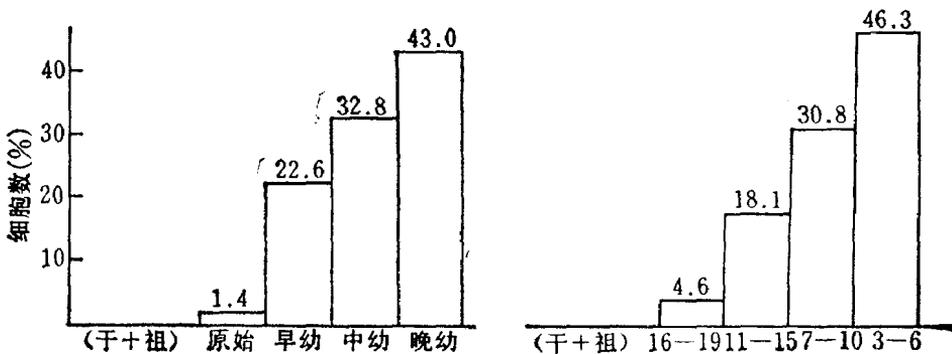


图 2 骨髓幼稚细胞分类与 SCE 分布水平分组

## (二) 骨髓有核细胞分类和不同 SCE 水平

共观察了 5 只小鼠的 2, 200 个骨髓有核细胞, 其中原始细胞+幼稚细胞 437 个, 占 19.8%, 明显少于正常值, 而成熟细胞占 80.2%, 明显高于正常值。表明 BrdU 可能有诱导骨髓细胞分化与成熟的作用。在这 5 只小鼠中, 共观察骨髓 M<sub>2</sub> 细胞 149 个, 按不同 SCE 水平分组的结果见图 2。每组 SCE 水平的细胞数都有一个峰值: “3-6”组峰值为 25, “7-10”组峰值为 15, “11-15”组峰值为 9, “16-19”组峰值为 3, 它们为 SCE 分组提供了相对界限。该 5 只小鼠不同 SCE 水平细胞的分布与上述 30 只小鼠的结果相似。

5 只小鼠骨髓细胞 SCE 分组和幼稚细胞分类的结果经统计学处理, 发现二者间呈非常显著的正相关 ( $r = 0.9761, P < 0.01$ )。表明细胞越原始, 其 SCE 率就越高。反之亦然。

## (三) 经 BrdU 标记的小鼠骨髓细胞光分解作用

BrdU 标记的小鼠骨髓细胞因光分解而死亡的细胞数随光照时间的延长呈指数增加, 而不经光照的细胞在相同条件下的死亡数保持在

一个低水平上。二者差异非常显著。

#### (四) 已标记并经不同时间光分解的细胞的脾集落形成能力

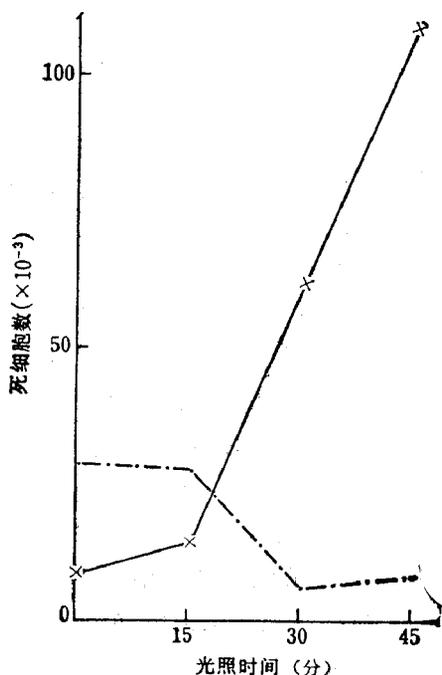


图3 经 BrdU 标记的细胞光分解死亡曲线和相应的脾集落形成曲线

×——×死细胞； ●——●脾集落

光分解 15 分钟后,死亡细胞数呈直线增加(图 3),亦即活细胞数迅速减少。从光照第 15 分钟到第 30 分钟,活细胞数减少了 4.9%,而在

相应时间内脾集落数从平均每只小鼠 28.4 个减少到 6.4 个,减少了 77.5%。而前 15 分钟和后 15 分钟的光照对集落形成影响不大。表明从第 15—30 分钟因光照而死亡的细胞中,3/4 以上是能形成脾集落的造血干细胞。

从骨髓细胞分化、成熟与 SCE 下降的相关表明,骨髓细胞中造血干细胞对 BrdU 具有最高的敏感性和最高的 SCE 值。因此,当 BrdU 掺入 DNA 之后,细胞最易于因光分解作用而死亡。骨髓造血干细胞的这种特性将为我们分离、纯化并移植干细胞提供了可能性。

#### 参 考 文 献

- [1] 冯宝章等: 1981. 遗传, 3(3): 5—7.
- [2] 冯宝章等: 1983. 肿瘤防治研究, 10(4): 234.
- [3] 冯宝章等: 1984. 中华肿瘤杂志, 6(5): 357.
- [4] 侯虞华等: 1983. 中华内科杂志, 22: 401—404.
- [5] 彭光斌等: 1984. 中华医学杂志, 23(2): 65.
- [6] Abe, S. et al.: 1980. *Cancer Res.*, 40: 1292—1299.
- [7] Becher, R. et al.: 1981. *Int. J. Cancer*, 27: 199—204.
- [8] Erexson, G. L. et al.: 1983. *Mut. Res.*, 109: 271—281.
- [9] Heerema, N. A. et al.: 1982. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 6: 323.
- [10] Otter, M. et al.: 1978. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 19: 200.
- [11] Pall, M. L.: 1981. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 2465—2468.
- [12] Popescu, N. et al.: 1981. *Int. J. Cancer*, 28: 71.

(上接第 6 页)

(1983)<sup>[13]</sup>认为这种无功能的  $C_{\mu}$  转录物可能是在 H 链基因族增强子附近的一个假启动子 (pseudopromoter) 在增强子影响下启动转录的。无功能的  $\kappa$  转录物也可能是在增强子影响下由  $C_{\kappa}$  基因片段上游的一个假启动子开始转录的。Weiber 等人 (1983) 提示病毒增强子的核心顺序是 5'-GTGG<sup>AAA</sup><sub>TTT</sub>G-3'<sup>[17]</sup>。同样和类似的顺序也见于 H 链基因族的增强子顺序中: 5'-AAT AAAACCACTA.....CTG<sup>AAA</sup><sub>TTT</sub>TTG AAGAAGTGG

TTTTG AA-3'<sup>[18]</sup>。Ig 增强子除有病毒增强子的一般特性外,尚有组织特异性,它能在淋巴样细胞中起作用,而不能在纤维母细胞中起作用。因此 V/J 和 V/D/J 重排的意义还在于把 v 基因片段 5' 端的启动子置于一个转录增强子作用范围之内,从而激发生产性转录(图 10)。在小鼠 1g $\kappa$  基因族中也已发现有特异性的增强子顺序<sup>[16]</sup>。

(未完待续)