

- (7): 3025.
- [23] Bugler B., 1982, *Eur. H. Biochem.*, 128: 475—480.
- [24] Bruno L., 1987, *P. N. A. S. USA*, 84: 1472—1476.
- [25] Busch H., 1985, *Biochemistry*, 24 (22): 6025—6028.
- [26] Ochs R., 1983, *Exp. Cell Res.*, 146: 139—149.
- [27] Busch H., 1984, *Exp. Cell Res.*, 152(1): 260—265.
- [28] Spector D. L., 1983, *J. Cell Biol.*, 97: 141 a.
- [29] Karel S., 1984, *Exp. Cell Res.*, 152 (1): 195—203.
- [30] Morris G. E., 1985, *J. Cell Sci.* 76: 105.

循环血造血干细胞的性能*

汝 小 美

(军事医学科学院放射医学研究所)

造血干细胞是一类能够自我更新和多向分化的原始细胞群, 主要分布于骨髓, 也有少部分分布于循环血。在造血干细胞研究这一领域, 过去对循环血中造血干细胞的研究较少, 直至七十年代才渐渐活跃起来。为了对造血干细胞群体有一个较全面的了解, 本文就循环血造血干细胞的性能作简要的综述。

循环血中存在着能促进照射动物造血功能恢复的造血干细胞

早在三十年代, 人们就注意到将连体大鼠一侧用铅屏蔽, 另一侧的大鼠便可以耐受致死剂量照射而存活^[1]。以后(1956年), 一些学者又证明, 上述抗辐射损伤的现象是由于屏蔽大鼠继续不断地输送造血细胞给照射侧大鼠, 使后者不致因造血功能受到射线的破坏而死亡^[2,3]。

1956年以后, 人们开始注意到“淋巴样白细胞”(lymphoid leukocyte)的辐射防护作用。Congdon等^[4]观察到给照射动物注入淋巴样白细胞后, 照射动物粒细胞系统的恢复程度与注射骨髓细胞后的结果一样; Smith和Congdon^[5]的工作证明, 致死剂量照射后获得恢复的动物数与输注淋巴样白细胞的数目直接相关;

后来(1961)他们又提出, 淋巴样白细胞实际上是血液和骨髓成份的混合物^[6]。

Popp(1960)^[7]将正常血细胞注射给受照小鼠, 获得血红蛋白标记物的成功植入, 从而证明循环血中存在着能分化发育为成熟红细胞的细胞, 并推测在形态学上归于淋巴细胞或单核细胞的一类细胞可能是干细胞。随后(1962), Goodman和Hodgson^[8]发表了更为详细的研究结果: 把F₁小鼠的外周血细胞输注给受照射的母系或亲缘相近的小鼠, 即(B₆×D₂)F₁小鼠给D₂小鼠, (B×C₃)F₁小鼠给C₃小鼠, 使受体小鼠的存活得到改善; 在长期存活的小鼠的血中可查到供体类型的红细胞和白细胞, 淋巴结、骨髓和脾脏的组织学资料和细胞血清学分类证明注入的外周血细胞已植入, 红细胞和脾脏可摄入⁵⁹Fe, 而对照者不能摄入。

此外, 还有一些作者证明, 免疫系统的一些前体细胞存在于小鼠的循环血中^[6,9]。他们的主要依据是注射外周血细胞后, 宿主出现一系列与GVHD有关的消耗症状或排异反应, 均与免疫细胞有关。在此基础上他们作了一些观察。

1968年Lewis证明输入外周血细胞可在

* 本文承蒙朱王葆、马恩普同志审校, 特此致谢。

照射受体小鼠脾脏上生成脾结节,对长有2—3个结节的254个脾脏作连续切片进行组织学观察,证明外周血和骨髓造血干细胞的分化能力相类似^[10]。

1975年, Micklem用染色体标记技术证明外周血造血干细胞在受体体内可以植入并能促进造血恢复,再次提供了循环血中存在着具有再植入(repopulation)能力的造血干细胞的直接证据^[11]。

大动物实验方面亦不乏证据。早年采用交叉循环(cross circulation)方法证明狗、狒狒外周血中存在着造血干细胞,尤其是雄狗与雌狗交叉循环后体内可检出典型的雌性标志即成熟粒细胞中鼓髓小体^[27]。血细胞分离器的问世,使从外周血收集足够的造血干细胞用于临床治疗成为可能。Fliedner^[28]等给狗输入 $0.32-1.63 \times 10^9$ /公斤体重的血单个核细胞,可使超致死剂量照射狗活存250天以上,骨髓和淋巴组织中可检测到嵌合体。

我们实验室的工作也证明:给照射狗移植新鲜的、4℃保存的和-196℃保存的自体循环血,可使其活存率由0分别提高到4/5、3/5、5/5^[30]。

回顾数十年来的研究结果,可以确信,循环血中存在着造血干细胞,它们具有促进照射动物造血恢复的功能。

循环血造血干细胞的功能特点

与其它来源的造血干细胞相比较,循环血造血干细胞在性能上有相似之处,也有其特点。其功能特点主要是:

一、促进造血恢复的能力较弱

近30年来,许多作者比较了循环血和骨髓造血干细胞在促进照射动物造血恢复方面的能力。例如:

Smith和Congdon(1957)观察到,输入 10×10^6 骨髓细胞或 100×10^6 “淋巴样白细胞”可使受体的红、粒、巨核细胞系统获得相似程度的恢复;输入 100×10^6 “淋巴样白细胞”后受

体的存活情况与输入 2×10^6 骨髓细胞后的情况一样;“淋巴样白细胞”即循环血造血干细胞,相当于骨髓造血干细胞的1/10—1/50^[5]。

Goodman和Hodgson(1962)测定了⁵⁹Fe掺入率以观察红细胞系统的恢复,结果表明 5×10^6 循环血细胞相当于 $62-125 \times 10^6$ 骨髓细胞^[8]。

Lewis等(1968)严格控制了各项实验条件,分4次测试了240只小鼠的再植入能力,证明骨髓的约为循环血的50—150倍^[10]。

Hodgson(1973)的实验结果是:骨髓、正常脾脏和盐酸苯胍(PHZ)处理的小鼠脾脏的CFU-S的自我更新能力基本接近,而盐酸苯胍处理的小鼠循环血中CFU-S的自我更新能力却较低^[12]。

Rosendaal(1979)证明循环血造血干细胞的增殖能力为正常骨髓造血干细胞的1/2—1/4,并发现存在一个亚群,其增殖能力为骨髓造血干细胞的1/8—1/40,且不表达脑相关抗原。

Vos等(1981)观察了不同来源CFU-S对受致死性全身照射的小鼠的造血恢复(hemopoietic restoration)作用,结果是:预防小鼠半数死亡所需的CFU-S数为:胎肝CFU-S 3个,骨髓CFU-S 7—10个,循环血CFU-S 20个^[29]。

上述实验数据波动较大,不尽精确,但反映出共同趋势:循环血造血干细胞重建造血、自我更新的能力较骨髓、胎肝来源的造血干细胞为弱。

对出现这一差别的原因,不同作者各执一词,大体有几种意见。

1. 循环血造血干细胞的数量较少。

2. 不同来源的造血干细胞具有不同的自我更新能力。Micklem^[11]观察到,将外周血细胞输注给第一受体,再将第一受体的脾脏细胞悬液输注给第二受体后生成的脾结节多数较小,肉眼难以观察到;同时他又作了下述实验,给小鼠输入T₀染色体标记(作为区别两类细胞

的标志)的骨髓和外周血的混合物(其中外周血细胞量为骨髓细胞的100倍),然后测试CFU-S含量。到第23天,来自外周血的细胞只占植入的供体细胞的5%,他由此推论,循环血造血干细胞不是造血干细胞群体中的任意部分,而是其中增殖能力低下的亚群,也就是说,在正常循环血中的造血干细胞是克隆衰老的产物。而Gidali^[13]则认为循环血中的造血干细胞是造血干细胞不均一群体中的一个亚群,在分化程度上比较接近定向干细胞。Gidali测定、比较了循环血和骨髓造血干细胞的辐射敏感性、植入率、自杀率,得出了如下参数:

	外周血	骨髓
辐射敏感性(D ₀ 值)	140 R	100 R
S期CFU-S(³ H-TdR自杀率)	25.0—36.3%	2—3%
植入率(f系数)	20.9±3.06	12.9±2.04

他还测定了两者的生长曲线,结果是:灌注后7—11天的倍增时间两者均为21小时,与Micklem^[11]测得的20—21小时接近,但两者对数生长期开始时间不同,循环血的滞后36小时。

3. Vos^[39]比较了循环血CFU-S和骨髓CFU-S的生长曲线,发现二者基本一致;Chertcov^[14]观察到,注入不同来源的细胞后的最初二周内,各种细胞均占30—50%,但到四周时外周血细胞便只有5—10%,四月时则全部消失,而骨髓细胞则呈相反趋势。因此,Chertcov认为,可能循环血造血干细胞的自我更新能力与其它来源的相类似,但由于它的“产生时间”(Generation-time)较长,在实验的短时间内被选择性地替换。Vos^[29]认为,就长期增殖而言,循环血CFU-S的自我更新能力并不差于骨髓CFU-S, Micklem等观察了8天,而且仅观察了S期细胞即CFU-S的子细胞,结论是难以令人信服的。

4. Chertcov分析了脾结节CFU-S的含量,看到无论何种来源造血干细胞形成的脾结节,都有高含量和低含量两种,前者每个脾结节含

200—300个CFU-S,后者仅含0—10个CFU-S。循环血造血干细胞所生成的脾结节多数为低含量的,推论循环血造血干细胞本身也是一个不均一群体,自我更新能力弱的相对比例较高^[14]。

5. 循环血造血干细胞具有不同的移植适应性。造血干细胞在植入适当的造血微环境后,要经过一个适应和再改造的过程才能增殖分化。循环血造血干细胞移植到受体体内后,可能需要一个较长的适应过程^[15]。Chertcov^[14]观察到胎龄15—17天的胎鼠循环血CFU-S自我更新能力与胎肝的相似,似也提示微环境因素的存在。

二、循环血造血干细胞的表面抗原

Monette和Stokel^[16]比较了兔抗鼠脑血清(RAMBS)对外周血、脾脏和骨髓CFU-S的作用特点,结果表明,骨髓和脾脏CFU-S与RAMBS作用后数量明显减少,分别活存11%和14%。与此相反,循环血CFU-S却较少受RAMBS影响,作用后活存76%;将RAMBS浓度逐渐稀释,骨髓CFU-S活存率提高,而循环血CFU-S不受RAMBS浓度的影响。循环血CFU-S不表达脑相关抗原(干细胞抗原)。鉴于已有许多工作证明造血细胞在从多能干细胞向定向祖细胞分化的过程中逐步丧失脑相关抗原的表达^[17],有理由认为循环血CFU-S是干细胞群体中已经历了一定程度分化的亚群。

Rosendaal观察到^[18],溶血性贫血时血中干细胞是增多的,此时有两种免疫学特点不同的细胞群体存在,一种是RAMBS阴性的,另一种则是RAMBS阳性的,RAMBS阴性的细胞群自我更新能力较差,提示正常情况下存在于外周血中的CFU-S是RAMBS阴性的,而在应激条件下受外界刺激后释放的CFU-S是RAMBS阳性的。RAMBS阴性的代表较接近定向干细胞的部分。

三、对免疫功能的重建能力

Appelbaum^[19]、Deisseroth^[20]等工作指出,循环血造血干细胞移植可使受体免疫功能

较早地重建。

Kenneth^[21]曾报道一例 ADA (Adenosine Deaminase) 缺乏的严重联合免疫缺陷患者, 输注红细胞后血清 IgG 浓度恢复正常, 但 T 细胞功能未获改善。输注用血细胞分离术获得的患儿父亲的外周血单个核细胞 ($5 \times 10^7/\text{kg}$) 3 周后, 淋巴细胞数、E-玫瑰花结阳性细胞、单个核白细胞中 ADA 含量恢复正常, 对 diphtheria 免疫的反应、自然获得的单纯疱疹感染的反应也达到正常。作者据此推测循环血中存在着淋巴系前体细胞。

Prümmer^[22]等将 8 条 Beagle 狗随机分成 2 组, 按 $0.9 \times 10^5 \text{GM-CFUc}/\text{kg}$ 体重分别移植冻存的自身骨髓和外周血, 然后连续观察 101 天, 移植外周血组的淋巴细胞总数、T 淋巴细胞数、B 淋巴细胞数、血清 IgM、IgA 水平、ConA 和美洲商陆分裂原刺激的体外淋巴细胞转化、体外浆细胞形成都较移植骨髓组恢复更快, 进一步支持循环血造血干细胞移植能更快地使受体免疫功能恢复。对此, 作者的解释是: 1. 输入外周血时可输入更多数量的成熟淋巴细胞; 2. 多能造血干细胞可以启动淋巴细胞生成; 3. 由于移植外周血的受体细胞生成也较移植骨髓的受体更快, 推测外周血中每 CFU-GM 中所含多能造血干细胞数量多; 4. 外周血多能造血干细胞能更有效地在淋巴、造血器官中植入; 5. 大量 T 辅助细胞可能加快造血干细胞和祖细胞重建造血、淋巴系统的速度。

小 结

1. 循环血中存在着造血干细胞, 这类细胞是造血干细胞群中较接近定向干细胞的亚群, 且数量较少, 这类细胞具有促进照射动物造血恢复的能力, 具有自我更新和多向分化的能力, 但自我更新能力较弱。

2. 这类细胞在重建免疫功能方面显示出较大潜力, 这方面的工作将会引起人们的很大兴趣。

3. 循环血造血干细胞的植入率高。鉴于有些作者对这项观察方法的意义尚持异议, 据此得出结论宜慎重。

循环血造血干细胞的性能研究方面还有许多悬而未决的问题, 对此进行探索将有助于整个造血干细胞理论研究和循环血造血干细胞移植研究的发展。

参 考 文 献

- [1] Woenckhaus, E., 1930, *Arch. J. Exp. Path. & Pharm.*, 150: 182—197.
- [2] Ford, C. E. et al., 1956, *Nature*, 4: 424—434.
- [3] Makinoland, W. et al., 1956, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 92: 174—179.
- [4] Congdon, C. C. et al., 1956, *Radiat. Res.*, 4: 424—434.
- [5] Smith, L. H. and C. C. Congdon., 1957, *Archives of Pathology*, 63: 502—507.
- [6] Smith, L. H. and C. C. Congdon., 1961, *Lab. Invest.*, 10: 617—626.
- [7] Popp, R. A., 1960, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 104: 722—724.
- [8] Goodman, J. W. and G. S. Hodgson., 1962, *Blood*, 19: 702—714.
- [9] Cole, L. J. et al., 1959, *Plastic & Reconstructive Surg. & the Transpl. Bull.*, 23: 429—432.
- [10] Lewis, J. P. et al., 1968, *J. Cell. Physiol.*, 71: 121—128.
- [11] Micklem, H. S. et al., 1975, *Nature*, 256: 41—43.
- [12] Hodgson, G. S., 1973, *Cell. Tissue Kinet.*, 6: 199—204.
- [13] Gidali, J. et al., 1974, *Blood*, 43: 573—580.
- [14] Chertcov, J. L. et al., 1982, *Exp. Hemat.*, 10: 90—97.
- [15] 吴祖泽等, 1980, *中国科学*, 12: 1228—1236.
- [16] Monette, F. C. and J. B. Stockel., 1980, *Exp. Hemat.*, 8: 89—95;
- [17] Golub, E. S., 1972, *J. Exp. Med.*, 136: 369—374.
- [18] Rosendaal, M., 1977, *Nature*, 265: 147—148.
- [19] Appelbaum, F. R., 1979, *Exp. Hemat.*, 7 (Suppl) 5: 7—11.
- [20] Deisseroth, A. and R. A. Abrams., 1979,

- Cancer Treatment Reports*, 63: 461—471.
- [21] Kenneth, C. R. et al., 1980, *J. Clin. Invest.*, 66: 389—395.
- [22] Prümmer, O. et al., 1985, *Exp. Hemat.*, 13: 891—898.
- [23] Trobaugh, E. E. et al., 1964, *J. Clin. Invest.*, 43: 1306—1311.
- [24] Abrams, R. A. et al., 1980, *Blood*, 56: 516—520.
- [25] Kenneth, B. et al., 1971, *Science*, 171: 293.
- [26] Neuwirt, 1984, In *Recent Advances in Haematology, Immunology and Blood Transfusion*. ed. by Hollan, S. R., pp. 127—132.
- [27] Epstein R. B. et al., 1966, *Blood*, 28: 692—707.
- [28] Fliedner, T. M. et al., 1975, In *Leucocyte: Separation, Collection and Transfusion*. ed. by Goldman, J. M., pp. 271—275. Academic Press, London.
- [29] Vos, O. et al., 1981, *Blut*, 43: 33—40.
- [30] 马恩普等, 1986, *中华放射医学与防护杂志*, 6: 145—149.

植物激素与基因表达

刘 愚

(中国科学院上海植物生理研究所)

30年代植物激素研究发展很快, 领先于动物激素的研究。但是最近20多年来人们对动物激素及其作用机理了解的进展都超过了植物激素。60年代发现“快速反应”, 使得许多研究者致力探讨生长素控制植物细胞扩大的直接作用, 削弱了对基因表达调节的研究方向。结果整个70年代植物激素作用机理的研究处于徘徊状态。随着分子生物学的崛起, 在动物激素分子生物学研究成果的冲击下, 70年代末、80年代初终于意识到基因表达同样是植物激素作用的重要位点。几年来事实证明运用分子生物学理论和技术同样有力地推动了植物激素的研究, 在调节基因表达方面取得了很大的进展。

一、GA(赤霉素)控制的 α -淀粉酶合成

1. GA诱导 α -淀粉酶mRNA的形成
GA控制的 α -淀粉酶合成是激素对基因表达作用的研究中最早和最多的一个系统。麦粒吸水膨胀, 胚中合成GA扩散到胚乳四周的糊粉

层。糊粉层细胞在GA作用下合成 α -淀粉酶(及其它水解酶类), 分泌到胚乳使淀粉等水解, 供给种子萌发所需的能量和物质。当去掉胚时, 无胚种子失去GA来源, 糊粉层细胞便不会产生 α -淀粉酶, 不能水解胚乳的淀粉。如果外源加入GA, 糊粉层细胞中酶重新合成和分泌。Varner和Jacobsen两个实验室的经典工作证明^[1,2], GA促进 α -淀粉酶生成与可翻译的mRNA水平变化一致。GA诱导的 α -淀粉酶生成的时间曲线在无胚种子和分离的糊粉层细胞体外试验中是一样的。Muthukrishan等^[3](1983)从大麦分离得到的 α -淀粉酶mRNA制备cDNA克隆作为探针与糊粉层RNA杂交证明: 加入GA 1小时后糊粉层细胞中淀粉酶mRNA开始积累, 持续几小时后很快下降。说明糊粉层细胞中没有贮藏的 α -淀粉酶mRNA, 它是在GA诱导下重新合成的。

2. 同功酶 α -淀粉酶具有许多同功酶, 根据它们在凝胶电泳中的表现、对pH的稳定性、免疫性以及Ca⁺⁺的需要等至少可分为两大类群^[4]。运用各种同功酶cDNA克隆探针检出