

肌细胞,收缩力增强,节律规则,并且细胞内糖原颗粒增多,琥珀酸脱氢酶活性增强,乳酸脱氢酶的活性能够降低。

总之,外源ATP-MgCl₂对培养的心肌细胞,尤其是对缺氧的心肌细胞,有抑制糖酵解,保存糖原,起良好的供能、保护、营养作用。

参 考 文 献

[1] Chaudry I.H. and Baus., 1977, *A M. J Physiol*, 83: 655.

- [2] 平泽博元等。1979。日外会誌,80:164。
 [3] 五岛喜与太。1978。Protein Nucleic Acid and Enzyme, 12:1283—1285。
 [4] 熊绪奋编著。1979。组织学标本制作技术, 328—329。
 [5] 陈啸梅,周文郁等。1982年。组织化学手册, 224。人民卫生出版社出版。
 [6] Glynn IM, 1968, *Brit. Med. Bull* 24:169。
 [7] 添田耕司ほか。1983。日外会誌, 83:1343。
 [8] Hirasawa, H et al., 1978; *Surgery* 83:655。
 [9] 大川昌權 ほか。1981。日外会誌, 82(2) 149—159。

不同刺激因子对狗骨髓CFU-C的影响

荆明新 李盈祺 谢宝春

(军事医学科学院放射医学研究所)

集落刺激因子(CSF)是集落形成单位(CFU-C)体外培养中的一个必不可少的条件,对培养结果的好坏起着决定性的作用。在狗的骨髓细胞培养中,同种异体血清是目前普遍采用的一种CSF,但由于制备方法不同,其刺激活力可有显著差别。为了确定狗血清刺激活力的适宜条件,我们对几种不同的CSF进行了研究。

材 料 和 方 法

一、CSF的制备

1. 狗血清 选成年狗,分别于照射前1天和照射后1、7、11、18、21、25、30天采静脉血10 ml,分离血清,置-20℃冷冻保存。照射条件为钴-60γ线3.0戈瑞全身照射。

2. 含红细胞血清 选成年狗,按上述条件进行照射,照射后11—18天,在静脉麻醉下股动脉放血,离心分离血清,将其分成若干份,分别加入一定量的沉淀红细胞,各份血清中红细胞含量分别为100、1550、4100、6950、21900个/mm³,置-20℃冷冻保存。

3. 肌、肺浸出液 选成年狗,取臀部肌肉和肺组织,按人胚胎肌浸液和肺浸液的漂洗方法^[1]进行处理,然后置38℃浸泡7天,取上清,-20℃保存。

二、CFU-C培养

狗骨髓细胞的CFU-C体外琼脂培养方法另见报道^[2]。本实验的培养体系由以下成份组成:1640培养液8.7 ml,马血清5.8 ml,骨髓细胞悬液0.5—1.0 ml(每毫升培养物内含10⁵个有核细胞),3%琼脂1.2 ml(琼脂最终浓度为1.3%),每个培养皿内加入0.4 ml CSF和1.0 ml培养混合物。置38℃培养7天。

结 果 和 讨 论

一、正常狗之间的血清CSF活力差异

实验结果表明,正常狗的造血功能可因个体不同而异,这种差别不仅表现为骨髓有核细胞总数和CFU-C产率的不同,而且也表现为血清CSF活力的不同。如表1所示,通过CFU-

表 1 正常狗血清CSF活力比较

狗号	CFU-C 10 ⁵					
	1	2	3	4	平均值	标准误
67	24	28	30	27	27.3	1.2
68	1	1	2	2	1.5	0.2
84	16	18	16	20	17.5	1.0
88	22	18	17	20	19.3	1.1
0	6	7	5	6	6.0	0.8

表2 30天存活狗照射后不同时间CSF活力的变化

狗号	CFU-C/10 ⁵								
	0	1	7	11	18	21	25	30 (照后天数)	
48	3.8±0.6	3.3±0.8	13.3±1.6	15.3±2.9	9.0±1.1	6.5±1.0	5.3±0.9	5.3±1.0	*
53	14.8±1.6	15.3±2.3	47.0±4.0	42.5±3.9	41.8±3.7	27.0±1.7	27.0±1.7	12.3±1.4	
67	26.0±2.9	20.0±3.5	19.5±1.9	22.5±1.9	24.6±0.7	15.0±1.1	12.5±1.6	11.3±1.2	

• 平均值±标准误

C产率可以反映出5只正常狗的血清CSF活力确有显著差异。了解这一点,有助于选择基础水平较高的狗用作CSF的制备。

二、照射后不同时间狗血清CSF活力的变化

有人报道,在照射后的一定时期内,某些动物血清中CSF活力显著增强;850伦照射小鼠血清CSF水平开始上升的时间大约和菌血症出现的时间一致,活力最强时间为照后6—9天^[3]。在狗的CFU-C体外培养中,一般用照射后8—10天的血清作为CSF^[4,5]。我们的观察表明,受3.0戈瑞照射的3只狗的血清CSF活力均从照后7天上升(图1),其中30天活存的1只和另外2只照射条件与其不同也活存30天的,都从照后18—21天以后,CSF活力迅速下降(表2)。这几只狗的血清CSF活力开始上升时,其白细胞总数正在大幅度下降(降至照射前的17—28%)。一旦白细胞有回升趋势,CSF活力则陡然下降。CSF活力开始上升的时间多在体温上升出现之前;在体温已上升时,此活力依然存在。

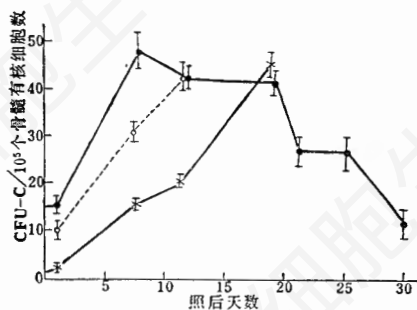


图1 照后不同时间血清CSF活力变化
图中曲线分别为3只狗的血清CSF活力变化过程

照射后血清CSF水平为何能够升高? Marley等认为,在电离辐射作用下,动物的肠道和骨髓遭到破坏,直接和间接地导致了菌血症、内毒素血症,此时革兰氏阴性菌及其内毒素代谢产物对于升高CSF水平起着重要作用。同时,由于骨髓造血功能的抑制,机体对CSF的灭活作用也有所减弱^[3]。Thomas等的研究支持这种“细菌-内毒素”学说。他们给正常狗进行无菌化处理后,发现血清CSF水平有所下降,但当停止无菌措施,同时给狗注射革兰氏阴性菌种后,第3天即观察到CSF水平提高了145%^[6]。在我们的实验中,3.0戈瑞照射狗血清CSF活力最强的时间在照后第7—18天,此期恰好与这些狗的急性放射病极期大致相同。这进一步说明了极期的菌血症及内毒素血症与血清CSF水平的升高关系至为密切。

在照射狗血清CSF活力的测定过程中,我们观察到,如果血清中带有自身红细胞,则对CFU-C生长有利,而且在一定的范围内,CFU-C产率可随红细胞含量的增加而提高;但红细胞过多时,则抑制CFU-C的生长(表3)。在4次定性实验的基础上,我们又做了一次定量实验,结果表明,血清中红细胞的适量含量为4100—6950/mm³(图2)。上述实验说明,红细胞可使CSF活力增强。其作用机理尚不清楚。Bradley等在小鼠骨髓细胞的培养体系内分别加入一定量的大鼠、豚鼠、绵羊以及人的洗涤红细胞后,均看到了CFU-C产率明显提高。上述结果中,作者排除了免疫学的因素,而着眼于红细胞本身的营养物质等化学因素^[7]。我们认为,红细胞破碎后释放出的某些物质如

表 3 狗血清中的红细胞含量对 CFU-C 产率的影响

实验批次	CFU-C/10 ⁵			
	-	+	++	+++▲
1	12.7±2.6	32.0±2.0	41.0±6.0	
2	2.8±1.1	27.8±5.6	30.8±3.8	
3	...	77.5±9.4	100.7±1.5	
4		101.0±2.6	123.7±3.4	91.7±4.1

▲—无红细胞 +++大量红细胞

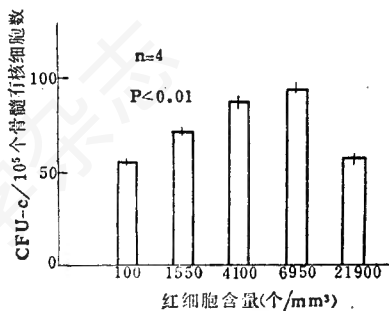


图 2 狗血清中红细胞含量对 CFU-C 产率的影响

血红蛋白等,可能对 CFU-C 的生长具有一定的刺激作用和营养作用。

三、血清、肌浸液和肺浸液的 CSF 活力比较

在人的 CFU-C 体外培养中,肌浸液被证实是一种活力较强的 CSF⁽¹⁾。在狗的 CFU-C 培养中,我们对 3 只不同时期狗的研究结果表明(表 4),正常狗和恢复期狗,血清 CSF 活力

低于肌浸液的 CSF 活力($P < 0.01$),但在极期狗,两者几无差别($P > 0.05$)。与血清和肌浸液相比,肺浸液的 CSF 活力始终较低。鉴于血清分离较为简便,花费时间较少,故在有照射源的条件下,以选择极期狗血清为宜。

表 4 不同来源的 CSF 对 CFU-C 产率的影响

	CFU-C/10 ⁵			P 值
	血清	肌肉	肺	
正常狗	13.0±2.04	40.8±1.9	10.3±0.8	<0.01
极期狗	69.7±2.6	70.7±3.4	43.8±0.2	>0.05
恢复期狗	55.6±2.4	87.3±0.8	...	<0.01

注:表内数字均为 4 个样品的平均数±标准误

参 考 文 献

- [1] 葛忠良等。1982。《全国骨髓移植和造血干细胞会议》,北京。
- [2] 荆明新等。1984。《军事医学科学院院刊》2: 235—238。
- [3] Morley A et al: 1972, *Pro Soc Exp Biol Med* 140: 478—484。
- [4] Nothdurft W et al: 1982, *Radiat Res* 89(1) 38—51。
- [5] Kovacs P et al: 1976, *Acta Haemat* 56: 107—115。
- [6] Thomas JM et al: 1978, *Exp Hemat* 6(8): 639—647。
- [7] Bradley TR et al: 1983, *Blood* 38:353—359。

欢迎订阅《作物学报》

《作物学报》是由中国农业科学院作物育种栽培研究所主办。中国作物学会编委会编辑的学术性刊物。本刊贯彻党的科技工作路线,执行党的“双百”方针。开展国内外学术交流。

《作物学报》主要刊登农作物遗传育种、作物生理、耕作栽培技术、品种资源等方面的学术论文、专题研究报告、国内外研究进展评述、研究简报、学术活动简讯、以及新方法、新技术的研究成果等。读者对象是从事农业科学的科研工作者、大专院校师生,以及具同等水平的专业干部。

本刊为季刊,16开本,每期72页。定价0.95元。全国各地邮局办理订阅。代号6—50。国外发行由中国国际图书贸易总公司(北京2820信箱)承办。国外代号Q445。