

## The influence of DNA repair ability on GPA mutation frequency and it's detection

NIU Jin-liang

(Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

**Abstract** The prominent disadvantage of using GPA mutation frequency as biodosimeter and cancer risk predictor is the significant individual differences. DNA damage and repair ability is one of determinants influencing the individual differences in GPA mutation frequency. With the improvement of current protocols for molecular biology, the measurement of detecting DNA damage and repair ability has been made, such as neutral filter elute, single-cell gelelectrophoresis, graded-voltage gel electrophoresis, which make it feasible to modify the individual difference in GPA mutation frequency with DNA damage and repair.

**Key words** glycophorin A; gene mutation frequency; DNA damage; DNA repair; individual differences

文章编号: 1001-098X(2001)06-0282-03

## 骨髓基质细胞及其辐射残留损伤

林治栋

(中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所, 天津 300192)

**摘要:** 骨髓微环境特别是基质细胞对骨髓的造血起着重要的调控和支持作用。基质细胞与细胞外基质协同作用, 并通过分泌众多细胞因子和表达多种粘附因子形成了一个调控造血细胞增殖和分化的网络体系。基质细胞以其较大的辐射抗性对造血系统辐射残留损伤的恢复发挥重要的作用。

**关键词:** 骨髓基质细胞; 细胞外基质; 辐射残留损伤; 生长因子

中图分类号: Q345.21 文献标识码: A

造血微环境对于骨髓干细胞的增殖和分化起着至关重要的作用,而骨髓基质细胞是构成骨髓微环境的重要组成部分,因此其一直是造血调控研究的热点。在疾病的放射治疗过程中,不可避免地会对骨髓造血系统特别是基质细胞造成残留损伤,基质细胞因具有支持和促进造血干祖细胞增殖和分化的功能,近年来有许多文献进行了报道,但对其残留损伤的研究仍然比较少,而其机制的研究对于放疗后遗症和放射病的防治均有巨大理论和实际意义。

### 1 骨髓基质细胞为造血干细胞提供了增殖和分化的造血微环境

造血微环境是维持机体造血过程所必需的,根据现有的研究表明,它是一个由多种基质细胞群落相互作用而形成的复杂的网络<sup>[1]</sup>,基质为支持和调节生物体造血细胞提供了一个定居、增殖、分化和发育的微环境。Chute JP等<sup>[2]</sup>报道,在适宜浓度的粒巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白介素-3(IL-3)、IL-6、干细胞因子(SCF)、Flt-3配体的存在下,人CD34细胞与猪微血管内皮细胞(porcine microvascular endothelial cells, PMV ECs)共同培养7d,总CD34和CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>亚系的数量分别增长了8.4和67倍,粒巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM)和CFU-Mix分别增长了28.2倍和8.7倍,红系爆式集落形成单位(burst-forming unit-erythroid,

收稿日期: 2000-04-05

作者简介: 林治栋(1975-),男,辽宁沈阳人,中国医学科学院、中国协和医科大学放射医学研究所硕士研究生,主要从事造血微环境研究。

审校者: 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 杨凤桐  
中国医学科学院中国协和医科大学血液学研究所 齐淑铃

BFU-E)增长了4.0倍;与PMVECs共同培养组,44%的CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>亚系处于细胞周期的G<sub>1</sub>期,51%处于G<sub>2</sub>S M期;更加显著的是,与PMVECs共同培养7d后,53%的CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>细胞处于G<sub>1</sub>期,17%处于G<sub>2</sub>S M期;与之对照的是,7d后在没有PMVECs的培养体系里,22%的CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>亚系处于G<sub>1</sub>期,6%处于G<sub>2</sub>S M期。这些结果说明,构成造血微环境的猪微血管内皮细胞促进原始的CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>细胞亚系的增殖和进入细胞周期。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)与发育过程中的造血祖细胞的迁移,增殖,定型及代谢也有着极其密切的联系。造血干祖细胞表达的细胞粘附分子与ECM中和基质细胞上相应的配体形成“配体-整合蛋白细胞骨架跨膜系统”,从而影响造血细胞的形态,调控基因表达,控制细胞的分化,决定细胞的运动。1992年,Simmons P<sup>[1]</sup>报道小鼠b系细胞和人类CD34<sup>+</sup>祖细胞都表达能与基质细胞表面血管内皮细胞粘附因子(vascular endothelial cell adhesion molecular, VCAM-1)相结合的整合素,整合素的抗体可以阻断CD34<sup>+</sup>细胞与基质细胞的结合,抑制淋巴细胞的形成过程,延迟骨髓造血。

体内造血过程都依赖于基质细胞。淋巴细胞和髓样细胞通过分化梯度不间断地从造血多能干细胞分化过来。在这个分化过程中,干细胞池却仍然维持恒定,这表明造血干细胞不断从造血微环境基质细胞得到信号调节,维持自身的更新和分化。许多实验证明,在骨髓细胞长期培养的条件下,基质细胞通过细胞间相互作用对造血祖细胞进行调控。Koller MR等<sup>[3]</sup>报道,只有CD34<sup>+</sup>Lin<sup>-</sup>细胞直接与经过预照射的基质细胞(irradiated preformed stroma, IPFS)相接触时,IPFS对于长期培养起始细胞(long-term culture-initiating cell, LTC-IC)的支持能力才表现出来。许多实验也表明,基质细胞和CD34<sup>+</sup>Lin<sup>-</sup>的直接接触对已知的几种生长因子的水平没有产生影响,其中包括GM-CSF、IL- $\beta$ 、IL-3、IL-6、IL-11等。这些结果说明,两种细胞的直接接触可以引发可溶性活性,并特异性地增加LTC-IC的生成,促进造血细胞的增殖。不成熟的祖细胞与基质细胞紧密相连,而成熟的祖细胞往往不与基质细胞相连。基质细胞层可以用来特异地选择骨髓中的未成熟细胞。骨髓的内分泌环境也可以被看作是一个细胞因子构成的网络,任何细胞因子浓度的不稳定都可引起另一种或几种细胞因子浓度的变化,并

促使整个系统达到稳定状态,基质细胞和造血主质细胞通过它们所分泌的细胞因子参与了调节过程。基质细胞可组成性地分泌大量的细胞因子,包括GM-CSF<sup>[4]</sup>、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、单核细胞集落刺激因子(M-CSF)、白血病抑制因子(LIF)、IL- $\beta$ 、IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)和血小板生长因子 $\beta$ (TGF $\beta$ )等,而且基质细胞在外界环境的刺激下也可分泌其他类型的细胞因子,例如脂多糖(LPS)、IL-6、IL-7和上皮生长因子(EGF)等,它们可刺激高水平表达IL-6、IL- $\beta$ 、GM-CSF、G-CSF。其中,IL-11对于造血细胞早期分化十分重要<sup>[5]</sup>,与IL-6非常相似,它可促进多种造血干细胞的分化。

## 2 基质细胞辐射残留损伤

由于基质细胞在造血过程中的重要地位,关于其急性辐射损伤已进行了大量的研究。但是,对基质细胞辐射残留损伤的报道较少。Grande T等<sup>[6]</sup>报道,用7Gy X射线对1和12周龄小鼠一次性全身照射,一年后观察它们的股骨和基质细胞残留损伤情况,结果两组小鼠股骨细胞数都低于对照组,受照成年小鼠的造血祖细胞的数量有明显的降低,CFU-S的自我更新能力更受到了严重的损害(为对照的14%);但受照1周龄小鼠股骨造血祖细胞数正常,CFU-S的自我更新能力受到严重损害也很明显(对照的50%)。Grande T的实验数据还说明,尽管受照的1周龄小鼠股骨造血祖细胞数正常,辐射对基质细胞的造血支持能力所造成的长期损害不仅在成鼠受照后明显,在幼鼠受照中也很明显。但CFU-S自我更新能力的降低并不是由基质细胞的损伤所导致的,相反基质细胞可刺激少数存活的造血祖细胞的自我增生能力及促使大多数原始祖细胞与自身的结合。还有文献报道,以4次共15Gy X射线(时间间隔为3周)照射,或4次每次1.5Gy照射都可导致CFU-S自我更新能力的降低。

1996年, Jacobsen K等<sup>[7]</sup>首次报道了辐射对骨髓基质细胞粘附分子VCAM-1及其配体VLA-4表达的影响:经9.5Gy $\gamma$ 射线一次性全身照射的小鼠网状细胞VCAM-1的表达明显;VCAM-1网状细胞在整个细胞表面均有VCAM-1的表达,并与多系VLA-4的造血细胞直接接触。

辐射残留损伤还可导致基质细胞分泌的细胞因子增加。Grande T等<sup>[8]</sup>报道,将8日和12周龄的小

鼠进行单次 7Gy X射线照射后 1年,进行骨髓细胞长期培养,培养第四周后成鼠受照组仅形成  $(5.1 \pm 0.1) \times 10^6$  基质贴壁细胞,而 8日龄小鼠受照组形成  $(7.6 \pm 0.5) \times 10^6$  基质贴壁细胞,正常 14月龄未照射对照小鼠形成  $(8.3 \pm 0.9) \times 10^6$  基质贴壁细胞;检验培养上清的集落刺激活性 (colony-stimulating activity, CSA),正常对照小鼠只释放极少量的 GM-CSF,而受照的两个实验组的上清可刺激大量粒巨噬祖细胞生长;为了证明 CFU-GM 的生长是由 GM-CSF 的分泌造成的,用 GM-CSF 的阻抗血清进行了血清中和实验,结果没有集落形成,证明了受照小鼠可产生过量的 GM-CSF 对长期培养的骨髓细胞进行外照射也可导致 GM-CSF 增加,说明为了代偿由辐射导致的造血残留损伤,骨髓微环境的调节机制被激活了,致使调节造血的细胞因子分泌增加。然而这一离体培养的实验结果与前述 Grande T 的整体实验中受照动物造血功能的下调结果不一致,这是否意味着辐射残留损伤动物体内有某种未知的抑制机制存在,而在离体培养时由于脱离了这种抑制机制的束缚,GM-CSF 得以过度表达,这值得进一步研究。

造血微环境中的基质细胞对于由放疗导致的造血系统障碍的恢复起着十分重要的作用,它可以通过生长因子分泌的增加,粘附因子表达的上调等诸多方面来刺激造血祖细胞的恢复和增殖。尽管在分子水平研究基质细胞辐射残留损伤还不完善,但其在临床实践中却有广泛的应用前景,因此有必要加强在这方面的研究。

参考文献:

[1] Long MW, Wicke M. The hematopoietic microenviron-

ment[M]. Baltimore: Johns Hopkins university Press, 1993. 158-234.

- [2] Chute JP, Saini AA, Kampen RL. A comparative study of the cell cycle status and primitive cell adhesion molecule profile of human CD34<sup>+</sup> cells cultured in stroma-free versus porcine microvascular endothelial cell cultures[J]. *Exp Hematol*, 1999, 27(2): 370-379.
- [3] Koller MR, Oxender M, Jensen TC. Direct contact between CD34<sup>+</sup> lin<sup>-</sup> cells and stroma induces a soluble activity that specifically increases primitive hematopoietic cell production [J]. *Exp Hematol*, 1999, 27(4): 734-741.
- [4] Yamada M, Suzu S, Tanaka-Douazono M, et al. Effect of cytokines on the proliferation /differentiation of stroma-initiating cells [J]. *J Cell Physiol*, 2000, 184(3): 3511-3515.
- [5] Keil F, Chen X. Effect of interleukin-3, stem cell factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on committed stem cells, long-term cells initiating cells and bone marrow stroma in a one-step long-term marrow culture [J]. *Ann Hematol*, 2000, 79(5): 243-248.
- [6] Grande T, Bueren JA. Involvement of the bone marrow stroma in the residual hematopoietic damage induced by irradiation of adult and young mice [J], *Exp Hematol*, 1994, 22: 1283-1287.
- [7] Jacobsen K, Kravitz J, Kincade PW, et al. Adhesion receptors on bone marrow stromal cells: in vivo expression of vascular cell adhesion molecule-1 by reticular cells and sinusoidal endothelium in normal and gamma-irradiated mice [J]. *Blood*, 1996, 87(1): 73-82.
- [8] Grande T, Gaïtan S. Residual hematopoietic damage in adult and 8 day-old mice exposed to 7Gy of X-rays [J]. *Int J Radiat Biol*, 1993, 63(1): 59-67.

## Current development in the study of the bone marrow stroma cell and its radiation residual damage

LIN Zhi-dong

(Institute of Radiation Medicine, China Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

**Abstract** A great supportive and regulatory role has been played by the bone marrow microenvironment, esp. its component, stroma cells. Bone marrow stroma cells function cooperating with their surrounding ECM form a complex network regulating differentiation and proliferation of hematopoietic progenitor cells. The radiation resistance exhibited by stroma cells is critical for the recovery of hematopoietic progenitor cells from residual damage.

**Key words** bone marrow stroma cell; microenvironment; residual damage; cytokine