

# 低剂量辐射对人骨髓间充质干细胞影响的研究

杨岩 王娟 王冠军

**【摘要】目的** 探讨低剂量辐射(LDR)对人骨髓间充质干细胞(hBM-MSC)生物学特性的影响。**方法** 应用体外培养传代的第四代 hBM-MSC, 采用 X 射线照射, 照射剂量分别为 50 mGy、75 mGy、100 mGy, 剂量率为 12.5 mGy/min, 分别观察 LDR 后 hBM-MSC 生长曲线、细胞周期与凋亡的变化及细胞因子、干细胞因子(SCF)、白细胞介素 6(IL-6)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)表达量的变化。**结果** LDR 后, hBM-MSC 从 72 h 起生长明显加快; LDR 照射 hBM-MSC 后, 在  $G_0/G_1$  期百分率逐渐减少, S 期百分率在照射后 48 h、72 h 逐渐明显增多, 以 75 mGy 照射后 72 h 的 S 期百分率增多最明显, 为 68.88%, 而细胞凋亡的变化结果是 LDR 后在 24 h、48 h 有增多趋势, 照射后 72 h, 凋亡细胞百分率有减少趋势; LDR 照射 hBM-MSC 后 24 h、48 h SCF 分泌量均有升高趋势; 50 mGy、75 mGy、100 mGy X 射线照射 hBM-MSC 后在培养的 24 h、48 h, IL-6 分泌量均有升高趋势; LDR 照射 hBM-MSC 后, 除 50 mGy 照射后 72 h 外, M-CSF 分泌量在不同剂量照射后 24 h、48 h、72 h 均持续升高。**结论** LDR 后 hBM-MSC 从生长曲线、细胞周期与凋亡的变化及细胞因子表达量的变化均表现出兴奋性效应。

**【关键词】** 剂量效应关系, 辐射; 细胞周期; 细胞凋亡; 造血细胞生长因子; 骨髓间充质干细胞

## Study on human mesenchymal stem cells from bone marrow pretreated with low dose radiation

YANG Yan<sup>1</sup>, WANG Juan<sup>2</sup>, WANG Guan-jun<sup>1</sup>

(1. Department of Hematology, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Department of Oncology, Jilin Province Hospital, Changchun 130021, China)

**【Abstract】 Objective** To study effects of human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSC) from bone marrow pretreated with low dose radiation(LDR). **Methods** The cells were the hBM-MSC. They were exposed to X rays at the dose of 50 mGy, 75 mGy, 100 mGy (dose rate 12.5 mGy/min). The growth curve, cell cycle and apoptosis of hBM-MSC treated by LDR were investigated. The content changes of stem cell factor(SCF), interleukin-6(IL-6), macrophage colony stimulating factor(M-CSF) secreted by hBM-MSC after treated by LDR were determined by enzyme linked immunosorbent assay method. **Results** The growth rates of hBM-MSC treated by LDR obviously increase from 72 h. The cell cycle and apoptosis were examined with FORTRAN Atomic Checkout System. The results show that the  $G_0/G_1$  stage cells decrease after exposure to LDR, the percent of  $G_0/G_1$  stage cells of 75 mGy at 72 h is the lowest(30.86%). However, the S stage cells percentage gradually increase at 48 h and 72 h. The most one is 75 mGy group at 72 h, which reaches to 68.88%. The apoptosis percentages have increased tendency at 24 h and 48h in all dose groups, especially in 100 mGy at 24 h(25.99%), while have decreased tendency at 72 h and the most decreased group is the 50 mGy(6.8%), transient enhancement of apoptosis in the early stage and soon being decreased. The contents of SCF have increased tendency at 24 h, 48 h. As for IL-6, the contents in different dose groups at 24 h and 48 h have up-regulation. These groups, 50 mGy at 24 h, 48 h, 75 mGy at 24 h, 48 h, 100 mGy at 24 h have statistical difference compared with their control groups respectively. The content of IL-6 has greatest enhancement at dose of 50 mGy. The contents of M-CSF in all the groups at 24 h, 48 h and 72 h except for the 50 mGy dose at 72 h have also been found increased. The greatest increased content occur in the 75 mGy dose group at 72 h. **Conclusion** This conclusion show that LDR has hormesis effect on hBM-MSC in cell growth, cell cycle and content of hematopoietic factors.

**【Key words】** Dose-response relationship, radiation; Cell cycle; Apoptosis; Hematopoietic cell growth factors; Bone marrow mesenchymal stem cells

基金项目: 长春市科技计划项目(04-07SF081)

作者单位: 1. 130021 长春, 吉林大学第一医院血液肿瘤科(杨岩, 王冠军); 2. 130021 长春, 吉林省人民医院肿瘤科(王娟)

通讯作者: 杨岩(E-mail: yangyan6333@163.com)

关于低剂量辐射(low dose radition, LDR)对造血系统的影响,目前国内外报道极少。文献报告,采用体外液体单层和半固体培养方法研究小鼠骨髓基质祖细胞对LDR的效应,发现50 mGy、75 mGy X射线照射后小鼠骨髓成纤维细胞集落形成单位明显增加,小鼠骨髓成纤维细胞集落形成单位基质层对粒细胞单核细胞集落形成单位的支持作用明显增加,证实LDR对小鼠骨髓基质祖细胞具有兴奋性效应<sup>[1]</sup>。本实验室前期研究<sup>[2]</sup>采用X射线对小鼠进行LDR,甲基纤维素半固体培养造血祖细胞,酶联免疫吸附测定法检测血清中粒-巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素3水平,杂交法检测粒-巨噬细胞集落刺激因子、粒-巨噬细胞集落刺激因子和白细胞介素3 mRNA表达水平,结果发现受照后小鼠粒-巨噬细胞集落形成单位、红系爆式集落形成单位数量明显增多,血清中粒-巨噬细胞集落刺激因子水平升高,粒-巨噬细胞集落刺激因子、粒细胞集落刺激因子的转录本升高,以75 mGy照射组升高作用最明显,表明LDR对造血祖细胞增殖有显著的兴奋性效应,而且这种兴奋性效应与造血刺激因子升高有关。本研究将进一步探讨LDR对人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBM-MSC)的生物学特性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

台盼蓝:美国Sigma公司产品;hBM-MSC为本实验室传代培养的细胞;深部X线发生机:贵阳医疗器械厂,贵S-5U型,电压200 kV,电流10 mA,滤板为0.5 mm Cu+1.0 mm Al,照射靶距离212 cm;干细胞因子(stem cell factor, SCF)、白细胞介素6(interleukin, IL-6)、巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)酶联免疫吸附测定法试剂盒均为美国Biosource产品。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细胞生长曲线绘制

取传代第四代生长良好的hBM-MSC,以 $5 \times 10^3$ /孔接种于24孔板,待细胞贴壁后用X射线照射一次,剂量分别为50 mGy、75 mGy和100 mGy,剂量率为12.5 mGy/min。实验共设4组:50 mGy组、75 mGy组、100 mGy组和相应的对照组(假照射组),每组15孔,假照射组培养5 d,每2 d换

新鲜培养液。采用台盼蓝染色法测定细胞计数,测定结果以培养时间为横轴,细胞数为纵轴,在坐标纸上绘制细胞生长曲线。

#### 1.2.2 辐射后hBM-MSC在各细胞周期的变化及细胞凋亡的测定

取传代生长良好的第四代hBM-MSC,每瓶约 $1 \times 10^6$ 细胞,待细胞贴壁后2 d用X射线照射一次,总剂量分别为50 mGy、75 mGy和100 mGy,剂量率为12.5 mGy/min。设实验组和对照组。分别于照射后24 h、48 h和72 h收集细胞,磷酸缓冲液洗2次,用70%冷乙醇固定,4℃保存。进行流式细胞仪检测前用磷酸缓冲液洗2次,分别加入RNaseA至终浓度为50 mg/L,碘化丙锭终浓度为50 mg/L,37℃下孵育30 min,分析hBM-MSC在细胞周期各时相变化及凋亡率。

#### 1.2.3 SCF、IL-6、M-CSF表达量的测定

取第五代传代生长良好的hBM-MSC,以 $5 \times 10^3$ /孔接种于24孔板,待细胞贴壁后用X射线照射一次,总剂量为50 mGy、75 mGy和100 mGy,剂量率为12.5 mGy/min。照射后继续培养,于24 h、48 h和72 h分别吸取上清,分别按SCF、IL-6、M-CSF试剂盒操作说明书检测。

### 1.3 统计学方法

用SPSS10.0统计软件对所得数据进行配对t检验分析, $P < 0.05$ 者为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LDR对hBM-MSC生长的影响

采用台盼蓝染色后细胞计数法测定对照组及不同剂量照射组第四代hBM-MSC培养不同时间的细胞数,结果见图1。

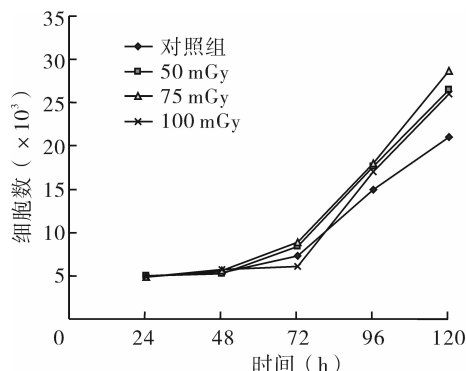


图1 细胞计数法测定对照组及不同剂量照射组hBM-MSC生长曲线

从图 1 中看出：LDR 后 BM-MSC 培养 72 h、96 h 仅 75 mGy 组与同一时间对照组相比生长加速， $t=5.63, t=5.19, P<0.05$ ，而培养的 120 h 各照射组与同一时间对照组比较，生长明显加速， $t=8.14, t=5.83, t=6.13, P<0.05$ ；其他各组与同时间对照组比较，差异无显著性。分析 LDR 后 BM-MSC 生长曲线的变化，表明 LDR 对 BM-MSC 有兴奋性效应，表现为照射后 MSC 生长加速。

### 2.2 LDR 对 hBM-MSC 细胞周期及细胞凋亡的影响

50 mGy 照射后，hBM-MSC 在不同细胞周期的变化及细胞凋亡率的结果见表 1。

表 1 50 mGy 照射后 hBM-MSC 在不同细胞周期的变化及凋亡率(%,  $\bar{x}\pm s$ )

	hBM-MSC			凋亡率
	G <sub>0</sub> -G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> -M 期	S 期	
24h 对照组	88.12±3.90	3.94±0.12	9.96±0.05	10.38±0.91
照射后 24h 组	77.02±6.80	21.06±3.91	1.92±0.06	13.37±1.09
48h 对照组	82.48±4.60	8.84±0.33	8.67±0.06	12.03±1.01
照射后 48h 组	63.33±3.61	22.12±1.31	14.58±1.41	10.11±1.06
72h 对照组	62.68±2.92	9.14±0.80	28.33±1.92	32.75±2.40
照射后 72h 组	56.28±3.81	12.75±0.98	30.97±4.70	6.80±0.05

75 mGy 照射后，hBM-MSC 在不同细胞周期的变化及细胞凋亡率的结果见表 2。

表 2 75 mGy 照射后 hBM-MSC 在各细胞周期的变化及凋亡率(%,  $\bar{x}\pm s$ )

	hBM-MSC			凋亡率
	G <sub>0</sub> -G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> -M 期	S 期	
24h 对照组	81.97±6.90	1.88±0.02	16.15±1.21	8.07±0.09
照射后 24h 组	78.20±7.82	10.59±0.03	11.21±1.42	13.84±1.02
48h 对照组	78.27±6.12	20.83±4.92	0.89±0.09	10.25±1.20
照射后 48h 组	50.54±5.91	6.64±5.81	42.82±1.41	17.49±2.50
72h 对照组	66.63±4.92	12.48±1.93	20.89±1.90	6.22±0.81
照射后 72h 组	30.86±7.81	0.27±0.05	68.88±9.42	5.45±0.62

100 mGy 照射后，hBM-MSC 在不同细胞周期的变化及细胞凋亡率的结果见表 3。

从表 1、表 2、表 3 中看出：50 mGy、75 mGy、100 mGy 照射后，hBM-MSC 在 G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> 期百分率逐渐减少，以照射后 72 h 下降最低，与同一时间对照组相比，50 mGy 在 48 h ( $t=8.02$ )、75 mGy 在 48 h 和 72 h ( $t=7.89, t=9.49$ )、100 mGy 在 48 h ( $t=4.31$ )，差别有显著性 ( $P<0.05$ )，其中 75 mGy 照射后 72 h，G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> 期 hBM-MSC 百分率降至最低，为 30.86%；50 mGy 照射 (最低剂量照射) 时 G<sub>2</sub>-M 期 hBM-MSC

表 3 100 mGy 照射后 hBM-MSC 在各细胞周期的变化及凋亡率(%,  $\bar{x}\pm s$ )

	hBM-MSC			凋亡率
	G <sub>0</sub> -G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> -M 期	S 期	
24 h 对照组	84.54±12.91	4.44±0.07	11.02±0.99	5.53±1.21
照射后 24 h 组	77.78±10.89	0.10±0.01	22.22±1.28	25.99±2.91
48 h 对照组	80.14±10.67	19.19±0.09	0.67±0.10	35.71±1.93
照射后 48 h 组	54.85±9.62	8.00±1.21	37.14±3.29	6.27±1.61
72 h 对照组	67.06±6.92	32.7±6.92	0.24±0.07	15.09±1.78
照射后 72 h 组	53.90±2.11	2.65±1.09	43.46±1.26	16.49±2.10

百分率增多，以照射后 48 h 增多最明显，75 mGy 照射时 G<sub>2</sub>-M 期 hBM-MSC 百分率在 24 h 增多，48 h、72 h 减少，而 100 mGy 照射时 G<sub>2</sub>-M 期 hBM-MSC 百分率逐渐减少；S 期 hBM-MSC 百分率在照射后 48 h、72 h 逐渐明显增多，以 75 mGy 照射后 72 h，S 期 hBM-MSC 百分率增多最明显，为 68.88%，75 mGy 在 48 h ( $t=7.69$ )、72 h ( $t=12.22$ )，100 mGy 在 24 h ( $t=16.95$ )、48 h ( $t=27.14$ )、72 h ( $t=83.89$ ) 与同一时间对照组相比，均  $P<0.05$ ，仅 50 mGy、75 mGy 在照射后 24 h S 期 hBM-MSC 百分率有减少，与同一时间对照组相比，差别无显著性。凋亡的变化：50 mGy、75 mGy、100 mGy 照射后在 24 h、48 h 有增多趋势，以 100 mGy 照射后 24 h 凋亡最多，为 25.99%，与同一时间对照组相比，具有显著性差别 ( $t=28.69, P<0.05$ )；照射后 72 h，细胞凋亡有减少趋势，以 50 mGy 照射后 72 h 细胞凋亡最低，为 6.8%，与同一时间的对照组相比，具有显著性差别 ( $t=26.48, P<0.05$ )。分析各细胞周期及细胞凋亡的变化表明：LDR 作用于 hBM-MSC 后，细胞由 G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> 期进入 S 期增多，DNA 合成增多，细胞早期有一过性凋亡增多，但 72 h 后凋亡即减少，以 75 mGy 照射组作用最明显。这进一步证明了 LDR 对 hBM-MSC 有兴奋性效应。

### 2.3 LDR 对 hBM-MSC 的细胞因子 SCF、IL-6、M-CSF 分泌量的影响

#### 2.3.1 LDR 对 hBM-MSC SCF 分泌量的影响

不同剂量照射 hBM-MSC 后培养不同时间对 SCF 分泌量的变化结果见表 4。

从表 4 看出：50 mGy、75 mGy、100 mGy X 射线照射 hBM-MSC 后 24 h、48 h SCF 分泌量均有升高趋势，但与同一时间对照组相比，除 75 mGy 照射后 48 h 外，差别均无显著性；50 mGy、75 mGy、100 mGy X 射线照射 hBM-MSC 在 72 h 表达的 SCF

**表 4** 不同剂量照射 hBM-MSC 后 SCF 分泌量的变化  
(pg/ml,  $\bar{x}\pm s$ )

	50 mGy	75 mGy	100 mGy
24 h 对照组	5.49±0.26	5.49±0.26	5.49±0.26
照射后 24 h 组	5.69±0.31	5.81±0.32	5.75±0.36
48 h 对照组	6.28±0.46	6.28±0.46	6.28±0.46
照射后 48 h 组	6.62±0.41	6.92±0.26	6.42±0.35
72 h 对照组	7.91±0.59	7.91±0.59	7.91±0.59
照射后 72 h 组	7.78±0.40	7.73±0.43	7.68±0.30

分泌量有下降趋势。分析 LDR 对 hBM-MSC SCF 表达量的变化, 表明 LDR 作用于 hBM-MSC 后, 在一定时间内 SCF 分泌量增多。

### 2.3.2 LDR 对 hBM-MSC IL-6 分泌量的影响

不同剂量照射 hBM-MSC 后培养不同时间对 IL-6 分泌量的影响结果见表 5。

**表 5** 不同剂量照射 hBM-MSC 后 IL-6 分泌量的变化  
(pg/ml,  $\bar{x}\pm s$ )

	50 mGy	75 mGy	100 mGy
24 h 对照组	337.6±11.6	337.6±11.6	337.6±11.6
照射后 24 h 组	385.3±20.6	362.9±16.9	364.4±16.5
48 h 对照组	461.13±19.8	461.13±19.8	461.13±19.8
照射后 48 h 组	504.76±16.4	498.16±17.2	471.62±16.9
72 h 对照组	466.87±20.2	466.87±20.2	466.87±20.2
照射后 72 h 组	440.09±16.6	459.87±13.1	442.61±11.9

从表 5 中可以看出: 与同一时间对照组相比, 50 mGy 照射组在 24 h ( $t=4.94$ ) 和 48 h ( $t=4.16$ )、75 mGy 照射组在 24 h ( $t=3.02$ ) 和 48 h ( $t=3.45$ )、100 mGy 照射组在 24 h ( $t=3.26$ ), 均  $P<0.05$ , 差别有显著性, 以 50 mGy 照射时 IL-6 分泌量升高最明显; 不同剂量照射后 72 h, IL-6 分泌量有下降, 但与同一时间对照组相比, 差别无显著性。分析 LDR 作用于 hBM-MSC 后 IL-6 表达量的变化, 表明 LDR 作用于 hBM-MSC 后的一定时间 (48 h) 内 IL-6 分泌量增多, 以 50 mGy 照射组增多最明显。

### 2.3.3 LDR 对 hBM-MSC M-CSF 分泌量的影响

不同剂量照射 hBM-MSC 后不同时间对 M-CSF 分泌量的影响结果见表 6。

从表 6 中看出: 50 mGy、75 mGy、100 mGy 照射 hBM-MSC 后, 除 50 mGy、72 h 外, M-CSF 分泌量在培养的 24 h、48 h、72 h 均升高; 在 24 h (50 mGy 时  $t=6.14$ , 75 mGy 时  $t=12.84$ , 100 mGy 时  $t=6.84$ )、48 h (50 mGy 时  $t=6.44$ , 75 mGy 时  $t=9.99$ , 100 mGy 时  $t=9.05$ ) 各照射剂量组与同一时间对照

**表 6** 不同剂量照射 hBM-MSC 后 M-CSF 分泌量的变化  
(pg/ml,  $\bar{x}\pm s$ )

	50 mGy	75 mGy	100 mGy
24 h 对照组	313.2±10.3	313.2±10.3	313.2±10.3
照射后 24 h 组	368.7±19.6	423.3±18.3	375.5±21.0
48 h 对照组	379.7±11.2	379.7±11.2	379.7±11.2
照射后 48 h 组	423.4±12.3	462.7±17.0	442.6±12.8
72 h 对照组	409.5±29.9	409.5±29.9	409.5±29.9
照射后 72 h 组	375.2±12.9	482.3±20.8	438.3±12.6

组相比, 均  $P<0.05$ , 差别有显著性; 75 mGy 照射 hBM-MSC 后从 24 h 至 72 h M-CSF 分泌量逐渐升高, 且 72 h 时升高最明显。分析 LDR 作用于 hBM-MSC 后 M-CSF 表达量的变化, 表明 LDR 作用于 hBM-MSC 后的一定时间内 M-CSF 分泌量增多, 以 75 mGy 照射组作用最明显。

## 3 讨论

LDR 的研究主要集中在免疫系统, 对造血系统的研究极少, 目前国内仅能查到数篇文献<sup>[1-3]</sup>。初步的研究发现, LDR 对造血系统有兴奋性效应, 表现为 LDR 后小鼠粒-巨噬细胞集落形成单位、红系爆式集落形成单位数量明显增多, 血清中粒-巨噬细胞集落刺激因子水平升高, 粒-巨噬细胞集落刺激因子、粒细胞集落刺激因子转录本升高。BM-MSC 可以分化成为造血微环境中的多种细胞, 是构成造血微环境的重要成分, 还可以分泌多种造血生长因子及细胞外基质, 如黏附分子, 作用于造血干细胞和 (或) 祖细胞, 促进调节造血干细胞和 (或) 祖细胞的成熟、分化<sup>[4-6]</sup>。因此, 从 hBM-MSC 的角度研究 LDR 对造血系统的影响, 可以进一步证明 LDR 对造血系统的兴奋性效应, 阐明兴奋性效应的机制。

本实验首先研究了 LDR 对 hBM-MSC 生长的影响, 结果证实: MSC 细胞周期检测已证实第五代 hBM-MSC 生长融合达 90% 以上,  $G_0-G_1$  期 hBM-MSC 占 90.03%,  $S+G_2+M$  期占 9.9%, 说明绝大多数 hBM-MSC 处于静止期, 保持自我更新和增殖潜能, 少部分处于功能态, 这符合干细胞的特性<sup>[7]</sup>。

LDR 后对免疫细胞凋亡的研究在国内外有大量文献报道。刘树铮<sup>[8]</sup>综述了近年来文献资料, 表明 5 mGy 和 75 mGy 照射后免疫细胞凋亡数有一过性增加, 但 12 h 后降至对照以下, 即 12 h 后细



胞凋亡明显减少,与大剂量照射不同;通过这种凋亡的变化,可以使辐射损伤 DNA 未修复的细胞被及时清除,从而减少细胞的转化和恶变。其发生机制与相应的基因调控有密切关系,如 p53、bcl-2、Bax、Bad 等。

本研究应用流式细胞仪进一步动态观察了 LDR 后 BM-MSC 细胞周期各时相及凋亡的变化规律,结果表明:不同剂量照射 MSC 后,  $G_0$ - $G_1$  期细胞凋亡逐渐减少,照射后 72 h 降至最低点,其中以 75 mGy 照射后 72 h 的  $G_0$ - $G_1$  期细胞凋亡下降最明显,降为 30.86%, 50 mGy 照射后早期 (24 h、48 h),  $G_2$ -M 期细胞凋亡增多,照射剂量增大、照射后培养时间延长,  $G_2$ -M 期细胞凋亡则有下降趋势;而 S 期细胞凋亡在照射后 24 h、48 h、72 h 逐渐明显增多,其中以 75 mGy 照射后 72 h S 期细胞凋亡增多最明显,为 68.88%;不同剂量照射后早期 (24 h、48 h), hBM-MSC 凋亡有一过性增多,但 72 h 后有下降趋势。

分析 LDR 后细胞周期与凋亡的变化,进一步证明了 LDR 对 hBM-MSC 有兴奋性效应,表现为 LDR 后 hBM-MSC 由  $G_0$ - $G_1$  期进入 S 期增多, DNA 合成增多,早期一过性凋亡增多,但 72 h 后凋亡减少,迅速清除辐射损伤未能修复的细胞。凋亡是受基因控制的程序性主动死亡,而凋亡基因的调控十分复杂,有待于进一步实验来研究凋亡相关基因及其蛋白分子的一系列变化。

为进一步从分子水平探讨 LDR 的兴奋性效应,我们对 hBM-MSC 分泌的细胞因子进行检测。BM-MSC 表达多种支持、促进造血的生长因子,文献报道, BM-MSC 无需诱导可表达 IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、IL-12、IL-14、IL-15、M-CSF、fms 样酪氨酸激酶 3 配基、SCF 等;由 IL-1 诱导还可以产生粒细胞集落刺激因子、粒-巨噬细胞集落刺激因子<sup>[4,5]</sup>。其中,与造血密切相关的有 SCF、IL-6、IL-11、M-CSF 等,故本研究在体外选用酶联免疫吸附测定法检测 LDR 后 hBM-MSC 分泌的 SCF、IL-6、M-CSF 变化,从分子水平定量观察 3 个不同剂量照射后在 24 h、48 h、72 h 的分泌量。与对照组比较,发现了 3 个不同剂量照射后培养 24 h、48 h, SCF 和

IL-6 表达量均有不同程度的增加,以 50 mGy 照射后 IL-6 分泌量增多最明显;3 个不同剂量照射后培养 24 h、48 h、72 h, M-CSF 分泌量持续增多 (除 50 mGy、72 h 外),以 75 mGy 照射后 M-CSF 分泌量增多最明显。分析 LDR 作用于 hBM-MSC 后这 3 种细胞因子表达量的变化证实, LDR 在照射后的一定时间内对 hBM-MSC 有兴奋性效应,表现为 IL-6、M-CSF 分泌量增多,主要以 50 mGy 照射后对 IL-6 兴奋性效应最强,75 mGy 照射后对 M-CSF 兴奋性效应最强。这是 LDR 对造血系统产生兴奋性效应分子机制之一。

总结本实验结果表明: LDR 后对 hBM-MSC 有兴奋性效应,表现为细胞生长加速, S 期细胞明显增多,细胞由静止期迅速进入增殖期,照射后早期一过性凋亡增多,但很快 (72 h 后) 凋亡减少,在一定时间内造血生长因子表达量增多。

#### 参 考 文 献

- [1] 马淑梅,刘晓冬,姚远,等.小鼠骨髓基质祖细胞低剂量辐射效应研究[J].辐射研究与辐射工艺学报,1999,17(4):245-247.
- [2] 王冠军,谭业辉,张福明,等.低剂量辐射对造血系统兴奋效应的研究[J].中华血液学杂志,2001,22(5):232-234.
- [3] 蔡伟波,邹正辉,裘建民,等.低剂量辅助对脐血细胞因子表达的影响[J].辐射研究与辐射工艺学报,2003,21(2):154-156.
- [4] Dormady SP, Bashayan O, Dougherty R, et al. Immortalized multipotential mesenchymal cells and the hematopoietic microenvironment[J]. J Hematother Stem Cell Res, 2001,10(1):125-140.
- [5] Chaudhary LR, Spelsberg TC, Riggs BL. Production of various cytokines by normal human osteoblast-like cells in response to interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor-alpha: lack of regulation by 17 beta-estradiol[J]. Endocrinology, 1992, 130(5): 2528-2534.
- [6] Zannettino AC, Bühring HJ, Niutta S, et al. The sialomucin CD164 (MGC-24v) is an adhesive glycoprotein expressed by human hematopoietic progenitors and bone marrow stromal cells that serves as a potent negative regulator of hematopoiesis[J]. Blood, 1998, 92(8): 2613-2628.
- [7] 杨岩,王娟,陈晓,等.成人骨髓间充质干细胞的体外培养及生物学特性[J].吉林大学学报(医学版),2005,31(2):259-260,267.
- [8] 刘树铮.低剂量辐射兴奋效应发生机制若干问题的探讨[J].中华放射医学与防护杂志,2003,23(6):393-398.

(收稿日期:2007-09-23)