DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.07.031

^{60}Co-γ照射后小鼠早期骨髓造血基质细胞的增殖指数及细胞凋亡的变化

Changes of cell proliferation index and apoptosis of bone marrow stromal cells after ^{60}Co-γ radiation in mice

陈兆珍* 李才安 (第三军医大学基础医学部中心实验室)重庆,400038
陈幸华 罗成基 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所)重庆,400038

提 要 目的:观察^{60}Co-γ照射后小鼠早期骨髓造血基质细胞的增殖指数及细胞凋亡的变化。方法:^{60}Co-γ照射后,用流式细胞仪测定细胞的细胞周期,得出凋亡细胞数和细胞增殖指数。结果:①照射后细胞增殖指数明显降低,随着放射损伤后时间的推移,增殖指数虽有所回升,但不明显。②照射后凋亡细胞数明显升高,而随着放射损伤后时间的推移,凋亡细胞数虽有所下降,但仍明显高于对照组。结论:提示骨髓造血基质细胞对辐射有较高的敏感性,并且细胞损伤后持续时间较长,恢复较慢。

造血基质细胞是造血微循环的重要组成部分,关于造血基质细胞的辐射敏感性问题各家说法不一[1,2]。探讨辐射对骨髓造血基质细胞的影响,有助于阐明因意外核辐射或临床放射治疗导致的造血功能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

本校动物所提供的昆明株健康小白鼠,共60只,雄性,体重25~30 g。随机分为两组。①放射损伤组(R):30只小鼠,用^{60}Co-γ照射5.0 Gy,距离4 m,照射率1.27 Gy/min。②正常对照组(N):30只小鼠。

1.2 样品处理

取放射损伤后3 d和7 d的骨髓造血基质细胞进行细胞周期测定。样品组和对照组细胞均制成单细胞悬液,每份样品细胞计数为1×10^6,用70%冷乙醇固定,4℃冰箱保存。测定之前用PBS洗涤两次去乙醇。加RNA酶(5 mg/ml)37℃消化30 min后,用冰浴终止酶的作用。用碘化丙啶(PI)染色,4℃冰箱30 min。上机前用200目尼龙网过滤。

1.3 流式细胞仪测定

用美国BD公司生产的FACStar^{plus}流式细胞仪,HP9000-340型计算机。用鸡红细胞调仪器状态至最佳。每份样品收集10 000个细胞。用LYSYS-Ⅱ软件收集细胞,用CellFIT软件和LYSYS-Ⅱ软件分析并计算出细胞各期及凋亡细胞的百分比。

2 结果

2.1 放射损伤后骨髓基质细胞的增殖指数的变化

样品组细胞的增殖指数明显低于对照组,随着放射损伤后时间的推移增殖指数虽有所回升,但仍明显低于对照组。

2.2 放射损伤后骨髓基质细胞的细胞凋亡的变化

样品组凋亡细胞数明显高于对照组,随着放射损伤后时间推移凋亡细胞数虽有所下降,但仍明显高于对照组,见表1。

表1 5.0 Gy照射后骨髓基质细胞的细胞增殖和细胞凋亡的变化($\bar{x}\pm s$)

分组	样品数	照射天数	细胞增殖指数	细胞凋亡数比例(%)
N	30		31.7±1.25	2.9±0.32
R	15	3	18.6±0.87*	11.3±0.85**
	15	7	21.9±1.41*	6.1±1.23**

*:$P<0.05$,**:$P<0.01$ 与N组比较

3 讨论

细胞的DNA合成和有丝分裂期,即细胞周期的S期和G_2+M期是细胞增殖的两个重要指标,这两个之和称为增殖指数。而增殖指数的大小则表示细胞增殖水平的高低。从本实验可以发现5.0 Gy照射后,小鼠骨髓基质细胞的增殖指数明显低于正常对照组。说明辐射对S期细胞和G_2+M期细胞有杀伤和抑制作用[3],也抑制了G_0+G_1期细胞进入S期,从而降低了整个细胞的增殖水平。随着照射时间的延长,增殖指数虽有所恢复,但仍然显著低于正常对照组,表明细胞受损后较难恢复。

细胞凋亡是细胞内程序活化而致的细胞自杀,与细胞坏死不同。正常生理情况下也有细胞凋亡发生。而大剂量(0.5 Gy以上)辐射则可以明显诱导细胞凋亡的发生[4]。在本实验条件下,照射后细胞凋亡细胞数明显高于正常对照组。随着照射时间的延长,细胞凋亡数虽有所降低,但仍明显高于正常对照组。从整个结果看,凋亡细胞发生多,增殖指数就下降,反之亦然。这从理论上讲也是合理的,辐射使得细胞进入增殖周期的

* 陈兆珍,男,42岁,实验师,大专

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

总量减少，而凋亡细胞却增多。致使细胞的增殖指数下降，抑制了细胞的生长。本实验就辐射对骨髓造血基质细胞影响进行了初步的探讨，为今后进一步研究不同剂量和照射后不同时间对骨髓造血基质细胞增殖和凋亡的影响打下了基础。并为阐明射线损伤造血功能的机制提供了一定的实验资料。

关键词 骨髓基质细胞；放射损伤；细胞增殖；细胞凋亡
中图法分类号 R818.74

参考文献

1 Simmons P J, Gronthos S, Ohta S, *et al*. Human bone marrow stromal cell precursors: identification and developmental potential. Bone Marrow Transplant, 1995, 15(1): S3
2 陈家佩，刘秀英. 骨髓基质细胞的辐射效应及临床意义. 中国应用生理杂志，1988，4(4)：336
3 陈幸华，罗成基，郭朝华，等. 5.0 Gy 放射损伤对小鼠早期骨髓造血基质细胞周期及其 DNA 含量的变化. 第三军医大学学报，1996，18(3)：209
4 苏 旭，万 红. 低剂量辐射对细胞凋亡相关基因蛋白表达的影响. 中华放射医学与防护杂志，1998，18(3)：77

（收稿：1998-12-25；修回：1999-04-13）
（编辑 汪勤俭）

颌下经皮电刺激对OSAS舌后咽狭窄影响的临床研究

Clinical effects of submaxillary transcutaneous electrical stimulation on the narrowed retrolingual-base-pharynx in obstructive sleep apnea syndrome

杨 桦* 孟祥贵 朱以钊 李 红 邓安春 孙立匀 （第三军医大学附属新桥医院耳鼻咽喉科）重庆，400037

提 要 **目的**：探讨颌下经皮电刺激对阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(OSAS)舌后咽狭窄平面的影响。**方法**：应用颌下电刺激对9例符合多导睡眠图诊断及纤维喉镜下做Muller's动作判定为舌后咽狭窄的OSAS患者，在不同睡眠夜进行电刺激及未刺激治疗效果对照研究。**结果**：舌后咽平面狭窄或阻塞，所测呼吸暂停指数明显下降($P<0.05$)，最低血氧饱和度指标显著提高($P<0.005$)，临床症状改善；影响睡眠的指标无升高。**结论**：颌下电刺激对OSAS有效，这可能是因刺激颏舌肌使舌体向前运动扩大了舌后咽的结果。电刺激本身未影响睡眠。

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(Obstructive sleep apnea syndrome，OSAS)可导致低氧血症和高碳酸血症进而引起机体呼吸、循环、中枢神经等多系统多器官的病理生理改变和临床症状。目前治疗方法很多，但疗效均不理想。其发病机理一般认为是咽部塌陷致上气道阻塞[1]。在动物及人体研究中发现，上气道扩张肌中颏舌肌收缩使舌体向前运动，咽腔扩张，并发现在上气道狭窄及阻塞时该肌活动下降，因而颏舌肌的作用在OSAS尤其重要，并且颌下经皮电刺激能减少呼吸暂停次数，提高血氧饱和度，改善症状。本研究进一步探讨颌下电刺激对OSAS舌后咽狭窄或阻塞的治疗效果。

* 杨 桦，男，39岁，主治医师，硕士

1 对象与方法

1.1 研究对象

经多导睡眠图检查符合OSAS诊断标准及纤维喉镜下做Muller's动作[2]判定为舌后咽狭窄的9例男性患者，年龄28～67岁。重度5例、中度4例，有打鼾，不同程度白天嗜睡，乏力，晨起头痛，记忆力差等临床表现。所有患者未经任何治疗，检查无心、脑疾病及慢性阻塞性肺疾患，无上气道结构异常(如扁桃体肥大，鼻息肉，肿瘤等)。

1.2 方法

1.2.1 应用美国伟康公司生产的RHK-5500型多导睡眠监护系统的标准多导睡眠记录技术进行颌下电刺激及未刺激整夜睡眠研究。指标自动记录，微机自动分析处理，结合压缩及实录资料人工分析得出结论。

1.2.2 第1夜(未刺激夜)为自身对照。在电刺激夜(第2夜)，使用LH-202型皮肤接触式恒流神经电刺激仪，刺激部位为颌下及下颌角内侧，采用频率100 Hz、波宽0.04 ms，在实时观察

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net