

造血细胞动力学概论

吴祖泽 编著

造血细胞动力学概论

吴祖泽 编著

科学出版社

1978

内 容 简 介

本书概述了近年来造血细胞动力学研究中的基础理论、实验技术和发展动向。全书共分九章，介绍了骨髓细胞和血细胞动力学以及体液、药物、射线等对血细胞生成的影响，着重介绍了造血干细胞的研究现状及其实验技术，可供从事实验血液学、临床血液学、肿瘤学、放射生物学和放射医学研究及教学工作者参考。书中引用了较多的图表，便于读者分析和研究。

造血细胞动力学概论

吴祖泽 编著

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1978年12月第一版 开本：787×1092 1/32

1978年12月第一次印刷 印张：13 3/4

印数：0001—13,900 字数：312,000

统一书号：13031·898

本社书号：1273·13—10

定 价：1.70 元

前 言

二十多年来,在细胞形态学研究的基础上,随着一系列新技术的发展和应用,积累了比较多的实验血液学方面的定量或半定量资料,为研究血细胞生成的动力过程创造了条件。

血细胞生成中经历了一个比较长的细胞增殖、分化、成熟释放的动力过程。造血细胞动力学是研究血细胞发育各阶段中的细胞运动速率,以及体液、环境、药物、射线等因素对这些速率的影响,从而进一步揭示和控制血细胞的生成过程。

造血细胞动力学是基础医学研究中的一个组成部分,它的发展从技术和理论上对于临床医学,特别是对于造血系统疾病的诊断、治疗和病因探讨等方面起着积极的推动作用,因而,日益受到人们的重视。

为此,作者将近几年来收集的有关造血细胞动力学方面文献资料,结合我们工作中的一些实际经验,编写成书。希

从实验血液学、临床血液学、肿瘤学、放射生物学和放射学研究的工作者,在了解造血细胞动力学的发展动向,或面的研究有所帮助。

根据细胞的功能特点可以将血细胞的生成过程粗略地分:血干细胞和由造血干细胞分化来的、形态上可以辨认的细胞,以及成熟后被释放进入外周血的血细胞三个阶段。于骨髓细胞和血细胞的动力学研究,尤其是红细胞和粒细胞的动力过程,有了比较长的研究历史,为了叙述方便起,将这一部分内容列为第一章讨论。造血干细胞是生成血细胞的原始细胞,它在数量和性质上的改变都会影响血细胞

的正常生成速率和功能。造血干细胞的实验研究是最近十多年来兴起的，它是当前造血研究中一个活跃的领域，也是本书的重点内容。在后面几章中对于影响造血的药物作用、体液调节和放射效应等作了概述。为了把造血细胞动力学的研究更好地应用于实际，除概述了动力学方面的基础理论外，还对一些重要的实验技术作了具体的介绍或提示。

造血细胞动力学是一门正在发展中的学科分支，在实验结果和解释观点上都还存在着许多争论之处，加上作者水平有限，定有不少漏误，望同志们批评指正。

本书编写中承朱壬葆教授热情支持，并对初稿作了修。一些同志审阅了本书的有关章节、协助复制图表等，对此作者一併致谢。

吴祖泽

一九七七年八月

章二第
第

目 录

第一章 血细胞生成的动力学

第一节 动力学研究中的基本技术 (2)

- 一 骨髓细胞总数的测定 (2)
- 二 外周血中的粒细胞 (5)
- 三 细胞周期中动力学参数的测定 (9)
- 四 连续标记法研究骨髓细胞的增殖 (28)

第二节 粒细胞动力学 (30)

- 一 人的粒细胞动力学模型 (31)
- 二 狗的粒细胞动力学模型 (38)
- 三 随机模型在粒细胞动力学分析中的应用 (46)
- 四 骨髓造血与外周血粒细胞的关系 (54)

第三节 红细胞动力学 (58)

- 一 人的红细胞动力学模型 (58)
- 二 大鼠红细胞生成的动力学 (63)
- 三 随机模型与非随机模型的比较 (73)

第四节 血小板动力学 (76)

第五节 单核细胞动力学 (79)

- 一 体内标记法研究单核细胞动力学 (80)
- 二 体外标记法研究单核细胞动力学 (84)

造血干细胞的研究简史

第一节 造血干细胞测定技术的发展 (87)

- 一 移植法 (87)
- 二 非移植法 (94)
- 三 移植法与非移植法的比较 (96)

第二节 近代造血干细胞研究中的主要测定技术 (100)

一 CFU-S 测定法..... (100)

二 CFU-C 测定法 (102)

三 ERC 测定法..... (103)

第三节 造血干细胞增殖和分化的模型..... (103)

第三章 多向性造血干细胞(CFU-S)

第一节 脾结节的生成..... (110)

一 脾结节的形态学..... (110)

二 CFU-S 的基本特性..... (114)

第二节 脾结节(CFU-S)测定技术..... (116)

一 外源性脾结节测定法..... (116)

二 内源性脾结节测定法..... (120)

三 脾结节中 CFU-S 的测定方法..... (121)

第三节 f 系数的测定..... (122)

一 两次移植法测定 f 系数..... (123)

二 一次移植法测定 f 系数..... (124)

第四节 ω 系数的测定..... (125)

一 单个脾结节移植法..... (126)

二 整个脾脏移植法..... (127)

第五节 脾结节生长的动力学..... (129)

第六节 造血干细胞的增殖..... (135)

一 CFU-S 的自杀试验..... (136)

二 CFU-S 增殖的控制和调节..... (137)

三 造血干细胞的细胞周期时间测定..... (138)

四 不同造血组织中的造血干细胞的性质比较..... (137)

第七节 造血干细胞的分化..... (137)

第八节 造血干细胞的迁移..... (138)

第九节 一些物理和化学因子对造血
干细胞的作用..... (15)

一	长春花碱(VLB)和长新花碱(VCR)	(153)
二	内毒素	(153)
三	异丙基甲磺酸盐(IMS)	(155)
四	秋水仙碱	(158)
五	α -巨球蛋白	(158)
六	甾体激素、环一磷酸腺苷、异丙基肾上腺素	(158)
七	菌苗	(159)

第四章 粒系定向干细胞(CFU-C)

第一节	体外培养中细胞团(CFU-G)的生成	(161)
第二节	CFU-S 与 CFU-G 的性质比较	(166)
第三节	小鼠骨髓细胞的体外琼脂培养技术	(168)
一	单层法	(168)
二	双层法	(178)
第四节	影响细胞团生成的几个因素	(180)
一	细胞团生成的刺激因子(CSF)	(180)
二	血清和培养液	(181)
三	有助于细胞团生长的加强因子	(182)
第五节	体内扩散盒琼脂培养技术	(182)
一	小鼠骨髓细胞的体内扩散盒琼脂培养法	(183)
二	狗骨髓细胞的体内扩散盒琼脂培养法	(186)
三	几种培养技术的比较	(187)
第六节	CFU-G 的自杀试验	(188)
第七节	体外琼脂培养中细胞团生长的动力学	(190)
一	细胞周期时间(t_c)	(191)
二	细胞分裂期时间(t_M)	(192)
三	DNA 合成后期时间(t_{G_2})	(194)
四	DNA 合成期时间(t_s)	(196)
五	DNA 合成前期时间(t_{G_1})	(197)
第八节	影响造血组织中 CFU-C 的一些因素	(198)
一	抗原性物质对 CFU-C 的作用	(198)

二 化学药物对 CFU-G 的作用	(199)
第九节 人骨髓细胞和外周血白细胞的 体外琼脂或甲基纤维素培养	(203)
一 人骨髓细胞和外周血白细胞中 CFU-G 的测定 ..	(203)
二 人的骨髓 CFU-G 的性质	(204)
三 CFU-G 测定技术的临床应用	(204)
第五章 红系定向干细胞 (ERC)	
第一节 ERC 的性质	(208)
一 Ep 对脾结节生成的影响	(208)
二 缺氧条件下 CFU-S 和 ERC 的动力变化	(210)
三 CFU-S 和 ERC 的细胞物理化学性质的比较	(211)
第二节 ERC 的测定技术	(215)
一 ERC 整体测定法	(215)
二 体外 CFU-E 测定法	(218)
三 体内扩散盒血浆凝块培养法	(218)
四 体外液体培养法测定 ERC	(221)
第三节 ERC 的动力学	(222)
一 ERC 的细胞生理状态	(222)
二 ERC 细胞周期时间的估计	(223)
第六章 造血细胞的体内扩散盒培养	
第一节 小鼠骨髓细胞的体内扩散盒培养	(229)
一 细胞总数和分类	(229)
二 CFU-S 数量的变化	(231)
三 CFU-G 数量的变化	(231)
第二节 扩散盒培养的实验技术	(232)
一 扩散盒的结构	(232)
二 扩散盒的检验与消毒	(233)
三 各种液体的准备	(238)
四 骨髓细胞悬液的制备	(238)
五 扩散盒的加样	(239)

六	扩散盒的植入	(239)
七	扩散盒的移出	(239)
八	溶解	(240)
九	细胞计数	(240)
十	细胞分类	(240)
十一	^3H -TdR 的掺入	(241)
第三节 体内扩散盒培养中的造血干细胞(DCGP)的测定		
一	极限稀释法(空盒法)	(242)
二	相对测定法(满盒法)	(247)
第四节 影响扩散盒中细胞生长的因素		
一	受体	(250)
二	造血细胞中 CFU-C 的浓度	(251)
第五节 药物对 DCGP 的作用		
一	长春花碱(VLB)	(252)
二	羟基脲(HU)	(253)
三	环磷酰胺	(255)
四	马利兰	(255)
五	粒细胞抑制物(或粒细胞抑素)	(260)
第六节 体内扩散盒培养中粒细胞生长的动力学		
一	粒细胞和巨噬细胞的生长	(261)
二	生长系数的测定	(261)
三	细胞周期时间(t_c)的测定	(265)
四	细胞周期中各时相的时间(t_{G_1} , t_s , t_{G_2} , t_M)的测定	(266)
第七章 造血干细胞的浓集、分离和体外液体培养		
第一节 造血干细胞的浓集、分离		
一	密度梯度离心法	(268)
二	速度沉降法	(280)
三	附着法	(291)

四 逆流分布法	(29)
第二节 造血干细胞的形态	(29)
第三节 造血干细胞在骨髓移植中的意义	(300)
第四节 骨髓细胞的液体培养	(304)
一 骨髓细胞与胸腺细胞的共同培养	(304)
二 骨髓细胞在 CSF 作用下的体外液体培养	(307)
三 造血组织的体外液体培养	(311)
第八章 血细胞生成中的体液调节	
第一节 促红细胞生成素(Ep)	(314)
一 Ep 的测定方法	(314)
二 Ep 的作用原理	(316)
三 Ep 的生成	(318)
第二节 细胞团生成的刺激因子(CSF)	(319)
一 CSF 的测定	(320)
二 CSF 的生物化学性质	(321)
三 CSF 测定的临床应用	(321)
四 CSF-抑制物	(321)
五 CSF-抑制物的测定	(321)
六 CSF-抑制物的化学性质	(321)
七 CSF 在体内的作用	(321)
八 照射动物中 CSF 和 CSF-抑制物的变化	(326)
第三节 影响骨髓细胞增殖的抑制物(抑素)	(327)
一 应用 ^3H -TdR 在造血细胞 DNA 中的掺入技术 鉴定和研究抑制物的特性	(327)
二 应用细胞浆体结构性(SCM)技术鉴定和 研究抑制物的特性	(327)
第四节 外周血白细胞增多的诱导因子(LIF)	(327)
第五节 血小板生成中的体液调节	(327)
第九章 造血干细胞的辐射效应	
第一节 剂量-存活曲线	(327)

第二节 CFU-S 剂量-存活曲线的测定方法 (351)

一 体内法 I (351)

二 体内法 II (353)

三 体内法 III (356)

四 体外法 (356)

第三节 CFU-S 的辐射敏感性 (356)

第四节 照射后效应 (364)

第五节 不同能量的射线照射 (365)

第六节 损伤细胞的修复 (367)

一 亚致死性损伤的修复 (368)

二 潜在性致死损伤的修复 (373)

第七节 辐射损伤后 CFU-S 的恢复 (374)

第八节 低剂量率射线连续照射下造血
干细胞的损伤和恢复 (380)

录

一 费歇氏(Fisher)培养液配方(10 倍浓度)..... (393)

二 汉克氏(Hank)液配方 (394)

三 不同浓度聚蔗糖溶液的密度与相对粘度 (395)

四 离心机转速与离心力的换算表 (396)

五 剂量-存活曲线中 D_0 、 n 值的计算..... (397)

六 缩写字英中对照表 (403)

考文献 (407)

第一章 血细胞生成的动力学

存在于血液中的细胞有三类：红细胞、白细胞和血小板。

红细胞是血液中的主要细胞类型，约占全血体积的45%，细胞中不含细胞核，但有丰富的血红蛋白，它携带 O_2 和 CO_2 ，保证机体各组织中物质代谢的正常进行。

白细胞包括中性粒细胞、淋巴细胞以及少量的嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和单核细胞。这些细胞中都含有细胞核。中性粒细胞起着抵御侵入机体的细菌的作用；淋巴细胞控制和合成对侵入机体的细菌、病毒和异性组织的特异性抗体，并通过细胞免疫在识别和破坏肿瘤细胞等方面起着重要的作用。单核细胞具有细胞免疫和清除破损细胞的功能。

血小板的体积远比红细胞和白细胞为小，而且不带细胞核。它在遇到损伤组织后释放出凝血因子或在堵塞血管的“漏洞”中起到防止出血的作用。

在成年人或动物中，骨髓是造血的主要部位。在病理条件下，一些在正常情况下不参与造血的部位，也可以转入造血。在胎儿中，不仅骨髓而且脾脏、肝脏也参与造血。生成血细胞的各类细胞的总体称为造血细胞体系。

血液中的血细胞，除了淋巴细胞外，都是成熟的细胞，它们不具有分裂能力，而且在血液中的寿命或停留时间都是有限的。但是，在正常机体中，血细胞的数量又是基本上恒定的，反映了血细胞的衰老死亡与造血组织不断生成血细胞之间的动态平衡。

第一节 动力学研究中的基本技术

细胞形态分析是细胞动力学研究中最基本的技术,对于各类骨髓细胞在不同成熟阶段的形态学上的描述,在其它书中已作了详细介绍^[1]。这里主要对血细胞生成的动力学研究中的有关技术作一概述。

二十年来,在血细胞生成过程的研究中积累了很多定量的实验资料,为了解骨髓中粒细胞和红细胞的生成、释放、在外周血中的分布、运转以及一些因素对这些过程的影响提供了有益的依据。

一 骨髓细胞总数的测定

应用 ^{59}Fe 标记骨髓是目前适用于动物也曾经应用于人体的一个比较准确的测定全身骨髓细胞总数的实验技术^[2-5]。

应用这个方法测定骨髓有核细胞总数的可靠性取决于以下条件:(1)在机体各部分骨髓中, ^{59}Fe 的掺入量与骨髓有核细胞数之间的比例保持恒定,(2) ^{59}Fe 在各个成熟阶段的骨髓细胞中的掺入量在机体各部分骨髓中是相同的,(3)在骨髓中, ^{59}Fe 都掺入到骨髓细胞中去,而不是掺入或停留在骨基质中。

以动物为例,大鼠、家兔或猴分别静脉注射 1 微居里、5 微居里或 10—15 微居里 ^{59}Fe 后的 5、6 或 12 小时,当时 ^{59}Fe 在血浆中已经基本清除,然而 ^{59}Fe 在上述三种动物的全身骨骼中的分布分别为注射的 ^{59}Fe 的 70%、69% 或 66%。

将上述动物在注射 ^{59}Fe 后的 5、6 或 12 小时分别杀死,取出股骨,冲出股骨中的骨髓细胞,计数骨髓有核细胞数,同

时测定骨髓细胞的放射性强度，由此可以推算各动物中的全身骨髓有核细胞总数。

$$\text{骨髓有核细胞总数} = \frac{\text{骨髓细胞悬液中的有核细胞数}}{\text{骨髓细胞悬液中的放射性强度}} \times {}^{59}\text{Fe 在骨骼中的分布} \% \times \text{注射的 } {}^{59}\text{Fe 放射性强度} \quad (1.1)$$

这个方法原则上也适用于人，例如曾经应用于切除肋骨的结核病人上，主要结果见表 1.1。

表 1.1 骨髓细胞总数的测定^[8,4]

种 系	测 定 数	骨髓有核细胞数 $\times 10^6$ 个/公斤体重	
		平 均 值	范 围
大 鼠	4	17	13—22
兔	5	12	9—18
猴	5	34	22—44
人	7	18	11—30

进一步的观察可以见到，对各种种系动物以及人体注射 ${}^{59}\text{Fe}$ 后的 2—3 周内，绝大部分 ${}^{59}\text{Fe}$ 都存在于外周血的红细胞中，而留在其它组织中的 ${}^{59}\text{Fe}$ 仅为注射 ${}^{59}\text{Fe}$ 总放射性强度的 10% 左右，一方面说明分布在其它组织中的 ${}^{59}\text{Fe}$ 有可能被造血细胞重新利用，同时，又可以根据注射 ${}^{59}\text{Fe}$ 后出现于外周血中的放射性强度来计算 ${}^{59}\text{Fe}$ 在骨髓中的掺入量。

以人体为例，成人静脉注射 10 微居里 ${}^{59}\text{Fe}$ ，在注射后的 18—20 小时，当时 ${}^{59}\text{Fe}$ 在骨髓中的标记量达到了最高值，穿刺胸骨或髂骨，将取出的骨髓样品制成细胞悬液，测定骨髓样品中的骨髓有核细胞数和放射性强度。为了防止进入体内的 ${}^{59}\text{Fe}$ 的再利用，因此在穿刺骨髓后注射和口服大剂量的

FeSO_4 。假定掺入骨髓的总的 ^{59}Fe 放射性强度等于 12 天后存在于外周血中的放射性强度，则可以推算骨髓中总的骨髓有核细胞数为：

$$\text{骨髓有核细胞总数} = \frac{\text{骨髓穿刺样品中的有核细胞数}}{\text{骨髓穿刺样品中的放射性强度}} \times \text{骨髓中总的放射性强度 (或 12 天后外周血中总的放射性强度)} \quad (1.2)$$

应用这个方法测定人体的骨髓细胞总数为 21.0×10^9 个/公斤，与表 1.1 的结果相近似。

在知道骨髓细胞总数的基础上，再结合骨髓细胞的分类计数，就可以得到骨髓中各类细胞的数量分布情况。

表 1.2 说明人体中大量的红系细胞分布在外周血中，位于骨髓中的红系细胞仅占全身红系细胞的 3%。从外周血的

表 1.2 正常人骨髓和外周血中红、粒、巨核系细胞的实验数据^[5]

细 胞	细 胞 数 10^9 个/公斤 $\pm 1 \text{ S.D.}$	在骨髓和外 周 血 中 的 比 例	骨髓中增殖 细胞与非增 殖 细 胞 的 比 例	外周血中的 转 换 率 $\times 10^7$ 个/公 斤体重/小时
红系细胞				
骨髓有核红细胞	3.4 ± 0.9	3:100	1:4	
骨髓网织红细胞	4.6 ± 1.1			
外周血网织红细胞	3.1 ± 1.1			
外周血红细胞	264.0 ± 47.3			9.1
粒系细胞				
骨髓粒细胞	13.0 ± 5.7	33:1	1:3.2	
外周血粒细胞	0.4 ± 0.1			9.3
巨核系细胞				
巨核细胞	0.016 ± 0.008	1:1000	1:1	
血小板	15.1 ± 3.8			9.7

红细胞数和红细胞的寿命(112 ± 9 天)可以计算红细胞的平均生成速率,即每小时每公斤体重平均生成 9.1×10^7 个红细胞。然而,人体中大量的粒系细胞却分布在骨髓中。

二 外周血中的粒细胞

(一) 粒细胞总数

外周血中的粒细胞是处于不断循环的,它在血管中的分布是不全相同的,这一点在应用同位素标记粒细胞的试验中得到了证实。

现在,可以把外周血中的粒细胞分为两类,一类是存在于血液中循环于周身的,称为循环粒细胞,或者把这类粒细胞的总体称为循环粒细胞池(Circulating granulocyte pool, GGP);另一类是存在于血管壁边缘或依附于毛细血管内皮上的粒细胞,称为边缘粒细胞,或者把这类粒细胞的总体称为边缘粒细胞池(Marginal granulocyte pool, MGP)。这两类细胞之间可以互相交换,因此在两类细胞之间构成了一个动态的平衡。两类细胞数的总和就是存在于外周血中的粒细胞总数(Total blood granulocyte pool, TBGP)^[6]。

循环粒细胞的 GGP 可以用一般常规方法测定,这是一个熟知的实验技术,即

$$GGP = WBC / \text{毫米}^3 \times 1000 \times G\% \times BV (\text{毫升}) \quad (1.3)$$

WBC: 外周血的白细胞计数。

G%: 中性粒细胞的分类百分数。

BV: 全身血容量。

全身外周血中的粒细胞总数 TBGP 可以用同位素稀释法测定。一个应用于人体的测定 TBGP 的方法是用 ^{32}P 标记的二异丙基氟磷酸盐 (^{32}P -diisopropylfluorophosphate, DF^{32}P)