

机体经 γ 射线照射后尿液与去氧核糖反应的特异性

刘 蓉

(中国科学院生物物理研究所)

本文作者曾于1961年就照射后猕猴及肿瘤治疗病人排出的尿液中某种成份与去氧核糖所显示的特异反应写成三篇工作报告(见本文附录)内部发表,又于1962年就机体经 γ 射线照射后尿液与去氧核糖反应的特异性作了全面的实验观察,进一步检验了前三个报告的结论,并就其中有错误的部分提出修正写成了报告。遗憾的是,这篇报告竟由于多种原因未能发表,致使前三篇报告仍被收集在1965年国家科委出版的科学研究成果公报中而未予纠正。这对科研事业既不负责、又使作者受到挫伤。本刊认为,作者对科学研究认真负责,实事求是的态度是可贵的,敢于通过实践修正错误的行动是符合“实践是检验真理的唯一标准”这一精神的。故特发表此文。

编 者

摘 要

为了进一步考察机体经 γ 射线照射后,尿液与去氧核糖反应的特异性,通过正常人与进行放射治疗的肿瘤病人的对比,以及猕猴的照射实验,观察了尿液中此反应的出现规律,及其与样品浓度的关系。证明此反应并非照射以后排出的尿液中才能出现的特异现象,阳性反应出现的规律和频度,在正常人或猴以及受 γ 射线照射以后的肿瘤病人或猕猴排出的尿液中无显著差异,但与分析时所用尿液样品的稀释程度有显著的依赖关系,因此不能作为辐射损伤后临床诊断的参考指标。

前 言

在找寻机体经辐射损伤以后,早期诊断的生化指标的过程中,^[1]我们曾于1961年根据14只猕猴照射实验的观察资料,以及3名进行放射治疗的肿瘤病人与4名实验室工作人员和15名其他住院病人的比较研究,报道了一种特殊的颜色反应^[1,2]。这种反应是由于尿液中某些

未知成份干扰了去氧核糖和二苯胺试剂的成色反应而产生的^[3]。过去的报道,仅仅在猕猴或病人受到 γ 射线照射以后排出的尿液中观察到阳性反应,未经照射前排出的尿液均未发现阳性反应(原报道的摘要见附录)。

为了进一步检验这种反应的特异性,我们于1961年8月至1962年底以前,在不同季节观察了8名实验室工作人员,7名建筑工人和5名进行放射治疗的肿瘤病人的尿液样品中这种反应出现的规律,以及样品的稀释程度对反应的影响。发现这个反应并不是机体照射以后才有的特异性反应,阳性反应在正常人排出的尿液中也能出现,出现规律和频度与放射治疗的病人无显著差别,但是和观察时样品稀释的程度有明显的依赖关系。

猕猴的照射实验表明,用去氧核糖核酸与尿液进行反应,阳性反应出现的规律也同样受到样品稀释程度的影响,样品稀释倍数较少时,猕猴在照射以前排出的尿液也能给出阳性反应。

本文将报道这些实验的观察结果,并根据

现有资料对过去的报道作一些补充说明。

实 验 部 分

一、人尿反应规律的观察

为掌握尿液反应的规律,我们取得肿瘤医院及其它有关方面的协助,开展了这项工作。采用前报道的实验方法^[3]对下列各类人员提供的样品进行了分析。

1. 本单位实验室工作人员 8 人,男性,年龄 25—30 岁。除 1 人仅连续观察 6 次外,其余 7 人均观察 12 至 16 次。

2. 建筑工人 7 人、分别观察 1 至 4 次。

3. 肿瘤病人 5 人,住院期间由医院代为收集尿液样品,取回本实验室分析。病人的一般情况。放射治疗的照射部位,和尿液反应观察的起迄日期见表 1。5 名病人中除 1 人病历不

表 1 肿瘤病人放射治疗期间一般情况简介

姓 名	性别	年龄	肿瘤部位	照射部位	射 源	每日剂量(伦)	照射起迄日期	尿液观察起迄日期
戴××	男	43	鼻咽	鼻咽,颅底,颈	$^{60}\text{Co}-\gamma$	200—300	9.21—11.17	9.21—12.2
张××	女	63	鼻咽	鼻咽,颅底,颈	$^{60}\text{Co}-\gamma$	300—400	9.21—11.4	9.19—11.7
秦××	男	60	右肺上叶	胸,背	$^{60}\text{Co}-\gamma$	150—200	10.17—10.28	10.19—11.6
郭××	男	37	鼻咽	鼻咽,颅底,颈	X	450	9.21—11.2	9.21—10.17
李××				(病历不详)				9.19—10.17

[注] 李××病历不详,秦××入院前已开始放射治疗,共疗11次(累计2000伦)后转外科,手术治疗

详,1人住院前已开始放疗外,其余3人在照射前均观察了1至3次。

尿液收集和处理方法:收集受检人员每日清晨尿液一次,过滤或离心去除混浊部分,取1毫升滤后尿液,加入1毫升 EDTA,3毫升重蒸馏水稀释至总体积为5毫升备用。这样处理过的样品称为1:5稀释尿液。

实验工序:取0.5毫升1:5稀释尿液,加0.5毫升去氧核糖溶液(100微克/毫升),混合均匀后加入2毫升二苯胺试剂,在沸水浴中加热10分钟,快速冷却,至室温下停置20分钟后观察。凡反应混合液显色完全后表现玫红、红紫或紫色,并且在 Beckman 分光光度计上530毫微米处具有吸收峰者为阳性反应(+),否则为负反应(-)。所用去氧核糖溶液和二苯胺试剂配制方法参阅前报道^[3]。

观察结果总结于表 II 中。从表中可见用1:5稀释尿液与去氧核糖和二苯胺反应以后,阳性反应在健康情况良好的工作人员和进行放射治疗的肿瘤病人的尿液中都能出现。这就和以前的报道^[2]产生了矛盾。回顾过去的实验和本实验的主要差别在于过去有关病人尿液反应的比较研究是在冬季进行的,并且采用的实验方法是将尿液先与加入的去氧核糖核酸(DNA)

表 2 人尿反应规律的观察

组 别	姓 名	观察次数	阳性反应次数
实验室工作人员	王××	17	4
	吴××	16	1
	邹××	16	1
	马××	12	2
	寇××	12	4
	陈××	12	2
	周××	6	1
	李××	16	4
建筑工人	高××	2	0
	王××	2	0
	谢××	3	0
	裴××	2	0
	张××	1	0
	王××	2	1
	徐 ×	4	3
放疗肿瘤病人	戴××	55	1
	张××	33	0
	秦××	11	0
	郭××	16	2
	李××	26	0

[注] (1) 实验室工作人员及建筑工人观察在61年8月14日至9月29日期间进行。放疗肿瘤病人的观察在61年9月19日至12月2日期间进行

(2) 所有样品均经过1:5稀释

反应,借尿液中去氧核糖核酸酶(DNase)的作用,分解去氧核糖核酸从而获得可溶于酸性溶

液的含去氧核糖物质,然而离心去除未分解的去氧核糖核酸,再将清液与二苯胺试剂反应。现在采用的实验工序则直接将去氧核糖溶液与稀释的尿液混合后立即与二苯胺试剂反应。我们曾在过去的讨论^[3]中指出,这两种实验方法能保持同样的反应特征,但是最终参与反应时原尿的用量不同,用去氧核糖核酸进行反应,尿液受到8倍的稀释,最终在显色反应的混合液中含1/16毫升原尿,用去氧核糖进行反应时,尿液只受到5倍稀释,最后参与显色反应的有1/10毫升原尿。这样就促使我们感到,观察中出现的矛盾现象是否可能由于尿液稀释程度不同或尿液本身浓度的季节性差异所致。虽然这两种原因都与照射无关,但是它们的干扰必然有可能引起观察中出现混乱现象。为了澄清这个问题,我们开展了尿液反应与样品稀释程度关系的观察,并且将正常人的观察改在冬季进行。

二、尿液经不同程度稀释以后的反应规律

尿液处理: 样品收集方法同前。尿液经过过滤或离心以后,按不同比例稀释。正常人尿液反应的观察选用了原尿、1:5 稀释和 1:8 稀释三种浓度。肿瘤病人则只比较了原尿和 1:5 稀释尿液的反应。正常人样品由 8 名实验室工作人员供给,每人观察 10 次。肿瘤病人的观察是和前述反应规律性的观察同时进行的。实验方法同前,结果见表 3、表 4。

由表 3 中可见正常人尿液反应情况与样品

表 3 不同稀释程度正常人尿液与去氧核糖反应

姓 名	原 尿		1:5 稀释尿液		1:8 稀释尿液	
	观察次数	阳性反应次数	观察次数	阳性反应次数	观察次数	阳性反应次数
寇××	10	9	10	2	10	0
方××	10	7	10	4	10	1
叶××	10	9	10	0	9	0
张××	10	9	10	0	11	0
吴××	10	10	10	3	9	0
陈××	10	7	10	0	8	0
张××	10	8	10	0	10	0
黄××	10	10	10	0	10	0

[注] 样品在62年1月9日至1月30日期间收集并观察

表 4 不同稀释程度肿瘤病人尿液与去氧核糖反应

姓 名	原 尿			1:5 稀释尿液		
	照射前反应	照射后总观察次数	阳性反应次数	照射前反应	照射后总观察次数	阳性反应次数
戴××	(+)	41	31	(-)	55	1
张××	(+)	31	14	(-)	33	0
秦××		12	12		11	0
郭××	(+)	24	23	(-)	16	2
李××		26	25		26	0

[注] (1) 秦××入院前已开始放射治疗
(2) 李××病历不详

的稀释程度有显著的依赖关系。未经稀释的原尿,阳性反应的频率极高,在这 8 名受检人员连续 10 天的观察中,阳性反应的频度每人都在 7 次以上,总共 80 次观察中就有 69 次是阳性反应。尿液经过稀释以后,阳性反应出现的频度大大减少,并且随稀释倍数增加而减少得更多。1:5 稀释的样品中已经很少出现,计 80 次的观察中只有 9 次为阳性; 1:8 稀释的样品就更少阳性反应, 77 次观察中只出现 1 次。若将表 3 中 1:5 稀释尿液样品的观察资料和表 2 中实验室工作人员组的观察资料比较,则似乎夏季阳性反应的频度稍高一些,这可能是由于夏季尿液一般较浓。

表 4 列出了肿瘤病人的观察资料,其中李××因病历不详,秦××在住院前已开始放射治疗无从进行照射以前的观察。其余戴××在照射前受检 1 次,张×× 3 次,郭×× 1 次。这三人的照射以前原尿反应都是阳性,稀释 5 倍再进行反应都是阴性。由于照射前观察次数太少,而且照射以后,尿液反应也表现了与稀释倍数之间的相互依赖关系,很难看出照射对尿液中阳性反应出现频度的影响。

从上述的观察可以明显的看出,尿液与去氧核糖的反应已经不能作为人类辐射效应的特异性生化指标,因为它不仅在正常人的尿液中可以出现,而且对分析时所用样品稀释的程度有显著的依赖关系,这就不像是由于照射以后尿液中某些成份的质量变化引起,而且不难想像,只要是足以影响尿液浓度的生理因素,也必然会对观察结果产生影响。

三、人尿与去氧核糖核酸进行反应的观察

鉴于尿液中这个反应最初是将尿液与去氧核糖核酸进行反应以测定去氧核糖核酸酶活力时观察到的^[1,2]，为澄清过去在正常尿液中未曾看到阳性反应这一事实，我们对 2 名实验室工作人员的尿液进行了 7—8 天的短期观察。观察中除了重复原来酶促反应的条件以外，同时观察了尿液稀释程度对反应的影响。这是通过分析过程中调节了试剂浓度和用量来完成的。兹将实验工序中常规观察组和高浓度组各成分用量列表如下：

酶促反应工序	常规组	高浓度组
1. 尿液处理	5 毫升原尿加 5 毫升 1% EDTA 溶液，离心备用。（即 1:1 尿样）	5 毫升原尿加 0.25 克固体 EDTA，离心备用
2. 温育混合液成份	0.5 毫升 1:1 尿样，0.5 毫升 DNA 溶液，1 毫升缓冲液。	0.5 毫升上列离心液，0.5 毫升 DNA 溶液 1 毫升缓冲液。
3. 温育条件	37℃，3 小时	同左
4. 沉淀剂	2 毫升 10% TCA 溶液	1 毫升 15% TCA 溶液。
5. 离心条件	0℃，3000 RPM，半小时	同左
6. 1 毫升清液中 原尿含量	1/16 毫升	1/6 毫升

常规组反应条件和前报道的完全相同^[2]，高浓度组中各有效成份的用量除原尿以外，和常规组完全相同。在获得了两组样品的酶解离心液以后，各取 1 毫升清液与二苯胺试剂进行显色反应。观察结果见表 5。

表 5 不同稀释程度正常人尿液与去氧核糖核酸反应

姓 名	观察次数	阳性反应次数	
		常规组	高浓度组
吴 ×	7	0	4
张 × ×	8	0	8

从表 5 可以看出正常人尿液与去氧核糖核酸的反应也受样品稀释程度的影响。常规组原尿用量为 1/16 毫升（相当于 1:8 稀释）均表现

阴性反应，高浓度组原尿用量为 1/16 毫升（相当于 1:3 稀释），则半数以上的观察表现阳性反应。

四、猕猴照射实验的观察

为探讨这个反应在照射猕猴实验中的特异性，我们进行了下列观察：

1. 尿液与去氧核糖反应的观察

选用雄性猕猴 2 只，分别饲养在代谢笼中，收集 24 小时全尿样进行观察。正常猴尿液共收集 21 天，用 50 伦 r 射线一次全身照射以后，收集尿液 20 天，分别观察照射前后，尿液反应与稀释程度的关系。并且将照射前的观察分为两个阶段进行，第一阶段比较了原尿、1:5 稀释和 1:8 稀释对尿液反应的影响，第二个阶段比较了 1:2 稀释、1:10 稀释和 1:16 稀释的反应。照射以后只观察了原尿和 1:5 稀释尿液的反应。结果总结在表 6 中。

表中可以看出，照射前后猕猴排出的尿液，与去氧核糖的反应规律无明显区别，都和样品的稀释程度有显著的相互依赖关系。

2. 猕猴尿液与去氧核糖核酸反应的观察

按照本文中入尿与去氧核糖核酸反应的观察中所用的实验方法，对猕猴尿液进行了类似的观察。常规组中参与反应的原尿用量为 1/16 毫升，高浓度组原尿的用量为 1/6 毫升。两只猕猴在照射以前各观察了 7 次，照射以后观察了 14 或 17 次。结果见表 7。

表 6 不同稀释程度猕猴尿液与去氧核糖反应情况

	动物 编号	观察 次数	阳性反应出现次数					
			原尿	1:2 稀释	1:5 稀释	1:8 稀释	1:10 稀释	1:16 稀释
照射前	316	13 8	11 8		7	1	2	0
	326	12 8	10 8		4	3	4	1
照射后	316	17	15		11			
	326	20	17		4			

[注] 316, 326 号猕猴于 1962 年 9 月 7 日上午 10.00 时用 50 伦 ⁶⁰Co r 射线照射，照射后的观察从 1962 年 9 月 8 日开始

表 7 不同稀释程度猕猴尿液去氧核糖核酸反应情况

	动物编号	观察次数	阳性反应出现次数	
			常规组	高浓度组
照射前	316	7	0	7
	326	7	3	6
照射后	316	14	0	12
	326	17	3	14

从表 7 可见猕猴在照射前后排出的尿液与去氧核糖核酸的反应也没有明显的差别。阳性反应并不仅限于照射以后才会出现,而且当尿液稀释的倍数增加时也能影响其出现频度。表明这个反应并不特异。过去的观察中未曾在照射前的猕猴尿液中发现阳性反应的原因,主要可能是样品稀释的程度太大。由于当时我们的着眼点,主要是观察辐射对尿液中去氧核糖核酸酶活力的影响^[1],为便于计算起见曾经把收集到的尿液加少量重蒸馏水,平衡到相同的体积以后再进行分析,因此最后参与显色反应的原尿用量,有时实际上还不到 1/16 毫升,这样就很难看到阳性反应了。

为了探讨尿液中干扰去氧核糖和二苯胺反应中成色反应的物质的性质。我们曾经试图对它进行分离提纯或相对定量,没有获得成功。值得指出的是,早在 1951 年 Ayala 等^[4]就曾报道过人类血清和牛扁桃腺组织中含有某些未知性质的干扰物质,与蛋白质结合存在,在进行二苯胺反应以进行去氧核糖核酸的测定时,产生紫色,并在 530 毫微米处呈现一吸收峰;1961 年 Slater^[5]也报道了类似现象,他并观察到在用乳腺组织和血清进行二苯胺反应时,这种干扰现象,随着反应混合物在沸水浴中加热时间从 4 分钟增至 30 分钟而越益明显,同时干扰程度也与取样时动物所处生理状态有关。他认为在不同的生理状态下,这种能在二苯胺反应中产生 530 毫微米吸收峰的干扰物质,可能有相当大的浓度变化。Slater 所报道的能够干扰二苯胺反应的未知物质,和我们所观察到的存在于尿液中的干扰因素十分相似,只是这种干扰因素的本质,及其如何干扰二苯胺与去氧核糖

的反应,目前还不理解。

结 论

尿液中含有某些成份可以干扰去氧核糖与二苯胺试剂的成色反应,产生紫红颜色并在 530 毫微米处出现吸收峰。这个现象在正常猕猴和人尿中以及受 γ 射线照射以后的猕猴或病人尿液中均能出现,出现频度与尿液在观察时稀释的程度有直接的依赖关系,因此不能认为是辐射损伤的标志。

以前报道的观察^{[1],[2]}未能在正常尿液中发现这种现象,主要是由于观察时样品稀释的程度太大。

本实验在 1961 年 8 月至 1962 年底期间进行。

参加工作: 邬菊潭、李莱、李启韬、辛淑敏。

谨在此向当年参加这项工作的全体同志,以及提供样品的所有同志表示衷心感谢。

参 考 文 献

- [1] 刘蓉等: 猕猴经 γ 射线照射后尿液中出现一种特殊反应(原子能科学技术文献,原 10013,生医 001,1961 年内部发表)。
- [2] 刘蓉等: γ 射线照射后在尿液中出现反应的灵敏度,特异性和临床应用的探讨(原子能科学技术文献,原 10015,生辐 002,1961 年内部发表)。
- [3] 刘蓉: 机体经 γ 射线照射后尿液以去氧核糖核酸或去氧核糖进行反应的比较及其机制的初步探讨(原子能科学技术文献,原 10016,生辐 003,1961 年内部发表)。
- [4] Ayala, W. et al.: J clin. Invest., 30, 781, 1951.
- [5] Slater, T. F.: Nature 189, 834, 1961.

附 录

[1] 《猕猴经小剂量 γ 射线照射后在尿液中出现一种特殊反应》一文摘要:

为了找寻小剂量 γ 射线对机体损伤早期诊断的指标,进行了一些照射前后猕猴尿液中去氧核糖核酸酶活性的观察。正常猕猴尿液中有显著 $DN_{ase} I$ 活性。经 10 至 50 伦 γ 射线一次全身照射后尿液中 $DN_{ase} I$ 活性开始时下降,以后有起伏现象。

照射后 40 天内某一时期的尿液有一个未知成份出现,这一未知成份单独存在时与二苯胺试剂无显著反应,但当其与去氧核糖核酸衍生物同时存在,则能改变后者与二苯胺反应的特性而形成紫色,并在 530 毫微米处具有一吸收峰。这一现

象似乎是猕猴受辐射损伤后早期出现的敏感变化,然而这一未知成份的本质,发生机制和是否可作为放射病临床诊断的指标,则有待今后的工作予以进一步阐明。

[2]《 γ 射线照射后在尿液中出现反应的灵敏度。特异性和临床应用的探讨》一文摘要:

为探讨猕猴经小剂量 γ 射线照射后尿液中出现的特殊反应作为放射病早期诊断指标的灵敏度、特异性和临床应用的可能性,曾系统观察了三名放射治疗的肿瘤病人在住院期间的尿液反应,并且将观察资料与四名正常人和十种其他病理情况住院病人的尿液反应进行了比较研究。初步肯定了照射后尿液中出现的特殊反应,可以在三名放射治疗的肿瘤病人中获得。但未能在正常人和十种其他病人中获得。根据现有资料,显示这一反应的特点是:(1)灵敏度高,在放射治疗开始后1—12天内即可分别在三名病人尿液中出现,(2)特异性强,不受一般常见内外科疾病的干扰,(3)反应明显,可以用肉眼观察或用分光光度计鉴定尿液反应的差别。因此,我们认为这个反应可以作为临床放射病早期诊断的参考。

至于这一反应的本质,反应出现的规律和临床上的实用价值(包括简化)等问题,则有待今后工作来阐明。

[3]《机体经 γ 射线照射后尿液以去氧核糖核酸或去氧核糖进行反应的比较及其机制的初步探讨》一文摘要:

1.本研究证明照射后尿液反应中以前所用的去氧核糖核

酸^{[1],[2]}可用去氧核糖代替,反应特点和特异性并无改变,在正常人及其它病理尿液中并无此反应。

2.证明原反应中的紫色是DNA先与DNase作用,分解产物中的去氧核糖部分与照射后尿液中某未知成份作用所致。

3.这一未知成份的研究将继续进行。

[本文于1978年11月15日收到]

科技消息

氨基酸的反密码子有多少种?

从DNA和RNA分子的序列分析中,又获得了许多关于氨基酸密码子组成的新资料。发现密码子配对关系的变偶规律(“wobblerule”)对这些资料也适用。由于没有在反密码子的第一个核苷酸位置上发现碱基A,因此根据变偶规律可与61种密码子配对的反密码子只能有54种。

(Science, 198, 4314, p. 319, 1977)

人体体表发光的初步探讨

严智强

张旭良

(中国科学院生物物理研究所) (内蒙卫生防护研究所)

一、引言

人体在新陈代谢过程中,伴随着物质代谢和能量代谢,也存在着伴随这些活动的信息。

新陈代谢的过程中,产生着大量的物理变化和化学变化,或更复杂的变化。在这些变化中都会伴随着电能、热量的变化。如心电图、脑电、肌电的测量,早已广泛应用;红外线(热辐射)测量也得到了应用,热象技术已用于临床。

但是,人体在新陈代谢过程中还伴随着可

见光的产生和变化,这却没有被人们注意到。

我们对人体体表所发出的超微弱的可见光进行了测试,并对正常人与颜面神经麻痹和面肌痉挛患者不同部位、不同穴位上的可见光进行了比较。

二、材料与方法

1. 测试仪器及所测光谱范围

用GDB-52型光电倍增管作探测器,光电倍增管放在一个圆柱形铁管内,密闭,正面有铁



图1 观测体表可见光仪器示意图