

(3) 体模内吸收剂量实验时, 猕猴在笼内以坐姿机会最多, 故按直立式计算体模中心吸收剂量。

$$D_{\text{体模中心}} = R \cdot K \cdot f$$

其中 $D_{\text{体模中心}}$ 为直立式体模中心吸收剂量, 以拉德为单位。

R 为无模型时中心空间照射量。

K 为体模中心照射量与无模型时中心空间照射量之比。

f 为 ^{60}Co 源照射量与吸收剂量的换算因子。

五、结 束 语

本室已运行十三年, 共照射猕猴两批 30 只, 大小白鼠数百只, 情况良好。

从实验动物的放射生物效应来看, 未出现特殊差异情况, 说明在剂量与剂量均匀度方面都能满足实验要求。

根据上述结果, 双点源对于长期累积小剂量猕猴的照射比较合用, 笼内空间剂量场和体

内剂量分布都较均匀, 保证了小剂量实验工作中剂量参数的可靠性。

本方法存在的问题是源强不能保持恒定, 因而剂量率有一定的波动。另外, 由于不同部位的剂量率有差异, 需要每日倒换动物的照射部位, 操作有些不便。

参 考 文 献

- [1] ICRU Report 10e N. B. S. Handbook, 88, 1962.
- [2] Carlson, L. D. et al.: *Rad. Res.*, 7, 190—197, 1957.
- [3] Carlson, L. D. et al.: *Rad. Res.*, 11, 599, 1959.
- [4] Spalding, J. F. et al.: *Health Physics*, 10, 709, 1964.
- [5] Neble, B. R. et al.: *Cytologia*, 28, 81, 1963.
- [6] Boer, J. D.: *Effects of Ionizing Radiation on the Reproductive System*, p. 59, 1964.
- [7] Мейзеров, Е. С.: *Радиобиология*, 2, 578, 1962.
- [8] Гусев, Н. И. и т. д.: *Радиоактивные изотопы как Гамма-излучатели*, 1964.
- [9] 中国科学院生物物理研究所一室: 《生物化学与生物物理进展》, 1975 年, 第 2 期, 第 13 页。
- [10] 中国科学院生物物理研究所一室: 《生物化学与生物物理进展》, 1976 年, 第 2 期, 第 2 页。

[本文于 1979 年 3 月 19 日收到]

$^{60}\text{Co}\gamma$ 线小剂量慢性辐射对大白鼠睾丸辐射损伤的组织学和定量细胞学的观察

沈煜民 李景福

(中国科学院生物物理研究所)

前 言

雄性动物生殖腺——睾丸是对辐射最敏感的器官之一。早期 Lorenz 等人^[1]对小动物的研究, 以及我们对猕猴的实验均证实: 经小剂量射线慢性照射后, 睾丸组织比体内其他组织损伤更明显。这种损伤的规律, 目前还认识不足。因此, 有必要深入地进行研究。本实验试图从睾丸组织的重量变化、组织和细胞的形态改变以及各类生精细胞数量的消长变化等方面观察

其辐射损伤过程, 并探讨小剂量慢性照射对精子发生过程的作用规律。

材 料 和 方 法

实验动物: 采用性成熟雄性 Wistar 种大白鼠, 年龄约 90 天、体重 350 克左右。实验过程中照射组和对照组饲养条件相同。

照射条件: 照射组用 ^{60}Co 中央点源法进行照射。源强为 12 克镅当量。笼架离照射源的距离为 2.94 米。照射于每天晚间进行, 连续照

射 8 小时,剂量为 9.5 拉德。初期受照后第 1, 5, 10 天取材,其后每隔 10 天取材,连续照射时间共 100 天。总累积剂量分别在 9.5 至 950 拉德之间。

实验方法: 照射和对照组平行比较。在每个剂量点上,两组分别随机挑选 7—8 个动物,取出左侧睾丸立即称重。算出两组动物睾丸的平均重量和标准误,并作显著性检验。

两组睾丸称重后分别随机选取 3—4 个睾丸作组织学和定量细胞学观察,整个睾丸用 Zenker-福尔马林液固定。石蜡包埋。组织横切。切片厚度为 5—6 微米。伊红-苏木精染色作组织形态学的观察。PAS-苏木精染色作定量组织学和定量细胞学的测定。

用 Chalkley 氏的随机落点取样法^[2]作睾丸组织内各种组分的相对分布测定,项目包括:精原细胞、精母细胞、精子细胞、未成熟精子、管内空间和管外空间等。在每个切片上随机选择 200 个视野,分别统计 1,000 个落点上的待测项目,算出它们的相对分布和各剂量点上两组动物中各测定项目的平均值和标准误,并作显著性检验。

用直接计数的方法观察精小管内各类精原细胞和精母细胞数量的变化。按照 Clermont 的十四期精小管的分期方法^[3],选择一定时期的精小管在油镜下分别对各类细胞进行计数统计。A 型精原细胞在各期的精小管中都存在,因此,在各个动物中分别选取 30—70 个圆型精小管进行计数。中间型精原细胞, B 型精原细胞和 L 型、Z 型精母细胞分别出现在 II、III、IV 期, V、VI 期和 IX、X、XI 期的精小管中,因此,对这三类细胞的计数是分别在以上各期的 30—40 个精小管内进行的。算出各类细胞在每个小管中的平均数和标准误,并对两组差异进行显著性检验。

实 验 结 果

一、睾丸的重量变化

实验中两组动物左侧睾丸的重量变化见图 1。对照组在实验期间,睾丸重量保持相对恒

定。平均重 $1.72 \text{ 克} \pm 0.07$ 。照射组在实验早期睾丸重量略高于对照组,但差异不明显 ($P > 0.05$)。随累积剂量的增加,重量迅速下降。从照后 40 天开始(累积剂量为 380 拉德),照射组和对照组之间出现明显的差异($P < 0.05$)。从 380—570 拉德的累积剂量范围内睾丸重量急速下降。累积剂量达 665 拉德时,下降到最低点。其后至实验结束,一直维持在最低水平上。此时照射组动物睾丸的重量约为对照组重量的三分之一。

二、睾丸组织形态学的观察

正常动物的睾丸中 A 型精原细胞大致归为

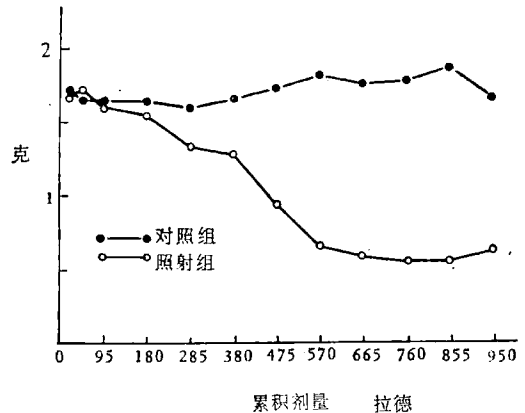


图 1 受照后大白鼠睾丸重量的变化

二类: 一类细胞核为卵圆形,深染,染色质颗粒细小,偶尔可见到一个核仁。这类细胞的数量稀少,存在于各期的精小管中。另一类细胞核是圆形或卵圆形,染色浅,大小不一。染色质分散成细小颗粒,颗粒有时聚集成堆。可见到 1—3 个核仁。一般认为前者是精原干细胞,后者是增殖或分化的 A 型精原细胞。

正常睾丸组织中,支持细胞在精原细胞间稀疏分布,数量较少,细胞界线不明。

在照射组动物中,累积剂量小于 47 拉德的各组睾丸组织的形态结构与对照组比较并无差别。从 95 拉德组开始,精小管内退化、坏死的精原细胞、精母细胞数目稍有增加。这些细胞有核固缩,核空泡,核溶解等异常变化。在减数分裂中精母细胞有时亦出现染色体桥等畸型改变。从 190 拉德组开始精小管内生精细胞数量

渐趋减少。当累积到 380 拉德时,精子细胞和未成熟精子均还存在。除精原干细胞外,其余各类精原细胞几乎消失殆尽。精母细胞亦只有少量存留。此时,精小管管壁开始皱缩,管径缩小,基膜上的支持细胞相对增多。从 475 拉德开始精小管上述的退行性变化更为加重,不但精子细胞数量减少,而且出现大量退化型和坏死型细胞。由精子细胞所组成的合体细胞亦在精小管内大量出现(图 2、3 见图版 IV)。合体细胞大小不一,胞质内含有多个精子细胞核,其数量从 2 个到 10 个不等,最多可达 15 个以上。在 PAS-苏木精染色的标本上,合体细胞内覆盖在精子细胞核上的顶体系统清晰可辨,其中有些核出现空泡或呈溶解状态。从 570 拉德开始,动物的精小管高度退化(图 4 见图版 IV)。随累积剂量的增加退行性改变更为明显(图 5 见图版 IV)。此时在睾丸切片上精小管排列紧密,精小管的基膜有时稍有增厚。精小管内只剩下支持细胞和个别精原干细胞,管腔内亦见到退化后脱落的支持细胞。在 855—950 拉德的照射动物中,尚能见到精原干细胞存在,有时还能见到它们的分裂(图 6、7 见图版 IV)。

实验后期,照射组动物中睾丸间质细胞成份略有增多。间质内的分泌物和渗出物亦有增加。在整个实验中没有见到睾丸的血管系统有明显的改变。

三、睾丸内各种成份的相对分布测定

用 Chalkley 氏随机落点取样法测定的结果

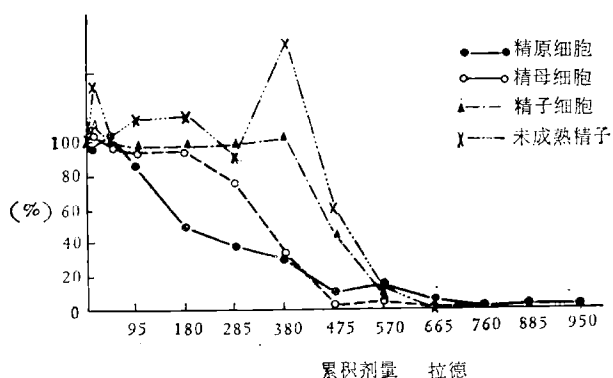


图 8 受照后大白鼠各类生精细胞数量的相对改变
(生精细胞数量的相对变化以照射组动物占对照
组动物的相对分布百分率表示)

表明:在整个实验中对照组动物各种测定项目的数量保持相对恒定。照射组在照后不同时期,睾丸内各种成份的相对分布有明显的改变。为便于比较,用各剂量点上各类生精细胞的分布情况分别用照射组占对照组的相对分布百分率来作图表示(图 8)。从图 8 可见,照射后精原细胞的相对分布百分率在实验早期略有波动。照后 5 天,累积剂量为 47.5 拉德时,精原细胞相对数量照射组高于对照组。但这种差异并无统计学的显著性($P>0.05$)。从照后 10 天开始,随着累积剂量的增加,相对百分率很快减少,曲线急速下降。在照后 20 天,照射组和对照组数量之间出现明显差异($P<0.01$)。累积剂量 665 拉德时,精原细胞的相对数为对照组的 6% 左右。此后曲线保持平直。累积剂量 950 拉德时精原细胞相对数仅为对照组的 3%。

精母细胞、精子细胞和未成熟精子的相对数量在照后第一天都略高于对照组,但差异都不显著($P>0.05$)。其后这些细胞都有一段时期维持相对恒定。精母细胞、精子细胞和未成熟精子的相对数量分别在照后 20 天,40 天,50 天依次减少,并在照后第 70 天全都接近于零。与对照组比较,上述三类细胞相对数量的减少分别在照后 30 天,60 天,60 天出现显著差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

此外,支持细胞的相对数量随精原细胞数量的减少反而增加。剂量达 285 拉德时,照射与对照之间已有非常显著差异($P<0.01$)。

管内空间和管外空间的相对数量随生精细胞的减少而有相对的增加。

四、细胞的直接计数

从上可见,照射组动物的生精细胞在照后 50 天已接近枯竭。因此,我们只在照后 40 天内对精原细胞和精母细胞的数量变化进行观察,并以照射后每个精小管中各类细胞数占对照组每个精小管中相应细胞的百分比表示(图 9)。

对照组动物的每个精小管内各类精原细胞和 L 型、Z 型精母细胞的平均数均保持相对恒定。照射组动物在照后的第一天上述各

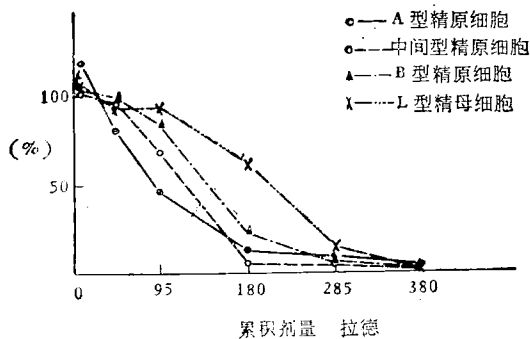


图9 受照后大白鼠各类精原细胞和精母细胞的数量变化
(依照后每个精小管中各类细胞占对照组每个精小管中相应细胞数的百分比表示)

类细胞的平均数量都略高于对照组,但差异并不显著 ($P>0.05$)。A型、中间型、B型精原细胞和L型、Z型精母细胞的数量分别在照后的5天,10天,20天相继减少,各细胞的曲线依次下降。并在照后的10天,20天,30天两组细胞数量分别有显著差异 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。累积剂量达380拉德时,A型、中间型、B型精原细胞和L型、Z型精母细胞在每个精小管中的数量分别为对照组的4%,1%,1%,1%。

分析与讨论

一、睾丸重量减轻与生精细胞消失的关系

小剂量慢性辐射效应的研究中,受照动物睾丸重量的改变是观察机体辐射损伤效应的一个重要指标^[1,4,5]。综合本实验中受照动物睾丸重量和细胞学的资料可以发现:在连续照射的40天内(累积剂量在380拉德之内),睾丸重量的缓慢下降是和各类精原细胞及大部分精母细胞的数量减少有关。受380拉德照后,睾丸重量的急速下降是与精母细胞数量的继续减少以及精子细胞和未成熟精子的完全丧失有关(见图8、9)。在正常睾丸中各类生精细胞所占的数量比例有很大差别,这些细胞在照后不同时期的消减,使睾丸重量的曲线图形呈现不同的陡度。当睾丸组织内仅留存结缔组织,支持组织和个别精原干细胞时,睾丸重量曲线呈现平坦的延伸。因此睾丸重量曲线图形的变化反映了受照睾丸内各类生精细胞的消减情况。

二、关于精原干细胞的耐辐射问题

本实验定量细胞学的观察中,把精原干细胞和分化,增殖的A型细胞合并为A型精原细胞进行统计计数。生精上皮受照后A型精原细胞的数量最先减少,并急速下降。在实验后期生精上皮中唯一能保存下来的生精细胞亦是A型精原细胞。而且在累积剂量达855拉德时,尚能见到这类细胞的分裂。这类精原细胞无论形态特征或耐辐射性都是和Clermont^[7], Huc-kins^[8,9]所描写的A₀(或A_s)精原干细胞的特征相一致。这类细胞在萎缩的精小管中存在,预示着受损后的生精上皮在停照后尚有修复的可能性。

三、引起生精细胞枯竭的原因

生精细胞枯竭过程具有下列规律:

(1) 受照后各类生精细胞的数量是按它们在精子发生过程中的发育顺序依次减少的;

(2) 当前一发育阶段的生精细胞数量减少时,由它发育而来的其后各发育阶段细胞数量仍然保持相对的稳定;

(3) 精子发生过程中,两类发育阶段的细胞在照后相继出现数量减少的间隔时间是和它们在正常发育中经历的时间^[10]大致相等。大白鼠一个完整的精子发生过程大致需要50—60天。本实验中,从照射开始到精子完全消失的时间大致是60天左右。

综上所述,本实验条件下辐射造成生精细胞的枯竭,主要是由于射线损伤了增殖和分化的A型精原细胞;中间型以后的各发育阶段的细胞大部分还是按正常速度继续分化,发育的。因为在精子发生的早期阶段射线就阻断了连续的生精过程,最终导致生精细胞的枯竭。

结 论

1. 大白鼠在每天9.5拉德的剂量下慢性照射,睾丸有明显损伤,表现为重量减轻,体积缩小,生精细胞逐渐减少,最后造成生精细胞的枯竭,睾丸严重萎缩。

2. 睾丸重量的下降与生精细胞的丧失是相关的。两者与照射的时间,累积剂量的大小有

密切的关系。

3. 在小剂量慢性照射下, 生精细胞数量按它们在精子发生过程中的发育顺序依次减少。精原干细胞具有耐辐射的特性。支持细胞和间质细胞对辐射具有高度的耐辐射性。

4. 本实验条件下, 辐射引起生精细胞枯竭的主要原因初步认为是, 射线损伤了增殖和分化的A型精原细胞: 中间型以后的各发育阶段细胞仍按正常的速度继续分化, 发育。因在精子发生过程的早期连续的生精过程受到阻断, 而造成生精细胞的逐渐枯竭, 最后导致精小管和睾丸组织的严重萎缩。

参 考 文 献

- [1] Lorenz, E. et al.: *Radiology*, 49, 274, 1947.
- [2] 施履吉: 《定量组织学实验技术》p. 139, 1964.
- [3] Clermont, Y. et al.: *Amer. J. Anat.*, 93, 475, 1953.
- [4] Eschenbrenner A. B et al.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 9 133, 1948.
- [5] Kohn, et al.: *Brit. J. Radiology*, 17, 586, 1954
- [6] Nebel, B. R.: *Cytologia*, 28, 81, 1963.
- [7] Clermont, Y. et al.: *Amer. J. Anat.*, 122 237, 1968.
- [8] Huckins, C.: *Anat. Rec.*, 169, 533, 1971.
- [9] Huckins, C.: *Cell Tissue Kinet.*, 4, 139, 1971.
- [10] Dym, M. et al.: *Amer. J. Anat.*, 128, 265, 1970.
- [11] Clermont, Y.: *Physiol. Rev.*, 5, 198, 1972.

[本文于1979年2月5日收到]

竞争性蛋白质结合分析法测定血清 甲状腺素的两种方法

王仁芝 宋兰芝 胡纽秋
严敏官 侯桂珍 姚敏仁

(中国科学院生物物理研究所)

本文介绍两种测定血清甲状腺素的竞争蛋白质结合分析法:

(一) 葡聚糖凝胶 G-25 (Sephadex G-25) 微柱法(以下简称“方法 I”)。

(二) 碱-热变性内源甲状腺素结合球蛋白法: 采用 0.2N 的 NaOH, 60℃ 温育 30 分钟变性内源 TBG 的方法(以下简称“方法 II”)。

应用两种方法, 测定了一定数量的正常人血清甲状腺素(T_4)值范围, 以及部分甲状腺功能亢进和功能低下患者的 T_4 值。

按本法用放射性同位素做体外测定, 所受干扰因素少, 方法灵敏准确, 优越于吸碘试验和蛋白结合碘等的测试方法。另外, 方法简便, 易于掌握, 不用免疫动物, 不需大型设备, 利于推广普及, 适用于临床。同时它也是检查动物甲状

腺功能的可靠手段, 适用于生物学和医学实验研究。

材 料 与 方 法

一、试剂

1. ^{125}I -甲状腺素: (^{125}I - T_4) 由中国科学院原子能研究所供应。放射比度为 40—50 微居/微克 T_4 。用 80mM NaOH (方法 I) 及 20% 1,2-丙二醇稀释(方法 II) 250—1,000 倍。

2. 巴比妥缓冲液: 75mM, pH 8.6。

3. 甲状腺素标准液 (T_4 标准液, 1 毫克/毫升): L- T_4 (匈牙利产品) 25.0 毫克溶于 1.5 毫升 80mM NaOH 溶液中, 用 20% 丙二醇稀释至 25.0 毫升。分装、冰冻保存。可用半年。

使用前, 用巴比妥缓冲液稀释为: 0、2.0 (或

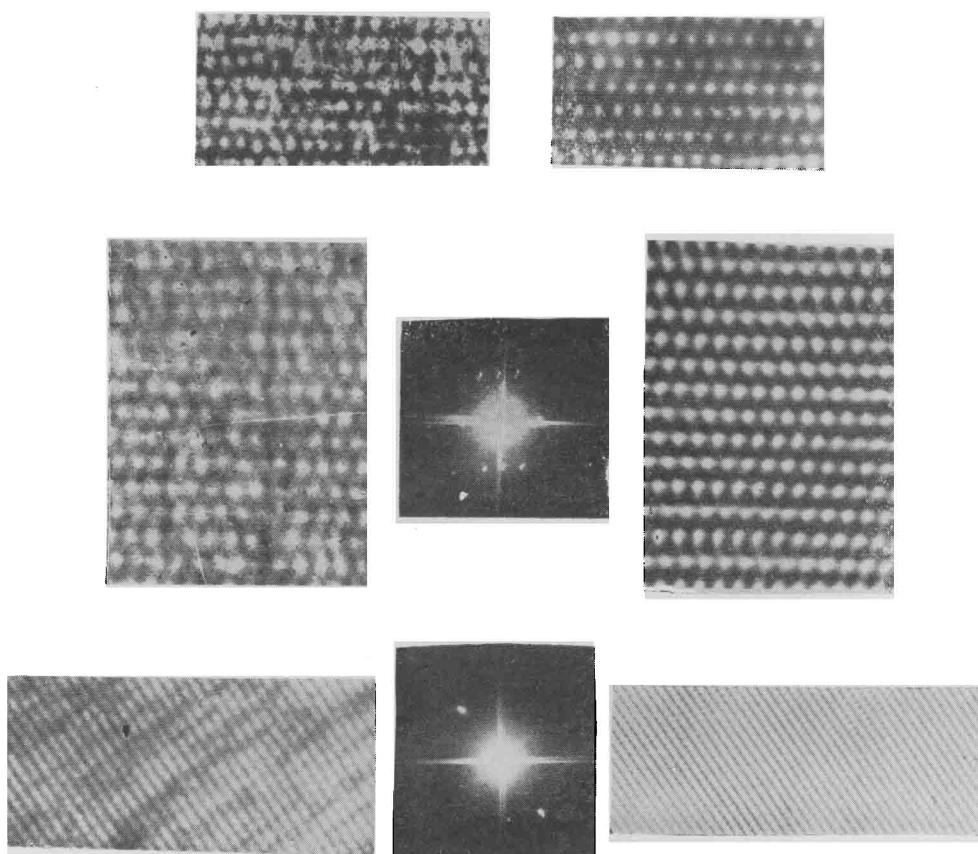


图 1 利用非相干光系统处理与不处理的结果比较

(a) 处理前的电子显微镜图象

(b) 处理后的电子显微镜图象

图 2 利用相干光系统处理与不处理的结果比较

(a) 处理前的电子显微镜图象

(b) 图象的光学衍射图

(c) 处理后的电子显微镜图象

图 3 利用相干光系统处理与不处理的结果比较

(a) 处理前的电子显微镜图象

(b) 图象的光学衍射图

(c) 处理后的电子显微镜图象

注：文中所有图片尺寸比例不是1:1