

低剂量 ^{60}Co γ 线对淋巴细胞环核苷酸和 DNA 水平的影响

于志洁 王宗伍 韩玲 陈铁河 潘予沙 苏福强

(海军医学研究所,上海)

辐射损伤晚后效应包括出现恶性新生物,机体老化,免疫功能异常,染色体畸变等^[1-3]。其中免疫功能低下是形成病变的基础,故研究射线对机体免疫系统的作用对了解辐射损伤,及探索防治措施至为重要。

淋巴细胞是构成机体免疫系统重要组成部份,承担细胞免疫和体液免疫功能。本文报告低剂量 γ 线对动物外周血淋巴细胞环核苷酸和 DNA 水平的影响。

材 料 和 方 法

一、材料

1 动物 长耳白兔,64 只,雄性,体重为 $2.55 \pm 0.41\text{kg}$ 。

2. 照射条件 ^{60}Co γ 线外照射,一次全身照射的剂量率为 26.5R/分 ,分次全身照射的剂量率为 0.25R/分 。

二 实验方法

1. 正常值测定 以 1—3 个月内的三批共 15 只正常兔子的 9 次测定值,及 49 只兔子照前半月内的 3 次测定值的平均数作为正常值。

2. 实验分组:

(1) 一次全身照射实验: 25 只兔子,分 5 组,即正常组(不照射)、50、100、200、300rads 照射组。

(2) 分次全身照射实验: 25 只兔子,分 5 组,即正常组(不照射)、每天照射 5rads 累积剂量为 50、100、200、300rads 组。

(3) 分次全身照射并给外源性 cAMP 实验: 14 只兔子,分 3 组,即正常组(不照射)、对照组(照射并肌注注射用水)、治疗组(在全身照射 1—5 天,11—15 天,

21—25 天肌注 cAMP 水溶液 $5\text{mg/kg}/0.5\text{ml/天}$,分别称为第 1、2、3 疗程)。

3. cAMP、cGMP 及 DNA 测定

照后 2 小时、1、3、7、14、21、29 天测定下述指标。

(1) 淋巴细胞 cAMP、cGMP 含量: 取耳静脉血 2ml, EDTA-Na 抗凝。用淋巴细胞分离液(比重为 1.077)分离,得淋巴细胞浓度约 $4.0 \times 10^6/\text{ml}$ 。淋巴细胞沉淀加 6% 三氯醋酸 0.5 消化,分离,取上清用水饱和和乙醚洗涤 4 次。取水相用放射免疫法测定 cAMP、cGMP 含量。

(2) 淋巴细胞 DNA 含量: 淋巴细胞沉淀用 0.2N 过氯酸消化。90℃ 水浴保温 15 分钟,过滤,滤液在 260nm 中测光密度。

(3) T 淋巴细胞 DNA 合成率: 取肝素化静脉血 50 μl ,加入 0.4ml RPMI 1640 培养液中,加 PHA $1\mu\text{g}/\text{ml}$,置 $39 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 保温 72 小时。保温期间加 $^3\text{H-TdR}$ $1.2\mu\text{Ci}$ 。保温后置纤维滤纸上,经生理盐水、5% 三氯醋酸、无水乙醇洗涤,30℃ 烘干,测 cpm 计数。

实 验 结 果

一、一次全身照射对淋巴细胞环核苷酸和 DNA 的影响

1. 照后 30 日内动态变化

各组照前值无明显差异。照前值: cAMP $3.19 \pm 0.80\text{pmol}/10^6$ 细胞 ($\bar{x} \pm \text{SD}$, 下同), cGMP $0.28 \pm 0.08\text{pmol}/10^6$ 细胞, DNA 含量 $70.16 \pm 25.78\mu\text{g}/10^6$ 细胞, DNA 合成率 $4.49 \pm 0.24\text{cpm/分}$ (10g)。

参 考 文 献

- [1] 黄芬: 《生物科学参考资料第十三集》, 科学出版社, 143, 1981。
- [2] Macmurray, T. A., et al.: *J. Sci. Food Agric.*, Vol. 21(10), 520, 1970.
- [3] Clayton, T. A., et al.: *J. Chromatog.*, 47, 277, 1970.

- [4] Folch, J., et al.: *J. Biochem.*, 226, 497, 1957.
- [5] Malpress, F. H., et al.: *Nature*, 164, 963, 1949.
- [6] Berzelson, L. D. (Ed.): *Lipid: Biochemical Preparations*, 250, 1980.
- [7] Carter, H. E., et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, 178, 3735, 1956.

[本文于 1985 年 7 月 10 日收到]

如图1所示, 50和100 rads组 cAMP、cGMP 在照后1天明显升高 ($p<0.05$), 3天后变化不明显。DNA 无明显变化。200rads 组于照后2小时所观测指标均出现明显变化。照后1天达高峰 ($p<0.05$ 或 $p<0.01$)。照后7天逐渐趋于正常。300rads 组变化与200rads 组类似。

2 指标变化与剂量的关系

图1表明一次照射不同剂量, 使淋巴细胞 cAMP、cGMP、DNA 含量升高及 DNA 合成率降低。变化幅度与剂量有关。表1可见随照射剂量增加而恢复时间后移。

图1也显示随着照射剂量增加, cAMP/cGMP 比值降低。其中50rads 组明显升高。其余各组在照后2小时、3、14、21天都有降低峰。降低程度与剂量有关。200、300rads 组在照后29天仍明显低于正常。

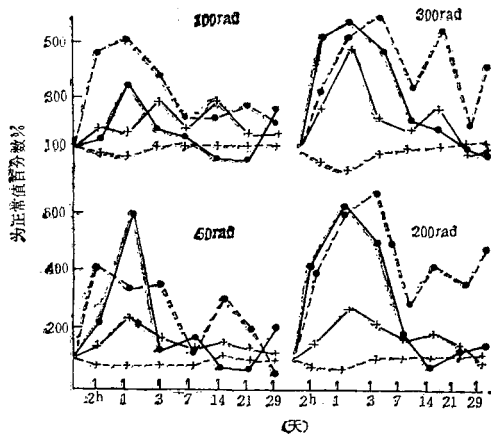


图1 一次照射后30日内淋巴细胞环核苷酸和DNA变化
---cAMPcGMP ×——×DNA 含量 ×——×DNA 合成

表1 一次照射不同剂量淋巴细胞环核苷酸和DNA变化的恢复(照后天数)

	cAMP	cGMP	DNA 含量	DNA 合成率
50rads 组	3	7	3	3
100rads 组	3	7	7	7
200rads 组	7	21	7	14
300rads 组	21	29	21	21

二、分次全身照射对淋巴细胞环核苷酸和DNA的影响

1. 照射后30日内的动态变化

各组照前值无明显差异。cAMP $3.49 \pm 1.30 \text{ pmol}/10^6$ 细胞, cGMP $0.36 \pm 0.09 \text{ pmol}/10^6$ 细胞, DNA 含量 $119.95 \pm 20.74 \mu\text{g}/10^6$ 细胞, DNA 合成率 $4.96 \pm 0.16 \text{ cpm}/\text{分}$ (10g)。

图2表明, 各组的 cAMP 与 cGMP 呈反时相变

化。50、100rads 组的四项指标均低于正常, 但仅照后第1天的 DNA 含量有统计学意义 ($p<0.05$)。200、300rads 组照后第1天 cAMP 明显升高 ($p<0.05$), 300rads 组 cGMP 在照后第7天明显升高。200、300rads 组 DNA 含量开始下降, 第7天逐渐接近正常。200、300rads 组 DNA 合成率下降。200rads 组在第3天明显降低 ($p<0.05$), 300rads 组在第3—7天明显降低 ($p<0.05$)。

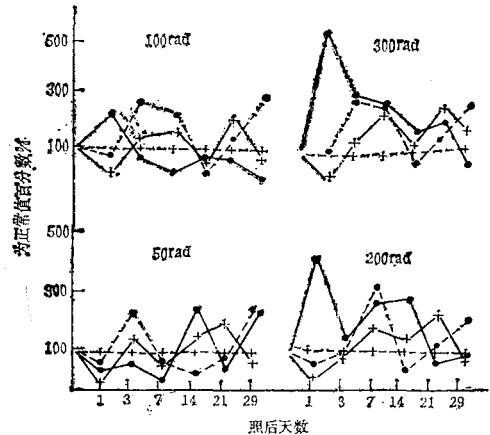


图2 分次照射30日内淋巴细胞环核苷酸和DNA变化
图注同图1

2. 指标变化与剂量关系

图2表明分次照射引起的各项指标变化的幅度, 随着照射剂量增加而变大, 从表2的恢复时间也说明这一点。

表2 分次照射不同剂量淋巴细胞环核苷酸和DNA变化的恢复(照后天数)

	cAMP	cGMP	DNA 含量	DNA 合成率
50rads 组	3	7	3	0
100rads 组	3	14	3	0
200rads 组	14	14	3	7
300rads 组	21	14	7	14

图2也说明 cAMP/cGMP 比值变化。50rads 组与正常类似。100—300rads 组在第1、14天分别出现升高峰。第29天三个组仍低于正常, 但无统计学意义。

三、肌肉注射外源性 cAMP 对分次照射的影响

照前各组无差异。cAMP $4.27 \pm 1.47 \text{ pmol}/10^6$ 细胞, cGMP $0.26 \pm 0.12 \text{ pmol}/10^6$ 细胞, DNA 含量 $102.48 \pm 25.42 \mu\text{g}/10^6$ 细胞, DNA 合成率 $4.81 \pm 0.18 \text{ cpm}/\text{分}$ (10g)。

图3表明对照组的 cGMP、cAMP 变化与上述分次照射类似, 呈反时相变化至21天恢复。治疗组在第2疗程后 cAMP、cGMP 仍呈反时相变化。第3疗程后

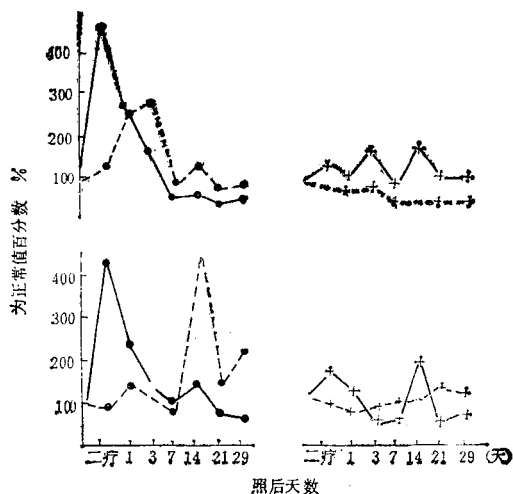


图3 分次照射300rads及肌注cAMP
对淋巴细胞环核苷酸和DNA影响

图注同前

约第1天这种变化不明显,第7天恢复正常。两组DNA在照后第1—3天均有下降,以后逐渐恢复。

四、一次照射和分次照射对淋巴细胞环核苷酸和DNA影响的比较

从图1、2可见:(1)cAMP、cGMP在一次照射呈一致性升高变化,分次照射呈反时相变化,主要引起cAMP增高,cGMP降低。(2)DNA含量在一次照射后最初几天升高,然后降低。分次照射后最初几天降低,然后在正常范围内波动。(3)DNA合成率在两种照射均降低,但一次照射变化早,恢复快。分次照射变化缓慢。

讨 论

有实验报道认为,射线可使体内cAMP含量升

高,cGMP降低^[4-6]。也有人得出相反的结果^[7-9]。有人提出细胞内cAMP含量升高可增强辐射抗力。

本实验观察到一次照射引起cAMP及cGMP一致性升高,分次照射引起反时相变化。同时看到这些变化不仅与照射剂量,剂量率有关。而且与照射方式,指标的测定部位与时间有关。

据报道兔照射4—5R/日,累积350—2039R时抗体形成无障碍^[11]。本实验5rads/日,累积剂量200—300rads时,cAMP、cGMP及淋巴细胞DNA合成率在照后1—7天有明显变化。说明环核苷酸变化与淋巴细胞的DNA合成率的变化有一定关系。有人提出cAMP/cGMP比值可反映体内细胞免疫的变化^[12],并认为环核苷酸变化比DNA合成率变化出现更早。本实验结果支持这一观点。我们认为,观测淋巴细胞环核苷酸含量变化可作为研究低剂量辐射生物效应的灵敏指标。

参 考 文 献

- [1] Cohen A. F. Cohen B. C.: *Health Phys.*, **38**(1): 53, 1980.
- [2] 山田,吉隆谷等: *広島医学*, **34**(1):65, 1981.
- [3] 高风鸣: *《国外医学(第二分册)》*, **1**:32, 1980.
- [4] 程绍均等: *《第二届全国辐射研究学术会议论文摘要汇编》*(下册), p. 121, 1980.
- [5] 赖业复、郭涛年: *军事医学科学院院刊* **2**:173, 1980.
- [6] 沈信谷: *《国外医学》*, **1**:45, 1979.
- [7] 牛惠生: *《第二届全国辐射研究学术会议论文摘要汇编》*, p. 152, 1982.
- [8] 郑秀龙: *《生物化学与生物物理进展》*, **2**:11, 1982.
- [9] Pauseson E.: *Strahlentherapie*, **151**(1—6), 165, 1976.
- [10] Кудряшов: *Радиобиология*, **19**(5) 687, 1979.
- [11] 吉林医科大学编: *《放射医学》*, p. 258, 1976.
- [12] 吴洁: *《中华内科杂志》*, **23**(5):264, 1984.

【本文于1985年5月7日收到】

学术动态

“组织损伤的自由基机理”讨论班

——T. F. Slater 教授在兰州大学讲学

英国 Brunel 大学理学院院长和国际肿瘤研究会学术委员会主席 T. F. Slater 教授应邀于今年3月18日到4月2日在兰州大学讲学;总题为“组织损伤的自由基机理”。主要内容如下:

1. 组织损伤的自由基机理 自由基在组织和细胞中的产生、自由基产量超过组织防御机能时所引起的各种损伤。

2. 脂类过氧化作用在细胞损伤中的意义 脂类过氧化作用的研究方法、脂类过氧化降解产物及其生物学作用、脂类过氧化作用对生物膜脂肪酸成份的变化以及对膜流动性的影响,对酶和代谢的影响,对肝细胞结构和功能的影响。

3. CCl₄ 的肝中毒 卤代烷在工业上的应用及毒性,CCl₄引起的肝中央小管坏死和脂肪肝,CCl₄经过代谢活化生成 CCl₃·自由基,进而生成更加活泼的 CCl₃OO·,对肝中毒的防护,CCl₄引起的肝炎和肝癌。

4. 自由基对肝脏的损伤。

5. 癌变的自由基机理 在肿瘤诱发、促进和扩展过程中的自由基,自由基对DNA结构的改变以及对DNA修复机理的影响,自由基对肿瘤基因的影响,人类原发性肝癌及宫颈癌的自由基机理,花生四烯酸类代谢对肿瘤转移的意义。

(下转第73页)