

淋巴细胞转化过程中三种大分子的合成代谢

苏燎原 薛智谋 刘克良 冯纪辛

(苏州医学院放射医学系)

诸荣恩 周康德 周有宁

(苏州医学院附属第一医院)

用放射性同位素示踪技术测定淋巴细胞转化,可以更深入地探讨淋巴细胞在增生分裂时的代谢过程,有效地反映细胞中 DNA、RNA 和蛋白质的合成能力。我们用 ^3H -胸腺嘧啶核苷 (TdR) 掺入 DNA、 ^{14}C -尿嘧啶核苷 (UR) 掺入 RNA 和 ^{14}C -缬氨酸掺入蛋白质的方法来观察肺结核和血液病患者淋巴细胞在转化过程中合成代谢的变化,同时对三种标记化合物掺入结果进行比较。

一、实验方法和结果

(1) ^{14}C -缬氨酸掺入实验 肝素抗凝静脉血 0.2 毫升,加到 2 毫升既无缬氨酸又不加血清的 Eagle's 培养液中,于 37°C 孵育 8 小时,注入 ^{14}C -缬氨酸 $1\mu\text{Ci}$,继续培养 24 小时。结束时,加 6 毫升蒸馏水低渗破坏红细胞,然后将此转移到 49 型玻璃纤维滤膜上过滤,再用生理盐水,三氯醋酸各 5 毫升洗涤,无水乙醇 3 毫升漂白,滤膜置 60°C , 30 分钟烘干,放入二甲苯闪烁液 (PPO 0.4% POPOP 0.04%) 内用 FJ-353 型液体闪烁计数器测量,每份血设三个平行样

表 1 ^{14}C -缬氨酸掺入各类病人淋巴细胞的 cpm (均值±标准差)

组 别	例数	0.2 毫升血	P	10^5 淋巴细胞	P
正常对照	26	5636±1600		1905±581	
肺 结 核	35	4496±1216	<0.01	1415±534	<0.01
急性白血病	35	2617±1866	<0.01	1342±804	<0.01
贫 血	9	2963±1402	<0.01	1346±462	<0.05

表 2 ^{14}C -缬氨酸掺入急性白血病患者淋巴细胞的 cpm (均值±标准差)

组 别	例数	0.2 毫升血	10^5 淋巴细胞
急性粒细胞性白血病	11	3911±2254	1492±705
急性单核细胞性白血病	11	1832±1088	1272±797
急性早幼粒细胞性白血病	7	1841±970	1378±1045
急性淋巴细胞性白血病	6	2588±2034	1150±846

品,测定数据取平均值,以 0.2 毫升血每分计数 (cpm) 表示之,按照血象分类计数换算成 10^5 淋巴细胞的 cpm 值,结果见表 1。

表 3 ^{14}C -UR ^3H -TdR 掺入肺结核患者淋巴细胞的 cpm (均值±标准差)

组 别	例数	0.1 毫 升 血				10^5 淋 巴 细 胞				
		^3H -TdR	P	^{14}C -UR	P	^3H -TdR	P	^{14}C -UR	P	$^{14}\text{C}/^3\text{H}$
正常对照	25	34164±12764		9810±3868		21755±8238		6282±2916		0.29
肺 结 核	27	26675±11208	<0.05	6062±3324	<0.01	16966±7825	<0.05	3828±2441	<0.01	0.22

其中 35 例急性白血病患者分类进行比较, 结果见表 2。

(2) ^3H -TdR 和 ^{14}C -UR 双标记掺入实验 将以上肺结核患者及正常人的肝素抗凝静脉血 0.1 毫升加到 2 毫升 Eagle's 培养液中 (AB 血清 13%), 37°C 孵育 54 小时, 注入 ^3H -TdR 0.6 μCi 和 ^{14}C -UR 0.15 μCi , 继续培养 16 小时, 制样方法和平行样品数同上, 液体闪烁测量条件及数据处理按双标记测定法^[1], 结果见表 3。

二、讨 论

结核杆菌是一种细胞内的寄生菌, 当机体感染后, 尽管血清中已产生大量的对应抗体, 但疾病仍继续进行。后来有人证明结核杆菌的免疫可通过淋巴细胞被动转移而实现, 又有证明结核杆菌致敏的淋巴细胞释放的淋巴因子能促进大吞噬细胞吞噬和消化结核杆菌的能力, 从而确定了结核病的免疫主要是细胞免疫。

35 例肺结核病人以 0.2 毫升血或以淋巴细胞数计算 ^{14}C -缬氨酸的掺入都比正常对照显著降低, 反映淋巴细胞蛋白质合成显著减少。而蛋白质合成已被证实是淋巴细胞分裂转化所必需^[2], 故实验结果反映了结核病人细胞免疫力的显著降低。这是罹患肺结核病的重要原因。

一般认为 DNA 合成是细胞分裂繁殖的物质基础, RNA 在 DNA 的模板基础上合成, 它又决定着蛋白质的合成, 因之细胞内三种大分子的合成代谢是紧密相关, 相互制约的。RNA 合成的速度由细胞的生长速度来决定的, RNA 对 DNA 的比值亦随生长速度呈现高低的变化^[3]。本文双标记掺入实验按血量及细胞数两项指标计算都反映了肺结核患者淋巴细胞 DNA 合成能力的显著下降, 而 RNA 合成能力的降低达到更显著的程度, $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ 比值由正常的 0.29 降为 0.22。这些都是淋巴细胞分裂繁殖受抑的重要标志。DNA, RNA 和蛋白质合成的降低的一致, 尤其是后两者的变化都达到 $P < 0.01$ 的水平, 说明关系更加密切。充分反

映以上两种实验的三项掺入是相辅相成, 互补印证的。尤应指出 ^{14}C -缬氨酸掺入实验具有培养时间短, 减少污染及不用血清等优越性。

35 例急性白血病患者都处在化学治疗前期, ^{14}C -缬氨酸掺入显著减少, 按两项指标计算均获同样结果, 与过去我们用 ^3H -TdR 掺入法测定的结果^[4]是一致的。一般认为淋巴细胞对肿瘤细胞有杀伤作用, 当其免疫功能降低, 不能控制细胞的连续突变时, 就会发生癌变。

从各种类型白血病人的 ^{14}C -缬氨酸掺入计数按 10^5 淋巴细胞的 cpm 值比较: 急性粒细胞性白血病较高, 其次为急性早幼粒细胞性、急性单核细胞性和急性淋巴细胞性, 这与某些报道相似^[5]。因例数尚少, 未作差异显著性统计。

贫血患者包括四例再生障碍性贫血、四例溶血性贫血, 一例待查, 其淋巴细胞掺入的 ^{14}C -缬氨酸比正常显著减少, 这种细胞免疫力的变化是贫血的原因或是后果? 因例数尚少, 有待进一步研讨。

小 结

应用三种放射性同位素标记化合物掺入实验以反映淋巴细胞转化时三种大分子的合成代谢, 实验发现 35 例肺结核患者 ^{14}C -缬氨酸, ^3H -TdR 和 ^{14}C -UR 掺入均显著减少, 反映了蛋白质、DNA 和 RNA 的合成能力显著降低, 说明三者的变化是一致的, 有效地反映了细胞免疫能力下降。急性白血病与贫血患者亦表现为 ^{14}C -缬氨酸掺入活性降低。

参 考 文 献

- [1] 苏燎原等:《核技术》, 1979 年。第 3 期, 第 88 页。
- [2] Milner, J.: *Nature*, 272, 628, 1978。
- [3] Canellakis E. S.:《生物化学的动态(译文集)》(赵升皓等译), 1966 年。第 74 页。上海科技出版社。
- [4] 苏燎原等:《生物化学与生物物理学报》, 1977 年。第 4 期, 第 383 页。
- [5] 胡洁等:《新医学》, 1976 年。第 2 期, 第 59 页。

[本文于 1981 年 3 月 30 日收到]