

而很可能是由于这些分子妨碍了抗原-抗体分子间的接触。牛血清白蛋白、聚乙烯吡咯烷酮的“抑制”作用亦可能是这样。

血清中还可能促进非特异性凝集的因素。致敏乳胶遇到未经稀释的正常人血清会产生非特异性凝集,用生理盐水稀释的正常人血清亦能使乳胶产生非特异性凝集,说明血清中的盐离子可能就是这种因素之一,也可能还有一些促进凝集的大分子,经 DEAE 纤维素纯化得到的球蛋白致敏乳胶,能引起非特异性凝集就是例证。

碳酸锂-碳酸氢钠缓冲液可抑制非特异性凝集。碳酸钠-碳酸氢钠或碳酸钾-碳酸氢钠缓冲液亦有抑制非特异性凝集的作用,三者之中,那样更好?有待进行详细比较。碳酸盐缓冲液抑制乳胶非特异性凝集很可能是一个普遍的现象,有可能将它应用到其它乳胶凝集反应中去。

## 小 结

1. 本文介绍了乳胶凝集测定甲胎蛋白的方法。用碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠溶液稀释血液

(血清或全血),再与纯化的兔抗人甲胎蛋白血清致敏的乳胶起反应,可防止或减少非特异性凝集。可测出 1~2 微克/毫升血清甲胎蛋白。

2. 待测血样中既有抑制乳胶凝集的因素,又有促进乳胶凝集的因素。

3. 对乳胶凝集反应的原理,结合稀释液和血清中的抑制和促进因素进行了讨论。

本工作承上海市第六人民医院检验组、上海市生物制品研究所血源组、上海市第一医学院中山医院等单位,以及杨正洪、施渭康等同志大力协作,特此致谢。

## 参 考 资 料

- [1] 施渭康等:《上海实验生物所成果汇编》,1972年。
- [2] Гусев, А. И.: Бюлл. Экспер. Биол. Мед., 4, 120. 1969.
- [3] 上海市肿瘤防治研究协作组:《中华医学杂志》,1973年,第8期,第454页。
- [4] 顾国彦等:《肿瘤防治研究》,1974年,第2期,第22页。

[本文于 1976 年 4 月 9 日收到]

# 电离辐射对人血淋巴细胞转化能力的影响

苏州医学院卫生系第三教研组

电离辐射作用于机体,可以引起一系列变化,但究竟哪些变化是辐射损伤所特有的,而且在较小的辐照剂量即能产生反应,便于早期发现放射损伤,这是人们所关注的问题,是放射医学领域中的一个迫切需要解决的问题。在我们先前的实验中<sup>[1,2]</sup>证实,X线照射后血细胞脱氧核糖核酸(DNA)减少,并随剂量增加而显著降低,这是由于DNA合成减少及分解加剧所造成。一般认为,DNA合成的变化是辐射损伤最敏感的指标之一。本实验就这方面进行探索,采用人血在体外分别接受X线和 $\gamma$ 线照射后进行培养,用<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷作掺入DNA的

实验(以反映DNA合成 $\rightarrow$ 淋巴细胞转化),然后用液体闪烁计数器测量<sup>3</sup>H掺入的放射性,了解受照后剂量-效应的规律,以便进一步研究整体接受照射时所发生变化的规律性。

## 一、X线对人血淋巴细胞转化能力的影响

### 方法和结果

应用男性健康输血者血液,以肝素抗凝,置消毒小瓶内,进行X线照射。照射条件为:深部X线治疗机,电压140千伏,电流10毫安,表面焦距30厘米,滤片为3毫米铝,剂量率120仑

琴 (r)/分。照射后立即分装培养,按本组建立的  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷测定血淋巴细胞转化的方法<sup>(3)</sup>进行,最后 DNA 提取液 0.2 毫升加入 10 毫升闪烁液中,用国产 FJ 353 型双道液体闪烁计数器测量。每次实验的测量数据按 B 道计数减本底计数进行统计处理。

1. 较大剂量照射引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入 DNA 的变化见表 1。将表中数据按  $y = \sqrt{x}$  变换进行方差分析,结果  $F = 45.47, P < 0.01$ 。

表 1 各组血样放射性测量结果

组别	样品数	均数±标准差 (计数/分)	各照射剂量组的计数均数相当于对照组计数均数的%
对照组	5	1400.40±349.2	100
250r	4	883.25±99.7	63
500r	5	374.00±99.2	27
1000r	3	178.00±29.8	13

分析结果表明:各组的计数均数间有非常显著的差异。再用 Keuls 氏检验法比较各组均数间的差别,除 500r 与 1000r 两组均数间差别显著外 ( $0.05 > P > 0.01$ ),其他各组均数间的差别均非常显著 ( $P < 0.01$ )。各种照射剂量与放射性计数的对数间呈直线关系(见图 1)。

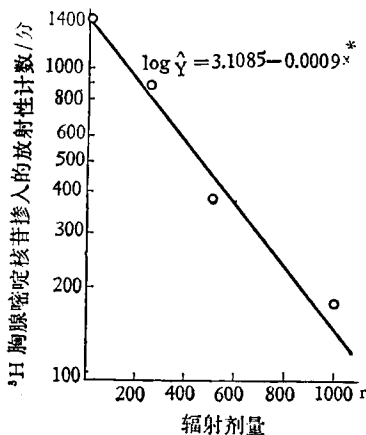


图 1 X 线照射剂量与 DNA 合成的关系  
(根据表 1 制图)

\* 由加权直线回归法求得以照射剂量(x)为自变量,  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入的放射性计数的对数(log y)为倚变量的直线回归方程。

2. 中小剂量照射引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入 DNA 的变化(见表 2)。

表中数据按上法处理  $F = 25.44$ , 即  $P <$

表 2 各组血样放射性测量结果

组别	样品数	均数±标准差(计数/分)	相当于对照的%
对照组	3	977.00±64.2	100
25r	3	916.33±25.7	94
50r	2	869.50±68.6	89
100r	2	794.50±27.6	81
200r	3	782.33±116.6	80
400r	3	427.00±52.7	44

0.01。表明各组均数间有非常显著差异。按 Keuls 氏检验法比较对照与各组均数间的差别,除对照组与 400r 有非常显著差异外,其余差别尚不显著。

3. 进一步测定中小剂量照射引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入 DNA 的变化,增加各组的样品数,先后进行了两批实验,结果见表 3。

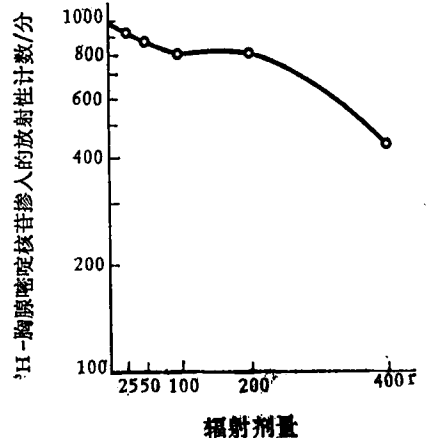


图 2 X 线照射剂量与 DNA 合成的关系  
(根据表 2 制图)

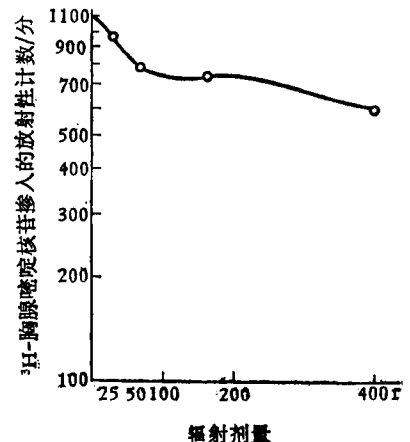


图 3 X 线照射剂量与 DNA 合成的关系  
(根据表 3、实验 1 制图)

表3 各组血样放射性测量结果\*

实验次数	对照组		25.6r		64r		160r		400r		F 测验
	样品数	均数±标准差 (计数/分)	样品数	均数±标准差 (计数/分)	样品数	均数±标准差 (计数/分)	样品数	均数±标准差 (计数/分)	样品数	均数±标准差 (计数/分)	
1	8	1098 ±290.8	8	951 ±225.4	6	782 ±204.9	8	733 ±133.0	8	584 ±164.9	P<0.01
2	7	1420 ±345.3	8	1155 ±325.9	6	1016 ±282.6	6	1035 ±119.6	7	654 ±182.9	P<0.01

\* 照射条件: 电压 180 千伏, 电流 10 毫安, 滤片铜 0.5 毫米+铝 1 毫米, 剂量率 42r/分

方差分析结果表明: 两次实验各组的均数间有非常显著的差异。再用 Keuls 氏检验法比较对照与照射各组的均数间的差别, 第一次实

验对照与 64r、160r、400r 组均数间的差异显著。第二次实验对照与 64r、400r 组均数间的差异显著。

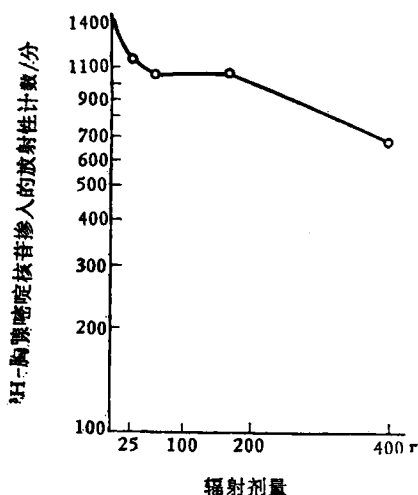


图4 X线照射剂量与 DNA 合成的关系 (根据表3、实验2制图)

## 二、<sup>60</sup>Co γ 线对人血淋巴细胞转化能力的影响

### 方法和结果

应用八例男性健康者血液, 以肝素抗凝, 置消毒小玻璃瓶内, 进行 <sup>60</sup>Co 照射。照射条件: <sup>60</sup>Co 治疗机, 距离 60 厘米, 血液厚度 2 毫米, 剂量率 46.8r/分, 每个输血者血液均分别用五种不同剂量照射: 10r、25r、64r、160r、400r。每剂量组每个血样平行样品数 4—5 个。同时设置对照组。 <sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷掺入实验按本组建立的方法<sup>[3]</sup>进行。

照射后 <sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷掺入 DNA 的变化见表 4:

表4 各组血样放射性测量结果(计数/分)

姓 氏	对 照	10r	25r	64r	160r	400r
石	3394±1311	1857±190	1076±222	884±112	872±127	381±52
胡	8630±447	9976±1151	8998±848	8595±877	5854±817	3858±660
詹	9436±1182	9651±1125	7062±1334	7532±857	6357±1034	4506±506
杭	5861±472	7762±1182	7016±389	5473±868	4433±420	3037±365
杜	6072±1194	6574±462	5993±599	6254±565	4419±376	2260±678
张	4948±599	5655±554	4612±881	4190±663	3297±154	1997±132
陈	4157±875	4600±221	4371±407	3745±969	2485±303	1799±100
朱	3514±256	2997±368	2624±640	2084±201	1164±153	560±112
共 计	46012	49072	41752	38757	28881	18398
均 数	5752	6134	5219	4845	3610	2299
相当于对照的%	100	106.6	90.7	84.2	62.8	38.8

将表 4 数据按  $y = \sqrt{x}$  变换进行随机化区组设计的方差分析见表 5。

表 5 方差分析表

变差来源	SS	df	MS	F	P
总的	20085	47			
剂量(处理)	5473	5	1095	59.2	<0.01
个体(区组)	13966	7	1995	107.8	<0.01
误差	646	35	18.5		

方差分析结果表明,不论在不同照射剂量间或不同个体之间, $\gamma$ 线对 $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入 DNA 的效应(放射性计数均数间)均有非常显著的差异。再用 Keuls 氏检验法比较对照组与各组均数间的差别,除对照组与 10r、25r 照射组差异不显著外,其余差异均非常显著。各种照射剂量与放射性计数的对数间呈直线关系见图 5。

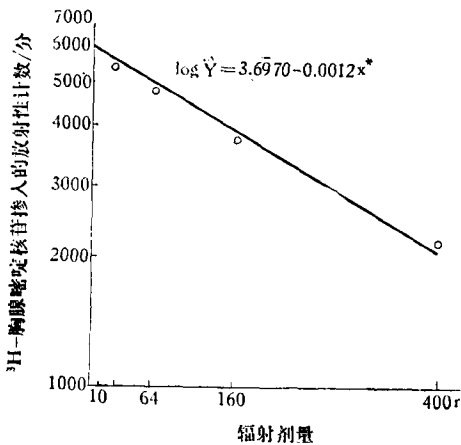


图 5  $\gamma$  线照射剂量与 DNA 合成的关系 (根据表 1 制图)

\* 由加权直线回归法求得以照射剂量 ( $x$ ) 为自变量, $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入的放射性计数的对数 ( $\log y$ ) 为倚变量的直线回归方程。

### 三、讨 论

血液在体外培养条件下接受 PHA 刺激可引起淋巴细胞中 T 细胞转化为淋巴母细胞,已经在临床和基础医学进行了大量研究。由电离辐射作用所引起的淋巴细胞转化率的变化也有所报道。DNA 合成是 T 细胞转化为淋巴母

胞的物质基础。近年来,应用放射自显影的方法,特别是应用液体闪烁计数器以来,也已开始研究辐射对各种组织细胞 DNA 合成的影响,实验得出剂量-效应之间呈现半对数线性关系。有关辐射对血淋巴细胞 DNA 合成 $\rightarrow$ 转化能力的影响报道较少。

胸腺嘧啶核苷是 DNA 特有的组成成分之一,用  $^3\text{H}$  标记的胸腺嘧啶核苷掺入实验,可准确地反映 DNA 的合成和细胞转化。本实验结果反映了电离辐射 ( $x, \gamma$ ) 抑制人血淋巴细胞转化,剂量-效应之间有一定关系。25r 引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入有所减少,64r 以上导致转化能力降低与对照组有显著性差异。随着剂量加大,减少越益明显。较大剂量  $x$  线照射,在半对数坐标上,剂量-效应关系成一直线,反映在这个剂量范围内导致转化能力下降的速率是一致的。而在中、小剂量  $x$  线照射时则呈现双相曲线,小于 100r 的剂量-效应曲线呈陡坡,剂量加大则曲线的斜坡比较平坦,反映小剂量辐射引起的下降速率相对的显著一些,曾经有人解释为小剂量主要对敏感细胞部分的作用,大剂量则对不敏感细胞起作用。有待进一步研究。

有关  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线对 DNA 合成的影响报道极少。我们对八例健康人血应用中小剂量  $\gamma$  线进行体外照射的结果,剂量-效应关系在半对数坐标上为一直线,反映 400r 以下的照射, DNA 合成下降的速率基本一致。

关于低水平照射的效应问题,特别引起人们的重视。但能反应损伤的指标极少。有人报道  $x$  线 15r 照射引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入小鼠脾脏 DNA 减少。也有作者发现  $x$  线 25r 照射使 DNA 前体掺入大鼠胸腺降低了。本实验在 25r  $x$  线照射引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入率降低 6—18%, 25r  $\gamma$  线照射降低 9.3%。但在  $\gamma$  线 10r 照射组,八例中有六例  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入稍为增高,另外两例则明显下降。从总体看来,均数虽比对照组增高,但无显著差异。有关低水平照射的效应问题尚待进一步探讨。

本文各次实验所得的剂量-效应曲线表明:

引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的掺入率降低 50% 的剂量,  $x$  线为 300r—400r 左右,  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线则为 250r—300r。有关电离辐射对骨髓细胞代谢的影响提到, 尽管实验条件不完全一致, 但是有两点共同的: 1. 稍低于致死剂量作用下, 不同标记前体向 DNA 的掺入都减少了 50% 左右。2. 射线对标记前体向 DNA 掺入作用的抑制, 在一定范围内与照射剂量呈比例关系, 剂量越大, 抑制越甚。

由此看来, 骨髓细胞在体内培养和我們所进行的血细胞体外培养条件下, 抑制 50% 所需的剂量非常近似, 抑制的规律相同。

我们的实验仅是开始, 有关辐射与血淋巴细胞转化的剂量效应关系有待进一步研究, 确切掌握变化规律, 特别是整体受照射后血淋巴细胞转化的变化尚待观察研究, 以期对放射损伤的诊断提供一点客观依据。

## 四、小 结

$x$  线和  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线照射离体的人血细胞, 对淋巴细胞转化能力的影响具有一定规律; 25r 照射使  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入有所减少, 64r 以上导致淋巴细胞转化能力的降低与对照组比较有显著性差异。辐射剂量-效应之间呈现半对数线性关系。引起  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入率抑制 50% 的体外辐照剂量:  $x$  线约为 300r—400r,  $\gamma$  线为 250r—300r。

## 参 考 资 料

- [1] 苏州医学院卫生系放射损伤组: 《苏州医学院科研资料》, 1974年, 第16期, 第77页。
- [2] 苏州医院院卫生系放射损伤组: 《苏州医院院科研资料》, 1974年, 第16期, 第77页。
- [3] 苏燎原等: 应用  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷测定血淋巴细胞转化的方法, 见本期。

[本文于 1975 年 10 月 20 日收到]

# 应用 $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷测定 血淋巴细胞转化的方法

苏燎原 林兴成 刘克良 汪涛

(苏州医学院卫生系第三教研组)

核酸在生物学上的重要性已日益受到人们的重视, 机体的生长、发育、细胞的分裂和遗传等都与核酸的合成、分解过程紧密相关。血细胞的体外培养方法已广泛应用于临床和基础医学。淋巴细胞中的 T 细胞受到 PHA (植物血凝素) 等物资的刺激可以转化为淋巴母细胞, 而脱氧核糖核酸 (DNA) 合成是 T 细胞转化的物质基础。它们可反映机体的免疫和淋巴细胞的复制能力, 借以观察各种疾病时的变化。最早是应用光学显微镜观察淋巴细胞形态的转化。自从应用了液体闪烁计数器, 就使这项研究工作有了新的进展。它是测量  $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$  等软  $\beta$  射线的有效仪器。

胸腺嘧啶核苷 (TdR) 是 DNA 特殊的前

体, 测定  $^3\text{H}$  标记的 TdR ( $^3\text{H}$ -TdR) 掺入到 DNA 的放射性能灵敏而又客观地反映 DNA 合成—→淋巴细胞的转化。

现将我们所做的有关微量人血细胞在体外培养条件下, 用  $^3\text{H}$ -TdR 作掺入实验, 用国产 FJ-353 型双道液体闪烁计数器测定淋巴细胞转化的方法介绍如下:

## 一、闪烁液的配方及用量

这是进行液体闪烁测量首先需要解决的问题。在选择闪烁液配方时, 必须保证测量效果并注意节约。我们根据理论上的配方<sup>[1]</sup>对闪烁液进行了质和量方面的改良, 实验结果如下: