

制曲线相似。而且, DNA 沉淀最多和模板活力抑制最大以及结构上重螺旋的完整, 均出现在同天然染色质相类似的组蛋白/DNA 比例上。其间是否存在某种因果关系, 还值得深入探索。

我们还注意到, 当组蛋白/DNA 比例升至 2:1 时, DNA 沉淀反而稍有减少; 而模板活力在组蛋白/DNA 比例为 1.5:1 和 2:1 时, 也出现了回升的现象。Hoare 和 Johns 有过类似的报道^[10]。他们发现, 加入过量的组蛋白, 使 DNA-组蛋白复合物重新溶解, 模板活力反而升高。至于这种回升的机制, 是否同组蛋白的自身聚合有关, 也还有待实验判明。

3. 关于小牛胸腺染色质的组蛋白/DNA 比值, Shih 和 Bonner 曾报道为 1:1^[11], 而本实验室的染色质组分分析结果为 1.23:1。从上述重组实验的结果来看, DNA 沉淀最多和模板活力抑制最大, 均出现在 1.2:1 这个组蛋白/DNA 比值上。而且, 在模板活力抑制曲线的 1.2:1 处,

可以看到明显的跃过。这种一致性, 是对本实验室染色质组分分析结果的进一步支持。

主要参考资料

- [1] 上海实验生物研究所三室细胞研究组: 《生物化学与生物物理进展》, 见本期。
- [2] 上海实验生物研究所三室细胞研究组: 《生物化学与生物物理进展》, 待发表。
- [3] 上海实验生物研究所三室细胞研究组: 《生物化学与生物物理进展》, 待发表。
- [4] Burton, K.: *Biochem. J.*, **62**, 315, 1956.
- [5] Schjeide, O. A.: *Anal. Biochem.*, **27**, 473, 1969.
- [6] Lowry, O. H. et al.: *J. Biol. Chem.* **193**, 265, 1951.
- [7] Panyim, S. & Chalkley, R.: *A. B. B.*, **130**, 337, 1969.
- [8] Gordon, C. N. & Kleinschmidt, A. K.: *B. B. A.*, **155**, 305, 1968.
- [9] 上海实验生物研究所三室细胞研究组: 《生物化学与生物物理进展》, 见本期。
- [10] Hoare, T. A. & Johns, E. W.: *B. B. A.*, **247**, 408, 1971.
- [11] Shih, T. Y. & Bonner, J.: *B. B. A.*, **182**, 30, 1969.

[本文于 1977 年 4 月 11 日收到]

γ 射线照射后对小白鼠外周血中 淋巴细胞卫星核的观察

萧佩新 杨恩普 田成惠

(河北放射医学研究所·河北新医大学放射医学教研组)

通过对细胞形态学方面的多年观察, 证明淋巴细胞是对射线最敏感的细胞之一。机体受电离辐射照射后, 淋巴细胞的改变出现很早, 而且显著, 可直接从外周血中检查出来。因此, 依据淋巴细胞的变化作为诊断射线损伤的指标, 具有一定的优越性。

虽然过去对射线照射所致的淋巴细胞变化曾进行了广泛的研究, 但大都是一般变化的观察, 对淋巴细胞的特殊形态改变观察较少。有

人报道在照射后的外周血中出现双叶核淋巴细胞增多现象, 并将其视为射线损伤的血象特征^[1,2]。后来有人对双叶核淋巴细胞的意义提出怀疑, 因为它的出现率不受射线照射的影响^[3]。近些年来, 有些研究者应用遗传学方法, 分析照射后离体培养的淋巴细胞染色体畸变^[2,13], 表明此法对诊断射线损伤确是灵敏而可靠的指标。但操作复杂, 条件严格, 实验时间长, 目前难以推广。与此同时, 有些研究者直接观察照射后淋

巴细胞的特殊形态改变。如马秀权等在照射后猕猴的外周血中见到少数含有核外染色质块的淋巴细胞^[1]。Fliedner 等检查因铀事故而受伤的人骨髓时,见到含有核断片的淋巴细胞^[6],但未作深入的探讨和分析。Rugh 在照射后小白鼠的淋巴结和外周血中也见到含有核断片的异常淋巴细胞,统计其受不同剂量照射后的出现率,并推荐此法作为射线损伤的辅助诊断法^[15]。后来,一些研究者观察照射后骨髓细胞的微核(核断片或卫星核)出现率,探讨了以此法作为射线损伤早期诊断的可能性,并以微核测定与染色体畸变分析进行了比较^[3,4,9]。最近,Countryman 提出淋巴细胞微核测定能快速而准确地反映出畸变率,适于评定染色体损伤^[5]。本实验通过对照射后小白鼠外周血淋巴细胞卫星核的观察,探讨其实用意义。

材料和方法

本实验采用华北制药厂动物饲养场繁殖的小白鼠,体重为 20—25 克。将小白鼠分成四组,每组 20 只,雌雄各半。其中三个实验组作 γ 射线一次全身照射,照射量分别为 80、400、800 伦。另一组不予照射,作为对照。照射源用⁶⁰钴治疗机。源与笼底距离为 80 厘米;照射野面积为 20 × 22 厘米;照射率为 62 伦/分。

实验组小白鼠分别在照射后第 1、3、5 天从尾静脉取血作涂片。血涂片经空气干燥,用瑞特染液染色。选择着色清晰的血涂片计数淋巴细胞的卫星核出现率。每组血涂片计数淋巴细胞 4000 以上或更多。凡在胞浆中见到小于主核 1/4 以下的小核,而且着色与主核一致者,即定为卫星核。此外,将个别的血涂片经甲醛蒸汽固定,以苏木精染色或 Feulgen 染色,观察卫星核的着色特性和组织化学反应。

实验结果

全部实验组小白鼠受不同剂量照射后,在外周血涂片上都能见到含有卫星核的淋巴细胞,如图版 IV 所示。卫星核既可见于小淋巴细胞的胞浆中,也可见于大淋巴细胞的胞浆中。

其位置大都在主核的近旁,颇似主核的卫星。一般游离存在,也有与主核紧密接触者(图版 IV,图 4、10、14、18、23、34)。卫星核的大小不等,与主核的比例也不一致,小者,直径仅有 0.5 微米左右,与主核比例悬殊;大者可达 3.5 微米左右,约为主核的 1/4(图版 IV,图 3、10)。卫星核大都呈圆球状或卵圆形,边缘整齐而平滑。在染色良好或苏木精染色的涂片上,有些较大的卫星核内可显出染色质块(图版 IV,图 5)。单个卫星核的淋巴细胞较为常见,在大照射量组还可见到 2—3 个卫星核的淋巴细胞(图版 V,图 2—10)以及畸形核的淋巴细胞(图版 V,图 12—15)。此外,双叶核的淋巴细胞也较常见于各实验组(图版 V,图 11)。

卫星核淋巴细胞的出现率与不同照射量的关系,以及与照射后的时间关系,综合列于表 1。并将出现率与照射量的关系制成图 1;与时间关系制成图 2。

表 1 卫星核淋巴细胞出现率与剂量和时间的关系

| 剂量(伦) | 照射后天数 | 淋巴细胞总数 | 卫星核淋巴细胞数 | 卫星核淋巴细胞出现率(%) |
|-------|-------|--------|----------|---------------|
| 对照 | | 25,380 | 9 | 0.4 |
| 80 | 1 | 19,284 | 52 | 2.7 |
| | 3 | 21,642 | 121 | 5.6 |
| | 5 | 12,153 | 11 | 0.9 |
| 400 | 1 | 4,494 | 21 | 4.7 |
| | 3 | 4,066 | 42 | 10.3 |
| | 5 | 4,420 | 66 | 14.9 |
| 800 | 1 | 9,758 | 101 | 10.4 |
| | 3 | 5,971 | 73 | 12.2 |
| | 5 | — | — | — |

图 1 表明:卫星核淋巴细胞的出现率是随照射量增加而升高。经统计学处理后,其相关系数为 0.9053。按照照射后第三天,计算出回归方程为 $y = 0.013x + 2.925$ 。在三组不同照射量中,若以照射后的同一天作比较,卫星核淋巴细胞的出现率都可显示一定的线性关系。

图 2 表明:在 80 伦组,卫星核淋巴细胞出现峰值的时间是在照射后的第三天,不久便急剧下降。在 400 伦组,从照射后的第一天至第五天,卫星核淋巴细胞的出现率呈直线上升,因

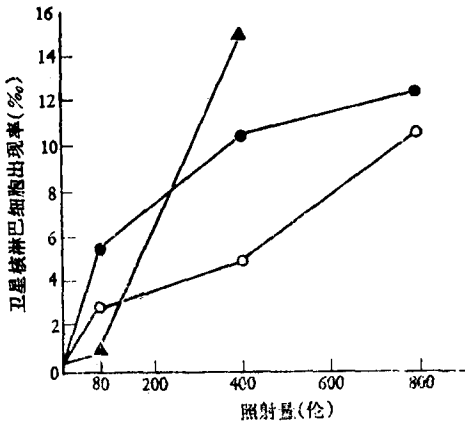


图1 卫星核淋巴细胞出现率与照射剂量的关系

○: 照射后 1 天, ●: 照射后 3 天;
▲: 照射后 5 天

作连续观察,不能查知该组出现峰值和下降时间。在 800 伦组,照射后不久便很快升高。因为此组小白鼠在照射后第五天开始发生死亡,在尚存者的血涂片上,淋巴细胞寥寥无几,很难计数。

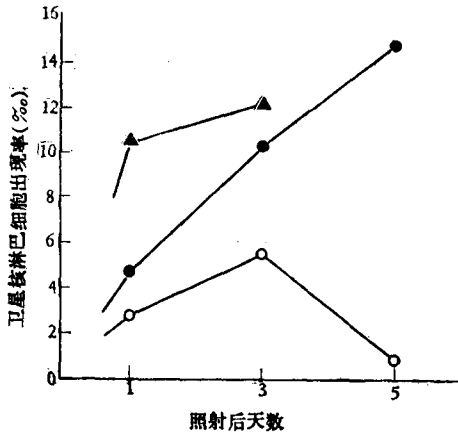


图2 卫星核淋巴细胞出现率与照射时间的关系

○: 80 伦; ●: 400 伦; ▲: 800 伦

讨 论

卫星核是出现在细胞浆中的核断片,也称微核,不见于正常的淋巴细胞,所以是射线引起的一种病理性的形态改变。卫星核具有与细胞核相同的着色特性,对 Feulgen 染色呈阳性反应。在某些正常淋巴细胞的胞浆中,也有时见到与卫星核相似的内含物,如大的嗜天青颗粒、gall 小体以及 Kurloff 小体^[11]等,但这些胞浆内

含物的化学成分都不是 DNA,与卫星核的着色特性迥然不同,所以不难鉴别。

一般认为,卫星核是来自射线所致染色体损伤的断片^[5,6,9]。某些增殖活动旺盛的细胞受射线照射后,可导致染色体断裂,造成无着丝点的染色体断片。这种损伤的细胞进入有丝分裂的后期,其中无着丝点的染色体断片不能被纺锤体向两极牵引,也不能被纳入子核内。至细胞分裂完成后,进入间期,这种游离在胞浆中的染色体断片遂变为小的核团块,成为卫星核。因此,一些研究者把卫星核看作染色体畸变在细胞间期所表现的一种形式。我室在观察射线损伤的淋巴细胞时,经常见到细胞核的出芽现象(图版 V,图 16-19),芽突的大小也不一致。由此设想,当细胞的某一局部核膜受射线损伤之后,此处的单位膜分子结构发生破坏而成为弱点,核内物质沿此弱点向外突出即形成芽突,当芽突伸展一定程度后,在其根部核膜发生狭窄,继之截断而与主核分离,于是形成小的卫星核。依此生芽方式所形成的卫星核,可认为是核无丝分裂的表现。但验证这一设想,有待进一步的观察。

有人认为卫星核淋巴细胞是一种濒死的细胞^[15],但我们认为从这种细胞的形态学特征来看,很象生活状态的细胞。在受照射后第 10 周小白鼠的外周血中,以及第 14 周狗的外周血中^[4],仍可见到卫星核淋巴细胞。说明这种细胞在体内是能继续生存的。据 Flidner 等借助标记胸腺嘧啶的研究,表明核断片与主核同时有合成 DNA 的能力^[7]。或许卫星核淋巴细胞能进行 DNA 自身复制和有丝分裂,但其命运很可能与非稳定染色体畸变细胞相同,至分裂时导致细胞死亡^[14]。

受照射后卫星核淋巴细胞的出现率与照射量呈一定的线性关系。照射量加大至 800 伦时,仍可保持这种关系。三组受不同照射量的小白鼠,卫星核淋巴细胞的出现时间都早在照射后的第一天就显示出淋巴细胞对电离辐射的高度敏感性。80 伦组在照射后的第三天,卫星核淋巴细胞的出现率已达峰值,至第五天下降将近

正常水平,表明此组淋巴细胞的损伤经过较短时间后很快即可恢复。关于峰值的急剧下降,并非是卫星核淋巴细胞的数量减少或消失,而是大量新生成的淋巴细胞补充进入血流,使卫星核淋巴细胞的比数降低。在400伦组照射后的第五天,卫星核淋巴细胞的出现率仍继续有上升的趋势,表明淋巴细胞不断地损伤和死亡,而且缺乏新的淋巴细胞进入血流。在800伦组照射后的第一天,卫星核淋巴细胞的出现率即已显著高于其他两组,至第五天外周血中淋巴细胞将近枯竭,此时动物开始发生死亡。以上实验表明卫星核淋巴细胞的出现率,可反映出射线损伤后的病程发展趋向和病情严重程度。

通过本实验的观察,提出几点初步认识:

1. 卫星核淋巴细胞是射线损伤后较为特异的形态学表现,很快即可出现在外周血中。因此,对射线损伤是一项较为可靠的辅助诊断指标,而且也有一定的早期诊断价值。

2. 实验结果表明,卫星核淋巴细胞的出现率与射线的照射量呈明显的线性关系,有可能作为辐射剂量学中的生物剂量指标。

3. 依据卫星核淋巴细胞的出现率还可作为筛选射线防护药物的试验指标。近年来,有的研究者借助微核测定快速筛选射线防护药物,比传统的LD_{50/30}试验具有较多的优越性^[10]。

4. 卫星核淋巴细胞是一种带标识的细胞,能在体内继续生存,参与再循环,或许有一定的机能活动。有可能借此观察淋巴细胞的生存时间或进行动态的研究。

总之,虽然卫星核淋巴细胞在外周血的出现率不高,但是对射线损伤的反应较为灵敏,并显示一定的特异性。尤其是此法操作简便,易于掌握,节省时间,而且又可作为多方面的实验指标,所以是值得推荐的方法。

参 考 资 料

- [1] 马秀权等:《解剖学报》,1963年,第6期,第125页。
- [2] 周焕庚等:《遗传学报》,1975年,第2期,第48页。
- [3] 施立明等:本刊,1975年,第3期,第33页。
- [4] 云南动物研究所辐射细胞组:《遗传学报》1976年,第3期,第164页。
- [5] Countryman, P. I. et al.: *Mutation Res.*, 41, 321, 1976.
- [6] Evans, H. J.: *Int., J. Rad. Biol.*, 3, 216, 1959.
- [7] Fliedner, T. M., et al.: *Am., J. Path.*, 38, 599, 1961.
- [8] Fliedner, T. M. et al.: *Blood*, 23, 4, 1964.
- [9] Heddle, J. A.: *Mutation Res.*, 18, 187, 1973.
- [10] Heddle, J. A.: *Radiation Res.*, 61, 350, 1975.
- [11] Hemplemann, L. H. et al.: *Blood*, 8, 524, 1953.
- [12] Ingram, M. et al.: *Science*, 116, 706, 1952.
- [13] Lisco, H.: *Science*, 157, 445, 1976.
- [14] Norman, A., et al.: *Blood*, 27, 706, 1966.
- [15] Rugh, R.: *Am., J. Roentgenology*, 9, 192, 1964.

[本文于1977年6月5日收到]

荧 光 细 胞 剂 量 计

刘洪祥 谢国梁

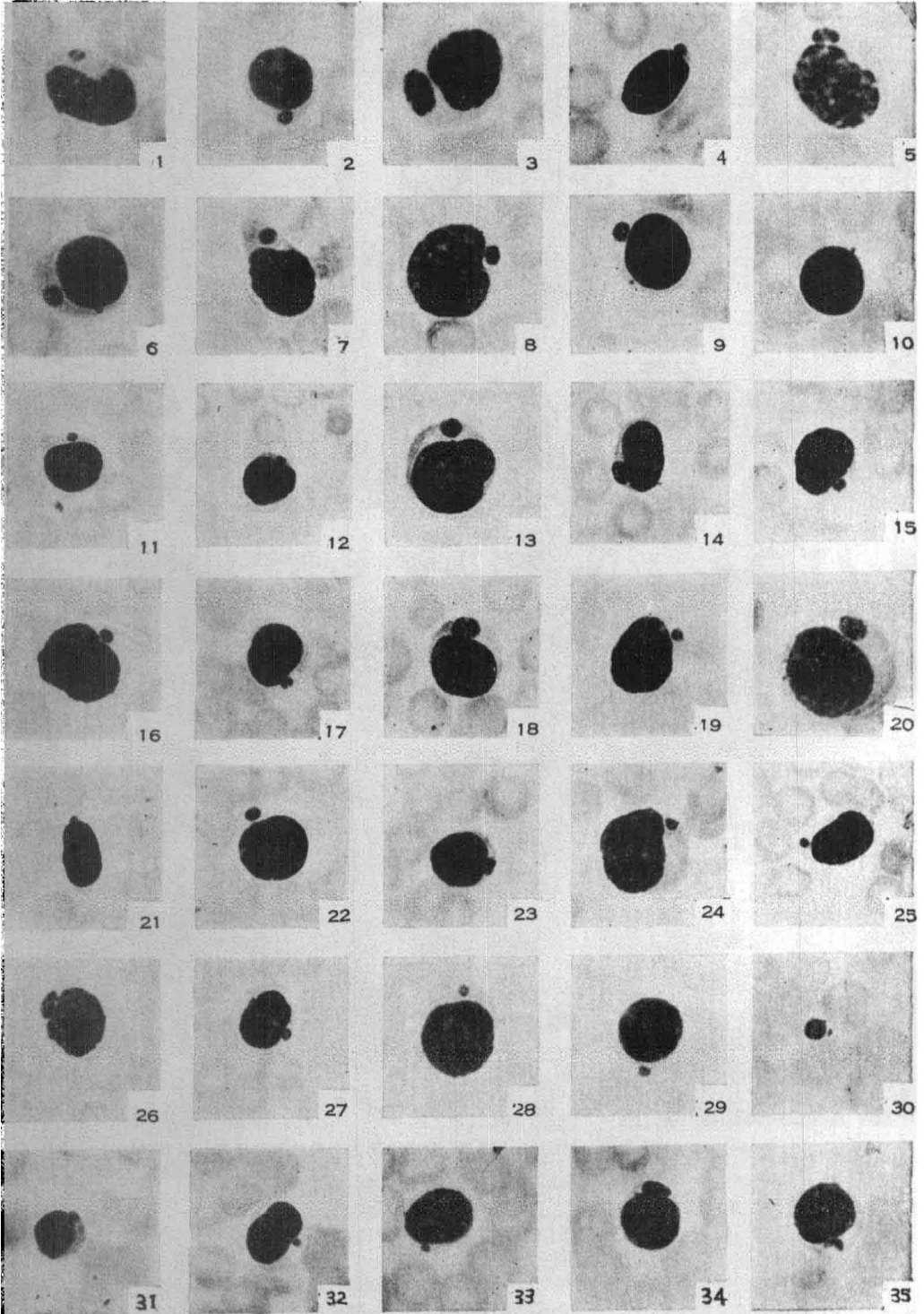
(河北放射医学研究所·河北新医大学放射医学教研组)

小鼠经钴-60 γ 射线全身照射后,外周血白细胞中出现红、黄色荧光细胞比值上升,它与照射后时间和辐照量有相依关系。本文探讨钴-60 γ 射线100伦—705伦照射后红、黄色荧光细胞比值与辐照量的关系。发现在此辐照量范围内与红、黄色荧光细胞比值有线性关系。因此红、黄色荧光细胞比值上升可作为早期急性放射损伤诊断依据之一,亦可作为生物剂量指标。

材料和方法

本实验应用华北制药厂动物场饲养的纯种小白鼠,体重20—23克,雄性,每组10只,共分五组。照射前后均自尾部取血,经过吖啶橙染色,用紫外光显微镜观察,检查每百个白细胞中红色荧光细胞和黄色荧光细胞(简称红、黄色荧光细胞)与绿色荧光细胞的比值。

图版 IV



γ 射线一次全身照射后小白鼠外周血涂片的卫星淋巴细胞 ×700

1—3. 80 伦组照射后第一天; 4—5. 80 伦组照射后第三天; 6—8. 80 伦组照射后第五天; 9—10. 400 伦组照射后第一天; 11—15. 400 伦组照射后第三天; 16—25. 400 伦组照射后第五天; 26—31. 800 伦组照射后第一天; 32—35. 800 伦组照射后第三天

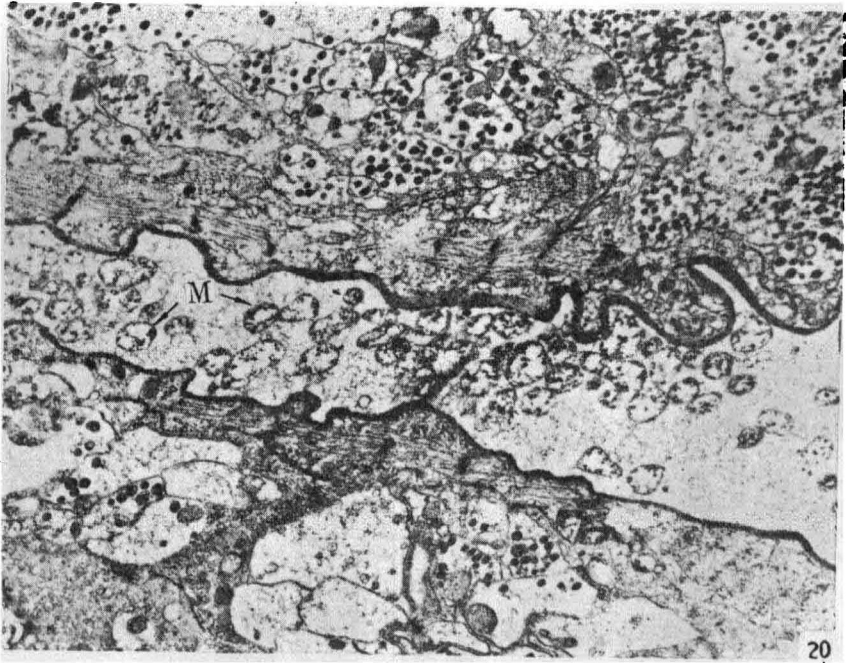
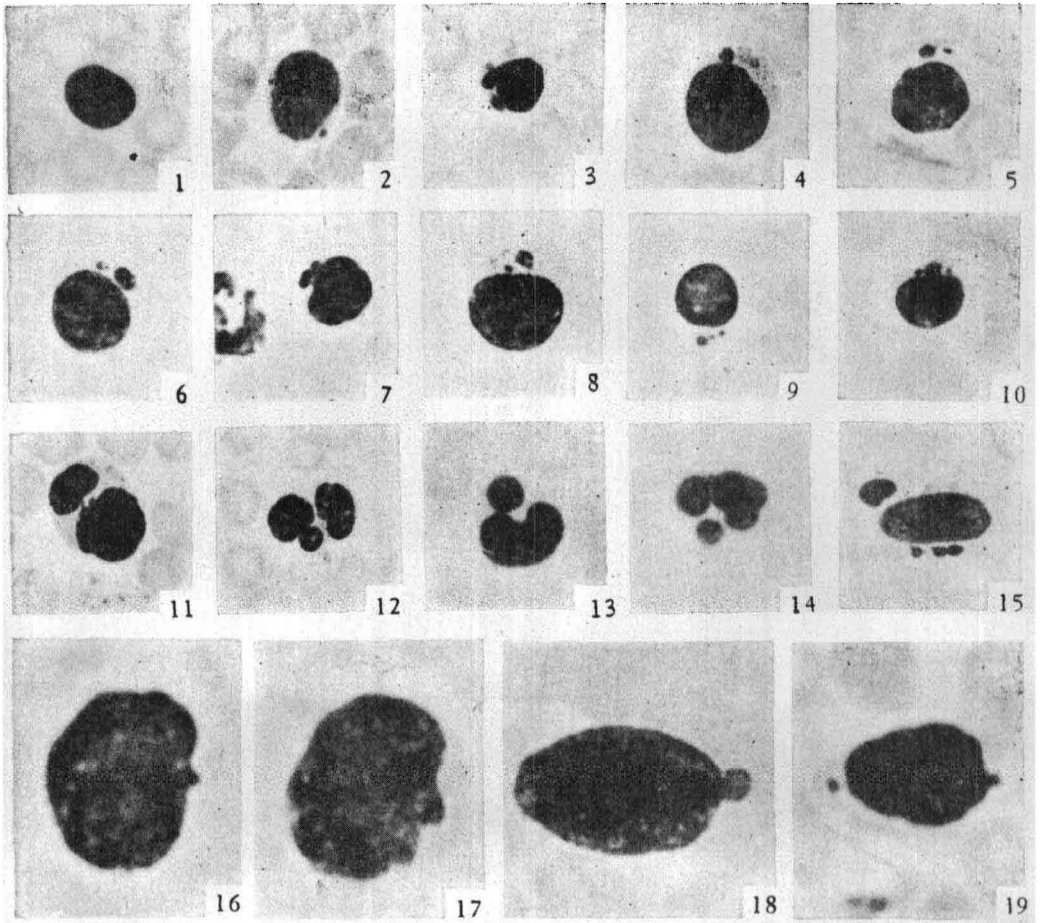


图 1—15 γ 射线一次全身照射后小白鼠外周血涂片的淋巴细胞 $\times 700$

1. 80 伦组照射后第五天未受损伤(或新生)的淋巴细胞; 2. 80 伦组照射后第三天双卫星核淋巴细胞; 3. 400 伦组照射后第三天双卫星核淋巴细胞; 4—6. 400 伦组照射后第五天双卫星核淋巴细胞; 7—10. 800 伦组照射后第一天双、三卫星核淋巴细胞; 11. 400 伦组照射后第五天双叶核淋巴细胞; 12—15. 800 伦组照射后第一天畸形核淋巴细胞

图 16—19 γ 射线一次全身照射后小白鼠外周血涂片中核出芽的淋巴细胞 $\times 1,000$

图 20 桑树黄化型囊殖病媒介昆虫——菱纹叶蝉唾液腺切片

图示: 唾液腺管道中存在大量类菌质体; M——类菌质体