

验,均属阴性。经临床观察,对免疫性疾病,慢性病以及病毒性疾病等有显著疗效,或症状有所改善,且无副作用。

人脾组织属于网状内皮系统,是淋巴器官之一。人体在生活过程中,接触多种致病微生物及致病原,产生多种具有自然免疫力的转移因子,因此摘除的巨脾可能具有多种免疫力的转移因子,能激发患病者淋巴细胞致敏,增强免疫力。

转移因子分子量小于 5000,故通常采用透析法提取。我们发现其干粉、总氮及核苷酸和核苷酸类物质含量均低于超滤法(表 1)。而且透析法需用大量透析液,因而转移因子被稀释。又须再冷冻浓缩,手续烦琐,有效成份又易流失。相比之下,超滤法无此缺点。

用超滤法提取的转移因子,经低温冰冻后有结晶物析出,经真空干燥后,其红外光谱图与标准的 L-酪氨酸的图谱相同,证实为 L-酪氨酸。这是否与转移因子有效成分有关,需进一步研究。

根据我们的分析,从脾细胞提取的转移因子含有多肽类、核苷酸和酪氨酸等物质。我们

表 1 转移因子超滤法及透析法含量比较

制 剂	含量(毫克/100 毫升)		
	干 粉	总 氮	核苷酸及核苷酸类
超 滤 法	1594±31	199.61±15.6	105±3.5
透 析 法	372±8	53.64±5.6	31.2±1.6
	t = 37.8 p<0.001	t = 8.7 0.01<p<0.05	t = 19.4 p<0.001

采用 10%/毫升脾细胞提取物为 1 单位,所得含量与透析法相比,差异较大。

在血吸虫病流行区,巨脾摘除手术较多。以它用超滤法提取转移因子,可以扩大材料来源。

参 考 文 献

- [1] Spitler, T. E., et al.: *Methods in Cancer research*, **8**, 59—106, 1973.
- [2] Goldblum, R. M. et al.: *Cell Immunol.*, **9**, 297, 1973.
- [3] 上海第二医学院正常人体教研组、肿瘤研究组等:《生物化学与生物物理学报》,1976 年,8 卷,4 期,283—292 页。

【本文于 1979 年 6 月 25 日收到】

电离辐射对人及狗周围血淋巴细胞转化能力 (^3H -TdR 掺入) 的影响

魏 康 林增云 刘学员 徐菊芬

(军事医学科学院放射医学研究所)

淋巴细胞在植物血凝素(PHA)刺激下激发 DNA 合成、向母细胞转化是淋巴细胞活力的主要表现之一,它在照射后的变化也是值得注意的一个问题。国内外对照射后淋巴转化力的变化虽有报道,但结果不一。本文着重探讨人及狗的淋巴细胞转化能力的变化与照射剂量的依赖关系、两者的种属差异、离体照射与整体照射效应的异同以及抗放药物对此过程的影响。

一、实 验 方 法

人血及狗血的淋巴细胞转化率测定均采用全血培养、 ^3H -胸腺嘧啶核苷掺入法。

人淋巴细胞转化: 血采自健康献血员,肝素抗凝,4℃ 冷藏约 24 小时。取全血 0.2 毫升,加 RPMI 1640 培养液(自配)2 毫升, pH 7.2。每瓶加入 PHA(广州医药工业研究所出品)0.2

毫克。橡皮塞封口,培养 70 小时。在培养结束前 16 小时,每瓶加 $^3\text{H-TdR}$ 1.0 微居里(上海原子核研究所产品,比度 32 居里/毫克分子)。

狗淋巴细胞转化: 采健康家犬血,肝素抗凝。采血后立即进行实验。每份培养血量 0.2 毫升,1640 培养液(内含小牛血清 20%) 3 毫升。pH7.6。加入 PHA 0.4 毫克,培养 94 小时。培养结束前 16 小时加入 $^3\text{H-TdR}$ 2.0 微居里。

培养结束后将细胞移入离心管,先后用生理盐水、3% 醋酸及无水酒精洗涤离心,最后将沉淀物用过氧化氢及过氯酸消化,加入由乙二醇乙醚及 0.5% PPO 二甲苯溶液组成的闪烁液,用 FJ-353 型双道液体闪烁计数器测定其放射性。因不同样品的淬灭度相近,测定结果直接以 cpm 表示。

所有测定样品,每次均作三个,取平均值。

照射采用 ^{60}Co γ 源,剂量率 52—63 伦/分。血液样品受照射时分装在 10×100 毫米试管中,每管 1—1.5 毫升。照狗时将狗用布兜吊起,侧面向钴源,其体中心线距钴源的距离与血样品同。

二、实验结果

(一) 人血及狗血离体照射后淋巴细胞转化率的变化

由表 1,图 1 可见,照射人血样 9 个,狗血样 8 个,在 100 至 800 拉德范围内,人及狗的淋巴细胞的 $^3\text{H-TdR}$ 掺入量随照射剂量加大而逐步下降,剂量与效应间存在指数关系(见表 1、图 1)。在同一照射剂量条件下,狗的淋转抑制程度明显地高于人血,说明狗的淋转放射敏感性比人的为高。若以回归方程式表示, Y 代表 $^3\text{H-TdR}$ 掺入百分率(以未照样品为 100), X 代表照射剂量(百拉德),则人血为: $\lg Y = 1.98 - 0.0884x$; 狗血为: $\lg Y = 2.04 - 0.183x$ 。后者的斜率比前者大。根据曲线计算出使掺入抑制 50% 的照射剂量,对人淋巴细胞为 318 拉德,对狗为 186 拉德。这两个数值与人及狗的放射敏感性高低是一致的。因此可以初步作出以下结论: 血液离体照射,在一定剂量范围内,

表 1 人血及狗血照射不同剂量后的淋巴细胞转化率
(以未照组为 100、均值 $\pm$ 标准误)

	n	100 拉德	200 拉德	400 拉德	600 拉德	800 拉德
人血	9	77.0 ± 1.8	61.0 ± 3.1	43.0 ± 3.0	27.1 ± 1.7	19.4 ± 1.3
狗血	8	77.2 ± 2.4	52.6 ± 4.2	20.8 ± 2.5	7.4 ± 1.4	4.1 ± 0.9

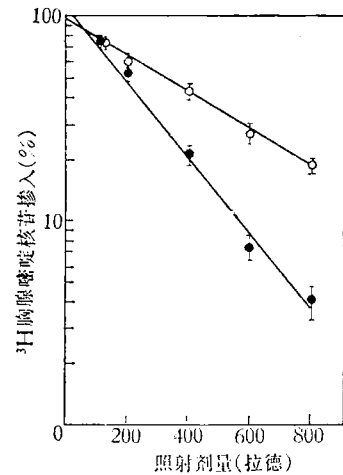


图 1 离体照射后人、狗的淋巴细胞转化
○—○—○人血 ●—●—●狗血

淋转变化与照射剂量有较密切的线性依赖关系,同时可反映种属放射敏感性的特点。

(二) 狗整体照射与狗血离体照射淋转效应的比较

正常家犬 5 只,于照射前每只狗静脉采血 6 毫升,分装于 5 支试管中。1 支正常对照,其余 4 支装入与狗体宽相等的水箱中心,与该狗分别置于钴源两侧进行照射。照射剂量 100—600 拉德。当达到 100、200 及 400 拉德时,中断 2—3 分钟,采取血样,并同时取出一支离体照射的血样,然后将狗转身,继续照射,取样,这种照射方式基本接近一次全身照射。将取得的血样同时进行培养,测定 $^3\text{H-TdR}$ 的掺入量。结果见表 2、图 2。

可以看出狗在整体照射后即刻淋巴细胞转化率也下降,并随剂量加大而加剧。与离体照射的效应接近(只是整体照射下的个体差异较大)。可以认为,狗的淋巴细胞转化在离体照射与整体照射下的效应基本是一致的,在一定

表 2 不同方式照射后狗血淋转率的比较
(以照射前为 100)

	n	100 拉德	200 拉德	400 拉德	600 拉德
离体照射	5	81.7 ±1.7	57.3 ±5.3	31.6 ±3.4	12.4 ±2.2
整体照射	5	91.1 ±8.1	63.7 ±9.5	34.0 ±2.4	9.4 ±0.8

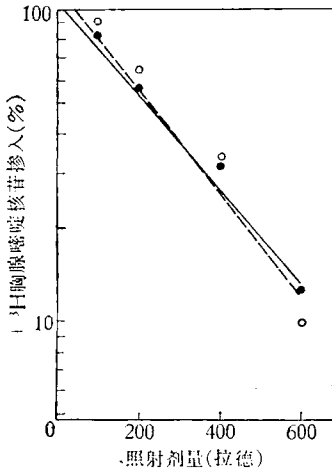


图 2 不同方式照射后狗血淋转的比较

●—●—● 离体照射 ○—○—○ 整体照射

程度上反映了细胞在整体照射下的损伤情况。

(三) AET 对射线抑制淋转的保护作用

称取一定量的 AET 溴氢酸盐,用培养液溶

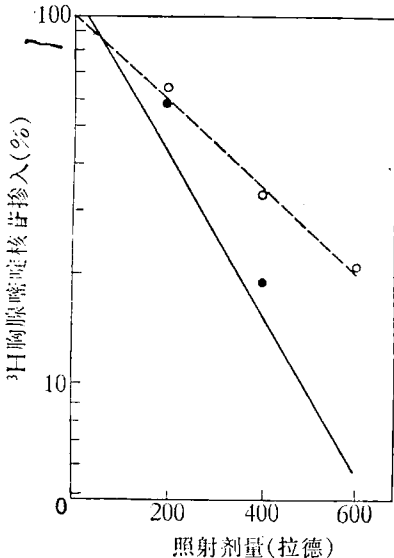


图 3 AET 对狗淋转的保护

●—●—● 对照组 ○—○—○ AET 组

解后加入狗血样品中, 37℃ 保温 30 分钟后立即进行照射, 然后将 AET 处理的样品与单纯照射样品进行比较。在 265 拉德剂量照射下, 每毫升狗血中 AET 量在 50 至 300 微克范围内均有减轻淋转抑制的效果。选择 150 微克/毫升血的药量为代表, 观察药物对狗血淋巴细胞在不同照射剂量下的保护作用, 得到如图 3 的结果。经 AET 处理样品的 cpm 明显高于对照。以抑制掺入 50% 的剂量作比较, AET 的 DRF 值为 1.49。说明 AET 可减轻射线对淋转的抑制效应。

三、讨 论

关于人血淋巴细胞转化的辐射敏感性, 文献报道颇不一致。以抑制 50% 的剂量作比较, Braeman^[1], Hedges^[2] 等人的结果在 100 拉德左右, Edgren^[4] 等人的结果在 1000 拉德左右, 而 Belli^[3] 的实验结果敏感性更低。这种差异可能与各实验室控制的条件不同有关。例如采用的测定方法、PHA 的用量及加入时间、培养时间的长短等等。在我们实验室控制的条件下, 所得到的人淋巴细胞 ³H-TdR 掺入抑制 50% 的剂量为 318 拉德, 接近于田牛等根据人的事故资料推算人的 LD₅₀ 剂量约为 350 拉德。

至于狗淋巴细胞照射后的转化率的变化, 未见类似报道。由于狗淋巴细胞在 PHA 刺激下的 ³H-TdR 掺入率较低, 我们采取延长培养时间, 增加 ³H-TdR 用量的方法来提高计数率。Ilberg^[5] 曾报告培养时间不同对辐射效应有一定的影响, 他观察到人淋巴细胞照射后培养 3 天的抑制效应比培养 2 天的为重。但我们的实验结果, 培养 4 天和培养 3 天的辐射效应, 差别不大, 汤仲明等^[6] 在相似的照射条件下观察狗的存活率, 测得狗的 LD₅₀ 为 236 拉德, 本实验所得使狗淋转抑制 50% 的剂量为 186 拉德, 略低于 LD₅₀ 值。但这两个数值还是比较接近的。故我们认为实验所得人与狗的淋转的不同辐射敏感性反映了动物种属的放射敏感性的差异。

辐射引起人、狗的淋转抑制, 在 100—800 拉德范围内有良好的剂量依赖关系, 能够反映

人、狗间种属放射敏感性的差别,而且又与整体照射的效应一致,因此离体照射的淋转实验是一个比较简便的实验模型,可供研究人和动物淋巴细胞辐射损伤的特点。照射后的 ^3H -TdR掺入的降低,反映淋巴细胞群体DNA合成的低下,其作用机理尚不清楚。直接原因可能是由于细胞周期的变化,使进入S期的细胞减少。也有可能是射线对DNA复制直接造成的障碍。

淋转实验模型还具有实用的价值。从狗的淋转的离体照射效应和整体照射效应的一致性,可以推测人在受到一次较大剂量(上百拉德)照射后的早期,淋转率也会有一定的变化。今后若遇到事故病例应尽早作淋转率的测定,为早期诊断积累资料。

试验说明淋转的辐射抑制过程能被抗放药物所保护,因此其他抗放药物对此过程的影响,

值得进一步研究。在现有工作的基础上,我们认为此实验模型可用于评价某些药物对人的淋巴细胞的辐射保护作用,并可通过对人及实验动物的淋巴细胞的保护作用的定量比较,为抗放药物的人体效价推理提供资料。

参 考 文 献

- [1] Braeman, L. & Moore, J. L.: *Brit. J. Radiol.*, **47**, 297, 1974.
- [2] Hedges, M. L. & Hornsey, S.: *Int. J. Rad. Biol.*, **33**, 291, 1978.
- [3] Belli, J. A. et al.: BNL-50418, 207, 1974.
- [4] Edgren, J. & Weber, T. H.: *Acta Radiologica.*, **15**, 177, 1976.
- [5] Ilbery, P. L. A. et al.: *Brit. J. Radiol.*, **44**, 834, 1971.
- [6] 汤仲明、杜德林等: 不同剂量 ^{60}Co γ 射线对狗的生物效应, *NSA*, **21**, 4819, 1967.

[本文于1979年5月21日收到]

突 触 体 内 的 新 型 线 粒 体

彭 庆 廉 王 健 本

(武 汉 医 学 院)

自 E. G. Gray (1962) 及 V. P. Whittaker (1962) 首次成功地分离出突触体,对突触的生理学、生物化学及药理学的研究起了很大的推动作用。但是突触体的形态结构和生理机能之间的关系还有很多问题没有搞清楚,特别是突触体中不同类型的线粒体,在突触的生理活动中起什么作用至今尚不了解,因此也没有引起人们的足够重视。我们在1975年曾用自制的仿Aldrige型匀浆器多次成功地分离出突触体,后来又在一次分离突触体工作中发现两种新型的线粒体,现报告如下:

材料和方法

基本按 Whittaker 及 Whittaker & Sheridan (1965) 法取 P_2 沉淀物作负染。负染法参考 Horne^[5] 及 Whittaker 等人方法,我们又略作变更。从标本制作看,负染的标本有能提供一个

整体形象的优点,且能节省时间提高功效,为超薄切片所不及。

结果和讨论

标本在 8° — 10°C 的室温凉干48—96小时,虽有部分孔膜破裂但大部分可用,在铜网的火棉膜上发现有大量完好的突触体,髓鞘几乎未见,单独分散的线粒体和内质网破碎后形成的微粒体等碎片亦不多。

突触体及其中线粒体的形态:大白鼠大脑皮质的突触体的形态大小相差颇为悬殊,大者(见图1)约 $12500\text{\AA}$,小者仅为其 $1/2$ 。突触小泡的大小相差亦颇悬殊,在同一突触体中亦如此,小泡大者可达 1700 — $3400\text{\AA}$,比前人报道的大型小泡还要大得多,小的仅 400 — $500\text{\AA}$ (见图1),在有的突触体中,可见到更小者。