

3000 伦一次全身照射对小鼠骨髓和脑中 cAMP 含量的影响

牛惠生 叶文忠 陆如山

(中国医学科学院放射医学研究所)

辐射对机体损伤的程度随照射剂量的增大而加重。一般认为哺乳动物经一次 1000 伦以上的超致死剂量照射可导致肠型放射病,与经致死或亚致死剂量照射所致的造血型放射病临床经过及生物化学反应有很大的不同。含氮类激素的细胞内信使(cAMP)在细胞内的相对含量也和外周血白细胞一样对辐射十分敏感^[1-3]。本文报告了经 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线一次全身 3000 伦照射后小鼠骨髓和脑组织中 cAMP 含量和外周血白细胞数的改变,同时也介绍了照后动物体重及骨髓基质中蛋白质含量的变化。为超致死剂量辐射生物学的效应研究积累资料。

一、材料与方 法

实验用昆明种小鼠,体重 20 ± 2 克,每个观察点设 20 只动物,雌雄各半。照射采用剂量率为 178 伦/分的 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线源,动物距源 60 cm 连续照射 17 分钟,总剂量为 3000 伦。

从小鼠内眦静取血,用自动细胞计数器计白细胞数。采用颈部脱位法处死动物,迅速取出脑和两条股骨冰冻保存。按 100 毫克湿重脑加入 1 毫升 6% TCA 的比例制成匀浆。剪去股骨两端骨头暴露骨髓腔,用注射器将骨髓吹入 0.5 毫升 6% TCA 中制成匀浆。组织匀浆液经离心后,酸性上清液用 5 倍体积水饱和乙醚洗三次,除去 TCA 后用于 cAMP 含量测定^[4]。采用蛋白质竞争结合分析技术测定 cAMP 含量,其结合蛋白从小牛肌肉中提取。 $^3\text{H}-\text{cAMP}$ 为科学院原子能研究所生产,采用膜片法测量样品 (^3H) 的放射性强度。匀浆沉淀用 0.01N

NaOH 溶解,利用 Lowry 氏^[5]方法测定蛋白质含量。

二、结 果

1. 受照动物存活率、体重和白细胞数变化

小鼠经 3000 伦照射后,立刻出现精神萎靡、毛竖立而无光泽和腹泻。照后第二天开始出现死亡到第四天全部死完。尸检发现脾脏缩小,肠粘膜大面积脱落。部分动物丘脑和大脑后叶有瘀血及陈旧性血块。动物受照射后体重显著的下降(见表 1),照后 48 小时减少了 18%,照后 72 小时仅相当正常动物的 76%。照后骨髓呈浅红色,外周血白细胞数也迅速减少,图 1 是以半对数横坐标制做的照后不同时间与白细胞数的关系。

从图 1 中看出;无论是雄性动物或者是雌

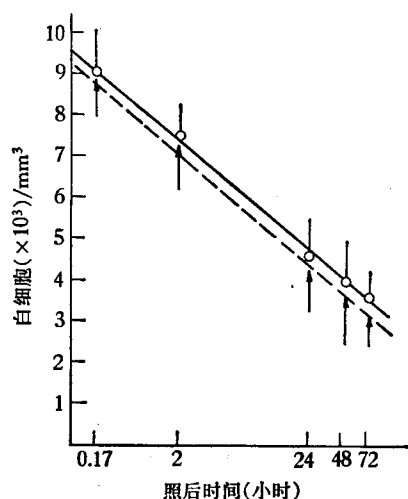


图 1 小鼠经 3000 伦照后白细胞数变化
○——○ 雄性鼠; ▲-----▲ 雌性鼠

表 1 活存率、体重和股骨髓蛋白质含量

组 别		体 重 (克)		蛋 白 质 (mg)		存活率 (%)
		雄 性	雌 性	雄 性	雌 性	
正 常 组		20.0±2.0*	18.0±2.0	2.5±0.1	2.5±0.15	100
照 后 时 间	10 分钟			3.1±0.2	2.4±0.1	100
	2 小时			2.75±0.15	3.0±0.2	100
	24 小时	18.0±1.0	16.2±1.4	1.6±0.1**	1.8±0.1**	100
	48 小时	16.0±1.2	15.2±1.7	0.9±0.1***	0.7±0.1***	80
	72 小时	14.0±1.1**	15.0±1.0**	1.8±0.15**	1.4±0.15**	40

* $\bar{M} \pm S.D.$ ** $p < 0.05$ *** $p < 0.01$

性动物白细胞数均随照后时间的增长而呈直线的下降，一直持续到动物死亡。照后各观察点所测得的白细胞数都与正常动物有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。

2. 照后骨髓和脑中 cAMP 含量变化

小鼠经 3000 伦 γ 线照射后骨髓中 cAMP 含量迅速增加,结果见表 2。照后 48 小时达到峰值,与正常组有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。雄性动物比雌性动物增加幅度大些。照后脑中 cAMP 含量,先出现下降而后增加。结果见表 3,照后 10 分钟 cAMP 含量就显著的低于正常组 ($P < 0.05$),然而照后 2 小时逐渐回升,照射后 48 小时再次出现峰值,并显著的高于正常组 ($P < 0.05$)。有趣的是雌性动物增加的幅度高于雄性动物。图 2 是将雌雄动物骨髓和脑中 cAMP 含量的均值与正常组其含量的百分率比较,以观察照后不同时间骨髓和脑中 cAMP 含量的变化规律。

照射后 10 分钟骨髓 cAMP 含量增加,脑则降低。可是照后 48 小时两个组织 cAMP 含

表 2 小鼠经 3000 伦照射后骨髓 cAMP 含量

组 别		cAMP (P mol/mg 蛋白)		平 均
		雄 性	雌 性	
正 常 组		20.9±1.3*	19.5±1.15	20.4±1.6
照 后 时 间	10 分钟	20.8±2.6	19.8±1.1	23.9±1.7
	2 小时	25.5±1.3	23.1±1.9	24.3±1.7
	24 小时	28.6±2.9	21.3±2.6	25.0±2.8
	48 小时	62.7±3.1**	54.0±2.7***	58.4±2.8***
	72 小时	20.8±2.6***	30.4±4.2**	25.6±3.0

* $\bar{M} \pm S.D.$ ** $p < 0.05$ *** $p < 0.01$

表 3 小鼠经 3000 伦照射后脑组织 cAMP 含量

组 别		cAMP (Pmol/mg 蛋白)		平 均
		雄 性	雌 性	
正 常 组		3.7±0.4*	4.2±0.2	3.9±0.3
照 后 时 间	10 分钟	2.4±0.6**	2.9±0.5**	2.6±0.5**
	2 小时	3.9±0.3	5.1±0.6	4.6±0.5
	24 小时	3.3±0.5	3.9±0.4	3.6±0.45
	48 小时	4.2±0.4**	5.4±0.2**	5.0±0.4**
	72 小时	4.5±0.4**	4.3±0.5	4.1±0.4

* $\bar{M} \pm S.D.$ ** $p < 0.05$

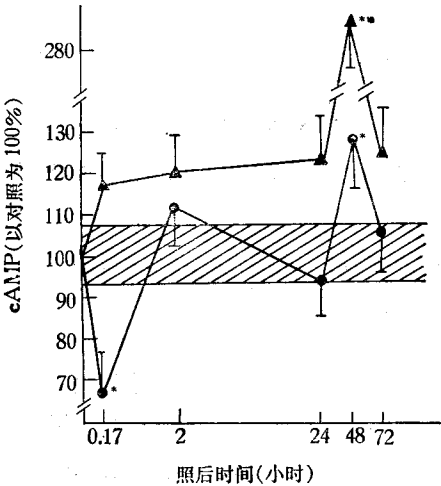


图 2 小鼠经 3000 伦照射后骨髓和脑 cAMP 含量相对变化比较

//// 正常范围 ▲——▲ 骨髓 ○——○ 脑
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

量都出现高峰,只是骨髓 cAMP 峰值更突出而已。两个组织照后 cAMP 含量的变化不同的是,照后骨髓 cAMP 含持续增加直到动物死亡,脑则是照后即下降,而动物死亡前出现升高。

三、讨 论

cAMP 在体液调节中起着十分重要的作用。小鼠某些脏器中 cAMP 的含量与辐射有着较大的依赖关系,一般认为经 100 伦照射就可引起脾脏、脑和骨髓中 cAMP 含量的改变。小鼠经致死剂量照射后脾脏 cAMP 含量出现两个峰值(照后即刻和照后 15 天),其中照后 15 天 cAMP 的浓度几乎为正常动物的 3 倍。然而脑组织中 cAMP 的浓度照后表现为降低,并一直持续到照射后第 15 天才趋于正常^[6]。从本文的结果看出;小鼠经一次超致死剂量(3000 伦)照射,照后骨髓 cAMP 含量增加的反应与经一次致死剂量(800 伦)照射的结果一致,只是照后第二个峰值出现的时间由照后第 15 天提前到 48 小时。脑中的 cAMP 含量经超致死剂量照后立即降低,但照后 48 小时却显著地升高,这是与经致死剂量照射所不同的。

辐射引起动物组织内 cAMP 含量的变化,除可能由辐射直接作用于 AC 和 PDE 引起其活力改变外,也可能通过引起 AC 和 PDE 内源性刺激剂(如儿茶酚胺、5-HT 等神经介质)浓度改变所造成的。当然,也与细胞内 ATP 的浓度有关,我们知道细胞内 ATP 浓度又由 NADH_2 和 NADPH_2 控制的。目前对辐射导致 AC 和 PDE 酶活力变化有着不同的看法;一般认为 AC 对辐射敏感。在离体条件下,较小剂量照射可使酶活力升高。大鼠肝细胞膜经 50—500 伦照射后 1 小时 AC 活力升高,在 50—

250 伦之间酶活力随着照射剂量的增加而增高^[7]。经 800 伦照射的小鼠照后第 1 天肝细胞质膜 AC 活力也增加。也有人报告小鼠经 200 和 400 伦照射后 15 分钟到 3 小时内脾脏 AC 活力也明显增加^[8]。我们知道含氮类激素与细胞膜受体结合后方能引起 AC 的激活,因此,辐射刺激 AC 活力升高与辐射引起体内某些含氮类激素及某些神经介质浓度的改变密切相关。当然,辐射对 PDE 活力也有一定影响^[9]。这些都可能是辐射造成动物某些组织中 cAMP 含量改变的因素。

由于辐射破坏了正常细胞内 AC-cAMP-PDE 系统的平衡,导致某些辐射敏感细胞正常增殖的抑制,从而加重细胞的死亡,这也许是造成辐射敏感细胞大量减少的一个原因。

参 考 文 献

- [1] Mitznegg, P.: *Int. J. Radiat. Biol.*, **24**, 399, 1973.
- [2] Kimura, H.: *J. Rad. Res.*, **16**, 120, 1975.
- [3] Soltysiak-Pawluczuk, D. et al.: *Int. J. Radiat. Biol.*, **29**, 549, 1976.
- [4] Broon, B. L. et al.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265, 1971.
- [5] Lowvy, O. H. et al.: *Biochem. J.*, **121**, 561, 1951.
- [6] 牛惠生等《放射医学》**4**, 97 页, 1976.
- [7] Furus, J. et al.: *J. Rad. Res.*, **16**, 69, 1975.
- [8] Lipski, S.: *Int. J. Radiat. Biol.*, **29**, 359, 1976.
- [9] Konings, A. W. T. et al.: *Life Science*, **15**, 491, 1974.
- [10] Pausescu, E. et al.: *Stranlenthérapie*, **151**, 165, 1976.

(本文于1983年2月18日收到)