

低剂量辐射对小鼠脾脏淋巴细胞三种大分子合成能力的影响*

刘伟宏 刘树铮

(白求恩医科大学放射生物教研室,长春)

关键词 小剂量, X射线, 淋巴细胞, 核酸, 蛋白质

低剂量辐射生物效应的研究对辐射防护的实践十分重要^[1,2]。我室的研究证明,小剂量单次照射或低水平辐射持续作用对机体的免疫功能有刺激作用^[3-5]。为进一步探讨这一辐射刺激作用的机制,我们采用双重标记的方法,观察了单次低剂量全身照射后小鼠脾淋巴细胞丝裂原诱导转化过程中 DNA、RNA 及蛋白质合成的变化。

材料和方法

一、实验动物及试剂 C57BL/6 纯系小鼠¹⁾, 雌雄各半, 体重 18 ± 2 克; 照射初始时鼠龄为 7—8 周。

RPMI 1640 培养基 (Gibco, USA), 外加青霉素 100U/ml, 链霉素 100 μ g/ml, 10% 小牛血清, 2×10^{-7} mol/L 2-ME, 10mmol/L HEPES 及 2mmol/L 谷氨酰胺; ConA (Sigma, USA); LPS (Sigma, USA); 同位

素标记物 $^3\text{H-TdR}$, $^{14}\text{C-UR}$, $^3\text{H-亮氨酸}$ 。

二、照射条件 菲利浦深部 X 光机, 电压 200 kVp, 电流 10mA, 滤板 0.5mmCu, 1.0mmAl。剂量率为 12.5mGy/分。实验小鼠接受 75mGy 的全身照射。

三、免疫条件 单次 X 射线全身照射后 9 小时腹腔注射 SRBC (羊红细胞), 2—4 亿/0.2ml/只, 观察免疫后不同时间小鼠脾脏淋巴细胞功能的变化。

四、脾淋巴细胞丝裂原反应

1. 脾细胞悬液的制备 断头处死小鼠, 无菌条件下取脾, 置于 RPMI 1640 培养基中, 毛玻片研磨挤压出全部脾细胞, 经尼龙网滤过制成单个细胞悬液, 调细

* 本研究受中国自然科学基金会资助

1) 由本校实验动物部提供

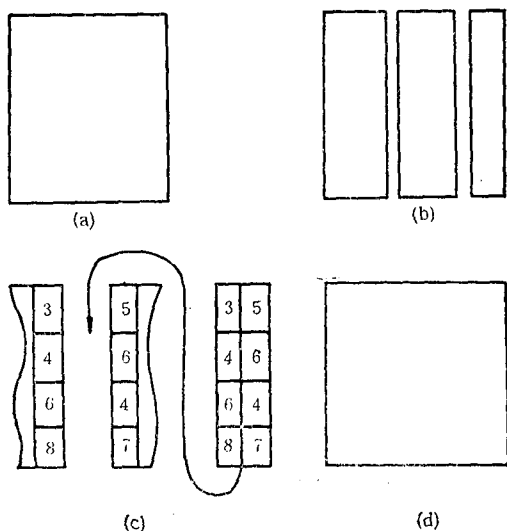


图 2 线性插值法补偿图象显示器显示畸变的原理
(a) 补偿前的图象 (b) 留缝水平扩张 (c) 插值
象素的灰度选值 (d) 补偿后的图象

$\text{Nybble} = \frac{1}{2} \text{Byte} = 4\text{bit}$, 使填缝图线的左、右象素

的灰度值分别与其左、右邻的三维重建图象的象素相同。应用此技术对以前得到的蛙、鸽和蛤蚧映核的三维重建图象都进行了显示畸变补偿, 取得了预想的效果, 补偿后的图象看不出插值的痕迹。这种以线性插值补偿显示器显示畸变的方法, 对于其它数字图象系统作精确的数字图象显示时也有参考价值。

参 考 文 献

- 1 陆惠民, 颜坤, 王秀春等. 中国生物医学工程学报, 1985; 4(4): 202
- 2 陆惠民, 颜坤, 史美德等. 解剖学报, 1985; 16(3): 303
- 3 王今著, 梁长林, 王秀春. 生物物理学报, 1986; 2(3): 238
- 4 陆惠民, 颜坤, 史美德. 生物物理学报, 1987; 3(2): 161
- 5 陆惠民, 王秀春, 史美德. 生物物理学报, 1988; 4(3): 253
- 6 王今著, 王秀春. 中国生物医学工程学报, 1988; 7(3): 174
- 7 王书荣, 颜坤, 许红艳. 科学通报, 1985; 20: 1571

[本文于1988年9月22日收到]

胞浓度至 2.5×10^6 /ml。

2. 丝裂原反应测定 96 孔微量培养板 (Linbro, USA), 每孔加细胞悬液及相应的丝裂原各 100 μ l, 对照孔以 100 μ l 培养液代替丝裂原, 三复孔培养, 其中 ConA 浓度为 5 μ g/ml, LPS (脂多糖)浓度为 20 μ g/ml。37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂, 培养 72 小时, 终止培养前 6 小时, 各孔分别加 ³H-TdR/¹⁴C-UR 或 ³H-Leucine/¹⁴C-UR, 浓度分别为 ³H-TdR 0.5 μ Ci/25 μ l/孔; ¹⁴C-UR 0.15 μ Ci/25 μ l/孔, ³H-Leucine 0.5 μ Ci/25 μ l/孔。培养终止后以多头细胞收集器收获细胞在 49 型玻璃纤维滤膜上, 干燥后加闪烁液。经 Tricarb 460CD (Packard) 液体闪烁计数仪以 A、B 双道同时测定 ³H 及 ¹⁴C 掺入的 cpm 值。结果以对照的百分数表示。

结 果

小鼠在接受 75mGy 全身照射后 9 小时腹腔注射 SRBC, 分别在免疫后 1、2、3、4、7 和 14 天, 以 ConA 为 T 细胞丝裂原, LPS 为 B 细胞丝裂原检测脾脏 T、B 淋巴细胞在丝裂原反应过程中三种大分子合成的变化; DNA 合成以 ³H-TdR 掺入率表示, RNA 合成以 ¹⁴C-UR 表示, 蛋白质合成以 ³H-Leucine 表示。结果见表 1 和表 2。

表 1 X 射线全身照射后小鼠脾细胞对 ConA 反应中 DNA、RNA 和蛋白质合成的变化

免疫后时间(天)	DNA	RNA	蛋白质
	³ H-TdR 掺入	¹⁴ C-UR 掺入	³ H-亮氨酸掺入
1	402.28 \pm 86.56**	278.98 \pm 56.80**	269.64 \pm 60.02**
2	178.79 \pm 64.57	186.96 \pm 48.64	245.86 \pm 52.88
3	131.48 \pm 31.91	151.68 \pm 75.71	137.60 \pm 74.20
4	113.15 \pm 13.97	117.74 \pm 35.44	109.78 \pm 25.50
7	108.96 \pm 29.77	107.30 \pm 32.10	115.14 \pm 33.30
14	89.51 \pm 5.56	88.08 \pm 18.10	87.65 \pm 24.68

注: 对照的百分数 ($M \pm S.D.$); ** $p < 0.01$

表 2 X 射线全身照射后小鼠脾细胞对 LPS 反应中 DNA、RNA 和蛋白质合成的变化

免疫后时间(天)	DNA	RNA	蛋白质
	³ H-TdR 掺入	¹⁴ C-UR 掺入	³ H-亮氨酸掺入
1	194.57 \pm 62.93	183.53 \pm 73.72	155.47 \pm 61.05
2	103.05 \pm 37.05	102.86 \pm 23.22	138.39 \pm 18.83
3	135.57 \pm 57.44	155.42 \pm 66.09	101.88 \pm 57.24
4	105.86 \pm 29.59	102.71 \pm 33.60	101.93 \pm 19.49
7	90.70 \pm 12.54	85.36 \pm 14.18	87.55 \pm 14.94
14	103.24 \pm 24.40	99.54 \pm 19.31	84.75 \pm 28.83

注: 对照的百分数 ($M \pm S.D.$)

从表中所列数据可知, 照后免疫初期 (免疫后 24

小时) ConA 所致脾细胞 DNA、RNA、蛋白质合成增强, 达正常对照的 2—4 倍, 统计学上差异显著 ($p < 0.01$), LPS 所致脾 B 淋巴细胞 DNA、RNA、蛋白质合成亦较对照有所增强, 但无统计学意义。随着照后免疫时间的推移, 合成增强的趋势逐渐减弱。

讨 论

本实验利用同位素双重标记方法, 以 ³H-TdR, ¹⁴C-UR 和 ³H-Leucine 示踪, 观察了小剂量 X 线照射后受 SRBC 免疫小鼠脾脏 T、B 淋巴细胞在体外培养转化过程中 DNA、RNA 和蛋白质合成的变化, 比较了这些标记化合物在不同类型淋巴细胞中的掺入率。由于 ¹⁴C-UR 的双重使用 (同一细胞的同一丝裂原反应, 分为二组进行, 一组为 ³H-TdR/¹⁴C-UR, 另一组为 ³H-Leucine/¹⁴C-UR, 通过观察二组 ¹⁴C-UR 掺入率, 可知实验数据是否可信), 明显减少了实验技术误差, 实验数据更为可靠。以照后 9 小时免疫, 免疫后 24 小时所测得的数据为例, ³H-TdR/¹⁴C-UR 双标记和 ³H-Leucine/¹⁴C-UR 双标记所测得的 RNA 合成率十分接近, 其相关系数对照组为 $r = 0.9314$, 照射组为 $r = 0.9668$ (表 3)。这些结果说明, 双重标记不仅可以同时检测细胞内三种生物大分子合成代谢的程度, 并可根据双重标记的相关处理获知实验数据的准确度。淋巴细胞受照射后其细胞内三种大分子物质合成的变化, 势必不同程度影响各类淋巴细胞的功能。核酸及蛋白质合成变化程度既可反映出淋巴细胞的辐射效应, 亦可反映淋巴细胞的辐射敏感性^[6]。因此我们认为在辐射免疫学的研究中, 双重标记检测三种大分子的合成代谢确是一个行之有效的方法。

表 3 同一脾脏细胞对 ConA 反应中二组 ¹⁴C-UR 掺入率的相关比较

动物	对照组		照射组 ^a	
	³ H-TdR/ ¹⁴ C-UR	³ H-Leu/ ¹⁴ C-UR	³ H-TdR/ ¹⁴ C-UR	³ H-Leu/ ¹⁴ C-UR
1	3643 ^b	3120	4854	4934
2	2538	2533	3599	3954
3	1162	1256	6997	8000
4	2755	2049	5656	5831
5	1241	1662	6798	6741

a. 照射后 24 小时检测; b. cpm/2.5 \times 10⁶ 脾细胞

低水平辐射生物效应已引起国内外学者的重视, 有关辐射刺激效应的研究也已成为放射生物学领域的重要课题。我室自从广东高本底地区居民免疫功能的研究以后, 就低水平辐射所致免疫效应进行了较为系统的动物实验研究^[4,5]。发现无论单次 X 射线全身照射或低水平持续照射, 当剂量低于 0.1Gy 时均可增强小鼠脾脏 PFC 反应。同时还发现胸腺细胞对 IL-1 反

镭对大鼠肝微粒体细胞色素 P-450 同功酶的影响

肖功华* 刘毓谷

(同济医科大学环境毒理研究室,武汉)

关键词 镭,细胞色素, P-450, 同功酶

近年来的研究已经确定,细胞色素 P-450 并非一单纯酶蛋白,而具有多型性,存在多种类型同功酶^[1,2]。对细胞色素 P-450 多型性的研究有助于理解和解释与细胞色素 P-450 有关代谢酶存在种属、品系、年龄、性别和组织器官等差异的现象。过去实验已经证实,镭对经苯巴比妥诱导和未经诱导肝微粒体细胞色素 P-450 均具有明显抑制作用^[3,4],苯巴比妥是一种已知的细胞色素 P-450 合成诱导剂^[5],从而提示镭降低细胞色素 P-450 含量的机理之一是抑制后者在微粒体中的新生合成。此种抑制作用是否具有选择性,抑制作用主要发生在何种同功酶报道尚少。为了确定镭对细胞色素 P-450 同功酶的抑制作用,我们进行了实验研究。

材料和方法

1. 试剂和材料

主要试剂及其生产厂: 聚乙二醇 6000 为 Chrompack 产品,胆酸钠属 Serva 产品, Emulgen 911 为日本 Kao Altas Co Ltd 产品, DEAE 纤维素 52 为 Whatman 产品, EDTA 和甘油为国内产品,纯度均为 AR 或生化试剂。

2. 动物处理

实验使用本校动物房繁殖的雄性 Wistar 纯系大鼠,体重 200 克左右,随机分组。苯巴比妥诱导组动物

* 现在地址: 湖南省劳动卫生研究所。

应性及脾细胞对 IL-2 反应性亦较对照有增强的趋势。其最明显刺激剂量单次照射为 75mGy,持续照射为累积 65mGy。已知 PFC 反应的完成需要 T、B 淋巴细胞的相互作用及协调。因此我们用双重双标记方法检测了丝裂原诱导后淋巴细胞内 DNA、RNA 及蛋白质合成的变化,以此评价照射后淋巴细胞的功能状态。实验发现,受低剂量 X 线照射动物在免疫后初期,ConA 诱导的三种大分子合成均较对照显著增强,而 LPS 诱导的三种大分子合成虽有增强趋势但无统计学意义。上述实验结果提示,照后免疫初期 T 淋巴细胞受小剂量辐射刺激而致功能活化,一方面通过 T-B 细胞接触发挥辅助功能,另一方面可通过释放免疫增强性淋巴因子促进抗体形成反应。此外, B 淋巴细胞受小剂量辐射刺激后亦有功能活化的趋势,虽不显著,但至少可说明在此剂量范围内(<0.1 Gy)未出现有 B 细胞功能减弱的反应。

就目前所获得的实验结果分析,低水平辐射刺激脾脏 PFC (空斑形成细胞)反应,似以 T 细胞系统的反应增强为主。由于 T 淋巴细胞的功能活化,辅助能力增强,IL-2 形成增多而致抗体形成增强。

ConA 诱导的丝裂原反应中,对 ConA 起反应的既有辅助性 T 细胞 (T_H) 也有抑制性 T 细胞 (T_s),且 T_s 的放射敏感性大于 T_H^[7]。我们曾用 ANAE 染色颗粒分型法检测受照小鼠外周血 T 细胞亚组数目的变化,未发现 T_s/T_H 比例的变化,提示小剂量辐射未引起调节性 T 淋巴细胞亚组数目的改变^[8,9]。同时有关 T_s 功能变化的研究也已初步证实低剂量(<0.1Gy)低 LET 辐射并未引起抑制性 T 细胞功能的减弱^[8]。

参 考 文 献

- 1 Luckey TD. *Health Phys.* 1982; 43(6):771
- 2 Gualde N, Goodwin J S. *Cell Immunol.* 1984; 84: 439
- 3 刘树铮,等. *中华放射医学与防护杂志*,1985;5(2);124
- 4 刘伟宏,刘树铮. *中华放射医学与防护杂志*,1986; 6 (2): 77
- 5 刘伟宏,刘树铮. *中华放射医学与防护杂志*,1987; 7 (5): 336
- 6 刘克良等. *生物化学与生物物理进展*,1984;(5): 43
- 7 Miyawaki T *et al.* *J Immunol.* 1982; 128:899
- 8 刘伟宏,刘树铮. *白求恩医科大学学报*,1989;待发表

[本文于1988年9月28日收到]