

X射线低剂量多次辐射对小鼠外周血淋巴细胞的影响

谢漪^{1,3} 张红¹ 党秉荣¹ 郝冀芳¹ 郭红云² 王小虎²

¹(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

²(甘肃省肿瘤研究所 兰州 730000)

³(中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要 为了评估低剂量多次辐射对健康机体产生的生物学风险,检测了X射线多次照射对BALB/c小鼠免疫系统的影响。采用X射线全身多次照射,第1天照射0.07 Gy,之后每天照射0.08 Gy共12 d,剂量率0.2 Gy/min,累积剂量为0、0.07、0.23、0.39、0.55、0.71、0.87和1.03 Gy时取样。照射24 h后取血,用流式细胞仪检测外周血中免疫细胞周期和死亡的变化。结果表明,外周血淋巴细胞的周期在0.39和1.03 Gy时,被阻滞在G₂/M期,在0.07、0.23、0.71和0.87 Gy时,被阻滞在G₀/G₁期;细胞的死亡随着累积剂量的增加而增加,在0.71Gy时达到峰值。经过X射线多次全身照射小鼠后,可引起外周血淋巴细胞周期和死亡比例发生变化,符合线性平方模型,造成其免疫系统一定的损伤。

关键词 X射线多次辐射,外周血淋巴细胞,细胞周期和死亡,小鼠

中图分类号 Q691, Q782, R818.74, R392.3

在太空环境下,辐射主要来自于太阳和银河辐射,其中来自太阳的辐射主要是质子和电子,银河辐射包括85%的质子、14%的氦和1%的重离子^[1]。辐射会造成一些病理学的损伤甚至会造成死亡^[2]。辐射损伤和防护近年来的研究大多集中在大剂量急性照射条件下进行^[3],而研究低剂量率连续照射对免疫细胞损伤的较少。辐射可引起细胞周期发生改变^[3],免疫细胞在免疫系统中起很重要的作用,免疫细胞周期的变化较为客观地显示了机体免疫力的变化^[4]。本文观察了经过X射线多次全身照射小鼠后,可引起外周血淋巴细胞周期和死亡比例发生变化,符合线性平方模型,造成其免疫系统一定的损伤。本实验也许能为辐射防护和航空航天飞行提供一些实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验用纯种BALB/c小鼠,雌雄各半,健康,六七周龄,体重(20±1)g,由甘肃省医学科学院动物实验中心提供。随机分为8组(每组6个,雌雄各半),对照组、0.07、0.23、0.39、0.55、0.71、0.87

和1.03 Gy组。

1.2 主要试剂、仪器和照射条件

淋巴细胞分离液(上海生物工程技术服务有限公司),碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)购自上海生物工程技术服务有限公司,磷酸盐缓冲液(Phosphate buffered saline, PBS),FACSCalibur流式细胞仪(B-D公司)。采用PRIMUS型医用电子直线加速器(能量为6 MeV的电子束产生的X射线治疗机)对小鼠进行全身多次辐照。照射靶皮距(Source to surface distance, SSD)为100 cm。第1天照射0.07 Gy,而后12 d每天照射0.08 Gy,剂量率为0.2 Gy/min。

1.3 免疫细胞周期和死亡的测定

采用流式荧光强度分析。照射24 h后,小鼠眼眶放血,收集血液,肝素抗凝。全血加等量的PBS稀释,混匀后置于2 mL淋巴分离液上,密度梯度离心后(3000 r/min, 20 min),吸出淋巴细胞层,PBS洗1次,75%的酒精固定。样品经PI染色半小时后流式细胞仪检测,波长为488 nm,用FACScan软件收集1×10⁴细胞,Modfit3.0软件分析细胞周期和死亡的变化。

国家自然科学基金(10675151)、甘肃省重点科学技术研究项目(2GS052-A43-008-02)、中国科学院西部之光课题2003(O040602XB0)资助

第一作者:谢漪,女,1981年1月出生,2003年毕业于西北师范大学,现为中国科学院近代物理研究所在读博士研究生,医学物理专业

收稿日期:初稿 2007-05-08,修回 2007-09-25

1.4 统计方法

数据用“均数±sd”表示,各组均数采用单因素方差分析,采用 SPSS11.0 统计软件和 Origin7.0 绘图软件。

2 结果

2.1 外周血淋巴细胞周期的变化

外周血淋巴细胞的数量在 0.07 和 0.23 Gy 累积照射剂量下,在 G_0/G_1 期增加;在 0.39 Gy 累积照射剂量下, G_2/M 期的细胞数量增加;自 0.55 Gy 以后累积照射剂量下, S 期的外周血淋巴细胞的数量都有显著减少;在 0.71 和 0.87 累积照射剂量下,细胞又被阻滞在 G_0/G_1 期;而在 1.03 Gy 累积照射剂量下,细胞重又被阻滞在 G_2/M 期。

2.2 外周血淋巴细胞的死亡变化

外周血淋巴细胞死亡在 0.39、0.55、0.71、0.87

和 1.03 Gy 累积照射剂量下有显著的增加;且在 0.71Gy 时达到最大的增加量。

3 讨论

小鼠经过 X 射线的连续辐射,外周血淋巴细胞的周期在 0.07、0.23、0.71 和 0.87 Gy 时,被阻滞在 G_0/G_1 期;在 0.39 和 1.03 Gy 时,被阻滞在 G_2/M 期;淋巴细胞的凋亡随着累积剂量的增加而增加,在 0.71 Gy 时达到峰值(见表 1 和图 1)。这种现象的原理可能与细胞的辐射敏感性(Hyperradiosensitivity, HRS)和辐射抗性(Radioresistance, IRR)有关。细胞周期在辐射剂量 <0.5 Gy,会很快地被阻滞在 G_0/G_1 ,同时细胞的死亡会随着剂量的增加而增加,在本实验中,当剂量累计 >0.71 Gy 时, G_0/G_1 期和死亡细胞的数量均显著减少,曲线的形状符合线性平方模型^[5,6]。在低剂量时, HRS 对细胞的影响较大,同时染色体不稳定的细胞都被阻滞在了 G_0/G_1 期,随着剂量的增加, IRR 开始发挥较大的作用,细胞阻滞

Table 1 Effects of continuously fractionated X-ray irradiation on cycle of peripheral blood lymphocyte ($\bar{x} \pm S$; $n=6$)

Doses/Gy	(G_0/G_1)/%	S /%	(G_2/M)/%
0	88.34±1.153	5.50±0.824	6.61±1.248
0.07	92.30±0.900***	2.01±0.206***	5.69±0.825
0.23	91.13±0.768*	6.02±0.719	3.84±0.975
0.39	83.96±1.464**	4.32±0.787	11.73±1.386***
0.55	90.62±0.332	1.55±0.187***	7.83±0.441
0.71	96.193±1.003***	1.05±0.063***	2.76±0.981*
0.87	95.90±0.366***	1.19±0.314***	2.92±0.376*
1.03	88.83±1.360	2.48±0.409***	8.68±1.409*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs. control

和死亡发生不同程度的减少^[7]。这种假设至今还没有证据支持。众所周知, DNA 依赖的蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase, DNA-PK) 是 HRS/IRR 的一种标志物,有研究证明在 0.2—0.5 Gy 之间, DNA-PK 的水平没有任何的变化^[8],关于这方面的讨论现在还在继续。这种现象也可能与照射的方式有关,有报道称相同的剂量和剂量率的 X 射线全身照射 BALB/c 小鼠,一次照射剂量为 0、0.39、0.55 和 1 Gy,照射 24 h 后,免疫细胞的周期随着剂量的增加逐渐被阻滞在 G_0/G_1 期,淋巴细胞的死亡也是随着剂量的增加而增加^[3]。而在多次照射剂量为 0.39 和 1.03 Gy 时,细胞周期被阻滞 G_2/M 期,原因可能是多次照射引起的染色体的损伤与一次照射有所不同,因为染色体的不同损伤会引起周期和凋亡的不同变化。多次照射对细胞的损伤存在累积

效应,造成细胞较为严重的损伤和细胞周期的复杂变化。

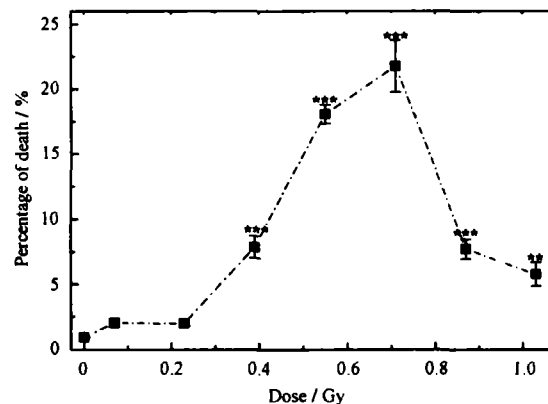


Fig.1 Percentage changes of death of peripheral blood lymphocyte in continuously fractionated X-ray irradiated mice (** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs Control, $n=6$)

实验证明, 经过 X 射线多次全身照射小鼠后, 可引起外周血淋巴细胞周期和死亡比例发生变化, 符合线性平方模型, 造成其免疫系统一定的损伤。

参考文献

- 1 Davila J, Gopalswamy N, Haubold H J, *et al.* Space Policy, 2007, 23(2): 121-126
- 2 Pellmar T C, Rockwell S. Radiat Res, 2005, 163(1): 115-123
- 3 谢漪, 党秉荣, 张红, 等. 辐射研究与辐射工艺学报, 2006, 24(3): 167-170
- 4 Timothy J Hale, Bruce C Richardson, Leonard I Sweet, *et al.* Cell Immunol, 2002, 220(1): 51-62
- 5 Joiner M C, Marples B, Lambin P. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 49(2): 379-389
- 6 Jackie Harney, Susan C, Nihal Shah M D, *et al.* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 59(4): 1190-1195
- 7 Michael C Joiner, Brian Marples, Philippe Lambin, *et al.* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 49(2): 379-389
- 8 Vaganay Juery S, Muller C, Abdulkarim B, *et al.* Br J Cancer, 2000, 83(4): 514-518

XIE Yi, DANG Bingrong, ZHANG Hong, *et al.* J Radiat

Effects of low-dose continuously fractionated X-ray irradiation on murine peripheral blood lymphocytes

XIE Yi^{1,3} ZHANG Hong¹ DANG Bingrong¹ HAO Jifang¹ GUO Hongyun² WANG Xiaohu²

¹(Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Science, Lanzhou 730000, China)

²(Institute of Medicine Science in Gansu Province, Lanzhou 730000, China)

³(Graduate School of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

ABSTRACT For estimating biological risks from low doses continual irradiation, we investigated the effects of exposure to continuously fractionated X-rays on murine immune system. The BALB/c mice were irradiated with 0.07Gy at the first day and 0.08 Gy/d in the following 12 days at a dose rate of 0.2 Gy/min. The peripheral blood lymphocyte cycle and death were determined by flow cytometry at the cumulative doses of 0, 0.07, 0.23, 0.39, 0.55, 0.71, 0.87 and 1.03 Gy respectively. The results showed that the cycle of peripheral blood lymphocyte was arrested in G₀/G₁ at cumulative doses of 0.07, 0.23, 0.71 and 0.87 Gy, and in G₂/M at cumulative doses of 0.39 and 1.03 Gy; the percentage of death of peripheral blood lymphocyte was ascended with dose increasing, and reached the death peak at cumulative doses of 0.71 Gy. The results suggested that low doses continual X-rays total-body irradiated could result in changes of cellular cycle and death, and some damages to immunocytes, which accorded to linear square model.

KEYWORDS Low-dose continuously fractionated X-rays irradiation, Peripheral blood lymphocyte, Cellular cycle and death, Mice

CLC Q691, Q782, R818.74, R392.3