

电离辐射对小鼠脾细胞 IL-2R α 表达的影响

苏 旭 罗 灿 付士波 刘建香 鞠桂芝 刘树铮

(白求恩医科大学卫生部放射生物学重点实验室 长春 130021)

摘要 研究不同剂量、特别是低剂量辐射全身照射后,小鼠脾细胞 IL-2R α 的变化规律,以揭示低剂量辐射免疫增强效应的发生机理。小鼠接受不同剂量 X 射线全身照射 24h 后,体外诱导脾细胞 IL-2R 的表达,采用直接免疫荧光流式细胞术检测脾细胞 IL-2R α 表达的变化。结果 50~500mGy X 射线全身照射后 24h,小鼠脾细胞 IL-2R α 表达显著增高 ($p < 0.05$),表现为 CD25 阳性细胞百分率明显高于假照射对照组,尤其以 50mGy 照射组表达最为明显 ($p < 0.01$)。1.0~2.0Gy 照射组,CD25 阳性细胞百分率无明显变化 ($p > 0.05$)。4.0~6.0 Gy 全身照射后,CD25 阳性细胞百分率明显降低 (分别为 $p < 0.05, p < 0.01$)。以上结果提示:低剂量辐射可促进脾细胞 IL-2R 的表达,这对揭示低剂量辐射免疫增强效应的发生机理具有重要意义。较大剂量辐射全身照射的实验数据还表明:较大剂量辐射全身照射抑制脾细胞 IL-2R 的表达。

关键词 白细胞介素 2 受体, 电离辐射, 流式细胞术

1981 年 Uchiyama^[1] 首次制备了抗活化 T 细胞抗原 (Tac) 的单克隆抗体 (McAb), 以后人们对 Tac 进行了广泛深入的研究。Tac 的分子量为 55kD, 随着研究的深入人们发现: Tac 即为 IL-2 受体 α 链 (IL-2R α), 又称 CD25, 在介导 T 细胞内信号传递中起着重要作用。是 T 淋巴细胞活化的标志。近年来, 国内外学者对低剂量辐射免疫兴奋效应的发生机理进行了大量的研究^[2,3], 结果提示: 低剂量辐射促进胸腺细胞的成熟分化, 激活 T 细胞是低剂量辐射免疫兴奋效应的重要环节。因此, 研究低剂量辐射对脾细胞 IL-2R 表达的影响, 对进一步分析低剂量辐射免疫兴奋效应的机理具有重要意义。本研究采用 Anti-CD25-FITC 标记, 直接免疫荧光流式细胞术 (Flow Cytometry, FCM) 研究了不同剂量 X 射线全身照射后, 小鼠脾淋巴细胞 IL-2R α 表达的变化, 为解释低剂量辐射免疫兴奋效应的分子机理提供了有意义的实验依据。

1 材 料 与 方 法

1.1 动物和细胞

雄性健康昆明小鼠, 体重 20 ± 2 g, 购自白求恩医科大学实验动物部, 随机分为假照射对照组和不同剂量 X 射线全身照射组, 照射后 24h 断头处死, 取 3 只小鼠脾混合制备一份细胞悬液样品, 每组 5 个样品。

1.2 照射条件

用 Philips X 射线深部治疗机进行全身照射。电压 200kV, 电流 10mA, 过滤板 0.5mm Cu 和 1.0mm Al。50~100mGy 组: 靶皮距 212cm, 剂量率 12.5mGy/min; 0.5~6Gy 组: 靶皮距 50cm, 剂量率 0.287Gy/min。

国家自然科学基金资助项目: No 39570188

收稿日期: 初稿 1998-02-19, 修回 1998-07-10

1.3 IL-2R α 表达诱导

动物经 X 射线全身照射后 24h 断头处死,制备脾单细胞悬液,计细胞数,调细胞浓度为 $1\times 10^7/\text{mL}$,取 $100\mu\text{L}$ 加入 24 孔培养板中,加 $900\mu\text{L}$ (含 10% BCS)RPMI1640 培养液,加 Con A (终浓度 $5\mu\text{g}/\text{mL}$)(Sigma,USA) 培养, 48h 后终止培养,用 $0.01\text{mol}/\text{L}$ PBS 清洗细胞 2 次。

1.4 IL-2R α 的检测

采用直接免疫荧光流式细胞术,仪器为 FACScan 流式细胞仪 (Becton Dickinson,USA) 。每份样品取细胞悬液 $150\mu\text{L}$ (1×10^6 细胞),加 Anti-CD25-FITC 单克隆抗体 $4\mu\text{L}$ (Pharmlngen,USA), 4°C 反应 45min, $0.01\text{mol}/\text{L}$ PBS 清洗 2 次,流式细胞术检测分析,收集 1×10^4 个细胞,记录阳性细胞百分率。

1.5 统计学处理

t 检验。

2 结 果

2.1 电离辐射对脾细胞数的影响

小鼠接受 50~500mGy X 射线全身照射后 24h,脾细胞数无明显变化 ($p>0.05$) 。50mGy 照射时,脾细胞数有增加趋势,但无统计学意义。当剂量大于 1.0Gy 时,脾细胞数迅速下降 (见表 1), $D_{37}=1.04\text{Gy}$ 。

Tab.1 Effects of radiation on CD25⁺ cells of splenocytes in mice 24 hours after WBI with X-rays ($\bar{x}\pm s$)

Dose/Gy	No. of splenocytes/ 10^7	CD25 ⁺ cells/%	Sham:Irradiated/%
Sham-irradiated	7.41 $\pm$ 1.27	55.59 $\pm$ 2.99	100.00
0.05	7.60 $\pm$ 1.78	64.694 $\pm$ 2.68 ⁽²⁾	116.37
0.10	6.85 $\pm$ 3.78	59.61 $\pm$ 2.99 ⁽¹⁾	107.23
0.50	5.83 $\pm$ 1.42	61.15 $\pm$ 3.25 ⁽¹⁾	110.00
1.00	2.77 $\pm$ 0.67 ⁽²⁾	57.37 $\pm$ 3.43	103.20
2.00	1.97 $\pm$ 0.44 ⁽²⁾	56.14 $\pm$ 2.46	100.99
4.00	1.01 $\pm$ 0.26 ⁽²⁾	48.17 $\pm$ 3.29 ⁽¹⁾	86.68
6.00	0.46 $\pm$ 0.04 ⁽²⁾	43.64 $\pm$ 4.92 ⁽²⁾	78.50

⁽¹⁾ $p<0.05$, ⁽²⁾ $p<0.01$ vs sham-irradiated group, $n=10$ for sham-irradiated group and $n=5$ for other groups

2.2 低剂量辐射对 IL-2R α 表达的影响

小鼠接受 50mGy~6Gy X 射线全身照射后 24h 断头处死,制备脾单细胞悬液,脾细胞体外加 Con A 诱导培养 48h 后,采用直接免疫荧光流式细胞术检测 IL-2R α 表达的变化。结果表明: 50~500mGy X 射线全身照射后 24h,小鼠脾细胞 IL-2R α 表达显著增高 ($p<0.05$),表现为 CD25 阳性细胞百分率明显高于假照射对照组,尤其以 50mGy 照射组表达最为明显 ($p<0.01$) 。1.0~2.0Gy 照射组, CD25 阳性细胞百分率开始明显变化 ($p>0.05$) 。当剂量大于 4.0Gy 时, CD25 阳性细胞百分率开始明显降低 ($p<0.05$),但是下降的幅度不大。 4.0Gy 和 6.0Gy 照射后 24h, CD25 阳性细胞百分率分别下降到假照组的 86.65% 和 78.50%(见表 1) 。

3 分析和讨论

电离辐射对 IL-2R α 表达的影响一直是辐射生物效应,特别是低剂量辐射生物效应所关注的问题。低剂量辐射对胸腺和人外周血淋巴细胞 IL-2R α 表达的影响,已有文献报道^[4~6]。而低剂量辐射对脾细胞 IL-2R α 表达的影响,尚未见报道。

以往的研究表明:低剂量辐射作用于机体后,启动并促进了 T 细胞的信号传递,在此过程中,TCR/CD3 表达增强。 $[Ca^{2+}]_i$ 对 ConA 的反应性和 PKC 活性增高^[5,6]。由于 $[Ca^{2+}]_i$ 对 Con A 的反应性和 PKC 活性增高,将导致细胞增殖相关的早期基因表达水平增高。已有报道,75mGy X 射线全身照射后,胸腺和脾细胞 c-fos 转录水平和蛋白表达水平均明显增高^[7]。这些分子生物学变化将促进功能蛋白的表达。实验研究已证实这一点,即低剂量辐射照射使脾细胞 IL-2 和 IFN γ 分泌增多,同时还发现低剂量辐射照射后脾细胞对 IL-2 的反应增强^[8]。后者提示低剂量辐射可能增强脾细胞 IL-2R α 的表达。本研究表明:50、100 和 500mGyX 射线全身照射可明显增强 IL-2R α 的表达,表现为 CD25 阳性细胞百分率明显增多(p 值分别小于 0.01 和 0.05)。小鼠在接受 1.0~2.0Gy X 射线全身照射后,脾 CD25 阳性细胞百分率无明显改变($p > 0.05$),当剂量大于 4.0Gy 后,CD25 阳性细胞百分率开始明显下降,但其下降幅度不大,4.0Gy 和 6.0Gy 照射后 24h,CD25 阳性细胞百分率分别下降到对照组的 86.65% 和 78.50%,而全脾细胞在当剂量大于 1.0Gy 后细胞数迅速下降, $D_{37}=1.04Gy$,说明 CD25 阳性细胞具有相对的辐射抗性。剂量效应关系呈二次曲线(见图 1)。

低剂量辐射全身照射后,通过什么机理促进 IL-2R 表达增强,目前尚不十分清楚。细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 对 Con A 的反应性及 PKC 活性增高为其细胞内因素。细胞间、细胞外以及全身调节因素等均影响 IL-2R 的表达。Xu 和 Greenstock 等^[4]的研究发现:接触原子辐射的工作人员和接受医疗诊断照射人员外周血淋巴细胞 IL-2R 表达增强,表明低剂量辐射可刺激 IL-2R 的表达。同时,其体外实验研究表明:受低剂量辐射照射的细胞所分泌的可溶性因子可刺激正常细胞 IL-2R 的表达。提示:低剂量辐射照射促进 IL-2R 表达增强可能是一种间接作用。因此认为,在探讨此问题时还必须考虑低剂量辐射全身照射后神经内分泌系统的改变。特别是下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的功能降低^[9,10]。这些问题值得进一步研究。

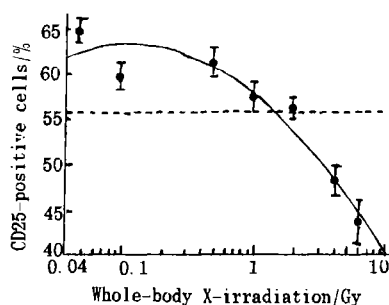


Fig.1 Dose-effect curve of CD25 expression on splenocytes after whole-body irradiation

参 考 文 献

- 1 Uchiyama T, Broder S, Waldman T A. J Immunol, 1981, 126:1393~1404
- 2 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1995, 15(4):217~222
- 3 Sagan L A. The Abstracts of the International Conference on Low Dose Irradiation and Biological Defense Mechanisms. Kyoto, Japan, 1992. 12~16
- 4 XU Y, Greenstock C L, Trivedi A *et al.* Radiat Environ Biophys, 1996, 35(2):89~93
- 5 LIU S Z, SU X, ZHANG Y C *et al.* Int J Occup Med Toxicol, 1994, 3(2):107~117

- 6 苏旭, 张迎春, 万虹等. 中华放射医学与防护杂志, 1997, 17(3):161~165
- 7 Liu S Z, Wan H, Chen S L *et al.* Bethune Univ Med Sci, 1996, 22(6):559~566
- 8 刘树铮, 刘伟宏, 齐进等. 中华放射医学与防护杂志, 1992, 12(5):299~305
- 9 LIU S Z. In: Sugahara T, Sagan L A, Aoyama T eds. Low Dose Irradiation and Biological Defense Mechanism. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science Publishers. 1992, 225
- 10 LIU S Z, ZHAO Y, HAN Z B *et al.* ISBELLES, 1993, 83

EFFECTS OF RADIATION ON IL-2R α EXPRESSION OF SPLENOCYTES IN MICE

SU Xu LUO Can FU Shibō LIU Jianxiang JU Guizhi LIU Shuzheng
(*MH Radiobiology Research Unit, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021*)

ABSTRACT To elucidate the possible mechanism of immunoenhancement after low dose radiation (LDR). The regular of changes of IL-2R α expression in splenocyte following low dose irradiation was studied. IL-2R expression was induced by Con A in vitro 24 hours after whole-body irradiation (WBI). The expression of IL-2R in splenocyte was analyzed by direct immunofluorescence flow cytometry. It was found that the expression of IL-2R in splenocyte was shown significantly increased ($p < 0.05$) 24 hours after WBI with doses of 50~500mGy, in which the percentage of CD25 positive cells was significant higher than that in sham irradiated group, and the highest was in irradiated group with 50mGy ($p < 0.01$). The percentage of CD25 positive cells did not change significantly after WBI with 1.0~2.0Gy ($p > 0.05$). However, the percentage of CD25 positive cells decreased significantly after WBI with 4.0~6.0Gy ($p < 0.05$, $p < 0.01$ respectively). The results indicate that LDR might enhance and stimulate the expression of IL-2R in splenocyte. The results are important to elucidate the mechanism of immunoenhancement after low dose radiation. The results following WBI with higher doses suggested that WBI with higher doses might suppress the expression of IL-2R in splenocytes.

KEYWORDS IL-2R, Ionizing radiation, Flow cytometry