

小鼠全肺照射后肺泡表面活性物质 含量变化及 764-1 的影响*

占启敏 郭 柔 沈 瑜▲

(中国医学科学院肿瘤研究所)

摘要 本文报道了小鼠全肺受X线照射后早期可在肺泡中测出明显增高的表面活性物质,且在8~17 Gy剂量范围内,肺泡表面活性物质含量的增高与照射剂量有一定线性关系。应用中药活血化瘀制剂764-1可明显降低肺照射后肺泡内表面活性物质的增高,而对正常肺泡内表面活性物质水平无影响,提示764-1对肺Ⅱ型细胞这种放射损伤效应有较好的改善作用。至于这种改善作用机理有待进一步探讨。

关键词 放射性肺损伤, 表面活性物质, 肺Ⅱ型细胞

前 言

业已证明,胸部肿瘤放射治疗后,可引起早期放射性肺炎和晚期放射性肺纤维化^[1~4]。然而,放射性早、晚期损伤机制仍不完全清楚,目前考虑与肺Ⅱ型细胞损伤^[4~5]和肺微循环障碍有关^[1,6,7]。由于肺Ⅱ型细胞是肺组织的干细胞,在肺损伤中起增殖、修复作用,并且肺Ⅱ型细胞为辐射敏感细胞,肺照射后Ⅱ型细胞可发生早期损伤,表面出生物特性、形态、数量等方面的改变^[5,8,9],近年来,对Ⅱ型细胞的放射损伤效应已作了较多的探讨。我们测定了小鼠全肺受不同剂量X线照射后一周和三周的肺泡表面活性物质含量,同时观察了764-1对肺照射后表面活性物质释放的影响作用。

材 料 与 方 法

1. 照射源

直线加速器,英国产SL 75-14型能量8 MV, X线剂量率4.5 Gy/min。

2. 实验动物

用雄性昆明小鼠,体重25~30 g,由中国医科院动物中心提供。

3. 药物

764-1为中药活血化瘀制剂,由中国医科院血液学研究所提供。

4. 照射实验动物

用特制有机玻璃固定架固定,照射野为胸部2.5 cm,剂量为8、11、14、17、20 Gy,照射后正常喂养。

5. 给药

〈1〉照射后给药组在照射后第一天开始给予764-1,每日一次,剂量10 g/kg体重,腹腔注

* 中国科学院科学基金资助

▲指导老师

射,连续7天。第8天后改为隔日一次,剂量20 g/kg体重,直至活杀。

〈2〉单纯给药对照组以正常动物按上述方法给药。

〈3〉单纯照射对照组以照射动物按上述给药方法腹腔注射相对应量的生理盐水。

6. 表面活性物质测定

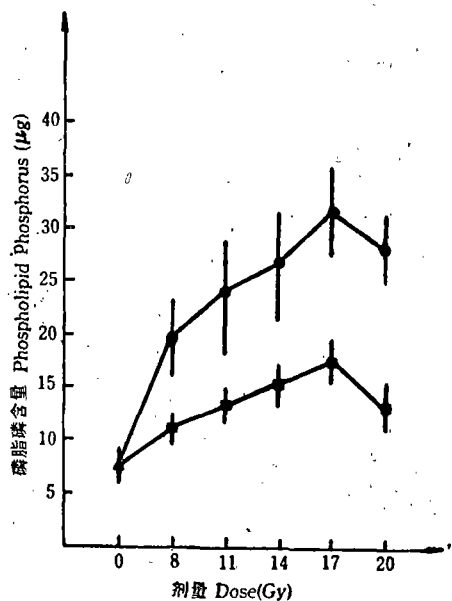
实验动物分别在照射后一周、三周活杀、取样、分析测定肺泡表面活性物质含量。

〈1〉首先腹腔注射硫贲妥钠0.2 ml (200 mg/ml),麻醉后行腹主动脉放血。然后剪开胸腔,取出肺脏,经气管用生理盐水灌洗4次,每次0.8 ml,回收灌洗液。

〈2〉将灌洗液离心10 min (250 g),取一定量上清液按磷脂测定方法^[10,11]进行表面活性物质含量测定。

结 果

(1) 当小鼠全肺受照射后,从肺泡中可测出增高的表面活性物质。如图〈1〉所示,照射后一周、三周的各个剂量组与未照射正常组比较,均有显著性差别($P < 0.01$)。在8-17 Gy之间有一定的剂量一效应关系,17 Gy剂量组表面活性物质含量达最高值,当剂量继续增加到20 Gy,表面活性物质含量开始下降。同一剂量组,照射后三周肺泡表面活性物质含量明显高于照射后一周的含量。



图〈1〉 小鼠全肺照射后(直线加速器8 MVX线)一周、三周肺泡表面活性物质含量变化

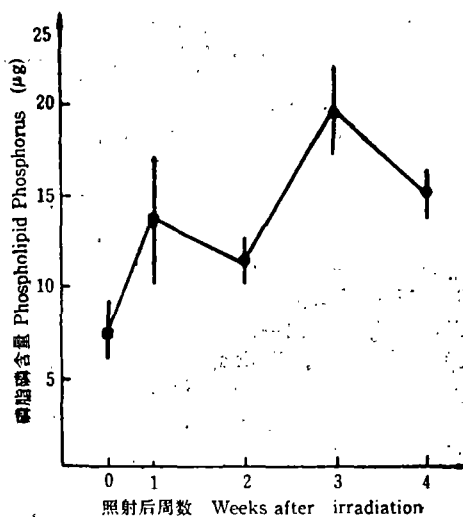
Fig 〈1〉 Lavage fluid phospholipid phosphorus levels measured 7 and 21 days after irradiation of whole lung of mice. (8 Mev X-ray accelerator)

● 照射三周 3 Weeks after irradiation

◆ 照射一周 1 Week after irradiation

▲ 正常 Normal level

每点动物数8—12只。Each point represents the mean standard error of 8—12 mice



图〈2〉 小鼠全肺照射后(220 kv x线)四周内不同时期肺泡表面活性物质含量变化

Fig 〈2〉 Changes in lavage fluid phospholipid phosphorus levels in mice during 1—4 weeks after irradiation with 14 Gy (220 Kv X-ray)

◆ 正常 Normal level

● 照射 irradiation

每点动物数8—12只, Each point represents the mean 8—12 mice standard error

(2) 图<2>表明小鼠全肺单次 14Gy X 线 (220 kv) 照射后四周内不同时期肺泡表面活性物质含量的变化。照射后不同时期 (7 天、12 天、21 天、28 天) 的肺泡表面活性物质均高于正常含量, 三周为峰值, 四个不同时期表面活性物质变化没有规律。

(3) 小鼠全肺照射后给药一周和三周肺泡表面活性物质含量均较单纯照射组低, 可见该药对受照肺表面活性物质有一定的降低作用, 尤其用药三周的抑制作用明显 (图3、4)。用药一周后除 8 Gy 剂量组外, 其它各剂量组以及用药三周所有剂量组与单纯照射的肺泡表面活性物质含量均有显著性差别 ($P < 0.01$), 用药后表面活性物质含量与照射剂量之间没有一定关系。单纯给予 764-1, 不影响表面活物质的正常水平。

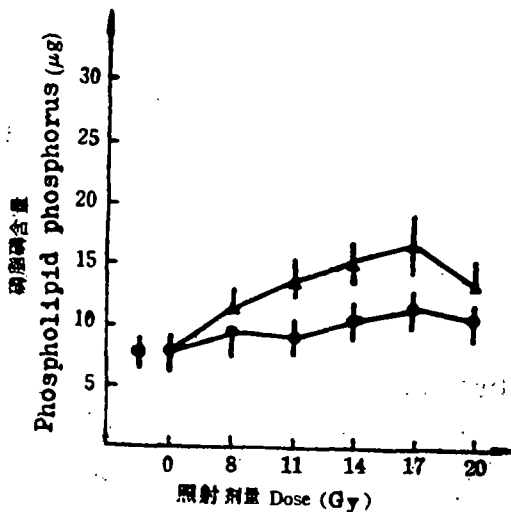


图 <3> 小鼠全肺照射后 (直线加速器 8 MVX 线) 给予 764-1 一周肺泡表面衣性物质含量变化

Fig <3> Lavage phospholipid phosphorus levels measured in mice which were treated with 764-1 for 7 days after irradiation (8Mev X-ray)

- ◆ 单纯用药 764-1
- ▲ 单纯照射 Radiation
- 照射 + 给药 Radiation + 764-1

每点动物数 8—12 只。Each point represents the men 8 mice standard error

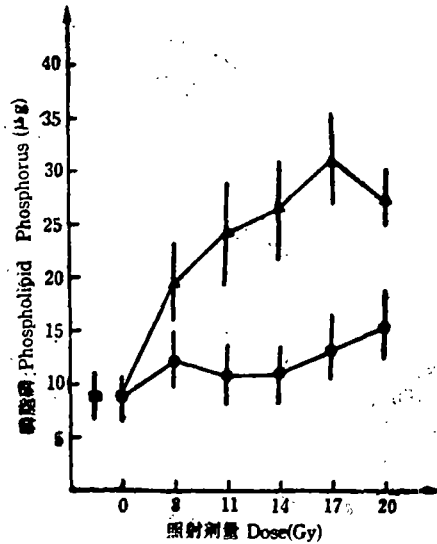


图 <4> 小鼠全肺照射后 (直线加速器 8 MVX 线) 给予 764-1 三周肺泡表面活性物质含量变化

Fig <4> Lavage phospholipid phosphorus levels measured in mice which were treated with 764-1 for 21 days after irradiation (8Mev X-ray)

- ◆ 单纯用药 764-1
- ▲ 单纯照射 Radiation
- 照射 + 用药 Radiation + 764-1

每点动物数 8—12 只 Each point represents the mean 8—12 mice standard error

讨 论

在肺放射性损伤中, 慢性放射性肺纤维化更令人关注, 因其是一种不可逆病理反应, 一旦形成即不可逆转复归。尽管肺晚期纤维化发生的机制不很清楚, 但它的发生则是肺最初的损伤程度超过组织再生能力或受损组织再生能力受到限制的结果^[12]。肺损伤后的修复主要是肺Ⅱ型细胞的功能^[4,8], 如Ⅱ型细胞受放射损伤后丧失其修复、增殖功能, 必然会导致纤维母细胞过度分裂、增殖、最终形成纤维化。因此, 研究作为肺组织干细胞的Ⅱ型细胞放射损伤效应, 寻找Ⅱ型细胞损伤与肺纤维化形成相关的早期指标, 对于判断肺纤维化程度, 筛选预防和治疗肺纤维化的药物都是非常重要的。

肺Ⅱ型细胞具有分泌表面活性物质的特性, 由于其是辐射敏感细胞, 大剂量照射后必然会导致肺Ⅱ型细胞这一生理特性的改变。shapiro(1982), Rubin(1983), Ahier(1985)曾报道小鼠肺受照后, 肺泡中可早期测到增高的表面活性物质^[13,14,15]。照射体外培养的肺Ⅱ型细胞, 也可引起表面活性物质释放增加^[5]。由此可知, 这种放射效应是射线对肺Ⅱ型细胞的原发作用, 而不是放射造成肺微循环损伤后的继发效应。

肺受照后肺泡表面活性物质早期增高的原因与以下因素有关: <1> 射线刺激Ⅱ型细胞内表面活性物质合成增加^[14]。<2> 射线刺激Ⅱ型细胞膜表面活性物质分泌受体, 使分泌增加^[5]。<3> 射线直接引起肺Ⅱ型细胞死亡, 造成细胞破裂性释放^[14]。<4> 射线抑制肺泡巨噬细胞功能, 使表面活性物质清除率下降。目前, 放射引起表面活性物质早期释放增加已作为肺Ⅱ型细胞的早期损伤效应被人们重视。Rubin曾报道小鼠肺受照后肺泡表面活性物质含量早期增高与小鼠全肺受照后280天死亡率之间有平行关系, 其提示表面活性物质增加可作为肺放射性晚期损伤的早期指标^[9]。如果能确定这种早期放射效应和晚期放射损伤之间的相关性, 那么测定肺泡中早期表面活性物质含量将是一种判断晚期肺纤维化程度与照射剂量的关系, 筛选治疗药物的一种短期方法。

我们的实验结果证明辐射能够引起肺泡表面活性物质早期增高, 且在一定剂量范围内(8-17 Gy)这种效应是有剂量依赖性的(图<1>), 如超过该剂量范围, 可造成肺Ⅱ型细胞早期大量死亡, 使表面活性物质丧失来源, 导致肺泡内含量从峰值逐渐下降。同时我们观察到同一剂量照射全肺后一个月内表面活性物质增加的峰值是在第三周(见图2), 说明这个时期是放射引起表面活性物质释放增加这种损伤效应的最强时期, 结果与Ahier报道相符^[4]。因此, 照射后21天可作为我们筛选早期治疗药物的最佳周期。值得注意的是应用中药活血化瘀制剂764-1可明显降低肺照射后肺泡表面活性物质含量, 而对正常组织没有影响(见图3、4), 说明该药对肺Ⅱ型细胞这种放射损伤应具有较好的改善作用。至于这种改善作用是764-1对Ⅱ型细胞的直接作用或是通过其它因素产生的间接作用有待于离体实验进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Philip Rubin, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys, 10(5—34) 1984
- [2] Dietmas. W. Siemann, Radiat Res, 89(396—407) 1982
- [3] E. L. Travis, Radiat Res 84(133—143) 1980
- [4] R. G. Ahier, Robin L Anderson and P. G. Coultas, Radiotherapy and Oncology 3(61—68) 1985
- [5] Donals. L. Shapire, J. N. Finkelstein, Philip Rubin, David P. Penney and Dietmar. W. Siemann, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys, 10(375—378)1984
- [6] Furuta. I, Kob J Med Sci 21(1—15) 1975
- [7] Law. M. P, Radiat Res 103; 1(60—76) 1985
- [8] Dorothy Derlin gall, Am Rev Respir Dis, 127; 3(366—387) 1983
- [9] Philio Rubin, Dietmar. W. Siemann, Donald. L. Shapiro, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys, 9 (1669—1673) 1983
- [10] Chen. p. S, Toribara. T. Y and Warner. H, Analyt Chem, 28(1756—1758) 1956
- [11] 福州部队总院, 临床医学检验 403 页, 上海科学出版社 1977 年
- [12] E. L. Travis, Int. J. Radiat Oncol Biol Phys, 8(879—882) 1982 6(345—347) 1980
- [13] Shapiro. D. L, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys, 8(879—882)

(收到日期 1986 年 4 月 14 日)

THE EFFECT OF 764-1 ON ALVEOLOUS SURFACTANT LEVEL AFTER WHOLE LUNG IRRADIATION IN MICE

Chan Qiming Guo Ruo Shen Yu,
(Cancer institute, Chinese Academy of Medical Sciences)

ABSTRACT This paper has reported that the alveolous surfactant levels in mice after X-irradiation are shown to be increased during early time, which is dose dependent between 8-17 Gy. Chinese traditional medicine 764-1 can reduce the increased surfactant levels with no effect on type II pneumocytes as control. This suggests 764-1 might improve this kind of radiation injury of type II pneumocytes.

KEY WORDS Pulmonary radiation damage, surfactant, type two pneumocytes.