

综述

电离辐射与淋巴细胞

苏燎原

(苏州医学院 苏州)

摘要 早期的临床工作是了解淋巴细胞的辐射剂量与效应关系,作为初期最敏感的指标之一。对原子弹受害者的淋巴细胞也进行了远期效应的观察。实验室工作方面研究了淋巴细胞的活力、死亡率,玫瑰花结、细胞膜和DNA等分子的变化。染色体畸变,微核率及其相互关系的研讨也引起人们重视。

应用PHA、ConA、PWM、LPS分别激活淋巴细胞的各个亚群,研究其辐射效应。有关PHA激活的T淋巴细胞的辐射效应研究得较多。作者察觉PWM和ConA激活的淋巴细胞对辐射敏感,均减弱了辅助B淋巴细胞转化的作用,PHA激活的淋巴细胞受影响较轻,LPS激活的淋巴细胞变化最小。

单克隆抗体技术研究淋巴细胞亚群的进展为进一步研究淋巴细胞的辐射效应提供条件,可以了解辐射影响免疫功能的主要环节。

有的作者研究了各种病人的淋巴细胞的辐射敏感性,以了解免疫方面存在的缺陷,还可作为制定辐射治疗某些白血病方案的依据。

关键词 植物血凝素;刀豆蛋白;美洲商陆;脂多糖;单克隆抗体。

有关‘电离辐射对淋巴细胞的效应,这个课题引起医学工作者重视的原因是:一、淋巴细胞是辐射敏感性最高的细胞之一。二、淋巴细胞是机体免疫中最重要的细胞,它可以反映辐射损伤时机体的免疫和造血功能的异常。三、血淋巴细胞容易采自活体,可以随时观察病情。

临床和实验研究工作

早期大量的临床和实验研究工作是关于电离辐射对整群淋巴细胞的数量和形态的影响。在急性放射病时,外周血中淋巴细胞数在照后迅速下降,并持续减少,淋巴细胞数的变化可以判断伤情,作为早期诊断最灵敏的指标之一:例如根据外周血淋巴细胞绝对值估算受照剂量:当每立方毫米600个时推算剂量为 $(400 \sim 600) \times 2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg}$,300个则照射剂量超过 $600 \times (2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg})^{[1]}$ 。

随后研究照射后淋巴细胞的活力^[2]: α 线2至 $5 \times 2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg}$ 可产生13%及35%的效应(根据形态学及运动变化)。淋巴细胞存活率^[3,4]以及淋巴细胞的集落形成^[5]均随辐射剂量增加而减少,两者呈线性关系,并显示含有两个辐射敏感性不同的亚群。花环试验^[4,6]:观察淋巴细胞表面膜受体的辐射效应,比较各亚群的辐射敏感性。甚至有报道^[7]认为用 $2 \times 2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg}$ 照射离体的淋巴细胞,在照后10分钟玫瑰花结消失。还有研究浆膜表面电荷和细胞膜通透性,认为淋巴细胞膜是辐射的敏感靶子^[8]。淋巴细胞的染色体畸变^[9],作为粗估受照剂量的“生物剂量计”。近年来还有应用分带技术、姐妹染色单体互换和早期染色体凝聚等指标研究辐射效应。许多作者对辐照后淋巴细胞微核形成率及其产生机制进行研究:有些作者认为淋巴细胞的微核是由发生畸变的染色体部分于胞质中在不同状态、不同条件下融合的结果^[10],还认为与染色体畸变有高度密切相关性^[11]。另一作者则认为微核率和染色体畸变率是不能作定量比较的,因为不是全部染色

体断裂都能形成微核,有些断片经几次分裂仍保留在胞核内,和有些微核在几次分裂时仍不丢失。部分微核可能是由整条染色体而不是断片形成的。然而,如果全部染色体断裂都能形成微核时,染色体畸变率有可能接近微核率的上限值^[12]。

许多作者研究用植物血凝素(PHA)激活的T淋巴细胞的辐射效应,早期应用镜检法,70年代后多用³H-胸腺嘧啶核苷掺入实验反映淋巴细胞转化^[13,14],甚至用¹⁴C-尿嘧啶核苷和³H-亮氨酸、¹⁴C-缬氨酸的掺入实验分别反映淋巴细胞转化过程中的DNA、RNA和蛋白质合成^[15],以此研究电离辐射作用下淋巴细胞内各种大分子代谢的变化。有的文献^[16]提出淋巴细胞DNA合成和蛋白质合成两个指标是平行的。作者曾用³H-胸腺嘧啶核苷和¹⁴C-缬氨酸掺入受照后的被PHA激活的淋巴细胞,其受抑程度近似^[15]。

淋巴细胞也是一个很好的模型提供研究各种射线的效应及其相对生物效应。作者曾用³H-胸腺嘧啶核苷掺入T淋巴细胞的指标测定快中子和⁶⁰Co γ 线的相对生物效应为1.98:1^[17]。与其他作者近似^[18]。Edwards比较了质子和³氦离子对人淋巴细胞染色体畸变的相对生物效应^[19]。Han-nan等也比较了 γ 线和快中子对人淋巴细胞被³H-胸腺嘧啶核苷掺入的相对生物效应^[20]。

对原子弹爆炸后的幸存者外周血淋巴细胞的变化做了大量观察^[21]:30年后发现T细胞的百分数不减少,但并发恶性肿瘤者其百分数轻度降低。但PHA诱导的外周血淋巴细胞转化的百分数随年龄增加而显著降低,特别是接受 $200 \times 2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg}$ 以上剂量照射的群体。有人认为部分淋巴细胞是长寿命的^[22],因而其辐射效应是持续的。这些幸存者癌的发生率高,许多检查者认为淋巴细胞功能降低与恶性肿瘤的发生是密切相关的,而且易于导致感染^[23-25]。

许多作者发现 $(100 \sim 800) \times 2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg}$ 照射后淋巴细胞对丝裂原刺激的反应受抑制呈线性减少^[26-28]。但是其中10-40%属于放射抵抗性细胞成分,在 $(1500 \sim 2800) \times 2.58 \times 10^{-4} \text{c/kg}$ 照射后仍有淋巴细胞转化和DNA合成。其辐射剂量对效应在座标上呈双相曲线,反映了淋巴细胞中起码有两种不同的成分,其辐射敏感性不同,可以反映一个特定的细胞群放射敏感性的异质性,或不同的细胞亚群具有不同的放射敏感性,认为可能反映淋巴细胞中存在着不同增殖时间的群体,增殖时间短的在短期内死亡,增殖时间长的存活较长^[28-30]。

关于B淋巴细胞的辐射效应:抗体的生成研究较多,对机体进行照射以及给予抗原的时间不同,对于抗体的生成表现出刺激或抑制,从而得出免疫活性细胞的敏感性顺序是:潜在性免疫活性细胞>激活免疫活性细胞>成熟效应细胞^[31]。即照后12~72小时给予抗原,抗体生成受抑最严重,反映潜在性免疫活性细胞对辐射最敏感。如果在照射前给予抗原,则免疫活性细胞已受到激活,照射的影响就小。

淋巴细胞亚群的辐射敏感性

淋巴细胞各个亚群的辐射敏感性不同,多数作者认为B淋巴细胞比T淋巴细胞敏感。但有报告^[6,32]根据花环试验表明AE活性玫瑰花结的T淋巴细胞亚群比B淋巴细胞敏感性高,其中以T抑制细胞群敏感性最高^[32]。

目前许多报道是应用不同的丝裂原激活不同的淋巴细胞亚群,研究它的辐射效应。

PHA激活T淋巴细胞,已如前述,有关报道很多,但必须指出PHA能提高T淋巴细胞的辐射抗性,照后立即加入PHA保护作用大,可能与T淋巴细胞激活后DNA聚合酶和连接酶活性增加、修复断裂的DNA及染色体功能增强等因素有关^[33]。

刀豆球蛋白(ConA):多数作者认为它激活T抑制细胞^[34-36],亦有认为它激活T辅助细

胞^[37,33], 我们的实验支持后一种观点^[38]。

用单克隆抗体进行研究, 认为用 ConA 激活 T 淋巴细胞, 则 T_H 和 T_S 细胞都能起增殖反应, 但只有 T_S 细胞成为 T 抑制细胞, 而 T_H 细胞则能辅助 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白^[40]。

美洲商陆(PWM): 激活 T 辅助细胞和 B 淋巴细胞, 使 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白, 在这个反应中, T_HI₁ 及 T_HI₂ 两群体都能单独协助 B 淋巴细胞^[40]。

脂多糖(LPS)激活 B 淋巴细胞, 许多作者都用它激活小鼠脾脏的 B 淋巴细胞, 本实验室利用它激活人血 B 淋巴细胞, 用同位素掺入法测定 B 淋巴细胞的转化能力^[41], 进行了辐射研究和临床测定。作者查觉 ⁶⁰Co γ 线(100~4000) $\times 2.58 \times 10^{-4}$ c/kg 作用下 PWM 激活的人血淋巴细胞 ³H-胸腺嘧啶核苷的掺入受到显著抑制, 并失去辅助 B 淋巴细胞的作用, LPS 激活的 B 淋巴细胞受同样剂量照射则变化不明显。肿瘤病人接受一个疗程的 ⁶⁰Co 治疗后, 其 PWM 激活的淋巴细胞掺入显著降低, 失去激活正常人 B 淋巴细胞的作用, 而病人中 LPS 激活的 B 淋巴细胞变化不明显, 仍可接受 PWM 激活的正常人淋巴细胞的刺激而转化^[42]。ConA 激活的淋巴细胞接受照射后的变化和 PWM 激活的细胞类似^[38]。⁶⁰Co 治疗后的肿瘤病人被 PHA 激活的 T 淋巴细胞转化明显抑制, 而 B 淋巴细胞转化却显著增强^[43]。这些实验结果都反映了人血 T 淋巴细胞比 B 淋巴细胞对辐射敏感。B 淋巴细胞转化增强可能由于 T 抑制细胞受抑。

Anderson 等^[44]用 x 线照射离体的淋巴细胞, 发觉 T 抑制细胞比 T 辅助细胞敏感性高, 表现在(5~25) $\times 2.58 \times 10^{-4}$ c/kg 照射后鼠脾细胞显著增强了抗体生成, 与我们的实验结果一致^[43]。

Knox 等^[45]用(0~400) $\times 2.58 \times 10^{-4}$ c/kg x 线照射离体的淋巴细胞, 用放射性掺入实验及集落形成方法发现 PWM 激活的淋巴细胞比 ConA 激活的淋巴细胞敏感。后者又比 PHA 激活的淋巴细胞敏感。我们用放射性掺入实验的结果表明^[46]: 敏感性的顺序是 ConA 细胞 > PHA 细胞 > LPS 细胞。

Yamada^[47]选择了长崎受照 100 $\times 2.58 \times 10^{-4}$ c/kg 以上的 70 名原子弹受害者, 设同等年龄和性别 70 名作对照: 检查了由 PWM 激活的外周血 B 淋巴细胞分化为产生免疫球蛋白的细胞和 ConA 激活 T 抑制细胞的功能, 虽然与正常对比两者均受抑, 但其中只有对产生 IgM 的细胞抑制作用的百分数变化有统计学意义。

还有从分子水平进行检测, 比较各亚群淋巴细胞的 DNA 链断裂及其重接^[43]。

展 望

近几年来, 利用单克隆抗体技术研究 T 细胞表面抗原取得了惊人的进展, 其中 Leu 系和 OKT 系是研究较为深入的抗 T 细胞表面分化抗原的单克隆抗体, 1982 年在巴黎的白细胞分化抗原国际讨论会将其分为九大类^[49]。1986 年在波士顿的白细胞分化抗原国际会议上对单抗的研究又有了新的进展。各种单克隆抗体问世, 为深入研究淋巴细胞亚群提供了条件。各淋巴细胞亚群的功能及其相互调节是一个值得探讨的课题, 对于揭示机体的免疫调节是非常重要的。1982 年 Wasserman^[50]用单克隆抗体研究了淋巴细胞的辐射效应, 测定了辐射治疗后抑制性和辅助性 T 淋巴细胞的数量及其比例的变化。作者应用单抗的研究表明辐射敏感性顺序: T 抑制细胞 = B 细胞 > T 辅助细胞^[51]。今后进一步研究辐射主要损伤了哪一种淋巴细胞亚群, 继发地影响哪些亚群, 而导致免疫功能的障碍, 对于阐明辐射免疫学将有其重大的作用。

有些学者研究了各种病人的淋巴细胞的辐射敏感性与正常人相比可帮助了解疾病时免疫方面存在的缺陷, 有助于阐明发病机制。例如 Knox^[45]报道 Fanconi 贫血病人的淋巴细胞比正常淋巴

细胞辐射敏感性高,因此这些病人患白血病和恶性肿瘤的发病率增高,并增加辐射导致肿瘤的易感性。

研究电离辐射对淋巴细胞的效应还可作为制定辐射治疗某些白血病的方案的依据,例如 Thomson 等^[62]认为慢性淋巴细胞性白血病病人的淋巴细胞中抑制性 T 细胞比辅助性 T 细胞辐射敏感性高,但各个病人各种淋巴细胞亚群的辐射敏感性不尽相同,可以逐个照射离体的淋巴细胞,有助于决定有效的辐射治疗方案。Catovsky^[63]等用照射脾脏的方法治疗慢性淋巴细胞性白血病,可以降低 T 淋巴细胞的绝对数,显著降低 T_H 细胞,而 T_M 细胞不受损,使 T_M: T_H 比例恢复正常。

参 考 文 献

- [1] 刘及,放射损伤学,原子能出版社,北京(1981)。
- [2] 联合国原子辐射效应科学委员会,电离辐射:水平与效应 第二卷效应,原子能出版社,北京,(1977)。
- [3] 刘静仪,国外医学,放射医学分册 7(4): 193 (1983)。
- [4] 茅子均,殷志伟,虞介昌,张学光,杨惠新,苏州医学院学报,(3—4): 39 (1985)。
- [5] 马祥瑞,汪涛,王洪云,辐射研究与辐射工艺学报 3(2): 6 (1985)。
- [6] Шилик ч., Крушевский Е., и Ендржейчак В. 国外医学分册 7(2): 94 (1983)。
- [7] Kúteles G. J., Bianco A.. (魏康 译),国外医学,放射医学分册,10(2): 91 (1986)。
- [8] Chandra S. & Stefani S., Int. J Radiat. Biol. 40: 305 (1981)。
- [9] 周焕庚,郑斯英,遗传学报 2(1): 48 (1975)。
- [10] 王天宇,杨丽君,黄钦田,辐射研究与辐射工艺学报,1(1): 64 (1983)。
- [11] 王天宇,杨丽君,辐射研究与辐射工艺学报 2(2): 45 (1984)。
- [12] Aghamohammadi S. E., Henderson L., Zeinab S. E.; Henderson L. & Cole R. J.. (黄进中摘) 国外医学放射医学分册 10(1): 36 (1986)。
- [13] 苏燎原,林兴成,刘克良汪涛,生物化学与生物物理进展 (3):10 (1977)。
- [14] 苏州医学院卫生系第三教研室,同上 (3):14 (1977)。
- [15] 苏燎原,刘克良,林兴成,冯纪辛,遗传学报 8(3):216 (1981)。
- [16] Rosenberg S. A., & Levy R., J. Immunol. 108(4):1080 (1972)。
- [17] 苏州医学院卫生系第三教研室,生物化学与生物物理学报 10(1): 51 (1978)。
- [18] Hundry J. H., & Howard A., Int. J. Radiat. Biol., 19:51 (1971)。
- [19] Edwards A. A. Lloyd D. C. Prosser J. S., Finnon P. & Moquet J. E., Int. J. Radiat. Biol., 50(1):137 (1986)。
- [20] Hannan M. A. & Gibson D. P., Radiat. Res. 104:94 (1985)。
- [21] Akiyama M., Yamakido M. Kobuke K., Dock D. S. Hamilton H. B. Awa A. A. & Kato H., Radiat. Res. 93:572 (1983)。
- [22] Fitzgerald, P. H., J. Theor. Biol. 6:13 (1964)。
- [23] Cihak R. W., Ishimaru I., Steer A. & Yamada A., Cancer 33:1580 (1974)。
- [24] Ichimaru M., Ichimaru I. & Belsky J. L., J. Radiat. Res. 19:262 (1978)。
- [25] Ichimaru T. Finch S. C. N. Engl. J. Med., 301:439 (1979)。
- [26] Birkeland, S. A., Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 57:425 (1978)。
- [27] Baral E., Blomgren H. & Juhlin I., Cancer 44:1241 (1979)。
- [28] Baral E., Blomgren H., Acta. Radiol. Ther. Phys. Biol. 15:149 (1976)。
- [29] Fauci A. S., Pratt K. R. & Whalen G., Immunology 35:715 (1978)。
- [30] Herva E., Kivinitly K., Strahlentherapie 149:504 (1975)。
- [31] 刘及,放射损伤学第 85 页 原子能出版社,北京,(1981)。
- [32] Wasserman J., in "Immunopharmacologic Effects of Radiation Therapy" (Dubois J. B. et al Eds) Raven, New York 123 (1984)。
- [33] Woods G. M., Lowenthal R. M., Radiat. Res. 98(3):606(1984)。
- [34] 盛慧珍,藏人杰,余颢,上海免疫学杂志 3(5): 257 (1983)。
- [35] Smith W. G., Usinger W. R. & Splitter G. A., Immunology 43:91 (1981)。

- [36] Tsokos G. C., Christian C. B. & Balow J. E., *Immunology* 47:85 (1982).
- [37] James W., Watson J. Gillis S. Marbrook J. Mochiruki D. & Smith K. A., *J. Exp. Med.* 150:849 (1979).
- [38] Nagata N. Nakai Y., Sano H. & Hamashima Y., *Immunology* 47:387 (1982).
- [39] 苏燎原, 刘克良, 刘芬菊, 徐映东, 耿勇志, *中华微生物学和免疫学杂志* 6(2):71 (1986).
- [40] 洪锦心, *肿瘤*, 4(1):31 (1984).
- [41] 苏燎原, 薛智谋, 陈光伟, 孙正德, 徐琴秋, *中华微生物学和免疫学杂志* 2(6):346 (1982).
- [42] 苏燎原, 刘克良, 刘芬菊, 许昌韶, 耿勇志, 徐映东, *苏州医学院学报* 71:17 (1987).
- [43] 苏燎原, 刘克良, 薛智谋, 耿勇志, 许昌韶, *遗传学报*, 12(4): 309 (1985).
- [44] Anderson R. E., & Lefkovits I., *Am. J. Pathol.* 97:456 (1979).
- [45] Knox S. J., Shifrine M. & Rosenblatt L. S., *Radiat. Res* 89:575 (1982).
- [46] 刘克良, 苏燎原, 薛智谋, 陶明山, 马祥瑞, 王明锁, 王洪云, *辐射研究与辐射工艺学报* 2(1):56 (1984).
- [47] Yamada Y., Neriishi S., Ishimaru T., Shimba N., Hamilton H. B., Ohgushi Y., Koyanagi M. & Ichimaru M., *Radiat. Res.* 101:351 (1985).
- [48] 殷建林, 苏燎原, 刘克良, *辐射研究与辐射工艺学报*, 6(1):33(1988).
- [49] 白炎, *中华病理学杂志* 12(4):305 (1983).
- [50] Wasserman J., Petrini B. & Blomgren H., *J. Clin. Lab. Immunol.* 7:139 (1982).
- [51] 徐映东, 苏燎原, *辐射研究与辐射工艺学报*, 5(4):60(1987).
- [52] Thomson A. E. R., Vaughan-smith S. Peel W. E. & Wetherley-mein G., *Int J. Radiat. Biol.* 48(6):943 (1985).
- [53] Catovsky D., Lauria F., Matutes E., Foa R., Mantovani V., Tura S. & Galton D. A. G., *Brit. J. Haematology* 47:539 (1981).

(稿件收到日期:1986 年 12 月 1 日)

IONIZING RADIATION AND LYMPHOCYTES

Su Liaoyuan

(Department of Medical Radiobiology, Suzhou Medical College)

ABSTRACT The relationship between radiation doses and its biological effects in lymphocytes was used as one of the most sensitive methods in early clinic work. The investigation of the change of activity, mortality, chromosome aberration, rosette formation, cell membrane and DNA molecule in lymphocytes was performed in different laboratories.

Lymphocyte subpopulation was induced by PHA, ConA, PWM and LPS respectively. The radiation effects on the transformation in the subpopulation was studied. More research work in T-lymphocytes stimulated by PHA has been done. In our laboratory it demonstrated that PWM-induced and ConA-induced lymphocytes was more sensitive to irradiation, both of them decreased the effects of help B lymphocytes transformation. PHA-induced lymphocytes was less sensitive. While the effect of radiation on LPS-induced Lymphocytes was not very obvious.

The study of lymphocyte subpopulation and the radiation effect on it by using monoclonal antibody technique is to be carried out, then the effect of radiation on the main chains in immunity would be illustrated.

Study of radiosensitivity of lymphocytes in various patients is beneficial to understanding defects in immunity and helpful of in design of more effective radiation regimes in some leukemia patients.

KEY WORDS PHA; ConA; PWM; LPS, Monoclonal antibody.