

简报

整体照射后淋巴细胞的免疫效应 I, 狗 内、外照射后血淋巴细胞的免疫效应

叶淑华 毕和堪 刘琪华

(上海医科大学放射医学研究所, 上海)

摘要 本文应用 ET, ZC_3 和淋巴细胞功能等测量方法, 观察狗一次大剂量照射和 $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 中毒后的血淋巴细胞的免疫效应。

关键词 抑制; 刺激; 增殖; 丝裂原细胞免疫

实 验 部 分

1. 外照射动物模型

8 条体重为 12.5~13 kg 的健康雄性 大草狗给予 剂量率为 0.34 Gy/min 的 3 Gy ^{60}Co γ 射线照射, 于照后 1、3、6、10、13 天后肢静脉抽血, 加抗凝剂, 进行外周血 ET、 ZC_3 淋巴细胞计数, 和 ^3H -TdR 掺入功能的动态观察, 并与照前相比。

2. 内照射动物模型

按 ICRP 标准, 危象器官骨含量(全身) ^{232}Th $3.7 \times 10^2 \text{Bq}$ 量计算, 折合标准人(体重为 70 公斤) 全身最大允许量含钍 89 mg, 设大小两个剂量组(分别简称为 L 与 S 组), 分别给予 ^{232}Th 量为最大允许量的 350 倍和 2 倍, 若按体内实际最小负荷量计算, 则 L 组为标准人的 210 倍, S 组为 1 倍^[3]、相当全身骨 Th 含量 2.1 μCi 和 0.02 μCi 。

钍中毒试验的两组, 各设雄性、体重为 8.5~10 kg 的上海郊区产小草狗 8 条, 对照 5 条, L 组饲养过程死去一条剩下 7 条。每日注射 10 mg/ml 浓度的葡萄糖 $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 1 ml/kg 体重。L 组注射为 4 个月, S 组为 1 个月, 对照组注射等体积盐水。注射 $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 后在半排出量时, 即中毒后一年, 静脉取血, 用全血微量培养法, 在有丝分裂原 PWM 的刺激下, 作同位素 ^3H -TdR 掺入量的测定, 观察外周血 T、B 二类细胞的增殖反应。与对照组作比较观察^[3]。

3. 外周血 ET、 ZC_3 的百分计数及 T、B 淋巴细胞的功能测定, 详细方法见文献^[4~6]

结 果

1. ^{60}Co 照射对狗外周血淋巴细胞的动态变化

(1) 照后 ET、 ZC_3 百分计数变化 图 1 展示了经 3Gy 照射后的狗外周血 ET、 ZC_3 两类细胞百分计数的变化, 并随病程的发展而发展, 早期 ZC_3 的下降速率较 ET 为剧, 照后第一天比照前下降了 23.4%, 同时 ET 波动于正常范围, 至照后第三天方见下降, 以后两类细胞数皆处低下状态。10 天后, ZC_3 值已开始上升, 而 ET 仍在继续下降。由于机体极度衰弱, 未待恢复已都相继死亡。两类细胞照后 1~3 天内的百分值与对照相比, P 值 < 0.01 。

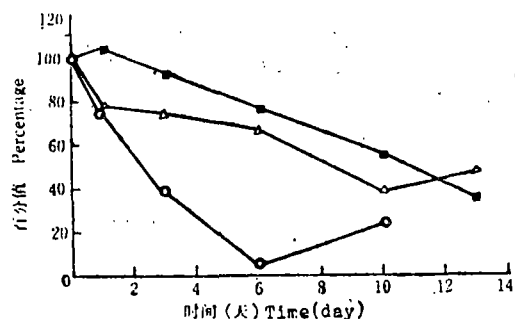


图1 照后 ET, BC, SI 动态变化

Fig. 1 The Kinetic change of ET, Bc, SI, after radiation

■ ET △ BC ○ SI

(2) 照后 T/B 比值的变化 如表所示: 照后 1 天内的 T/B 比值变化都较照前为高。照后第 1 天和 10 天的比值各达 1.90 和 2.03, 比照前提高 36% 和 45%。提示 B 细胞比 T 细胞对辐射有较大的敏感性。

表 1 ^{60}Co 全身照射后狗外周血淋巴细胞 T/B 比值的变化

Table 1 The changes of the ratio of T to B in periphery blood

时 间	Time	T/B	Ratro
照射前	Before Irrad	1.40	
照射后(天)	After Irrad(day)		
	1	1.90	
	3	1.75	
	6	1.61	
	10	2.03	
	13	1.05	

表 2 照后淋巴细胞转化
Table 2 Lymphocytic transformation after irradiation

编号 N	辐照前 Before irradiation	辐照后 1 天 After irradiation(day)				
		1	3	6	10	13
1	146.9	9.4	2.6	0	60.0	D
2	130.0	25.2	15.3	9.7	17.9	0
3	391.4	86.8	29.0	1	D	
4	68.2	41.9	17.4	0	24.5	/
5	137.2	73.8	2.5	0	D	
6	71.6	8.4	9.3	0	143.4	0
7	225.4	91.2	60.8	0	80.6	D
均值 Average	167.2	47.8	19.6	1.58	66.5	
±S.D	112.0	35.9	20.4	3.6	50.67	

表 3 照后淋巴细胞功能的比较

Table 3 Comparing the function of lymphatic transformation after irradiation

时间 time	刺激指数 Stimulation Index		照前比较 Comparing with that before irradiation %
	SI/0.1 miblood	SL/1 × 10 ⁶ C.	
辐照前 Before Irrad.	167.2 ± 112.0	567.8	100
辐照后(天) After Irrad.(day)			
1	47.8 ± 35.9	422.6	74.3
3	19.6 ± 20.4	217.8	37.9
6	1.6 ± 3.6	23.5	4.2
10	56.7 ± 50.7	130.3	22.9

(3) 照后淋巴细胞转化功能的动态变化。由表 2、3 可见, 照后狗淋巴细胞转化功能普遍显著下降, 除照后立即死亡的一条狗外, 第 1 天起即有 5/7 的狗 SI 下降至照前的 30% 以下, 其中最甚者仅为照前的 6%。若将照后变化与照前相比, 并将照前的 SI 作 100%, 则见淋巴细胞转化功能类同 ET; Zc₃ 百分计数变化, 随着病程发展而抑制严重。照后 1、3、6 日分别为照前的 74.33%、

表 4 正常狗外周血淋巴细胞转化功能

Table 4. The function of lymphocytic transformation in normal dog's periphery blood

品 种 Species	编号 No	刺激指数 Stimulation Index	
		SL/0.1 ml blood	Average ($\bar{x} \pm S, D$)
普通小草狗 Common Small dogs	1	77.9	69.59 $\pm$ 12.9 (5 条)
	2	51.3	
	3	72.8	
	4	62.3	
	5	83.6	
Beagle dogs	1	134.3	164.3 $\pm$ 164.3 (3 条)
	2	237.3	
	3	121.3	
普通大草狗 Common large dogs	1	121.3	151.64 $\pm$ 93.94 (11 条)
	2	162.5	
	3	162.4	
	4	51.1	
	5	146.9	
	6	130.0	
	7	391.4	
	8	68.2	
	9	137.2	
	10	71.6	
	11	225.4	

* 平均数下()内为条数

表 5 注射 $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 后淋巴细胞转化Table 5 Lymphocytic transformation after $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ injection

组 别 Group	编号 No	SI/0.1 ml blood	Average ($\bar{x} \pm SD$)
L	1	130.8	112.0 $\pm$ 72.7
	2	100.9	
	3	65.8	
	4	82.4	
	5	36.4	
	6	261.5	
	7	100.5	
S	1	167.7	221.0 $\pm$ 63.8
	2	210.8	
	3	165.5	
	4	216.1	
	5	377.7	
	6	232.3	
	7	177.7	
	8	220.7	
对 照 Control	1	77.9	69.59 $\pm$ 12.9
	2	51.3	
	3	72.8	
	4	62.3	
	5	83.6	

37.92%和4.23%。尤其第6天, 7条狗中有5条转化功能SI为零。第10天不论是以0.1 ml全血, 还是 1×10^6 淋巴细胞数计算, SI均显恢复趋势, 但仍不稳定。照射13天后, 由于机体

及其器官十分衰竭,均陆续死亡。

2. $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 中毒狗外周血的淋巴细胞转化功能

(1) 不同品系正常狗外周血淋巴细胞转化功能。由于种属与个体的差异,在同样的实验条件下,不同品种狗的淋巴细胞转化也不同,(见表4)普通小草狗对 PWM 刺激的增殖反应最低,0.1 ml 全血的 SI 平均为 69.6 ± 12.9 , 美国 Beagle 狗增殖能力最强,平均刺激指数为普通小狗二倍余,大草狗介于两者之中。

(2) $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 中毒后外周血淋巴细胞转化功能 上述两种剂量的中毒狗与对照狗均按同法^[6]取血,作微量血培养淋巴细胞转化功能测定由表5可见:不同中毒剂量对狗的淋巴细胞转化能力不同,大剂量组7条中有4条高于正常,2条处于正常范围,1条低于正常,SI 均值为 112.0 ± 72.7 。小剂量8条全部高于正常,均值为 221.0 ± 63.8 ,约为对照的三倍,大剂量组的一倍,提示两种剂量对免疫细胞增殖能力都有一定的增强作用。其中小剂量组尤为明显。

讨 论

本实验证实了一次较大剂量的照射对狗的外周血 T、B 淋巴细胞中的 ET、ZC₃ 细胞不仅百分值明显下降、而且淋巴细胞转化功能严重抑制,其影响程度与放射病程密切相关。虽然两类细胞均来自辐射敏感的造血组织,但其敏感的程度有异,整个病程 ZC₃ 细胞的下降速率始终高于 ET 细胞,提示了经照射机体的 ZC₃ 细胞对辐射的反应比 ET 细胞为敏感。这个结果与 Prosser^[7] 在体外照射条件下,所作的人淋巴细胞的敏感性测定结果相符,和 Durum et al^[8] 用小鼠脾细胞作的研究也相一致。进一步观察 T/B 比值,可见照后不仅比值增加,且在照后的第一与第十天呈现二个峰值,这可能与 Prosser 认为的两类细胞本身都含辐射敏感性不同的亚群有关。根据李春海、杨文礼的报道,认为 C₃ 补体受体的 B 细胞辐射效应高于 ET 细胞,含小鼠红细胞受体的 B 细胞辐射敏感性比 ET 细胞还低^[9~10]。本实验中的补体 B 细胞通常占总 B 细胞的 70% 左右,因此照后前三天的 T/B 比值下降,主要由 ZC₃ 细胞亚群受辐射所致。此时其他淋巴细胞可能处于潜在致死或亚致死阶段,在辐射后的早期未呈现严重致伤现象。随着病情的发展逐渐呈现出它们对射线的反应。

将代表 T、B 细胞 DNA 合成功能的 $^3\text{HTdR}$ 掺入率和代表 T、B 淋巴细胞表面标志的百分值与照前相比,可见照后 10 天内的每一时相点的掺入率都明显低于 T、B 细胞百分计数的改变,说明淋巴细胞的功能改变比表面标志对射线的反应有较高的敏感性。

关于辐射对淋巴细胞转化的抑制作用已得到证明^[11],有些学者还报道电离辐射对狗外周血淋巴细胞转化能力有抑制作用,其抑制程度与照射剂量有关,剂量越大,抑制越严重,在 1—8 Gy 的范围内,抑制作用严重依赖剂量。Kennedy^[12] 曾用溶血空斑(PFC)作指标,观察辐射的敏感性,发生在 0.25~0.5 Gy 的剂量范围内,免疫力有增加现象。本实验结果表明 $^{232}\text{Th}(\text{NO}_3)_4$ 在体内对外周血淋巴细胞 $^3\text{HTdR}$ 掺入有增强作用,其中小剂量组尤为明显,与 Kennedy 的发现有同样现象。和我国广东高本底地区(钍)调查结果有类似之处^[13],与 Benjemi 用不同剂量 ^{198}Au 体外照射量很小对(0.0067 Gy) $^3\text{HTdR}$ 掺入比 0.1069 Gy 的范围还要高相一致^[14]。许荣^[3] 认为多次慢性中毒容易造成钍的沉积,而钍的沉积又多发生于网状内皮细胞丰富的肝脏等实质性器官。一定量的沉积可引起上述脏器的病理变化,但对这些脏器的功能影响不大。据此推理,钍对机体免疫器官的影响可能亦属于此类情况,如若影响,亦仅涉及辐射敏感性较强的抑制细胞。因为抑制细胞是辐射敏感的细胞,由于它的抑制而使辅助细胞的增殖能力加强,对于大剂量组可能因辐射剂量较大,不仅影响抑制细胞,亦影响部份辅助细胞,以致增殖转化能力不如小剂量组高。

参 考 文 献

- [1] Taliaferro W. H., Taliaferro L. G., J. Immunol. 103. 599(1969).
[2] Dixon F. J. and Meconahey P. J., J. Exp. Med., 117. 833(1963).
[3] 许 荣, 毕如堪, 于金荣, 刘玉英, 徐佳心, 刘德喜, 姚 凤, “中华放射医学与防护杂志”, 1(3):36, (1981).
[4] 叶淑华, 刘琪华, 王新力, “上海免疫学杂志”, 2(2),39 (1982).
[5] 叶淑华 刘琪华 王新力, “上海免疫学杂志”, 1(5),50 (1981).
[6] 叶淑华, 虞凤英, 刘琪华, “上海免疫通讯”, 3,27 (1980).
[7] Prosser J. S., Int. J. Radiat. Biol. 30,459 1976
[8] Durem. S. K., and Gengozlon. N. Radiat. Biol. 1,1(1978).
[9] 李春海, “中华放射医学与防护杂志” 2,57(1982).
[10] 杨文礼, “核防护” (5),21 (1980).
[11] 魏 康, “生物物理与生物化学进展” (4),69(1980).
[12] Kennedy J. C., J. Immunol (94),715(1965).
[13] 刘树铮, 徐佳珍, 李修义, 夏凤琴, 于河有, 齐进, 王法林, 王树宽, “中华放射医学与防护杂志”, 5(2),124(1985).
[14] Benjumin, Radiat. Res., 75(1),121(1978).

(稿件收到日期: 1986年7月3日)

EFFECTS OF LYMPHOCYTE IMMUNE OF PERIPHERAL BLOOD AFTER WHOLE BODY IRRADIATION OF DOGS

Ye Shuhua Bi Hekai Liu Qihua

(Shanghai Institute of Radiation Medicine, Shanghai Medical University)

ABSTRACT In this paper the effects of Cellular immunity reaction after whole Body irradiation of dogs were examined by counting T. B cells in peripheral blood and determining function of incorporation of ^3H -TdR.

1. Effects of Cellular immunity of dogs after ^{60}Co whole body irradiation with lethal dose.

The dogs after irradiation were sampled on the 1st, 3rd, 6th, 10th and 13th day, respectively, and compared with the dogs without irradiation. The results showed that the number of T. B cells in irradiation group declined rapidly from the 1st day after irradiation. It was decreased to 38.5% and 28.5%. The incorporation function of ^3H -TdR was suppressed seriously. The stimulation index reached to zero value on the 6th day after irradiation and began to recover from the 10th day after irradiation.

2. The effects of cellular immunity of dogs after treatment with 2 and 350 times the maximum permissible dose of thorium.

The results showed that there was no significant difference of cellular immune function between the large dosage group and control group, but the cellular immune function in the small dosage group was three times as large as that in control group. This indicated that the small dosage of irradiation might stimulate the immune proliferation of animals.

KEY WORDS Cellular immunity; suppress; stimulation; proliferation.