

5-羟色胺对小剂量辐射小鼠脾细胞 免疫功能的影响

赵 勇 龚守良 刘树铮

(白求恩医科大学放射生物教研室, 长春 130021)

摘要 应用培养雄性昆明系小鼠脾细胞技术, 观察 5-HT 对 75 mGy X 射线体内和体外照射脾细胞免疫功能的影响。结果发现, 5-HT 明显抑制正常脾细胞自发增殖能力, 但对正常脾细胞 ConA 反应性影响不明显; 当 5-HT 在一定浓度时, 75 mGy 体内和体外照射的脾细胞对 ConA 反应性均增强。提示, 5-HT 可抑制正常脾细胞免疫功能, 并在一定程度上参与小剂量辐射的免疫刺激作用; 但一定浓度 5-HT 对体内和体外照射脾细胞增殖能力的影响不同, 体内照射时增强, 体外照射时抑制, 推测与体内脾细胞微环境改变有关。

关键词 X 射线, 小剂量辐射, 5-羟色胺, 免疫调节

自神经-内分泌-免疫调节网络学说提出以来, 神经系统、内分泌系统与免疫系统之间的相互关系日益受到人们的重视^[1,2]。近些年来, 关于 5-HT 对免疫功能调节的研究已有报道。一般来说, 5-HT 可抑制免疫功能^[3], 但中枢 5-HT 水平下降对免疫应答的影响不明显^[4], 且增加中枢 5-HT 含量也不显著影响免疫应答^[5]。也有报道脑室内注射 5-HT 能神经元阻断剂 5,6-DHT 后, 脾细胞对 ConA 反应性受抑^[6]。有关 5-HT 对小剂量照射脾细胞免疫功能的影响尚未见报道。为此, 本文观察了 5-HT 对正常脾细胞及对 75 mGy X 射线照射体内或体外脾细胞自发增殖能力和 ConA 反应性的影响, 以探讨 5-HT 的免疫调节及其在小剂量辐射免疫刺激效应中的作用。

1 材料与 方法

1.1 动物及动物照射和处理

由本校实验动物部提供雄性昆明系小鼠, 体重 20 ± 2 g。用 Philips 深部 X 光机照射小鼠或脾细胞。电压 200 kV, 电流 10 mA, 滤片为 0.5 mm 铜和 1.0 mm 铝; 球靶距离 212 cm, 75 mGy 单次照射, 剂量率 12.5 mGy/min, 对照组同时进行假照射。小鼠全身照射后 1 d 处死, 取脾, 制备单细胞悬液, 或正常小鼠脾细胞悬液照射后即刻进行自发增殖能力及对 ConA 反应性的测定。

1.2 脾细胞悬液制备

小鼠断头后, 在无菌条件下取脾, 置于盛有 RPMI 1640 培养液的平皿中, 采用玻片磨压法及 200 目尼龙网过滤法制备单细胞悬液, 细胞浓度调至 1×10^7 /ml。

1.3 脾细胞自发增殖能力及对 ConA 反应性测定

在 96 孔培养板中, 每孔加 50 μ l 脾细胞悬液, 不同浓度的 100 μ l 5-HT (中国医药公司上海

国家自然科学基金资助课题

收稿日期: 初稿 1994-07-06, 修改稿 1994-09-28

化学试剂采购供应站提供), 50 μl 浓度 20 $\mu\text{g/ml}$ ConA, 自发参入孔不加 ConA (用于测定脾细胞自发增殖能力), 由 50 μl 1640 培养液补充体积。每样设 4 平行孔。于 5% CO_2 , 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱中培养 66 h 后, 每孔加 0.5 μCi ($1.85 \times 10^4 \text{Bq}$)/25 μl ^3H -TdR, 继续培养 6 h, 收获细胞于 49 型玻璃纤维滤膜上; 应用 1214-Packbeta 自动液闪计数仪测其细胞 ^3H -TdR 参入量, 结果以 cpm 表示。所测数据用 t 检验进行处理。

2 结 果

表 1 所示, 5-HT 使体外正常脾细胞自发增殖能力降低, 尤其在浓度 10~50 nmol 时表现最为明显 ($p < 0.01$)。5-HT 浓度在 0.1~10 nmol 范围内, 如即刻加入体外 75 mGy X 射线照射后的脾细胞中, 其自发增殖能力明显低于对应 5-HT 浓度的正常脾细胞 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$); 但当浓度增至 50 nmol 以上时, 则无明显差异。

5-HT 对体外正常脾细胞 ConA 反应性的作用不明显。体外 75 mGy X 射线照射后即刻, 与 0 nmol 5-HT 的照射脾细胞比较, 在 10 和 250 nmol 5-HT 的脾细胞对 ConA 反应性明显增强 ($p < 0.05$); 与对应 5-HT 浓度的正常脾细胞比较, 仅浓度为 500 nmol 时, 其反应性明显增高 ($p < 0.05$), 详见表 2。

Tab 1. Effects of 5-HT on spontaneous proliferations of murine splenocytes immediately after X-irradiation with or without 75 mGy in vitro

5-HT concentrations/nmol	Normal splenocytes	Irradiated splenocytes
0	15734 $\pm$ 935	13468 $\pm$ 1640 ^(b)
0.1	14924 $\pm$ 759	12436 $\pm$ 1054 ^(c)
0.4	15323 $\pm$ 213	12176 $\pm$ 1721 ^(b)
2	14489 $\pm$ 586	13226 $\pm$ 576 ^(b)
10	13527 $\pm$ 569 ^(a)	11956 $\pm$ 430 ^(c)
50	13507 $\pm$ 397 ^(a)	13277 $\pm$ 1187
100	14666 $\pm$ 499	13877 $\pm$ 1261
250	14127 $\pm$ 701	14144 $\pm$ 719

$\bar{x} \pm s$ (cpm/ 1×10^7 cells), $n = 4$

^(a) $p < 0.01$, vs 0 nmol 5-HT of normal splenocytes

^(b) $p < 0.05$ and ^(c) $p < 0.01$, vs correspondence 5-HT concentrations of normal splenocytes

Tab 2. Effects of 5-HT on ConA responses of murine splenocytes immediately after X-irradiation with or without 75 mGy in vitro

5-HT concentrations/nmol	Normal splenocytes	Irradiated splenocytes
0	42208 $\pm$ 3100	44996 $\pm$ 3265
0.1	43386 $\pm$ 2654	45708 $\pm$ 1415
0.4	40907 $\pm$ 5957	43360 $\pm$ 2464
2	36021 $\pm$ 4901	40212 $\pm$ 6520
10	45195 $\pm$ 5246	50127 $\pm$ 1414 ^(a)
50	44975 $\pm$ 2951	46481 $\pm$ 2867
100	42928 $\pm$ 3296	46680 $\pm$ 5450
250	46856 $\pm$ 3296	51330 $\pm$ 2424 ^(a)
500	45845 $\pm$ 1468	50682 $\pm$ 2236 ^(b)

$\bar{x} \pm s$ (cpm/ 1×10^7 cells), $n = 4$

^(a) $p < 0.05$, vs 0 nmol 5-HT of irradiated splenocytes

^(b) $p < 0.05$, vs correspondence 5-HT concentrations of normal splenocytes

表3所示,于正常小鼠假照射后1 d取脾细胞,加入几种不同浓度的5-HT,其自发增殖能力变化不明显。当5-HT浓度为20 nmol时,加入75 mGy X射线全身照射后1 d的小鼠脾细胞中,其自发增殖能力既高于0 nmol 5-HT的照射脾细胞($p<0.05$),也高于对应5-HT浓度的正常脾细胞($p<0.01$);其他浓度的照射脾细胞,虽然自发增殖能力高于对应5-HT浓度的正常脾细胞,但无统计学意义。

Tab 3. Effects of 5-HT on spontaneous proliferations of murine splenocytes 1 day after whole body X-irradiation with or without 75 mGy

5-HT concentrations/nmol	Normal splenocytes	Irradiated splenocytes
0	13730±9390	20445±3420
20	13365±6745	25935±4340 ^(a)
100	12860±9220	21645±1925
500	13485±5875	18715±2424

$\bar{x}\pm s$ (cpm/ 1×10^7 cells), $n=5$
^(a) $p<0.01$, vs normal splenocytes of correspondence 5-HT concentrations

表4所示,几种不同浓度的5-HT对假照射小鼠脾细胞ConA反应性似有增强趋势,但无统计学意义。无论是否存在5-HT,75 mGy X射线全身照射后1 d,小鼠脾细胞对ConA反应性似较对应5-HT浓度的正常脾细胞增高;但仅浓度为20 nmol时,其反应性增高明显($p<0.01$)。

Tab 4. Effects of 5-HT on ConA responses of murine splenocytes 1 day after whole body X-irradiation with or without 75 mGy

5-HT concentrations/nmol	Normal splenocytes	Irradiated splenocytes
0	51414±15175	82243±22473 ^(a)
20	73742±55610	104800±12812 ^(b)
100	78598±34479	80775±34876
500	61930±23332	81456±26122
1000	61098±23928	78639±29884

$\bar{x}\pm s$ (cpm/ 1×10^7 cells), $n=5$
^(a) $p<0.05$ and ^(b) $p<0.01$, vs normal splenocytes of correspondence 5-HT concentrations

3 讨 论

本研究结果表明,5-HT在一定浓度下可明显抑制体外正常脾细胞自发增殖能力,说明5-HT对小鼠脾细胞免疫功能具有一定的抑制作用,但对脾细胞ConA反应性作用不明显。Goodwin^[7]等报道,5-HT等单胺类化合物抑制体外培养的淋巴细胞对PHA的刺激作用。Devoino^[8]等报道,给家兔5-HT前体5-羟色氨酸(5-HTP)后,体液免疫应答减弱,电损毁中缝核后,体液免疫应答增强。另有报道给大鼠腹腔注射5-HT后,体液免疫应答减弱;给予5-HT受体拮抗剂赛庚啶后,免疫应答增强^[5]。上述文献资料与本研究结果均提示,5-HT可能对不同免疫细胞及不同亚群有调节作用,并且主要表现为抑制效应。

本研究发现,75 mGy体外照射脾细胞,较低浓度的5-HT引起自发增殖能力降低,当浓度增至50 nmol以上,其自发增殖能力变化不明显(见表1);5-HT浓度在10 nmol以上,脾细胞对ConA反应性增高(见表2)。全身照射75 mGy后,一定剂量5-HT使小鼠脾细胞自发增殖能力及对ConA反应性均趋于增高(见表3和表4)。上述结果提示,5-HT在小剂量辐射免疫刺激

效应中可能起一定作用,但对体内照射1d和体外照射后即刻的脾细胞增殖能力的变化不同,可能与免疫细胞受机体内环境的影响有关。

小剂量辐射免疫刺激效应的研究已引起国内外许多学者的重视^[9]。小剂量全身照射小鼠可引起免疫功能的增强^[10,11];但是,体外小剂量照射小鼠脾细胞,对ConA反应不明显,而对LPS反应表现为抑制效应^[11]。本实验结果证实,75mGy全身照射后1d(0nmol 5-HT时)小鼠脾细胞对ConA反应性明显增强(见表4, $p < 0.05$),其自发增殖能力也趋于增高(见表3, $p < 0.2$);而体外75mGy照射后即刻脾细胞自发增殖能力明显降低,对ConA反应却不明显。上述结果提示,体内和体外小剂量照射小鼠脾细胞,由于体内环境不同于体外,使其免疫功能发生不同的改变。研究还证实,75mGy全身照射后1d,脾细胞外液对正常小鼠脾细胞ConA反应性的抑制作用明显低于正常脾细胞外液的抑制作用;如将75mGy全身照射后1d的脾细胞外液经Sephadex G 100凝胶层析,获得的第一大峰较正常脾细胞外液的高,而第二小峰较之为低。由此,进一步说明小剂量全身照射可能改变了脾细胞的微环境,导致脾细胞免疫功能的改变。

参 考 文 献

- 1 Besedovsky H, Sorkin E. Clin. Exp. Immunol., 1977, 27: 1
- 2 Blalock J E, Smith E M. Immunol. Today, 1985, 6: 115
- 3 朱长庚. 解剖学报, 1993, 24: 215
- 4 Jackson J C, Cross R J, Walker R F, et al. Immunology, 1985, 54: 505
- 5 邱一华, 王健鹤. 生理科学进展, 1991, 22: 21
- 6 丁桂凤, 邓鸿业, 邓玉兰等. 科学通报, 1983, 28: 756
- 7 Goodwin J S, Messner R P, Williams R C Jr. Cell Immunol., 1979, 45: 303
- 8 Devoine L V, Eremina O F, Ilyutchenok R Y. Neuropharmacology, 1970, 9: 67
- 9 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1992, 12: 1
- 10 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1989, 7: 247
- 11 刘伟宏, 刘树铮. 辐射防护, 1992, 12: 282

EFFECT OF 5-HT ON IMMUNE FUNCTIONS OF MOUSE SPLENOCYTES IRRADIATED WITH LOW DOSES

Zhao Yong Gong Shouliang Liu Shuzheng

(Department of Radiation Biology, Norman Bethune University of Medical Sciences,
Changchun 130021)

ABSTRACT The present study was designed to observe the effects of 5-HT on the immune functions of the splenocytes irradiated with 75 mGy X-rays in Kunmin male mice in vivo and in vitro. The results showed that 5-HT inhibited significantly the spontaneous proliferation of the normal splenocytes, but the effects of 5-HT on the responses of the normal splenocytes to ConA were not obvious. The responses of the splenocytes to ConA after X-irradiation with 75 mGy both in vivo and in vitro enhanced in certain concentration of 5-HT. The results suggest that 5-HT in certain amount may inhibit the splenocyte immune functions and participate in the immunoenhancement effect following low dose irradiation. But the effects of certain 5-HT concentrations on the proliferation of the splenocytes irradiated in vivo and in vitro were different. It increased in vivo, but inhibited in vitro. It is supposed that it may be related to the changes of the internal environment of the splenocytes.

KEYWORDS X-rays, Low dose irradiation, Serotonin, Immune regulation