

小剂量辐射影响 B 16 黑色素瘤 血道肺转移作用机制研究

魏道严 金敖兴 黄 帼 汪思应¹ 左祥生²

(安徽医科大学核医学教研室, 合肥 230032)

(¹安徽医科大学肿瘤研究室) (²安徽医科大学第一附属医院)

摘要 C 57 BL/6 小鼠经 7.5 cGy X 线全身照射后 24 h 静脉注射 ¹²⁵IUdR 标记的 B 16 黑色素瘤细胞, 24 h 后测定肺活瘤细胞存留率时发现, 照射组小鼠的肺活瘤细胞存留率明显降低。与此同时, 于照射后 24 h 检测小鼠的免疫功能发现, 照射组小鼠脾脏有核细胞数明显增多, 脾细胞 NK 细胞毒活性及体内巨噬细胞功能均显著增强。结果提示, 小剂量辐射可能通过提高 NK 细胞、巨噬细胞功能而加速肺内瘤细胞的清除速率。

关键词 小剂量辐射, B 16 黑色素瘤, 肺, 免疫功能

已有研究表明, 低剂量 X 线全身照射可明显抑制小鼠 B 16 黑色素瘤的血道肺转移, 并以 7.5 cGy X 线照射剂量为佳^[1]。为了阐明小剂量辐射抗肿瘤转移的机制, 本文进一步观察 7.5 cGy X 线全身照射对 ¹²⁵IUdR 标记的 B 16 黑色素瘤细胞肺内清除的影响, 并就其可能的免疫学机制进行探讨。

1 材 料 和 方 法

1.1 动物和肿瘤

C 57 BL/6 小鼠, 6~8 周龄, 体重 20 ± 2 g, 雌雄兼用。B 16 黑色素瘤细胞, 引自中国医学科学院药物研究所。

1.2 照射条件

Siemens X 射线治疗机, 200 kV, 10 mA, 滤片 0.5 mm Cu + 1.0 mm Al, 源皮距 245.5 cm, 剂量率 1.25 cGy/min, 照射时间 6 min。

1.3 ¹²⁵IUdR 标记 B 16 黑色素瘤细胞肺清除试验^[2]

1.3.1 B 16 黑色素瘤细胞的 ¹²⁵IUdR 标记 向对数生长期的 B 16 黑色素瘤细胞培养瓶内加入 5-氟脱氧(核糖)尿苷(5-fluorouridine deoxyribose)(Fluka 公司产品), 1 h 后加入 ¹²⁵IUdR(中国原子能研究院同位素所), 继续培养 18~22 h 后收获细胞, 用 D-Hank's 液离心洗涤以去除游离的 ¹²⁵IUdR, 用 D-Hank's 调细胞浓度为 8.0×10^5 个/ml 的单细胞悬液备用。

1.3.2 照射对 ¹²⁵IUdR 标记的 B 16 黑色素瘤细胞肺清除的影响 小鼠随机分成两组: 照射组和假照射组。照射组小鼠接受 7.5 cGy X 射线单次全身照射, 而假照射组则模拟照射条件。两组小鼠于照射后 24 h, 经眼球后静脉注射 0.2 ml 上述标记细胞悬液。于注瘤细胞后 24 h 处死小

国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 初稿 1995-06-01, 修改稿 1995-07-16

鼠，取肺，置 70%乙醇内浸泡，每天换液 1 次，3 d 后在 γ 计数器上测肺放射性，同时测量 0.2 ml 细胞悬液的总放射性，计算肺活瘤细胞存留率。

$$\text{肺活瘤细胞存留率} = \frac{\text{两肺 cpm}}{0.2 \text{ ml 细胞悬液 cpm}} \times 100\%$$

1.4 照射后小鼠免疫功能的检测

照射组和假照射组小鼠于照射后 24 h 检测以下免疫学参数。

1.4.1 脾脏有核细胞计数 处死小鼠后无菌取出脾脏，剪碎、研磨、以 200 目尼龙网过滤后制成单细胞悬液，计数全脾有核细胞总数。

1.4.2 脾细胞 NK 活性测定 采用 LDH 释放法^[3]。靶细胞为 YAC-I (引自中科院上海细胞研究所)，效靶比为 50:1，结果用杀伤率表示。

1.4.3 巨噬细胞吞噬功能测定 采用炭廓清试验^[4]，结果以 α 值表示。

1.5 实验结果采用 t 检验进行统计学处理。

2 结 果

2.1 照射对 ¹²⁵IUdR 标记 B 16 黑色素瘤细胞肺存留率的影响

实验结果见表 1。由表 1 可见，照射组肺内标记瘤细胞的清除加快，使得在注射瘤细胞后 24h，肺内活瘤细胞存留率明显降低($P<0.01$)。

Tab 1. The effect of low dose radiation on clearance of ¹²⁵IUdR labelled B 16 melanoma cells in lungs($\bar{x}\pm s$) (n = 8)

	The proportion of labelled cells retained in lungs/% ⁽¹⁾
Irradiated group mice	1.98 $\pm$ 0.79 ⁽²⁾
Unirradiated group mice	3.72 $\pm$ 1.43

Note ⁽¹⁾ at 24 h after injection of labelled B 16 melanoma cells ⁽²⁾ $P<0.01$

2.2 照射对小鼠免疫功能的影响

实验结果见表 2。由表 2 可见，与假照射组相比，照射组小鼠脾脏有核细胞数明显增多($P<0.02$)，其 NK 细胞毒活性也明显增强($P<0.01$)，体内巨噬细胞活性显著提高($P<0.01$)。

Tab 2. The effect of low dose radiation on immunofunctions of mice ($\bar{x}\pm s$)

Immunologic parameters ⁽¹⁾	n	Irradiated group	Unirradiated group
The number of nucleate cells in spleen	5	(13.2 $\pm$ 2.2) $\times 10^8$ ⁽²⁾	(7.5 $\pm$ 3.4) $\times 10^8$
NK cytotoxicity of splenocytes	12	17.91 $\pm$ 4.49 ⁽³⁾	5.93 $\pm$ 2.98
The function of macrophages in vivo	12	0.051 $\pm$ 0.014 ⁽³⁾	0.022 $\pm$ 0.025

Note ⁽¹⁾tested at 24h after whole body exposed to 7.5 cGy or 0cGy X-ray ⁽²⁾ $P<0.02$ ⁽³⁾ $P<0.01$

3 讨 论

小剂量辐射的刺激效应是近年来辐射生物学的热点^[5]，而其对肿瘤转移的影响所见文献很少，目前国内尚未见有关小剂量辐射对肿瘤细胞体内清除影响的研究。

肿瘤血道转移模型因其具有简便、快速、重复性好、易于控制和定量分析等特点而在实验研究中被广泛采用。静脉注入的瘤细胞能否随血液循环到达相应的组织器官内驻留存活，是决定其能否形成转移灶的前提。B 16 黑色素瘤细胞与肺血管内皮细胞的粘附力较强，静脉注入后主要发生肺转移。本工作在预实验中发现，静脉注入 ¹²⁵IUdR 标记的 B16 黑色素瘤细胞 10 min 后，绝大部分标记瘤细胞在肺内被捕获，而肝、脾、肾等实质性脏器内的总放射性不及注入细胞总放射

性的1%(另文报告)。为此,主要观察照射后标记瘤细胞在肺内清除的变化。结果发现,小剂量辐射可明显加速瘤细胞在肺内的清除速率,表现为注射瘤细胞24h后,照射组肺活瘤细胞存留率明显降低。于小剂量照射后24h,检测小鼠的免疫功能结果显示,照射组小鼠NK细胞、巨噬细胞功能显著增强,脾内免疫活性细胞的数量也明显增加。而免疫活性细胞,特别是NK和巨噬细胞,对于清除循环内肿瘤细胞,防止瘤细胞在脏器内的定驻、存活及微转移灶的形成等肿瘤转移的早期过程中发挥重要作用。Barlozzari等^[6]给小鼠注射能选择性抑制NK活性的抗血清,造成NK活性低下模型,然后静注标记瘤细胞,结果发现,标记瘤细胞在肺内的存留率及肿瘤肺转移结节数均明显增加。而给NK活性低下小鼠过继输入具有高NK活性、富含大颗粒淋巴细胞悬液后,又可显著降低肿瘤肺转移结节数。Nolibe等^[7]给小鼠反复注射抑制NK活性的药物CZT后,标记瘤细胞在肺内的存留也见明显增加。较多的研究认为,巨噬细胞对于监视、杀灭新生的和新植入的肿瘤细胞、抑制其转移具有重要意义^[8,9]。根据上述实验结果认为,小剂量辐射可能主要通过提高NK、巨噬细胞等的功能,加速标记瘤细胞在肺中的清除速率,这也可能是小剂量辐射抗肿瘤转移的重要原因之一。

参 考 文 献

- 1 魏道严,黄幅,金敬兴等.安徽医科大学学报,1995,30(5):7
- 2 Fidler I J. J. Natl. Cancer Inst., 1970, 45: 773
- 3 Korzeniewski C, Callewaert D M. J. Immuno. Meth., 1983, 64: 313
- 4 陶义训,章谷生,孙荫.临床免疫学检验.上海:上海科技出版社,第1版.1983,124~126
- 5 Sagan L A, Cohen J J. Health Phys., 1990, 59: 11
- 6 Barlozzari T, Leonhardt J, Wiltrout R H et al. J. Immunology, 1985, 134(4): 2783
- 7 Nolibe D, Poupon M F. JNCI, 1986, 77(1): 99
- 8 Sone S, Filder I J. Cancer Res., 1981, 41:2401
- 9 Fidler I J, Poste G. Macrophages and cancer metastasis. in Macrophages and natural killer cells. Edited by Norman S J and Sorkin E. New York: Plenum Publishing, 1982: 65~70

MECHANISM OF LOW DOSE X-RADIATION INFLUENCING B16 MELANOMA BLOOD-BORNE PULMONARY METASTASES

Wei Daoyan Jin Aoxing Huang Guo Wuang Siying Zuo Xiangsheng
(Dept. of Nuclear Medicine, Anhui Medical Univ., Hefei 230032)

ABSTRACT After whole body exposed to 7.5 cGy X-ray, the C57 BL/6 mice were I. V. injected with ¹²⁵IUdR labelled B16 melanoma cells, the proportion of surviving labelled cells retained in lungs was detected at 24 hours after injection, and found that the surviving cells in the lungs of irradiated mice were significantly decreased. Meanwhile, the immunofunctions were tested at 24 hours after irradiation, the results showed that the number of nucleate cells and NK cytotoxicity in spleens, and the phagocytotic function of macrophages in vivo were increased obviously for the irradiated mice. The results suggested that the enhancement of NK cytotoxicity and macrophage phagocytotic function might be one of the important reasons for low dose radiation accelerating the clearance of tumor cells from the lungs.

KEYWORDS Low dose radiation, B16 melanoma cells, Lungs, Immuno-functions