

小剂量单次全身照射诱导小鼠免疫适应性反应的剂量与时间研究

鞠桂芝 宋春华 齐 进 刘树铮

(白求恩医科大学卫生部放射生物重点实验室, 长春 130021)

摘要 采用X射线单次全身照射, 观察诱导小鼠免疫适应性反应的预照射剂量(D_1 剂量)范围, 损伤性剂量(D_2 剂量)范围, 及 D_1 与 D_2 最佳间隔时间。实验证实, 当 D_2 为1.5 Gy时, 0.025~0.1 Gy (剂量率0.0125 Gy/min)可诱导胸腺细胞自发增殖及脾细胞对LPS的适应性反应。当 D_1 为0.075 Gy时, D_2 在1.0~1.5 Gy (剂量率0.33 Gy/min)范围内, 胸腺细胞自发增殖及脾细胞对ConA、LPS反应的适应性反应存在。当 D_1 为0.075 Gy, D_2 为1.5 Gy时, 诱导适应性反应的 D_1 与 D_2 最佳时间为6~12 h。

关键词 小剂量辐射, 免疫适应性反应, 胸腺, 脾脏

我们曾报道0.075 Gy X射线单次全身照射, 可明显减轻其后1.5 Gy大剂量照射所致小鼠免疫功能的损伤。此种现象称之为小剂量辐射诱导的免疫适应性反应^[1]。本文对诱导免疫适应性反应的预照射剂量(以下简称 D_1 剂量)及损伤剂量(以下简称 D_2 剂量)的范围, 以及诱导适应性反应的 D_1 与 D_2 最佳时间间隔进行了较系统研究。以阐明小剂量辐射单次小鼠全身照射诱导免疫适应性反应的某些规律。

1 材料与方.法

1.1 动物

全部实验均使用本校实验动物部饲养繁殖的昆明小鼠, 雄性, 体重 20 ± 2 g。随机分组。

1.2 照射条件及实验分组

1.2.1 照射条件 全身照射使用飞利浦深部X光机, 电压200 kV, 电流10 mA, 滤片0.5 mmCu和1.0 mmAl。

1.2.2 第一部分实验 小鼠先接受 D_1 剂量单次全身照射, 剂量分别为0.025、0.050、0.075、0.1及0.2 Gy。管球与皮肤距离212 cm, 剂量率为0.0125 Gy/min。6 h后各剂量组再接受1.5 Gy D_2 剂量照射。管球与皮肤距离50 cm, 剂量率为0.33 Gy/min。实验组简称 $D_1 + D_2$ 组。同时设单纯 D_2 剂量组为对照组。以上实验观察诱导免疫适应性反应的 D_1 剂量范围。

1.2.3 第二部分实验 固定 D_1 剂量为0.075 Gy, 照射后6 h小鼠再分别接受1.0、1.5及2.0 Gy D_2 剂量照射。观察诱导免疫适应性反应的 D_2 剂量范围。同时设单纯 D_2 剂量对照组。照射条件同前。

国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 初稿1994-06-02, 修改稿1994-10-21

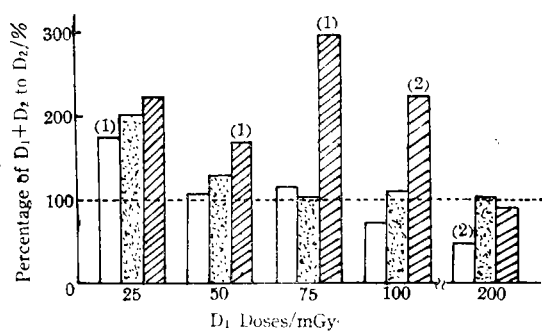


Fig 1. Changes in immunological parameters in mice following different D_1 doses
 (□) proliferation of thymocytes
 (▨) response of splenocytes to ConA,
 (▩) response of splenocytes to LPS
 $n = 6$, ⁽¹⁾ $p < 0.05$, ⁽²⁾ $p < 0.01$, $D_2 = 1.5$ Gy

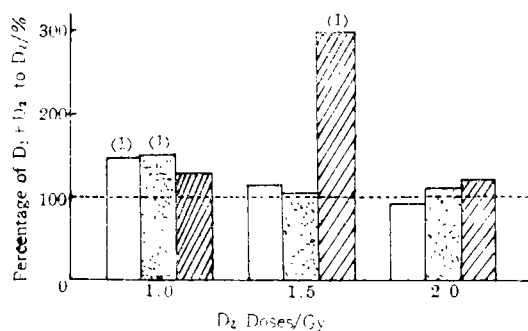


Fig 2. Changes in immunological parameters in mice following different D_2 Doses
 (□) proliferation of thymocytes.
 (▨) response of splenocytes to ConA
 (▩) response of splenocytes to LPS
 $n = 6$ ⁽¹⁾ $p < 0.05$, $D_1 = 75$ mGy

1.2.4 第三部分实验 实验组动物先接受 0.075 Gy D_1 剂量照射, 于照射后不同时间间隔, 即 3、6、12、24 及 60 h 后, 分别再接受 1.5 Gy D_2 剂量照射。观察诱导免疫适应性反应的 D_1 与 D_2 最佳时间间隔。同时设单纯 D_2 剂量对照组。照射条件与第一部分相同。

以上各部分实验均在 D_2 剂量照射后 18 h, 断头杀鼠, 取胸腺及脾脏, 观察其免疫功能变化。实验结果, 将 $D_1 + D_2$ 组与单纯 D_2 组相比较。采取 t 检验进行统计学处理。

1.3 免疫学参数测定

参照本实验室常规方法^[2]。

1.3.1 胸腺细胞自发增殖力测定 采用 ^3H -TdR 参入法。用 96 孔板培养, 每孔 1×10^6 个胸腺细胞, 18.5 kBq ^3H -TdR。平行样 3 份。在 5% CO_2 孵箱培养 4 h。用多头细胞收集器收获细胞。用 LKB 1214 液闪仪测定。结果以 cpm/ 1×10^6 个细胞表示。

1.3.2 脾细胞对 ConA 及 LPS 反应性测定 采用 ^3H -TdR 参入法。用 96 孔板培养, 每孔 5×10^5 个细胞, ConA 及 LPS 终浓度分别为 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。平行样 3 份。设自身对照。培养 66 h 后加 18.5 kBq/孔 ^3H -TdR。6 h 后收获细胞。用液闪仪测量。结果以 cpm/ 5×10^5 细胞表示。

2 结 果

2.1 诱导免疫适应性反应的 D_1 剂量范围

实验组动物接受不同 D_1 剂量(0.025、0.050、0.075、0.1 及 0.2 Gy)预照射后 6 h, 再接受 1.5 Gy D_2 剂量照射, 照射后 18 h 测得的胸腺及脾脏免疫学参数的变化与单纯 D_2 剂量组比较, 结果见图 1。当 D_1 为 0.025 Gy 时, 各参数在 $D_1 + D_2$ 组均高于单纯 D_2 剂量对照组。其中胸腺细胞自发增殖力显著高于对照组($p < 0.05$)。当 D_1 为 0.050 Gy 及 0.075 Gy 时, 脾细胞对 LPS 的反应性均显著高于对照组(分别 $p < 0.05$)。当 D_1 为 0.1 Gy 时, 胸腺细胞自发增殖力已低于对照组, 但脾细胞对 LPS 的反应性仍非常显著的高于对照组($p < 0.01$)。但当 D_1 为 0.2 Gy 时, 各参数接近或低于对照组。以上结果说明, 当 D_2 为 1.5 Gy 时, 0.025~0.1 Gy 预照射能诱导免疫适应性反应。当 D_1 超过 0.2 Gy 时, 以上适应性反应消失, 并显示出与大剂量相加所致免疫损伤作用。

2.2 D₂ 剂量范围

固定 D₁ 剂量为 0.075 Gy，6 h 后小鼠再分别照射 1.0、1.5 及 2.0 Gy 的 D₂ 剂量，观察 D₂ 剂量对适应性反应的影响。从图 2 结果可见，当 D₂ 为 1.0 Gy 时，胸腺细胞的自发增殖力及脾细胞对 ConA 的反应性，在 D₁+D₂ 实验组，均显著高于对照组(分别 $p<0.05$)。当 D₂ 为 1.5 Gy 时，脾细胞对 LPS 的反应性，实验组显著高于对照组($p<0.05$)。当 D₂ 为 2.0 Gy 时，各免疫学参数实验组与对照组相比较均无统计学意义。说明当 D₂ 为 1.0 及 1.5 Gy 时，0.075 Gy 预照射可诱导适应性反应。而当 D₂ 为 2.0 Gy 时，0.075 Gy 不再诱导适应性反应。

2.3 最佳 D₁ 与 D₂ 间隔时间

小鼠在接受 0.075 Gy D₁ 剂量预照射后不同时间，即分别经 3、6、12、24 及 60 h 后再接受 1.5 Gy D₂ 剂量照射，观察 D₁ 与 D₂ 时间间隔对适应性反应的影响。D₂ 剂量照射后 18 h 测得的胸腺细胞自发增殖力，脾细胞对 ConA 及 LPS 反应性的变化，实验组与单纯 D₂ 剂量组比较的结果见表 1。

Tab 1. Changes in immunological parameters (percentage of D₁+D₂ to D₂) in mice with different intervals between D₁ and D₂

	Interval/h				
	3	6	12	24	60
Spontaneous incorporation of ³ H-TdR into thymocytes	105.95	115.78	150.85 ⁽²⁾	107.81	123.80
Reaction of splenocytes to Con A	109.94	156.84	126.35 ⁽¹⁾	117.84	101.63
Reaction of splenocytes to LPS	175.68	306.39 ⁽¹⁾	203.95 ⁽¹⁾	212.44	61.01
n = 6, D ₁ = 75 mGy, D ₂ = 1.5 Gy ⁽¹⁾ p<0.05, ⁽²⁾ p<0.01					

如表 1 所示，当 D₁ 与 D₂ 间隔 6 h 时，脾细胞对 LPS 的反应性实验组显著高于对照组($p<0.05$)。当间隔 12 h 时，胸腺细胞自发增殖力及脾细胞对 ConA、LPS 的反应性，实验组显著高于对照组($p<0.01$ ， $p<0.05$ 及 $p<0.05$)。而当间隔时间大于 24 h 时，各免疫学参数的变化，实验组与对照组相比均无统计学意义。说明当 D₁ 为 0.075 Gy，D₂ 为 1.5 Gy 时，诱导以上免疫适应性反应的最佳 D₁ 与 D₂ 时间间隔为 6 h~12 h。

3 讨 论

对辐射能否诱导免疫适应性反应进行了探讨。发现预先小剂量单次全身照射能明显减轻其后大剂量照射对小鼠免疫功能的抑制作用。证实了小剂量辐射能诱导免疫适应性反应。Ishii 等^[3]也报道了 0.025 Gy 及 0.05 Gy 全身照射，可诱导 ConA 或 LPS 刺激的小鼠脾脏淋巴细胞增殖对其后 4.0 Gy 大剂量照射的适应性反应。本实验中，对诱导免疫适应性反应的 D₁ 剂量，D₂ 剂量及 D₁ 与 D₂ 的时间间隔进行了较系统的研究。证实 0.025~0.1 Gy D₁ 剂量，1.0~1.5 Gy D₂ 剂量可诱导免疫适应性反应。6~12 h 时间间隔为诱导适应性反应的最佳间隔时间。免疫适应性反应的基本规律与小剂量辐射诱导细胞遗传学适应性反应，在剂量及时间间隔等方面有类似的基本规律^[4~8]。本实验所证实的 D₂ 剂量范围与 Ishii^[3]报道的结果稍有不同，主要原因是 D₁ 剂量不同所致。本实验是在固定 D₁ 为 0.075 Gy 时，所得 D₂ 为 1.0~1.5 Gy。

本实验不仅证明了免疫适应性反应的诱导有一定的 D₁ 与 D₂ 剂量范围，而且发现诱导适应性

反应的预照射剂量范围对不同的免疫学参数有所不同。 0.025 Gy 预照射可诱导胸腺细胞自发增殖的适应性反应, 而 LPS 刺激下脾细胞增殖适应性反应的诱导剂量为 $0.05\sim 0.1\text{ Gy}$ 。以上现象的产生可能与其细胞的放射敏感性有关。位于中枢免疫器官胸腺中的 T 淋巴细胞, 绝大多数处于高度增殖状态, 对辐射十分敏感。而处于外周淋巴器官脾脏中的淋巴细胞, 其放射敏感性似低于胸腺细胞。

诱导免疫适应性反应需要一定的时间, 说明在预照射后机体及细胞内发生的一系列变化似需要这一定的时间。推测这一系列变化将足以诱导新的物质产生, 以增强机体或细胞的辐射抗性或促进其后大剂量辐射免疫损伤的修复, 从而产生适应性反应。

参 考 文 献

- 1 鞠桂芝, 齐 进, 刘树铮. 白求恩医科大学学报, 1990, 16(增刊): 1
- 2 鞠桂芝, 宋春华, 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1994, 14: 15
- 3 Ishii K, Murakami K, Muto N et al. J. Radiat. Res., 1991, 32: 72
- 4 Wolff S, Afzal V, Wiencke J K et al. Int. J. Radiat. Biol., 1988, 53: 39
- 5 蔡 露, 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1991, 11: 155
- 6 Cortes F, Dominguez I, Pinero J et al. Mutagenesis, 1990, 5: 555
- 7 Aghamohammadi S Z and Savage J R. Mutat. Res., 1991, 251: 133
- 8 Ikushima T. Mutat. Res., 1989, 227: 241

CHARACTERISTIC OF IMMUNOLOGICAL ADAPTIVE RESPONSE INDUCED BY LOW LEVEL WHOLE BODY IRRADIATION WITH X-RAYS IN MICE

Ju Guizhi Shong Chunhua Qi jin Liu Shuzheng

(MPH Radiobiology Research Unit, Norman Bethune University of Medical Sciences,
Changchun 130021)

ABSTRACT In the present study the range of preirradiated doses (D_1) and challenge doses (D_2) for the induction of immunological adaptive response and the optimum time intervals between D_1 and D_2 were investigated in Kunming mice. The results were as follows. 1. Single whole body preirradiation by X-rays with D_1 doses of $25\sim 100\text{ mGy}$ (12.5 mGy/min) could induce adaptive response of spontaneous incorporation of $^3\text{H-TdR}$ into thymocytes and the reaction of splenocytes to LPS. 2. With D_2 doses of 1.0 to 1.5 Gy , the adaptive response of spontaneous incorporation of $^3\text{H-TdR}$ into thymocytes and the reaction of splenocytes to ConA and LPS could be induced. 3. The optimum interval for the induction of immunological adaptive response between D_1 and D_2 could be $6\sim 12\text{ h}$.

KEYWORDS Low level radiation, Immunological adaptive response, Thymocytes, Splenocytes