

小剂量辐射诱导淋巴细胞DNA合成的适应性反应

杜泽吉 苏燎原 田海林

(苏州医学院放射医学系, 苏州 215007)

摘要 通过 ^3H -TdR 参入法研究了小剂量辐射诱导淋巴细胞DNA合成的适应性反应。结果表明, 体外培养24 h的人外周血淋巴细胞经小剂量 γ 射线0.5—4.0 cGy照射后, 均产生了适应性反应, 诱导适应性反应的最适剂量为1.0 cGy。 D_1 和 D_2 照射间隔为24 h时, 适应性反应最强, 随时间间隔延长, 适应性反应明显减弱。1 Gy~7 Gy的 D_2 照射, 均可显现适应性反应, 3.0 Gy照射, 反应表现最强, 剂量过大, 适应性反应不明显。

关键词 小剂量辐射, DNA合成, 适应性反应

随着对小剂量辐射刺激效应研究的深入^[1], 近年来, 辐射的适应性反应已被人们所认识^[2], 即预先小剂量(Adaptive dose, D_1)照射的细胞可产生对相继大剂量(Challenge dose, D_2)照射所致损伤的抗性。本研究旨在观察适应性反应在免疫活性细胞的DNA合成方面的表现, 探讨影响此反应的几个因素(D_1 、 D_2 剂量及间隔时间)。

1 材料和方法

1.1 外周血淋巴细胞的分离及培养

健康献血员(20~30岁)静脉血, 肝素抗凝, 淋巴细胞分离液分离出单个核细胞, HBSS液洗细胞二次, 调节浓度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$, 取0.2 ml细胞悬液(均设二个平行样), 加2 ml含PHA(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的RPMI 1640培养液于37℃下培养。

1.2 D_1 和 D_2 的照射源和照射条件

培养24 h后的淋巴细胞, 先经 D_1 照射, 再以 D_2 照射(D_1 、 D_2 剂量和间隔时间的设置分述于相应的结果中)。 D_1 照射采用 ^{226}Ra γ 射线源, 强度为 $2.47 \times 10^8 \text{Bq}$, 剂量率为0.67 cGy/h, 距离为50 cm, 样品照射均在37℃温箱内进行。 D_2 照射采用 ^{60}Co γ 射线源, 室温下照射, 剂量率为1 Gy/min。

1.3 测量及结果的表达方式

细胞在培养72 h(或96 h)时, 加 $7.4 \times 10^4 \text{Bq}/\text{瓶}$ ^3H -TdR, 24 h后终止培养, 抽滤在49型玻璃纤维滤膜上, 干燥后, 用液体闪烁计数器(Beckman, LS-6800)测量CPM值。用DNA合成损伤减轻的百分数(DRP)来表示适应性反应的强弱, 即指由 D_1 照射诱导的、对相继大剂量照射所致DNA合成损伤的抗性(损伤减轻)占单纯大剂量照射引起DNA合成损伤的百分数。计算公式如下:

$$DRP = \frac{D_{1+2} - D_2}{D_0 - D_2} \times 100\%$$

式中 D_{1+2} 为小剂量 D_1 照射后再大剂量 D_2 照射组的 DNA 合成的 CPM 值； D_2 为单纯大剂量 D_2 照射组的 DNA 合成的 CPM 值； D_0 为未受照射组的 DNA 合成的 CPM 值。用方差检验对结果作统计学分析。

2 实 验 结 果

2.1 不同剂量 D_1 照射诱导的 DNA 合成的适应性反应表现

培养 24 h 的淋巴细胞， D_1 照射 0.5、1.0、2.0 和 4.0 cGy，24 h 后 D_2 照射 3.0 Gy，其适应性反应见图 1。结果表明 0.5 cGy~4.0 cGy 均能诱导出明显的适应性反应，以 1.0 cGy 诱导的反应最强，和其它剂量点比较 $p<0.01$ 。随剂量增大，所诱导的适应性反应有减弱的趋势。

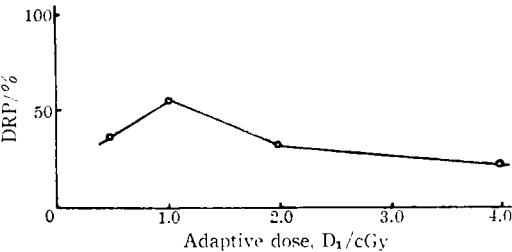


Fig 1. The relationship between DRP and adaptive dose (D_1)

2.2 D_1 照射后不同时间间隔 D_2 照射，对适应性反应表现的影响

在 D_1 照射后分别于 6、24、48 和 72 h，给予 D_2 照射(3.0 Gy)，以未照组(D_0)作为对照，所诱导的 DNA 合成适应性反应见表 1。从可知，除 72 h 外的三种不同的间隔均有适应性反应的发生，特别是在间隔为 24h 时，适应性反应表现最强，DRP 为 43.4%，和其它时间比较， $p<0.01$ 。随着间隔时间的延长，适应性反应减弱，间隔为 72 h 时，适应性反应几乎消失。

Tab 1. Effects of intervals between D_1 and D_2 on adaptive response (CPM $\bar{x} \pm s$)

	Interval/h			
	6	24	48	72
D_0	186057 $\pm$ 9845			
D_2	154749 $\pm$ 10621	159831 $\pm$ 9852	160821 $\pm$ 13892	150031 $\pm$ 19310
D_{1+2}	166396 $\pm$ 10137	171230 $\pm$ 14538	168791 $\pm$ 11012	151668 $\pm$ 18637
DRP/%	37.2	43.4	29.6	4.5

$n = 5$

Tab 2. Effects of challenge dose D_2 on adaptive response (CPM, $\bar{x} \pm s$)

	Challenge dose/Gy			
	1	3	5	7
D_0	202460 $\pm$ 31657			
D_2	181470 $\pm$ 14111	127202 $\pm$ 25307	107313 $\pm$ 8803	46335 $\pm$ 6370
D_{1+2}	190250 $\pm$ 34709	147723 $\pm$ 19231	134398 $\pm$ 13128	60039 $\pm$ 9575
DRP/%	41.8	53.9	28.5	8.8

$n = 5$

2.3 D_2 剂量对适应性反应表现的影响

以最适 D_1 (1.0 cGy) 照射后, 在最适间隔 24 h 时照射 D_2 , 剂量分别为 1.0、3.0、5.0 和 7.0 Gy, 其适应性反应的表现见表 2。结果表明, 1.0 Gy 照射适应性反应未能得到充分表达 (DRP 为 41.8%, 和 3.0 Gy 点比较, $p < 0.05$), 而 7.0 Gy 照射又超过了诱导的细胞所能适应的程度 (DRP 为 8.8% 和 3.0 Gy 比较, $p < 0.01$), 都使得 DRP 降低。3.0 Gy 的 D_2 照射, 对于 D_1 诱导的淋巴细胞 DNA 合成的适应性反应是较合适的剂量。

3 讨 论

小剂量辐射诱导免疫适应性反应的研究国内外刚有报道^[3,4]。在本研究工作中, 引用了比较科学的计算方式, 即通过 DRP 来表示适应性反应的程度。计算时已去除了由 D_1 照射引起的刺激效应对适应性反应的影响, 这样所得的结果更能客观地反映免疫适应性反应的强弱。结果证明小剂量辐射能够诱导 PHA 刺激转化的淋巴细胞产生适应性反应, 这种反应也存在着一一定的剂量范围和时间限制, 与小剂量辐射诱导细胞遗传学适应性反应有相似之处。

曾认为诱导适应性反应的 D_1 剂量愈小, 适应性反应就愈强^[6], 也有学者提出 D_1 剂量存在着最适范围^[6], 太低不足以诱导反应的发生, 太高则表现损伤效应。一般用于人淋巴细胞体外照射的 D_1 剂量多为 1.0 cGy^[7~9], D_1 的剂量率和个体差异是影响适应性反应的重要因素^[10], D_1 和 D_2 的间隔时间直接影响着适应性反应的显现, Shadley^[11] 等认为 D_1 诱导的适应性反应只能维持三个细胞周期, 以后逐渐消失。若间隔时间太长(如本研究中的 72 h), 细胞就丧失了对大剂量照射的适应能力。离体细胞的最佳适应性反应间隔时间可能比整体条件下要长^[6]。所选择的 D_2 剂量对适应性反应的显现也有很大影响, 一般 D_2 剂量范围在 0.75~4.0 Gy 之间, 大多数的研究都选择 1.5 Gy^[7,9,12]。本研究结果表明, 不同效应指标的适应性反应所需的最佳 D_2 剂量也不一样, D_2 剂量过小时, 不能充分显现适应性反应, 过大时, 又超过了细胞所能适应的范围。结合有关小剂量辐射诱导淋巴细胞 DNA 断裂与修复的适应性反应的研究结果^[13], 初步认为, 在研究小剂量辐射诱导适应性反应时, 最佳 D_2 剂量多为引起所观察指标 50% 损伤的剂量, 该观点有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Luckey T D. Health Phys., 1982, 43: 771
- 2 Olivieri G, Bokycote J, Wolff S. Science, 1984, 223: 594
- 3 Ishii K, Murakami K, Muto N et al. J. Radiat. Res., 1991, 32: 72
- 4 鞠桂芝, 宋春华, 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1994, 14(1): 15
- 5 蔡露, 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1991, 11: 155
- 6 Ikushima T. Mutat. Res., 1989, 227: 241
- 7 Youhglom J H, Wiencke J K, Wolff S. Mutat. Res., 1989, 227: 257
- 8 Bosi A, Olivieri G. Mutat. Res., 1989, 211: 13
- 9 Aghamohammadi S Z, Savaga J R. Mutat. Res., 1991, 251: 133
- 10 Shadley J D, Wolff S. Mutagenesis, 1987, 2: 95
- 11 Shadley J D, Afzal V, Wolff S. Radiat. Res., 1987, 111: 511
- 12 Cortes F, Dominguez I, Pinero J et al. Mutagenesis, 1990, 5: 555
- 13 杜泽吉, 苏燎原, 田海林. 中国核科技报告, 原子能出版社, 北京, 1994 年 10 月

ADAPTIVE RESPONSE OF HUMAN LYMPHOCYTES TO LOW DOSE RADIATION ON DNA SYNTHESIS

Du Zeji Su Liaoyuan Tian Hailin

(Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

ABSTRACT Human peripheral blood lymphocytes PHA-stimulated in vitro for 24 h were exposed to low dose γ -ray irradiation (adaptive dose), they showed an adaptive response to the inhibition of DNA synthesis by subsequent higher acute doses of γ -ray (challenge dose). At the interval of 24 h between adaptive dose and challenge dose, the most obvious adaptive response induced by low dose irradiation was found. It was also found that the response induced by 1.0 cGy of adaptive dose was more obvious than that by other doses. In the challenge doses range of 1.0~7.0 Gy, the adaptive response was observed and that 3.0 Gy was more obvious. The adaptive response disappeared with the challenge doses further increased.

KEYWORDS Low dose irradiation, Lymphocytes, DNA synthesis, Adaptive response

会议消息

第五届亚洲辐射固化国际会议和第二届中国辐射固化会议将于1995年11月在桂林召开

第五届亚洲辐射固化国际会议(The Fifth International Conference on Radiation Curing, RadTech Asia'95)将于1995年11月21~24日在桂林召开。国际顾问委员会以日本 Y. Tabata 教授为首, 会员由瑞典 B. Ranby 和美国 K. Lawson 等教授组成, 我国著名的核物理学家王淦昌教授为名誉主席。Hankel Corp. Sartomer Co. UCB Chemicals 和 Ciba-Geigy Ltd, Co. 等外国公司将参展。会议将研讨与辐射固化技术相关的技术信息、有关材料和新体系研究的最新进展和动向, 展示产品, 进行商业谈判。会议第二轮通知将于1995年6月底发出。

第二届中国辐射固化研讨会和产品展示会将在同一地点, 于国际会议前两天召开。

详情请直接向会议秘书处了解。

地址: 第五届亚洲辐射固化国际会议秘书处

北京市海淀区中关村路19号(科辐公司)

邮编: 100080

电话: (010)2574287

传真: (010)2545826

包华影供稿