



大白鼠淋巴结内淋巴细胞辐射损伤的亚显微结构研究

马淑亭 叶忠全 张树林
(中国科学院生物物理研究所)

淋巴细胞具有高度的辐射敏感性,因此电离辐射后,在淋巴组织内快速出现死亡。关于淋巴细胞的早期损伤问题前人虽作了大量工作,但对最早出现损伤的部位还存在着争议^[1-8]。本研究课题的主要目的是在亚细胞水平探索淋巴细胞早期损伤及死亡的过程。

材 料 和 方 法

实验所用动物系 Wistar 种雄性大白鼠,年龄为一个半月到两个月。在所作的三批实验中,每批动物 24 只,除 8 只作对照外,其余 16 只动物均接受 ^{60}Co γ -线一次全身照射,照射剂量为 400-rad,剂量率为 190.8rad/分。于照后 1 小时、6 小时、12 小时和 24 小时,分别各取出 4 只实验动物和对应的 2 只正常动物的肠系膜淋巴结,快速切成 1 平方毫米的小块,立即投入 1%的锇酸固定液内,在 4℃下固定 1.5 小时,然后用各级酒精脱水,以 Epon⁸¹² 包埋,用 LKB-III 型超薄切片机薄切 500—700Å,以柠檬酸铅和醋酸双氧铀双染后,在 JEM-7 型电子显微镜下进行观察。

结 果

(图版图 1)为正常淋巴细胞。在照射后 1 小时,部分淋巴细胞的胞核已表现出不同程度的早期损伤。大部分细胞是核形有所改变,即胞核凹凸不平,并有局部深陷。而另一部分对辐射最敏感细胞,于照射后 1 小时,首先是出现染色质分布不匀,开始有不同程度的集聚,因此有局部染色质稀疏现象(图版图 3—4)。有些细胞不仅有染色质分布不匀和核分叶,而核内小体的颗粒也表现出有轻度集结;有些细胞的染色质集聚较前者更明显(图版图 5)。我们注意到在有些细胞中染色质已有轻度集聚,但线粒体的双层膜和嵴仍保持完整(图版图 3)。

在照后 1 小时,我们也发现在幼稚形细胞

中有核膜损伤的表现。如有些淋巴母细胞的核膜明显地呈锯齿状皱缩,外层比较明显(图版图 2)。此时也看到有的淋巴细胞其高尔基小泡呈现轻度扩张。巨噬细胞的数量也明显地增加。

照后 6 小时,一些淋巴细胞的形态出现了深刻的变化。有些细胞核的染色质向核膜集聚已很明显(图版图 6)。有些细胞的胞核中央已出现电子透明区,染色质全部集聚在核膜周围,而核内小体的结构也和染色质一样趋向解体(图版图 7)。也有些细胞的染色质未见移位,而是原位固缩(图版图 8)。在一些淋巴细胞内,线粒体也出现明显变化,有些线粒体的嵴已经破坏。但在另一些淋巴细胞中,如(图版图 7—8)所示,染色质已明显地向核周围集结,甚至在胞核中央已呈现电子透明区,而线粒体的双层膜和嵴尚清楚。

照后 12 时,损伤部位更加广泛,已固缩的淋巴细胞较照后 6 小时更为增加,固缩细胞和细胞碎片到处可见。此时,巨噬细胞的数量愈益增加。

到照后 24 小时,死亡的淋巴细胞基本上已清除干净,余下的淋巴细胞看来似乎已接近常态,但仔细观察,发现还有不少淋巴细胞的核形仍然有不规则的表现。

讨 论

关于淋巴细胞的早期辐射损伤部位,什么部位先表现损伤,一直存在着争议。Smith^[6]、Bari^[2]、Holsten^[4]都认为电离辐射对淋巴细胞的损伤最早出现在细胞核。Madhavanath, Raju 和 Kelly 认为辐射对淋巴细胞损伤的最早部位是细胞核内的 DNA 分子。所以,淋巴细胞因辐射损伤而引起的形态变化首先出现在细

胞核内。

但 Goldfeder^[3]及另外一些作者^[7]却认为损伤最早出现在细胞质。当小白鼠经超致死剂量 3000rad 照射后 8—10 分钟, 在很多细胞的胞质中, 细胞器已被破坏, 而细胞核则仍未受到损伤。

本研究结果说明, 大白鼠经照后 1 小时, 淋巴结内部分淋巴细胞的胞核表现出不同程度的早期损伤。比如, 有些淋巴细胞的核形出现改变, 一些对辐射最敏感的细胞首先表现出染色质的轻度集聚, 形成局部染色质稀疏。随着时间的推移, 部分淋巴细胞胞核的损伤逐渐加深。一些细胞内的染色质明显地向核膜集聚, 以致核中央出现电子透明区。也有一些细胞的染色质原位固缩。而细胞质中的一些主要细胞器在照后早期未见有明显而连续的改变。质膜也同样未见有早期的损伤变化。因此, 根据我们的形态观察认为, 大白鼠经 ⁶⁰Co γ -线 400rad 照射后, 淋巴细胞的损伤最早出现在细胞核。其染色质的不可逆损伤, 可能是导致细胞死亡的主要原因。

关于淋巴细胞早期损伤的争议问题, 可能是因为所使用的剂量不同而引起的。在使用亚致死剂量的报道中, 一般认为淋巴细胞的损伤最早出现在细胞核; 而使用超致死剂量的报道, 则认为淋巴细胞的损伤最早出现在细胞质或细胞膜。Schrek 认为 X-射线剂量在 1KR 以下出现细胞核的死亡, 高于 2KR 则产生细胞质的死亡。

关于上文所提及的有关核内小体在辐射损伤中的表现, 目前还未见报道。致于这种表现是否和它的发展阶段有关以及它是否有早期诊断的意义, 尚待进一步研究, 我们仅作了初步观察。

淋巴细胞不仅对电离辐射高度敏感, 同时又具有重要的免疫功能。为了深入探讨淋巴细胞的免疫监视机制以及辐射细胞学的基础理论问题, 进一步开展该细胞辐射敏感性的研究是非常必要的。

参 考 文 献

- [1] Aoyama, T. and Okajima, S. 1973. *Radiat. Res.*, 55: 379-386.
- [2] Bari, W. A. and Sorenson, A. D. 1964. *Path. Microbiol.*, (Bard), 27: 257-275.
- [3] Goedfeder, A. 1963. *Trans. N. Y. Acad. Sci.*, Series. I. 26: 215-241.
- [4] Holsten, D. R. 1970. *Strahlentherapie.*, 139: 51-72.
- [5] Masatoski, S., Shigetaka, S. and Yoneyama, T. 1964. *J. Radiat. Res.*, 5: 183-205.
- [6] Smith, E. B., White, D. C., Hartsock, R. J. and Dixon, A. C. 1967. *Amer. J. Path.*, 50: 195.
- [7] Stefani, S., Chandra, S. and Tonaki, H. 1977. *Int. J. Radiat. Biol.*, 31: 215-225.
- [8] Trowell, O. A. 1952. *J. Path. Bact.*, 64: 687-704.

图 版 说 明

图 1 正常大白鼠的淋巴细胞, 其核(N)内染色质分布均匀。×12100

图 2 大白鼠经 400rad 照射后 1 小时, 淋巴母细胞的核膜(Nm)出现皱缩。×15000

图 2 插图是同一照片的局部放大。×30000

图 3 大白鼠于照后 1 小时, 淋巴细胞的染色质已出现轻度分布不均, 而线粒体的双层膜和嵴还很清楚。×14760

图 4 大白鼠照后 1 小时, 淋巴细胞的染色质(→)及核内小体(NB)有轻度集聚。×7800

图 5 大白鼠经照后 1 小时, 淋巴细胞的染色质集聚(→)较图 4 更明显。×15000

图 6 大白鼠于照后 6 小时, 淋巴细胞的染色质出现较明显的集聚(→), 而线粒体(⇒)尚完好。×11400

图 7 大白鼠照后 6 小时, 淋巴细胞的染色质全部集聚到核膜周围(→), 核中央成电子透明区, 但线粒体(⇒)尚完整。×14000

图 8 大白鼠经照后 6 小时, 淋巴细胞胞核发生原位固缩。×12000