

参 考 文 献

- [1] Wbran, J. et al., 1972 *J. Clin. Invest.*, 51:2537—2543.
- [2] Galile, U. & M. Schlesinger., 1976 In "lymphocytes and Their Cell Membranes". Michael Schlesinger. pp.129—139.
- [3] Medes, N. F. et al., 1975 *Cell. Immunol.* 17:560—566.
- [4] Valdimarsson H. & R. L. McGuire., 1977. *Clin. Exp. Immunol.* 29:261—265.
- [5] 陈诗书: 生物化学与生物物理学报 1980 12(2): 147—152.
- [6] Niu, M. C. et al., 1961 *Proc. Nat. Acad. Sci.* 47:1689—1700.
- [7] Niu, M. C. et al., 1962 *Proc. Nat. Acad.*

- Sci.* 48:1964—1969.
- [8] Niu, M. C. et al., 1964. *Fed. Proc.*, 23: 317.
- [9] 顾建人等 1966, 中华医学杂志 52:209—223.
- [10] 李文裕等: 1978, 实验生物学报 11:109—120.
- [11] 上海传染病总院等: 1976, 中华内科杂志 6:372.
- [12] 上海第二医学院附属瑞金医院传染病科等 1978, 上海医学 (4):17—19.
- [13] 上海第二医学院附属第三人民医院等 1979, 上海医学 2(6):62.
- [14] 上海第二医学院附属第三人民医院等 1979, 中华医学杂志 59:256.
- [15] Sell, S. & J. Medlesohn, 1978. *Arch. Path & Lab. Med.* 102:217—222.

⁶⁰钴 γ 线对骨髓、脾脏造血细胞DNA和RNA合成能力的影响

苏燎原 汪涛 马祥瑞 刘克良 林兴成 王洪云 冯纪辛*

(苏州医学院放射损伤基础教研室)

骨髓及淋巴组织是主要的造血器官。造血细胞不断地、周期性地进行着细胞繁殖和分化,以便陆续补充外周的血细胞,是保持生命活动的重要过程。

电离辐射损伤机体,造血系统是最敏感的器官之一,在一定程度上决定着放射病的发生和发展过程。因此研究造血细胞的增殖分裂情况及其辐射效应对了解造血系统的受损机制是有裨益的。

材 料 和 方 法

一、标本采取

1. 人体骨髓穿刺,取出骨髓液不超过1毫升,以肝素抗凝。
2. 豚鼠骨髓细胞悬液:杀死体重200克左右的豚鼠,取出股骨,用10毫升Eagle培养液冲出骨髓细胞,相继通过6 $\frac{1}{2}$ 、4号注射针头,使细胞充分散开,进行计数。
3. 豚鼠脾细胞悬液:剪去豚鼠脾脏的边缘包膜及中间的韧带,脾脏置于盛少许Eagle培养液的培

养皿中,用弯背小剪刀挤压出脾细胞,经过6 $\frac{1}{2}$ 、4号针头,制成单细胞悬液,进行计数。

二、照射条件

⁶⁰钴治疗机,距离50厘米,剂量率32拉德/分。人骨髓液0.3毫升置小玻璃瓶内分别照射5、10拉德,另取0.3毫升作自身对照。

豚鼠的骨髓液及脾脏细胞置小玻璃瓶内,溶液深度不超过4毫米,每个样品分为四份进行照射。剂量:0、50、100、200拉德。

三、细胞培养及渗入

人骨髓0.3毫升加2毫升Eagle培养液,再加³H-TdR(胸腺嘧啶核苷)1.2 μ Ci(微居里)、¹⁴C-UR(尿嘧啶核苷)0.3 μ Ci,37 $^{\circ}$ C培养4小时。

豚鼠的骨髓及脾细胞 2×10^6 个/毫升,每瓶2毫升培养液,加³H-TdR0.6 μ Ci、¹⁴C-UR0.15 μ Ci,每个照射剂量的同一样品设置4—5个平行样品,37 $^{\circ}$ C培养4小时。

四、收获细胞

每瓶加6毫升蒸馏水低渗破坏红细胞,将溶液转

* 周有宁、薛智谋同志参加部分工作。

移至具抽滤装置的49型玻璃纤维滤膜上过滤,再用生理盐水和三氯醋酸洗涤,无水乙醇漂白干燥,60℃ 30分钟烘干。

五、测 量

将所制的滤膜样品放入5毫升二甲苯闪烁液中(PPO 0.4%, POPOP 0.04%)用国产FJ-353型双道液体闪烁计数器测定,所得数据根据 ^3H 和 ^{14}C 各在A、B道的效率进行计算^[1]。每个样品被渗入的 ^3H 和 ^{14}C 的放射性计数即反映DNA和RNA的合成能力。

结 果

一、辐射对人体骨髓细胞的同位素渗入的影响

人体骨髓细胞受照5、10拉德后与对照组比较,结果见表1。

二、不同豚鼠骨髓细胞数和放射性渗入的关系

为了解本实验方法的可靠性,并选择合适

表 1 7例人骨髓细胞受两种小剂量照射后的放射性渗入(计数/分)

		对 照	5 拉 德	10 拉 德
$^3\text{H-TdR}$	均 值 ± 标 准 差	81032 ± 15730	75212 ± 5647	68935 ± 7053
	相 当 于 对 照 的 %	100	92.8	85.1
$^{14}\text{C-UR}$	均 值 ± 标 准 差	9566 ± 6633	10268 ± 1802	9327 ± 3799
	相 当 于 对 照 的 %	100	107.0	97.5

注:10拉德照射后 $^3\text{H-TdR}$ 渗入与对照组比较, $P < 0.05$, 其余均无显著差异。

表 2 骨髓细胞数和放射性渗入的关系(计数/分)

骨髓细胞数	$2 \times 2 \times 10^4$	$2 \times 4 \times 10^4$	$2 \times 2 \times 10^5$	$2 \times 4 \times 10^5$	$2 \times 2 \times 10^6$	$2 \times 4 \times 10^6$	$2 \times 2 \times 10^7$
$^3\text{H-TdR}$	1463	4710	10602	21063	46406	76518	18155
$^{14}\text{C-UR}$	1017	1248	2998	5895	19258	22133	3329

注: $2 \times 2 \times 10^4$ 系指 2×10^4 个/毫升的细胞悬液2毫升, 余同。

的细胞培养的浓度, 观察了两批不同浓度的骨髓细胞渗入的放射性, 每瓶2毫升培养液, 平均的渗入计数见表2。

本表数据除 $2 \times 2 \times 10^7$ 外, 经对数变换作统计处理, 相关系数 $^3\text{H}: 0.98$, $^{14}\text{C}: 0.99$ 。说明骨髓细胞数和放射性渗入的关系密切。根据细胞数与渗入的相关曲线, 选择次于高峰值的细胞数 $2 \times 2 \times 10^6$ 作为培养的最适浓度研究辐射效应。

三、辐射对豚鼠骨髓细胞放射性渗入的影响

采用3只动物的股骨, 培养细胞数已如前述, 每只股骨在每个剂量点设置4—5个平行样品, 即每个剂量点为13个样品的平均值, 见表3。

将以上辐射对豚鼠骨髓细胞放射性渗入的影响的随机区组设计资料进行方差分析。对 ^3H 各组放射性渗入的变异数统计分析的结果:

$$F' > F_{0.01} \quad \text{即 } P < 0.01$$

对 ^{14}C 各组放射性渗入的变异数统计分析的结果:

$$F' > F_{0.01} \quad \text{即 } P < 0.01$$

故知不同照射剂量对 $^3\text{H-TdR}$ 渗入DNA和 $^{14}\text{C-UR}$ 渗入RNA的变化均有非常显著的差别。另外, 不同豚鼠也都有这种剂量与效应的非常显著的差别。

为进一步了解这四种剂量相互之间是否均有显著差别, 再用Keuls检验法进行分析: ^3H -对照与各组均有显著差异, ^{14}C -对照与100、200拉德组差异显著, 与50拉德组差异

表3 骨髓细胞放射性渗入与辐射剂量的关系 (计数/分)

组 别		对 照	50 拉德	100 拉德	200 拉德
$^3\text{H-TdR}$	均数±标准差	53095±9491	41076±9900	36441±9596	27883±6379
	相当于对照的%	100	77.36	68.63	52.51
$^{14}\text{C-UR}$	均数±标准差	12682±3842	9793±2501	8928±2642	6614±2419
	相当于对照的%	100	77.22	70.39	52.15

表4 脾脏细胞放射性渗入与辐射剂量的关系 (计数/分)

组 别		对 照	50 拉德	100 拉德	200 拉德
$^3\text{H-TdR}$	均值±标准差	7439±2239	5751±1935	5422±2002	4387±1865
	相当于对照的%	100	77.31	72.88	58.97
$^{14}\text{C-UR}$	均值±标准差	2116±396	1741±405	1752±564	1514±511
	相当于对照的%	100	82.27	82.79	71.55

不显著。

四、辐射对豚鼠脾脏细胞放射性渗入的影响

所用动物、细胞数和样品同上，结果见表4。

将以上辐射对豚鼠脾脏细胞放射性渗入的影响的随机区组设计资料进行方差分析。对 ^3H 各组放射性渗入的变异数统计分析的结果：

$$F' > F_{0.01} \quad \text{即 } P < 0.01$$

对 ^{14}C 各组放射性渗入的变异数统计分析的结果：

$$F' > F_{0.05} \quad \text{即 } P < 0.05$$

故知不同照射剂量对 $^3\text{H-TdR}$ 渗入DNA和 $^{14}\text{C-UR}$ 渗入RNA的变化均有显著差别。另外，不同豚鼠也都有这种剂量与效应的显著差别。

为进一步了解这四种剂量相互之间是否均有显著差别，再用Keuls检验法进行分析： ^3H -对照与100、200拉德组差异显著，与50拉德组差异不显著。 ^{14}C -对照与200拉德组差异显著，其余差异不显著。

讨 论

合成DNA是细胞分裂繁殖的物质基础，

继而合成RNA和蛋白质。造血细胞对电离辐射非常敏感，DNA合成又是细胞中敏感又重要的代谢指标。因此，研究辐射对造血细胞DNA合成的影响，对了解造血系统的放射损伤效应与预后具有重要意义。

DNA前体渗入细胞活性的高低反映造血细胞的繁殖能力，RNA前体渗入则反映细胞的代谢活动。有的文献^[2]认为，骨髓细胞体外渗入试验与体内试验所得标记指数基本一致。因此，将体外渗入试验作为辐射损伤的研究模型还是合适的。

本实验所用的人骨髓液数量及同位素渗入时间是根据作者过去临床测定所选用的条件：0.3毫升培养4小时可获得最高的渗入计数。

人骨髓液采自各类病人。10拉德照射后 $^3\text{H-TdR}$ 渗入比对照组显著降低，说明骨髓细胞的分裂繁殖能力已经受抑制。与辐射对淋巴细胞的效应相似^[3]。有关的研究尚待深入。

豚鼠骨髓细胞数与渗入活性有一定关系，在 $2 \times 2 \times 10^4 - 2 \times 4 \times 10^6$ 范围内可见随细胞量增多渗入活性相应增多，至 $2 \times 2 \times 10^7$ 则渗入活性反而下降。说明选用高峰前一个点的细胞数作为研究对象比较适宜，既可得到较高的计数，又使细胞培养生长良好。

豚鼠骨髓细胞受照后, $^3\text{H-TdR}$ 和 $^{14}\text{C-UR}$ 渗入随辐射剂量增高而下降, 50 拉德照射对 DNA 合成有显著性效应, 但对 RNA 合成效应还不显著。100、200 拉德照射则引起两者的变化都有显著差异。

所用脾脏细胞数及同位素渗入时间与骨髓细胞相同, 因为能够得到较高的计数便于进行实验对比。脾脏细胞照后的变化, $^3\text{H-TdR}$ 渗入活性在 100、200 拉德; $^{14}\text{C-UR}$ 渗入在 200 拉德时才出现显著差异。总的看来骨髓比脾脏细胞对辐射敏感, DNA 合成比 RNA 合成代谢对辐射敏感。

摘 要

^{60}Co γ 线照射离体的人体骨髓细胞及豚鼠

骨髓、脾脏细胞, 观察 $^3\text{H-TdR}$ 及 $^{14}\text{C-UR}$ 放射性渗入受抑的情况。

实验发现辐射引起渗入活性下降随剂量增高而愈剧, 骨髓细胞比脾脏细胞敏感, DNA 合成比 RNA 合成代谢敏感。10 拉德剂量导致人骨髓细胞 DNA 合成能力显著下降。200 拉德引起豚鼠骨髓细胞放射性渗入降低 48%。

参 考 文 献

- [1] 苏燎原等: 1979, 核技术 3: 88—90。
- [2] 北京医学院附属人民医院内科血液组等: 1978, 中华内科杂志 17(3): 165—167。
- [3] 苏燎原等: 1980, 遗传学报 7(1): 13—18。

上接第 23 页

- 817—828.
- [6] Adolph, K. W. et al., 1977 *Cell*, 12: 805—816.
- [7] Marsden, M. P. F. et al., 1979 *Cell*, 17: 849—858.
- [8] Laemmli, U. K. et al., 1977 *Cold Spring Harb. Symp.*, 42: 357—360.
- [9] Igo-Kemenes, T. et al., 1978. "Gene Function." 219—232.
- [10] Igo-Kemenes, T. et al., 1977 *Cold Spring Harb. Symp.*, 42: 109—118.
- [11] Benyaiati, C. et al., 1976 *Cell*, 9: 393—407.
- [12] Paul, J., 1978. *Cell Biol. Int. Rep.*, 2: 311—326.
- [13] Courtney, M. et al., 1979 "Gene Function". 463—472.
- [14] Doel, M. T., 1980. *Cell Biol. Int. Rep.*, 4: 433—446.
- [15] Royal, A. et al., 1979 *Nature*, 279: 125—132.
- [16] Mandel, J. L. 1978 *Cell*, 14: 641—653.
- [17] Dugaiczky, A., et al, 1978. *Nature*, 274: 328—333.
- [18] Finnegan, D. J. et al., 1977 *Cold Spring Harb. Symp.*, 42: 1053—1062.
- [19] Georgiev, G. P. et al., 1979 "Gene Function." 274—284.
- [20] Potter, S. S. et al., 1979 *Cell*, 17: 415—428.
- [21] Schimke, R. T. et al., 1978 *Cold Spring Harb. Symp.*, 43: 1297—1303.
- [22] Schimke, R. T. et al., 1978 *Science*. 202: 1051—1055.
- [23] Dolnick, B. J. et al., 1979 *J. Cell Biol.*, 83: 394—402.