

泄相对较慢, 因而使药物在体内较好地发挥它的有效作用。所以促排药物以吸入途径给予对吸入放射性核素的预防或早期治疗是适宜的。同时由于其透过肺泡膜进入血液的速率较快, 也可作为非吸入源的内污染治疗。因此可用简易的吸入途径代替注射给药, 达到近似的疗效看来是可行的。

参 考 资 料

1. Smith VH: Health Phys. 22: 765, 1972.
2. Lyubchanskü ER: AEC-tr-6944 P.592, 1966.
3. Ballou JE: BNWL-1750 Pt1. P. 58, 1973.
4. Laquma J等: LF-tr-60 P.249, 1973.
5. Pasquier C等: CEA-R-3735.P. 19, 1976.
6. Norwood WD: 放射医学译丛 2: 28, 1964.
7. Sanders SM JR: Health Phys. 21: 54, 1971.
8. Tombropoulos EG: Health Phys. 10: 1251, 1964.
9. Tombropoulos EG: Health Phys. 16: 333, 1969.
10. Smith VH: BNWL-SA-5456, 1975.
11. Smith VH: BNWL-SA-5294 (CONF-750703) 1975.
12. 蔡皆的等: 核防护 1: 34, 1978.
13. Foreman H: J.B.C. 203: 1045, 1953.
14. Jolly L等: Health Phys. 23: 333, 1972.
15. Smith VH: BNWL-1850 Pt1. P. 108, 1974.
16. Ducouso R等: Pathol. Biol. 22: 775, 1974.
17. Ballou JE等: Health Phys. 32: 479, 1977.
18. Smith VH: BNWL-1850, P111, 1974.
19. Ballou JE: BNWL-1850 Pt1. P.121, 1974.
20. Smith VH: BNWL-1950 Pt1. P.140, 1975.
21. Ballou JE等: BNWL-1950 Pt1. P137, 1975.
22. 蔡皆的等: DTPA雾化吸入的研究 (正常人的观察), 待发表资料.
23. Foreman H: J. Chron. Dis. 16: 319, 1963.
24. Taylor GN等: Health Phys. 29: 780, 1975.
25. Taylor GN: Health Phys. 31: 281, 1977.
26. Taylor GN: Health Phys. 29: 780, 1975.
27. Ballou JE: BNWL-1850 Pt1. P118, 1974.

(黄琪 综述 陆如山审)

放射自显影术在细胞动力学和放射病实验研究中的应用

正如上文已谈过, 由于近些年来核乳胶的研制成功和标记化合物的合成, 特别是胸

腺嘧啶核苷 (TdR) 标记³H或¹⁴C的成功, 就为细胞代谢、增殖等动力学研究创造了极

为重要的条件。此化合物乃细胞核内DNA的前体,通过DNA的代谢、示踪能较准确地观察细胞的代谢、增殖等动力学改变,再加上用 ^3H -TdR或 ^{14}C -TdR进行细胞动力学研究具有独特的优点,即能灵敏地将生理机能、生化代谢和形态结构变化紧密地结合起来。因此,近一、二十年来被广泛用于生物学领域的研究。在放射病的实验研究中也充分地利用这一有力的手段在细胞水平及亚细胞水平上进行研究。本文仅就以上两个问题,特别是细胞动力学方面加以文献复习,叙述如下。

一、放射自显影术在细胞动力学研究中的应用

表1 ^3H -及 ^{14}C 的 β -粒子能量、射程及分解衰变情况

同位素	半衰期 (年)	分解率 (天)	能 量		最大射程(μ)		平均射程(u)	
			最 大	平 均*	组 织	核乳胶	组 织	核乳胶
^3H	12.26	1.6×10^{-4}	18kev	5.7kev	5.4	1.5	0.45	0.13
^{14}C	5680	3.4×10^{-7}	155kev	50kev	290	83	37	10

*平均能量=最大能量/3.2.

核乳胶接受 β -粒子的能量最多只有50%,另外50%向核乳胶的对侧——载玻片上释放。同时在动物组织内, β -粒子的自家吸收是个很重要的问题,尤其对低能量的 ^3H 来说,真正作用到核乳胶的能量是很有限的,其效价仅为其能量的5%。由于标本的制备不同;对同位素效价影响也略有差别^[1](表2)。

表2 在生物实验中每个银颗粒的形成所需 ^3H 的蜕变数(显微放射自显影)

标 本	^3H -衰变数/颗粒	效价(%)
细胞涂片	20	5
细胞压片	10.9	9.2
组织细胞培养	19	5.3
组织切片(3 μ)	16	6.3

蛋白质,特别是细胞核的DNA代谢、合成是细胞生长、增殖的关键。为了深入研究DNA的合成代谢,就需要有一个标记的特异性DNA前体作为DNA合成代谢的示踪物。目前认为胸腺嘧啶核苷的标记物是个理想的DNA前体物质,可用 ^3H 或 ^{14}C 标记。

1. ^3H 或 ^{14}C 所释放的 β -粒子辐射; ^3H 或 ^{14}C 所释放的 β 粒子引起的TdR分解是很低的,为自家分解率的0.01%以下。随着 ^3H 和 ^{14}C β -粒子能量的不同其射程也不同,这决定着对核乳胶类型、厚度的选择以及组织切片的厚度(表1)。

β -粒子激活银离子的总效价并不只限于银颗粒数/入射电子数。因为原来释放的电子在组织内被吸收一部分,同时还受辐射源与核乳胶间距离的影响,特别是 ^3H 的 β -粒子,由于能量低、射程短,受这些因素的影响也就显得突出。Pelc氏对厚3微米的组织切片,曝光30天,其 ^3H -TdR对银颗粒显影总效价为 $1/200$ 。比一般认为20个蜕变数产生一个银颗粒的效价又降低了10倍。

每个实验室根据自己放射自显影的操作过程不同都有自己的放射性同位素在显影中的效价值,这与剂量有密切关系。可根据效价的大小而确定适宜的标记化合物注射剂量。举例:用 ^3H -TdR注射来测定小鼠骨髓细胞周期(小鼠体重20克,用骨髓涂片方法进行显微镜观察(^3H -TdR的比活性1.6居里/mM)),估计最低 ^3H -TdR的剂量是多少?

一个体重20克的小鼠骨髓含有核细胞 3×10^8 ，在任何时间，只有30%左右的细胞处于DNA合成期，即约 1×10^8 。同时有同等数量的其他组织器官细胞处于DNA合成期，即共有 2×10^8 细胞处于DNA合成期（S期）。

估计一个 β -粒子（来自 ^3H ）衰变全部能量作用到AgBr粒子上能够产生一个银颗粒。而实际上 β -粒子的效价一般为5%，即要20个 β -粒子衰变数，再加上Pelc实验结果所示，其效价再降低10倍，即需有200个衰变数才能在实际工作中产生一个银颗粒。

一般在30天曝光，使每个标记的细胞平均有30个银颗粒是较为理想的，故共需 β -粒子衰变数为 $2 \times 10^8 \times 30 \times 200 = 1.2 \times 10^{12}$ 。每天要有 β -粒子蜕变数为 $1.2 \times 10^{12} \div 30 = 4 \times 10^{10}$ 。（因为 ^3H 的半衰期为12.26年，曝光时间仅为30天，故对在曝光期间其自然衰变可忽略不计）。

^3H 的1微居里等于 3.2×10^9 衰变/天，故 ^3H -TdR剂量为 $4 \times 10^{10} \div (3.2 \times 10^9) = 12.5$ 微居里。这是最低剂量（实际作用到骨髓的剂量）。

由于所注射的 ^3H -TdR约有50%被组织吸收、利用，另50%左右被肝脏分解破坏排出体外，因而剂量要加倍，即25微居里。所以一般剂量用1~2微居里/克体重来计算小实验动物的剂量是适宜的⁽¹⁾。

2. 细胞周期的研究方法：对细胞周期及其各时相的研究一个有力的工具就是利用标记的TdR掺入到DNA中去。一旦掺入后它就稳定地与核内DNA大分子紧密牢固地结合在一起，不再分解。一代一代的通过核分裂以减半数量传递下来，除非细胞坏死、分解或幼稚的含胞核红细胞在成熟过程中将胞核抛出，则标记的TdR可重新被其他处于S期的细胞重利用。

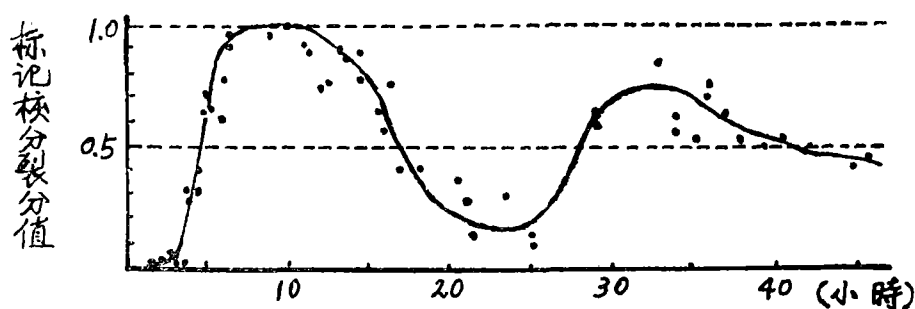
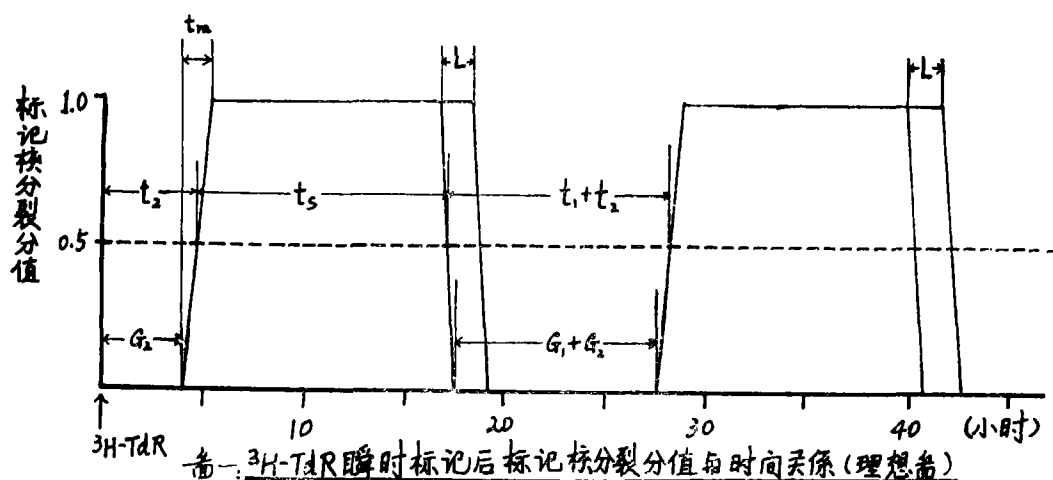
标记方法：根据对细胞动力学研究的要求，有以下几种用标记的TdR掺入到细胞核

DNA中去的基本方法研究细胞周期。为叙述方便，下面以 ^3H -TdR为主要示踪物标记骨髓细胞来进行阐述。

（一）瞬时标记（Flash, Pulse Labelling）：给动物或人静脉或腹腔注射一定量 ^3H -TdR，于不同间隔时间取骨髓或外周血涂片，进行放射自显影。通过以下几个基本参数进行细胞周期计算：（1）标记的核分裂指数（ I_m ）即标记的核分裂数/核分裂总数（标记的核分裂数+未标记的核分裂数）。首先看到的标记的核分裂细胞是在注射 ^3H -TdR时处于DNA合成期末尾的那些细胞，经过 G_2 期（DNA合成后期），而首先进入核分裂期（最小 t_{G_2} DNA合成后期所需时间）， I_m 值逐渐增加至核分裂期时间的终末而达最大值，继之呈一平坦峰值，持续存在于整个S期（DNA合成期）时间内。当 G_1 期（DNA合成前期）细胞开始进入核分裂期时，则 I_m 值开始下降，即 G_1 期开始。 I_m 值继续下降，至 G_1 期时间之末尾， I_m 值最低。接着一代子代细胞又从 G_2 期开始做周期性循环。习惯上 t_s （DNA合成期所需时间）相当于第一次出现的曲线升脚及降脚 I_m 50%间的距离。自注射 ^3H -TdR开始至 I_m 50%点间的距离为 $t_{G_2} + \frac{1}{2}t_m$ （核分裂期所需时间）。第一 I_m 曲线降脚50%点至第二 I_m 曲线升脚50%点间距离为 $t_{G_1} + \frac{1}{2}t_m + t_{G_2} + \frac{1}{2}t_m$ ，即 $t_{G_1} + t_m + t_{G_2}$ 。从第一曲线升脚 I_m 50%点至第二曲线升脚 I_m 50%点间距离，即 $t_s + \frac{1}{2}t_m + t_{G_1} + t_{G_2} + \frac{1}{2}t_m = T_g$ （图1）。

理论上第一个 I_m 曲线升脚与降脚斜率应是一致的、对称的，且 t_m 向 t_s 过渡界限清晰、突然过渡而呈有棱之角。实际上由于细胞个体之间存在着差异，各时相持续时间长短不甚一致，故曲线呈圆滑曲线。标记的细胞在细胞周期中有少部分有变性、坏死， ^3H -TdR的重利用，故降脚的斜率偏小，且不会降到“0”点（图2）。这是实际上出现的图形。

用此方法可直接测出 t_{G_2} 的最小值, t_s 及 t_g 〔6,7〕



t_m 及 t_{G_1} 是推算出来的。即 $t_m = T_g \times I_m$
 $t_{G_1} = T_g - (t_{G_2} + t_m + t_s)$ 。

此外, 还有其他方法计算细胞周期, 如计数标记的平均银颗粒数/标记的细胞。当银颗粒数降到原来的 $1/2$ 时, 两者相隔的时间即为 T_g 。 t_m 可以计数的核分裂数(N_m)、标记的细胞数(N_L)和推算出的 t_s 计算出来。 $\frac{t_m}{t_s} = \frac{N_m}{N_L}$, 所以 $t_m = \frac{N_m \cdot t_s}{N_L}$ 〔3〕

可利用瞬时标记方法, 观察小鼠〔2〕狗〔4〕骨髓、大鼠小肠粘膜〔3〕等细胞周期时间。

同时可用此方法测出狗正常骨髓自晚幼粒细胞向周围血释放白细胞的间隔时间, 平

均是 102 ± 13.8 小时。可计算中性白细胞在周围血中的寿命。从周围血中标记的白细胞的下陷情况可知其自然丧失50%的时间是6小时, 则其在血中的寿命为 $T_{1/2} \div \ln 2 = 6 \text{ 小时} \div 0.693 = 8.7$ 小时。

体外组织细胞培养碟内加入 $^3\text{H-TdR}$, 30分钟后, 吸出 $^3\text{H-TdR}$, 作为瞬时标记的方法。

由于瞬时标记, 只有在用同位素的当时或不久(如30分钟以内)那些处于S期的细胞才能被掺入 $^3\text{H-TdR}$, 故标记的核分裂数不可能很多, 最多50%左右。用持续性标记方法就会大大提高标记核分裂数。

(二) 持续性标记: 持续性静脉注射同

位素数小时(至少 $> t_s$)或数天或在体外培养基中加入同位素使之持续性作用。记数三个参数就可进行细胞周期的计算。即(1)标记的细胞分值(L_I):在同位素作用期间,由于处于 G_1 、 G_2 、 m 期的细胞不断地进入S期,而使 L_I 持续不断地上升,直至全部 G_1 、 G_2 、 m 期细胞都进入S期全部细胞均被标记($L_I = 7$),所经过的时间为 $t_{G_1} + t_{G_2} + t_m$ 。(2)标记的核分裂指数(I_m),与瞬时标记的结果基本相似。由于 3H -TdR的持续性存在,故当 I_m 达到1时不会再下降。故自用同位素开始至曲线升脚50%点的距离为 $t_{G_2} + \frac{1}{2}t_m$ 。

(3)平均标记的银颗粒数/标记细胞。平均标记的银颗粒数逐渐达最大值即为第一代细胞完成DNA合成期的时间(t_s)。故此方法可以直接测出 $t_{G_1} + t_{G_2} + t_m$ 和 T_g ^{〔1〕}。因为在给 3H -TdR时方于S期开始阶段的细胞将在整个S期掺入 3H -TdR直到S期終了,故细胞标记银颗粒平均达到最大值的时间即等于 t_s 。

同时此方法用于计算骨髓增殖池最后细胞DNA合成期至向周围血释放的时间(骨髓内经过时间)及血中白细胞寿命较瞬时标记方法计算的更精确。在持续性标记下,每个标记细胞的平均银颗粒数多,这可减少由于标记的银颗粒数少(瞬时标记)有些细胞被误认为非标记细胞的误差,人为地延长了晚幼粒细胞在骨髓内的经过时间和对中性白细胞在血中寿命计算值的影响。

在大鼠,晚幼粒细胞在骨髓的经过时间最短为48小时,一般为60~72小时。中性白细胞在血中的寿命为8.7~11.4小时^{〔5〕}。

(三)间断性多次标记:每次标记的间隔时间要小于 t_s ,这样才能使增殖细胞毫无遗漏地全部被标记上(间断性标记持续的总时间要大于 t_g)。每次注射同位素后间隔一定时间间断性活杀动物进行观察。计算标记细胞的相对数。用此方法研究细胞周期较

好,可以避免辨认及计数标记核分裂的繁重工作。虽然间断性注射有时可达10次之久,但对每个处于S期的标记细胞所接受的剂量不超过一次剂量的2倍。

从间断性多次标记的结果看,虽然标记细胞的平均银颗粒数比持续性标记的要少些^{〔5〕},不过它可以避免在持续性标记方法中动物需要麻醉、静脉插管和动物固定等较复杂的操作过程,是有可取之处的。

在体外组织细胞培养基中加入一定量 3H -TdR进行细胞标记,隔一定时间可连续更换几次新鲜 3H -TdR,以保证有足够量的 3H -TdR被细胞吸收、利用^{〔6〕}。从方法看来是间断性多次标记,而实质上是起到持续性标记的作用。

(四)双标记法:自从1956年Friedkin氏等在鸡胚绒毛一尿囊膜体内及体外用 ^{14}C -TdR掺入DNA^{〔7〕}及鸡骨髓、胸腺、睾丸、肺、小肠粘膜等以及兔的无细胞胸腺核等体外培养掺入 ^{14}C -TdR成功之后,则 ^{14}C -TdR广泛应用于细胞动力学研究。 ^{14}C 具有较高能量的 β -粒子,故可与低能量的 3H 合用(组成双标记),可通过标记的细胞数直接计算 t_s 。

一般先注射 3H -TdR,间隔一定时间(如1小时)再注射 ^{14}C -TdR,再经过15~30分钟活杀动物,取骨髓或其他组织作涂片或切片。一般用两层核乳胶,中间隔一层明胶膜,第二层核乳胶要厚些。这样,由于 3H 能量低,径迹短,银颗粒只限于细胞核内和第一层核乳胶上。而 ^{14}C 则由于其能量大、径迹长,所产生的银颗粒超出了细胞核范围,在核周围有一银颗粒晕环或呈散射状,且达到第二层核乳胶,与 3H 所产生的银颗粒不在同一平面(焦距)上,可以鉴别出 3H 及 ^{14}C 标记的细胞。

3H 标记的细胞数(N_H)与 3H -及 ^{14}C -TdR两次注射时间间隔长短(t_a)成比例(原则上 t_a 不能大于 $t_{G_2} + t_m$)^{〔8〕}, ^{14}C 标记

的细胞数 (N_c , 包括单纯只有 ^{14}C 标记的和 ^{14}C 同 ^3H 共同标记的细胞) 与 t_s 成比例。所以 $\frac{N_c}{N_H} \approx \frac{T_s}{T_a} t_s \approx \frac{t_a(N_c)}{N_H}$, t_s 是细胞是细胞周期中的重要参数。通过观察涂片或切片, 我们已计算出 L_I 及 M_I , 则

$$t_m = \frac{M_I / (1-p) (t_s + t_a)}{L_I / (1-p)} = \frac{M_I (t_s + t_a)}{L_I}$$

L_I 等于细胞总数除以 $N_c + N_H + N_{c+H}$ 之和。 M_I 为核分裂指数, L_I 为双标指数 (包括 $N_c + N_H$), P 为非增殖细胞在细胞群中的比例 [8]。

此方法对细胞动力学的计算, 简便、省时, 只标记两次。用易于观察的标记细胞数计数即可推算出 t_s [9] 及 t_m 。延长 t_a , 可推算出 t_{G_1} 及 t_{G_2} 。用此方法测得大、小鼠胃肠道粘膜等脏器的 t_s , 小鼠小肠粘膜 t_s 为 7.9 小时, 胃粘膜为 9.0~9.1 小时; 大鼠小

肠粘膜为 7.6 小时, 胃粘膜为 9.6 小时等 [9]。大鼠骨髓幼稚红系统细胞的 t_s 为 4~5 小时, 7.0 ± 0.5 小时, t_m 为 0.3 ± 0.05 小时, T_g 为 19.0 ± 1.8 小时 [10]。

用体内外结合的方法进行双标记不仅可减少受体接受同位素的剂量, 同时也可在体外培养过程中间断取标本, 从而获得细胞流量参数 (输入及流出 S 期的细胞流量)。Rooljen 氏对近年来有关双标记的几个重要技术问题, 如单层或双层核乳胶、一次或两次曝光等进行了文献复习 [12]。

3、细胞群类型及其细胞动力学参数的计算方法: 对放射生物学研究辐射对细胞动力学的影响, 关系最密切的是不断更新的稳定细胞群和呈指数增殖的细胞群。

指数性增殖细胞群各时象的计算公式与不断更新的稳定细胞群不同。如表 3 [1]。

表 3 两类细胞群细胞周期中各时象的计算公式 [1]

时 象	不断更新稳定细胞群	指数性增殖细胞群
核分裂 (M)	$\frac{N_m}{N_o} = \frac{t_m}{T}$	$\frac{N_m}{N_o} = \frac{t_m}{T} \ln 2$
DNA 合成前期 (G_1)	$\frac{N(G_1)}{N_o} = \frac{t(G_1)}{T}$	$\frac{N(G_1 + \frac{1}{2}M)}{N_o} = 2 \left[1 - \exp - \frac{t_1 \ln 2}{T} \right]$
DNA 合成期 (S)	$\frac{N(s)}{N_o} = \frac{t_s}{T}$	$\frac{N_s}{N_o} = \exp - \frac{t_2 \ln 2}{T} \exp \left[\frac{t_s \ln 2}{T} - 1 \right]$
DNA 合成后期 (G_2)	$\frac{N(G_2)}{N_o} = \frac{t(G_2)}{T}$	$\frac{N(G_2 + \frac{1}{2}M)}{N_o} = \left[\exp - \frac{t_s \ln 2}{T} - 1 \right]$
$T = t_m + t_{G_1} + t_s + t_{G_2}$		$\exp = 1 - e^{-\frac{t_1 \ln 2}{T}}$

在体外细胞培养中, 用 L_I (标记细胞分) 值) $\frac{t_s}{T_g} \ln 2$ 的计算式的结果, t_s 值比实际值偏高, 而表 3 之公式 $L_I = \exp - \frac{t_2}{T} \ln 2 \left[\exp \frac{t_s}{T} \ln 2 - 1 \right]$ 较接近于实际实验结果 [15]。

一般计算细胞 t_s 是在核分裂标记曲线上

升脚 50% 点至降脚 50% 点间距离为准。而 Quastler 氏认为两个脚 37% 点间距离是真正的平均 t_s 值, 而 50% 点间距离是 t_s 的下限, 低于平均值 [16]。这个意见尚未被大多数学者所采纳。

骨髓中自原幼粒细胞分裂几次之后细胞才有可能进入到周围血中, Warner 氏提出正常人骨髓细胞分裂的次数为

$M = \log_2 \left(\frac{X}{MB} \right)$, 2 为每次细胞分裂时所产生的细胞数, X 是原幼粒细胞、早幼粒细胞及中幼粒细胞之和, MB 是原幼粒细胞数。从涂片中得出 $\frac{X}{MB} = 10$, 共有 7 次核分裂。中幼粒细胞的周期时间 (T_g) 可通过周围血中中性粒细胞的周期性 DNA 放射活性的波动来推算 [17]。

二、放射自显影术在放射病实验研究中的应用

辐射对细胞动力学的影响是抑制、破坏或促进 DNA 合成, 延长或缩短细胞周期时间, 延缓或降低核分裂的发生, 剂量大的可引起流产型核分裂、细胞固缩、坏死等 [18]。最后, 由于失去修复能力终将导致功能衰竭, 死亡。

下面仅就急慢性全身照射对小肠粘膜、骨髓等损伤、修复加以简要的叙述。

1、小肠: 小肠粘膜隐窝上皮对辐射是最敏感的。不同剂量的 ^{60}Co 照射小鼠对小肠粘膜的影响不同。剂量低到 75 伦就引起了 G_2 及 m 期细胞的抑制, 推迟 G_2 期细胞进入 m 期, 同时看不到核分裂象的存在。剂量越高, 阻断的时间越长。150~1000 伦照射, 阻断时间从 2.5 小时延长到 12 小时。此外核分裂象的恢复, 剂量越大越慢, 150 伦照射后 14 小时恢复正常值。而 1000 伦照射, 在 64 小时仍低于正常值。对 DNA 合成、核分裂及 G_1 期细胞进入 S 期的影响也是剂量越大越明显。

对大、小鼠照射 2000 拉德, 则 $^3\text{H-TdR}$ 掺入到 DNA 的量照后 1 小时减少 50%, 抑制核分裂, 2 小时出现细胞坏死, 照后 1 天隐窝上皮无正常的再生, 或呈病理性再生 (称之为 ω -细胞), 形态异常, 缺乏正常功能, 从而导致动物死于肠型急性放射病综合症 [19]。肠道隐窝上皮示严重破坏, 但

未影响其细胞向绒毛表面的移动, 有出无进, 照后短时间内肠隐窝就变得空虚。

小剂量慢性多次照射大鼠, 剂量率越大, 则隐窝细胞数及核分裂象越少, 而对细胞周期无明显影响, 用 $^{137}\text{Cs}\gamma$ -射线照射, 每天达 415 拉德, 连续 5 天, 细胞周期无明显影响, 反而标记细胞的平均银颗粒数比对照组高一倍。可能由于 $^3\text{H-TdR}$ 的利用时间增加、细胞渗透性增加、 $^3\text{H-TdR}$ 在组织内的浓度增加 (由于细胞数减少) 或是由于 DNA 合成的途径改变等引起。对小鼠用较小剂量率照射 50~176 拉德/天, 连续 5 天, 虽然有细胞坏死, 但由于再生增强而细胞数量保持稳定水平。用双标记方法计算约有 25% 的 ^3H 标记的细胞丧失, 这种损伤的修复可能通过隐窝细胞的增殖加强或缩短细胞周期两个途径来完成 [20]。

2、骨髓: 骨髓对辐射很敏感, 在本世纪初初期就已为人们所了解。各种成年动物骨髓有核细胞数为 $10 \times 10^9 \sim 40 \times 10^9$ / 公斤体重。周围血中循环的中性白细胞为 $0.2 \times 10^9 \sim 0.5 \times 10^9$ / 公斤体重, 实际上比此值高几倍, 因为有大量白细胞粘滞于血管壁或在血管中停滞。粒系统在受照射后有一过性周围血白细胞增高。核分裂抑制恢复后, 有不少细胞在分裂后不久死亡, 称“流产型”恢复。这与受照骨髓体外培养时形成 20~30 个细胞的细胞团结果相一致, 无能力形成一完整的造血灶 (50 个细胞以上) [19]。较小剂量照后引起细胞蛋白质合成的降低, 数天后恢复到正常水平 [21]。对小鼠用 250 伦照射 (X 射线), $^3\text{H-TdR}$ 注射。照后 36 小时计数标记的核分裂分值来计算细胞周期的改变, 结果表明, 照后骨髓细胞周期缩短 [2]。

慢性小剂量持续性照射, 明显缩短细胞周期时间。Lord 氏在大鼠用 γ -射线照射, 剂量率 84 拉德/天, 连续 15 天以上, 则大大缩短骨髓红系统细胞的周期, 由正常的 33 小

时缩短到18小时左右,同时细胞周期的分布范围也大大缩小,由正常的9~74小时,缩小为8~54小时。细胞增殖率(单位时间内细胞分裂分值)明显提高,由正常的0.057提高到0.079〔22〕。同时表现红系(除早幼红外)及粒系统细胞DNA合成增强及 t_g 明显缩短。 t_g 的缩短主要是由于 t_{G_2} 的缩短引起的。如红系统细胞对照组为27小时($t_{G_2} + \frac{1}{2}t_m$),照射组缩短到10小时,说明骨髓照射后在新的情况下达到一个新的稳定平衡〔23〕。

3、其他:对人肾来源的上皮细胞体外培养,用 ^{14}C -TdR标记后,照射200伦,继之以 3H -TdR标记。这个方法用于研究细胞动力学较好。可进行不同时象的细胞对辐射敏感性的研究。实验结果表明辐射延长了 t_{G_2} 及 t_s ,而对 t_{G_1} 几乎没有什么影响〔24〕

三、对放射自显影术在细胞动力学研究中的展望

无疑,放射自显影术是一种非常有力的细胞动力学的研究手段之一。它用同位素标记的DNA前体化合物作为示踪物参与了细胞代谢、增殖,较准确地获得了细胞动力学的有关重要参数。由于能准确在细胞内定位,所以在细胞水平、亚细胞水平及超微结构水平的细胞动力学研究它是很有价值的和前途的。但不足之处是定量差,虽然可以通过制备标准同位素膜作为标准物〔25〕。液体闪烁谱仪能精确的定量,灵敏度高,定量精确,操作简便、迅速,短时间内能进行大量标本的测定,广泛应用于辐射对细胞动力学影响的研究〔26〕、造血细胞总量及血量的测定和体外细胞培养〔27〕等。但缺点是不能定位,因此与放射自显影术结合使用是值得考虑的。此外放射自显影术也可考虑与细胞分光光度计结合起来应用,通过对DNA标记及定量性观察能精确地计算细胞周期中各时

象的时间。

为了增加在光学显微镜下观察标记细胞数及每个细胞标记的银颗粒数的准确性和灵敏性,用暗视野显微镜观察会得到更满意的结果,特别是与透射光结合应用时则组织结构与银颗粒均清晰可见〔30〕。

对于骨髓造血系统细胞动力学的模型及计算公式还有许多工作需进一步作和进一步完善。

小 结

1、本文复习了放射自显影术在细胞动力学研究中常用的几种方法,并比较了其优缺点。

2、不断更新的稳定细胞群和指数性增殖细胞群(主要为体外培养细胞)细胞周期及各时象的计算方法不同。

3、放射自显影术在急慢性放射病实验研究中,用于观察细胞损伤和修复过程中细胞动力学的变化,从而掌握其发生发展的规律。

4、放射自显影术在细胞动力学的研究中有其独特的优越性,但在定量方面有所不足,与液体闪烁谱仪及细胞分光光度计结合使用则大大弥补其缺点,提高科研水平。

参 考 文 献

- 1、Cleaver, J. E.: Thymidine Metabolism and Cell Kinetics, P. 15, North-Holland, 1967.
- 2、Frindel, E. et al.: Nature 214: 1017, 1967.
- 3、Cairnie, A. B.: Exp. Cell Res 39: 528, 1965.
- 4、Patt, H. M. and Maloney, M. A.: in "Lamerton, L. F. And Fry, J. M.: Cell Proliferation,

- P. 157, " Oxford, 1969.
- 5、Gerecke, D. et al. : Cell Tissue Kinetics, 6: 369, 1973。
 - 6、Testa, N. G. and Lord, B. I. : Cell Tissue Kinetics, 6: 425, 1973。
 - 7、Friedkin, M. et al. : J. Biol. Chem. 220: 627, 1956。
 - 8、Lobue, J. et al. : Myeloproliferative Disorders of Animals and Man, P. 84, U. S. A. 1970。
 - 9、Pilgrim, C and Maurer, W. : Die Naturwissenschaften, 49: 544, 1962。
 - 10、Monett, F. C. et al. : Scand. J. Haem. 5: 325, 1968。
 - 11、引自: Wickramasinghe, S. N. : Human Bone Marrow, P. 1, Oxford, London 1975。
 - 12、Rooijen, N. V. : Intern. J. Appl. Rad. & Isot. 27: 547, 1967。
 - 13、Leblond, C. P. et al. : Exp. Cell Res. 8: 296, 1959。
 - 14、Wimber, D. E. : in "Lamerton, L. F. and Fry, R. J. M. : Cell Proliferation, P. 1. " Oxford, 1963。
 - 15、Cleaver, J. E. : Exp. Cell Res. 39: 697, 1965。
 - 16、Quastler, H. : in "Lamerton, L. F. and Fry, R. J. M. : Cell Proliferation" Oxford, 1963。
 - 17、Walker, R. I. et al. : Blood, 41: 123, 1973。
 - 18、Lajtha, L. G. : in "Lamerton, L. F. and Fry, R. J. M. : Cell Proliferation, P. 80" Oxford, 1963。
 - 19、引自: Patt, H. M. et al. : Physiological Reviews, 43: 457, 1963。
 - 20、Wimber, D. E. and Lamerton, L. F. : Rad. Res. 28: 694, 1966
 - 21、Hennessy, T. G. and Okunewick, J. P. : in "IAEA. : Use of Radioisotopes in Animal Biology and the Medical Sciences, Vol. 1. P. 357 London, 1962。
 - 22、Lord, B. I. : in "IAEA. : Effects of Radiation on Cellular Proliferation and Differentiation P. 247, " Vienna, 1968。
 - 23、Lord, B. I. : Brit. J. Haemat. 11: 130, 1965。
 - 24、Bootsma, D. : Exp. Cell Res. 38: 429, 1965。
 - 25、Boren, H. G. et al. : in "Prescott, D. M. : Methods in Cell Biology, Vol. 8 P. 277, " New York and London, 1974。
 - 26、苏州医学院卫生系第三教研组: 生物化学与生物物理进展, 3: 10, 1977。
 - 27、Volpe, S. P. and Eremenko, T. : in "Prescott, D. M. : Methods in Cell Biology, Vol. 6, P. 113, " New York and London, 1973。
 - 28、Stryckmans, P. et al. : Nature, 211: 717, 1966。
 - 29、Olsson, L. : Rad. Res. 68: 258, 1976。
 - 30、Rogers, A. W. : Techniques of Autoradiography, P. 148, 2nd. Ed. Nether-lands, 1973。

(北京753信箱一室 高凤鸣综述)