

射性方式传递活性给 PPO。由 PPO 发射的光子数 ( $Q_{PPO}$ ) 为:  $Q_{PPO} = q_{PPO} f S E$

这里  $E$  是氚发射的能量,  $q_{PPO}$  是 PPO 荧光量子效率,  $f$  是二氧六环-PPO 能量转换量子效率因子 (对目前所用浓度的 PPO,  $f = 1$ ),  $S$  是每 f100 电子伏  $\beta$  粒子活化 1 个二氧六环分子。

同样, 由 PPO 量子活化 POPOP 而发射的光量子数,  $Q_{POPOP}$  可如此描述

$$Q_{POPOP} = q_{POPOP} q_{PPO} f S E$$

这里  $q_{POPOP}$  是 POPOP 的荧光量子效率, 在目前所用 PPO 和 POPOP 克分子浓度下  $q_{PPO}$  和  $q_{POPOP}$  分别为 0.80 和 0.85, 当取氚的平均发射能量 5 千电子伏时  $f S E = 50$ , 其  $Q_{PPO} = 40$  光量子数和  $Q_{POPOP} = 34$  光量子。由 PPO 发射的光量子波长 3650 Å, 平均能量 3.40 电子伏, 由 POPOP 发射的光量子的波长为 4150 Å, 能量为 2.96 电子伏。为使潜影形成需使 1 个 AgBr 晶粒释放 10~1000 个电子, 而 AgBr 晶粒释放一个电子大约需要 3 电子伏的能量。氚的一个  $\beta$  粒子的能量经过作用于二氧六环-PPO-POPOP 以后能诱发至少 90 电子伏的能量 (仅由 POPOP 发射的能量), 这就足够使 3 个 AgBr 晶粒形成潜影即在乳胶中形成三个银颗粒, 而在常规的放射自显影中氚的一个  $\beta$  粒子只能产生 < 0.1 个银颗粒, 即高速自显影术从理论上上看至少比普通自显影效率高 30 倍。

高速自显影的温度-依赖性效率与处于 -70°C 的 PPO 和 POPOP 的荧光效率较 +20°C 时的荧光效率增强有关, 因此它也与发射的光子数目的增加有关。

高速自显影的分辨力: 对氚标记细胞的高速自显影的分辨力与常规自显影者一样, 在我们的材料中大多数乳胶颗粒是定位在 FL 细胞的核上, 少数刚好在核膜上。在改进自显影分辨力方面, 通过改变自显影的几何形状, 或应用发射能量低于  $^3H$  或  $^{125}I$  同位素以及降低生物材料的厚度实际上还不能达到其目的。然而, 当应用高速自显影时, 可以考虑通过降低 AgBr 晶粒的大小改进其分辨力。潜影形成需要  $\beta$  粒子通过 AgBr 晶粒时丢失 150 电子伏的能量, 而能量损失的多少依赖于晶粒的大小和同位素发射的能量。对晶粒大小为  $\leq 100$  Å 者, 尽管用低能量同位素,  $^3H$  和  $^{125}I$ , 在 AgBr 晶粒中的能量损失是不足以形成潜影的。然而由 POPOP 发射的可见光由于在 AgBr 中丢失 35 电子伏的能量而形成潜影。因此在高速自显影中乳胶的 AgBr 晶粒可以缩小到约 25 Å, 从理论上说这样的大小已能保留潜影形成的性质。由于 AgBr 晶粒大小的缩小, 实际上能达到相应地改进自显影分辨力的目的。

(Sawicki W 等: *Histochemistry* 52, (4): 341~347, 1977 (英文) 张孙曦译 刘鼎新 曹淑媛校)

## $^{111}In$ 标记血小板和碘化纤维蛋白原检查深部 静脉血栓形成的比较

目前公认, 采用  $^{125}I$  纤维蛋白原的纤维蛋白摄取实验是检查深部静脉血栓形成的一种有用而精确的方法。如果使用  $^{111}In$  或  $^{125}I$  标记纤维蛋白原, 用闪烁照像机即可获得血栓闪烁图。遗憾的是, 当血栓已有数日之久时, 它对放射性碘化纤维蛋白原摄取很少, 因此血栓与血液的比值较低, 这就难以成像, 特别是在大血池区。

Thakur 等人最近报导了一种用  $^{111}In$  标记血小板的方法。用狗作的初步实验表明, 静脉血栓摄取标记血小板, 在给予标记血小板后, 对 72 小时龄的血栓可进行  $\gamma$  血池显像。

本实验中, 我们用  $^{125}I$  纤维蛋白原作比较标准, 进一步研究了不同时龄的深部静脉血栓对  $^{111}In$

标记血小板的摄取情况。

### 方 法

诱发狗的实验性深部静脉血栓, 如文献所述。用戊巴比妥钠将狗麻醉 (30 毫克/公斤), 把内有不锈钢电线的乙烯导管插入颈静脉, 在荧光镜引导下进入股静脉, 不锈钢电线与可变电源的阳极相联, 阴极与腿上带有导管的皮夹相联, 通直流电 1 小时 (5 毫安、2 伏), 然后去掉电线与导管。在血栓形成 1、2、4、12、19、24 或 72 小时的时候, 于前肢静脉注射标记血小板和标记纤维蛋白原。用 Thakur 等人的方法制备  $^{111}In$  标记的自体血小板。血小板从含有 7 毫升葡萄糖柠檬酸的注射器抽取的 43 毫升全血中获得。将血仔细地移入两个 50 毫升的

聚丙烯试管中,离心180g15分钟,用硅化巴斯德(Paster)移液管将血小板丰富的血浆(PRP)移至聚丙烯试管中,再离心180g15分钟。弃掉血小板少的血浆(PPP),再缓慢地将血小板悬浮于10毫升葡萄糖柠檬酸生理盐水中(两者比例为1:6),用同样的方法将其离心和再悬浮两次以上,最后的小血小板悬浮物用来作 $^{111}\text{In}$ 标记。

$^{111}\text{In}$ -8-羟基喹啉的制备。将1~1.5毫升(约3毫居里) $^{111}\text{In}$ 氯化物溶液(pH1~3)加到等量的无离子蒸馏水和200微升的0.3M醋酸盐缓冲液(pH为5.3)中。加入8-羟基喹啉乙醇溶液(1毫克/1毫升)50微升,充分混匀溶液。将得到的复合物提取到两等份三氯甲烷中。三氯甲烷经沸水浴蒸干,残留物溶于50微升乙醇中,用150微升生理盐水稀释。

将含有 $^{111}\text{In}$ -8-羟基喹啉的乙醇生理盐水混合物加到10毫升血小板悬浮物中,室温下温育15分钟,然后取出少量的最终悬浮物,离心1700g以检验其标记率。假如血小板的标记掺入大于90%,那么,可将标记血小板悬浮物直接用于注射,否则应再离心1700g并再次悬浮于3~5毫升PPP中。每只狗平均注射700微居里,在正常狗,70%以上的血小板可以回收,他们的存活时间与 $^{51}\text{Cr}$ 标记的血小板相似。

用改良的McFarlane碘单氯化物(ICl)技术制备放射性碘化纤维蛋白原。在200微升2MNaCl<sub>1</sub>溶液中,用少量ICl可以置换2毫居里 $\text{Na}^{125}\text{I}$ 。加入200微升硼酸盐缓冲液,pH7.9(0.4M,0.11MNaCl)。将混合物立即喷入含有3毫克纤维蛋白原的400微升同样的硼酸盐缓冲液中,用Mosson和Sherry的方法将其与狗的鲜血浆分离。15分钟后,用30%饱和度的硫酸铵沉淀法将标记纤维蛋白原纯化,然后溶于0.02M Tris缓冲液中(pH7.4,0.135MNaCl)。标记纤维蛋白原在-20℃贮存,两周内使用。有代表性的实验是给每只狗注射200~400微居里。用本法制备的标记纤维蛋白原其作用不论在体内与体外都与未标记的纤维蛋白原一样。

给每只狗同时注射 $^{111}\text{In}$ 血小板和 $^{125}\text{I}$ 纤维蛋白原。注入标记血小板后,在24小时内的不同时间间隔用闪烁照像机作狗后肢 $^{111}\text{In}$ 活性显像。注射示踪剂后24小时取出血栓,收集血栓部位以及对侧腿相应部位的血和血管壁标本,标本称重,用NaI(Tl)井型计数器计数 $^{111}\text{In}$ 和 $^{125}\text{I}$ ,按(cpm/克血栓)+(cpm/克血)计算血栓与血的比值。

## 结 果

小于24小时龄的血栓对 $^{111}\text{In}$ 标记血小板的摄取明显地大于对标记纤维蛋白原的摄取,血栓与血的比值大约为纤维蛋白原所得比值的两倍。然而,在注射时已超过24小时龄的血栓,对 $^{111}\text{In}$ 标记血小板和 $^{125}\text{I}$ 纤维蛋白原的摄取均低,两者血栓与血的比值近似。后肢闪烁图表明,对任何时龄的血栓, $^{111}\text{In}$ 都积聚在血栓形成部位。虽然所有的血栓在注射药后1~2小时即能显像,但是在注射药12~15小时后显像最好。注射示踪剂时血栓已超过24小时龄,在取出时很小(诱发血栓后在48小时以上)。虽然在闪烁图上观察到了股静脉对 $^{111}\text{In}$ 血小板的摄取,但72小时龄的血栓在注射示踪剂24小时后(即诱发血栓后96小时)仍不能鉴别。据此发现,认为闪烁图可用于检查在受损内皮处沉积的血小板。静脉血管壁的放射性测定进一步证明了受损血管壁对血小板的摄取。注射示踪剂时为24小时龄的血栓取出后,血栓部位的一段血管的 $^{111}\text{In}$ 放射性含量是对侧后肢相应部位血管放射性的四倍以上。另一只有48小时龄深部静脉血栓的狗,取出血栓后血管比值为2:1(受损侧/未受损侧)。

## 讨 论

我们的实验结果表明,血栓时龄不超过24小时的时候, $^{111}\text{In}$ 血小板产生的血栓与血的比值高于放射性碘化纤维蛋白原产生的血栓与血的比值。时龄为6小时或不超过6小时的血栓对标记血小板的摄取最高。本实验观察到血栓时龄对血栓摄取放射性碘化纤维蛋白原的影响与过去报告的结果相似。显然,时龄超过24小时的血栓,对两种制剂的摄取都不好。

因诱发深部静脉血栓的实验模型至少会在某种程度上明显地引起内皮损伤,所以标记血小板在血栓溶解后可长时间粘着在受损区。最初报导的令人鼓舞的时龄较长之血栓闪烁图可能是受损血管的闪烁图,而非血栓,因使用的是相同的实验模型。狗的血栓溶解较人的血栓溶解快,所以要得到人的较长时龄的深部静脉血栓的好闪烁图是可能的。

普遍认为,静脉血栓不同于动脉血栓,静脉血栓主要由红细胞和纤维蛋白组成,而不是由积聚起来的血小板团块组成。这意味静脉血栓不应该有明显的血小板积聚。然而Paterson认为在静脉血栓的某些部位常有血小板沉积,特别是在血栓头部。Harker等人 and Steele等人报导了静脉或动

脉血栓患者的血小板存活时间常常缩短,我们的结果与后一些研究者一致。血小板确实积聚在静脉血栓。我们的结论是,<sup>111</sup>In 血小板深部静脉血栓显

像较放射性碘化纤维蛋白原为佳。

(Linca C knight 等; JNM 19(8): 891~894, 1978(英文)陈凡译·卢佩章审校)

## 电离辐射对淋巴细胞转化能力的影响

哺乳动物的淋巴细胞是一种辐射敏感细胞。它在照射后的数量及质量的变化早就引起人们的重视,近年来随着免疫学研究的进展,围绕淋巴细胞的亚群及其功能做了大量的工作。关于照射后淋巴细胞转化能力的变化也有不少报导。不过不同作者研究的目的各不相同,有的是为了寻找一个评价放射损伤程度的早期敏感指标,有的是为了研究淋巴细胞亚群的功能,有的是为了探讨肿瘤放射治疗中的免疫学问题。本文将不同角度的研究作一综述,以供放射医学研究的参考。

### 淋巴细胞转化现象

如所周知,循环血中的淋巴细胞主要是小淋巴细胞,通常是不分裂的。1960年Nowell<sup>[1]</sup>发现肾形豆(*Phaseolus vulgaris*)的水提取物能使人周围血培养产生大的、能分裂的、母细胞样的细胞,以后确定这种母细胞就是来自血中的小淋巴细胞。肾形豆提取液中的有效成分是一种酯蛋白,具有凝集血球的功能,称之为植物血球凝集素(PHA)。以后发现从其它豆类也能得到类似的刺激因子,例如刀豆素A(Con A),美洲商陆促分裂素(PWM)等,通称为鸟促分裂素(mitogen)。除此类非特异性的激活剂外,还有一些具有抗原性

质的细菌产物如脂多糖、结核菌素,纯化蛋白衍生物(PPD)等也能刺激致敏了的个体的淋巴细胞发生活化。

上述转化现象是淋巴细胞免疫功能的一种表现。先天性胸腺萎缩的病人或是用切除胸腺等方法造成动物缺乏T细胞,这种情况下的血淋巴细胞对PHA不起反应,而对PWM仍有反应,但比较好。说明PHA引起的转化现象主要是T细胞的功能,而PWM对T、B细胞都有作用。Con A也是针对T细胞的刺激因子。

淋巴细胞在向母细胞转化的过程中发生一系列的生化、生理变化<sup>[2]</sup>。首先是促分裂素与细胞表面的酯受体相结合,此时细胞通透性及转运系统发生变化,对钾离子、核苷酸、氨基酸、糖及脂质前体等的通透性增加,数小时内进行组蛋白乙酰化、核蛋白磷酸化,继而进行RNA和蛋白质的合成。此时细胞形态也有相应的变化,如胞体增大,胞浆嗜碱,空泡增加,核及线粒体的结构也发生变化等等。到48小时左右,细胞进行DNA合成,形态上也具备了典型的母细胞的特征。最后进入有丝分裂。活化过程中一系列生化与时间进程的关系参见表1。

表1 淋巴细胞活化过程中的主要生化变化<sup>[3]</sup>

项 目	发 生 时 间	特 点
K <sup>+</sup> 流入增加	2~3分	速度及量均增加,为有丝分裂所必需
Ca <sup>++</sup> 摄取增加	30分~1小时	有丝分裂所必需
cAMP增加	5~10分	cAMP很快蓄积然后分解
cGMP增加	20分以内	可增加10倍,30分回至正常
磷脂酰肌醇中磷酸盐掺入增加	3~30分	主要是更新增强
葡萄糖摄取增加	1~3分	两个方向的流速都增加
富精氨酸的组蛋白乙酰化	15~30分	可能是RNA合成活力增加的信号
RNA合成增加	15~30分	20小时后各种RNA增加4倍
来自溶酶体的水解酶重新分配	2~3小时	$\beta$ -葡萄糖苷酸酶和酸性磷酸酶成为可溶性
乳酸丙酮酸增加, ATP、ADP减少, ATP、ADP、葡萄糖1,6-二磷酸和2,3-磷酸甘油酸增加	2小时	无氧糖酵解增加,继之以有氧酵解
氨基酸摄取增强	30分后	经赖Na <sup>+</sup> 转运系统进入的氨基酸摄取增强
RNA聚合酶1、DNA聚合酶等多种酶活力增强	24~72小时达最高水平	可能与DNA、RNA合有关
蛋白质中氨基酸掺入增强	2~3小时	
DNA合成	24~36小时	伴有组蛋白磷酸化的增强