

淋巴细胞膜受体的辐射效应

中国医学科学院放射医学研究所官宜彬综述 陆如山审阅

一、前言

辐射对机体免疫力的抑制效应除了由于大量的淋巴细胞被杀伤之外,活存下来的淋巴细胞其功能损伤也是重要因素之一。但是辐射引起淋巴细胞功能损伤的机制至今还没有完全阐明。已知免疫系统中淋巴细胞表面的物理状态,在对抗原结构的识别现象中起着主要作用。因此,任何能引起细胞膜改变的因素就可能对免疫反应有决定性的影响。目前对淋巴细胞比较重视的原因,除了它们对电离辐射非常敏感之外,在其它生物学领域中还因为它们正常情况下是一种处于休止期的细胞,若加以刺激之后就能进入 G_1 期,并且立刻呈现出多种容易鉴测的免疫反应功能,有利于观察包括电离辐射在内的某些因素在改变淋巴细胞膜结构之后,淋巴细胞对刺激原的反应以及继后发生的一系列细胞内生化反应等过程的变化,从而可以研究细胞分裂繁殖的机理。

二、辐射抑制膜受体功能的例证

(1)对淋巴细胞膜表面免疫球蛋白分子“帽状”反应的影响

淋巴细胞膜结构与其它哺乳类细胞一样,符合Singer等1972年所提出的“流体镶嵌”模型,即认为生物膜是由脂质和蛋白质两种主要成分所组成,在正常生理温度条件下,脂质呈有序排列的液晶态,其中插入了一些 α 螺旋结构的球状蛋白,这些蛋白大多是与细胞生存及功能表现密切相关的酶或受体。B淋巴细胞膜上还有许多免疫球蛋白(SmIg)。当抗B淋巴细胞

表面SmIg的抗体与细胞表面相互作用时,在适当条件下能够启动B细胞进入转化,成为浆母细胞,并进行分裂、分化成浆细胞,合成并分泌抗体。若用免疫荧光抗体方法或用免疫铁蛋白标记及过氧化物酶标记法的电子显微镜技术进行研究,可以观察到B淋巴细胞被激活时SmIg的再分布,蛋白分子聚集在一起形成斑块,然后移动至细胞之一端成帽状,继之发生入胞作用,从而引起一系列的细胞内生化反应,然后分裂增殖。

电离辐射对B细胞“帽状”反应的影响如何?关于这方面的资料很少。意大利学者Facchini等⁽¹⁾报告过他们的实验结果。他们用50~2500拉德各种剂量的 ^{60}Co 对人淋巴细胞进行照射,于照后2小时用免疫荧光法检查形成帽的细胞百分数,结果说明了100拉德以上的剂量照射后都出现抑制效应,其程度与照射剂量大小有关。100拉德抑制了50%,2500拉德者成帽细胞数进一步减少。并且在细胞总数减少及细胞活力降低之前,表明细胞反应功能的“帽状”反应已有改变。作者认为在用较低剂量的 γ 线照射就可部份地阻碍帽形成,这个事实可能与辐射抑制免疫功能的机制有关。 γ 线除了可能阻碍膜免疫球蛋白分子的代谢过程之外,还可能直接影响膜脂的流动性,从而抑制SmIg的移动。

Durum等²用淋巴细胞“帽状”反应能力的测定方法研究了小鼠被照射后仍活存的脾脏淋巴细胞功能是否受损。结果表明600伦以上的剂量严重地损伤了B细胞的反应能力,这种损伤在照射后14天恢复正常。作者认为细胞反应能力降低的机制可能发生于分子水平上,以至SmIg代谢过程受损伤,膜SmIg数目减少

可能使成帽反应能力低下。

McDermott等^[3]研究了⁶⁰钴 γ 辐射对小鼠进行慢性照射后T和B淋巴细胞功能的影响。其结果与前面谈到的Durum等所进行的急性照射结果相似。剂量累积至1900伦后存活的B细胞仅有40%能够成帽,在1000伦照射后5天有70%成帽,但在照射停止后12~14天明显地恢复了。

(2) 对E玫瑰花及EA玫瑰花形成能力的影响

人类T淋巴细胞膜上有对羊红细胞的受体,能与羊红细胞形成E玫瑰花。B淋巴细胞膜上有免疫球蛋白Fc段的受体,能与用抗体致敏了的红细胞(EA)形成玫瑰花。这些受体分子的结合力对辐射也是敏感的。

Facchini等^[1]用50~2500拉德 γ 线照射离体人血淋巴细胞悬液,照射后2小时开始见到E玫瑰花形成率减少,并且在照射后培养24或36小时进一步降低。B细胞的Fc受体结合力则在照射后24小时及36小时才见到与剂量相关的下降。作者认为可能是受体分子的结合过程被破坏之故。另有学者^[4]研究了离体人血中T和B淋巴细胞的辐射敏感性,结果表明在照射500拉德之后,T细胞形成E玫瑰花的能力即受到影响。例如花瓣数少以及形成花环的细胞总数减少。但已经形成的花环对辐射却有抵抗力,说明了E玫瑰花形成的机制对辐射是敏感的。相反,Schmidtke等^[5]却报导了离体人血淋巴细胞用剂量高达10,000拉德的X线(440~10,000拉德)进行照射并不减少它们形成E玫瑰花的能力。他认为T淋巴细胞膜表面的羊红细胞受体对X线是有抗性的。由于实际情况不可能测定健康人整体照射后的变化,所以关于这方面的材料极少。

一般认为E玫瑰花的形成可能是藉助于细胞表面电荷或者是由于这两种互相结合的细胞膜上存在着互补的部位(受体及其配位体)之故,E受体蛋白可能与细胞内的微管相联,应用抑制微管的药物可以影响E玫瑰花的形成。辐射对E玫瑰花的抑制效应可解释为膜上受体蛋

白的代谢过程或微管受影响以及膜电荷在照射后有所改变之故。此外,使细胞内cAMP水平增高的药物能抑制E玫瑰花形成,而增高淋巴细胞内cGMP的药物能促进E玫瑰花反应^[6,7]。Grieco等^[7]强调T细胞的早期E花环形成是受环状核苷酸所调节的。至于电离辐射对淋巴细胞内环核苷酸水平的影响怎样?它们与E玫瑰花形成的抑制效应有无相关关系?都是值得探讨的问题。

(3) 对T淋巴细胞转化能力的影响

T淋巴细胞无论在体内或体外受刺激之后,均能够发生转化成为母细胞。电离辐射对T细胞转化能力的影响曾用离体血及整体动物进行研究。从文献资料中可以见到血液离体照射后对淋巴细胞转化率的影响结果差异较大。但除了少数资料表明辐射无明显影响外,大多数结果都说明转化率受到抑制,且有随剂量增加而抑制更明显的关系,可是所得出的辐射敏感性差别仍较大。以使淋巴细胞转化率抑制一半的剂量作比较的话,最低照射剂量是50~100拉德,最高的是1000拉德以上。其主要原因可能是各实验室的方法及条件不一致之故。

Moore^[8]曾将健康人全血以¹³⁷铯放射源进行照射,然后加入一定量的PHA一起培养72小时,再用形态学方法观察转化率。结果,经3600拉德照射后,其转化百分数从未被照射的73.2%降至3.5%。还有些作者报告了人和猪的淋巴细胞在100~1000拉德离体照射后用PHA^[9,10]和Con-A^[11]处理后形成母细胞的能力降低10~95%。Hedges^[12]报告了人血在体外照射的结果。所用剂量为0.15戈瑞~15.0戈瑞X线及中子。结果也说明了辐射能抑制淋巴细胞的转化能力。

整体照射大多是用动物进行的。Karano-vic^[13]曾用大白鼠进行实验,于照后即刻从心脏取血作体外培养,其结果说明了母细胞转化率随照射剂量(100伦~800伦)的增高而减少。

淋巴细胞在整体或离体情况下照射后的影响是否一致?McFee^[14]曾用猪做实验,用100伦~400伦整体照射后的效应与离体照射的结

果是一致的。

三、辐射对淋巴细胞膜受体影响的可能机制

从上述例证中可以看出, 电离辐射对淋巴细胞膜受体功能的影响, 资料虽然不完全一致, 但其抑制效应似乎是肯定的。辐射抑制膜受体功能的机制是什么? 至今还没有肯定的结论。下面仅以PHA刺激T淋巴细胞转化为例, 讨论射线可能在转化过程中那一环起作用。

在没有接触外部刺激物时, 淋巴细胞是处于休止期而保存有转化能力的细胞。他们不能呈现任何可被测出的免疫反应功能, 但是一旦有外界的抗原或有丝分裂原与淋巴细胞表面相结合时, 仅抗原或有丝分裂原单独与质膜起反应就足以激活它。淋巴细胞活化的机制在目前仍是细胞免疫中所争议的主要问题之一。曾有作者叙述过当有丝分裂原植物凝集素(例如PHA等)与淋巴细胞膜表面的糖蛋白受体相结合后非常早期即发生浆膜的改变; 膜磷脂加速周转^(15, 16), 不饱和脂肪酸含量增加, 膜流动性加大⁽¹⁷⁾, 从而影响了各种膜活力⁽¹⁸⁾(例如 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的活化就与膜的流动性有关)。四价的植物凝集素(PHA)与膜受体蛋白结合后使受体发生交联, 受体聚集引起膜结构的改变, 可能打开一条钙离子通道^(19, 20)使 Ca^{++} 流入增多, 从而激发了膜内的鸟苷酸环化酶, 导致GTP转化为cGMP, 其后由cGMP通过未知反应, 作用于膜内的腺苷酸环化酶, 使ATP转变为cAMP, 使其水平发生一过性的中度增高, 由此激活了细胞内的代谢活性, 合成所需要的蛋白。当细胞进入S期后而至G₂期及M期的整个过程中cAMP水平皆降低, 而cGMP仍保持高水平。所以cAMP在低浓度时有助于淋巴细胞的转化增殖, 过高浓度时可能会造成ATP贫乏, 以致关闭了选择性代谢过程从而抑制了淋巴细胞转化。

电离辐射可能影响的环节: 第一, 对受体数量及结合力的影响如何? 实验证明, 这种糖蛋白受体的蛋白部份是在粗面内质网中合成的, 它是一种活性代谢过程, 而糖基化的过程

则是在高尔基复合体中完成的, 然后转移到质膜及其它内膜中去。高尔基复合体受辐射损伤后可能刺激糖基化过程⁽²¹⁾。Köteles⁽²²⁾用人类纤维母细胞所做的实验表明90~900拉德X线照射后1~2小时内细胞膜结合植物凝集素Con-A的数量增加。这些都间接地说明了在外界因素影响之后有更多的结合位点可被利用。需要进一步了解在异常环境因素作用下这些结合位点的状态及反应能力与正常情况的有何不同, 因为照射后所观察到的淋巴细胞转化能力低下, 显然与这种现象是不符合的。可能受照射之后这种植物凝集素受体的状态有了改变, 从而影响着淋巴细胞对有丝分裂原植物凝集素刺激作用的反应能力, 但是这种受体状态的改变又是什么? 也是值得探讨的问题。

第二, 射线对膜组分的射解作用。电离辐射可直接作用于受体蛋白等生物大分子, 也可通过自由基的作用而间接影响膜蛋白、脂质和糖类。在射线作用下, 蛋白质所含的大量SH基可被氧化而损害其结构, 从而影响它的正常功能。糖蛋白的糖基被射解也是膜受体损伤的另一重要原因。在Harris⁽²³⁾认为蛋白的SH基和非蛋白的SH基在分离的制备物中虽然容易被氧化, 但在完整细胞中则很稳定。脂质是生物膜的另一主要成分, 无论离体或整体照射均能引起脂质过氧化作用。过氧化物的蓄积是辐射损伤细胞生物的原因之一, 但有学者认为膜脂质过氧化比膜蛋白SH基的氧化需要更高的剂量^(24, 25)。并且照射后加入天然发生的抗氧化剂可以防止过氧化作用, 而且事实上在组织中通常含有强有力的抗氧化剂。Konings等²⁶认为肝脏的代谢活力足以排除脂质过氧化产物丙二醛酸。因此在整体情况下, 脂质过氧化作用不可能是重要的。

第三, 膜超分子结构的改变。关于辐照后生物膜超分子结构与膜蛋白功能状况直接联系起来进行观察的研究资料很少。Konings等^{27, 28}以浆膜酶碱性磷酸酶和核膜酶NAD糖水解酶的活化来阐明辐射对膜功能的影响。作者认为照后酶活性的增加是由于辐射可解除

脂质对酶蛋白分子的正常生理性约束,从而使活性增加。说明了酶活性是受其周围微环境(脂质)所调节的。当淋巴细胞与植物凝集素结合后膜流动性增加,说明了受体蛋白构形的改变影响着膜脂质的流动性。但辐射对淋巴细胞膜上的功能性蛋白及脂质的超分子结构的影响怎样?我们还没有查到这方面的资料。考虑到淋巴细胞膜成分与其它细胞膜是一致的,因此引用日本京都大学辐射生物研究室最近几篇关于射线对羊红细胞膜超分子结构影响的研究报告,以推论辐射对淋巴细胞膜结构的可能作用。

1978年Yonei等^[29,30]用荧光探针DPH(1,6-二苯基-1,3,5-己三烯)来阐明X线对膜微粘度的可能影响。其结果表明了DPH荧光偏振度随剂量增加而下降(表示微粘度降低或流动性增加),甚至剂量低于500伦的照射也会增加膜的流动性。由于膜的流动性与各种细胞功能密切相关,所以作者认为可以考虑膜损伤在辐射所引起的整个细胞损伤中具有重要的地位。已知膜蛋白也控制着膜脂质的动态特性,因此蛋白构形的改变可能减弱与脂质的相互作用,从而增加了脂质的流动性。同样地,脂质的过氧化也可能影响稳定膜结构的力。为了检查射线引起荧光偏振度改变的原发作用部位到底是脂质还是膜蛋白,作者又将从红细胞膜分离得来的膜脂质制成人工脂质体,而用X线照射,结果表明在剂量高达400伦时,仅可测出DPH荧光偏振度的少量改变,说明了膜结构一系列改变的重要原发部位是蛋白质而不是脂质。1979年^[31]他们又用内部荧光法进一步研究膜蛋白构形的改变。膜内部荧光是来自芳香氨基酸残基,特别是酪氨酸和色氨酸,膜蛋白的色氨酸残基是埋在一种非极性环境中。已知色氨酸荧光对周围环境的极性是敏感的,低于其周围环境的极性时荧光增加。研究结果表明随着X线剂量的增加,荧光降低。他们又进一步检查了荧光降低并非因为荧光载体的破坏或荧光量子产额减少所致。所以作者认为是由于膜蛋白构形改变,色氨酸残基从非极性区域

转移至更加极性的区域以致它的荧光熄灭之故。他们的结论认为射线影响膜超分子结构的原发部位是膜蛋白。这和以前所认为的SH氧化的观点是符合的。由于蛋白与其周围环境中的脂质关系密切,从而引起脂质流动性的改变。如果这种情况也发生于淋巴细胞膜的话,那么虽然有丝分裂原受体位点增加或结合力增强,但因受体蛋白构形不正常或脂质流动性异常,以致不能呈现免疫反应功能。在生理反应时,淋巴细胞受体结合有丝分裂原之后15~30分钟,膜流动性达到最大,然后下降,在60分钟时已恢复至刺激前水平^[17]。这种暂时性的流动增加有利于信息的传递。可以想象到,如果持续性的增加膜流动性,将会扰乱细胞的正常生理调节,这种病理性的改变对淋巴细胞膜功能是不利的,正如淋巴细胞癌变时膜流动性比正常的高几倍,这只能有助于细胞的恶性增殖一样。当然辐射对细胞免疫反应功能的抑制机制不可能是单一环节的,除了膜超分子结构的改变之外,细胞内环状核苷酸的代谢也是重要的一环。但关于辐射对细胞内环核苷酸代谢的影响,看法还很不一致,有的学者报告照射后cAMP增加,有的则相反,这可能由于所用的动物、组织、测定时间等的不同所致。至于辐射对淋巴细胞内环核苷酸水平影响的资料则没有见到。总之,目前还不能取得明确的结论。我们认为这方面的研究工作对阐明辐射损伤的机制是很有意义的。

四、结 语

(1) 关于电离辐射对生物膜结构及功能的影响是目前放射生物学家所极其重视的研究课题。从目前一些研究资料中可以说明除了DNA之外,细胞的膜系统可能是辐射损伤的另一个重要靶子。

(2) 辐射对免疫功能的抑制机制仍未彻底阐明。对淋巴细胞膜受体功能影响的剂量-效应关系所报导的结果不甚一致。人体整体受照射的资料更是欠缺。因此收集并积累有关辐射引起膜结构及功能改变的基本资料,并且进一步

深入探讨量方面及质方面的变化规律是很有必要的。

(3) 辐射对淋巴细胞膜损伤的研究资料可能有助于解释放射损伤的机制,从而有利于指导药物防治的研究以及辐射防护的实际工作。

(4) 其它细胞内膜系统也可用这种原理进行研究。

参 考 文 献

1. Facchini A, et al: Radiat Res 68:339, 1976.
2. Durum S R, Gengozian N: Int J Radiat Biol 34:1, 1978.
3. McDermott CE: Int J Radiat Biol 37:115, 1980.
4. Birkeland SA: Int Arch Allergy Appl Immun 57:425, 1978.
5. Schmidtke JR, et al: Transplantation 22: 635, 1976.
6. Galant SP, et al: J Immunol 114: 512, 1975.
7. Grieco MH, et al: J Allergy Clin Immunol 58: 149, 1976.
8. Moore J L: Brit J Radiol 47: 297, 1974.
9. McCullough J: Lancet 2: 1333, 1969.
10. Edgren J, et al: Acta Radiol 15:177, 1976.
11. Vaughan-Smith S: Int J Radiat Biol 25: 73, 1974.
12. Hedges MJ: Int J Radiat Bio 33: 291, 1978.
13. Karanovic D: Strahlentherapie 153: 501, 1977.
14. McFee A F: Radiat Res 52: 301, 1972.
15. Fisher D B, et al: BBA 248: 434, 1971.
16. Resch K, et al: Eur J Immunol 2: 598, 1972.
17. Barnett R E, et al: Nature 249: 465, 1974.
18. Grishan C M, et al: Biochemistry 12:2635, 1973.
19. Prujunsky A, et al: BBA 508: 137, 1978.
20. Nathan Sharon: in "structure and function of biomembrane" P.63, Yagi K ed. Toky, Japan Scientific Societies, 1979.
21. Tomara kubasova, et al: Int J Radiat Biol 29: 533, 1976.
22. Koteles G J: Nature (London) 259: 507, 1976.
23. Harris J W: Exp Cell Res 50: 293, 1968.
24. Sutherland R W, Pihl A: Radiat Res 34: 300, 1968.
25. Wills E D, Wilkinson A E: Radiat Res 31: 732, 1967.
26. Konings A W T, et al: Radiat Res 81, 200, 1980.
27. Konings A W T: Brit J Cancer 32: 755, 1975.
28. Konings A W T: Int J Radiat Biol 28, 589, 1975.
29. Yonei S, et al: Radiat Res 75: 31, 1978.
30. Yonei S, et al: Radiat Biol 80: 484, 1979.
31. Yonei S, et al: Int J Radiat Biol 35: 161, 1979.

国际辐射防护协会 (IRPA)

国际辐射防护协会 (International Radiation Protection Association—IRPA) 是一个非盈利性的国际组织。它的主要目的是从事辐射防护工作和致力于保护人类及其环境免受电离辐射危害的同道们进行国际交往及合作提供一个场所,从而促进辐射和原子能为人民的利益服务。

1977年,在巴黎举行的第四届国际大会上修改了协会章程。将其目的扩大到包括电离辐射防护及非电离辐射防护两个方面。

截至1979年初,加入IRPA的学会组织有美国和加拿大保健物理学会、日本保健物理协会、英国放射防护协会、印度辐射防护协会以及阿根廷、澳大利亚、奥地利、比利时、捷

克、东德、丹麦、芬兰、冰岛、挪威、瑞典、西德、法国、匈牙利、以色列、卢森堡、墨西哥、荷兰、菲律宾、波兰、南朝鲜、南非、苏联和南斯拉夫等辐射防护学会组织,共有会员9000多人。

IRPA成立以来,先后共召开过5次国际大会和6次地区性会议,此外还与其它组织合办4次国际和地区会议。这5次国际大会是:1966年9月5日~10日在意大利罗马召开的第一届国际辐射防护协会大会,第二届至第五届国际辐射防护协会大会分别于1970年5月3日~8日(英国布赖顿)、1973年9月(美国华盛顿)、1977年4月24日~30日(法国巴黎)和1980年3月9日~14日(耶路撒冷)召开。