

- 1984.
10. Adams GE et al; Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1653, 1984.
11. Workman P et al; Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1307, 1984.
12. Stratford IJ et al; Br J Cancer 52:434, 1985.
13. Silver ARJ et al; Br J Cancer 52:443, 1985.
14. Hei Tom K et al; Int J Radiat Oncol Biol Phys 11:1653, 1985.
15. Stratford IJ et al; Radiat Res 88:502, 1981.
16. Stratford IJ et al; Cancer Clin Trials 3:231, 1980.
17. Smithen CE et al; In Radiation sensitizers; Their use in the clinical management of cancer, Brady LW (Ed) NY Masson Publishing 22, 1980.
18. Sally AH et al; Int J Radiat Biol 44:143, 1983.
19. Denekamp J et al; Br J Cancer 45:247, 1982.
20. Willions MV et al; Br J Cancer 46:127, 1982.
21. Stratford MRL et al; Int J Radiat Oncol Biol Phys 8:469, 1982.
22. Watts ME et al; Int J Radiat Biol 47:645, 1985.
23. Gray Laboratory Annual Report 1983.
24. Dische S et al; Int J Radiat Oncol Biol Phys 8:335, 1982.
25. Saunders MI et al; Br J Cancer 46:706, 1982.
26. Chaplin DJ et al; Int J Radiat Biol 44:387, 1983.
27. Hodgkiss RJ et al; Int J Radiat Biol 43:179, 1983.
28. Bump EA et al; Science NY 217:544, 1982.
29. Kimler B et al; Radiat Res 71:204, 1977.
30. Biaglow JE et al; Radiat Res 91:381, 1982.
31. Clark EP et al; Radiat Res 98:370, 1984.
32. Biaglow JE et al; Int J Radiat Biol 44:489, 1983.
33. Chibber R et al; Int J Radiat Biol 48:513, 1985.
34. MRC Report; Br J Radiol 57:491, 1984.

大面积大剂量照射后的生物效应

上海市放射医学研究所 叶明 综述 张鸿寿 麦智广* 审校

随着放射生物学研究的不断进展和临床放射治疗经验的不断积累,大面积大剂量照射作为临床上进行器官移植预处理、肿瘤及自身免疫性疾病治疗的一个有效手段已日益引起了人们的重视。它所产生的生物效应也成了人们所关心的课题。

一、对细胞动力学的影响

研究表明, 3~6 Gy的全身照射可杀死大部分造血干细胞,但对增殖和成熟池内成熟的细胞杀死极少。同时细胞分化程度越高,其

辐射敏感性越低^[29]。以小鼠的脾脏及骨髓内集落形成细胞(CFU-S)为观察指标,发现9 Gy照射后,其脾脏内CFU-S的再生按倍增时间约为28小时的指数规律。至第10天左右其CFU-S数值可超过正常值。而此时在股骨内的CFU-S的再生速度初期较快,或许接近于脾脏内CFU-S的再生速度。但在第八、九天后开始减慢,直至40天以后才接近正常水平^[1]。表明在一定的剂量范围内,不同的造血器官其造血细胞的动力学变化各不相同。事实上,大面积大剂量照射所产生的生物效应不仅在不同

*上海第二军医大学369教研室

的造血器官产生不同的效应,即使是同一器官,由于年龄的变化也会产生不同的效应。对处于肿瘤缓解期患者的外周血淋巴细胞的存活动力学进行观察发现,除了各类细胞的有效 D_0 值各不相同外,各年龄组的有效 D_0 值也有差别^[2]。对造血细胞的再生调节机制目前还不很清楚,Cronkite等对此进行了研究。他们首先给小鼠输血以造成其多血症,而对照组则不给予这一处理。然后均给予8 Gy的全身照射加骨髓移植处理。随之通过观察小鼠的脾脏及骨髓组织的 ^{125}I -UdR的摄取率以测定其造血细胞的增殖情况。发现经照射后,其 ^{125}I -UdR摄取率在早期有一较快的上升相,以后便出现一个缓慢的上升相。接着又观察到造血细胞在实验组的增殖速度较对照组慢。进一步研究证实,这一现象与小鼠体内的促红细胞生成素水平有关。即在对照组由于照射引起贫血而使体内的促红细胞生成素的水平提高,后者则进一步刺激了造血细胞的增殖。同时,作者认为在脾脏及骨髓内存在着多种调节红细胞再生的反馈机制,并且由于二者微环境的不同而使脾脏起初以红系造血为主而骨髓则先进行粒系造血^[8]。在对肿瘤细胞的动力学研究方面,Cao等^[4]用流式细胞仪(Flow Cytometry)研究了不同剂量的全身照射对BP 8小鼠腹水肉瘤细胞周期中各期的影响。结果显示,处于迅速生长期的肿瘤细胞经照射后细胞数开始有一个缓慢的上升,当达到峰值后,总细胞数的下降速度显示与照射剂量有关。而此时 G_2 期细胞数值则表现为相对稳定。进一步将照射剂量固定在5 Gy时的研究表明,在照射20~25小时后受到不可逆损伤的细胞从5%上升至约20%。其中大部分细胞处于 G_1 期。但在部分时间内处于S期的细胞数高于 G_1 期^[5]。

二、对免疫系统的影响

1. 对免疫细胞数的影响:经全身照射后的外周血中,首先表现为淋巴细胞的急骤减少^[30]。其中B细胞较T细胞更为敏感,修复也更快^[31]。根据剂量-存活关系的指数曲线,

2 Gy范围内90%处于循环系统的淋巴细胞受到致死性的损伤并在数小时内死亡^[6]。对经全淋巴照射的小鼠免疫系统研究表明,照射结束后外周血中直接表现为明显的淋巴细胞减少。三周内恢复正常。但仍然存在淋巴细胞系相对减少,粒系相对增多的现象,至三个月后才出现平衡。B细胞的回升大约从第二周开始。T细胞则要从第二个月开始。一年后再次检测表明,T细胞减少和B细胞增多^[32]。同样的情况在用大剂量全淋巴照射治疗何杰金氏病患者中也可观察到^[7]。进一步对T细胞各亚群的分析中发现,在全淋巴照射的早期,外周血中的淋巴细胞下降至对照组的20~25%。照射结束后,T细胞毒亚群和T抑制细胞亚群的细胞数回升至照射前水平。而T辅助细胞亚群和T诱导细胞亚群的细胞数仅回升至对照组的42%,并且上述现象可长期存在^[8]。相似的现象在经全淋巴照射的狒狒及类风湿性关节炎病人中也可观察到^[9、10]。

在对其他免疫细胞的研究中发现,经全身照射后,小鼠腹腔中淋巴细胞急骤减少,巨噬细胞的平均数有所上升^[11]。而肺泡中的吞噬细胞在照射后的第21天,具有吞噬功能的细胞数(吞噬一个微球以上的吞噬细胞数)增加了75%。至第35天降至与对照组相近的水平^[12]。其他多形核粒细胞经6 Gy全身照射后其外周血的细胞浓度在淋巴细胞数下降的同时也降至 $150/\mu\text{l}$ 且至少持续7天^[13]。

2. 对免疫功能的影响:大面积照射,随着剂量的不同对机体的免疫功能将产生不同的效应。兔子在接受4 Gy的全身照射后仍有能力对白喉毒素产生迟发性变态反应。但当加大剂量至8 Gy时则其变态反应被抑制^[14]。进一步对经全身照射后小鼠的迟发性变态反应恢复的研究中发现,这一恢复机制与来源于骨髓中的单核/巨噬细胞数的增加有关^[15]。

在对机体的细胞免疫研究发现,何杰金氏病患者经大剂量全淋巴照射后,在1~10年内其淋巴细胞对PHA、Con-A等促有丝分裂素及破伤风毒素等异种蛋白抗原表现为无反应。

同时,在照射后2年内对同种淋巴细胞的增殖反应几乎完全消失(以混合淋巴细胞反应为指标),在以后的3至7年中逐渐恢复[7]。相似的结果在BALB/C(H_2^d)实验小鼠中也可观察到[10、17]。表明全淋巴照射具有很强的免疫抑制能力。并且这种免疫抑制能力的机制很可能与机体内的T抑制细胞数有关。实验发现,外周血T淋巴细胞的数量随着照射剂量的增加(0~8 Gy)而呈指数性下降,但至8~10 Gy的照射量时,其细胞数维持在一定的水平并不随剂量的增加而减少。这类细胞的含量至少占整个脾脏T细胞总数的8%[33]。其中也包括T抑制细胞亚群。进一步研究发现这类细胞为一类大而幼稚的细胞亚群,其细胞膜表面无表现型(phenotype)[18]。与新生小鼠脾脏中及成年鼠骨髓中发现的一类细胞相似[19]。此外,从功能上来分,T抑制细胞亚群可分为非特异性和特异性T抑制细胞两大类。前者在全淋巴照射后即可出现;后者可通过体外混合淋巴细胞反应的方法检测到。将这类细胞从静脉注入另一受到亚致死剂量照射的小鼠体内时,可造成后者持续的特异性耐受[6]。为了排除联合化疗时化疗药物对T抑制细胞的影响,Barzilay等经实验证实,环磷酰胺在抗原特异性和抗原非特异性系统中并不增加T抑制细胞的数量[20]。从而说明T抑制细胞的含量不受药物的影响。除了T抑制细胞外,全淋巴照射的免疫抑制功能还可能与T细胞亚群中T辅助细胞及T细胞毒细胞亚群的功能下降有关。临床证明,患者经全淋巴照射后,上述细胞亚群对同种淋巴细胞、促有丝分裂素及其他一些蛋白抗原的增殖反应降低[21]。

由于大面积照射,体液免疫在一定的程度上也受到影响。在对小鼠的体液免疫研究时发现,全淋巴照射后的第1个月内抗体形成完全受到抑制。从第2个月开始IgM首先出现。在第7个月后IgM开始形成,至第9个月后达到正常水平[32]。在有关人的这方面研究中,有学者报道类风湿性关节炎病人经全淋巴照射后,其免疫球蛋白(包括IgG和IgM)的含量

降低了5~10倍[22]。为进一步研究体液免疫与T细胞之间的关系,Tanay等[23]分别用二种抗原,T细胞依赖抗原:二硝基苯基-钥孔蠔血蓝素(DNP-KLHC)和非T细胞依赖抗原:三硝基苯基-布氏杆菌多糖(TNP-BA)在全淋巴照射后的第3天或第30天进行免疫。结果照射后3天进行免疫的小鼠体内对上述二种抗原所产生的抗体反应均降低。但在照射后30天进行免疫的小鼠体内对DNP-KLHC的抗体反应仍然低下,对TNP-BA的抗体反应却较对照组高5~10倍。对此作者无法作出明确的解释。但有一点是肯定的:经全淋巴照射后,机体对上述二类抗原的反应是不同的。临床上经全淋巴照射后高带状疱疹感染率及低细菌感染率也说明了这一问题。除此之外,大面积照射对体内已产生的抗体水平不产生影响。例如经全淋巴照射治疗的类风湿性关节炎病人血清中异常抗体的活性特征及正常的体液免疫复合物并未受到抑制[24]。

对鼠的肺泡吞噬细胞的研究表明,在全淋巴照射后的第1天吞噬活力出现短暂的下降,到第14天后开始缓慢上升,在第21天达到峰值。同时吞噬指数上升至250%,并以每个吞噬细胞吞噬5个以上微球的细胞百分比增加为特征[12]。

不同的分次照射及时间间隔对机体的免疫功能也将产生不同的影响。Bendel等[25]观察了不同的分次照射对小鼠免疫功能的影响。他将小鼠分为3组。各组每周的照射次数分别为 1×7.0 Gy、 2×3.5 Gy及 7×1 Gy。然后以抗体的免疫抑制情况及细胞毒试验为参数,比较各组的照射效果。结果表明,每周分次照射为2次的实验组的照射效果最佳。在分次的时间间隔方面,有实验表明当时间间隔少于3.5个小时时,对机体的免疫抑制能力反而差[26]。

三、对代谢功能的影响

含锌原卟啉(ZPP)的血浓度升高过去一直是作为铅中毒及体内铁缺失的一个指标。经Walden等[27]研究发现,在全身亚致死剂量

照射下,小鼠体内ZPP的血浓度较正常值高2~3倍。ZPP血浓度上升一般在照射后12~14天才出现。在18~20天达到峰值。到28~35天降至正常水平。增加照射剂量,ZPP血浓度上升的起始时间延迟。当增加到致死剂量时,ZPP血浓度上升的现象消失。作者认为,ZPP血浓度的上升与机体的造血系统从放射损伤中恢复有关。在研究肿瘤细胞的能量代谢方面,Skong等对接种有腹水肉瘤细胞的小鼠进行5 Gy的全身照射,然后再以 ^{31}P -NMR-光谱仪测定肿瘤细胞的ATP、ADP及无机磷的含量。结果表明,照射后20~24小时ATP含量降低50%以上,至48小时后恢复正常。在照射后24~48小时,ADP含量是正常水平的一半。与此同时,无机磷的含量相应地有所上升。同时发现,ATP及ADP含量的下降主要与处于晚S期及 $G_2 + M$ 期的细胞有关。即处于上述周期的细胞其能量代谢的水平是低下的。作者认为这一点也许就是照射后细胞的S期及 $G_2 + M$ 期时相延长的原因^[28]。

四、小 结

对大面积大剂量照射后生物效应的研究目前主要在细胞动力学、免疫学及机体代谢情况变化等三方面进行。对造血细胞的生长动力学研究表明在一定的剂量范围内,不同的造血器官其造血细胞的增殖速度是不相同的,并且这一增殖速度还与机体内的促红细胞生成素的水平有关。对肿瘤细胞的细胞周期方面的研究结果表明,肿瘤细胞的杀伤率与照射剂量有关,并且主要是处于 G_1 、S及M的细胞与之有关。在对免疫功能的研究方面表明,经大面积大剂量照射尤其是经全淋巴照射后,机体可表现为长期的免疫无反应。同时这一现象与机体内的具有辐射抵抗的T抑制细胞数的增多及辐射敏感的T辅助细胞数减少有关。此外,还发现经全身照射后小鼠的肺巨噬细胞的吞噬功能增强。代谢研究表明,经全身照射后机体内含原卟啉的血浓度将升高。对肿瘤细胞的能量代谢研究表明,经全身照射后肿瘤细胞的能量代谢水

平降低,并且这一现象主要与处于S及 $G_2 + M$ 期的细胞的能量代谢降低有关。

参 考 文 献

1. Lajtha LG: IAEA Vienna P151, 1971.
2. Shank B et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 9: 1613, 1983.
3. Cronkite EP et al: Leu Res 8: 449, 1984.
4. Cao S et al: Acta Radiat Oncol 21: 225, 1982.
5. Skong S et al: In Irradiation effects in ascites tumours as related to cell cycle. Relationship between cell cycle kinetics and cell death, morphology, energy metabolism and macromolecular synthesis. Edited by S. Skong. Karolinska Institutet. Stockholm. P 87, 1985.
6. Fuks Z et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 7: 79, 1981.
7. Fuks Z et al: J Clin Invest 58: 803, 1986.
8. Haas GS et al: J Immunol 132: 1026, 1984.
9. Myburgh JA et al: J Immunol 132: 1019, 1984.
10. Kotzin BL et al: Clin Immunol Immunopathol 27: 250, 1983.
11. Tokita N et al: INIS Atomindex 15 (15): 5403, 1984.
12. Sablonniere B et al: Int J Radiat Biol 44: 575, 1983.
13. Bogman MJT et al: J Immunol Methods 70: 31, 1984.
14. Jonathan WU et al: J Exp Med 112: 65, 1960.
15. Venkatarman S et al: Radiat Res 98: 438, 1984.
16. Slavin S et al: Science 193: 1252, 1976.
17. Slavin S et al: J Exp Med 146: 34, 1977.
18. Weigensberg M et al: J Immunol 132: 971, 1984.
19. Oseroff A et al: J Immunol 132: 101, 1984.
20. Barzilay M et al: Transplantation 35: 412, 1983.
21. Field EH et al: J Immunol 132: 1031, 1984.
22. Kotzin BL et al: J Immunol 132: 1049, 1984.
23. Tanay A et al: J Immunol 132: 979, 1984.

24. Trentham DE et al; N Engl J Med 305: 976, 1981.
25. Bendel V et al; Strahlentherapie 160: 330, 1984.
26. Waer M et al; Int J Radiat Oncol Biol Phys 8: 1915, 1982.
27. Walden TL et al; Blood 63: 1159, 1984.
28. Skong S et al; In Irradiation effects in ascites tumours as related to cell cycle Relationships between cell cycle kinetics and cell death, morphology, energy metabolism and mac-

- romolecular synthesis. Edited by S. Skong. Karolinska Institutet Stockholm. P 3, 1985.
29. 特皮亚那M等; 国外军事医学资料(放射医学)增刊1: 3, 1983.
30. 刘作斌; 中华血液学杂志 4: 251, 1983.
31. 杨文礼; 国外医学《放射医学分册》4: 225, 1980.
32. 任志珍; 国外医学《放射医学分册》6: 158, 1982.
33. 范洪学; 国外医学《放射医学分册》6: 162, 1982.

尿中 ^{239}Pu 、 ^3H 、 ^{90}Sr 和 ^{137}Cs 的测定方法

浙江医学研究院 陆龙根综述 王功鹏* 章仲候**审

人们对积蓄在体内的长寿命放射性核素 ^{239}Pu 、 ^3H 、 ^{90}Sr 和 ^{137}Cs 的危害十分关注,往往用生物监测结果来推算体内放射性核素的负荷量,进而作出放射卫生评价。已知体内放射性核素负荷量与尿排泄率之间存在着定量关系,尿中放射性核素的分析准确易行。本文就尿中 ^{239}Pu 、 ^3H 、 ^{90}Sr 和 ^{137}Cs 的分析方法作一介绍。

一、尿中铀的测定

^{239}Pu 是极毒性亲骨核素。Campbell等〔1〕报道了130名正常人尿 ^{239}Pu 的浓度为 $0.010 \pm 0.008 \text{ dpm}$ 。这要求 ^{239}Pu 的分析方法灵敏度比环境样品中 ^{239}Pu 分析高得多。

在收集24小时尿样后,首先采用 HNO_3 或 $\text{NH}_4\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}_2$ 或 $\text{HNO}_3\text{-KMnO}_4$ 酸化尿样,使有机结合态的Pu从络合物中释放出来形成无机离子水溶液,然后浓集、纯化、制备样品进行测量。

(一)尿铀的浓集

从大体积尿样中浓集Pu有直接蒸发——干式灰化、湿式灰化和共沉淀等方法。其中,共沉淀法可避免耗酸量大、腐蚀性强、时间长等

缺点。磷酸铀共沉淀物浓集 ^{239}Pu 在国内外应用较多,但操作上要求严格。由于正常人尿中含有足量的Ca和Mg等碱土金属离子,在酸化的尿样中只需加入适量的磷酸,在一定pH下形成大量较易溶解在少量酸中的沉淀物,这样操作简便〔1〕。氟化物浓集的是四价Pu, Holgye〔2〕、Blatz〔3〕分别采用盐酸羟胺、亚硝酸将 Pu^{+6} 还原成 Pu^{+4} ,加入 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 和HF,在搅拌下生成沉淀。不经预处理或直接向尿样中加入玖棕酸钾盐,用乙醇、 NH_4OH 调节,可定量地回收Pu,或直接向尿样中加入NaOH,调节pH生成碱土金属共沉淀物。这二种直接沉淀法选择性差。Holgye〔2〕采用不同沉淀物多次沉淀完成了72小时尿样的浓集。美国洛斯阿拉莫斯实验室推荐了用草酸钙共沉淀Pu的方法〔4〕。

(二)尿铀的分离纯化

吸附、阴离子交换、溶剂萃取和萃取色层分离Pu是目前常用的方法。

1. 吸附: Eakins等〔5〕利用铜系元素在玻璃表面上具有很强的吸附能力,建立了玻璃纤维滤纸吸附分离的方法。由于影响吸附的因

* 中国军事医学科学院放射医学研究所

** 苏州医学院放射医学系