

25 Khanson KP et al. Vestn Akad Med Nauk SSSR, 1990; (2):34-39

26 Edidus LK et al. Radiat Res, 1990; 123 (1):17-21

27 Anderson RE. et al. Am J Pathol, 1979; 97(3):456-472

28 Golub ES, Immunology: A Synthesis, Sunderland MA: Sinauer Associates, Inc. 1987

29 Crabtree Gr. Science, 1989; 243(4889):355-361

30 Mukinodan T et al. Arch Pathol Lab Med, 1987; 111(10):910-914

31 Prosser JS et al. Int J Radiat Biol, 1990; 58(2):293-301

辐射对天然杀伤细胞及其活性的影响

军事医学科学院放射医学研究所 王宜强综述 王珏 刘树铮*审

摘要:天然杀伤细胞是机体非特异性细胞免疫的一个重要组成部分,在辐射免疫学中占一定地位。NK活性对辐射的敏感性和受照后的变化动力学都具有很强的异质性,但NK活性对辐射具有相对耐受性的观点,已被公认。辐射对NK活性的作用主要是影响NK细胞的杀伤能力,而对其数量、存活力等影响较小。本文还综述了遗传、射线种类、照射方式、IL-2等影响NK活性辐射敏感性的因素,以及NK细胞与辐射致癌的关系。

七十年代初,人们在研究细胞介导的细胞毒作用时,发现来自正常人或动物淋巴细胞可以杀伤肿瘤细胞,并把这种不需抗原刺激、不依赖于抗体和补体存在、不受主要组织相容性抗原限制的细胞毒作用称为天然杀伤(NK)活性,介导NK活性的细胞称为NK细胞^[1-3]。这是一组在来源、形态、功能、调节等方面都有很强异质性的细胞群。现在普遍认为NK细胞来源于骨髓干细胞,为非T、非B性,属大颗粒淋巴细胞(LGL),具有抗肿瘤、抗病毒、介导骨髓移植排斥等作用,参与多种生理过程的调节,同时也受多种因子的调控。NK细胞杀伤溶解靶细胞要经过效靶细胞结合、NK细胞活化、毒素因子(如NK细胞毒因子NKCF,胞溶素CL等)释放及与靶细胞结合、靶细胞裂解等过程。

一、NK细胞的辐射敏感性

细胞受射线作用后发生形态、结构、功

能的变化,表现为破坏、死伤、功能抑制或丧失。淋巴细胞是辐射敏感的细胞之一,而NK细胞较T、B细胞则不敏感。据报道人外周血淋巴细胞(PBLC)受 γ 射线照射后,T、B各亚群存活曲线的 D_0 值为0.5~5.5Gy,而其对肿瘤细胞的NK活性的效应-剂量曲线的 D_0 值为7.5~8.5Gy^[4],有些资料^[5]显示后者还要大(>15Gy)(本文中除特殊说明者外,人PBLC或人外周血单个核细胞(PBMC)照射均在体外)。刘树铮^[6]报道小鼠受X射线全身照射(TBI)24小时后,胸腺和脾脏各种指标的 D_{37} 中,脾脏NK活性的 D_{37} 值(16.4Gy)大于T、B各亚群数量或功能的 D_{37} 值(0.65~11.15Gy)。NK细胞对辐射的反应各家报道很不一致,反映了NK细胞辐射反应性的强异质性。有报道10Gy γ 射线照射对人PBLC的NK活性和克隆形成抑制活性(CIA)影响不大^[7],甚至有些人的NK活性对30Gy仍抗拒,但大多数报道认为4~5Gy的X射线或 γ 射线即可引起

*白求恩医科大学

人PBLC或动物脾脏NK活性下降〔7,8〕,30Gy足可以使大多数动物的NK活性严重受损〔8〕或完全丧失〔10〕。

自七十年代末期提出低剂量电离辐射可增强机体免疫系统或免疫细胞体外功能,大量研究已使“辐射刺激作用”这一概念为人们所接受。有证据表明NK活性同样存在这一现象,且产生刺激作用的剂量范围变化很大。范晓慧〔9〕报道0.025~0.5Gy X射线照射,使小鼠脾脏细胞的NK活性增强。Keever等〔7〕报道5Gy的 γ 射线照射可增强人PBLC的NK活性,但对LGL的NK活性无影响。Rana〔11〕报道人PBLC受2~6Gy γ 射线照射后3小时,总的细胞毒活性增强,48小时后NK细胞的作用较对照高出70%,而Dean〔4〕,Brovall〔12〕报道 γ 射线对人PBLC的NK活性有刺激作用的剂量范围分别是<10Gy和5~20Gy。日本原爆幸存者中,Bloom〔13〕报道估计当初受照剂量在0.50Gy以下者,35年后其自然细胞介导的细胞毒作用明显高于受照剂量为0.00Gy者,受照时年龄(ATB)在此影响不大;而周藕良〔8〕报道两种剂量0.01Gy~1Gy和>1Gy对NK活性的增强作用仅发生在ATB>25岁者,而对ATB<14岁者主要表现为抑制作用。

二、受照动物NK活性的动力学变化

射线作用于机体或体外系统后,NK作用的变化大都表现出时相性,随动物品种不同、照射剂量与方式的不同,其变化无一定规律。Uchida等〔8〕报道人NK细胞受X射线照射5~15Gy后,NK活性在1小时有一短暂上升,之后下降,至24小时完全消失。Frydecka〔5〕报道用Ra对子宫瘤患者进行局部照射50~60Gy后,NK活性明显下降,1周后可恢复正常且无长期抑制。Waer〔16〕报道人全淋巴照射(TLI)20~30Gy(分次1Gy/天),照射期间NK活性即下降,

照后较早回升,第二个月时基本恢复正常。Weiss等〔17〕报道X射线分次TLI(2Gy/天,共8天)照射小鼠结束后第一天,脾NK活性低于正常,然后上升,照后6天则高于对照23~190倍,第十五天回落正常。Hochman〔18〕报道7Gy γ 射线单次照射(C57BL/6 \times C3H/He)F₁小鼠后12天,脾脏NK活性不变,然后猛降并保持低水平至第24天,28天时开始回升,41~59天时接近正常,并因此认为NK成熟细胞具有相对辐射抗性且在不断更新,寿命约两周,其祖细胞对辐射敏感。而Parkinson等〔19〕报道7Gy γ 射线分成1.75Gy/次·周,连续4周TBI C57BL/6小鼠却引起脾脏NK活性较为持久的抑制,照后12周时尚未出现恢复的迹象。

NK活性受照后的变化还与所用的靶细胞有关,如乳腺癌患者45Gy局部照射后,其PBLC对K562细胞的NK活性于放疗结束后明显下降,3~4个月后恢复正常,而对Chang细胞的NK活性起初仅轻微下降,3~4个月时尚有一“超常”,之后再回落到正常〔20〕。

三、NK活性的辐射效应机理

NK活性的辐射效应指NK细胞本身质和量的变化及机体或测定系统NK活性的变化。20Gy γ 射线照射人外周血单个核细胞(PBMC)后电镜观察NK细胞形态的变化,主要发生在胞核、胞浆,包括核疏松、核固缩、核碎裂及胞浆颗粒变化,而胞膜变化很小〔11〕。Brovall〔12〕报道30Gy照射后,NK细胞中摄入台盼蓝的细胞所占比例并未增加;Dean〔4〕则用⁵¹Cr释放法证实100Gy照后6小时内,最多有2%~3%的NK细胞因胞膜损伤而发生同位素外溢。与此对应,功能试验表明小鼠分次照射后,虽NK活性下降但与靶细胞结合的细胞数并未改变;Zarcone〔10〕报道30Gy照后,虽NK细胞与靶细胞结合的能力保留下来,却不能释放胞浆

内颗粒,故不能溶解靶细胞。用单个细胞测定方法证实受UVB照射的NK细胞存活力,与靶细胞结合力均未改变,但对靶细胞的杀伤力和NK细胞重复杀伤能力下降,故认为UVB抑制NK活性是通过直接对NK细胞造成非致死性的损伤,并选择性地作用于与靶细胞结合后的阶段^[21]。Parkinson^[19]将分次或单次照射的小鼠脾细胞与正常小鼠脾细胞以不同比例混合,只观察到对后者的“稀释效应”,而未见对其NK活性的抑制,故认为受照鼠NK活性降低是由于具有NK活性的细胞本身的削减而非被其他细胞抑制;Gorelik^[22]将受照鼠脾细胞与干扰素(IFN)共育后,大大提高其NK活性,并因此认为辐射可能导致NK活性调节机制的改变而非NK细胞本身。

在生化方面,射线引起的DNA断裂激活了在其修复中起关键作用的ADPRP(二磷酸核糖腺苷多聚酶),而ADPRP的抑制剂3AB(3-氨基苯甲酰胺)可完全消除30Gy γ 射线对NK活性的抑制;同时,比较 γ 射线和烷化剂链脲佐菌素(SZ)对不同人群的NK细胞的抑制作用,发现NK细胞对 γ 射线和SZ的敏感性相关,即DNA链易被化学物质破坏(因而激活ADPRP)的NK细胞也对 γ 射线敏感;Schacter^[23]认为ADPRP的激活和其水平在UV,X射线, γ 射线照射对人NK活性的抑制中起重要作用,并可能决定着NK活性对 γ 射线辐射敏感性的多样性;相反,DNA断裂本身对NK活性并无损害,因为3AB的另一作用便是使照射引起的DNA损伤加重并抑制其修复。

已知射线产生损伤的方式之一是通过产生活性氧基团(ROS)作用于生物大分子。有人证实照射时超氧化物歧化酶(SOD)的存在可减轻UVB/PUVA对PBLC的NK活性的抑制,但在照前洗去SOD,则不改变NK活性受抑程度,说明在NK细胞辐射损伤机理中,氧自由基占重要地位,且主要在NK

细胞的外环境中起作用。

至于辐射对NK活性刺激作用的机理主要有三种解释:①在PBLC及脾细胞中存在着对辐射很敏感而对NK活性有抑制作用的细胞(Ts细胞?),在较低剂量照射下即先受到损伤^[7],从而解除了对NK活性的抑制;②神经-内分泌网络调节下的Th细胞的活化及IL-2(白细胞介素-2)分泌增加,可能在整个增强效应中起关键作用^[24];③辐射敏感细胞的死亡导致NK细胞所占比例增加。加范晓慧^[9]证明0.5Gy TBI后,脾细胞数量变化远比NK活性变化明显,但75mGyTBI后,NK活性增加19%,脾细胞计数仍为对照的93%,故NK活性增强是否由于NK细胞在总的细胞中所占比例增加,也有待研究。Onsurd^[25]证明骨盆局部照射40Gy的病人3~5年后,单个NK细胞活性增强,但全血NK活性并无差异。Rana^[11]也报道在较低剂量照射人PBLC后48小时,残存的NK细胞的杀伤效率可高出对照3~4倍,但由于NK细胞总数减少,PBLC的NK活性仍呈降低趋势。由此可见是NK细胞的数量和杀伤效率共同决定了NK活性的水平。

四、影响NK细胞辐射反应性的因素

(1) 遗传 正常人群PBMC受30Gy γ 射线照射后,有的NK活性完全丧失,有的降低50%,有的完全保留。Brovall^[12]通过对几个家系的分析,得出NK活性的辐射敏感性受伴性遗传的共显性基因控制,且遵循孟德尔遗传规律,约97%的X染色体带有辐射抗性基因,所以几乎没有女性的NK活性可以耐受30Gy γ 射线,而对辐射仅部分敏感的人中没有男性。

(2) 射线种类及照射方式 不同射线对NK细胞有不同程度的生物学效应。紫外线(UV)照射可使人PBMC的NK活性呈剂量依赖性下降,有人认为其中波长较长的

波段UVA起主要作用^[26]但也有人认为波长较短的UVB起作用^[21]，而UVA单独并不能引起NK活性抑制。

Herberman^[27]曾报道大鼠脾细胞体外照射10Gy后3天，仍保留着50%的活性，而全身照射9Gy后NK活性即完全消除，验证了NK活性整体照射比离体照射时更敏感。有人^[28]模拟了临床三种放疗方案（单次10Gy，分次1.65Gy×2次/日×4日，分次10Gy+5~7天后5Gy）对正常人PBLC的NK活性的抑制，前二者程度相近（80%），后者最强（93%），其中可能有方式不同造成的影响；也有人报道^[5]剂量相同时，较低的剂量率照射对NK活性影响较小。

放射性核素内照射时，受其体内分布及代谢影响。⁹⁰Sr等亲骨性核素可引起动物NK活性的完全缺乏^[29]，³HOH照射与体外同等剂量的γ射线照射相比，对NK活性的危害更大^[30]。

NK细胞来源于骨髓干细胞，在各部位或器官内分布不均匀，且NK细胞本身又存在异质性，所以也有充分理由推论照射部位不同（如局部、全身或全淋巴）会对NK活性有不同的影响，但尚未见系统报道。

（3）IL-2等其他因素与IL-2共育后可明显提高人PBLC，LGL的抗辐射能力，如使人PBLC受30Gy照射后，对K-562细胞的杀伤活性由对照的24.8%提高至83.1%^[7]。UVB/PUVA照后，PBMC的NK活性可被IL-2明显增强。LGL受照后，立即与IFN共育可保持NK活性不降低^[8]，甚至高于非照射细胞。可能存在一些对辐射更不敏感的有潜在NK活性的细胞，与刺激剂共育表现出NK作用。病毒感染后三天，肝脏、腹腔处聚集的LGL辐射敏感性增加，可能与效应细胞分化、增殖加快有关^[31]。还有报道环磷酸胺和人绒毛膜促性腺激素，可提高人PBLC中NK细胞的辐射敏感性^[5]

五、NK细胞及辐射致癌

辐射致癌机理包括射线所致染色体畸变、细胞癌变和癌细胞逃避免疫监视在体内的生长等。NK活性的降低可能在免疫功能失调中占重要地位。Warner^[32]报道1.6~2.0Gy多次照射，可强烈抑制动物的NK活性，使C57BL/6小鼠照后3~5个月，白血病发生率高达80%甚至更多，而末次照后输入克隆化的NK细胞的小鼠成瘤率小于10%。Gorelik^[22]等报道1.79Gy/次·周×4周TBI照射C57BL/6小鼠可使93%的动物发生T淋巴瘤，这些小鼠脾细胞的体外NK活性、体内肺对接种瘤细胞的清除率均有较持久的降低（至少照射结束后7周仍可检出）。Lotzova报道骨髓移植可以重建这类小鼠的NK活性，并因此阻止白血病的发生。

也有人^[33]认为很难把辐射致白血病的发生归结于NK活性的下降，因为1×1.5Gy，1×4.5Gy与4×1.75Gy三种照射方式引起的NK活性抑制并无明显差别，前二者却不诱发白血病的。

六、结 语

综上所述，NK细胞对辐射较不敏感，其辐射反应受动物种类、照射方式、剂量、剂量率等众多因素影响。研究NK细胞及NK活性在受照动物体内的变化，既可帮助我们揭示免疫系统的奥妙和放射生物学规律，也有较高的临床意义。如Gray^[34]报道接受肾移植的病人术前用9Gy分次TLI或常规法抑制其免疫功能，术后TLI组恶性肿瘤和感染等并发症的发生率均较非TLI组低，因为该组的NK活性保持下来甚至有所增强，而非TLI组的NK活性有较为持久的抑制。又如B细胞的辐射敏感性较T细胞稍高，且有报道T细胞性白血病细胞比B细胞性白血病细胞，对PBLC的细胞毒作用更敏感，所

以可以推测B细胞性白血病的发生率应比T细胞性者高。可实际上辐射所致白血病或淋巴瘤,几乎全是T细胞性的,这是否由于辐射致白血病与RadLV病毒有关,而胸腺中又不存在具有较强的抗病毒作用的NK细胞?齐子荣^[17]认为NK细胞可明显增强动物的抗辐射能力,可能是通过保护胸腺的免疫功能,但详细机理有待研究。放疗作为肿瘤治疗的一个重要方法,反过来又对在抗御肿瘤中起重要作用的NK细胞有何影响?这些都是需要进一步研究的问题。

参 考 文 献

- 1 Takasugi M et al. *Cancer Res*, 1973; 33 (11):2893-2902
- 2 Kiessling R et al. *Eur J Immunol*, 1975; 5 (1):112-121
- 3 Petranyi GG et al. *Immunogenetics*, 1975; 2 (1):53-61
- 4 Dean DM et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1978; 4 (7):633-641
- 5 宁国伯等. *上海免疫学杂志*, 1986; 6 (1):22-24
- 6 刘树铮. *中华放射医学与防护杂志*, 1989; 9 (5):313-319
- 7 Keever CA et al. *Cell Immunol*, 1983; 113 (1):143-157
- 8 Uchida A et al. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 1989; 11 (2-3):507-519
- 9 范晓慧等. *白求恩医科大学学报*, 1989; 15 (6):551-553
- 10 Zarcone D et al. *Blood*, 1989; 73 (6):1615-1621
- 11 Rana R et al. *Radiat Res*, 1990; 124(1):96-102
- 12 Brovall C et al. *J Immunol*, 1981; 126 (6):2236-2239
- 13 Bloom ET et al. *Int J Radiat Biol*, 1983; 44 (2):213-218
- 14 周藕良等. *中华放射医学与防护杂志*, 1991; 11 (1):20-23
- 15 Frydecka I et al. *Folia Haematol (Leipz)*, 1986; 113 (4):499-505
- 16 Waer M et al. *J Immunol*, 1984; 132 (2):1041-1048
- 17 Weiss L et al. *Cell Immunol*, 1982; 70 (1):188-195
- 18 Hochman PS et al. *JNCI*, 1978; 61 (1):265-268
- 19 Parkinson DR et al. *J Immunol*, 1981; 126 (4):1460-1464
- 20 Blomgren H et al. *Acta Radiol Oncol*, 1980; 19 (2):139-143
- 21 Elmets CA et al. *Cell Immunol*, 1987; 104 (1):47-58
- 22 Gorelik E et al. *JNCI*, 1982; 69 (1):89-93
- 23 Schaecter B et al. *Human Immunol*, 1985; 14 (1):49-58
- 24 Liu SZ. *Chin Med J*, 1989; 102 (10):750-755
- 25 Onsurd M et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1981; 7 (5):609-614
- 26 Hersey P et al. *J Invest Dermatol*, 1988; 90 (3):305-310
- 27 Herberman RB et al. *Adv Cancer Res*, 1978; 27:343-344
- 28 Malilay GP et al. *Transplantation*, 1990; 50 (3):406-410
- 29 Gidlund M et al. *Scand J Immunol*, 1990; 31 (5):575-582
- 30 Kirillova EN. *Radiobiologija*, 1990; 30 (2):175-178
- 31 McIntyre KW et al. *J Leukoc Biol*, 1988; 43 (6):492-501
- 32 Warner JF et al. *Nature*, 1982; 300 (4):31-34
- 33 Seidel HJ et al. *Leukemia Res*, 1986; 10 (7):803-808
- 34 Gray CM et al. *Transplant Proc*, 1989; 21 (1):1800-1801
- 35 齐子荣等. *中华放射医学与防护杂志*, 1989; 9 (1):23