

- 16 Werts ED et al. Radiat Res, 1980; 81:20
 17 Xu CX et al. Radiat Res, 1983;96:82
 18 Nikkls PGJ. Radiat Res, 1987;109: 330
 19 Суворова ЛА и др. Пробл Тематол Крови, 1981;26: 30
 20 于洪臣 刘 及. 白求恩医科大学学报, 1982;8 (Suppl):207
 21 陈家佩等. 中国实验血液学杂志,1993; 1:25
 22 Колесникова А и др. Радиобиология, 1992;32:720
 23 Конопников АГ и др. Радиоцион Бол Дизкол, 1993;33:244
 24 Quesenberry PJ. Exp Hematol, 1993;21:711
 25 Minguell JJ et al. Exp Hematol, 1993; 21:55
 26 Wang H et al. Exp Hematol,1993;21: 675
 27 Cassel A et al. Exp Hematol, 1993; 21:585

淋巴细胞及细胞因子对造血系统辐射敏感性的调节作用

第四军医大学防原医学教研室 王波涛综述 王克为 张绍章 张卿西审校^①

摘 要:在文献基础上分析了作为免疫调节系统组分的细胞及细胞因子对骨髓造血干细胞的影响,淋巴细胞对早期造血干细胞有刺激和抑制作用,并影响其辐射敏感性。同时,详细描述了照射条件下,几种重要的细胞因子对造血干细胞的影响,分析其辐射防护作用机理。论证了辐射对造血系统的损伤与损伤免疫调节机能有关。

哺乳动物机体接受电离辐射作用最严重的后果是造血系统损伤,继而发生出血、贫血、感染等一系列综合症候群。该研究有助于认识放射病的发病机制,从而进一步寻找有效的预防、治疗放射病的方法。

多能造血干细胞是造血系统最原始成分,它决定着辐射作用后机体造血恢复情况。利用 Till 和 McCulloch 创建的脾结节实验方法,研究脾集落形成单位(CFU-S)可获得这类细胞的所有放射生物学特性。形成脾集落的脾集落形成细胞(CFC-S)组成不均一,它由具有不同增殖潜力的造血干细胞组成。一部分脾集落形成细胞(CFC-S)移植后 7~8 天形成集落(CFU-S-8),这种细胞分化程度高,增殖潜力低;另一部分则分化程度低,有很高的增殖潜力,移植后生长 11~12 天在脾脏形成集落(CFU-S-12),CFU-S-12 能生成子代 CFC-S 以保障红系、髓系及淋巴系的再生恢复^[1]。

CFC-S 辐射敏感性极高: D_0 值为 1Gy,外推数 n 为 1.5~1.0。对于 CFC-S-8 及 CFC-S-12,

其值差别不大,但与 CFC-S-8 相比,CFC-S-12 亚致死剂量辐射损伤后恢复能力显著降低^[2]。

造血微环境在保障和维持多能干细胞生存、增殖,分化中发挥重要作用。这时造血干细胞增殖与分化是通过该细胞与构成造血器官基质的所有细胞和细胞外因子的相互作用来实现^[3],因而调节是短暂的。作为造血干细胞调节细胞的 T 淋巴细胞是微环境重要组分。现已证实,造血机能的调控不仅依靠细胞间相互作用,而且还依赖于分泌的淋巴因子作用。

1 T 淋巴细胞对集落形成的调节作用

1.1 辅助性 T 淋巴细胞对 CFU-S 的调节作用

T 淋巴细胞参与造血过程的本质与机理方面的研究,在 60 年代末期开始引起人们的极大关注。Lipori (1975 年)指出,先天胸腺缺陷及切除胸腺的小鼠受照后恢复能力有缺陷。在免疫系统对异源干细胞增殖与分化影响方面做了大量工作。已经证实,相对于其它系统而言,造

^① 北京放射医学研究所

血干细胞的分化是胸腺依赖过程。Groizat(1970年)用抗原刺激可以诱导 CFU-S 的 DNA 合成这一事实,证明了胸腺与造血干细胞之间存在某种联系。已获知,照后的骨髓如果与胸腺细胞一起注入机体,可以刺激该骨髓形成集落^[4]。Golub(1972年)报道了通常用于抗胸腺细胞的兔抗鼠脑血清(RAMBS)与造血干细胞有交叉反应,表现为用 RAMBS 处理后骨髓集落形成活性显著下降。Поверенный 的实验结果指出, RAMBS 引起的集落形成抑制作用,可以通过补充输注来自同一供体的胸腺细胞而完全消除。此时形成集落的数量由正常对照的 15%~20%恢复至 80%,恢复的程度依赖于输注胸腺细胞的数量。骨髓细胞:胸腺细胞在 1:150~200 这一比例关系时,恢复程度最大^[5]。RAMBS 引起集落形成抑制,而进一步运用胸腺细胞则恢复的现象在 CFU-S-8 和 CFU-S-12 上都可见到,提示 RAMBS 处理骨髓细胞悬液,不是去除 CFU-S,而是去除了形成集落所必需的辅助细胞。显然,在胸腺中含有能与骨髓辅助特性相似的细胞,但数量很少。脾集落是 CFC-S 与其它辅助细胞共同合作的结果^[6]。Ярилин 进一步详细研究,利用沉降速率及标记基因的方法综合分离骨髓细胞证明,CFC-S 与前体 T 淋巴细胞合作才形成脾集落。前体 T 淋巴细胞存在于骨髓与胸腺,但其与 CFC-S 相互作用是在骨髓中实现^[7-8]。

为了进一步确证脾集落形成过程中辅助作用机制,Семиш 用 RAMBS 从骨髓细胞中去除辅助作用,未改变红系、粒系的集落形成细胞的分化程度,稍增大了未分化集落的含量。导致致死剂量照后的受体接受上述处理后的骨髓后,造血器官再生速度显著变慢。输注胸腺细胞加速 CFC-S 的增殖,时间延长一倍则集落正常,接近对照水平。作者认为,骨髓中观察到这类辅助细胞(前体 T 淋巴细胞)的存在与 CFC-S 一样,对致死剂量照后鼠脾集落形成是必需的,而且它不影响集落形成细胞分化趋向,其功能是保障造血干细胞正常的增殖速度^[9]。所有这些令人信服地证明了 T 淋巴细胞参与调控造

血机能。

1.2 抑制性 T 淋巴细胞对 CFC-S 增殖的调控作用

造血干细胞的增殖与分化的调控可能是通过细胞反应和分子反应这一环节实现的。按许多作者的观点,可能是抑制因素与刺激因素竞争性相互作用。因此,既然在胸腺细胞中存在着造血干细胞的刺激因子,那么也应期望存在着抑制因子。为了验证这一假设,选用了 ConA(伴刀豆球蛋白)和 PHA(植物血凝素)特异地作用于 T 细胞,诱导产生体液免疫和细胞免疫抑制因子的试剂^[10]。众所周知,ConA 刺激淋巴细胞成为抑制性淋巴细胞^[11]。

用 ConA 或 PHA 处理骨髓细胞悬液导致 50%的集落生长抑制,这种抑制作用可通过输注完整的胸腺细胞而消除。为达这一结果,骨髓细胞与胸腺细胞最适比例为 1:25~100。在研究脾集落形态时发现,骨髓细胞与 ConA 一起孵育导致形成未分化集落数量扩大。补充输注胸腺细胞时,该指标降至正常水平,但并未影响集落各组织型之间的比例。可见,这些 ConA 并未消耗调控 CFC-S 分化的 T 淋巴细胞,最可能的原因是丝裂原的作用导致 CFC-S 的增殖状态改变。应强调指出,性成熟鼠胸腺切除后可消除 ConA 的作用,证明 ConA 对集落形成的影响是由于存活期短,不循环的 T 淋巴细胞亚群(诱导亚群)介入的结果。用 ConA 和 PHA 处理骨髓后,脾集落生长抑制并非由于沉积于脾的 CFC-S 数量减少。因为骨髓细胞培养时间加倍并经 ConA 处理后移植给致死剂量照后的受体鼠形成脾集落与对照无区别。ConA 对集落形成的抑制作用在 8~9 天表现明显,接近 12 天时实际上作用消失。据此推测,T 淋巴细胞丝裂原 ConA 在脾集落形成过程中的作用机理,最可能是诱导亚群中抑制性 T 细胞参与作用^[12]。

近几年来出现的证据说明,淋巴样活化因子与抑制因子影响造血干细胞的增殖。利用相同位点特异标记抗原 I-j 的抗血清去除骨髓中抑制性 T 淋巴细胞,导致脾集落形成细胞的活性异常活化,从而观察到正常骨中抑制性 T 淋

巴细胞的负调节作用^[13]。表明在造血细胞调节中包含有抑制 T 淋巴细胞发挥限制增殖强度这样一种生物学功能。

2 T 淋巴细胞调节作用对 CFC-S 的辐射敏感性影响

从前面的资料看出,脾集落的形成是细胞间相互作用的结果。因此,造血干细胞对各种损伤因素(其中包括辐射)作用的反应情况,并非仅因 CFC-S 改变所致,也是 CFC-S 与调节因素间平衡关系破坏或调节因素损伤的结果。该推断可从下面实验论证:运用 RAMBS 从骨髓中部分去除辅助细胞后,不仅减少了集落形成,而且 CFC-S 的辐射敏感性也改变。用正常兔血清及 RAMBS 处理后骨髓细胞体外接受照射(剂量从 0.04~3.7Gy),反映 CFC-S 辐射敏感性的剂量-效应曲线上出现斜率不同的两部分,说明骨髓中存在辐射敏感性不同的两类 CFC-S 量效曲线上,剂量为 0.04~0.75Gy 的一部分,用正常兔血清处理后,CFC-S 的 D_0 值为 0.93Gy,骨髓细胞与 RAMBS 孵育后 D_0 值为 0.33Gy。第二部分 CFC-S 很明显有辐射抗性,其 D_0 值为 1.94~1.54Gy,两处理组 D_0 值无统计学差异。将胸腺细胞加入用 RAMBS 处理后的骨髓中,则上述量效曲线“变直”,相应的 D_0 值为 1.84,远远高于未加胸腺细胞时的 D_0 值(0.33Gy)。可见,从骨髓中去除集落形成辅助细胞导致辐射敏感性上升,补充胸腺细胞后此参数恢复正常^[14]。

胸腺 T 淋巴细胞影响 CFC-S 辐射敏感性的机制尚未完全阐明,但一些学者已发现 T 淋巴细胞参与 CFC-S 辐射损伤的修复过程。Gerber 利用脾集落形成方法来估计细胞的辐射敏感性,发现加 IL(白细胞介素)-2 后细胞的辐射敏感性降低,生存曲线由双曲线变为指数曲线^[15],与上述加入胸腺细胞情况相似,因而推测胸腺细胞可能是通过 IL-2 影响 CFC-S 的辐射敏感性。

3 淋巴因子与 CFC-S 对辐射的反应

分泌调节蛋白(细胞因子)(其中包括诱导

T 淋巴细胞产生的淋巴因子)的发现、提纯、功能鉴别以及进一步重组蛋白分子的获得,推动了造血细胞分化与生长调节方面的研究。许多细胞因子通过对机体细胞生长、增殖、分化的调控,在机体防御外界有害刺激、维持自身稳定上发挥重要作用^[16]。最初,淋巴因子被看作是作用于少数类型淋巴细胞的免疫调节系统成分,近年来已确证,该因子的靶细胞种类很多,其中包括干细胞、祖细胞等。

造血中,淋巴因子和细胞因子第一个功能是维持造血干细胞的增殖与存活,此时这一过程在很大程度上表现为似乎是诱导分化。

细胞因子可分为早期作用与晚期作用两类。集落刺激因子家族(M-CSF,G-CSF,GM-CSF)属第二类,它们保障造血祖细胞的存活,进一步增殖,向确定方向不可逆地分化、成熟,刺激成熟细胞使其具有功能活性^[18-19]。IL-3,IL-6 应归于第一类即早期作用的淋巴因子。IL-3 是促进早期多能造血干细胞、祖细胞增殖的重要因子,又称多集落刺激因子,它能维持各种集落,也包括混合集落的生长^[20]。IL-6 在造血中起调节作用,它与 IL-3 协同,促使正常造血干细胞形成集落,并可能是通过缩短 G_0 期来保障造血干细胞的活跃增殖^[21]。IL-1 功能最为广泛,它有多种生物学功能,可综合调节各种生理、病理状态。IL-1 可能是通过诱导其它细胞分泌调节因子(IL-3,IL-6,CSF)来刺激造血干细胞增殖。在体内条件下,IL-1 发挥刺激造血的机制可能就在于此^[22]。

另外一类是抑制造血干细胞增殖的一系列细胞因子。干扰素(IFN)及肿瘤坏死因子(TNF)可能就属于此类。在培养的骨髓中,IFN 调节细胞的增殖与分化^[23],干扰素产生短暂、非毒性的抑制增殖作用,这时细胞滞留于 G_0 - G_1 期^[24]。TNF 对造血干细胞的作用类似 IFN,抑制巨噬细胞系、红系祖细胞的增殖,抑制长期培养的骨髓造血机能^[25]。TNF 与 IFN 联合应用表现出协同抑制增殖作用^[26]。这些调节因子对造血干细胞的影响是直接的,而非间接的。刺激因子与抑制因子同时调节造血细胞的增殖,

达到一种平衡状态。

近年来,陆续报道了一些细胞因子有辐射防护作用,这一现象引起人们对白细胞介素的极大关注。如照前 20 小时注射 IL-1,在骨髓型放射病剂量范围内,动物存活率达 100%^[27]。出现该结果的原因:(1)IL-1 可以增加骨髓中粒系和巨噬细胞系造血祖细胞的比例,并具有动员骨髓造血细胞周期中辐射敏感性较低的晚 S 期细胞的作用^[28];(2)此外,还可能与 IL-1 在体内诱导造血微环境中一些辅助细胞产生和释放 GM-CSF, G-CSF 和 IL-6 等造血因子,使其达到合理水平而以网络系统方式协同调节有关^[22]。Schwartz 认为,IL-1 使微环境产生 CSF,促进细胞的修复与生长^[29]。有些学者认为,IL-1 的辐射保护作用是通过 IL-2 而产生的^[30]。前已述及,加入 IL-2 后,骨髓细胞辐射敏感性降低,所以推测造血组织的恢复与淋巴细胞的恢复及功能有关。

TNF 也具有辐射防护作用,尽管比 IL-1 弱得多^[31]。为了探讨其辐射保护作用机理,有人在分析了 CFC-S-8 及 CFC-S-12 集落生长后指出^[32]:用于提供移植用骨髓细胞的小鼠,处死前给予 TNF,移植后 CFU-S-8 集落形成受抑制,而 CFU-S-12 则扩大近一倍。该供体鼠在接受 TNF 20 小时后接受 5Gy 剂量照射,股骨内有核细胞数及 CFC-S-8 的恢复动力学表明,TNF 对这两个参数有刺激作用。从照后第 3 天起,给予 TNF 组的 CFC-S-8 数量超过对照。Семина 认为,TNF 的保护作用可能是 TNF 刺激了 CFC-S-12,也可能由于活化该骨髓细胞的修复过程,同时 CFC-S-8 修复水平亦高于正常,这样,从照后第三天起,照后动物造血祖细胞及较多的造血干细胞不仅保障了造血组织的恢复,而且保障了淋巴系的恢复。

Neta 采用抗 TNF 抗体及抗 IL-1 抗体证明,内源性 IL-1 和 TNF 有助于自然辐射抗性作用,即使分别给予 IL-1 和 TNF 也可相互作用产生辐射防护效应^[33]。

4 结 语

近 10 年来的研究足以使人相信,造血系统

调控的基本原理与免疫系统类似。淋巴系起源的细胞对早期造血干细胞有活化和抑制功能,淋巴因子对这些细胞也有影响。在辐射作用下,造血系统调节被破坏,T 淋巴细胞及淋巴因子可矫正这种失衡。另外,淋巴系起源的细胞是造血调节系统重要组分,而且有较高的辐射敏感性,因此辐射引起骨髓造血损伤可能与辐射损伤淋巴系统有密切关系。深入广泛地研究淋巴系统及造血系统相互关系能加速认清造血调节机制,全面认识血液病病因,有效地应用骨髓移植术,在进一步寻找特异且高效的生物活性物质以刺激联合应用化疗放疗后肿瘤病人的造血机能,降低放疗后髓系毒性作用方面都有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Magli MC et al. Nature, 1982; 295 (5849): 527-529
- 2 Ган ОИ и др Биол Мед 1989;1: 89-95
- 3 吴祖泽. 造血干细胞移植基础,北京:人民卫生出版社. 1988
- 4 Lord BJ et al. Blood, 1973; 42: 395-404
- 5 Поверенный АМ и др. Радиобиология, 1988; 28(4): 545-547
- 6 Porerenny AM et al. Эксп Нематол, 1980; 8(10): 1216-1221
- 7 Ярилин АА и др. Иммунология, 1985; 6: 49-52
- 8 Мирошниценко ИВ и др. Иммунология, 1988; 4: 27-30
- 9 Семина ОВ и др. Биол Мед 1987; 4: 444-446
- 10 Podesta M et al. Эксп Нематол, 1982; 10: 256-261
- 11 Harada M et al. Эксп Нематол, 1985; 13: 963-967
- 12 Семина ОВ и др. Цитология. 1986; 28(10): 1107-1111
- 13 Санин АВ и др. Иммунология, 1986; 5: 11-14
- 14 Поверенный АМ и др. Радиобиология, 1984; 24 (1) 39-43
- 15 Gerber M et al. Radiat Res, 1989; 120(1): 164-176
- 16 Green AR et al. Lancet, 1989; 2(8642): 705-707
- 17 Огана М и др. Гематол Трансфузиол 1990; 2: 24-30
- 18 Willams GT et al. Nature, 1990; 343 (6253): 76-79

- | | |
|---|---|
| 19 Metcalf D et al. Nature, 1989; 339 (6219):27-30 | 110 |
| 20 Metcalf D et al. Lancet, 1989; 1 (8642): 825 | 28 Neta R et al. J Immunol, 1989; 139 (6): 1863-1866 |
| 21 Hirano T et al. Immunol Today, 1990; 11(12): 443-449 | 29 Schward GN et al. Radiat Res, 1989; 119(1):101-112 |
| 22 Neta R et al. Lymphokine Res, 1988; 7(4):403-412 | 30 Manori I et al. Clin Exp Immunol, 1986; 63(3): 526-532 |
| 23 Verma DS et al. Exp Hematol. 1981; 9(1):63-76 | 31 Neta R et al. Blood, 1988; 72:1093-1095 |
| 24 Ross G et al. Cancer Res. 1984; 44:2358-2362 | 32 Семин ОВ и др. Радиобиология, 1991; (1):92-9433 |
| 25 Eliason JF et al. Blood Cell, 1988; 14:339-354 | 33 Neta R et al. J Exp Med, 1991; 173(5): 1177-1182 |
| 26 Kotnik V et al. Period Biol, 1990; 92(1):18-19 | |
| 27 Neta R et al. Lymphokine Res, 1986; 5(1):s105- | |

钚在人体内的代谢

北京放射医学研究所 阎效珊综述

摘要:钚在人体内的代谢参数是钚内照射剂量估算和辐射防护标准制定依据之一。本文扼要介绍当今国际上对钚在人体内的分布、滞留、排泄规律的认识和最近的文献资料。

钚在人体内的代谢规律一直是辐射防护界力图阐明的问题,一是因为动物实验早已证明核燃料 ^{239}Pu 内照射具有很强的致癌作用^[1],限制钚的摄入量和内照射剂量是核燃料工业辐射防护的重要任务;二是因为核素在人体内的代谢参数是该核素摄入量推算、内照射剂量估算和某些辐射防护标准制定的重要依据。

国际放射防护委员会(ICRP)于1972年和1986年先后发表了两篇专题报告^[2,3],系统地分析总结了以往各国有关钚、钍、镭、铀、镭、钋的生物代谢文献。前一篇基本上是动物实验资料,后一篇补充了大量人体资料(包括对受核试验放射性落下灰污染的公众尸检资料、核工业职工内污染资料和人体试验资料)并着重分析了这些核素在胃肠道的吸收率,在肝和骨中的滞留期、骨质更新对这些核素在骨中微观分布的影响,以及铀系核素与其它放射性核素的代谢关系,对钚及铀系核素经不同途径(呼吸道、消化道、皮肤)进入人(和动物)体内后的分布、滞留、转归和影响因素做了分析和归纳。ICRP第30号报告^[4]和第54号报告^[5]

还列举了钚在人体的排泄规律。这些资料构成当今各国进行人体内钚及铀系核素内污染量监测、内照射剂量估算、年摄入量限值制定的重要依据。ICRP报告在提出钚代谢模式的同时还强调指出:由于在测量体内或排泄物内的钚及将测量结果换算成摄入量的问题上还存在不少困难,钚的代谢数据还有种种不确定性,应当尽一切努力来定量地阐明钚的生物学行为。所以,有必要回顾既有概念并重视不断出现的新文献。

1 ICRP 报告对钚生物代谢规律认识概要

1.1 钚化合物吸入后的代谢情况

基本可按ICRP肺模型理解^[6]。

$^{239}\text{PuO}_2$ (辐射防护中意义最大的钚化合物)属于Y类化合物。微米大小的 $^{239}\text{PuO}_2$ 粒子或 $^{239}\text{PuO}_2$ - $^{238}\text{UO}_2$ 混合物从呼吸道均由2~3个廓清相廓清。吸入后最初几天的廓清机制是机械性转运(气管上皮纤毛运动、粘液上排)和吸收,其廓清速率,在肺功能正常的人,每天约为0.1%;晚期的廓清则靠钚的可溶部分和被肺