

CNIC-00909

SMC-0110

CNIC-00909

中国核科技报告

小剂量辐射对肿瘤病人、正常人淋巴细胞NK活性的影响

EFFECTS OF LOW DOSE IRRADIATION ON
NK ACTIVITY OF NORMAL INDIVIDUALS
AND PATIENTS WITH CANCER

(In Chinese)



原子能出版社

中国核情报中心

China Nuclear Information Centre



田海林;苏州医学院博士研究生,1990年毕业于南京医科大学预防医学系,获硕士学位。

Tian Hailin; Doctoral candidate of Suzhou Medical College, Graduated from Department of Public Health, Nanjing Medical University in 1990 and received MS degree.

CNIC-00909

SMC-0110

小剂量辐射对肿瘤病人、正常人淋巴细胞 NK 活性的影响

田海林 苏燎原

(苏州医学院)

摘 要

观察了经小剂量辐射后淋巴细胞 NK 活性和人红白血病细胞 (K_{562} 细胞) 功能的变化。以 $^3\text{H-TdR}$ 释放法测定 NK 活性, 通过 $^3\text{H-TdR}$ 参入反映小剂量辐射后 K_{562} 细胞的功能改变。对 21 名肿瘤病人和 10 名正常人进行了检测。结果发现, 正常人外周血淋巴细胞经 10 及 50 cGy γ 射线辐射后, NK 活性均有显著升高, 而肿瘤患者仅在 50 cGy 剂量组观察到 NK 活性升高。在同一剂量组, 正常人 NK 活性升高程度大于肿瘤病人。经 10 cGy 的 γ 辐射使 K_{562} 细胞的 $^3\text{H-TdR}$ 参入增加, 超过 50 cGy 时, 刺激效应消失。

EFFECTS OF LOW DOSE IRRADIATION ON NK ACTIVITY OF NORMAL INDIVIDUALS AND PATIENTS WITH CANCER

(In Chinese)

Tian Hailin Su Liaoyuan
(SUZHOU MEDICAL COLLEGE)

ABSTRACT

Effects of low dose irradiation on NK activity of lymphocytes and on K₅₆₂ cells were studied. The NK activity was determined by means of ³H-TdR release assay. While ³H-TdR incorporation was used to reflect functional changes of K₅₆₂ cells after low dose irradiation. 21 patients with cancer and 10 normal individuals were detected. The results indicated that the NK activity of lymphocytes in normal individuals increased significantly after 10 and 50 cGy γ -ray irradiation, while in patients with cancer the NK activity of lymphocytes increased only at the dose of 50 cGy irradiation. The increase of NK activity in normal individuals was higher than that in patients with cancer after same doses of irradiation. when K₅₆₂ cells were irradiated by 10 cGy γ -rays, the ³H-TdR incorporation value increased. After exposed to over 50 cGy the stimulating effect disappeared.

前 言

大剂量辐射的免疫抑制作用已被人们所证实,但近来的研究发现,小剂量辐射不但无害而且可增强机体免疫功能^[1-3]。对受广岛原子弹爆炸影响的人群调查发现,在一定的受照剂量以下,某些免疫指标增强^[4]。高本底地区居民肿瘤死亡率及某些肿瘤发病率反而降低^[5-7]。NK 细胞是细胞免疫的重要组成部分,在肿瘤免疫中起着重要作用,本文研究了小剂量辐射对正常人、肿瘤病人外周血 NK 活性的影响,并同时观察了小剂量辐射对 K₅₆₂细胞的影响,拟从体外试验角度,对小剂量辐射用于肿瘤治疗作初步探索。

1 材料和方法

1.1 检测对象

肿瘤患者 21 例,其中肺癌 6 例,胃癌 8 例,食道癌和恶性淋巴瘤各 3 例,鼻咽癌 1 例。正常人 10 名,均为健康献血员。

1.2 照射条件

²²⁶Ra γ 射线源(点源)固定于 37℃ 培养箱底部,样品辐射时置于镭源垂直上方的同心圆上,剂量率 1.30 cGy/h,源距 25 cm。

1.3 NK 活性检测

1.3.1 效应细胞

取抗凝的正常人和肿瘤病人静脉血,用淋巴细胞分离液分离得到外周血单个核细胞,经 1640 培养液洗涤后,按所需浓度配成单个核细胞悬液。

1.3.2 靶细胞

体外培养的 K₅₆₂ 细胞,使用时取对数生长期 K₅₆₂ 细胞 3 ml,加入 ³H-TdR 7.4 × 10⁴ Bq, 37℃ 下放置 6 h。(比放射性活度 7.4 × 10¹⁰ Bq/mmol)。PBS 液洗涤 2 次,用 1640 培养液配成 10⁶ 个/ml 细胞悬液。

1.3.3 NK 活性测定

预先在培养瓶中加入效应细胞,再加入含 10% AB 血清 1640 培养液至 3 ml,置培养箱内辐照。然后加入标记好的靶细胞,效应细胞数与靶细胞数之比为 5~10:1,每批实验每瓶所用的靶细胞数及效应细胞数均一致。同时设单纯靶细胞组及未受照对照组,在 37℃ 下培养 16 h 后每瓶以最终浓度为 0.15% 胰酶和 0.0125% DNA 酶处理 30 min,用常规法收获细胞^[8],用 Beckman 液体闪烁计数器测每分钟放射性计数(cpm),按下式计算 NK 活性:

$$\text{NK 活性 (\%)} = \frac{\text{单纯靶细胞组 cpm} - \text{受照组 cpm}}{\text{单纯靶细胞组 cpm} - \text{未受照组 cpm}} \times 100\%$$

1.4 K₅₆₂ 细胞 ³H-TdR 掺入

取对数生长期 K₅₆₂ 细胞 3 ml,进行计数,用含 10% 小牛血清 1640 培养液配成 10⁶ 个/ml 细胞悬液,每瓶加入 K₅₆₂ 细胞 10⁶ 个,并加 1640 培养液至 3 ml,置 37℃ 培养箱内辐照,同时设对照组。取出后每瓶加 ³H-TdR 3.7 × 10⁴ Bq,继续培养 6 h 后终止培养,然后抽滤在 49 型玻璃纤维滤膜上,烘干后用 Beckman 液体闪烁计数器测量 cpm 值。

1.5 数据处理

数据经 arc sin \sqrt{p} 转换或平方根转换后再作 *t* 检验。

2 实验结果

2.1 小剂量辐射对正常人外周血 NK 活性的刺激作用

人外周血经 5~80 cGy 辐照后, 其 NK 活性普遍略为增强, 经检验, 在 10 及 50 cGy 剂量点上有显著差异, 其中以 50 cGy 辐照后 NK 活性增强幅度最大, 为对照组的 140% (参见表 1)。

Table 1 Changes of NK activity of lymphocytes after low dose irradiation

Dose (cGy)	n	NK activity (%)
0	10	100±0
5	8	108.6±11.7
10	10	120.8±21.0*
30	10	107.6±19.4
50	10	140.0±21.4**
80	10	108.4±17.5
120	8	101.7±5.2

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ (compared with 0 cGy group).

2.2 小剂量辐射对肿瘤病人, 正常人 NK 活性影响的比较

肿瘤病人外周血经小剂量辐射后, 在 50 cGy 剂量点观察到 NK 活性显著增强, 为对照组的 120.5% 其余各剂量点无显著差异 (参见表 2)。正常人在 10, 50 cGy 组 NK 活性均显著升高, 在各剂量点上均可观察到经小剂量辐射后正常人 NK 活性升高程度大于肿瘤病人 NK 活性升高程度的趋势 (参见图 1)。经检验, 在 50 cGy 点, 两组呈显著性差异 ($P < 0.05$)。

Table 2 Effects of low dose irradiation on NK activity of normal individuals and patients with cancer

Group	n	Dose (cGy)				
		0	10	30	50	80
Control	10	100	120.8±21.0 ⁽¹⁾	107.6±19.4	140.0±21.4 ⁽²⁾	108.4±17.5
Patients with cancer	21	100	109.4±22.8	102.8±13.8	120.5±19.8 ⁽³⁾	98.5±10.6

(1) $P < 0.05$; (2) $P < 0.01$ (compared to 0 cGy group); (3) $P < 0.05$ (compared to control).

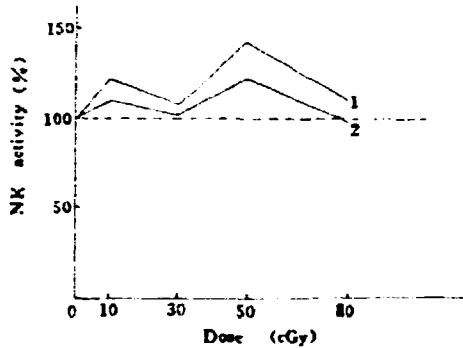


Fig. 1 The difference of effect on NK activity between normal subjects and cancer patients after low dose irradiation

1 ——— normal subjects; 2 ——— cancer patients.

2.3 小剂量辐射对 K_{562} 细胞功能的影响

为了观察小剂量辐射对肿瘤细胞的影响,以 $^3\text{H-TdR}$ 参入法观察了经小剂量辐射后人 K_{562} 细胞功能的改变,发现在 10 cGy 剂量组,其 $^3\text{H-TdR}$ 参入明显增加,说明该剂量对 K_{562} 细胞具有刺激作用,当剂量达到 80 cGy 以上时, $^3\text{H-TdR}$ 参入就明显减少,说明该剂量下细胞功能受到抑制(参见表 3)。

Table 3 Effects of low dose irradiation on function of K_{562} cells

Dose (cGy)	cpm	Percentage of control (%)
0	5715 ± 334	100 ± 0
5	5961 ± 358	104.4 ± 4.3
10	6552 ± 593 ⁽¹⁾	115.3 ± 14.0
30	5935 ± 516	103.8 ± 5.6
50	5221 ± 618	91.7 ± 12.4
80	4393 ± 368 ⁽²⁾	77.1 ± 6.7
120	3561 ± 290 ⁽²⁾	62.4 ± 4.6

$n = 6$, (1) $P < 0.05$, (2) $P < 0.01$

3 讨论

NK 细胞是参与机体非特异性免疫反应的重要细胞,在肿瘤免疫中起重要作用。机体 NK 活性的高低与肿瘤发生率直接相关。NK 活性受到多种因素的调节,干扰素、白细胞介素 2 (IL-2) 均可增强 NK 细胞功能,同时 NK 细胞对机体免疫功能也具有调节作用。一般认为,NK 细胞是通过释放某种细胞毒因子而达到杀瘤作用的,对 NK 活性的检测能反映机体总的抗癌能力的强弱。在方法学上,以前大多用 ^{51}Cr 释放法测定 NK 活性,目前我们采用 $^3\text{H-TdR}$ 释放法来测定 NK 活性,该法具有稳定、简便、重复性好,自然释放率低等优点。

本实验测得的自然释放率为 $11.6 \pm 0.9\%$ ($n=8$)。

已发现小剂量辐射可刺激机体的免疫功能,使多种免疫指标功能增强。国外有人指出将小剂量辐射用于某些与免疫能力有关的疾病的治疗。本研究从体外试验的角度观察了小剂量辐射对NK活性的影响,以及对 K_{562} 细胞的效应,以期小剂量辐射用于治疗肿瘤作准备。

正常人外周血经小剂量辐射后,在10及50cGy剂量点NK活性均明显升高,分别为对照组的120.8%和140.0%,而肿瘤病人仅在50cGy点明显升高,而且升高幅度较低,为对照组的120.5%。经检验在50cGy剂量点上两组人员NK活性有明显差异。实验发现,在剂量为10cGy时,NK活性轻度升高;而在剂量为50cGy时,出现更高的刺激峰,但在其中间剂量(30cGy)时却未见明显升高。产生这一现象可能是由于在两种剂量下导致NK活性增强的机理不同。目前多数研究发现,10cGy左右的小剂量辐射可致多项免疫指标出现功能增强^[11]。淋巴细胞为重要的免疫细胞,其功能受激活可以促进淋巴因子的释放,其中干扰素、白细胞介素2均可增强NK细胞活性,使外周血NK活性升高,而此时NK细胞本身由于其辐射抗性较高可能并未受到 γ 射线的直接激活。

NK细胞是一种辐射抗性细胞,其激活剂量可能大于对辐射敏感的淋巴细胞的激活剂量。当辐射剂量达50cGy时,对T、B淋巴细胞已无刺激效应,而此时外周血NK活性却升高达峰值,这可能是由于 γ 射线对NK细胞本身的直接刺激所致。至于刺激作用的详细机制,有待深入探讨。

肿瘤病人的NK活性升高幅度较正常人为低,这可能由于NK细胞的功能已受到损害,从而使其潜在功能受影响。一般认为,NK细胞杀伤机理是通过释放一种NK细胞毒因子而达到杀伤作用的^[12]。对肿瘤病人而言,可能NK细胞在与肿瘤细胞的“较量”中,该种细胞毒因子的含量有所损失,从而导致其潜在功能不足,致使经小剂量辐射后NK活性升高幅度较正常人为低。另外,肿瘤患者体内可能存在某些抑制因子^[13],加上白细胞介素2产生减少,干扰素水平低下等因素均可影响小剂量辐射对NK细胞的刺激作用。虽然肿瘤病人外周血NK活性的刺激作用偏低,但刺激效应仍存在。

小剂量辐射对肿瘤细胞有无刺激作用,产生刺激作用的剂量为多少,也是需要解决的问题。在实验中观察到, K_{562} 细胞经小剂量辐射后在10cGy点其功能明显增强,为对照组的115.3%,其余各点均无刺激作用。当剂量达50cGy时,其 3H -TdR参入已呈下降趋势,所以在临床应用时有可能选择合适的剂量范围,使其对NK细胞的刺激作用最明显,而对肿瘤细胞无刺激作用或抑制作用。根据我们的试验,以50cGy剂量为最适辐照剂量。当然本次实验中所用的肿瘤细胞仅为 K_{562} 细胞一种,其他肿瘤细胞经小剂量辐照后的效应如何尚有待进一步探讨。建议在临床应用时,若病人为实体性肿瘤,最好将肿瘤部位屏蔽起来,然后对全身进行辐照,可能效果更理想。

4 结 论

采用 3H -TdR释放法测定了人外周血NK活性,观察了小剂量辐射对正常人和肿瘤病人外周血NK活性的影响以及对 K_{562} 细胞功能的影响,主要结论如下:

(1) 正常人外周血经10及50cGy γ 射线照射后,NK活性均显著升高,50cGy照射时升高达峰值。

- (2) 肿瘤病人外周血经 50 cGy 照射后, NK 活性显著升高, 其余剂量组无变化。
- (3) 经小剂量照射后, 肿瘤病人外周血 NK 活性的升高程度低于正常人。
- (4) 10 cGy 的 γ 照射对 K_{562} 细胞具有刺激作用: 当照射剂量超过 50 cGy 时, 则表现为抑制效应。

本实验得到刘克良、孙国器、江家贵、汪涛、刘芬菊、杜泽吉、易剑以及放射卫生教研室李士骏、陆治钊、辐照室滕维芳、解剖教研室王晓春、免疫室张学光、附一院放疗科张军宁等各位老师的支持和帮助, 在此一并致谢!

参 考 文 献

- [1] Liu S Z, et al. Health Phys., 1987, 52: 579
- [2] Luckey T D. Health Phys., 1982, 43 (6) : 771
- [3] 苏医卫生系第三教研室 (苏曜东执笔). 生物化学与生物物理进展, 1977, (3) : 10
- [4] 周丽良等. 中华放射医学与防护杂志, 1991, 11 (1) : 20
- [5] Nambi K S. Health Phys., 1987, 52: 653
- [6] 广东高本底辐射研究组. 中华放射医学与防护杂志, 1982, 2 (2) : 9
- [7] 魏耀新等. 中华放射医学与防护杂志, 1987, 7 (3) : 145
- [8] 苏曜东等. 癌症, 1990, 9 (5) : 378
- [9] 杜泽吉等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1994, 12 (1) : 59
- [10] 刘阿仲等. 中华放射医学与防护杂志, 1989, 9 (4) : 247
- [11] 魏性芝等. 中华放射医学与防护杂志, 1989, 9 (1) : 8
- [12] 林飞卿等主编. 医学基础免疫学. 上海: 上海医科大学出版社, 1990.
- [13] Steinhilber E H, et al. J. Immunol., 1982, 129: 2255

(京)新登字 077 号

图书在版编目 (CIP) 数据

小剂量辐射对肿瘤病人、正常人淋巴细胞 NK 活性的影响 = EFFECTS OF LOW DOSE IRRADIATION ON NK ACTIVITY OF NORMAL INDIVIDUALS AND PATIENTS WITH CANCER / 田海林等著. — 北京: 原子能出版社, 1994. 10

ISBN 7-5022-1304-X

I. 小… II. 田… III. ①辐射-影响-肿瘤 ②辐射-影响-淋巴细胞 IV. ①R730.55 ②R322.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (94) 第 13364 号



原子能出版社出版发行

责任编辑: 孙凤春

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

核科学技术情报研究所印刷

开本 787×1092 1/16·印张 1/2·字数 11 千字

1994 年 10 月北京第一版·1994 年 10 月北京第一次印刷

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN 7-5022-1304-X



9 787502 213046 >

China Nuclear Information Centre