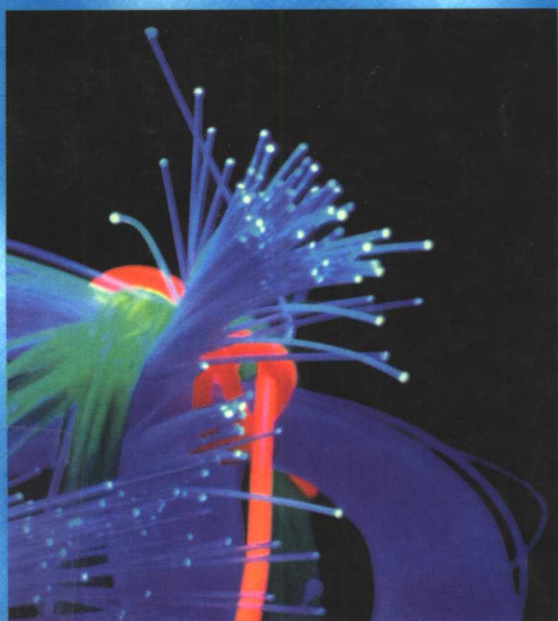


LINBA XIBAO & FUSHE XIAOYING

淋巴细胞及其辐射效应

苏燎原 著



63

图书馆

原子能出版社

淋巴细胞及其辐射效应

苏燎原 著

原子能出版社
北京

图书在版编目(CIP)数据

淋巴细胞及其辐射效应/苏燎原著. 北京:原子能出版社,
1999. 11

ISBN 7-5022-2046-1

I. 淋... II 苏... III. 淋巴细胞-辐射效应-免疫测定 IV.
R446. 63

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 45805 号

内容简介

本书为著者多年的科研成果与近年来国内外关于淋巴细胞理论和科技成就的总结,内容包括淋巴细胞免疫学特性,淋巴细胞激活,亚群的功能及其调节,电离辐射对淋巴细胞的效应,临床病人的淋转,中药对淋巴细胞免疫功能的效应,淋巴细胞的测定方法。丝裂原激活,亚群功能及其辐射效应的论述为本书特色。本书可供从事一般医学和放射医学的临床和基础学科的医学工作者、医学研究生和学生参考。

原子能出版社出版发行

社址:北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码:100037

原子能出版社印刷厂印刷 新华书店经销

开本:787×1092mm1/32 印张 8.44 字数 190 千字

2000 年 1 月北京第 1 版 2000 年 1 月北京第 1 次印刷

印数 1—600

定价:20.00 元

序

《淋巴细胞及其辐射效应》问世了,我仅表示欣慰和衷心的祝贺。

这本专著是苏州医学院放射医学博士生导师苏燎原教授潜心研究近 40 年的成果。苏教授学识渊博,治学严谨,勤于耕耘,诲人不倦,他指导的学生也已成为海内外放射医学界的栋梁之材,专著中也有他们的贡献。

该书阐述了淋巴细胞及激活的最新理论,揭示了各亚群淋巴细胞的功能测定及条件的机理和方法,全面地阐述了电离辐射对淋巴细胞的损伤效应,低剂量辐射对淋巴细胞的刺激效应或兴奋效应,还介绍了中药对淋巴细胞免疫功能的效应,上述理论和实践,反映了辐射效应研究领域的最新成果。

苏教授长期坚持在实验室工作,本书中他系统地阐明了测定淋巴细胞功能和形态的方法,总结了大量各类临床病人淋巴细胞的功能变化,为辐射效应研究和临床医学研究提供了科学依据。

我愿意向国内从事放射医学和临床医学工作的学者、医师及在上述领域深造的学生推荐这本专著,深信将会给读者带来新的启迪。

朱南康

1999 年 11 月 24 日

前 言

淋巴细胞是免疫系统最重要的细胞,在生命活动中具有重要作用。60年代以来,对淋巴细胞的研究有重大突破,大大促进了免疫学的发展。免疫学在医学科学中具有极重要的作用。本书为关于淋巴细胞的专著,著者系统概括了几十年来所领导的科研组及指导的研究生所取得的科研成果,结合国内外的有关理论,加以分析综合,提出观点和结论。

第一章综述了近年来有关淋巴细胞的理论,第二章叙述了四种常用丝裂原激活淋巴细胞的理论和应用研究,肯定了脂多糖对人血B淋巴细胞的激活,有别于国内外许多著者的观点。第三章揭示了各亚群淋巴细胞的功能及其相互调节,特别是对NK活性提出了新见解。第四章介绍电离辐射(γ 射线、X射线、中子)对淋巴细胞的效应,从整体、细胞和分子水平反映淋巴细胞免疫功能的变化。第五章叙述低剂量辐射对淋巴细胞的刺激效应,提供了诱导适应性反应的事实,充实了低剂量辐射兴奋效应的学说。第六章总结了临床3000多人次各类病人淋巴细胞的功能变化,为阐明各类疾病的发病机理及判断预后提供有价值的理论依据。第七章介绍某些中药对淋巴细胞免疫功能的效应,反映本院中药研究所具有特色的工作。第八章介绍淋巴细胞功能和形态的测定方法,着重放射性标记化合物掺入实验,淋转的稳定性和重现性以及分离淋巴细胞亚群测定其功能,比一般常用的检验亚群的百分数深入一步,亦为本书的特色。

著者力求简要地概括科研成果,结合有关的进展进行分析

综合,使本书能成为医学界有价值的参考书。因水平有限,不足或错误之处,望读者指正。

本院中药研究所所长顾振纶教授,及周文轩教授、郭次仪教授,对本书的出版给予大力支持,深表谢忱。

朱南康教授热情为本书作序,在此表示衷心的感谢。

苏燎原

1999年11月于苏州

目 录

第一章 淋巴细胞免疫学	(1)
一、淋巴细胞的发生	(1)
(一)胸腺内 T 细胞的生长过程	(2)
(二)、骨髓内或囊内 B 淋巴细胞的生长过程	(4)
二、淋巴细胞的免疫特性	(5)
(一)淋巴细胞再循环	(5)
(二)淋巴因子	(5)
(三)免疫球蛋白	(7)
第二章 淋巴细胞激活	(9)
一、激活过程	(9)
(一)识别阶段(又称感应阶段)	(9)
(二)激活阶段	(9)
(三)效应阶段	(11)
二、激活淋巴细胞的刺激物	(12)
(一)抗原	(12)
(二)丝裂原	(13)
三、丝裂原激活人淋巴细胞的体外实验研究	(15)
(一)植物血凝素(PHA)	(15)
(二)刀豆球蛋白 A(Con A)	(17)
(三)美洲商陆(PWM)	(21)
(四)植物血凝素、刀豆球蛋白 A、美洲商陆的比较研究	(22)
(五)脂多糖(LPS)	(25)
四、丝裂原激活大鼠脾淋巴细胞的体外实验研究	(28)

第三章 淋巴细胞亚群	(30)
一、淋巴细胞亚群的特征与功能	(30)
(一) T 细胞	(30)
(二) B 细胞	(32)
(三) NK 细胞	(33)
(四) K 细胞	(36)
(五) 淋巴因子激活的杀伤细胞	(37)
(六) 肿瘤浸润淋巴细胞	(38)
二、淋巴细胞的相互作用与调节	(39)
(一) T_H 细胞的调节作用	(39)
(二) T_s 细胞的调节作用	(40)
(三) B 细胞间的相互作用与独特型网络调节	(40)
三、淋巴细胞各群相互作用的实验研究	(41)
(一) PWM 和 LPS 激活的淋巴细胞的相互作用	(42)
(二) PWM 激活各淋巴细胞亚群及其相互调节作用	(43)
(三) 各淋巴细胞亚群杀伤肿瘤细胞的活性及其协同作用	(45)
第四章 电离辐射对淋巴细胞的效应	(47)
一、电离辐射与淋巴细胞	(47)
(一) 临床和实验研究工作	(47)
(二) 淋巴细胞亚群的辐射敏感性	(49)
二、电离辐射对人血 T 淋巴细胞转化能力的影响	(51)
(一) X 射线	(52)
(二) $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线	(53)
(三) 快中子和 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线的比较研究	(54)
(四) $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对 DNA、RNA、蛋白质合成代谢的效应	(59)
三、电离辐射对各种丝裂原激活人血淋巴细胞的效应	(60)
(一) $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对 PHA、ConA、LPS 激活淋巴细胞的效应	(60)
(二) $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对 PHA、PWM 激活淋巴细胞的效应	(61)

四、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对丝裂原诱导细胞及其相互调节的效应	(62)
(一) ConA、LPS	(62)
(二) PWM、LPS	(63)
五、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对 ConA 细胞与 LPS 细胞集落形成能力的影响	(65)
六、辐射对淋巴细胞大分子复制能力的效应	(66)
(一) 辐射对淋巴母细胞复制能力的效应	(67)
(二) 照射后淋巴细胞非预定的 DNA 合成	(67)
七、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对肿瘤病人淋巴细胞的效应	(69)
(一) 人体受照后 ConA 和 LPS 激活淋巴细胞的功能变化	(69)
(二) 人体受照后 PWM 和 LPS 激活淋巴细胞的功能变化	(71)
(三) $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对肿瘤病人 T、B 淋巴细胞转化过程中三种大分子合成的效应	(73)
八、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对淋巴细胞亚群的效应	(80)
(一) PWM 激活各淋巴细胞及 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐射效应	(80)
(二) $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对 CD_4 和 CD_8 细胞的效应	(82)
九、辐射对淋巴细胞表面膜抗原的影响	(83)
十、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对淋巴细胞 DNA 链的损伤及其修复	(85)
(一) 超速离心法	(85)
(二) 羟基磷灰石层析法	(86)
(三) 碱洗脱法	(89)
十一、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对豚鼠脾脏造血细胞的效应	(91)
十二、淋巴细胞辐射敏感性的修饰	(92)
(一) 维生素 A 减轻辐射损伤的实验研究	(92)
(二) 抗氧化剂减轻辐射脂质过氧化损伤的实验研究	(100)
第五章 低剂量辐射对淋巴细胞的效应	(112)
一、低剂量辐射(LDI)对淋巴细胞的刺激效应	(113)

(一)对成人 T、B 细胞的刺激效应	(113)
(二)对儿童 T 淋巴细胞的刺激效应	(119)
(三)对脐带血淋巴细胞的刺激效应	(121)
(四)对血 NK 活性及 K ₅₆₂ 细胞的刺激效应	(122)
(五)对淋巴细胞亚群间调节作用的刺激效应	(126)
二、对肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的刺激效应	(130)
(一)体外照射	(130)
(二)全身照射	(134)
三、对荷瘤鼠外周血、脾及瘤内 T 淋巴细胞亚型的 刺激效应	(136)
(一)对脾 T 淋巴细胞亚型的影响	(137)
(二)对血 T 淋巴细胞亚型的影响	(137)
(三)对肿瘤浸润淋巴细胞 T 细胞亚型的影响	(138)
四、低剂量照射的淋巴细胞外液对淋巴细胞亚群功能的 刺激效应	(139)
五、低剂量辐射对淋巴细胞 DNA、RNA 和蛋白质 合成的适应性反应	(142)
(一)1~4cGy 对 DNA 合成的适应性反应	(142)
(二)4.8cGy 对 DNA 合成的适应性反应	(144)
(三)4.8cGy 对蛋白质与 RNA 合成的适应性反应	(146)
六、低剂量辐射所致外周血淋巴细胞亚群数量变化 及其适应性反应	(147)
(一)大剂量照射导致淋巴细胞亚群百分率的变化及 LDI 的 适应性反应	(147)
(二)不同照射剂量所致 T _H /T _S 的变化	(148)
七、低剂量照射的淋巴细胞外液诱导其亚群细胞 DNA 合成的适应性反应	(152)
八、低剂量辐射引起膜抗原的适应性反应	(154)

九、低剂量辐射对淋巴细胞 DNA 断裂的影响及适应性反应	(157)
(一)人血淋巴细胞	(157)
(二)脾细胞外液对胸腺细胞 DNA 辐射抗性的影响	(162)
十、低剂量辐射诱导淋巴细胞抗染色体畸变的效应 ...	(164)
十一、低剂量辐射诱导淋巴细胞生成新蛋白	(167)
第六章 各类病人的淋巴细胞功能	(169)
一、成人的淋转及 NK 活性测定	(169)
(一)急性白血病	(169)
(二)恶性肿瘤	(174)
(三)肺结核	(181)
(四)麻风	(184)
(五)肝炎	(189)
(六)哮喘	(190)
(七)冻结肩	(192)
(八)眼病	(194)
二、儿童淋转测定	(200)
(一)单纯性肾病	(200)
(二)急性肾炎	(200)
第七章 中药与淋巴细胞	(204)
一、云芝糖肽	(204)
(一)大鼠免疫功能	(204)
(二)人血 T 淋巴细胞增殖活性	(206)
(三)T 淋巴细胞亚群的双标记检测	(208)
(四)诱生 IL6	(209)
(五)IL6 基因表达	(210)
二、榄香烯	(212)
(一)人血淋巴细胞亚群及其调节	(212)

(二)小鼠脾淋巴细胞亚群及其调节	(214)
三、槲皮素	(217)
(一)人血淋巴细胞 DNA 链断裂	(217)
(二)人淋巴细胞染色体畸变	(219)
(三)小鼠脾细胞活性、骨髓 DNA 和脾脏 LPO 含量	(222)
第八章 淋巴细胞的实验方法	(224)
一、淋巴细胞转化	(224)
(一)液体闪烁测定法	(224)
(二)放射自显影法	(230)
二、淋巴细胞集落生成	(231)
三、分离淋巴细胞亚群	(231)
(一)铺皿法	(231)
(二)亲和层析法	(234)
(三)单核细胞在亚群转化中的作用	(235)
四、肿瘤浸润淋巴细胞的分离	(237)
五、 ¹²⁵ I-单克隆抗体结合淋巴细胞表面膜抗原	(237)
(一) ¹²⁵ I 标记抗体的方法—氯胺 T 法	(237)
(二) ¹²⁵ I 标记抗体结合淋巴细胞膜抗原	(238)
六、淋巴细胞 DNA 单链断裂及其重接修复	(238)
(一)梯度离心法	(238)
(二)羟基磷灰石层析法	(239)
(三)碱洗脱法	(240)
(四)DNA 解旋荧光测定法(FADU)	(241)
七、NK 活性检测	(242)
(一)效应细胞	(242)
(二)靶细胞	(242)
(三)NK 活性测定	(242)
八、K 细胞活性测定	(243)

九、荧光原位杂交实验方法	(243)
(一)原理	(243)
(二)方法	(244)
十、IL6 的诱生和促诱生试验	(245)
十一、血淋巴细胞 IL6 基因表达	(246)
(一)探针制备	(246)
(二)探针标记	(246)
(三)人 PBL 总 RNA 提取	(246)
(四)狭线杂交(Slost blot)	(247)
十二、低剂量辐射诱导蛋白的制备	(247)
参考文献	(248)
英文缩略语表	(257)

第一章

淋巴细胞免疫学

淋巴细胞是构成免疫器官的基本单位。在 60 年代以前对其功能不清楚,因而未受到重视。1960 年 Nowell 证明小淋巴细胞并非终末细胞,而是处于静止状态(G_0 期)的细胞,若受抗原或丝裂原刺激,可转化为幼稚母细胞,具有很强的增殖分化能力。同一年代还发现淋巴细胞不断再循环,胸腺对 T 淋巴细胞分化的重要作用,鸟类法氏囊对 B 淋巴细胞分化的重要作用,以及对淋巴细胞的寿命的了解等等,这些研究引起了人们对淋巴细胞研究的热潮,极大地推动了免疫学的迅猛发展。

凡参与免疫应答或与免疫应答有关的细胞统称免疫细胞;它包括造血干细胞,淋巴细胞,单核吞噬细胞,粒细胞和肥大细胞等。在免疫应答过程中起核心作用的是淋巴细胞,它具有特异识别抗原的功能,介导特异性免疫应答。

淋巴细胞是体内极为复杂的不均一的细胞群体,具有许多形态上相似而功能上不同的亚群。淋巴细胞分为 T · B · NK · K 细胞等。T 细胞和 B 细胞还可进一步分为若干亚群,它们在功能和表面标志上各不相同。各型淋巴细胞在免疫应答过程中相互协作、相互制约,共同执行免疫系统的功能,维持机体内环境的稳定。

一、淋巴细胞的发生

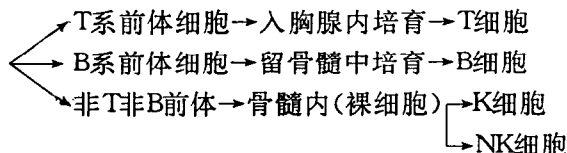
淋巴细胞来源于骨髓的多能干细胞(胚胎期来源于卵黄囊

和胚肝)。多能干细胞中的淋巴样干细胞分化为前 T 细胞和前 B 细胞。前 T 细胞在胸腺内分化成熟为 T 细胞。T 细胞是胸腺依赖性淋巴细胞(Thymus-dependent Lymphocyte)的简称,以 Thymus 的第一字母“T”命名。成熟 T 细胞经血流分布至外周免疫器官和血流周游全身,以发挥细胞免疫功能。前 B 细胞在哺乳动物的骨髓中或鸟类的腔上囊中分化成熟,因而命名为骨髓依赖性淋巴细胞(Bone marrow-dependent Lymphocyte)或囊依赖性淋巴细胞(Bursa-dependent Lymphocyte),两者第一字母均为“B”,简称为 B 细胞。B 细胞主要发挥体液免疫功能。

血淋巴系细胞的成长过程:

最原始血淋巴先驱细胞→卵黄囊血岛→胚肝(脾)

→骨髓多能干细胞(血淋巴系)→淋巴系干细胞



(一)胸腺内 T 细胞的生长过程

T 淋巴系干细胞,先在胸腺外皮质层中生长发育成为大淋巴细胞(即未成熟的前胸腺细胞),随即被摄入于该处的胸腺保育细胞的胞质囊内。此时通过伸入胸腺内的自主神经刺激促进保育细胞合成神经肽(β -内啡肽)、催产素、精氨酸加压素及白细胞介素 2 等,由这些物质与胸腺激素构成细胞内特定的微环境,使已摄入保育细胞内的前胸腺细胞被培育成为皮质胸腺细胞(此时细胞缩小成为小淋巴细胞)。皮质胸腺细胞一旦成长后,立即脱离保育细胞,移行至深皮质层内进行大量繁殖。但是由于这些皮质胸腺细胞绝大多数都缺乏 20- α -羟基甾类脱氢酶,对于随

血循环运入胸腺内的肾上腺皮质类固醇及性激素等十分敏感,以致这些细胞 95% 以上竟被这类激素在胸腺的皮质内销毁。这是为了防备这些细胞中可能存在着有对自体成分起反应的“禁忌细胞株”及缺乏免疫能力的细胞株获得生存繁殖的机会,从而避免引起自身免疫反应的危害或造成免疫力不足的缺陷。所以只有大约 5% 胸腺细胞可幸免被毁,而自深皮质层内沿着由该处的树突状细胞伸向髓质内的树突通道进入髓质内。当它们进入髓质内后就能生成上述的脱氢酶,可以抵抗由血中运来的皮质类固醇及性激素对它们的伤害,并能生长发育成为童贞 T 细胞(virgin T cell)。以后又在髓质的微环境内得到该处上皮细胞产生的胸腺生成素(thymopoietin)、胸腺素(thymosin)、胸腺姆灵(thymulin)、胸腺体液因子(thymic humoral factor)和胸腺血清因子(facteur thymique serique)的个别诱导,得以继续发育成熟为 T 细胞,并被诱导分化生成各种 T 细胞亚群,这些发育成熟的 T 细胞都生成特有抗原及标记物(表 1-1)^[1]。

表 1-1 人及小鼠的 T 细胞表面分化抗原

命名系统		单克隆抗体种类							
国际命名		CD ₁ *	CD ₂	CD ₃	CD ₄	CD ₅	CD ₆	CD ₇	CD ₈
OKT 系命名		OKT6	OKT11	OKT3	OKT4	OKT1	OKT12	3A1	OKT8
Leu 系命名		Leu-6	Leu-5b	Leu-4	Leu-3a	Leu-1		Leu-9	Leu-2a
抗原分子量 KD _a		43~49	50	20~26	55	67~69	120	40	32
人 T 细胞亚群	皮质胸腺细胞	+	+	-	+	-	-	-	+
	童贞 T 细胞	-	+	+	+	+	+	+	+
	T _H 细胞	-	+	+	+	+	+	+	-
	T _S 细胞	-	+	+	-	+	+	+	+
	T _C 细胞	-	+	+	-	+	+	+	+
小鼠 T 细胞抗原		-	-	-	L3T4, Lyt-1	-	-	TL(?)	Lyt-2, 3

* CD₁ 是早期胸腺细胞分化抗原,也见于郎罕细胞;CD₂ 是全体 T 细胞的分化抗原,也是 E 玫瑰花环受体的成分;CD₃ 是全体 T 细胞的标记抗原;CD₄ 是 T 辅助/诱导(T_H/ind)细胞特有的标记,相当于小鼠 T_H/ind 细胞上 L3T4 抗原;CD₅ 是较成熟的 T 细胞分化抗原,相当于小鼠 T 细胞的 Lyt-1 抗原;CD₆ 同上,又是恶变 T 细胞的标记;CD₇ 可能是 T 细胞白血病(TL)细胞的标记;CD₈ 是 T 细胞毒/抑制(T_Cs)细胞特有的标记,相当于小鼠 T_Cs 细胞上的 Lyt-2, 3 抗原

(二)骨髓内或囊内 B 淋巴细胞的生长过程

胚胎早期头顶部生成的最原始血淋巴先驱细胞,先经胚胎卵黄囊血岛,胚胎肝脾内增殖后转移入骨髓内定居,为骨髓多能干细胞,在骨髓内增殖分化为淋巴系和髓系干细胞,再进一步增殖分化为单能干细胞或前体细胞。其中 B 淋巴系前体细胞,如在哺乳动物及人则留在骨髓内增殖发育成长为 B 细胞;若在禽类则转入腔上囊淋巴组织中增殖成长为 B 细胞。用单抗技术已在人 B 细胞表面找到了多个分化抗原(表 1-2^[1])。其中以 CD₁₉ · CD₂₀ · CD₂₁ · CD₂₃研究得较多。还有些非 T 非 B 的第三类淋

表 1-2 人 B 细胞表面分化抗原的某些免疫化学特征及其表达的细胞

分化抗原	抗该抗原的单克隆抗体	分子量	分子结构	糖化	阳性细胞
CD ₁₉	B4	95000	单链	+	>90%外周血 B 细胞 大多数组织 B 细胞,前 B 细胞性白血病细胞, 慢性 B 细胞性白血病 细胞,淋巴瘤
CD ₂₀	B1	35000	单链	-	外周血和组织中 SIg ⁺ B 细胞
CD ₂₁	B2	140000	单链		外周血和组织中 SIg ⁺ B 细胞,慢性 B 细胞性白 血病细胞,部分勃氏瘤 细胞
CD ₂₂	HD39	130000/140000	链内二硫 键二个糖 蛋白无 N 端二硫键		外周血中 75%左右 B 细胞淋巴结马氏区细 胞前 B 细胞性白血病 细胞,部分急性 B 细胞 性白血病细胞,50%左 右慢性 B 细胞白血病 细胞,大多数 B 细胞性 淋巴瘤细胞
CD ₂₃	MHM6	45000	可能双聚体	+	活化 B 细胞,生发中心 B 细胞
CD ₂₄	BA1	42000	单链	+	B 细胞