

# 电离辐射对免疫大白鼠淋巴結細胞 反应的影响

楊貴貞 張紹倫 李兴春 吳克立 彭大才 王振海

(吉林医科大学, 长春)

大剂量电离辐射对于机体的免疫反应的抑制作用<sup>[1,2]</sup>, 以及对于体液抗体的影响, 都已经文献报导<sup>[3-7]</sup>。此外, 电离辐射能使正常机体的淋巴样器官发生严重的损伤, 但对于免疫机体的淋巴結組織是否也有同样作用, 文献中尚少見記載。因此, 电离辐射对体液抗体产生所表现的破坏作用, 究与哪些类型細胞的改变有关, 亦无从証明。本文报告所进行的一些实验观察結果。

## 材 料 和 方 法

**免疫原** 磷酸铝吸附白喉类毒素, 长春生物制品所产, 40 Lf/毫升。

**实验动物及分组** 本校饲养的健康大白鼠, 体重 120 克左右。共 72 只, 分为 4 个实验组, 共 12 个小组, 每小组 6 只。

**正常对照组:** 12 只动物, 不加任何处理, 解剖后检查淋巴結細胞反应和血凝抗体。

**免疫动物组:** 12 只动物, 皆接受两次白喉类毒素注射, 注射部位是两侧后脚掌皮下, 各 0.2 毫升 (8Lf), 两次注射间隔为 14 天。第 2 次注射后第 4 天和第 7 天, 分别杀死 6 只, 观察淋巴結細胞反应和血凝抗体。

**免疫动物照射组:** 24 只动物, 按上组方法免疫, 但 12 只动物在第 2 次免疫注射前 1 日接受 600 伦 X 线全身照射 (1 次照射组); 另 12 只动物在两次免疫前 1 日皆接受 X 线全身照射, 第 1 次为 400 伦, 第 2 次为 600 伦 (2 次照射组)。免疫后再分别在第 4 天和第 7 天剖检。

**正常动物照射组:** 24 只动物, 按上组方式照射处理, 但不进行免疫注射。在 600 伦照射第 5 天和第 8 天 (相当于免疫后第 4 天和第 7 天, 以下皆称 4 天、7 天) 剖检。

**观察方法** 动物经心脏全采血杀死, 取两侧膈窝淋巴結和腋下淋巴結, 称重后剪碎, 滴加少量 pH7.2 磷酸盐缓冲盐水, 制备涂片标本, 姬姆萨染色, 用油镜检查, 选择含 5—15 个細胞的视野, 每张涂片观察 50 个视野, 记录細胞总数及各种类型細胞的数目, 然后取 6 只动物所得的平均值进行比较分析。

又将两侧肢体的同名淋巴結混在一起, 仔细剪碎后, 用 pH7.2 磷酸盐缓冲盐水制成 1:20 (w/v) 悬液, 放 -30℃ 冰箱冻结数日, 再使融化, 取上清液测定血凝抗体效价。

血凝试验按 Boyden 氏和 Stavitsky 氏法进行。用 1:10 稀释的浓缩精制白喉类毒素 (长春生物制品所产, 1500 Lf/毫升) 为抗原, 致敏鞣酸化绵羊血球。供试血清及淋巴結浸出液先经 56℃, 30 分钟灭活, 再经新鲜绵羊血球吸收后使用。

## 实验結果及分析

各組动物淋巴結細胞反应結果如表 1, 2, 3。

表1 網 状 細 胞 平 均 数\*

取材部位	正常对照	2次免疫动物		免疫动物照射组				正常动物照射组			
				1次照射		2次照射		1次照射		2次照射	
		4天	7天	4天	7天	4天	7天	4天	7天	4天	7天
膈窝淋巴结	0.74	12.14	6.33	0.92	1.25	0.08	—	0.66	0.06	0.07	0.17
腋下淋巴结	1.12	1.91	3.58	1.58	0.75	0.08	—	0.75	0.40	0.35	0

\* 表中所载细胞数皆为50个视野细胞数,以下同。

表2 过 渡 浆 細 胞 平 均 数

取材部位	正常对照	2次免疫动物		免疫动物照射组				正常动物照射组			
				1次照射		2次照射		1次照射		2次照射	
		4天	7天	4天	7天	4天	7天	4天	7天	4天	7天
膈窝淋巴结	0.74	14.58	21.75	0.41	2.37	1.58	—	0.16	1.40	0.21	0.16
腋下淋巴结	1.00	3.66	6.66	0.66	1.12	0.66	—	0.16	0.60	0.78	0

表3 漿 細 胞 平 均 数

取材部位	正常对照	2次免疫动物		免疫动物照射组				正常动物照射组			
				1次照射		2次照射		1次照射		2次照射	
		4天	7天	4天	7天	4天	7天	4天	7天	4天	7天
膈窝淋巴结	0.82	14.99	9.83	0.50	2.12	0.99	—	0.33	0.30	0	0
腋下淋巴结	0.54	3.74	2.08	0.99	0.75	0.89	—	0.08	0.20	0.21	0

从表1可見,大剂量电离辐射对于大白鼠淋巴结的网状細胞有着严重的影响。在照射对照組,其膈窝淋巴结网状細胞数目在1次照射后即有所降低,2次照射后細胞数目已由正常动物的0.74降至0.07。2次免疫1次照射4天解剖者細胞数目似仅較照射者稍高,但与对照組相比,則无明显差别。1次或2次照射組,無論是免疫或仅照射組,其細胞数目与正常免疫組相比,有明显差别,即动物經照射后网状細胞数目明显減少( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ )。

腋下淋巴结的网状細胞在大剂量电离辐射后亦同样受到破坏作用,但由減少数字来看,不够明显,特别是2次照射4天解剖者,对細胞数量似无影响。

表2說明在2次免疫照射后过渡浆細胞数目的改变。正常动物与照射对照組动物細胞数目有差别,但不甚明显。較显著差别表现在經过免疫的动物未照射与1次照射組4天解剖者,此时,过渡浆細胞的数目分别为14.58个与0.41个( $p < 0.01$ )。7天解剖者差别亦甚明显,細胞数目分别为21.75与2.37个( $p < 0.01$ )。腋下淋巴结的数目亦有減少,但不如膈窝淋巴结的明显,可能由于正常免疫动物的腋下淋巴结的細胞变化远較膈窝淋巴结为弱,因之对比不甚明显。

1次照射后7天者,其过渡浆細胞数目似有增加的趋势,可能此时受损伤的細胞已逐渐恢复。2次照射組动物大部分在照射后7天以內死亡,从仅存活的少数动物来看,細胞数目并无增加。

免疫组动物浆细胞的数目在受到照射后亦有损伤(见表3)。但在照射各组与正常动物对照组相比,并无明显差别。若与正常免疫动物相比,则细胞数目相差很明显。在免疫动物1次照射组动物的脾窝淋巴结,4天解剖者为0.50,而正常免疫组为14.99,两者差别显著( $p < 0.01$ )。7天解剖者,免疫动物照射组的浆细胞数目似有增加。特别值得注意的是免疫动物照射组淋巴结的浆细胞数,无论是脾窝或腋下淋巴结,皆较正常对照组为高。

从表1—3可以看出,正常对照组动物与经X线1次或2次全身照射的动物相比,其网状细胞,过渡浆细胞及浆细胞数目没有很大差别。但经过免疫的动物,其未照射组与照射组的浆细胞系细胞的数目相比,则相差很多。这两个实验组动物的淋巴结涂片镜下所见也非常不同(图1,2,3)。说明大剂量电离辐射对于细胞类型的转化有很大的抑制作用或破坏作用,因此使得产生抗体的浆细胞系的细胞生成受到阻碍。而原来已有的浆细胞系细胞并不受影响,因之仅受到照射组的动物与正常对照组动物的细胞数目几无差别。1次照射与2次照射组,在这3类细胞的数目上没有明显差别,但在1次照射后7天解剖者,其淋巴结的过渡浆细胞及浆细胞数目较4天者稍有增加,说明1次照射后7天,细胞类型的转化已逐渐好转,也可能就转化为这两种细胞。

从淋巴结重量及细胞悬液总数可以进一步说明电离辐射使动物的淋巴结受到严重损



图1 2次免疫后正常大白鼠淋巴结涂片(各类型细胞)。

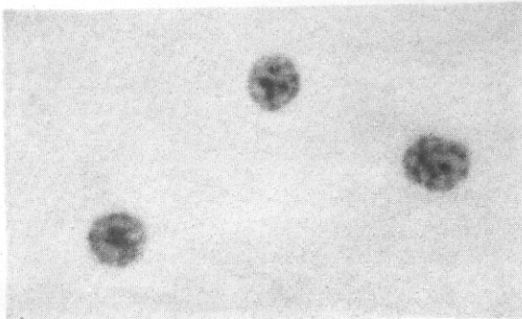


图2 2次免疫大白鼠,1次照射后淋巴结涂片  
(仅见少数淋巴细胞)。

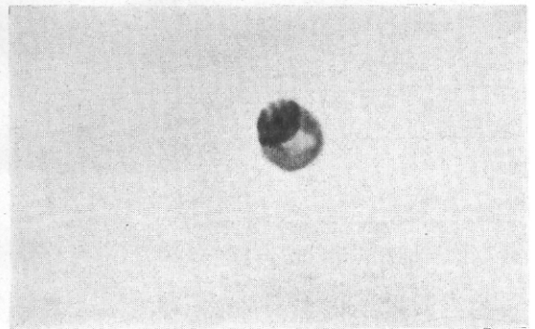


图3 2次免疫大白鼠,1次照射后淋巴结涂片  
(仅见一个浆细胞)。

伤(表4)。

表4 淋巴結重量及細胞总数

淋巴結部位	免疫后取材时间(天)	正常免疫		1次照射(对照)		2次照射(对照)		1次照射(免疫)		2次照射(免疫)	
		淋巴結重量(毫克)	細胞总数	淋巴結重量(毫克)	細胞总数	淋巴結重量(毫克)	細胞总数	淋巴結重量(毫克)	細胞总数	淋巴結重量(毫克)	細胞总数
膈 窝	4	32.64	24618	4.16	289.4	1.60	363.3	4.82	2636.3	3.77	405.0
	7	27.62	27606	2.30	429.8	1.80	75.0	8.20	1856.3	+	+
腋 下	4	30.40	22143	10.10	562.9	10.58	674.9	13.80	1387.5	5.92	685.4
	7	47.74	31443	11.35	841.0	7.26	138.6	13.05	1800.0	+	+

+: 动物死亡。

由表4可以看出,照射对照組与正常免疫对照組相比,其膈窝及腋下淋巴結的重量及細胞总数皆减少。最明显差别乃在正常与照射免疫組之間。2次照射者与1次照射者相比,其淋巴結重量减少更为明显,正常免疫动物膈窝淋巴結重量为32.64毫克,1次照射后减至4.82毫克,2次照射后减至3.77毫克(图4)。7天解剖者,淋巴結重量降低较少,由27.62毫克降至8.2毫克,腋下淋巴結重量亦有同样改变,4天解剖者由正常免疫30.4毫克降至1次照射13.8毫克,2次照射后又降至5.92毫克(图5)。同时,細胞悬液总数4天者膈窝細胞由24618减至1次照射2636,二次照射后細胞总数已降至405个細胞。腋下淋巴結經一次照射后,已由正常总数22143降至1387。2次照射后繼續下降至685个細胞。总之,照射后动物的淋巴結重量减低到1/4—1/8,細胞总数减少到1/10—

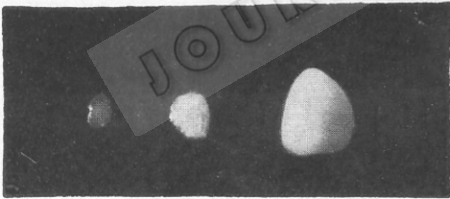


图4 大白鼠腋下淋巴結。  
1. 电离辐射动物; 2. 正常动物;  
3. 免疫动物。(2×)

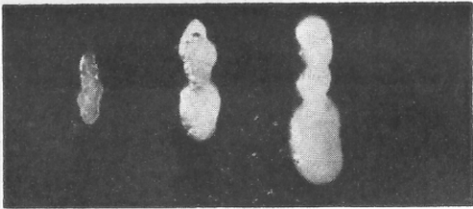


图5 大白鼠腋下淋巴結。  
1. 电离辐射动物; 2. 正常动物;  
3. 免疫动物。(2×)

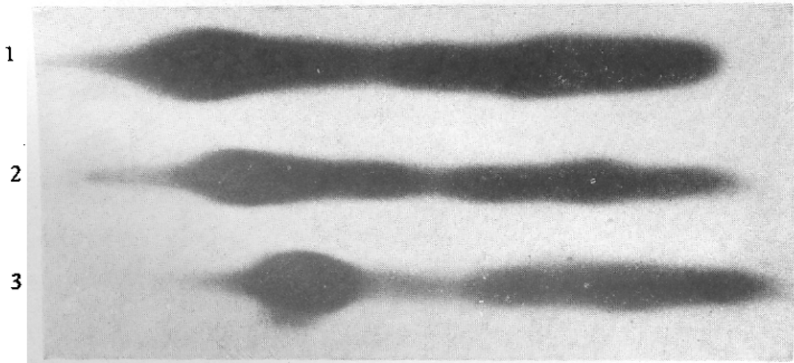


图6 大白鼠血清琼脂电泳图。  
1. 正常免疫; 2. 照射免疫; 3. 正常对照。

1/50。

由上述实验结果可以看出,照射动物的淋巴结重量及细胞数量减少是无疑的,下面再就淋巴结涂片中细胞总数,50个视野平均数及各类型细胞数进行比较(见表5)。

表5 膈窝、腋下及鼠蹊淋巴结各型细胞平均值

实验分组	免疫后取材时间(天)	50视野中细胞总数(平均值)	50视野中淋巴细胞(平均数)	50视野中网状细胞(平均数)	50视野中过渡浆细胞(平均数)	50视野中浆细胞(平均数)
正常对照	—	504.0	502.0	0.94	0.78	0.66
1次照射(免疫)	4	30.3	28.0	0.83	0.64	0.83
	7	47.3	43.4	1.20	1.50	1.00
2次照射(免疫)	4	29.0	2.7	0.05	1.11	1.00
	7	+	+	+	+	+
1次照射	4	19.0	18.0	0.66	0.27	0.22
	7	32.6	30.0	0.29	0.57	0.28
2次照射	4	19.0	18.4	0.46	0.96	0.22
	7	5.8	5.6	0.11	0.11	

“+”动物死亡。

由表5可见,正常对照大白鼠的淋巴细胞为502个。1次照射对照组4天解剖者已下降至18个细胞,7天解剖者,淋巴细胞的数目稍有增加,为30个细胞,但在2次照射者7天,细胞数目仍继续减少,只有5.6个细胞。从免疫照射组来看,1次照射与2次照射4天解剖者,减少后的淋巴细胞数目相等,但在1次照射7天解剖者,细胞数目亦稍有增加。且总的看起来,免疫组动物经照射后,淋巴细胞下降较仅照射组者数目略少。除了淋巴细胞外,其他如网状细胞、过渡浆细胞及浆细胞的数目较正常组变化不大。由此得知,大剂量电离辐射淋巴细胞受损伤最为严重。

在观察大剂量电离辐射损伤淋巴结组织细胞的同时,亦观察了血凝抗体效价的变化(见表6)。

表6 电离辐射动物的血凝效价

免疫后取材时间(天)	实验材料		正常动物 2次免疫	照 射 组	
				1次照射	2次照射
4	血 清		436	12.6	0
	淋 巴 结	膈 窝	1600	7.4	0
		腋 下	15.8	0	0
7	血 清		8100.8	428.9	0
	淋 巴 结	膈 窝	2101.5	282.8	0
		腋 下	68.4	14.1	0

表6说明大剂量电离辐射对于血清及淋巴结组织的抗体皆有明显地抑制作用。局部膈窝淋巴结的血凝抗体在1次照射后4天,其效价平均只有7.4,腋下尚无抗体产生,而此时正常动物免疫后,膈窝淋巴结的抗体已达1600,腋下淋巴结亦有抗体产生。此外,血清中抗体效价亦甚低,平均只有12.6,而正常免疫组已为436。照射后8天者,抗体产生

能力似有恢复, 膈窝淋巴結的抗体已由 7.4 上升至 282.8, 腋下淋巴結也有了产生抗体的能力, 效价为 14.1。此时血清中抗体效价亦增加 30 多倍。但与正常免疫动物相比, 无论血清或淋巴組織抗体, 其效价皆显著低下, 相差仍在 10 倍左右。經 2 次电离輻射的动物, 其产生抗体的能力似完全破坏或受到严重抑制, 因之在 7 天解剖取材者亦未見有血凝抗体的产生。若由血凝抗体效价及浆細胞系細胞数目的关系来看, 見表 7。

表 7 漿細胞系細胞(过渡漿細胞和漿細胞)数目与血凝抗体效价的关系

所 取 材 料	免 疫 后 取材时间 (天)	正 常 免 疫		1 次照射免疫		2 次照射免疫	
		細胞数	血凝效价	細胞数	血凝效价	細胞数	血凝效价
膈窝淋巴結	4	29.57	1600.0	0.91	7.4	2.57	0
	7	31.53	2101.0	4.49	428.9	+	0
腋下淋巴結	4	7.40	15.8	1.65	0	1.55	0
	7	8.74	68.4	1.87	14.1	+	0
血 清	4	—	436.0	—	12.6	—	0
	7	—	8100.8	—	428.9	—	0

“+”动物死亡。

表 7 說明在正常动物免疫組, 其浆細胞系細胞数目愈多, 血凝抗体效价亦愈高。但是在照射組, 浆細胞系数目与血凝效价似不完全一致, 在 1 次照射組膈窝淋巴結細胞数目虽少于 2 次照射, 但前者却有抗体产生, 后者未見抗体生成, 因此电离輻射虽对已形成的浆細胞沒有损伤作用, 但对于其功能——合成或分泌抗体的能力——有破坏作用。

由上述結果再一次說明, 浆細胞反应是产生抗体的必然步驟。但是在照射組, 1 次照射与 2 次照射动物在細胞反应上情况相近, 但抗体产生能力則不完全相同, 前者有少量抗体产生, 特别是在 7 天解剖者, 淋巴結重量稍有增加, 且浆細胞反应亦有稍許增加的情况下, 抗体产生亦有显著增加, 而与正常免疫組相比, 其細胞反应并不明显, 因之抗体的产生尚与免疫活力的潛力及各个細胞功能作用有关。电离輻射能抑制抗体的生成, 为熟知的事实, 但其机制如何, 直到現在还没有統一的想法。就抗体生成的过程而論, 有 3 个主要环节, 即細胞摄取抗原, 抗原刺激抗体生成細胞的分化与繁殖及抗体的合成。三者相互联系, 但又分別起作用。各个作者由不同角度进行研究, 因之其結論也各异。Wormall<sup>[8]</sup>認為在电离輻射后, 形成抗体的組織受到损伤, 因之不能按正常方式接受抗原。类似的意見認為由于輻射后网內細胞活动能力受到抑制, 于是吞噬各种抗原的能力降低, 影响抗体的合成。Jaroslow<sup>[9]</sup>認為这主要是由于生成抗体的器官受到电离輻射的影响而发生损伤, 这种损伤先波及淋巴組織, 因为它们对于电离輻射最为敏感。但是根据另外一些学者<sup>[10,16]</sup>的意見, 淋巴細胞的数目虽然減少很多, 但是抗体生成并未見減少。Бузини<sup>[10]</sup>的實驗观察說明, 动物經 600 仝照射后两日, 抗体效价即明显受到抑制, 但淋巴球数目的減少却于照射后第 5 天方才出現。因此她認為淋巴球数量減少与抗体效价之間并无相应关系。在我們的實驗中看到, 大剂量 X 綫照射后, 淋巴結重量減为对照組的 1/3—1/10, 淋巴样細胞总数減至 1/100, 这无可分辯地說明淋巴結組織由于照射而受到严重的损伤。此外, 显微鏡下观察指出, 經 1 次或 2 次照射后, 50 个視野內淋巴細胞数目由 502 減至 18 个。同样对免疫照射組动物淋巴細胞亦有相似影响, 此外尚能明显看出网状細胞及浆細胞系細胞数

目对照组亦显然减少。据此,我们可以肯定说,电离辐射对于产生抗体的淋巴样组织确有严重地破坏作用,因之淋巴细胞及浆细胞系细胞数目皆大为减少。至于哪一种淋巴细胞受损伤最严重,在本实验中未进行分类观察,不过仅能在数个视野中才能看到单个淋巴细胞或浆细胞。一般说,浆细胞对于电离辐射是有抵抗力的,但是在免疫照射动物淋巴结中亦只能看到个别的细胞。与未免疫的正常与照射动物相比较,可以看出二者在浆细胞数目上差别不大。由此想到,经照射后的免疫动物浆细胞数目所以很少,是由于它的前身细胞受到了破坏,因此没有产生浆细胞来源。对于浆细胞的前身,有下列一些看法<sup>[11-13]</sup>: (1) 小淋巴细胞; (2) 原始淋巴细胞; (3) 网状细胞; (4) 巨噬细胞或其他组织细胞。由本实验中难以肯定哪一种细胞是浆细胞的来源,但淋巴细胞受到严重的破坏似与浆细胞的形成有一定关系。在免疫动物的淋巴细胞数目似较仅照射组皆稍多,这就使我们不得不想到淋巴细胞是多能性细胞<sup>[14]</sup>,同时对于电离辐射的敏感性亦有很大差异,因此,有一部分淋巴细胞在受到抗原作用后,不继续受电离辐射的损伤作用,生存下来。

在电离辐射损伤逐渐恢复时,抗体产生能力亦逐渐增强,这时一部分原因是由于淋巴细胞生成的能力逐渐恢复,另一方面浆细胞本身亦可重新分裂增加细胞的数目。此外,有一些学者观察到,经辐射作用后的机体,可用粗制核酸恢复其产生抗体的能力,因此,认为这种作用可能与蛋白质的合成有关<sup>[15,16]</sup>,应用琼脂电泳法我们看到,照射后免疫动物血清中所含丙种球蛋白量较正常动物及正常免疫动物皆少,见图 6。

## 摘 要

以磷酸铝吸附白喉类毒素为抗原,给大白鼠进行两次免疫。一组免疫动物在第 2 次免疫前 24 小时,用 600 伦 X 线全身照射;另组在两次免疫前 24 小时皆照射(第 1 次 400 伦,第 2 次 600 伦),然后与正常动物、正常免疫动物和照射而未免疫的动物对比,观察大剂量电离辐射对淋巴结细胞反应和血凝抗体滴度的影响。

大剂量电离辐射能抑制血凝抗体的生成,经过两次照射的动物,抗体生成完全被抑制,此时淋巴结所受损伤也最严重,淋巴结重量低于未经照射的免疫动物 10 倍左右,细胞总数下降约 100 倍。从淋巴结涂片中可以看到淋巴细胞减少最为明显。网状细胞、过渡浆细胞及浆细胞数目也都比未照射的免疫动物明显减少,但与未免疫动物相比,这 3 种细胞的减少不显著。

经 1 次照射的免疫动物,在免疫后 7 天取材观察,其血凝抗体效价比 4 天取材观察者增高 30—40 倍。此时脾窝淋巴结的重量稍有增加,浆细胞系细胞的数目亦有增加。经过两次照射的动物大部分在 7 天以内死亡,由个别存活动物看来,其淋巴组织仍处于严重损伤状态。

文中就大剂量电离辐射抑制免疫反应的作用环节问题进行了讨论。

## 参 考 文 献

- [1] Лебединский, А. В.: О влиянии ионизирующего излучения на организм животного, в КН. «Действие Облучения На Организм», с. 43, 1955.
- [2] Talmage, D. W.: *Ann. Rev. Microbiol.*, **9**:335, 1955.
- [3] Taliaferro, W. and Taliaferro, C.: *J. Immunol.*, **66**:181, 1951.

- [4] Киселев, П. Н. и Бузини, П. А.: *Мед. радиол.*, 1960, 36.
- [5] Makinodan, T. and Gengozian, N.: *X-ray depression of the recognition mechanism of antibody-forming cells*, in "Mechanisms of Antibody Formation", 1960.
- [6] 杨贵贞等: 吉林医科大学学报, 4:1, 1961.
- [7] 朱寿彭: 微生物学报, 8:298, 1962.
- [8] Wormald, D. S.: *Brit. J. Radiol.*, 28:325, 1955.
- [9] Jaroslow, B. N.: *Radiation Research*, 3, 1955.
- [10] Бузини, П. А.: *Дисс., Л.*, 1955.
- [11] Wissler, R. W.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, 50, Suppl. 1:265, 1957.
- [12] Leduc, E. H. et al.: *J. Exp. Med.*, 102:61, 1955.
- [13] Dixon, F. J. et al.: *J. Exp. Med.*, 105:417, 1957.
- [14] Yoffey, J. M. 引自 Hulse, E. V.: *Brit. J. Haemats*, 9:376, 1963.
- [15] Sterzl, J.: *Успехи современной биологии*, 51(3): 337, 1961.
- [16] Taliaferro, W. H. & Jaroslow, B. N.: *J. Inf. Dis.*, 107:341, 1960.

## THE INFLUENCE OF IONIZING RADIATION ON THE CELLULAR RESPONSE IN THE LYMPH NODES OF RATS AFTER IMMUNIZATION

YANG KUEI-CHEN, CHANG SHAO-LUN, LI HSING-CHUN, WU KEH-LI,  
PENG TA-TSAI AND WANG CHEN-HAI

(Department of Microbiology, Kirin Medical Institute, Changchun)

Rats were immunized with two doses of diphtheria toxoid. One group of animals was exposed to irradiation of 400 r. 24 hrs. before the primary immunization. Another group received an additional 600 r. 24 hrs. before the secondary immunization.

In both groups, the production of hemagglutinin suffered marked depression. In twice irradiated rats, the depression was complete, and the disturbance observed in the lymph node tissue was extensive. The weight of the lymph nodes and the number of cells in cell suspension decreased by roughly 10 and 100 times respectively. It was demonstrated in lymph node smears that the decrease in number was by far the most remarkable with the lymphocytes. Compared with rats immunized without irradiation, the irradiated animals showed a much greater diminution of the numbers of reticulocytes, transitional plasma cells and plasma cells after immunization.

In rats immunized after only a single dose of radiation, the hemagglutinin titre on the 7th day became 30—40 times as high as that on the 4th day. The weight of the popliteal lymph node was somewhat greater on the 7th day than on the 4th day, and such was also the case with cells of the plasmacyte series. On the other hand, in the group of animals irradiated two times, the majority died off in the 7th day; but, observation of the occasional survivors suggested that the lesion in the lymph nodes was still active.