小鼠受三种超致死剂量照射后小脑的超微结构变化

潘传敬* 指导者：晏良遂 程天民

（病理解剖教研室）

提 要

本文研究小鼠受^{60}Co γ线4000、8000和16000拉德全身一次照射后小脑的组织学和超微结构变化。发现最突出的变化是颗粒细胞核发生皱缩，仅个别细胞发生坏死。1600拉德组发生明显的中枢神经系统症状，颗粒细胞核皱缩率达44.95%，肯定属脑型放射病；8000拉德组可能属脑型和肠型间的中间型；4000拉德组尚未达到脑型损伤的程度。颗粒细胞皱缩，不同于核固缩，具有一定的超微结构特征，并经证明是可以恢复的。在恢复过程中出现核仁，游离多聚核蛋白体显著增多，高尔基复合体十分发达，标志着细胞功能趋于活跃。这表明小鼠小脑颗粒细胞对射线具有很大的抗力。小脑小血管也发生病变，但对颗粒细胞退变坏死似无影响。

用战术性核武器，可使敌方发生肠型、脑型放射损伤而迅速丧失战斗力和大量伤亡[1]，因而日益引起人们的重视。一些研究表明，脑型放射病的病理变化波及全脑，以小脑、特别是颗粒细胞的病变较为突出[2]。以往文献以光镜观察较多，电镜研究较少，对全身照射后颗粒细胞的动态变化，更少报导。本文以三种超致死剂量照射小鼠，着重观察小脑组织，尤其是颗粒细胞的超微结构变化及其演变过程，希能为阐明脑型放射病的病变特点，有所帮助。

材料和方法

用成龄小鼠50只，分设三个实验组，每组15只，分别受^{60}Co γ线全身一次照射4000、8000和16000拉德，剂量率288拉德/分。另5只作正常对照组。照后观察动物表现并于5、12和24小时各对5只小鼠在乙醚麻醉下开颅取小脑组织作电镜和光镜观察。电镜材料按常规制样；光镜材料除H.E染色外，部分并作了神经纤维、髓鞘和甲基绿-派洛林等特殊染色。光镜观察小脑病理组织学改变，计算核皱缩细胞的百分比，并作统计学处理。为观察动物运动功能变化，用长30厘米、直径0.8厘米的圆形光滑小木棒架成高于实验桌面20厘米的“独木桥”，照射前和照射后让动物从一端沿独木桥向另一端爬行，同时慢慢滚动小木棒，观察其是否能通过或中途掉下。

观察结果

1. 照后动物的表现和症状

经16,000拉德照后，动物先烦躁不安，以后萎靡、嗜睡，对外界刺激反应迟钝。照

* 病理解剖教研室研究生

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

后5小时有的动物出现步态蹒跚，肢体瘫痪；有的全身颤动，头不停地摆动；有的发生抽搐。照后12和24小时动物明显衰弱，有的濒于死亡。不能通过独木桥的动物数明显多于其他剂量组和对照组($P<0.05$)。8,000拉德和4,000拉德组未出现神经症状。

2．光镜观察所见

16,000拉德照后5小时小脑分子层、颗粒层和髓质厚度比例无明显改变，蒲肯野细胞和分子层散在的细胞无明显变化，突出的改变是颗粒层（图1），表现为单个或成团的颗粒细胞核染色质致密、深染，核膜粗糙或模糊不清，核体积稍缩小，形状变为不规则。这一现象本文称之为核皱缩。在颗粒细胞中，显核皱缩者占47.75%。有时可见少数细胞坏死。未见到中性白细胞、巨噬细胞等浸润。照后12和24小时核皱缩分别占36.09%和39.82%（本剂量组总发生率为44.95%）。未见颗粒细胞数目减少或排列稀疏现象。照后24小时，派洛林染色显示颗粒细胞核内有红染的细小颗粒（核仁）。8,000拉德组颗粒层仅见少数（15.53%）皱缩的颗粒细胞散布在正常细胞之间，未见细胞坏死。4,000拉德组颗粒层仅见个别(7.80%)皱缩的颗粒细胞。对照组小脑颗粒层可见个别（5.77%）颗粒细胞有核浓染现象。除4,000拉德组与对照组之间无差异($P>0.05$)外，各组之间差异非常显著（$P<0.01$）。

3．电镜观察所见

（1）16,000拉德组

照后5小时光镜所见核皱缩的颗粒细胞，在电镜下呈现以下超微结构变化：①颗粒细胞核显著皱缩，失去原有形状，变为多角形或不规则形，有的形成锯齿状切迹；核体积稍缩小，核内块状异染色质增多，并占据核的大部，有时形成大块状染色质，核液电子密度增加（图2）；②核周间隙通常增宽，形成0.1—0.3微米宽的电子透明带，它围绕着电子密度加深的核。外层核膜常突向胞质；③细胞质基质电子密度常增加，线粒体显不同程度肿胀、嵴减少、断裂。也常见到颗粒细胞的核发生上述改变，而胞质内细胞器如线粒体、内质网、高尔基复合体等仍呈正常状态。

少数颗粒细胞发生坏死，核固缩而形成电子密度很深的团块或碎块（图3）。有的细胞则严重肿胀，核染色质大部溶解。

受损较轻的颗粒细胞，除核膜有卷曲或呈波浪状外，核无明显改变。胞质部分显疏松、空化，有时可见线粒体肿胀。

分子层兰细胞和星形细胞可有轻度退变。蒲肯野细胞除少数线粒体有肿胀外，其它结构未见异常。小脑神经髓鞘常显各层疏散、电子密度减少和均质化，并有多数空泡形成。轴索也常见水肿、空泡变性。小脑胶质细胞和小血管也有明显变化。小胶质细胞和少突胶质细胞发生核固缩等改变。星形胶质细胞则表现为胞质严重肿胀，细胞器溶解、消失，核常显肿胀，染色质溶解；胞突的变化与胞体相似。由星形胶质细胞胞突包绕小血管外周的胶质膜明显肿胀而挤压血管，使其变形；血管基底膜变厚可达0.65微米；有的内皮细胞胞质肿胀、疏松，有空泡形成，线粒体显退变（图4）；有的内皮细胞形成很多微形突起，腔面显得很不规则。

照后12小时不少颗粒细胞的核已变成卵园形，块状异染色质增多现象不如以前明显，但仍可见较多的浅切迹，核液电子密度较深；有时核内可见到核仁（图5）；胞质中核蛋白体增多，并见较发达的高尔基复合体。有的核仍与5小时者相似。坏死的颗粒细胞已很少见到。其它与5小时者无明显差别。

照后24小时，显皱缩的颗粒细胞核虽然电子密度仍较深，但形状大多呈卵园形或园形，核凹陷变浅，核内块状染色质较前减少或接近正常，颗粒状物周界较清楚，核液电子密度基本恢复正常；同时核周透亮的环状

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

间隙变窄；细胞核内常出现直径0.4～0.75微米的园形或椭园形中等致密的结构（其中散在着电子密度较深的区域），这即为核仁（图6）。这时细胞质的一个显著特点是游离多聚核蛋白体明显增多，散布于整个胞质（图7），也有少数核蛋白体附于核膜和内质网上。核附近的高尔基复合体高度发达，大泡小泡丰富，扁平囊泡增多，并可见到其末端扩张形成分泌颗粒的现象（图8），有时还可见两副高尔基复合体相邻。胞质中其它细胞器与正常者无明显差别。有些显上述形态的细胞（有核仁，胞质中游离多聚核蛋白体增多和高尔基复合体发达），其核仍呈皱缩状态。颗粒层未见到细胞坏死、数目减少和排列稀疏现象。其它变化与5、12小时者相似。

（2）8,000拉德组

小脑颗粒细胞中发生核皱缩的为数少，程度轻，未见坏死、崩解现象，有的胞质内可见核蛋白体增多和高尔基复合体发达的现象。其它如血管、胶质细胞、神经髓鞘等变化与16,000拉德组相似，但程度较轻。

（3）4,000拉德组

偶见颗粒细胞显核皱缩，有时可见少数颗粒细胞胞质疏松、线粒体肿胀等改变，其它结构未见异常。

（4）对照组

颗粒细胞是小脑中数量最多的神经细胞。核园形或卵园形，两层核膜绕核平行排列，核染色质呈细颗粒状或聚集成小块，核内未见核仁，核液透亮。胞质少，呈窄环状围绕着核。细胞器稀少，胞质电子密度低。小脑其它神经细胞和结构无异常。

讨　论

1．小鼠受16,000拉德照射后，出现较明显的中枢神经系统症状，小脑颗粒细胞发生了显著病变。颗粒胞细核皱缩发生率达44.95%，明显高于8,000、4,000拉德组，更高于对照组（$P<0.01$）；不能通过“独木桥”的例数也明显多于其它各组（$P<0.05$），因此这组小鼠无疑地发生了脑型放射病。受8,000拉德照射后，没有出现中枢神经系统症状，但小脑颗粒细胞有15.53%发生核皱缩，与对照组有非常显著的差异（$P<0.01$），其放射损伤的程度可能属于介乎脑型和肠型的中间型。至于4000拉德组，显然没有发生脑型放射病。

2．从观察结果可知，小鼠受16,000拉德全身一次照射后，小脑颗粒细胞约半数无明显形态变化，另半数中仅少数陷于坏死，其余的主要的形态变化为核皱缩，以后则核由小逐步增大到正常大小，形态由不规则变为卵园形或园形，切迹由深变浅，核液电子密度由深变浅，块状染色质由增多到正常，核周间隙由宽变窄。简言之，核由皱缩倾向于逐步恢复正常。在这种演变过程中也见到不同的过渡现象。核仁的出现标志着细胞蛋白合成增加、功能活跃。这与胞质的表现完全一致，即胞质内游离多聚核蛋白体增多，意味着蛋白质合成功能加强，藉以修复放射损伤所造成的颗粒细胞损伤。高尔基复合体发达等改变可能意味着神经介质分泌的恢复或加强。线粒体常显正常，为上述细胞活动提供能量。这些说明在16,000拉德全身照射后受损的小鼠小脑颗粒细胞大多数是可恢复的。可见这种小鼠的小脑颗粒细胞对射线的抗力是相当大的。

以上说明了显核皱缩的颗粒细胞虽有明显的变化，但不是坏死性的，而是可恢复的、可逆性变化。颗粒细胞这种可逆性变化——核皱缩与核固缩（坏死性变化）不同，后者核完全失去正常结构，变为电子密度很深的团块，同时胞质的变化与显核皱缩者（大多有正常的线粒体，丰富的游离多聚核蛋白体和发达的高尔基复合体）也截然不同，胞膜失去完整性，细胞器常溶解、消

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

失。因此，本文所称的核皱缩与核固缩是两种性质不同的病变。文献中对脑型放射病时的小脑颗粒细胞病变多称为“核固缩”，而有的又称这种病变可能恢复[3][4]。按病理学概念，核固缩即细胞发生坏死，坏死细胞当不能恢复，因而这种论述是不确切和含糊的。

如前所述本组动物也可见到少数细胞坏死，显核固缩或核溶解，而固缩的核多极不规则，这可能是少数受损较重的颗粒细胞先经过核皱缩的阶段进而坏死的缘故。若更高的剂量照射，颗粒细胞坏死可能更为突出。

3．如上述16,000拉德照后小鼠小脑超微结构的观察发现皱缩颗粒细胞核内常出现中等电子密度的园形或卵园形颗粒状结构，即质致密无网状结构的核仁。细胞内的核仁可以两种形式存在，一种呈典型的网状结构，大多数核仁作这种形态；另一种是核仁物质不作网状，而形成一致密的小体[6]，上述皱缩颗粒细胞在恢复过程中出现的核仁属于这一种。Olsen等[7]观察正常人小脑皮质，颗粒细胞无核仁存在。Alvord等[3]也认为颗粒细胞没有明显的核仁可见。在本实验的对照组小鼠小脑颗粒细胞核中也未见到核仁。然而在射线照射后小鼠小脑皱缩颗粒细胞恢复中核内发现核仁，表明颗粒细胞核内制造RNA功能加强，反映了这种细胞蛋白质合成旺盛、功能活跃，以调节受损颗粒细胞的修复和神经介质的分泌等，有利于它们的修复和功能恢复。

4．有文献[5][8]认为脑型放射病时颗粒细胞所以发生坏死，除了射线的直接作用外，血管损害也起作用。本实验在16,000拉德组小脑血管发生的改变，其形态表现与他们观察到的相似，但颗粒细胞却很少发生坏死，相反受损的颗粒细胞还倾向于恢复，且出现上述合成蛋白功能增强的现象。这说明血管病变至少未引起足够的血液循环障碍，以致阻止受损颗粒细胞的恢复，更难证明其能成为导致细胞死亡的因素之一。

参考文献

1．程天民：对核武器减员问题的初步探讨。《人民军医》1979，卫勤学术增刊1期 16—25页

2．潘传敬：电离辐射所致动物小脑的病理变化。第三军医大学《国外医学资料》1982，2:21

3．Alvord EC, Brace KC: X-ray induced pyknosis of cerebellar granule cells in guinea pigs and its suppression by barbiturate annesthesia. J Neuropath-Exper Neurol 1957, 16:3

4．Haymaker W, et al: The effects of Barium^{140}-Lanthanum^{140}(gamma) radiation on the central nervous system and pituitary gland of Macaque monkeys. J Neuropath-Exper Neurol 1958, 17:12

5．Treip CS, Divita G: Histopathology of the cerebellum medulla and labyrinth of Xenopus laevis after high doses of total body acute irradiation. J Neuropath-Exper Neurol 1966, 25:296—310

6．Ghadially FN: Ultrastructural pathology of the cell. A text and atlas of physiological and pathological alteration in cell fine structure. p36 nucleolus structure and variation in size shape and numbers. London, Bostom, 1978

7．Olsen SD, et al: The fine structure of granular layer in human cerebellar cortex. Acta Neurol Scand 1962, 38:81

8．郭颜等：致死及超致死剂量射线作用下狗各型放射病的超微结构变化。1979（未发表）

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The Ultrastructural Changes in Cerebellum of Mice Exposed to 3 Ultra-lethal Doses of Irradiation

Pan Chuanjing

Director Yan Liangsui, Cheng Tianmin

(Department of Pathology, Third Military Medical College)

The histological and ultrastructural changes in cerebellum of mice exposed whole-body irradiation with high doses of ^{60}Co γ-ray were studied in this paper. The animals suffered from acute radiation sickness of CNS form, intermediate form and intestinal form after 16000, 8000 and 4000 rads irradiation respectively. The nuclear shrinkage of the cerebellar granular cells was the most prominent change after irradiation. The cellular necrosis was found only in individural cells. The shrinkage of nucleus, different from necrosis, with characteristic ultrastructural features, tended to recover as manifested by the appearance of nucleolus, increase of free polysomes and well development of Golgi apparatus. It was considered that the cerebellar granular cells were rather resistent to the radiation. Some pathological changes of small blood vessels in cerebellum were also observed, but was not responsible for the degeneration of the neurons.

关于淋巴结反应性增生与恶性淋巴瘤组织学鉴别诊断的探讨（摘　要）

朱梅刚　高广正

（第二附属医院　病理科）

本文鉴于淋巴结反应性增生与恶性淋巴瘤组织学鉴别诊断的困难。特通过对90例淋巴结反应性增生病例作以下的几项观察：（1）淋巴滤泡的分布、外壳、生发中心细胞组成和分期；（2）滤泡外淋巴组织组成细胞、淋巴窦的改变；（3）滤泡内外小血管、网状纤维的分布与数量变化；（4）淋巴结包膜外炎细

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

小鼠受三种超致死剂量照射后小脑的超微结构变化 （正文见第19页）

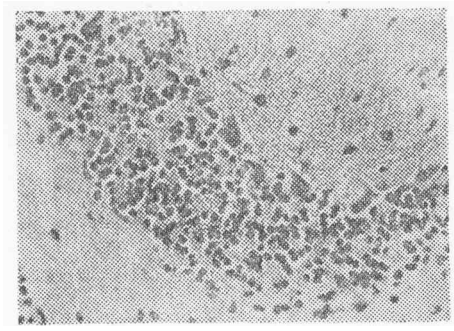


图1 小脑部分颗粒细胞核缩小，深染，形状不规则。分子层基本正常，有的蒲肯野细胞有轻度变化。16,000拉德 照后5小时 H.E×380

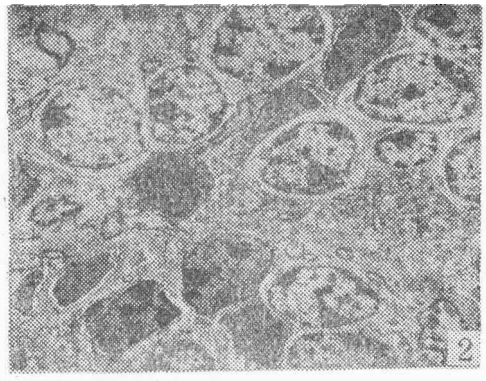


图2 16,000拉德照后5小时可见数个显核皱缩的颗粒细胞，核形状不规则，块状染色质增多，核液电子密度增加，核周间隙增宽。胞质中线粒体等无异常。其它颗粒细胞显正常 ×4600

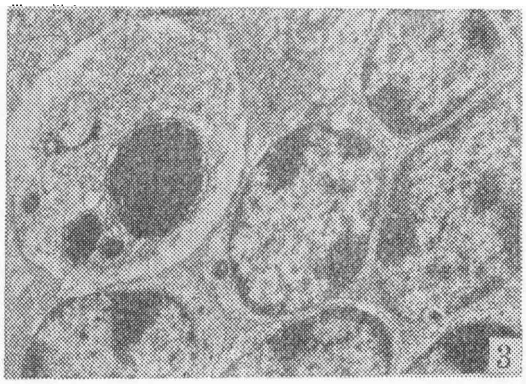


图3 左上为发生固缩的颗粒细胞核，成为电子密度很深的团块。胞质肿胀，细胞器空化。周围的颗粒细胞改变不明显。16,000拉德 照后5小时 ×9000

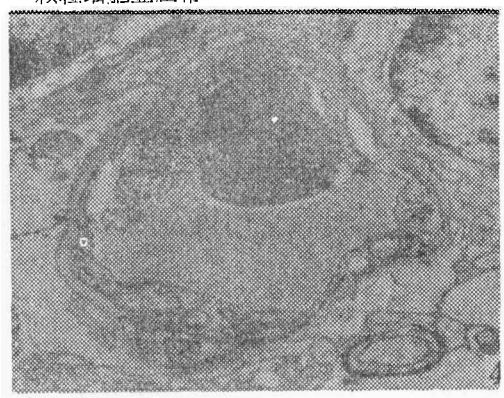


图4 颗粒层毛细血管内皮细胞肿胀，胞质较疏松，形成多数空泡，有的线粒体肿胀，血管基底膜增厚，其外周的胶质膜明显肿胀。16,000拉德 照后5小时 ×18,000

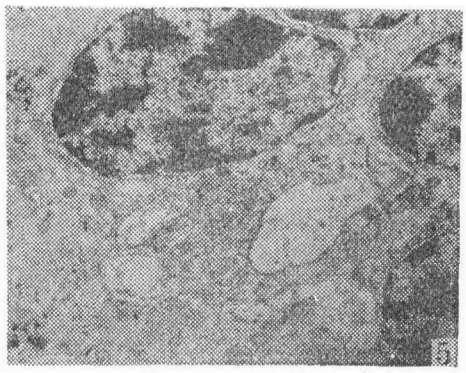


图5 16,000拉德照后12小时颗粒细胞核呈卵圆形，块状染色质稍显增多，核切迹浅，核液电子密度基本正常，核周间隙较窄。胞质中核蛋白体增多。右下方皱缩细胞核内有核仁。 ×12,000

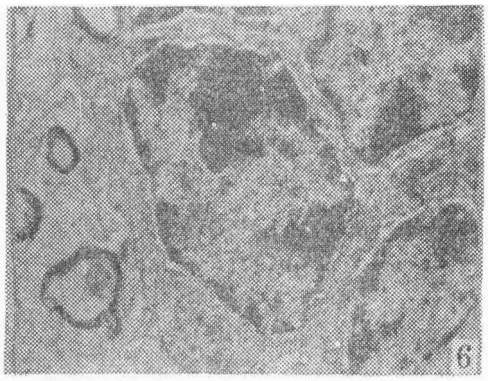


图6 16,000拉德照后24小时颗粒细胞核呈卵圆形，切迹浅，核内块状染色质接近正常，核中心靠块状染色质处有一卵圆形中等致密的核仁，其内有散在电子密度较高的区域。胞质内线粒体显正常，核蛋白体增多。 ×20,000

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

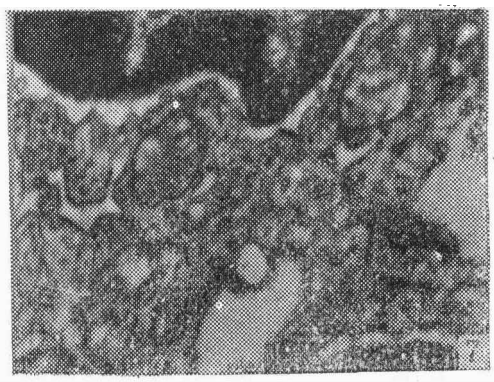


图7　16,000拉德照后24小时高倍观皱缩颗粒细胞内增多的游离多聚核蛋白体，呈星状分布于胞质。　×43,000

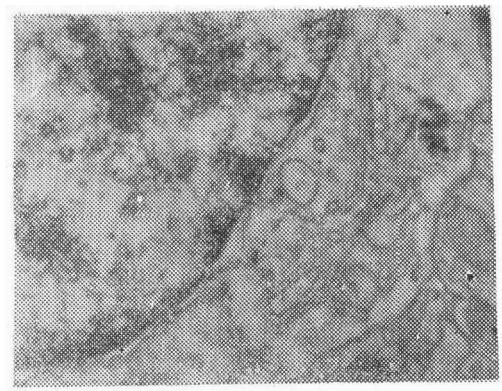


图8　16,000拉德照后24小时颗粒细胞外核膜呈锯齿状，核附近有两副发达的高尔基复合体相邻，上边的一副扁平囊泡末端扩张，有形成分泌颗粒的倾向。　×29,000

大鼠脑干向小脑核的纤维投射—HRP法研究（正文见第25页）

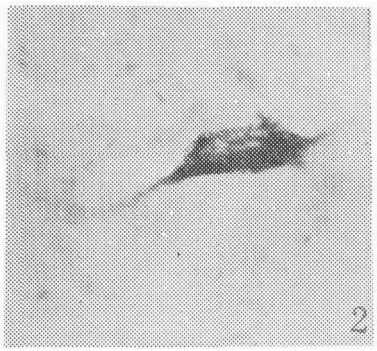


图2　前庭神经脊核HRP标记细胞，明视野，　×400

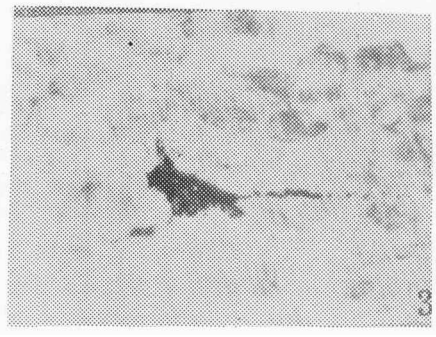


图3　兰斑核HRP标记细胞，明视野　×400

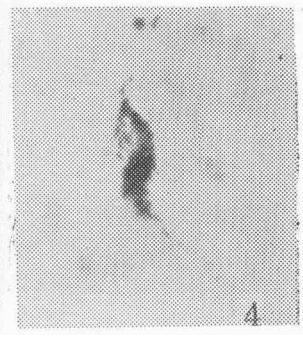


图4　中缝隐核 HRP 标记细胞，明视野，×400

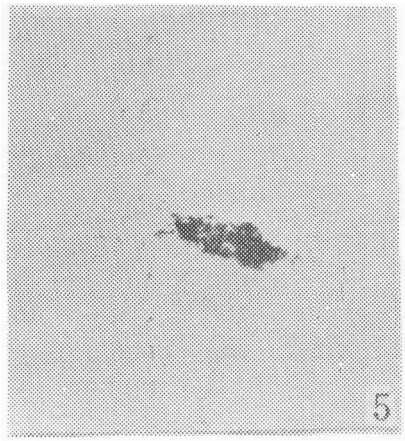


图5　桥核HRP标记细胞，明视野，　×470

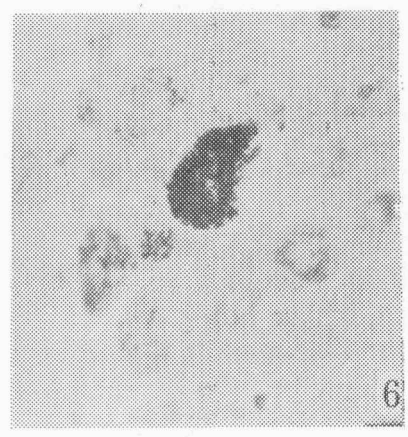


图6　前庭神经节HRP标记细胞，明视野，　×470

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net