DOI:10.16016/j.1000-5404.1980.02.005

验多出现较高的抗体滴度；感染后38天、79天及3个月成蜱粪便材料接种小白鼠或豚鼠均可查见立克次体并测出Q热特异性抗体；实验研究还证明铃头血蜱成虫感染后在37天和3个月分别使之叮咬健康兔子，能使兔子获得感染。

铃头血蜱感染Q热立克次体后，其下一代的幼虫和稚虫、稚虫的粪便，均能证明仍携带Q热立克次体，小白鼠脾脏印片查见立克次体，豚鼠补体结合试验阳性，以其幼虫叮刺健康兔子，能使动物感染Q热，一直到第二代成虫及其成虫的粪便均能证明仍携带Q热病原体。我们从这些实验的材料说明：

1．铃头血蜱对Q热立克次体是极易感染成功的，感染后不同的时间进行分离，成批的或单只蜱均很易分离出立克次体，成虫、稚虫期均同样敏感，并且其病原体在蜱体内的时间是相当长久的。

2．铃头血蜱感染Q热立克次体后，其病原体可经过卵期而传递给下一代幼虫，由幼虫再传递至稚虫，以至第二代成虫。因此，铃头血蜱是一个储存Q热病原体很好的媒介生物，它在Q热疫源地中必将占有十分重要的地位。

3．感染Q热的硬蜱或其下一代幼虫、稚虫等令期叮刺健康动物，可使动物感染，因而铃头血蜱在Q热的传播上起着媒介昆虫的作用是容易置疑的。

4．铃头血蜱感染后，其成虫、稚虫的粪便从感染后38天、79天直至3个月均很易自其粪便中分离出立克次体。在自然界，蜱的粪便连同病原体，不断地由体内排出体外，以至造成自然界环境的污染。这在Q热的传播与流行上，将起着更为重要的作用。

参 考 文 献

1．刘连珠等　流行病学杂志(3):192，1979
2．俞树荣等　医学科研资料(6):24　七医大　1974
3．邓国藩　中国经济昆虫志（蜱总科）科学出版社　1978
4．冯学惠　国外军事医学参考资料第五分册(5):1，1973
5．Arthur D. R. Tick and Disease 1962
6．Smith. K. G. V. ed Insects and other Arthropods of Medical Importance British Museum 1973

淋巴细胞离体照射后对PHA反应的剂量—效应关系

卫生系防原教研室　罗成基　施　炎　曾杰莉　冉新泽

正确地估计人员全身受照射的剂量，无论在战时对急性放射病的诊断或是平时对核事故损伤程度的判定，都是非常重要的。早年测量人员受照剂量，多采用物理方法（即各种剂量仪）。但实践证明，这种物理测量方法受到很多因素的影响，误差较大，往往不能正确地反映人员所受的吸收剂量。所以，近年来大家的兴趣都关注着“生物剂量仪”。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

大量实验证明，染色体畸变率是较好的“生物剂量仪”，但由于实验程序过于复杂，且镜下观察有一定误差，故限制了它的广泛使用。

外周血淋巴细胞在非特异性抗原—植物血球凝集素（PHA）刺激下，可以转化成淋巴母细胞，在转化过程中细胞进行着积极的DNA合成。射线可抑制淋巴细胞的转化，并且转化抑制的程度与受照剂量有一定关系。但是，关于这方面的工作目前存在着不同的看法。

本研究工作的目的在于探索不同剂量照射后淋巴细胞对PHA反应的抑制情况，以及不同照射时间和不同培养时间对实验结果的影响，为把淋巴细胞对PHA的反应作为辐射生物剂量仪提供依据。

材 料 和 方 法

健康供血者静脉血肝素抗凝，以^{60}C。γ-线离体照射0、5、50、100、250、500、1000、2000、3000仑（距离80公分、剂量率47.1仑/分），照后立即进行全血微量培养：全血0.3毫升＋TC—199培养基4毫升＋小牛血清1毫升＋PHA（广东鸡子豆酒精乙醚精提，生理盐水溶解成1%）0.1毫升，37℃孵育72小时。终止培养前12小时，加入^{3}H—TdR 2微居里/0.15毫升。样品经三氯醋酸和过氯酸处理后，进行液体闪烁测量。结果分别以cpm及对照（0剂量点）的百分数表示。数据经变异数分析统计处理。

为观察细胞在PHA刺激前后照射对掺入率的影响，采用100、1000和3000仑三种剂量。照射分别在PHA加入前2小时、PHA加入前立即或PHA加入后2小时进行。培养时间72小时。

为观察不同孵育时间对掺入率的影响，采用100、1000和3000仑三种剂量。照后立即培养，孵育时间分别为24、48、72或96小时。

结 果

一、不同剂量照射对^{3}H—TdR掺入量的影响

正常人静脉血离体照射不同剂量，^{3}H—TdR掺入计数受到不同程度的抑制。在5—3000仑剂量范围内，随着照射剂量的增加，掺入计数逐渐减少。经变异数分析统计处理，F值＝24.21，P＜0.01，所以各剂量组间差别非常显著（表1）。用最小二乘法求得，当以cpm表

表1 人血体外不同剂量r线照射后^{3}H-TdR掺入值（均数单位：cpm）

组 别	样 品	^{3}H-TdR 数掺入值（均数标准差）	相当对照均数%
对照（0仑）	8	49616±17046	100
5仑	7	43521±13127	95.3
50仑	7	38133±14596	81.6
100仑	6	34045±14382	71.1
250仑	7	30139±12574	67.0
500仑	7	18811±7250	42.0
1000仑	7	11275±4763	23.3
2000仑	7	4736±2508	9.8
3000仑	7	2644±1650	5.4

变异数分析：　F＝24.21　P＜0.01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

示的掺入计数换作对数时，与照射剂量呈线性关系，log ŷ = 4.5591 − 0.000408X（图1）。

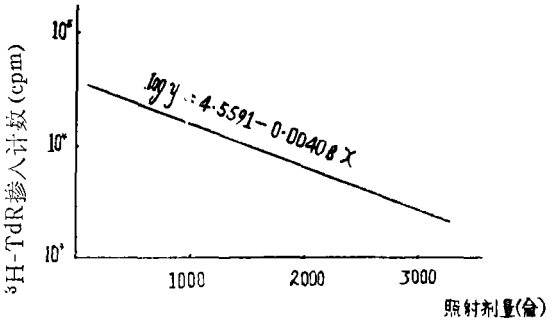


图1　^{3}H—TdR掺入计数与照射剂量的关系

如将各剂量点^{3}H—TdR掺入计数换算成对照（0剂量点）的百分数，则可得到引起^{3}H—TdR掺入率下降50%的^{60}C。γ-线剂量为449仑（图2）。

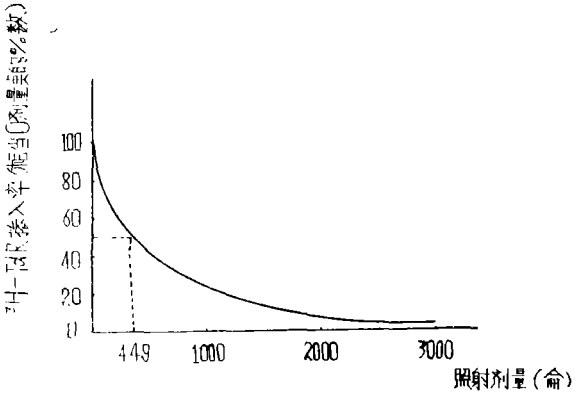


图2　^{3}H—TdR掺入率与照射剂量的关系

二、不同照射时间对^{3}H—TdR掺入量的影响

无论是PHA加入前2小时、加入前立即或加入后2小时，照射不同剂量（100、1000、8000仑），都可见到随照射剂量的增加^{3}H—TdR掺入量呈比例下降。如以掺入量相当于对照百分数的对数作纵坐标，以受照剂量为横坐标，则三种照射情况掺入百分数与剂量呈比较好的相关（表2）。

表2　不同照射时间下^{3}H-TdR的掺入率（%）及其与剂量的相关系数

照射时间		PHA刺激前2小时	PHA刺激前立即	PHA刺激后2小时
相当于照前的掺入率	100仑	93.19	89.94	82.68
	1000仑	30.29	28.06	21.69
	3000仑	6.21	6.59	9.11
* 回归方程		$\log y = 1.974 - 0.000403X$	$\log y = 1.957 - 0.000392X$	$\log y = 1.899 - 0.000338X$
相关系数r		−0.99	−0.99	−0.95
显著性		$P<0.01$	$P<0.01$	$0.05>P>0.01$

* y：相当于照前掺入率　　X：照射剂量（仑）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

三、不同培养时间对^{3}H—TdR掺入量的影响

血样分别以100、1000和3000仑照射后立即进行培养，孵育不同时间，其掺入率有明显的不同（表3）。在低剂量（100仑）照射时，随培养时间延长掺入率逐渐增加，但在高剂量（1000及3000仑）照射时，随着培养时间的延长，^{3}H—TdR掺入率有明显的降低(图3)。

表3　不同培养时间对照后^{3}H-TdR掺入率（%）的影响

	培养时间（小时）			
	24	48	72	96
100仑	78.89	84.81	87.69	94.33
1000仑	61.02	44.60	30.01	10.85
3000仑	43.22	18.60	11.61	4.69

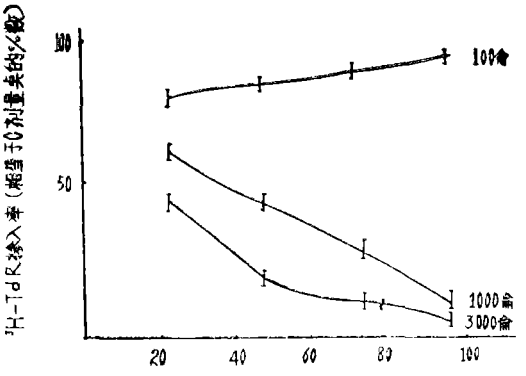


图3　三种剂量的照射后培养不同时间^{3}H—TdR的掺入率

讨　论

外周血淋巴细胞在体外培养时，受PHA的作用可以向淋巴母细胞转化。A. B. Rickinson等（1970①发现，^{60}C。γ-线照射以后，淋巴细胞对PHA反应的抑制，在250-2000拉德范围内，有较明确的关系。C. W. Song 等（1973)② 提出，在照射剂量小于1000拉德时，母细胞样变化发生的时间或程度，都有明显改变。J. L. Moore等（1974)③ 的结果，淋巴细胞转化率未照射动物为73.5%，3600拉德照射后下降到3.5%。苏州医学院（1977）④曾用X线及γ线不同剂量照射离体血，证明250—1000拉德照后淋巴细胞转化率呈线性下降。但不少文献提出了相反的结果，如：Schrek等（1964）⑤证明，体外照射后血液淋巴细胞的PHA反应没有明显地减少。P. A. Conrad等（1969）⑥用300仑体外照射人淋巴细胞，没有产生显著影响。Sato. O等（1970）⑦报导了类似发现，用300拉德体外照射人淋巴细胞，未发现任何效应。C. W. Song等（1975）⑧用1000拉德照射大鼠血液，淋巴细胞没有明显地抑制。不同学者所得到的淋巴细胞对PHA反应结果不同的原因有二：①各人采用了不同的操作

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

方法⑨；②用于判断淋巴细胞反应的标准不一样⑩。我们的实验用微量全血体外培养，以^{3}H—TdR掺入液闪测量，证明在5～3000仑剂量范围内，随着照射剂量的增加掺入率逐渐减少，有比较好的线性关系。经统计处理差别非常显著。

小淋巴细胞不用PHA刺激，500仑照后10小时即开始死亡，40小时可丧失细胞的95%。但PHA处理的淋巴细胞能活存较久，加入PHA照后40小时才开始减少。这证明了小淋巴细胞死亡的原因与PHA处理的淋巴细胞死亡原因不同⑪。用^{3}H标记的PHA通过放射自显影证明，PHA定位于与细胞代谢关系密切的胞浆线粒体中，PHA的作用是和它能增加细胞代谢的作用有关⑥。在淋巴细胞培养中，辐射引起^{3}H—TdR掺入的减少，主要是起因于细胞向S期移动的抑制，而不是对细胞DNA合成能力的损伤①。也有人认为，照射后淋巴细胞对PHA反应的减少是循环池中胸腺依赖淋巴细胞数的减少⑫或T淋巴细胞损伤的结果⑧。最近S. Matsubara (1979) ⑬用培养基来冲洗放疗病人的或体外照射的外周血淋巴细胞，改善了对PHA的反应能力。因此提出，照后淋巴细胞活动能力的缺陷是由于照射引起的淋巴细胞膜的改变。

许多著者认为细胞免疫反应在抗原致敏前给予照射，敏感性较大。也就是PHA刺激的淋巴细胞要比未用PHA刺激的淋巴细胞有更强的辐射耐受性⑭。但是我们的实验，无论血样是在PHA刺激前2小时、PHA刺激前立即或PHA刺激后2小时照射，都使^{3}H—TdR掺入量的抑制与照射剂量的加大有较好的相关。采用不同照射时间，在三种照射剂量都未见到PHA刺激以前或以后照射有何明显差异。R. A. Conard的解释是：无论在照射前或照射后，PHA仅对触发转化过程是必需的。而对后是不需要的。在照射后甚至几小时后给予仍然有效，尽管有放射损伤存在，在较迟的时间淋巴细胞仍能对PHA刺激发生反应。P. L. T. Ilhery等(1971)⑮也证明，同样剂量照射不管是新鲜取出的全血还是培养基中的淋巴细胞，都能产生大约相同的淋巴细胞对PHA反应的抑制。W. C. Dewey (1976) ⑯用马外周血离体照射，同样证明了淋巴细胞无论在X线照射前或照射后在体外用PHA刺激，都能转化成较大的淋巴细胞。

不同著者进行淋巴细胞体外培养持续的时间长短不一，有认为在一定时间内培养时间越长转化率越高，但超过4～5天则转化率反而下降⑰。P. L. T. Ilhery提出照射可引起DNA摄取前质的抑制，培养时间较长的72小时表现最为明显。A. B. Rickinson也证明，在250～2000拉德范围内，培养48小时及72小时，^{3}H—TdR掺入抑制与剂量的关系比较明确。但C. A. Barnes⑱认为大多数细胞在72小时正是处于第二次分裂，而放射损伤细胞的死亡是发生在第一次分裂。我们的实验证明，在低剂量（100仑）照射时掺入率随培养时间延长而逐渐增加，但在高剂量（1000及3000仑）照射时，却是随培养时间延长而明显降低。淋巴细胞对高低剂量照射的不同反应，可能存在有对辐射不同敏感性的淋巴细胞亚群③⑥⑨。

许多学者都证明了，淋巴细胞体内或体外照射都可以得到同样的结果。J. I. Moore (1976)⑲在照前取出血样，以照射病人同样的剂量进行体外照射，使淋巴细胞接受与体内照射时同样的剂量，可得到与体内同样的PHA掺入率的下降程度。因此本实验所得到的淋巴细胞^{3}H—TdR掺入的剂量—效应关系，在严格控制条件下，在辐射事故时，可用作判断受照剂量的参考。

小　结

应用全血体外微量培养，^{3}H—TdR掺入液闪测量的方法试验了在照射剂量5～3000仑范

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

围内随照射剂量的增加，^{3}H—TdR掺入量呈线性下降。掺入计数与受照剂量的关系可写作：$\log y = 4.5591 - 0.000408X$。引起^{3}H—TdR掺入率下降50%的γ线剂量为449仑。无论是PHA在加入前2小时、加入前立即或加入后7小时照射，未见计数率有明显差异。在三种照射情况下，掺入率与受照剂量都有比较好的相关。在低剂量照射时，随着培养时间的延长，掺入率逐渐增加，而在高剂量照射时，随培养时间的延长，掺入率有明显地下降。推测可能存在有不同辐射敏感性的淋巴细胞亚群。文章还讨论了辐射引起^{3}H—TdR掺入减少的可能原因。本实验所得淋巴细胞^{3}H—TdR掺入的剂量—效应关系，在严格控制条件下，可作辐射生物剂量仪用时的参考。

参 考 文 献

1. A. B. Rickinson, et. al.: The effect of radiation upon lymphocyte respone to PHA Cell Tissue kinet. 4, 549—565, 1971

2. C. W. Song, et al.: Effect of irradiation on PHA induced transformation and replication of Jymphocytes Rad. Ras. 55, 586, 1973

3. J. L. Moore, et al: The Iymphocyte respose to PHA after in vitro irradiation Brit, J. Radiology 47, 297, 1974

4. 苏州医学院卫生系：电离辐射对人血淋巴细胞转化能力的影响 生物化学与生物物理进展 3, 10—15, 1977

5. Schrek. R. et al: Radioresistance of PHA-treated normal and leukemic lymphocytes J. National Cancer Institute 32, 507-521, 1964

6. R. A. Conard, et al: Quantitative study of raoliation clffects ofPHA-stimulated leukocyte cultures Int. J. Rad. Biol. 16, 157-165, 1969

7. Stao, O., et al: Radiation effects of human lymphocyte stimulated by PHA Tohoku Journal cf Expermental Medicine 100, 375, 1970

8. C. W. Song, et al: The Iympocyte response to PHA after in vitro irradiation Brit. J. Radiology 48, 504, 1975

9. 魏康：电离辐射对淋巴细胞转化能力的影响 国外医学放射医学分册 4, 236-241, 1979

10. F. D. Bricarelli, et al.: Lymphocyte respone to PHA after in vitro irradiation Brit. J. Radiology 50, 236, 1977

11. Chikako Sato, et al: Change in the type of radiation cell-killing on human lymphocytes after blact formation by PHA Int. J. Rad. Biol. 18, 483-485, 1970

12. C. A. Chee, et al.: Depresion of lymphocyte replicating ability in radiotperapy patients Birt. J. Radiology 47, 37-43, 1974

13. S. Matsubara, et al.: Effect of washing in the recovery of PHA responsiveness of lomphocytes from patients J. of Radiation Research 20, 32, 1979

14. C. C. Stewart: 辐射对免疫反应的影响 国外医学参考资料 二分册 3, 17, 1976

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

15. P. L. T. Ilbery, et. al.:Blood lymphocyte replicating ability as a measurement of radiation dosage Brit. J. Radiology 44, 834-840, 1971

16. W. C.Dewey, et al : X-irradiation of equeine peripheral blood lymphocytes stimulated with PHA in vitio Int. J. Rad. Biol. 30, 229-246, 1976

17 上海第一医学院病生免疫组：淋巴细胞转化试验 上海医学 4,58, 1978

18 C. A. Barnes, et. al.: From and function of the lymphocyte as a radiation dosimeter and an indicator of immunosuppression The Medisal J. of Australia 1, 369-372, 1971

19. J. L. Moore, et al :Human lymphocyte transpromation by PHA after "In vitro" and "In vivo" irradiation Brit. J. Radiology 49, 567-568, 1976

狗受^{60}Co 200~325拉德六种剂量照射后的病理形态学观察

第三军医大学 史泉森 林 远 程天民 可金星
上海市工卫所 陈思白

在中、重度骨髓型放射病，伤情随所受剂量不同以及同剂量时个体差异的变化比较大。为了研究一定范围不同剂量的损伤效应，我们对200～325拉德六种剂量急性放射病狗的病理形态变化进行了较系统的观察，着重探讨造血机能的损伤和恢复、出血和感染病变，以及主要死因等问题。

实验动物共60只成年杂种雄性狗，体重12.5～18.5公斤。照射钴源11700克镭当量，照射量率86.85伦/分。全身一次照射200、225、250、275、300和325拉德各10只狗。照后系统观察临床表现和血象等变化，自然死亡后即尸检，活存者30天活杀剖检。病理材料均用10%福尔马林生理盐水固定，常规苏木精伊红染色，部分并作了网状纤维等染色。

不同剂量组动物死亡情况见表1。各剂量点的死亡率用karber氏法求得的LD50/30为225拉德，95%可信限为216.7～234.5拉德①。

表1 不同剂量组动物死亡数和活存时间

照射剂量（拉德）	动物数	死亡数	死亡狗平均活存天数
325	10	10	12.15±1.56
300	10	9	14.42±2.02
275	10	10	14.68±2.79
250	10	7	16.07±2.28
225	10	8	16.68±4.62
200	10	0	—

一、造血机能的损伤与恢复

（一）骨髓的组织学变化

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net