

三种小鼠免疫细胞对辐射敏感性差异的比较

吴红英, 王月英, 张恒, 李德冠, 杜利清, 王小春, 路璐, 常建辉, 张俊伶, 翟志斌, 孟爱民

中图分类号: Q691 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2010)02-0152-01

【摘要】目的 对 IRM-2 ICR 615 三种小鼠胸腺 (Th)、脾 (SP) 细胞照射后辐射敏感性的差异进行比较, 探讨 IRM-2 小鼠的辐射抗性 & 免疫学机制。方法 用流式细胞仪检测外周血细胞分型, PA 法 (FITC-Annexin V 和 PI 标记法) 检测 Th、SP 细胞照射后凋亡率。结果 IRM-2 小鼠 CD4/CD8 比值低于 ICR 615 小鼠, CD25/CD4 高于 615 小鼠 ($P<0.05$), 低于 ICR 小鼠; SP 细胞凋亡率 0.14 Gy 低于 ICR 和 615 小鼠, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); Th 细胞凋亡率低于 ICR 和 615 小鼠, 在 4 Gy 照射组低于 615 小鼠 ($P<0.01$)。结论 IRM-2 小鼠的胸腺和脾细胞对辐射不敏感, 辐照后 Th、SP 细胞凋亡率低于 ICR 和 615 小鼠。

【关键词】IRM-2 小鼠; 辐射敏感性; 凋亡; 免疫细胞

Comparison of Radiosensitivity of Immune Cells in Three Kinds of Mice WU Hong-ying, WANG Yue-ying, ZHANG Heng et al. Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science, Tianjin 300192, China

【Abstract】Objective To compare the radiosensitivity of thymus (Th), spleen (SP) cells between IRM-2, ICR and 615 mouse and explore the immunological and radiation resistance mechanisms of IRM-2 mice. Methods The peripheral blood cytotype was determined by flow cytometry. By PA Law (FITC-Annexin V and PI labeling), the apoptosis of Th and SP cells was detected after irradiation. Results CD4/CD8 ratio of IRM-2 mice was lower than that of ICR and 615 mice. CD25/CD4 ratio was higher than 615 mice ($P<0.05$), lower than ICR mice. Apoptosis rate of SP cells exposed to 0.14 Gy γ -ray was lower than ICR and 615 mice, the difference was of statistical significance ($P<0.05$); apoptosis rate of Th cell was lower than ICR and 615 mice, especially 615 mice in 4 Gy irradiated group ($P<0.01$). Conclusion The apoptosis rate of IRM-2 was lower than that of ICR and 615 mice after irradiation. Th and SP cells of IRM-2 mice were not sensitive to radiation.

【Key words】IRM-2 mouse; Radiosensitivity; Apoptosis; Immune Cell

免疫系统对辐射极其敏感, 辐射暴露会导致免疫功能紊乱。IRM-2 小鼠是我所自己培育的近交系小鼠。该小鼠对辐射有较强的抗性, 并对多种移植性肿瘤易感^[1-3], 因此其独特的免疫学特点值得深入探讨。本研究拟对 IRM-2、ICR 615 三种小鼠的 Th、SP 细胞对辐射敏感性的差异进行比较, 进一步研究 IRM-2 小鼠辐射抗性的免疫学机制, 为该小鼠的应用提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 动物和材料 IRM-2 小鼠、ICR 小鼠由本所动物房提供, 615 小鼠由中国医学科学院血液病研究所提供。6~8 周龄, 雄性。RPMI 1640 培养基为美国 Gibco 公司产品。FITC-Annexin V/PI 凋亡检测试剂盒购自美国 Beckman 公司。

1.2 仪器 ¹³⁷Cs γ 射线照射源 (加拿大原子能有限公司, USQ Autocell 40, 剂量率 0.80 Gy/min), 倒置显微镜, Coulter Altima 流式细胞仪 (美国 Beckman), GMaxIM 发光检测仪 (美国 Promega)。

1.3 方法

1.3.1 外周血细胞分型检测 将每只小鼠的外周血样品分别加入抗体标记 (CD4、CD8、CD25、B220、NK1.1) 上流式细胞仪检测。

1.3.2 Th、SP 细胞凋亡测定 Ficol 分离脾细胞, 无菌取小鼠胸腺研磨, 制成细胞浓度为 $10^6/\text{mL}$ 细胞悬液。0.14 Gy 照射, 将照射后的细胞接种于 24 孔板, 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养 6 h 离心收集细胞。细胞使用 Annexin-V 凋亡试剂盒标记后, 流式检测。

1.4 数据统计 结果用 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示, 两组比较用 t 检验, 以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血分型检测结果 (表 1) IRM-2 小鼠的 CD4/CD8 比值低于 ICR 615 小鼠, CD25/CD4 高于 615 小鼠, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 低于 ICR 小鼠, B220 介于 ICR 和 615 小鼠之间, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 三种小鼠外周血分型检测结果

小鼠品系	n	CD4	CD8	CD4/CD8	CD25/CD4	B220	NK1.1
IRM-2	10	25.4 \pm 6.0	20.7 \pm 3.4	1.2 \pm 0.2	4.7 \pm 1.0	31.3 \pm 11.9	1.1 \pm 0.2
ICR	10	31.8 \pm 8.9	13.3 \pm 1.5	2.3 \pm 1.1	5.2 \pm 2.0	42.1 \pm 14.1	0.9 \pm 0.3
615	10	36.6 \pm 12.8	17 \pm 2.7	1.9 \pm 0.5	2.3 \pm 0.7 ¹⁾	25.5 \pm 9.1	0.9 \pm 0.1

注: 1) IRM-2 小鼠与 615 小鼠比较, $P<0.05$

2.2 SP、Th 细胞辐射暴露后 6 h 凋亡检测结果 (表 2) 从表 2 可以看出, IRM-2 小鼠 SP 细胞经 1.4 Gy 照射后其凋亡率分别低于 ICR 和 615 小鼠, 差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$), IRM-2 小鼠 Th 细胞凋亡率亦低于 ICR 和 615 小鼠, 照射剂量在 4 Gy 时与 615 小鼠比较, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

基金项目: 国家自然科学基金 (30770645)、天津自然科学基金 (08JCYBJC07300)、放射所发展基金 (SF0826、SF0825)
作者单位: 中国医学科学院放射医学研究所天津市分子核医学重点实验室, 天津 300192
作者简介: 吴红英 (1974~), 女, 副主任技师, 研究方向: 放射生物学、实验动物学。
通讯作者: 孟爱民, 研究员, 博士生导师。

建设项目放射卫生监督管理有关问题的讨论

谢 华, 胡荣祥

中图分类号: TL75 文献标识码: C 文章编号: 1004-714X(2010)02-0153-02

【摘要】 目的 加强建设项目的放射性卫生监督管理。方法 依据国家的相关法律法规, 在建设项目中放射卫生监督管理时遇到的问题。结果 对照法律法规分析产生问题的原因, 提出解决的方法措施。结论 应完善相关法规, 制定和实施《放射损伤防治管理条例》, 可加强并规范建设项目的放射卫生监督管理。

【关键词】 建议项目; 放射卫生; 管理

放射性职业病危害是职业病危害中的一种, 按职业病危害因素的性质, 放射线本应属于物理因素的一种, 《职业病危害因素分类目录》中, 放射线独立于物理因素之外, 成为一类单独的危害因素^[1]。长期以来, 放射卫生作为卫生监督中的一类也与劳动卫生并列, 《职业病防治法》颁布实施后, 才正式并入职业卫生中, 而且, 职业卫生的含义有时是不包括放射防护的。相对而言, 放射性危害被研究得更加深入, 其防护措施、广大接触放射性危害的人员的受重视程度也比其他职业病危害更严格、更高, 而且, 从放射卫生监督管理的目标来说, 放射卫生也不仅仅局限于从业人员, 也包含了因接近放射性检查或治疗的人员, 以及可能影响到的社会公众, 比职业病防治的意义更宽。从以往看, 包括建设项目的监督管理在内的放射卫生监督管理工作往往也更有效。在很大程度上与放射防护单独发展多年、现行法规的规定和社会公众对核辐射的心理有关。由于放射卫生的特殊性, 建设项目的放射卫生监督管理也有几个问题值得讨论。

1 监督管理依据

1.1 法律依据 2002年实施的《中华人民共和国职业病防治法》在第二章前期预防中对建设项目的审核、审查、验收作出了规定, 但在这一章的最后一条中提出了“国家对从事放射、

高毒等作业实行特殊管理。具体管理办法由国务院制定”。

2003年颁布实施的《中华人民共和国放射性污染防治法》中, 虽然提及了“新建、改建、扩建放射工作场所的放射防护设施, 应当与主体工程同时设计、同时施工、同时投入使用”。但从该法中对应的法律责任条款中可以发现, 相应的监管部门应为环境保护部门, 这里的“放射防护设施”应该属于一种环境保护措施。因而该法不能作为放射性职业病危害建设项目的监督管理依据。

1.2 行政法规依据 1989年国务院颁布实施了《放射性同位素与射线装置放射防护条例》, 此条例在第二章许可登记中对放射工作场所的审批与验收作出了规定。在 2002年以前, 是一项单独设置的行政许可项目, 在 2002年以后, 又可以与《中华人民共和国职业病防治法》规定衔接。

2005年国务院颁布实施了《放射性同位素与射线装置安全和防护条例》, 替代了前述放射性同位素与射线装置放射防护条例》。新的条例以环境保护部门为主导, 其中完全未提及及管理, 当然也未对放射性职业病危害建设项目提出管理要求。

现在, 放射性职业病危害建设项目的监督管理不再有行政法规层次上的规定和依据。2009年 10月卫生部办公厅已在征求《放射损伤防治管理条例(征求意见稿)》(以下简称《条例征求意见稿》)意见, 希望能解决目前存在的问题。

1.3 规章依据 根据 1989年的《放射性同位素与射线装置放射防护条例》, 2002年卫生部的《放射工作卫生防护管理办法》

更广阔的研究领域提供实验材料。

参考文献:

[1] 吴红英, 王月英, 李德冠. IRM-2小鼠移植性肿瘤模型的生物学特性[J]. 中国比较医学杂志, 2008 18(12): 42-44

[2] 吴红英, 王月英, 孟爱民. 三种小鼠骨髓细胞辐射抗性的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2009 19(4): 56-58

[3] 吴红英, 李德冠, 王月英. IRM-2 C57BL/6小鼠 Lewis肺癌模型免疫学特性的比较研究[J]. 中国辐射卫生, 2009 18(1): 38-39

[4] 王芹, 岳井银, 李进. 电离辐射诱发小鼠脾细胞 DNA链断裂及断裂链修复[J]. 中国辐射卫生, 2007 16(1): 17-20

[5] Harrington NP, Chambers KA, Ross WM, et al. Radiation damage and immune suppression in splenic mononuclear cell populations[J]. Clin Exp Immunol 1997 107: 417-424

[6] Cui YF, Gao YB, Yang H, et al. Apoptosis of circulating lymphocytes induced by whole body irradiation and its mechanism[J]. JEP110 1999 18(3): 185-189

(收稿日期: 2009-10-13)

作者单位: 湖北省卫生厅卫生监督局, 湖北 武汉 430079
作者简介: 谢华(1970~), 男, 湖北潜江人, 副主任技师, 从事放射卫生防护工作。

表 2 三种小鼠 SP、Th细胞辐射暴露后 6h 凋亡检测结果

小鼠品系	检测指标	0Gy	1Gy	4Gy
IRM-2	SP	6.2±4.7	8.7±4.9	9.4±4.9
	Th	2.4±1.0	2.4±1.2	2.9±0.5
ICR	SP	17.7±2.1 ¹⁾	19.0±2.0 ¹⁾	23.0±5.9 ¹⁾
	Th	3.2±1.1 ¹⁾	4.7±4.1	3.5±1.8
615	SP	16.5±6.3 ¹⁾	21.7±6.2 ²⁾	28.5±3.8 ²⁾
	Th	3.1±1.6	4.1±2.1	5.7±0.8 ²⁾

注: IRM-2小鼠与 615小鼠、ICR小鼠比较, 1) P<0.05; 2) P<0.01。

3 讨论

放射损伤救治仍然是困扰着目前医学界的一个难题, 尤其是对于免疫系统的损伤, 症状出现早, 调节变化复杂, 持续时间长^[5,6]。IRM-2小鼠对辐射有较强的抗性, 免疫学特性也极其突出, 因此, 是难得的辐射免疫学研究的实验动物模型。本研究结果表明, 用不同剂量的¹³⁷Csγ射线照射后, IRM-2小鼠的脾细胞及胸腺细胞凋亡率明显低于 ICR和 615小鼠, 说明 IRM-2小鼠的免疫细胞对辐射有一定的耐受性, 对辐射损伤有较强的修复机制^[4]。IRM-2小鼠独特的免疫学特性, 将为