

乌头注射液对辐射损伤小鼠胸腺细胞的作用

孟庆勇, 刘志辉, 徐美奕, 高莉莉

中图分类号: R818.05 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2003)03-0139-02

【摘要】目的 观察乌头注射液对辐射损伤小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR的作用。方法 检测小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR的百分率。结果 体外实验显示实验组(终浓度为 $2\times 10^{-11}\mu\text{g/ml}$ 和 $4\times 10^{-9}\mu\text{g/ml}$ 乌头注射液)的小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR的百分率明显高于对照组。体内实验表明 $1\mu\text{g/kg}$ 的乌头注射液加照射组的小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR的百分率比单纯照射组明显增加。结论 低浓度的乌头注射液对体外小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR具有明显的刺激作用,而适宜剂量的体内用药对辐射损伤小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR的能力具有明显的保护作用。

【关键词】 乌头注射液; 胸腺细胞; 自发掺入; 辐射; 小鼠

Effect of Aconite Injection on the Spontaneous Incorporation of ^3H -TdR into Thymocytes in the Mice of Radiation Damage. MENG Qing-yong, LIU Zhi-hui, XU Mei-yi, et al. Analysis Center of Guangdong Medical College Zhanjiang 524023, China

【Abstract】 Objective To observe the effect of aconite injection on the spontaneous incorporation of ^3H -TdR into thymocytes in the mice of radiation damage. Methods The spontaneous incorporation of ^3H -TdR into thymocytes was examined. Results Experiment in vitro shows that the percentage of the spontaneous incorporation of ^3H -TdR into thymocytes in aconite injection($2\times 10^{-11}\mu\text{g/ml}$ and $4\times 10^{-9}\mu\text{g/ml}$) group is higher than that of the control group. The percentage in aconite injection($1\mu\text{g/kg}$) with radiation group is markedly than that in control group in the mice of radiation damage in vivo. Conclusion Aconite injection had the stimulating effect in the spontaneous incorporation of ^3H -TdR into thymocytes in vitro and aconite injection of proper dosage can enhance the spontaneous incorporation radiation damage mice in vivo.

【Key words】 Aconite Injection; Thymocyte; Spontaneous Incorporation; Radiation; Mouse

乌头注射液是采用毛茛科植物乌头(Aconitum camichaeli Debx)的块根,用酸水浸提法制成的总生物碱制剂。它有较强的镇痛、抗炎、抗癌和提高免疫功能的作用^[1-4]。但乌头注射液抗辐射作用报道甚少。笔者利用乌头注射液对小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR的影响,观察乌头注射液的抗辐射作用。

1 材料和方法

1.1 动物 昆明雄性小白鼠 96 只,体重 $(20\pm 2)\text{g}$,广东医学院实验动物中心提供。

1.2 药物 乌头注射液(济南市山泉制药厂,0.62 mg/支,批号为 99056)。

1.3 试剂及仪器 RPMI 1640 培养基为 GIBCO 公司生产,Con A 为 Sigma 公司产品, ^3H -TdR 由中国科学院上海原子核研究所提供。标准架液体闪烁系统(1S-6000SC,美国)、二氧化碳培养箱(150,丹麦),生物倒置显微镜(CK-2,日本),多头细胞收集器(ZT-II 型,中国)。

1.4 分组处理

1.4.1 体外实验分组 取 6 只小白鼠,脱臼处死,制成胸腺单细胞悬液用于实验。实验组:加终浓度为 2×10^{-11} , 4×10^{-9} , 6×10^{-7} , 8×10^{-5} , 10×10^{-3} , 12×10^{-1} , $140\mu\text{g/ml}$ 的乌头注射液。对照组:用生理盐水取代乌头注射液,其余条件同实验组。

1.4.2 体内实验分组 将 90 只小白鼠随机分为 6 组,每组为 15 只。正常对照组;单纯照射组;小鼠每天每只腹腔注射 0.5 ml 生理盐水,7d 后给予 1.5 Gy ^{60}Co 全身照射,照射后 24 h 处死;共有 4 个实验组;各组小鼠分别腹腔注射 0.01 $\mu\text{g/kg}$,0.1 $\mu\text{g/kg}$,1 $\mu\text{g/kg}$ 、10 $\mu\text{g/kg}$ 的乌头注射液,其余条件同单纯照射组。

1.5 小鼠胸腺细胞悬液制备 根据体外和体内实验的不同要求处理小鼠,断头处死,无菌条件下取出胸腺,置于盛有含 RPMI 1640 培养液的培养皿中,毛玻璃研磨胸腺,用 200 目不锈钢网滤出单细胞悬液,并移至试管中计数,用 RPMI 1640 培养液稀释成浓度为 1×10^7 个/ml 细胞悬液。

1.6 细胞培养 在 96 孔培养板中,加入已配好的各组细胞悬液 200 μl (体外实验每组 6 孔,体内实验每组 15 孔),30 μl 已配好的 ^3H -TdR 液(终浓度为 92.5 kBq/ml),含小牛血清 10%,置入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中培养,4 h 收获细胞。

2 结果

2.1 乌头注射液体外用药对小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的影响 从图 1 可以看出,终浓度为 $2\times 10^{-11}\mu\text{g/ml}$ 和 $4\times 10^{-9}\mu\text{g/ml}$ 组的小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的百分率明显高于对照组($P<0.05$ 和 $P<0.01$),而终浓度大于 $8\times 10^{-5}\mu\text{g/ml}$ 实验组的小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的百分率明显低于对照组($P<0.01$)。

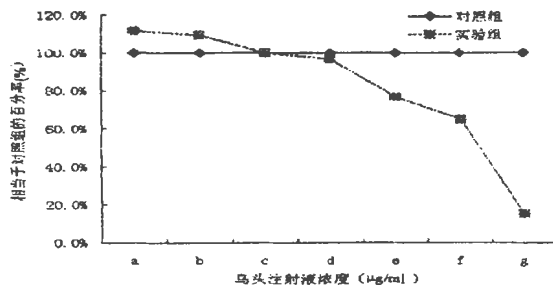


图 1 乌头注射液对体外小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的影响 a: $2\times 10^{-11}\mu\text{g/ml}$, b: $4\times 10^{-9}\mu\text{g/ml}$, c: $6\times 10^{-7}\mu\text{g/ml}$, d: $8\times 10^{-5}\mu\text{g/ml}$, e: $10\times 10^{-3}\mu\text{g/ml}$, f: $12\times 10^{-1}\mu\text{g/ml}$, g: 140 $\mu\text{g/ml}$

2.2 乌头注射液对辐射损伤小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的作用 从表 1 中可以看出,连续给小鼠 1 $\mu\text{g/kg}$ 的乌头注射液 7d 然后使其接受 1.5 Gy 的 ^{60}Co 照射,24 h 处死,小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的百分率明显高于单纯 1.5 Gy 照射组($P<0.05$)。

3 讨论

胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的能力是衡量机体细胞免疫功能强弱的指标,它能够反应胸腺细胞的活力。放射治疗肿瘤的研究表明,射线在杀死癌细胞时,对机体的正常细胞也具有一定的损伤作用,使机体的免疫功能降低,表现为胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的能力等免疫指标下降。笔者通过体外实验(图 1)证明低浓度的乌头注射液具有提高小鼠胸腺细胞自发掺入 ^3H -TdR 的作用。这与马健等学者利用乌头碱对小鼠腹腔巨噬细胞作用的观察而得出乌头注射液能够促进免疫应答反应是一致的^[5]。Kimura 等报道每天以腹腔注射的方式连续

7d 给予小鼠 3 mg/kg 的乌头提取物或乌头碱, 小鼠巨噬细胞 γ -IFN 的表达明显增强^[9]。王雅贤和李晓玉也从不同角度证明乌头具有提高机体免疫功能的作用^[7,8]。辐射除利用它产生的能量直接杀伤细胞外, 辐射所产生的自由基对机体细胞的间接危害也不容忽视, 消除这些自由基对机体的细胞也能起到保护作用。秦林等观察了川乌与白芍配伍前后对炎症因子和自由基的作用, 结果表明川乌与白芍配伍具有清除自由基的作用^[9]。在体外实验的基础上, 笔者设计了体内实验(表 1), 结果表明: 乌头注射液体内用药对辐射损伤小鼠胸腺细胞自发掺入³H-TdR 的能力具有保护作用。由此可见, 乌头注射液具有提高机体免疫功能和抗辐射作用。

表 1 乌头注射液体内用药对辐射损伤小鼠胸腺细胞自发掺入³H-TdR 的作用($\bar{x} \pm s$ $n=15$)

组别	相当于单纯 1.5 Gy 照射组的百分率(%)
正常对照组	184.4 \pm 28.7 ¹⁾
单纯 1.5 Gy 照射组	100
乌头注射液(0.01 μ g/kg)+1.5 Gy	80.1 \pm 17.3 ¹⁾
乌头注射液(0.1 μ g/kg)+1.5 Gy	115.7 \pm 38.5
乌头注射液(1 μ g/kg)+1.5 Gy	118.0 \pm 35.3 ²⁾
乌头注射液(10 μ g/kg)+1.5 Gy	115.5 \pm 49.2

注: 与单纯 1.5 Gy 照射组比较 1) $P<0.01$, 2) $P<0.05$

参考文献:

[1] 李晓丽, 张少华, 秦林, 等. 川乌与防己配伍镇痛作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(3): 202-204.

[2] 师海波. 川乌总碱的抗炎作用[J]. 中国中药杂志, 1990, (3) 46-49.

[3] 黄永融. 乌头抗癌研究概述[J]. 福建中医药, 1991, (1): 54-56.

[4] Kim DK, Kwon HY, Lee KR, et al. Isolation of a multidrug resistance inhibitor from Aconitum pseudo-laeve var. erectum[J]. Arch Pharm Res, 1998, 21(3): 344-347.

[5] 马健, 陆平成, 牧野充弘, 等. 乌头碱对小鼠腹腔巨噬细胞 Ia 抗原表达影响的研究[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(4): 341-344.

[6] Kimura I, Makino M, Honda R, et al. Expression of major histocompatibility complex in mouse peritoneal macrophages increasingly depends on plasma corticosterone levels; stimulation by aconitine[J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18(11): 1504-1508.

[7] 王雅贤. 乌头碱对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 中医药信息, 1989, (5): 40-41.

[8] 李晓玉. 滇乌碱的免疫调节作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1987, (2): 100-104.

[9] 秦林, 彭欣, 张少华, 等. 川乌配伍白芍对炎症因子和自由基的影响[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(6): 370-373.

(收稿日期: 2002-10-09)

【工作报告】

一起¹³⁷Cs 放射源丢失事故的调查与分析

王贵学¹, 刘长胜¹, 辛彩民², 徐万江²

中图分类号: TL732 文献标识码: D

2001 年 12 月 3 日朝阳市发生一起丢失料位计¹³⁷Cs(6.47 GBq)放射源的严重放射事故造成了一定的经济损失和不良社会影响。为吸取教训, 加强管理, 防止事故发生, 就事故的原因及对策分析如下。

1 放射源丢失经过

辽宁朝阳某人造板厂无许可证引进上海人造板机械厂设备时, 带有放射源两枚, 仪器出现故障后, 将一放射源及电离室拆下维修, 2001 年 11 月初并将源搬到该厂变电所废品库内。

2001 年 12 月 3 日 17 时, 该厂女工将放射源当做废铁从废品库内盗出, 在家存放 7 d, 10 日 13 时卖于废品收购处。当天下午该处业主杨某将源罐拆开, 放射源掉出, 杨某从地上拾起裸源在手中观察, 摆弄 3~4 min 后放到办公室窗台上至 2002 年 3 月 7 日。

2002 年 3 月 1 日工厂与承包者交接时发现该源丢失。但没有引起重视, 也未报案, 并于 3 月 2 日将库拆除。经知情人多次督促, 厂方于 3 月 6 日下午方到派出所报案。市卫生、公安人员即刻赶赴现场进行事故处理。分析案情, 制定查找放射源的措施及方案。3 月 7 日 16 时 5 分排查一废品购销处, 在办公室窗台上找到该源。根据裸源测试结果, 计算防护厚度加工成源罐, 送到新库妥善贮存。

2 事故级别认定

经询问放射源销售部门, 认定丢失的放射源为¹³⁷Cs 源, 活度<7.4 GBq(200 mCi), 购入时间为 1993 年。所以该¹³⁷Cs 源现有活度估算为<6.47 GBq, 按《放射事故管理规定》第十一条、附表二规定, 本次事故确定为严重放射事故。

3 事故原因分析

①生产、销售含源设备的单位, 严重违反放射防护法规, 向无工作许可证或购源批件的单位销售含源设备。造成放射源管理的失控; ②放射源罐外没有任何能说明是放射性物质的标识; ③该人造板厂几任领导法制观念薄弱, 置放射卫生法规、条例于不顾, 安装料位计、使用放射性物质不按规定申报、办理工作许可证、登记证; ④多年来没有放射源保管使用制度, 现场及库房亦无专人负责, 对放射源没有采取严密的安全防护措施。

4 教训与建议

这起因偷盗引起的严重放射事故, 放射源丢失达 94 d, 人员接触 76 d 约 380 h, 人员受照剂量全身为≤5 mGy, 虽没有造成明显的放射损伤。但是, 由于侦破案件, 查找放射源及采取控制措施, 造成了不良的社会影响, 部分居民产生了恐惧心理。从这次事故中应吸取教训及建议如下。

(1)严格购买使用审批制度。根据《条例》要求, 卫生、公安、环保部门应严格审批制度, 对未经审批擅自购货的单位, 必须给予严肃处理。特别是放射工作单位的法人代表及相关人员。加强工作许可证的管理, 严禁无证使用, 保存放射性同位素, 消灭管理工作的死角。

(2)加强放射源生产单位的管理, 禁止将放射源供给无证单位。对下列情况应给予严肃处理: ①向无许可证或批件的单位销售含源设备, 造成放射源管理长期失控; ②不向购源及含源设备单位提供放射源说明书等相关资料; ③源罐外没有较牢固的具有放射源情况标识的标牌; ④销售放射源的详细情况不记载、不存档、事后不能查询。并建议将放射防护法规知识考核真正列入放射单位领导工作考核内容, 将防护工作纳入议事日程, 按照放射达标准严格管理放射工作, 以消除各类事故隐患。