外源性超氧化物歧化酶对醋酸铅免疫毒性的影响

连祥霖

摘　要　目的　探讨外源性超氧化物歧化酶(SOD)对醋酸铅免疫毒性的拮抗作用。方法　采用免疫毒理学方法观察外源性 SOD对醋酸铅免疫毒性的影响。结果　醋酸铅染毒的昆明种小鼠血中碳粒廓清率、SRBC致敏小鼠迟发型过敏反应(DTH)、DNCB所致的迟发型皮肤过敏反应(DCH)、血清溶血素(Hc_{50})和免疫脏器系数均明显低于对照组,预先给予 SOD后再给同剂量醋酸铅的小鼠除 Hc_{50}外上述各指标均有不同程度提高,免疫器官脂质过氧化物(LPO)含量,醋酸铅组明显高于对照组,而 SOD-醋酸铅组 LPO含量比醋酸铅组明显降低($P < 0.01$)。结论　外源性 SOD能拮抗醋酸铅所致的免疫毒性和脂质过氧化作用。

关键词　超氧化物歧化酶　拮抗作用　免疫毒性　醋酸铅

Effects of Exogenous Superoxide Dismutase on Immunotoxicity Induced by Lead Acetate

Lian Xianglin.　Department of Occupational Health, Fujian Medical University. Fuzhou 350004

Abstract　Objective　To study the effects of exogenous superoxide dismutase(SOD) on antagonizing immunotoxicity induced by lead acetate. **Methods** Immunotoxicological tests were used. ICR mice were intoxicated by lead acetate. **Results** Clearance rate of charcoal particulate, delayed-type hypersensitivity induced by sheep red blood cells, delayed cutaneous hypersensitivity caused by dinitrochlorobenzene, level of serum hemolysin expressed as the concentration at 50% of hemolysis(Hc_{50}), and index of immune organs were all significantly lower in the lead acetate-exposed mice than in the controls. When the mice were administered with SOD before intoxication, all the indicators mentioned above after exposure to lead acetate at the same dose, except for Hc_{50}, were increased to certain extent. Level of lipid peroxide(LPO) increased significantly and that of LPO decreased significantly in the immune organs in lead acetate-exposed mice than in the controls. **Conclusion** It suggested that exogenous SOD could antagonize immunotoxicity and lipid peroxidation caused by lead acetate.

Key words　Superoxide dismutase, Antagonistic effect, Lead acetate, Immunotoxicity

已有实验表明,铅对机体具有免疫毒作用和脂质过氧化作用[1,2], SOD能抑制机体的脂质过氧化作用[2],但 SOD能否拮抗铅所致的免疫毒作用,国内未见报道。为此,本研究采用免疫毒理学方法观察外源性 SOD对铅的免疫毒性的影响,为铅中毒防治提供新的途径,现报告如下。

1　材料与方法

1.1　动物

选用体重 22~26g健康昆明种小鼠,雌雄各半,实验过程自由进食固体饲料和去离子水,动物与饲料由本院实验动物中心提供。

1.2　试验材料

醋酸铅为分析纯,上海试剂二厂产品,SOD为美国 Sigma公司产品,环磷酰胺为上海第十二制药厂产品,印度墨汁为英国 Winsor产品,二硝基氯苯(DNCB)为新中化学厂股份有限公司产品,绵羊红细胞(SRBC)取自健康成年绵羊。

1.3　给药剂量与途径

将动物随机分为 4组:对照组(去离子水

作者单位:350004福州　福建医科大学劳动卫生学教研室

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnk

0.1ml/10g), 醋酸铅组〔醋酸铅 12mg/(kg·d)〕, SOD-醋酸铅组〔先注射 SOD300IU/10g, 1小时后再给醋酸铅 12mg/(kg·d)〕, 环磷酰胺组 (环磷酰胺 20mg/kg). 给药途径均为股内侧皮下注射.

1.4 检测指标和方法

1.4.1 碳粒廓清率测定　按文献〔3〕方法改进, 各组 (n= 10) 小鼠连续染毒 7天, 末次给药后 24h, 经右眼球后静脉丛注射印度墨汁 (用生理盐水稀释 5倍) 0.05ml/10g体重, 分别于注射后 2、10min从左眼球后静脉丛采血 20μl, 加入 0.1%碳酸钠溶液 2ml中摇匀, 于 680nm波长比色测定光密度 (OD_2和 OD_{10}), 并按 $K = \lg OD_2 - \lg OD_{10}/(10-2)$计算碳粒廓清指数 K值.

1.4.2 DNCB所致的迟发型变态反应 (DCH) 测定　各组动物按文献[4]方法, 用 50% DNCB丙酮溶液 (2μl/只) 滴于颈部脱毛的皮肤上致敏, 并于当日起连续染毒 10天, 停药次日, 于每只小鼠腹部的皮肤上滴 2.5% DNCB丙酮溶液 (2μl/只) 进行攻击, 24h后, 经右眼球静脉丛注射 1% Evans蓝 0.1ml/10g体重, 30min后处死小鼠, 取下腹染蓝皮肤 1平方厘米, 用 1∶1丙酮生理盐水混合液浸泡 24h, 过滤液于 610nm波长比色, 测定光密度 (OD).

1.4.3 SRBC致敏小鼠的迟发型过敏反应 (DTH) 测定　参照文献〔5〕方法, 于第 4日给药后, 以 5% SRBC20μl于左后足垫皮下注射致敏, 给药第 8日后用千分卡尺测量左后足垫厚度, 随后用 5% SRBC20μl进行攻击, 6h后重测左后足皮垫厚度, 以攻击前后足垫厚度的差值作为肿胀程度.

1.4.4 血清溶血素测定　按文献〔3〕方法, 连续染毒 8日, 于第 3日经左眼球后静脉丛注射 5% SRBC0.2ml致敏, 末次染毒后 1h, 摘除眼球采血, 分离血清, 以生理盐水 800倍稀释, 56℃水浴 30min灭活补体, 取血清、5% SRBC 1∶1豚鼠血清各 0.5ml混匀, 另设以生理盐水代替血清的空白管, 37℃温育 15min, 2 000r/min 离心 5min, 取上清液测 OD值 (λ= 550nm), 血清溶血素= (样品 OD值/半数溶血 OD值)× 血清稀释倍数.

1.4.5 免疫器官重量及其 LPO含量的测定　将小鼠连续染毒 8日后, 眼球摘除放血处死, 迅速取胸腺和脾脏, 称重, 加入冰冷生理盐水制成 5%匀浆, 按文献〔2〕方法测定 LPO含量.

2 结果

2.1 SOD和醋酸铅对小鼠碳粒廓清率的影响

表 1可见, 醋酸铅组 K值明显低于对照组, SOD-醋酸铅组 K值比醋酸铅组明显升高, K值升高 57%, 提示外源性 SOD能拮抗醋酸铅降低单核巨噬细胞对碳粒廓清率的作用.

2.2 SOD-醋酸铅对小鼠迟发型变态反应的影响

表 1可见, 醋酸铅组 DCH反应的 OD值和 DTH反应的足垫肿胀程度比对照组均明显降低, 而 SOD-醋酸铅组与醋酸铅组比较, OD值明显升高, 增加 6倍多, 足垫增厚近一倍, 接近对照组水平. 结果提示醋酸铅对 DNCB诱发的 DCH反应和 SRBC致敏的 DTH反应有明显抑制作用, 而外源性 SOD对醋酸铅所致的迟发型变态反应有明显保护作用.

2.3 SOD-醋酸铅对小鼠血清溶血素形成的影响

表 1可见, 血清溶血素醋酸铅组比对照组明显降低, 而醋酸铅组与 SOD-醋酸铅组之间无明显差异, 提示外源性 SOD对醋酸铅所致的血清溶血素抑制无保护作用.

2.4 SOD-醋酸铅对小鼠免疫器官重量及 LPO含量的影响

由表 2可见, 胸腺和脾脏的相对重量醋酸铅组比对照组明显降低, 而 SOD-醋酸铅组比醋酸铅组明显升高; LPO含量醋酸铅组比对照组明显升高, 而 SOD-醋酸铅组比醋酸铅组明显降低, 提示外源性 SOD对醋酸铅所致的免疫器官损害和脂质过氧化损伤有明显的保护作用.

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnk

表 1　SOD、醋酸铅对小鼠免疫功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组　别	碳廓清指数	DCH反应	DTH反应	血清溶血素
	K值	OD值	足垫肿胀程度 (mm)	
对照组	0.0578± 0.0066	0.167± 0.055	0.29± 0.06	731.9± 87.5
醋酸铅组	0.0272± 0.0039**	0.021± 0.034**	0.13± 0.05**	423.6± 125.9**
SOD醋酸铅组	0.0427± 0.0045△△	0.131± 0.074△△	0.22± 0.06△△	410.1± 69.6
环磷酰胺组	0.0408± 0.0094**	0.039± 0.009**	0.13± 0.07**	16.1± 2.2**

** 与对照组比较 $P < 0.01$, △△与醋酸铅组比较 $P < 0.01$

表 2　SOD、醋酸铅对小鼠免疫器官重量及 LPO含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组　别	胸　腺		脾　脏	
	重量 (mg/10g)	LPO (nmol/ml)	重量 (mg/10g)	LPO (nmol/ml)
对照组	22.60± 7.80	4.01± 0.42	75.60± 2.50	4.00± 1.01
醋酸铅组	2.63± 0.60**	8.12± 1.46**	8.08± 0.94**	7.82± 1.98**
SOD醋酸铅组	8.16± 0.32△△	2.62± 0.46△△	56.80± 1.80△△	5.35± 1.00△△
环磷酰胺组	14.35± 2.25**	14.73± 1.55**	38.59± 4.35**	12.40± 0.98**

** 与对照组比较 $P < 0.01$, △△与醋酸铅组比较 $P < 0.01$

3　讨论

鉴于免疫系统的复杂性，参与免疫器官的应答不是单一的，因此要想对一个化学物的免疫效应作出全面评价，决非是用一种试验就能说明的，需要选择一组试验。本文选择碳粒廓清率、迟发型变态反应和血清溶血素测定来反映 SOD、醋酸铅对小鼠免疫功能的影响。环磷酰胺是免疫抑制剂，对上述三个指标均有明显的抑制作用，作为免疫反应的阳性对照。

巨噬细胞在免疫反应中不仅有非特异性吞噬功能，还参与细胞免疫和体液免疫，碳粒廓清试验是巨噬细胞功能测定常用方法，可反映整体动物的单核巨噬细胞功能[6]，文献报道硝酸铅可使小鼠廓清率降低 62%[7]，本文醋酸铅对小鼠的碳粒廓清率降低 53%，而 SOD对醋酸铅所致的抑制有明显的保护作用。

迟发型变态反应是反映整体动物细胞免疫功能的经典指标，是判断化学物质细胞免疫毒性的敏感指标[6]。本实验表明醋酸铅对正常小鼠迟发型变态反应有明显抑制作用，这与文献报告是一致的[1]，而 SOD对醋酸铅所致的抑制有明显保护作用，说明外源性 SOD能拮抗醋酸铅所致的细胞免疫毒性。

血清溶血素水平可定量反映细胞的抗体分泌量，能反映机体体液免疫功能状态[6]，动物实验和人群调查资料表明醋酸铅对机体体液免疫功能有抑制作用[1]，本实验结果与文献报道一致，但外源性 SOD对醋酸铅所致的体液免疫功能的抑制无保护作用。

化学物质对免疫功能的影响可通过直接作用于免疫器官和免疫细胞，使胸腺萎缩，在皮质区内的胸腺细胞明显减少，脾脏重量下降，导致机体免疫功能降低，铅和环磷酰胺是致脂质过氧化毒物，进入体内产生自由基，导致细胞膜损害，改变淋巴细胞膜的结构与功能，从而干扰细胞的活化、增殖、分化以及正常免疫反应[8]。本实验表明醋酸铅、环磷酰胺不仅使胸腺和脾脏重量下降，而且导致明显的脂质过氧化损伤。SOD是体内重要自由基 O_2^- 清除剂，铅在体内产生的超氧化物阴离子自由基 O_2^- 可被 SOD歧化为氧化氢和氧，清除自由基，减少对细胞膜的损伤，因此，预先给予 SOD后再给同剂量醋酸铅，不仅使胸腺和脾脏的脏器系数增加，而且 LPO含量降低，保护了胸腺和脾脏免受脂质过氧化损伤，这点与上述各免疫指标的变化基本一致。

综上所述，外源性 SOD对醋酸铅所致的非特异性免疫和细胞免疫功能的抑制有明显保护作用，这为防治铅中毒提供新的途径和一定的理论依据。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnk

4 参考文献

1 吕伯钦, 主编. 卫生毒理学进展. 第二卷. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 126

2 莫简. 医用自由基生物学导论. 北京: 人民卫生出版社, 1989, 214

3 徐叔云. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 934

4 林志彬, 等. 银耳多糖对小鼠免疫功能和肝匀浆细胞色素 P_{450}含量的影响. 中国药理学报, 1985, 6 201

5 Lagrange PH, et al. Influence of dose and route of antigen injection on the immunological induction of T cell. J Exp Med, 1974, 139: 528

6 李云波. 免疫毒理学常用方法及其评价. 国外医学卫生学分册, 1987, 14 (6): 329

7 王家骥. 铅、镉、铬和锰对小鼠单核巨噬细胞系统吞噬功能的影响. 卫生毒理学杂志, 1990, 4 (2): 95

8 徐厚恩. 卫生毒理学基础. 北京: 北京医科大学出版社, 1991. 211

(收稿: 1998-01-15 修回: 1998-06-30)

· 来稿选登 ·

^{192}Ir后装机卡源事故处理及受照射剂量分析

王立兵　徐荣礼　陈　雷

近距离治疗是肿瘤放射治疗的一个重要分支,现代近距离治疗多采用步进式后装机,使用^{192}Ir放射源,而基本上弃用了早期人工放置放射源的治疗方式,从而使工作人员的个人所受电离辐射大大减少。但由于种种原因,步进式后装机也会发生卡源现象,且现代后装机多采用高活度放射源(37× 10^{10} Bq),因而对这种情况的处理一定要慎重,以保证工作人员的安全和健康。

1997年 7月,由于放射源质量问题,我院一台^{192}Ir后装机出现故障,放射源后装机不能按照设置的程序运行。原因为^{192}Ir放射源源体和连接它的钢丝绳之间的焊接点错位,没有形成一条直线,而呈"S"形结构,因而放射源卡在放射源通道中不能通过。用自动控制的操作程序及换源程序反复实验后,仍不能将故障排除,在此情况下,不能不考虑采用人工方法将故障排除。

1 处理方法

卸下后装机储源罐后部相关的机械装置、零部件等,打开放射源钢丝绳缠绕的旋转盘上的固定保护带,以使出源路径通畅,将运输放射源用的储源罐置放于距后装机储源罐尽可能近的位置,以保证放射源在取出过程中裸露时间最短。最后由工作人员将放射源从后装机之储源罐中取出,迅速放入运输所用的储源罐中。

2 预计工作人员所受的辐诱导剂量 D

计算公式: $D = x \cdot t = AT/R^2 \cdot t$

其中: A为放射源活度,当时源活度为 7× 3.7× 10^{10} Bq; T为^{192}Ir放射源照射率常数; t为放射源裸露的时间,预计为 5秒; R为放射源距人体距离,预计为 0.2m。

计算结果为 D= 1.2mSv。

3 计划分析

依据以上计划处理过程及受照射剂量分析,可以认为上述处理卡源故事方法虽属急性照射,但所受到的辐射剂量远远低于使受照躯体产生临床症状和迟发效应所需的阈值剂量 250mSv,因此应视为一种可行的处理方式。

4 实际过程

依上述方案,顺利将事故处理,整个过程约为 3秒。

5 现场监测仪器

(1) γ射线报警仪, Hx-Y02型,南京东方无线电厂生产,现场报警时间约为 3秒。(2) 直读式个人剂量仪, GJ-III A型,中国辐射研究院生产。

处理完毕后,其显示的读数为 2.02mSv。

6 结果与讨论

本次后装机卡源故障的处理办法,是在经过科学分析及计算的基础上采取的一种放射源事故处理方式。依据上述的分析及计算、测量,应认为是一种可行的放射性事故处理方式。应注意的是处理此事故的工作人员所受的电离辐射已超出了职业放射性工作人员照射剂量控制的短期剂量(每周受照的剂量当量 0.5mSv),因此该工作人员应暂时脱离接触放射性工作一个月。至目前为止,该工作人员无任何受照后的不良反应。

(收稿: 1998-05-16)

作者单位: 110042沈阳 辽宁省肿瘤医院 (王立兵、徐荣礼), 沈阳市劳动卫生监督监测所 (陈雷)

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnk