

低剂量电离辐射对小鼠睾丸生精细胞凋亡的影响

刘光伟 刘淑春 吕哲 龚守良

(吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 长春 130021)

摘要 研究不同低剂量 X 射线对小鼠睾丸生精细胞凋亡的影响。采用常规苏木精-T 尹红 (HE) 染色法和原位末端标记术 (TUNEL) 通过光镜观察不同低剂量 X 射线照射后小鼠睾丸在生精周期不同阶段各类生精细胞凋亡的剂量及时程效应关系。结果表明,低剂量电离辐射诱导生精细胞凋亡具有明显的细胞种类规律性,在较低剂量照射 (0.025Gy) 时,以精原细胞凋亡为主,随剂量增加 (0.05—0.2Gy) 才逐渐累及精母细胞,并且精原细胞凋亡率明显高于精母细胞,很少累及精子细胞和精子。低剂量电离辐射诱导生精细胞凋亡具有一定规律性,这为深入探讨低剂量辐射兴奋效应机制提供了更深层次的实验证据。

关键词 低剂量电离辐射, 生精细胞, 细胞凋亡, 原位末端标记术 (TUNEL)

中图分类号 R811.5, R392, R818

哺乳动物睾丸精子发生中存在自发凋亡现象^[1],而且这种凋亡具有明显的细胞种类规律性,以减数分裂前期的精原细胞和精母细胞为主,很少累及精子细胞和精子,具有重要遗传学意义。文献[2]表明,生精细胞凋亡对电离辐射敏感,低剂量电离辐射可以诱导细胞凋亡。因此,深入探讨低剂量电离辐射对小鼠睾丸生精细胞凋亡的影响,对揭示低剂量电离辐射诱导生精细胞遗传学适应性反应的机制具有重要的意义。同时,也进一步为低剂量辐射兴奋效应机制的研究提供更深层次的实验证据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

采用雄性健康 Kunming 小鼠,体重 (20±2)g,由本校实验动物中心提供,随机分为照射组和假照射组,每剂量组不少于 15 只动物,每时间点上取 3 只。

1.2 照射条件

用国产深部 X 射线治疗机全身照射小鼠,电压 220 kV,电流 10 mA,滤板 0.5 mm Cu +1.0 mm Al。观察低剂量照射 (0.025、0.050、0.075、0.1 和 0.2 Gy,靶皮距 212 cm,剂量率为 12.5mGy/min) 后在 0、6、12、18 和 24 h 凋亡细胞的百分率变化,各时间点均设假照射组作对照。

1.3 组织标本制备

各剂量组动物照射后,在不同时间点分别处死

动物,迅速取其睾丸,10%福尔马林固定,24h 后系列酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切成 5 μm 厚切片,粘于 APES + 多聚赖氨酸处理的载玻片上,60 °C 烤干 2 h 备用。

1.4 HE 染色法形态学观察^[3,4]

将组织切片用两份二甲苯脱蜡,经系列酒精下行入水,苏木精染细胞核,盐酸酒精分化后,用伊红染细胞质,蒸馏水短洗后,经系列酒精脱水,二甲苯透明、封片,光镜下计典型凋亡形态的生精细胞数。

1.5 原位末端标记术 (TUNEL) 检测 DNA 断裂^[5,6]

将切片常规系列酒精下行入水,蛋白酶 K 液浸泡 (20 °C) 15 min,入 0.3% H₂O₂ 甲醇中以封闭内源性过氧化物酶,磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗后,0.1% Triton X-100 的 0.1% 枸橼酸钠液中 (4 °C) 冰浴 2min, PBS 洗后加 TUNEL 反应混合液 (37 °C) 1h, PBS 洗后,正常山羊血清封闭 10min,加过氧化物酶 (POD) 液 37 °C 反应 30min, PBS 洗后 DAB 显色 10 min, Mayrow 's 苏木精复染,脱水透明封片,光镜下计 TUNEL 反应阳性细胞数。阴性对照组不加 TUNEL 反应混合液中末端脱氧核糖核酸转移酶。阳性对照组用 1 μg/mL DNA 酶 预处理切片,作为计数阳性凋亡细胞的标准。

1.6 统计学处理^[4]

光镜下每一切片中选取 50 个生精小管,在生精上皮不同阶段分成 3 群 (—、— 和 —),计正常及凋亡的精原细胞和精母细胞数,分别计算其在不同群中百分率,进行 t 检验。

第一作者:刘光伟,男,1973 年 4 月出生,1997 年毕业于白求恩医科大学,现为吉林大学放射医学专业,在职博士生
通讯联系人:龚守良

收稿日期:初稿 2002-07-15,修回 2002-09-05

2 实验结果

2.1 不同低剂量 X 射线照射后各类生精细胞凋亡的形态学观察

2.1.1 HE 染色 光镜下观察假照射组小鼠生精小管规则，界膜完整，基膜内生精细胞排列整齐；随生精上皮时相不同，各类生精细胞形态和数目不同，可见少量具有典型凋亡形态的精原细胞和精母细胞，细胞皱缩、胞膜完整，染色质凝聚、嗜碱性增强、核浓染。0.025—0.2Gy X 射线全身照射后典型凋亡形态的精原和精母细胞随照射剂量增加逐渐增多，尤其是 0.075Gy 照射凋亡百分率高，凋亡的精原细胞明显多于精母细胞。核浓染、核固缩多见，核碎裂、染色体边缘化和多核现象少见，精子细胞和精子异常少见。高倍镜下见典型凋亡形态细胞的核膜和胞膜较清晰、规则。

2.1.2 TUNEL 反应 TUNEL 阳性物质呈黄褐色，典型的 TUNEL 阳性细胞表现为染色质凝聚、边缘化，呈新月状聚集于核膜下方。但由于切面不同，凝聚

的染色质可以不同方式散在于核切面的任意位置，其特点是边界清晰。光镜下观察假照射组 TUNEL 反应阳性细胞少见。0.025—0.2Gy X 射线全身照射后 TUNEL 反应阳性精原细胞和精母细胞随照射剂量增加逐渐增多，尤其是 0.075Gy 照射凋亡百分率高，核浓染、核固缩多见。阳性精原细胞明显多于精母细胞，精子细胞和精子阳性较少。高倍镜下见 TUNEL 反应阳性细胞核膜和胞膜清晰、规则。极少量 HE 染色中观察呈典型凋亡形态的细胞，TUNEL 反应却呈阴性。

2.2 不同低剂量 X 射线照射后各类生精细胞凋亡的时程效应关系

2.2.1 HE 染色 0.075Gy 全身照射小鼠后 6h，在生精周期 —、— 和 — 典型凋亡形态的精原细胞开始增多，12—18h 达峰值，随后逐渐回降；典型凋亡形态的精母细胞时程效应关系不明显。0.1 和 0.2Gy 全身照射后 6h，在生精周期 — 和 — 典型凋亡形态的精原细胞开始增多，12h 或 12—18 h 达峰值，随后逐渐回降；照射后 6h，在生

Tab.1 Changes in percentages of TUNEL and HE positive cells in spermatogonia (A) and spermatocytes (B) of testes after LDR (I-VI stages) ($\bar{x} \pm s$)

t/after		Dose of irradiation / Gy						
WBI/h		0	0.025	0.05	0.075	0.1	0.2	
0	A	TU	11.3±0.09	14.3±0.21	12.0±0.31	16.8±7.91	14.5±0.51	14.2±0.11
		HE	19.4±0.19	22.2±0.51	35.1±0.81	32.8±2.51	34.0±0.42	30.2±0.12
	B	TU	1.6±0.08	1.7±0.23	3.6±0.41	4.3±3.56	5.8±1.02	30.2±0.12
		HE	1.4±1.08	1.5±1.22	3.4±1.41	3.0±0.56	2.9±1.12	2.3±1.20
6	A	TU	23.5±0.03	31.5±3.01 ⁽¹⁾	44.4±6.72 ⁽²⁾	48.5±1.82 ⁽²⁾	34.1±0.21 ⁽¹⁾	35.2±0.23 ⁽¹⁾
		HE	28.6±0.73	33.3±2.03 ⁽¹⁾	38.1±6.72 ⁽¹⁾	46.2±0.82 ⁽²⁾	40.2±0.18 ⁽¹⁾	41.2±1.23 ⁽¹⁾
	B	TU	2.7±0.03	33.1±3.21	3.3±1.20 ⁽¹⁾	3.9±0.11 ⁽¹⁾	3.8±1.25 ⁽¹⁾	4.0±0.14 ⁽¹⁾
		HE	2.3±0.13	2.8±1.21	3.3±1.20 ⁽¹⁾	4.4±1.11 ⁽²⁾	3.0±1.50 ⁽¹⁾	3.6±0.56 ⁽¹⁾
12	A	TU	19.6±0.12	22.2±0.12	43.7±9.01 ⁽²⁾	67.6±8.87 ⁽²⁾	54.4±1.20 ⁽²⁾	60.1±6.41
		HE	10.1±0.12	28.2±0.23 ⁽²⁾	14.2±2.21	57.6±7.07 ⁽²⁾	49.2±7.52 ⁽²⁾	55.2±8.51 ⁽²⁾
	B	TU	3.6±1.02	4.7±2.71 ⁽¹⁾	5.3±0.31 ⁽¹⁾	6.8±1.52 ⁽²⁾	4.2±1.12	5.6±1.20 ⁽¹⁾
		HE	4.0±1.12	5.0±2.98 ⁽¹⁾	5.2±3.82 ⁽¹⁾	5.9±2.54 ⁽¹⁾	4.2±0.85	5.0±1.89 ⁽¹⁾
18	A	TU	18.8±0.12	26.8±1.25	45.1±6.41 ⁽²⁾	68.5±8.61 ⁽²⁾	47.6±1.21 ⁽²⁾	60.5±2.14 ⁽¹⁾
		HE	13.3±0.99	20.2±1.31 ⁽¹⁾	48.1±1.85 ⁽²⁾	54.4±5.23 ⁽²⁾	40.1±5.11 ⁽²⁾	51.1±5.81 ⁽¹⁾
	B	TU	2.8±0.41	4.9±0.31 ⁽¹⁾	3.3±0.81	7.8±0.45 ⁽²⁾	4.8±0.51 ⁽¹⁾	6.3±0.88 ⁽²⁾
		HE	2.7±0.58	4.0±3.12 ⁽¹⁾	4.2±0.12 ⁽¹⁾	5.3±0.18 ⁽²⁾	4.1±0.14 ⁽¹⁾	5.0±1.15 ⁽²⁾
24	A	TU	10.1±0.47	18.9±4.52 ⁽¹⁾	11.6±1.02	44.5±3.38 ⁽²⁾	31.9±0.15 ⁽²⁾	32.8±1.24 ⁽¹⁾
		HE	19.8±1.41	31.5±5.50 ⁽¹⁾	41.6±1.23 ⁽²⁾	44.8±0.81	37.2±0.17 ⁽²⁾	41.2±0.28 ⁽²⁾
	B	TU	3.7±3.10	3.9±0.15	3.8±2.18	3.7±2.12	5.3±3.25	4.3±0.17
		HE	3.1±1.28	3.0±1.15	3.9±2.52	4.0±1.31	3.2±1.25	4.5±1.56 ⁽¹⁾

n=3, ⁽¹⁾p<0.05, ⁽²⁾p<0.01, vs 0Gy groups

精周期 — 和 — 典型凋亡形态的精母细胞 0.025 和 0.05Gy 照射后时程效应关系不规则(见表 1、表 2 和表 3)。

Tab.2 Changes in percentages of TUNEL and HE positive cells in spermatogonia (A) and spermatocytes (B) of testes after LDR (VI-VII stages) ($\bar{x} \pm s$)

t/after	Dose of irradiation / Gy							
	WBI/h	0	0.025	0.05	0.075	0.1	0.2	
0	A	TU	26.5±0.91	28.3±1.29	22.7±2.10	34.6±0.93	27.9±1.82	23.2±2.12
		HE	19.0±0.41	19.1±0.15	20.2±1.05	16.8±0.31	19.1±1.24	12.4±1.22
	B	TU	3.4±0.45	2.3±1.92	3.1±1.31	4.3±0.23	5.7±0.25	4.4±0.25
		HE	1.4±1.05	1.3±0.82	1.7±1.14	2.0±0.25	1.7±0.41	1.2±0.12
6	A	TU	34.7±0.45	53.2±0.94 ⁽²⁾	58.2±4.01 ⁽²⁾	51.2±0.25 ⁽²⁾	48.3±0.21 ⁽²⁾	50.1±1.25 ⁽²⁾
		HE	21.1±0.11	25.2±1.55 ⁽¹⁾	23.3±1.52	24.6±0.12 ⁽²⁾	21.3±1.22	20.1±0.25
	B	TU	2.6±0.91	3.6±2.01	3.7±1.02 ⁽¹⁾	6.1±0.25 ⁽²⁾	4.4±3.25 ⁽¹⁾	5.0±0.20 ⁽²⁾
		HE	1.8±0.51	2.0±0.51	1.9±1.25	2.1±0.85 ⁽¹⁾	2.1±0.55	2.0±0.22 ⁽¹⁾
12	A	TU	25.7±0.22	51.9±8.92	64.5±2.01 ⁽²⁾	65.0±0.54 ⁽²⁾	47.2±0.21	54.6±7.54 ⁽²⁾
		HE	18.9±0.12	16.3±1.55	20.5±1.21	28.5±0.41 ⁽¹⁾	21.0±0.79	24.3±6.58
	B	TU	2.2±0.61	5.1±2.71 ⁽²⁾	5.8±0.51 ⁽²⁾	8.1±0.28 ⁽²⁾	5.2±2.21 ⁽²⁾	6.0±0.25 ⁽²⁾
		HE	2.0±1.15	2.1±0.19	2.5±0.51 ⁽¹⁾	2.4±0.64 ⁽¹⁾	1.9±0.65	2.1±0.25 ⁽²⁾
18	A	TU	34.2±0.91	55.1±1.06 ⁽¹⁾	48.9±2.50 ⁽²⁾	66.7±5.25 ⁽²⁾	62.1±0.15 ⁽²⁾	66.7±0.15 ⁽¹⁾
		HE	21.0±1.55	20.2±1.89 ⁽¹⁾	24.1±2.46	26.4±0.24 ⁽¹⁾	22.1±0.57	21.2±1.45
	B	TU	2.8±0.41	4.7±0.92 ⁽¹⁾	4.1±1.02	7.5±0.16 ⁽²⁾	4.4±2.71 ⁽¹⁾	5.5±0.25 ⁽¹⁾
		HE	2.5±0.15	1.7±1.45	2.1±1.20 ⁽¹⁾	2.2±1.08	2.0±0.25	2.1±0.47
24	A	TU	29.0±2.10	20.3±0.03	35.1±1.03 ⁽¹⁾	31.2±0.24 ⁽¹⁾	42.4±4.00 ⁽²⁾	25.6±1.22
		HE	17.6±2.10	18.2±1.03	19.1±1.08 ⁽¹⁾	21.1±0.25 ⁽¹⁾	17.4±0.87	18.6±0.14 ⁽²⁾
	B	TU	3.0±2.10	3.8±0.35	3.8±0.35	5.3±0.12 ⁽¹⁾	4.6±0.31 ⁽¹⁾	5.1±0.25
		HE	2.0±1.05	2.0±2.12	2.0±0.15	2.0±0.07	1.7±0.31	1.9±0.88 ⁽¹⁾

n=3, ⁽¹⁾p<0.05, ⁽²⁾p<0.01, vs 0Gy groups

2.2.2 TUNEL 反应 0.075Gy 全身照射小鼠后 6h, 在生精周期 —、— 和 — 阳性精原细胞开始增多, 18h 达峰值, 随后逐渐回降; 照射后 6h, 在生精周期 — 和 — 阳性精母细胞开始增多, 12—18h 达峰值, 随后逐渐回降。0.1Gy 和 0.2Gy 全身照射后 6h, 在生精周期 —、— 和 — 阳性精原细胞开始增多, 12—18h 达峰值, 随后逐渐回降; 照射后 6h, 在生精周期 — 和 — 阳性精母细胞开始增多, 12—18h 达峰值, 随后逐渐回降。0.025 和 0.05Gy 照射后时程效应关系不规则(见表 1、表 2 和表 3)。

2.3 不同低剂量 X 射线照射后各类生精细胞凋亡的剂量效应关系

2.3.1 照射 12 h 后 HE 染色 0.025—0.20Gy X 射线全身照射小鼠后, 在生精周期 —、— 和 — 典型凋亡形态的精原细胞和精母细胞呈明

显的剂量效应关系, 但为非线性。0.025—0.20Gy 照射后典型凋亡形态的精原细胞明显增多, 其中 0.075Gy 照射后增加最为明显。0.025—0.05Gy X 射线全身照射后, 在生精周期 — 和 — 典型凋亡形态的精母细胞开始增多, 0.075Gy 照射后增加最为明显, 但 0.20Gy 照射后仍高于假照组。精细胞凋亡不明显(见表 1、表 2 和表 3)。

2.3.2 照射 12—18 h 后 TUNEL 反应结果 0.025—0.20Gy X 射线全身照射小鼠后, 在生精周期 —、— 和 — 阳性的精原细胞和精母细胞多呈剂量效应关系, 但为非线性, 而且阳性精原细胞的峰值明显高于精母细胞。0.025Gy 或 0.05Gy 照射后 12—18h 阳性精原细胞和精母细胞开始增多, 0.075Gy 照射后增加最为明显, 但 0.20Gy 照射后仍高于假照组。在少数生精周期变化不规则。阳性精细胞较少(见表 1、表 2、表 3 和图 1)。

Tab.3 Changes in percentages of TUNEL and HE positive cells in spermatogonia (A) and spermatocytes (B) of testes after LDR(X-XII stages) ($\bar{x} \pm s$)

t/after		Dose of irradiation/ Gy						
WBI/h		0	0.025	0.05	0.075	0.1	0.2	
0	A	TU	18.5±0.71	31.5±0.21	22.8±1.12	29.0±0.45	31.9±3.02	30.2±0.91
		HE	15.2±0.71	27.3±0.18	27.6±2.23	26.2±0.95	24.6±1.52	25.6±0.25
	B	TU	3.4±2.71	2.6±1.17	3.7±2.37	4.2±0.12	5.0±3.20	4.6±0.45
		HE	2.9±0.75	2.8±1.75	2.5±2.41	3.0±0.45	2.1±0.24	2.3±0.56
6	A	TU	33.9±0.31	30.6±0.12	43.6±0.65 ⁽²⁾	40.4±7.12 ⁽²⁾	55.3±0.21 ⁽²⁾	50.6±0.25 ⁽²⁾
		HE	18.1±4.13	29.9±0.55 ⁽¹⁾	26.5±0.18 ⁽¹⁾	35.4±0.91 ⁽²⁾	30.0±2.12 ⁽¹⁾	24.1±0.41
	B	TU	4.1±1.06	2.6±0.24	3.7±0.51 ¹	4.9±3.12	5.3±0.17 ⁽¹⁾	5.0±0.13 ⁽¹⁾
		HE	2.7±1.15	2.9±0.42	2.8±0.49	3.2±1.25 ⁽¹⁾	2.7±1.22	3.0±0.31 ⁽¹⁾
12	A	TU	24.0±0.37	58.6±4.65	33.7±5.18 ⁽¹⁾	51.0±9.31 ⁽²⁾	55.1±6.12 ⁽²⁾	62.9±8.45 ⁽²⁾
		HE	10.1±1.07	28.1±1.25 ⁽²⁾	33.4±8.14 ⁽²⁾	40.1±2.00 ⁽²⁾	19.3±0.52 ⁽¹⁾	30.1±0.33 ⁽²⁾
	B	TU	2.9±2.04	4.3±0.41 ⁽¹⁾	4.9±0.12 ⁽¹⁾	7.6±1.41 ⁽²⁾	4.2±1.12 ⁽¹⁾	5.2±0.14 ⁽²⁾
		HE	2.5±0.41	3.0±0.44 ⁽¹⁾	3.3±1.25 ⁽¹⁾	3.0±1.33 ⁽¹⁾	2.1±0.81	2.6±0.25
18	A	TU	34.6±0.51	35.9±0.16 ¹	50.0±0.21 ⁽²⁾	61.0±8.43 ⁽²⁾	56.1±2.13 ⁽²⁾	60.5±1.25 ⁽²⁾
		HE	18.7±1.51	29.6±1.98 ⁽²⁾	31.3±0.88 ⁽²⁾	33.2±0.25 ⁽²⁾	27.31±1.25 ⁽²⁾	35.3±0.14 ⁽²⁾
	B	TU	1.7±0.91	4.9±1.61 ⁽²⁾	3.3±0.37 ⁽²⁾	7.3±0.41 ⁽²⁾	4.5±0.21 ⁽²⁾	4.9±0.55 ⁽²⁾
		HE	2.4±2.05	2.1±0.65	2.8±0.80	3.8±1.02 ⁽¹⁾	2.1±0.94	2.5±0.47
24	A	TU	24.4±1.22	30.4±0.51 ⁽¹⁾	23.9±3.24	37.9±3.25 ⁽²⁾	33.0±3.12 ⁽²⁾	54.3±1.78 ⁽²⁾
		HE	11.2±2.02	21.3±0.45 ⁽¹⁾	23.3±2.50 ⁽¹⁾	29.8±4.12 ⁽¹⁾	18.7±1.56	20.1±0.48
	B	TU	2.9±3.09	5.9±0.41 ⁽¹⁾	2.5±1.08	3.8±2.51 ⁽¹⁾	4.7±0.21 ⁽¹⁾	5.3±0.45 ⁽¹⁾
		HE	1.4±0.28	2.0±0.18	2.1±1.19	2.7±2.51 ⁽¹⁾	2.0±0.71	2.1±0.71

n=3, ⁽¹⁾p<0.05, ⁽²⁾p<0.01, vs 0Gy groups

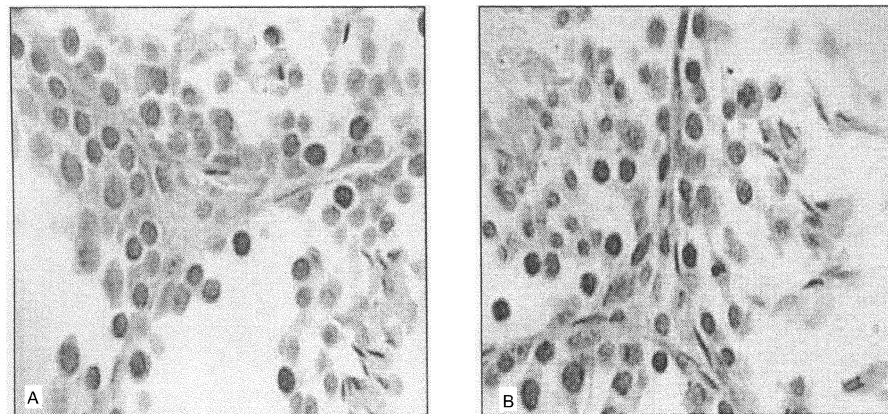


Fig.1 Paraffin section of mouse spermatogenic cells showing number and distribution of TUNEL positive cells (deep black stained) in the testes×400. A. Apoptosis of spermatogonia and spermatocytes increased in — stages of the mouse testis spermatogenic cycles 12h after 0.05Gy X-ray irradiation (TUNEL methods)×400, B. Apoptosis of spermatogonia and spermatocytes increased significantly in — stages of the mouse testis spermatogenic cycles 18 h after 0.075 Gy X-ray irradiation (TUNEL methods)×400.

3 讨论

文献[1]、[7]报道,正常大鼠和小鼠睾丸中存在自发的生精细胞凋亡现象,且随着年龄、生精细

胞种类及生精上皮周期不同阶段而发生不同的改变,具有一定的规律性。小鼠睾丸生精细胞凋亡主要以有丝分裂前期的精原细胞和精母细胞为主,很少累及精子细胞和精子,具有重要的遗

主要以有丝分裂前期的精原细胞和精母细胞为主,很少累及精子细胞和精子,具有重要的遗传学意义^[8,9]。睾丸生精细胞凋亡对电离辐射敏感,很低剂量率(0.6mGy/min)射线照射(0.1—1.5Gy)引起交配后19d小鼠胎儿生精细胞凋亡增加^[2]。并且证明^[10],射线作为一种基因毒素造成细胞死亡的主要机制是细胞凋亡。由辐射引起的凋亡,不仅呈射线的剂量依赖性特点,还取决于细胞种类和细胞周期。另外,我室较系统的实验证实^[11-16],低剂量辐射(尤其是0.075Gy照射,剂量率12.5mGy/min)可增强小鼠细胞和体液免疫功能,诱导免疫适应性反应,具有抗肿瘤效应。在此基础上,本文采用检测细胞凋亡较敏感的原位末端标记(TUNEL)法及常规HE染色法,结合光镜,分别定性、定位和定量地观察了不同低剂量X射线全身照射诱导小鼠睾丸生精细胞凋亡的种类、剂量和时程效应关系。结果表明,低剂量电离辐射诱导小鼠生精细胞凋亡也具有明显细胞种类的规律性,在曲精小管生精上皮周期的不同阶段凋亡的生精细胞主要为精原细胞和精母细胞;在较低剂量(0.025Gy)时,以精原细胞凋亡为主,随剂量增加(0.05—0.2Gy)时逐渐累及精母细胞,而且精原细胞凋亡率明显高于精母细胞,很少累及精子细胞和精子。这与以往文献[8]、[9]报道生精细胞自发凋亡的规律相符,并通过低剂量(0.025—0.2Gy)X射线全身照射明显增强了这种效应。也与文献[9]、[10]报道和文献[14]、[15]的前期工作,即低剂量辐射可以诱导生精细胞遗传适应性反应,降低精原细胞和精母细胞凋亡损伤效应,不降低精子细胞和精子损伤效应的结果相比较一致。可以推测,低剂量电离辐射选择性诱导生精细胞凋亡,即主要诱导精原细胞和精母细胞凋亡,而不是精子细胞和精子凋亡,具有重要的遗传学意义;也就是低剂量电离辐射是通过增强机体生理条件下的保护性细胞凋亡反应,以诱导其抗大剂量辐射损伤作用,增加精原和精母细胞凋亡率,并有效清除大剂量辐射所致遗传损伤的生精细胞,使这两类细胞表现明显的适应性反应,降低子代畸形率和显性致死效应。

实验中也发现,在生精周期-或/及-中凋亡的精原和精母细胞均表现出明显的时程效应,但HE染色法检测到的峰值多在12h,比TUNEL法检测值(18h或12—18h)提前,而且两种方法中统计数值也不同,TUNEL法数值及峰值明显高于HE法统计数值。这是因为TUNEL法主要检测细胞凋亡早期的DNA断裂,而当已有DNA断裂的生精细胞发展到具有典型的凋亡形态改变时,HE染色法光镜

下才可观察其结果。这说明两种方法检测细胞凋亡的原理不同,不但分别反映了典型凋亡形态的改变和DNA断裂的时程变化规律,而且也说明原位末端标记法结合形态学观察确实具有检测细胞凋亡的高敏感性和高度特异性,是目前早期定量检测细胞凋亡的较好方法^[4]。但在HE染色切片中观察到少量典型凋亡形态的细胞,在TUNEL反应中却呈阴性结果;反之亦然。这说明两种方法也存在各自缺陷,均需通过镜下形态学鉴别以弥补细胞凋亡检测方法学上的不足^[4]。

细胞凋亡是多细胞动物重要生命学现象,具有积极的甚至对生命存在不可缺少的生理意义。生精细胞是通过一系列的网状分子调控决定了细胞的生存与死亡。目前,低剂量辐射诱导适应性反应的机制虽然有多种解释,但还不完全清楚^[17]。本实验对低剂量X射线辐射诱导生精细胞凋亡的种类、剂量和时程效应关系的研究,为进一步研究低剂量电离辐射诱导生精细胞凋亡创造了条件。同时,低剂量电离辐射选择性诱导生精细胞凋亡规律的认识也为研究低剂量电离辐射诱导细胞遗传学适应性反应凋亡机制,提供了更深层次的实验证据。

参考文献

- 1 龚守良,刘树铮. 国外医学. 放射医学与核医学分册, 1999, 23(5): 227-230
GONG S L, LIU S Z. Foreign Med Sci. Sect Radiol and Nuclear Med Sci, 1999, 23(5): 227-230
- 2 Moreno S G, Dutrillaux B, Coffigny H. Int J Radiat Biol, 2001, 77(2): 529-538
- 3 Hasegawa M, Zhang Y, Niibe H et al. Radiat Res, 1998, 149(3): 263-270
- 4 赵卫红,寿长好. 细胞凋亡, 郑州: 河南医科大学出版社, 1997. 173-215
ZHAO W H, SHOU C H. Apoptosis, Zhengzhou: Henan Med Univ Press, 1977. 173-215
- 5 Gavriel Y, Sherman Y, Bensansson S A. J Cell Biol, 1997, 119(3): 493-496
- 6 陈东,刘树铮. 白求恩医科大学学报, 1999, 25(3): 564-567
CHEN D, LIU S Z. J N Bethune Univ Med Sci, 1999, 25(3): 564-567
- 7 Mori C. Dev Dyn, 1997, 208(3): 125-126
- 8 Brinkwolt M H. J Reprod Fertility, 1995, 105(7): 25-27
- 9 Billig A D. Endocrinology, 1995, 136(2): 5-7
- 10 Woloschak G E. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1997,

- 39 (5): 951-954
- 11 Liu S Z, Liu W H, Sun J B. Health Physics, 1987, 52 (9): 579-583
- 12 鞠桂芝, 苏旭, 傅海青等. 中华放射医学与防护杂志, 1999, 19 (6): 369-371
JUI G Z, SU X, FU H Q et al. Chin J Radiol Med Prot, 1999, 19 (6): 369-371
- 13 Gong S L, Liu S C, Liu J X et al. Biomed Environ Sci, 2000, 10 (1): 180-188
- 14 Liu S Z, Cai L, Sun J B. Acta Biol Hungarica, 1990, 41 (3): 149-157
- 15 Cai L, Liu S Z. Mutat Res, 1993, 303 (1): 157-159
- 16 李修义, 傅海青, 刘树铮. 白求恩医科大学学报, 1995, 21 (6): 559-562
LI X Y, FU H Q, LIU S Z. J N Bethune Univ Med Sci, 1995, 21 (6): 559-562
- 17 Liu S Z, Wan H, Chen S L et al. J N Bethune Univ Med Sci (China), 1996, 22 (6): 559-561

EFFECT OF LOW DOSE X-RAY IRRADIATION ON APOPTOSIS IN SPERMATOGENIC CELLS OF MOUSE TESTES

LIU Guangwei LIU Shuchun LU Zhe GONG Shouliang

(MH Radiobiology Research Unit, Jilin University, School of Public Health, Changchun 130021)

ABSTRACT To study the effects of low dose radiation (LDR) with different doses of X-rays on the apoptosis in spermatogenic cells of male Kunming mouse testes. The time-effect and dose-effect of apoptosis in the different stages of spermatogenic cell cycles of mouse testis after LDR with different doses of X-rays were studied with light microscope using the methods of TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) and HE staining. The apoptosis of spermatogenic cells induced by LDR had a remarkable regularity in cell types. When the dose was 0.025Gy, spermatogonium apoptosis was taken as main. With the dose increase of irradiation (0.025—0.2Gy), spermatocytes also showed an apoptotic change, but the apoptotic rate of spermatogonia was significantly higher than that of spermatocytes. Moreover, the apoptosis of spermatids and spermatozoa scarcely occurred after irradiation with low dose. The apoptosis of spermatogenic cells induced by LDR has a regular change, which provides a further experimental evidence for the mechanism study of hormesis by LDR.

KEYWORDS Low dose radiation (LDR), Spermatogenic cells, Apoptosis, TUNEL

CLC R811.5, R392, R818