

# $\alpha$ 辐射致细胞转化与基因突变

樊飞跃 杨素霞 曹珍山 李煜 朱茂祥 刘国廉

(军事医学科学院放射医学研究所 北京 100850)

**摘要** 为探讨  $\alpha$  辐射诱发体外细胞转化效应与 hprt 基因突变之间的相关关系。用体外培养的人胚肺细胞, 经 0.25—5Gy  $\alpha$  粒子照射后, 各受照射剂量组细胞半固体琼脂培养集落形成能力明显增加, 细胞获得了非锚着依赖性生长能力, 说明人胚肺细胞在  $\alpha$  辐射作用下发生了转化细胞 hprt 基因突变检测。结果表明, 随着  $\alpha$  粒子照射剂量的增加, hprt 基因变异系数逐渐增加。细胞转化与 hprt 基因突变相关分析证实, 两者之间存在显著的线性正相关关系。研究结果显示,  $\alpha$  辐射的致癌效应与 hprt 基因突变密切相关。

**关键词**  $\alpha$  辐射, 细胞转化, hprt

**中图分类号** R818.03

在辐射生物效应研究中, 人们普遍关注低传能线密度(LET)辐射的急性损伤效应。但是, 随着辐射防护水平的提高, 这种低 LET 急性辐射损伤事件的发生机率越来越小, 而人们开始更加关心环境辐射因素对人体健康的影响。在环境辐射因素中, 氦及其子体  $\alpha$  辐射诱发肺癌的研究一直是研究的热点。虽然已经肯定, 氦及其子体的  $\alpha$  辐射可以诱发人类及实验动物的肺癌发生, 但对其机理尚不完全清楚。我们的研究试图从辐射致细胞转化及基因突变的角度, 分析辐射致癌与基因突变的关系, 为揭示  $\alpha$  辐射的致癌机理提供有益的佐证。

## 1 材料和 方法

### 1.1 人胚肺细胞

采用自行建立的 HEL-9402 人胚肺细胞系为正常二倍体核型( $2n=46$ ), 培养于含 10% 小牛血清 RPMI-1640 培养基中。

### 1.2 $\alpha$ 粒子离体照射

$\alpha$  照射源为  $^{238}\text{Pu}$  电镀源,  $\alpha$  能量为 5.34MeV。应用本实验室建立的  $\alpha$  粒子离体照射模型<sup>[1]</sup>, 对 HEL-9402 细胞进行离体照射。剂量分别为 0.25、0.5、1、3、5Gy。

### 1.3 细胞半固体琼脂培养

$\phi 6\text{cm}$  平皿接种  $1 \times 10^3$  个细胞, 底层琼脂浓度为 0.5%, 上层琼脂浓度为 0.33%, 以 37℃ 培养 14d, 在显微镜下计数细胞集落。

### 1.4 hprt 基因突变检测

采用 CB 法<sup>[2]</sup>进行 hprt 基因突变检测。照射后的细胞分 2 组, 一组中加入终浓度 0.1mmol/L 6-TG(6-thioguanine), 另一组不加, 两组皆以 37℃ 培养 30h, 再同时向两组中加终浓度为 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$  的细胞松弛素 B, 继续培养 42h。甲醇冰醋酸固定, Giemsa 染色。显微镜下计数双核或多核细胞数。

第一作者: 樊飞跃, 男, 1958 年 3 月出生, 1981 年毕业于苏州医学院放射医学系, 副研究员, 放射毒理专业  
收稿日期: 初稿 2000-05-09, 修回 2000-07-18

## 1.5 hprt 变异系数

变异系数等于含  $6-TG$  培养的  $1 \times 10^3$  个细胞中双核或多核细胞数, 除不含  $6-TG$  培养的  $1 \times 10^3$  个细胞中双核或多核细胞数。

## 2 结果

### 2.1 $\alpha$ 辐射致人胚肺细胞转化

细胞体外转化实验是研究环境有害因子致癌效应的有效的离体实验模型。在该模型判定细胞是否发生转化的众多指标中, 细胞非锚着依赖性生长能力(半固体琼脂培养集落形成能力)的判定是很有说服力的离体实验判定指标。

经  $0.25-5Gy$  不同剂量  $\alpha$  粒子照射后的人胚肺细胞在体外连续传代培养。当细胞传至第 20 代时, 各受照射组细胞形态发生明显改变, 梭状的成纤维细胞向上皮样细胞转化。细胞半固体琼脂培养集落形成率明显增加, 细胞获得了非锚着依赖性生长能力, 说明  $\alpha$  辐射诱发了人胚肺细胞的体外转化(见表 1)。而且, 细胞半固体琼脂培养集落形成率随着  $\alpha$  粒子照射剂量的增加而逐渐增加。

Tab.1 Clony formation efficiency (CFE) of HEL-9402 in soft agar

D /Gy	No. of samlpe	CFE/%
0.0	8	0.20±0.56
0.25	10	2.10±1.20 <sup>(1)</sup>
0.5	10	5.80±2.44 <sup>(1)</sup>
1.0	10	11.50±3.20 <sup>(1)</sup>
3.0	10	20.80±6.58 <sup>(1)</sup>
5.0	9	29.62±10.89 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>  $p < 0.01$

### 2.2 $\alpha$ 辐射致细胞 hprt 基因突变

$\alpha$  粒子照射后第 4 代的人胚肺细胞, hprt 基因变异系数明显增高, 与对照组比较差别显著(见表 2)。

Tab.2 hprt mutation of HEL-9402 induced by  $\alpha$ -particles

D/Gy	No. of cell with dinucli, or polynucli / $\times 10^3$ cells		Variation coefficient
	With $6-TG$	Without $6-TG$	
0	22.40±2.99	216.60±10.34	0.1034±0.0141
0.25	30.00±4.92	221.10±9.08	0.1357±0.0229 <sup>(1)</sup>
0.5	46.20±7.00	224.50±10.42	0.2058±0.0326 <sup>(1)</sup>
1.0	61.50±8.25	216.10±11.08	0.2846±0.0409 <sup>(1)</sup>
3.0	89.20±12.44	204.70±10.79	0.4538±0.0650 <sup>(1)</sup>
5.0	139.10±16.13	200.60±15.29	0.6934±0.0962 <sup>(1)</sup>

No. of sample = 10, <sup>(1)</sup>  $p < 0.01$

细胞 hprt 基因变异系数随  $\alpha$  粒子照射剂量的增加而增高, 两者之间的关系满足直线方程:  $Y = 0.128 + 0.112X$  ( $r = 0.9913$ )。式中,  $Y$  为 hprt 基因变异系数,  $X$  为细胞  $\alpha$  射线吸收剂量(Gy)。

### 2.3 细胞转化与 hprt 基因突变的相关性

人胚肺细胞接受 α 粒子照射后,细胞半固体琼脂培养集落形成率与 hprt 基因变异系数均明显增加,其随 α 照射剂量的变化规律都表现为随着剂量的增加而逐渐增加的变化趋势。统计回归分析结果表明,细胞半固体琼脂培养集落形成率与细胞 hprt 变异系数之间的相关关系满足直线方程:  $Y = -4.21 + 51.27X$ 。式中, Y 为细胞半固体琼脂培养集落形成率(‰), X 为 hprt 基因变异系数。

从图 1 和表 3 的结果可以看出,α 辐射诱发人胚肺细胞体外转化与 hprt 基因突变之间存在着明显的线性正相关关系( $p < 0.01$ )。

Tab.3 Statistic analysis of correlation between hprt mutation and CFE

Parameter	Value
Correelation coefficient	0.9903
Residual sum of squares	12.829
Residual standard deviation	1.7909
F-value of ANOV	202.78

### 3 讨论

α 粒子辐射致癌是当今放射毒理与辐射生物学研究中的热点课题。虽然人群辐射流行病学调查和大量的实验研究已经证实 α 粒子辐射能够诱发人类及实验动物癌症发生,但对于其确切的机理及辐射致癌与致突变之间的定量关系还没有明确的回答。hprt 基因对于电离辐射非常敏感,是最早应用于辐射生物效应研究的效应靶基因。目前,实验研究主要集中在不同 LET 辐射和不同剂量率照射条件下<sup>[3,4]</sup>,辐射诱发 hprt 基因突变的特点及其规律以及辐射诱发 hprt 突变的突变基因谱分析的研究<sup>[5]</sup>。在实际应用中,hprt 基因突变的分析已经被试用于日本原子弹爆炸受害人群<sup>[6]</sup>、切尔诺贝利核电事故受照射者以及放射源事故受照人员辐射生物效应及剂量评价研究中<sup>[7,8]</sup>。但是,对于 hprt 基因突变这样一个被广泛研究的辐射敏感的生物效应指标,就其在 α 粒子辐射致癌中的作用以及两者之间的定量关系,目前尚未见系统报道。本实验研究结果表明,接受 0.25—5 Gy α 粒子照射后,人胚肺细胞 hprt 基因突变率增高,同时观察到辐射诱发的细胞转化效应。细胞 hprt 基因突变频率与细胞转化效应均随 α 粒子辐射剂量的增加而逐渐增高或加强,显现出明显的相关性。统计学分析表明,α 辐射所致细胞 hprt 基因突变与细胞转化之间存在着线性正相关关系( $p < 0.01$ ),即辐射诱发的细胞转化效应随着细胞 hprt 基因突变频率的增高而增强。本实验室以往的研究结果证实,在 α 辐射诱发细胞转化的不同时相,某些癌基因或抑癌基因发生改变,说明 α 辐射致癌有其特定的分子生物学基础<sup>[9,10]</sup>。本实验研究结果提示,α 辐射致癌效应与辐射所致细胞 hprt 基因突变效应密切相关。进一步深入研究 α 辐射所致细胞 hprt 基因突变与细胞转化效应之间的关系,将

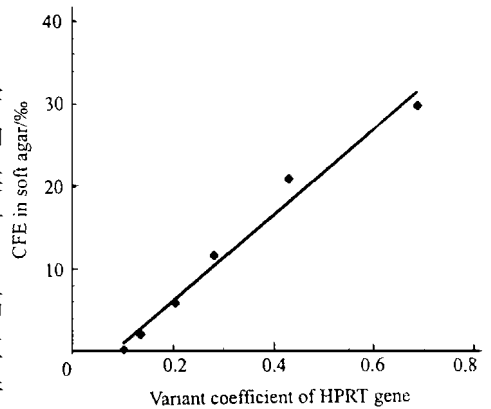


Fig. 1 Relationship between CFE and variation coefficient of HEL - 9402

有助于从分子水平上阐明  $\alpha$  辐射致癌效应的分子机理。

### 参 考 文 献

- 1 张欣, 郑文忠, 龚诒芬等. 辐射防护, 1996, **16**(3):192—201  
ZHANG X, ZHENG W Z, GONG Y F *et al* · Radiat Prot, 1996, **16**(3):192—201
- 2 Norman A, Mitchell J C, Iwamoto K S. Mutat Res, 1988, **208**:17—19
- 3 Keifer J, Schreiber A, Gutermuth F *et al* · Mutat Res, 1999, **431**(2):429—448
- 4 Furuno—Fukushi I, Tatsumi K, Takahagi M *et al* · Int J Radiat Biol, 1996, **70**:209—217
- 5 Schwartz J L, Jordan R, Sun J *et al* · Radiat Res, 2000, **153**(3):312—317
- 6 Hirai Y, Kusunoki Y, Kyoizumi S *et al* · Mutat Res, 1995, **329**(2):183—196
- 7 Jones I M, Thomas C B, Haag K *et al* · Mutat Res, 1999, **431**(2):233—246
- 8 Saddi V, Curry J, Nohturfft A *et al* · Environ Mol Mutagen, 1996, **28**(3):267—275
- 9 赵永良, 金瑾珍, 刘国廉等. 中华放射医学与防护杂志, 1996, **16**:235—237  
ZHAO Y L, JIN C Z, LIU G L *et al* · Chin J Radiol Med Prot, 1996, **16**:235—237
- 10 李刚, 吴德昌, 胡迎春等. 中华放射医学与防护杂志, 2000, **20**:19—24  
LI G, WU D C, HU Y C *et al* · Chin J Radiol Med Prot, 2000, **20**:19—24

## CELL TRANSFORMATION AND hprt GENE MUTATION INDUCED BY $\alpha$ PARTICLES

FAN Feiyue YANG Suxia CAO Zhenshan LI Yu ZHU Maoxiang LIU Guolian  
(*Institute of Radiation Medicine, Academy of military medical sciences, Beijing 100850*)

**ABSTRACT** The purpose of this study is to investigate the relationship between cell transformation and hprt gene mutation induced by  $\alpha$  irradiation in vitro. The results showed that the colony formation efficiency (CFE) of human embryo lung cells in soft agar increased after irradiation with 0.25—5Gy, which meant inducible cell transformation by  $\alpha$  irradiation. Mutation frequency of hprt gene was found increased with the increase of the doses of  $\alpha$  irradiation. Further analysis indicated the positive linear correlation between CFE and the variation coefficient of hprt gene. So, the carcinogenesis induced by  $\alpha$  particles maybe is relative to hprt gene mutation.

**KEYWORDS**  $\alpha$  irradiation, Cell transformation, hprt mutation

**CLC** R818.03