

# 氡及其子体对大鼠外周血淋巴细胞 DNA 的损伤效应

童建 洪承皎 王静 傅春玲

(苏州大学核医学院 苏州 215007)

**摘要** 将大鼠暴露于10、20和30WLM(working level months)的氡浓度后,采用H-TdR掺入法和碱性单细胞凝胶电泳技术(SCGE),研究吸入氡及其子体后大鼠外周血淋巴细胞的DNA损伤效应。结果表明,各暴露剂量组大鼠外周血淋巴细胞转化均显著低于对照组;淋巴细胞在碱性单细胞凝胶电泳条件下DNA的迁移距离均显著高于对照组,且呈剂量-效应关系。大鼠吸入氡及其子体可引起淋巴细胞DNA合成抑制及淋巴细胞转化能力下降。

**关键词** 氡及其子体,淋巴细胞, DNA损伤

**中图分类号** R818.03

放射性氡气已被WHO公布为人类重要的19种环境致癌物之一。本实验采用<sup>3</sup>H-TdR掺入法和碱性单细胞凝胶电泳技术(SCGE),检测氡及其子体内照射对大鼠外周血淋巴细胞的损伤效应,阐明氡及其子体对机体免疫系统的影响,为氡的防护和剂量限值等提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物处理

1.1.1 动物分组和处理 采用Wistar雄性大鼠共24只,体重150—200g,随机分为对照组和不同工作水平月(WLM)暴露组,即10WLM、20WLM、和30WLM,每组6只,整体暴露于HD-3多功能生态氡室中。

1.1.2 暴露条件 HD-3型多功能生态氡室(华东地质学院制造)为动态补新鲜空气式氡室,通过对氡室内氡及其子体浓度的实时自动监测,由电脑控制氡的输送和停止,维持室内氡浓度稳定于±5%设定值范围。氡控制浓度为50Bq/L,实验组大鼠每天暴露时间为12h,各实验组累积暴露时间分别为125.8、251.6和377.4h,相当于10WLM、20WLM和30WLM,暴露期间大鼠可自由活动、进食和饮水。于大鼠最后1次暴露后10h采样检测。

### 1.2 <sup>3</sup>H-TDR掺入法观察淋巴细胞的转化

心脏无菌穿刺取血,肝素抗凝,加入含PHA(植物血凝素,广州医药工业研究所)100μg/mL的RPMI1640(GIBCO Laboratories New York USA)培养液中培养。将淋巴细胞数调整为10<sup>5</sup>个/瓶,37℃、加湿、5%CO<sub>2</sub>培养共72h,终止培养前16h每瓶加入10uL的<sup>3</sup>H-TdR(7.4Bq,上海原子核研究所)。培养结束时,每瓶加蒸馏水6mL,低渗破坏红细胞,然后用滴管转移至具抽滤装置的49型玻璃纤维滤膜上过滤。生理盐水洗涤后,用5%三氯醋酸固定,无水乙醇脱水。滤膜60℃,30s烘干。然后将滤膜样品放入2.5mL Hisafe 闪烁液中,以法玛西亚低本液体闪烁计数仪(Wallac 1415)测定每分钟放射性计数。

中国核工业总公司科技基金(55.7.3)资助

第一作者:童建,男,1953年5月出生,1988年毕业于南京医学院,教授,预防医学专业

收稿日期:初稿2000-07-10, 修回2001-04-16

### 1.3 SCGE 技术检测 DNA 损伤

参照 Singh 等<sup>[1]</sup>的方法,简述如下:

- 1.3.1 淋巴细胞的采样 在每组大鼠达到剂量水平后 10h, 取血 0.1mL, 加肝素抗凝, 分离血细胞, 置 4℃ 下待用。
- 1.3.2 制胶板 0.5% 正常融点凝胶 85 $\mu$ L, 在磨沙载玻片上铺第 1 层, 再将 75 $\mu$ L 0.7% 低融点凝胶与细胞混匀, 铺第 2 层, 然后用 0.7% 低融点凝胶 85 $\mu$ L 铺第 3 层。
- 1.3.3 裂解 将玻片浸于新鲜配置的碱性裂解液(含 10% DMSO, 1% Triton X-100 等)中, 4℃ 裂解 1.5h。
- 1.3.4 电泳 将玻片取出放入电泳槽平板上, 置于新配置的电泳液中展开 20min, 然后在 300mA、25V 条件下电泳 20min。
- 1.3.5 中性化 将玻片取出, 用 Tirs-HCL 缓冲液(PH7.5)中性化 3 次, 每次间隔 5min。
- 1.3.6 染色 中性化后, 滴加 100 $\mu$ L 2  $\mu$ g/mL 的 EB 染液染色。
- 1.3.7 观察结果和拍照 染色后在奥林帕斯荧光显微镜下观察, 每个样本随机选择 30 个细胞, 用目镜微尺测定 DNA 迁移距离。

## 2 结果和讨论

(1) 大鼠外周血淋巴细胞<sup>3</sup>H-TdR 掺入法检测结果见表 1。从表 1 可见, 淋巴细胞的 cpm 值随吸入氡浓度的增高而降低, 与对照组相比,  $p < 0.05$ 。

Tab.1 Effects of radon exposure on <sup>3</sup>H-TdR incorporation of lymphocytes (counts/min  $\bar{x} \pm s$ )

Concentration(WLM)	Counts·min <sup>-1</sup>
0	1500.68 $\pm$ 403.12
10	388.80 $\pm$ 119.80
20	288.58 $\pm$ 70.72
30	77.04 $\pm$ 15.72

$n=6, p < 0.05$

(2) 大鼠外周血淋巴细胞 DNA 的迁移见表 2, 由表 2 可见, 大鼠吸入氡气后, 外周血淋巴细胞 DNA 的迁移随剂量的增高而增高, 与对照组相比,  $p < 0.01$ 。

Tab.2 Effects of radon exposure on tail movement of lymphocytes DNA ( $\bar{x} \pm s$ )

Concentration(WLM)	Tail moments of DNA( $\mu$ m)
0	22.68 $\pm$ 2.17
10	24.30 $\pm$ 2.21
20	25.13 $\pm$ 1.92
30	25.58 $\pm$ 1.71

$n=6, p < 0.001$

本实验通过用<sup>3</sup>H-TdR 掺入法和 SCGE 技术两种方法检测氡及其子体吸入后, 大鼠外周血淋巴细胞 DNA 的损伤效应。结果表明, 大鼠外周血淋巴细胞对氡及其子体较为敏感, 暴露累积总浓度达 10WLM 时, 每分钟计数值即显著降低, 单细胞凝胶电泳条件下 DNA 迁移长度显著增加。且随着暴露剂量的增加, 每分钟计数值逐渐降低, 淋巴细胞 DNA 尾距逐渐增大。

提示 $^3\text{H}$ -TdR 掺入法和 SCGE 技术两种方法可作为敏感指标,用于较低水平氡暴露对机体损伤的研究。由于其敏感性高且检测样品可采自外周血,因此在氡及其子体的效应检测方面具有一定的应用前景。

氡子体发射出的高 LET 的  $\alpha$  粒子照射靶细胞,可诱发基因突变并可能使细胞恶性转化成为肿瘤。美国西北太平洋实验室<sup>[2]</sup>和美国吸入毒理研究所<sup>[3]</sup>等都已证实大鼠及猎犬暴露于氡及其子体可以诱发肺肿瘤。而关于氡对机体免疫功能的影响,尤其暴露剂量在 100WLM 以下动物实验报道较少。本实验说明大鼠暴露至 10WLM 的氡及其子体后,即可引起淋巴细胞 DNA 的损伤和合成抑制,淋巴细胞转化能力下降,机体免疫功能下降,并且存在一定的剂量-效应关系。由于机体免疫功能的下降是肿瘤发生的一个重要影响因素,并且氡及其子体本身是重要的环境致癌物之一,因此有必要加强生活和工作环境中氡及其子体的监测和防护,尽可能降低暴露浓度,防止对人体的危害。

### 参 考 文 献

- 1 Singh N P, McCoy M T, Tice R P *et al.* Exp Cell Res, 1988, **175**, 184-191
- 2 Gilbert Es, Cross F T, Dagle G E. Radiat Res, 1996, **45**(3):350-360
- 3 Kelly G, Stegelmeier B L, Hahn F F. Radiat Res, 1995, **142**(3):263-269

## STUDY ON DNA DAMAGE OF LYMPHOCYTES IN RATS EXPOSED TO RADON AND ITS PROGENY

TONG Jian HONG Chengjiao WANG Jing FU Chunling  
(School of Nuclear Medicine, Soochow University, Suzhou 215007)

**ABSTRACT** Male Wistar rats were exposed to 0, 10, 20, and 30 working level months (WLM) of radon and its progeny by inhalation. DNA damage of rat peripheral lymphocytes induced by radon and progeny in vivo was investigated by using  $^3\text{H}$ -TdR incorporation assay and alkaline single cell gel electrophoretic technique. The CPM value of rat peripheral lymphocytes from radon exposed groups was decreased significantly compared with the control, while the tail movement of lymphocytes gel electrophoresis was increased significantly, with a dose-effect relationship. The results suggest that radon and its progeny can suppress DNA synthesis of lymphocyte, reduce transformation ability of lymphocyte and damage immune function, which are useful implications in radiation protection against radon toxicity.

**KEYWORDS** Radon and its progeny, Lymphocytes, DNA damage

**CLC** R818.03