

# 细胞微核形成动力学机理探讨

王天宇 杨丽君 黄钦田

(南京医学院)

**摘要** 本文基于实验资料及其统计分析提出:辐照后经培养的淋巴细胞中,可见到几及主核 $1/3\sim 1/2$ 大小的细胞微核,这并非单纯地由所谓的染色体断片形成,而是由发生畸变的染色体部分(诸如无着丝粒环、微小体、染色体断片、甚至包括带着丝粒的畸变染色体等),于胞质中在不同状态、不同条件下融合(如DNA的交联等)的结果。这种融合过程受着细胞核膜膜性结构的直接作用和细胞生化动力学的调节控制。本文提出:由融合机理形成细胞微核的途径是一个不可忽视的重要方面。

**关键词** 淋巴细胞;微核形成;动力学机理;膜性结构;融合。

## 引言

当细胞微核作为一种评价指标用于辐射损伤、药物筛选、肿瘤防治的实验研究,使它形成“微核测定法”被肯定以来,人们就越来越关心和重视细胞微核在各种因素作用下形成机理的探讨<sup>[1~12]</sup>。近20年来,国外有一些学者提出,“电离辐射所致的血细胞微核系来源于染色体断片”这个假说。可是,有一些学者根据观察到的放射性工作者染色体断片率与微核出现率无平行关系,不支持细胞微核来源于染色体断片的意见<sup>[13]</sup>。

为了着重研究细胞微核形成机理的可能环节,我们采用改进了的实验方法<sup>[14~15]</sup>,对细胞微核在辐射条件下形成的机理提出了四点假说<sup>[16]</sup>,本文着重探讨其中的一个方面,藉以说明细胞微核形成动力学的机理。

## 材料和方法

按照辐射遗传学研究要求所选取的正常青年个体,采用离体血体外经受 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 线不同剂量照射,50小时培养后加秋水仙素溶液以中止其分裂,并制备标本(均采用低渗膨胀的方法)。实验研究中,为满足一次急性大剂量率辐照所致损伤的要求,应用江苏省肿瘤防治研究所的加拿大点源 $^{60}\text{Co}$ 治疗机对血样本作垂直照射。各受照组的照射均在短瞬间完成。

细胞染色体观察分析方法均同1973年世界卫生组织(WHO)所规范的统一标准<sup>[17]</sup>;细胞微核观察分析方法以国内外报导的作参考标准<sup>[2~7,8~12]</sup>,结合我们所提出的几点改进<sup>[14~20]</sup>,逐个细胞进行分析,整个观察由2人相互校核,并记录其结果。实验资料用百分率 $\pm$ 泊松标准离差标出,数值列至小数点后三位,进位法参照有关文献<sup>[20~21]</sup>。统计分析的有关项目均用最小二乘方加权回归法作实验研究配线。

## 结果和讨论

对三次有关细胞染色体断片、细胞微核的实验观察资料作最小二乘方加权回归配线,均能配成 $Y=bD$ 的直线模式,它们的出现率( $Y$ )均与受照剂量( $D$ )呈现正比线性关系。本文分析研究中所涉的实验观察结果列于表1—3中。细胞染色体的断片观察值选400rad点<sup>[19]</sup>,细胞微核观察值选300、500rad点<sup>[16]</sup>,其相应的比较可以从表1及2中看出。在另一次细胞微核实验研究观察中<sup>[24]</sup>,注意了双核淋巴细胞胞质中的微核出现数及其分布,并选用300、500rad点作对比,并列出了同剂量组单核淋巴细胞胞质中的微核出现数及其分布(见表3)。实验观察中,我们看到淋巴细胞胞质中存在有大于主核 $\frac{1}{2}$ (或几近主核 $\frac{1}{2}$ )大小的微核结构。(见图1箭头所示)

表1 400rad照射点细胞染色体断片数及其分布<sup>[19]\*</sup>(百分率±泊松标准离差)

| 每个细胞中染色体断片数 | I            | II           | III         | IV          | V | VI          |
|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|---|-------------|
| 出现数         | 110          | 82           | 20          | 10          | — | 2           |
| 百分率±泊松标准离差  | 41.667±3.973 | 31.061±3.430 | 7.576±1.694 | 3.788±1.198 | — | 0.758±0.538 |

\* 400rad点可分析的染色体细胞总数为264个。

表2 细胞微核数及其分布<sup>[16]\*\*</sup>(百分率±泊松标准离差)

| 受照剂量<br>(rad) | 观察<br>淋巴细胞数 | I                    | II                 | III               | IV                | V                | VI               |
|---------------|-------------|----------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 300           | 10000       | 1623<br>16.230±0.403 | 323<br>3.230±0.180 | 48<br>0.480±0.069 | 2<br>0.020±0.014  | 1<br>0.010±0.010 | —                |
| 500           | 7100        | 1216<br>17.127±0.491 | 383<br>5.394±0.276 | 87<br>1.225±0.131 | 12<br>0.169±0.049 | 1<br>0.014±0.014 | 1<br>0.014±0.014 |

\*\* I、II、III...VI, 此处指每个淋巴细胞中微核出现数。

表3 单、双核淋巴细胞中微核出现数及其分布<sup>[24]\*\*</sup>(百分率±泊松标准离差)

| 受照<br>剂量<br>(rad) | 观察<br>淋巴细胞<br>数 | 单核淋巴细胞及其微核分布频数   |                  |                 |                 |                 |                 |                 | 双核淋巴细胞及其微核分布频数  |                 |                 |                 |                 |                 |    |
|-------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----|
|                   |                 | 单核淋<br>巴细胞<br>数  | I                | II              | III             | IV              | V               | VI              | 双核淋<br>巴细胞<br>数 | I               | II              | III             | IV              | V               | VI |
| 300               | 10950           | 10671            | 1449             | 215             | 24              | 2               | 1               | 1               | 279             | 82              | 32              | 4               | 6               | 1               | —  |
|                   |                 | 97.452<br>±0.943 | 13.197<br>±0.347 | 1.958<br>±0.134 | 0.218<br>±0.045 | 0.018<br>±0.013 | 0.009<br>±0.009 | 0.009<br>±0.009 | 2.548<br>±0.153 | 0.749<br>±0.083 | 0.292<br>±0.052 | 0.036<br>±0.018 | 0.055<br>±0.022 | 0.009<br>±0.009 | —  |
|                   |                 | 0.943            | 0.347            | 0.134           | 0.045           | 0.013           | 0.009           | 0.009           | 0.153           | 0.083           | 0.052           | 0.018           | 0.022           | 0.009           | —  |
| 500               | 13800           | 73125            | 2185             | 443             | 133             | 22              | 3               | 5               | 670             | 226             | 117             | 55              | 20              | 6               | —  |
|                   |                 | 95.109<br>±0.830 | 15.833<br>±0.339 | 3.210<br>±0.152 | 0.964<br>±0.084 | 0.159<br>±0.034 | 0.022<br>±0.012 | 0.036<br>±0.016 | 4.855<br>±0.188 | 1.638<br>±0.109 | 0.848<br>±0.079 | 0.398<br>±0.054 | 0.145<br>±0.032 | 0.043<br>±0.018 | —  |
|                   |                 | 0.830            | 0.339            | 0.152           | 0.084           | 0.034           | 0.012           | 0.016           | 0.188           | 0.109           | 0.079           | 0.054           | 0.032           | 0.018           | —  |

\*\* 注同表2。

以人体细胞为例,就染色体型的断片,最大的要算A组三对染色体长臂上的断片,即使由它所形成的微核从大小来说,充其量也不会超过原主核大小的 $1/20 \sim 1/15$ 。因而,这一类

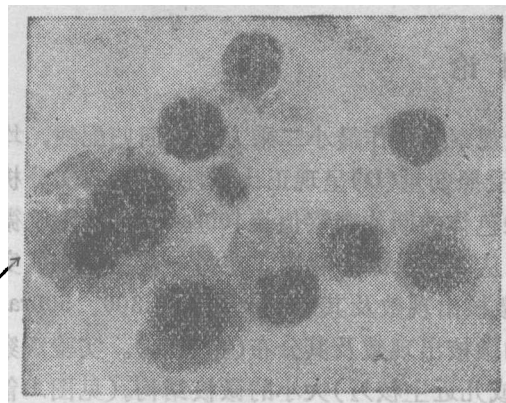


图1 样本C血细胞经60rad照射,72小时培养物中所见为主核 $1/3 \sim 1/2$ 大小的细胞微核(箭头所示细胞中)

几近主核 $1/3 \sim 1/2$ 大小的细胞微核的出现,无法用在细胞周期中由于分裂延缓单纯的染色体断片遗落于胞质而形成的这一观点加以解释。

从我们的实验结果,在两个环节上有可能提供新的解释依据。比较表1和表2,可以清楚地看到,辐照剂量点上所观察到的染色体断片的百分率均比微核出现数的相应百分率高,前者是后者的2.5倍以上,有的可高达6~10倍以上。这里,就提示了以下两点:1.由染色体断片形成细胞微核是有据可循的;2.不仅存在直接由染色体断片以单纯的形式所构成,而且也可能存在由两个(甚至若干个)染色体断片融合形成一般的细胞微核(及至较大的细胞微核)。这一点,我们从表

3可以看到佐证。在双核淋巴细胞中,其微核出现数的频度也是相当高的,一个有意义的事实是双核淋巴细胞中查见一个微核的出现率为最高。辐射细胞生物效应观察中,通常把双核淋巴细胞出现率作为一种诊断指标,它反映了受损的淋巴细胞在进入新的细胞周期并不能形成两个子细胞,只能以双核淋巴细胞状态出现。这种情况下,原来受损的淋巴细胞有染色体断片,在形成微核状态的双核淋巴细胞中,出现的微核分布数应以双数(或复数)为主体。事实上,在我们的实验观察中,双核淋巴细胞中所见到的微核数分布以单数为主体,统计分析中也清楚地看到,在单核淋巴细胞中也同样显示了这样的结果。这就反映了:由染色体断片之间融合形成一个较大(或更大一点)的细胞微核是实际上可能存在的途径。

当细胞受到电离射线作用时,属于DNA物质的染色体会在其击中部位的氢键处断裂,致使两个链分开(或局部解脱),若射线作用强时,或呈贯穿状态如 $\gamma$ 射线,中子流等,造成多核苷酸链断裂<sup>[22]</sup>,在染色体畸变观察中见到的如染色体断片(以及微小体、无着丝粒环)等结构。经射线击中而与原染色体离断的染色体断片,本身已不再受着丝粒的牵着,这种情况下的染色体断片处于相对的游离状态,它有更多的机率与另外(或更多)处于相同状态的染色体断片等相结合<sup>[28]</sup>(或称重组、重聚),从而构成一种结构比较松散,但仍然维持一定外形的细胞微核,这样,有的细胞微核就可能相对地较大。在我们实验研究中所看到的,受射线等因素作用而出现的断片率高,而相对地微核率要低得多的事实,正说明了有这样的可能:这种离逸主体的染色体断片(或更多的这类断片部分)之间的相互融合是一种实际存在的现象。

我们在实验中观察到如图2、图3所显示的景象。图3这一淋巴细胞中,有一较大的细胞微核,其大小超过主核的 $1/2$ ,而且经 $^3\text{H}$ -TdR掺入得到的放射自显影,显示了细胞微核和其主核同样有DNA合成的能力。这类细胞微核就完全有可能是图2右侧所示一团(6~8条)发生畸变的染色体部分在特定条件下融合而成。

基于以上的实验资料及其统计分析,我们提出:辐照后经培养的淋巴细胞中可见到(照射剂量大时,有一定数量)几近主核直径 $1/3 \sim 1/2$ 大小的细胞微核,他们并非单纯地由所谓的染色体断片形成,而可能是由发生畸变的染色体部分(如无着丝粒环、微小体、染色体断片,甚至

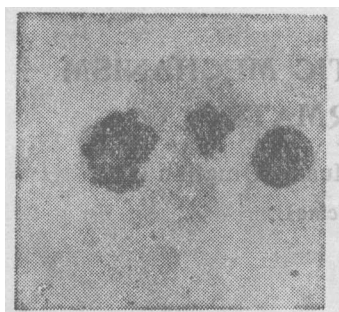


图2 样本G血细胞经250rad照射、50小时培养物中所见的中后期分裂相细胞  
细胞左侧为一团约为30~40条染色体的聚合态；  
右侧为6~8条染色体的聚合态。



图3 样本E血细胞经500rad照射、50小时培养物中所见的带一较大微核的淋巴细胞图象  
其微核大小超过主核的1/3。

包括带着丝粒的畸变染色体部分等), 于胞质中在不同状态、不同条件下融合(如DNA的交联等)的结果。这种融合过程, 受着细胞核膜膜性结构的直接作用和细胞生化动力学的调节控制。由此, 我们认为: 由融合机理形成细胞微核的途径是一个不可忽视的重要方面。这项工作值得进一步作深入地研究。

文中照片由南京医学院电子显微镜室王玲等同志协助拍摄, 在此一并致谢。

### 参 考 文 献

- [1] 朱炳富等, 遗传学报, 4, 170~174(1979)。
- [2] 肖佩新等, 生物化学与生物物理进展, 5, 15(1977)。
- [3] 于学仁等, 核防护, 3, 62(1980)。
- [4] 杨家宽等, 核防护, 3, 64(1980)。
- [5] 黄进忠等, 中华放射医学与防护杂志, 1, 1, 40~43(1981)。
- [6] 白玉书等, 遗传, 4, 3, 7~10(1982)。
- [7] 伊虎英, 遗传, 3, 3, 30~31(1981)。
- [8] C. D. Olinic et al, *Int. J. Radiat Biol.*, 34, 6, 589~593 (1978)。
- [9] R. C. Chaubey et al, *Int. J. Radiat Biol.*, 33, 5, 507~510 (1978)。
- [10] J. A. Heddle et al, *Radiat. Res.*, 61, 350~353 (1975)。
- [11] D. Bettaga, *Int. J. Radiat Biol.*, 37, 1, 1~9 (1980)。
- [12] A. Rugh et al, *Radiat. Res.*, 20, 399 (1963)。
- [13] 杨品清等, 80625会议资料(1980)。
- [14] 王天宇等, 南京医学院学报, 1, 2, 14~16(1981)。
- [15] 王天宇等, 江苏省遗传学会年会论文集, pp.173~176 (1980)。
- [16] 王天宇等, 中国核学会辐射研究与辐射工艺学会第一届代表会议论文摘要汇编, 上海, 8, 18~22(1981)。
- [17] K. E. Buckton, et al., *Methods for the analysis of human chromosome aberrations*, pp.18~22 WHO Geneva, 1973。
- [18] 蒋亦寿等, 江苏医药, 6, 2, 1~3(1980)。
- [19] 蒋亦寿等, 80625会议资料(1980)。
- [20] 南京医学院709科研组编, 细胞组织培养及其实验研究 5, 1~20(1981)。
- [21] 郭祖超编著 医用数理统计方法, P. 100~101 人民卫生出版社, 北京(1965)。
- [22] J. D. Watson et al, *Nature.*, 171 737~738 (1953)。
- [23] A. G. Craig, *J. Theor Biol.*, 82 633~642 (1980)。
- [24] 王天宇等, 细胞生物学杂志, 5, 1, 38~43(1983)。

(1982年11月26日收到)

## A RESEARCH ON THE KINETIC MECHANISM OF MICRONUCLEI FORMATION

Wang Tianyu    Yang Lijun    Huang Qingtian

(Nanking Institute of Medicine)

### ABSTRACT

Based on the detailed experimental record and the statistical analysis of the data, we wish to put forward our concept on the micronuclei formation as follows: After irradiation the micronuclei were visible in the lymphocyte, their size is  $1/3 \sim 1/2$  of the main nuclei. The micronuclei were not derived solely from the fractions of the chromosome, but from the various components of the chromosome (such as acentric rings, microbodies, acentric fragments, various chromosome-containing mitosomes etc.) by fusing at various states and conditions in the cell plasma. Factors influencing the process of fusion include the allosteric change in membrane configuration of nuclei and of the kinetic status of the cell. According to the characteristic helical structure of DNA polynucleotide chain, we believe that under irradiation the acentric fragments of the double-nuclei lymphocyte showed a tendency to fuse leading to the formation of micronuclei. The way of micronuclei formation through fusion mechanism may be one of the main probabilities.

### KEYWORDS

Lymphocyte; micronuclei formation; kinetic mechanism; membrane configuration; fusion.