

局部照射和全身照射诱发小鼠精原细胞染色体畸变的比较

王献理 王 彬 孙淑清

(白求恩医科大学放射医学研究所, 长春)

摘要 本文对X线照射小鼠睾丸组织和全身均匀照射诱发精原细胞染色体易位率进行了比较。两种不同照射方式所诱发的易位率都随剂量增加而增高, 其剂量效应关系均符合 $y = a + bD$ 关系式。全身照射明显高于局部受照, 从而提示用全身均匀照射的遗传风险来估价睾丸组织受照的遗传效应是不适宜的, 它过高的估价了遗传危险度。因此对常见的生殖器官局部受照的遗传危害, 应该用局部照射的资料来评估, 更接近实际。

关键词 精原细胞, 遗传危险, 生殖细胞染色体畸变。

辐射诱发生殖细胞染色体异常, 大部分以致死效应导致细胞的死亡而被淘汰, 一小部分具有平衡易位的畸变细胞有可能和正常配子一样, 完成受精过程, 其后果可造成合子的早期死亡(流产或死产)和胎儿的畸形^[1]。因此, 电离辐射增加了遗传负荷。为探讨辐射对子代的遗传危害, 全身均匀照射诱发生殖细胞染色体畸变的研究已有很多报告^[2]。但实际生活中, 即使是事故受照, 也常常是全身不均匀照射, 而更多见的如肿瘤放疗, 医疗照射等都是局部照射。为了探讨睾丸组织局部受照射的遗传风险, 本文用X线分别照射小鼠的睾丸组织局部和全身, 比较染色体畸变规律, 以估价其遗传效应。

实验材料及分组

健康雄性8周龄, 体重为 20 ± 3 g 的 $C_{57}BL$ 小鼠, 随机分成9组, 每组5只。

(1) 照射条件 飞利浦X线机, 电压200 kV 电流10 mA, 过滤板为0.5 mmCu 和1.0 mmAl; 剂量率为 $28 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

(2) 剂量及分组 第1组不照射为对照组, 另8组按局部和全身各4个剂量组; 以照射野中心点为圆心, 在同一圆上仰卧固定6只动物, 其中3只用3 mm的铝板屏蔽小鼠髂前上嵴以上部位, 照射睾丸组织(包括两下肢), 为局部照射组。另3只不屏蔽作全身均匀照射。剂量分别为1、2、3和4 Gy。

(3) 生殖细胞染色体标本制备 照后第60 d, 腹腔注射秋水仙素 $4 \mu\text{g/g}$ 体重, 6 h后脱颈处死, 取其睾丸去被膜, 制成均浆, 用0.5% KCl 低渗处理30 min (放置3-5 min后, 用吸管吸去大块沉淀物), 以3:1的甲醇冰醋酸混合液固定3次, 制片, Giemsa染色。

(4) 观察指标及判断标准^[3] 在油镜下观察分散良好的初级精母细胞终变期一中期I的分裂相, 双盲法阅片, 遇有畸变时征得第二者确认。

结 果

局部及全身均匀照射的小鼠精原细胞染色体易位率(见表1)。可见两种方式照射的精原细胞

易位率均与剂量呈正相关, 经统计学处理, 拟合 $y = a + bD$ 和 $y = a + bD + cD^2$ 函数关系式如下:

$$\hat{y}_B = -0.295 + 0.699 D \quad (r = 0.96, p < 0.005)$$

$$\hat{y}_B = -0.169 + 0.447 D + 0.063 D^2 \quad (F = 17.6, p > 0.05)$$

$$\hat{y}_\Delta = -0.760 + 1.408 D \quad (r = 0.945, p < 0.01)$$

$$\hat{y}_\Delta = 0.057 - 0.226 D + 0.409 D^2 \quad (F = 1058, P < 0.01)$$

Tab 1. Relationship of spermatogonia translocation and doses of radiation.

Pattern of radiation	Doses (Gy)	No. of cell scored	Trivalent	Ring quadrivalent	Chain quadrivalent	Hexavalent	Octovalent	Duodecavalent	Total No. of translocation	Rate of translocation (%)
Local part	0	1028	0	0	0	0	0	0	0	0.000
	1	507	0	0	0	0	0	0	0	0.000
	2	572	0	1	4	0	0	0	5	0.986
	3	532	2	0	4	1	1	0	11	2.068
	4	528	0	0	7	3	0	0	13	2.462
Whole body	0	1028	0	0	0	0	0	0	0	0.000
	1	788	1	1	1	0	0	0	3	0.381
	2	519	0	2	4	0	0	0	6	1.196
	3	596	0	1	10	1	0	1	18	3.120
	4	542	0	10	16	1	1	0	31	5.720

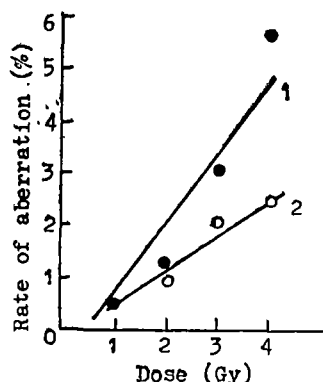


Fig 1. Comparison of relationship for dose-effect of translocation in spermatogonia of mice in different radiation patterns.

(●) whole-body (1) $\hat{y}_\Delta = -0.760 + 1.408 D$ (○) local testis, (2) $\hat{y}_B = -0.295 + 0.699 D$.

经曲线拟合优度检验, 局部照射符合直线回归方程; 全身照射虽然以二次多项式为最佳(剩余方差 0.0156), 但直线回归也成立(剩余方差为 0.0237)。为了比较局部照射和全身均匀照射的遗传危险度, 故用直线回归方程进行比较。(见图 1)。

从图 1 可见二个回归方程的斜率(b 值)明显不同(直线回归系数差别的显著性检验, t 值为 2.3582、 $p < 0.05$)。说明全身均匀照射时诱发小鼠精原细胞易位效应明显大于局部照射的效应, 前者约为后者的 2 倍左右。比较两组照射后诱发精原细胞易位的总平均率(即总易位数/分析细胞总数), 全身照射组为 0.0237/细胞 (58/2445), 而局部照射组为 0.0136/细胞 (29/2139), 前者是后者的 1.74 倍, 与 b 值的比率相接近。

讨 论

1. 辐射诱发精原细胞染色体易位的剂量效应关系

射线急性照射后, 小鼠生殖细胞染色体畸变的规律和体细胞一样, 随着剂量的增加而增高。所不同的是在高剂量段有一峰值, 即电离辐射诱发生殖细胞染色体畸变和由辐射导致细胞死亡造成的畸变量丢失相等时的剂量, 从而表现为山形曲线。由于不同种系动物的生殖细胞亚群组成不

同, 其峰值有很大差异, 小鼠约为 6 Gy (最高), 人为 2 Gy。在峰值的左侧, 即曲线的上升段, 多数研究者认为是直线性上升, 但也有些材料证明为曲线上升^[1-4], 本实验结果, 可拟合成直线回归。全身照射的直线回归系数 b 值为 1.41, 与文献报道的结果相一致^[4], 表 2 例举的是文献报道的不同种系精原细胞易位拟合成直线回归时的 b 值, 可见不同种系不仅如上述的峰值剂量范围不同, 直线的斜率也不同。为了解电离辐射诱发人类生殖细胞染色体畸变规律, 需作不同种系动物的系统研究, 特别是与人类有亲缘关系的种系, 是很有必要的。

Tab 2. b Value of linear relationship for chromosome aberration induced by radiation in animals germ cell.

Species	Radiation	Doses(Gy)	b value	Authors
Mamose	X-rays	0—1	7.44	Brewen(1975) ^[4]
Human	X-rays	0—2	3.41	Brewen(1975) ^[4]
Rabbit	X-rays	0—3	1.39	Lyon (1975) ^[5]
Quinea pig	X-rays	0—3	0.98	Lyon (1975) ^[5]
Mouse				
(BALB/C)	X-rays	0—5	1.46	Leonard(1969) ^[6]
(BA-Ri)	X-rays	0—4	1.39	VanBuul(1977) ^[7]

2. 局部照射和全身均匀照射诱发生殖细胞染色体畸变的比较

本文结果表明, 全身均匀照射诱发的精原细胞终变期—中期 I 易位率明显高于睾丸组织局部受照所诱发的易位率。可能是由于电离辐射的受照面积愈大, 生物效应愈明显, 即电离辐射作用于生物活性分子, 除了在细胞微环境引起直接作用和间接作用外, 也可以引起全身外环境的改变, 使其产生更多的活性物质, 并通过血液循环再度引起局部生物大分子的损伤, 从而加重了局部组织的损伤效应。所以全身照射诱发的精原细胞染色体畸变, 明显高于睾丸组织局部受照时的畸变量。因此建议对生殖系统局部受照的遗传危险, 应该用局部照射的实验资料进行评估较为合适。

参 考 文 献

- [1] 户张巖夫, 放射线科学, 29 (2), 25 (1986)。
- [2] 蔡 露, 国外医学, 放射医学核医学分册, 12 (2), 74 (1988)。
- [3] 蔡 露、金玉珂, 动物学杂志, 23 (4), 11(1988)。
- [4] J. G. Brewen, R. J. Preston and N. Gengozian, Nature (london), 253. 468 (1975)。
- [5] M. F. Lyon, and B. D. Cox, Mutat. Res., 29, 407 (1975)。
- [6] A. Leonard. and Deknut G. H., Radiat. Res., 40, 276 (1969)。
- [7] P. V. Buul, Mutat. Res., 45, 61 (1977)。

(稿件收到日期: 1989 年 2 月 13 日)

COMPRISON OF LOCAL TESTIS IRRADIATION-WITH WHOLE BODY IRRADIATION-INDUCED TRANSLO- CATION IN SPERMATOGONIA OF MICE

Wang Xianli, Wang Bin and Sun Shuqing

(*Institute of Radiation Medicine, Norman Bethune*

Universit7 of Medical Sciences, Changchun)

ABSTRACT It was compared for the translocation rate in spermatogonia of mice irradiated in local testis with that irradiated in whole body. The rate in irradiated groups increased linearly with doses. The coefficient of two equations for dose-effect is significant difference, it is higher in whole-body irradiated group than that in local testis irradiated group. The estimate for genetic risk resulted from the whole -body irradiated experiments is not suitable, if so, it will be higher; Andso the evaluating the genetic risk for reproduction system irradiated should be basic on the data of local radiation in the testis.

KEY WORDS Spermatogonia, Genetic risk, Germ cells Chromosome aberration

(上接第154页)

THE EFFECT OF DNA POLYMERASE BETA ON REPAIR OF THE γ -RAYS IRRADIATED HEPATOMA (H₂₂) CELL NUCLEI

Jiang Yifeng and Zheng Xiulong

(*Radiation Research Department, Second Military Medical College, Shanghai*)

ABSTRACT The effects of DNA polymerase alpha and beta on DNA repair of the 40 Gy γ -rays irradiated H₂₂ cell nuclei, using specific inhibitor NEM or ddTTP to DNA polymerase alpha or beta respectively, were observed. The results showed that the rate of DNA repair synthesis of the 40 Gy γ -rays irradiated H₂₂ cell nuclei was much higher than that of the non-irradiated ones after 60,120 min incubation at 37°C ($P<0.05, P<0.01$) when DNA polymcrase alpha was inhibited completely. There was no difference in the rate of DNA repair synthesis between the irradiated and the non-irradiated cell nuclei ($P>0.05$) when DNA polymerase beta was inhibited completely. And also, there was no difference between them ($P>0.05$) when both DNA polyme-
rase alpha and beta were inhibited completely. These results indicate that under our experimental conditions, DNA polymerase beta, not alpha, is responsible for DNA repair of the γ -rays irradiated H₂₂ cell nuclei. The above results are discussed by the author considerably.

KEY WORDS DNA polymerase alpha, DNA polymerase beta DNA repair, NEM, ddTTP