

增敏化合物 BSO 对细胞微核率的影响

金一尊 蔡荣妹 丁立 沈芝芬 许立明 杨家宽

(上海医科大学放射医学研究所, 上海)

摘要 本文报道用微核胞质分裂阻断法研究 BSO(丁胱亚磺亚酰胺, Buthione Sulfoximine)对细胞微核率的影响。研究表明 BSO 对正常人外周血淋巴细胞、BCa-P 37 人乳腺癌细胞、中国仓鼠 V 79 细胞和中国仓鼠 CHO 细胞在用药浓度 0.1—2 mmol/L 情况下, 微核发生率与未用药组无显著性差异; 在 ^{60}Co γ 射线照射下, 细胞的微核发生率与辐射剂量呈线性关系; 当照射合并 BSO 时, 微核发生率明显增加, 表示 BSO 对细胞具有增加电离辐射的损伤作用。

关键词 细胞微核率, BSO, 电离辐射, 胞质分裂阻断法

丁胱亚磺亚酰胺(Buthione Sulfoximine, 简称为 BSO)是一种非蛋白巯基(NPSH)抑制剂^[1], 具有一定的辐射增敏与化学增敏作用^[2], 其对细胞微核率的影响尚未见有文献报道。作者在以前工作的基础上^[3], 采用 Fenech 和 Morely 的胞质分裂阻断法(Cytokinesis-block, CB)^[4]在离体培养条件下对正常人淋巴细胞、乳腺癌细胞、中国仓鼠 V 79 和中国仓鼠 CHO 细胞进行细胞微核试验, 以研究上述细胞在 ^{60}Co γ 射线照射下的剂量效应和增敏化合物 BSO 对细胞微核率的修饰作用。

材料与方 法

实验采用 Fenech 和 Morely 的胞质分裂阻断法(CB 法), 计数双核细胞中的微核细胞数, 每一实验组设 3 个样品, 每样品计数 1000 个双核细胞(即每一实验组共观察 3000 个双核细胞), 结果用%表示。

(1) 细胞 正常人外周血淋巴细胞、BCa-P 37 人乳腺癌细胞、中国仓鼠 V 79 和中国仓鼠 CHO 细胞。

(2) 试剂与药品 BSO 由本实验室合成, 实验前用 RPMI 1640 培养液溶解, 药物作用 2 h。松胞素 B(Cytochalasin B) Sigma 公司产品。Eagle 培养液 GIBCO 公司产品, 含 20% 小牛血清。

(3) 照射条件 ^{60}Co γ 射线在室温下照射, 剂量率 1.36 Gy/min。

(4) 实验方法 采用胞质分裂阻断法, 松胞素 B 使用前用二甲基亚砜(DMSO)溶解, 配成 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的贮藏液, 加入时用培养液(或生理盐水)稀释, 照后 44 h 加入浓度为 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 松胞素 B。细胞用体外培养法, 用含 PHA 的培养液于 5% CO_2 恒温培养箱内培养。72 h 后取出样品、离心、涂片和染色, 计数双核细胞中的微核细胞数。

结 果 与 讨 论

1. BSO 对细胞微核率的影响

实验用 0、0.1、0.5、1、和 2 mmol/L 的 BSO 溶液, 观察对正常人外周血淋巴细胞、人乳腺癌细胞和两种中国仓鼠细胞在离体培养条件下细胞微核率的影响, 结果列于表 1。

本课题为国家自然科学基金资助课题

Tab 1. Micronucleus frequencies of four difference cells with various concentrations of BSO

Cells	Concentration of BSO (mmol/L)				
	0	0.1	0.5	1	2
Normal human lymphocytes	2.5	4.0	6.0	6.0	4.0
BCa-P 37	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0
V 79	2.1	1.3	2.0	4.0	ND*
CHO	5.0	6.0	ND*	10	10

* No determination

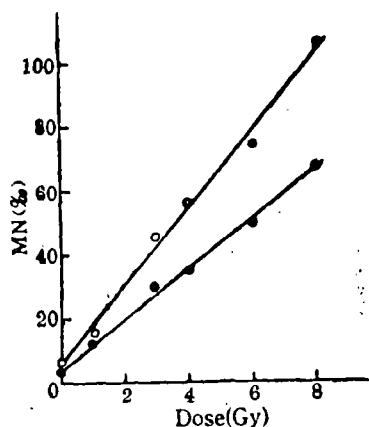
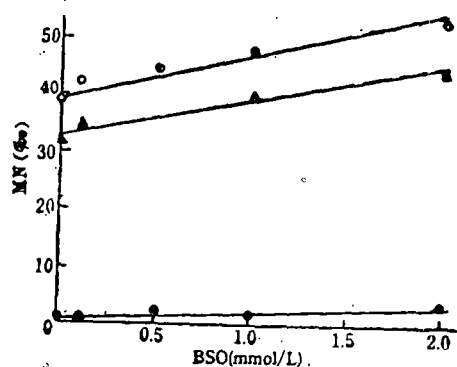


Fig 1. Effect of BSO on the incidence of micronuclei in Chinese hamster ovarian (CHO) cells irradiated with different doses

(○) BSO (5 mmol/L) + γ irradiation
(●) γ irradiation

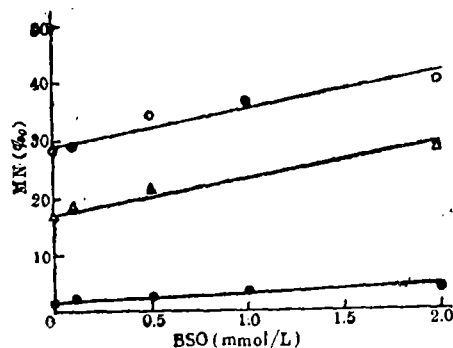
Fig 2. Effect of various concentrations of BSO on the incidence of micronuclei in V 79 cells in combination with γ irradiation of 3 or 4 Gy doses

(●) BSO only (△) BSO and 3 Gy γ -irradiation
(○) BSO and 4 Gy γ -irradiation

结果表明, BSO 对外周血淋巴细胞和上述三种实验细胞株在浓度 0.1—2 mmol/L 时, 未引起细胞微核率显著性增加, 可以认为此化合物在上述浓度下无致突作用。

2. 细胞微核率与照射剂量的关系

人外周血淋巴细胞微核率与照射剂量之间的关系已有报道^[5], 用 CB 方法所得结果与上述报道相似, 对其他三种细胞的观察表明两者之间均呈线性关系, 并符合 $y = a + bx$ 线性方程。如 CHO 细胞的线性方程为 $y = 9.5644 + 7.3808x$; V79 细胞为 $y = -0.4353 + 9.8386x$ 。

Fig 3. Effect of various concentrations of BSO on the incidence of micronuclei in BCa-P 37 cells in combination with γ -irradiation of 3 or 4 Gy doses

(●) BSO only
(○) BSO and 3 Gy γ -irradiation
(▲) BSO and 4 Gy γ -irradiation

3. ^{60}Co γ 射线合并 BSO 时对细胞微核发生率的影响

从上表可知, BSO 在单独用药情况下对细胞微核率无显著性增加, 而上述细胞在 ^{60}Co γ 射线照射同时合并 BSO, 则其微核发生率明显增加。图 1 表示 CHO 细胞在受不同剂量的 γ 射线照射时, 用 5 mmol/L BSO 和不用药情况下细胞微核发生率的变化情况, 实验结果表明两直线之间有显著差异。图 2 和 3 分别为 V 79 和 BCa-P 37 人乳腺癌细胞在不同浓度的 BSO (0、0.1、0.5、1 和 2 mmol/L), 单独使用与合并 3 Gy、4 Gy ^{60}Co γ 射线照射时细胞微核发生率, 结果显示 BSO 合并照射和单独用药或单独照射之间有显著性差异。说明 BSO 在合并 γ 射线时可增加射线对细胞的损伤作用。这种增强作用除了与细胞 GSH 合成抑制有关外, 还可能引起 DNA 单链和双链的断裂, 并且抑制受损 DNA 的修复^[6], 从而增加了射线的生物效应。BSO 能增加不同种细胞在 γ 射线作用时的损伤作用, 这些细胞不仅包含正常人外周血淋巴细胞、中国仓鼠 V 79 和 CHO 细胞, 而且对人乳腺癌 BCa-P 37 细胞亦有相似的作用, 因此对提高肿瘤临床放射疗效有一定的意义。

参 考 文 献

- 1 Clark E P. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1986, 12:1121
- 2 Edgren M Sölen R G, Révész. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1986, 12:1147
- 3 Jin Y Z, Ding L, Cai R M, Xu L M, Zhen J N, Yang J K. The Proceedings International Conference on Biological Effects of Large Dose Ionizing and Non-ionizing Radiation. Hangzhou, China. March 29—April 1, 1988:91
- 4 Fenech M, Morley A A. Mutat. Res., 1985, 147:29
- 5 杨家宽, 蔡荣妹, 邵敏, 刘德喜. 辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(1):62
- 6 Vos O, Schans G P V, Roos-Verhey W S D. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1984, 10:1249

(稿件收到日期: 1990 年 12 月 26 日)

EFFECT OF RADIOSENSITIZER BSO ON THE INCIDENCE OF MICRONUCLEI IN CULTURED CELLS

Jin Yizun Cai Rongmei Ding Li Shen Zhifen

Xu Liming Yang Jiakuan

(Institute of Radiation Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai)

ABSTRACT The effects of BSO (buthionine sulfoximine), a potent radiosensitizing and chemosensitizing chemical, on the incidence of micronuclei in four different cell lines have been studied using the cytokinesis-block (CB) method. The number of micronuclei in cultured human peripheral lymphocytes, Chinese hamster cells and human breast cancer cells were not affected by 0.1 — 2 mmol/L BSO treatment alone. However, significant increase in the incidence of micronuclei in these cells could be detected when BSO was used in combination with γ -irradiation. Linear relationship between the incidence of micronuclei and the radiation dose was observed.

KEYWORDS Incidence of micronuclei, Buthionine sulfoximine (BSO), Radiation, Cytokinesis-block method