

# 低剂量 $\gamma$ 线照射和苯复合诱发家兔血淋巴 细胞和骨髓细胞遗传效应的研究

张鸿源 王兰金 范正平 蔡平 温泉法 张贵波

(海军医学研究所, 上海200433)

**摘要** 报道了低剂量 $\gamma$ 线照射复合苯诱发家兔血淋巴细胞和骨髓细胞遗传效应的实验研究。结果表明: 苯和 $\gamma$ 线都能诱发染色体畸变和 SCE 频率的升高; 畸变类型主要是染色体无着丝粒断片; 血淋巴细胞染色体畸变率要比骨髓细胞的高; 随剂量的变化,  $\gamma$ 线诱发染色体畸变的升高比诱发 SCE 的要明显得多, 但剂量效应线性相关不明显, 相反, 苯诱发 SCE 的升高要比诱发染色体畸变的要明显, 且血淋巴细胞无着丝粒畸变率和 SCE 频率与剂量呈线性相关。染色体畸变效应总的趋势是: 高复组>低复组>照射组>高苯组>低苯组>对照组; 苯能提高 $\gamma$ 线诱发的染色体畸变率, 在双+环主要是协同, 而在无着丝粒主要是相加。

**关键词** 染色体畸变, 姊妹染色单体交换, 低剂量 $\gamma$ 线照射, 苯, 复合效应, 家兔

已有苯复合 $\gamma$ 线对离体人血淋巴细胞染色体畸变影响的研究报道<sup>[1]</sup>, 但对整体血淋巴细胞和骨髓细胞遗传学效应的研究尚少。本文用家兔进行实验, 观察血淋巴细胞染色体畸变和姊妹染色单体交换(SCE)以及骨髓细胞染色体畸变的变化。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物与分组

健康雄性家兔共 30 只, 年龄 6—7 个月, 平均体重  $2.98 \pm 0.28$  kg, 以每组 5 只随机抽样分为 6 组:

1.1.1 低苯组 苯染毒量为每天每只 0.06 ml (相当于 17.7 mg/kg 体重)。苯溶于压消毒后的花生油中, 浓度为 9.1%, 经背部皮下注射 0.66 ml, 每天 1 次, 每周连续 5 d, 连续 14 周。

1.1.2 高苯组 苯染毒量是每天每只 0.6 ml (相当于 177 mg/kg 体重), 苯浓度为 50%, 注射 1.2 ml, 注射时间同低苯组。

1.1.3 照射组 注射 0.6 ml 花生油后, 用  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线照射, 剂量率为 0.899 mGy/min, 每天照射 1 h, 隔天转体照射另一侧, 每周连续 5 d, 持续 14 周。

1.1.4 低复组 苯染毒量同低苯组, 染毒后即 $\gamma$ 线照射, 照射条件同照射组。

1.1.5 高复组 苯染毒量同高苯组,  $\gamma$ 线照射同照射组和低复组。

1.1.6 对照组 经背部皮下注射 0.6 ml 花生油作对照, 时间同上各组。

### 1.2 血培养和染色体标本制备及分析

1.2.1 血培养和标本制备 从耳静脉取 0.8 ml 肝素抗凝血, 分成两份于培养基中, 在  $38 \pm 0.5^\circ\text{C}$  下培养 48 h。其余参照文献[3]方法。

1.2.2 骨髓细胞染色体标本 实验结束后 3 d 处死家兔, 取一后股骨, 剪去骨髓端, 用 6 ml

收稿日期: 1992-05-11

培养液 RPMI 1640 冲下骨髓细胞, 移入培养瓶, 并加入秋水仙素(最终浓度为  $0.1 \mu\text{g/ml}$ ) 在  $38 \pm 0.5^\circ\text{C}$  下培养 5 h 后, 按常规制片和染色。

1.2.3 染色体畸变和 SCE 分析 选择  $2n=44$  个着丝粒染色体中期分裂象。血淋巴细胞计数  $M_1$  细胞(培养后第一次分裂的细胞)的染色体畸变和  $M_2$  细胞(第二次分裂的细胞)的 SCE。骨髓细胞只计数染色体畸变, 按 WHO 推荐的标准<sup>[4]</sup>计数各类畸变, 不计染色体裂隙。SCE 计数中, 末端互换记为 1 次, 中间部位互换记为 2 次, 着丝粒部位交换一律不计。按以下类型统计染色体畸变: (1) 双+环, 包括双着丝粒体、着丝粒环和无着丝粒环; (2) 无着丝粒, 含末端缺失和微小体; (3) 总畸变, 为各类染色体型畸变的总和; (4) 畸变细胞, 含各类染色体型畸变的细胞; (5) 单体畸变, 主要包括单体缺失和单体断裂; (6) 总畸变细胞, 包括染色体型和染色单体型畸变细胞。

## 2 结 果

### 2.1 血淋巴细胞染色体畸变

不同时间检查的结果见表 1。

组内比较表明: 低苯组, 实验 95 d, 总畸变细胞明显高于实验前和实验 53 d。高苯组, 实验

Tab 1. Yield of chromosome aberrations in rabbit blood lymphocytes/%

Group	Time of exp./d	Dose		Cells scored	Dic. + r.	Ace	Total aber.	Cells with aber.	Chromatid aber.	Total cells with aber.
		ben. /g	$\gamma$ -rays /Gy							
Control	0	0	0	1000	0	0.20	0.20	0.20	0	0.20
	53	0	0	1000	0	0.20	0.20	0.20	0	0.20
	76	0	0	1000	0	0.40	0.40	0.40	0	0.40
	95	0	0	1000	0	0.30	0.30	0.30	0.10	0.30
Low ben.	0	0	0	1000	0	0.20	0.20	0.20	0.20	0.40
	53	2.112	0	1000	0	0.30	0.30	0.30	0.10	0.40
	76	2.904	0	1000	0.10	0.40	0.40	0.40	0.30	0.80
	95	3.696	0	1000	0	0.70	0.70	0.70	0.40	1.10*
High ben.	0	0	0	1000	0	0.20	0.20	0.20	0.10	0.30
	53	21.12	0	1000	0	0.50	0.50	0.50	0.20	0.70
	76	29.04	0	800	0.13	0.75	0.88	0.88	0.38	1.25*
	95	36.96	0	800	0.13	1.00	1.13	1.13	0.63	1.75**
Radiat.	0	0	0	1000	0	0.20	0.20	0.20	0	0.20
	53	0	2.1576	1000	0.20	1.30**	1.50**	1.40**	0	1.40**
	76	0	2.9667	800	0.30	1.50**	1.80**	1.80**	0.20	2.00**
	95	0	3.7758	800	1.00*	3.38**	4.38**	4.13**	0.20	4.38**
Low ben. + radiat.	0	0	0	1000	0	0.10	0.10	0.10	0.20	0.30
	53	2.112	3.1576	1000	0.30	1.50**	1.80**	1.60**	0	1.60**
	76	2.904	2.9667	1000	0.70*	1.50**	2.20**	2.00**	0.70*	2.70**
	95	3.696	3.7758	1000	0.80*	4.40**	5.20**	4.70**	1.00	5.70**
High ben. + radiat.	0	0	0	1000	0	0.10	0.10	0.10	0	0.10
	53	21.12	2.1576	1000	0.20	1.60**	1.80**	1.70**	0.10	1.70**
	76	29.04	2.9667	1000	0.50	1.70**	2.20**	2.00**	0.40	2.30**
	95	36.96	3.7758	700	2.20**	4.80**	7.00**	6.57**	1.00	7.60**

Abbreviations: exp. experiment, ben. benzene, dic. + r. dicentrics + rings

ace.acentrics, aber. aberration, radiat. radiation

\*: Compared with the control  $P < 0.05$

\*\* : Compared with the control  $P < 0.01$

95 d, 双+环、无着丝粒、总畸变、畸变细胞、总畸变细胞均比实验前高, 且后三指标有统计学差异( $P < 0.05, 0.05, 0.01$ )。照射组、低复组、高复组, 实验 53 d 起, 染色体畸变各项指标均比实验前高, 且无着丝粒(照射组除外)、总畸变、畸变细胞、总畸变细胞均有统计学差异( $P < 0.01$ ); 双+环, 低复组实验 76 d 起就比实验前有显著的升高( $P < 0.01$ ), 实验 95 d, 这三个组均比实验前有明显升高( $P < 0.01$ )。随苯累积剂量(0—36.69 g)的增加, 高苯组的无着丝粒畸变率(%)呈线性增高;  $Y = 0.155 + 0.021 D$  ( $P < 0.01$ )亦可拟合二次多项式:  $Y = 0.1968 + 0.0055 D + 0.0005 D^2$  ( $P < 0.05$ )。随 $\gamma$ 累积剂量的增加, 畸变各项指标相应升高, 但线性相关不明显( $P > 0.05$ )。

组间比较表明: 低苯组、高苯组、照射组、低复组、高复组诱发的染色体畸变均明显地高于对照组。总的效应趋势是: 高复组 > 低复组 > 照射组 > 高苯组 > 低苯组 > 对照组。

根据 Morimoto<sup>[1]</sup>定义的协同效应因子 (synergetic effect factor, 简称 SEF) 公式, 用本实验数计算得出低复组和高复组畸变各指标的 SEF 值(见表 2)。

Tab 2. Calculated "SEF" in combined effect of radiation with benzene on chromosome aberrations of rabbit blood lymphocytes

Group	Time of exp./d	Dic. + r.	Acc.	Total aber.	Cells with aber.	Total cells with aber.
Low ben. + radiat.	53	1.50	1.07	1.13	1.07	1.00
	76	1.70	1.00	1.16	1.05	1.13
	95	0.80	1.16	1.09	1.04	1.12
High ben. + radiat.	53	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
	76	1.16	0.92	0.96	0.88	0.81
	95	1.95	1.12	1.34	1.32	1.33

由表 2 可见, 双+环, 除低复组实验 95 d 和高复组实验 53 d 的外, SEF 明显大于 1, 而无着丝粒几乎等于 1。说明低剂量辐射复合苯的作用, 对双+环主要是协同, 对无着丝粒则主要是相加。这与苯复合 $\gamma$ 线照射离体人血的结果<sup>[1]</sup>相似。

## 2.2 血淋巴细胞 SCE 频率

从表 3 结果可见: 实验 53 d 起, 高苯组、高复组、低复组、照射组的 SCE 就比实验前明显增高( $P < 0.01$ )。随苯或 $\gamma$ 剂量的累积, SCE 有相应增高, 但仅高苯组呈线性相关;  $Y = 0.0117 + 0.1433 D$  ( $P < 0.05$ )。从组间比较表明, 高复组、高苯组、低复组、照射组和低苯组的 SCE 频率均比对照组的高( $P < 0.01$ ), 说明 $\gamma$ 线和苯慢性作用都能诱发家兔血淋巴细胞 SCE; 在复合效应中, 低复组 > 照射组,  $P < 0.05$ (实验 53 d),  $P < 0.01$ (实验 76 d、95 d)说明低复组有加强作用, 但并非完全等于两因素的相加; 实验 53 d, 高复组 > 高苯组和照射组,  $P < 0.05$ , 说明高复亦有加强作用, 但 76 d 后, 高复组 > 照射组,  $P < 0.01$ , 却低于高苯组( $P > 0.05$ ), 说明复合作用有所减弱。

## 2.3 骨髓细胞染色体畸变

各组骨髓细胞染色体畸变见表 4。

从表 4 可见, 双+环, 只在低苯组、照射组、高复组发现, 但组间无统计学差异( $P > 0.05$ )。无着丝粒、总畸变、畸变细胞、总畸变细胞, 高复组、低复组、高苯组、低苯组均高于对照组, 且除低苯组外都与对照组有统计学差异( $P < 0.05—0.01$ )。说明 $\gamma$ 线和苯均能诱发骨髓

Tab 3. Yield of SCE in rabbit blood lymphocytes

Groups	Time of exp./d	Cumulated dose		Cells scored	Total SCE	SCE/cell±S.E.
		ben./g	γ-ray /Gy			
Control	0	0	0	150	552	3.68±0.12
	53	0	0	150	531	3.54±0.03
	76	0	0	150	547	3.65±0.12
	95	0	0	150	534	3.65±0.04
Low ben.	0	0	0	150	543	3.62±0.14
	53	2.112	0	150	565	3.77±0.10
	76	2.904	0	150	691	4.61±0.05*
	95	3.696	0	150	753	5.02±0.16*
High ben.	0	0	0	150	570	3.80±0.07
	53	21.12	0	150	604	4.03±0.07*
	76	29.04	0	120	622	5.19±0.01*
	95	36.96	0	120	756	6.30±0.16*
Radiat.	0	0	0	150	533	3.55±0.05
	53	0	2.1576	150	614	4.09±0.08
	76	0	2.5667	150	688	4.59±0.09*
	95	0	3.7758	120	579	4.82±0.09*
Low ben. + radiat.	0	0	0	150	552	3.68±0.06
	53	2.112	2.1576	150	633	4.22±0.19*
	76	2.904	2.5667	150	749	4.99±0.05*
	95	3.696	3.7758	150	840	5.60±0.10*
High ben. + radiat.	0	0	0	160	541	3.61±0.06
	53	21.12	2.1576	150	679	4.53±0.14*
	75	29.04	2.5667	150	756	5.04±0.05*
	95	36.96	3.7758	150	901	6.01±0.17*

\* Compared with the control  $P < 0.01$ 

Tab 4. Yield of chromosome aberrations in rabbit bone marrow cells/%

Groups	Cumulated dose		Cells scored	Dic + r	Ace.	Total aber.	Cells with aber.	Chromatid aber.	Total cells with aber.
	ben./g	γ/Gy							
Control	0	0	1000	0	0.20	0.20	0.20	0	0.20
Low ben.	3.696	0	1000	0.1	0.70	0.70	0.70	0	0.70
High ben.	36.96	0	800	0	0.88*	0.88*	0.88*	0.38	1.25**
Radiat.	0	3.7758	800	0.13	1.25**	1.38**	1.38**	0	1.38**
Low ben. + radiat.	3.696	3.7758	1000	0	1.80**	1.80**	1.80**	0.20	2.00**
High ben. + radiat.	36.96	3.7758	1000	0.20	1.70**	1.90**	1.90**	0.20	2.10**

\* Compared with the control  $P < 0.05$ \*\* Compared with the control  $P < 0.01$ 

细胞染色体畸变, 且以染色体型无着丝粒畸变为主。高复组、低复组的无着丝粒、总畸变、畸变细胞、总畸变细胞均高于照射组、高苯组、低苯组, 且除高复组的无着丝粒、总畸变、畸变细胞及低复组的总畸变、畸变细胞与照射组差异不显著外( $P > 0.05$ ), 其余均有统计学差异( $P < 0.05-0.01$ )。说明低剂量 $\gamma$ 线复合苯诱发骨髓细胞染色体畸变比单因素作用有所加强, 但似乎只有高复组的双+环是协同作用, 而其他指标也并非完全等于两因素作用的相加。

### 3 讨 论

本实验观察到的染色体畸变类型主要是染色体型无着丝粒断片为主,并可观察到双着丝粒体。在 Morimoto<sup>[1]</sup>对离体人血的研究中,认为苯主要诱发单体型缺失,特别是裂隙,没有观察到双着丝粒。这种差异,原因之一是本实验没有记录裂隙;其二,苯是一种染色体断裂原,除直接作用于染色体发生断裂等各种重组外,苯在体内的代谢产物如酚等有更强的断裂染色体作用。实验结果与苯接触者和苯中毒者的淋巴细胞和骨髓细胞的畸变类型主要是染色体型或不稳定性畸变细胞相一致<sup>[1,6]</sup>。

在本实验中,血淋巴细胞染色体畸变明显高于骨髓细胞的染色体畸变。因为兔血淋巴细胞半寿期约4个月<sup>[2]</sup>,畸变在血淋巴细胞中存在较长时间,另外可能与家兔G<sub>0</sub>期淋巴细胞不能修复辐射诱发的染色体断裂有关<sup>[5]</sup>,而骨髓细胞是在不断增殖的细胞,增殖的机会越多,畸变丢失的机率也就越多,还可能与骨髓细胞能修复辐射诱发的染色体断裂有关。因此在慢性诊断中,血淋巴细胞染色体畸变的观察可能较为敏感。

邓志诚等<sup>[2]</sup> $\gamma$ 线慢性照射家兔外周血淋巴细胞染色体畸变的影响研究,表明畸变率和累积剂量呈线性相关,而本实验的照射组、复合组虽随 $\gamma$ 剂量和苯剂量的累积,各项畸变指标都相应增高,但线性相关不甚密切。其原因可能与2.11 Gy以前的检查剂量点较少有关。在邓氏的研究中,畸变率与剂量呈线性相关,其累积剂量是在1 Gy(每天0.01 Gy组)和2.5 Gy(每天0.025 Gy组)以前,若在此两个剂量点之后,畸变率基本上保持在一恒定的变化范围内;另一原因是否受苯和 $\gamma$ 线复合作用致使淋巴细胞间期死亡增加或分裂延迟的影响有关。

苯和 $\gamma$ 线都能在家兔体内诱发血淋巴细胞染色体畸变和SCE,但随剂量变化, $\gamma$ 线诱发染色体畸变要比诱发SCE明显得多,相反,苯诱发SCE要比诱发染色体畸变明显。因此检测苯诱发细胞遗传效应用SCE这个指标可能较敏感,而检测 $\gamma$ 线用染色体畸变较为精确。

从 $\gamma$ 线复合苯的效应看,似乎对双+环是协同作用,而对无着丝粒是相加的。但本文认为,不论双+环还是无着丝粒,都可能存在两种作用。因为苯的作用,一是对断裂修复的抑制,二是直接断裂染色体。因此,对两者的形成都有影响。

鲁永杰同志负责照射和剂量测量工作,云昌全、马晓林同志参加照射工作,特此致谢。

### 参 考 文 献

- 1 Morimoto K. Jpn. J. Ind. Health, 1976, 18(1): 23
- 2 邓志诚,李云华,张连珍.辐射防护, 1986, 6(6): 425
- 3 张鸿源,潘豫沙,王兰金.辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(3): 44
- 4 Bucton K E, Evans H J. Methods for the Analysis of Human Chromosome Aberration, WHO, Geneva, 1973
- 5 Tamura H, Sakurai M, Sugahara T. J. Radiat. Res., 1978, 19: 108
- 6 李源,丁训杰,丁钺,杨红珍.劳动卫生与环境医学, 1981, 4(1): 18

# COMBINED CYTOGENECTIC EFFECTS INDUCED BY LOW DOSE $\gamma$ -RAYS IRRADIATION AND BENZENE IN RABBIT PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES AND BONE MARROW CELLS

Zhang Hongyuan Wang Lanjin Fan Zhengping Cai Ping

Wen Quanfa Zhang Guibo

(*Institute of Vaval Medicine, Shanghai 200433*)

**ABSTRACT** The paper reports on the changes of combined cytogenetic effects induced by low dose  $\gamma$  rays irradiation and benzene in rabbit lymphocytes and bone marrow cells. The results were summarized as follows: benzene and  $\gamma$ -rays can induce chromosome aberration and SCE in rabbits. The main aberrant type was chromosome type acentric fragment. Chromosome aberrations in blood lymphocytes were higher than in bone marrow cells. As changes of dose, chromosome aberrations by  $\gamma$ -rays were significantly higher than SCE, but linear relationships of dose and effect were not significantly, contradictorily, SCE induced by benzene were more obvious than chromosome aberrations, moreover, linear dose effect relationships of acentric aberration rate and SCE frequency of lymphocytes were observed. The aberration yield induced by  $\gamma$ -rays can significantly be enhanced by treatment benzene. The combined cytogenetic effect of benzene with radiation could be synergetic mainly in dicentrics plus ring, being mainly additive in acentrics.

**KEYWORDS** Chromosome aberration, SCE, Low dose  $\gamma$ -rays irradiation, Benzene, Combined effect, Rabbit