

人肝 RNA 对辐射诱发小鼠骨髓 细胞染色体损伤的防护作用

丛宪玲 王献理 舒 晴

(白求恩医科大学预防医学院, 长春 130021)

摘要 以昆明种雄鼠为模型, 皮下注射不同剂量的人肝 RNA, 随后 1.5 Gy X 射线全身照射, 照射后 7 h 和 24 h 检测骨髓细胞染色体畸变。结果表明, 人肝 RNA 本身不诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变, 照射前不同时间给予人肝 RNA, 对辐射诱发的骨髓细胞染色体畸变的降低作用以照射前 24 h 给药最佳, 照射前 24 h 给予不同剂量的人肝 RNA, 都可不同程度地降低 X 射线诱发的骨髓细胞染色体畸变, 其中以 25 mg/kg 剂量组降低作用最显著。

关键词 人肝 RNA, 电离辐射, 染色体畸变, 抗诱变

无论是天然的还是人工合成的双链核酸(ds-RNA)都是良好的干扰素诱生剂^[1-3]。人肝 RNA 是从健康人肝脏中提取出的生物制剂, 其 dsRNA 组分占 40%—50%。它在人体、鼠体内均能诱生出干扰素^[4]。研究表明, 人肝 RNA 能够显著降低 MMC (丝裂霉素 C) 所诱发的小鼠骨髓细胞染色体畸变和姊妹染色单体交换, 减少 MMS (甲基磺酸甲酯) 诱导的雄性小鼠生殖细胞非程序 DNA 合成(UDS)^[5], 降低电离辐射诱发的小鼠初级精母细胞染色体畸变^[6]。本实验研究了人肝 RNA 对辐射诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变的影响, 并对人肝 RNA 抗诱变机理进行了讨论, 为人肝 RNA 的临床应用提供理论依据。

1 材 料 和 方 法

1.1 核酸制剂

人肝 RNA, 卫生部长春生物制品研究所生产。

1.2 实验动物

选用本校实验动物部提供的健康雄性昆明种小白鼠, 体重 25 ± 3 g。

1.3 照射条件

Phillips 深部 X 射线治疗机, 电压 200 kV, 电流 10 mA, 滤过板 0.5 mm Cu 和 1.0 mm Al, 剂量率为 287.1 mGy/min。

1.4 动物分组及处理

小鼠随机分为阴性对照组(生理盐水 N.S), 阳性对照组(1.5 Gy X 射线), 人肝 RNA 组(单纯给予不同剂量人肝 RNA)及人肝 RNA 防护组(不同剂量人肝 RNA + 1.5 Gy X 射线)。每组 7—10 只动物, 人肝 RNA 经腹部皮下注射, 用药后不同时间进行全身 1.5 Gy X 射线照射, 照射后 7 h 或 24 h 处死小鼠, 处死前 4 h 腹腔注射秋水仙素 4 mg/kg。

1.5 标本制备及染色体分析

取小鼠股骨, 用生理盐水将骨髓细胞冲洗于离心管中, 用 0.5% KCl 低渗, 甲醇/冰醋酸(3:1)

收稿日期: 初稿 1993—08—09, 修改稿 1993—12—21

固定三次、制片、Giemsa 染色。分析时采用双盲法，畸变类型依据美国环保局 Gene-Tox 方案^[7]。

2 结 果

2.1 人肝 RNA 对小鼠骨髓细胞染色体畸变的影响

从表 1 可见，不同剂量人肝 RNA 组的骨髓细胞染色体畸变率，畸变细胞率与阴性对照组无明显差异($p>0.05$)，即表明人肝 RNA 不诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变。

Tab 1. Effect of HL-RNA on frequencies of chromosome aberration (CA) in bone marrow cells of mice

HL-RNA /mg.kg ⁻¹	No. of cells	Distribution of aberrations		Total of CA ($\bar{x}\pm s$)	Cells with CA ($\bar{x}\pm s$)
		Chromatid and isochromatid breaks ($\bar{x}\pm s$)	Chromatid exchanges ($\bar{x}\pm s$)		
—	500	0.80±1.03	0	0.80±1.03	0.80±1.03
6.25	500	1.00±1.05	0.20±0.63	1.20±1.03	1.20±1.03
25.00	500	0.40±0.84	0	0.40±0.84	0.40±0.84
100.00	500	1.20±1.03	0	1.20±1.03	1.20±1.03

2.2 不同时间注射人肝 RNA 对 X 射线照射后 7 h 诱发的骨髓细胞染色体畸变的影响

1.5 Gy X 射线照射后 7 h 可使小鼠骨髓细胞出现染色单体断裂、等点染色单体断裂和单体互换等单体型畸变，染色体畸变率和畸变细胞率明显高于阴性对照组($p<0.01$)。在照射前不同时间给予人肝 RNA，均可降低 X 射线诱发的骨髓细胞染色体畸变，其中照射前 0 和 4 h 给药降低作用不明显($p>0.05$)，照射前 12 h、24 h 和 36 h 给药降低作用显著($p<0.05$ 或 $p<0.01$)，照射前 24 h 给药降低了 28.81%，其效果最佳(见表 2)。

Tab 2. Effect of injection times of HL-RNA on frequencies of chromosome aberration (CA) in bone marrow cells of mice 7 h after exposed to 1.5 Gy X-rays

Prior to X-rays/h	HL-RNA /mg.kg ⁻¹	No. of cell	Distribution of aberrations		Total of CA ($\bar{x}\pm s$)	Cell with CA ($\bar{x}\pm s$)	RF ⁽¹⁾
			Chromatid and isochromatid breaks ($\bar{x}\pm s$)	Chromatid exchanges ($\bar{x}\pm s$)			
—	—	500	0.80±1.03	0	0.80±1.03	0.80±1.03	
—	—	500	36.6±7.43 ⁽²⁾	9.0±3.02 ⁽²⁾	47.2±6.32 ⁽²⁾	38.8±5.35 ⁽³⁾	
0	6.25	500	36.6±5.25	7.2±2.15	45.0±6.48	38.2±6.99	4.66
4	6.25	500	34.8±6.61	8.2±2.39	43.4±6.74	35.6±6.10	8.05
12	6.25	500	31.8±4.85 ⁽³⁾	7.2±3.15	40.6±8.49 ⁽³⁾	33.6±7.11 ⁽³⁾	13.98
24	6.25	500	24.0±5.81	9.6±2.09	33.6±7.35 ⁽⁴⁾	30.2±6.83 ⁽³⁾	28.81
38	6.25	500	31.8±6.36	8.2±3.71	41.2±7.67 ⁽³⁾	34.0±6.04 ⁽³⁾	12.71

(1) RF (reductive fractio) = $\frac{\text{the effect without protection}-\text{the effect with protection}}{\text{the effect without protection}} \times 100\%$

(2) $p<0.01$ vs negative control group

(3) $p<0.05$, (4) $p<0.01$ vs positive control group

2.3 照射前 24 h 给予不同剂量人肝 RNA 对 X 射线诱发的骨髓细胞染色体体畸变的影响

照射前 24 h 给予不同剂量人肝 RNA，除 0.5 mg/kg 剂量组外，各剂量组人肝 RNA 均可使

Tab 3. Effect of different doses of HL-RNA injected 24 h prior to irradiation on chromosome aberration (CA) in bone marrow cells of mice 7 h after exposed to 1.5 Gy X-rays %

HL-RNA (24 h prior to X-radiation) /mg•kg) ⁻¹	Distributi of aberrations				RF	
	No. of cells	Chromatid and isochromatid breaks ($\bar{x} \pm s$)	Chromatid exchanges ($\bar{x} \pm s$)			
			Total of CA	Cell with CA		
—	500	47.6±7.65	8.8±3.01	57.2±7.38	46.2±5.12	
0.50	500	42.4±5.95	11.2±6.60	54.2±7.08	42.8±6.61	5.24
6.25	500	39.4±12.58 ⁽¹⁾	8.4±5.06	48.6±11.92 ⁽¹⁾	40.2±6.96 ⁽¹⁾	15.00
25.0	500	35.2±7.25 ⁽²⁾	7.4±3.89	42.8±7.90 ⁽²⁾	35.6±6.65 ⁽²⁾	25.17
50.0	500	39.2±5.75 ⁽³⁾	3.8±1.74 ⁽³⁾	43.2±2.98 ⁽²⁾	36.0±3.77 ⁽³⁾	24.48
100.0	500	39.8±6.29	6.2±3.58	46.0±4.16 ⁽²⁾	38.8±6.48 ⁽³⁾	19.58

⁽¹⁾ $p < 0.05$, ⁽²⁾ $p < 0.01$ vs positive control group

Tab 4. Effect of 25 mg/kg HL-RNA injected 24 h prior to irradiation on the frequencies of chromosome aberration (CA) in bone marrow cells of mice 24 h after exposed to 1.5 Gy X-rays %

HL-RNA /mg·kg ⁻¹	X-radiation /Gy	No. of cells	Chromatid aberrations		Chromosome aberrations				Total of		Cells of CA
			Chromatid breaks	Chromatid exchanges	Fragments	Dicentric	Translocations	Minutes	CA		
—	—	500	0.40±0.84	0	0.20±0.63	0	0	0.20±0.63	0.80±1.03	0.80±1.03	
25	—	500	0.40±0.84	0.20±0.63	0	0	0	0	0.60±0.97	0.60±0.97	
—	1.5	350	3.71±1.80 ⁽¹⁾	0.57±0.98	6.57±2.23 ⁽¹⁾	4.86±1.57 ⁽¹⁾	1.14±1.57	0.86±1.07	17.71±5.09 ⁽¹⁾	14.00±3.06 ⁽¹⁾	
25	1.5	350	3.42±2.22	0	3.72±1.38 ⁽²⁾	2.86±1.57 ⁽²⁾	1.14±1.07	0.57±1.51	11.71±3.15 ⁽²⁾	10.57±2.23 ⁽²⁾	

RF = 33.87% ⁽¹⁾ $p < 0.01$ vs negative group
⁽²⁾ $p < 0.05$ ⁽³⁾ $p < 0.01$ vs positive group

1.5 Gy X 射线照射后 7 h 诱发的骨髓细胞染色体畸变率、畸变细胞率显著降低,其中以 25 mg/kg 剂量组的降低作用最显著,降低了 25.17%。再增加人肝 RNA 剂量,抑制率有降低的趋势(见表 3)。

2.4 照射前 24 h 给予 25 mg/kg 人肝 RNA 对 X 射线照射后 24 h 诱发的骨髓细胞染色体体型畸变的影响

1.5 Gy X 射线照射后 24 h 观察的骨髓细胞染色体体型畸变明显高于阳性对照组($p < 0.01$),而照射前 24 h 给予 25 mg/kg 人肝 RNA,对 X 射线诱发的骨髓细胞染色体体型畸变具有明显的降低作用($p < 0.01$),降低了 33.87%(见表 4)。

3 讨 论

研究新型有效的抗辐射药物对于指导临床实践和预防放射损伤具有重要意义。本研究证实生物制剂人肝 RNA 可显著降低电离辐射诱发的骨髓细胞染色体畸变,其最佳给药时间是照射前 24 h,最佳作用剂量是 25 mg/kg,并且该剂量人肝 RNA 对 1.5 Gy X 射线照射后 7 h 或 24 h 诱发的骨髓细胞染色单体型畸变、体型畸变都具有明显的降低作用,特别是对能反映辐射损伤的染色体体型畸变(断片、双着丝粒体)的降低作用很显著。

人肝 RNA 双链组分占 40%—50%,给药后 24 h 在小鼠体内诱生的干扰素滴度最高,为 7000 μ /ml^[4]。本实验的结果表明(见表 2),照射前 24 h 给予人肝 RNA 对 X 射线诱发的骨髓细胞染色体畸变降低最明显,而照射前 0 或 4 h 给药,则降低不明显,说明人肝 RNA 在体内的作用可能与其诱生出的干扰素有关。

杨宝学^[8,9]等对干扰素及干扰素诱生剂 Poly I:C 抗诱变作用进行了报道,认为其抗诱变作用可能通过以下三条途径:(1)促进 DNA 损伤的修复;(2)诱导细胞产生具有保护作用的蛋白质;(3)直接阻止 DNA 原发损伤的发生。目前很多资料支持干扰素通过促进 DNA 损伤的修复而起抗诱变作用^[10,11]。本文研究的人肝 RNA 可能是通过在体内诱生出干扰素而起抗辐射诱变作用的。

参 考 文 献

- 1 Field A K et al. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1967, 58: 1004
- 2 Stern R et al. Biochemistry, 1971, 10: 3635
- 3 何有成. 新医学, 1988, 19: 436
- 4 鲁卓清, 徐德启, 刘丽莎等. 免疫核糖核酸研讨会汇编(第二集), 1988, 17
- 5 徐德启, 鲁卓清, 金英花等. 中国生物制品学杂志, 1991, 4(3): 101
- 6 丛宪玲, 王献理, 舒 晴. 卫生毒理学杂志, 1993, 7(增刊): 52
- 7 Preston R J, Au W, Becder M A et al. Mutat. Res., 1981, 87: 143
- 8 杨宝学, 苏雪岩. 国外医学、预防、诊断、治疗生物制品分册, 1991, 5: 210
- 9 Yang B X, Su X Y, Zhu Y Z, Sun K. Acta Pharm. Sinica, 1991, 12(6): 497
- 10 Suzuki N et al. Mutat. Res., 1988, 202: 179
- 11 Suzuki N et al. Virology, 1982, 106: 357

STUDIES ON PROTECTIVE EFFECTS OF HUMAN LIVER RNA ON CHROMOSOME DAMAGE OF MOUSE BONE MARROW CELLS INDUCED BY IRRADIATION

Cong Xianling Wang Xianli Shu Qing

(Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021)

ABSTRACT Male mice were hypodermically injected with human liver RNA, then exposed to 1.5 Gy X-radiation 7 hours or 24 hours later, the bone marrow cells were tested using the method of chromosome aberration. The results showed that human liver RNA could significantly reduce the frequencies of chromosome aberrations in bone marrow cells of mice 7 hours after exposed to 1.5 Gy X-radiation. The best injection time of human liver RNA was 24 hours prior to irradiation and the best dose was 25 mg/kg. 25 mg/kg human liver RNA could also reduce the frequencies of chromosome aberrations in mice 24 hours after exposed to 1.5 Gy X-radiation. This function might be related to interferons induced by injection of human liver RNA.

KEYWORDS Human liver RNA, X-radiation, Chromosome aberration, Antimutation