

小剂量辐射诱导小鼠精母细胞适应性反应某些规律的研究

王 苹 朴相根 蔡 露

(白求恩医科大学基础医学所, 长春 130021)

摘要 采用小剂量 γ 射线慢性照射和X射线分次照射, 整体照射雄鼠, 照射后40 d, 给予1.5 Gy的X射线照射。通过分析初级精母细胞的染色体畸变, 观察预先小剂量照射(D₁)对第二次大剂量辐射损伤的影响。结果表明: 小剂量 γ 射线和X射线均能诱导小鼠精母细胞适应性反应。

关键词 适应性反应, 精母细胞, 染色体畸变, 小剂量辐射

Olivieri^[1]首次发现, 预先小剂量辐射能够诱导人淋巴细胞适应性反应。实验证明, 适应性反应广泛存在。无论是整体照射还是离体照射均能诱导适应性反应, 并且诱导适应性反应的程度与照射剂量存在依赖关系。同时还发现低剂量照射与低浓度化学诱变剂之间存在交叉适应性反应^[2], 以上有关适应性反应规律, 都是从生物体细胞中得出的。本文采用小剂量 γ 射线和X射线整体照射小鼠, 研究精母细胞中的某些适应性反应规律。

1 材 料 和 方 法

1.1 照射条件

Philips 深部X射线治疗机, 电压200 kV, 电流10 mA, 滤过板为0.5 mmCu和1.0 mmAl。⁶⁰Co γ 射线照射, 小鼠距源1 m, 以同心圆位置排列, 剂量率为20 μ Gy/min。

1.2 动物分组及处理

昆明种雄性小白鼠(体重21—23 g)随机分为阴性对照组、小剂量照射组(D₁)、单纯大剂量照射组(D₂)和小剂量加大剂量组(D₁ + D₂)。每组10—12只小鼠, D₁照射 γ 射线和X射线。其中X射线照射为分次照射, 剂量率为0.05 Gy/min。在第1 d、10 d、16 d和26 d分别照射50 mGy。累积剂量为0.20 Gy。 γ 射线照射剂量率为20 μ Gy/min, 连续照射, 累积剂量1.14 Gy, 40 d后, 照射D₂。D₂的X射线剂量率为0.44 Gy/min。一次照射剂量1.5 Gy。D₂照射后24 h收集标本。

1.3 精母细胞染色体标本制备

雄性小鼠腹腔注射秋水仙素(4 mg/kg), 4 h后, 取睾丸去被膜、剪碎, 用2.2%柠檬酸钠软化30 min, 将细胞悬液离心, 用1%柠檬酸钠低渗处理30 min(37℃)。甲醇:冰醋酸(3:1)固定细胞, 重复固定3次, 制片, 10%Giemsa染色。

1.4 染色体分析(双盲法)

每份样本分析50个分裂相, 记载各种畸变, 实验结果采用 χ^2 检验分析。

国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 初稿 1993-07-19, 修改稿 1993-12-10

2 结 果

X 射线分次照射的结果表明， $D_1 + D_2$ 组的染色体畸变率明显低于预期值 (D_2 组畸变率 + D_1 组畸变率 - 阴性对照组的畸变率)。大约降低 30% ($p < 0.01$)，而且主要是单体断裂和等点断裂下降的结果(见表 1)。

Tab 1. Pre-exposure with low dose X-rays decreases the frequency of chromosome aberrations of male germ cells induced by subsequent high dose X-rays %

Groups	No. of cells	Distribution of aberrations		Total of chromosome aberrations	Cells with chromosome aberrations
		Chromatid and isochromatid breaks	Chromatid exchanges		
0	500	0.4 ± 0.84	0	0.4 ± 0.84	0.4 ± 0.84
D_1	500	2.0 ± 0.58	0	2.0 ± 0.58	2.0 ± 0.58
$D_1 + D_2$	600	$23.67 \pm 2.25^{(1)}$	1.66 ± 0.8	$25.33 \pm 2.16^{(1)}$	$25.16 \pm 1.94^{(1)}$
D_2	600	33.4 ± 1.51 (35.0)	1.8 ± 1.8	34.83 ± 3.49 (36.43)	33.17 ± 3.17 (34.77)

⁽¹⁾ $p < 0.01$ vs expected value given in the parenthesis
Expected value, the yield of aberrations by D_2 added the induced yield from D_1 plus the background

连续用 γ 射线照射小鼠，其实验结果(见表 2) $D_1 + D_2$ 组的染色体畸变率比预期值约降低了 48% ($p < 0.01$)。

Tab 2. Pre-exposure with low dose γ -irradiation decreases the frequency of chromosome aberrations of male germ cells induced by subsequent high dose X-rays %

Groups	No of cells	Distribution of aberrations		Total of chromosome aberrations	Cells with chromosome aberrations
		Chromatid and isochromatid breaks	Chromatid exchanges		
0	500	0.4 ± 0.84	0	0.4 ± 0.84	0.4 ± 0.84
D_1	500	3.2 ± 1.09	0	3.2 ± 1.09	3.2 ± 1.09
$D_1 + D_2$	500	$15.8 \pm 0.83^{(1)}$	4.00 ± 1.14	$19.8 \pm 1.48^{(1)}$	$19.4 \pm 1.14^{(1)}$
D_2	500	31.6 ± 1.14 (34.4)	3.6 ± 0.35	35.2 ± 1.96 (38.00)	33.4 ± 1.54 (36.2)

⁽¹⁾ $p < 0.01$ vs expected value given in the parenthesis
Expected value, the yield of aberrations by D_2 added the induced yield from D_1 plus the background

3 讨 论

电离辐射可使精母细胞染色体发生异常，其形成稳定型畸变(易位)和辐射所致的基因突变，可通过生殖传递给子代，造成子代的畸形发生率增加。阐明小剂量辐射对精母细胞的影响，能否产生适应性反应及其规律，是一个极其重要的问题。蔡露等^[3]已初步证明，小鼠经 0.05 Gy 的小剂量 X 射线照射 3 h 后，精母细胞可对相继 0.75 Gy 的 X 射线照射产生抗性，表现为染色体畸变率明显降低，这个结论是急性照射引起的近期(3—6 h)效应。实验结果又可提示如下规律：

3.1 小剂量慢性照射和分次照射能够诱导适应性反应

在以往的实验中，诱导适应性反应的 D_1 照射多采用急性照射，而有关慢性照射是否能引起适应性反应，看法不一致。Jacobsom-kram 等^[4]用 ^{60}Co γ 射线慢性照射小鼠，剂量为 0.125 Gy，24 h 后再给予 D_2 照射，发现无适应性反应出现。朱炳钗等^[5]用小剂量率的 γ 射线连续照射家兔

20 d, 累积剂量为 1.0 Gy, 然后立即急性照射 D_2 , 结果显示其淋巴细胞染色体畸变率、微核率比单纯 D_2 照射组明显降低。Wojcik 等^[6]给 $C_{57}BL/6$ 小鼠慢性全身照射 γ 射线 4 d (0.05 Gy/d), 其脾淋巴细胞表现出明显的适应性反应。实验室采用慢性 ^{60}Co γ 射线照射家兔, 其外周血淋巴细胞也表现出明显的适应性反应^[7]。从实验结果看出, 小剂量 γ 射线慢性照射, X 射线分次照射均能够使相继的大剂量辐射损伤减轻, 但诱导的适应性反应与 D_1 照射剂量有关。

3.2 小剂量慢性照射和分次照射诱导适应性反应的剂量水平明显不同

以往的实验结果表明, 急性整体照射 D_1 诱导适应性反应的剂量不能超过 0.2 Gy, 而慢性照射的 D_1 剂量却可超过 0.2 Gy, 甚至累积剂量可达 1.5 Gy。本实验室用 ^{60}Co γ 射线慢性照射家兔, 观察不同的 D_1 剂量 (0.3—1.5 Gy) 诱导的适应性反应, 发现 0.3—1.5 Gy 的剂量均能诱导这种反应, 而且诱导的最佳剂量大约在 1.0 Gy^[7]。Wojcik^[6]的实验证实, γ 射线慢性照射, 累积剂量 0.2 Gy, 也能诱导适应性反应。本实验中, γ 射线慢性照射, 累积剂量 1.14 Gy, X 射线分次照射, 累积剂量 0.2 Gy, 都能诱导出适应性反应, 其中慢性照射诱导的反应程度较高。

3.3 整体照射诱导适应性反应的持续时间较长

体外细胞培养, D_1 诱导的适应性反应只能存在三个细胞周期^[8], 而整体照射时, 情况较复杂。Wojcik^[6]的实验表明, γ 射线慢性照射产生的适应性反应, 在照射后的第 12 d 仍能观察到。Saenko 等^[9]用小剂量 γ 照射小鼠, 以脾集落形成细胞为指标, 发现其对第二次大剂量辐射损伤的耐受性可持续一个月。实验表明, 小剂量慢性照射和分次照射诱导的适应性反应可持续 40 d。可见整体照射产生的适应性反应比离体情况下持续时间长, 可能由于小剂量辐射作用机体后, 增强了多系统的防御功能。

3.4 小剂量辐射诱导的体细胞和精母细胞适应性反应程度上相似

有关精母细胞中适应性反应规律的研究很少, 现已证明小剂量 X 射线能诱导精母细胞中的适应性反应。实验中, γ 射线照射组, 采用骨髓细胞和精母细胞同时取材, 结果发现两种细胞在适应性反应程度上相似 (见图 1)。

综上所述, 小剂量整体照射小鼠诱导的适应性反应可表现在不同种类的细胞中。慢性照射诱导适应性反应的剂量明显大于急性照射。另外, 整体条件下诱导的适应性反应持续时间较长, 可能是增强机体内多系统联合防御的结果。

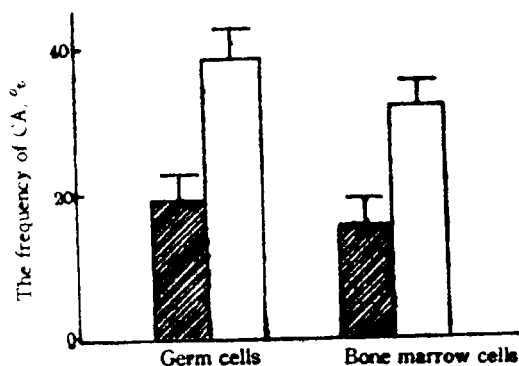


Fig 1. Adaptive response induced by low dose chronic γ -irradiation in mouse germ cells and bone marrow cells (■) $D_1 + D_2$, (□) D_1 Expected Value

参 考 文 献

- Olivieri G, Boducote J, Wolff S et al. Science, 1984, 223 (10): 594
- Wolff S, Afzal V, Wiencke J K et al. Int. J. Radiat. Biol., 1988, 53: 39
- Cai L, Liu S Z. Chinese Medical Journal, 1992, 105(4): 277
- Jacobsom-kram D, Willisms J R. Enviro. Mol. Muta. (suppl II) 1988, 2
- 朱炳钗等. 核技术, 1990, 4: 13
- Wojcik A, Tuschl H. Mutat. Res., 1990, 243: 67
- Liu S Z, Cai L, Sun S Q. Int. J. Radiat. Biol., 1992, 62(2): 187
- 蔡 露, 刘树铮. 遗传学报, 1991, 18(3): 109
- Saenko A S, Sements T N, Semina O V et al. Radiobiologiya, 1991, 9—10, 31 (5): 716

(下转第 192 页 Continued to P 192)

THE EFFECTS OF RADIATION ON ACTIVITY AND NUMBER OF NK CELL

Min Rui Cheng Tianmin¹ Luo Chengji¹ Chen Qi Din Zhenhai Mon Xiangshun

(The Second Military Medical University, Shanghai 200433)

(¹ The Third Military Medical University, Chongqing 630038)

ABSTRACT Peripheral blood mononuclear cells from normal persons were irradiated by 1—6 Gy γ -rays in vitro. NK activity was determined by means of ³H-TdR releasing and CD₅₇ positive cells were counted by means of immunocytochemistry, respectively. The results showed that NK cell activity changed unobviously within 2 Gy irradiation dose and dropped gradually with increasing irradiation dose and was distinguished lower than that of control when irradiation dose increased to 6 Gy. NK cell activity changed with time and was lowest at 12 hours after irradiation, then it restored gradually. The restoring level of NK cell activity was related to irradiation dose. The number of NK cell had little change till 6 Gy irradiation. The activity of NK cell increased significantly when irradiated cells were stimulated with IL-2.

KEYWORDS Irradiation, NK cell, Immunocytochemistry

(上接第188页 Continued from P 188)

STUDIES ON CERTAIN CHARACTERISTICS OF ADAPTIVE RESPONSE INDUCED BY LOW DOSE RADIATION IN MICE SPERMATOCYTES

Wang Ping Piao Xianggen Cai Lu

(Department of Basic Medical Science Norman Bethune University of
Medical Sciences, Changchun 130021)

ABSTRACT The male mice were irradiated in whole-body to chronic γ -radiation or X-ray fractional radiation (D_1). D_2 (1.5 Gy X-rays) was given 40 days after exposure to D_1 . The effect of chronic or fractional pre-exposure of low dose radiation on the chromosome damage induced by subsequently high dose irradiation was observed. The results showed that the adaptive response could be induced by low dose chronic or fractional radiations in male mice germ cells.

KEYWORDS Adaptive response, Germ cell, Chromosome aberration, Low dose radiation