

γ 射线整体和局部照射家兔诱发血淋巴细胞染色体畸变及其消长规律的研究⁽²⁰⁾

张连珍 邓志诚 王海燕

(中国辐射防护研究院 太原 030006)

摘要 介绍了⁶⁰Co γ 射线照射家兔不同部位诱发淋巴细胞染色体畸变及其消长规律的研究。实验分五个组:全身、腹部及盆腔受照射组、离体血照射组和对照组。剂量率为0.5Gy/min,照射剂量为3.0Gy。结果表明, γ 射线整体照射家兔以及离体照射外周血诱发的染色体畸变率均高于局部照射组;腹部照射组与盆腔组相比较,其所诱发的染色体畸变率前者高于后者; γ 射线全身和局部照射家兔后,诱发染色体畸变随照射后时间延长而逐渐减少。

关键词 染色体畸变及消长, γ 射线, 全身照射, 局部照射

在对电离辐射生物效应的研究中,染色体畸变分析已成为公认的估算全身受照剂量的一种生物学方法。然而,局部受照射则是平时辐射事故多见的照射,也是肿瘤病人放疗时普遍采用的照射方式,局部照射所产生的辐射效应与全身照射不同。因此,评价不同部位受照射引起的辐射效应也是当前人们较为关注的课题,这将对辐射事故病例的诊断和治疗具有意义。

由于客观条件的限制,往往在事故照射后少则几天,多则几个月内才能取血观察,如何利用这种早先照射产生的辐射效应来估算受照射剂量,就必须对受照射后个体染色体畸变的消长规律进行研究,为准确估算受照射剂量提供科学依据。

有关人类整体照射的生物学效应资料是不易得到的,利用哺乳动物研究电离辐射引起的辐射生物效应,探索其变化规律,可为人类辐射细胞遗传学研究提供参考。

1 材 料 和 方 法

实验选用4~6月龄雄性青紫兰家兔,体重为2.0~2.5kg。分为全身、腹部及盆腔照射组、离体血照射和对照组。

将动物前后肢左右伸直俯卧固定于木板上,以铅砖屏蔽(50cm×30cm×20cm)。用⁶⁰Co γ 射线照射动物双侧,照射距离为130cm,剂量率为0.5Gy/min,照射剂量为3.0Gy。在动物腹部留一孔(面积为10cm×4cm)不加屏蔽,此组为腹部受照组;在动物盆腔处留一孔(面积为10cm×4cm)不加屏蔽,此组为盆腔受照组;完全不屏蔽者为全身照射组;离体照射血系采用照射前动物外周血,放入玻璃指形管内,加盖,并保持在 $39\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中温育2h,然后与整体照射动物的血及未受照射血(对照)同时培养。

⁽²⁰⁾ 核工业部科技资助项目

收稿日期: 初稿: 1996-01-16, 修回 1996-06-24

家兔照射 2h 后, 分别于第 14、28、42、84、140、250 和 500d 从耳静脉取血 2ml, 肝素抗凝, 用微量全血培养, 0.3ml 血样加在 5ml RPMI 1640 培养基中(含 20% 小牛血清, 4% PHA, 青链霉素各 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 置二氧化碳培养箱内 $39\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 培养 38h, 收获前 9h 加秋水仙素(最终浓度为 0.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 75mmol KCl 低渗处理(39°C 水浴锅内保温 20min), 甲醇 : 冰醋酸(3:1) 固定液固定细胞, 常规法制片, Giemasa 染色, 用蒸馏水冲洗。观察分析染色体($2n=44\pm 1$) 铺展良好的中期细胞, 记录细胞学上能识别的各类染色体畸变, 并计算其所占观察细胞的百分率。

2 结 果

Tab. 1 Chromosomal aberrations of rabbits induced by γ irradiation in partial body

Irradiation reasion	Chromosomal aberration			No. of aberrant cells/% ⁽¹⁾
	Cells scored	Dicentrics + rings/%	Fragments/%	
Control	1157	2(0.17)	8(0.69)	11(0.95)
In vitro blood	388	150(38.66)	88(22.68)	190(48.97)
Whole-body	200	82(41.00)	47(26.50)	90(45.00)
Abdomen	700	18(2.57)	19(2.71)	36(5.10)
Pelvic cavity	749	4(0.53)	12(1.60)	20(2.67)

⁽¹⁾Including aberrant cell with cap or deletion

Tab. 2 Chromosomal aberrations frequences of rabbits in different time post γ irradiation in partial-body

Time post irradiation	Cells scored			Dicentrics + rings/%			Fragments/%			Aberrat cells/% ⁽¹⁾		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
2 h	200	700	749	40.50	2.57	0.53	23.50	2.71	1.60	45.00	5.14	2.67
14 d	400	400	400	22.75	1.75	1.00	13.75	2.75	1.00	25.00	2.75	1.73
28 d	406	400	400	6.98	0	0	8.87	0.75	1.00	14.25	0.75	1.02
42 d	372	400	400	4.93	0	0.25	6.18	1.25	0.75	8.66	1.25	0.73
84 d	400	400	400	4.00	1.25	0	4.25	1.00	0.25	5.50	1.75	0.70
140 d	500	400	400	1.20	0.50	0	2.00	0.50	0	2.00	1.00	0
250 d	400	400	400	0.25	0	0	2.50	0	0	2.00	0	0
500 d	400	400	400	0	0	0	0.25	0	0	0.25	0	0

a·b and c represent 3 different groups by γ irradiation inwhole-body, abdomen and pelvic cavity respectively

⁽¹⁾Including aberrant cells with gap or deletion

⁶⁰Co γ 射线照射家兔不同部位诱发染色体畸变结果列于表 1。染色体畸变以双着丝粒体+环、无着丝粒断片及畸变细胞数为主, 其他类型畸变如易位、裂隙等由于出现频率低而未列入表内统计。

从表 1 中可见, γ 射线离体、局部以及全身照射家兔, 诱发血淋巴细胞各类染色体畸变率均高于对照组, 经统计学处理, 实验组与对照组之间差异非常显著 ($P\leq 0.01$); 在相同条件下, γ 射线全身照射和离体照射所诱发的淋巴细胞各类染色体畸变(双着丝粒体、无着丝粒断片以及畸变细胞数) 的产额均高于局部照射组, 差异非常显著 ($P\leq 0.01$); 在局部受照组中, 对腹部照射诱发的染色体畸变率高于盆腔受照组, 经统计学处理(除断片外) 差异显著 ($P\leq 0.$

γ 射线全身和局部照射家兔后于 2h, 于第 14、28、42、84、140、250 和 500d 取血样, 观察淋巴细胞染色体畸变结果列于表 2。

从表 2 中可见, 全身受照组中所观察到的染色体畸变(包括双着丝粒体+环、断片)及畸变细胞数均有随照射后时间延长而明显减少(见图 1); 腹部照射组和盆腔受照射组中各个时间点所观察到的染色体畸变及畸变细胞总数也均随照射后时间的延长而明显减少, 其恢复到正常水平的时间要比全身照射组短, 即在照射后较短时间内, 局部照射所诱发的染色体畸变就几乎下降到正常水平, 全身受照射组其染色体畸变率回复到正常水平则需比较长的时间。

3 讨 论

为了给研究人类辐射效应提供可参考的整体辐射效应资料, 在本实验中选用家兔为研究对象, 主要由于家兔染色体核型(44, XY)基本上与人相似, 相对辐射敏感性与人类接近(0.87:1)^[1]。

在所有受照组中(全身、局部、离体)外周血淋巴细胞各类染色体畸变均高于对照组, 这与 Leonard 和 Decat 报道结果相一致^[1~3]。这说明电离辐射同样能使家兔机体受到不同程度的损伤。在辐射防护研究中, 同样可用其作为检测辐射损伤的生物学指标。

在相同剂量照射下, γ 射线全身和离体照射所诱发的家兔淋巴细胞染色体畸变在两组中无差异。同样的结果在对地鼠、猪等哺乳类动物的研究及其人体淋巴细胞染色体畸变的研究中也被证实^[4~9]。这就提示我们, 如果注意离体照射条件, 用离体照射后所得到的各类损伤参数可作为研究整体条件下辐射生物效应的参考资料。

γ 射线全身照射诱发家兔淋巴细胞染色体畸变率高于局部照射, 这与 Mcfee、John 和 Lloyd^[10,11]等对猪、地鼠和人等的研究报道一致。其原因可能是由于:(1)当机体受到局部照射时, 未受照射组织的造血细胞可能由血流带入受照器官, 并在那里补充和代偿受损伤的细胞, 故局部照射比全身照射能耐受更大的剂量;(2)由于血流不断循环, 受照射血与未受照射血相互混合, 从而使受照细胞稀释, 导致染色体畸变产额下降。

由于哺乳动物淋巴细胞在体内的分布不均匀, 绝大部分集中在胸腺、脾脏、淋巴结构、胃肠道、阑尾等^[12]。所以局部照射的部位不同, 诱发的淋巴细胞染色体畸变产额也不同。腹部受照射组染色体畸变高于盆腔受照射组, 其原因可能是由于腹部分布的淋巴组织比盆腔部位密集所致。John 等曾报道对地鼠后部 1/3 进行 γ 射线照射, 其染色体畸变率低于对地鼠前部 2/3 处的照射, Lily Fong 对两例放疗病人不同部位照射后的染色体畸变分析也证实了这一点^[13]。

γ 射线全身和局部照射家兔后, 在不同时间取血样, 所观察到的染色体畸变有随时间的

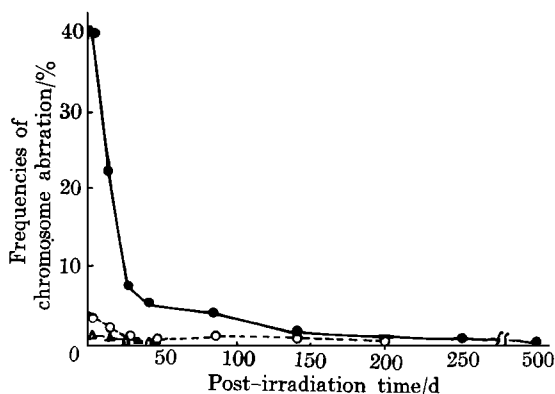


Fig.1 Change of dicentric plus rings of rabbits with time post γ -irradiation in different regions (●) whole-body (○) Abdomen (△) Pelvic cavity

延长而明显减少的趋势,以双着丝粒体+环为观察指标尤为明显(见图 1)。这一结果与 Decat、Liniecki 等报道一致^[14],其下降原因之一可能与淋巴细胞的半寿期有关。Decat 等曾报道带畸变的人淋巴细胞半寿期为 3 年,而兔淋巴细胞半寿期仅为 2 个月,由于带畸变的淋巴细胞与正常淋巴细胞均按这个规律消失,于是染色体畸变便会逐渐消失;其二,血液中淋巴细胞的含量仅仅占全身的 1 左右,绝大部分淋巴细胞位于血管外。由于血液中淋巴细胞不断与血管外的淋巴细胞进行交换(人淋巴细胞在血管内逗留时间小于 5min),然而这种运转速度比血液中淋巴细胞运转速度小得多^[15]。于是这也导致了外周血淋巴细胞染色体畸变必然随时间延长而下降。

本研究结果表明,以双着丝粒体+环为观察指标,在照射后第 14d 取血,所得畸变率仅为 2h 血样的 57%;在第 140d 取样所得结果仅为 2h 的 2.9%,此时的测定值已与对照本底值非常接近。

局部照射组中,腹部受照射组染色体畸变率下降速度要比盆腔组较慢,这同样是与淋巴组织分布密集与否有关。

因此,无论是全身或是局部受照射后,取血时间是很关键的,在分析染色体畸变并估算其受照射剂量时,均需考虑到畸变是随照射后时间延长而减少的,对于时间与畸变这两个变量之间的定量关系有待于今后进一步深入探讨。

参 考 文 献

- 1 Leonad A, Pecat G B, Leonard E D. *Mutat Res*, 1977, 45:223
- 2 Decat G, Leonard A. *Int J Radiat Biol*, 1980, 38:179
- 3 Kleinerman R A, Littlefield L G, Tarone R E. *Radiat Res*, 1990, 123:93
- 4 Brewen J G, Gengozian N. *Mutat Res*, 1971, 13:383
- 5 Preston R J, Brewen J G, Jones K P. *Int J Radiat Biol*, 1972, 21:397
- 6 Mcfee A F, Banner M W, Mary N, Sherrill M N. *Radiat Res*, 1970, 44:512
- 7 Clemenger J F, Scott D. *Nature New Biology*, 1971, 234:157
- 8 Clemenger J F, Scott D. *Int J Radiat Biol*, 1973, 24:487
- 9 Bajerska A, Liniecki J. *Mutat Res*, 1975, 27:271
- 10 Mcfee A F, Banner M W, Sherrill M N. *Radiat Res*, 1974, 60:165
- 11 John R K, Savage, Breckon G. *Brit J Radiat* 1985, 58:1105
- 12 国际原子能机构、世界卫生组织合译,辐射血液学手册,北京:原子能出版社,1975:93
- 13 Fong L, Chen J Y, Ting L L. *Radiat Res*, 1995, 144:97
- 14 Liniecki J, Bajerska A, Wyazynska K. *Mutat Res*, 1983, 110:103
- 15 韩保光,陈 迪,金瑾珍等.辐射防护,1993, 13(6):1

γ -RAY INDUCED CHROMOSOME ABERRATION IN RABBIT PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IRRADIATED IN PARTIAL AND WHOLE BODY AND DECLINE OF ABERRATION RATE WITH TIME POST-EXPOSURE

Zhang Lianzhen Deng Zhicheng Wang Haiyan

(China Institute for Radiation Protection, Taiyuan 030006)

ABSTRACT This paper presents the results of study on ^{60}Co γ -ray induced chromosome aberration in rabbits peripheral blood lymphocytes irradiated in partial and whole body and the aberration rate decrease with the time of post-exposure. The experiments included 5 groups, it was whole-body exposure group, partial-body exposure (abdomen and pelvic cavity) group, blood irradiation group in vitro and control group respectively. Radiation dose was 3.0Gy delivered at rate of 0.5Gy/min. The results show that it was no significant differences between whole body and in blood irradiation group. The chromosome aberration yield in whole body exposure group was higher than that in partial-body group and in the abdomen exposure group was higher than in that in the pelvic cavity irradiation; The chromosome aberration rate decreased with the time of post-exposure in partial and whole body by γ -ray irradiation.

KEYWORDS Chromosome aberration, Decline of chromosome, γ -ray, Whole body exposure, Partial body exposure