

电离辐射攻击性大剂量与小鼠 生殖细胞适应性反应

王彬 姜杰 王献理

(白求恩医科大学放射医学研究所, 长春 130021)

摘要 以 0.05 Gy 的 X 射线为 D_1 剂量, 预先对雄性昆明种小白鼠进行适应性照射, 然后以 0.75~3.75 Gy 的 X 射线为 D_2 剂量, 进行攻击性照射, 观察其精原细胞、初级精母细胞染色体畸变和精原干细胞染色体易位的适应性反应。其结果表明, 三种细胞在 0.75~3.00 Gy 之间都出现了不同程度的适应性反应现象, 3.75 Gy 适应性反应不明显。说明适应性反应是有一定限度的, 即 D_2 的剂量是有一定范围的。

关键词 大剂量辐射, 生殖细胞, 染色体畸变, 适应性反应

辐射细胞遗传学的研究发现, 小剂量的电离辐射(D_1)预先作用, 可使相继较大剂量辐射(D_2)所致的染色体损伤减轻, 这种现象被称之为适应性反应^[1~3]。适应性反应的发现, 使小剂量电离辐射的细胞遗传学生物效应愈来愈受到学术界和公众的关注。许多学者在这方面进行了研究^[4~6]。在这些研究中, D_2 照射多固定为一个剂量, 而研究预先照射低剂量 D_1 的范围。目前, 对 D_2 剂量大小与适应性反应关系说法不一, 还未见到固定 D_1 条件, 比较不同 D_2 剂量对染色体畸变适应性反应影响的报道。为此, 本文以昆明种小白鼠为实验材料, 探讨不同剂量 D_2 照射对其染色体畸变适应性反应的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

由白求恩医大实验动物部提供的昆明种小白鼠, 雄性, 周龄为 12 周, 体重 25~30 g。

1.2 照射条件和实验分组

菲利普 X 射线治疗机, 电压 200 kV, 电流 10 mA, 0.5 mmCu + 1.0 mmAl 滤过板。第一次小剂量的适应性照射为 D_1 剂量; 第二次大剂量的攻击性照射为 D_2 剂量。实验分以下三组。单纯 D_1 照射组: 照射剂量 0.05 Gy, 剂量率 0.05 Gy/min; $D_1 + D_2$ 照射组: D_1 照射后 4 h 照射 D_2 , D_2 剂量分别为 0.75、1.50、3.00 和 3.75 Gy, 剂量率为 0.44 Gy/min; 单纯 D_2 照射组: 照射剂量分别为 0、0.75、1.50、3.00 和 3.75 Gy, 剂量率为 0.44 Gy/min。以上各组每个剂量点均照射 20 只小鼠, 其中 10 只于照射后 5 h 制备睾丸生殖细胞染色体标本。另外 10 只于照射后 60 d 观察精原干细胞染色体易位。

1.3 睾丸生殖细胞染色体标本制备及判定标准

国家自然科学基金资助课题

收稿日期: 初稿 1995-04-12, 修改稿 1995-10-26

杀鼠前 5 h 腹腔注射 (4 mg/kg) 秋水仙素。杀死后取睾丸去被膜, 剪碎睾丸组织于 2.2% 的柠檬酸钠溶液中浸泡 20 min。以 1500 r/min 离心 5 min 后弃上清, 加入 1% 柠檬酸钠低渗 30 min。以 1500 r/min 离心 5 min, 弃上清, 用甲醇:冰醋酸 = 3:1 的固定液反复固定 3 次, 制片。10% Giemsa 染色。选择分散良好, 形态清晰的分裂相, 油镜观察。盲法阅片, 遇有畸变, 需征得第二人确认。

2 实验结果

2.1 D_2 剂量对精原细胞染色体畸变的适应性反应的影响

小鼠经 0.05 Gy X 射线的适应性照射后, 再给予 0.75~3.75 Gy X 射线的攻击性大剂量照射, 其精原细胞染色体畸变的适应性反应的结果见表 1。 D_2 剂量在 1.50 Gy 和 3.00 Gy 出现明显的适应性反应, 与其相应的预期值相比, 具有统计学差异。3.75 Gy 适应性反应消失。

Tab 1. Effect of D_2 dose on adaptive response of chromosome aberrations in spermatogonia

Treatment /Gy	Number of cells scored	Chromatid and isochromatid/%	
		Observed	Expected
0	1500	0.20±0.41	
0.05	800	1.38±0.74	
0.75	500	8.00±1.58	
0.05+0.75	500	7.00±2.55	9.18
1.50	500	20.80±6.61	
0.05+1.50	500	15.00±2.92 ⁽¹⁾	21.98
3.00	500	51.00±5.87	
0.05+3.00	500	42.20±6.72 ⁽¹⁾	52.18
3.75	500	42.00±8.86	
0.05+3.75	500	44.80±9.36	43.18

⁽¹⁾ $p < 0.01$ vs. expected

2.2 D_2 剂量对初级精母细胞染色体畸变的适应性反应的影响

初级精母细胞晚粗线期处于减数分裂的同源染色体联会过程中, 正常细胞的染色体是以二价体的形式出现。在照射后 5 h 的染色体畸变主要是单体型畸变及等点断裂。其结果见表 2。 D_2 剂量在 0.75~3.00 Gy 出现明显的适应性反应现象。其染色体畸变的单体断和等点断与其相应的预期值相比差异非常显著 ($p < 0.01$)。

Tab 2. Effect of D_2 dose on adaptive response of chromosome aberrations in spermatocytes

Treatment /Gy	Number of cells scored	Chromatid and isochromatid/%	
		Observed	Expected
0	2550	0.90±0.33	
0.05	800	2.00±0.82	
0.75	800	13.25±2.14	
0.05+0.75	800	5.50±1.79 ⁽²⁾	14.35
1.50	800	26.00±3.40	
0.05+1.50	800	16.50±2.14 ⁽²⁾	27.10
3.00	800	54.75±7.32	
0.05+3.00	800	38.25±8.93 ⁽²⁾	55.85
3.75	800	62.25±6.78	
0.05+3.75	800	57.63±7.14 ⁽¹⁾	63.35

⁽¹⁾ $p < 0.05$ ⁽²⁾ $p < 0.01$ vs. expected

2.3 D₂ 剂量对精原干细胞染色体易位适应性反应的影响

小鼠精原干细胞受到照射后，所形成的易位型染色体畸变，在照射后 60 d 以初级精母细胞染色体互换的形式予以表达。从表 3 的实验结果可见，D₂ 剂量在 0.75~3.00 Gy 适应性反应较为明显，其染色体的互换频率与相应的预期值相比，具有统计学差异。3.75 Gy 剂量点与预期值相比虽有降低，但无统计学差异($p>0.05$)。

Tab 3. Effect of D₂ dose on adaptive response of translocations in spermatogonia

Treatment/Gy	Number of cells scored	Spermatogonial translocation/%	
		Observed	Expected
0	2000	0.05±0.22	
0.05	1500	0.07±0.26	
0.75	1600	0.88±0.89	
0.05+0.75	1600	0.31±0.48 ⁽¹⁾	0.9
1.50	1600	1.31±1.01	
0.05+1.50	1600	0.44±0.63 ⁽²⁾	1.33
3.00	1500	2.80±1.08	
0.05+3.00	1600	1.69±1.20 ⁽¹⁾	2.82
3.75	1400	3.71±1.44	
0.05+3.75	1500	2.80±1.47	3.73

⁽¹⁾ $p<0.05$ ⁽²⁾ $p<0.01$ vs. expected

3 讨 论

小剂量电离辐射诱导细胞适应性反应发现后，D₂ 剂量对适应性反应的影响也就成为适应性反应研究的重要内容之一。其 D₁ 小剂量能拮抗 D₂ 剂量的范围以及最佳的 D₂ 剂量，一直成为该研究的中心问题。菊桂芝等^[7]以 25~200 mGy X 射线为 D₁ 剂量对昆明种小白鼠进行适应性照射，观察其不同 D₂ 的 X 射线对免疫系统的适应性反应。当 D₂ 剂量为 1.0 和 1.5 Gy 时适应性反应明显。当 D₂ 为 2.0 Gy 时，适应性反应消失。Ikushima^[8]用低浓度 ³H-TdR 作为 D₁ 剂量，处理小鼠 V₇₉ 细胞株，然后再给予 0~4 Gy 的 γ 射线和热中子照射，观察其 SCE 的适应性反应。其结果为，经不同剂量 γ 射线和中子照射后均出现适应性反应。即剂量大小与适应性反应无关。以 0~0.97 Gy 的 X 射线照射人外周血淋巴细胞，观察其 SCE 的发生频率^[9]。其结果表明，SCE 对电离辐射不敏感，其各个剂量点的 SCE 与 0 剂量点相比无统计学差异。说明染色体结构畸变和 SCE 的发生是彼此独立的两个不同事件。Ikushima^[8]以 SCE 为观察指标，来检测 D₂ 剂量对适应性反应的影响，得出适应性反应程度与 D₂ 剂量大小无关，此结论是否能真实反映 D₂ 剂量对适应性反应的影响，还有待于进一步研究。从本文的实验结果来看，精原细胞染色体畸变的适应性反应，在 1.5 Gy 和 3.0 Gy 适应性反应明显；初级精母细胞染色体畸变的适应性反应，在 0.75~3.00 Gy 适应性反应极为明显；精原干细胞染色体易位的适应性反应，在 0.75~3.00 Gy 适应性反应明显。综合以上三种细胞的实验结果，认为出现适应性反应的 D₂ 剂量范围为 0.75~3.00 Gy，其最佳 D₂ 剂量为 1.5 Gy。说明 D₂ 剂量在适应性反应中是有一定范围的。

参 考 文 献

1 Liu S Z, Cai L, Sun J B. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 1990. 41: 149

- 2 Wiencke J R, Afzal V, Olivieri G et al. *Mutagenesis*, 1986, 1, 375
- 3 Shadley J D, Wolff S. *Mutagenesis*, 1987, 2, 95
- 4 Wolff S, Afzal V, Wiencke J R et al. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1988., 53, 39
- 5 Cai L, Liu S Z. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1990, 58, 187
- 6 Cai Lu, Jiang Jie, Wang Xianl et al. *J. of Norman Bethune Univ. of Med. Sci.*, 1992, 18(1), 1
- 7 Ju G Z, Song C H and Qi J. In "The Proceeding of International Symposium on Biological Effects of Low Level Exposures to Radiation and Related Agents" 1993. Changchun, China. pp 61
- 8 Ikushima J. *Mutat. Res.*, 1987, 180, 215
- 9 王彬, 王献理, 杨保辰. 白求恩医科大学学报, 1989, 15(4), 344

CHALLENGING RADIATION DOSES ON THE ADAPTIVE RESPONSE OF MOUSE GERM CELLS

Wang Bin Jiang Jie Wang Xianli

(*Institute of Radiation Medicine, Norman Bethune University of Medical Sciences,
Changchun 130021*)

ABSTRACT Kunming male mice were irradiated by 0.05 Gy X-rays as the adaptive irradiation dose, then were exposed to 0.75~3.75Gy X-rays as the challenging irradiation doses. The chromosome aberrations in spermatogonia and spermatocytes and translocations in stem cells were observed. The results showed that the adaptive response appeared from 0.75~3.00Gy in all three kinds of cell, but the adaptive response was not obvious when the dose was 3.75 Gy. Those results indicated the challenging doses of irradiation had the adaptive response within limits.

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