

研究论文

电离辐射与活性氧诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换与抑制细胞增殖率指数

罗黎明 郑荣梁

(兰州大学生物系, 兰州 730000)

林念芸

(中国科学院辐射化学开放研究实验室, 上海原子核所, 上海 201800)

金一尊

(上海医科大学放射医学研究所, 上海 200032)

摘要 电离辐射、超氧阴离子自由基和羟自由基都能分别引起人淋巴细胞姊妹染色单体交换(SCE)频率增加和细胞增殖率指数降低。SCE与增殖率指数间密切负相关。推测电离辐射的上述生物学效应正是由辐照细胞生成的超氧阴离子和羟自由基引起的。

关键词 电离辐射, 羟自由基, 超氧阴离子自由基, 姊妹染色单体交换, 细胞增殖率指数

前文^[1]已报道 γ 射线及超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)都能显著增加人淋巴细胞姊妹染色单体交换(SCE)频率, 并延长细胞分裂周期。本文进一步报道羟自由基($OH^{\cdot}$)对SCE及细胞增殖比率指数的影响, 同时还对比了电离辐射、 $O_2^{\cdot-}$ 和 $OH^{\cdot}$ 分别对上述两种生物效应的影响。

1 材料和方法

1.1 羟自由基的产生

采用 Fe^{2+} /vit C体系使细胞通过Fenton反应生成 $OH^{\cdot}$ ^[2]、 $FeSO_4$ (成都临江化工厂生产, CP); 维生素C(西安化学试剂厂, CP); 溶液均现用现配, 过滤除菌, vit C的终浓度为 $100 \mu mol/L \sim 1000 \mu mol/L$, $FeSO_4$ 为 $10 \mu mol/L \sim 100 \mu mol/L$, 对照组不加 Fe^{2+} /vit C。

1.2 超氧阴离子自由基的产生

用NADH(上海生化所东风生化技术公司生产)加吩嗪硫酸甲酯(phenazine methosulfate, PMS, Fluka)系统^[3], 详见文献[1]。

1.3 电离辐射条件

将抗凝脐血分装, 每瓶5 ml。一瓶不照射作为对照, 其它各瓶在室温下用 ^{60}Co γ 射线照射, 剂量率 $1.19 Gy/min$ 。给不同剂量照射后立即取血制片。

1.4 细胞增殖率指数(PRI)

连续计数100个中期分裂相人淋巴细胞, 分别数出第一、二和三周期的中期分裂相细胞数(M_1 、 M_2 和 M_3), 按下列公式计算^[4]:

收稿日期: 初稿 1994-03-08, 修改稿 1994-06-21

$$PRI = (M_1 + 2 M_2 + 3 M_3) / 100$$

其它方法均与文献[1]相同。

2 结果与讨论

2.1 OH[·] 对 SCE 的诱发作用

表1所列结果表明 OH[·] 显著诱发 SCE 增加, 低浓度时(Fe²⁺ 10 μmol/L, vit C 100 μmol/L) 的 SCE 已显著高于对照组, 随着此系统的浓度增高, SCE 也渐增, 尽管增幅不大。当 Fe²⁺ 为 50 μmol/L, vit C 为 500 μmol/L 时, SCE 最大, 达 7.6 次/细胞, 为对照组(4.6 次/细胞)的 1.7 倍。随后即使 OH[·] 发生系统的浓度继续增加, SCE 反稍下降, 但还维持在 7 次/细胞以上, 都显著高于对照组。单独加 Fe²⁺ 100 μmol/L 仍使 SCE 显著增加。单独加 vit C 1000 μmol/L 则无效。这一结果更加清楚地证实了 OH[·] 的作用, 因为 Fe²⁺ 本身就能引起 Fenton 反应。

Tab 1. The effect of hydroxyl radical on SCE frequencies in human lymphocytes

Concentration of FeSO ₄ /μmol·L ⁻¹	Concentration of vit C /μmol·L ⁻¹	No. of cells analysed	SCE±SD/cell
0	0	25	4.6±1.1
100	0	25	6.0±1.4 ⁽¹⁾
0	1000	25	5.4±1.8
10	100	20	6.3±1.7 ⁽¹⁾
10	200	25	6.8±2.1 ⁽¹⁾
25	250	25	6.9±1.6 ⁽¹⁾
25	500	25	7.2±1.5 ⁽¹⁾
50	500	20	7.6±1.6 ⁽¹⁾
50	1000	25	7.1±2.2 ⁽¹⁾
100	500	24	7.3±2.0 ⁽¹⁾
100	1000	24	7.4±1.7 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ $p < 0.01$ (Chi-square test), The symbol in the following tables has the same meaning

2.2 OH[·]、O₂⁻ 及电离辐射对 PRI 的影响

Fe²⁺/vit C 系统提高了 M₁ 期细胞数比例, 显著降低了 M₃ 期细胞数比例, 因此 PRI 值下降(见表2)。不过 PRI 值的下降与系统的浓度间没有明显依赖关系。

Tab 2. The effect of hydroxyl radical on cell cycle in human lymphocytes

Concentration of FeSO ₄ /μmol·L ⁻¹	Concentration of vit C /μmol·L ⁻¹	No. of cells analysed	Cell cycle/%			PRI
			M ₁	M ₂	M ₃	
0	0	100	26	49	25	1.99
10	100	100	35	53	12 ⁽¹⁾	1.77
10	200	100	48	47	5 ⁽¹⁾	1.57
25	250	100	44	48	8 ⁽¹⁾	1.64
25	500	100	38	55	7 ⁽¹⁾	1.69
50	500	100	51	37	12 ⁽¹⁾	1.61
50	1000	100	38	57	5 ⁽¹⁾	1.67
100	500	100	41	50	9 ⁽¹⁾	1.68
100	1000	100	57	36	7 ⁽¹⁾	1.50

随 NADH/PMS 系统的浓度增加, M₁ 期增多, M₂ 期减少, M₃ 期明显减少, 所以 PRI 也下

降(见表 3)。电离辐射效应(见表 4)，与 NADH/PMS 系统效应很相似。

Tab 3. The effect of superoxide anions on cell cycle in human lymphocytes

Concentration of PMS/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	No. of cells analysed	Cell cycle/%			PRI
		M ₁	M ₂	M ₃	
0	200	37	50	13	1.76
0.75	200	54	39	7 ⁽¹⁾	1.51
1.50	200	50	45	5 ⁽¹⁾	1.55
3.00	200	54	40	6 ⁽¹⁾	1.52
3.75	200	65	24	10 ⁽¹⁾	1.43
4.50	100	71	24	5 ⁽¹⁾	1.34

Tab 4. The effect of different doses of gamma-irradiation on cell cycle in human lymphocytes

Dose/Gy	No. of cells analysed	Cell cycle/%			PRI
		M ₁	M ₂	M ₃	
0	300	24	54	22	1.98
0.60	300	34	48	18	1.84
1.19	300	41	46	13 ⁽¹⁾	1.72
2.38	300	48	37	15 ⁽¹⁾	1.67
3.57	100	54	32	14 ⁽¹⁾	1.60
4.76	200	66	25	9 ⁽¹⁾	1.43

这些结果证明无论 O₂⁻、OH[·] 或电离辐射都能延迟细胞分裂周期。

2.3 SCE 和 PRI 的相关性

对比 O₂⁻、OH[·] 和电离辐射所引起的 SCE 和 PRI 的变化，就可以发现 SCE 及 PRI 间密切负相关(见图 1)。

这些相似的结果进一步揭示电离辐射、O₂⁻ 和 OH[·] 对细胞影响机理是同一的。电离辐射导致染色体损伤的主要原因正在于产生了 O₂⁻ 和 OH[·] 这些氧自由基。许多能产生氧自由基的物质能诱发 SCE，例如博莱霉素和 H₂O₂ 高压氧、四葵酰巴豆乙酯和佛波豆蔻乙酯等^[5-9]。更有趣的是在电离辐射间接作用中观察到一种叫做断裂因子的低分子量物质，能使染色体断裂，这一作用能被氧自由基清除剂超氧化物歧化酶和 L-半胱氨酸等抑制。于是推测这一因子与氧自由基密切相关^[10,11]，作者曾报道电离辐射所产生的氧自由基能损伤 DNA^[12]，本文又证实它们能损伤染色体，这些结果都有助于阐明辐射致癌及致突变的机理。

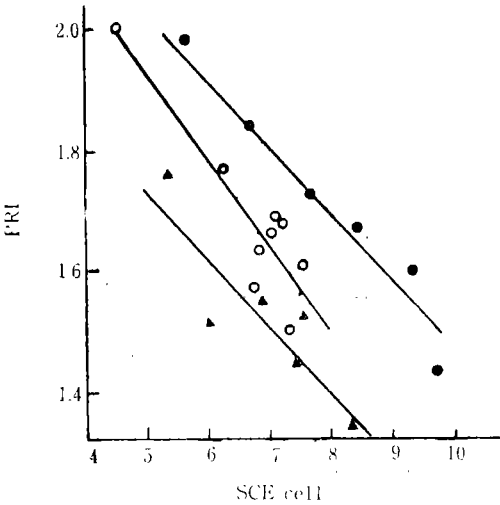


Fig 1. The correlation between SCE and PRI
(●) γ -ray $r = -0.982$, $p < 0.01$
(○) O₂⁻ $r = -0.865$, $p < 0.05$
(▲) OH[·] $r = -0.883$, $p < 0.01$

参 考 文 献

- 1 罗黎明, 金一尊, 林念芸, 郑荣梁. 辐射研究与辐射工艺学报, 1993, 11(3): 176
- 2 Samuni A, Aronovitch J, Godinger D, Chevion M, Czapski G. Eur. J. Biochem., 1983, 137: 119
- 3 Nishikimi M, Appaja N, Yagi K. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 416: 879
- 4 Lamberti L, Bigatti P, Ardito G. Mutat. Res., 1983, 120: 193
- 5 秦世真, 薛京伦. 国外医学遗传学分册, 1984, 7: 116
- 6 Latt A, Allen J, Bloom S E. Mutat. Res., 1981, 87: 17
- 7 Gutierrez C, Lopez-Saez J F. Mutat. Res., 1982, 103: 295
- 8 Emerit I, Cerutti P A. Nature, 1981, 293: 144
- 9 Nagasawa H, Little J B. Carcinogenesis, 1981, 2: 601
- 10 Cerutti P A. Science, 1985, 227: 375
- 11 Emerit I. Sister Chromatid Exchanges; 25 Years of Experimental Research, Tice R R ed., Plenum, New York, 1984: 127~140
- 12 郑荣梁, Lesko S A, Ts'o POP. 中国科学(B), 1988, (4): 378

SISTER CHROMATID EXCHANGE AND INHIBITION OF CELL PROLIFERATION RATIO INDEX BY IONIZING IRRADIATION AND ACTIVE OXYGEN SPECIES

Luo Liming Zheng Rongliang

(Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Lin Nianyun

(Laboratory of Radiation Chemistry, Academia Sinica, Shanghai 201800)

Jin Yizun

(Institute of Radiation Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

ABSTRACT Sister chromatid exchange (SCE) and inhibition of cell proliferation ratio index (PRI) in human lymphocytes were induced by ionizing irradiation, superoxide anions and hydroxyl radical. There was a negative relationship between SCE and PRI. It was suggested that those biological effects were caused by superoxide anions and hydroxyl radicals produced in irradiated cells.

KEYWORDS Ionizing irradiation, Hydroxyl radical, Superoxide anion, Sister chromatid exchange, Cell proliferation ratio index