

# 快中子照射诱发人淋巴细胞微核的剂量效应 以及微核和染色体畸变的关系

程文英 杨家宽 丁志圣 蔡荣妹 罗伟华 徐萍

(上海第一医学院;上海市工业卫生研究所)

中子主要由核反应产生,用放射源和一定的靶物质,借助于( $\alpha$ ·n)或( $\gamma$ ·n)反应,就能射出中子。加速器中用高能粒子打击靶或反应堆中的裂变过程都能产生中子流。尤其是近代医学上中子治癌机的应用和核武器的发展,人们接触中子的机会就逐渐增多。如果这些场合安全防护或操作程序出了故障,就有产生过量照射的危险。所以研究反映中子损伤效应的生物学指标是必要的。中子以穿透力强为其特点,它对外周血液尤其是淋巴细胞的辐射效应是显著的。我们过去的工作已证明,人体接受分次局部 $^{60}\text{Co}$ 照射后,用直接浓缩法发现外周血淋巴细胞微核率增高和染色体畸变率有一定相关<sup>[1]</sup>。用X线照射诱发人淋巴细胞微核,其剂量效应亦呈线性关系<sup>[2]</sup>。为评价微核测定在辐射损伤中的意义和提供实验依据,本实验采用氘-氘中子发生器照射健康人离体血<sup>[3]</sup>,经过培养诱发淋巴细胞微核,观察剂量效应以及微核和染色体畸变之间的关系。

## 材料和方法

采用6个健康人的静脉血(男3例,女3例),年龄在23—47岁。每个人的血样本随机地分成0、12、25、50、100、200、300、400,8个剂量组。每只样本装入平底小玻璃瓶里,每瓶1.5毫升血量。

中子发生器产额为 $1 \times 10^{10}$ /秒,能量为14 Mev, $\gamma$ 线含量约为10%,剂量率12拉德/分。照射时血样本与放射源之间距离为5厘米;用旋转式灯源控制血样本恒温,自动调节在 $37 \pm$

0.5°C。

照射后间隔3小时分装培养,取0.3毫升全血加入培养瓶中,培养液由TC199 4毫升、小牛血清1毫升和PHA配成,pH为7.2。将培养瓶置37°C恒温箱内培养96小时,取底层细胞推片,瑞氏染色。

微核是位于已转化而又完整的淋巴细胞浆内,它与主核完全脱离,没有折射,直径小于主核的1/3,染色和主核相同。对已进入有丝分裂期的细胞不列入计数范围内。培养后的微核形态和未经培养的微核是不相同的,在PHA作用下,淋巴细胞向母细胞方向转化,微核也和主核一样,结构比较疏松(见图1)。

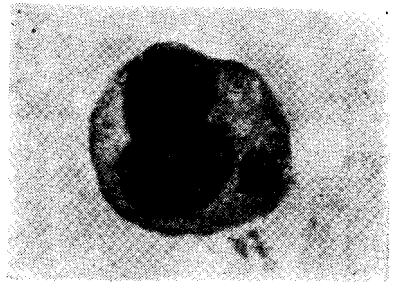


图1 培养后的双核淋巴细胞,胞浆内有一微核

制片后,用油镜计数2,000个淋巴细胞中出现微核的淋巴细胞数,以千分率表示。对照组即0拉德组,除了不接受辐照外,其它实验条件完全相同。每血样本平行作染色体畸变细胞计数,具体方法见另文报道<sup>[3]</sup>。

Cheng Wenyong et al.: The Dose-effect of Neutron Irradiation on the Micronuclei Produced in Human Lymphocyte and Their Relationship to Chromosome Aberrations

1) 由中国科学院原子核研究所负责照射。

表 1 中子照射剂量与微核细胞率

剂量 (拉德)	0	12	25	50	100	200	300	400
计数总细胞数	12,000	12,000	12,000	12,000	12,000	12,000	12,000	4,000
微核细胞率 <sup>1)</sup> (%)	2.83 ±0.49	6.92 ±0.76	10.08 ±0.92	15.33 ±1.13	25.58 ±1.46	37.83 ±1.78	53.75 ±2.12	53.25 ±3.65

1) 平均千分率±泊森标准误

表 2 中子照射剂量与染色体畸变细胞率

剂量 (拉德)	0	12	25	50	100	200	300
计数总细胞数	3,542	1,168	1,098	955	1,292	856	502
畸变细胞率 <sup>1)</sup> (%)	0.62 ±0.01	6.68 ±0.08	12.57 ±0.11	16.96 ±0.13	31.27 ±0.16	48.71 ±0.24	72.31 ±0.37

1) 平均百分率±泊森标准误

## 结 果

中子照射剂量与微核细胞率的关系见表 1 和图 2。

表 1 表明,照射剂量在 0—300 拉德范围内,微核细胞率随着照射剂量的增加而增高。用最小二乘法处理,微核细胞率和照射剂量呈直线关系。图 2 之直线回归方程为:

$$Y_1 = 6.06 + 0.16X_1,$$

$Y_1$  为微核细胞率,  $X_1$  为中子照射剂量。

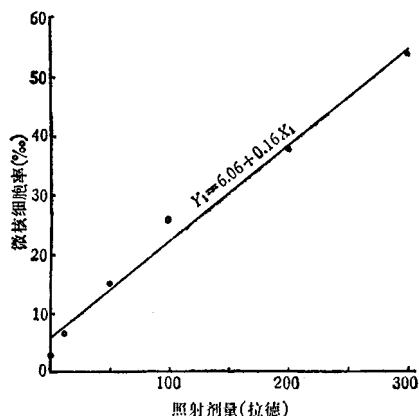


图 2 中子照射剂量和微核细胞率的关系

经  $t$  测验证明,回归呈高度显著 ( $P < 0.01$ )。但中子剂量达 400 拉德时,微核细胞率未见增高。

照射剂量和染色体畸变细胞率的关系见表 2 和图 3。统计分析微核细胞率和染色体畸变

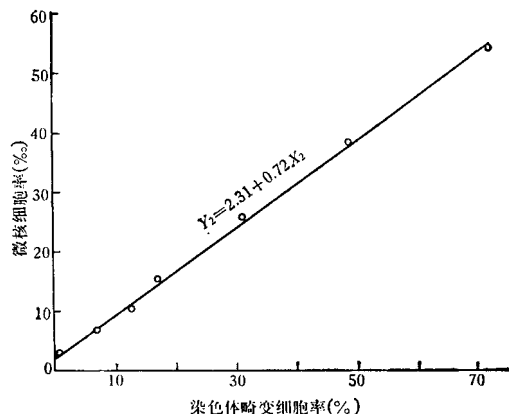


图 3 微核细胞率与染色体畸变细胞率的关系

细胞率之间呈线性正比关系,图 3 的直线回归方程为:  $Y_2 = 2.31 + 0.72X_2$ ,  $Y_2$  为微核细胞率,  $X_2$  为染色体畸变细胞率。直线回归有非常显著意义 ( $P < 0.01$ )。

## 讨 论

近年来,国外介绍微核是染色体断片所形成,大约占总数的 20%<sup>[4]</sup>。由于微核形态清楚,位于细胞浆中,在细胞周期各个阶段都能辨认,技术要求又比染色体畸变分析容易,因此认为它是染色体断裂的快速测定指标<sup>[5]</sup>。人外周淋巴细胞培养方法已广泛应用于染色体研究,该法在培养时,至少在初期可得到一个同步细胞群,具便于观察之优点。Obe 在 X 线或化学制剂处理的人淋巴细胞培养中,发现有微核产生<sup>[6]</sup>。

最近,又有文献报道X线照射人淋巴细胞培养后产生微核,通过分段照射实验,证实染色体断裂需要修复的时间为30—60分钟,提出微核测定这种快速技术,在染色体断裂机制研究和快速筛选突变因子等方面是十分有用的<sup>[5]</sup>。但是关于中子照射对微核产生的效应资料迄今未见报道。

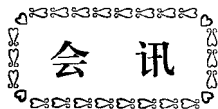
实验证实人离体血经中子照射后,经过细胞恒温培养,也能出现微核。照射300拉德以下,其剂量和效应呈现直线关系。在本实验前,我们曾用4名健康人血接受相同条件的中子照射,作为预初观察,结果与这次实验相比,两次数据极为接近,反映出中子诱发的微核细胞率在相似的照射条件下,有一定的稳定性。但当照射剂量达400拉德时,微核细胞率和剂量间的线性关系就难表现出来,这可能与照射剂量增高引起细胞早期死亡有关<sup>[5,7]</sup>。

实验中把微核细胞率和染色体畸变细胞率作了平行对比。为了保证染色体断裂的自我重接时间,使实验结果趋向稳定,一般要求在血样本照射后间隔2小时再分装培养。虽然我们采取的间隔时间较长,经和对照样本比较,并没有影响结果。实验证明,微核细胞率和染色体畸变细胞率在300拉德以下呈极显著相关。关于

微核来自染色体断裂后无着丝点断片的假说,1977年Heddle等用扫描细胞分光光度计测定微核的DNA含量予以证实<sup>[7]</sup>,上述工作是在小动物骨髓红细胞中进行。本实验则从不同的角度提供微核和染色体畸变的关系,说明微核产生在一定程度上可以和染色体畸变相一致。从染色体畸变率在培养后54小时较高,而微核率则在培养后72—96小时来看,估计染色体断裂后通过细胞分裂转入子代细胞浆内形成微核,还需要一定的时间间隔。现已肯定,染色体畸变是判断事故照射后机体所受照射剂量的生物剂量仪,如今体外培养的微核形成已可作为一个良好的辅助指标。

### 参 考 文 献

- [1] 云南动物研究所、上海市工业卫生研究所:1978。遗传学报,5(2):142。
- [2] 程文英、杨家宽等:1980。上海第一医学院学报,7(5):342。
- [3] 冯加林、邵松生等:1979。核技术,4:81。
- [4] Carrans, A. V. et al.: 1973. *J. Theor. Biol.*, 38: 289.
- [5] Countryman, P. I. et al.: 1976. *Mutat. Res.*, 41: 321.
- [6] Obe G. et al.: 1975. *Mutat. Res.*, 27: 89.
- [7] Haddle, J. A. et al.:1977. *Mutat. Res.*, 44: 63.



## 会 讯 植物单性生殖与单倍体育种学术讨论会简讯

我国首次植物单性生殖与单倍体育种学术讨论会于1980年底在广州召开。有大专院校、各省市科研机构的科研工作者45人出席,30人作了研究报告,全体代表分组讨论报告的论文并提出建议。论文中除以各种方法诱导水稻、小麦、玉米、棉花、油菜的孤雌生殖及其在育种上的应用外,还有利用球茎大麦与普通大麦、小麦杂交、借助于染色体消失获得单倍体的研究。自1973年开展此项研究以来已取得不少成果。油菜、小麦孤雌生殖的衍生物已在生产上应用。新获得的水稻、小麦品系正在各地品比示

范。增产显著,获得的玉米自交系经过测交,表现优势显著。在诱导方法上也取得不少进展:水稻离体穗诱导法不独能避免田间诱导时天然杂交可保证试验可靠,而且成倍地提高工效。用不同倍数性水稻、小黑麦的花粉诱导,有效化学药剂的筛选、复合处理,诱使胚乳发育等研究也初见成效。会议期间代表们充分交换意见深入讨论问题,对会后加强协作展开诱导机理的研究提出设想,以期进一步提高诱导成功率,在作物育种上广泛应用。

胡启德