

# 粒子诱发 BEP2D 细胞转化过程中染色体数目的变化

楼铁柱,项晓琼,吴德昌

(军事医学科学院放射医学研究所,北京 100850)

**摘要:**目的:人支气管上皮细胞 BEP2D 在受到 1.5 Gy <sup>238</sup>Pu 粒子单次照射诱发转化,观察染色体数目的变化。方法:常规的中期染色体计数方法。结果:在细胞转化过程中,细胞染色体数目不稳定,有向非整倍体发展的趋势,而且主要涉及 C 组和 D 组染色体的丢失。结论:可能是 粒子照射后细胞转化的早期事件,在转化的启动和促进中发挥重要作用。

**关键词:** BEP2D;细胞转化;染色体丢失

中图分类号:R811.5 文献标识码:A

辐射是已知的环境致癌因素,氡及其子体 粒子则主要是引发肺癌<sup>1</sup>。癌症是多种基因变化累积的结果,无论是在癌症启动还是发展阶段,所涉及的基因变化有相当一部分可以通过染色体异常而表现出来。特别令人注意的是许多恶性肿瘤存在染色体非随机改变,核型研究证实,在绝大部分人类恶性病变中发生整条染色体的获得与丢失,使人们认识到染色体异常与人类恶性肿瘤有着内在的联系<sup>2</sup>。使用细胞体外培养系统来研究染色体异常与恶性转化的关系,可以较容易地观察染色体异常与细胞永生化和恶性转化的关系,从而获得有关癌症发生机理的重要信息。本研究利用人支气管上皮细胞系 BEP2D 及 粒子诱导转化的 R15H 细胞模型,试图从细胞遗传学水平发现 粒子照射是否引发染色体数目的特征性改变。

## 材料与方法

1 细胞 人支气管上皮细胞系 BEP2D, Prof. Harris CC. 馈赠。R15H 细胞为本实验室用 1.5 Gy 粒子照射 BEP2D 细胞后诱导建立的转化细胞系。均用 LHC-8 无血清培养液培养。照射装置为 <sup>238</sup>PuO<sub>2</sub>

电沉积源,总放射性活度 200MBq,膜过滤后能量为 3.94MeV,剂量率 0.2 Gy/min。

2 试剂 秋水仙胺:Sigma 产品;低渗液:0.0375 mol/L KCl;固定液:甲醇:冰醋酸 3:1。

3 中期染色体标本制备 不同代龄的 BEP2D 和 R15H 细胞生长到指数分裂期时,加入秋水仙胺阻止有丝分裂,终浓度 0.04μg/ml,作用 3 - 5h 后胰酶收获细胞,加入低渗液 37℃ 处理 20 - 30min,1 000g 离心 5min 去上清,加入新配的固定液固定 30min,重复固定一次,制成细胞悬液,滴片,火焰干燥,10% Giemsa 染色,镜下观察染色体数目异常,每组 100 个中期分裂相。选择分散良好的中期相拍照,进行常规核型分析,记录各组染色体拷贝数。

## 结果

### 1 染色体总数目的变化

正常 BEP2D 细胞的染色体数目绝大部分均为 2n = 46,并且基本保持核型的稳定,R15H 不同代龄细胞染色体数目观察结果见表,由表 1 可见,不同代龄 R15H 细胞逐渐失去了正常 2n = 46 核型,亚二倍体和多倍体细胞 (> 48) 数目随传代次数增加所占百分比逐渐增高。

收稿日期:1999 - 11 - 03; 修订日期:2000 - 03 - 09

基金项目:由国家重点基础研究专项经费资助项目(G1998051200)

作者简介:楼铁柱(1972 - ),男,安徽人,助理研究员,医学博士,研究方向:辐射致癌的细胞和分子机理。Tel: 010 - 66931040; E-mail: Loutz @ nic. bmi. ac. cn

文章编号:1004 - 616X(2000)03 - 0173 - 02

## 医用壳聚糖和磷灰石蛋白材料对小鼠骨髓细胞微核的影响

李练兵<sup>1</sup>, 马明福<sup>1</sup>, 蔡 敏<sup>1</sup>, 李新生<sup>1</sup>, 张其清<sup>2</sup>

表 1 R15H 细胞染色体数目改变

代数 <sup>a)</sup>	分析细胞数	染色体数目 (%)			
		<44	44 - 48(46)	49 - 86	>86
BEP2D	100	5	92(84)	2	1
R15Hp5	100	9	84(76)	4	3
R15Hp20	100	17	73(60)	6	4
R15Hp30	100	23	62(50)	9	6

a) : p 及其后数字表示细胞代龄,表 2 中表示与此相同。

### 2 染色体各组数目的变化

R15H 细胞在受照后不同代龄时染色体丢失主要涉及 C 组和 D 组染色体,在照射后极早期(10 代以前)还可以见到辐射诱发的非稳定性畸变,如双着丝粒和环状染色体(数据未列出),但在传代数次之后即消失。R15H 细胞在转化过程中常见的是染色体丢失等稳定性畸变。

表 2 细胞转化过程中各组染色体拷贝数目的变化(分析核型数均为 8 个)

染色体组	BEP2D	R15Hp5	R15Hp20	R15Hp30
A	6	6	6	6
B	4	3	4	4
C	14	13	11	11
D	6	4	5	5
E	6	6	7	6
F	5	4	4	4
G	3	4	4	3
X	1	1	1	1
Y	1	1	1	1

### 讨 论

肿瘤细胞的染色体数目变化异常复杂,最常见的染色体数目异常是非整倍体和多倍体。BEP2D 细胞经 粒子照射而转化的 R15H 细胞,染色体数目为近二倍体,同时存在一定比例的亚二倍体,亚三倍体和多倍体,并且随传代数增加,它们所占的比例也逐渐增高,具有向非整倍体发展的趋势。染色体数目在照射后长时间内仍然不断变化,表明在转化过程中存

在染色体和基因组的不稳定性,其原因可能是由于辐射导致了非致死性的不稳定染色体区域的形成,这些区域发生变化有一定的潜伏时间,并可以通过代代传递给后代细胞,从而在后代细胞中表现出染色体的不稳定,它的分子机理可能涉及纺锤体检查点和 DNA 损伤检查点相关路径的改变。据认为 DNA 双链断裂(DSB)可导致细胞发生基因组不稳定,而且这种遗传不稳定性改变是 粒子照射后的早期事件<sup>3</sup>。

从本实验中染色体丢失的具体情况来看,C、D 组(6 到 15 号)染色体单体在转化细胞不同代龄发生频率都较高,并且一直存在。虽然本文未能进行分带分析,不能确定丢失的具体染色体,但与 Willey JC 和 Weaver DA 等人进行的 BEP2D 细胞 粒子照后细胞遗传学分析相比<sup>4,5</sup>,他们也发现了 8(C 组)、13(D)、14(D)染色体单体和 Y 染色体丢失的高发性,结果基本一致,说明以上的同源染色体丢失可能是 粒子诱发细胞转化的早期事件,并可能通过影响所携带基因的结构和功能在细胞转化并进展为恶性细胞过程中发挥重要作用。

### 参考文献:

- 1 Cox R. Molecular mechanisms of radiation oncogenesis J. *Int J Radiat Biol*, 1994, 65(1):57 - 64.
- 2 Cobaleda C, Prerez LJ, Sanchez GI. Chromosomal abnormalities and tumor development: from genes to therapeutic mechanisms J. *BioEssays*, 1998, 20(11):922 - 30.
- 3 Kennedy CH, Mitchell CE, Fukushima NH, et al. Induction of genomic instability in normal human bronchial epithelial cells by <sup>238</sup>Pu - particles J. *Carcinogenesis*, 1996, 17:1611 - 1616.
- 4 Willey JC, Hei TK, Pao CQ, et al. Radiation - induced deletion of chromosomal regions containing tumor suppressor genes in human bronchial epithelial cells J. *Carcinogenesis*, 1993, 14(6):1181 - 1188.
- 5 Weaver DA, Hei TK, Hukku B, et al. Cytogenetic and molecular genetic analysis of tumorigenic human bronchial epithelial cells induced by radon alpha particles J. *Carcinogenesis*, 1997, 18(6):1251 - 1257.

收稿日期:1999 - 08 - 03;修订日期:1999 - 12 - 08

作者简介:李练兵(1954 - ),女,重庆人,副研究员,研究方向:生殖毒理/遗传毒理。