

男性不育者的染色体畸变及姐妹染色单体交换的观察*

许德义 毛昭娣 童慎境 陈意振¹

宁波市医学科学研究所 宁波 315000 ¹宁波市妇女儿童医院

摘要 200例男性不育症患者的外周血淋巴细胞的染色体分析表明,在细胞分裂中期染色体畸变率明显提高,达20.5%,其中结构异常占21.95%(9/41),数量异常占78.05%(32/41)。男性不育者的姐妹染色单体交换率有不同程度的增高($P < 0.05$)。

关键词 男性不育;染色体畸变;姐妹染色单体交换

THE STUDY OF CHROMOSOMAL ABERRATION AND SISTER CHROMATID EXCHANGED FREQUENCY AMONG INFERTILEMEN

Xu Deyi, et al

Institute of medicine Science of Ningbo Ningbo 315000

Abstract Analysing the vein blood lymphocyte chromosome on 200 infertile men, the results made known that the chromosomal aberration frequency increased in cell mitosis middle stage. It occupied 20.5%. The structural aberration accounted for 21.59% (9/41) and the numerical change made up 78.01% (32/41). The sister chromatid exchanged (SCE) frequency among infertile men increased in different degrees ($P < 0.05$).

Key words: infertile men; chromosome aberration; sister chromatid exchanged

随着我国人口的增长,男性不育人数逐渐增多,已成为一种社会现象,本研究从染色体角度去探讨男性不育的起因。

DNA损伤可转变为染色体畸变,DNA的损伤如果发生在细胞周期的S期,也可能转变为姐妹染色单体交换(SCE)。在形成染色体畸变时,可能出现少量SCE,但大多数SCE增加不伴随出现染色体畸变。染色体畸变和SCE是检出诱变剂和致癌剂的灵敏而重要的方法。⁽¹⁻³⁾。

材料和方法

1. 材料

RPMI MEDIUM 1640培养基: USA Cat.No.430-1800 EA EXP 12-3-93产品。

新生小牛血清: 产后24小时内禁食的新生小牛,颈动脉无菌采血制备血清,用0.22 μ 孔径滤器过滤,灭能后备用。

植物细胞凝集素(PHA): 选用四川雪山豆,11克粉碎加150ml无菌生理盐水,0-4 $^{\circ}$ C冰箱内浸泡48小时,4000r/min离心20分钟,上清液经0.22 μ 孔径滤器过滤,-25 $^{\circ}$ C保存备用。

秋水仙碱(Colchicine): 上海化学试剂采购供应站进口分装。

BrdU(5-Brom-2'-deoxyuridin): Fluka

*浙江省青年自然科学基金课题,已通过省级鉴定

AG, CH-9470Buchs产, 303235。

2. 方法

外周血淋巴细胞培养和染色体制备: 按本实验室方法。全血接种到5ml 1640培养基中, 瓶内含新生小牛血清20%, PHA2滴(自制), 青霉素 100u/ml, 链霉素 100µg/ml, pH7.2-7.4, 37℃恒温培养72小时。秋水仙素终浓度为0.04µg/ml。

染色体显带: 染色体片经37℃老化5天, 用0.0125%胰酶(Difco, 1:250)处理。

SCE⁽⁴⁻⁵⁾: 培养同上, 差别仅在培养24小时后加BrdU(1mg/ml) 2滴。染色体片子置50-60℃水浴锅中用预热50℃的2×SSC液滴盖全片, 同时用2537 Å, 15W紫外灯下距5cm, 边照射边处理30分钟。

结果和讨论

1. 染色体畸变

从表1可见, 染色体结构异常9例, 发生率为4.5%, 占总异常的21.95%(9/41); 数量异常32例, 发生率为16%, 占总异常的78.05%(32/41)。其中结构异常包括缺失(deletion)、重复(duplication)、罗伯逊易位(Robertsonian translocation)、内复制和环状染色体(ring chromosome)等, 可见异常类型众多⁽⁶⁾。而在数量异常中, 集中表现为性染色体的增减, 尤其是克氏综合征(47, XXY)占绝大多数(28/32), 显示男性不育者之中克氏综合征是主要的病因之一, 总之染色体异常, 特别是性染色体异常, 与男性不育密切相关。

国外文献中不育男性的染色体异常发生率为2.2-20.2%。如Kjessler(1972)报告为6.6%, Candley(1984)7.4%, Templado(1980)20.0%, Retief(1984)7.4%, 国内罕见报道。以上报道的染色体异常率差异很大, 究其原因是研究方法不同, 对象不同(有的未作选择), 我们的研究对象事先经下一级卫生院, 妇保所筛选, 所以异常率特别高, 故本文与这些文献无法比较分析。

据估计, 已婚夫妇中有近10%患不育症, 其中三分之一由男性不育引起, 而由染色体异常导致的男性不育本文中达20.5%。我国每年约有800-1000万对夫妇结婚, 则可能有30万男性不育者, 按20%异常率推算, 每年约有6万由于染色体异常导致的男性不育者需确诊, 并要求提供遗传咨询和优生手段, 这对我国实行计划生育, 优生优育的基本国策意义重大。

2. 姐妹染色单体交换

由于各实验室条件不一, SCE值的正常值各有差异。如张宝忠等报道的正常值为4.60±0.55, 吴旻等报道为4.41±0.72, 马长俊等报道为5.40±0.26, 邓承宗等报道为4.24±2.05。我们实验中对照组的SCE值与上述报道基本相近。

表 1 200例不育男性染色体异常类型及发生率

异常类型	总例数	例数	发生率%
原发不育			
47, XXY		18	9
47, XYY		1	0.5
48, XXXY		1	0.5
45, Y/46, XY/47, XYY	80	1	0.5
46, XY, r(Y)		1	0.5
46, XX(男性)		1	0.5
47, XXY, del(13)(q12)		1	0.5
46, XY(大Y)		2	1
生育率低			
46, XY/45, XO		1	0.5
47, XXY	40	10	5
46, XY, del(Y)(q12)		1	0.5
其妻习惯流产			
45, XY, rob(14; 21)(p11.1, q11.2)		1	0.5
46, XY, 21p ⁺	80	1	0.5
46, XY(内复制)		1	0.5
合计	200	41	20.5%

从表2中可见, 从事放射性工作人员

SCE均值有显著提高 ($P_1 < 0.01$, $P_2 < 0.05$)。而汽车司机和接触化学有机溶剂的人员中不育者SCE均值分别为 8.30 ± 2.47 和 8.27 ± 2.40 , 明显高于正常生育组的 4.49 ± 1.78 和 5.55 ± 1.77 。且不育组中SCE值个体差异显著 ($P < 0.05$); 吸烟人员中个体差异不明显 ($P > 0.05$); 但不育组中的SCE均值 (6.85 ± 1.48) 要高于正常生育组 (4.23 ± 1.25)。上述结果显示不育病人的SCE值明

显高于正常生育组。

有关引发染色体异常和SCE增高的原因, 错综复杂, 归纳起来可分为二种, 一为遗传因素, 二为环境因素。其中遗传因素无法避免和预防, 而环境因素中天然的如宇宙辐射、地球辐射及人体内放射性物质的辐射等也无法避免, 但人为的如医疗照射、职业照射、接触化学有机溶剂等则可以预防或避免。

表 2 100例各职业不育男性 SCE 的比较

职业	不育组 受检人 数	正常生 育组受 检人数	观察 细胞数	不育组 SCE均值 ($\bar{X} \pm s$)	正常生育组 SCE均值 ($\bar{X} \pm s$)	不育组 t检验	正常 生育组 t检验
从事 放射性 工作	50	20	30	12.11 ± 3.02	6.59 ± 2.15	$P_1 < 0.01$	$P_2 < 0.05$
汽车 司机	10	10	30	8.30 ± 2.47	4.49 ± 1.78	$P < 0.01$	$P < 0.05$
接触 有机 溶剂	20	20	30	8.27 ± 2.40	5.55 ± 1.77	$P < 0.05$	$P > 0.05$
吸烟 (20支/ 天)以上	20	20	30	6.85 ± 1.48	4.23 ± 1.25	$P > 0.05$	$P > 0.05$
正常 对照		20	30		4.05 ± 1.39		$P > 0.05$
合计	100	90	150	35.53	24.91		
平均	25	18	30	8.88 ± 1.95	4.98 ± 0.96	$P > 0.05$	$P > 0.05$

参考文献

1. 陈立男, 等. 长期服用棉酚对个体SCE率的影响. 遗传 1983; 5(3): 35-36.
2. 唐学明, 等. 镉污染区人群淋巴细胞姐妹染色单体交换率的检测. 遗传学报 1991; 18(4): 289-291.
3. 闵昭, 等. 百岁老人和中青年人细胞SCE分布的比较研究. 遗传与疾病 1989; 6(1): 9.
4. Middlesworth W, et al. An RFLP detecting

single copy chromosome fragment, dic 56, from Xp22-Xpter. Nucleic Acids Res 1985; 13: 5723.

5. Bick D, et al. Male infant with ichthyosis, Kallmann Syndrome chondrodysplasia punctata, and an Xp chromosome deletion. Am J Med Genet 1989; 33: 100-107.
6. 周焕庚, 等. 人类染色体. 北京: 科学出版社, 1987: 110.