

在治疗上它有可能取代通常使用的镭针。

任何细胞遗传学分析统计的正确与否,无论是辐射或化学所致,均取决于被检查的细胞数。世界上有几个实验室现正在发展自动计算机联动系统,它能在显微镜载玻片上

非常快速地找出细胞和分析它们核型的异常。非常可能,在80年代这种机器将成为人类细胞遗传学的一种主要推动力。

(Lloyd DC, et al: Brit J Industr Med 34(4): 261, 1977(英文) 符文琛节译 汪有蕃 史志澄 刘及审校)

X线诱发人淋巴细胞姐妹染色单体互换及L-半胱氨酸的效应

近年来普遍认为,人类在环境中广泛接触各种化学、放射和其他物理因子,其中某些已知是致变异和致癌的因素。曾提出假说,各种尚未查明的物质进入生物圈,可导致变异率相应增加。所谓变异是指遗传物质DNA组成和排列发生突然的并可遗传的改变。

本研究试图确定人淋巴细胞姐妹染色单体互换(SCE)现象是否可作为变异剂的筛选工具。为了检测SCE,染色单体必须分化染色。最近技术的发展表明,姐妹染色单体的鉴别,并不需用费时而又不敏感的放射自显影方法,利用荧光染料Hoechst 33258和Giemsa就能对BrdU取代的哺乳动物染色质进行分化染色。此方法可提供一种检测姐妹染色单体之间互换点的优良技术。

有人提出, SCE产生的机制是与损伤染色体中重新组合断裂-恢复过程有关。这可以用来解释为什么接触外界因素如紫外线、抗菌素、 ^{14}C 丝裂霉素及其他化学诱变剂可使细胞的SCE率增加。此外, Bloom综合症的SCE率也显著增加。

本文报导人淋巴细胞经不同剂量照射后产生SCE的某些特点,并对细胞周期的各期受X线照射后的SCE/细胞与培养物中添加抗诱变剂后再照射的SCE率作了比较。评价了SCE现象可作为检查诱变效应的一种方法。

材料和方法

用人工合成培养液GIBCO-RPMI 1640, 加BrdU(5微克/毫升)和庆大霉素(0.1微克/毫升)作正常人全血培养。所有培养均在黑暗中进行,以避免DHA中BrdU光解。由于BrdU能抑制核糖核苷酸还原酶,在培养物中须加入d-cyt($1 \times 10^{-4}\text{M}$)。从PHA刺激细胞分裂算起,淋巴细胞培养72小时。经1:1稀释(1毫升细胞液加1毫升锥兰)后做细胞计数,样本的平均浓度是 $7.5 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ 细胞/毫升。

在培养结束前2小时加长春花碱(0.1微克/毫升),用0.4%氯化钾-柠檬酸钠(1:1)低渗溶液处理,甲醇冰醋酸(3:1)固定。片子经空气干燥后,先用Hoechst 33258(0.5微克/毫升),然后在3%Giemsa(pH 6.8)液中染色。用这一方法,能在光学显微镜下检测标本的SCE。

所有受照射的细胞,在BrdU中都已至少完成一个复制周期。 ^{60}Co 遥控治疗机产生的X线(原文如此,下同——译注)能量为1.2百万电子伏,剂量率是125拉德/分,照射剂量为25、50、100和200拉德。

第一组照射 G_1 期细胞(培养50小时照射),第二组照射相同细胞周期的 G_2 期细胞(培养68小时)。对照组操作方法同上,用以比较细胞存活数,本底的SCE水平及其它有关细胞学因素。下述两组实验半胱

氨酸的抗变异作用。第三组培养物中加 L-半胱氨酸 ($1 \times 10^{-4} M$), BrdU和d-cyt, X线照射第二周期的G₁期细胞。第四组 (含有L-半胱氨酸, BrdU和d-cyt) 照射第二周期的G₂期细胞。对X线照射后第一次有丝分

裂的染色体作分化染色进行SCE计数。

结 果

表1数据说明, 照射第二次分裂的G₁期, 淋巴细胞的SCE/细胞明显随剂量而增

表 1 X线照射第二细胞周期的G₁或G₂期时人淋巴细胞的SCE率和存活力

管 号	细胞周期	X线剂量 (拉德)	平均SCE/有丝分裂细胞 ($\pm SE$)	范 围	存 活 力 (细胞/毫升)
1	G ₁	0	5.14 \pm 0.92	0~9	2.9 $\times 10^6$
2	G ₁	25	7.21 \pm 1.04	1~11	3.0 $\times 10^6$
3	G ₁	50	8.04 \pm 1.02	3~13	2.8 $\times 10^6$
4	G ₁	100	10.33 \pm 1.24	3~15	2.5 $\times 10^6$
5	G ₁	200	15.51 \pm 1.96	2~18	1.2 $\times 10^6$
6	G ₂	0	5.18 \pm 0.72	1~8	3.0 $\times 10^6$
7	G ₂	25	6.05 \pm 1.21	0~12	2.8 $\times 10^6$
8	G ₂	50	6.00 \pm 0.91	1~10	1.8 $\times 10^6$
9	G ₂	100	6.68 \pm 0.69	2~8	1.7 $\times 10^6$
10	G ₂	200	6.90 \pm 0.76	2~9	1.4 $\times 10^6$

加 ($p < 0.04$), 并呈线性关系。照射G₂期细胞, SCE率虽稍有增加, 但无统计学意义。此外, G₂期淋巴细胞在照射 50~100 拉德时, 细胞存活力明显减少, 而G₁期细胞在照射200拉德以下时, 细胞存活力并不明显下降。

随辐射剂量递增SCE率增加的同时, 还伴有染色体畸变数升高。X线照射G₁期

细胞, 出现的畸变有末端缺失、中间缺失和染色体互换。照射G₂期细胞畸变的特征主要是染色单体型的, 如染色单体的裂隙、断裂和互换等。

表2提示, L-半胱氨酸对X线照射第二次分裂周期的G₁期细胞, 可中度降低SCE/细胞的频率。但是, 观察到的SCE率比无诱变剂影响 (不受照射) 的仍然较高 ($p <$

表 2 培养物经抗诱变剂L-半胱氨酸预防性处理后照射第二细胞周期的G₁或G₂期时人淋巴细胞的SCE率和存活力

管 号	细胞周期	X线剂量 (拉德)	平均SCE/有丝分裂细胞 ($\pm SE$)	范 围	存 活 力 (细胞/毫升)
1	G ₁	0	5.12 \pm 0.84	0~8	3.0 $\times 10^6$
2	G ₁	25	6.52 \pm 0.93 _a	2~8	2.8 $\times 10^6$
3	G ₁	50	6.21 \pm 1.02 _a	2~12	2.8 $\times 10^6$
4	G ₁	100	8.05 \pm 1.11 _a	3~14	2.9 $\times 10^6$
5	G ₁	200	10.15 \pm 1.23 _a	3~15	2.4 $\times 10^6$
6	G ₂	0	5.05 \pm 0.92	0~9	2.9 $\times 10^6$
7	G ₂	25	5.14 \pm 1.01	0~10	3.0 $\times 10^6$
8	G ₂	50	5.62 \pm 0.91	1~10	2.6 $\times 10^6$
9	G ₂	100	6.01 \pm 0.64	2~8	2.3 $\times 10^6$
10	G ₂	200	6.30 \pm 0.72	2~9	2.0 $\times 10^6$

a 比表1的数据显著低 ($P > 0.05$, 原文如此——译注)

0.05)。培养物不加L-半胱氨酸受照射的SCE/细胞比对照增加三倍,而加抗诱变剂的则仅增加二倍。L-半胱氨酸特别在100拉德和更高辐射剂量时,对增加细胞存活力最为有效。

必须指出,如果L-半胱氨酸加到照射后的淋巴细胞的培养物中,那就不会显著降低SCE率或细胞的死亡。

讨 论

实验证明,诱发SCE能提供一种敏感的手段,分析体外人淋巴细胞的突变性,验证细胞遗传的放射损伤。SCE计数方法简单,重复性强,并易于与对照相比较。测得的CSE率能反映L-半胱氨酸抗染色体放射损伤的保护效应以及放射剂量水平和细胞分裂周期的影响。

普遍认为,细胞的放射敏感性与其增殖或有丝分裂的活性成正比,与细胞的分化程度成反比。放射能可能通过干扰合成mRNA和生命必需的细胞酶如DNA聚合酶和胸腺嘧啶脱氧核苷激酶而起作用的。因此,DNA的正常合成作用受阻,重要的代谢途径中断或改变,最后导致细胞死亡。

这一放射损伤的机制可解释照射 G_2 期(刚处于有丝分裂之前)细胞死亡率显著增加,而照射 G_1 期细胞影响较小。 G_1 期细胞所增加的存活力可能与X线照射所致SCE

率增加有直接关系。因此,每次有丝分裂所增加的SCE率最能反映 G_1 期细胞的X线放射损伤,而观察细胞存活数最能显示 G_2 期细胞的损伤。 G_1 期细胞的放射敏感性可能比 G_2 期淋巴细胞略低,因他们在进入有丝分裂之前需要较长的恢复放射损伤和修复DNA损伤的时距。此外,必须强调所有放射诱发的效应均明显依赖于剂量率。而且应意识到受照的细胞群体已不是同步的,因为他们在BrdU中已经进行了一个以上的复制周期。所以与SCE相关联的染色体畸变类型可供作X线照射细胞周期的确证指标。

鉴于DNA是主要的放射损伤部位,通过照射亚细胞的原子和分子颗粒所得的资料表明,抗诱变剂L-半胱氨酸的作用是与那些不被组蛋白覆盖的DNA螺旋部分结合而起稳定作用。这就产生了两种有益的效应。第一,除了防止原发损伤外,DNA单链断裂的游离末端可互相联接,因而预防继发性损伤(即化学的改变)。第二种效应是延缓DNA的复制速率,使能在复制前修复损伤。只要恢复速率大于复制和损伤的速率,即使有诱变剂的影响,细胞仍能存活。

简言之,测定人体细胞的SCE对筛选潜在的染色体诱变剂来说,是一种敏感而可靠的方法。而且,此新设计的技术可适用于大规模的抗诱变剂的试验。

(Abramovsky I等: Mutat Res 50(1): 93~100, 1978(英文)黄祥寿摘译 李英 刘 及校)

放射治疗后动脉结构的连续性改变

自从X线照像的技术问世后,已开始注意到放射线对于血管形态学引起的改变。早在1899年Gassman就报道了放射性皮炎中的血管损伤,血管内皮肿胀、增生、并向管腔内形成突起。1937年Windholz观察到内膜高度增生伴有动脉的部分闭锁和静脉的完全性闭锁。以后,Warren又观察到照射野

皮肤深层血管的内皮细胞增生,管腔闭锁并偶有内皮坏死,血栓形成。Sheehan研究了照光后的盆腔器官,看到在内皮细胞和内弹力板之间因有泡沫细胞,纤维蛋白或透明物质存积,而使血管内膜局部增厚;同时还观察到有血管内膜的纤维弹力层增厚,中层的坏死以及外膜的炎性浸润等。虽然多数都相