

根据染色体的形态特征,可将中期细胞分为第1、2、3次分裂的细胞。应注意,高浓度BUdR将引起大量姐妹染色单体交换,有时难于区别第1次与第3次分裂。

以第2和第3次分裂的细胞数来估算细胞分裂对微核产额的影响。假设每一细胞分裂周期使微核产额下降一半,那么,估算能形成微核细胞的细胞数,则以兰色细胞数乘以2倍的第2次分裂的细胞百分数与4倍的第3次分裂的细胞百分数之和。

结果:在5个人的33份血培养中,共计数469个微核,其中459个微核存在于兰核细胞内(占98%)。进一步证明兰色细胞是分裂增殖的淋巴细胞。其微核也染成兰色,很有助于识别。

为了比较在兰色细胞和总细胞中的微核检测方法,我们用不同剂量照射了血标本并计数了微核、兰色细胞及总细胞数。讨论了BUdR在培养液的最佳浓度,以及细胞培养时间、PHA浓度对两种方法试验结果的影响。通过分析细胞染色体畸变率与微核率之间的关系,说明了细胞分裂对微核产额的影响。

总之,从微核试验的细胞计数中除去经培养而未分裂的细胞数是合理的。而增加培养液中BUdR的浓度高达 $4 \times 10^{-4} M$ ,经差别染色方法处理,很容易识别出这种未分裂的细胞。改良后的淋巴细胞微核检测法与常规方法相比较具有下列优点:因为计数细胞约可减半而快速;不受淋巴细胞分裂增殖程度变化的影响;更准确地识别微核;以及微核率与染色体畸变率更趋一致。

(杨恩普摘 高凤鸣校)

#### 069 高热处理哺乳动物细胞后,照射或不照射时DNA单链断裂的发生情况 [Jorritsma JBM et al; Radiat Res 98:198~208, 1984(英文)]

高热是否可以直接或间接诱发DNA单链断裂,文献意见尚不一致。Lunec等报告,高热处理的细胞未检测到DNA单链断裂。Dikomey等指出,高热或45℃以上处理的细胞,在37℃培养4~24小时便可出现DNA单链断裂。自从 $^3H$ -胸腺嘧啶核苷( $^3H$ -TdR)用于实验细胞的DNA标记以来,认为DNA单链断裂可以由 $^3H$ 的内照射而诱发。

为了探讨DNA单链断裂的原因,本文报告了EA(Ehrlich ascites)和HeLa S<sub>3</sub>细胞在高热下处理后,X线照射与不照射时DNA单链断裂的发生情况。验证了是高热本身的直接或间接作用,还是标记DNA的 $^3H$ -TdR的 $^3H$ 内照射诱发DNA单链断裂。同时也讨论了高热与辐射诱发的DNA单链断裂修复抑

制的关系。

EA细胞培养在RPMI1640培养基内。HeLa S<sub>3</sub>细胞培养在Joklik's改良的最低必需液体培养基内。在含有5μM和2μM甲基 $^3H$ -TdR的培养基内分别标记EA和HeLa S<sub>3</sub>细胞。用philips-Müller Mg300X线机(200kV,15mA,剂量率6Gy/分)照射。以羟基磷灰石法解链后测定DNA单链断裂。在X线照射前,将试验细胞分为42℃、43℃、44℃、45℃4组加热处理。45℃组再分为0、15、30、45、60分钟5组加热。计数含有50个以上细胞的集落数。

将45℃加热的EA细胞和HeLa S<sub>3</sub>细胞,分别放入三种不同比放射性 $^3H$ 标记的培养基内(每细胞每分钟衰变数为0.09~0.12, 0.35~0.45, 1.9~2.5)培养,其DNA单链断裂无显著差异。Mitchel和Birnboim也在非放射性同位素标记的白细胞实验中检测出DNA单链断裂。由此,可除外 $^3H$ 内辐射诱发DNA单链断裂的可能性。

当EA或HeLa S<sub>3</sub>细胞在42℃、43℃、44℃、45℃各组加热1~5小时,观察到DNA易变碱基的损伤同DNA单链断裂是相等的。45℃加热处理后,X线照射前在37℃培养1小时,细胞的DNA单链断裂的修复能力仍未恢复,仍处于一个多少恒定的水平上。此时,能检出的存活细胞仅为1~5%。这表明,高热抑制DNA单链断裂的修复,可能是DNA分子本身对热的直接吸收或是累及细胞另外的热敏感成分而间接引起的DNA损伤。高热处理的细胞,因为蛋白质的吸收而使修复酶很少能接近细胞的DNA,结果可以导致DNA修复抑制。蛋白质的构形变化和伴随出现的细胞核骨架的吸附也可能改变与细胞基质相关联的修复酶活性,从而进一步抑制DNA的修复。高热损伤溶酶体后,可导致水解酶的释放,从而引起DNA损伤。作者认为,只有在高温处理的细胞群体中含有大量的热杀死细胞时,DNA单链断裂的修复才受到显著抑制。

未加热的细胞,用6GyX线照射后的修复曲线呈双相。半修复时间分别为4和45分钟。其中快组分相对比为0.8,慢组分为0.2。高热处理的细胞,随受热时间的增加,快组分相对重量比值减少,直至消失。快组分的消失完全归因于受热细胞群体中死亡细胞的增加。这是由于细胞的存活率与高热诱发的单链断裂的修复抑制密切相关的结果。

将45℃加热60分钟的细胞和37℃培养的细胞按不同比例(100%, 75%, 50%, 25%, 0%)混合后X线照射,在实验的修复曲线中,可见一定程度的

DNA单链断裂的修复与该组有较多的存活细胞是一致的。高热复合辐射诱发的DNA单链断裂的原始数量是 $2.0\sim 2.5\times 10^5$ /细胞,比分别用高热和X线处理计算的总值为高。其原因可能与复合实验中的受热细胞数有关。因为在细胞效应非常低的热量下也可以见到照射和高热的协同作用,所以在细胞存活水平上,将DNA单链断裂修复抑制作为一般机理来说明这种协同作用是难以令人接受的。综上所述,可以认为辐射诱发的DNA单链断裂的修复抑制是由高热本身引起的,并非由标记的 $^3\text{H}$ -TdR的内辐射所致。

(王连知摘 刘及校)

# 070 5羟色胺减轻辐射对造血细胞影响的作用方式研究〔Смирнова ИБ и др; Радиобиология 24(2):236, 1984(俄文)〕

5羟色胺属于造血型放射损伤的防护剂之一,它能明显提高受照射动物的CFU-S的活存数。本文试图说明,5羟色胺对其它阶段的细胞是否也有防护作用?怎样表现?是仅对照射前未损伤的细胞有效,还是对损伤的细胞也有效?

X线照射前15分钟或照射后立即给每只(CBA $\times$ C57Bl)F<sub>1</sub>小鼠皮下注射5羟色胺0.5或2.0mg。照射3~20天检查股骨髓有核细胞数和脾重,计算第8天内

源性脾结节数。按常规作外源性脾结节计数,即小鼠在7戈瑞照射前或照射后注射5羟色胺,照射后输入洗过的骨髓细胞,8天后计数脾结节。

离体骨髓细胞体外照射3.5戈瑞,照射前15分钟或照射后立即加入5羟色胺(最终浓度为 $5\times 10^{-6}\text{M}$ ),取 $2\times 10^6$ 个细胞输给7戈瑞照射小鼠,6天后检查受体小鼠的股骨髓有核细胞数。并用组织化学染色,细胞光度计比色测定骨髓粒细胞的蛋白质疏醇,观察组织缺氧情况。

实验结果表明,预防应用5羟色胺可加速照射后小鼠股骨髓细胞数的增长,脾重很快恢复到正常动物的水平,内源性脾结节数也多于未防护小鼠(表1,2),证明5羟色胺防护可使脾脏细胞的生长加强。防护剂在体外对骨髓细胞也有效,可使骨髓有核细胞数增长加速;给照射小鼠输注体外照射前用5羟色胺预防的骨髓细胞,照射16天的受体股骨髓细胞总数为 $12.6\pm 1.2\times 10^6$ ,与输注正常骨髓的小鼠细胞数相似( $18.1\pm 1.2\times 10^6$ /股骨);输注照射而没有加防护剂的骨髓细胞对照射小鼠股骨的骨髓有核细胞几乎没有影响(分别为 $7.1\pm 0.7\times 10^6$ 或 $5.9\pm 0.6\times 10^6$ /股骨)。

照射后给药小鼠的内源性脾结节数和脾重都没有增

表1 5羟色胺(0.5mg/鼠)<sup>1</sup>(2.0mg/鼠)<sup>2</sup>对照射小鼠骨髓细胞数和脾重的影响

分 组	骨髓有核细胞数( $10^6$ /股骨)				脾 重 (mg)			
	照射5~6天	11~12天	16天	20天	照射5~6天	11~12天	16天	20天
7戈瑞照射对照	$0.7\pm 0.1$	$5.4\pm 0.4$	$5.9\pm 0.6$	$9.6\pm 0.7$	$29.5\pm 1.4$	$46.1\pm 5.3$	—	$192.8\pm 22.4$
5羟色胺预防 <sup>1</sup>	$4.7\pm 0.5^{**}$	$13.5\pm 3.6^{*}$	$13.8\pm 1.3^{*}$	$15\pm 1.4^{*}$	$37.8\pm 1.2^{*}$	$100\pm 3.1^{*}$	—	—
5羟色胺治疗 <sup>1</sup>	$0.6\pm 0.1^{*}$	$7.9\pm 0.3^{*}$	$13.9\pm 0.7^{*}$	$14.7\pm 1.4$	$29.1\pm 1.3$	$45.8\pm 3.2$	—	$178.6\pm 18.1$
4.5戈瑞照射对照	$2.8\pm 0.9$	$9.8\pm 0.9$	—	$15.5\pm 1.2$	$36.6\pm 1.9$	$54.7\pm 6.2$	—	$75.2\pm 4.7$
5羟色胺预防 <sup>1</sup>	$8.8\pm 1.6$	$17.1\pm 1.4^{*}$	—	$16.1\pm 1.1$	$50.9\pm 4.9^{*}$	$73.5\pm 3.7^{**}$	—	—
5羟色胺治疗 <sup>1</sup>	$2.4\pm 0.6$	$14.1\pm 2.0$	—	$17.1\pm 1.1$	$36.2\pm 2.4$	$64\pm 10.1$	—	$89.6\pm 7.8$
5羟色胺预防 <sup>2</sup>	$8.3\pm 1.1^{*}$	$16.1\pm 1.1^{*}$	—	$17.0\pm 1.4$	$45.5\pm 1.2^{*}$	$90.5\pm 3.0^{*}$	—	—
5羟色胺治疗 <sup>2</sup>	$2.1\pm 0.2$	$13.1\pm 1.0^{*}$	—	$17.7\pm 0.4$	$31.8\pm 1.5$	$58.5\pm 8.1$	—	$77.0\pm 4.8$

与对照组比较<sup>\*</sup><sup>\*</sup> $P<0.05$  <sup>\*</sup> $P<0.001$

正常值:骨髓有核细胞数为 $15.1\pm 0.9\times 10^6$ /股骨,脾重为 $98.6\pm 2.0\text{mg}$

加,只是骨髓细胞数比未给药小鼠恢复的快。移植体外照射后又用5羟色胺处理的骨髓的小鼠骨髓细胞数( $11.8\pm 1.0\times 10^6$ /股骨)与照射前用5羟色胺处理的骨髓细胞移植效果( $12.6\pm 1.2\times 10^6$ /股骨)相近。因为,照射后应用5羟色胺的内、外源性脾结节存活率未增加,所以这时骨髓细胞数增加的原因可能是残存的干细胞或增殖池细胞增殖加强。看来,5羟色胺对造血系统的抗放作用表现在:照射前应用防护剂使活存的细

胞增多,防护剂照射后又使细胞增殖过程加强。前者达到降低照射剂量的防护作用,后者起治疗作用。这两种作用促使造血恢复加速,从而使动物活存。作者认为,5羟色胺的效果在体内、外都可表现出,所以是它直接作用于细胞的结果,它这种直接保护细胞作用,多半不是通过低氧的途径,因为保护离体细胞蛋白质疏醇的水平并不升高。作者推测有其它途径影响造血的可能性,