

4. Hittelman WN & Rao PN: Cancer Res 38:416, 1978.
5. Hittelman WN et al: Blood 54:1001, 1979.
6. Sognier MA et al: Mutat Res 60:61, 1979.
7. Hittelman WN et al: Blood 55:457, 1980.
8. Hittelman WN & Pollard M: Radiat Res 92:497, 1982.
9. Cornforth MN & Bedford JS: Science 222: 1141, 1983.
10. Pantelias GE & Maillie HD: Somatic Cell Genetics 9:533, 1983.
11. Pantelias GE & Maillie HD: Radiat Res 99:140, 1984.
12. Sen P & Hittelman WN: Cancer Res 44: 591, 1984.
13. Hittelman WN et al: Blood 64:1067, 1984.
14. Pantelias GE & Maillie HD: Health Physics 49:425, 1985.
15. Pantelias GE & Maillie HD: Mutat Res 149:67, 1985.
16. Pantelias GE & Wolff S: Mutat Res 151: 65, 1985.
17. Pantelias GE: Radiat Res 105:341, 1986.

应用早熟染色体凝聚方法研究电离辐射对细胞的损伤及修复

上海市放射医学研究所 冯嘉林 邵松生综述 郑斯英* 王知权**审

大量的实验已证明电离辐射诱发的淋巴细胞染色体畸变可作为可靠的生物剂量仪。然而常规细胞遗传学方法,只能分析分裂中期细胞中的染色体,间期的淋巴细胞要进入有丝分裂期,必须在植物血凝素刺激下培养二天才能达到。这种方法受到各种物理或生物因素的影响,例如细胞培养的条件、生长周期、修复和死亡等均可影响畸变量。1970年,Johnson和Rao^[1]首先发现分裂中期的细胞与另一间期细胞融合,该中期细胞能诱导间期细胞的染色质提前凝聚,这种染色体称为早熟染色体凝聚(简称PCC)。在融合时根据细胞周期的不同,诱发的早熟染色体凝聚的形态各不相同^[2~8]。该方法的建立,使间期细胞在受到射线或化学诱变剂等损伤后,就可直接观察染色体损伤,为研究染色体的损伤及修复提供了一个有用的工具。它已应用于人类的白血病诊断^[4~7],以及测定辐射或化学诱变剂所造成的间期染

色体的致突变作用^[8~9]。近年来,由于应用化学融合剂Polyethylen Glycol (PEG)^[10~13]代替了仙台病毒,简化了操作,使这一方法更易推广。本文综述了PCC技术在电离辐射诱发的细胞损伤及修复研究中的应用。

PCC技术在电离辐射研究中的应用

射线或其它诱变因素对哺乳动物细胞的损伤经常用染色体畸变来表示,但细胞受到见到损伤必须有一时间间隔,PCC技术可大大缩减这一时间,不管细胞处于G₁还是G₂期,在细胞受伤后约2小时左右就可分析染色体损伤。

(一) G₁-PCC的研究

1974年,Waldren等用X线和紫外线照射G₁期的HeLa细胞,发现X线照射引起G₁-PCC中的断裂数增加,并与剂量有线性关系,剂量可高达1800rad,每100rad剂量平均增加10~15个断片。在G₁-PCC中所观察到

*苏州医学院放射医学系 **中国医学科学院放射医学研究所

的损伤,大大高于受相同剂量照射后分裂中期染色体中所观察到的损伤。另一组实验受照射的细胞经2小时后再融合,PCC中的断片数很快减少,作者认为在这一期间产生了重接和修复。并用自显影方法证明重接过程中没有DNA合成活动的参与。紫外线照射诱发的G₁期细胞损伤,其PCC形态与X线的截然不同,呈现为类S期状态。Cornforth^[14]应用正常人纤维母细胞株接受不同剂量X线照射,剂量范围从0.109~6 Gy,与分裂的HeLa细胞融合,得到细胞断片数的线性斜率为 $0.0599 \pm 0.0003/\text{细胞} \cdot \text{rad}$,对于1 Gy以下低剂量组为 $0.0627 \pm 0.0002/\text{细胞} \cdot \text{rad}$ 。他还研究了染色体受损伤后的重接时间,发现照后2小时重接率达到50%。认为PCC技术能成为一种测定低剂量照射时染色体断裂和重接的指标。Pantelias^[15]以X线照射人外周血,剂量为2~100rad,然后将分离的单核细胞与分裂的CHO细胞融合,分析单核细胞PCC中的断裂数,其剂量效应曲线: $Y = \alpha + \beta D$; $\alpha = 0.19$, $\beta = 0.028$ 。并用大鼠的整体和离体照射实验获得的剂量效应曲线,经统计处理表明无显著性差异。1985年,该作者^[16]又报道了用整体或离体大鼠的血、脾和胸腺的淋巴细胞,经X线照射后与CHO细胞融合,观察G₁-PCC的畸变和修复动力学变化,证明体内、外所得结果基本一致。他们还用X线照射未受刺激的人外周血,用PCC方法测定染色体断片和环状染色体的剂量效应关系及修复规律^[17]。在照后即刻、1、2和24小时后,从G₁-PCC中观察到断片均呈线性关系,其照后即刻所得剂量效应值与Conforth的结果一致。环状染色体呈线性二次方关系。断片重接在照后最初2小时发生,但断片的重接并没有导致环状染色体的增加。照后即刻、1或2小时后得到的环状染色体产额没有很大差异,与1974年Hittelman等所报道的互换一旦形成是持久的结论相一致。

(二) G₂-PCC的研究

1974年,Hittelman和Rao应用了G₂-PCC系统对物理和化学诱变剂处理后CHO细胞染色体畸变形成的本质作了广泛的研究。他们用217.5rad X线照射指数生长期的CHO细胞,照后即刻取一半受照的细胞与分裂的CHO细胞融合产生PCC现象,而另一半用常规细胞遗传学方法处理,在有丝分裂期观察到的是单体型畸变,同样的畸变类型在G₂-PCC中也观察到,而且见到的损伤多于前者。断裂多2倍左右,互换和裂隙多1.25。这些资料表明常规染色体标本中所观察到的损伤,并不代表细胞真正的损伤程度,可能的原因是重度损伤的细胞没有成功地进入有丝分裂期。

另一组实验是为了验证染色体损伤后的修复,在照后0、30、60分钟与分裂中期细胞融合,发现在照后30分钟,融合组畸变略有增加,但不显著;在60分钟后,融合组中断裂和裂隙均明显减少,而互换则不变,证明断裂和裂隙是可修复的,但互换一旦形成就不能修复。

第三组实验是在细胞融合过程中不同的时间予以照射,分成6组,A组在加病毒前,B组在4℃保温结束时,C组在37℃5分钟后,D组为30分钟后,E组为45分钟时,F组为对照。这一组实验发现二种现象:①在融合过程中接受照射,时间越推迟,畸变减少越明显;②在作为诱导PCC发生的中期染色体中未见到畸变。这二种现象说明畸变是隐藏在染色体中,即使在G₂-PCC已达到高度收缩的E组,仍可测出畸变数略有增加,而在中期染色体中未能测出。这进一步证明G₂-PCC的染色质皱缩还没达到如中期染色体皱缩状态,也表明染色体畸变在照后几分钟内就形成。

(三) 对染色体损伤机理的研究

不论化学还是物理诱变剂均可诱发染色体畸变。1974年,Hittelman等^[18]应用PCC技术研究畸变形成的本质。用G₁-PCC发现X线照射后很快形成断片,对染色质的结构

没有影响,因为 G_1 -PCC的断片也显示正常的浓缩程度。用紫外线照射 G_1 期细胞,在 G_1 -PCC中未见到断片,而染色质延伸和变细了,类似于S-PCC的形态,作者认为与非常规的DNA合成有关,功能上与S期的细胞结构类似。用烷化剂和紫外线分别处理 G_2 期细胞,发现用前者处理的细胞到达有丝分裂中期时产生的裂隙量,比 G_2 -PCC中的量多3~4倍,而在紫外照射情况下, G_2 -PCC中显示出的裂隙要比中期染色体中发现的多。作者认为这些相反的倾向有二种不同结构的裂隙类型存在,烷化剂是导致细胞的染色质去螺旋化,而干扰了染色体的浓缩,所以在高度浓缩的中期染色体中可见到裂隙;在 G_2 -PCC中染色质本身浓缩很少,因而不易发现。由紫外线或X线所诱发的裂隙是DNA双螺旋的一条或二条链的断裂,这种断裂在浓缩较少的 G_2 -PCC中易显示,而在高度浓缩的有丝分裂期就不易发现。

结束语

综上所述,PCC现象在电离辐射对细胞损伤和修复的研究工作中是很有用的,它克服了常规细胞遗传学中的一些缺陷而显示其优越性。

①不仅可在分裂中期见到染色体结构,也可在分化的或未进入分裂周期的细胞中见到,可用于研究细胞增殖动力学及间期细胞的染色质结构。

②由于细胞在融合过程中可以调节染色体浓缩能力,故有助于了解染色体浓缩与畸变形成之间的关系。

③理化诱变剂对间期细胞的损伤,在融合处理1~2小时内就可分析,克服了大剂量照射时细胞周期的延长,细胞间期死亡及分裂过程中畸变丢失等问题。若要依据形态学研究辐射对间期细胞的初始损伤及修复,PCC技术不失为优良方法之一。

④对于低剂量电离辐射诱发的染色体损伤,PCC技术排除了畸变形成后的修复,检出率高,因而分析的细胞数少于常规的细胞

遗传学方法。

⑤可避免或减少常规方法中所使用的细胞刺激素及细胞培养中所需的条件而导致实验室之间的误差。

⑥可以确定射线对染色体损伤时细胞处于的周期,以及这些损伤在细胞周期中发生的变化。

⑦PCC染色体较伸展,易显示,如结合姐妹染色单体互换^[19-20]或显带方法,可分析更细致的变化。

参考文献

1. Johnson RT et al: Nature 226:717,1970.
2. Rao PN et al: J Cell Physiol 91:131, 1977.
3. Rao PN et al: Molecular Structure of Human Chromosome P,205, New York, 1977.
4. Hittelman WN et al: Blood 54:1001, 1979.
5. Hittelman WN et al: Cancer Res 38:416, 1978.
6. Hittelman WN et al: Blood 55:457,1980.
7. Hittelman WN et al: In Radiation Biology in Cancer Research, Raven, New York, P.103, 1980.
8. Hittelman WN et al: In Cytogenetic Assay of Environmental Mutagens, Allanheld, (Osmun NJ) P.353, 1981.
9. Sognier MA et al: Mutat Res 60:61, 1979.
10. Davidson RL et al: Somatic Cell Genet 2:165, 1976.
11. Davidson RL et al: Somatic Cell Genet 2:271, 1976.
12. Vaughan VL et al: Somatic Cell Genet 2:537, 1976.
13. Pantelias GE et al: Somatic Cell Genet 9:533, 1983.
14. Cornforth MN: Science 9 (222):1141, 1983.
15. Pantelias GE et al: Radiat Res 99:140, 1984.

16. Rantelias GE et al; Health Phys 49: 425, 1985.
17. Pantelias GE et al; Mutat Res 149:67, 1985.
18. Hittelman WN et al; Mutat Res 23:251,

1974.
19. Yun-Fai Lau et al; Experientia 32:917, 1976.
20. Cornforth MN et al; Chromosome 88:315, 1983.

世界正常辐射本底地区天然辐射年剂量

中国医学科学院放射医学研究所 诸洪达综述 北京放射医学研究所 史元明审

人类接受电离辐射照射的主要贡献来自天然辐射源,包括外照射和内照射。本文旨在简要介绍联合国原子辐射效应科学委员会(UNSCEAR)1986年对世界正常辐射本底地区天然辐照年剂量的最新估算值,并与其前一次估算值进行了比较。

一、历史的回顾

联合国原子辐射效应科学委员会自1955年成立以来,为联合国对原子辐射的对策提供辐射水平和效应方面的科学资料,每年向联合国大会报告并每隔数年公布一次附有详细科学资料作为附件的较全面的报告书。这一系列报告书自1958年开始以来,1962、1966、1969、1972、1977、1982及1986年共发表了九个报告书。每个报告书大致由总结、概述主要结论的正文及若干个相当详尽地分别介绍结论所依据的科学研究进展情况的附件所组成。报告书一贯重视来自天然辐射源辐照的估算,因为此类辐照不随时间有大的变化。接续的报告中剂量估算值的变动反映了天然辐射领域关于放射性在环境、人体组织中含量水平及所采用的剂量学模式和量的逐步深刻的认识。1986年的正式报告书只限于效应。而《来自天然辐射源的辐照》是1986年的资料稿,该文本是由以D. Beninson(阿根廷)为主席的物理组提出的,这是该委员会对天然辐射源辐照的最新估算。

诚如该文件所述^[1], UNSCEAR 多次

评论了来自天然辐射源的辐照,其理由主要是:

1. 天然本底辐射是大多数个体所受总辐射辐照的主要部分,经常是辐射的最主要来源。

2. 假如剂量-效应关系不是线性的话,为了估算其它的、较次要的辐照来源所造成的辐射损害,必需有对天然本底所致剂量的了解。

3. 天然辐照可分为两类:一类明显地随人的实践而变化,而另一类则不随人的实践而变化。因此,前者是容易控制的。

4. 由于天然辐射源具有大的可变性,某些个人剂量可能高到需要采取补救措施的程度。

因而,文献1中更重视有关‘高’水平的辐照及其放射性物质的来源。所谓‘高’水平是指比天然辐射环境组分的世界平均估算值的3倍还大。‘正常’水平即指在世界平均值的3倍的范围以内。

二、正常本底地区天然来源辐照世界平均值的最新估算值及其与1982年估算值的比较

表1比较了该委员会1982年和1986年关于天然辐射源对生活在正常辐射本底地区的人口所致年剂量的不同估算值^[1,2]。

与1982年相比,最新估算中所作的主要改进是:

1. 就宇宙射线外照射而言,电离组分