

低LET电离辐射诱发的哺乳动物 精原细胞染色体相互易位

白求恩医科大学放射医学研究所 于文儒综述

金玉珂 麦智广*审

提 要: 生殖细胞染色体易位能导致半不育、早期死亡或遗传缺陷。低LET电离辐射诱发的哺乳动物精原细胞染色体易位在低剂量范围内呈直线性剂量效应关系。通过比较直线回归斜率(b)值发现,不同种系哺乳动物辐射敏感性不同。本文还综述了不同剂量率效应、分割照射及不同基因型小鼠精原细胞染色体易位的剂量效应关系。

染色体畸变是辐射遗传学中非常敏感的指标。电离辐射可使生殖细胞的染色体发生异常。如果发生稳定型畸变如易位,则可通过生殖传给子代,造成子代畸形发生率增加。前人已经证明生殖细胞染色体易位能导致半不育、早期死亡或遗传缺陷。因此,研究和了解电离辐射对哺乳动物生殖细胞染色体畸变的诱导及其剂量效应关系,了解影响易位再现的因素,对于推定射线诱发人染色体异常的人群危险度是非常必要的。

一、低LET急性电离辐射诱发的染色体畸变

1. 剂量效应关系

Léonard^[1]等用X射线(1~6 Gy)急性照射小鼠观察到精原细胞易位型染色体发生率和剂量呈直线性关系。国内学者在0~1 Gy剂量范围内也得到了证实^[2]。但在6 Gy易位率达峰值后,随剂量增加易位率反而下降,呈现钟形曲线。matsuda等人用 γ 线照射食蟹猴,其精原细胞易位率在0~1 Gy范围内的剂量效应关系式为: $Y = (1.08 \pm 0.45) \times 10^{-3} \pm (1.79 + 0.08) \times 10^{-2}D$,也是呈直线性关系;但在2 Gy易位率达峰值后也呈钟型曲线^[3、4], Van Buul^[5]的结果也与其相似。说明哺乳动物生殖细胞受照

射后,其染色体易位率与剂量关系都呈钟型曲线,而在一定的低剂量范围内剂量效应关系却是直线性。

根据染色体畸变形成的理论,低LET辐射引起的易位应符合二次多项式 $Y = a + bD + cD^2$,而实验结果在低剂量范围内是直线性关系。许多学者认为,这种线性关系是一种假线性剂量效应关系(pseudo-linear dose-effect relationship),很可能在低剂量范围内和高剂量范围内一样,由于细胞的死亡和生殖细胞生理过程而使剂量效应发生偏斜,将二次多项式关系修饰为直线式关系^[8~6]。

哺乳动物普遍的钟型曲线可以解释为:(1)精原干细胞群由两种不同类型的亚群组成,一类对辐射敏感、易发生突变和死亡;另一类则有很强抗性,难以发生突变和死亡。由于这些精原干细胞的细胞周期不同,处于活动和休止状态细胞的敏感性不同或抗性细胞在睾丸曲精管中分布的不同,导致了细胞消除的差别。(2)除了敏感性细胞亚群细胞被杀死外,携有易位染色体的细胞在生殖细胞分化过程选择性地被淘汰也影响剂量效应关系曲线。因此,剂量效应曲线反映了易位型染色体发生率和携有易位的细胞消除率的比例关系。实际上,易位率峰值

* 上海第二军医大学

正是发生率和消除率恰恰平衡的剂量点。

2. 不同种系间辐射敏感性比较

如前所述, 剂量效应曲线反映了易位型染色体的发生率和细胞死亡消除率的结果, 所以在易位发生率随剂量增加而上升的剂量范围内所求出的直线回归斜率(b)值表示每单位剂量易位型染色体发生率的预期值。因此, 可以通过比较 b 值来比较哺乳动物生殖细胞发生易位的辐射敏感性差异。用食蟹猴与其它哺乳类比较: 食蟹猴 b 值(1.79 ± 0.08)明显高于猕猴($0.78 + 0.01$), 但低于狨猴($7.44 + 0.95$)。然而, 食蟹猴与猕猴易位峰值相同, 这提示二者与精原细胞死亡相关的辐射敏感性无明显差异。食蟹猴与所有小鼠的 b 值无明显差异, 但当剂量高于1 Gy时, 二者差异显著。最明显差异在于小鼠峰值为6~7 Gy, 是哺乳动物中最高的, 而食蟹猴峰值在2 Gy。这意味着, 在小鼠与食蟹猴间, 食蟹猴敏感性细胞群在相对低剂量范围被杀伤较多, 使峰值降低。从而认为, 是小鼠和食蟹猴敏感性细胞与抗性细胞的比例不同, 染色体断裂和重接能力不同, 造成了易位量不同的结果。需指出的是: 在狨猴中, 有一种callithrix狨, 对急性X线诱发易位的敏感性与猕猴相似(在1 Gy剂量范围), 也不同于以前报道的狨猴Saguinus($b=7.44$, Brewen等)的敏感性, Van Bnul认为这主要是技术上差异造成的^[6]。但Adler的材料表明, 经1 Gy γ 射线照射, Saguinus与食蟹猴诱导易位的敏感性无差异并且易位率随照射后时间的延长而逐渐降低[4.1%(7.5个月)→1.8%(27.5个月)]^[7]。

总之, 影响易位诱发敏感性的因素很多, 在照射剂量1 Gy以下时, 如果我们不考虑其他因素, 仅比较 b 值, 则哺乳类易位诱导敏感性依次为: 狨猴(Saguinus) > 人 > 仓鼠 > 食蟹猴、小鼠 > 兔 > 猕猴、狨(Callithrix)。说明一下, 豚鼠未参与比较, 而小鼠的不同基因型间也有差异, 这在以后专

门说明。

二、剂量率效应

Bayrakova^[8]总结了1985年以前各学者研究的雄鼠干细胞受 γ 线外照射易位率数据, 剂量范围是从0.5~6.0 Gy, 假定剂量效应是线性无阈、零剂量零效应的话, 直线回归系数(b)值做为剂量率(p)的函数符合以下两个线性公式: $b = (3.15 + 0.59 \text{Log } p) \times 10^{-6}$ (剂量率范围为0.1~0.1 mGy/min); $b = (7.52 + 3.86 \text{Log } p) \times 10^{-6}$ (剂量率范围为0.06~1.2 $\times 10^3$ mGy/min)。两条直线的交叉处决定所谓阈水平 4.6×10^{-2} mGy/min, 在这个阈水平上, γ 线外照射的效应预期值不超过 2.36×10^{-6} /mGy。由于这些研究者多数用固定的剂量率探讨剂量效应关系, 所以Bayrakova等人应用0.9 Gy的 γ 射线、6个水平剂量率(6.14×10^{-3} - 6.14×10^2 mGy/min)照射小鼠, 精原干细胞在 6.14×10^{-3} mGy时产生的易位率与对照组无差异。高剂量率范围内, 易位率(RT)与剂量率(p)符合下列公式: $RT\% = 0.335 \cdot P^{0.256}$ 。Searle (1968)和Brewen (1979)也曾观察到随着剂量率增高, 小鼠易位型染色体发生率直线性增加, 剂量率非常低时, 易位率差异不明显; γ 线外照射时最高剂量率产生的易位率等于最低剂量率的10倍, X线照射的高剂量率时, 易位率是低剂量率的2倍。在灵长类, 剂量率效应与小鼠相似, 用剂量率为0.3和0.002 Gy/min的X线照射猕猴, 易位率前者是后者的2倍^[9]; γ 射线照射食蟹猴其精原细胞易位率在高剂量率时是低剂量率的10倍^[10]。但是, 当降低剂量率到一定水平, 易位率反而升高。Pomerantseva^[11]发现 2.7×10^{-6} Gy/min的低剂量率比 5.8×10^{-6} 、 9.4×10^{-5} Gy/min产生的易位率还高, 这与慢性照射小鼠剂量率 1×10^{-6} ~ 9×10^{-5} Gy/min得到的特殊位点突变的数据是相似的。在极低剂量率水平, 突变

率反而增加,可能是由各种因素造成的,如修复能力的改变、对辐射敏感的精原细胞死亡率降低,使损伤细胞的选择性淘汰降低;也可能是由于照射时间长而动物迅速老化造成了易位率的升高。

以上材料说明,低剂量率效应不明显,随着剂量率的升高或降低,易位率也升高或降低,但剂量率低到一定水平易位率反而升高; γ 线外照射剂量率反应存在一个阈值。

三、分割照射和慢性照射

用X射线不等分地分割照射小鼠精原细胞,易位率取决于分割照射的剂量大小和顺序及其间隔时间。Van Buul^[12、13]对此进行了研究,24小时间隔的X线照射,钟型剂量效应关系发生改变,如果小份额剂量在前,易位率随着第二次剂量升高而升高,在原来6 Gy的峰值消失,易位率的增加超过单次照射时低剂量外推值。相反的顺序照射时,易位率低于小剂量在前的结果,但仍高于单次急性照射的结果。其解释为①第一次照射后24小时存活的干细胞无论细胞杀伤、还是诱发易位都处于比以前更敏感的阶段。Preston、Brewen (1976)提出,敏感和有抗性细胞同属于处于细胞周期的细胞群,首次剂量杀死了许多敏感细胞,同时诱导细胞变得同步化,以致数小时后,所有残留的细胞都处于敏感期。②敏感细胞的细胞周期短,而有抗性的细胞周期长,首次剂量刺激有抗性细胞进入细胞周期短的行列而变为敏感细胞。总之,首次剂量既作用于敏感细胞、又作用于抗性细胞;而第二次剂量则主要作用于敏感细胞群,说明对于单次和分割照射,精原干细胞周期动力学是不同的,实际上,分割照射时随着首次剂量增加而增加的易位率正好与单次照射时随剂量升高而降低部分呈镜影状态^[13]。在间隔6小时到数天的分割照射中,易位率在18~48小时达最高峰,3天则下降,这是由于间隔时间长,敏感干

细胞被杀伤清除后,新的干细胞补充及一些敏感细胞延迟的现象而使易位率产率减少。

慢性照射的资料较少,Pomerantseva等^[11]用 γ 射线1.5~4.5 Gy,剂量率为: 2.7×10^{-6} 、 5.8×10^{-6} 、 9.4×10^{-6} 和4.5 Gy/min照射小鼠,精原干细胞相互易位都随剂量的增加而直线增加,在 9.4×10^{-6} Gy/min剂量率处,易位率是急性照射的1/10。Van Buul^[9]用 γ 线慢性照射猕猴所产生的易位率也明显少于急性X线($P < 0.05$),但在同样剂量、剂量率范围内,猕猴降低的比率比小鼠低。假如在慢性照射下,猕猴比小鼠的遗传效应高的结论在其他灵长类也被发现的话,则对估价人类的遗传危害(辐射诱导的染色体结构畸变)应该向上修正。

四、不同基因型(Genotype)

小鼠对辐射诱发精原干细胞

易位的剂量效应关系的影响

在急性照射里,已谈过影响哺乳类精原干细胞染色体易位诱导敏感性的因素。尽管易位试验是用一系列的哺乳类动物,将来的趋势必然限制于小鼠的实验。所以,下面谈谈不同遗传背景小鼠在辐射条件下,其易位诱导的差异。虽然Leonard (1966)、Berry (1973)、Sheridan (1977)的文献中未表明各种系小鼠有明显差异,但Generoso (1985)重复以上的文献中相同条件时,发现在任一实验中都发现精母细胞期计数到的染色体畸变种系差异显著,且证实两个杂系小鼠精原干细胞X射线诱导的染色体畸变存在明显差异^[14]。Cattanach^[15]用101/H系小鼠与标准的杂系小鼠 $C_{3H}/HeH \times 101/H F_1$ 小鼠相比,其辐射诱导的精原干细胞染色体易位率也存在差异,表现为峰值的降低,101/H小鼠峰值在3~5 Gy,而标准杂系小鼠峰值是6 Gy^[15]。Van Buul^[16]比较辐射诱导T70_H(含有易位的染色体)种小鼠与正常小鼠精原干细胞染色体相互易位的剂量效应关系,其结果表明T70_H对易位诱导不敏感,且

剂量效应关系曲线与正常小鼠也有差异。在7 Gy照射剂量时,正常小鼠比T70_H有较高水平的细胞杀伤和易位的诱导;而10Gy时却表现正相反,两种遗传型总的比较是:在低剂量范围内,正常小鼠比T70_H易位诱导高而细胞杀伤低;在高剂量时倾向于易位诱导比T70_H低而细胞杀伤高。这种细胞杀伤和易位诱导的不一致是由于携带易位的T70_H小鼠细胞选择性被淘汰造成的^[16, 17]。Crocker^[17, 18]用携有罗氏易位的小鼠受照来说明:易位的中着丝粒染色体所形成的复杂多价体在精母细胞期发生延迟,这样使观察值升高。

结 论

生殖细胞具有复杂的生物学性质,当一个包含辐射敏感性细胞和辐射抗性细胞的细胞群受到照射后,其结果在很大程度上取决于这两种细胞亚群的比值。在慢性照射条件下,其结果取决于不同时期敏感性细胞与抗性细胞的比值是否始终一致及细胞杀伤与修复率的比值。生殖细胞和减数分裂对照射的反应在一定程度上与体细胞和有丝分裂的反应非常相似。研究哺乳类动物细胞电离辐射后染色体畸变特别是易位可传给子代,其变化规律的研究对指导人群辐射危险度评价是有重要意义的。特别是低LET、低水平、低剂量率电离辐射效应更有价值。目前,国外研究辐射诱导亲代生殖细胞染色体易位颇多,国内也在逐渐开展。但对可遗传易位研究还很少。可遗传易位实验可探讨辐射或其他致畸因子诱导的易位上下传递规律。过去对此方面研究是用生育实验来完成,受限于经济、时间等因素。现在可采用胎肝染色体制备同时利用染色体分带技术,能较经济

地、快速地获得直接数据进行危险度估计。

参 考 文 献

1. Léonard A and Deknudt Gh; Radiat Res 1967, (1): 35-41
2. 蔡露等;中华放射医学与防护杂志 1988, 8 (3): 191
3. Matsuda Y, et al; Mutat Res 1984, 129 (3): 373-380
4. Matsuda Y, et al; Mutat Res 1985, 151 (1): 121-127
5. Van Buul PPW; Mutat Res 1980, 73(4): 363-375
6. Van Buul PPW; Mutat Res 1984, 129 (2): 231-234
7. Adler D and Erbulding C; Mutat Res 1988, 198(2): 337-342
8. Bayrakova A, et al; Mutat Res 1987, 176 (1): 53-58
9. Van Buul PPW; Radiat Res 1986, 105 (1): 1-7
10. UNSCEAR 1986报告书, 附件A: P110
11. Pomerantseva MD, et al; Mutat Res 1984, 141(3/4): 195-200
12. Van Buul PPM, et al; Mutat Res 1980, 70(1): 95-101
13. Van Buul PPM, et al; Mutat Res 1984, 127(1): 65-72
14. Generoso WM, et al; Mutat Res 1985, 152(2/3): 217-223
15. Cattanch BM, and Kirk MJ; Mutat Res 1987, 176(1): 69-71
16. Van Buul PPW, et al; Mutat Res 1986, 173(1): 41-43
17. Crocker M and Cattanch BM; Mutat Res 1981, 91(4): 253-257
18. Crocker M; Mutat Res 1982, 103(6): 339-343