

^{147}Pm 内污染诱导红细胞系统突变的适应性反应

杨占山 杨淑琴 朱寿彭

(苏州医学院, 苏州 215007)

中图分类号: R146; X591 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(1999)03-0134-03

摘要 为探讨低剂量钷- ^{147}Pm 内污染对红细胞系统遗传突变的影响, 应用骨髓和血液正常染红细胞微核检测, 观察了低剂量 ^{147}Pm 内污染小鼠能否改变相继高剂量 ^{147}Pm 内污染引起的红细胞染色体的损伤效应。结果显示, 18.5 kBq/g 体重的单纯高剂量 ^{147}Pm 内污染可引起骨髓和血液正常染红细胞微核细胞率明显增多, 与正常对照组比较有非常显著的统计学差异 ($P < 0.01$)。然而, 预先应用 0.37, 3.7 和 37 Bq/g 体重的 ^{147}Pm 内污染预处理动物, 3 天后相继给予 18.5 kBq/g 体重的高剂量 ^{147}Pm 内污染机体, 骨髓和血液正常染红细胞微核细胞率明显减少, 与单纯高剂量 ^{147}Pm 内污染实验组相比有显著或非常显著的统计学差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 并且与正常对照组相比已无显著性差异 ($P > 0.05$)。结果表明, 低剂量 ^{147}Pm 内污染预处理动物, 可较长时间诱导红细胞系统的遗传适应性反应, 使红细胞系统对相继高剂量 ^{147}Pm 内污染引起的染色体损伤有了明显的抵抗力。

关键词: ^{147}Pm ; 骨髓; 红细胞; 微核; 适应性反应

The adaptive response of the micronucleated normochromatic erythrocytes from bone marrow and peripheral blood formed by ^{147}Pm irradiation of mice. Yang Zhanshan et al (Suzhou Medical College, Suzhou 215007, China).

Abstract: The effects of low doses of internally deposited ^{147}Pm on the erythrocytes mutation from the peripheral blood and the bone marrow of mice induced by subsequent high dose of internally deposited ^{147}Pm were studied. Kruming male mice were injected through tail vein with low doses of $^{147}\text{Pm}(\text{NO}_3)_3$ of 0.37, 3.7 and 37 Bq/g body weight. Three days later the mice were injected with a high dose of $^{147}\text{Pm}(\text{NO}_3)_3$ of 18.5 kBq/g body weight. The animals were sacrificed at 24 h after the injection of the high dose of ^{147}Pm . The experimental results show that the frequency of micronucleated normochromatic erythrocytes (mn-NCE) from the peripheral blood and the bone marrow of the mice exposed to the pure high dose of ^{147}Pm increased significantly over the controls at 24h after irradiation ($P < 0.01$). However, the frequency of the mn-NCE from the peripheral blood and the bone marrow of the mice pre-exposed to 0.37~37 Bq/g of in vivo ^{147}Pm decreased significantly ($P < 0.01$), as compared with that of the pure high dose of the ^{147}Pm injection group, and it doesn't have statistical difference than that of the controls ($P > 0.05$). The results suggest that low doses of in vivo ^{147}Pm irradiation can induce a adaptive response of the erythrocytes in longer times, the radioadaptive erythrocytes have a obvious resistance to the radiogenetic damages induced by subsequent high dose of internally deposited ^{147}Pm . Incorporating our previous studies, this may be due to the increase of DNA repair function in the radioadaptive cells. The induction of the adaptive response has a dose ranges. In the dose ranges lower dose of in vivo ^{147}Pm irradiation can produce higher level of the adaptive response. The frequency of the mn-NCE from the peripheral blood and the bone marrow of the mice is a more sensitive radiobiological parameter.

Key words: ^{147}Pm ; Adaptive response; Micronucleated normochromatic erythrocytes

骨髓细胞微核检测是一种简便快速的方法, 通常用于观察辐射和化学诱变剂引起的细胞遗传效应^[1,2]。然而, 骨髓细胞微核不适于进行连续的观察。红细胞微核可经脾脏或其它机制从外周血中清除, 因此, 以往一直认为微核不可能在小鼠等动物的外周血红细胞中聚集。1982年 Schlegel 等人^[3]证实了化学诱变剂引起的外周血红细胞微核的存在。此后, 许多研究证实化学诱变剂可诱导外周血红细胞

微核的增加和聚集^[4,5]。1993年 Chaubey 等人^[6]研究了 ^{60}Co γ 射线引起的小鼠微核红细胞从骨髓向血液的迁移规律。这些结果提供了应用外周血红细胞微核研究放射性核素内污染诱发遗传生物学效应的可能性。 ^{147}Pm 是纯 β 放射性核素, 作为新型荧光涂料的激发能源已广泛应用于涂料工业。此外, 在核电站等和平利用原子能事业中, ^{147}Pm 作为晚期混合裂变产物在核反应堆事故中亦有污染环境和生物

可能。因此, 本文应用骨髓和血液正常染红细胞微核检测, 研究了低剂量¹⁴⁷Pm 内污染预处理小鼠能否改变相继高剂量¹⁴⁷Pm 内污染引起的红细胞染色体损伤及其规律。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验采用近交系昆明种雄性小白鼠, 6~7 周龄, 体重 28~32 克, 常规条件下饲养。实验动物由本院实验动物中心提供。

1.2 ¹⁴⁷Pm 内污染剂量

实验动物随机分为 1 个单纯高剂量实验组, 3 个低剂量预处理组和 1 个对照组, 每组 5 只动物。放射纯¹⁴⁷Pm(NO₃)₃ 原液的放射性活度为 1.75×10¹⁰ Bq/ml, 应用无菌生理盐水将原液稀释成所需工作液, 经小鼠尾静脉注入。单纯高剂量实验组注射¹⁴⁷Pm 活度为 18.5kBq/g 体重, 低剂量预处理组注射¹⁴⁷Pm 活度分别为 0.37, 3.7 和 37Bq/g 体重, 3 天后注射高剂量¹⁴⁷Pm 活度为 18.5kBq/g 体重。对照组注射等量无菌生理盐水。高剂量¹⁴⁷Pm 注射后 24 小

时, 通过颈脱椎法处死动物, 取样检测。

1.3 实验方法

1.3.1 骨髓正常染红细胞微核检测 动物处死后, 迅速取其胸骨剔除肌肉, 用止血钳挤出骨髓液置于预先滴好小牛血清的载玻片上。混均推片, 晾干后用甲醇固定 10 分钟, Giemsa 染色 15 分钟, 油镜下每只小鼠观察 2000 个正常染红细胞, 计数微核细胞。实验结果以微核细胞千分率表示。

1.3.2 外周血正常染红细胞微核检测 动物处死前从尾静脉取血制备血涂片, 经甲醇固定, Giemsa 染色, 在油镜下每只小鼠观察 2000 个正常染红细胞, 计数微核细胞。实验结果以微核细胞千分率表示。

1.3.3 统计分析 实验数据应用 Student's *t* 检验进行统计学显著性分析。

2 实验结果

2.1 ¹⁴⁷Pm 内污染对骨髓正常染红细胞微核的效应
不同剂量¹⁴⁷Pm 内污染对骨髓正常染红细胞微核的影响列于表 1。

表 1 ¹⁴⁷Pm 内污染对骨髓正常染红细胞微核的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	注射活度 (Bq/g)	微核细胞数/ 分析细胞数	正常染红细胞 微核细胞率(‰)	嗜多染红细胞 ^[7] 微核细胞率(‰)
对照组	0	14/ 10000	1.40±0.42	3.00±0.71
单纯高剂量组	18.5×10 ³	47/ 10000	4.70±0.57 ^{**}	10.20±1.64 ^{**}
预处理组(1)	0.37+ 18.5×10 ³	11/ 10000	1.10±0.42 ^{##}	3.40±1.14 ^{##}
预处理组(2)	3.7+ 18.5×10 ³	9/ 10000	0.90±0.55 ^{##}	4.80±1.64 ^{##}
预处理组(3)	37+ 18.5×10 ³	15/ 10000	1.50±0.61 ^{##}	5.80±1.30 ^{***##}

* 与对照组比较, # 与单纯高剂量组比较。* 或 # *P* < 0.05 ** 或 ## *P* < 0.01。

由表 1 结果可见, 单纯高剂量组¹⁴⁷Pm 内污染可引起骨髓正常染红细胞微核细胞率明显增多, 与正常对照组比较有非常显著的差异(*P* < 0.01)。然而, 预处理 1~3 组骨髓正常染红细胞微核细胞率明显减少, 与单纯高剂量实验组比较有非常显著的统

计学差异(*P* < 0.01); 并且与正常对照组比较已无显著的统计学差异(*P* > 0.05)。

2.2 ¹⁴⁷Pm 内污染对血液正常染红细胞微核的效应
不同剂量¹⁴⁷Pm 内污染对血液正常染红细胞微核的影响列于表 2。

表 2 ¹⁴⁷Pm 内污染对血液正常染红细胞微核的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	注射活度 (Bq/g)	微核细胞数/ 分析细胞数	正常染红细胞 微核细胞率(‰)	嗜多染红细胞 ^[7] 微核细胞率(‰)
对照组	0	9/ 10000	0.90±0.22	2.19±0.21
单纯高剂量组	18.5×10 ³	18/ 10000	1.80±0.45 ^{**}	7.60±1.67 ^{**}
预处理组(1)	0.37+ 18.5×10 ³	8/ 10000	0.80±0.27 ^{##}	2.40±0.89 ^{##}
预处理组(2)	3.7+ 18.5×10 ³	7/ 10000	0.70±0.27 ^{##}	3.12±0.84 ^{##}
预处理组(3)	37+ 18.5×10 ³	9/ 10000	0.90±0.42 [#]	4.15±0.80 ^{***##}

*, # 同表 1。

表 2 结果显示, 单纯高剂量¹⁴⁷Pm 内污染可引起血液正常染红细胞微核细胞率明显增多, 与正常对照组比较有非常显著的差异(*P* < 0.01)。然而, 预处理 1~3 组血液正常染红细胞微核细胞率明显减少, 与单纯高剂量实验组比较有显著或非常显著的统计学差异(*P* < 0.05 或 0.01); 并且与正常对照组

比较已无显著的统计学差异(*P* > 0.05)。

3 讨论

骨髓红细胞微核为探测电离辐射和化学诱变剂对细胞染色体的损伤提供了一种快速简便的方法, 而外周血红细胞微核则进一步简化了检测手续, 并更适于进行连续的观察。实验结果显示, 18.5kBq/g

体重的高剂量 ^{147}Pm 内污染小鼠 24 小时,骨髓和外周血正常染红细胞微核细胞率与正常对照组比较均显著增加($P < 0.01$),骨髓正常染红细胞微核细胞率比外周血高 3 倍,而骨髓嗜多染红细胞微核细胞率明显高于外周血嗜多染红细胞微核细胞率^[7]。表明高剂量 $^{147}\text{Pm}\beta$ 内照射可引起骨髓幼红细胞染色体明显的损伤作用,由此形成的含有微核的骨髓嗜多染红细胞一部分可继续发育成熟,故骨髓正常染红细胞微核细胞率明显高于外周血正常染红细胞微核细胞率;另一部分则较快地转移到外周血液,故在 ^{147}Pm 内污染 24 小时即可有意义地在外周血中被检测到。Chaubey 等人^[6]研究证实,钴-60 γ 射线引起的骨髓和外周血嗜多染红细胞微核细胞率分别于照射后 12 和 24 小时即可有意义地增高,并分别至 24 和 36 小时达到最大值,并可有意义地持续 60 多小时;骨髓和外周血正常染红细胞微核细胞率分别于照射后 24 和 48 小时有意义地被检测到,随时间而增加,并可有意义地持续 72 小时。可见,骨髓和外周血嗜多染红细胞微核细胞率可用于探测急性电离辐射引起的染色体损伤,是十分灵敏的放射生物学指标之一。同时,骨髓和外周血正常染色红细胞微核细胞率亦可用于探测较大剂量内照射引起的染色体损伤,是简便连续较灵敏的内照射生物学指标之一。

然而,如果预先给予放射性活度为 $0.37 \sim 37\text{Bq/g}$ 体重的低剂量 ^{147}Pm 内污染,3 天后再相继给予 $18 \sim 5\text{kBq/g}$ 体重的高剂量 ^{147}Pm 内污染小鼠,则骨髓和外周血正常染红细胞微核细胞率与单纯高剂量实验组相比明显减低($P < 0.01$),并且与正常对照组比较已无显著性统计学差异($P > 0.05$)。表明低剂量 $^{147}\text{Pm}\beta$ 内照射持续 72 小时仍可诱导红细胞系统的适应性反应,使红细胞对相继高剂量 ^{147}Pm 内污染引起的染色体损伤有了抵抗力。自 1984 年 Olivieri 等人^[8]首次发现电离辐射诱导淋巴细胞的适应性反应以来,电离辐射和化学诱变剂诱导的适应性反应已在植物、细菌、哺乳动物以及人淋巴细胞和生殖细胞中发现,但鼠胚胎细胞和静止期肝细胞^[9]则未见适应性反应。本文结果认为血液和骨髓红细胞对电离辐射亦可产生适应性反应,表明具有放射适应性反应的细胞种类的多样性。细胞适应性反应的研究对分析和阐明天然高本底地区居民和放射性职业工作人员的辐射效应具有十分重要的意义。

研究表明,电离辐射诱导的适应性反应具有一定的剂量范围;在 $0.37 \sim 37\text{Bq/g}$ 体重的低剂量 ^{147}Pm 内污染诱导红细胞微核适应性反应的剂量范围内,较低剂量诱导的适应性反应的程度高于较高剂量诱导的适应性反应的程度。即较低剂量诱导的骨髓和

外周血红细胞微核细胞率低于较高剂量。我们已前的研究表明,浓缩铀可诱导小鼠脾淋巴细胞 DNA 切除修复功能的适应性反应^[10]。结合本文结果表明,一定剂量范围内的低剂量 ^{147}Pm 内污染预处理可诱导小鼠幼红细胞 DNA 修复功能的增强,从而减低相继高剂量 $^{147}\text{Pm}\beta$ 内照射引起的红细胞系统染色体的损伤效应。

参考文献:

- [1] Ilyinskikh NN, Erenich AV, Ivanchuk II et al. Micronucleus test of erythrocytes and lymphocytes in the blood of the Altai region residents living near Senipalatinsk atomic proving ground. *Mutat Res* 1997, 392: 223.
- [2] Kinashi Y, Ono K, Abe M et al. The micronucleus assay of lymphocytes is an useful predictive assay of the radiosensitivity of normal tissue; a study of three inbred strains of mice. *Radiat Res* 1997, 148: 341.
- [3] Schlegel R and MacGregor J T. The persistence of micronuclei in peripheral blood erythrocytes; detection of chronic chromosome breakage in mice. *Mutat Res* 1982, 104: 367.
- [4] Schlegel R and MacGregor J T. A rapid screen for cumulative chromosomal damage in mice. Accumulation of circulating micronucleated erythrocytes. *Mutat Res* 1983, 113: 481.
- [5] Schlegel R and MacGregor J T. A rapid screen for cumulative chromosomal damage in mice. Accumulation of circulating micronucleated erythrocytes. *Mutat Res* 1983, 113: 481.
- [6] Chaubey RC, Bhilwade HN, Joshi BN et al. Studies on the migration of micronucleated erythrocytes from bone marrow to the peripheral blood in irradiated Swiss mice. *Int J Radiat Biol* 1993, 63: 239.
- [7] 杨占山, 杨淑琴, 朱寿彭. ^{147}Pm 内污染诱导嗜多染红细胞突变的适应性研究. 工业卫生与职业病, 1999, 待发表.
- [8] Olivetti G, Bodycote J and Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentration of radioactive thymidine. *Science* 1984, 223: 594.
- [9] Muller WV, Streffer C and Niedereichholz F. Adaptive response in mouse embryos. *Int J Radiat Biol* 1992, 62: 169.
- [10] 杨占山, 朱寿彭, 杨淑琴. 浓缩铀内污染诱导免疫细胞的适应性反应. 中华放射医学与防护杂志 1994, 14: 379.

收稿日期: 1999-01-04

修回日期: 1999-03-05