

TDF对 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 线诱发淋巴细胞 微核发生率的影响

陈舜华 赵小奎

林永成

(中山大学生物学系, 广州 510275) (中山大学化学系, 广州 510275)

摘要 TDF(5,3',5'-三羟基-7-甲氧基,二氢黄酮)能抑制 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线低剂量所引起的人离体外周血淋巴细胞的微核发生率,助溶剂DMSO无明显的抑制作用。

关键词 微核发生率,淋巴细胞,TDF(5,3',5'-三羟基-7-甲氧基,二氢黄酮),抑制

分类号 Q691.4

前人已建立的检测人外周血淋巴细胞微核发生率的方法^[1],近10多年来已得到广泛的应用,并已作为辐射损伤早期诊断的指标.实验还证明^[2~4]人血淋巴细胞微核发生率与辐射剂量有很好的线性关系.微核测定可作为人体受辐射剂量的生物剂量计.

我们的实验证明:5,3',5'-三羟基-7-甲氧基,二氢黄酮(TDF)能抑制UV所引起的动物红血细胞的溶血和肝脏匀浆脂质过氧化作用,说明TDF具有抗辐射的效应^[5].本文在过去工作的基础上探讨应用TDF对 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线所诱发的T-淋巴细胞微核发生率的影响,旨在掌握TDF的抗辐射作用的性能,并为进一步评价TDF积累更多的资料.

1 材料与方法

1.1 药物的配制 (1)TDF的配制:把TDF溶于DMSO中并加入生理盐水,配制成的TDF浓度为40,20,10 mg/L.

(2)DMSO(二甲基亚砷)用生理盐水配制成浓度为2%,1%,0.5%.

1.2 人血的采集 抽取健康男性青年外周血液10ml,肝素抗凝,按每个样品0.3ml分装于培养瓶中,照射前1小时加入药物(如表1),对照组加入与药物等体积的生理盐水.

1.3 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射 广东省辐照中心(华南农业大学)钴-60源,剂量率为50.62 rad/min,照射剂量为50及100 rad.

1.4 细胞培养 照射后每个样品加入4ml RPMI1640培养基(含RPMI1640培养基80%,小牛血清20%,PHA的终浓度为20 mg/L,青霉素、链霉素各为100 mg/L, pH7.2),37℃培养72h.

收稿日期:1992-01-07

1.5 制片 终止培养后按常规方法收获细胞,离心、去上清液,留下底层的细胞悬液,用吸管吸打均匀,然后用胶头吸管吸出滴于预先冷冻的载玻片上,烘干后 Wright 氏染色.

1.6 微核的判定及计算^[6~7] 微核应小于主核的 1/3,且多为圆形或椭圆形,微核的染色和折光性与主核一致,微核在胞浆内且必须与主核完全分开,周围无其它杂质干扰.所观察的细胞必须是已转化的淋巴细胞,结构清晰,有胞浆,细胞之间不重叠,不成簇,为分散、独立、完整的细胞.

结果评价与计算:

$$\text{微核细胞发生率}(\%) = \frac{\text{有微核的细胞数}}{\text{观察细胞数}} \times 1000\%$$
$$\text{微核发生率}(\%) = \frac{\text{微核数}}{\text{观察细胞数}} \times 1000\%$$

2 实验结果

实验结果见表 1.表 1 中 Mc%。为微核细胞发生率,Mn%。为微核发生率.DMSO 组为 TDF 的助溶剂对照组.表中数据为四次实验数据统计后的结果.图版 I 为本次实验的微核形态.

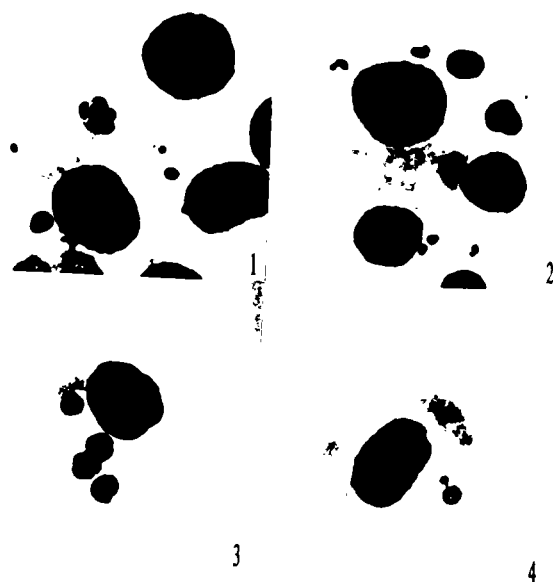
表 1 不同剂量照射下 TDF 对人离体外周血淋巴细胞微核发生率的影响

Tab.1 Effect of drugs on the lymphocytes micronuclei frequency of human peripheral blood in vitro under radiation of different doses %

照射 剂量 /rad		生理 盐水	TDF c/mg · L ⁻¹			DMSO V/V (%)		
			40	20	10	2	1	0.5
0	Mn	0.6	2	1.7	1.3	1.3	1	0.6
	Mc	0.6	2	1.7	1.3	1.3	1	0.6
50	Mn	4.3	2.7	1.3	4	5.3	5.3	4.7
	Mc	4.3	2.7	1.3	4	5.3	5.3	4.7
100	Mn	5.7	1.7	2.7	3	2.3	2.7	6
	Mc	4.7	1.7	2.7	3	2.3	2.7	5.3

3 讨 论

从表 1 中可以看到,空白对照组(即不照射、不加药物),T-淋巴细胞微核发生率为 0.6%,与李敬君的结果相近似^[7].当照射剂量为 50 和 100 rad 时,T-淋巴细胞微核发生率随着照射剂量的升高而上升,照射剂量为 50 rad 时,对照组微核细胞发生率上升至 4.3%,100 rad 时继续上升至 4.7%,与对照组相比有显著差异.微核的发生是由于细胞染色体断裂,在细胞分裂后期,这种染色体断片落后于向两极移动的染色体而滞留,当其它染色体分别形成子细胞核时,这些落后的残留断片就形成了微核.有的作者认为无着丝环微小体、着丝粒的畸变染色体等也可形成微核,在一定的辐射剂量范围,微核发生率随着剂量的升高而上升^[6~8],我们的实验也发现,健康人外周血受⁶⁰Co-γ 射线不同量剂量照



图版 I 人离体外周血淋巴细胞内的细胞质和细胞核、微核的形态 $\times 1000$

Plate I Morphology of the cytoplasm, nucleus and micronucleus of lymphocytes of human peripheral blood in vitro $\times 1000$

1. 细胞质内含 1 个微核,
2. 细胞质内含 2 个微核,
3. 细胞质内含 4 个微核,
4. 细胞质内含 1 大 1 小 2 个微核

射后培养 72h,在已转化的 T-淋巴细胞的胞浆内,核周围不同部位有微核出现,同一个细胞中有 1~2 个甚至 4 个微核,与前人描述关于微核的形态相同^[8],如图版 I 所示.

无论是加入 TDF 或是助溶剂 DMSO,当照射剂量为 0 时,微核细胞发生率随着物浓度的增加而增加,其原因有待进一步试验研究.当 ^{60}Co - γ 射线的照射剂量为 50 rad 时,TDF 即显示出明显的抑制微核细胞发生的作用,尤其是浓度为 20 mg/L 时,微核细胞的发生率下降为 1.3‰,比对照组降低 3.31 倍,当剂量为 100 rad,TDF 的浓度为 40 mg/L 时,微核细胞的发生率降为 1.7‰.助溶剂 DMSO 组在 50 rad 时反而使微核有所增加,100 rad 照射后与对照组比较显示出抑制微核细胞发生的作用,但作用不及 TDF 组明显,说明起主要作用的还是 TDF.

上述实验结果小结如下:①应用 ^{60}Co - γ 射线低剂量照射人的外周血液能诱发 T-淋巴细胞微核的产生,并随着照射剂量的增加而增加,与前人的结果相符;②在药物 TDF(以 DMSO 为助溶剂)不同浓度的作用下,能够降低 ^{60}Co - γ 射线诱发的微核细胞发生率.在较大剂量(100 rad)照射下单独使用 DMSO 也有降低微核细胞发生的作用,但不及与 TDF 合用的效果,看来起主要作用的是 TDF,与前文^[5]的结果相符;③本文的结果进一步证明 TDF 具有抗辐射作用.

参 考 文 献

- 1 Heddle J A et al. Rad Res, 1975, 61:350~353
- 2 刘克良, 苏燎原, 薛智谋等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1984, 2(1):56~59
- 3 黄进忠, 田成惠, 放射卫生. 1990, 3(2):76
- 4 杨家宽, 蔡荣妹, 邵敏等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1988, 6(3):62~64
- 5 陈舜华, 赵小奎, 林永成等. 中山大学学报(自然科学版), 1993, 32(2):63~67
- 6 白玉书, 张莠霞, 关树荣. 中华放射医学与防护杂志, 1983, 3(6):31~33
- 7 李敬君, 杨品清, 王芝琪等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1984, 2(1):60~62
- 8 王天宇, 杨丽君, 程宝庚等. 中华放射医学与防护杂志, 1983, 3(2):64

Effect of TDF on the Frequency of Micronuclei in Lymphocytes Induced by ^{60}Co - γ Ray Irradiation

*Chen Shunhua * Zhao Xiaokui Lin Yongcheng*

Abstract Frequency of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes in vitro induced by low dose ^{60}Co - γ ray irradiation could be inhibited by TDF (trihydroxy-methoxydihydro-flavone). It was discovered that auxiliary solvent DMSO did not have significant inhibiting effect.

Keywords micronucleus frequency, lymphocyte, TDF (trihydrox-methoxydihydro-flavone), inhibition

* Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou, 510275