

$^{60}\text{Co}\gamma$ 射线合并苯并芘致人胚肺细胞 AgNORs 改变的复合效应

樊飞跃 曹珍山 杨素霞

李煜 周淑珍 涂开成 刘国廉

(北京放射医学研究所, 北京 100850)

电离辐射和化学致癌物是诱发人类肿瘤生成的主要物理、化学因素, 在体外实验研究已经证实, 辐射和化学致癌物可以分别诱发细胞的恶性转化^[1,2]。但是在实际生活环境中, 辐射和化学致癌物质常常同时存在并复合作用于人体。因此, 研究电离辐射和化学物质复合致癌效应, 不仅具有理论意义, 而且具有实际应用价值。本研究应用细胞化学和形态计量学的手段, 对 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线合并苯并芘在体外诱发人胚肺细胞恶性转化过程中, 细胞核内 AgNORs 颗粒数量、大小等形态计量学参数的改变进行了研究, 以期阐明辐射合并化学致癌物致癌过程中细胞核内 AgNORs 形态计量学的变化规律和特点。

1 材料和方法

1.1 细胞培养与样品制备

本实验选用人胚肺细胞做为实验研究的观察对象, 所用人胚肺细胞为本实验室建立的 HEL-9402 细胞系。37℃、5%CO₂ 条件下, 贴壁培养于含 20% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基中。 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线细胞吸收剂量率为 2.44Gy·min⁻¹, 剂量分组分别为 0.25、0.5、1、3、5Gy。苯并芘作用浓度分别为 0.25、0.5、1、3、5μg/ml, 作用时间为 24 小时。复合作用组细胞接受 1μg/ml 苯并芘作用 24 小时, 同时接受 1Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射。取处理后第五代的人胚肺细胞接种于内置盖玻片的 Φ35mm 平皿内, 2×10⁴ 细胞/皿, 每剂量点 4 个平行样品, 37℃、5%CO₂ 培养 48 小时, 取出盖玻片制样。

1.2 细胞 AgNORs 染色

平皿中取出载有细胞的盖玻片, D-Hanks 液漂洗两次, Carnoy 氏固定液固定 12 分钟, 蒸馏水冲洗, 1N HCl 酸化, 双蒸水充分漂洗。银胶染色液 32℃ 避光染色 30 分钟,

4% 硫代硫酸钠 5 分钟, 60℃ 下烤干, 阿拉伯树胶封片。H、E 染色做为 AgNORs 染色的对照。

1.3 数据收集及处理

应用 MIAS-300 型图象分析系统, 随机选择测定视场, 每个剂量点测量 85~133 个细胞核。主要分析的参数有: AgNORs 颗粒计数、面积等。实验数据经方差分析进行显著性检验。计算机自动挑选系统进行统计回归分析。

2 结果

2.1 不同剂量 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线作用后 AgNORs 颗粒的变化

接受 0.25-5Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线作用后第五代的人胚肺细胞, 细胞核内 AgNORs 颗粒计数以及颗粒面积与细胞核面积的比值明显增加(表 1), 经统计检验表明, 与对照组差别显著 ($P < 0.05$)。

表 1 人胚肺细胞经不同剂量 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线作用后 AgNORs 颗粒的变化

| 剂量 (Gy) | 测量细胞数 | AgNORs 颗粒数 / 细胞核 | AgNORs 颗粒面积 / 细胞核面积 |
|---------|-------|------------------|---------------------|
| 0.00 | 87 | 1.41±0.26 | 0.08±0.01 |
| 0.25 | 110 | 2.09±0.31 ** | 0.10±0.02 * |
| 0.50 | 85 | 1.93±0.21 ** | 0.10±0.01 ** |
| 1.00 | 133 | 2.42±0.21 ** | 0.12±0.02 ** |
| 3.00 | 128 | 2.79±0.27 ** | 0.11±0.02 ** |
| 5.00 | 140 | 2.44±0.44 ** | 0.11±0.02 ** |

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

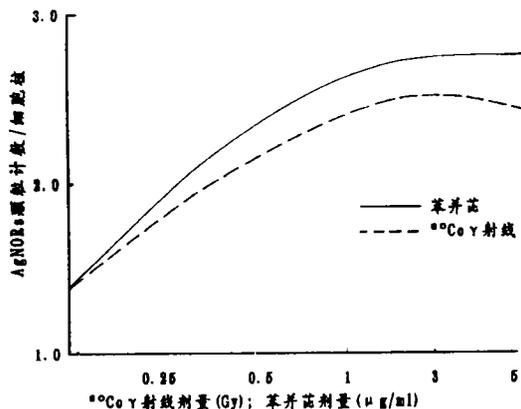
2.2 不同剂量苯并芘作用后细胞 AgNORs 颗粒的变化

经 0.25-μg/ml 苯并芘作用后的人胚肺细胞, 细胞核内 AgNORs 颗粒数量及 AgNORs 面积/细胞核面积比值明显增加 ($P < 0.01$), 而且随着苯并芘作用浓度的加大呈现逐渐增加的变化规律(表 2)。

表 2 人胚肺细胞经不同剂量苯并芘作用后 AgNORs 颗粒的变化

| 剂量 (μg/ml) | 细胞数 | AgNORs 颗粒数 / 细胞核 | AgNORs 颗粒面积 / 胞核面积 |
|------------|-----|------------------|--------------------|
| 0.00 | 87 | 1.41 ± 0.26 | 0.083 ± 0.011 |
| 0.25 | 110 | 2.38 ± 0.36 ** | 0.125 ± 0.022 ** |
| 0.50 | 85 | 2.45 ± 0.36 ** | 0.108 ± 0.010 ** |
| 1.00 | 133 | 2.53 ± 0.48 ** | 0.126 ± 0.021 ** |
| 3.00 | 128 | 2.62 ± 0.26 ** | 0.128 ± 0.003 ** |
| 5.00 | 140 | 2.67 ± 0.37 ** | 0.147 ± 0.026 ** |

** : P < 0.01



附图 AgNORs 颗粒计数/胞核随 ⁶⁰Coγ 射线和苯并芘剂量的变化

经统计回归分析, AgNORs 颗粒计数/细胞核与 ⁶⁰Coγ 射线和苯并芘的剂量效应关系分别满足如下指数方程:

$$Y = 1.63 + 0.81X(1) - 0.13X(1)^2$$

$$Y = 2.52X(2)^{0.037}$$

Y: AgNORs 颗粒数 (/细胞核);

X (1): ⁶⁰Coγ 射线剂量 (Gy)

X (2): 苯并芘剂量 (μg/ml)

从附图拟合的剂量效应曲线可以看到, 在 γ 辐射剂量为 0~3Gy 剂量范围内 AgNORs 颗粒计数/细胞核随辐射剂量的增加而逐渐增加, 当剂量增加到 5Gy 时, AgNORs 颗粒计数/细胞核较之 3Gy 剂量组略有下降, 但是下降幅度在统计学上无显著性意义 (P > 0.05)。苯并芘在 0~5μg/ml 剂量范围内, AgNORs 颗粒计数/细胞核呈现随剂量的增加而逐渐增加的变化规律。

2.3 ⁶⁰Coγ 射线复合苯并芘致 AgNORs 的改变

从表 3 的结果可以看到, 经 1Gy ⁶⁰Coγ 射线或 1μg/ml 苯并芘作用后, 人胚肺细胞核内 AgNORs 颗粒计数及 AgNORs 颗粒面

积/细胞核面积较之对照组均明显增大, 单纯照射组和单纯苯并芘处理组之间比较, 未见显著性差异 (P > 0.05); 1Gy ⁶⁰Coγ 射线和 1μg/ml 苯并芘复合作用后, 人胚肺细胞核内 AgNORs 颗粒计数及 AgNORs 面积/细胞核面积比值发生明显的改变, 不仅显著性高于对照组, 而且与 ⁶⁰Coγ 射线或苯并芘单独作用组比较亦显著性升高 (P < 0.05)。

表 3 物理、化学复合因素致人胚肺细胞 AgNORs 颗粒的变化

| 苯并芘 (μg/ml) | ⁶⁰ Coγ 射线 (Gy) | AgNORs 颗粒数 / 细胞核 | AgNORs 颗粒面积 / 胞核面积 |
|-------------|---------------------------|------------------|--------------------|
| 0.0 | 0.0 | 1.41 ± 0.26 | 0.08 ± 0.01 |
| 0.0 | 1.0 | 2.42 ± 0.21 * | 0.12 ± 0.02 * |
| 1.0 | 0.0 | 2.53 ± 0.48 * | 0.13 ± 0.02 ** |
| 1.0 | 1.0 | 2.93 ± 0.40 ** | 0.15 ± 0.02 ** |

* : 与对照组比较 P < 0.01;

** : 与单纯照射或单纯苯并芘组比较 P < 0.05

3 讨论

电离辐射和化学致癌物质广泛存在于人类生活的各个领域, 是造成人类癌症发生率升高的主要物理、化学因素。随着人类生活环境的不断变化, 物理和化学因素诱发人类肿瘤生成的研究已经愈来愈引起人们的广泛重视。由于电离辐射和化学致癌物经常是合并存在并同时作用于生物机体。因此, 开展物理和化学复合因素致癌效应研究更具有实际应用价值。

体外诱发细胞恶性转化的研究, 对于阐明辐射或/和化学物质致癌效应的剂量效应变化规律及致癌危险度估算具有重要意义。AgNORs 作为肿瘤细胞核仁增生状态的标志, 其在细胞内的数量、大小和分布, 反映了细胞的增生活性及其潜在的恶性^[3]。随着对 AgNORs 研究和认识的不断深入, AgNORs 已被用于鉴别细胞良恶性^[4]以及细胞恶性程度的鉴定中^[5]。本实验中观察到, 人胚肺细胞接受 ⁶⁰Coγ 射线或苯并芘作用后, 随着剂量的增加, 单位细胞核内 AgNORs 颗粒计数逐渐增加, 表明细胞的增生活性及潜在的恶性随辐射剂量或化学致癌物作用剂量的增加而增加。单位细胞核内 AgNORs 颗粒计数与 ⁶⁰Coγ 射线或苯并芘作用剂量的量效关系, 经计算机拟合回归方程, 分别满足一定的指数方程, 拟合曲线的复相关系数分别为 r=1 和 r=0.9989, 表明其剂量效应改变具有一定的规律性。这种剂量效应关系规律

性的变化为在体外定量地研究辐射或化学致癌物质诱发细胞恶性转化提供了一个较为理想的定量分析研究的手段,亦可望成为观察细胞恶性转化程度的指标,将有助于致癌危险度估算的研究。

实验研究结果表明,1Gy ⁶⁰Co γ 射线复合 1 μ g/ μ l 苯并芘作用后的人胚肺细胞,细胞核内 AgNORs 颗粒计数及 AgNORs 面积/细胞核面积比值发生明显的改变。不仅显著性地高于对照组,而且与⁶⁰Co γ 射线或苯并芘单独作用组比较亦显著性地升高 ($P < 0.05$)。这一结果说明物理致癌因素复合化学致癌物质在诱发细胞恶性转化过程中,起到相互加强的作用。在考虑致癌物质致癌危险度估算时,这种物理和化学因素的复合作用效应应当引起相应的重视。

参 考 文 献

1 Ling CC, et al. Neoplastic transformation dose response of oncogene -- transfected rat embryo

cells by gamma rays or 6MeV alpha particles. Radiat Res 1994, 138: 79
 2 Nesnow S, et al. 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induced morphological transformation of C3H/10T1/2CL8 cells expressing human cytochrome P450 2A6. Mutat Res, 1994, 324: 93
 3 anonymous. NORs -- a new method for the pathologist. Lancet, 1987, 1: 1413
 4 Derenzini M, et al. interphasic nucleolar organizer region distribution as a diagnostic parameter to differentiate benign from malignant epithelial tumours of human intestine. Virchow Arch (Cell Pathol), 1988, 54: 334
 5 Ofner D, et al. Standardized staining and analysis of argyrophilic nucleolar organizer region associated protein (AgNORs) in radically resected colorectal adenocarcinoma -- correlation with tumour stage and long-term survival. J Pathol, 1995, 175: 44

(1995 年 11 月 28 日收稿)

医用 X 射线透视机房门窗的屏蔽防护

张学华 汪作友

(湖北省襄樊市卫生防疫站, 襄樊市 441021)

搞好医用 X 射线透视机房门窗防护,是减少放射工作人员受检者和周围居民受照射剂量的主要措施之一。为使我市放射卫生综合监督示范点工作尽快达标,我们在实际工作中采用一毫米双层白铁皮门窗防护散射线的办法,其效果较好,现报告如下:

1 防护门窗制作方法

采用一毫米厚镀锌白铁皮,按门窗尺寸大小剪裁成块片,门窗内外各一块做成封闭状,门窗边框用铁皮封严密使之不漏射线。

2 测试仪器与测试条件

测试仪器: FJ-347A 型 X、 γ 剂量仪,该仪器经

计量认证许可。

测试条件: 70kV3mA, 模拟体 200 \times 250mm, 内装自来水。

3 测试结果

用 X、 γ 剂量仪对 10 个机房门窗采用对角线及中心点的五点法,对防护前后作对比测量,取平均值。测试结果见附表,从附表可见采用一毫米双层白铁皮防护门窗对散射线的辐射水平比防护前分别下降 88.5% 和 86.6% 左右,基本上达到了国家规定要求。

附表: 双层白铁皮防门窗对散射线的防护效果 (μ Gyh⁻¹)

| 测试部位 | 无防护 | | | 有双层白铁皮防护 | | | 降低率% |
|------|------|--------|------|----------|------|-----|------|
| | 测试点数 | 范围 | 均值 | 测试点数 | 范围 | 均值 | |
| 机房门 | 50 | 2~42.0 | 12.9 | 50 | ~3.0 | 1.5 | 88.5 |
| 窗 户 | 50 | 2~53.0 | 16.4 | 50 | ~7.0 | 2.2 | 86.6 |

4 讨论

使用一毫米镀锌白铁皮双层防护门窗在常规透视条件下能有效地屏蔽散射线,减少环境剂量,至于在拍片条件下能否采用加厚铁皮屏蔽散射线有待进

一步探讨。这种防护方法具有防护效果明显、制作简单、美观实用、价格便宜等优点,符合防护最优化原则。

(1996 年 2 月 13 日收稿)