

人白血病细胞系 (J_{6-1} 、 J_{6-2} 和 J_{6-3}) 的 SCE 及其对 MMC 敏感性的研究

冯宝章 张云华

(中国医学科学院血液学研究所, 四川简阳)

染色体或染色单体断裂可作为研究 DNA 损伤的一个细胞遗传学指标,但是在正常情况下染色体和染色单体断裂的出现率并不高,而姐妹染色单体互换(简称 SCE)频率则较高,因而后者是研究染色体稳定性的一个较好指标。

丝裂霉素(MMC)是一种强的致突变和致癌剂^[2],同时又是强的 SCE 诱发剂。

为了了解白血病细胞与 SCE 的关系,我们采用 BrdUrd Giemsa 方法^[3]对本所近年来先后建立的 3 个人白血病细胞系 (J_{6-1} , J_{6-2} 和 J_{6-3}) 进行了 SCE 的分析,并用 MMC 诱发 SCE,以便进一步了解白血病细胞对化学致癌剂和诱变剂的敏感性。现将结果报道如下。

材料与方 法

3 个细胞系均来源于急性非淋巴细胞型白血病人 的外周血或骨髓。 J_{6-1} 细胞系来源于一例急性粒单型白血病人的外周血; J_{6-2} 来源于一例亚急粒和一例粒单型白血病人外周血细胞的混合培养; J_{6-3} 则来源于一例急粒病孩死后一小时的骨髓细胞。有关这 3 个细胞系的建立和培养方法已有另文报道^[1]。

我们所研究的细胞均由本所五室病毒组提供。每代细胞在传代当天加入 BrdUrd,剂量为每毫升培养物 30 微克(相当于 $10^{-4}M$)。避光条件下 $37^{\circ}C$ 分别培养 48 和 72 小时。细胞开始培养之后 24 小时加入 MMC,最终浓度为 3 毫微克/毫升,再培养 48 小时,并以正常人外周淋巴细胞为对照。培养终止前 5—6 小时加入秋水仙素,最终浓度 0.018 微克/毫升。细胞

收获后,经 0.075M KCl 低渗处理 10 分钟,常规空气干燥法制片。标本存放 1 天之后,用 1.0M NaH_2PO_4 , pH 8.0, $87-89^{\circ}C$ 中处理 10 分钟左右, Giemsa 染色 10 分钟左右。染液的浓度为 1.2—2.5%,即每毫升磷酸缓冲液 (pH 6.8) 加入 Giemsa 原液 1—2 滴。

实验与结果

(一) 3 个细胞系 SCE 的观察

先后观察了 J_{6-1} 细胞系的第 41、67、74 和 75 代; J_{6-2} 细胞系的第 52、54 和 83 代; J_{6-3} 细胞系的第 1、26、30 和 31 代。每代观察分散良好、完整无丢失、且每条染色体之姐妹单体均明显分染的中期细胞 20 个以上,计算其互换数,求得各系每代细胞的互换率 (SCE/细胞),并以 25 例献血员外周血淋巴细胞的正常互换率为对照(见图版 1, 1、2),进行观察比较。观察时除了计数染色体两臂上的互换外,同时还计数发生在着丝点位置上的互换,并注意排除由于染色单体的扭曲而造成的假象(我们认为染色体扭曲之后,同一个单体的长臂和短臂染色应当一致,而且是连续的,不在着丝点位置断开)。观察结果见表 1。 J_{6-1} 细胞系 SCE 频率为 10.6 ± 0.8 ; J_{6-2} 细胞系为 12.9 ± 4.2 ; J_{6-3} 细胞系为 12.5 ± 2.2 SCE/细胞,对照组为 5.5 ± 1.8 ,差异非常显著 ($P < 0.01$ 或 0.001)。

为了了解 SCE 是否有集中于某些(或某个)染色体组,乃至某些(或某个)染色体或染色

Feng Baozhang et al.: Sister Chromatid Exchanges in Human Leukemia Cell Lines (J_{6-1} , J_{6-2} , J_{6-3})

表 1 人白血病细胞系的互换率

细胞系	细胞世代	观察细胞数	SCE 总数	互换率 (SCE/细胞)	互换率变动范围	互换率正常值	P
J ₆₋₁	41	30	348	11.6	8—22		
	67	30	321	10.7	7—18		
	74	25	241	9.6	6—14		
	75	25	259	10.4	4—18		
	4	110	1169	10.6±0.8		5.5±1.8	<0.001
J ₆₋₂	52	26	243	9.3	7—15		
	54	20	353	17.8	10—24		
	83	30	391	13.1	7—20		
	3	76	987	12.9±4.2		5.5±1.8	<0.01
J ₆₋₃	1	33	456	13.8	7—22		
	26	30	495	13.1	7—22		
	30	32	300	9.3	5—14		
	31	23	228	9.9	8—18		
	4	118	1479	12.5±2.2		5.5±1.8	<0.001

体区域的趋势, 以及各系细胞对不同互换率水平是否有某种集中的趋势, 我们作了如下的分析: (1) 对 J₆₋₁ 细胞系的 1,169 个 SCE, J₆₋₂ 细胞系的 987 个 SCE 和 J₆₋₃ 细胞系的 1,479 个 SCE, 按丹佛体制 7 个染色体组进行分析, 发现各细胞系总的互换数在丹佛体制各染色体组的分布与正常对照组没有显著差别 ($P \gg 0.05$) (见图 1)。(2) 对 J₆₋₁ 细胞系的 110 个细胞,

J₆₋₂ 细胞系的 76 个细胞和 J₆₋₃ 细胞系的 118 个细胞, 按每个细胞所含的 SCE 数进行分析, 发现不同互换率水平上细胞的分布呈分散的不规则状态(图 2), 找不到一个明显的峰, 与对照组呈鲜明的对比。

(二) MMC 诱发下各细胞系的 SCE 频率的变化

3 个细胞系共观察计数 126 个细胞中期、2337 个 SCE, SCE 频率为 18.5 ± 1.4 , 比原来的未经 MMC 诱发的频率增加了 5.6—7.9; 而 7 名正常人外周淋巴细胞经 MMC 诱发, SCE 频率增加到 9.5 ± 1.5 , 比未经 MMC 诱发时的 5.5 ± 1.8 增加了 4.0。二者 SCE 频率变化之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 未见细胞系互换率的大幅度增加(详见表 2 和 3)。

讨 论

我们曾经观察计数的 25 例献血员(在相同条件下)的外周淋巴细胞的 SCE 频率为 5.5 ± 1.8 。这 3 个细胞系的互换率一致地显示非常显著的增加。其互换率的平均值为 11.3, 与 Michalova 等^[4]人白血病细胞系的互换率(平均值为 9.6)相似。尽管 Shiraiishi 等人所观察的两个来自急性白血病的淋巴母细胞系和两个

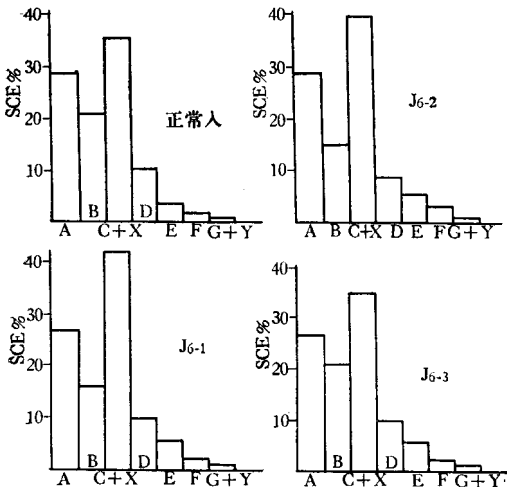


图 1 J₆₋₁、J₆₋₂ 和 J₆₋₃ 细胞系 SCE 在丹佛体制中各染色体组中的分布

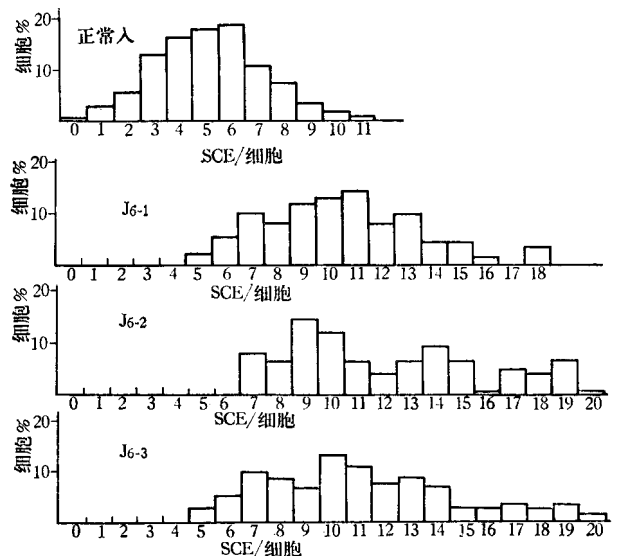


图 2 J₆₋₁、J₆₋₂ 和 J₆₋₃ 细胞对不同互换率水平的分布

表 2 MMC 诱发 J₆₋₁、J₆₋₂、J₆₋₃ 细胞系 SCE 频率的变化

细胞系	细胞世代	观察细胞数	SCE 总数	互 换 率 (SCE/细胞)
J ₆₋₁ + J ₆₋₃	9	30	551	18.3
J ₆₋₁ + J ₆₋₃	10	20	406	20.3
J ₆₋₁ + J ₆₋₃	12	20	375	18.7
J ₆ - J ₆₋₂	63	30	507	16.9
J ₆ - J ₆₋₂	65	26	498	19.1
合 计	5	126	2,337	$\bar{x} \pm S.D = 18.5 \pm 1.4$

表 3 MMC 诱发正常人外周淋巴细胞 SCE 频率的变化

编号	姓 名	观 察 细胞数	SCE 总 数	互 换 率 (SCE/细胞)
1	李××	26	290	11.1
2	蒋××	20	137	6.8
3	张××	16	129	8.0
4	张××	20	207	10.3
5	王××	20	205	10.2
6	代××	20	209	10.4
7	黄××	22	211	9.6
合计	7 例	144	1,388	$\bar{x} \pm S.D = 9.5 \pm 1.5$

Burkitt 淋巴瘤细胞系的互换率比较低,分别为 5.4、5.6、5.5 和 6.1,相当于我们的正常值(5.5±1.8),然而,当用 MMC 诱发 SCE 时,它们的互换率便分别以 10 倍和 5 倍于正常值的比例增加^[5],因而表明人白血病细胞系和淋巴瘤细胞系可能存在着潜在的遗传敏感性,极易为 MMC 之类的诱发物诱发产生 SCE。

为了证明这个现象的普遍意义,我们也用 MMC (浓度为 3 毫微克/毫升)诱发了这 3 个白血病细胞系的 SCE,在相同条件下也以正常人外周淋巴细胞为对照,结果发现,二者 SCE 频率都有类似的增加(0.1 > P > 0.05)。但这里值得提到的一点就是我们的 3 个细胞系互换率业已明显地高于正常值,已不存在什么“潜在”

的 SCE 了。也许我们所用的 MMC 的浓度较低,不能反映白血病细胞系与正常人淋巴细胞对 MMC 的不同敏感性。因此,关于人白血病细胞对 MMC 之潜在敏感性的现象,还值得继续探讨。

至于细胞自发互换率较高是否必然地同肿瘤发生或细胞癌变相联系,这不能一概而论之,因为我们已经观察到约半数左右的蚕豆病人外周淋巴细胞 SCE 频率显著地高于正常人(内部资料),但至今尚未见此类病人中肿瘤高发的报道。Warren 等把 SV40 加入到培养的人二倍体原始纤维母细胞之后,作跟踪观察时发现,当细胞表现出肿瘤抗原时,其互换率便大幅度地增加^[6],而白血病发生率很高的 Bloom 氏综合症病人细胞互换率比正常人高十几倍^[7],这似乎又提示高的互换率可能有某种肿瘤标记的性质。

对 3 个细胞系的 SCE 所作的丹佛分析(即按其 7 个染色体组中 SCE 的分布)表明,即使白血病细胞,其 SCE 并没有集中于某些(或某个)染色体组,乃至某些(或某个)染色体或染色体区的趋势,正如正常淋巴细胞那样,SCE 的分布基本上是同各染色体组的总长度呈正相关。

参 考 文 献

- [1] 吴克复等: 1978. 输血及血液学, 2: 72.
- [2] Monica Hollstein, et al.: 1979. *Mutation Res.*, 65 (3): 133.
- [3] Korenberg, J. and E. Fredlender: 1974. *Chromosoma*, 48: 355.
- [4] Michalova, K. et al.: 1977. *Neoplasma*, 24(5): 537.
- [5] Shiraishi, Y. et al.: 1979. *Oncology*, 36(2): 76.
- [6] Warren, W. et al.: 1978. *Cancer Res.*, 38: 960.
- [7] Bocian, M. et al.: 1978. *The Pediatric Clinic of American*, 25: 531.

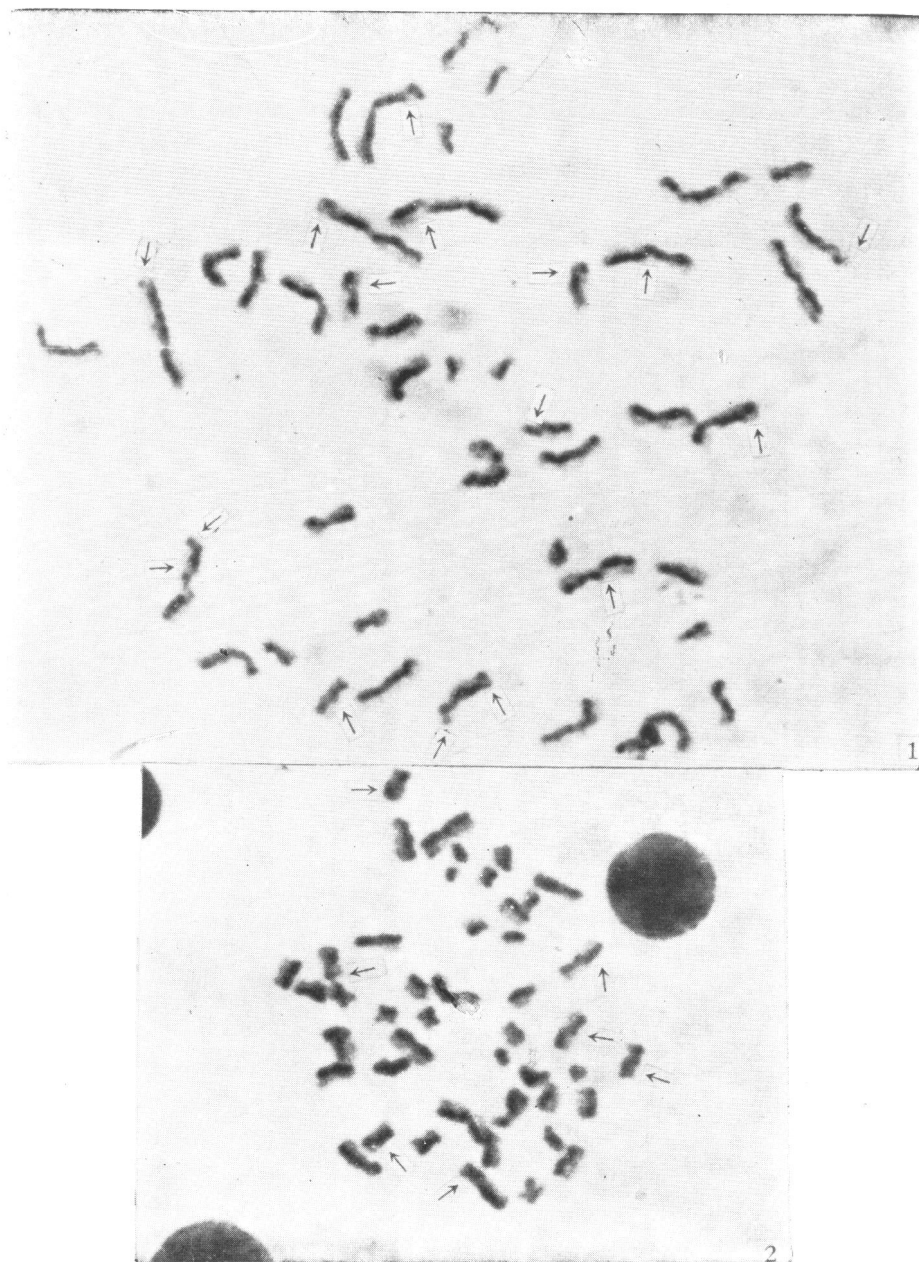
更 正

《遗传》1981 年第 1 期

第 17 页 左半栏 倒 8 行击骨髓,应为出骨髓。

右半栏 第 4 行和第 15 行鸡胚囊应为鸡胚尿囊。

第 18 页 左半栏 第 2 行(含大量的细胞)应为(含大量白细胞)



1. J₆₋₂ 细胞系分裂中期, 显示 16 个 SCE
2. 正常人淋巴细胞分裂中期, 显示 7 个 SCE