

多囊卵巢病人淋巴细胞的 rRNA 基因活性¹⁾

李心治 周宪庭

(中国科学院遗传研究所, 北京)

人类的 rRNA 基因位于 5 对近端着丝点染色体短臂的次缢痕上。间期细胞中, 该区域转录 45S rRNA 并聚集形成核仁, 因此把该区域称为核仁形成区 (NOR)。在中期染色体制片上, 核仁形成区常常靠近, 这种现象叫做随体联合。一般认为随体联合是间期细胞核仁的残余。

银染技术是染活性核仁形成区的特异性方法^[2], 用银染技术可看到联合的核仁形成区之间有可银染物质相连, 这为随体联合提供了一个客观标准, 这种随体联合称为银染近端着丝点染色体联合 (Ag-AA)^[1]。已经证明, 这种物质是与 rRNA 基因转录有关的酸性蛋白质^[3]。

Howard^[3] 综述了多囊卵巢者的内分泌异常, 其肾上腺功能初始亢进, 产生过多的雄性激素, 然后又转变成雌激素, 导致雌激素增多, 对下丘脑促黄体激素释放激素 (LHRH) 的敏感性提高, 形成恶性循环。为了研究激素对 rRNA 基因活性的影响, 我们用银染技术观察了多囊卵巢病人淋巴细胞的 Ag-AA 频率。

材料和方法

多囊卵巢组由 7 例根据临床症状和体征诊断的多囊卵巢病人组成, 对照组包括 7 例正常女性。两组的年龄均在 18—35 岁之间。

采取 2ml 静脉血进行全血淋巴细胞培养 60—72 小时, 制取标本。

根据 Olert 等^[2] 的技术进行银染, 步骤如下: (1) 配制 50% 的硝酸银溶液, 抽滤; (2) 配制 0.2% 的甲酸溶液, 用甲酸钠把甲酸溶液的 pH 调至 2.7; (3) 将 7 份 50% 硝酸银溶液和 1 份甲酸溶液混匀, 滴在染色体制片上, 加盖片;

(4) 在 60°C 水浴中温育 2—3 分钟, 使载片呈黄色; (5) 用无离子水冲去盖片, 用 Giemsa 溶液助染 30 秒到 1 分钟, 使染色体臂染成浅蓝色, 冲去 Giemsa 溶液, 空气干燥。

选择 D 组和 G 组染色体完整、银染清晰的分裂相, 计数银染的核仁形成区数, 不论银染颗粒是单侧还是双侧, 皆计做 1 个核仁形成区。

按照周宪庭等^[1] 的标准计数 Ag-AA, 即有银染物质相连的两个近端着丝点染色体计作 1 个 Ag-AA, 3 个染色体相连未成环者计作 2 个 Ag-AA, 成环者计作 3 个。分别计数 D—D 组, D—G 组, G—G 组的联合数。

结 果

多囊卵巢组和对照组的银染结果见表 1。表 1 中显示对照组银染的核仁形成区频率平均

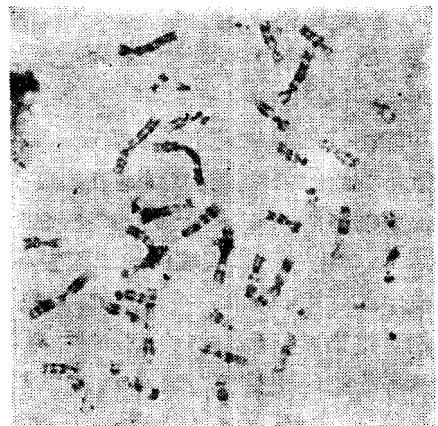


图 1 多囊卵巢组例 3 核仁形成区的银染 (银染伴 G 带)

Li Xinzhi et al.: Activity of rRNA Genes in the Patients with Polycystic Ovary Syndrome

1) 本文中的多囊卵巢病例由首都医院妇产科内分泌组葛秦生教授、谷春霞大夫提供, 特此致谢。

表1 对照组与多囊卵巢组银染 NOR 及 Ag-AA 频率的比较

组 别	银染 NOR 频率 ($\bar{x} \pm SD$)			Ag-AA 频率 ($\bar{x} \pm SD$)			
	D 组	G 组	合 计	D—D**	D—G*	G—G	合 计*
对 照 组	4.50±0.93	3.65±0.40	8.15±0.78	0.15±0.09	0.43±0.04	0.19±0.08	0.77±0.15
多囊卵巢组	5.01±0.49	3.34±0.34	8.35±0.31	0.41±0.17	0.58±0.15	0.19±0.13	1.18±0.36

* $P < 0.05$, 两组之间有显著差异。 ** $P < 0.01$, 两组之间有非常显著的差异。

为 8.15, 其中 D 组的频率为 4.50, G 组为 3.65; 多囊卵巢组银染的核仁形成区频率平均为 8.35, 其中 D 组为 5.01, G 组为 3.34。t 测验结果表明, 两组间无显著差异。对照组和多囊卵巢组的 Ag-AA 频率分别为 0.77 和 1.18, t 值为 2.789, $P < 0.05$, 两组间有显著差异。分析 Ag-AA 的类型表明, 两组之间的 D—D 组联合频率有非常显著的差异 ($t=3.576, P < 0.01$), D—G 组联合频率有显著差异 ($t = 2.557, p < 0.05$), G—G 组联合频率无显著差异。上述结果表明, 由于 D—D 组联合频率增加, 造成了多囊卵巢病人的 Ag-AA 频率增高(图 1)。

讨 论

在人-小鼠融合细胞中, 只有一个物种的核仁形成区可被银染, 同时只能测到这个物种的 rRNA, 另一物种的核仁形成区尽管存在, 但 rRNA 基因被钝化了^[5,6]。用猕猴泡疹病毒 40 (SV40) 感染人-小鼠融合细胞, 可激活钝化的人的 rRNA 基因, 使人染色体的核仁形成区呈银染阳性, 并测出人的 rRNA^[10], 这说明只有有转录功能的核仁形成区才能被银染。根据相对银染量可判断核仁形成区转录活性的高低。

间期细胞的核仁是合成 rRNA 的场所, Ag-AA 频率反映了这些核仁形成区在间期核仁形成中的作用。Miller 等^[7] 观察了核仁形成区的相对银染量与参加 Ag-AA 的关系, 发现银染量多的染色体参加 Ag-AA 的频率就高, 呈正相关, 因此 Ag-AA 频率反映了 rRNA 基因的活性。

在本实验中, 对照组和多囊卵巢组之间银染的(即有转录活性的)核仁形成区的频率和分布无显著差异, 这可能是由于银染的核仁形成

区频率反映了转录的 rRNA 基因数。在一定的人群中, 它是恒定的。Mikelsaar 等^[4] 发现核仁形成区的可银染性一般是可遗传的特性。Miller 等^[7] 发现每个人的银染核仁形成区的分布是恒定的, 并认为这是由于 rRNA 基因的钝化是一个染色体的固定特征, 或者是在胚胎发育早期钝化后固定下来的(与胚胎发育早期一个 X 染色体钝化相似)。钝化了的 rRNA 基因是不易受内外环境因素影响的。但是, 转录的 rRNA 基因是随着各种因素而变化的, 这表现在多囊卵巢组的 Ag-AA 频率较对照组有明显增加, 尤其是 D—D 组联合频率增加得尤为显著, 这说明在多囊卵巢病人的淋巴细胞中, rRNA 基因的转录活性提高了。

一般认为, 在多囊卵巢病人体内, 有多种激素水平的变化, 如 LH、雄激素、雌激素水平的升高, 所以初步推测, Ag-AA 频率升高可能是由激素水平变化造成的。激素与 Ag-AA 频率两者之间的关系究竟如何, 还待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 周宪庭等: 1980. 遗传学报, 7(4) 332—339.
- [2] Goodpasture, C. and S. E. Bloom: 1975. *Chromosoma*, 53: 37—50.
- [3] Howard, L. J.: 1978. *Clin. Obst. Gynec.*, 21: 99—114.
- [4] Mikelsaar, A-V. et al.: 1977. *Hum. Genet.*, 38: 183—188.
- [5] Miller, D. A. et al.: 1976. *Exp. Cell Res.*, 101: 235—243.
- [6] Miller, O. J. et al.: 1976. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, 73: 4531—4535.
- [7] Miller, D. A. et al.: 1977. *Amer. J. Hum. Genet.*, 29: 490—502.
- [8] Nardi, I. et al.: 1978. *Chromosoma*, 70: 91—99.
- [9] Olert, J.: 1979. *Histochemistry*, 60: 91—99.
- [10] Soppano, K. J. et al.: 1979. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 76: 3885—3889.