

类和离子浓度等因素有关。

2. 大田与盆栽试验, pH3.5 以上模拟酸雨对中性土壤 pH 影响轻微, pH3.0 处理时才有较明显反应。土壤表层 0—3cm 受影响最大, 淋溶试验强化了这一过程。

3. pH3.0 至 4.0 模拟酸雨处理有助于增加某些 DTPA 可提取性金属离子的含量。随着处理 pH 的降低, 土壤淋溶作用相应加强, 导致可提取性 Zn、Cu、Cd、Pb 和 Mn 含量逐渐减少。

4. 种植在 pH3.5 和 4.0 处理的淋溶土柱

上的青菜生长受到促进, 而 pH3.0 以下受到严重抑制。青菜中 Zn、Cu、Cd、Mg 和 Mn 含量在 pH2.0 处理时迅速增加, 唯 Ca 例外。

### 参 考 文 献

- [1] Rechcigl, J. E. et al., *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.*, 16(7), 653—680(1985).
- [2] Mcfee, W. W. et al., *Water, Air and Soil Poll.*, 7, 401—408(1977).
- [3] Shen-Miller, J. et al., *Plant Physiol., Annual Meeting Supplement*, 57, 50, (1976).
- [4] Wood, T. et al., *Water, Air and Soil Poll.*, 7, 479—488 (1977).

## 硒对甲基汞诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换的保护作用

刘 及 李志超 毕晓颖

(白求恩医科大学)

甲基汞系严重危害人类健康的蓄积性环境污染物质。它除损害人和动物中枢神经系统外, 对生物细胞还具有诱变、致畸作用<sup>[1]</sup>。近些年来, 国内外学者十分重视硒汞相互作用的研究, 相继发表大量有关硒对甲基汞神经毒性拮抗作用的文献资料。但是, 硒化合物对甲基汞诱变和致畸作用是否也具有保护效果的研究报道却不多见。迄今国内尚无报道。据此, 我们用姊妹染色单体交换遗传毒性指标, 研究硒 ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) 对甲基汞诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换的保护作用。其结果报告如下。

### 材 料 与 方 法

#### (一) 细胞培养

实验选用健康成人外周肝素抗凝全血, 作为体外培养材料。RPMI 1640 培养液 (Nissui 制药公司产) 中含 15% 小牛血清

(56℃ 灭活 30min)、3% PHA-M (Serva 公司产)、20  $\mu\text{mol}$  5'-溴脱氧尿嘧啶核苷 (瑞士产)。实验所用的氯化甲基汞纯度 98% (Merck 公司产)、亚硒酸钠优级 (E. Merck 公司产)。化学试剂在用前先上述培养体系稀释至所需要的浓度 (见表 1—3)。培养分为对照、单独或同时含有不同浓度氯化甲基汞和亚硒酸钠培养样品 (见表 1—3)。每种培养样品共 2 瓶, 每瓶含培养液 2.0ml, 其中各加健康成人外周肝素抗凝全血 0.1ml。培养样品放于 RKI-1002 型 (日产)  $\text{CO}_2$  恒温培养箱内, 避光培养 72h, 终止培养前 3h, 加入  $2.0 \times 10^{-7}\text{mol}$  秋水仙素 (进口分装)。

#### (二) 制备样本

吸去培养瓶内上清培养液, 剩余培养物加含有 5.0ml 经 37℃ 预温的 0.075mol KCl 至离心管内, 混匀, 继续在 37℃ 恒温箱内低渗 20min, 其后加入新配制甲醇冰醋酸 (3:1)

1.0ml 预固定,再经 1000 转/min 离心 5min,弃去上清。然后加入 5.0ml 固定液固定 10 min,离心去上清,重复固定三次。最后,于冰冻载玻片上滴加 1—2 滴固定液制成的细胞悬液,烤片后,置于 37℃ 恒温箱内老化 24 h。采用改良的荧光吉姆萨法 (FPG 法)<sup>[2]</sup> 进行分化染色。制备的染色体标本片,浸于用磷酸盐缓冲液 (pH = 6.8) 配制的 5  $\mu$ g/ml Hoechst 33258 溶液内,浸染 10—12min。然后标本片上滴加数滴磷酸盐缓冲液 (pH = 8.0) 并加盖玻片,放在 60℃ 恒温水浴铝板上,同时用 2 支距标本片 5cm 的 20W 黑光灯照射 30min,其后用去离子水漂洗,使盖玻片自由脱去,再用磷酸盐缓冲液 (pH = 6.8) 配制的 2.5% Giemsa 染液浸染 5—8min,用去离子水冲去染液,晾干后镜检。

### (三) 计数和统计学处理

从制备的染色体标本中,选择分染的第二周期分裂细胞 ( $2n = 46$ , 见照片)。每份样本共查 25 个细胞,在染色体末端互换的计为一次交换;在染色体中间互换的计为两次交换;在着丝粒部位发生交换,排除两条染色单体扭转的计为一次交换。然后,计算每个细胞姊妹染色单体交换率,每份样本姊妹染色单体交换率的平均值和标准误。数据用单侧  $t$  检验进行统计学处理。



图 姊妹染色单体交换 (SCE) 照片

## 实 验 结 果

体外培养人淋巴细胞对照、单独或同时接触不同浓度氯化甲基汞和亚硒酸钠的培养样品,其姊妹染色单体交换率、分裂指数分别见表 1、2 和 3。从表 1 看出,接触  $8 \times 10^{-8}$ — $2 \times 10^{-6}$  mol 浓度氯化甲基汞体外培养人淋巴细胞,其姊妹染色单体交换率明显高于对照培养样品;接触  $1 \times 10^{-5}$ — $2.5 \times 10^{-4}$  mol 浓度氯化甲基汞,抑制其分裂和生长。

表 1 氯化甲基汞诱发人淋巴细胞 SCE 和分裂指数

| 组 别                  | 浓 度 (mol)            | SCE/细胞 ( $\bar{x} \pm SE$ ) | 分裂指数 (%) |
|----------------------|----------------------|-----------------------------|----------|
| 对照                   | —                    | $9.30 \pm 0.86$             | 3.85     |
| CH <sub>3</sub> HgCl | $8 \times 10^{-8}$   | $12.87 \pm 0.99^{**}$       | 3.35     |
| CH <sub>3</sub> HgCl | $4 \times 10^{-7}$   | $13.04 \pm 0.99^{**}$       | 3.05     |
| CH <sub>3</sub> HgCl | $2 \times 10^{-6}$   | $13.39 \pm 1.00^{***}$      | 3.28     |
| CH <sub>3</sub> HgCl | $1 \times 10^{-5}$   | 细胞分裂极少                      | 0.50     |
| CH <sub>3</sub> HgCl | $5 \times 10^{-5}$   | 细胞不生长                       |          |
| CH <sub>3</sub> HgCl | $2.5 \times 10^{-4}$ | 细胞不生长                       |          |

注: 与对照样品相比 \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\* $p < 0.01$ 。

表 2 亚硒酸钠诱发人淋巴细胞 SCE 和分裂指数

| 组 别                              | 浓 度 (mol)          | SCE/细胞 ( $\bar{x} \pm SE$ ) | 分裂指数 (%) |
|----------------------------------|--------------------|-----------------------------|----------|
| 对照                               | —                  | $9.30 \pm 0.86$             | 3.85     |
| Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> | $1 \times 10^{-7}$ | $9.83 \pm 0.88$             | 3.60     |
| Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> | $3 \times 10^{-7}$ | $9.39 \pm 0.86$             | 3.45     |
| Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> | $1 \times 10^{-6}$ | $10.09 \pm 0.89$            | 3.55     |
| Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> | $3 \times 10^{-6}$ | $12.78 \pm 0.98^{**}$       | 2.95     |
| Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> | $1 \times 10^{-5}$ | 细胞分裂极少                      | 0.70     |
| Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> | $3 \times 10^{-5}$ | 细胞不生长                       |          |

注: 与对照样品相比 \*\* $p < 0.01$ 。

表 2 结果表明接触  $1 \times 10^{-7}$ — $3 \times 10^{-5}$  mol 浓度亚硒酸钠的体外培养人淋巴细胞,仅在  $3 \times 10^{-6}$  mol 浓度水平上,其 SCE 显著高于对照样品,接触  $1 \times 10^{-7}$ — $1 \times 10^{-6}$  mol 浓度亚硒酸钠,其 SCE 与对照样品无明显差异。 $1 \times 10^{-5}$ — $3 \times 10^{-5}$  mol 浓度亚硒酸钠对体外培养人淋巴细胞的分裂和生长

表 3 人淋巴细胞单独接触氯化甲基汞或同时接触相同  $\text{mol}^1$  浓度亚硒酸钠 SCE 和分裂指数

| 组 别                                                | 浓 度<br>( $\text{mol}$ ) | SCE/细胞<br>( $\bar{x} \pm SE$ ) | 分裂指数<br>(%) |
|----------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------|
| 对 照                                                | —                       | $9.30 \pm 0.86$                | 3.85        |
| $\text{CH}_3\text{HgCl}$                           | $8 \times 10^{-8}$      | $12.87 \pm 0.99^c$             | 3.35        |
| $\text{CH}_3\text{HgCl}$                           | $4 \times 10^{-7}$      | $13.04 \pm 0.99^b$             | 3.05        |
| $\text{CH}_3\text{HgCl}$                           | $2 \times 10^{-6}$      | $13.39 \pm 1.00^a$             | 3.28        |
| $\text{CH}_3\text{HgCl} + \text{Na}_2\text{SeO}_3$ | $8 \times 10^{-8}$      | $9.48 \pm 0.86^{***}$          | 3.65        |
| $\text{CH}_3\text{HgCl} + \text{Na}_2\text{SeO}_3$ | $4 \times 10^{-7}$      | $9.22 \pm 0.85^{***}$          | 3.80        |
| $\text{CH}_3\text{HgCl} + \text{Na}_2\text{SeO}_3$ | $2 \times 10^{-6}$      | $8.51 \pm 0.83^{****}$         | 3.25        |

注: a 与 a; b 与 b; c 与 c 相比 \*\*\* $p < 0.001$  \*\* $p < 0.01$ .

亦有抑制作用。

从表 3 看出,体外培养人淋巴细胞,其培养体系中,同时加入相同克分子比,不同浓度氯化甲基汞和亚硒酸钠后,其 SCE 与对照样品相比无明显差异;但比单独加入相应浓度氯化甲基汞的 SCE 明显降低。硒对甲基汞诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换具有保护作用。

## 讨 论

自 Schwarz 提出硒为生物必需元素以来,硒与人体健康的关系日益受到人们的重视。水俣事件发生后,许多学者曾报道甲基汞中毒动物,其饲料中添加一定量的硒,可减轻神经系统中毒症状、提高体重增长率、降低死亡率。这些资料充分肯定了硒对甲基汞神经毒性的拮抗作用。近些年来, Verschaeve、Popescu 报道过职业接触金属汞和甲基汞者,淋巴细胞染色体畸变率明显高于对照组<sup>[3,4]</sup>。Skerfving 对长期食用甲基汞污染鱼品者淋巴细胞染色体畸变也进行过研究,实验结果表明长期食用甲基汞污染鱼品者,淋巴细胞染色体畸变率显著高于对照人群。同时还发现染色体畸变与其红细胞和尿中汞含量呈正相关<sup>[5]</sup>。上述报道证实了甲基汞除损伤人和动物中枢神经系统外,还对人淋巴细胞具有诱变作用。

目前,世界范围内的环境汞污染日趋严重,人们对长期接触环境中低剂量甲基汞所

致遗传损伤效应(远期危害)十分关切,所以,研究硒对甲基汞诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换的保护作用,更有现实的意义。

本实验结果表明甲基汞可诱发体外培养人淋巴细胞姊妹染色单体交换率增高。亚硒酸钠对甲基汞诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换具有完全的保护效果。该实验结果与 Morimoto 的报道相一致<sup>[6]</sup>。

甲基汞对生物细胞的诱变作用机理尚不十分清楚。Popescu 指出甲基汞诱发细胞染色体畸变,可能与其脂溶性有关。甲基汞溶于细胞膜脂,然后穿透细胞膜与细胞内巯基相结合,可抑制巯基酶活性<sup>[4]</sup>。有些学者报道甲基汞能抑制细胞腺苷酸环化酶的活性,干扰细胞内大分子的生物合成,造成细胞遗传物质代谢和基因转译上的紊乱<sup>[7]</sup>。

我们认为甲基汞诱发生物细胞染色体异常,是甲基汞与 DNA 分子各种成分相互作用,造成 DNA 结构的损伤所致。

有的学者报道亚硒酸钠可诱发淋巴细胞染色体畸变和姊妹染色单体交换率增高<sup>[8,9]</sup>。Ray 提出亚硒酸钠的诱变作用与细胞培养条件有关,他发现仅当培养体系中存在红细胞时,才能观察到亚硒酸钠的诱变作用<sup>[10]</sup>。后来,Whiting 报道当培养体系中有过量硒时,红细胞释放的谷胱甘肽能促进体外培养人淋巴细胞程序外 DNA 合成,同时诱发其姊妹染色单体交换率增高。Whiting 认为其原因是亚硒酸钠与谷胱甘肽结合成谷胱甘肽-硒

复合物的缘故。这种复合物与 DNA 分子相互作用,导致 DNA 结构的损伤。

亚硒酸钠对甲基汞诱发人淋巴细胞姊妹染色单体交换具有保护作用,其机理也不十分明瞭。Morimoto 认为甲基汞与亚硒酸钠在培养体系中形成  $(\text{CH}_3\text{Hg})_2\text{Se}$  复合物,该复合物是拮抗甲基汞和亚硒酸钠诱变作用的关键。

### 参 考 文 献

[1] 李志超,环境科学,6(6),20(1985)。

- [2] Ohi, G. et al., *Environ. Res.*, **12**(1), 49(1976).
- [3] Verschaeve, L. et al., *Environ. Res.*, **12**(3), 306 (1976).
- [4] Popescu, H. J. et al., *Arch. Environ. Health.*, **34** (1), 461(1979).
- [5] Skerfving, S. et al., *Environ. Res.*, **7**(1), 83(1974).
- [6] Morimoto, K. et al., *Mut. Res.*, **102**(2), 183(1982).
- [7] Brubaker, P. E. et al., *Exp. Molec. Pathol.*, **18**, 263(1973).
- [8] Nakamuro, K. et al., *Mut. Res.*, **40**(2), 177(1976).
- [9] Whiting, R. E. et al., *Mut. Res.*, **78**(2), 159(1980).
- [10] Ray, J. H. et al., *Mut. Res.*, **54**(3), 343(1978).

# 碳酸铊的致突变性研究

张 冬 生

(中国预防医学科学院环境卫生与卫生工程研究所)

铊及其化合物是一种高毒、蓄积性毒物,由于铊污染和使用不当等已引起了人中毒和死亡事故。我国贵州省某地曾由于铊对环境的污染发生了近二百人的慢性中毒。火电厂和铅、锌等冶炼厂的排放,是环境中铊污染的最重要来源。近年来,人们发现铊的化合物能引起鸡胚畸形和哺乳动物细胞 DNA 单链断裂,因而对长期接触环境中低剂量铊对人体健康的危害和可能的致癌性已引起国内外有关部门的关注。

本文报道了用四种短测方法对碳酸铊的致突变性进行研究的结果。

## 一、材料和方法

### 1. 化学药品

碳酸铊 ( $\text{Tl}_2\text{CO}_3$ , 分析纯),北京化工厂产品,易溶于水。丝裂霉素(MMC,注射剂),日本产品。甲基磺酸乙酯(EMS,化学纯),北京化工厂产品。

### 2. 枯草杆菌重组修复试验——孢子法

枯草杆菌  $\text{H}_3^+$ ( $\text{R}_c^+$ ) 重组修复阳性菌和  $\text{M}_6^-$  ( $\text{R}_c^-$ ) 重组修复阴性菌由沈阳劳动卫生职业病研究所王玉芝提供。按文献[1]方法进行。先制备  $\text{H}_3^+$  和  $\text{M}_6^-$  芽孢混悬液(浓度均调整到  $5 \times 10^7/\text{ml}$ ),各取 0.1ml 分别加到 12 ml, 45℃ 营养琼脂(沈阳产品)中混匀后,倒入平皿。待固化后,将浸有  $20\mu\text{l}$  不同浓度化学物的滤纸片(直径 8mm)置其上,37℃ 培养 20h,测量抑菌圈半径,结果按 Suter<sup>[2]</sup> 的标准判断,即两种芽孢的抑制长度之差  $\geq 6\text{mm}$  为++,  $< 6$  和  $\geq 3\text{mm}$  为+,  $< 3$  和  $\geq 2\text{mm}$  为±,  $< 2\text{mm}$  为一。

3. 中国地鼠卵巢细胞 (CHO) 姊妹染色单体交换 (SCE) 和染色体畸变 (CA) 试验

CHO 细胞由中国预防医科院环境卫生监测所秦钰慧提供。基本按文献[3]方法进行。将  $1 \times 10^6$  细胞接种于含 10% 胎牛血清(天津产品)的最低基础培养液 (MEM) 中,培养 24h 后,换以含 5-溴脱氧尿苷 (BrdU,