

SO₂ 污染对小鼠骨髓细胞微核的诱发作用

孟紫强, 阮爱东, 桑楠, 张波, 张建彪 (山西大学环境医学与毒理学研究所, 山西大学生命科学系, 太原 030006)

摘要: 在 SO₂ 吸入慢性染毒条件下, 小鼠骨髓嗜多染红细胞 (PCE) 的微核细胞率与微核率均显著增加, 且雌雄差异显著。结果也表明, SO₂ 对阳性致突变剂乌拉坦诱发微核的作用有显著抑制效应。本研究模拟 SO₂ 空气污染, 从整体水平直接证实了 SO₂ 是哺乳类细胞染色体断裂剂。SO₂ 与阳性致突变剂的联合作用是复杂的结论。

关键词: SO₂; 微核; 小鼠骨髓细胞; 乌拉坦

中图分类号: R994.6 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2002)04-03-0123

Micronuclei Induced by Chronic Inhalation of SO₂ in Mouse Bone Marrow Cells

Meng Ziqiang, Ruan Aidong, Sang Nan, Zhang Bo, Zhang Jianbiao (Institute of Environmental and Toxicology, Department of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Abstract: In the chronic inhalation experiment of sulfur dioxide (SO₂), micronuclei (MN) frequencies in the polychromatophilic erythroblasts (PCE) of mouse bone marrow and the frequencies of cells with MN were significantly increased in dose-dependent manner. There was a significant difference between the male and the female animals. The results also showed that SO₂ inhibited urethane-induced MN formation. These results furtherly confirm that SO₂ inhalation was a clastogenic and genotoxic agent to mammalian cells, and the combined effects of SO₂ and other mutagens are complex.

Key words: SO₂; micronuclei; mouse bone marrow cells; urethane

近年来的研究表明, SO₂ 可引起多种呼吸系统疾病, 甚至与肺癌的发生有关, SO₂ 的体内衍生物——亚硫酸钠与亚硫酸氢钠可诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞 (polychromatophilic erythroblasts, PCE) 微核形成, 导致微核细胞率显著升高^[1]。最近的研究表明, 接触 SO₂ 的工人其血液淋巴细胞染色体畸变 (chromosome aberrations, CA)、姊妹染色单体互换 (sister chromatid exchanges, SCE) 及微核 (micronuclei, MN) 频率显著增高, SO₂ 衍生物也可诱发体外培养的人血淋巴细胞 CA、SCE 及 MN 增高^[2-6]。SO₂ 吸入的短期实验也表明, SO₂ 与小鼠骨髓细胞微核细胞率和染色体畸变细胞率之间呈明显的剂量-效应关系 (另文发表)。为了进一步从实验动物整体水平确证 SO₂ 对细胞遗传物质的损伤作用, 本文首次在长期 SO₂ 吸入条件下, 研究了 SO₂ 诱发小鼠骨髓 PCE 细胞微核的发生及其与阳性致突变物乌拉坦的联合作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

昆明系小鼠, 鼠龄 4 周, 体重 16~18g, 雌雄各半。购自中国辐射防护研究院动物房。

1.2 SO₂ 及试剂

高压液态 SO₂ (纯度 99.99%), 购自北京氮谱北分气体工业有限公司, 乌拉坦 (分析纯) 购自上海生化试剂厂。

1.3 SO₂ 吸入染毒

(1) 实验的分组与染毒 取 80 只昆明小鼠, 随机分为 5 组, 每组 16 只, 雌雄各半。其中 A 组为 SO₂ (浓度为 5.6 mg/m³) 组, B 组 SO₂ (浓度为 14 mg/m³) 组, C 组为乌拉坦组, D 组为 SO₂ (浓度为 14 mg/m³) + 乌拉坦组, E 组为对

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070647); 山西省自然科学基金资助项目

作者简介: 孟紫强 (1939~), 男, 教授 (博导), 主要研究方向为环境医学与环境毒理学。

收稿日期: 2001-07-03; 修订日期: 2001-10-08

照组.

A、B、D 3 组每日在相同时间内,分别放入染毒柜中,按照设计的 SO₂ 浓度,每天吸入染毒 4h,每周 5 天,染毒 8 个月.C、D 2 组小鼠分别饮用 0.1% 的乌拉坦液(用自来水配制).E 组呼吸新鲜空气,作为对照组.各组小鼠自由饮水和进食.

(2) 制片和染色 各实验组在最后一次染毒后 24h,将小鼠脱臼处死.取其股骨骨髓,按常规制片.染色.

1.4 观察分析

每只动物观察 1000 个 PCE 细胞.微核判断标准参照 Heddle(1984)的报道^[7].采用 t 检

验法分析染毒组与对照组之间差异的显著性.

2 结果及分析

2.1 SO₂ 与乌拉坦慢性染毒对小鼠骨髓 PCE 细胞 MN 的影响

SO₂ 慢性染毒诱发小鼠 PCE 细胞 MN 的剂量-效应关系列于表 1.从表 1 可知,各染毒组小鼠 PCE 细胞的微核率和微核细胞率均显著增高.乌拉坦组与对照组、SO₂ 组、SO₂ + 乌拉坦组相比,微核率和微核细胞率也均存在显著差异.表 1 还指出,SO₂ 对微核和微核细胞率的诱发存在性别差异,雌鼠对 SO₂ 的遗传毒性更为敏感.表 1 也指出,SO₂ 吸入对阳性致突变剂乌拉坦诱发微核有显著的抑制.

表 1 SO₂ 和乌拉坦诱发小鼠 PCE 细胞微核率(%)的效应

Table 1 Induction effects of chronic SO₂ inhalation and urethane on the formation of MN in the PCE of mouse

处 理	PCE 数 / 个	雌 鼠		雄 鼠	
		微核率	微核细胞率	微核率	微核细胞率
对照	1000 × 8	1.13 ± 0.99	1.13 ± 0.99	1.25 ± 0.89	1.25 ± 0.89
SO ₂ 5.6 mg/ m ³	1000 × 8	14.04 ± 5.34 ^{***}	12.25 ± 3.84 ^{***}	3.75 ± 1.04 ^{**} ^{aaa}	3.50 ± 0.93 ^{**} ^{aaa}
SO ₂ 14 mg/ m ³	1000 × 8	30.13 ± 9.45 ^{***}	22.63 ± 5.85 ^{***}	16.25 ± 4.23 ^{***} ^{aa}	15.00 ± 3.58 ^{***} ^a
乌拉坦	1000 × 8	108.88 ± 7.26 ^{***}	64.88 ± 3.72 ^{***}	80.50 ± 31.2 ^{***} ^{aa}	47.13 ± 13.82 ^{***} ^{aa}
SO ₂ 14 mg/ m ³ + 乌拉坦	1000 × 8	35.00 ± 9.95 ^{***}	21.25 ± 3.64 ^{***}	24.88 ± 4.64 ^{***} ^a	19.50 ± 2.62 ^{***}

与对照组相比,经 t 检验: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001; 与雌性对应组相比,经 t 检验: ^a p < 0.05, ^{aa} p < 0.01, ^{aaa} p < 0.001

2.2 SO₂ 慢性染毒与细胞微核数的关系

将 SO₂ 及乌拉坦慢性染毒与小鼠骨髓 PCE 细胞微核数的分析结果列于表 2.从表 2 可知,各实验组小鼠的单、双及多微核细胞率均显著高于对照组小鼠;此外,随着 SO₂ 浓度的增高,

双微核细胞率和多微核细胞率显著增加;乌拉坦组的各种微核细胞率均极显著高于其它实验组.表 2 也表明,SO₂ 对乌拉坦诱发微核的效应存在显著的抑制作用.

表 2 SO₂ 和乌拉坦对小鼠骨髓 PCE 细胞中微核数(%)的影响

Table 2 Effects of SO₂ and urethane on the number of MNs in the PCE of mouse

处 理	PCE 数	雌 鼠			雄 鼠		
		单微核细胞率	双微核细胞率	多微核细胞率	单微核细胞率	双微核细胞率	多微核细胞率
对照	1000 × 8	1.13 ± 0.991	0.00	0.00	1.25 ± 0.89	0.00	0.00
SO ₂ (5.6 mg/ m ²)	1000 × 8	10.38 ± 1.04 ³⁾	1.63 ± 1.30 ²⁾	0.25 ± 0.46	3.25 ± 1.04 ¹⁾	0.25 ± 0.46	0.00
SO ₂ (14 mg/ m ³)	1000 × 8	16.88 ± 3.14 ³⁾	4.13 ± 2.48 ³⁾	1.63 ± 0.92 ²⁾	13.88 ± 3.04 ³⁾	1.00 ± 1.07 ¹⁾	0.13 ± 0.35
乌拉坦	1000 × 8	37.38 ± 1.51 ³⁾	18.50 ± 5.10 ³⁾	7.63 ± 0.74 ³⁾	23.75 ± 1.98 ³⁾	15.25 ± 7.48 ³⁾	6.75 ± 3.96 ³⁾
SO ₂ (14 mg/ m ³) + 乌拉坦	1000 × 8	9.63 ± 3.63 ³⁾	10.00 ± 3.85 ³⁾	1.50 ± 1.20 ²⁾	15.50 ± 1.51 ³⁾	3.00 ± 3.02 ²⁾	0.88 ± 0.64

与对照组相比,经 t 检验: ¹⁾ p < 0.05, ²⁾ p < 0.01, ³⁾ p < 0.001

3 讨论

3.1 SO₂ 与微核的产生

本研究通过小鼠整体实验表明,长期吸入 SO₂ 能够诱发动物体骨髓 PCE 微核的形成,而且呈明显的剂量-效应关系.采用 SO₂ 空气污染的模拟染毒实验,从整体水平直接证实了 SO₂ 是染色体断裂剂,结果与文献报道一致^[2~6].SO₂ 引起细胞染色体损伤的机制尚未完全阐明,笔者对此有以下设想:①SO₂ 进入体内后,转变为亚硫酸盐和亚硫酸氢盐,二者通过自氧化和酶促氧化过程产生自由基,引起细胞内蛋白质和酶的结构与功能改变,引起蛋白质、DNA 损伤并影响其修复过程,从而引起染色体改变^[8],所产生的自由基也可以直接攻击 DNA 链上嘌呤 C₈、胞嘧啶的 C₅ 和 C₆ 之间的双烯键,引起碱基损伤,导致碱基置换、脱嘌呤、DNA 链断裂等基因突变^[9];②SO₂ 在体内所产生的衍生物亚硫酸盐和亚硫酸氢盐在细胞内酶促作用下对 DNA 产生修饰作用,使胞嘧啶转化为尿嘧啶,从而导致遗传物质损伤.③SO₂ 进入体内后引起细胞内外环境 pH 值改变,从而改变多种酶以及 DNA 的结构与活性,致使细胞生理代谢紊乱.对此,尚需从化学、分子生物学角度进一步研究,才能确定^[9,10].

3.2 SO₂ 诱发小鼠骨髓细胞 MN 的性别差异

本实验表明,SO₂ 长期吸入诱发小鼠骨髓 PCE 产生微核的效应存在性别差异.雌性小鼠的微核细胞率和微核率均显著高于雄性小鼠,表明雌性小鼠对 SO₂ 的敏感程度高于雄性小鼠,对此尚不能作出合理解释,需进一步研究.

3.3 SO₂ 对乌拉坦诱发微核效应的抑制作用

表 1 指出,乌拉坦诱发雌、雄小鼠 PCE 细胞 MN 率(%)分别达 108.88 和 64.88,而 SO₂ 与乌拉坦联合作用则分别下降为 35.00 和 24.88.这些结果表明,SO₂ 对乌拉坦诱发小鼠 PCE 微核效应存在明显抑制作用.SO₂ 对其诱发微核的抑制作用,可能是由于乌拉坦是一种间接致突变物,需在体内氧化代谢后才能诱发突变和癌变.SO₂ 体内衍生物亚硫酸盐易发生

氧化,是还原剂,可阻止乌拉坦在体内的氧化代谢,从而降低其致突变作用,导致诱发 MN 的作用降低.也可能是 SO₂ 衍生物与乌拉坦直接发生化学反应,生成致突变性较弱甚至无致突变作用的新化学物.对此尚待进一步研究才能确定.一般认为,SO₂ 衍生物对苯并(a)芘的致突变作用有促进作用,但文献报道相互矛盾,尚需进一步研究^[11].本研究发现 SO₂ 对乌拉坦的致突变作用有抑制效应,再次肯定了笔者以前的观察,即 SO₂ 对其他致突变剂、致癌剂的联合作用的性质是复杂的,有的是促进作用,有的则是抑制作用,取决于致癌剂、致突变剂的种类和性质^[1].

参考文献:

- 孟紫强,桑楠等.二氧化硫体内衍生物诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的效应[J].环境科学学报,2000,20(2):239~243.
- Meng Z Q, Zhang L Z. Observation of frequencies of lymphocytes with micronuclei in human peripheral blood cultures from workers in a sulphuric acidfactory[J]. Environ Mol Mutagen., 1990, 15: 218~200.
- Meng Z Q, Zhang L Z. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges of lymphocytes of workers exposed to sulphur dioxide.[J] Mutat Res., 1990, 241:15~20.
- 孟紫强,张连珍等.硫酸厂工人外周血淋巴细胞微核率的研究[J].环境科学学报,1989,9(1):125~128.
- 孟紫强,张连珍.亚硫酸钠(SO₂)对人血淋巴细胞染色体畸变、姊妹染色单体互换及微核的效应[J].遗传学报,1994,21(1):1~6.
- 孟紫强.二氧化硫对人血淋巴细胞的遗传毒理效应[J].城市环境与城市生态,1994,7(4):17~21.
- Heddle J A. The bone marrow micronucleus test. In: Kilbey B J ed. Handbook of mutagenicity test procedures, 2nd Ed [M]. Amsterdam: Elsevier Press, 1984. 441~457.
- 孟紫强,张波.二氧化硫吸入对大鼠血红细胞的氧化损伤作用[J].环境与健康杂志,2001,18(5):262~264.
- Meng Z Q, Zhang L Z. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by sodium bisulfite [J]. Mutat Res., 1992, 298: 63~69.
- 孟紫强.中国田鼠卵巢细胞自发和亚硫酸氢钠诱发突变的 gpt 基因分子分析[J].中国环境科学,1997,17(2):171~175.
- 孟紫强(主编).环境毒理学[M].北京:中国环境科学出版社,2000.353~359.