

吸烟者淋巴细胞染色体畸变和微核形成的观察

金银龙 王汉章 顾珩 程义斌

摘要 采用染色体畸变和微核分析两个具有相关性的遗传物质损伤观察指标,同时观察了男性健康吸烟者遗传物质的损伤情况。结果表明,吸烟组超倍体细胞率、染色单体型细胞畸变率、染色体型畸变率、细胞总畸变率、微核率、微核细胞率均显著高于非吸烟组。表明吸烟是诱发人体遗传物质损伤的重要诱变因素之一。

关键词 吸烟者 染色体

Observation of Chromosome Aberration and Micronucleus Formation in Peripheral Blood Lymphocytes among Cigarette Smokers Jin Yin-long, Wang Han-zhang, Gu Heng, et al. Institute of Environmental Health and Engineering, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 100050

Abstract Using two interrelated observation indices — chromosomal aberration and micronucleus analysis in peripheral blood lymphocytes to reflect damages of genetic material, were used to observe the status of genetic material damage in male smokers at the same time. The results showed that there were significant increases in hyperploid cell rate, chromatid and chromosome aberration rates, total aberrant cell rate and frequency of micronucleated cells as well as micronucleus in smoking group when compared to non-smoking group. This findings showed that cigarette smoking is one of the important mutagenic factors which caused damage to human genetic materials.

Key words Smoker Chromosome

国内外已有大量证据表明吸烟是多种肿瘤的主要病因之一。现有研究表明致突变化学物对生物体细胞遗传物质的损害是导致肿瘤发生的基本途径。为进一步探讨吸烟者遗传物质的受损情况,笔者观察了吸烟者淋巴细胞染色体的畸变和微核的形成。

对象与方法

一、观察对象:选择北京地区男性健康吸烟者(几乎每天都吸,连续半年以上)65名,年龄20~50岁,无化学物质职业接触史,年内无照射史,未服用特殊药物。在同一地区以同性别,年龄(±2岁)为匹配条件选择非吸烟者为对照,匹配比为1:1。对65对观察

对象作了微核形成的观察,对其中48对观察对象同时作了染色体畸变观察(因另外17对的淋巴细胞培养未获成功)。

二、观察方法:

1. 染色体观察方法:在无菌条件下将静脉血0.3ml加入5ml 1640培养液(日本产,含20%小牛血清,4mg/ml肝素0.2ml,青链霉素各500单位,pH7.0)的培养瓶中。37±0.5℃恒温培养72小时。终止培养前4小时加入秋水仙素,其终浓度为0.1μg/ml培养液。常规制片,Giemsa染色。选择背景清晰,染色体分散好的细胞作染色体计数,并观察有无结构畸变,每例观察100个分裂中期细胞。对有畸变者,按染色体型及染色单体型畸变分别记录,读片采用双盲法。

2. 微核观察方法:采用一次性定量取血

管(10 μ l)加一滴 4mg/ml 肝素溶液,然后取静脉血至管长的 4/5 左右,火棉胶封管口。低速离心 15 分钟,于红白细胞交界处锯断取血管,将白细胞层滴于洁净玻片上,混匀、推片、空气干燥、甲醇固定、瑞氏染液染色。油镜下每例随机计数 1 000 个完整的淋巴细胞,记录其微核细胞数、微核数、多微核细胞数和多微核数。微核判断标准包括:①胞浆

完整的间期细胞,形态为圆形和椭圆形,边缘光滑整齐;②直径小于主核的三分之一;③与主核完全脱离;④嗜色性与折光性与主核一致或略淡。

结 果

一、吸烟组和非吸烟组染色体数目和畸变率比较:见表 1 和表 2。

表 1 吸烟组和非吸烟组染色体数目比较

组 别	例数	观察细胞数	染 色 体 数 目 分 布					四倍体
			<45	45	46	47	>47	
吸烟组	48	4800	119(2.48)	97(2.02)	4517(94.1)	42(0.87)	22(0.46)	3(0.06)
非吸烟组	48	4800	112(2.33)	73(1.52)	4584(95.5)	18(0.36)	10(0.21)	3(0.06)

注:括号内数字为构成比(%)。

表 2 吸烟组和非吸烟组染色体畸变率比较

组 别	例数	观察细胞数	染色单体型畸变				染色体型畸变				畸变细胞总数	
			断裂	裂隙	缺失	合计	断裂	裂隙	断片	双着丝点		合计
吸烟组	48	4800	20(0.42)	7(0.16)	1(0.02)	28(0.58)	25(0.52)	12(0.25)	1(0.02)	1(0.02)	38(0.79)	64(1.33)
非吸烟组	48	4800	5(0.10)	2(0.04)	0(0)	7(0.15)	10(0.21)	9(0.19)	0(0)	0(0)	19(0.40)	25(0.52)

注:括号内数字为染色体畸变率(%)。

1. 正常人类二倍体细胞的染色体数是 46。吸烟组染色体数目正常的细胞数为 94.10%,非吸烟组为 95.50%,两组间有高度显著性差异($P < 0.01$)。吸烟组超二倍体的细胞率为 1.33%,非吸烟组为 0.58%,两组间有高度显著性差异($P < 0.01$)。

2. 吸烟组染色单体型畸变率(0.58%)高于非吸烟组(0.15%),两组间有高度显著性差异($P < 0.01$)。观察到的染色单体型结构异常包括断裂、裂隙和缺失,其中断裂在吸烟组(0.42%)高于非吸烟组(0.10%),两组间有高度显著性差异($P < 0.01$)。

3. 吸烟组染色体型畸变率(0.79%)高于非吸烟组(0.40%),两组间有高度显著性差异($P < 0.01$)。观察到的染色体型结构异常包括断裂、裂隙、断片和双着丝点。其中断裂在吸烟组(0.52%)高于非吸烟组

(0.21%),两组间有显著性差异($P < 0.05$)。

4. 细胞总畸变率包括染色体型和染色单体型畸变,细胞总畸变率在吸烟组和非吸烟组分别为 0.79% 和 0.40%,两组间有高度显著性差异($P < 0.01$)。

二、吸烟组和非吸烟组淋巴细胞微核的观察结果比较:

1. 吸烟组和非吸烟组微核细胞率和微核率的比较:由表 3 可见,吸烟组微核细胞率及微核率均高于非吸烟组,前者有高度显著性差异($P < 0.01$),后者有显著性差异($P < 0.05$)。

2. 吸烟组和非吸烟组多微核率和多微核细胞率比较:由表 4 可见,吸烟组多微核细胞率和多微核率均高于非吸烟组,但无显著性差异。

表3 吸烟组和非吸烟组微核细胞率和微核率比较

组别	例数	分析细胞数 ($\times 10^3$)	微核细胞数	微核细胞率 ($\bar{x} \pm s\%$)	微核数	微核率 ($\bar{x} \pm s\%$)
非吸烟组	65	65	144	2.15 ± 2.14	167	2.57 ± 2.69
吸烟组	65	65	230	3.54 ± 3.22	268	4.12 ± 3.99

表4 吸烟组和非吸烟组多微核细胞率及多微核率比较

组别	例数	分析细胞数 ($\times 10^3$)	多微核细胞数	多微核细胞率 ($\bar{x} \pm s\%$)	多微核数	多微核率 ($\bar{x} \pm s\%$)
非吸烟组	65	65	20	0.31 ± 0.66	46	0.71 ± 1.62
吸烟组	65	65	30	0.46 ± 0.87	68	1.05 ± 1.99

讨 论

染色体畸变方法可以直接观察生物体受致突变物作用后,其中期相细胞染色体结构和数目的改变,它是检测人类遗传损伤的可靠方法之一^[1]。Littefield 等的研究证实吸烟具有诱变性^[2]。北欧研究小组的研究指出,吸烟可使染色体的畸变率增加 10% ~ 20%^[3]。本研究结果表明,吸烟组超二倍体细胞率,染色单体型畸变率,染色单体断裂率,染色体型畸变率,细胞总畸变率均显著高于非吸烟组,这与上述作者的结果相符。说明吸烟是引起人体外周血淋巴细胞染色体畸变的重要危险因素之一。

微核是在诱变因子作用下,在形态学方面表现出的一种染色体断裂、丢失以及间期核损伤等类型^[4,5]。本研究结果表明,吸烟组微核率、微核细胞率均显著高于非吸烟组。吸烟组的多微核率和多微核细胞率与非吸烟组间虽无统计学显著性差别,但前者比后者高。关于健康吸烟者的微核分析报道不多,仅见到少数报道。Tomanin 等研究吸烟、饮酒、性别、年龄等因素与微核形成的关系时指出,在这些因素中仅有吸烟使微核细胞率、微核率具有统计学意义的升高^[6]。Giorgo 等的研究指出,吸烟可使微核细胞率增加 25%^[7]。本研究观察的是人体淋巴细胞的

微核,本底较低,所以微核细胞率和微核率较低,但结果的趋势与上述学者的报道相符。

我们采用染色体畸变和微核分析这两个具有相关性的遗传物质损伤观察指标,同时观察了健康吸烟者遗传物质的损伤情况,这两项指标的结果趋势一致,表明吸烟是诱发人体遗传物质损伤的重要诱变因素之一。

参 考 文 献

- 1 Anwar WA. Monitoring of human populations at risk by different cytogenetic end points. *Environmental Health Perspect.* 1994, 102(suppl 4):131.
- 2 Littefield Joiner. Analysis of chromosome aberrations in lymphocytes of long-term heavy smokers. *Mutation Research.* 1986, 170(3):145.
- 3 Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. A Nordic data base on somatic chromosome damage in humans. *Mutation Research.* 1990, 241(3):325.
- 4 薛开先. 微核形成与细胞周期的初步研究. *遗传学报.* 1992, 19(1):17.
- 5 Nagae Y, Miyamoto H, Suzuki Y. Effect of estrogen on induction of micronuclei by mutagens in male mice. *Mutation Research.* 1991, 263(1):21.
- 6 Tomanin R, Ballarin C. Influence of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes by the cytokinesis block method. *Mutagenesis.* 1991, 6(2):123.
- 7 Di Giorgio C. The micronucleus assay in human lymphocytes: screening for inter-individual variability and application to biomonitoring. *Carcinogenesis.* 1994, 15(2):313.

(收稿:1996-05-06 修回:1996-08-21)