

缢蛏对⁶⁰Co γ射线辐照致小白鼠遗传损伤的修复作用

钱晓薇* 林国栋 罗蔚华 李玲玲 董美洲

(温州大学生命与环境科学学院, 温州 325003)

摘要 本实验以清洁级 ICR 雄性小白鼠为实验动物, 研究了不同浓度缢蛏对⁶⁰Co γ射线辐照致雄性小白鼠遗传损伤的修复作用。6~7 周龄小白鼠辐射后分别灌胃 100 mg/(kg·d)、200 mg/(kg·d)、400 mg/(kg·d)剂量的缢蛏 10 天。采用小白鼠骨髓嗜多染红细胞(polychromatic erythrocytes, PCE)微核实验、小白鼠精子畸形实验等方法, 测定小白鼠胸腺指数及脾指数、骨髓有核细胞数及 PCE 微核率、小白鼠精子畸形率等指标。实验结果表明: 3 个剂量缢蛏组均能使由⁶⁰Co γ射线辐照引起的小白鼠胸腺指数及脾指数、骨髓有核细胞数下降得到显著回升($P < 0.001$); 3 个剂量缢蛏组均能使由⁶⁰Co γ射线辐照引起的小白鼠 PCE 微核率及精子畸形率升高显著下降($P < 0.001$)。因此, 实验剂量的缢蛏对⁶⁰Co γ射线辐照引起的雄性小白鼠的遗传损伤具有明显的修复作用。

关键词 缢蛏; ⁶⁰Co γ射线; 遗传损伤; 修复作用

缢蛏(*Sinonovacula constricta*)属于双壳纲异齿亚纲帘蛤目竹蛏科, 又名蛏子, 广泛分布于中国、日本和朝鲜等国的沿海地区。其性质甘温, 能补阴, 去邪热, 治烦闷、冷痢、热痢、妇人产后虚损、虚热等症^[1]。国内外对缢蛏的研究, 主要集中在缢蛏的养殖技术、缢蛏的组织结构和功能以及缢蛏的遗传特征方面, 但关于缢蛏对辐射损伤的影响至今尚未报道。目前关于海洋生物的抗辐射作用的活性物质的研究也较少^[2]。许多研究表明某些贝类具有提高人体免疫能力、延缓细胞衰老、防癌抗癌的作用^[3-5]。为此, 我们就缢蛏对⁶⁰Co γ射线照射小白鼠所致的损伤进行了实验, 旨在探讨缢蛏对辐射损伤有无修复作用。

1 材料与方法

1.1 材料

缢蛏由浙江省乐清市清江养殖场提供, 将缢蛏置于真空干燥箱内干燥后机械化粉碎, -20 °C 低温保存。实验动物为清洁级 ICR 雄性小白鼠, 体重 22~32 g, 鼠龄 6~7 周, 小白鼠由温州医学院实验动物中心提供并饲养, 合格证号为医动字第 2203001。

1.2 实验分组及处理

共 50 只雄性小白鼠, 随机分成 5 组, 每组 10 只。分设正常对照组(阴性对照组)、⁶⁰Co γ射线辐照组(阳性对照组)和辐照后给不同剂量的缢蛏, 缢蛏剂量分别为 100 mg/(kg·d)、200 mg/(kg·d)、400 mg/(kg·d)

剂量, 依次编序为 I、II、III、IV 和 V 组。

用⁶⁰Co γ射线一次性全身照射小白鼠, 总剂量为 5.0 Gy, 距离 75 cm, 照射率 0.656 Gy/min, 共 10 天, 由温州市第二人民医院提供。详见表 1。

1.3 实验方法

采用文献^[6]方法测定精子畸形率, 骨髓嗜多染红细胞(polychromatic erythrocytes, PCE)微核率的测定采用文献^[7]方法, 胸腺指数和脾指数的测定采用文献^[8]方法。

1.6 统计方法

均采用 SPSS10.0 数据处理系统进行方差分析。

2 结果

2.1 缢蛏对⁶⁰Co γ射线辐照小白鼠免疫器官的影响

统计显示: 组 II (阳性对照组)的胸腺指数明显低于组 I (阴性对照组) ($P < 0.001$)。从表 2 可看出: 与

Table 1 Grouping and treating

Group	Irradiation	After irradiation irrigate
I	-	Normal saline
II	+	Normal saline
III	+	100 mg/(kg·d) <i>Sinonovacula constricta</i>
IV	+	200 mg/(kg·d) <i>Sinonovacula constricta</i>
V	+	400 mg/(kg·d) <i>Sinonovacula constricta</i>

收稿日期: 2009-02-19 接受日期: 2009-06-12

乐清市科技局科研基金资助项目(No.2004R024)

* 通讯作者。Tel: 0577-88371046, E-mail: qianxiaowei@126.com

Table 2 Effect of *Sinonovacula constricta* on immune organ of mice irradiated by ^{60}Co γ -rays

Group	Chest glands		Spleens	
	Weight (mg)	Index (mg/10 g BW)	Weight (mg)	Index (mg/10g BW)
I	60.74±3.04	21.06±1.12	63.35±3.27	38.63±3.05
II	35.28±2.66	14.28±0.97	39.60±2.16	17.10±1.47
III	38.45±2.35*	16.24±1.01***	46.45±2.26***	24.53±2.04***
IV	45.62±2.93***	17.60±0.90***	51.60±3.01***	26.34±1.79***
V	52.31±3.41***	19.15±1.13***	59.66±2.46***	30.80±2.41***

* $P<0.05$, *** $P<0.001$, compared with group II. BW: body weight.

Table 3 Effect of *Sinonovacula constricta* on MNCF of PCE and the number of karyot in bone marrow of mice irradiated by ^{60}Co γ -rays

Group	Number of karyot ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MNCF of PCE (%)	Inhibition rate (%)
I	38.13±3.55	2.20±0.92	
II	6.88±1.98	10.60±1.90	
III	12.50±2.95***	3.20±0.92***	69.81
IV	19.38±1.98***	3.30±0.95***	68.87
V	33.13±3.02***	2.50±0.85***	74.42

*** $P<0.001$, compared with group II; IR (%)=(group II MNCF - test group MNCF) / group II MNCF. MNCF: frequency micronucleus cell.

Table 4 Effect of *Sinonovacula constricta* on sperm form of mice irradiated by ^{60}Co γ -rays

Group	Abnormality frequency of sperm (%)	Inhibition rate (%)
I	31.50±4.88	
II	62.00±4.16	
III	48.20±4.64***	22.26
IV	40.50±3.31***	34.68
V	32.50±3.34***	47.58

*** $P<0.001$, compared with group II.

组 II 比较, 组 III、IV、V 3 个缢蛭实验组的胸腺指数均明显高于组 II (阳性对照组), 差异均极为显著 ($P<0.001$)。且组 IV 的明显高于组 III、组 V 的明显高于组 IV ($P<0.01$), 即具有明显的剂量效应。

组 II (阳性对照组)的脾指数也明显低于组 I (阴性对照组) ($P<0.001$)。从表 2 可看出: 与组 II 比较, 组 III、IV、V 3 个缢蛭实验组的脾指数均明显高于组 II (阳性对照组), 差异均极为显著 ($P<0.001$)。组 IV 的略高于组 III, 但差异不显著 ($P>0.05$); 组 V 的明显高于组 IV ($P<0.001$), 具有一定的剂量效应。

2.2 缢蛭对 ^{60}Co γ 射线辐照小白鼠骨髓 PCE 微核率及有核细胞数的影响

统计可得: 组 II (阳性对照组)的有核细胞数明显低于组 I (阴性对照组) ($P<0.001$)。表 3 显示: 与组 II 比较, 组 III、组 IV、组 V 3 个缢蛭实验组的有核细胞数明显高于组 II ($P<0.001$); 3 个缢蛭实验组的组间比较: 组 IV 的明显高于组 III 的 ($P<0.001$), 组 V 的明显高于组 IV 的 ($P<0.001$)。统计可见: 组 II (阴

性对照组)的 PCE 微核率明显高于组 I (阴性对照组) ($P<0.001$)。表 3 表明: 与组 II 比较, 组 III、组 IV、组 V 3 个缢蛭实验组的 PCE 微核率明显低与组 II ($P<0.001$); 3 个缢蛭实验组的组间无明显差异 ($P>0.05$)。组 III、组 IV、组 V 3 个缢蛭实验组对 ^{60}Co γ 射线辐照引起的微核抑制率分别为 69.81%、68.87%、74.42%。

2.3 缢蛭对 ^{60}Co γ 射线辐照小白鼠精子形态的影响

统计可知: 组 II (阳性对照组)的精子畸形率明显高于组 I (阴性对照组) ($P<0.001$)。表 4 显示: 与组 II 比较, 组 III、组 IV、组 V 3 个缢蛭实验组的精子畸形率明显低于组 II ($P<0.001$); 3 个缢蛭实验组的组间比较: 组 IV 的明显低于组 III 的 ($P<0.001$), 组 V 的明显低于组 IV 的 ($P<0.001$), 具有明显的剂量效应。组 III、组 IV、组 V 3 个缢蛭实验组对 ^{60}Co γ 射线辐照引起的精子畸形的抑制率分别为 22.26%、34.68%、47.58%。显微镜检查发现精子的畸形类型有: 无钩、不定形、尾折叠、不定形且双尾、双头且双尾、局部双尾、双尾、及三尾等类型(图 1)。

3 讨论

表 2 显示, 组 II 的胸腺指数及脾指数均明显低于组 I ($P<0.001$), 说明 ^{60}Co γ 射线辐照对小白鼠的免疫器官具有明显的损伤作用, 这与我们以前的报道一致^[10]。而组 III、IV、V 3 个缢蛭实验组的胸腺指

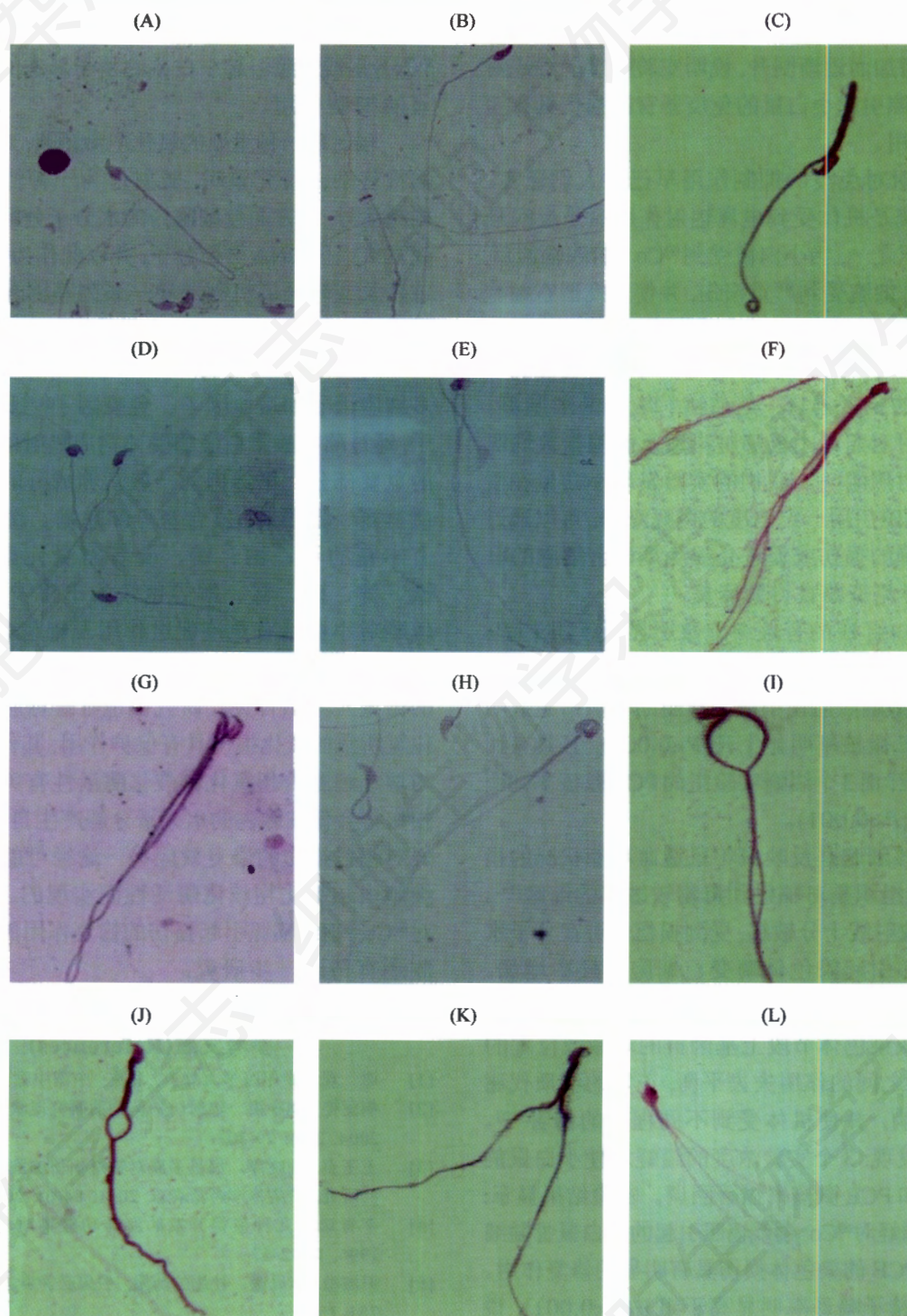


Fig.1 The effect of ⁶⁰Co γ-rays on the sperm shape

A: normal sperm; B: sperm with no hook; C: folded tail; D: indefinite form; E, F: indefinite form and double tails; G, H: double heads and double tails; I, J: part double tails; K: double tails; L: three tails.

数及脾指数均明显高于组 II (阳性对照组), 且差异均极为显著 ($P < 0.001$), 表明 3 个实验浓度的缙蛭均能使由 ⁶⁰Co γ 射线辐照引起小白鼠的免疫器官的损伤具有明显的修复作用, 但均未修复到正常水平 ($P < 0.001$)。

统计表明: 组 V 的胸腺指数明显高于组 IV、组 IV 的明显高于组 III ($P < 0.01$), 具有明显的浓度剂量效应。对脾指数来说, 组 V 的明显高于组 IV ($P < 0.001$), 组 IV 的略高于组 III, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 具有一定

的剂量效应。结果显示:胸腺指数及脾指数均随着缢蛏浓度的增加而逐渐回升,说明实验浓度的缢蛏对 ^{60}Co γ 射线辐照引起小白鼠的免疫器官的损伤具有明显的修复作用。

电离辐射对免疫的抑制作用早已被人们证实。动物免疫系统是机体受到电离辐射作用后是反应最为敏感的组织之一,当小白鼠受到 ^{60}Co γ 射线辐照后,其胸腺和脾脏细胞受到严重损伤,并使免疫器官细胞坏死和凋亡^[9]。辐射所致的免疫功能改变是放射损伤的主要表现之一,胸腺和脾脏是参与免疫功能调节的机体重要的免疫器官,是高辐射敏感的细胞群。研究显示照射对照组小鼠脾脏指数及胸腺指数均明显低于正常对照组^[10]。我们的实验发现小白鼠在受 ^{60}Co γ 射线辐照后用一定浓度的缢蛏灌胃,可以通过减轻免疫细胞的损伤或促进受损免疫器官细胞的修复,从而使得免疫器官得到修复。

统计可知组 II 的有核细胞数明显低于组 I ($P < 0.001$)、组 II 的 PCE 微核率则明显高于组 I ($P < 0.001$),说明 ^{60}Co γ 射线辐照能使小白鼠骨髓的有核细胞数明显下降、PCE 微核率明显上升 ($P < 0.001$),且具有明显的剂量效应;而 3 个缢蛏实验组的 PCE 微核率则明显低与组 II ($P < 0.001$)。

骨髓有核细胞是反映成年鼠造血功能状况的指标之一,骨髓组织是对辐射和毒物较敏感的细胞^[11]。骨髓细胞对放射线十分敏感,受到损伤后可在分子水平发生损伤,引起染色体畸变、细胞微核率增加。染色体畸变是指染色体在数目和结构上的改变,其本质是染色体或染色体节段上基因群的增减或位置的转移,使基因之间的作用失去平衡,正常的物质代谢过程受到影响,并使机体受到不同程度的伤害^[12]。我们的实验发现:3 个实验浓度的缢蛏均使小白鼠的有核细胞数和 PCE 微核率显著回调。实验结果显示:实验浓度的缢蛏对 ^{60}Co γ 射线辐照引起的小白鼠骨髓细胞以及骨髓 PCE 的染色体损伤具有明显的修复作用。

组 II 的精子畸形率明显高于组 I ($P < 0.001$),说明 ^{60}Co γ 射线辐照对小白鼠的精子形成过程具有明显的损伤作用。表 4 显示组 III、组 IV、组 V 3 个缢蛏实验组的精子畸形率明显低与组 II ($P < 0.001$),说明 3 个实验浓度的缢蛏对 ^{60}Co γ 射线辐照引起小白鼠的精子形态损伤具有显著的修复作用。通过组间比较发现组 V 的精子畸形率明显低于组 IV 的 ($P < 0.001$)、组 IV 的明显低于组 III 的 ($P < 0.001$)。小白鼠的精子畸形率随着缢蛏剂量的增加而逐渐降低,且具有明显

的剂量效应。实验结果表明:3 个实验剂量的缢蛏对 ^{60}Co γ 射线辐照引起小白鼠的精子形态的损伤具有明显的抑制作用。

辐射是一种重要的氧化应激因素,对生物体的影响很复杂。研究表明,辐射作为一种特殊的细胞外刺激信号,一方面使细胞内的水分子分解产生自由基或直接损伤 DNA 等靶分子,并以此作为信号分子,通过转录或转录后机制诱导一系列基因表达和生化级联反应,使信号逐级传递和放大,导致细胞结构和功能上的应答反应^[13];另一方面通过细胞膜受体包括许多细胞因子如造血因子、免疫因子^[14]及其他生长因子,通过酪氨酸蛋白激酶受体构成辐射信号转导机制的重要部分。缢蛏肉的一般营养成分的特点是蛋白质丰富、低脂肪,富含灰分和总糖。缢蛏贝肉中含有丰富的钾、钠、磷、硫等常量元素,钙、镁、铁、锌、硒、锰、铜等也较为丰富^[15,16]。研究发现硒对小鼠具有免疫促进作用及辐射保护作用^[17]。我们认为缢蛏对辐射损伤的修复效应可能与其所含的微量元素硒有关。研究报道牡蛎糖胺聚糖对过氧化氢所致的氧化损伤具有保护作用,其作用机制可能与增加细胞内超氧化物歧化酶活性有关^[18]。而辐射损伤将会使细胞内的水分子分解产生自由基,所以缢蛏对辐射损伤的修复效应另一途径可能是通过增加细胞内超氧化物歧化酶活性而实现的。但是,缢蛏对 ^{60}Co γ 射线辐照引起损伤的修复作用的具体分子机制还有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 谢 观. 中国医学大辞典, 北京: 中国中医药出版社, 1994
- [2] 荆丽艳, 刘令梅. 辐射防护药物的研究现状, *社区医学杂志*, 2004, 2(4): 29-30
- [3] 王玉贞, 刘晓萍. 扇贝多肤对辐射损伤的胸腺细胞影响作用的研究, *中国海洋药物杂志*, 2001, 84(6): 20-24
- [4] 李青选. 几种值得开发的海洋功能物质, *中国海洋药物*, 1996, 1: 42-47
- [5] 尹淑敏, 李凤谦. 牡蛎的药用, *中国药学杂志*, 1994, 29(12): 751-752
- [6] 钱晓薇, 陈吉万, 黄南平. 化工厂废水对雄性小鼠生殖毒性的影响, *浙江大学学报(理学版)*, 2004, 31(2): 326-329
- [7] 钱晓薇. 三氧化二砷(As_2O_3)对雄性小鼠的遗传毒性的研究, *细胞生物学杂志*, 2003, 25(3): 179-181
- [8] 钱晓薇, 朱睦元, 刘春蕾. 芜菁叶汁对小鼠辐射损伤的防护效应, *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2001, 27(4): 411-414
- [9] 耿勇志. 电离辐射对淋巴细胞的效应, *国外医学·放射医学核医学分册*, 1990, 14(8): 108-110
- [10] 田 琼, 杨 岚, 张发科, 等. 血小板第 4 因子对小鼠急性

- 放射损伤的防护作用与机理, *中华放射医学与防护杂志*, 2000, 20(4): 271-272
- [11] 曹明富. 茶多酚对小鼠辐射损伤的防护效应, *茶叶科学*, 1998, 18(2): 139-144
- [12] 刘叶玲, 朱莉, 韩志武, 等. 青紫薯色素保护小鼠抗⁶⁰Co γ-射线辐射所致氧化损伤的作用, *青岛大学医学院学报*, 2005, 41(1): 46-51
- [13] Gombart AF, Morosetti R, Miller CW, *et al.* Deletions of the cyclin-dependent kinase inhibitor genes p16^{INK4A} and p15^{INK4B} in non-Hodgkin's lymphomas, *Blood*, 1995, 86(4): 1534-1539
- [14] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J Immunol Methods*, 1983, 65(1-2): 55-63
- [15] 雷晓凌, 吴红棉, 范秀萍, 胡雪琼. 缙蛭肉的食品化学特性及其营养液的研制, *海洋科学*, 2004, 28(12): 4-7
- [16] 罗蔚华, 钱晓薇, 杨曙光, 张海文, 张雪娜. 乐清产缙蛭肉营养成分的研究, *江西科学*, 2006, 24(5): 360-362
- [17] 马玲, 王红梅, 全国辉, 等. 富硒胶囊对小鼠的免疫促进作用及辐射保护作用, *中国食品卫生杂志*, 2000, 12(6): 3-5
- [18] 王海桃, 刘赛, 孙福生. 牡蛎糖胺聚糖对H₂O₂所致血管内皮细胞氧化损伤的保护作用, *青岛大学医学院学报*, 2007, 43(3): 262-264

The Repairing of *Sinonovacula constricta* on Mice Irradiated by ⁶⁰Co γ-Rays

Xiao-Wei Qian*, Guo-Dong Lin, Wei-Hua Luo, Ling-Ling Li, Mei-Zhou Dong
(School of Life and Environment Science, Wenzhou University, Wenzhou 325003, China)

Abstract We studied the repairing effect of *Sinonovacula constricta* on genetic injury of ICR male mice induced by ⁶⁰Co γ-rays. Mice with 6-7 week age were irrigated respectively by 100 mg/(kg·d), 200 mg/(kg·d), and 400 mg/(kg·d) *Sinonovacula constricta* for 10 d. PCE micronucleus test and sperm deformity test were used to measure the index of spleens and chest glands, the number of karyote and the frequency of PCE micronucleus, and the frequency of sperm deformity. The result showed that the 3 different concentrations of *Sinonovacula constricta* made increase significantly the index of spleens and chest glands, the number of karyote that had been decreased by ⁶⁰Co γ-rays ($P < 0.001$). The three different concentrations of *Sinonovacula constricta* made decrease significantly the frequency of PCE micronucleus and sperm deformity decreased by ⁶⁰Co γ-rays ($P < 0.001$). The conclusion is that the test concentrations of *Sinonovacula constricta* have obvious repairing effect on the genetic injury of male mice radiated by ⁶⁰Co γ-rays.

Key words *Sinonovacula constricta*; ⁶⁰Co γ-rays; the genetic injury; repairing

Received: February 19, 2009 Accepted: June 12, 2009

This work was supported by the Foundation of Yueqing Technology Bureau (No.2004R024)

*Corresponding author. Tel: 86-577-88371046, E-mail: qianxiaowei@126.com