

紫外线对小白鼠免疫遗传的损伤效应

钱晓薇* 吴秀毅¹ 林国栋 南旭阳 罗蔚华(温州大学生命与环境科学学院, 温州 325003; ¹温州医学院第一附属医院八院病区, 温州 325000)

摘要 以 ICR 雄性小白鼠为实验动物, 以紫外线为诱变剂, 研究了紫外线对 ICR 小白鼠的免疫遗传的损伤效应。我们采用了小白鼠骨髓嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE)微核试验、小白鼠骨髓细胞染色体畸变实验等方法。通过测定小白鼠血象、血红蛋白含量、胸腺及脾指数; 小白鼠肝脏过氧化氢酶(catalase, CAT)活性; 小白鼠 PCE 的微核率、染色体畸变率等指标。结果显示, 实验照射时间及剂量的紫外线引起小白鼠胸腺指数以及脾指数明显下降, 血红蛋白含量和 CAT 的含量也都明显下降。红细胞数、白细胞数以及血小板数也明显下降。PCE 微核率以及骨髓细胞染色体畸变率均明显上升。结果说明紫外线对小白鼠的免疫系统以及遗传物质具有明显的损伤效应。

关键词 紫外线; 免疫系统; 微核率; 染色体畸变率

由于大气污染日益严重, 导致平流层中臭氧层破坏, 削弱了大气层对太阳光中紫外线的屏障作用, 紫外线对皮肤的损害也日益加重。这些损害作用包括通常所指的光敏性皮肤病和某些仅是在其发生发展过程中为日光促发或加重的皮肤病, 从产生轻微的皮肤美容问题直到使皮肤过早衰老甚至癌变。紫外线对皮肤光老化作用在病因学上与皮肤癌有密切关系^[1,2]。过量紫外线可致使机体免疫受到抑制, 降低免疫系统对抑制癌症发生的监督作用。紫外线是一种非电离射线, 具有多种生物学效应。关于紫外线对 DNA 损伤、以及对某些癌细胞凋亡机制的研究, 国内外报道甚多^[3-6]。但关于紫外线对小白鼠的损伤效应研究较少。为此我们以 ICR 小白鼠为实验动物研究紫外线的损伤效应。

1 材料与方法

1.1 材料

ICR 雄性小白鼠体重(30±2) g, 周龄周, 购于温州医学院实验动物中心。饲养于温州医学院实验动物中心 SPF 级实验室, 专人管理。紫外照射光源由苏州净化设备有限公司生产的 SW-CJ-2F 双人双面净化工作台的紫外灯提供, 照射功率 30 W。血红蛋白试剂盒由上海容盛生物技术有限公司提供。考马斯亮兰试剂盒、CAT 试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 分组及处理 ICR 雄性小白鼠总共 100 只,

随机分为 5 组, 每组 20 只。实验组 I (阴性对照组), 组 II、组 III、组 IV、组 V 均为紫外线实验组。紫外线全身照射小白鼠, 以苏州净化设备有限公司生产的 SW-CJ-2F 双人双面净化工作台的紫外灯为照射光源, 紫外灯照射频率为 30 W, 高度是 70 cm, 有效空间为 20 m³ (每 1.5 W 的有效空间为 1 m³)。有效工作时间为 3 000~8 000 h, 实验时其工作时间大约为 2 000 h 左右。每天 1 次。按 10 ml/kg 体重剂量每天灌以生理盐水, 每天 1 次。实验共 10 天。实验分组及处理详见表 1。

1.2.2 实验方法 小白鼠胸腺指数、脾脏指数以及血象的测定采用文献^[7]方法; 血红蛋白含量的测定、肝脏过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的测定: 均按试剂盒说明书进行; 小白鼠骨髓嗜多染红细胞(polychromatic erythrocyte, PCE)微核率的测定采用文献^[8]方法; 小白鼠骨髓细胞染色体畸变率的测定按文

Table 1 Grouping and treating

Group	Ig (10 ml/kg/1 time/d)	UV irradiation time (min)
I (Control)	Normal saline	0
II	Normal saline	10
III	Normal saline	20
IV	Normal saline	30
V	Normal saline	35

收稿日期: 2009-10-13 接受日期: 2010-03-11

温州市科技局科研基金(No.N2006A004)和温州市鹿城区科技局科研基金(No.S060105)资助项目

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

Table 2 Effect of UV on the thymus index and spleen index of mice

Group	Chest glands		Spleens	
	Weight (mg)	Index (mg/10gBW)	Weight (mg)	Index (mg/10gBW)
I (Control)	49.54±3.25	14.42±0.51	100.35±5.59	29.24±0.97
II	45.22±3.49**	13.94±0.87	94.92±2.99*	29.28±0.71
III	45.63±3.93**	13.87±0.57	92.35±4.44**	28.14±1.34*
IV	38.68±1.88***	12.38±0.38***	82.05±2.86***	26.28±1.21***
V	32.12±2.24***	10.03±0.61***	81.82±3.30***	25.57±0.88***

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, compared with control group; BW: body weight.

献^[9]进行。

1.2.3 统计方法 采用 SPSS12.0 统计软件进行方差分析。

2 结果

2.1 紫外线对小白鼠胸腺及脾脏的影响

从表 2 可看出: 4 个实验组的胸腺重量均明显低于组 I (对照组) ($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。4 个实验组组间比较: 组 III 的胸腺重量略高于组 II, 但差异不显著 ($P>0.05$); 组 IV 的胸腺重量则明显低于组 III ($P<0.001$)、组 V 的明显低于组 IV ($P<0.001$)。4 个实验组的胸腺指数均低于组 I (对照组), 组 II、组 III 的胸腺指数与组 I (对照组) 差异不显著 ($P>0.05$), 组 IV、组 V 的胸腺指数均明显低于组 I (对照组) ($P<0.001$)。4 个实验组组间比较: 组 III 的胸腺指数低于组 II, 但差异不显著 ($P>0.05$); 组 IV 的胸腺指数明显低于组 III ($P<0.001$)、组 V 的明显低于组 IV ($P<0.001$)。4 个实验组的脾脏重量均明显低于组 I (对照组) ($P<0.05$ 或 $P<0.01$ 或 $P<0.001$)。4 个实验组组间比较: 组 III 的脾脏重量低于组 II, 但差异不显著 ($P>0.05$); 组 IV 的脾脏重量明显低于组 III ($P<0.001$); 组 V 的略低于组 IV, 但差异不显著 ($P>0.05$)。组 II 的脾指数与组 I (对照组) 差异不显著 ($P>0.05$), 组 III、组 IV、组 V 的脾指数均明显低于组 I (对照组) ($P<0.05$, $P<0.001$)。4 个实验组组间比较: 组 III 的脾指数明显低于组 II ($P<0.05$); 组 IV 的脾指数明显低于组 III ($P<0.001$); 组 V 的略低于组 IV, 但差异不显著 ($P>0.05$)。

2.2 紫外线对小白鼠血象及血红蛋白的影响

从表 3 可见: 4 个实验组的红细胞数均明显低于对照组 ($P<0.001$)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的红细胞数明显低于组 II ($P<0.05$); 组 IV 的红细胞数明显低于组 III ($P<0.01$); 组 V 的红细胞数明显低于组 IV ($P<0.001$)。

4 个实验组的白细胞数均明显低于对照组 ($P<$

Table 3 Effect of UV on hemogram of mice

Group	RBC ($\bar{x} \pm s$) ($\times 10^{12}/L$)	WBC ($\bar{x} \pm s$) ($\times 10^9/L$)	PT ($\bar{x} \pm s$) ($\times 10^9/L$)
I (Control)	12.3±0.95	7.8±0.79	189.0±0.99
II	9.20±0.79***	6.20±0.79***	153.0±0.95***
III	8.30±0.82***	5.10±0.74***	143.0±0.95***
IV	7.20±0.79***	4.40±0.70***	134.0±1.07***
V	5.20±0.79***	3.90±0.88***	106.0±0.97***

*** $P<0.001$, compared with control group; RBC: red blood cell; WBC: white blood cell; PT: platelet.

Table 4 Effect of UV on hemoglobin of mice

Group	Observation mice	Haematoglobin ($\bar{x} \pm s$) (g/L)
I (Control)	10	163.87±5.10
II	10	143.29±4.82***
III	10	124.79±3.86***
IV	10	120.55±5.77***
V	10	102.08±4.02***

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

0.001)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的白细胞数明显低于组 II ($P<0.01$); 组 IV 的白细胞数明显低于组 III ($P<0.05$); 组 V 的白细胞数明显低于组 IV ($P<0.001$)。

4 个实验组的血小板数均明显低于对照组 ($P<0.001$)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的血小板数明显低于组 II ($P<0.05$); 组 IV 的血小板数低于组 III, 但差异不显著 ($P>0.05$); 组 V 的血小板数明显低于组 IV ($P<0.001$)。

从表 4 可见: 4 个实验组的血红蛋白含量均明显低于对照组 ($P<0.001$)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的血红蛋白含量明显低于组 II ($P<0.001$); 组 IV 的血红蛋白含量低于组 III, 但差异不显著 ($P>0.05$); 组 V 的血红蛋白含量明显低于组 IV ($P<0.001$)。

2.3 紫外线对小白鼠肝脏 CAT 活性的影响

从表 5 可见: 4 个实验组的 CAT 含量均明显低于对照组 ($P<0.001$)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的 CAT 含量明显低于组 II ($P<0.05$); 组 IV 的 CAT 含量明显低

Table 5 Effect of UV on CAT activity of mice

Group	Observation mice	CAT ($\bar{x} \pm s$) (U/mg)
I (Control)	10	134.43±8.85
II	10	115.59±8.92***
III	10	105.87±9.15***
IV	10	94.93±6.77***
V	10	82.17±6.31***

*** $P < 0.001$, compared with control group.**Table 6 Effect of UV on PCE micronucleus frequency of mice**

Group	Observation the total of PCE	PCE with micronucleus	MNCF of PCE ($\bar{x} \pm s$) (%)
I (Control)	1 0000	18	1.80±0.79
II	1 0000	49	4.90±0.74***
III	1 0000	76	7.60±0.97***
IV	1 0000	91	9.10±0.88***
V	1 0000	114	11.40±1.65***

*** $P < 0.001$, compared with control group.**Table 7 Effect of UV on hemoglobin of mice**

Group	Observation cell of metaphase	Cell with chromosome aberration	Frequency of chromosome aberration ($\bar{x} \pm s$) (%)
I (Control)	1 000	34	3.40±0.84
II	1 000	62	6.20±0.79***
III	1 000	74	7.40±0.84***
IV	1 000	108	10.80±1.03***
V	1 000	172	17.20±1.43***

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

于组 III、组 V 的 CAT 含量明显低于组 IV ($P < 0.01$)。

2.4 紫外线对小白鼠骨髓 PCE 微核率的影响

从表 6 可见: 4 个实验组的 PCE 微核率均明显高于对照组 ($P < 0.001$)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的 PCE 微核率明显高于组 II ($P < 0.001$); 组 IV 的 PCE 微核率明显高于组 III ($P < 0.01$); 组 V 的 PCE 微核率也明显高于组 IV ($P < 0.001$)。

2.5 紫外线对小白鼠骨髓细胞染色体畸变率的影响

由从表 7 可看出: 4 个实验组的骨髓细胞染色体畸变率均明显高于对照组 ($P < 0.001$)。4 个实验组的组间比较: 组 III 的骨髓细胞染色体畸变率明显高于组 II ($P < 0.01$); 组 IV 的骨髓细胞染色体畸变率明显高于组 III ($P < 0.001$); 组 V 的骨髓细胞染色体畸变率也明显高于组 IV ($P < 0.001$)。

3 讨论

3.1 紫外线对小白鼠免疫系统的影响

表 2 可见: 4 个处理时间的紫外线均能使小白鼠

的胸腺重量、脾脏重量明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。30 min、35 min 紫外线处理能使胸腺指数明显下降 ($P < 0.001$), 20 min、30 min、35 min 紫外线处理均能使脾指数明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$)。结果说明实验处理时间的紫外线能明显引起小白鼠胸腺、脾脏的损伤。通过诱导调节性 T 细胞以抗原特异性的方式抑制免疫系统是紫外线抑制免疫系统的主要机制之一。研究提示紫外线辐射引起的系统免疫抑制可能通过激活皮肤引流淋巴结中的 B 细胞进而抑制 T 细胞^[10]。所以将会使胸腺指数下降。

表 3、表 4 显示 4 个处理时间的紫外线均能使小白鼠外周血的红细胞数、白细胞数、血小板数、以及血红蛋白含量明显下降 ($P < 0.001$)。且有明显的剂量效应。

4 个处理时间的紫外线也均能使小白鼠肝脏 CAT 含量明显下降 (见表 5, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 具有明显的剂量效应。说明实验处理时间的紫外线能使小白鼠 CAT 活性下降。CAT 是机体的抗氧化酶之一, 是构成防止活性氧损伤的有效防御体系的成分之一。CAT 主要存在于细胞的过氧化体中, 是一种以铁卟啉为辅基的酶, 属于血红蛋白酶, CAT 中含有巯基, 在维持酶的分子结构与结合辅基方面起重要作用^[11,12]。研究表明 UV-B 使小麦的 CAT 活性降低^[13]。紫外线可通过多种途径抑制免疫系统, 其机制涉及细胞水平与分子水平, 其中分子水平的损伤是细胞水平损伤的基础, 二者又可相互作用^[14,15]。

3.2 紫外线对小白鼠骨髓遗传物质的影响

从表 6、表 7 可见: 4 个实验处理时间的紫外线均能诱发高频率的 PCE 微核率和骨髓细胞染色体畸变率 (与对照组比较, $P < 0.001$), 且微核率、染色体畸变率均随着紫外线处理时间的延长而增加, 具有明显的剂量效应。这说明实验处理时间的紫外线能引起骨髓细胞有丝分裂过程中的个别染色体活动异常或染色体断裂。从而导致 PCE 微核率及染色体畸变率的上升。

在紫外线损伤的许多靶组织中, 以环丁烷嘧啶二聚物 (cyclobutane pyrimidine dimers, CPD) 形式发生的 DNA 损伤是其损伤的分子基础, DNA 碱基吸收紫外线光子导致单链中相邻嘧啶碱基间形成两种主要的二聚体光合物^[16]。从而导致染色体的损伤。

我们的实验结果表明该实验剂量的紫外线对 ICR 雄性小白鼠的免疫系统以及遗传物质造成损伤作用, 其详细机制有待于进一步的研究。

参考文献(References)

- 1 Bray GA, York DA. Clinical review 90: Leptin and clinical medicine: a new piece in the puzzle of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(9): 2771-6.
- 2 Moriya M, Okumura T, Takahashi N, Yamagata K, Motomura W, Kohgo Y. An inverse correlation between serum leptin levels and hemoglobin A1c in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetic Rec Clin Pract* 1999; 43(3): 187-91.
- 3 倪建, 华周华, 戴修道. 长波紫外线对人皮肤成纤维细胞DNA的损伤. *中华劳动卫生职业病杂志* 2002; 20(6): 471.
- 4 陈向齐, 刘向农, 牛高祥. 中波紫外线对人永生表皮细胞株凋亡和死亡的影响. *中国麻风皮肤病杂志* 2008; 24(2): 118-20.
- 5 Reiss K, Maretzky T, Haas IG, Schulte M, Ludwig A, Frank M, *et al.* Regulated ADAM10-dependent ectodomain shedding of gamma-protocadherin C3 modulates cell-cell adhesion. *J Biol Chem* 2006; 281(31): 21735-44.
- 6 Hakulinen J, Junnikkala S, Sorsa T, Meri S. Complement inhibitor membrane cofactor protein (MCP; CD46) is constitutively shed from cancer cell membranes in vesicles and converted by a metalloproteinase to a functionally active soluble form. *Eur J Immunol* 2004; 34(9): 2620-9.
- 7 汪谦. 现代医学实验方法, 北京: 人民卫生出版社, 1997.
- 8 钱晓薇, 罗蔚华. 乙酸铜对雄性小白鼠生殖毒性的影响. *细胞生物学杂志* 2007; 29(3): 439-43.
- 9 钱晓薇, 朱睦元, 许成武, 孔小映. 芜菁叶汁对环磷酰胺致小白鼠突变的拮抗作用. *浙江大学学报(理学版)* 2003; 30(1): 89-92.
- 10 Byrne SN, Halliday GM. B cells activated in lymph nodes in response to ultraviolet irradiation or by interleukin-10 inhibit dendritic cell induction of immunity. *J Invest Dermatol* 2005; 124(3): 570-8.
- 11 沈世杰. 郁金挥发油化学成分的研究. *中草药* 1997; 28(1): 10-3.
- 12 郭明, 徐亚丽, 刘明. 几种农药对棉花过氧化氢酶活性影响. *农业环境保护* 2001; 20(1): 10-2.
- 13 Ambasht NK, Agrawal M. Effects of enhanced UV-B radiation and tropospheric ozone on physiological and biochemical characteristics of field grown wheat. *Biologia Plantarum* 2003; 47(4): 625-8.
- 14 张波, 刘承芸, 孟紫强. 二氧化硫吸入对小白鼠各脏器过氧化氢酶活性的影响. *环境与职业医学* 2003; 20(1): 10-2.
- 15 杨桂兰, 郑家润. 紫外线抑制免疫系统研究进展. *国际皮肤性病杂志* 2006; 32(4): 231-4.
- 16 Yarosh DB. DNA repair, immunosuppression, and skin cancer. *Cutis* 2004; 74(5 Suppl): 10-3.

The Damage Effect of UV on Immunogenetics of White Mice

Xiao-Wei Qian*, Xiu-Yi Wu¹, Guo-Dong Lin, Xu-Yang Nan, Wei-Hua Luo

(School of Life and Environment Science, Wenzhou University, Wenzhou 325000, China; ¹The Eighth Infected Patch of The First Attached Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

Abstract We studied the damage effect of UV on immunogenetics of ICR male white mice. We used polychromatic erythrocyte (PCE) micronucleus test and chromosome aberration to measure hemogram, haematoglobin, the index of spleens and chest glands, the activity of catalase (CAT), the frequency of polychromatic erythrocyte micronucleus and the frequency of chromosome deformity. The result showed that after UV of test treating time and dose on mice, the index of spleens and chest glands the content of haematoglobin and catalase had decreased, the number of red blood cell, white blood cell and platelet decreased too, while the frequency of PCE micronucleus and chromosome deformity increased. The conclusion is that UV has obvious damage effect on the immune system and germ plasm.

Key words UV; immune system; micronucleus frequency; chromosome deformity

Received: October 13, 2009 Accepted: March 11, 2010

This work was supported by the Foundation of Wenzhou Technology Bureau (No.N2006A004) and the Foundation of Lucheng Technology Bureau (No.S060105)

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