

CNIC-00408

(SMC-0044)

CN9101704

# 中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

裂片 $^{147}\text{Pm}$ 在睾丸滞留诱发精子

畸形和基因突变效应

STUDY ON THE ABNORMALITIES IN SPERM

AND GENE MUTATION INDUCED BY

RETENTION OF  $^{147}\text{Pm}$  IN TESTIS

(In Chinese)



原子能出版社

中国核情报中心

China Nuclear Information Centre

CNIC-00408

SMC-0044

# 裂片 $^{147}\text{Pm}$ 在睾丸滞留诱发精子 畸形和基因突变效应\*

朱寿彭 伦明跃 杨淑琴

(苏州医学院)

## 摘 要

实验中观察了当机体摄入不同放射性活度的重核裂片 $^{147}\text{Pm}$ 时,在睾丸中的滞留过程诱发精子畸形效应以及基因突变效应。实验结果发现,当 $^{147}\text{Pm}$ 由静脉摄入机体 $3.7 \times 10^2 \sim 1.85 \times 10^5 \text{Bq/g}$ 后在持续50d的观察中,可在BALB/C小白鼠睾丸中受到 $6.95 \times 10^{-2} \sim 2.25 \text{Gy}$ 的 $\beta$ 粒子辐照。且其诱发基因突变的放射遗传毒理效应可随睾丸受照剂量的加大而增升,引起活胎率下降,胚胎吸收数增加。至于显性骨骼突变发生率与睾丸中 $^{147}\text{Pm}$ 累积吸收剂量间呈正相关,其关系式为: $B=20.68+35.48D$ ;而在诱发精子畸形观察中,其量效关系式为: $S=10.8705D^{0.5224}+3.1768$ 。

**STUDY ON THE ABNORMALITIES IN SPERM AND  
GENE MUTATION INDUCED BY RETENTION  
OF  $^{147}\text{Pm}$  IN TESTIS**

*(In Chinese)*

Zhu Shoupeng Lun Mingyue Yang Shuqin

(SUZHOU MEDICAL COLLEGE)

**ABSTRACT**

The purpose of the present study was to ascertain  $^{147}\text{Pm}$  retention in testis and its radiogenotoxicological effects of gene mutation through varying radioactivities of internal exposure. Especially the accumulation of  $^{147}\text{Pm}$  in testis induces the dominant lethal, dominant skeletal mutation and abnormalities in sperm. Studies indicated that the cumulative absorption dose in testis increases as the internal exposure of  $^{147}\text{Pm}$  increases. The internal exposure of  $^{147}\text{Pm}$  can destroy the genetic materials and raise the rates of dominant lethal and dominant mutation of skeletal abnormalities in the offspring. The relationship between the rate of dominant skeletal mutation ( $B$ ) and accumulated radioactivities of  $^{147}\text{Pm}$  ( $D$ ) in testis can be described by a linear equation that is  $B=20.68+35.48 D$ . The relationship between abnormalities of the sperm and the cumulative dose from  $^{147}\text{Pm}$  in testis can be expressed by the following equation,  $S=10.8705 D^{0.6224}+3.1768$ .

# 前言

在放射医学领域中,对一些在核动力装置运转过程中以及在核试验中存出的重要裂变产物进入人体时,所诱发的生殖细胞基因突变效应,亟待阐明<sup>[1]</sup>。考虑到裂变<sup>239</sup>Pu为纯β辐射体核素,因而在夜光涂料中,目前多采用<sup>239</sup>Pu来代替<sup>226</sup>Ra作为激发能源<sup>[2]</sup>。<sup>239</sup>Pu在核辅助动力装置系统中亦广泛应用,从而增加了其污染环境 and 摄入人体的可能性。我们过去的研究发现,<sup>239</sup>Pu是一个诱变剂,可诱发体细胞染色体畸变,且畸变率与机体摄入<sup>239</sup>Pu的放射性活度呈正相关<sup>[3]</sup>。鉴于<sup>239</sup>Pu能诱发体细胞的染色体畸变,因此有必要进一步研究该放射性裂变核素对后代的影响。为此,本文探讨了不同放射性活度的<sup>239</sup>Pu在机体睾丸中的滞留过程,诱发显性致死和显性骨骼突变,以及精子畸形效应的规律。

## 1 实验方法

实验选用放射纯和化学纯的<sup>239</sup>Pu硝酸盐溶液,其比放射性为 $1.75 \times 10^3 \text{ MBq/mL}$ 。研究中选用体重为 $22 \pm 1.7 \text{ g}$ 的BALB/C纯品系雄性成年小白鼠30只和体重在23g左右的BALB/C雌性成年小白鼠90只,共分成6组:包括1个对照组和5个实验组,每组含5只雄鼠和15只雌鼠。实验各组由小白鼠尾静脉注入<sup>239</sup>Pu,放射性活度依次分别为 $3.7 \times 10^1$ 、 $3.7 \times 10^2$ 、 $3.7 \times 10^3$ 、 $9.25 \times 10^4$ 和 $1.85 \times 10^5 \text{ Bq/g}$ (体重)。对照组注入等容积的生理盐水,雄鼠在注入<sup>239</sup>Pu后第13d起与雌鼠以1:2的比例交配,直至第50d交配结束,将雄鼠处死,测定在睾丸中的放射性活度和制备精子标本。在交配期间,早晚各一次观察记录标志雌鼠受孕的阴性,并定期观察雌鼠的体重变化,在受孕后的第18~20d将孕鼠处死。

### 1.1 雌鼠睾丸中<sup>239</sup>Pu的放射性活度测定

将雄鼠由动脉放血处死后,随即剖出睾丸组织,称取50mg,经高氯酸消化和过氧化氢脱色处理后,加入助溶剂乙二醇乙醚和匀后,即可得到无色透明液,再加入0.6%的PPO-甲苯闪烁液,即可制成均匀液体闪烁测量标本,用Beckman液闪测量装置按最佳测量条件作β放射性活度测定,观察标本经过淬灭校正后,换算成Bq/g表示,机体摄入不同放射性活度的<sup>239</sup>Pu后50d在睾丸中的累积吸收剂量的计算公式为<sup>[4]</sup>:

$$D = 1.6 \times 10^{-10} (Ut) \cdot \frac{\sum Y \cdot E \cdot AF(T-S)}{MT}$$

$$\text{其中 } (Ut) = \int_0^t q(t) dt = q_0 \cdot \int_0^t R(t) dt$$

式中,  $D$ ——50d时在睾丸组织中的累积吸收剂量, Gy;

$Y$ ——β辐射产额, 其值为1;

$E$ ——β粒子平均能量, 其值为 $0.07 \text{ MeV}^{[5]}$ ;

$AF(T-S)$ ——吸收系数, 其值为1;

$MT$ ——组织重量, g;

$q_0$ ——初始组织负荷量;

$R(t)$ ——滞留函数。

## 1.2 精子标本制备

解剖处死雄鼠,取出附睾,放入盛有1mL生理盐水的小平皿中,用眼科剪将附睾组织剪碎,玻璃棒轻搅,静置15min后,可取4层滤纸滤除组织碎片<sup>[6]</sup>,然后吸取上清液,滴在洁净载玻片上制成涂片。阴干后,用纯甲醇固定,配制2% Eosin Y染色1h,冲洗后待干,即可镜检观察分析每只小白鼠计1000个精子,计算畸形精子的发生率。

## 1.3 显性致死突变观察

孕鼠处死后,剖出子宫,观察记录每只孕鼠的子宫两侧中早期死亡结节数和晚期死亡胚胎数,以及活胎数。

## 1.4 显性骨髓突变观察

将胚胎用清水淋洗后,取滤纸吸干体表水分,经95%乙醇固定,1%KOH脱色,然后配制0.05%茜素红染色,乙醇-甘油-KOH透明液透明,获得骨髓染色标本,分析观察胚胎的骨髓数目及形态的异常。

# 2 实验结果

## 2.1 机体摄入不同放射性活度<sup>147</sup>Pm后50d在睾丸中的沉积量和累积吸收剂量

在机体经尾静脉摄入不同放射性活度<sup>147</sup>Pm后持续50d的观察中,发现在睾丸中的<sup>147</sup>Pm滞留量与摄入放射性活度的大小呈动态的相关,见表1,并观察到在给予低放射性活度<sup>147</sup>Pm的情况下,睾丸中<sup>147</sup>Pm的沉积程度和估算所得的累积吸收剂量均比较近似,约为 $10^{-2}$ Gy左右。但随着摄入<sup>147</sup>Pm放射性活度的增加,在睾丸组织中的<sup>147</sup>Pm沉积量也呈相应增高,导致在该部位的累积吸收剂量明显增大。

表1 机体经尾静脉摄入不同放射性活度<sup>147</sup>Pm后50d在睾丸中的沉积量和累积吸收剂量

<sup>147</sup> Pm, Bq/g	观察 小白鼠数	持续50d时睾丸中 <sup>147</sup> Pm沉积量,Bq/g	持续50d时在睾丸中 的累积吸收剂量,Gy
$3.7 \times 10^2$	5	$1.2 \times 10^3$	$6.9 \times 10^{-2}$
$3.7 \times 10^3$	5	$1.1 \times 10^3$	$6.5 \times 10^{-2}$
$3.7 \times 10^4$	5	$1.8 \times 10^3$	$1.7 \times 10^{-1}$
$9.95 \times 10^4$	5	$6.3 \times 10^3$	$3.7 \times 10^{-1}$
$1.85 \times 10^5$	5	$3.9 \times 10^4$	2.2

## 2.2 基因突变的显性致死突变效应观察

当摄入不同放射性活度<sup>147</sup>Pm的5个实验组和相应对照组的雄性小鼠与成年处女雌小鼠交配后的显性致死突变效应的发生时(见表2),观察到随着摄入<sup>147</sup>Pm放射性活度的增加以及睾丸在至雌鼠受孕时受到的累积吸收剂量的加大,其反映雄性生殖细胞遗传物质损伤的植入死亡发生率也随之增大,表现在胚胎吸收数增高和活胎数下降,尤其是在受<sup>147</sup>Pm高放射性活度的作用下,每只孕鼠的植入死亡胚与对照组相比都呈现出非常显著的差异。图1中所示,为雄鼠摄入 $1.85 \times 10^5$ Bq/g的<sup>147</sup>Pm后与雌鼠交配受孕期间所呈现的早期死亡结节(A)和晚期死亡胚胎(B)。

表2 雄性小鼠静脉注入不同放射性活度<sup>137</sup>Pm后与成年雌鼠交配后的显性致死突变发生率

<sup>137</sup> Pm, Bq/g	受孕♀	授精♂	活胎数	植入死亡胚	植入死亡胚	怀有植入死亡胚的 孕鼠/受孕鼠	怀有二个以上 植入死亡胚 孕鼠/受孕鼠
	交配♀	交配♂	受孕♀	受孕♀	植入胚		
0	0.83	1.0	7.0	0.63	0.08	0.60	0.13
3.7×10 <sup>2</sup>	0.80	0.8	6.5	1.00	0.13	0.71	0.14
3.7×10 <sup>3</sup>	0.70	1.0	7.0	1.00	0.13	0.57	0.29
3.7×10 <sup>4</sup>	0.71	1.0	6.5	0.88	0.12	0.88	0
9.85×10 <sup>4</sup>	0.67	1.0	7.1	1.00	0.12	0.57	0.29
1.85×10 <sup>5</sup>	0.72	1.0	6.8	1.70**	0.29*	1.00	0.44

\*\*P<0.01, \*P<0.05



图1 显性致死突变, ×20

A—早期死亡胎儿; B—晚期死亡胚胎。



图2 胚鼠骨骼多肋突变, ×10

A—正常骨骼; B—双侧多肋突变。

### 2.3 显性骨骼突变发生观察

对受<sup>137</sup>Pm内污染的雄鼠与雌鼠交配怀孕后的胚鼠进行骨骼检查表明:显性骨骼突变发生率引起骨骼的改变主要为双侧多肋、单侧多肋和点状肋。图2为雄鼠静脉注入 $9.85 \times 10^4$  Bq/g<sup>137</sup>Pm后与雌鼠交配怀孕的胚鼠骨骼双侧多肋突变图;图3、图4分别为雄鼠静脉注入 $1.85 \times 10^5$  Bq/g<sup>137</sup>Pm后与雌鼠交配怀孕的胚鼠骨骼单侧多肋及点状肋突变图。



图3 胚鼠骨骼单侧多肋突变, ×10

A—正常骨骼; B—单侧多肋突变



图4 胚鼠骨骼点状肋突变, ×10

A—正常骨骼; B—点状肋突变

骨髄突变发生率在引入低放射性活度的 $^{147}\text{Pm}$ 各实验组有增升趋势,尤其当引入 $^{147}\text{Pm}$ 的放射性活度高于 $9.95 \times 10^4 \text{Bq/g}$ 时,即与对照组呈现出显著或非常显著的差异(如表3中所示)。骨髄突变发生率 $B$ 与雌鼠受孕时雄鼠睾丸中 $^{147}\text{Pm}$ 累积吸收剂量 $D$ 的关系呈正相关(见图5),其关系式为

$$B = 20.67 + 35.48D$$

表3 雌鼠小鼠的胎体入不同放射性活度 $^{147}\text{Pm}$ 后与成年雌鼠受孕后的骨髄骨髄突变发生率

$^{147}\text{Pm}$ , Bq/g	睾丸中原累积吸收 剂量, Gy	胚胎总数	发生不同骨髄突变的胚数			骨髄突变发生率, %
			单侧多胎	双侧多胎	点状胎	
0	0	56	2	8	—	18.18
$3.7 \times 10^2$	$3.9 \times 10^{-2}$	43	2	6	—	18.60
$3.7 \times 10^3$	$3.6 \times 10^{-2}$	49	1	6	—	14.29
$3.7 \times 10^4$	$7.7 \times 10^{-2}$	61	1	12	—	21.31
$9.95 \times 10^4$	$2.6 \times 10^{-1}$	86	2	29	1	48.48**
$1.85 \times 10^5$	1.6	68	6	44	—	73.53**

\*\* $P < 0.01$

其相关指数 $R$ 为0.92。

#### 2.4 精子畸形发生观察

在受 $^{147}\text{Pm}$ 内污染的机体中,观察到可诱发精子畸形,表4列出了摄入不同放射性活度的 $^{147}\text{Pm}$ 后50d阶段在睾丸组织的累积吸收剂量与所观察到的精子畸形发生率的相关关系,发

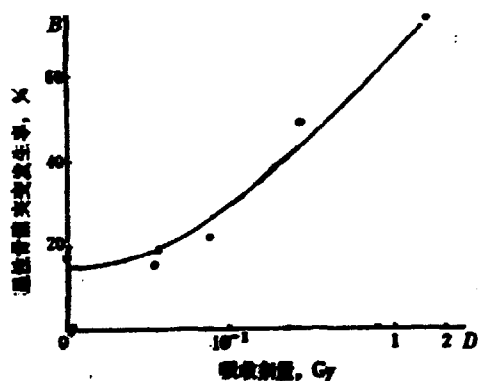


图5  $B$ 与 $D$ 间正相关曲线

现当 $^{147}\text{Pm}$ 在睾丸中的累积吸收剂量较低时,所诱发的精子畸形主要是无钩精子(见图6)。而随着睾丸中累积吸收剂量的增升,此时 $^{147}\text{Pm}$ 内照射所诱发的畸形精子以无定形为多(图7),也会出现双头双尾(图8)和双尾(图9)精子畸形,至于精子畸形发生率 $S$ 与 $^{147}\text{Pm}$ 在睾丸中50d的累积吸收剂量 $D$ 的关系如图10所示,可用下列关系式表示

$$S = 10.8705D^{0.6224} + 3.1768$$

其相关指数 $R$ 为0.98。

表4 机体摄入不同放射性活度<sup>137</sup>Pm后50d后  
在睾丸组织的原核吸收剂量与精子畸形发生率的关系

<sup>137</sup> Pm, Bq/g	睾丸中原核吸收剂量, Gy	观察精子数	畸形精子数				
			无钩	无定形	香蕉形	其它	总计
0	0	5131	28	58	7	70	163
$3.7 \times 10^2$	$6.9 \times 10^{-2}$	5125	72	45	28	145	270**
$3.7 \times 10^3$	$6.5 \times 10^{-2}$	4004	37	44	16	145	243**
$3.7 \times 10^4$	$1.7 \times 10^{-1}$	5129	66	147	65	131	409**
$9.85 \times 10^4$	$3.7 \times 10^{-1}$	5389	98	305	65	57	565**
$1.85 \times 10^5$	2.2	4122	123	537	39	57	756**

\*\* P < 0.01

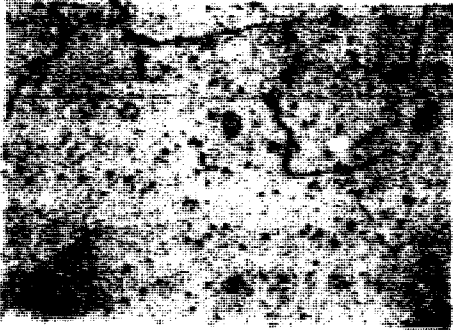


图6 机体摄入<sup>137</sup>Pm $3.7 \times 10^2$  Bq/g后  
50d诱发无钩精子畸形,  $\times 100$



图7 机体摄入<sup>137</sup>Pm $9.85 \times 10^4$  Bq/g后  
50d诱发无定形精子畸形,  $\times 100$



图8 机体摄入<sup>137</sup>Pm $1.85 \times 10^5$  Bq/g  
后50d诱发双头双尾精子畸形,  $\times 100$

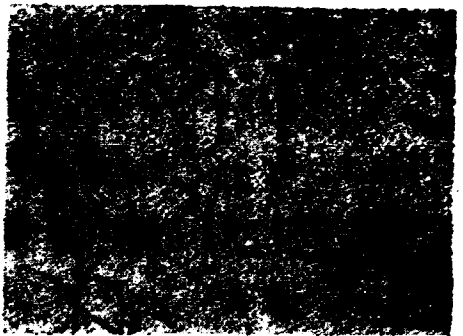


图9 机体摄入<sup>137</sup>Pm $3.7 \times 10^3$  Bq/g  
后50d诱发双尾精子畸形,  $\times 100$



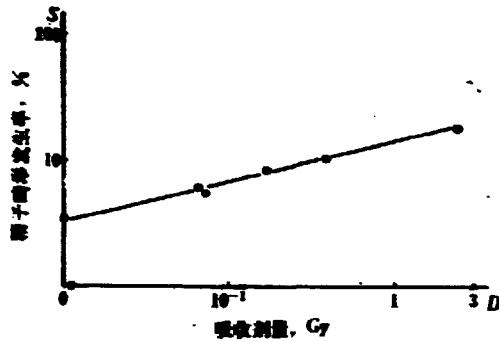


图10 S与D相关关系曲线

### 3 讨论

研究表明, 重核裂片 $^{147}\text{Pm}$ 是一个诱变剂, 可诱发骨髓细胞和肝细胞的染色体畸变效应, 且其畸变率可随摄入 $^{147}\text{Pm}$ 放射性活度的加大而增高<sup>[7-9]</sup>。应该指出的是, 体细胞的染色体畸变只引起机体本身的损伤, 但不传递到后代, 而从遗传危险角度来考虑<sup>[10]</sup>, 有必要观察探讨裂片 $^{147}\text{Pm}$ 对生殖细胞诱发的基因突变效应。

研究发现, 当裂片 $^{147}\text{Pm}$ 摄入机体后, 一方面可在雄性生殖器官睾丸中滞留, 对该组织进行持续性辐照, 其累积吸收剂量就逐步增大; 而另一方面, 由于雄性生殖细胞生长增殖活动旺盛, 发育连续性好, 从而导致 $^{147}\text{Pm}$ 除可引起某阶段生殖细胞本身遗传物质的损伤, 还可具有由其前身细胞遗传下来的放射遗传毒理效应, 因而观察到可诱发精子畸形, 而且精子畸形的发生率亦可随着 $^{147}\text{Pm}$ 在睾丸中累积吸收剂量的加大而呈显著增升, 并可相应的导致基因突变效应。基因是在染色体上呈线性排列, 储有遗传信息的遗传单位, 是由亲代到子代起遗传信息传递作用的超微结构, 按分子生物学的观点看, 基因突变是DNA碱基顺序中基因信息的改变, 呈现在子代的显性致死突变和显性骨骼突变的放射遗传毒理效应。基因突变除引起显性致死外, 还可引起遗传性疾病, 因此, 从辐射防护的角度来考虑, 对从事裂片 $^{147}\text{Pm}$ 操作的职业工作者来说, 必须充分重视摄入量限值的控制。

### 参 考 文 献

- [1] 朱海影等, 放射毒理学, 第1版, 原子能出版社, 北京, 306~312, 1983.
- [2] Kraus W., Dosimetry in single lung cells by means of microautoradiographic activity measurements, *Physics in Medicine and Biology*, 21(5): 813, 1976.
- [3] 朱海影等, 中华预防医学杂志, 20(5): 283, 1986.
- [4] 李士俊等, 电离辐射剂量学, 第1版, 原子能出版社, 北京, 224~228, 1981.
- [5] ICRP Publication 2, Report of Committee 2 on Permissible Dose for Internal Radiation, 168, 1960.
- [6] Zhu Shoupeng et al., Abstracts of International symposium on Biological Effects of low level Radiation, Nanjing, 85~88, 1986.
- [7] Zhu Shoupeng et al., Study on the metabolic peculiarity of fission product  $^{147}\text{Pm}$  and its

mutagenic effect on body cells IAEA/HPRA.12.85.1985.

- [8] 朱寿康等.中华预防医学杂志.23(3):108.1989.
- [9] 朱寿康等.辐射研究与辐射工艺学报.6(3):22.1988.
- [10] Zhu Shoukang et al., Maternal deposition, perinatal uptake of  $^{239}\text{Pu}$  and chromosome aberrations induced in fetal liver and spleen, Abstracts of International Conference on Biological Effects of Large Dose Ionizing and Non-ionizing Radiation, Hangzhou, 111-112. 1988.

# CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT



ISBN 7-5022-0315-X

TL · 136

P.O.Box 2103

Beijing, China

**China Nuclear Information Centre**