

电离辐射与血细胞微核率

卫生部工业卫生实验所 白玉书综述

军事医学科学院 朱士葆 审

通过生物学方法估计人员所受的辐射剂量和判断损伤程度,过去已进行了大量的动物实验和系统的临床观察,其中包括受照者早期出现的某些症状,外周血及骨髓细胞量和质的改变、血细胞组织化学变化,测定尿中某些代谢产物的含量等等。自从 Karl Sax (1938) 研究植物细胞染色体畸变和辐射剂量关系以来,至今已数十年。在此期间有不少作者试图用骨髓细胞的畸变率来估计辐射剂量,如 Fliedner 等^[1] (1961) 研究指出:大鼠骨髓畸形细胞数量和照射剂量成正比。Karptel^[2] (1961) 指出:小鼠骨髓细胞分裂后期的畸形数量与照射剂量成正比。Bender^[3] (1962) 用离体照射人的外周血淋巴细胞,首次建立了染色体畸变量和辐射剂量的刻度曲线,此后各国有关实验室相继进行了这方面的研究,主要内容是剂量效应关系以及其他因素对染色体畸变的影响。为了使染色体分析技术标准化,1969年世界卫生组织委托 Buckton 及 Evans 起草一份关于染色体畸变分析方法手册,并于1973年定稿。虽然有些问题尚待进一步研究,但一般认为对一次大剂量全身照射而言,染色体畸变分析是一个很有实用价值的生物剂量仪。

由于所用的体外培养方法分析染色体畸变,不仅操作复杂,而且计数分析细胞的工作量大,花费时间多,人们又试图寻找能直接反映染色体畸变的指标。

Rugh^[4] (1964) 曾试图用微核率作为评价辐射损伤的辅助指标,但由于在较高剂量射线作用下,淋巴细胞急剧下降,观察普通血片的工作量大,结果难以符合统计学要求,而未受到重视。直到1971年 Matter 和 Schmid^[5] 利用啮齿动物骨髓细胞微核率来测定疑有诱变活

力的化合物,并称之为微核测定法。Heddle^[6] (1973) 推荐使用这种简便而迅速的方法来衡量染色体损伤。目前,微核测定法广泛地用于评价理化因子诱变活力的研究上,仅就辐射诱发微核这一问题,不论在植物、动物和人等方面都有不少报道^[7~16],其中大部分为剂量效应关系的研究,并已用作抗放药物筛选和评价药效的指标^[10~18]。本文对以下问题作一综述和讨论。

一、方 法

1. 骨髓有核细胞的微核测定:对于大动物或人,用常规的骨髓穿刺方法取材涂片。大鼠取其胸骨,小鼠取其股骨以止血钳挤出骨髓,滴于盛有同种或小牛血清的载玻片上,混匀涂片,瑞氏或姬姆萨染色。

2. 外周血淋巴细胞微核测定:最初采用外周血直接涂片法,由于淋巴细胞数少,计数工作量大,目前多用 Coulson^[19] 氏或其改良法,使淋巴细胞浓缩后制片,瑞氏或姬姆萨染色。

3. 淋巴细胞离体培养的微核测定:取静脉血1~1.5毫升,置37℃恒温箱内2小时,取白细胞上清悬液0.15毫升,用一般常用的淋巴细胞体外培养方法,培养96小时,1000转/分离心8分钟,弃上清,将沉降细胞混匀涂片。我们用淋巴细胞的微量培养法(即用0.2~0.3毫升全血培养)也得到了较满意的标本。

4. 微核的鉴定与观察:微核(又叫卫星核)系游离于胞浆中,与主核完全分开,呈圆形或椭圆形,边缘光滑,嗜色性和主核一致,为主核1/3以下的小核。有些作者把骨髓有核红细胞中的郝-焦氏小体也计为微核,我们也同

意这种观点。实验时对每一例至少应观察2,000个骨髓有核细胞或外周血淋巴细胞,以千分率(%)表示之。

二、微核率与吸收剂量的关系

1. 一次大剂量全身照射(见表1),从表

表1 一次大剂量全身照射后血细胞微核率与吸收剂量的关系

实验对象	剂量范围 (拉德)	观察时间 (照后小时)	回归方程	作者
小鼠骨髓:				
有核细胞.....	100~400	24	$Y = -1.9 + 0.12D^*$	施立明等 ⁽⁹⁾
有核细胞.....	100~500	24	$Y = -0.506 + 0.075D$	白玉书等 ⁽¹²⁾
有核红细胞.....	100~500	24	$Y = -6.428 + 0.128D$	白玉书等 ⁽¹²⁾
有核红细胞.....	25~100**	24	呈线性关系	Chaubey ⁽¹⁴⁾
有核红细胞.....	100~200	24	呈线性关系	施立明等 ⁽⁹⁾
淋巴细胞.....	100~400	24	$Y = -2.640 + 0.0491D$	白玉书等 ⁽¹²⁾
大鼠骨髓:				
有核细胞.....	100~400	24	$Y = 1.08 + 0.036D$	常世琴等 ⁽²⁰⁾
有核细胞.....	100~400	24	$Y = 0.42 + 0.09D$	邓承宗等 ⁽¹⁰⁾
大鼠外周血:				
淋巴细胞.....	100~300	24	$Y = 0.62 + 0.03D$	常世琴等 ⁽²⁰⁾
淋巴细胞.....	50~400	6	$Y = 0.78 + 0.075D$	邓承宗等 ⁽¹⁰⁾
狗外周血淋巴细胞.....	150~350	24	$Y = 0.55 + 0.0421D$	常世琴等 ⁽²⁰⁾

•, Y——微核率(%), D——吸收剂量(拉德), 余同。

••, 为X线照射, 其余皆为⁶⁰Coγ线照射。

1可见, 一次大剂量全身照射后, 在一定的剂量范围内, 血细胞微核率和吸收剂量呈良好的线性关系。由于实验条件(如动物种属、照射条件等)多少有些差别, 各作者所得的结果也不尽相同, 但基本规律是一致的, 回归方程都符合 $Y = a + bX$ 的模式。有核红细胞的剂量范围差别较大, 可能是有的作者把郝-焦氏小体计入微核, 而有的作者未把它们计入所致。

表2体外照射不同剂量X线诱发的淋巴细胞微核率⁽²³⁾

照射量(伦)	微核细胞率(%)	总微核率(%)
0	2.75±0.37	2.75±0.37
25	3.80±0.44	3.80±0.44
50	8.95±0.67	9.45±0.69
100	10.15±0.71	10.85±0.74
200	29.85±1.22	32.20±1.27
300	38.6±1.39	42.20±1.45
400	62.35±1.77	68.90±1.86

注: 表中每数据为20,000个淋巴细胞中所得的值(%)±泊松标准误

2. 离体照射人血: 有些作者用X、γ线或中子照射人的离体血, 经淋巴细胞培养后, 研究微核率与吸收剂量的关系。表2为离体照射不同剂量X线诱发的淋巴细胞微核率, 与吸收剂量呈线性正比关系, 也符合 $Y = a + bX$ 的模式。

3. 局部分次照射: 有的作者⁽¹³⁾检查了用⁶⁰Coγ线放疗的中段食管癌病人, 按累积剂量测定外周血淋巴细胞微核率(表3)。其结果证明外周血淋巴细胞微核率和累积剂量呈线性正比关系, 直线回归方程为 $Y = -0.64 + 1.17D$

表3 微核率与累积剂量的关系

照射量(伦)	例数	淋巴细胞微核率(%)
0(对照).....	9	0.22
2,000.....	7	1.89
4,000.....	6	3.83
6,000.....	5	4.70
8,000.....	6	7.66
10,000.....	3	13.00

(Y——微核率%, D——照射剂量除以 10^3)。

4. 慢性小剂量照射: 有关射线工作者外周血淋巴细胞微核率的调查, 已有不少报告, 都证明其外周血淋巴细胞微核率明显高于对照组(正常值为0.3%以下)。

三、微核率与照射后时间的关系

Heddle⁽⁶⁾ (1973) 用230伦X线照射小鼠, 观察骨髓有核细胞微核率与照后时间关系, 结果从照后12小时开始, 微核率明显升高, 在2~3天内保持在较高水平。施立明等⁽⁹⁾以300拉德 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线照射小鼠, 在照后12、24、48和72小时分别检查骨髓细胞微核率, 表明骨髓有核细胞、有核红细胞、多染性有核红细胞微核率的峰值都在照后24小时, 然后迅速下降。肖佩新等⁽¹¹⁾用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线照射小鼠, 观察淋巴细胞卫星核(微核)率的动态变化时指出: 小鼠受不同剂量照射后, 淋巴细胞微核出现峰值的时间可能是不同的。离体照射后培养的淋巴细胞, 其峰值在96小时。造成这种差别的原因, 是由于在整体照射情况下, 机体的造血淋巴组织仍能以不同程度生成淋巴细胞, 不断地释放至外周血, 而离体照射时, 外周血中只有一定数量的淋巴细胞, 照射后加入有丝分裂刺激原(如PHA等)才能进入细胞周期, 经过有丝分裂后可能形成微核。

四、关于微核的形成机制

关于微核的形成机制尚无定论, 微核是否来源于染色体畸变也有争论。

多数学者认为, 电离辐射(或其他理化因子)所致的微核系来源于染色体畸变的无着丝点断片, 这种断片虽具有DNA的合成能力^(1, 2, 5, 20), 但进入有丝分裂后期时, 由于断片已丧失了着丝点, 不能被纺锤体牵向两极, 因而不能纳入子核, 形成了游离于胞浆中的小核即微核。Heddle等⁽²⁷⁾ (1977) 用扫描细胞分光光度计和DNA特殊染色技术, 测定了受 γ 线照射小鼠骨髓细胞中的微核和整个DNA

含量, 其结果与染色体断片间接推算的结论相符, 即用定量的方法证明了微核来源于染色体断片的假说。Jenssen等⁽²⁸⁾ (1978), 以 ^3H -TdR标记, 用放射自显影技术证明X线照射后微核在 G_2 及S期形成。也有的作者⁽⁴⁾认为, 细胞核由受损伤部位的核膜向外突出, 形成芽突, 最后绞窄脱离主核而形成微核。

五、微核与染色体畸变的关系

Heddle (1973) 推荐用微核率来衡量染色体损伤, Countryman等⁽²¹⁾ (1976) 用不同剂量X线离体照射正常人的外周血, 证明了微核率与染色体畸变率确有良好的相关性。其后云南动物所辐射细胞组等⁽¹⁸⁾比较了食管癌放疗病人外周血淋巴细胞微核率与染色体畸变率的关系, 并计算出直线回归方程为:

$$Y = -0.78 + 0.25X$$
 (Y——微核率%, X——细胞畸变率%)。每个累积剂量点, 微核率的绝对值远远小于染色体畸变细胞率, 微核率对剂量的直线回归方程斜率为1.17, 染色体畸变细胞率对剂量的直线回归方程斜率为3.29。我们用不同剂量照射小鼠, 在两组平行实验中, 观察骨髓细胞微核率及骨髓细胞染色体畸变率, 并将二者进行比较, 证明有良好的相关性, 同一剂量点上染色体断片率远远高于微核率⁽²⁴⁾。

上述事实说明了微核率与染色体畸变率确实存在良好的相关性, 那么这种相关性的实质是什么呢? 要回答这个问题的关键还是要阐明微核的形成机制, 如果微核的形成与染色体畸变无关, 这种相关只能是间接的, 是二者都和剂量相关所致。虽然, 微核的形成机制尚未最后解决, 但现有的两个假说各有其证据。根据我们对照射小鼠骨髓和离体照射人血的实验, 同时观察微核率与染色体断片率, 并对淋巴细胞形态进行观察, 认为微核形成的这两种假说都可能存在, 即一部分微核是来自染色体的无着丝点断片, 另一部分则由突出部分的核绞窄后脱离主核所致, 而且断片形成的微核占的比重为大, 前者是染色体损伤, 后者则不是。当然, 无着丝点断片仅是染色体畸变的一种, 不

能代表全部染色体畸变。所以,微核只能反映部分染色体损伤,更不能代表染色体畸变。

六、对今后工作的意见

综上所述,哺乳动物受一次大剂量全身照射或局部分割照射或血液离体照射(经培养后),在一定的剂量范围内血细胞微核率和吸收剂量呈线性正比关系。慢性小剂量照射时,血细胞微核率也有增加。以此作为辐射损伤诊断的辅助指标是毋庸置疑的。并已用作抗放药物筛选和鉴定药效的指标,也得到了满意的结果。

近年来,国内外有关微核的报导日益增加,尤其国内已积累了不少资料,今后如何深入开展这一工作,是值得共同讨论的问题。我们认为以下几个问题值得进一步研究。

1. 离体实验和整体效应的关系:目前有关微核的大量工作是在哺乳动物身上进行的,但尚未见到离体实验和整体效应比较研究的报导*,更无人的资料。国内已开展了对某些疾病的全身放射疗法,应尽可能利用这种病例,进行离体和整体照射条件下微核发生率的比较观察。如无可供研究的全身放疗病例,可用动物进行这种实验。研究内容应包括:全身照射后不经体外培养和经体外培养以及离体照射后经体外培养三个组淋巴细胞微核率的比较,只有证明整体照射和离体照射微核率是相同的,才能建立剂量效应关系的刻度曲线。用动物实验要考虑外推到人的问题。

2. 照射后外周血淋巴细胞微核率随时间变化的规律。微核主要由染色体的无着丝点断片形成,为不稳定型畸变,易于丢失,必须弄清在各种剂量照射条件下,微核的消长规律,为实际应用提供时间参数。

3. 阐明微核的形成机制,为其实际应用提供理论基础。

4. 技术条件:要证明整体和离体照射的微核效应是否一致,必然涉及到体外培养,因离体照射后必须经过培养才能形成微核,而培

养条件对微核率的影响较大。一方面,影响淋巴细胞转化的因素都能影响微核率,因为只有转化了的细胞才具备从染色体断片形成微核的条件,即淋巴细胞转化率直接影响形成微核的概率。另一方面,不良的培养条件也可能促使微核率增加。这都需要进一步研究的。我们认为,在建立良好培养条件的同时,在计数微核率时,是否只计数已转化的细胞,正如在染色体畸变分析时只计数中期分裂相而不计数所有的淋巴细胞。

若能证明离体和整体照射微核效应的一致性,是可以作为生物剂量仪的。虽然微核测定法灵敏度不如染色体畸变分析,但它具有方法简便、易于掌握,又可迅速得到结果,这是染色体畸变分析所不及。尤其在核战争情况下,是可以作为早期分类诊断的指标之一。随着广泛的应用和深入的研究,微核测定法一定会日益完善。

参考文献

- [1] Flidner TM等, 9th Intern Congr Radiol 2: 992, 1961.
- [2] Karptel Z, Intern Biophysics Congr P124 Stockholm, 1961.
- [3] Bender MA等, Proc Nat Acad Sci USA 48: 522, 1962.
- [4] Rugh R, Am J Roentgenology 9: 192, 1964.
- [5] Matter B等, Mutation Res 12: 417, 1971.
- [6] Heddle JA, Mutation Res 18: 187, 1973.
- [7] Tates AD等, Mutation Res 74: 11, 1980.
- [8] Evans HJ等, Intern J Radiat Biol 1: 216, 1959.
- [9] 施立明、张锡然: 生物化学与生物物理进展 3: 33, 1975.
- [10] 云南动物研究所辐射细胞组, 遗传学报 3: 164, 1976.
- [11] 肖佩新等, 生物化学与生物物理进展 5: 15, 1977.
- [12] 白玉书、关树荣, 放射医学与防护 2: 64, 1978.
- [13] 云南动物研究所二室辐射细胞组等, 遗传学报 5: 142, 1978.
- [14] Chaubey RC等, Intern J Radiat Biol 33: 507, 1978.
- [15] Flidner TM等, Blood 33: 471, 1964.

(下转133页)

至1980年5月

氚发光化合物的放射卫生学评价

浙江人民卫生实验院 陆龙根 邵庆翔 综述 章仲侯* 吴德昌**审

言 引

放射性发光化合物的生产早在本世纪四十年代之前就已开始,在第二次世界大战期间有了相当大的发展。几十年来,镭是用于放射性发光涂料的主要放射性核素。但自从早期操作镭发光涂料的工人受到严重损伤以来,各国科学工作者进行了大量研究,寻求其它放射性核素代替镭以降低工人和公众的辐射剂量。二十多年来,曾建议采用锶-90、氚、钷-147、镨-241等代替镭。这些放射性核素的优点是不发射 γ 射线和具有比镭短的有效半减期¹。由于种种原因,只有氚和钷-147在工业上得到了应用。本文就有关氚发光涂料工厂的工人和使用氚发光元件的公众的卫生学评价问题作些介绍。

氚发光化合物主要用于发光表盘、制作发光源和发光警报标记、用于航空安全设备、电话盘及夜光钟表等^{2,4,8,20}。使用的氚发光化合物可能是由高交联度中等分子量的硅橡胶所组成,它们附着在粒子大小为5~20微米的硫化锌荧光粉上^{4,8},或将氚充在内壁涂以硫化锌的玻璃管中制成氚发光管¹²。

由于发光器件的玻璃管中元素氚和氧化氚的比率、管中气压、管的表面等生产过程的某些细节不同,由于在破碎处存在的各种氧化氚的催化剂数量的不固定性,由于各科研工作

者采用的捕集和测定氚化水的方法各不相同,所以氚发光管破碎时释放的HTO和T₂O的测定结果各不相同。Knapton用低温玻璃珠吸附捕集法收集了13个商品氚发光胶囊破碎时HTO和T₂O的量为器件总放射性的6~25%¹²; McNelis等人用鼓泡法和冷阱法测定了24毫居里氚发光管在密闭环境中破碎时HTO和T₂O的量为总氚量的1.5~2.5%^{6,8}。一般认为氚发光源中HTO和T₂O的量为总氚量的1~2%¹⁸。Gunter对氚发光器件释放氚的规律性进行研究后指出¹⁴,氚发光器件的有效半减期为2年,在干湿空气流及在不同温度间仅有微小差别,开始每天的释放量相当于初始放射性的0.2~0.5%,在2周里每天释放量减少到为初始放射性的0.007%并持续在该水平。

二、氚发光化合物释放的氚进入机体的途径

Rehnberg等人指出,机体对氚的吸收与它进入动物(或人)的途径及其化合物的种类有关^{4,22}。氚进入机体以氧化氚形式为主,通过消化道,呼吸道和完整皮肤及粘膜等途径都很容易被吸收进入人体,吸收速度很快,吸收的份额亦极高,而且均匀地分布于体液中

*苏州医学院, **军事医学科学院

(上接第132页)

- [16] Heddle JA等, Radiat Res 61, 305, 1975.
- [17] 朱炳富、邓承宗, 遗传学报 4, 170, 1977.
- [18] 朱炳富等, 遗传学报 5, 61, 1978.
- [19] Coulson AS, Lancet 1, 468, 1964.
- [20] 常世琴等, 卫生部工业卫生实验所资料 1976.
- [21] Countryman PL等, Mutation Res 41, 321, 1976.

- [22] 金放兴等, 安医学报 6, 24, 1979.
- [23] 程文英等, 上海市工业卫生研究所资料, 1979.
- [24] 白玉书等, 卫生部工业卫生实验所资料, 1978.
- [25] Das NK, J Cell Biol 15, 121, 1962.
- [26] Starr TS, Nature 200, 608, 1963.
- [27] Heddle JA等, Mutation Res 44, 63, 1977.
- [28] Jenssen D, Mutation Res 58, 51, 1978.