

# 早先受照生物剂量计的现状和前景

中国医学科学院放射医学研究所 王知权 陈振军综述

河北省放射卫生研究所 肖佩新审

**提 要:** 如何准确估算职业受照人员过去受照剂量, 对于推算辐射致癌危险度、放射损伤诊断和已患肿瘤受照者的病因学诊断等, 都是至关重要的。本文简述了近几年发展起来的各种生物剂量计在该领域应用概况的比较, 进而提出了可望作为早先受照的生物剂量计。

电离辐射事故时, 如何准确及时地估算受照者吸收剂量, 对于事故处理、受照者医护监督、采取急救措施等是至关重要的。在估算剂量时, 一方面用物理仪器进行现场模拟, 推算受照剂量; 另一方面采集生物标本检测: 如微核技术、毛囊直径测定、皮肤成纤维细胞的染色体畸变(CAs)以及DNA损伤监测等<sup>[1]</sup>方法。遗憾的是这些方法都不尽完美, 有一定的局限性, 尤其困难的是, 要求在受照后尽早进行。到目前为止, 人们公认: 外周血淋巴细胞中CAs分析是最理想的生物剂量监测系统, 并已成功地用于实践中。然而在长期慢性早先受照后, 剂量的估算仅靠回顾性调查的方法, 显然是不现实的, 其结果也是不可靠的; 而采用生物标本的检测, 由于损伤和修复交替存在, 也有一定的难度, 所以研究早先受照者特别是长期慢性受照者剂量的估算已引起人们极大的兴趣。目前国内外学者正利用原爆幸存者或辐射事故受照者, 在稳定性染色体畸变(Cs)、细胞膜上血型糖蛋白A(Glycophorin A, GPA)位点、次黄嘌呤鸟嘌呤转磷酸核糖基酶(Hypoxanthine Guanine Phosphoribosyl Transferase, HPRT)位点和淋巴细胞微核(主要以胞质分裂阻断微核——Cyt-B法)等指标作为生物剂量计方面作了大胆的尝试, 得到了一些初步结果。

## 生物剂量计的要求

电离辐射可引起机体的很多反应, 但能作为生物剂量计的却不多, 而且不同情况下也有不同的要求和标准。急性照射后可用物理和生物两套系统来估算剂量, 效果甚好。而对于早先受照, 特别是慢性长期受照人员的剂量估算就存在着一定的难度。假如我们能从生物体内找到一些符合下述要求的指标, 即可提供解决这些问题的可能性: 1. 受照后可引起机体相应的变化, 这种变化应是灵敏可靠的, 有一定的特异性; 2. 可在体内保留较长时间; 3. 适宜作人体检查或群体检查; 4. 有理想的剂量-效应关系。

## 生物剂量计指标

### 一、稳定性染色体畸变

电离辐射可以诱发染色体结构畸变, 包括非稳定性畸变(Cu)——无着丝粒畸变、双着丝粒染色体和环状染色体; 和稳定性畸变(Cs)——易位、倒位和缺失。随着照后时间的延长, 由于Cu在细胞分裂后造成子细胞遗传物质的不平衡, 导致细胞死亡而随之消失, 这就是所谓的时间倾向性。相反, 含有Cs的细胞一般不会影响其正常分裂而得以长期存在。

#### 1. 研究Cs的方法

(1) 常规组型分析法;

(2) G 显带法;

(3) 荧光原位杂交法 (FISHT) [2~4]; 这是近年来发展起来的一种快速分析人类染色体畸变特别是易位等结构性畸变的新方法。它是用重复序列 DNA 探针来检测特定染色体畸变, 该法分析快速、技术要求不高、对易位尤为敏感、检测易于自动化且有明显的剂量-效应关系。其不足之处是仍处于试验阶段、试剂价格昂贵以及对倒位、缺失不敏感等。

## 2. Cs 分析的应用范围

(1) 原爆幸存者: 1945年, 广岛、长崎原爆幸存者是目前研究电离辐射人体遗传效应的一大群体, 也是用 Cs 作为生物剂量计估算受照剂量最成功的实例。Awa 等[5]对 178 例幸存者的研究结果表明: ①原爆后 30 多年, 受照者外周血中淋巴细胞 CAs 仍持续可见; ②所见到的畸变类型主要是 Cs, 占全部畸变数的 95%; ③随着照射剂量的增加, 畸变细胞率也随之增加, 特别是小于 1Gy 的低剂量范围内剂量-效应关系是显著的。该作者[6]在另一篇 633 例幸存者的报道中, 观察到相互易位占明显优势, 且在确定的剂量-效应关系中起着主要作用。若将广岛幸存者 386 例按剂量不同, 依次分为 0.01~0.09、1.00~1.99、2.00~2.99、3.00~3.99、4.00~4.99 和大于 5.00Gy 共 6 个组, 即可看出 Cs 从低剂量组 (0.01~0.99Gy) 的 0.799 (稳定性畸变/总畸变数), 随着剂量的增加而 Cs 逐步增加, 至 4.00~4.99Gy 时, 达到了最大值 0.962。

(2) 事故受照者: 属于短期内受到一次或多次照射。1988 年, Léonard 等[7]报道了一例发生在 1965 年的急性核事故, 这是一次不均匀照射, 从头部的 2Gy 到左臂部的 50 Gy, 从事故后 99 个月起间断地进行, 直到 251 个月, 共分析染色体畸变 9 次。结果表明: ①辐射诱发的淋巴细胞 CAs 可在外周血

中持续多年; ②主要表现为双着丝粒体和易位, 从事故后第 99 个月的 7% 和 3.2% 到 452 个月时, 已分别下降到 0.2% 和 3.0%。由此可见: Cu 迅速减少, 而 Cs 则基本保持不变。类似情况可见于 littlefield 等[8]对南斯拉夫 Y-12 核事故中 6 名受照者照后第 16、17 年随访和金瑾珍等[9]报道的 10 年前武汉钴源事故 8 名受照者 16 天内多次受照后 CAs 观察结果。

(3) 病人受照者: 是指那些因治疗在一段时间内受到的反复多次照射。Kleiner-man 等[10]、Littlefield 等[11]分别报道了 96 例宫颈癌患者, 平均在 23 年前接受局部照射, 红骨髓剂量为 8.1Gy; 73 名肥大性扁桃腺炎病人, 平均骨髓剂量为 0.10Gy, 20 年后的检查结果与前两类受照者相似, 再一次证明 Cs 的相对稳定性。在上两篇报道的结果中, 特别提出年龄较大的受照者, 有明显的剂量-效应关系。

(4) 职业性受照者: 指那些在较长时期中连续反复受照的职业性人员。这类人员受照情况复杂, 且损伤和修复同时进行。目前仍未找到公认的估算个人累积受照剂量的指标。尽管如此, 金瑾珍等[12]对某核工厂工龄四年以上的有剂量记载的 16 名男性职工进行了观察, 按剂量大小分为三组, 发现总畸变细胞率或总畸变率均随累积剂量的增加而增加, 而其中主要贡献是来自 Cs, 占主要畸变的 65%。为此, 作者提出了 Cs 作为生物剂量计估算累积剂量的可能性。

(5) 高本底受照者: 为持续性小剂量长期照射, 而有关这方面的研究不多。陈德清等[13]对阳江县的调查表明, 与职业受照者类似。

## 二、GPA 基因位点突变分析法

GPA 是人类红细胞表面上的一种糖蛋白, 即 MN 血型糖蛋白, 由位于 4q<sup>28</sup>-q<sup>31</sup> 处共显性等位基因编码, 组成 NN、MN 和 MM 三种血型系统。电离辐射可引起造血干细胞

中产生NO、NN、MO和MM四种变异型。由于GPA位点上的突变在选择上可能是中性突变,可以较真实地反映过去所发生的突变,且可在体内长期保存下来。

由Langlois等<sup>[14]</sup>建立的GPA突变分析法,包括1W1和2W2两个检测系统,用带有单克隆抗体的细胞标记到以两种不同形式的该细胞表面抗原来测定突变的红细胞,只与一种抗体结合的细胞则为突变红细胞样的前体细胞产物,然后用流式细胞仪计数,计算出突变频率。

日本学者Nakamura等<sup>[15]</sup>对广岛43名原爆幸存者进行了测定,根据T65D剂量为14~884cGy,研究表明,幸存者组NO、MO和MM变异体频率从正常水平到 $1.312 \times 10^{-6}$ ,而对照组这三种变异体频率较低。经统计学处理,两组间有极显著性差异。根据Brown和Mood提供中值检验法表明,随着受照剂量的增加,变异体频率有增加的趋势,剂量-效应之间符合线性模式。若按剂量大小分为14~62、69~174、180~359和367~884cGy四个组,发现各分组资料与线性回归高度吻合。

Langlois等<sup>[14]</sup>报道了一组肿瘤患者,其中6例未接受任何放疗和化疗,其余均已接受放疗和化疗至少9周(平均20周),结果表明:①从正常对照组选择三人,在9个月内至少对每人检测三次,其变异体频率非常恒定;②正常和未接受治疗组NO和NN平均变异体频率之间没有差异,而已接受治疗组平均变异体频率增加了2~4倍,差异非常显著。这种经治疗后所增加的变异体频率可长期保存,是由于骨髓前体细胞损伤后的迟发效应可以在外周血红细胞池中得到完全表达的结果。

Nakamura等认为:GPA法尤适用于检测低剂量或慢性受照者,是因为正常干细胞池的大小的干扰少,故对统计波动的影响不大。

本法重复性好,只需1ml血,经处理后15~30分钟即可分析一个样品,且剂量-效应关系显著,同时变异的细胞在体内可长期存在。

### 三、HPRT基因位点检测法

这是另一种基因位点突变频率检测方法,它定位于Xq<sup>27</sup>。人体外周血淋巴细胞中抗6-硫代鸟嘌呤(6-TG<sup>r</sup>)突变体,是因电离辐射等作用于HPRT基因位点上的突变细胞,具有稳定的6-TG<sup>r</sup>表型。具有6-TG<sup>r</sup>的淋巴细胞在6-TG作用下仍能正常生存和分裂,而正常细胞却因6-TG毒害不能分裂,甚至死亡。因此,通过检测分裂细胞的多少即可确定HPRT的突变频率。

在70年代末期,Strauss等<sup>[16]</sup>使用<sup>3</sup>H-TdR掺入的放射自显影法;1982年Albertini等<sup>[17]</sup>采用了克隆检测法;1988年Norman等<sup>[18]</sup>又建立了一种简便快速的细胞松弛素B检测多核细胞法。这就是本法发展的三个阶段。到目前为止,人们还是常用克隆分析法。

Hakoda等<sup>[19]</sup>用T-细胞克隆检验法测定了30名原爆幸存者和17名年龄性别相匹配的对照者,他们的变异体频率(Mf)分别为 $5.2 \times 10^{-6}$ 和 $3.4 \times 10^{-6}$ ,幸存者组明显高于对照组。初步分析表明,即使幸存者Mf与其CAs细胞率之间有明显的阳性关系,而与T65D估算照射剂量间却没有明显关系,但当改用DS86估算剂量时,发现27名受照者Mf和17名对照组间,在原爆受照40多年后仍有弱阳性关系。根据Messing和Bradley(1985年)<sup>[20]</sup>、Vigayalaxmi和Evans等(1984年)<sup>[21]</sup>的报告,受照后10~30天内,Mf可增加10~20倍。Ostrosky-Wegman等1987年报道了在墨西哥3名怀疑事故受照者和2名切尔诺贝利核电站事故受照者的检查结果,发现Mf比对照组高3~20倍,为此推测原爆幸存者中Mf值低可能是在受照后40多年从外周血中逐渐消失的结果。作者

认为诱发突变是由于T-细胞所处的分化阶段不同所致。由此看来,用T-细胞克隆法检测 HPRT 位点突变更适用相对短期的检测。

#### 四、EB病毒(Epstein-Barr Virus, EBV)相关抗体滴度测定

EBV 抗原包括病毒抗原(VCA)、早期抗原(EA)和病毒相关核抗原(EBNA)。1988年,Kumagai等<sup>[22]</sup>使用免疫荧光法测定了104名工龄在4~40年以上的放射线技师和118名对照人员。结果表明:VCA-IgG抗体滴度随放射工龄而增加,在放射工龄超过15年和累积剂量超过0.30Gy时,VCA-IgG和EA-IgG明显高于对照组,而与EBNA没有关系;当放射工龄超过30年时,与24名广岛原爆幸存者EBV特有抗体滴度相似。为此,作者认为放射线技师EBV特有抗体滴度的增加是由于持续长期低剂量照射后免疫功能损伤的结果。同时还发现,53名放射线技师的VCA-IgG和EBNA抗体滴度与染色体畸变细胞率之间有一定的相关性。

#### 五、胞质分裂阻断微核测定法(Cytokinesis-block micronucleus method)

该法是Fenech等<sup>[23]</sup>在1985年首先建立的。在培养过程中加入细胞松弛素B,只出现胞核分裂,却阻止其细胞质分裂,以此计数双核细胞中的微核率,故又名Cyt-B法。离体实验已表明,它比常规法更敏感、更准确,因为只能记录第一次分裂中的微核数。为此该作者<sup>[24]</sup>选择了11名放射治疗肿瘤患者,各相应器官接受剂量从45(5周共25次)~65Gy(6.5周内共32次照射)不等,对每个病例在照前、照射中期、照射末期、照后3、6、12和24个月分别进行测定,得出的剂量-效应关系式为 $Y = 75.8X \pm 49.5$  ( $r = 0.783$ ,  $P < 0.0001$ ),明显呈现与剂量的相关性。放疗结束后微核率随时间而逐渐降低,照后3个月时为91%、6个月时为72%、

到照后12个月时已降至57%,24个月时部分患者已降至本底水平。

### 前 景

早先受照射,既有过去一次照射,而更多的是多次、较长时间照射,甚至世代照射;既有不自觉受到照射,而更多的是因工作或医疗的自觉接受照射;既有大、中剂量照射,而更多是小剂量多次照射。由于时间长久或无剂量记录,尤其是长期小剂量照射下,损伤和修复同时存在,变化的产生与消失交替出现,以及受照机体机能状态的差异等等,这都会给剂量估算带来极大的不便。但随着各种检测手段的完善和不断实践,看来粗略地估算受照的剂量范围还是有希望的。

稳定性染色体畸变分析,已被实践证明是可靠的,早先受照后所诱发的Cs可在体内长期存在,且有良好的剂量-效应关系,但其不足是分析费时,且要求有熟练的阅片经验。荧光原位杂交技术若能加以改进和完善,并能采用自动分析装置,这将是很有前途的一项指标。

GPA基因位点突变检测法经实验表明,随着剂量的增加,其突变频率有明显增加的趋势,剂量-效应关系符合线性模式。此项指标具有灵敏、快速、稳定性好等特点。若能解决价格昂贵的流式细胞仪和特有的单克隆抗体,是一项非常有用的指标,然而不足之处是只能检测50%左右的含MN杂合血型的人。

HPRT位点检测法,在事故受照和肿瘤照后的初期,其Mf可高达数十倍,在原爆幸存者照后40多年,幸存者Mf尽管仍高于对照组,但两组间的差异不十分显著。为此,作者认为该指标更适用于照后近期检测。

EBV滴度测定,只有在累积剂量和工龄超过一定界限时,才出现明显增高,但剂

量-效应间没有明显的相关性,而且也受某些疾患(如Burkitt淋巴瘤、鼻咽癌和传染性单核细胞增多症等)的干扰而影响准确性。

Cyt-B法,可明显看到剂量-效应关系,但在受照后的较短时间内,微核率逐渐降低至本底水平。

### 参 考 文 献

1. Zoetelief J and Broerse JJ; Int J Radiat Biol 1990, 57:737
2. Lucas JN, et al; Int J Radiat Biol 1989, 56:35
3. Pinkel D, et al; Proc Natl Acad Sci USA 1988, 83:2934
4. Pinkel D, et al; Proc Natl Acad Sci USA 1988, 85:9138
5. Awa AA, In "International Symposium on Biological Effects of Low Level Radiation" Nanjing, China 23~26 Nov. 1986
6. Awa AA, et al; J Radiat Res 1978, 19:126
7. Leonard A, et al; Radiat Prot Dosim 1988, 22:55
8. Littlefield LG, et al; Proc IAEA Symp "Late Biological Effects of Ionizing Radiation" Vienna, 1978, 1:297
9. 金瑾珍,等;中华放射医学与防护杂志 1985, 5:14
10. Kleinerman KA, et al; Radiat Res 1989, 119:176
11. Littlefield LG; 私人通信 1986
12. 金瑾珍,等;辐射防护 1984, 4:425
13. 陈德清,等;中华放射医学与防护杂志 1985, 5:116
14. Langlois RG, et al; Hum Genet 1986, 74:353
15. Nakamura N, et al; Science 1937, 236:445
16. Strauss GH and Albertini RJ; Mutat Res 1979, 61:353
17. Albertini RJ, et al; Proc Nat Acad Sci USA 1982a, 79:6617
18. Norman A, et al; Mutat Res 1988, 208:17
19. Hakoda M, et al; Mutat Res 1988, 201:39
20. Messing K and Bradley WEC; Mutat Res 1985, 152:107
21. Vijayalaxmi and Evans HJ; Mutat Res 1984, 125:87
22. Kumagai E, et al; J Radiat Res 1988, 29:203
23. Fenech M and Morley AA; Mutat Res 1985, 147:29
24. Fenech M, et al; Int J Radiat Biol 1990, 57:373

(上接第165页)

来自动物实验和受照人群流行病学的调查。辐射防护的策略和实践大部分是参照了流行病学的资料,并且已对动物实验与来自人群的数据的一致性进行了论证。

### 展 望

以上所述的研究工作将使我们有三点收获:

1. 这些重要生物学资料可用于研究低剂量辐射的效应和产生的机制,也说明了继续这项研究的重要性。

2. 临床上的应用也是显而易见的。如低剂量辐射可以刺激免疫系统用以治疗AIDS(获得性免疫缺陷综合征)或自身免疫低下疾病。

3. 人群受照后的一些指标由于是建立在外推法的基础上,而非建立在可观察的生物现象的基础上,故带有不确定性。低剂量现象的研究不仅可减少这种不确定性,而且为制定辐射标准提供依据。

[Health phys 1990, 59(1):11~13(英文)]

孟斌 乔建维节译 乔赐彬 金玉珂审校