

异性的肿瘤分子标志以确定肿瘤发生与先前照射因果关系,用生物学模型改善放射流行病学辐射致癌危险度的估算和阐明辐射致癌机理,提供了理论和技术方法,两者的结合把放射流行病学引入分子放射流行病学的新阶段。放射生物剂量学也会在放射流行病学的应用中得以更快的发展。

### 参 考 文 献

- 1 Smithp G et al. Br J Radiol, 1981; 54 187
- 2 Matanoski GM et al. In Boice JD. Jr, Fran-  
meni JF Jr (eds): Radiation carcinogenesis: Epi-  
demiology and biological significance, New  
York: Raven press, 1994: 83
- 3 Laurer GR et al. Health Phys, 1993; 64 252
- 4 Upton AC. Annals of the ICRP, Oxford Pro-  
gram Press, 1991: 3
- 5 Little MD et al. Radiat Res, 1992; 132 207-221
- 6 Moolgaukar SH et al. J Natl Cancer Inst,

- 1992; 84 610-618
- 7 Thomas DC. Environ Health Perspect, 1990;  
87 163-171
- 8 Schull W J. Radiation dose reconstruction for  
epidemiologic uses, National Research Council,  
Washington DC, National Academy Press,  
1995: 57
- 9 Sankaranarayanan K et al. Radiat Res, 1995;  
143 121-144
- 10 Swift M et al. N Engl J Med, 1991; 326 1831-  
1836
- 11 Draper G J et al. Br J Cancer, 1986; 53 661-671
- 12 Eng C et al. J Natl Cancer Inst, 1993; 85 1121-  
1128
- 13 Perera FP. J Natl Cancer Inst, 1996; 88 496-  
509
- 14 Chakraborty R et al. Radiat Res, 1995; 143  
293-301
- 15 Chakraborty R et al. Radiat Res, 1997; 147  
309-320

(收稿日期: 1997-07-17)

## 染色体畸变分析作为生物剂量估计的研究进展

北京放射医学研究所 (北京, 100850) 金瑾珍 张泽云 刘秀林

**摘 要:** 介绍染色体畸变分析作为放射生物剂量测定方法在事故中的应用概况。重点介绍  
对当前分子细胞遗传学方法主要是 FISH技术在生物剂量学中的研究。

**关键词:** 生物剂量学 染色体畸变 FISH技术

染色体畸变分析作为一种生物剂量测定方法已有三十余年历史,通过全面系统的研究已公认是比较成熟的技术,IAEA已将其收入技术报告丛书之中。作为事故剂量的估计,通过对国内外多次辐射事故的实际应用,和其它生物剂量估计方法相比较它具有更独特的优点,即通过对受照者的随访观察,可以作为远期健康影响的评估指标。近年来发展起来的荧光原位杂交(FISH)技术能有选择地对特定的染色体进行着色,从而可迅速有效地检测出与这些染色体相联系的任何结构畸变。目前这种技术已成功地应用于易位畸变的检测,对早先照射和慢性照射的剂量重建将有广阔的研究前景。

### 1 事故剂量的估计

国内金瑾珍等报道 1986年至 1996年间先后发生几起辐射事故中有 22人受到高中、低剂量的意外照射,无一例佩带个人剂量计,对他们的剂量估计,除用物理方法外,同时在照后 2天内取血,用淋巴细胞染色体畸变估计生物剂量,证实用染色体畸变估计的剂量与物理方法测定的剂量很近似,与放射损伤临床诊断也是一致的。对其中部分受照人员在照后第 4年开始进行逐年的随访观察,考虑到距照射已有若干年,残存的畸变主要是稳定性畸变(Cs),所以用常规染色体型分析方法以及 G显带方法,并在照后第 6 7

年,在原有基础上进而用图像自动分析系统,用全染色体特异探针进行荧光原位杂交技术。根据几次随访得出的结果,证实残留的畸变主要是 Cs,其中以易位占多数,而且 Cs 频率与原先所受剂量大小密切相关,其中主要贡献是易位。近年来国外一些实验室应用 FISH 技术,深入研究易位率与照射剂量关系,企图据此而作为一种剂量重建方法对早先受照者的剂量估计用<sup>[1~5]</sup>。

2 FISH技术在生物剂量学中的应用

作为生物剂量,通常记录双着丝粒畸变(以下简称双畸变),它属于 Cu畸变,随细胞分裂而丢失,因此对早先照射者或慢性照射的剂量估计实用意义不大。而 Cs畸变如易位可以通过细胞周期,在照后长期保持基本恒定。以往对 Cs的分析多用 G 显带方法,如果用人工分析,不仅费时费力,而且要求具备熟练的分析技能,因此无法分析大量细胞,对易位畸变剂量效应关系的研究仅限于少数实

验室

原位杂交是 60 年代末发展起来的一项技术,它是一种在保持组织细胞或染色体原有形态结构的基础上对其内部特殊核苷酸顺序进行检测及定位的分子生物学手段。1986 年, Pinkel 首先引用荧光原位杂交技术,其原理是用已知标记的碱基序列的核酸作为探针,按互补原则与靶细胞的同源序列进行特异性结合,然后通过荧光法达到检测定位目的。这种技术用在染色体检测上又称为染色体彩涂(Chromosome painting)。FISH 技术用于生物剂量测定是当前辐射细胞遗传学发展中的一门前沿技术,国内有些实验室正从事这方面的研究。

2.1 剂量效应关系

作为照后早期生物剂量的估计主要是双畸变,采用着丝粒探针进行荧光原位杂交能精确显示着丝粒,具有简单快速的优点,并能与染色体特异性探针一起使用,快速准确识别易位染色体和双着丝粒染色体。

表 1 不同实验室剂量效应关系系数比较\*

射线	剂量	方法	畸变	C	α	β	作者
100kVp X射线	0~ 4Gy	FISH	t	0.0021	0.028	0.0519	Fernandez <sup>[6]</sup>
		FISH	dic	0.0009	0.030	0.0463	
		常规	dic	0.00075	0.0389	0.0666	
250kVp X射线	0~ 4Gy	FISH	dic	0.0019	0.030	0.080	Finnon <sup>[7]</sup>
		常规	dic	0.005	0.036	0.067	
<sup>60</sup> Co	0~ 5Gy	FISH	dt-r	0.0005	0.021	0.044	Roy <sup>[8]</sup>
		常规	dt-r	0.0005	0.034	0.047	
<sup>60</sup> Co	0~ 3Gy	FISH	t	0.0058	0.031	0.046	张泽云
	0~ 4Gy	FISH	dt-r	0.0029	0.009	0.052	
	0~ 5Gy	常规	dt-r	-	0.035	0.069	

\*  $Y = C + \alpha D + \beta D^2$

易位畸变不同于双畸变,它不会造成细胞死亡,因而能在受照者体内长期存留,可以用来评估早先照射引起的损伤。国外应用 FISH 技术做了很多离体实验,为 FISH 技术检测易位畸变估计剂量积累了不少数据。我

们实验室采用简并引物扩增显微切割的染色体方法制备染色体特异性探针,用 2 号探针进行<sup>60</sup>Coγ 射线离体照射诱发人淋巴细胞易位染色体频率与照射剂量的量效关系的研究,并用此探针对国内两起辐射事故受照者

的易位畸变进行了初步观察。虽然不同实验室应用 FISH 技术检测易位或双畸变的剂量效应关系所用的全染色体探针各有不同,射线性质也各有差别,但总的结果是畸变和剂量呈线性平方模式:  $Y = C + \alpha D + \beta D^2$ 。多数学者还将 FISH 技术所得的  $\alpha$   $\beta$  系数和各自实验室以往用常规方法所建立的量效关系曲线相比较,发现两种方法所得的系数很近似。根据畸变在细胞间的分布检验表明,多数结果符合泊松分布。表 1 综合国外一些实验室用两种方法得出的  $\alpha$   $\beta$  系数<sup>[6~8]</sup>。

## 2.2 易位和双畸变的比例

根据染色体断裂随机重接理论,一般认为照后第一次分裂细胞产生的易位和双畸变的几率是相等的。过去用常规染色和显带方法所得结果,多数学者认为易位数低于双畸变,原因是即使用显带方法,也有一部分易位如微小的易位难于检出;目前用 FISH 技术,多数学者的结果是易位高于双畸变。Mat-suoka 等<sup>[9]</sup>用 220kVp X 射线照射人血,剂量 0.5~2Gy,用全染色体探针 1 3 4 号,结果是各剂量点都是易位多于双畸变,作者认为原因之一是有部分细胞经过了二次分裂周期所以双畸变降低了。为了修正上述原因, Natarajan 等<sup>[10]</sup>用 200kVpX 线照射人血,用全染色体探针 1 3 X 2 48 号,仅分析 M<sub>1</sub> 细胞,并用着丝粒探针,结果仍然是易位多于双畸变,证明易位多于双畸变不是人为的。国外有些学者认为,单一用染色体彩涂方法,有的着丝粒部位不易辨认,使一部分双畸变误认为易位。为了证明这一问题, Nakano 等<sup>[11]</sup>用 220kVp X 线照射人血 0.5~2Gy,用 1 2 4 号染色体探针,仅记录双畸变和易位。将同一个标本先用 FISH 法分析,记录所有涉及 1 2 4 号染色体的双畸变和易位,然后再用常规 Giemsa 染色进行复查,结果是单独用 FISH 法所得易位为双畸变的 1.5 倍 (~60:40),用 FISH 加常规法,各剂量点易位:双畸变 = 50:50,作者认为单用 FISH 法有

20%~25% 双畸变被误认为易位。最近 Kanda 等<sup>[12]</sup>提出, Nakano 等用的是先 FISH 法后常规方法,由于 FISH 法在变性过程中,可使尔后的 Giemsa 染色深度减弱影响畸变分析。他们用 X 射线照射人血 3Gy,先用常规法后用 FISH 法,比较易位和双畸变,结果在 912 个中期细胞中有 64 个易位, 56 个双畸变,易位:双畸变 = 0.53:0.47,和 Nakano 的结果 0.5 比值较近似。

## 2.3 复杂畸变对剂量估计的影响

染色体互换一般分简单型和复杂型,前者指互换(易位或双畸变)发生在二个染色体之间二个断裂点互换;后者指有三个或以上染色体之间三个或以上断裂点的互换。过去用常规染色或显带方法只能检出简单重排畸变和少部分复杂畸变。自从应用 FISH 技术后发现,辐射诱发染色体畸变远比过去想象的复杂得多,尤其在低 LET 射线高剂量或高 LET 射线照射情况下,复杂畸变对剂量的估计不容忽视。这方面的工作以英国 MRC 实验室 Simpson 等<sup>[13,14]</sup>的研究最为系统。他们用 250kVp X 射线照射人成纤维原代细胞进行研究,剂量 2 4 6Gy,用全染色体探针 1 4 5 7 13 号,并用着丝粒探针,发现 4Gy 有 20% 互换为复杂型,而且随剂量增加复杂畸变呈增加趋势,按每个复杂畸变涉及的染色体和断裂数在 3 个以上的为例,2Gy 有 75%, 4Gy 有 100%,而 6Gy 在 100% 中有 50% 是涉及 4 个染色体间 5 个断裂。作者认为,在大剂量照射时,由于细胞受损较重,用直接检测复杂畸变要比实际的低得多,因为有的看来像 2 个断裂点的简单互换,实际上是涉及 3 个或更多的断裂,有的甚至是涉及 4 个染色体之间 5 个断裂。由于采用多种荧光标记的探针,同时与辐射照射细胞杂交,提高了对复杂畸变的检出效率,但也增加了镜检难度及对一些染色体重排的描述。常用的描述染色体断裂及重排的术语,当用于 FISH 方法分析时感到贫乏,尤其对那些复杂互换,

若借助于原有的命名系统已不敷所用,常常导致错误结论,而且各实验室采用各自的描述,结果也无法互比,故从事辐射分子细胞遗传学研究的一些著名学者认为,有必要确立一个命名系统为 FISH 技术检测畸变用。为此,在 1993 年 10 月 17~ 18 日,由 5 个国家 9 个实验室的科学家,提议了一个称之为“PAIN T”的命名系统,用以描述 FISH 检测的所有畸变<sup>[15]</sup>。当然,该系统只是用来鉴定和命名畸变的一种工具,是针对当前 FISH 技术所能见到的染色体重排,随着检测技术的不断发展,今后有可能要重新考虑这种命名体系。

4 结束语

染色体畸变分析作为生物剂量估计方法,目前已进入分子细胞遗传学发展阶段,国内外有关实验室正致力于应用 FISH 技术研究畸变与剂量的量效关系,并初步应用于事故受照者的易位测定,对人易位自发生率及易位的识别标准正进行深入研究。当然,作为剂量重建手段尚有不少问题有待进一步研究。

参 考 文 献

1 Lucas JN et al. Int J Radiat Biol, 1992; 62(1): 53

2 Tucker JD et al. Int J Radiat Biol, 1995; 67(1): 19

3 Gray JW et al. Radiat Res, 1994; 137: 275

4 Schmid E et al. Int J Radiat Biol, 1992; 62(6): 673

5 Natarajan AT et al. Environ Health Perspect, 1996; 104(suppl 3): 445

6 Fernandez JL et al. Int J Radiat Biol, 1995; 67(3): 295

7 Finnon P et al. Int J Radiat Biol, 1995; 68(4): 429

8 Roy L et al. Int J Radiat Biol, 1996; 70(6): 665

9 Matsuoka A et al. Mutagenesis, 1994; 9(2): 151

10 Natarajan A et al. Mutat Res, 1991; 247: 103

11 Nakano M et al. Int J Radiat Biol, 1993; 64(5): 585

12 Kanda R et al. Int J Radiat Biol, 1996; 69(6): 701

13 Simpson PJ et al. Int J Radiat Biol, 1995; 67(1): 37

14 Simpson PJ et al. Int J Radiat Biol, 1996; 69(4): 429

15 Tucker JD et al. Mutat Res, 1995; 347: 21

(收稿日期: 1997-08-26)

第二届“最佳译作者”和“优秀译作者”  
获 奖 者 名 单

核 医 学

放射医学

最佳译作者: 沈钰如(上海市建工医院)

刘学成(锦州市职业病防治研究所)

(以下按字顺笔划排列)

优秀译作者: 任均田(广州 157 中心医院)	卜桂兰(白求恩医科大学预防医学院)
白景明(中国医科大学第一临床医院)	问清华(广东大亚湾核电站)
兰继承(沈阳 202 医院)	何庆加(第三军医大学防原医学教研室)
曹京旭(大连 210 医院)	林春培(福建省劳卫所)
钱忠豪(上海医科大学中山医院)	盛元相(哈尔滨 211 医院)

说明:① 本届评选范围仅限文摘译稿作者。为示公正,凡编辑部所在单位的译作者均不参加本次评选。  
② 评选尺度仍以刊用稿的数量、质量、文种以及专业结构等方面综合考虑。  
③ 凡被评上者,均给予获奖证书和纪念品。并且,“最佳译作者”获得者将聘为本刊特邀编辑,被聘期间赠阅本刊杂志一份;“优秀译作者”获得者将聘为本刊特邀通讯员,并赠阅本刊 1998 年度杂志一份。  
本刊编辑部