

# $^{60}\text{Co}-\gamma$ 线照射离体人血诱发的染色体畸变 与剂量的关系<sup>1)</sup>

高沛永 郭庶英 张应保 张清林 杨捷

(北京中国人民解放军军事医学科学院)

用射线照射离体人血的实验方法,研究所诱发的染色体畸变与受照剂量的关系,始于六十年代初期。1962年Bender和Gooch首次使用X线进行了这方面的研究。他们发现畸变率与受照剂量间存在着密切的定量关系,建立了可以相互推导的回归方程,并且提出了利用染色体畸变作为“生物剂量计”测定受照人员的吸收剂量的可能性<sup>[1]</sup>。此后,很多工作证实,X线、 $\gamma$ 线、中子及其它粒子流,照射离体人血所诱发的染色体畸变与受照剂量间都有这种密切的定量关系<sup>[1,2,4-12]</sup>。与此同时,动物实验及肿瘤病人放射治疗的研究,说明了这种离体实验方法所得到的结果,是可以代表整体受照时,畸变率与吸收剂量的关系的<sup>[13-14]</sup>,从而使人们加强了研究这种“生物剂量计”的信心。在一些核工厂及放射线工业探伤的事故中,利用检查受照者染色体畸变的方法测定的剂量,与物理方法估算的剂量是相互符合的<sup>[15-19]</sup>。所以说,用这种生物学的方法测定受照者的剂量,确实是在实际工作中应用的。

我们进行此项研究的目的是,求得在本实验室条件下染色体畸变与受照剂量间回归方程的系数,建立起我们自己的“生物剂量计”,以便将外周血染色体畸变作为剂量诊断的一项生物学指标,测定意外事故受照人员的吸收剂量。

## 材料和方法

此项研究的实验方法,基本上是照WHO的要求进行的<sup>[21]</sup>,简述如下:

(一) 血样 本工作所用11份血样,均取自

301医院血库的合格献血员,每份10ml,以0.4ml浓度为250单位/ml的肝素抗凝,混匀后分装于6支薄壁玻璃试管中。

(二) 恒温 血样照射前15分钟置于水浴中;然后移至恒温箱内照射。照后,放置培养箱内约90分钟。以上3步操作均保持37℃恒温。

(三) 照射 血样用本所 $^{60}\text{Co}$ 放射源照射。样品与钴源的水平距离为200cm,空气照射率为42.30 R/分—40.04 R/分。每份血样的6支试管,除1支作对照外,分别照射25、50、100、200及300R。对照管(OR)除没有照射外,与照射管一起操作。空气照射量与受照剂量的转换系数为0.97。

(四) 培养制片 培养基组合为: Eagle液3ml、牛血清1ml,适量加入肝素、豆素,并将pH调节在7.0—7.5之间。每个培养瓶接种血量约0.3ml。37℃恒温培养44小时,加入秋水仙碱1滴(10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),51小时制片。

## (五) 镜检计数

1. 畸变类型: 我们分析计数的染色体畸变有四种: (1)无着丝点: 包括断片和碎片; (2)缺失: 即G组的末端缺失(SG); (3)双或多着丝点: 即在1个染色体上有2个或多个着丝点,并伴随相应的断片; (4)环: 包括着丝点环和无着丝点环。

2. 分析计数的细胞数目: 为了使各个剂量点上观察的细胞数,符合统计学的要求,参考Evans等人的报告<sup>[22]</sup>,将本实验室1975年在预实验中所得到的25、50、100、200、及300 R照

1) 中国遗传学会成立大会学术论文

射点的畸变细胞百分率(P)代入:

$$P \pm 1.96 \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}$$

$$\text{并令 } 1.96 \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}} = P20\%$$

则可求得每个剂量点上应该分析计数的细胞数目  $n$ 。本实验在每个剂量上要观察分析 4 份血样,也可算出每份血样应该计数分析的细胞数目,结果列入下表:

照射剂量 (rad)	畸变细胞率 (%)	应计数分析的细胞数	
		总 和	每分血样
0.00	0.3	4,000	1,000
24.25	2.89	3,227	807
48.50	10.31	836	209
97.00	21.82	344	86
194.00	37.19	162	41
291.00	69.75	42	11

### 实验结果

本项研究共观察分析 8,723 个细胞,各剂量点上观察到的畸变情况见表 1 和表 2。

表 1 离体人血经  $^{60}\text{Co}-\gamma$  线照射诱发的染色体畸变

剂量 (rad)	分析细胞数	畸 变 数					
		畸变细胞	无着丝点	缺失	环	双着丝点	三着丝点
0.00...	3,000	14	12	2	...	...	...
24.25...	3,828	101	88	3	2	15	...
48.50...	1,045	71	58	2	2	18	...
97.00...	400	74	60	3	2	18	...
194.00...	200	88	76	1	6	38	...
291.00...	250	191	228	6	12	106	1

表 2 离体人血经  $^{60}\text{Co}-\gamma$  线照射诱发的染色体畸变与剂量的关系

剂 量 (rad)	分析细胞数	畸 变 率 (%) <sup>1)</sup>			
		无 着 丝 点	双 + 环	畸 变 细 胞	总 畸 变
0.00...	3,000	0.400±0.115	...	0.467±0.121	0.467±0.121
24.25	3,828	2.299±0.245	0.444±0.108	2.638±0.259	2.821±0.346
48.50	1,045	5.550±0.729	1.914±0.428	6.794±0.778	7.656±0.856
97.00	400	15.000±1.937	5.000±1.118	18.500±1.941	20.750±2.278
194.00	200	38.000±4.359	22.000±3.312	44.000±3.510	60.500±5.500
291.00	250	91.200±6.040	47.200±4.340	76.400±2.686	141.200±7.516

1) 在标准误的计算中,畸变细胞(%)依二项式分布,余均按 Poisson 分布处理。

参照 WHO 1973 年建议的 4 个模式,用最小平方和方法,分别对畸变细胞(%),无着丝点(%),双+环/100细胞及总畸变(%)配合了剂量-效应曲线,并计算了回归线、回归方程的 95% 置信限及回归系数的标准误。

(一) 畸变细胞(%) 畸变细胞与受照剂量的关系可用  $Y = kX^m$  来表达,我们配合的回归式为:

$$Y = 3.556 \times 10^{-2} X^{1.355}, k \pm 1.96$$

$$\sigma_k = (3.16-3.99) \times 10^{-2},$$

$$m \pm 1.96 \sigma_m = 1.329-1.381. \text{ 回归线见图 1。}$$

(二) 无着丝点(%) 无着丝点与受照剂量的关系可用  $Y = a + bX + cX^2$  来表达,我们配合的回归方程为:  $Y = 1.793 + 7.303 \times 10^{-2}X + 1.017 \times 10^{-3}X^2$ ,其  $a$  项偏大欠妥,根据实际观察值,令  $X = 0$  时,  $Y = 0.4$ , 配合的回归方程为:  $Y = 0.400 + 5.146 \times 10^{-2}X + 8.640 \times 10^{-4}X^2$ . 回归线见图 2。

(三) 双着丝点+环/100细胞 双+环/100细胞与受照剂量的关系可用  $Y = kX^m$  来表达,我们配合的回归式为:  $Y = 1.25 \times 10^{-3}X^{1.851}$ ,  $k \pm 1.96\sigma_k = (0.678-2.299) \times 10^{-3}$ ,  $m \pm 1.96\sigma_m = 1.719-1.983$ . 回归线见图 3。

(四) 总畸变(%) 总畸变与受照剂量的关系可用  $Y = a + bX + cX^2$  来表达,我们配合的回归方程为  $Y = 1.979 + 1.070 \times 10^{-2}X + 3.836 \times 10^{-2}X^2$ . 令  $X = 0$  时,  $Y = 0.4$ , 配合得到的回归方程为  $Y = 0.400 + 6.074 \times 10^{-2}X + 1.419 \times 10^{-3}X^2$ . 回归线见图 4。

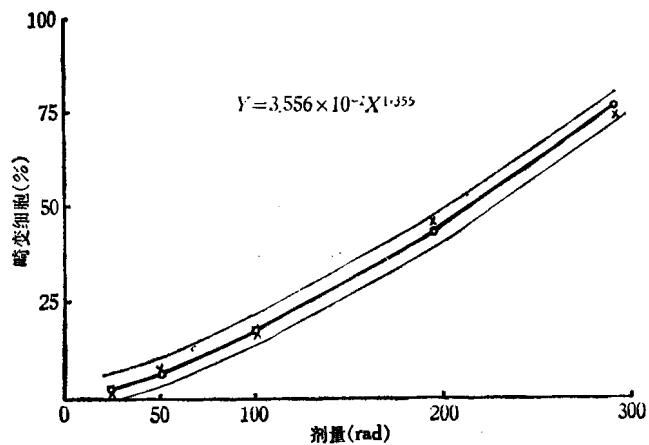


图1 畸变细胞(%)的剂量效应曲线  
× 观察组; ○ 计算组

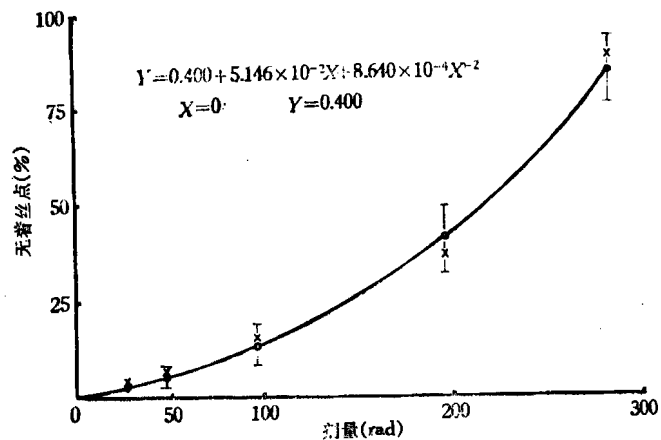


图2 无着丝点的剂量效应曲线  
× 观察组; ○ 计算组; I 计算组95%置信限

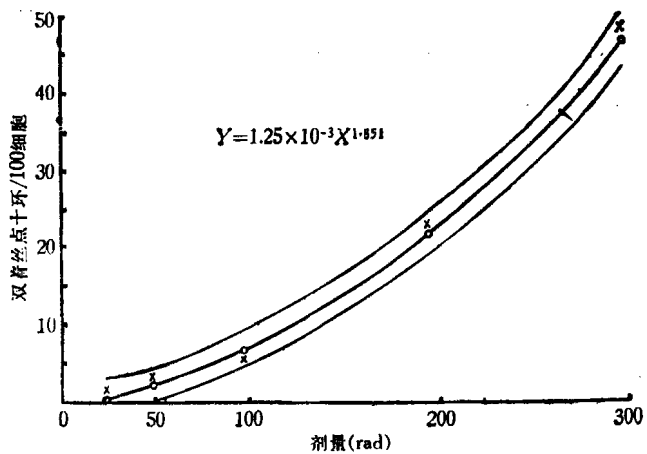


图3 双着丝点+环/100细胞的剂量效应曲线  
× 观察组; ○ 计算组

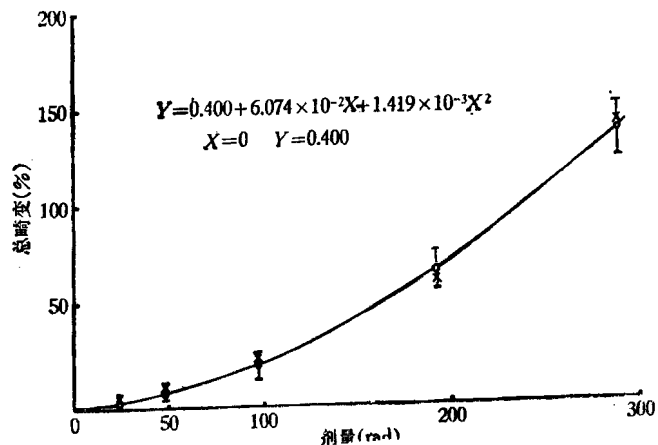


图4 总畸变的剂量效应曲线  
× 观察组; ○ 计算组; I 计算组95%置信限

## 讨 论

1973年 WHO 建议的方法中曾强调,进行染色体畸变剂量效应研究工作,必须要在 37°C 恒温条件下照射全血,才能模拟整体的情况<sup>[9]</sup>。已经有人证明在室温中照射会使畸变产额降低,照射培养物的产额则会比照射全血要高<sup>[9]</sup>。Lloyd 等人用在 37°C 照射全血的方法,进行了畸变的剂量效应研究,他们使用的  $^{60}\text{Co}-\gamma$  线剂量率与我们的相近,而且他们也用  $Y = bX + cX^2$  表达畸变率与受照剂量的关系<sup>[7]</sup>。从下面的比较中可以看出,两者的回归系数是接近的。既然回归系数  $b$ 、 $c$  的物理意义是分别表示  $\gamma$  光子单个径迹或 2 个以上径迹对畸变形成的贡献,而我们所用的剂量率(40rad/m)又稍低于

Lloyd 等人(50rad/m),所以  $b/c$  值也稍高于他们测得的结果。我们及 Lloyd 等所得到的无着丝点的  $b/c$  值,都大于总畸变的  $b/c$  值,说明这种受剂量率影响不大的畸变类型,在低剂量照射时是主要的。从 Lloyd 等人的结果中可以看到,当剂量率从 50 rad/m 降为 18 rad/m 时,  $b/c$  值大大升高,证实了低剂量率照射时,单次击中畸变形成的贡献是很大的(见表3)。

文献中常用  $Y = kX^m$  表达双+环/100 细胞、双着丝点(%)与受照剂量的关系。 $^{60}\text{Co}-\gamma$  线的剂量指数  $m$  在 1.7—1.8 之间<sup>[23]</sup>。我们求得的  $m$  值在其上限。

在 546 医院的大力协助下,我们对意外受照的 11 名人员的标本做了观察,其中 2 人的受照剂量为 46.8 和 43.3R,落在我们照射量的下限;

表 3 Lloyd 等人的实验结果与本实验结果的比较

作 者	射 线	剂 量 率 (rad/m)	剂 量 范 围 (rad)	畸 变 产 额	$b$	$c$	$b/c$
Lloyd等 (1975)	$\gamma$	50	25—500	无着丝点	$2.3 \times 10^{-4}$	$3.9 \times 10^{-6}$	59
				总畸变	$3.8 \times 10^{-4}$	$9.4 \times 10^{-6}$	40
		18		无着丝点	$2.6 \times 10^{-4}$	$1.4 \times 10^{-6}$	186
				总畸变	$4.8 \times 10^{-4}$	$4.4 \times 10^{-6}$	109
本 文 (1977)	$\gamma$	40	25—300	无着丝点	$5.1 \times 10^{-4}$	$8.5 \times 10^{-6}$	60
				总畸变	$6.0 \times 10^{-4}$	$1.4 \times 10^{-6}$	43

表 4 本试验中四名受照者全身剂量的推算结果

受 照 者	物 理 剂 量 (rad)	分 析 细 胞 数	畸 变 细 胞 (%)	总 畸 变 (%)	生 物 剂 量 (rad)	
					畸 变 细 胞 (%)	总 畸 变 (%)
吴××	45.39	200	12(6.0)	12(6.0)	43.36	44.96
曹××	42.00	200	10(5.0)	10(5.0)	37.90	39.52
尹××	24.15	124	6(4.8)	6(4.8)	36.77	37.05
唐××	不明	200	6(3.0)	6(3.0)	36.77	37.05

表 5  $^{60}\text{Co}$  放射源事故中受照者受照剂量观测结果

受 照 者	分 析 细 胞 数	畸 变 细 胞 数 (%)	双 + 环 数 (%)	总 畸 变 数 (%)	生 物 剂 量 (rad)		
					畸 变 细 胞 (%)	双 + 环 / 100 细胞	总 畸 变 (%)
唐××	200	8 (4)	4 (%)	10 (5)	32.64	53.83	35.93
苏××	127	2 (1.6)	—	—	16.38	—	—

1人为24.9R,接近于我们的下限;有1人的受照剂量不清。因其余各例的剂量较小,不在我们所研究的剂量范围内,故不做讨论。将这4名受照者的观察结果分别代入本研究建立的畸变细胞(%)和总畸变(%)的回归方程,推算出了这些受照者的全身剂量(见表4)。

从以上结果可以看出,对前2名受照者推算出的剂量,与物理法测得的剂量是比较接近的;第三名高于物理剂量。特别是对受照剂量不明的1人,通过畸变分析的方法,仍可推算出受照剂量。

1978年1月某厂<sup>60</sup>Co放射源事故中,有2名工人在1.16—1.24日内多次受到不均匀的全身照射。事后一周,我们和307医院对其进行了染色体检查,并推算了他们相当于受到1次全身均匀照射的剂量,结果如下。用物理法对这2名人员做的剂量估算是:唐××头部(2—4)×10<sup>3</sup>rad,全身60—140rad,苏××全身15—30rad。我们所得结果33—54rad,接近但低于物理法给出的剂量下限,然而却与临床观察及血象的变化相符合。此外,用二次以上击中畸变产额,双+环/100细胞的剂量回归方程推算出的剂量53.83rad,明显地高于用畸变细胞(%)推算出的剂量32、64rad,表明被检者确实受到了不均匀的照射(见表5)。

综上所述,参考有关的文献资料及我们初步的实际验证,用本研究建立的“生物剂量计”,估算受到 $\gamma$ 线一次照射者的剂量,在25—300rad范围内是有可能在实际中应用的。但是,我们的实践很有限,今后还要更多的检验。

## 总 结

为将人体外周血染色体畸变作为剂量诊断的一项生物学指标,我们对离体全血在37℃恒温下经<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 线(0—291rad)照射后的染色体畸变,与受照剂量的关系进行了实验研究。结果表明,各种畸变类型随着剂量的增加而明显增加。统计分析证明,两者是高度相关的。用最小平方法和法,分别对畸变细胞(%),无着丝点(%),双+环/100细胞及总畸变(%)等项指

标,进行了剂量效应曲线的配合,建立了相应的回归方程: $Y = 3.556 \times 10^{-2} X^{1.355}$ ,  $Y = 0.400 + 5.416 \times 10^{-2} X + 8.64 \times 10^{-4} X^2$ ,  $Y = 1.25 \times 10^{-2} \times X^{1.851}$ 及  $Y = 0.400 + 6.074 \times 10^{-2} X + 1.419 \times 10^{-3} X^2$ 。

参考有关的文献资料及本实验室的初步验证,讨论了此项研究结果实际应用的可能性。

## 参 考 文 献

- [1] 周焕庚、郑斯英: 1975. 遗传学报, 2(1):48.
- [2] 周焕庚等: 1977. 生物化学与生物物理学报, 9(2): 147.
- [3] Bender, M. A. & Gooch, P. C., 1962. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 48: 522.
- [4] Bajerska, A. & Liniecki, J., 1969. *Int. J. Radiat. Biol.*, 16(5): 467—481.
- [5] Kaul, A. 1971. *Kerntechnik*, 13(6).
- [6] Evans, H. J. et al., 1967. in “Human Radiation Cytogenetics”, p. 20—36, Horth-Holland.
- [7] Lloyd, D. C. et al., 1975. *Int. J. Radiat. Biol.*, 28(1): 75—90.
- [8] Luehnik, N. V. & Sevankoev, A. V. 1976. *Mut. Res.*, 36: 363—378.
- [9] Dolphin, G. W. et al., 1973. *Health Physics*, 25: 7—15.
- [10] Virsik, R. P. et al., 1971. *Radiat. & Environm. Biophys.*, 14(2): 109—122.
- [11] Vulpis, N. et al., 1976. *Int. J. Radiat. Biol.*, 29(6): 595—600.
- [12] Kucereva, M. et al., 1972. *Int. J. Radiat. Biol.*, 21(4): 389—396.
- [13] Buoton, K. E. et al., 1971. *Int. J. Radiat. Biol.*, 19(4): 369—378.
- [14] Buoton, K. E., 1967. in “Human Radiation Cytogenetics”, p. 122, Horth-Holland.
- [15] Clemenger, J. F. & Soot, D., 1971. *Nature, new biology*, 234(48): 154.
- [16] Brown, J. K. & Meneill, J. R., 1971. *Health Physics*, 21: 519—522.
- [17] Schneider, G. J. 1969. *Radiat. Res.*, 4: 613—617.
- [18] Brewen, J. G. et al., 1974. *Radiat. Res.*, 59: 658—664.
- [19] Lloyd, D. C. et al., 1977. NRPB-R57, Harwell.
- [20] Ishihara, T. et al., 1973. *J. Radiat. Res.*, 14: 328—335.
- [21] Buckton, K. E. & Evans, H. J., 1973. “Methods for the Analysis of Human Chromosome Aberrations”, WHO, Geneva.
- [22] Evans, H. J. et al., 1975. *Mut. Res.*, 31: 135—148.
- [23] Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 24 Session, Supplement, New York, 1969.