

阳江天然高本底辐射地区居民 稳定性染色体畸变的研究

王春燕¹ 张伟¹ 陈德清¹ 早田勇² 南久松真子²
森岛弥重³ 袁镛龄⁴ 魏履新¹ 菅原努⁵

¹(卫生部工业卫生实验所 北京 100088)

²(日本放射线医学综合研究所 日本 千叶 263-8555)

³(日本近畿大学原子力研究所 日本 东大阪 577-8502)

⁴(湖南省劳动卫生职业病防治研究所 长沙 410007)

⁵(日本体质研究会 日本 京都 606-8225)

摘要 采用了第1、2、4号全染色体探针,以荧光原位杂交(FISH)技术,分析了广东天然高本底辐射地区(HBRA)⁵ 名儿童和13名老年男性以及对照地区(CA)⁶ 名儿童和11名老年男性淋巴细胞染色体的易位率。与老年人相比,儿童染色体的易位率低,且变异小;而在老年人中个体之间的易位率波动很大。高本底辐射地区居民染色体易位率与对照地区居民相应值比较无显著性差异。没有观察到高本底地区居民和对照地区居民在染色体稳定性畸变(易位)频率方面存在差异,这一研究结果与流行病学研究结果是一致的。长期的流行病学群组调查没有发现高本底地区存在与高本底辐射有关的癌症危险度增加。

关键词 高本底辐射, 人体淋巴细胞, 染色体彩涂, 染色体易位, 辐射健康效应
中图分类号 Q691

在人类低剂量辐射效应研究中染色体畸变分析是一种比较成熟的技术,它能提供精确的定量资料。为了达到这个目的,高质量的染色体标本制备和分析系统是基础。为此,本工作曾采用了 Hayata 等^[1]改进的染色体制备和畸变分析技术,研究了广东高本底辐射地区居民淋巴细胞非稳定性染色体畸变,其结果显示高本底地区居民的染色体畸变(双着丝粒和着丝粒环)率显著高于对照地区,并且随着累积剂量的增加而增加^[2]。但是迄今为止,流行病学调查结果没有发现癌症死亡率在高本底地区 and 对照地区之间存在统计学的差异。双着丝粒和着丝粒环是特异性地由电离辐射照射引起的,而可能与癌症危险有着更为直接联系的染色体的易位,则可以由电离辐射和化学因素以及代谢因子所引起的。以前的初步研究结果显示,染色体稳定性畸变在上述两地区之间没有差异,但是所分析的例数太少^[3]。本次研究的目的是增加研究例数和分析细胞数,进一步验证以往的研究结论。

1 材料和方法

1.1 研究对象

在阳江高本底地区和恩平对照地区共采集 35 例居民外周血。其中在高本底地区 5 例儿

中日合作研究经费(卫国合双字 95 第 0308 号)资助

第一作者:王春燕,女,1962年4月出生,1990年毕业于北京大学化学系,化学实验技术专业,主管技师,从事辐射细胞遗传学研究

收稿日期:初稿 2001-11-05, 修回 2001-12-07

童和 13 例老年人,对照地区 6 例儿童和 11 例老年人。

1.2 剂量估算

阳江高本底地区的高水平辐射主要来自于土壤和建筑材料中的 Th-232 和 U-238 及其子代产物。用 NaI(Tl)闪烁测量仪(Aloka TCS-166)测量了环境照射剂量。用袖珍电子个人剂量仪(Aloka PDM-101)测量了每个研究对象的辐射剂量。经过用合理的室内外居留因子的校正,计算了每个研究对象从出生到采血时的累积剂量。

1.3 细胞遗传学方法

1.3.1 标本制备 染色体的制备方法采用 Hayata^[1]建立的分离淋巴细胞方法,6mL RPMI1640 培养基中,含 2%PHA, 20% 胎牛血清,60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 卡那霉素和 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 秋水酰胺,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴箱培养 48h。细胞收获时用 0.075mol/L KCl 的低渗液 37 $^{\circ}\text{C}$ 处理 20min,3:1 甲醇冰醋酸固定,在湿润温热的盒子内用空气干燥法制片^[4]。细胞悬液保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ 的低温冰箱中。

1.3.2 荧光原位杂交(FISH) 根据 Yamada 等^[5]介绍的染色体彩涂技术方法。首先,染色体玻片标本用 RNase 处理^[6],在 70 $^{\circ}\text{C}$ (70% 甲酰胺/0.6 \times SSC)变性 50s。用全染色体 1、2 和 4 号探针(Cambio 公司)杂交并放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱过夜。杂交后的玻片经洗涤、信号放大,用 PI 染液(0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 于 50mL 2 \times SSC)染色 3min 后,将含 DABCO (1,4-diazobichclo-(2,2,2)-octane) 的 glycerin/PBS(9:1)滴加于玻片上后,以盖玻片封片。

1.3.3 畸变分析 染色体和着丝粒在 NIKON 荧光显微镜(OPTIPHOT-2)下分别以 2B 和 2G 滤光片来鉴别。所有异常和可疑畸变细胞的位置以一个自动载物台装置或特殊的坐标玻片来记录位置并作显微彩色照相。易位的判断至少要有两个分析者在显微镜下进行,易位既包括单向易位,也包括相互易位。涉及到 3 条染色体的复杂易位计为 2 个易位,每个细胞的染色体基因组易位率(FG, genomic frequency)通过 Lucas 等^[7]推荐的公式

$$F_p = 2.05 f_p (1 - f_p) F_G$$

式中, F_p 为观察到的易位率; f_p 为 FISH 探针在全基因组中所占份额; F_G 为全基因组易位率。

1.3.4 统计分析 两地区数据资料采用泊松分布双侧 u 检验。

2 结果

2.1 年龄和剂量的比较

在高本底和对照地区老年人的平均年龄分别为 61.0 和 60.4 岁,儿童为 12.4 和 12.1 岁,外照射平均累积剂量(air kerma)分别为老年人 169.6mGy 和 36.1mGy,儿童相应的外照射剂量为 33.0mGy 和 7.8 mGy,个人资料见表 1 和表 2。

2.2 分析的细胞数与畸变率

在高本底地区和对照地区分别分析了 70,018 和 62,815 个细胞。对老年人分析的平均细胞数分别为 2,902 和 3,216。儿童分别为 6,459 和 4,573。基因组的易位率见表 1 和 2。在高本底地区和对照地区的儿童每 1×10^3 个细胞的易位率分别为 2.2-5.3 和 0-5.8。而老年人分别为 7.2-20.3 和 4.3-17.9。与老年人相比儿童染色体的易位率相对低,而在老年人当中变化波动很大。从表 1 或表 2 可见,高本底地区和对照地区的易位率无论是老年人还是儿童都几乎相等,经 u 检验,其差异均无统计学意义($p > 0.05$)。

Tab-1 Chromosome translocations detected in old men in HBRA and CA

Case	Sex	Age /year	Cell scored	Translocation	Fg/1000 cell	Dose/y (mGy/y) ^a	Total dose (mGy) ^a
HBRA							
Y01	M	89.5	2233	11	13.7±2.5	4.01	358.9
X01	M	74.5	2093	13	17.3±4.2	4.23	315.1
HO01	M	59.0	4454	15	9.4±3.1	2.08	122.7
HO02	M	53.3	5669	18	9.0±3.0	2.42	128.8
HO03	M	58.1	8375	30	10.1±3.2	2.76	160.5
HO04	M	53.2	4514	17	10.7±3.3	2.39	127.0
HO05	M	66.2	2333	6	7.2±2.7	2.28	151.3
HO06	M	55.5	1145	5	12.2±3.5	2.58	143.4
HO07	M	61.7	1376	7	14.2±3.8	2.74	168.9
HO12	M	58.5	1209	6	13.8±3.7	2.30	134.7
HO13	M	55.4	1591	10	17.5±4.2	2.58	142.8
HO14	M	54.6	1101	8	20.3±4.5	2.20	120.0
HO15	M	54.0	1629	7	12.0±3.5	2.42	130.5
Sub total			37722	153	12.9±3.8		
CA							
T01	M	70.5	1424	5	9.8±3.1	0.65	45.8
S01	M	58.7	653	1	4.3±2.1	0.56	32.7
CO01	M	61.2	3023	19	17.5±4.2	0.70	42.7
CO02	M	57.5	2208	9	11.4±3.4	0.56	32.3
CO03	M	57.1	3275	21	17.9±4.2	0.58	33.3
CO04	M	65.3	1186	6	14.3±3.8	0.55	35.8
CO11	M	55.6	3345	17	14.2±3.8	0.57	31.5
CO12	M	63.3	3369	14	11.6±3.4	0.56	35.3
CO13	M	55.3	4864	20	11.5±3.4	0.68	37.5
CO14	M	61.1	6282	21	9.3±3.1	0.59	35.9
CO16	M	59.1	5749	22	10.7±3.3	0.57	33.9
Sub total			35378	155	12.1±3.9		

y (year) Trans: translocation; Fg: genomic frequency of translocation ^aAir kerma

Tab-2 Chromosome translocations detected in children in HBRA and CA

Case	Sex	Age /year	Cell scored	Translocation	Fg/1000 cell	Dose/y (mGy/y) ^a	Total dose (mGy) ^a
HBRA							
Y03	F	10.8	1015	1	2.7±1.6	4.19	45.3
HC01	M	12.8	7543	11	4.1±2.0	2.16	27.7
HC02	M	12.1	10443	16	4.3±2.1	1.87	22.6
HC03	M	13.5	3826	3	2.2±1.5	2.47	33.4
HC04	F	12.8	9469	18	5.3±2.3	2.82	36.1
Sub total			32296	49	3.7±1.3		
CA							
T03	M	10.3	1742	3	4.8±2.2	0.66	6.8
S03	M	10.3	1056	1	2.6±1.6	0.56	5.8
CC01	F	13.8	8185	17	5.8±2.4	0.70	9.7
CC02	F	12.3	6886	13	5.3±2.3	0.60	7.4
CC03	M	12.9	6564	8	3.4±1.8	0.62	8.0
CC04	M	12.9	3004	0	0.0±0.0	0.72	9.3
Sub total			27437	42	3.7±2.2		

y (year) Trans: translocation; Fg: genomic frequency of translocation ^aAir kerma

3 结论

本研究未发现高本底地区和对照地区在染色体稳定畸变频率方面存在着显著性差异,辐射可以特异性地诱发双着丝粒和着丝粒环。然而,对易位而言,除了辐射还受到了多种因素的影响,例如化学、新陈代谢因子^[8]。本研究清楚地显示老年人和儿童易位发生率是不同的,年龄对易位率的影响证实了其他作者报道的结果^[9]。

从理论上讲,人的外周血经离体照射后,可以产生等额的双着丝粒和易位。根据 Lloyd 等^[10]实验研究,表明在剂量低于 5cGy 的情况下,1cGy 低 LET 辐射在 1×10^4 个淋巴细胞中诱发的双着丝粒大约为 3 个。因此,每个 cGy 低 LET 辐射同样在 1×10^4 个淋巴细胞中可诱发 3 个易位。在目前的研究中个人累积剂量高本底地区(HBRA)儿童为 33.0mGy,对照地区(CA)为 7.8mGy,而在老年人当中高本底地区和对照地区分别为 169.1 mGy 和 36.1mGy。在这些地区的辐射以 γ 射线为主。因此,从理论上讲,根据上述的剂量易位发生频率在 1×10^3 个细胞里应分别为 1.0、0.2、5.1、1.0,这些易位率远远低于表中所观察到的(见表 1 和 2)。

在本研究中没有估算吸入 ²²²²Rn 和 ²²⁰Rn 的短寿命衰变产物的剂量。对这些辐射源的测量显示高本底地区的剂量水平要高于对照地区^[11]。因此,高本底地区与对照地区辐射剂量的确切差别还要比表 1 和表 2 列出的数值大。

除电离辐射因素外,吸烟是一个常见的诱发染色体稳定性畸变的因素。Tucker 等和 Ramsey 等^[9,12]的研究显示:吸烟能使染色体稳定性畸变(易位和插入)发生的频率大大增加。在高本底和对照地区吸烟是非常普遍的,本研究中被调查的老年人全都吸烟。这可能部分地解释了为什么我们没有发现在高本底和对照地区的老年人易位发生频率的不同。

长期的流行病学群组调查没有发现,高本底地区存在与高本底辐射有关的癌症危险增加^[13]。本研究中也并没有观察到高本底地区居民和对照地区居民在染色体稳定畸变频率方面存在着差异,这一研究结果与流行病学研究结果是一致的。

参 考 文 献

- 1 Hayata I, Tabuti H, Furukawa A *et al.* J Radiat Res, 1992, **33**(Suppl): 231-241
- 2 姜 涛,早田勇,王春燕等. 中华放射医学与防护杂志,1999, **19**(2): 104-107
JIANG T, Hayata I, WANG C Y *et al.* Chin J Radiol Med Prot, 1999, **19**(2): 104-107
- 3 王春燕,早田勇,陈德清等. 中华放射医学与防护杂志,1999, **19**(2): 110-111
WANG C Y, Hayata I, CHEN D Q *et al.* Chin J Radiol Med Prot, 1999, **19**(2): 110-111
- 4 Hayata I, Wang Chunyan, Zhang Wei *et al.* J Radiat Res, 2000, **41**(Suppl): 69-74
- 5 Yamada K, Kasama J, Okabe N. In: Report on trial researches of unclear power by national organizations. 1996, **35**: 118-1-118-4 (in Japanese)
- 6 Hayata I. Biotech and Histochem, 1993, **68**: 150-152
- 7 Lucas J N, Awa A, Straume T *et al.* Int J Radiat Biol, 1992, **62**(1): 53-63
- 8 Kanda R, Hayata I. Int J Radiat Biol, 1996, **69**(6): 701-705
- 9 Tucker J D, Lee D A, Ramsey M J *et al.* Mutation Res, 1994, **313**: 193-202
- 10 Lloyd D C, Edwards A A, Leonards *et al.* Int J Radiat Biol, 1992, **61**(3): 335-343
- 11 YUAN Yongling, Hiroshige Morishima, SHEN Tong *et al.* J Radita Res, 2000, **41**(Suppl): 25-30
- 12 Ramsey M J, Moor II D H, Briner J F *et al.* Mutation Res, 1995, **338**: 95-106

13 陶祖范, 查永如, 孙全富等. 中华医学杂志, 1999, 79(7): 487—492

TAO Z F, CHA Y R, SUN Q F *et al*, Natl Med J China, 1999, 79(7): 487—492

STABLE TYPE CHROMOSOME ABERRATIONS IN THE RESIDENTS OF THE HIGH BACKGROUND RADIATION AREA IN CHINA

WANG Chunyan¹ ZHANG Wei¹ CHEN Deqing¹ I. Hayata² M. Minamihisamatsu²

H. Morishima³ YUAN Yongling⁴ WEI Luxin¹ Sugahara T⁵

¹*Laboratory of Industrial Hygiene, Ministry of Health, Beijing 100088)*

²*Division of Radiobiology and Biodosimetry, National Institute of Radiological Sciences, Japan Chiba 263—8555)*

³*Kinki University, Japan Osaka 577—8502)*

⁴*Labor Hygiene Institute of Hunan Province, Changsha 410007)*

⁵*Health Research Foundation, Japan Kyoto 606—8225)*

ABSTRACT Chromosome translocations were analyzed by chromosome painting techniques using No. 1, 2 and 4 whole chromosome painting probes to examine the effect of high—level natural radiation on the frequencies of chromosome translocations in human peripheral lymphocytes. The subjects were ⁵ children and ¹³ old men from the high background radiation area and ⁶ children and ¹¹ old men from the control area. Children had lesser translocations and smaller variation compared with the old men. The frequency of translocations among the old subjects varied widely from person to person. No difference of the frequency of chromosome translocations between high background radiation area and control area. No effect of high—level natural background radiation on the frequencies of stable chromosome translocation was detected.

KEYWORDS High background radiation, Human lymphocyte, Chromosome painting, Chromosome translocation, Health effect of radiation

CLC Q691