

辐射诱发新生儿和成年人 T 淋巴细胞染色体 畸变敏感性的初步比较

杜维霞 傅颖华 雷淑杰 陆雪

(中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所 北京 100088)

摘要 探讨了电离辐射诱发 T 淋巴细胞染色体畸变在新生儿与成年人之间的差异。采用在完全相同条件下用 ^{60}Co γ 射线一次照射离体的新生儿脐带血和成年人静脉血,新生儿照射 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0Gy;成年人照射 2.0Gy 和 3.0Gy,常规法分析染色体畸变率。结果表明, ^{60}Co γ 射线照射 2.0Gy 和 3.0Gy 诱发新生儿 T 淋巴细胞染色体着丝粒畸变率相当于成年人的 130%左右,无着丝粒畸变率两者几乎相同。 ^{60}Co γ 射线诱发新生儿 T 淋巴细胞染色体着丝粒畸变率符合线性 2 次多项式 $y=4.8104D^2+5.8314D+0.0034$ 模式, $r=0.9982$ 。初步结果表明,新生儿 T 淋巴细胞对电离辐射的敏感性显著高于成年人。

关键词 辐射敏感性,染色体畸变,新生儿,成年人,淋巴细胞

中图分类号 Q345+.22

电离辐射致人体染色体畸变、基因突变和细胞死亡,与辐射致癌密切相关。在对 441 例 18 岁青年至 95 岁以上的老人的研究未观察到辐射致淋巴细胞染色体畸变^[1,2]、基因突变和细胞死亡存在年龄差异^[3]。然而,辐射对新生儿淋巴细胞的致死效应显著高于成年人^[4]。而且,对日本原爆幸存者的研究也表明,辐射对儿童的致癌效应高于成年人^[5]。通过离体照射新生儿脐带血和成年人的外周血诱发淋巴细胞染色体畸变,定量的估算辐射敏感性的差异。

1 材料和方法

1.1 材料

取 2 例足月正常分娩新生儿脐带血和 2 例年龄分别为 25 岁和 35 岁的健康不吸烟成年男性静脉血,经肝素抗凝,分装在一次注射器内。

1.2 射线照射

以 ^{60}Co γ 射线,剂量率为 0.89Gy/min,照射脐带血 7 个剂量点,照射剂量分别为 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0Gy;成年人外周血照射 2 个剂量点,

即 2.0Gy 和 3.0Gy,这 2 个剂量与新生儿脐带血照射相应剂量点在完全相同的条件下,同时进行照射,照射后 37°C 温育 2h。

1.3 染色体标本制备和畸变分析

按照世界卫生组织(WHO)推荐的方法,采用微量全血培养淋巴细胞,将 0.5mL 全血加入到盛有 4mL RPMI1640 培养液中。其中含 20%胎牛血清及 0.3mL 植物血球凝集素(PHA),37°C 培养 48h 收获细胞。采用培养开始加入秋水仙素法,使 T 淋巴细胞分裂完全终止在第 1 次有丝分裂期^[4]。以 0.075mol/L 氯化钾低渗,V(甲醇):V(冰乙酸)=3:1 固定 2 次,空气干燥法制片,用 8%吉姆萨染液染色。

1.4 畸变分析

采用双盲法分析染色体畸变,记录着丝粒畸变。伴随一个断片的双着丝粒和着丝粒环记为一个着丝粒畸变,伴有 2 个断片的三着丝粒统计为 2 个双着丝粒畸变。不伴随断片的着丝粒畸变未列入统计分析。无着丝粒畸变包括断片、微小体和无着丝粒环。

第一作者:杜维霞,女,1954 年 10 月出生,1978 年毕业于沈阳中国医科大学,医学专业,副研究员

收稿日期:初稿 2003-06-06,修回 2003-07-14

由于畸变细胞率符合两项式分布, 每个剂量点计数细胞数按两项式分布 95%的可信限及 15%的允许误差, 计算应分析的细胞数, 共计数 28200 个分裂中期细胞。除未经照射组外, 其余各组分析的细胞数均满足统计学要求。

1.5 统计方法

采用泊松分布法来计算标准误差和显著性 u 检验。利用 Microsoft office 2000 软件拟合直线模式和线性 2 次多项式模式。

2 实验结果

2.1 敏感性比较

^{60}Co γ 射线诱发新生儿和成年人染色体畸变见表 1。从表 1 中可见, ^{60}Co γ 射线照射 2.0Gy 和 3.0Gy 后, 新生儿淋巴细胞染色体着丝粒畸变率均显著高于成年人 ($p<0.001$), 分别相当于成年人的 131.3% 和 129.0%。新生儿畸变细胞率也显著高于成年人 ($p<0.01$), 分别相当于成年人的 121.0%和 113.0%。然而对于无着丝粒畸变率新生儿与成年人在照射 2.0Gy 和 3.0Gy 后未显示出有统计学意义的差异。

Table 1 Comparison of the chromosome aberrations by ^{60}Co γ -ray irradiation between newborns and adults

Item	Absorbed dose 2.0Gy			Absorbed dose 3.0Gy		
	Newborns	Adults	P-Value	Newborns	Adults	P-value
Analysed cells	1000	1000	—	800	900	—
Dic.+ R ⁽¹⁾	28.90±1.70	19.90±1.41	<0.001	70.25±2.96	49.89±2.35	<0.001
Acentrics ⁽²⁾	16.20±1.27	14.10±1.20	>0.05	29.00±1.90	29.33±1.81	>0.05
Total	45.10±2.21	34.00±1.85	<0.001	99.25±3.52	79.22±2.97	<0.001
Aberrant cells(%)	37.50±1.53	30.90±1.46	<0.001	64.88±1.69	57.22±1.65	<0.01

⁽¹⁾ Number of aberrations per 100 cells (Including the dicentric and ring with fragment)

⁽²⁾ Number of aberrations per 100 cells (Including fragments, minutes and acentric ring)

2.2 剂量-效应关系

^{60}Co γ 射线诱发新生儿淋巴细胞染色体畸变, 与照射剂量的关系见表 2。从表 2 中可见, ^{60}Co γ 射线照射新生儿脐带血诱发淋巴细胞染色体畸变

率, 随吸收剂量的增加而增加, 其规律与成年人一致, 适合线性 2 次多项式模式, 各类畸变率的剂量-效应模式拟合如图 1 所示。

Table 2 Relationship between γ -ray doses and chromosome aberration induced by the irradiation in lymphocytes of newborn

Dose / Gy	Analysis cells	Aberrant cells/%	Dic.+ R ⁽¹⁾	Acentrics ⁽²⁾	Total
0	19800	0.32±0.04	0.02±0.01	0.30±0.04	0.32±0.04
0.5	2300	7.83±0.56	3.30±0.38	5.00±0.47	8.39±0.60
1.0	1200	17.58±1.10	9.38±0.91	7.92±0.81	18.08±1.28
2.0	1000	37.50±1.53	28.00±1.67	16.20±1.27	45.10±2.12
3.0	800	64.88±1.69	67.38±2.90	29.00±1.90	99.25±3.52
4.0	800	77.63±1.47	96.50±3.47	32.75±2.02	129.63±4.03
5.0	400	92.50±1.32	150.00±6.12	53.75±3.67	209.50±7.24

The ⁽¹⁾ and ⁽²⁾ are same as the table 1

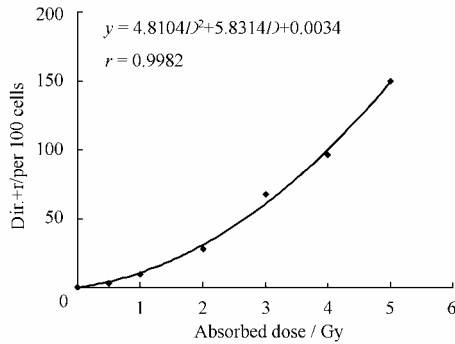


Fig.1 The relationship between dic. +tr of and doses by ^{60}Co γ -rays induced in lymphocytes of newborns

着丝粒畸变 (Dic+tr) :

$$y = 4.8104D^2 + 5.8314D + 0.0034, r = 0.9982$$

无着丝粒畸变 :

$$y = 0.7992D^2 + 6.1705D + 0.5623, r = 0.9901$$

染色体总畸变 :

$$y = 5.7891D^2 + 12.0120D + 0.6173, r = 0.9962$$

畸变细胞率符合 :

$$y = 0.1912 + 19.207D$$

直线方程拟合方式

$$r = 0.9954$$

上述公式中 y 表示每 100 个细胞中的畸变数, D 为受照射剂量, 以 Gy 为单位。

3 讨论

年龄对辐射损伤效应的影响主要表现在儿童与成年人之间的差别。Wang 等^[1]以 1.5Gy γ 射线离体照射 441 例 18—95 岁健康人的外周血, 分析染色体单体断裂, 未见年龄的影响。Joksic 等^[2]以 2Gy 电子射线离体照射 18—65 岁健康人的淋巴细胞, 也未观察到个体间辐射诱发染色体互换畸变率, 具有统计学意义的差异。在辐射诱发成年人基因突变和细胞存活方面也未观察到年龄的影响。Mei 等^[3]以 2Gy 或 4Gy X 射线照射 18—56 岁健康男性外周血淋巴细胞, 发现次黄嘌呤磷酸核糖转移酶基因 (HPRT) 位点的突变率与年龄无关。而且, 平均失活剂量值或其他剂量-存活参数与年龄之间不存在显著的相关性。然而, 新生儿脐带血淋巴细胞对 γ 射线的平均失活剂量非常显著地低于成年人对照组, 显示新生儿的 T 淋巴细胞比正常成年人更敏感^[4]。在本研究中, 对比研究新生儿和成年人对 2Gy 或 3Gy ^{60}Co γ 射线诱发 T 淋巴细胞染色体畸变的敏感性, 发现

新生儿染色体畸变细胞率和着丝粒 (Dic+tr) 畸变率均显著地高于成年人。这些结果都表明新生儿 T 淋巴细胞辐射敏感性高于成年人, 但是由于本实验所用的例数较少, 这一结果有待进一步证实。而对于小鼠的研究结果也支持这种观点。Sugahara 等^[6]所著 2002 年国际科技大会会议论文中有报道 Sasaki 以 ^{137}Cs γ 射线照射胎鼠、新生鼠、青少年、青壮年和中年雌性 B6C3F 小鼠, 用寿命缩短作为远期效应的综合指标, 分析远期效应与年龄的关系, 发现新生鼠和青少年鼠对射线最为敏感。

如果儿童对电离辐射损伤的敏感性比成年人高。就应在辐射防护中将儿童作为一个特殊群体考虑。本研究结果显示辐射诱发新生儿淋巴细胞染色体着丝粒畸变率显著高于成年人, 无着丝粒畸变不存在这种关系。这提示在以染色体畸变率作为电离辐射的生物剂量, 应当考虑到年龄因素的影响。如果以辐射诱发成年人淋巴细胞着丝粒畸变建立的剂量-效应标准刻度曲线估算儿童的照射剂量, 则可能高估了儿童的受照射剂量, 而以无着丝粒畸变估算受照射剂量, 可以不考虑年龄因素^[7]。

在辐射诱发新生儿淋巴细胞染色体畸变中, 着丝粒畸变与无着丝粒畸变两者不是都显著地高于成年人, 这种分离现象可能是由于辐射致 DNA 断裂修复重接受年龄的影响。着丝粒畸变 (主要是双着丝粒) 是由于辐射致 DNA 双链断裂后错误修复重接的结果。而无着丝粒畸变 (主要是断片) DNA 双链断裂后未发生修复的产物。据 Mayer 等^[8]报道在未经刺激分裂的人体淋巴细胞中 DNA 双链断裂修复能力随年龄的增加而减退。并指出与年龄有关的 DNA 双链断裂修复和重接效应是由于染色质结构的改变。对 γ 射线照射后不同年龄大鼠的大脑和脾脏中转录的基因片段的多聚酶链式反应 (PCR) 扩增的研究也证实 DNA 损伤修复与年龄有关, 而且发现在快修复期 DNA 损伤的修复量不受年龄影响, 而在慢修复期才显示出老年大鼠 DNA 的损伤修复显著降低^[9]。

参考文献

- 1 WANG L E, Bondy M L, de Andrade M *et al.* Radiat Res, 2000, 154 (1): 20-27
- 2 Joksic G, Nikolic M, Spasojevic-Tisma V. Neoplasma,

- 1997, **44** (2): 117-121
- 3 Mei N, Imada H, Nomoto S *et al.* J Radiat Res, 1996, **37** (4): 235-245
- 4 Waugh A P, Beare D M, Arlett C F *et al.* Int J Radiat Biol, 1991, **59** (3): 767-776
- 5 Pierce D A, Shimizu Y, Preston D L *et al.* Radiat Res, 1996, **146** (1): 1-27
- 6 Sugahara T, Nikaido O, Niwa O. Radiation and Homeostasis, International Congress Series 1236, 2002, 447-454
- 7 National Standard for Peoples Republic of China (GB/T12715-91), Chromosomal aberration analysis for biological dose assessment, enforced at January, 1, 1992
- 8 Mayer P J, Lange C S, Bradley M O *et al.* Ann Hum Biol, 1991, **18** (5): 405-415
- 9 Ploskonosova I I, Baranov V I, Gaziev A I. Mutat Res, 1999, **434** (2): 109-117

Comparison on sensitivity of chromosome aberrations induced by ionizing radiation between newborns and adults

DU Weixia FU Yinghua LEI Shujie LU Xue

(National Institute for Radiological Protection and Nuclear Safety, China CDC, Beijing 100088)

ABSTRACT To compare the sensitivity of chromosome aberrations induced by ionizing radiation between newborns and adults, Cord bloods from newborns and peripheral blood from adults were exposed to ^{60}Co γ -rays under same condition, and then the chromosome aberrations were analyzed by using conventional method. Results: Dicentric frequency in lymphocytes of newborns induced with 2.0Gy and 3.0Gy is about 130% more than those of adults. And the frequencies of acentric aberrations between newborns and adults are almost same; The frequencies of dicentric in lymphocytes from newborns induced by ^{60}Co γ -rays fits linear-quadratic dose-response equation which is described by the formula, $y=4.8104D^2+5.8314D+0.0034$ ($r=0.9982$). Sensitivity of newborn to ionizing radiation is significantly higher than that of adult.

KEYWORDS Radiation Sensitivity, Chromosome aberrations, Newborns, Adults, Lymphocytes

CLC Q345+.22