

# 特大剂量 $\gamma$ 射线照射的染色体畸变剂量效应曲线

陈英 骆亿生 曹珍山 刘秀林

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 北京 100850)

**摘要** 为准确估算大剂量事故受照者的生物剂量,拟合6—22Gy照射后染色体畸变剂量效应曲线。采用 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线照射离体人血,浓集有核细胞,一步法培养52h、68h和72h收获制片。计数双(多)着丝点+环数目,比较不同培养时间畸变差异,拟合剂量效应曲线及数学方程。用大剂量事故受照者的剂量结果对曲线进行验证。实验表明,大剂量照射后需适当延长细胞培养时间,52—72h获得的染色体双+环畸变率无明显差异。新拟合的剂量效应曲线符合线性平方模型  $Y=-2.269+0.776D-7.868\times 10^{-3}D^2$ 。经事故剂量验证结果可靠。本研究首次建立了6—22Gy照射后染色体双+环剂量效应曲线及数学方程,为特大剂量照射后的准确剂量估算提供了可依据的方法。

**关键词** 特大剂量  $\gamma$  射线, 染色体畸变, 剂量效应曲线, 事故剂量估算

**中图分类号** Q691, Q23, Q27

自从20世纪60年代Bender建立了用染色体畸变估算受照剂量的方法以来,仍无任何方法能够取代染色体生物剂量计的可靠性,特别是对急性低线能量转移(Linear energy translation, LET)全身均匀照射。包括本实验室在内的我国主要实验室和英、美、日、俄等国际知名实验室均先后建立了各自的染色体畸变剂量效应曲线<sup>[1]</sup>,并在国际原子能机构(IAEA)的组织协调下,多次进行过实验室间的对比<sup>[2,3]</sup>。然而,绝大多数实验室的剂量效应曲线均是在5Gy以内,至今尚无特大剂量范围的染色体畸变数学模型可供使用,主要原因是由于剂量高于6Gy时,淋巴细胞数急剧下降而难以获得足够的分析细胞。

随着国际反恐形势的日趋严峻和电离辐射的广泛利用,辐射事故时有发生,大剂量事故难以避免。以往对大剂量的估算都由现有的模型外推,其准确性难以保证,尤其当剂量远远超出曲线上限时,如2004年山东济宁的钴源特大剂量照射事故,因无刻度曲线而影响剂量估算的准确性。鉴于以上原因,为解决大剂量照射的生物剂量估算问题,我们尝试用离体人血建立了6—22Gy照射后染色体双(多)着丝点+环的剂量效应曲线,并用近年国内外发生的两起大剂量事故对曲线的准确性进行了验证,结果报道如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 血样采集

血样采自2名健康男性自愿献血者,平均年龄(24.5±1.5)岁,无烟酒嗜好,近期内未进行过任何医学诊断或治疗,也未接触过有毒有害化学物质。每人采集静脉血20mL,肝素抗凝,平均分装在8个10mL的无菌玻璃照射管内,置37℃水浴箱中,准备照射。

### 1.2 照射条件

放射源为本所 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 源,剂量率2.0Gy/min,分7个剂量点在37℃水浴条件下照射。排除照射装置和水的吸收外,照射剂量分别为6、8、10、12、15、18、22Gy。照后血样立即置37℃培养箱中静置1.5h。对照组除不照射外,其他条件与照射组完全一致。

### 1.3 标本培养与收获

将静置后的血样有核细胞层混匀,吸入含有20%小牛血清的5mL 1640培养液中,每瓶加入细胞0.5mL,同时加入适量的自制PHA(Plant hematocyte agglutinin,植物血球凝集素)和2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 秋水仙素(终浓度0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),37℃恒温培养。每剂量点设52h、68h和72h三个培养时间,每时间点培养细胞2—3瓶。分别收获细胞,常规低渗、固定,气干法

“十五”指令性课题(01L019)资助

第一作者:陈英,女,1956年9月出生,1982年毕业于苏州医学院放射医学专业,研究员,主要从事辐射生物剂量学研究  
收稿日期:初稿 2006-03-16,修回 2006-05-10

制片, 10% Giemsa 染色。

#### 1.4 畸变分析和标准曲线拟合

抓阄法将所有样片重新编号, 双盲法阅片。每剂量、每时间点分析细胞数尽量达到 200 个。准确计数双/多着丝点和环数目, 按照 1 个三着丝点 (tri) = 2 个双着丝点 (dic), 1 个四着丝点 (tet) = 3 个双着丝点; 1 个五着丝点 (pen) = 4 个双着丝点类推, 将全部畸变换算为双着丝点+环数目 (dic+r)。对每个剂量点不同培养时间所得结果进行两两比较和  $t$  检验, 标准误计算采用  $s = \sqrt{x/n}$ 。其中  $x$  为 dic+r 数目,  $n$  为分析细胞数。将结果输入涂开成等<sup>[4]</sup>研制的统计分析软件, 从 20 个数学方程式中挑选最佳模型, 并拟合标准曲线。

#### 1.5 事故剂量估算和曲线验证

用新拟合的剂量效应曲线对山东济宁钴源事故和日本东海村临界事故主要受照者重新进行生物剂量估算, 与原有剂量资料进行比较, 验证曲线的准确性。

## 2 结果

### 2.1 剂量效应曲线拟合

由各剂量点的不同时间分析细胞数 (见表 1)

可见, 15Gy 以上可分析细胞数逐渐减少, 52h 培养已不能获得足够分析细胞, 需适当延长培养时间。

**Table 1 Cell numbers analyzed at different culture times after 6—22Gy <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray irradiation**

Dose / Gy	Culture time			No of total cell
	52h	68h	72h	
0	200	—	—	200
6	200	200	200	600
8	200	200	200	600
10	200	200	200	600
12	200	200	200	600
15	68	200	200	468
18		100	100	200
22		100	100	200

将各剂量和时间点的双/多着丝点和环畸变数换算为 dic+r 数, 归纳于表 2 中。除 15Gy 52h 因分析细胞数较少, 经统计学检验 dic+r 数目与同组其它时间比较有显著差异以外, 其它各组所得结果均无明显差异 ( $p > 0.05$ )。将各剂量组不同培养时间的 dic+r 畸变数合并, 得到平均畸变结果 ( $\bar{x} \pm s$ ), 该结果显示出良好的剂量依赖关系。

**Table 2 Frequencies of dicentric and ring after 6—22Gy <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray irradiation**

Dose / Gy	(dic+r) / cell <sup>-1</sup>			
	52h	68h	72h	$\bar{x} \pm s$
0	0	—	—	0
6	1.975	1.905	2.105	1.9950 $\pm$ 0.0577
8	3.560	3.870	3.455	3.6280 $\pm$ 0.0777
10	4.800	4.820	4.510	4.7100 $\pm$ 0.0886
12	5.905	5.555	5.630	5.6967 $\pm$ 0.0974
15	6.600*	7.800	8.140	7.9700 $\pm$ 0.1412**
18		8.710	8.970	8.8400 $\pm$ 0.2102
22		11.080	11.110	11.0950 $\pm$ 0.2355

\*There is marked difference compared with results of 68h and 72h, \*\* The average value of 68h and 72h

用统计软件分别拟合 6—22Gy 不同培养时间的剂量效应曲线和数学模型, 结果见图 1、图 2 和表 3。由图 1 可见, 除 52h 曲线的 15Gy 剂量点上有明显偏离外, 其余各时间点的三条曲线几乎重合。剂量  $\geq 15$ Gy 的样品培养 52h 已很难获得分析细胞, 因此舍

去该点结果, 用表 2 中的平均值 ( $\bar{x} \pm s$ ) 拟合剂量效应曲线 (见图 2), 得  $Y = -2.269 + 0.776D - 7.868 \times 10^{-3}D^2$  ( $r = 0.997$ ), 符合线性平方模型, 所不同的是方程的二次项系数为负值。

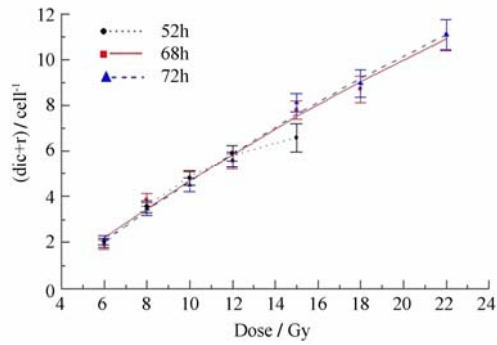


Fig.1 Dose-response curves of dicentric and ring at different culture times

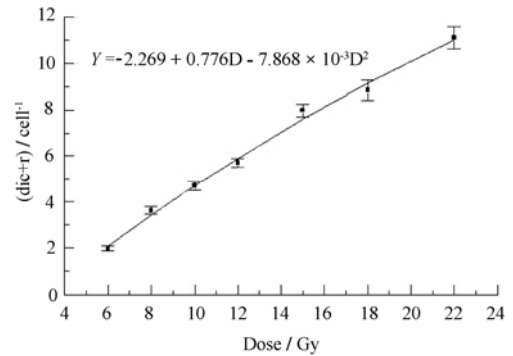


Fig.2 Dose-response curve of dicentric and ring after 6—22Gy  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -ray irradiation

Table 3 Dose-response equations of different culture times after 6—22Gy  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -ray irradiation

Culture time / h	Range of doses / Gy	Dose-response equations	r
52	6—15	$Y_1 = -4.918 + 1.400D - 4.177 \times 10^{-2}D^2$	0.999
68	6—22	$Y_2 = -1.927 + 0.726D - 6.386 \times 10^{-3}D^2$	0.995
72	6—22	$Y_3 = -2.351 + 0.778D - 7.585 \times 10^{-3}D^2$	0.997
52—72	6—22	$Y = -2.269 + 0.776D - 7.868 \times 10^{-3}D^2$	0.997

### 2.2 事故剂量估算

为检验新曲线估算生物剂量的可靠性，对近年来发生的两起大剂量照射事故进行重新剂量估算，即 1999 年日本东海村的临界事故<sup>[5,6]</sup>和 2004 年山东

济宁的钴源照射事故（详细报道刊登于中华放射医学与防护杂志 2006 年专刊）。估算结果见表 4。将用新拟合曲线估算的生物剂量与原有剂量资料进行比较，结果十分接近，证明曲线具有实际应用价值。

Table 4 Biological dose estimations of accidental exposed patients

Accident place	Patient	Analyzed cell	dic+r	(dic+r)/cell <sup>-1</sup>	Dose data / Gy	Dose estimation / Gy
ToKai-mura	A	78	903	11.6	>20 <sup>[6]</sup>	23.5
(Japan)	B	175	537	3.1	7.4—8.3 <sup>[6]</sup>	7.5
Jining	C	200	894	4.5	8—12*	9.7
(China)	H	13	119	9.2	12—25*	18.1

\* 参见中华放射医学与防护杂志 2006 年第 6 期专刊

### 3 讨论

长期以来，用染色体畸变估算受照剂量的范围大都在 5Gy 以内。剂量过大时，不仅可供分析的中期分裂细胞数减少，而且多畸变细胞亦明显增加，使分析的准确性受到影响。针对这些问题，本文采取了浓集有核细胞并适当延长培养时间的方法来保证细胞数量；同时尽量增加分析细胞数，以减少畸变误差。15Gy 以内每个剂量点分析细胞数均达到 600 个，15Gy 以上至少达到 200 个（见表 1）。拟合的各条曲线相关系数 r 均在 0.99 以上（见表 3），表明曲线的拟合度很好。另外，在制备标准曲线的过程中，还特别注意了各种影响因素，如离体血的照

射温度、照后静置时间以及获得第 1 期(M<sub>1</sub>)细胞的培养时间等，以保证与整体结果的一致性。

目前国际上生物剂量估算采用的细胞培养方法仍是 5-氟脱氧尿嘧啶加姬姆萨染色法 (5-FPG)，目的是为了计数纯 M<sub>1</sub> 期细胞的畸变。由于 5-Fdu 或多或少会对培养细胞产生一定毒性作用，使分析细胞数减少，对大剂量照射并不适用。陈德清等<sup>[7]</sup>从 80 年代首先开始采用提前加入低浓度秋水仙素来阻断细胞进入 M<sub>2</sub> 期的方法，经与 FPG 法对比，在适当的秋水仙素浓度作用下培养 48—54h，可以获得近百分之百的 M<sub>1</sub> 期细胞，且分裂相明显增加。尽管秋水仙素浓度对染色体长度会有一定影响，但适当的浓度并不影响畸变的辨认。本文仍然采用我

国沿用的方法,并且比较了不同培养时间的畸变差异。经统计学检验,证明在大剂量条件下培养52—72h的畸变结果无明显差异。而随着剂量的增加,细胞分裂明显阻滞,周期延迟,只有适当延长培养时间才能获得足够的M<sub>1</sub>期细胞。以15Gy照射组为例,常规培养52h可分析的细胞数极少,而培养68—72h则可以获得较多的分析细胞(见表1)。即使延长培养时间至96h,仍然可以得到与72h相近的染色体畸变结果(本文未给出数据)。

为了验证新曲线在大剂量范围应用的可行性,用日本东海村和山东济宁事故剂量估算的结果进行了验证。在东海村临界事故中,Kanda等<sup>[8]</sup>用PCC-R方法和早年Norman等<sup>[9]</sup>建立的1.9MeV X射线30Gy照射得到的dic+r结果估算两名主要受照者的剂量分别达到20Gy以上和8Gy左右,本文用新拟合曲线估算的结果与此十分相似(表4)。在济宁事故中,开始因没有大剂量曲线,用原有5Gy剂量效应曲线外推,估算的生物剂量偏低,与临床表现以及物理模拟剂量不大相符。用新曲线重新估算的剂量结果则比较接近实际情况(表4)。证明6—22Gy剂量效应曲线可以用于6Gy以上大剂量 $\gamma$ 照射的生物剂量估算。迄今为止,这是唯一报道的参考刻度曲线,它的准确性还有待在实际应用中不断得到验证。

#### 参考文献

1 金耀珍主编. 放射生物剂量估计. 北京: 军事医学科学

出版社, 2002. 18-25

JIN Cuizhen chief edit. Radiation biological dose estimation. Beijing: Military Medicine Press, 2002. 18-25

2 International Atomic Energy Agency. Biological dosimetry: Chromosome aberration analysis for dose assessment—Technical report series No 260. Vienna: IAEA, 1986

3 International Atomic Energy Agency. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment—Technical reports series No 405. Vienna: IAEA, 2001

4 涂开成, 曹珍山, 叶常青, 等. 中国辐射卫生, 1993, 2(3): 107-110

TU Kaicheng, CAO Zhenshan, YE Changqing, *et al.* Chin J Radiol Health, 1993, 2(3): 107-110

5 Hayata I, Kanda R, Minamihisamatsu M, *et al.* J Radiat Res, 2001, 42 (suppl)

6 Murata H, Akashi M. The report of the criticality accident in a uranium conversion test plant in Tokai-mura. Japan: National Institute of Radiological Sciences, 2002, 29-32

7 陈德清, 张朝阳. 辐射防护, 1985, 5(5): 457-460

CHEN Deqing, ZHANG Chaoyang. Radiat Prot, 1985, 5(5): 457-460

8 Kanda R, Hayata I, Lloyd D C. Int J Radiat Biol, 1999, 75(4): 441-446

9 Norman A, Sasaki M S. Int J Radiat Biol, 1966, 11(3): 321-328

## Establishment and verification of dose-response curve of chromosomal aberrations after exposure to very high dose $\gamma$ -ray

CHEN Ying LUO Yisheng CAO Zhenshan LIU Xiulin

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

**ABSTRACT** To estimate accurately biological dose of the victims exposed to high dose, the dose-response curves of chromosome aberration induced by 6—22Gy <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray were established. Human peripheral blood in vitro was irradiated, then lymphocytes were concentrated, cultured 52h, 68h and 72h and harvested. The frequencies of dicentric (multi-centrics) and rings were counted and compared between different culture times. The dose-response curves and equations were established, as well as verified with high dose exposure accidents. The experiment showed that the culture time should be prolonged properly after high dose exposure, and no significant differences were observed between 52—72h culture. The dose-response curve of 6—22Gy fitted to linear-square model  $Y=-2.269+0.776D-7.868 \times 10^{-3}D^2$  and is reliable through verification of the accident dose estimations. In this study, the dose-response curve and equation of chromosome dic+r after 6—22Gy high dose irradiation were established firstly, and exact dose estimation can be achieved according to it.

**KEYWORDS** Very high dose  $\gamma$ -ray, Chromosome aberration, Dose-response curve, Accident dose estimation

**CLC** Q691, Q23, Q27