

- |  |  |
|--|--|
| 2 Rudkin GT and Stollar BD. Nature, 1977; 265; 472       | (2); 179   |
| 3 Pinkel D et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1986; 83: 2934 | 6 Matsuoka A et al. Mutagenesis, 1994; 9(2); 151     |
| 4 Lucas JN et al. Int J Radiat Biol, 1989; 56(1); 35     | 7 Lucas JN et al. Int J Radiat Biol, 1992; 62(1); 53 |
| 5 Bauchinger M et al. Int J Radiat Biol, 1993; 64        | 8 Straume T et al. Health Phys, 1991; 60(1); 71      |
|  | 9 Straume T et al. Health Phys, 1992; 62(2); 122     |

## 毛发细胞计数作为生物剂量计的可能性

中国医学科学院放射医学研究所 刘旭平 王知权综述

**摘要:**对毛囊死细胞裂解断片、毛发宽度、毛发髓质细胞计数(HMCC)、毛发皮质细胞计数(HCCC)四个指标作为辐射生物剂量计的原理、优缺点进行了讨论,并详细指出HMCC和HCCC作为有价值的生物剂量计的应用前景。

电离辐射可引起机体的很多反应,准确估算受照者的吸收剂量,对于推算辐射致癌危险度,放射损伤诊断等至关重要。估算剂量时,除物理估算系统外,近年来人们发展了很多生物检测方法。如稳定性染色体畸变(Cs)<sup>[1-3]</sup>,细胞膜上血型糖蛋白A(GPA)<sup>[4-5]</sup>,次黄嘌呤鸟嘌呤转磷酸核糖基酶位点(HPR)<sup>[6]</sup>和淋巴细胞微核法(MN, CBMN)等<sup>[7]</sup>。这些指标作为生物剂量计已得到证实和应用。本文利用毛囊和毛发的辐射敏感性,对作为生物剂量计的可能性进行讨论。

### 1 原理

大多数哺乳动物包括人的身体表面覆盖大量的毛囊,并产生毛发。毛囊的生长呈周期性,从毛发生长到脱落为一个周期,包括生长期、衰退期、终末期。处在生长期的毛囊,其胚基质区的细胞迅速增殖,进一步分化成内根鞘细胞、髓质细胞、皮质细胞、毛小皮。这些细胞逐渐角质化形成毛发。在毛囊生发角质化的区域,髓质和皮质的细胞核逐渐退化。

胚基质中快速增殖的细胞对辐射非常敏感,并且胚基质的损伤能预期反应在毛发中。

辐射对毛囊的影响包括细胞的固缩和裂解。死细胞的出现和细胞周期的紊乱进而导致形成毛发的细胞减少,毛发变细,甚至出现异常毛发。如剂量足够大,则会导致毛发脱落<sup>[8]</sup>。Potten等<sup>[9]</sup>证明了胚基质中细胞快速增生区与形成毛发区之间,毛发的髓质细胞数和皮质细胞数均是剂量-效应关系敏感的终点,它们随着剂量的增加而减少。

毛囊及其毛发的这些变化能检测到的剂量依赖关系范围为0~5Gy<sup>[9]</sup>,每种方法都有其特征的短暂关系,且毛囊和毛发又易得到,它们不仅能测定剂量,而且是唯一能够鉴别体表剂量分布的生物系统<sup>[10]</sup>。为此,Potten等提出了毛囊及毛发作为有价值的生物剂量计的可能性。

### 2 剂量效应关系

小鼠毛囊的生长周期短,容易控制。选择7~8周龄的小鼠<sup>[9-10]</sup>,此时其背部毛囊处在终末期,易拔。经拔去小鼠背部毛发,10天后照射动物,经处理制成所需标本,分析毛囊死细胞的断片数、毛发宽度、毛发髓质细胞数和毛发皮质细胞数。

## 2.1 裂解细胞断片数及毛发宽度的变化

Potten 等<sup>[8]</sup>用<sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线(4.44Gy/min)或300kVp X 射线(0.13Gy/min)全身照射动物,记录毛囊细胞中死细胞的断片数。结果显示:每个细胞的断片数与剂量呈线性相关,以2.92断片/毛囊切面·Gy 的速率增加。断片数在受照后12h 检测到的值最高,12h 后开始下降,此方法在照后12h 检测到的剂量下限可为0.1Gy。

毛发宽度的影响用小鼠 awl 毛发(具有4个髓质细胞宽的毛发)检测。其宽度随剂量的增加而减少。减少的百分数与剂量呈线性相关。每增加1Gy 减少7%左右,检测到的最小值在1~2Gy 之间。

## 2.2 毛发髓质细胞计数(HMCC)

新生的毛发为一细胞束,毛发髓质细胞排列成规则的柱状,其中的细胞总数即为HMCC<sup>[11]</sup>。资料表明,不同类型的毛发有相似的辐射敏感性<sup>[10]</sup>。为了便于计数,HMCC 多用单个髓质细胞柱的毛发。

Potten<sup>[10]</sup>用<sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线(4.0Gy/min)、<sup>60</sup>Co  $\gamma$  射线(0.039Gy/min 或 0.0023Gy/min)、62MeV 中子线(0.35Gy/min)、300kVp X 射线(0.31Gy/min)对小鼠进行全身或局部照射。取不同小鼠分别作时间间隔实验与剂量-效应实验。

时间间隔实验:4Gy 照射动物,受照后1~7天处死动物进行髓质细胞计数。结果:不论 $\gamma$  射线或中子线,HMCC 降至最低的时间均在受照后3天。

剂量-效应实验:受照后3天,记录不同射线不同剂量照射动物后的 HMCC。这些数据拟合 Puck-style 模型  $P = [1 - (1 - e^{-D/D_0})^n]$  或  $P = A(e^{-\alpha D - \beta D^2})$  线性方程模型,  $A, D_0, n, \alpha, \beta$  值均可根据所得的数据推算得到<sup>[12]</sup>。由此得到不同射线照射后的存活曲线。对于<sup>60</sup>Co 与<sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线不同剂量率照射后的存活曲线,低剂量率与高剂量率的曲线一致。 $\gamma$  射线与中子线的存活曲线比较,中子线的存活曲

线较陡,肩带较窄, $\gamma$  射线在高剂量时有一坪台。中子线照射有 jig 限制性,为检测其有无影响,用300kVp X 射线照射(0.31Gy/min)麻醉与非麻醉的动物,获得的曲线与<sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线比较很相似。说明 jig 限制性与麻醉与否均不影响结果。

统计学结果显示,<sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线在高剂量时有一个有意义的坪台,所得数据拟合的曲线  $D_0$  值为  $2.05 \pm 0.15$  Gy,  $n = 1.7 \pm 0.12$ 。n 与1有显著差异( $P < 0.001$ )。低剂量率  $\gamma$  射线(0.04Gy/min)无明显的肩带,适合简单的指数方程,  $D_0$  值为  $2.98 \pm 0.14$  Gy。中子线照射高剂量时没有坪台,拟合 Puck 方程  $D_0 = 0.97 \pm 0.05$  Gy,  $n = 1.48 \pm 0.01$ 。n 与1有显著差异( $P < 0.001$ )。用指数方程拟合  $\alpha = 0.48 \pm 0.05$  Gy<sup>-1</sup>,  $\beta = 0.0021 \pm 0.0004$ 。

## 2.3 毛发皮质细胞计数(HCCC)

毛发皮质细胞形成环绕髓质的环,有一细长的细胞核。其形成三维空间,应用共聚焦显微镜在髓质的上下能得到不连续的多个光学截面,计数其中的皮质细胞数即得到 HCCC。皮质细胞计数多用宽的 awl 毛发,细小绒毛的皮质细胞的光学面不足以进行 HCCC。

Potten<sup>[9]</sup>用<sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线(4Gy/min)照射小鼠,时间间隔实验结果表明,受照后3天皮质细胞降至最低值。

剂量-效应实验:用不同剂量照射动物,3天后制成标本,用共聚焦显微镜拍摄髓质上下的聚焦面。从 awl 毛发的中间1/3处取一段毛发,这些毛囊证明与拔后13天的毛发髓质细胞数一致。拍摄140 $\mu$ m 长毛发的髓质上下的聚焦面,计数全部细胞数,即得到皮质细胞计数。用 Puck-styl 模式  $P = A [1 - (1 - e^{-D/D_0})^n]$  描述皮质细胞的生存曲线,得到  $D_0 = 2.42 \pm 0.12$  Gy,  $n = 1.0 \pm 0.1$ , n 与1无显著差异,可用简单方程  $P = A \exp(-D/D_0)$  表示,  $D_0 = 2.85 \pm 0.10$  Gy。

HCCC 与 HMCC 的数据相比, HMCC 的

曲线呈现一个有意义的肩带,而 HCCC 与剂量呈指数关系,与 HMCC 相比有不同的生存曲线,HCCC 测到的最小值为0.5Gy。由于人类毛发有恒定的皮质核而经常没有髓质柱的迹象,因此皮质细胞计数对于人类的检测更有意义。

### 3 讨论

毛囊和毛发长期以来被认为可能作为核事故和医学放射事故及长期宇宙飞行后的有价值的生物剂量计。

应用毛囊死亡细胞的组织学指标,可在照后3小时检测到0.05Gy的剂量,而毛囊细胞显然没有组织学检查敏感。这种检测的不足是在照后12小时必须做毛囊胚基质区的活组织检查,对机体损害较大,且12小时后这些指标(断片数)开始降低。大多数人类毛囊的终末期要比生长期长<sup>[8]</sup>,所以这一方法作为生物剂量计有一定难度。

也曾试图应用早期毛发宽度的变化作为生物剂量计。其材料易取,不需活检。Sreber等曾在鼠和猪中应用该项指标,随即又尝试将这种方法用于放疗患者<sup>[13]</sup>。然而这一方法存在不足:一是对低剂量0.5~1.0Gy不敏感,二是毛发宽度的测量会因毛发的不同类型、横切面、卷曲程度而受影响<sup>[8]</sup>。这些现象在人类毛发中经常出现,故毛发宽度的测量也不是一个十分理想的检测方法。

鉴于此,Potten等又试验在毛囊和毛发的形成区发展其它的检测方法,如髓质细胞计数和皮质细胞计数。髓质细胞计数不仅能检测剂量,还能检测剂量率与LET效应的差异。γ射线照射后, HMCC测到的最小值为0.5~1Gy,HCCC测到的最小值为0.5Gy。t检验表明HCCC 0.5Gy的结果与对照组有显著差异(P=0.02),HMCC 0.5Gy则无差异(P=0.10)。1Gy时,HCCC(P=0.002)和

HMCC(P=0.028)的值均有显著意义。HMCC对较高LET(62MeV中子)检测到的最小值为0.2~0.3Gy,且中子线的结果不因辐射几何学、动物条件、剂量率不同而变得复杂<sup>[9-10]</sup>。HMCC与HCCC的这些变化既能在活组织的毛囊中检测到,又能在拔下的毛发中检测到<sup>[10]</sup>。

HMCC与HCCC的操作方法简单,重复性好,对辐射敏感且每种检测方法都有其理想的剂量-效应关系。因此,HMCC和HCCC很有可能作为辐射损伤的生物剂量计。Potten等正在估算受照人类毛囊的皮质细胞数的变化,试图将HMCC应用于放疗患者的毛发中,并将进一步研究它们在保健物理中的实际应用。因此,HMCC和HCCC作为有价值的生物剂量计的应用前景非常乐观。

### 参 考 文 献

- 1 王知权等. 国外医学·放射医学核医学分册, 1991;15(4):154-158
- 2 Straume T et al. Health Phys, 1992; 62(2):122-130
- 3 金瑾珍等. 辐射防护, 1984; 4(6):425
- 4 Langlois RG et al. Hum Genet, 1986, 74: 353
- 5 Langlois RG et al. Science, 1987; 236(4800):445-448
- 6 Norman A et al. Mutat Res, 1988; 208(1): 17-19
- 7 Fenech M et al. Mutat Res, 1985; 147(1/2): 29
- 8 Potten CS. Int J Radiat Biol, 1985; 48(3): 349-360
- 9 Potten CS. Int J Radiat Biol, 1993; 63(1): 91-95
- 10 Potten CS. Int J Radiat Biol, 1993; 63(1): 97-104
- 11 Potten CS. Int J Radiat Biol, 1990; 57(1): 13-21
- 12 Roberts SA. Int J Radiat Biol, 1990; 57(6): 1243-1246
- 13 Sieber VK et al. Br J Radiol, 1992; 65(270): 148-151