

- 5 Tucker JD et al. Int J Radiat Biol, 1995; 67: 19
- 6 Fernandez JL et al. Int J Radiat Biol, 1995; 67: 295
- 7 Nakano M et al. Int J Radiat Biol, 1993; 64: 565
- 8 Kanda R et al. Int J Radiat Biol, 1996; 69: 701
- 9 Finnon P et al. Int J Radiat Biol, 1995; 68: 429
- 10 Bauchinger M et al. Int J Radiat Biol, 1993; 64: 179
- 11 Stephan G et al. Int J Radiat Biol, 1997; 71: 293
- 12 Tucker JD et al. Cytogenet Cell Genet, 1995; 68: 211

(收稿日期: 1998-07-20)

## 对推算全基因组易位率公式的探讨

苏州医学院放射医学系 (苏州, 215007) 徐永忠综述 郑斯英 王知权\* 审校

**摘要:** 应用全基因组易位率推算公式将荧光原位杂交技术检测的部分染色体易位率转换成全基因组易位率是基于辐射诱发染色体断裂和互换的随机假说,但有些作者研究发现,染色体断裂和互换并不是随机的。本文就此作一综述。

**关键词:** 全基因组易位率 推算公式 随机假说

人类受到急性照射后,用外周血淋巴细胞双着丝粒体和/或环状染色体畸变作为生物剂量计估算受照剂量是一种敏感而又简单易行的方法。但由于双着丝粒体或环状畸变会随照后时间的延长而丢失,而稳定性染色体畸变,如易位受照后可保持相当恒定,可用于回顾性剂量或累积剂量的评估。传统的常规染色或 G 显带技术分析易位不但困难而且费时。随荧光原位杂交 (FISH) 技术的发展,用全染色体探针可迅速和准确检测易位。但 FISH 分析染色体畸变的一个不足是探针仅覆盖部分基因组,它仅能测定与探针有关的畸变,而常规或 G 显带对双着丝粒体或易位的分析是以全基因组为基础的畸变分析。为了便于同常规的研究结果进行比较,或不同的全染色体组合探针所得结果之间进行比较,需将 FISH 测得的染色体畸变率转换为全基因组畸变率<sup>[1]</sup>。本文试从目前应用的全基因组易位率转换公式出发,阐述其在实际应用中所面临的一些问题。

### 1 全基因组易位率推算公式

Lucas 等<sup>[1]</sup>提出, FISH 检测的染色体易

位率 ( $F_p$ ) 可通过下式转换为全基因组易位率 ( $F_G$ ):

$$F_G = F_p / 2.05 f_p (1 - f_p) \quad (1)$$

式中  $f_p$  为全染色体探针在全基因组中所占份额。公式的推出基于这样一种假设: 辐射诱发的畸变断裂点在整个基因组中随机分布,且染色体之间发生交换的概率是相等的。这种情况下,每条染色体上发生的易位仅与该染色体的 DNA 含量或物理长度成正比。上式表明: 用 FISH 方法检测染色体畸变的效率随  $f_p$  值增加而呈抛物线上升,当  $f_p$  增至 0.5 时,即探针对基因组的覆盖率达 50% 时达最大值。另一方面, FISH 方法测定基因组畸变率的准确性对任何一种类型的探针都是一致的,它不随全染色体探针占全基因组大小而变化。

为此, Lucas 等<sup>[2]</sup>进一步用下列研究证实了方程的有效性: ① 运用 G 显带技术对 52 名原爆幸存者研究发现,除 1 号外,染色体易位率与其 DNA 含量成线性相关,  $F_i = 0.0058 + 1.81d_i$  ( $F_i$  为易位率,  $d_i$  为 DNA 含量,  $r = 0.915$ ); ② 对一名事故受照

\* 中国医学科学院放射医学研究所 (天津, 300192)

者,用不同的全染色体探针或组合探针检测易位率,发现易位率如方程所揭示的那样,取决于全染色体探针或组合探针在基因组中所占份额;③对20名原爆幸存者和4名急性事故受照者研究表明,通过FISH检测值估算的全基因组易位率与G显带方法检测的易位率有很好的—致性,相关分析显示两种方法所得结果的直线回归系数为0.75,相关系数为0.98

随后,于1994年Matsuoka等<sup>[3]</sup>和Salassidis等<sup>[4]</sup>也分别提出了他们的近似公式,证实了公式(1)的有效性。

## 2 辐射诱发的断裂点在基因组中分布的随机问题

由于FISH技术只能检测部分染色体畸变率,将其转变成全基因组畸变率的一个必要条件就是辐射诱发的染色体畸变断裂点在染色体上和染色体间的分布是随机的。目前的研究结果则反映了两种不同的观点。

Pandita等<sup>[5]</sup>用早熟凝集染色体(PCC)和FISH技术相结合检测辐射诱发的染色体断裂与其DNA含量的关系。结果表明,一定剂量下染色体单位长度的断裂点随染色体DNA含量的增加而呈线性增加,而且剂量越大,增幅越大,说明断裂点在染色体间的分布是非随机的,染色体越大,对辐射诱发的断裂越敏感。但Kovacs等<sup>[6]</sup>的研究结果正好相反,用PCC结合FISH技术检测人纤维母细胞AG1522的148和13号染色体受照后0.24小时及第一次和多次分裂后的染色体畸变,结果表明,无论是电离辐射初时造成的染色体断裂还是修复后的染色体畸变,在这些染色体间的分布是随机的,与染色体DNA含量成正比。

Tucker等<sup>[7]</sup>用FISH技术研究体内和体外照射诱发的人12和4号染色体断裂点的分布。结果发现,染色体末端的断裂和重排比中间少,断裂点在这些染色体上的分布是非

随机的,作者认为这是由于非随机的断裂和修复所造成的。而Durante等<sup>[8]</sup>用PCC结合FISH技术检测人外周血淋巴细胞34号染色体受 $\gamma$ 射线照射后0.8小时及48小时中期分裂相辐射诱发的畸变与剂量的关系。结果发现,受照后立即检测,辐射诱发的染色体断片与剂量成线性关系,而且34号染色体对辐射的敏感性也相似。结果表明,断裂点在这两号染色体上是随机分布的,可从它们的DNA含量加以预测。Matsuoka<sup>[3]</sup>等的结果也显示染色体畸变在染色体间是随机分布的。

## 3 染色体断裂点间的互换一致问题

利用公式将FISH检测的部分染色体畸变率转变成全基因组畸变率的另一个必要条件,是染色体畸变断裂点间的重接是随机的。随机重接的一个证据就是双着丝粒体同易位的发生率相同,着丝粒的存在与否并不影响重接。

Finon等<sup>[9]</sup>应用全染色体特异探针235号和泛着丝粒探针检测X射线照射后人外周血淋巴细胞双着丝粒体和易位。发现彩染的染色体和未彩染的染色体间交换而产生的双着丝粒产量占全基因组双着丝粒产量的1/3,与公式(1)非常一致,辐射诱发的易位与双着丝粒体无显著差异。另外,Kanda等<sup>[10]</sup>用常规染色结合FISH技术比较人外周血淋巴细胞受照后第一次有丝分裂中期易位和双着丝粒,结果表明,易位和双着丝粒率相等。Fernandez等<sup>[11]</sup>应用全染色体12号组合探针检测人外周血淋巴细胞受X射线照射后易位和双着丝粒体,结果也发现易位和双着丝粒体率近于相等,易位与双着丝粒体在全基因组中随机分布,这反映在各自剂量效应曲线的线性和平方系数比较一致。除此之外,还有一些研究结果也证实了辐射诱发的双着丝粒体和易位率相等<sup>[12,13]</sup>。

畸变断裂点的随机重接在另外一些研究

结果中也得到证实。Simpson等<sup>[14]</sup>应用全染色体 1 2 4 5 7和 13号探针及泛着丝粒探针检测人纤维母细胞受 X 射线照射后的染色体畸变,对基于随机模型的预测值和观察值进行比较,结果发现,畸变类型 2F和 2G 近于相等(F和 G是 CAB分类系统术语,F是指染色体在着丝粒两侧各有一个断裂点,G代表着丝粒环)着丝粒环和臂间倒位,臂内倒位和无着丝粒环的发生率近于相等,这与错接的随机性相吻合<sup>[15]</sup>。

与上面的研究结果相反,一些研究结果表明,辐射诱发的易位高于双着丝粒体。Schmid等<sup>[16]</sup>应用 1 4和 12号染色体特异探针研究辐射诱发的染色体畸变,结果发现,易位率是双着丝粒体率的 1.8倍。这与早期的研究结果一致<sup>[17,18]</sup>,也被后来的研究结果所证实。如 Tucker等<sup>[19]</sup>用 FISH技术结合分带,Bauchinger等<sup>[20]</sup>用染色体特异探针加泛着丝粒探针都发现辐射诱发的易位率显著高于双着丝粒体率。Boei等<sup>[21]</sup>用双色 FISH研究人外周血淋巴细胞受 2GyX射线照射后 1和 4号染色体参与畸变形成的情况,结果发现,与基于 DNA含量的预期值相比,4号染色体过多参与相互易位,1号染色体相互易位与双着丝粒体之比为 1.12,而 4号为 2.09。结果表明,辐射诱发的染色体重排不与 DNA含量成比例分布,这与 Knehr<sup>[22]</sup>、Stephan等<sup>[23]</sup>的研究结果相一致。

造成易位与双着丝粒体之比不一致的原因还不清楚,可能有以下几点:①仅靠全染色体彩染图像分析,不可避免地将一些带有近端着丝粒染色体部分的双着丝粒体误认为易位。为提高方法的准确性,应同时应用全染色体探针及泛着丝粒探针,即使这样也还存在缺点,一是荧光的分辨率低,另一个是 $\alpha$ 卫星 DNA常用作泛着丝粒探针,当断裂和交换发生在着丝粒的这个重复序列部位,一个着丝粒常被计数两次。因此,就方法的可靠性来说,有人认为,常规染色结合彩染的方法比同

时应用全染色体探针及泛着丝粒探针要优越<sup>[10]</sup>。②各实验室计数标准及计数者的判断标准不同。③染色体的辐射敏感性存在着个体差异<sup>[11]</sup>。

#### 4 染色体畸变的邻近效应

邻近效应是指初始形成的 DNA双链断裂在时间和空间上越接近,它们之间就越优先相互作用<sup>[24]</sup>。邻近效应对电离辐射诱发的染色体畸变有一定的影响:①邻近效应可影响不同类型体畸变的相关产量。因为任何一条染色体在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期都局限在一个不规则的区域,而不是均匀一致地、或多或少地分散于整个细胞核。②邻近效应也可影响不同品质辐射的相关畸变产量。如高 LET辐射由于可造成一连串的紧密相连的 DNA双链断裂,比低 LET辐射在畸变的形成方面更为有效<sup>[25]</sup>。有两个主要方面可证明邻近效应的存在:①对不同畸变类型,如涉及较少的染色体畸变与涉及更多的染色体畸变、臂内畸变与臂间畸变进行比较,发现畸变类型在统计学上倾向于涉及较少的染色体畸变与臂内畸变<sup>[24]</sup>;②对不同品质和剂量的射线诱发的染色体畸变的研究表明,径迹内串联的紧密排列的 DNA双链断裂比随机分散的 DNA双链断裂更易形成畸变<sup>[25]</sup>。一些研究结果表明,径迹间、染色体间发生错接的最大相互作用距离大约是 1~2 $\mu$ m,而径迹内和染色体内发生错接的相互作用距离更短。邻近效应的存在说明染色体畸变的形成并不完全是随机的。

#### 5 结语

FISH分析法因具有快速、客观和准确的特性而被应用于辐射剂量学领域。但由于 FISH检测的是部分基因组畸变,应用公式(1)将其转变成全基因组畸变是基于随机断裂和互换假说,每条染色体发生的互换畸变仅与该染色体 DNA含量或物理长度成正

比。但目前有部分研究表明,辐射诱发的染色体断裂和互换并不是随机的,与其DNA含量不成比例分布。这样,通过单个染色体或染色体组合探针检测的易位而推算的全基因组易位与实际值可产生一定偏差。因此,应进一步拓展研究,积累资料或加入一定的权重因子,以求得更全面更圆满的解释。

### 参 考 文 献

- 1 Lucas JN et al. *Int J Radiat Biol*, 1989; 56: 201
- 2 Lucas JN et al. *Int J Radiat Biol*, 1992; 62: 53
- 3 Matsuoka A et al. *Mutagenesis*, 1994; 9: 151
- 4 Salassidis K et al. *Mutat Res*, 1994; 311: 39
- 5 Pandita TK et al. *Cytogenet Cell Genet*, 1994; 67: 94
- 6 Kovacs MS et al. *Radiat Res*, 1994; 137: 34
- 7 Tucker JD et al. *Radiat Res*, 1994; 140: 31
- 8 Durante M et al. *Radiat Res*, 1994; 145: 53
- 9 Fannon P et al. *Int J Radiat Biol*, 1995; 68: 429
- 10 Kanda R et al. *Int J Radiat Biol*, 1996; 69: 701
- 11 Fernandez JL et al. *Int J Radiat Biol*, 1995; 67:

- 295
- 12 Nakano M et al. *Int J Radiat Biol*, 1993; 64: 565
- 13 Straume T et al. *Int J Radiat Biol*, 1993; 64: 185
- 14 Simpson PJ et al. *Int J Radiat Biol*, 1996; 69: 429
- 15 Muhlmann-Diaz MC et al. *Radiat Res*, 1995; 143: 175
- 16 Schmid E et al. *Int J Radiat Biol*, 1992; 62: 673
- 17 Cremer T et al. *Cytometry*, 1990; 11: 110
- 18 Natarajan AT et al. *Int J Radiat Biol*, 1992; 61: 199
- 19 Tucker JD et al. *Int J Radiat Biol*, 1993; 64: 27
- 20 Bauchinger M et al. *Int J Radiat Biol*, 1993; 64: 179
- 21 Boei JJW A et al. *Int J Radiat Biol*, 1997; 72: 139
- 22 Knehr S et al. *Int J Radiat Biol*, 1996; 70: 385
- 23 Stephan G et al. *Int J Radiat Biol*, 1997; 71: 293
- 24 Chen AM et al. *Int J Radiat Biol*, 1996; 69: 411
- 25 Sachs RK et al. *Int J Radiat Biol*, 1997; 71: 1

(收稿日期: 1998-11-06)

## 航天飞行人员电离辐射的生物剂量估计

北京放射医学研究所(北京, 100850) 张泽云综述 叶常青 金瑾珍审校

**摘 要:** 介绍空间电离辐射的特点, 空间辐射及加速重离子诱发染色体畸变的生物效应, 并就染色体畸变分析应用于空间辐射的生物剂量估计的方法和存在的问题进行综述。

**关键词:** 空间电离辐射 染色体畸变 生物剂量估计

随着人类空间活动的发展, 航天员在空间飞行时间不断延长, 飞行空间不断扩展, 空间电离辐射(以下简称空间辐射)对健康的影响逐渐成为人类空间活动的一个制约因素。准确测量空间辐射的剂量是辐射危害评价以及辐射防护的基础。虽然物理剂量测定是空间飞行不可缺少的, 但空间飞行器舱内外辐射场环境复杂多变, 目前对空间辐射的生物效应还不很清楚, 而生物剂量的估计能较客观地反映受照人员受照水平, 从而可以对航天员健康危害作出准确的评价。

### 1 辐射生物剂量计

辐射生物剂量计是利用电离辐射诱发人体的生物学效应来估计受照剂量。目前的辐射生物剂量指标包括临床指标、细胞遗传学指标、基因突变指标以及电子自旋共振(ESR)等多种。这些指标各有利弊, 互相补充, 其中细胞遗传学指标发展最为成熟, 并已得到广泛应用。

以染色体畸变指标进行辐射生物剂量估计具有许多优点。因为电离辐射的重要靶点