

- [16] Baldwin AS. The NF κ B and I κ B Proteins—new discoveries and insights [J]. *Ann Rev Immunol*, 1996, 14: 649-681.
- [17] Mayor MW, Baldwin AS. The transcription factor NF κ B control of oncogenesis and cancer therapy resistance [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1470: M55-M62.
- [18] Kuchibhotla J. Nuclear factor κ B dominant negative genetic constructs inhibit X-ray induction of cell adhesion molecules in the vascular endothelium [J]. *Cancer Res*, 1998, 58: 5484-5488.
- [19] Hallahan DE, Virudachalam S. Intercellular adhesion molecule 1 knockout abrogates radiation-induced pulmonary inflammation [J]. *Prac Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 6432-6437.

Effect of radiation on leukocyte adhesion to irradiated vascular endothelial cells induced by ionizing radiation

WANG Yu-xiang

(Department of Radiation Oncology, The Second Affiliated Hospital, Suzhou University, Suzhou 215004, China)

Abstract Radiation increases adhesion of leukocytes to irradiated vascular endothelial cells *in vivo* and *in vitro* during early stage and this correlation with normal tissues reaction and injuries caused by irradiation. The probable mechanisms are up-regulated expression of some adhesive molecules induced by ionizing radiation, nuclear factor NF κ B adjust the expression of this adhesive molecules, correspondent antagonist could decrease or eliminate this effect.

Key Words vascular endothelial cell; adhesive; adhesion molecule; radiation

文章编号: 1001-098X(2001)03-0134-04

用荧光原位杂交对早先受照者剂量验证和剂量重建的探讨

孙元明

(中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所, 天津 300192)

摘要: 介绍了近年来用荧光原位杂交技术研究早先受照者的辐射生物剂量方法和体外剂量效应关系曲线的研究, 探讨了国外应用该技术对早先受照者剂量重建和验证的研究。荧光原位杂交将为人们研究早先受照者染色体损伤和剂量重建提供一个新的手段。

关键词: 荧光原位杂交; 早先受照者; 剂量重建

中图分类号: R144.1 文献标识码: A

人淋巴细胞中期双着丝粒的分析是对近期个人全身受到急性、均匀照射时剂量估算最有效的生物学方法之一, 但作为回顾性生物剂量计的观察指标是不准确的, 因为它在照后随时间延长易丢失。目前用于个人受照剂量重建的方法有外周血淋巴细胞稳定性染色体畸变、红细胞膜血型糖蛋白 A(GPA)

基因突变检测法和牙釉质电子自旋共振(ESR)等, 其中外周血淋巴细胞稳定性染色体畸变是对照后较长一段时间进行回顾性分析和评价的最常用方法。由于生物剂量计用于回顾性剂量研究的实用性和局限性, 因此, 荧光原位杂交(FISH)方法用于受照剂量的回顾性研究引起了人们的高度关注。

1 用 FISH 进行剂量重建研究的方法学

用 FISH 对早先受照者进行剂量重建的机制与常规淋巴细胞染色体稳定性畸变分析是相同的, 体外照射与体内照射在同一剂量出现的易位率相同,

收稿日期: 2001-02-19

基金项目: 中国医学科学院中国协和医科大学院校基金(952060)

作者简介: 孙元明(1962-), 男, 辽宁鞍山人, 中国医学科学院放射医学研究所副研究员, 主要从事放射生物学研究。

审校者: 中国医学科学院放射医学研究所 王知权

染色体易位畸变率能在体内长时间保留。

用组合全染色体探针进行 FISH检测能对靶染色体全长匀标记(描绘),没有杂交染色体区经适当的复染显现另一种颜色,靶染色体结构重排很容易被识别。同时,使用全着丝粒探针易于分辨出染色体易位和双着丝粒。

全染色体探针组一般由三个染色体探针组成,约占细胞全基因组 DNA含量的 20%。分析靶染色体畸变仅能覆盖部分基因组,20世纪 80年代, Lucas从辐射诱发染色体畸变的断裂点在整个基因组中随机分布,染色体之间发生交换概率相同的设想,提出 FISH检测染色体易位率(F_p)经公式 $F_c = F_p / 2.05 f_p (1 - f_p)$ 换算为相当全基因组中染色体易位率(F_c), f_p 为靶染色体在基因组中所占份额。有实验数据表明,染色体易位率与基因组中 DNA含量不成比例^[1,2],但更多的实验表明,易位率与 DNA含量或其相对长度是一致的,慎重选取不同靶染色体作组合探针,效果是可行的。

早先受到低 LET照射者,诱发的染色体畸变与剂量成线性平方关系,即 $Y = C + TD + UD^2$,其中 C 为自发畸变率, T 和 U 各为一次和二次击中畸变率。对长期慢性小剂量受照者进行剂量估算时,平方项系数对易位畸变贡献很小,线性系数是主要贡献者。用易位率估算剂量以 S_v 表示的公式为 $H = [(Y - K) / T] \cdot Q$,其中 Y 为受照者每个细胞染色体易位率, K 为淋巴细胞的本底易位率, T 为离体照射时量效刻度曲线中的线性系数, Q 为辐射品质因数。

早先低剂量受照者的剂量重建主要取决于剂量效应关系曲线中的线性系数,能定量地说明低剂量率和照后剂量效应关系的是二次方程中的 α 系数。Hsieh WA等^[3]用全染色体组合探针和 FISH技术分析染色体易位率,研究了 0.032、0.62和 0.92 Gy ^{60}Co 射线照射人淋巴细胞的 α 系数和易位剂量效应曲线,结果 ^{60}Co 射线慢性照射后 α 系数与急性小剂量照射淋巴细胞 α 系数是一致的。

用 FISH分析染色体畸变计数常用两种分类方法: S&S(Savage & Simpson)和 PAIN T(protocol for aberration identification and nomenclature terminology)分类法,它们能有效克服常规细胞遗传学分类法用于 FISH分析染色体畸变时的缺陷。S&S分类法适用于说明畸变发生原理和推论基因组内要发生的畸变,它只能用于单个靶染色体的 FISH分析。PAIN T分类法是一类描述性专用术语,描述用

FISH和其他方法观察到的各种染色体畸变,能灵活地描述出现最复杂重排结构的染色体。根据 PAIN T分类法,不完全性易位的判定标准是在荧光显微镜下靶染色体显示出一个着丝点和双色;完全性易位在一个细胞中期内与易位的对应的另一部分也能见到^[4]。PAIN T分类法将一次性互换产生的完全性易位也看成是两次性互换的结果。

2 体外剂量效应关系曲线的建立

用双着丝粒率作为指标,针对不同辐射品质射线(高或低 LET,剂量率不同)的剂量效应关系曲线已进行了很好的研究,并得到广泛应用。用 FISH分析双着丝粒同样能用于绘制剂量效应关系曲线。Lindholm C等^[5]同时用常规细胞遗传学方法和 FISH技术分析双着丝粒,建立 ^{60}Co γ 射线剂量效应关系曲线:在每个剂量点, FISH分析靶染色体表明双着丝粒率和易位率是非常一致的,用两种方法分析双着丝粒得出剂量效应关系曲线也很一致,但常规法分析双着丝粒得到剂量效应曲线要好于 FISH分析完全性互换畸变得出的结果,这可能是记录标准不同所致。Barquinero JF等^[6]用 FISH法分析染色体畸变,用 PAIN T和常规细胞遗传学分类法计数染色体畸变,结果用 PAIN T法记录的双着丝粒与常规染片得出的双着丝粒效应曲线和剂量估算一致。剂量效应关系可以用畸变生成模式和能量沉积生物物理过程来解释,但是 PAIN T分类法是在没有任何理论假设前提下计数染色体易位的,这种计数方法是否适用于回顾性生物剂量计有待于进一步论证^[7]。

在理论上,染色体双着丝粒和易位出现概率是相同的,它们是两个或多个染色体出现缺失的结果,不完全性易位是两个染色体中的一个出现断裂结果,因此使用什么类型染色体畸变作为剂量效应观察指标是人们比较关注的。常规细胞遗传学方法分析双着丝粒的准确性得到了公认,用 FISH分析的全基因组的染色体双着丝粒的准确性也为人们所接受,但是,是选用完全性易位、不完全性易位还是所有的全部易位作为剂量效应观察指标,有着不同看法。

Bothwell AM等^[8]使用 1、3、4号全染色体组合探针和全着丝粒探针的 FISH技术分析剂量效应关系中的染色体畸变,并按 PAIN T分类法计数,结果表明所有染色体易位率与双着丝粒率相比没有明显

差异,以互换畸变为指标的剂量效应关系符合线性平方模式;经 FISH分析染色体易位、双着丝粒与常规方法分析双着丝粒剂量效应关系中的 α/β 系数,三者剂量效应关系曲线是非常相似的,因此作者认为,用 FISH分析全部易位、双着丝粒与常规法分析双着丝粒得到的剂量效应关系完全相同。Moquet JE等^[9]用 2 3和 5全染色体和泛着丝粒探针的 FISH技术对 X、 γ 和裂变中子诱发染色体畸变的剂量效应关系进行了研究:每种射线诱发靶染色体易位和双着丝粒之比平均为 1.5,并且不受辐射品质和同一品质不同照射剂量的影响;在 X、 γ 射线剂量效应关系中,双着丝粒和易位出现是相关的,即有易位的细胞比没有易位的细胞有更多机会含有双着丝粒;对三种射线来说, FISH分析靶染色体完全性易位与所有易位之比为 0.6~0.7,该比值在受照剂量低于 2Gy时出现,高剂量(X、 γ 射线为 3~4Gy,裂变中子为 2~3Gy)时,该比值减少到 0.5以下,表明剂量增高,细胞内染色体出现复杂连接概率增多,染色体复杂连接易出现不完全性易位,不完全性易位与其它染色体重排有关。Lindholm C等^[10]认为,不完全易位是不稳定的,在回顾性剂量估算时只能用完全性易位作为 FISH分析的指标。由此可见,究竟选用哪一种畸变作为剂量效应的指标,主要取决于该染色体畸变能否在细胞长期保存。

3 对早先受照者的剂量估算和验证

对受到辐射损伤的人员准确地进行剂量估算对治疗和健康评估是重要的,用 FISH技术、常规细胞遗传学方法和其他物理学方法对早先受照者剂量估算和比较可进一步证明估算剂量的准确性。

Salassidis K在 1994~1995年对 15名切尔诺贝利核事故受到高剂量照射者作了追踪报道:事故后 5年, FISH检出了他们的易位率,估算其中 12人受照剂量在 1.1~1.5Gy之间;3年后,12名受照者中的 11名易位率与 3年前相比没有显著性差别,说明易位是一个稳定性染色体重排,受照后在体内保持长期不变,反映最初染色体损伤;另一名受检者体内出现了染色体畸变的细胞克隆,占分析细胞 5.5%~9%,对总畸变率影响特别大,在回顾性剂量研究时要引起注意。切尔诺贝利核事故清扫人员从其佩带的剂量计来看,他们的受照剂量远远小于上述事故发生时的现场工作人员。Snigiryova G等^[11]对 52人核事故现场清扫工作人员(男性,年龄在 28

~72岁,1986~1995年间参加了各种核事故去污染和反应堆石棺重建)进行的分析结果表明:52名平均易位率为 $12 \pm 1.1/1000$ 个细胞,其中有 3人易位率明显偏高,去除后,平均易位率为 $10 \pm 1.1/1000$ 个细胞,估算剂量为 0.23Gy;52人中的 35人有监测记录,1人因记录剂量偏高,去除后,平均易位率为 $11 \pm 1.3/1000$ 个细胞,估算剂量为 0.25Gy,记录的监测剂量为 0.26 ± 0.03 Sv;17人没有剂量监测记录,易位率为 $12 \pm 3.1/1000$ 个细胞,与有剂量监测记录的相比没有显著性差别;34名有监测记录者中的 20人为仅 1986年一年在切尔诺贝利核事故现场工作人员,记录剂量为 0.19 ± 0.02 Sv,其他 14人为 1986~1995年在事故现场工作,记录剂量为 0.35 ± 0.06 Sv;另用常规遗传学方法和 FISH方法对双着丝粒和易位率进行测定,结果表明两种方法没有差别。

德国学者 Stephan A和 Pressl S^[12]对 3名 11年前的核事故受照者用 2 4和 8全染色体和全着丝粒探针进行了 FISH分析:3人平均易位率为 $13.4/1000$ 个细胞,易位的 75%为完全性易位;3名受照者在 11年前事故发生后的常规细胞遗传学 FPG (fluorescence plus Giemsa)染色双着丝粒率为 $7.8 \sim 10/1000$ 个细胞,用 FISH检测易位率与当时双着丝粒率相比,两者无明显差别。

Lloyd DC等^[13]对一位女性在 11年前吸入氙水发生内照射的受照剂量估算进行了研究:该女性误吸入氙水约 35GBq,经对尿中氙监测,氙水在她体内滞留约 50d,在事故后 39d和 50d由英国国家辐射防护委员会(National Radiation Protection Board, NRPB)进行双着丝粒分析,表明其吸收剂量为 0.58 ± 0.1 Gy,需要指出的是,在事故照射后 39d和 50d时体内仍有滞留氙水,组织仍然受到照射;事故后 6年,采集样品送到美国实验室(Lawrence Livermore National Laboratory, LLNL),用 1 2和 4全染色体组合探针进行 FISH分析表明,易位率为 0.044 ± 0.007 细胞,估算受照剂量为 0.74 ± 0.14 Gy;事故后 11年再取血样分送到两个实验室,分别用 2 3 5和 1 2 4全染色体组合探针进行 FISH分析,检出的易位率为 0.04 ± 0.006 细胞和 0.045 ± 0.006 细胞,估算受照剂量分别为 0.68 ± 0.12 Gy和 0.76 ± 0.12 Gy,说明用 FISH分析早先受照者的染色体畸变反映的是最初的染色体损伤,表明用 FISH对受到核事故急性照射和长期小剂量照射人

员进行回顾性生物剂量估算是有效的。

参考文献:

- [1] Luomahaara S, Lindholm G, Mustonen R, et al. Distribution of radiation-induced exchange aberrations in human chromosomes 1, 2 and 4[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(12): 1551-1556.
- [2] Xiao Y, Natarajan AT. Non-proportional involvement of Chinese hamster chromosomes 3, 4, 8 and 9 in X-ray-induced chromosomal aberrations[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(8): 943-951.
- [3] Hsieh W A, Deng W, Chang W P, et al. Alpha coefficient of dose-response for chromosome translocations measured by FISH in human lymphocytes exposed to chronic ^{60}Co gamma rays at body temperature[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(4): 435-439.
- [4] Finno P, Lloyd DC, Edwards AA. Fluorescence in situ hybridization detection of chromosome aberrations in human lymphocytes: applicability to biological dosimetry[J]. *Int J Radiat Biol*, 1995, 68(4): 429-435.
- [5] Lindholm C, Luomahaara S, Koivistoinen A, et al. Comparison of dose-response curves for chromosomal aberrations established by chromosome painting and conventional analysis[J]. *Int J Radiat Biol*, 1998, 74(1): 27-34.
- [6] Barquinero JF, Cigarran S, Caballin MR, et al. Comparison of X-ray dose-response curves obtained by chromosome painting using conventional and PAIN T nomenclatures[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(12): 1557-1566.
- [7] Bauchinger M. Retrospective dose reconstruction of human radiation exposure by FISH/chromosome painting[J]. *Mutat Res*, 1998, 404(1-2): 89-96.
- [8] Bothwell AM, Whitehouse CA, Tawn EJ. The application of FISH for chromosome aberration analysis in relation exposure[J]. *Radiat Protect Dosi*, 2000, 88(1): 7-14.
- [9] Moquet JE, Edwards AA, Lloyd DC, et al. The use of FISH chromosome painting for assessment of old dose of ionizing radiation[J]. *Radiat Protect Dosim*, 2000, 88(1): 27-33.
- [10] Lindholm C, Tekkel M, Veidebaamm T. Persistence of translocations after accidental exposure to ionizing radiation[J]. *Int J Radiat Biol*, 1998, 74(5): 565-571.
- [11] Snigiryova G, Braselmann H, Salassidis D, et al. Retrospective bidosimetry of Chernobyl clean-up worker using chromosome painting and conventional chromosome analysis[J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 71(2): 119-127.
- [12] Stephen A, Pressl S. Chromosome aberrations in human lymphocytes analysed by fluorescence in situ hybridization after *in vitro* irradiation, and in radiation workers, 11 years after accidental radiation exposure[J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 71(3): 293-299.
- [13] Lloyd DC, Moquet JE, Oram S, et al. Accidental intake of tritiated water: a cytogenetic follow-up case on translocation stability and dose reconstruction[J]. *Int J Radiat Biol*, 1988, 73(5): 543-547.

The possibility of dose verification and reconstruction of the early exposure by fluorescence in situ hybridization

SUN Yuan-ming

(Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin, 300192, China)

Abstract The paper introduces biological dose reconstruction methodology of the early exposuer and studies on dose response curve in vitro by FISH in recent years and comments the possibility of the technical application to victims' dose verification and reconstruction in abroad. FISH will become a new approach to analyze chromosome aberration and dose reconstruction for early exposure.

Key words fluorescence in situ hybridization; early exposuer; dose reconstruction