

文章编号: 1001-098X(2004)03-0121-07

· 放射医学 ·

# 电离辐射生物剂量研究现状

闵锐

**摘要** 生物剂量计有物理剂量计不可替代的优势,其重要性和科学意义已为世界各国放射生物学家所重视。合理正确使用生物剂量计应建立在对其特性充分了解的基础上。本文简述近年来生物剂量计研究和应用的现状。

**关键词** 生物剂量计; 染色体畸变; DNA 损伤; 基因表达

中图分类号 R144.1 文献标识码 A

## Current progress in research of ionizing radiation biodosimetry

MIN Rui

(Department of Radiation Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract** Biodosimetry has the advantages that can not be completely replaced by physical dosimetry. Its significance and scientific sense has aroused more attention of the radiobiologists in all over the world. It was showed that optimizing and correcting use of biodosimetry in any situation should be set on the base of well understanding to what people used. The progression on the research and application of biodosimetry will be viewed and the criteria of practical biodosimetry will also be raised in the article.

**Key words** biodosimetry; chromosome aberration; DNA damage; gene expression

电离辐射对健康的危害和辐射安全评估,各种条件下的急、慢性辐射损伤伤员的分类、诊断和治疗等都需要了解和确定受照射剂量。现有的物理剂量计无论是准确性还是可靠性都大大提高,基本上可满足职业条件下对个人和环境辐射剂量监测的要求。但是,在一些偶发、突发放射性事故发生时,在对大规模人群放射性危害调查的情况下,在一些特殊的作业环境和条件下个人或人群未能佩带适当的物理剂量计而其他的现场物理剂量记录往往不易及时得到的情况下个体受照射剂量的缺乏直接影响辐射损伤病人的分类和及时、有效地救治,以及对后续辐射生物效应的研究和对健康影响的评价。

生物剂量计是利用人体生物材料如组织、细胞、DNA、蛋白质等,在电离辐射后发生的与辐射剂量存在一定量-效关系的某个方面的改变,利用这种可测、可记录和分析的生物改变来刻度辐射剂量的一类生物标记物与分析方法。与物理剂量计相比,生物剂量计的最大优势是直接和忠实代表性。然而,即便是被人们称为“金标准”的染色体畸

变分析和淋巴细胞计数两种生物剂量指标,随着使用频率的增高,其不足和局限性也日益袒露在人们面前。为建立理想、标准化的生物剂量计,人们正在两个方面进行着努力:一是用现代实验方法、技术和手段对传统生物剂量指示指标进行改造,以提高灵敏度和可靠性,增加适用剂量范围和分析速度;二是在对辐射生物效应深刻理解和发现的基础上,运用新的技术、方法和理论继续寻找独立的、各方面条件集优的新的生物剂量指示指标。

### 1 染色体畸变分析

电离辐射可诱导染色体发生多种类型的畸变,畸变的类型取决于射线剂量、LET(传能线密度)和细胞受照时所处的细胞周期等因素。在染色体畸变分析中,双着丝粒、交换或易位是目前最常用的生物剂量评估指标<sup>[1-3]</sup>。

双着丝粒分析的优势在于这种指标在非照射对照组的自然发生频率较低,而照射却能诱导较高的发生频率,并且形态结构容易辨认<sup>[4]</sup>。其缺点是这种畸变属于不稳定性畸变,能观察到的畸变数量随受照细胞分裂次数增加及分裂细胞数量减少而减

少,这种减少在大剂量和高 LET 射线急性照射后尤为明显<sup>[5]</sup>。因此,传统的双着丝粒分析方法对低剂量、低 LET 射线急性照射后的剂量评估效果优于对大剂量、高 LET 射线长期慢性照射累积剂量的评估。为获得准确数据,减少统计误差,在具体操作时应注意标明细胞分裂次数,尽量计数一次分裂的细胞(一次细胞分裂双着丝粒损失约 50%)<sup>[6]</sup>;事先做好不同 LET 射线、不同照射剂量及不同照后时间的标准剂量反应曲线;尽可能多地增加计数细胞数量,减少统计误差(根据 IAEA 1986 年第 260 号和 2001 年第 405 号技术报告,100mGy  $\gamma$  射线的照射至少应计数 500 个细胞的双着丝粒)。但是,情况并不是绝对的,在数 Gy 的大剂量照射后,由于淋巴细胞数量减少、分裂能力降低,计数细胞量的不足虽严重影响结果的准确性和可靠性,但在得不到其他受照剂量支持的情形下,此时哪怕只计数到 100 个细胞,其结果对剂量的估计也是十分有价值的。一般认为,当照射剂量  $\geq 6\text{Gy}$  时,剂量效应已达到饱和,此时双着丝粒指标已不再适用于估计剂量的线性二次方曲线公式  $Y=C+\alpha D+\beta D^2$  ( $Y$ : 双着丝粒染色体产额;  $C$ : 对照组双着丝粒染色体产额;  $\alpha$ : 剂量的线性常数;  $\beta$ : 剂量的二次方常数)<sup>[7]</sup>。

染色体交换或易位属于稳定性畸变,畸变频率基本上不受照后时间及细胞分裂的影响,因此这种指标既可用于照后短时间内的剂量评估,也适合长期慢性照射的剂量回顾性调查<sup>[8,9]</sup>。但是,传统的染色体成带或分组技术操作费时,分析技术和计数要求高,不适合推广应用。不同特异染色体、中心粒探针,不同标记杂交技术,如荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、多色荧光原位杂交(multi-color FISH, mFISH)技术在染色体畸变分析中的应用,大大提高了染色体畸变分析在指示生物剂量应用中的敏感性、适用剂量范围和精确度。同时,人们在十多年的染色体畸变 FISH 技术应用的实践中也逐渐认识到,要用好此项技术必须注意以下几点:①选择适当的分析染色体。实验发现,相对某一类型的染色体畸变,不同染色体的敏感性不同,表现为 DNA 含量少的小染色体,无论是双着丝粒还是交换、易位的发生率都高于 DNA 含量多的大染色体,如在 1 号染色体上观察到的交换或易位频率比预期的高,2、3 号染色体上观察

到的却比预期的低,4 号染色体上无论是双着丝粒还是交换或易位出现的频率都比 1、2、3 号染色体要高<sup>[10-12]</sup>。②了解影响染色体交换或易位的因素。研究发现,在非照射组对照人群中,交换或易位的发生频率高于双着丝粒,吸烟和年龄增长都增加交换或易位的发生频率。因此,在实际应用中要针对年龄、性别、吸烟否,及不同的照后分析时间等因素进行校正<sup>[13-15]</sup>。交换或易位分析的另一不利因素是这种畸变的个体差异较大,而解决这一问题的惟一有效办法是增加每一个体分析细胞的数量。同一个体计数 5 000 以上的细胞可将个体差异的影响降至最低<sup>[16]</sup>。③统一计数染色体畸变的方法和标准。目前有三种计数染色体畸变的方法,一是过去常用的方法,包括分类稳定和非稳定畸变,区分完全交换和不完全交换,记录两个相互交换部分都能观察到的“two-way”易位和只能观察到一部分交换的“one-way”易位;二是适用于染色体 FISH-painting 分析的 PAINT(protocol for aberration identification and nomenclature terminology)畸变确认和命名术语,在这种命名法中,只要是可观察到的重排的染色体都分开描述,相互易位被描述为两条染色体都含有来自其他染色体的物质,为了使结果可靠,对不同的中心粒及所在部位都要分类确认。这种命名法可用于单色或多色染色体标记的染色体混合探针的染色体畸变分析,但不考虑染色体形成的机制;三是 S&S(Savage JRK and Simpson PJ 于 1994 年提出后不断发展完善)命名系统,该系统考虑到复杂的染色体畸变与染色体、染色体臂和断裂的数量有关,各种断裂的染色体自由地相互作用,产生大量复杂和特殊的染色体畸变图形,有时表面上看上去的简单交换实际由二到三种,甚至更多的断片组成。该计数方法适合于涉及到染色体畸变机制的复杂的单染色体探针和多色混合染色体探针 FISH-painting 畸变的确认。

对于交换或易位的识别,有条件的可同时利用全着丝粒探针杂交对双着丝粒和交换或易位的方式进行鉴别,并分别制作校正曲线。至于计数交换或易位时到底是计数互换、单一交换还是总交换率,取决于两种交换或易位方式的一致性如何<sup>[17,18]</sup>。

建立在 FISH 技术基础上的染色体交换或易位分析仍有待改善的地方,但大量实际应用已表明,这项指标与物理剂量和早期双着丝粒畸变剂量

评估具有较好的一致性<sup>[19]</sup>。中心粒标记的引入已使 FISH 方法观察到的双着丝粒畸变和交换或易位畸变比例接近为 1, 使得两种畸变分析分别作为评估早期和晚期辐射剂量的可靠性大大提高。困扰染色体畸变分析的另一问题是大剂量照射后分裂淋巴细胞减少, 分析计数细胞数量不足, 造成结果的准确性和可分析的剂量范围下降。为解决这个问题, 最近有人用改进的 PCC (早熟染色体凝集) 技术与 FISH 技术结合以缩短分析时间, 改善分析质量, 增加适用的分析剂量范围。

## 2 PCC 分析

早期的 PCC 是将分裂间期的淋巴细胞在聚乙二醇的作用下与分裂中的中国仓鼠卵巢细胞融合, 利用分裂细胞中的促分裂因子诱导淋巴细胞染色体凝集, 通过 Giemsa 染色计数凝集过程中产生的染色体碎片, 或通过 C 带方法计数双着丝粒来确定剂量。这种早期的生物剂量评估方法存在许多不足, 如细胞制备比染色体分析费时, 技术要求更高、PCC 产额低、不稳定等, 导致所评估的剂量可靠性较差而未能被普遍接受<sup>[20,21]</sup>。常规的染色体分析观察分裂期细胞的畸变, 而 PCC 的优点在于可诱导静止期细胞的分裂, 正是这个优点避免了常规染色体分析中只对分裂期细胞进行选择分析的不足, 可大大增加分析细胞的数量, 并有利于观察到局部照射或“旁效应”(bystander response or bystander effect) 辐射能量在细胞内的直接或间接沉积, 增加了适用的剂量评估范围和方法的敏感性及结果的准确性。最近, 一些具有促进细胞分裂作用的物质的发现和应用取代了过去传统 PCC 中的细胞融合技术, 使 PCC 方法对技术的要求大为降低, 缩短了分析时间, 如 okadaic acid 和 calyculin A 是 1 型和 2A 型蛋白磷酸酶抑制剂, 这类磷酸酶抑制剂在单独使用时并不能诱导分化的和非增殖的细胞 PCC, 如静止的外周血淋巴细胞, 但是若在含 okadaic acid 和三磷酸腺苷的培养上清液中加入 p34<sup>cdc2</sup>/cyclin B 激酶(丝裂促进因子的基本成分之一), 则可高产额地诱导静止的外周血淋巴细胞 PCC<sup>[22]</sup>。Kanda R 等<sup>[23]</sup>报道, 用 okadaic acid 诱导的培养细胞 PCC 经 Giemsa 染色后, 可非常方便地在载玻片上计数染色体环, 在 20Gy 剂量范围内都可见到染色体环的增加。PCC 与 FISH 技术的结合使

可分析的染色体类型和分析的灵敏度大大增加, 在分析高 LET 诱导的染色体畸变方面比分裂细胞分析法更有效<sup>[24]</sup>。由于辐射诱导的染色体断裂会迅速重接, 因此在运用 PCC+FISH 分析时要注意分别在不同照后时间建立不同的剂量-效应曲线<sup>[25]</sup>。

## 3 微核分析

微核是出现在间期细胞核外的小块染色质, 它可以是整个染色体或细胞分裂后期主核以外的染色体片段。微核的产额与所研究细胞的分裂动力学有关。在生物剂量研究中, 受照淋巴细胞在体外丝裂源刺激培养后用 cytochalasin-B (Cyt-B) 进行阻断, 使其仅分裂一次, 这类细胞因子只阻断细胞质的分裂而不影响核分裂, 从而得到一个双核细胞, 计数双核细胞中微核出现的频率便可确定与照射剂量间的关系<sup>[26]</sup>。受照细胞微核产生的频率与射线的 LET 有关, 低 LET 射线照射, 微核出现的频率与受照剂量呈线性二次方关系<sup>[27]</sup>; 高 LET 射线照射, 微核出现的频率与受照剂量呈线性增加关系<sup>[28]</sup>。与染色体双着丝粒分析相比, 微核分析方法的优点是操作简单, 分析迅速, 适合大规模人群监测; 缺点是个体间微核出现的频率差异较大, 而且高龄个体微核出现率高于低龄个体, 女性高于男性。例如, 在一组 47 例个体的调查中, 个体之间 100 个双核细胞中的本底微核频率为 0~3, 意味着在该人群中每 100 个双核细胞出现 3 个微核才是最低可测剂量的敏感度, 低于此数的结果可靠性较差<sup>[29]</sup>。此外, 吸烟和一些致裂化学品都可使微核频率增加。

最近在微核形成机制的研究中发现, 大量自发微核都含有中心粒, 而辐射诱导的微核多来自染色体断片, 较少含中心粒。特异染色体中心粒探针分析发现, 年龄、性别依赖的微核增加主要出自性染色体。这样, 利用中心粒特异的 FISH 探针技术可将自然产生的、辐射诱导产生的、以及年龄性别因素产生的微核区分开来, 从而大大增加微核分析数据的准确性, 降低适用分析剂量的阈值<sup>[30,31]</sup>。

## 4 DNA 损伤和突变分析

电离辐射可诱导 DNA 多种形式的损伤和突变。这种损伤和突变可以是来自细胞核, 也可以是来自线粒体 DNA。随着分析技术的发展, 人们正利用各种手段寻找具有良好剂量响应的 DNA 损伤指标

作为生物剂量标志物。然而, 这些新方法和指标在获得认可之前, 尚有许多工作要做, 需接受更多实际应用的检验。

#### 4.1 细胞凝胶电泳或彗星电泳分析

这种技术可在单细胞水平定性定量测定 DNA 损伤, 尤其是 DNA 链的断裂。方法可简述为: 先将一定数量的照射细胞与 0.75% 的低熔点胶在 37℃ 均匀混合备用, 取一载玻片均匀铺上 0.1% 的凝胶, 将制备好的细胞-低熔点胶悬液铺在凝胶上, 置载玻片于冰上约 5min, 然后浸在新鲜配制的冷的细胞裂解液中去除核膜和蛋白, 接着将载玻片浸于中性 (pH7~8, 主要测双链断裂和交联) 或碱性 (pH12~13, 主要测单链断裂、切除修复位点、碱性易变位点和交联) 缓冲液中使 DNA 解旋; 置载玻片于电泳槽电泳, 在电场的作用下, 断裂的 DNA 链、碱性易变位点、不完全的 DNA 切除位点以较快速度迁移, 而 DNA-DNA 交联或 DNA-蛋白交联的迁移速度较慢, 形成一个头尾分明的彗星样电泳图案; 电泳分离后载玻片经染色可在荧光显微镜下观察或图像扫描, 由特别设计的计算机软件对图像进行分析和计算。可通过计算损伤细胞的百分率、分类 DNA 损伤的形式、电泳图像彗星尾的长度和彗星图像长度/彗星头的宽度比来评价 DNA 的损伤, 建立量效关系。通常, 尾巴长度代表最小可测 DNA, 迁移 DNA 的百分数代表迁移 DNA 的量, 迁移 DNA 量×尾巴长度代表尾巴的力矩。

此方法的优点是细胞用量少, 灵敏度高(可测 5cGy 的  $\gamma$  射线), 可分析任何真核细胞, 经济、快速、简单; 缺点是方法的敏感性太高, 区分 DNA 损伤类型的特异性较差, 需要设置专门的分析计算软件对结果进行分析。此外, 在进行 DNA 链断裂分析时, 由于在 DNA 损伤的同时伴随着重接修复, 故此分析要求照射后立即采样进行分析, 否则分析离照后时间越长, 结果的误差越大。

#### 4.2 DNA 损伤的免疫荧光测定

这种技术利用荧光标记的抗单链 DNA 断裂和碱基损伤的抗体与 DNA 断裂部位或受损碱基的特异结合, 通过测定荧光强度确定 DNA 链断裂或碱基损伤的量与照射剂量间的关系。例如, van der Schans GP 等<sup>[36]</sup> 最近用夹心酶联免疫吸附 (sandwich enzyme-linked im-munosorbent assay, ELISA) 方法测定 DNA 单链断裂和碱基损伤的量来确定照射剂

量。此方法对 DNA 单链断裂可测出的照射剂量范围为 0.2~10.0Gy, 考虑到个体间的本底差异, 最低可测限约为 0.5Gy, 由于 DNA 单链断裂会迅速恢复, 这种分析只适合在照后 1h 内进行; 碱基损伤可测出的剂量范围在 1~10Gy, 适宜分析的时间在照后 1~4h。Xing JZ 等<sup>[37]</sup> 用抗 thymine glycol 抗体的间接免疫荧光标记法, 利用激光诱导的荧光分析毛细管电泳 (capillary electrophoresis with laser-induced fluo-rescence detection) 测定 DNA 碱基损伤来确定照射剂量和监测损伤碱基的消除过程, 通过定量分析照射后细胞内 thymine glycol 的产生, 可监测 2Gy 以内的照射剂量。

#### 4.3 基因表达和突变分析

为建立准确、快速、高通量战场易展开的生物剂量监测系统, 美军放射生物学研究所近年来将基因表达和突变分析作为重点研究内容之一。Blakely WF 等<sup>[38]</sup> 在过去用 Northern-blot 发现 *haras* 基因表达随照射剂量增加而增加的基础上, 最近利用实时逆转录 5'-荧光核苷酸 PCR (聚合酶链反应) 方法再进行 *c-haras* 基因分析, 发现 1Gy 照射后 *c-haras* 基因表达量是未照射对照的 9 倍之多, 认为该基因有作为生物剂量标志的潜能。Fornace AJ Jr 等<sup>[39]</sup> 用 2~50cGy 剂量照射人髓系肿瘤细胞 ML-1, 观察到 *gadd45* (growth arrest and DNA damage gene 45), 这是目前所知惟一的 X 射线反应基因。Grace MB 等<sup>[40]</sup> 运用实时定量 RT-PCR (逆转录聚合酶链反应) 测量照射后 *gadd45* 基因的表达, 发现在 0~3Gy 剂量范围内 *gadd45* 基因表达呈 2~4 倍线性上调, 认为 RT-PCR 结合 *gadd45* 基因监测是一快速、灵敏、重复性好的潜在生物剂量检测指标。

Kubota N 等<sup>[41]</sup> 用 X 线照射两个辐射敏感性不同的人类磷状细胞瘤细胞系和一个辐射敏感的 AT (共济失调毛细血管扩张症) 细胞系, 用定量 PCR 方法测定线粒体 DNA4977bp (mtDNA4977) 片段缺失, 结果发现 10Gy 照射才可在辐射抗性的磷状癌细胞系诱导可测的 mtDNA4977 缺失片段, 而在辐射敏感的磷状癌细胞系只需 2Gy, 在 AT 细胞系则只需 1Gy。鉴于 mtDNA4977 缺失在许多癌症和疾病中是一种普遍现象, 在正常人群中这种缺失亦随年龄增加而增加, 1998 年, Director AE 等在 NIH 的一个 DNA 损伤与修复的专题研讨会上报告, 用 Taqman PCR 方法测量大量野生型 mtDNA 与缺

失 mtDNA, 求出二者间的比例, 以此作为校正的内标准, 将此内标准引入到以 mtDNA4977 为指标的生物剂量分析中, 以期获得更准确的结果。遗憾的是, 到目前为止尚未见到完整的后续报道。

## 5 基因微阵列分析

各类高集成度功能基因芯片的发展和應用, 为辐射诱导基因改变的生物学研究及辐射生物剂量标志物研究提供了平台。鉴于基因微阵列分析在临床肿瘤分类、诊断、治疗和预后中的应用, 放射生物学家们也想搭上此技术的快车。Amundson SA 等<sup>[42]</sup>利用 cDNA 微阵列杂交技术分析淋巴细胞辐射反应基因发现, 照射后 24h 一些表达量增加的基因随时间延长而下降, 而另有部分基因在照后 72h 才开始显著升高; 所观察到的表达量最高的基因是 ddb2 (该基因编码的 XPE p48 蛋白在紫外线诱导的 DNA 损伤修复中起关键作用)。ddb2、CDKN1A(C1p1/WAF1) 和 XPC 的表达在 0.2~2Gy 照射剂量范围、照后 24~48h 内与受照剂量有良好的线性关系, 而在 24h 前和 48h 后这种线性关系均不存在。Jen KY 等<sup>[43]</sup>利用寡核苷酸微阵列分析  $\gamma$  射线照射后 24h 淋巴母细胞 mRNA 在不同时间点的表达水平, 3Gy 和 10Gy 照射后, 分别确认到 319 和 816 条辐射反应基因, 另有 126 条基因对两个剂量都反应。这些基因大多数涉及细胞周期调控、细胞死亡、DNA 修复、DNA 代谢和 RNA 加工过程。

然而, 基因芯片虽有高信息集成、高通量分析的优点, 但事物的复杂性使这项技术在放射生物学, 尤其在电离辐射生物剂量的研究中仍裹足不前, 难有进展。这可能是因为在以下一些原因: 首先, 电离辐射虽被公认是强基因诱变剂, 但这种诱变与射线的种类 (不同 LET)、照射剂量、剂量率、照射方式 (离体、整体, 局部、全身, 急性、慢性, 一次、分次等)、照射后的时间等因素有关, 不同因素及不同因素的组合会产生大量不同的反应基因谱(profiles), 而这些基因有些是上调的, 有些是下调的, 有些是照后立即改变的, 有些是照后不同时间逐渐或间断性改变的, 有些是在不同的剂量和剂量率诱导下才出现改变, 有些改变则与照射剂量的大小和剂量率无关; 此外, 一些生理、病理、精神状态和其他一些内外环境因素也可诱导基因发生改变, 这些改变有可能与电离辐射诱导的基因改变

相互叠加, 从而使得归类 and 建立一组特异的、用作标识辐射剂量的电离辐射反应基因谱十分复杂和困难<sup>[44,45]</sup>。其二, 在处理庞大复杂的微阵列分析数据方面也面临困难的选择。目前虽有许多处理微阵列分析数据的方法和模型, 如集束分析法(cluster analysis)、主要成分分析法(principle component analysis)、多维分级分析法(multi-dimensional scaling)、自组地图(self-organizing maps)分析法、K-均值集束(K-means clustering)分析法等<sup>[46]</sup>, 这些分析方法都是根据不同实验要求和目的而设计的, 都不是一种普遍适合的数据分析程序, 而适合或符合电离辐射诱导的、复杂的基因微阵列分析数据分析程序目前尚未完全建立, 现有报道所用分析程序都是随机择便而用。其三, 阵列分析不能像实时 PCR 分析那样精确定量, 在每个分析系统中的敏感性和重复性也不一样; 有效标记所需的洁净、未降解和足量的 RNA 样本的制备也不是轻易能做好的, 虽然目前有许多扩增或放大 RNA 量的技术, 但这些技术的运用也带来了放大或扩增的 RNA 是否具有忠实代表性的问题<sup>[47]</sup>。此外, 还有商业化喷涂微阵列的价格、分析所需时间长短及设备等问题。

## 6 体细胞突变分析

电离辐射诱导的造血细胞 DNA 损伤可导致体细胞一些编码标志蛋白的基因位点突变, 从而产生异常的编码蛋白或蛋白缺失, 这些异常或缺失的蛋白可作为剂量监测的标识。常见的有 Hb (血红蛋白), GPA(血型糖蛋白 A), HLA(人白细胞抗原), TCR(T 细胞抗原受体), HPRT(次黄嘌呤磷酸核糖转移酶)等。中国科学家在 20 世纪 90 年代中期较早研究 TCR 的辐射生物学效应, 之后俄罗斯和日本科学家将 TCR 基因突变用于指示受照剂量, 认为在低照射剂量范围和照后一定时期内 TCR 基因突变率指示剂量的效果与 HPRT 指标相似。

### 6.1 GPA

GPA 是一种红细胞表面的血型糖蛋白, 由一分别编码 M 和 N 两种类型蛋白的等位基因编码, 二者仅存在两个氨基酸残基的不同。人群中约 50% 的 GPA 为 MN 杂合型, MM 和 NN 型各约占 25%。电离辐射诱导的红系前体细胞 GPA 基因突变, 可能导致等位基因缺失不表达或仅一个位点表达, 从而形成细胞表面表达 N/O 或 M/O 两种半合子

血型糖蛋白形式的红细胞。这种突变型 GPA 在正常人群中的比例大约为  $10^{-5}$  [48]。早期报道多数认为, GPA 突变率与照射剂量间存在良好的量效关系。后来发现, GPA 突变频率受许多因素影响, 如年龄和吸烟等, 若在实际应用中扣除这些因素带来的影响, 受照人群与未受照人群 GPA 突变的差异并不显著, 这种指标尤其不适合低剂量慢性照射的剂量评估 [49-51]。此外, 即使这种指标分析有一定意义, 也只适合约 50% M/N 杂合子人群的分析。另一方面, 辐射的诱变发生在红系前体细胞, 这种突变编码的蛋白出现在成熟红细胞上有一个时间过程, 因而这种指标不适合早期辐射剂量的监测。

## 6.2 HPRT

HPRT 是一种 DNA 合成补救通路的磷酸核糖转移酶, 不仅催化次黄嘌呤和鸟嘌呤磷酸核糖基化, 也可催化嘌呤的类似物, 如 6-巯基嘌呤。由于 6-巯基嘌呤掺入 DNA 后细胞不能存活, 而失去 HPRT 活性的突变细胞可在一定水平的 6-巯基嘌呤培养环境中存活, HPRT 没有突变的野生型细胞则不能, 这样, 通过计数照射细胞在 6-巯基嘌呤条件培养基中选择性的克隆生长率便可估计受照剂量。此外, HPRT 的基因位点在 X 染色体上, 表明该基因是一个功能性半合子, 也可通过测定其等位基因的丢失频率评估剂量。对大量的原子弹爆炸幸存者、各类核事故和放射事故受照人群的剂量评估都表明, 无论针对 HPRT 突变的 T 细胞克隆分析, 还是针对 HPRT 基因缺失和片段大小分析, HPRT 的突变率与受照剂量间存在良好的量效关系 [52,53]。HPRT 分析的主要不足: 一是 T 细胞克隆生长时间较长, 在大剂量照射后尤为如此, 低克隆率限制了该指标对大剂量照射的适用性, 克隆生长时间长则限制了该方法的实际应用; 二是非照射对照人群中 HPRT 自然突变率的变异较大, 这一点又限制了该指标对低照射剂量的估计, 因为为了增加结果的准确性和可信度只好提高分析的剂量阈值。一般认为, HPRT 指标的适应分析剂量范围为 1~2Gy [54]。

综上所述, 现有的部分生物剂量指标和分析方法具有一定的应用性, 但并不十分理想。理想的生物剂量计至少应具有或部分具有以下特征: 特异、良好的量效关系; 确定的剂量和时间响应范围; 遗传背景稳定, 本底变异较低; 影响、干扰因素明确且可控制; 采样方便, 分析方法简单、迅速可靠,

易于自动化高通量操作; 经济成本和社会成本低等特点。事实上, 生物剂量计的研究难度比物理剂量计大许多, 但其重要性和意义也比物理剂量计大许多。生物剂量计在核战争, 核、放射性事故, 职业和大众的辐射安全和卫生防护, 国家紧急安全应急措施等方面的重要性已被世界各国所认识和重视。最近, 来自世界 11 个国家的 13 位科学家和一位来自 IAEA 的代表共同建立了国际标准组织, 专门负责国际细胞遗传学生物剂量技术的标准化工作 [54]。相信不久的将来, 在传统生物剂量指示指标的技术改造、新技术指标的创立和标准化、尤其是在蛋白和蛋白组学方面, 生物剂量计的研究会有所突破和创新。

## 参 考 文 献

- [1] Ballarini F and Ottolenghi A. Chromosome aberrations as biomarkers of radiation exposure: modeling basic mechanisms [J]. *Adv Space Res*, 2003, 31(6): 1557-1568.
- [2] Duran A, Barquinero JF, Caballin MR, et al. Suitability of FISH painting techniques for the detection of partial body irradiations for biological dosimetry[J]. *Radiat Res*, 2002, 157(4): 461-468.
- [3] Camparoto ML, Ramalho AT, Natarajan AT, et al. Translocation analysis by the FISH painting method for retrospective dose reconstruction in individuals exposed to ionizing radiation 10 years after exposure[J]. *Mutat Res*, 2003, 530 (1-2): 1-7.
- [4] Hoffmann W and Schmitz-Feuerhake I. How radiation-specific is dicentric assay? [J]. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 1999, 9(2): 113-133.
- [5] Ramalho AT, Costa ML and Oliveira MS. Conventional radiation-biological dosimetry using frequencies of unstable chromosome aberration[J]. *Mutat Res*, 1998, 404(1-2): 97-100.
- [6] Pala FS, Moquet JE, Edwards AA, et al. In vitro transmission of chromosomal aberrations through mitosis in human lymphocytes [J]. *Mutat Res*, 2001, 474(1-2): 139-146.
- [7] Lindholm C. Stable chromosome aberrations among finish nuclear power plant workers[J]. *Radiat Prot Dosim*, 2001, 93(2): 143-150.
- [8] Hsieh WA, Lucas JN, Hwang JJ, et al. Biodosimetry using chromosomal translocations measured by FISH in a population chronically exposed to low dose rate  $^{60}\text{Co}$  gamma irradiation [J]. *Int J Radiat Biol*, 2001, 77(7): 797-804.
- [9] Tawn EJ and Whitehouse CA. Stable chromosome aberration frequencies in men occupationally exposed to radiation [J]. *J Radiol Prot*, 2003, 23(4): 269-278.
- [10] Wojcik A and Streffer C. Comparison of radiation induced aberration frequencies in chromosome 1 and 2 of two human donors[J]. *Int J Radiat Biol*, 1998, 74(5): 573-581.
- [11] Braselmann H, Kulka U, Huber R, et al. Distribution of radiation induced exchange aberrations in all human chromosome[J]. *Int J Radiat Biol*, 2003, 79(6): 393-403.
- [12] Luomahaara S, Lindholm C, Mustonen R, et al. Distribution of radiation induced exchange aberrations in human chromosome 1, 2 and 4[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(12): 1551-1556.
- [13] Neronova E, Slozina N and Nikiforov A. Chromosome alteration in

- cleanup workers sampled years after the Chernobyl accident[J]. *Radiat Res*, 2003, 160(1): 46-51.
- [14] Tawn EJ and Whitehouse CA. Persistence of translocation frequencies in blood lymphocytes following radiotherapy: implications for retrospective radiation biodosimetry[J]. *J Radiol Prot*, 2003, 23(4): 423-430.
- [15] Pressl S, Edwards A and Stephan G. The influence of age, sex and smoking habits on the background level of FISH detected translocations [J]. *Mutat Res*, 1999, 442(2): 89-95.
- [16] Lucas JN, Deng W, Moore D, et al. Background ionizing radiation plays a minor role in the production of chromosome translocations in a control population [J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(7): 819-827.
- [17] Karthikeya-Prabhu B, Venkatachalam P, Paul SF, et al. Comparison of inter- and intra-chromosomal aberrations in blood samples exposed to different dose rates of gamma radiation[J]. *Radiat Prot Dosim*, 2003, 103(2): 103-109.
- [18] Lindholm C, Romm H, Stephan G, et al. Intercomparison of translocation and dicentric frequencies between laboratories in a follow-up of the radiological accident in Estonia [J]. *Int J Radiat Biol*, 2002, 78(10): 883-890.
- [19] 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*, 1998, 73(5): 543-547.
- [20] Pantelias GE and Maillie HD. The use of peripheral blood mononuclear cell prematurely condensed chromosomes for biological dosimetry[J]. *Radiat Res*, 1984, 99(1): 140-150.
- [21] Cornforth MN and Bedford JS. Ionizing radiation damage and its early development in chromosome[A]. In: Lett JT, Sinclair Wk (eds.) [C]. 17 Academic Press, San Diego: *Advances in Radiation Biology*, 1993. 423-497.
- [22] Prasanna PG, Escalada ND, Blakely WF. Induction of premature chromosome condensation by a phosphates inhibitor and a protein kinase in unstimulated human PBL: a simple and rapid technique to study chromosome aberration using specific whole chromosome DNA hybridization probes for biological dosimetry [J]. *Mutat Res*, 2000, 466(2): 131-141.
- [23] Kanda R, Hayata I, Lloyd DC. Easy biodosimetry for high dose radiation exposure using drug induced prematurely condensed chromosome[J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(4):441-446.
- [24] Durante M, George K, Yang TC. Biodosimetry of ionizing radiation by selective painting of prematurely condensed chromosomes in human lymphocytes [J]. *Radiat Res*, 1997,148(5suppl): 545-550.
- [25] Prasanna PG, Hamel CJ, Escalada ND, et al. Biological dosimetry using human interphase peripheral blood lymphocytes[J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 suppl): 10-12.
- [26] Kirsch-Volders M, Sofuni T, Aavdema M, et al. Report from the in vitro micronucleus assay working group [J]. *Mutat Res*, 2003, 540(2): 153-163.
- [27] Thierens H, Vral A, Barbe M, et al. A cytogenetic study of nuclear power plant workers using the micronucleus-centromere assay[J]. *Mutat Res*, 1999, 445(1): 105-111.
- [28] Mill AJ, Wells J, Hall SC, et al. A micronucleus induced in human lymphocytes: Comparative effects of X rays, alpha particles, beta particles and neutrons and implications for biological dosimetry [J]. *Radiat Res*, 1996, 145(5): 575-585.
- [29] Paillole N and Voisin P. Is micronuclei yield variability a problem for overexposure dose assessment to ionizing radiation?[J]. *Mutat Res*, 1998, 413(1): 47-56.
- [30] Catalan J, Autio K, Kuosma E, et al. Age-dependent inclusion of sex chromosomes in lymphocyte micronuclei in man[J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 63(5): 1464-1472.
- [31] Vral A, Thierens H, De Ridder L. In vitro micronucleus-centromere assay to detect radiation damage induced by low doses in human lymphocytes[J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 71(1): 61-68.
- [32] Garaj-Vrhovac V, Kopjar N, Razem D, et al. Application of the alkaline comet assay in biodosimetry: assessment of in vivo DNA damage in human peripheral leukocytes after a gamma radiation incident[J]. *Radiat Prot Dosim*, 2002, 98(4): 407-416.
- [33] Gajendiran N, Tanaka K, Kumaravel TS, et al. Neutron induced adaptive response studied in go human lymphocytes using the comet assay[J]. *J Radiat Res (Tokyo)*, 2001, 42(1): 91-101.
- [34] Lagroye I, Hook GJ, Wettring BA, et al. Measurements of alkali-labile DNA damage and protein-DNA crosslinks after 2450 MHz microwave and low dose gamma irradiation in vitro [J]. *Radiat Res*, 2004, 161(2): 201-214.
- [35] Wada S, Khoa TV, Kobayashi Y, et al. Detection of radiation induced apoptosis using the comet assay[J]. *J Vet Med Sci*, 2003, 65(11): 1161-1166.
- [36] van der Schans GP, Timmerman AJ and Bruijnzeel PL. Detection of single strand breaks and base damage in DNA of human white blood cells as a tool for biological dosimetry of exposure to ionizing radiation[J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 suppl): 5-7.
- [37] Xing JZ, Lee J, Leadon SA, et al. Immunofluorescence detection of radiation induced DNA base damage [J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 suppl): 2-4.
- [38] Blakely WF, Miller AC, Luo L, et al. Nucleic acid molecular biomarkers for diagnostic biodosimetry applications: use of the fluorogenic 5'-nuclease polymerase chain reaction assay[J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 suppl): 16-19.
- [39] Fornace AJ Jr, Amundson SA, Do KT, et al. Stress-gene induction by low dose gamma irradiation [J]. *Mil Med*, 2002, 167(2 suppl): 13-15.
- [40] Grace MB, Mcleland CB and Blakely WF. Real-time quantitative RT-PCR assay of GADD45 gene expression changes as a biomarker for radiation biodosimetry [J]. *Int J Radiat Biol*, 2002, 78(11): 1011-1021.
- [41] Kubota N, Hayashi J, Inada T, et al. Induction of a particular deletion in mitochondrial DNA by X rays depends on the inherent radiosensitivity of the cells[J]. *Radiat Res*, 1997, 148(4): 395-398.
- [42] Amundson SA, Do KT, Shahab S, et al. Identification of potential mRNA biomarkers in peripheral blood lymphocytes for human exposure to ionizing radiation[J]. *Radiat Res*, 2000, 154(3): 342-346.
- [43] Jen KY and Cheung VG. Transcriptional response of lymphoblastoid cells to ionizing radiation [J]. *Genome Res*, 2003, 13(9): 2092-2100.
- [44] Amundson SA and Bittner M, Meltzer P, et al. Induction of gene expression as a monitor of exposure to ionizing radiation [J]. *Radiat Res*, 2001, 156(5 Pt2): 657-661.
- [45] Amundson SA and Fornace AJ Jr. Gene expression profiles for monitoring radiation exposure[J]. *Radiat Prot Dosim*, 2001, 97(1): 11-16.
- [46] Sherlock G. Analysis of large-scale gene expression data [J]. *Brief Bioinform*, 2001, 2(4): 350-362.
- [47] Amundson SA and Fornace AJ Jr. Monitoring human radiation exposure by gene expression profiling possibilities and pitfalls[J]. *Health Phys*, 2003, 85(1): 36-42.

# 中华预防医学会放射卫生专业委员会 第三届全国学术会议征文通知

中华预防医学会放射卫生专业委员会定于2004年8月16日~20日在山东威海召开“中华预防医学会放射卫生专业委员会第三届全国学术会议”，旨在为广大科技工作者提供学术交流的舞台，达到充分交流、开拓思路、加强合作、促进学科发展与人才建设。

大会将邀请国内著名专家作学科进展新动向报告，同时邀请国内大学、科研院所、医院、疾控中心、卫生监督部门相关单位的医疗、卫生、科研工作者积极参与。现将会议有关内容通知如下：

## 一、学术交流内容：

- ①放射医学基础与临床、放射生物学基础、辐射流行病学
- ②辐射剂量学及其监测与防护、安全与评价
- ③天然本底辐射、环境辐射的污染监测与治理
- ④放射(核)事故和医学应急剂量估算与医学救治，抗放药及防护用药品
- ⑤辐射防护、核安全法规标准及安全文化
- ⑥介入放射学、临床核医学、放射治疗学中的生物学、剂量学及其防护问题
- ⑦辐射防护、卫生监督管理的经验及新措施
- ⑧非电离辐射的监测、剂量、效应与防护

## 二、学分与证书：

- 1.凡参加会议者颁发国家级Ⅰ类继续教育学分10分。交流论文颁发论文证书。
- 2.优秀论文、新动向综述分别推荐在《中国辐射卫生》杂志、《国外医学·放射医学核医学分册》杂志发表。

三、会议收费：会议注册费650元，资料费100元；食宿统一安排，费用自理。

## 四、征文要求：

1.来稿请按《中国辐射卫生》2003年第四期的稿约形式撰写，字数在4000字以内，全文及摘要各一份，摘要在800字以内，首页加盖单位公章，来稿需用word格式打印并同时寄软盘，或发电子邮件。文责自负并自留底稿。本会同时欢迎未投稿者参加学术交流。

2.截稿时间：2004年7月15日(以当地邮戳为准)。来稿请在信封上注明“征文字样”。

3.征文投寄地点：天津71号信箱(中国医学科学院放射医学研究所)，邮政编码：300192

联系人：赵永成(E-mail:zhaoy60@yahoo.com.cn)；刘庆芬(E-mail:qingfenliu@yahoo.com.cn)

电话：022-87891919；022-87890604 传真：022-87891713

中华预防医学会放射卫生专业委员会

(上接第127页)

- [48] Saenko AS, Zamulaeva IA, Smirnova SG, et al. Determination of somatic mutant frequencies at glycophorin A and T cell receptor loci for biodosimetry of prolonged irradiation[J]. Int J Radiat Biol, 1998, 73(6): 613-618.
- [49] Janet Tawn E, Whitehouse CA, Paul Daniel C, et al. Somatic cell mutations at the glycophorin A locus in erythrocytes of radiation workers from the Sellafield nuclear facility [J]. Radiat Res, 2003, 159(1): 117-122.
- [50] Jones IM, Galick H, Kato P, et al. Three somatic genetic biomarkers and covariates in radiation exposed Russian cleanup workers of the Chernobyl nuclear reactor 6-13 years after exposure [J]. Radiat Res, 2002, 158(4): 424-442.
- [51] Ha M, Yoo KY, Cho SH. Glycophorin A mutant frequency in radiation workers at the nuclear power plants and a hospital[J]. Mutat Res, 2002, 501(1-2): 45-56.
- [52] Jones IM, Tucker JD, Langlois RG, et al. Evaluation of three somatic genetic biomarkers as indicators of low dose radiation effects in clean-up workers of the Chernobyl nuclear reactor accident[J]. Radiat Prot Dosim, 2001, 97(1): 61-67.
- [53] Thomas CB, Nelson DO, Pleshonov P, et al. Induction and decline of HPRT mutants and deletions following a low dose radiation exposure at Chernobyl [J]. Muta Res, 2002, 499(2): 177-187.
- [54] Amundson SA, Bittner M, Meltzer P, et al. Biological indicators for the identification of ionizing radiation exposure in humans[J]. Exp Rev Mol Diagn, 2001, 1(2): 211-219.
- [55] Voisin P, Barquinero F, Blakely B, et al. Towards a standardization of biological dosimetry by cytogenetics [J]. Cell Mol Biol, (Noisyle-grand), 2002, 48(5): 501-504.

(收稿日期：2004-03-28)