

应用荧光原位杂交技术估算¹⁹²Ir 源辐射
事故受照者的生物剂量

王 强 徐永忠¹ 郑斯英¹

(广东省茂名市职业病防治院, 茂名 525001)

中图分类号: R144.1 文献标识码: B 文章编号: 1004-714X(2000)04-0218-02

摘要: 应用双色荧光原位杂交(FISH)技术和常规法对4例¹⁹²Ir源事故受照者照后8个月外周血淋巴细胞的染色体易位及非稳定性畸变进行检测并根据易位率估算其受照剂量。结果表明, 照后8个月, 用FISH方法估算的生物剂量与物理剂量基本一致, 非稳定性畸变, 包括双十环、无着丝粒断片及总畸变率分别为0.13%, 0.40%, 0.53%, 均显著低于照后立即检测的结果。结果提示, 应用FISH方法检测易位可用于早先受照者的剂量估算或重建。

关键词: 荧光原位杂交; 易位; 物理剂量; 生物剂量

非稳定性和稳定性染色体畸变在照射后若干年甚至几十年都可存在于人外周血淋巴细胞之中, 但前者将会随照后时间的延长而逐渐丢失, 而后者则基本上能保持恒定。通过离体实验以及对原爆幸存者、事故受照者的研究表明, 稳定性畸变(主要是易位)与辐射剂量也存在一定的剂量效应关系。因此, 对于早先若干年的照射, 可利用稳定性畸变估算剂量。荧光原位杂交技术在检测染色体重排, 特别是染色体易位方面有其独特的优点, 如直观、准确、快速等。本文应用双色荧光原位杂交技术检测4例¹⁹²Ir源事故受照者照后8个月外周血淋巴细胞的染色体易位并估算生物剂量。

1 材料和方法

1.1 人员受照情况 1998年11月8日, 广东省茂名市某检测科技总公司一名工人发现该公司探伤机少了一台(该机内装¹⁹²Ir放射源, 出厂前活度为 3.49×10^{12} Bq, 丢失前活度为 5.55×10^{11} Bq), 25日, 在某废品收购站发现该探伤机, 并于当天下午回收。这次事故中主要有6名群众受到意外照射, 但均属低剂量率、小剂量照射, 未发现急性放射病员。照后8个月, 选择4个主要受照人员“燕”(男, 30岁)、“容”(男, 40岁)、“润”(女, 21岁)和“伟”(男, 4岁)进行追踪研究。

1.2 方法

1.2.1 培养与制片 RPMI 1640(含20%小牛血清, 庆大霉素100 U/ml及适量PHA)4.5 ml加抗凝血0.5 ml, 37℃恒温培养52 h。在培养的同时加秋水仙素, 终浓度为0.05 μg/ml。收获细胞时, 0.075 mol/L KCl低渗处理20 min, 用新鲜固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)预固定一次后, 再固定3次。将细胞悬液放置冰箱-20℃保存。

1.2.2 荧光原位杂交

1.2.2.1 探针及检测试剂 生物素(biotin)标记的1号、异硫氰酸荧光素(FITC)标记的4号全染色体探针及双色荧光检测试剂盒均购于英国Cambio公司。

1.2.2.2 原位杂交 原位杂交方法按试剂生产商提供的操作

程序略加修改。取出储存于-20℃的细胞悬液滴片, 气干过夜。染色体标本经RNase(100ug/ml)处理后在变性液(70%甲酰胺/2×SSC, pH7.0)中65℃变性2 min, 然后置70%冰乙醇中2 min, 乙醇系列脱水, 气干。分别吸取7.5 μl 1号和4号全染色体探针, 混合后65℃水浴中变性10 min, 再放37℃水浴中60~90 min, 将15 μl探针混合液加到杂交区, 42℃杂交过夜。

1.2.2.3 检测 杂交后标本洗脱后, 依次进行信号检测和扩增: (1)加60 μl Texas Red标记的Avidin, 37℃温育, 洗脱; (2)加60 μl Biotin标记的抗Avidin抗体和兔抗FITC抗体混合液, 37℃温育, 洗脱; (3)加60 μl Texas Red标记的Avidin和FITC标记的抗兔IgG抗体混合液, 37℃温育, 洗脱。乙醇系列脱水后, DAPI复染。用Olympus BX 60荧光显微镜, 选择Texas Red/FITC/DAPI三色滤光片进行观察, 可同时看到红(Texas Red)、绿(FITC)、蓝(DAPI)3种颜色。

1.3 畸变的识别 正常分裂相含一对红色(1号)和一对绿色(4号)荧光的染色体, 双色(红/绿、红/蓝、绿/蓝)染色体带一个着丝粒者为完全易位、不完全易位或插入。

1.4 统计处理 FISH法测出的部分基因组易位率或双着丝粒体率(F_p)可通过下式转换为基因组易位率或双着丝粒体率(F_G): $F_G = F_p / 2.05(1 - f_p)$, 式中 f_p 为全染色体探针所覆盖的染色体在全基因组中所占份额^[1]。

2 结果与讨论

表1列出了用FISH技术检测的4例事故受照者外周血淋巴细胞的易位率以及根据Straume等^[2]推荐的方程: $H = [(Y - K)/\alpha] Q$ 所估算的剂量。式中H为生物剂量(Gy), Y为事故受照者的易位率, K为易位的自发畸变率, α 为辐射诱发易位的线性平方剂量效应方程中的线性项系数, Q为辐射品质因子。这里K、 α 分别采用本室测定的自发畸变率0.32%及用FISH方法建立的剂量效应方程中的线性项系数0.0419。4例事故受照者的平均易位率为0.94%, 显著高于自发畸变率($P < 0.01$), 用易位率估算的生物剂量与物理剂量基本一致。

表1 FISH方法检测的事故受照者易位率及估算的生物剂量与物理剂量的比较

受照者	分析细胞数	易位数	易位率(%) ($\bar{x} \pm s$)	生物剂量(Gy) (95%可信限)	物理剂量 (mSv)
燕	1 948	3	0.60 ± 0.35	0.07(0.015)	50
容	2 010	4	0.78 ± 0.39	0.12(0.03~0.21)	150
润	1 896	5	1.02 ± 0.46	0.17(0.06~0.28)	150
伟	2 230	8	1.40 ± 0.49	0.26(0.14~0.37)	100

Lucas等^[1]应用FISH技术检测了20名原爆幸存者外周血淋巴细胞的易位率, 发现易位率与DS86估算的剂量之间有良好的剂效关系, 并且与离体照射的剂效关系相近。Straume等^[3]应用1, 2, 4号和1, 3, 4号两套全染色体探针分别对巴西

Goiania的3名事故受照者进行易位分析并估算受照剂量。结果表明, 事故后1年用FISH方法估算的生物剂量与照后立即用常规法(检测双着丝粒体率)估算的生物剂量基本一致。Snigiryo等^[4]用FISH技术检测到切尔诺贝利核事故后, 34名从事核电站去污、重建等工作的人员在受照后数年的平均易位率为 $(1.1 \pm 0.13)\%$, 据此估算的平均生物剂量为0.25 Gy, 与记载的平均剂量当量0.26 Sv非常吻合。此外, Lindholm等人^[5]对一起¹³⁷Cs源辐射事故中18例事故受照者照后同时用FISH

1 苏州医学院
作者简介: 王强(1962~), 男, 广东茂名市人, 医师, 主要从事放射卫生研究与管理。

方法与常规法估算剂量,发现,两种方法估算的结果相一致。所有这些表明,用 FISH 方法估算早先受照者的受照剂量是可行的,结果也是可靠的。

表 2 是在照后 8 个月与照后数天内,用常规方法分析的非稳定性染色体畸变结果。照后 8 个月,4 例事故受照者的双十环、无着丝粒断片及总畸变率分别为 0.13%,0.40%和 0.53%,均明显低于照后数天内的分析结果。

表 2 常规法分析的照后 8 个月与照后数天内染色体畸变

受照者	照后 8 个月				照后数天			
	分析细胞数	双十环	无着丝粒断片	总畸变	分析细胞数	双十环	无着丝粒断片	总畸变
燕	1 000	0	4	4	300	0	3	3
容	1 000	1	3	4	300	1	3	4
润	1 000	1	4	5	300	0	6	6
伟	1 000	3	5	8	300	2	4	6
合计	4 000	5	16	21	1 200	3	16	19
畸变率 ($\bar{x} \pm s, \%$)		0.13 \pm 0.06	0.40 \pm 0.10	0.53 \pm 0.11		0.25 \pm 0.14	1.33 \pm 0.33	1.58 \pm 0.36

参考文献:

[1] Lucas JN, Awa A, Straume T, et al. Rapid translocation frequency analysis in humans decades after exposure to ionizing radiation[J] . Int J Radiat Biol, 1992, 62: 53.

[2] Straume T, Lucas JN, Tucker JD, et al. Biodosimetry for a radiation worker using multiple assays[J] . Health Phys, 1992, 62: 122.

[3] Straume T, Langlois RG, Lucas JN, et al. Novel dosimetry methods applied to victims of the Goiania accident[J] . Health Phys, 1991, 60: 71.

[4] Snigiryova G, Brasemann H, Salassidis K, et al. Retrospective biodosimetry of Chernobyl clean-up workers using chromosome painting and conventional chromosome analysis[J] . Int J Radiat Biol, 1997, 71: 119.

[5] Lindholm C, Salomaa S, Tekkel M, et al. Biodosimetry after accidental radiation exposure by conventional chromosome analysis and FISH[J] . Int J Radiat Biol, 1996, 70: 647.

收稿日期: 2000—03—06

青少年应用 X 射线胸部透视应注意的问题

李致好 刘宗林 姜兆刚 于建华

(山东省威海市卫生防疫站,威海 264200)

随着医疗保健事业的发展,儿童尤其是大、中小学生的健康团检迅速增加,其中 X 射线胸部透视在许多省市已成为团检的必做项目,儿童 X 射线检查的频率有增高的趋势^[1]。由于处于青春发育期的青少年对射线敏感,受检者也缺乏相应的屏蔽防护措施,因此,青少年受照剂量较高^[2],采用 X 射线胸部透视的收益较低。为合理地应用 X 射线诊断技术,使 X 射线的应用正当化和最优化,以保护广大青少年的身体健康,我们对青少年 X 射线胸透的阳性检出率进行了调查并提出了应注意的几个问题。

1 学生 X 射线胸部透视的阳性率见表 1、表 2。

表 1 学生团检 X 射线胸部透视的阳性检出率

人群	受检人数	阳性人数	阳性检出率(%)
高考体检	344 881	192	0.056
中学生	107 929	89	0.08
小学生	22 064	5	0.023

表 2 临床上 X 射线胸部透视的阳性检出率

科室	受检人数	阳性人数	阳性检出率(%)
小儿科	420	164	39.05
其它科	820	357	43.54

由表 1、2 可以看出,在临床儿科和其它科门诊,为临床指征时,接受 X 射线胸部透视的阳性检出率较高,而学生团检 X 射线胸部透视的阳性检出率较低,究其原因主要为以下几点。

1.1 X 射线检查适应症掌握不严 在缺乏临床指征的情况下,学生团检的阳性检出率低。

1.2 防护意识差 X 射线防护知识宣传少,医生和受检者防护意识差,片面依赖 X 射线检查。

1.3 片面追求经济指标 学校为保护青少年的身体健康,防

本研究和以往的研究都表明,作为传统生物剂量计的双着丝粒体畸变会随照后时间的延长而丢失,到目前为止,还未发现这种丢失与照后时间之间有某种规律可循。易位则不同,它们能在照后稳定存在于个体内若干年甚至几十年。FISH 方法能准确、快速地检测易位,因此,对早先受照者的剂量估算或重建比常规法更为敏感、更为准确。

止传染病的传播,应选择相应的检查项目,不应片面追求经济指标而做过多的或重复的 X 射线检查。

据调查^[3],我国学生 X 射线胸部透视群检年频率 703 人,即 1 000 名学生中有 703 人接受 X 射线胸部透视,而一般人群年频率为 200 人左右,在英美等发达国家年频率仅为 50 人以下。因此在我国青少年 X 射线胸部透视应引起重视。为了保证学生的身体健康,降低群体受照剂量,学生查体应慎用 X 射线胸部透视。

2 团检时应注意以下几个问题

2.1 严格掌握适应症 青少年接受的医疗照射必须遵循 X 射线检查的正当化和放射防护的最优化原则,除个别为临床指征的学生外,应慎做 X 射线检查。在学生团检中,应取消常规的 X 射线胸部透视。

2.2 提高 X 射线机的防护性能 对学生查体用 X 射线机实行质量控制监测,保证多种参数的准确性,对防护不合格的 X 射线机进行防护改造。

2.3 提高医生的技术水平 从事学生团检的放射医(技)师,应提高技术水平仔细复查学生 X 射线检查的合理性,熟练工作,以缩短学生的受照时间,降低误诊率等。

2.4 应用防护措施 对确需做 X 射线检查的青少年,应采取必要的防护措施,根据儿童的生理特点对非受检部位进行屏蔽。

参考文献:

[1] UNSCEAR 1993 年报告,电离辐射与效应[R] 北京. 原子能出版社.

[2] 周益勤,等. 入托儿童 X 线透视时接受照射量的调查[J] 中国公共卫生 1985; 4(1): 20.

[3] 范瑶华,等. 沈阳市中小学生对胸部 X 线透视检查的频率调查[J] 放射卫生 1991, 4(4): 177.

收稿日期: 1999—12—31