

染色体畸变分析在慢性辐射损伤 诊断中的应用

施 立 明

(云南省动物研究所)

随着原子能工业的蓬勃发展和原子能和平利用的日益广泛,在医疗、地质、放射性矿山、工厂、仪表工业、科学研究机构,核动力装置等部门中接触辐射或从事放射性同位素工作的人员日渐增多。在资本主义国家,由于不重视工人的防护,对工作环境的辐射影响和放射性污染不采取相应的防护措施,往往造成长期在超剂量条件下工作的情况(即超过国家最大容许剂量标准),这种职业性放射工作人员就有可能出现程度不同的慢性辐射损伤。在我国,根据防护先行的原则,寻找可靠而又切实可行的防护指标,以便对接触放射性工作人员进行定期普查,防治慢性辐射损伤。在慢性辐射损伤的诊断和防治中,正确的早期诊断是一个重要环节。目前,慢性辐射损伤的诊断不外是从辐射接触史,临床表现,实验室检查等几方面来综合考虑。由于迄今仍缺乏比较特异,灵敏的实验室指标,因此,在早期主诉症状较多,客观症状较少而又缺乏可靠的剂量学数据时,正确的诊断常有一定的困难。发展一种对小剂量长期照射有一定特异性和灵敏度,应用方便,生物学意义较为明确的细胞学指标,无论对于慢性辐射损伤的早期诊断或职业性放射工作人员的日常体检,最大容许剂量的修订等等,都有重要的意义。外周淋巴细胞染色体畸变分析,在一定程度上,可以满足上述要求,但也还存在许多有待努力解决的问题。此外,由于辐射诱发的体细胞染色体畸变和白血病、肿瘤、早衰、免疫抑制等辐射的远期体质效应有密切的关系,研究职

业性放射工作人员外周淋巴细胞染色体畸变,对于定量估价辐射对人类遗传的危害,将提供许多有益的启示。遵照毛主席“古为今用,洋为中用”的教导,现把有关职业性放射工作人员染色体畸变的资料作一简单介绍,以供有关工作的同志参考。

一、职业性放射工作人员外周淋巴细胞的染色体畸变*及其诊断意义

从绝大多数职业性放射工作人员染色体畸变的资料看来,职业性放射工作人员的染色体畸变率比对照组高,染色体畸变包括以下三种:一是染色体数目的改变,如非整倍体细胞特别是亚二倍体细胞增多。二是不稳定型结构畸变,如断裂、断片、双着丝点和环等出现率增高。三是稳定型结构畸变,如臂间倒位、相互易位等。

由于接触的辐射种类,辐射的剂量和剂量率以及机体受照部位,工作时间和防护条件的不同,有时还有内外照射同时存在的复杂情况,再加上畸变分析方法未能标准化,所以职业性放射工作人员的染色体畸变和最大容许剂量,累积剂量的关系,特别是和血液学指标的变化,临床表现的关系,以及诊断的意义和标准等等,从现有的资料中尚难得出明确的结论。尽管如此,如果我们仔细分析一下,仍然是“有朕兆可

* 为了叙述方便,在下文中外周淋巴细胞染色体畸变简称为染色体畸变

寻,有端倪可察,有前后现象可供思索”。

1. 染色体畸变和最大容许剂量的关系

为了保证原子能事业顺利发展和放射工作人员的健康和安全,制订了“最大容许剂量”,即经过长期累积或一次照射的结果,就目前的科学认识水平,在人的一生中很少可能引起显著的体质性或者遗传的损伤。国际辐射防护委员会(ICRP)在1960年确定:对于全身或重要器官的最大容许剂量为5雷姆/年。但这个剂量标准并不是一成不变的,随着放射生物学和放射医学的发展,应该不断地修订和补充,以确保人民的健康。必须揭露帝国主义为了扩军备战,疯狂发展核武器,对劳动人民掩盖放射性工作危害的反动行径。

染色体是细胞水平上的遗传物质基础,前面已说过,体细胞的染色体畸变与辐射的一系列远期体质效应有密切的关系。现有的最大容许剂量标准会不会诱发显著的染色体畸变呢? Горизонтова 等(1973)仔细分析了畸变率和最大容许剂量的关系,发现每年接受的剂量在容许标准以下的25例职业性放射工作人员,染色体畸变率没有明显的变化。接受的剂量大于5雷姆/年的7例职业性放射工作人员,畸变细胞率和染色体畸变率则为对照的2—3倍。Brown等(1969)也发现,在低于最大容许剂量的 γ 线或中子+ γ 线照射的职业性放射工作人员中,染色体畸变不显著。但较多的工作却表明,即使接受的剂量在最大容许标准以下,职业性放射工作人员的染色体畸变率已有所增高。当然一般说来,畸变率较低。这么低的畸变率对人体到底有多大的危害,目前尚难预料。看来有必要更广泛深入地开展职业性放射工作人员染色体畸变的研究,积累更多的资料,为制订更合理的最大容许剂量标准提供依据。

2. 染色体畸变和累积剂量的关系

畸变率有随着剂量的累积而增高的趋势。如Norman等(1964)指出,虽然非整倍体细胞和拟二倍体细胞的出现率和累积剂量没有显著的相关性,但互换率(双着丝点和单着丝点的异常染色体出现率)和累积剂量却有一定的关系。

Boyd等(1966)也指出,夜光表盘描绘女工的细胞畸变率随着体内镭含量增高而增高。Bauchinger等(1971)也发现,妇科负责上镭针护士的细胞畸变率和染色体畸变率,随剂量的大小呈比例增高。但从多数资料看来,职业性放射工作人员的染色体畸变率和所接受的累积剂量之间,没有严格的定量关系。不象在急性照射时,畸变率和剂量的动力学关系可以用数学公式来定量地表示。分析其原因,可能有以下几点:

(1)许多工作缺乏精确的剂量学数据。多数职业性照射是不均匀的,胶片佩章表示的剂量不一定都能真实地反映每个个体实际接受的全身剂量。

(2)观察到的畸变率一般都比较低,而在多数工作中,分析的细胞数和调查的例数不多,对辐射的反应又有明显的个体差异。

(3)由于体内修复和选择过程的影响。染色体畸变可能随着时间的推移而减少。在畸变的产生和消除之间有许多未知的影响因素。

(4)环境中其它一些诱变因子,如病毒、一些化学物质和其它物理诱变因子和辐射之间的拮抗,累加或协同作用。

至于染色体畸变和工龄的关系,则不易做出肯定的结论。因为即使工龄相同,防护条件和实际工作时间可以相差很大,实际接受的累积剂量也就不一样。尽管如此,汪安琦等(1964)仍发现,工龄在1—10年的医院放射科工作人员,平均染色体畸变率为2.7%,工龄11—20年的,则为3.5%(对照为0.3%)。Kilibarda等(1968)也发现放射科医生,技术员的带断片细胞数,双着丝点和环随工龄的增加而增加。Deknudt等(1971)也指出,在从事辐射治疗工作3—30年的医生中,工龄和畸变率有一定的联系。

3. 染色体畸变和血液学指标变化的关系

在职业性放射工作人员中,随着累积剂量或工龄的增加,常可观察到某些血液指标的波动性变化。通常把白细胞的明显增高或稳定性减少,作为诊断的一个重要依据。染色体畸变和血液学指标的变化有什么关系呢?多数工

作表明,在血液学指标仍属正常范围时染色体已有畸变,就是说,染色体畸变具有更高的灵敏度。El-Alfi 等(1967)并指出,在职业性放射工作人员的细胞畸变率和白细胞总数之间,有着一定的关系。白细胞总数比较低的,往往细胞畸变率比较高。但在 Doida 等(1965)的工作中,两者相关性并不明显。当然,要得出肯定的答案,上述一些工作的观察例数尚嫌过少。

此外,Горизонтова 等(1973)曾报道,有 3 例诊断为慢性放射病的职业性放射工作人员,虽然脱离辐射,已处于恢复期,仍可观察到明显的染色体畸变:非整倍体细胞为 10.66%,畸变细胞为 2.33%,染色体型畸变为 1.834%。对照组的相应值分别为 5.85%,1.25% 和 0.633%。

4. 职业性内照射诱发的染色体畸变

在放射性工矿企业中,工作人员可能受到混合的内外照射。在这些单位,辐射的远期体质效应如辐射致癌问题等,应特别引起关注。例如,在放射性矿山的矿井中,放射性同位素如 ^{222}Rn 及其子体吸附于粉尘颗粒的表面,然后被吸入肺部。长寿命的 ^{210}Pb 和 ^{210}Po 又可能转移到肺部淋巴结、毛发、肝、肾、骨、血液、尿、粪便等处。肿瘤流行病学的资料表明, ^{222}Rn 及其子体是引起铀矿工肺癌的主要病因。由于淋巴细胞对辐射高度敏感,在矿工的血液中可能测出 ^{210}Pb 和 ^{210}Po 。因此,对矿工外周淋巴细胞染色体畸变的研究引起了广泛重视。Brandom 等(1972)报道,在职业性接触氡及其子体 1—28 年后(累积剂量约为 10—5,400 平均工作月),美国科罗拉多高原铀矿矿工的外周淋巴细胞的非整倍体细胞,单体型畸变细胞,稳定型染色体畸变均有所增高,特别是不稳定型畸变的增加最为显著,矿工组为 2.58%,对照组为 0.21%。

Mac Diarmid 等(1968)在 6 例累积剂量为 1479—4531 平均工作月的铀矿矿工中,发现有单体断裂和间隙,无着丝点断片,双着丝点和环。矿工组的细胞畸变率为 3.0—7.7%,对照为 0.2%。

但也有一些负结果的报道,如 Kilibarda 等(1968)在 20 例南斯拉夫铀矿矿工中(接触的

^{222}Rn 浓度为 3.7×10^{-10} — 2.61×10^{-9} 居里/升),却没有发现染色体畸变率有明显的变化。

由于辐射,染色体畸变,肿瘤三者关系密切,因此进一步研究放射性矿山矿工的染色体畸变,对矿工辐射损伤的诊断,矿山的辐射监测和卫生评价,以及矿工肺癌病因的研究,具有重要意义。

5. 诊断意义和标准

和物理剂量计相比,外周淋巴细胞染色体畸变可以更真实地反映不同种类辐射对不同个体的生物学效应,而且检查方法较灵敏、简单,取材方便。在职业性放射工作人员的日常体检工作中,可以考虑把染色体畸变分析列为一项常规的检查内容。在诊断慢性辐射损伤时,可作为一项重要的实验室指标。如果一个职业性放射工作人员的染色体畸变率明显增高,特别是出现正常人罕见的双着丝点和环时,可以判断为受到过量的照射。但没有观察到明显的染色体畸变时,则需进一步作调查研究,对有关因素,宜作综合性验证。

到底畸变率多高才有诊断价值呢? Norman 等(1964)提出,如果以非整倍体细胞率为 f_a ,拟二倍体细胞率为 f_g ,互换率为 f_r ,可以定为

$$f_a \geq 10^{-1}, f_g > 10^{-2}, f_r > 10^{-3}$$

其中一项成立,即染色体结构畸变率或非整倍体细胞率约为正常对照值的 2 倍左右时,就可以诊断为有辐射损伤的表现。Norman 等以这个标准分析他们自己的实验结果,发现对照组 18 例都没有辐射损伤的表现,而在职业性放射工作人员中,接受的剂量大于 10 伦的有 25 例,其中 20 例可以诊断为有辐射损伤。El-Alfa 等(1967)认为,职业性放射工作人员的细胞畸变率超过 3% 是辐射损伤的征兆。应当指出:要制订合理的诊断标准,首先要有精确的染色体自发畸变率数据。因此,正常人群染色体自发畸变率的研究,必须大力加强。

总之,外周淋巴细胞染色体畸变可以作为一种慢性辐射损伤较灵敏的生物学指示器,可以定性地判断有无受到过量的照射。有无可能作为生物剂量计来定量地测定慢性辐射损伤

呢? 从新近一些工作看来, 这个可能性是存在的。Brewen 等(1971)曾详细研究了人类外周淋巴细胞在离体慢性照射时畸变率和剂量的动力学关系, 发现双着丝点和环的出现率和剂量成直线-平方关系:

$$Y = (0.68 \pm 0.10) \cdot 10^{-3}D \\ + (0.68 \pm 0.23) \cdot 10^{-6}D^2$$

Y——畸变率, D——剂量。

无着丝点断片和剂量成线性正比关系:

$$Y = 0.53 + (0.47 \pm 0.02) \cdot 10^{-3}D$$

Lloyd (1973) 以离体淋巴细胞慢性照射的刻度曲线, 推算一例接触 ^{192}Ir 5 年的工业照相人员所接受的剂量为 200 拉得, 就是一次成功的尝试。但正如前述, 由于影响畸变率和累积剂量关系的因素比较复杂, 要以染色体畸变来定量测定职业性放射工作人员接受的累积剂量, 在实际应用上, 目前还有一定的困难。

二、染色体畸变分析 应用中的几个问题

1. 分析方法的标准化

为了得到可资比较的可靠结果, 淋巴细胞培养和染色体标本制作技术的标准化, 计数分析与数据记录系统的统一, 无疑是重要的先决条件。如用血量、接种细胞的数量、培养液和血清的种类、培养时间、pH 值、秋水仙素浓度, 低渗液的种类等等都有可能影响实验结果, 因此, 应尽可能恒定一致(详见《人类染色体畸变的分析方法》手册, 1973 年)。举例说, 带有不稳定型畸变的细胞, 在连续的分裂过程中, 由于分裂时的机械困难而迅速消除, 所以培养时间的延长就有可能使畸变率降低。在小剂量长期照射时, 一般来说畸变率都比较低, 因此培养时间的延长, 影响可能更为严重。Boyd 等(1966)在研究夜光表盘描绘女工的染色体畸变时, 发现培养 75 小时的细胞畸变率要比培养 51 小时的低。一般认为, 培养时间以 48—54 小时为宜, 这时供分析的淋巴细胞正处于第一次分裂时期。

2. 观察的畸变类型

(1) 非整倍体细胞, 是指染色体数目少于

或多于二倍体数的细胞。对于人类细胞, 凡是染色体数少于 46 的称亚二倍体, 多于 46 的称为超二倍体。有人认为, 非整倍体的出现受制片过程的影响很大。其中很大部分可能是人为的产物, 而且个体之间的波动性也比较明显, 因此不能作为衡量染色体畸变的精确指标。但是, 在培养, 制片技术标准化以后, 并且对照组和实验组都同样严格选用一定数目染色体 (44—47) 的核型以供观察, 这个指标仍有一定的参考意义。在一些工作里, 职业性放射工作人员的亚非整倍体淋巴细胞有所增高。

(2) 不稳定型畸变中的双着丝点和环, 在慢性辐射损伤诊断中的意义如何, 目前未能取得一致的意见。一些作者认为, 职业性放射工作人员的双着丝点和环的出现率是有变化的。Court Brown 等(1965)还发现, 随着累积剂量的增加, 带有双着丝点的细胞数也随之增加。正常人的双着丝点是很罕见的(0.06—0.09%左右或更低些)。因此, 如果一个职业性放射工作人员的双着丝点和环显著增多, 无疑是受到过量照射的可靠依据。另外一种意见则认为, 在小剂量长期照射时, 双着丝点和环不是一个灵敏的指示器。主要原因是出现率过低, 分析的细胞数不够多时, 不易做出有统计学意义的结论。

Popescu 等(1971)的工作表明, 在职业性放射工作人员中, 无着丝点断片明显增多, 但和累积剂量的相关性较差。

(3) 拟二倍体, 所谓拟二倍体是指染色体数目正常, 初看起来, 没有明显的形态学畸变, 但仔细的进行核型分析, 可发现一些有结构畸变的染色体, 如单着丝点的异常染色体。57 页表的资料说明, 职业性放射工作人员的拟二倍体细胞显著增多。此外, 汪安琦等(1964)也发现在放射科医生和技术员中, 有这种染色体数目正常而形态上有畸变的拟二倍体细胞。

以往由于核型分析手续比较复杂, 对一些稳定型畸变的正确鉴别有时又有困难, 所以拟二倍体细胞的观察受到一定的限制。染色体自动分析程序的发展和分带染色等新技术的应用, 为这方面的工作创造了有利的条件。

表 职业性放射工作人员的拟二倍体细胞

组 别	例 数	拟二倍体细胞 (%)	资 料 来 源
放射工作人员	36	7.6	Norman 等 1964
对 照	23	0.0	
放射工作人员	12	3.92	Sasaki 等 1963
对 照	10	0.0	
放射工作人员	—	3.33	Doida 等 1965
对 照	—	—	

总之,在观察职业性放射工作人员的染色体畸变时,有两种意见,一是观察记录各种不稳定型畸变如断裂,断片,双着丝点和环。这种类型的畸变鉴别比较容易,但需分析大量的细胞才能得出有意义的结果。在以往的资料中,观察 100 或 200 个细胞显然是不够的。二是对每个供分析的细胞都进行仔细的核型分析,除了不稳定型畸变外,还观察记录各种稳定型畸变,结果以不稳定型细胞畸变率和稳定型细胞畸变率来表示。在同样的观察时间和误差范围内,所需的细胞数可以大为减少。这种方法看来比较合理。

3. 排除干扰因素

一个理想的辐射诊断指标,应有严格的特异性。但特异性总是相对的,染色体畸变亦不例外。随着人类细胞遗传学的发展,对染色体畸变的诱变因子的认识,比过去深入多了。诱变分子可分三大类:一是电离辐射、紫外线、超声波、高频电磁场等物理诱变因子;二是种类繁多,与人类接触频繁的化学诱变因子,如许多药物,特别是抗癌药,免疫抑制剂,一些农药(杀虫剂,杀菌剂,除草剂)和某些食品添加剂等;三是生物诱变因子,如某些病毒,枝原体,某些细菌及一些疫苗和菌苗。此外,在变态反应性疾病和营养不良时,染色体畸变率也可能有变化。在分析职业性放射工作人员的染色体畸变时,必须考虑和上述因子的接触史或病史,有时则需根据畸变的类型仔细加以鉴别,不然易致误诊。

此外,当我们着手研究这方面的工作时,必须严格选择研究对象。Popescu 等(1971)的标准是没有受过治疗性照射,一年来未做 X 线诊

断照射,近三个月无病毒感染史,没有服过大剂量的药物,没有和有毒物质的职业性接触史。这些标准可供我们借鉴。

三、染色体畸变分析的 几个新途径

1. 骨髓、毛根、生殖细胞的染色体畸变分析

(1) 骨髓是一个重要的辐射敏感器官。Соколов (1970) 曾研究接触小剂量电离辐射工作人员骨髓细胞的染色体畸变,发现非整倍体细胞显著增多,但结构畸变不明显。抽取骨髓不受就诊者欢迎,而且骨髓细胞分裂旺盛,更新快,一些不稳定型畸变容易丢失,这是缺点。但骨髓染色体标本制作快速,简便,不需要复杂的设备条件,而且可以直接反映活体内真实情况,避免体外培养可能造成的人工膺象,这却是外周淋巴细胞染色体分析方法所不及。Buckton 等(1973)建议,在研究内照射效应时最好采用骨髓细胞,因用骨髓标本可以研究那些在体内连续再生细胞的染色体畸变。

(2) Sperling (1971) 曾叙述一种新方法,可以对人类胡子,眉毛的毛根细胞作中期染色体分析。每一根胡子的毛根细胞可以提供 10 个以上中期分裂相。此法简便,迅捷,取材方便,易为人们接受。经进一步改进和完善后,可以试用来诊断辐射损伤。

(3) 生殖系统同样对辐射高度敏感。有慢性辐射损伤表现的职业性放射工作人员常有生育力降低或不育现象。由于睾丸活组织检查难以普遍进行,生殖细胞辐射损伤的研究相应受到很大限制。Sperling 等(1971)发现在精子计数正常或精子减少症患者的精液中,有未成熟的生殖细胞如精原细胞,精母细胞和精细胞。最多可达 5%。经低渗处理后,可制成中期 I 的减数分裂染色体标本。以压片法可得到更好的粗线期染色体标本。这就为生殖细胞染色体畸变分析开辟了一条新的途径。

2. 微核测定

近年来,一种与染色体畸变分析有密切关

(下转第 15 页)

起许多动物出现类似于地震前的异常反应,尤其是鱼类和昆虫。生物干扰是指某些动物遇到敌害或寄生敌害时而出现的行为异常。如,鸽就能敏锐地察觉到盘旋在天空中的鹰或鹞而发生犹如地震前的视听和惊飞现象。蜂窝里有过多的蜂螨或蜂蜡蛾等寄生敌害,就会引起群蜂的迁窝现象。

动物本身生理状态的变化是指某些正常的生理活动,如发情、怀孕、哺乳或病态等。处于这些状态下的动物往往表现出焦急不安、性情暴躁、不进食或呻吟和愁鸣等类似于震前的异常现象。有的动物平常就具有某种恶习。如,有的猪就有拱圈拱墙的习惯。烈马就常常表现出性情粗暴现象。

总之,在观察动物的行为反应时,必须精心负责,注意各种干扰因素,认真分析研究,才能真正去粗取精,取伪存真。这样才能取得有用的结果,克服由于“假异常”而造成的不必要的惊慌现象。

(上接第 57 页)

系的新的细胞遗传学方法——微核测定,在环境诱变因子活力的评定中,得到广泛应用。诱变因子诱发的各类染色体畸变中,部分断片能保留一段时间,在间期细胞的细胞质中,表现为一个或多个圆形或杏仁状结构,称为微核。在多种实验动物的骨髓细胞,外周淋巴细胞和肿瘤细胞(如艾氏腹水癌)中,我们都曾观察到辐射诱发的微核。根据我们的一些初步实验结果,在一定剂量范围内,测定骨髓细胞微核率可以作为辐射损伤诊断的一个简易指标。有人初步观察了微核测定对慢性辐射损伤诊断的价值,发现 4 例工龄在 10 年以上的 X 线工作人员的外周淋巴细胞中,有微核出现。一些工作表明,微核测定和染色体畸变分析的结果有很好的相关性。微核测定,特别是采用分离浓集外周淋巴细胞的淋巴细胞微核测定,由于制片简

四、战胜地震的前景

研究大地震前的动物异常现象,不仅可直接为预报地震服务,而且为仿生学研究开辟了新的领域。动物机体特别是其灵敏的感觉器官相当于地震前兆因素的“活的探测器”。这种“生物探头”,如鸟类的振动感受器,要比目前的地震波检测器小而灵敏得多,并具有抗干扰能力。因此,深入研究提取出其接受地震前兆因素的作用原理,就可用工程技术和电子技术的方法加以模拟,仿制出具有“生物探头”特点的新型地震探测器。更有效地捕捉地震的前兆因素,这是研究地震预报的一条新途径。

我们相信,在毛主席革命路线的指引下,经过全党和全国人民以及广大地震工作者的共同努力,随着人类社会的发展和科学技术的进步,地震和其他一切事物一样,是可以逐步被人们认识,并掌握它的规律性,预测预报地震的有效手段将越来越多,人工控制地震的愿望也一定能够实现,人类最终能战胜地震。

便,观察迅速,分析的细胞数可以大大增加,在细胞培养条件尚未具备的一些基层单位,可以考虑试用于慢性辐射损伤的诊断。

四、结 语

1. 外周淋巴细胞染色体畸变分析具有方法简便,灵敏而又有一定的特异性等一系列特点。在畸变分析方法标准化和注意排除干扰因素的条件下,染色体畸变可以作为职业性慢性辐射损伤的一个较好的生物学指示器,可以定性地判断有无受到过量的照射。随着工作的深入,也有可能发展成为定量的生物剂量计。

2. 一些新的细胞遗传学方法,如骨髓、毛根、生殖细胞的染色体畸变分析,微核测定等等,如何使之完善,并应用于慢性辐射损伤的诊断,是一个值得研究的新课题。