

医学参考报

放射医学与防护频道

Radiological Medicine and Protection

Number 02

执行主编介绍



邢志伟 主任医师

中国医学科学院放射医学研究所

中国医学科学院放射医学研究所，主任医师，1987年7月毕业于天津医科大学医疗系，国家职业性放射性疾病诊断与鉴定指导组第一、二届委员，天津职业性放射性疾病诊断与鉴定指导组成员、建设项目职业病危害评审专家及职业性放射性疾病诊断专家库成员，《中华临床医师杂志》、《中华脑科疾病与康复杂志》(电子版)编委；现主要从事放射性疾病的基础研究及临床救治工作、作为标准主要起草人完成《造血刺激因子在急性放射病治疗中的应用规范》、《放射性神经系统疾病诊断标准》和《内照射放射病诊断标准》等，《放射性疾病诊断标准应用指南》和《放射性疾病诊疗手册》编委，任职以来有30余篇论文发表在核心期刊上；获中华预防医学会科学技术奖二等奖1项、三等奖1项和天津市科学技术三等奖2项。

导读

- 生物剂量的测量方法比较 **2版**
- 大规模辐射事故中的生物剂量评估 **3版**
- 流式细胞成像技术在生物剂量学中的应用 **4版**
- 手动与自动分析 γ H2AX焦点的比较 **5版**
- 某些miRNA有望成为新型生物剂量计 **6版**
- 放射性疾病诊断标准研究进展 **7版**
- 《单细胞凝胶电泳用于受照人员剂量估算技术规范》解读 **8版**

生物剂量计的研究进展概述

中国医学科学院放射医学研究所辐射效应研究室 王继先

放射生物剂量学是研究利用电离辐射所引起机体的生物学变化来量度受照剂量和评估危害的科学。其中剂量-效应关系较好的一类生物学变化，被用来量度辐射剂量称为生物剂量计。与物理剂量计相比，生物剂量计的优势是用受照者自身因照射所发生的变化量度剂量所以既直接又确切。应核战争、核、放射性事故应急，职业和公众的辐射安全和卫生防护，辐射损伤救治等方面的迫切需求，近年来生物剂量计研究取得了不少的进展。一是用现代技术、方法对传统生物剂量计进行改造；二是在放射生物效应的新发现和新技术的基础上，探求新的生物剂量计。主要进展概述如下：

1. 染色体畸变分析

各种特异染色体探针和中心粒探针标记杂交技术的应用，如荧光原位杂交(FISH)、和中心粒标记技术相结合，使染色体双着丝粒畸变和相互易位畸变分析的可靠性大大提高。另外，用改进的PCC(早熟染色体凝集)技术与FISH技术结合克服了大剂量照射后淋巴细胞减少所致计数细胞数量不足难题。

2. 微核分析

微核形成机制的研究发现，大多自发微核都含有中心粒；年龄、性别依赖的微核增加主要发生在性染色体。故在CB微核检测技术的基础上，利用中心粒特异的FISH探针技术可将辐射诱导产生的微核与自然产生的、以及年龄性别因素相关的微核区分开来，从而增加了微核分析的特异性。

3. DNA 损伤分析

细胞凝胶电泳(彗星实验)

可在单细胞水平测定DNA损伤。方法的优点是细胞用量少，灵敏度高(可测5cGy的 γ 射线)，还因分析软件的开发使分析变得标准而快捷。缺点是难以区分DNA损伤类型。为了区分DNA损伤类型发展了DNA损伤的免疫荧光测定方法，即利用荧光标记的与单链DNA断裂和碱基损伤部位特异性结合的抗体与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的关系。此法对DNA单链断裂可测出的照射剂量范围为0.2~10.0Gy。对DNA碱基损伤可测出的剂量范围在1.0~10.0Gy。由于DNA单链断裂和碱基损伤会迅速恢复，这种分析只适合在照后1h~4h内进行。

4. 基因表达和编码蛋白分析

因DNA双链断裂是电离辐射诱发的原发而特异的损伤，近来人们开始直接瞄准在DNA损伤与修复路径中的

一些分子事件，如 γ H2AX、Gadd45和CDKN1A在DNA辐射损伤与修复过程中数量与功能的变化，作为分子生物学标识物，开发新的生物剂量计。目前的研究大致有如下三个方面；

(1) 特异标记抗体结合检测

典型的例子是 γ H2AX的检测。用荧光检测法观察荧光标记的抗 γ H2AX特异抗体与电离辐射所致DNA双链断裂诱发的聚集在其周围的 γ H2AX结合产生的荧光灶。由于 γ H2AX的产生数量与DNA双链断裂数量之间呈线性相关，因此可以根据观察到的 γ H2AX荧光灶数量来估算受照剂量。定量测定 γ H2AX荧光灶有两种方法：①激光显微镜观测分析。②免疫荧光流式细胞术检测。

据报道照射后检测到的 γ H2AX蛋白荧光灶数量与辐射剂量存在线性关系。如人淋巴瘤系细胞LCL-N当分别以0.25、0.5和1.0Gy照射后5分钟，每个细胞内出

现的 γ H2AX灶从未照射的平均 2.8 ± 0.9 分别上升为 7.8 ± 0.4 、 13.6 ± 0.8 和 19.9 ± 1.0 ，在照后1小时分别下降到 4.0 ± 1.0 、 10.0 ± 1.0 和 12.0 ± 2.1 。在剂量0.25~2.0Gy范围内，有较好的量效关系。不足的是随着DNA损伤修复的快速完成， γ H2AX荧光灶也很快消失，致使在观察时间上较难把握。

(2) 基因转录和蛋白表达谱 RT-PCR 分析

如运用实时定量RT-PCR(逆转录聚合酶链反应)测量照射后正常人外周全血细胞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，在照射后24~48h Gadd45的表达量在1.0~3.0Gy之间存在着线性量-效关系。表明，用RT-PCR技术检测Gadd45基因的表达是一快速、灵敏、重复性好的潜在生物剂量指标。

Marchetti等搜集并综述了300多篇有关电离辐射诱发哺乳动物和人的蛋白质效应的文章(1973年~2006年)，发现261个辐射相关蛋白，其中73个是人类辐射相关蛋白。大多数蛋白表现为数量增加和磷酸化的变化，在24小时内增加1.5~10倍。47个蛋白的变化发生在1Gy以下，6个磷酸化的变化发生在10cGy以下。结论：ATM、H2AX、CDKN1A和TP53是最优的辐射相关蛋白生物标识物，作为头等候选蛋白标识物。为改善生物学剂量的估算，作者建议把具有不同剂量和时间效应的20个蛋白标识物配套为一个组来评估剂量，以适用于不同的照射剂量和照后的不同时间。根据高表达蛋白组合的情况来估算受照剂量和受照后的时间。

下转第2版

专家介绍



王继先 研究员

博士研究生导师。1965年中国协和医科大学放射卫生专业研究生毕业，1985~1987年美国国立卫生研究院癌症研究所客座研究员。曾任中国医学科学院放射医学研究所辐射效应研究室主任，第一副所长。兼任中国医学科学院中国协和医科大学院校学委会委员，核医学与放射医学专题委员会主任委员，全国卫生技术标准委员会委员，中华预防医学会放射卫生专业委员会主任委员，《中国辐射卫生》杂志总编辑等职。

主要从事小剂量电离辐射生物效应实验研究、辐射流行病学调查和危害评价等研究工作。主持多项国内外合作研究项目，发表论文逾百篇，主编科学专著2本，起草国家卫生标准6项。六次获卫生部、天津市和中华医学会等科技奖。培养硕士和博士研究生十多名。1992年被天津市科委评为“天津市中青年授衔专家”，同年获国务院政府特殊津贴，2000年被天津市科协选入《天津市科技名人录》，2003年被评为“天津市劳动模范”，2011年获中华预防医学会“公共卫生和预防医学发展贡献奖”。

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日



生物剂量的测量方法比较

【据《Radiation Research》2013年8月报道】题:多种测量生物剂量方法的比较(作者 Rothkamm K 等)

双着丝粒染色体分析(DCA)和胞质分裂阻滞微核法(CBMN)是受到电离辐射照射后测量生物剂量的主要经典方法,具有较高的特异性和敏感性,并且损伤信号能保持几个月之久。全世界许多实验室都已建立自己的标准曲线,从而通过染色体畸变数可以估算出受照剂量。然而,当大规模核事故发生时,需要快速筛查出极个别严重受照的个体来接受相应的及时治疗,在这种情况下,对生物剂量测量方法的选择上,就从主要讲求准确性转为强调快速和大量。为了满足快速和大量的需求,基因表达分析和 γ H2AX焦点计数两种新方法正在被广泛测试中,它们可以直接用细胞分裂间期细胞进行分析,从而避免了DCA法和CBMN法中2~3天的等待时间。而且,对于这两种分子水平的实验,样品准备和分析更易于平行操作和自动化,从而使得大规模样品分析成为可能。但是,基因表达分析和 γ H2AX焦点计数测量的是受

照细胞中的中间信号分子,它们会随时间迅速改变,这就限制了这两种新方法的时效性。因此,该国际项目旨在比较双

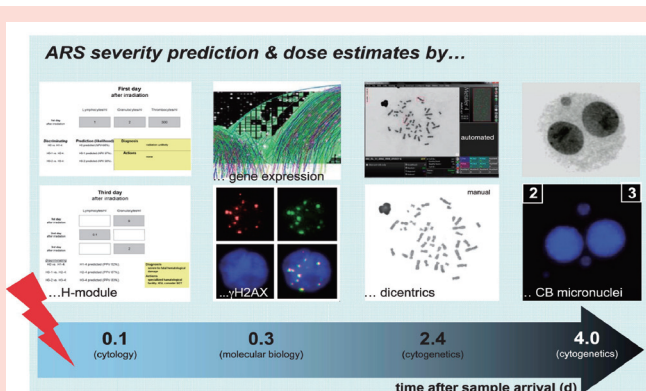


图1 使用分子方法(基因表达或 γ H2AX)或者细胞遗传学方法(双着丝粒染色体分析和胞质分裂阻滞微核法)来预测急性辐射综合征(ARS)的严重程度(H-module)或者估算受照剂量的最短报告时间。

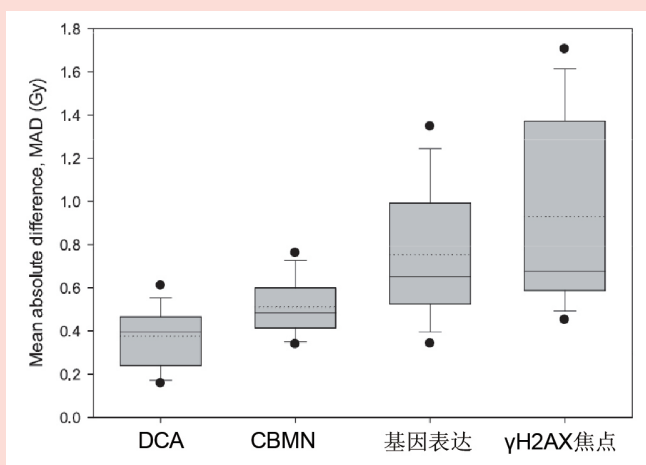


图2 每个实验室所报告的估算剂量与实际剂量的平均绝对差值(MAD)在不同方法中的分布。虚线表示平均值,实线表示中值。

着丝粒染色体分析、胞质分裂阻滞微核法、基因表达分析和 γ H2AX焦点计数这四种方法在不同实验室中估算辐射生物剂量的效率及准确性。

本研究共有来自英国、德国、法国、比利时、意大利、美国、加拿大的12个实验室参加。从一位健康志愿者(29岁,男性)抽取外周血,新鲜血样在37℃下接受单一剂量的X射线照射。随后,血样与温度记录仪及胶片式辐射剂量器一同快递到不同国家的实验室。样品运输时间在欧洲内部大约需要1天,运往北美需要1.5天。从血样送达实验室开始计时,获得剂量估算报告的时间,对于基因表达分析和 γ H2AX焦点计数是7~8小时,而DCA法和CBMN法则需要2.4~4天的时间(见图1)。

不同方法估算辐射生物剂量的准确性是通过估算剂量与实际剂量之间的绝对差值的平均值(MAD)来评价的。四种方法的MAD值分别为:DCA法(0.16Gy),CBMN法(0.34Gy),基因表达分析(0.34Gy)和 γ H2AX焦点计数(0.45Gy)。可见,与其他三种方法相比,DCA法的准确性大约要高出

2~3倍(见图2),因此DCA法仍然是最精确测量辐射生物剂量的方法。与CBMN法相比,基因表达分析的准确度与之没有显著差异,而 γ H2AX焦点计数的准确度也仅比其低些。此外,四种方法均表现出适用范围的上限要低于6.4Gy,因为在四种方法中该剂量均被低估了。

另一令人吃惊的结果是,各个实验室所估算的辐射生物剂量的方差,使用四种测试方法中的任何一种均达到三倍左右差距。这说明排除每种方法其自身性质决定其准确性外,实际操作过程中所带来的误差也是不容忽视的。在本研究中,对于辐射生物剂量的估算,不同实验室使用同种方法的方差至少等于甚至大于采用不同方法的方差。

综上所述,本研究再次证实双着丝粒染色体分析(DCA)是测量辐射生物剂量的黄金标准方法。但是,当快速和高通量的要求比准确性更重要时,新型快速的分子生物学方法——基因表达分析和 γ H2AX焦点计数也是很有潜力成为应急测量手段的。

(徐物报道)

上接第1版

(3) 基因或蛋白芯片(微阵列)分析

各类高集成度功能基因芯片的发展和运用,为辐射诱导基因改变的生物学研究及辐射生物剂量标识物研究提供了广阔的平台。Amundson等利用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,而另有一部分基因在照后72h才开始显

著升高。ddb2、CDKN1A(Cip1/WAF1)和XPC的表达在剂量0.2~2.0Gy照后24~48h内有良好的剂量-效应关系,而在24h前和48h后均未见这种线性关系。Jen等利用寡核苷酸微阵列分析 γ 射线照射后24h淋巴细胞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,其中126条基因是两个剂量共有的。这些基因大多数涉及细胞

周期调控、细胞凋亡、DNA修复等。基因芯片虽有高信息集成、高通量分析的优点,但其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困难重重。主要是因为:①检测到的基因改变除与辐射因素有关外还与宿主的一些生理、病理及其他一些内外环境因素有关,难以建立一组特异的、用作辐射剂量标识的基因谱。②适合于辐射诱导的复杂的基因微阵列分析程序

目前尚不成熟,难以处理庞大复杂的微阵列分析数据。③有效标记所需的纯度高、稳定和足量的RNA样本的制备也相当困难。此外,还有商业化喷涂微阵列的价格、分析所需时间以及设备等问题。尽管如此,人外周血淋巴细胞照射后高通量的基因表达谱已经鉴定出一些基因,如GADD45和CDKN1A,且它们的mRNA的增量是照射剂量的函数。近年来美军放射生物学研究所为建

立准确、快速、高通量、适于现场应用的生物剂量监测系统,将电离辐射照射引起的基因表达和编码蛋白的变化作为研究重点开展了许多研究工作,并建立了多指标联合快速综合分析计算机软件系统。

鉴于生物剂量计的重要性,目前各国均有较高的科技投入。相信随着人们对放射生物学研究的深入,新发现和新技术的不断涌现,生物剂量计的研发定会有所突破。

医学参考报

理事长兼总编辑: 巴德年
副理事长兼副总编辑: 曹雪涛
理事会秘书长: 周赞

社长: 魏海明
副社长: 吕春雷
副社长: 周赞

社址: 北京宣武区红莲南路30号4层B0403
邮编: 100055
总机: 010-63265066

放射医学与防护频道

名誉主编: 吴祖泽 潘自强
主编: 马力文
副主编: 姜恩海 罗庆良 邹跃 刘长安
常务编委:
陈英 郭亦超 江其生 金顺子 刘芬菊 吕慧敏
李君利 刘强 李蓉 刘英 陆毅 刘玉龙
吕玉民 冉新泽 尚兵 问清华 万玲 朱国英
张淑兰
编委:
崔凤梅 陈红红 陈肖华 崔勇 高林峰 何玲
鞠永健 刘福东 梁莉 刘丽宏 凌光华 马庆录
任福利 吴锦海 邹家龙 乌丽娅 王墨培 王善强
肖德涛 谢萍 邢志伟 姚波 余长林 杨文峰

杨业鹏 尹在哲 赵超英 张继勉 张玉松 张照辉
专家委员会主任委员: 尉可道
专家委员会副主任委员: 贾廷珍
委员:
白光 龚守良 龚治芬 李开宝 施仲齐 童建
王桂林 王洪复 王继先 王文学 周湘艳
编辑部主任: 张照辉
编辑部副主任: 郭亦超 陆毅
编辑: 王墨培 肖宇 曹宝山 岳瑶
学术发展部主任: 梁莉
学术发展部副主任: 刘丽宏 刘强



大规模辐射事故中的生物计量评估

【据《Mutation Research》2013年5月报道】题：双着丝粒染色体自动评分系统在大规模辐射事故中的应用（作者 H.Romma 等）

在发生大规模辐射事故时，会有大量的人群需要对其受照剂量进行生物剂量估算，以便能快速判断是否需要临床治疗。双着丝粒染色体人工分析是一种非常适用的技术，但它耗时长，并且需要一个有经验的评分员。因此，在第七届欧盟框架方案下的项目中，已基于软件建立了的用于个人剂量估算的双着丝粒染色体半自动评分系统。

本研究的主要目的是观察这种半自动化的双着丝粒染色体评分系统是否是一个可依赖、可重复的剂量估算方法。

取全血经⁶⁰Co γ射线照射，剂量由0Gy到4.5Gy共8个剂量组，然后将该血样分别运至参加检测的六个实验室。实验选用了三种双着丝粒染色体分选器，其中二种是针对细胞培养时乙酰氨基秋水仙碱的处理

时间（分为短时间2~3h和长时间24h）而专门开发的。自动化程序包括分裂中期的识别，高分辨率地捕获细胞和双着丝粒染色体的检测，然后由人工来对自动化检测出的双着丝粒染色体进行计分，因此，这种评价系统被称为是半自动检测。

参加实验的六个实验室分别就γ射线照射后的双着丝粒染色体自动评分建立了自己的

标准曲线（见图1）。

结果显示，无论使用哪种分类方法，绘制的标准曲线间都没有显著性差异。因此，图1中实线显示的是合并数据绘制的复合曲线。

但是，因为低剂量照射会出现假阳性，而这些需要人工进行排除，因此，这种双着丝粒染色体检测系统只能是半自动，而不能是全自动检测。另

外，阳性的染色体也需要人工进行确认。实验结果显示，每个细胞中双着丝粒染色体的数目随着照射剂量的增加而增多，换句话说，在低剂量照射时，假阳性和阳性染色体的比例较高。照射剂量高于2Gy时，假阳性和阳性染色体的比例小于20%。而且，在二种新的分选器之间，FP/TP值无显著性差异（ $P=0.85$ ）。见图2。合并所

有的数据显示，人工排除的假阳性染色体在不同的实验室间是有差异的，但二种分选器的分选数量均为每1,000个细胞中有40~90个假阳性染色体。

另外，使用半自动评分系统分析150个分裂中期的细胞需要2分钟，而采用人工方法分析50个中期细胞则需要60分钟。

总之，本研究将全血样本送到了不同的实验室，而且每个实验室根据本实验室的实验操作流程绘制了自己的半自动化双着丝粒染色体检测评分的标准曲线。尽管实验中存在很多的差异，如秋水仙碱的处理时间、不同的分选器的选择等，但各个实验室得出的标准曲线却无显著性差异。因此，本研究的结果表明，半自动化双着丝粒检测评分系统可以作为大规模辐射事故的一个可依赖的检测工具，能确保大样本的快速检测和受照剂量的快速准确评估，对可能受照的人体进行快速地鉴别分类，并能进行各实验室的联网合作。

（杜利清 报道）

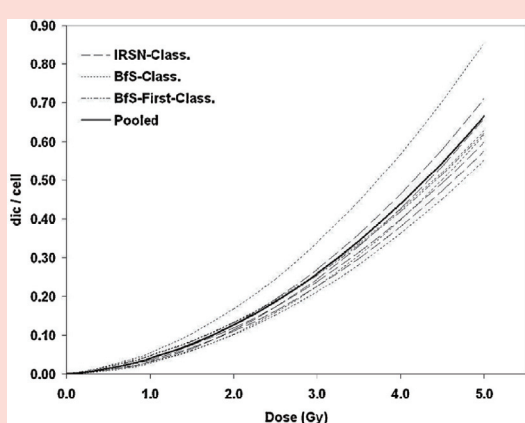


图 1

图 1 六个实验室利用三种分选器绘制的双着丝粒染色体半自动评分系统建立的九条射线剂量效应曲线

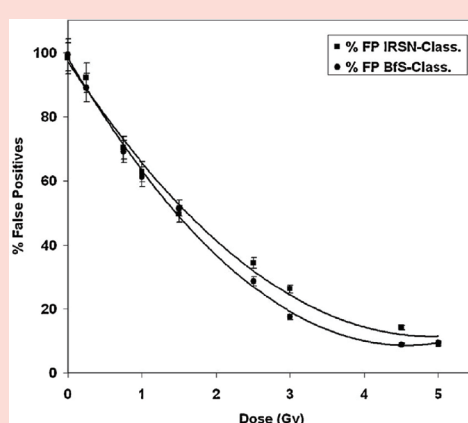


图 2

图 2 比较使用二种分选器 BFS-Class 和 IRSN-Class 时，假阳性（FP）与阳性双着丝粒染色体比值随照射剂量的增加而减少，二者无显著性差异。

微核分析在评估大剂量照射时的个体差异

【据《Mutation Research》2013年5月报道】题：微核分析作为生物剂量计在评估大剂量照射时的个体差异分析（作者 Justyna Kacprzaka 等）

微核分析被作为生物剂量计而广泛应用。但是，由于辐射对细胞增殖的抑制效应，使得微核分析只有在吸收剂量小于5Gy时才能取得满意的结果。2002年，Müller和Rode建议使用三核与四核细胞数的比值以及含微核的双核细胞率，用于剂量达到15Gy时的吸收剂量检测。但他们的结论是基于一个供体的淋巴细胞的，而没有考虑个体差异对这种检测方法的影响。

本项目的研究目的是利用5个供体的淋巴细胞来验证这种修正的检测方法的正确性。将5个供体的血样分别暴露于0.5、10、15、20 Gy⁶⁰Co γ射线，微核水平和细胞增殖能力分别采用不同的检测方法。结果见表1。微核数/微核化双核细胞

数比值的个体差异稍低于微核数/双核细胞数（Mn/BNC），另外，在10Gy以下剂量时，微核数/微核化双核细胞数比值的中位频率较Mn/BNC增加，但在15和20Gy时轻度下降。随着照射剂量的增加，Mn/BNC的分布将背离泊松分布。单核细胞的比例随着剂量而增加，而双核细胞的比例却随着剂量而下降。有趣的是，在第一和第五个供体中，20Gy时单核细胞的比例较15Gy时低，

而双核细胞的比例则高。离散指数随着受照剂量的增加而降低，最大降幅发生在0到5Gy之间。

图1对单核和多核细胞的各种率进行了比较，结果显示，单核细胞数/双核细胞数有随着剂量增加的趋势，而双核细胞数与三核细胞数的比值随着剂量而降低。三核细胞与四核细胞数的比值与剂量无明显的相关性。

本研究进一步确定了高剂量X射线对细胞生长的损害。

然而，现有的增殖标志物在0到5Gy范围内能显示出明显的剂量反应关系，但在较高剂量时则趋于平稳。因此，增殖数据在生物剂量测定时的使用是受限的。对增殖能力的损害同时也会导致微核频率的下降。一个有意思的问题是如果延长淋巴细胞的培养时间，是否会增加微核的数量。已有文献报导，当进行最大剂量为2Gy的低能量射线照射时，微核频率没有随着淋巴细胞的培养时间

而增加；但对于大剂量低能量射线照射后，微核频率与淋巴细胞的培养时间是否存在相关性，目前还没有相关的系统报道。

根据目前的结果，对于照射尤其是高剂量照射时，微核分析能否作为生物剂量的指示剂还有待思考。很明显，只有当确保受照剂量低于5Gy时，微核频率可以单独用于生物剂量的评估，而无需考虑细胞增殖的影响。但当不能确定受照剂量低于5Gy时，则必须对增殖能力进行分析，以校正细胞增殖对剂量估算结果的影响。在真正的辐射事故中，一般很难确定受照个体的吸收剂量，因此，强烈建议进行微核检测的同时，对细胞增殖能力也进行分析，并建议不同的实验室，根据自己的培养条件，寻找到一个最适用于的分析5Gy以上照射剂量的增殖参数用于吸收剂量的分析。

（杜利清 报道）

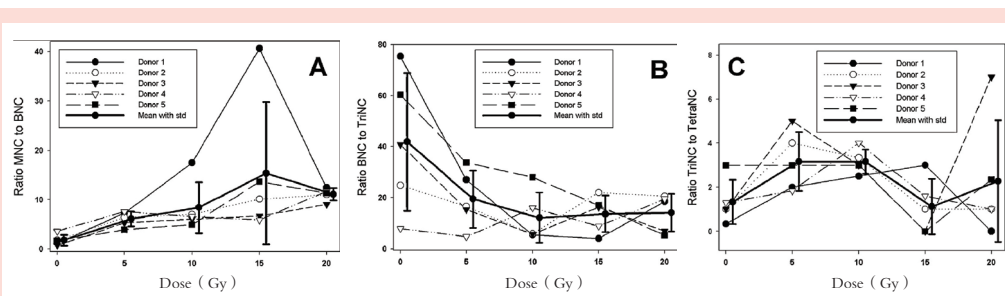


图 1 单核和多核细胞各种率的剂量反应曲线。

A: 单核和双核细胞的比值; B: binucleated to trinucleated cells 的比; C: trinucleated 与 tetranucleated cells 的比值; 黑线表示均数和标准误差线。

流式细胞成像技术在生物剂量学中的应用

【据《Mutation Research》2013年4月报道】题:流式细胞成像技术分析染色体畸变用于生物剂量学研究(作者 Beaton LA 等)

在核或放射事故发生后,为及时进行医学救治和判断预后,应尽早估算出人员的受照剂量。除物理方法外,生物学方法是剂量估算的主要手段。大量的实验表明外周血淋巴细胞染色体畸变分析是估算受照剂量可靠的生物学方法,被认为是估算生物受照剂量的金标准。常规的细胞遗传学方法具有费时费力等缺点,为满足事故应急快速剂量估算的需求,学者们陆续发明了一些新的生物学方法。这些方法各具优缺点,例如使用流式细胞仪来分析畸变染色体,其优点是提高了检测细胞染色体的速度;缺点是虽然改进了染色体和双着丝粒的标记方法,仍不能分辨出单着丝粒和双着丝粒,即无法准确的进行剂量估算。Beaton LA 等最近提出的流式细胞成像术似乎能够避免这些缺点。

1 流式细胞成像技术简介

加拿大卫生部消费者和临床辐射防护局的 Beaton LA 等

的研究,把常规的流式细胞术和流式细胞成像术结合起来,在实现增加通量的同时,又保留了显微镜技术的敏感性,达到可视化的目的,从而能够实现快速准确的估算辐射剂量。

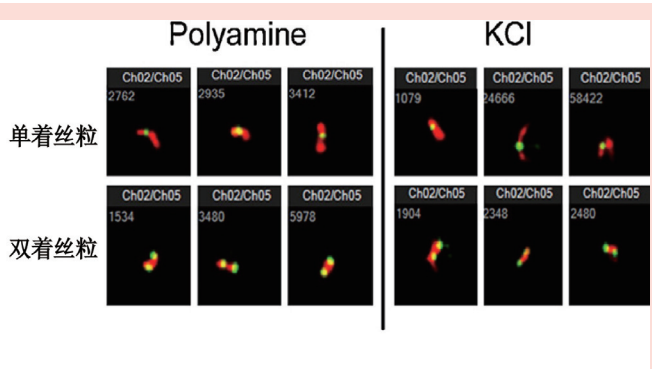


图1用两种低渗液(KCl和polyamine)得到的单着丝粒和双着丝粒

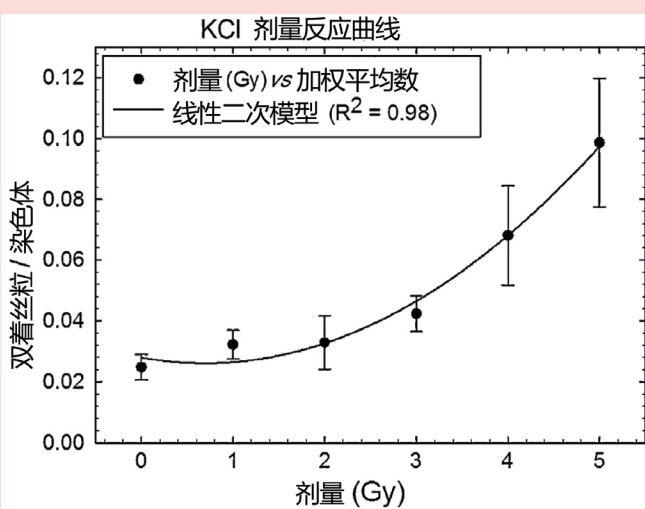


图2用KCl方法(n=4)得到的剂量曲线

数据点表示给定剂量点双着丝粒的加权平均数,误差线表示平均值的标准误差,曲线采用线性二次模型拟合(R²=0.98)。

取健康志愿者静脉血,全血照射,使用密度梯度法分离出淋巴细胞,培养至48h分离染色体,碘化,荧光标记着丝粒。然后使用 ImageStream 软件分析着色染色体。其中,将培养后的样品各分到2个5ml试管中,分别用两种低渗液(KCl、Polyamine)进行低渗,对得到的染色体结果进行比较。

结果显示在低渗过程中使用两种低渗液都能使细胞胀大,染色体分散较好,染色体的单着丝粒和双着丝粒染色清晰(图1)。但两种低渗液处理样品时都会造成部分染色体缠绕在一起,流式细胞术对缠绕的染色体不敏感影响到统计学结果。因此,样品处理方法仍存在很大的改善空间。

2 流式细胞成像术的优势和不足

结果表明,由于该技术采用荧光门控系统,能区分单着丝粒和双着丝粒,绘制出的剂量响应曲线与预期结果一致,而常规的流式细胞术却不能做到这一点。流式细胞成像术分析一个样品大约需要5~20min,并可通过提高样品浓度进一步缩短检测时间。随着图像-数据分析系统的日趋完善,使用96孔板批处理样品将成为

一种可能。该技术也存在一定的缺点和不足,不能识别缠绕的染色,因此流式细胞成像术和常规染色体畸变分析方法比较,准确度和敏感性还是有所差距。例如,在0Gy剂量点,用常规的染色体畸变分析法得出双着丝粒的畸变率约为0.05%~0.1%,而在该剂量点时用流式细胞成像技术得出的畸变率为3%,可见采用图像自动分析系统造成的假阳性率较高(图2),因此图像自动分析系统以及样品处理工作方面仍有很多工作需要做。从图2也可以看出,流式细胞成像术对0~3Gy较敏感,但在0.1~0.2Gy内,不如常规染色体畸变分析法敏感。当然,随着样品处理工作和图像分析系统的改善,该方法的标准误差会降低,敏感性也会提高。

从以上分析可见,两种低渗液都能够使染色体较好的分散,且单着丝粒和双着丝粒染色体轮廓清晰。流式细胞成像技术是一种新的技术,在增加通量实现自动化的同时,又能通过辨别双着丝粒染色体畸变准确的进行受照剂量估算,但仍需进一步提高效率和敏感度。

(封丽刘强报道)

彗星分析技术在辐射生物计量学中的应用

【据《International Journal of Molecular Sciences》2013年11月报道】题:彗星分析技术评估辐射诱导的DNA损伤的剂量效应关系研究(作者 Wang Y 等)

众所周知,传统的细胞生物学分析包括染色体异常、微核分析、早熟染色体凝集、FISH等。染色体异常一直作为事故初期生物剂量估算的金标准,但是由于其需要将淋巴细胞培养48到72小时后检测而不适用于做快速诊断。因此,快速灵敏的DNA损伤诊断方法有待解决。

彗星实验,又名单细胞凝胶电泳技术,近些年广泛用于辐射生物学、毒理学、肿瘤学和分子流行病学,不仅能从单细胞水平上检测DNA的双链断裂,而且可以根据DNA双链断裂的量化指标,进一步分析照后DNA残余损伤的量,反映出细胞辐射损伤程度(如图1)。

研究人员首先对小鼠外周血分别给予整体照射和离体照

射,两组之间的差别均无显著性,因此认为离体血γ射线照射后即刻进行中性单细胞凝胶电泳,可以客观准确地反映整体照射的淋巴细胞DNA双链断裂损伤。随后,研究人员把离体

人外周血¹³⁷Cs γ射线1~6 Gy照射后,彗星分析的TDNA、TL、TM、OTM数据显示无性

别差异,无实验批次的差异,并且随着剂量增加,呈现良好

下转第6版



图1彗星分析检测辐射诱导的细胞DNA损伤(A:正常细胞;B:辐射损伤后的彗星细胞;C:凋亡细胞)

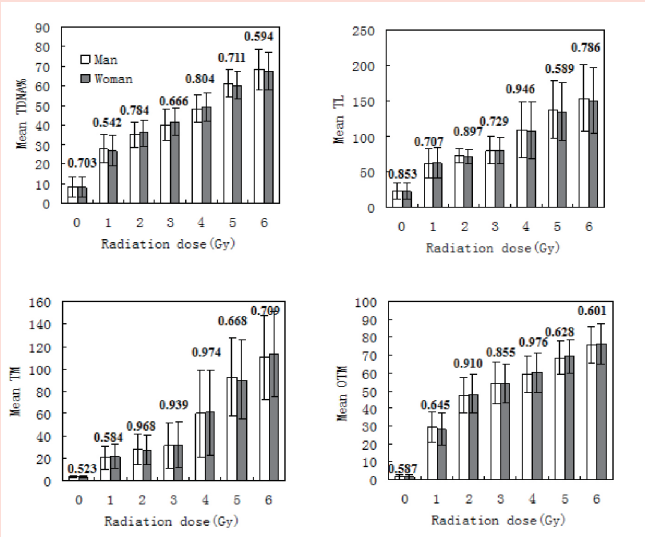


图2彗星分析对不同性别人淋巴细胞DNA双链断裂检测的比较

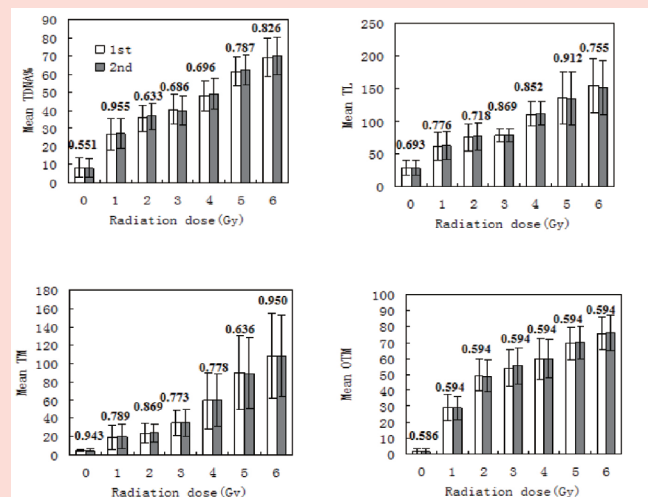


图3彗星分析对不同实验批次人淋巴细胞DNA双链断裂检测的比较

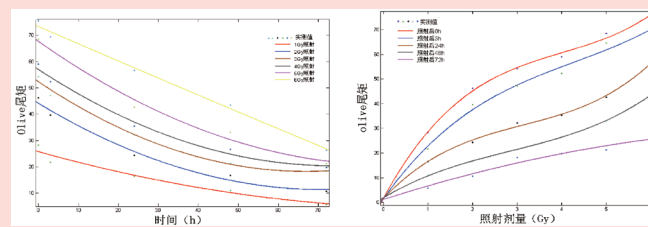


图40~72h内辐射诱导DNA双链断裂剂量效应曲线及1~6Gy辐射诱导DNA双链断裂时效性曲线

手动与自动分析 γ H2AX 焦点的比较



【据《Mutation Research》2013年5月报道】题：在欧洲五个不同国家的实验室进行 γ H2AX 焦点的手动与自动分析比较——在大规模辐射事故中是否能采用此方法快速检测生物剂量？（作者 Rothkamm K 等）

当大规模核事故发生时，能够快速甄别已遭受高剂量辐射的个体对于决定最初的治疗方案是至关重要的。目前，测量辐射生物剂量的“黄金标准法”仍然是细胞遗传学的方法，尤其是双着丝粒染色体畸变分析。但是，这种方法有两个主要的局限性：一是刺激淋巴细胞后至少需要两天才能获得细胞分裂中期相；二是该方法耗时并且需要有经验的细胞遗传学家来进行准确的分析。因此，需要一种快速简便的替代方法来检测生物剂量。

现在， γ H2AX（异型组蛋白 H2AX 的磷酸化形式）已经成为一种成熟的辐射诱导的 DNA 双链断裂的生物标记物，通过免疫荧光显微镜对 γ H2AX 焦点进行计数即可灵敏地检测到电离辐射引起的 DNA 损伤，并可量化损伤程度。这种方法已经在大量确定放化

疗病人的 DNA 损伤的研究中采用，许多体外实验结果也显示该方法对于检测受照后数小时或几天之内的生物剂量是很有希望的。因此，我们在此旨在程序规范化 γ H2AX 焦点检测方法，并测试该方法是否适合作为高通量检测辐射生物剂量的方法。

本研究所用血样全部取自一个实验室的四名健康志愿者，研究者从血样中分离出新鲜的、未受刺激的淋巴细胞，并将之悬浮于 100% 热灭活的胎牛血清中，在 37°C 水浴中

接受 0、1、2 或 4Gy 来自钴 60- γ 射线的照射。来自同一志愿者的未受照射和受 4Gy 照射的淋巴细胞等量混合来模拟局部受照情况。样品在 37°C 下孵育 4 小时或 24 小时，然后冷却到 4°C 分装至密封小管中，与冰袋、辐射剂量计及温度记录仪一起快速递至各个实验室进行检测。

结果显示，受照后 4 小时和 24 小时， γ H2AX 焦点出现的频率呈现趋于线性的量效关系，并且受照后 4 小时的平均焦点数大约比受照后

24 小时的平均焦点数高 2~4 倍（见图 1），反映了快速修复 γ 射线诱导的 DNA 双链断裂导致随时间推移焦点数明显减少。因此，对于所有用焦点数来估算受照计量的方法，记录精确的受照时间是至关重要的。另外，各个实验室在这两个时间点所测得的焦点数差距较大（见图 1 中的大标准方差），说明试剂和样品处理上的细小差别都会影响荧光染色的效果，所以实验室应该定期校准该方法，并且当绝对焦点数需要与其他不同实验数据或者

其他实验室的数据相比较时，最好在测定样品时同时包括阴性对照和阳性对照样品，这样将有助于调整标准曲线的参数使得最终的检测数据更准确。

人工通过显微镜进行 γ H2AX 焦点计数，和用照相机拍照并用 Metafer/MetaCyte 分析系统进行全自动计数，或者用 Histolab 软件包进行半自动计数相比，所获得的计数结果没有显著差异，但是（半）自动计数的标准误差明显高于手动测量的标准误差（ $P=0.02$ ）。而且，自动计数结果无法区分局部受照样品（受 4Gy 照射的淋巴细胞占 50%）和均匀受照样品（受 2Gy 照射的淋巴细胞占 100%），而手动计数可以区分开（见图 2）。

总之， γ H2AX 焦点计数法作为对于新近受到急性辐射照射人员的快速筛查方法是可行的，但必需具备实验室特有的剂量标准曲线，并且要定期校准该标准曲线。自动计数虽然快速方便，但是其准确性较手动方式差一点，而且自动分析 γ H2AX 焦点的方法不适用于局部受照情况。

（徐畅报道）

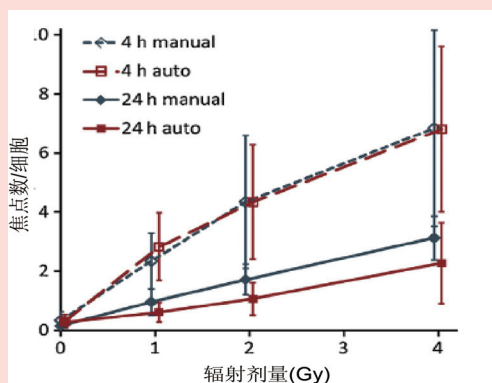


图 1 钴 60- γ 射线照射后 4 小时和 24 小时每个细胞中 γ H2AX 焦点的平均数。焦点计数采用手动 (manual) 或者 (半) 自动 (auto) 方式。误差线代表不同实验室数据之间的标准方差。

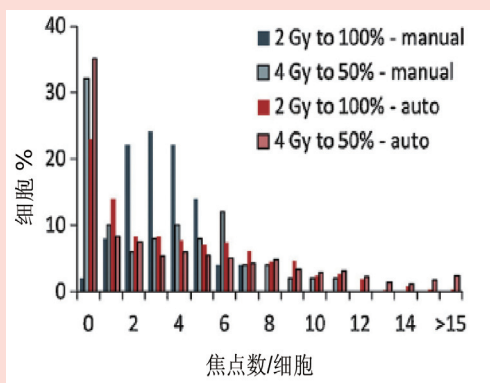


图 2 局部受照样品（受 4Gy 照射的淋巴细胞占 50%）和均匀受照样品（受 2Gy 照射的淋巴细胞占 100%）中的 γ H2AX 焦点分布图。焦点计数采用手动 (manual) 或者 (半) 自动 (auto) 方式。

《国际放射医学核医学杂志》第五届编委会第一次会议暨放射医学核医学最新进展学术研讨会在上海成功召开

《国际放射医学核医学杂志》第五届编委会第一次会议暨放射医学核医学最新进展学术研讨会于 2013 年 8 月 23 日至 25 日在美丽的申城隆重召开。中科院院士柴之芳，中华医学杂志社社长兼总编辑姜永茂，中华医学会杂志社社长助理兼办公室主任王旌，《国际放射医学核医学杂志》总编辑樊飞跃，中华医学会核医学分会主任委员黄钢及来自全国各地的 80 多位编委、通讯编委出席了会议。

《国际放射医学核医学杂志》第五届编委会第一次会议由编辑部主任宋娜玲主持。首先，姜永茂社长做了重要讲话。姜社长向新一届杂志编委会全体成员表示最热烈的祝贺，对《国际放射医学核医学杂志》办刊历程做了简要介绍，肯定了办刊 36 年来取得的成绩，尤其是在 2012 年中华医学会审读中，《国际放射医学核医学杂志》编辑出版质量位于同类专业杂志

前列，为推动我国放射医学与核医学领域的学术交流、传播起到了积极作用，并越来越受到国内放射医学与核医学专业领域专家、作者及读者的关注。姜社长在肯定了杂志目前所取得的成绩同时，对今后的办刊实践工作提出了具体要求。他相信，在大家的共同努力下，《国际放射医学核医学杂志》质量会不断提高，杂志会越办越好！

会上，总编辑樊飞跃做了

第四届编委会工作总结汇报。首先，樊总编感谢各位编委于百忙之中抽出时间来参加《国际放射医学核医学杂志》第五届编委会议，共商《国际放射医学核医学杂志》的发展和未来。其次，樊总编从本刊的基本情况、36 年的发展历程、管理和制度建设、取得的成绩以及下一步的工作设想等方面做了详尽的工作汇报。最后，他在感谢上一届编委付出的辛勤

劳动的同时，对新的编委会成员表示热烈的欢迎，希望通过我们大家的共同努力，一起来把《国际放射医学核医学杂志》办得更好！

放射医学核医学最新进展学术研讨会是由中国医学科学院放射医学研究所副所长樊赛军主持。柴之芳院士、田嘉禾教授、黄钢教授和樊赛军教授等多位德高望重的专家做了精彩的学术报告。柴之芳院士的

“低剂量辐射生物效应——从一封书信说起”讲座让大家受益匪浅；田嘉禾教授等专家分别从不同角度向大家介绍了国内外放射医学和核医学的过去、现在及其交叉融合领域的新进展、新成果，指明了学科融合广阔的发展前景，并探讨了如何应对并解决本领域当前研究和实际工作中存在的问题，以顺应整合大影像学的世界潮流。

放射医学核医学最新进展学术研讨会介绍了国内外放射医学和核医学领域的新进展、新成果，达到相互学习、相互促进、相互协作、共同提高的目的；实现放射医学和核医学的学科交叉和合作平台。《国际放射医学核医学杂志》第五届编委会第一次会议取得了良好的效果，在加强了本刊宣传的同时提升了知名度，为推动《国际放射医学核医学杂志》的发展起到了积极作用。

（宋娜玲报道）



某些 miRNA 有望成为新型生物剂量计

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 龚守良

1. miRNA 的发现及其生物学特性

1993 年, Lee 等人在研究秀丽新小杆线虫发育缺陷时, 首次发现 miRNA, 其长度为 21~25nt 的小片段单链 RNA (ssRNA), 位于基因组的非编码区, 在许多动植物生物体内广泛表达, 可在翻译水平对基因表达进行调节的 RNA 家族。miRNA 是一种对大多真核生物基因组进行转录后调控的信号分子, 在发育过程中起到重要作用, 可调控许多含有同源结构域的基因 (同时也是转录因子), miRNA-mRNA 互补程度决定了调控机制。另外, miRNA 分子作为序列特异性调控因子的途径是 RNAi 途径, 是一种细胞内对双链 RNA (dsRNA) 存在的进化保守反应。miRNA 基因在人类基因组中占据大约 1% 的数量, 并已找到逾千个 miRNA, 在胚胎发育、细胞增殖、分化、代谢、死亡和肿瘤发生中发挥重要的调节作用。

2013 年 6 月 25 日, Sanger miRNA 序列数据库 (miRBase) 最新升级至 20.0 版本。新版本的 miRNA 数据库升级距上一次数据库的更新 (miRNA19.0 2012 年 8 月 1 日发布) 经历了较长的时间, miRNA 发夹前体序列已升至 24,521 条, 新增 3,000 余条; 成熟 miRNA 序列升至 30,424 条, 新增 5,000 余条。其中, 新增成熟 miRNA 中, 人成熟的新增至 2,578 条, 小鼠成熟的新增至 1,908 条, 大鼠成熟的新增至 728 条。

miRNA 基因本身不具有开

放阅读框, 其表达具有高度保守性、时序性和组织特异性, 在基因组织中多以单拷贝、多拷贝或基因簇等多种形式存在, 且大部分落于基因间隔区。miRNA 在生物合成过程中至少经过 2 个步骤: ① 在细胞核内, 长的内源性转录本 (pri-miRNA) 在 RNase III 家族成员 Drosha 酶切一段具有发夹结构约为 70 nt 的单链 miRNA 前体 (pre-miRNA); ② pre-miRNA 经转运蛋白 exportin-5 被转运出核, 在细胞质中被 RNase III Dicer 连续剪切成为 miRNA: miRNA* 双体, 即为成熟的 miRNA 及其互补链 miRNA*。然后, 成熟的 miRNA 分子被解

链, 单链的 miRNA 进入 RNA 诱导复合体 (RISC), 与靶基因 3' UTR 互补配对, 指导 RISC 对靶基因 mRNA 进行切割或翻译抑制。

2. miRNA 发展为生物剂量计

miRNA 具有组织特异性, 稳定, 易于高通量分析; 并且, miRNA 表达的高通量分析非常敏感、迅速。研究证实, 循环血和其他体液) 中的 miRNA 可作为评价某些疾病和器官损伤的生物标志, 某些 miRNA 有望成为新型生物剂量计。

为了建立快速、准确、敏感和稳定的检测方法, Jacob 等应用数字化无扩增的定量和比

较方法, 评价个体血清相对丰度的 miRNA, 并发展一组敏感标志的生物剂量计。研究者采用 1~12 Gy 照射小鼠血清后 24 和 48h, 观察 600 多种 miRNA 表达水平的变化。结果发现, 几种进化保守的 miRNA 反应明显, 其中 miRNA-150 (淋巴细胞内含量丰富) 显示剂量和时间依赖性下降, 推测其作为淋巴细胞减少和骨髓损伤的敏感标志。并且, 有几种 miRNA 可作为辐射事故和放疗病人的辐射反应标志。

如图 1 所示, miRNA-150 可作为理想的辐射反应血清生物标志。所有的小鼠经 ^{137}Cs γ 射线照射 24 h 剂量反应明显, 甚至在 1 Gy 照射 miRNA-150 水平下降, 随着照射剂量的增加 (2~8Gy) 其水平进行性降低 (图 1 左)。通过分次 X 射线照射, 即 $2 \times 2\text{Gy} = 4\text{Gy}$ 照射后 24h, $4 \times 2\text{Gy} = 8\text{Gy}$ 照射后 48h 和 $6 \times 2\text{Gy} = 12\text{Gy}$ 照射后 72 h, 与单次急性照射基本一致, 分次 4 Gy 照射 24 h, 血清 miRNA-150 水平下降 50%, 证明分次照射也具有其生物剂量计的潜在价值 (图 1 右)。进一步实验发现, 1 Gy 照射 24 h 小鼠血清 miRNA-150 降低 30%; 48h 后降低 50%, 呈时间和剂量依赖性降低, 证实其血清标志作为候选辐射生物剂量计的敏感性和可靠性 (图 2)。以上结果显示, 单次 8Gy 和分次 8~12Gy 照射后 48~72h, 血清 miRNA-150 减少到最低点。miRNA-150 作为生物剂量计, 因其具有时间和剂量的依赖性降低, 并与淋巴细胞减少的动

力学相关, 可作为辐射反应的诊断工具。

另外, 600 MeV 质子 0.5 或 1.0 Gy 照射小鼠, 照射后 6 或 24 h, 26 种 miRNA 出现差异表达。这种差异表达, 77% 是特异的。通过质子、 γ 射线和 ^{56}Fe 离子照射小鼠, 血中 miRNA 标志呈辐射类型和剂量的特异性。1.5 Gy γ 射线、1.0 Gy 质子和 0.5 Gy ^{56}Fe 离子照射具有相似的相对生物效能 (RBE)。这些发现说明, miRNA 介导的辐射反应的复杂性。miRNA 表达的标志可用于辐射生物剂量计。

Templin 等采用 1.25 Gy X 射线全身照射放疗病人后 4 h, 外周血细胞 45 种 miRNA (占检出 miRNA 的 23%) 表达明显上调, 其中的 27 种在每例病人均有表达上调。在 223 种 miRNA 差异表达基因中, 37 种下调和预期的靶点上调。这种电离辐射诱导外周血细胞 miRNA 表达上调的潜能, 可能提供高分辨率的辐射生物标志。这种生物标志可用作监测治疗和诊断放疗病人辐射作用的存在和持续时间。

Cui 等采用 0.5、2 和 10 Gy ^{137}Cs γ 射线照射 (剂量率 52 cGy/min) 小鼠后 6 或 24 h, 其血浆 miRNA 表达发生明显变化, 具有时间和剂量依赖性, 其精确性、敏感性和特异性约 90%, 分别有 32 和 12 种 miRNA 在照射 6 和 24 h 检测的精确性达 97.5%。提示, 以血浆为基础的 miRNA 生物标志, 可用作群体辐射事故的评价工具。

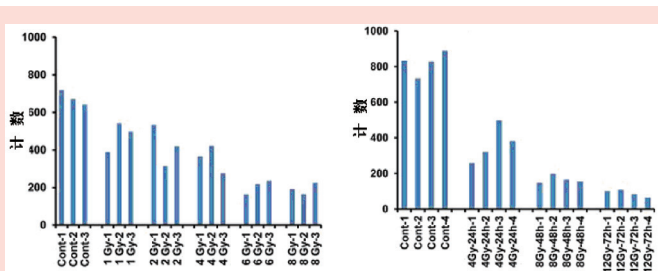


图 1 小鼠血清 miRNA-150 生物标志的辐射剂量反应分析

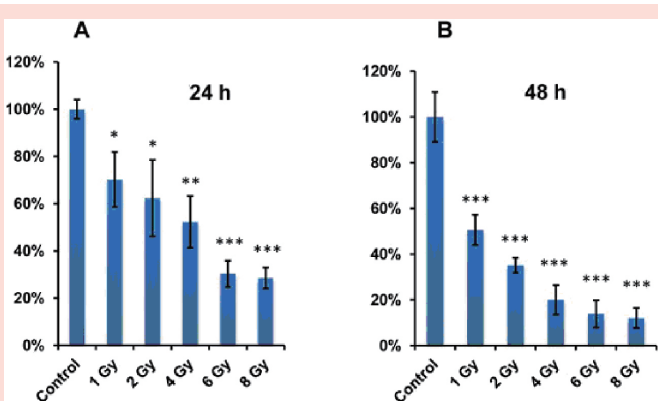


图 2 1~8 Gy 照射后 24 和 48 h 小鼠血清 miRNA-150 的时间和剂量依赖性下降

* $P < 0.05$, ** $P < 0.005$ 和 *** $P < 0.0005$ 与对照组比较

上接第 4 版

的剂量效应关系 (如图 2, 3)。

采用 Matlab 7.8 软件拟合不同时相点 DNA 损伤的剂量效应曲线, 三次方程达到了较好的效果, 即符合科学计算应用的要求, 所以不同时相的剂量效应曲线可以用 $Y_{OTM} = ax^3 + bx^2 + cx + d$ (Y_{OTM} 为 OTM 的实测值, x 为受照射剂量) 来表示, 其中 a 、 b 、 c 、 d 随时间改变而改变。曲线见图 4。研究人员又对不同剂量照射后 DNA 损伤修复曲线进行了分析。在拟合单个剂量下的辐射诱导 DNA 双链断裂在 0~72 h 内的修复曲线时, 二次方程 $Y_{OTM} = mx^2 + nx + k$ (方程中 Y_{OTM}

为指标 OTM 的实测值, x 为照射后时间 m 、 n 、 k 随剂量改变而改变) 可达到较好效果, 曲线的优度均接近或大于 0.99。曲线见图 4。

为了对实验范围内任意时

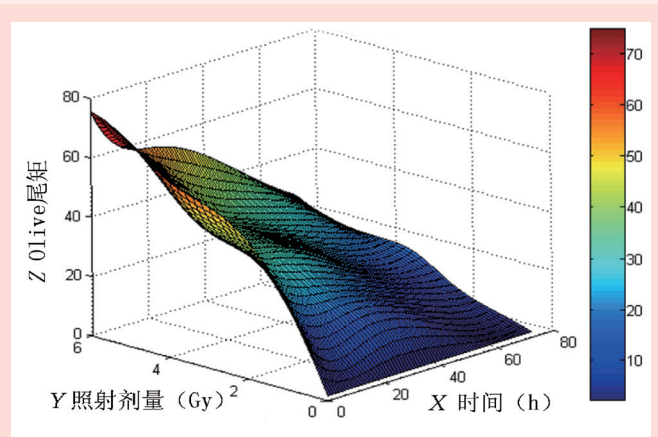


图 5 1~6Gy 辐射诱导的 DNA 双链断裂 72 h 内时效性曲面 (彩色柱为 Olive 尾矩大小的色彩标注)

间和剂量的辐射损伤进行模拟, 研究人员建立了辐射诱导的 DNA 损伤修复时效性修复曲面, 如图 5。应用此方法, 在固定实验室仪器和试剂条件下, 已经将其做成图形界面的软件, 利用该曲面模型可对 72 h 内任意时间点下 1~6 Gy 范围内的辐射诱导的 DNA 损伤进行原发损伤剂量的估算。

研究人员分析认为, 彗星分析检测 DNA 辐射损伤具有快速、简便、灵敏和低耗等优点, 但是, 其缺点在于受 DNA 修复的影响很大, 所以, 用该技术评价辐射后的 DNA 损伤时, 一定要考虑 DNA 的修复。该研究

中采用该方法分析了 DNA 双链断裂的剂量-效应关系, 同时还分析了辐射后 DNA 双链断裂的修复动力学过程, 初步建立了本实验室条件的 1~6 Gy 范围 72 h 内的小型修复模型, 拟合照射 72 小时内的 DNA 修复曲线。组合了这两条曲线, 进行最小二乘法的二维插值计算, 建立了辐射诱导的 DNA 损伤时效和量效三维曲面, 用适当的数学模型来描述 DNA 损伤体外修复的动力学过程。可以进一步利用这个三维曲面模型拟合计算机软件, 期望能够用于 1~6 Gy 照射 72 小时内的剂量评价。

(王彦 刘强 报道)

放射性疾病诊断标准研究进展

中国医学科学院放射医学研究所 姜恩海

放射性疾病诊断标准是由卫生部放射性疾病诊断标准专业委员会(简称标委会)负责提出规划、立项、研制和审查,报卫生计生委(原卫生部)审批发布。现就标委会(1-6)届标准研制和立项情况介绍如下。

放射性疾病诊断标准为放射性疾病诊断鉴定、放射事故医学急救救治、远后效应医学随访和放射工作人员健康监护等专业领域,提高诊治专业技术水平,做出了突出贡献,为我国放射性疾病预防、诊治和远后效应医学随访事业的发展发挥着重要和独特的作用。

截止到2013年12月底,标委会已研制完成并正式发布实施的国家和卫生行业标准有52项,其中国家职业卫生标准40项(表1)、国家和卫生行业标准12项(表2)。2012审查9项(表3)、2013年审查5项(表4)。

上述标准的发布实施对放射性疾病的诊断、普及放射损伤知识、提高诊疗水平和保护人民健康方面发挥了良好的作用,取得了很好的社会和经济效益。

表 1 已发布的国家职业卫生标准

序号	现标准号	原标准号	标准名称	发布时间	实施时间
1	GBZ95-2002	GB8283-1987	放射性白内障诊断标准	2002-4	2002-6
2	GBZ96-2011	GB8284-1987	内照射放射病诊断标准	2011-11	2012-5
3	GBZ97-2009	GB16386-1996 GBZ97-2002	放射性肿瘤判断标准	2009-7	2001-1
4	GBZ98-2002	GB16387-1996	放射工作人员的健康标准	2002-4	2002-6
5	GBZ99-2002	GB16388-1996	外照射亚急性放射病诊断标准	2002-4	2002-6
6	GBZ100-2010	GB16389-1996 GBZ100-2002	外照射放射性骨损伤诊断标准	2010-9	2011-3
7	GBZ101-2011	GBZ101-2002	放射性甲状腺疾病诊断标准	2011-11	2012-5
8	GBZ102-2007	GBZ102-2002	放射复合伤诊断标准	2007-4	2007-12
9	GBZ103-2007	GB16392-1996	放射复合伤诊断标准	2007-4	2007-12
10	GBZ104-2002	GB8280-1987	外照射急性放射病诊断标准	2002-4	2002-6
11	GBZ105-2002	GB8281-1987	外照射慢性放射病诊断标准	2002-4	2002-6
12	GBZ106-2002	GB8282-1987	放射性皮肤疾病诊断标准	2002-4	2002-6
13	GBZ/T156-2013	GB/T18200-2000 GBZ/T156-2002	职业性放射性疾病报告格式及内容	2013-5	2013-10
14	GBZ107-2002	WS116-1999	放射性性腺疾病诊断标准	2002-4	2002-6
15	GBZ108-2002	WS/T197-2001	急性铯中毒诊断标准	2002-4	2002-6
16	GBZ109-2002		放射性膀胱疾病诊断标准	2002-4	2002-6
17	GBZ110-2002		急性放射性肺炎诊断标准	2002-4	2002-6
18	GBZ111-2002		放射性直肠炎诊断标准	2002-4	2002-6
19	GBZ112-2002		职业性放射性疾病诊断总则	2002-4	2002-6
20	GBZ162-2004		放射性口腔炎诊断及处理原则	2004-5	2004-12
21	GBZ/T164-2004		核电厂操作员的健康标准和医学监督规范	2004-5	2004-12
22	GBZ/T163-2004		外照射急性放射病远期医学随访原则及要求	2004-5	2004-12
23	GBZ190-2007		放射性食管疾病诊断标准	2007-4	2007-12
24	GBZ/T191-2007		放射性疾病诊断名词术语	2007-4	2007-12
25	GBZ169-2006		职业性放射性疾病诊断程序及要求	2006-3	2006-10
26	GBZ/T170-2006		核事故场外医学应急计划与准备	2006-3	2006-10
27	GBZ/T171-2006		核事故场内医学应急计划与准备	2006-3	2006-10
28	GBZ/T172-2006		牙釉质电子顺磁共振剂量重建方法	2006-3	2006-10
29	GBZ113-2006		核与放射事故干预及医学处理原则	2006-11	2007-4
30	GBZ/T217-2009		外照射急性放射病护理规范	2009-3	2009-12
31	GBZ214-2009		放射性神经系统疾病诊断标准	2009-3	2009-12
32	GBZ215-2009	GB18196-2000	过量受照人员的医学检查及处理原则	2009-3	2009-12
33	GBZ/T234-2010		核事故场内医学应急响应程序	2010-9	2011-3
34	GBZ/T216-2009	WS/T186-1999	人体体表放射性核素污染去污处理规范	2009-3	2009-12
35	GBZ219-2009		放射性皮肤癌诊断标准	2009-7	2010-2
36	GBZ235-2011		放射工作人员健康监护技术规范	2011-1	2011-8
37	GBZ241-2012		放射性心脏病诊断标准	2012-3	2012-8
38	GBZ242-2013		放射性肝病诊断标准	2013-3	2013-7
39	GBZ/244-2013		β射线所致皮肤损伤的剂量估算规范	2013-3	2013-7
40	GBZ/T243-2013		单细胞凝胶电泳用于受照人员剂量估算技术规范	2013-3	2013-7

表 2 已发布实施的国家和行业放射性疾病诊断标准目录

序号	标准号	原标准号	标准名称	发布时间	实施时间
1	GB/T16148-2009	GB/T16148-1995	放射性核素摄入量及内照射剂量估算规范	2009-10	2009-12
2	GB/T16149-2012	GB/T16149-1995	外照射慢性放射病剂量估算规范	2012-6	2012-8
3	GB/T18199-2000		外照射事故受照人员的医学处理和医疗方案	2000-9	2001-3
4	GB/T18197-2000		放射性核素内污染人员处理规范	2000-9	2001-3
5	GB/T18021-2000		放射性疾病名单	2000-9	2001-3
6	GB/T18198-2000		矿工氡子体个人累计暴露量估算规范	2000-9	2001-3
7	GB/T28236-2011	GB/T12715-1991	染色体畸变估算受照剂量的方法规范	2011-12	2012-5
8	GB/T117-1999		X、γ、β射线和电子束所致眼晶体剂量估算规范	1999-1-21	1999-7-1
9	WS/T188-1999		X、γ、β射线和中子所致皮肤损伤的剂量估算规范	1999-12-9	2000-5-1
10	WS/T187-1999		淋巴细胞微核估算受照剂量的方法	1999-12-9	2000-5-1
11	WS/T204-2001		用稳定性染色体畸变估算职业受照者剂量方法	2001-7-25	2002-1-1
12	WS/t378-2013		造血刺激因子在外照射急性放射病治疗中的应用指南	2013-3	2013-7

表 3 2012 年审查通过的放射性疾病诊断标准目录

序号	标准名称	制修订	起草单位	审查时间	审查结果
1	矿工氡子体个人累积暴露量估算规范	修订	中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所	2012-7-21	报推荐性职业卫生标准
2	放射性二重癌诊断标准	制定	北医大第三医院	2012-7-21	报卫生行业标准
3	放射性内污染人员尿总α和总β放射性测定方法	制定	中国医学科学院放射医学研究所	2012-7-21	报职业卫生标准
4	急性放射病造血干细胞移植技术规范	制定	医科院附属307医院	2012-7-21	报职业卫生标准
5	急性铯中毒诊断标准	修订	辽宁省职业病防治院	2012-7-21	返起草人修改
6	放射性肾损伤诊断标准	制定	天津石油总医院	2012-7-21	报职业卫生标准
7	放射性皮肤疾病诊断标准	修订	医科院附属307医院	2012-7-21	报职业卫生标准
8	放射性疾病名单	修订	核工业总公司	2012-7-21	报职业卫生标准
9	放射工作人员的健康标准	修订	中国医学科学院放射医学研究所	2012-7-21	报职业卫生标准

表 4 2013 年审查通过的放射性疾病诊断标准目录

序号	标准名称	制修订	起草单位	审查时间	审查结果
1	放射性肿瘤病因概率计算机计算方法	制定	中国医学科学院放射医学研究所	2013-6-25	修改后以附件上报
2	核和辐射突发事件心理救助导则	制定	军科院放射医学研究所	2013-6-25	报职业卫生标准
3	放射性白内障的诊断	修订	北医大第三医院	2013-6-25	报职业卫生标准
4	职业性放射性疾病诊断程序和要求	修订	四川省疾病预防控制中心	2013-6-25	报职业卫生标准
5	核和辐射事故伤员分类标准和方法		中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所	2013-6-25	报职业卫生标准

《单细胞凝胶电泳用于受照人员剂量估算技术规范》解读

中国医学科学院放射医学研究所 刘强

国内外学者为解决辐射事故应急及辐射防护中所遇到的各种医学问题做了大量研究工作,建立了成熟的估算受照剂量的生物剂量学方法,如染色体畸变法、微核测定法等。多年实践证明,淋巴细胞染色体畸变分析是一种可靠的生物剂量计。但淋巴细胞染色体畸变分析毕竟受一定条件的制约,而单细胞凝胶电泳方法(SCGE)因其具有简便、低耗、灵敏度高、快速和适应高通量分析等优点,引起学者们的普遍重视。《单细胞凝胶电泳用于受照人员剂量估算技术规范》于2013年发布,先介绍如下。

背景和基础

在SCGE方法刚刚建立时就被证实了其检测指标具有剂量-效应关系。后来,随着研

究不断深入,在中国仓鼠卵巢细胞、肿瘤细胞和生殖细胞中均发现显著的剂量效应关系。SCGE法观察淋巴细胞DNA损伤的影响因素较多,包括吸烟习惯、感染、空气污染及饮食习惯等,但是这些因素引起的DNA损伤绝大多数是以DNA碱基损伤和丢失以及DNA单链断裂的形式出现,而双链断裂相对较少见,说明DNA双链断裂较单链断裂更具有辐射损伤特异性。DNA双链损伤的错配修复是构成不同品质电离辐射诱发的以稳定性畸变为特征的关键因素。

在染色体畸变、微核试验与SCGE的对比研究中,对于放射性工作人员DNA损伤的评价,SCGE的结果与前两者的结果基本一致,而SCGE的敏感性更高,速度更快。而且SCGE技

术能够检测辐照后远期残存的微量DNA损伤,说明此技术具有较高的灵敏度,用来评价受照人员的DNA损伤将大有潜力。

在该标准中采用中性SCGE技术,检测0~5Gy¹³⁷Cs γ 射线照射后的淋巴细胞DNA双链断裂,随照射剂量增大,受损细胞增加,损伤程度加重,呈现明显剂量效应关系。综合考虑所得曲线的形态、方程的简易程度和拟合优度判定系数R²筛选符合要求的曲线方程。最佳方程在TL符合Y=a+bD模型,而TM和OTM得到的方程符合Y=a+bD+cD²模型。在所有指标中,彗星OTM综合了彗星荧光强度和头尾部长度,在所有分析指标中是最科学可靠的,说明这个指标在实验选择的剂量范围内,最能灵敏、准确地反应辐射后的DNA损伤

程度。另外,为了进一步提高剂量效应曲线在核事故临床应急中的实用性,该标准研制过程中,在观察了动物淋巴细胞DNA体内修复规律的基础上,观察了人血照射后的晚期修复过程,拟合了修复曲线,与剂量效应曲线结合应用。

内容解读

该标准适用于低LET射线比较均匀的全身急性外照射受照人员的早期DNA损伤定量分析,不适用于高LET和慢性职业受照人群,非均匀照射和内照射受照人群,早先事故受照者的剂量估算和事故性受照者远期生物剂量估算和远期随访。

在建立剂量-效应曲线时,先进行淋巴细胞分离,并把细胞预先包埋在凝胶中,铺胶采用双层铺胶法,第一层为正常熔点凝

胶,第二层为低熔点凝胶与细胞悬液的混合物,低熔点凝胶要预先煮沸并置于37℃水浴内备用。照射时把包埋有淋巴细胞的凝胶置于冰上照射,照后立即把凝胶置于裂解液进行裂解,以尽量防止细胞DNA的修复。

在建立时间-效应曲线时,检测目的是不同时间点DNA的残留损伤,所以要全血照射并控制照射时温度在37±0.5℃,以尽量不影响细胞的DNA修复。照后把细胞置于37±0.5℃环境进行体外培养,培养到相应时间点后取出进行裂解。

通过对《单细胞凝胶电泳用于受照人员剂量估算技术规范》的解读和介绍,希望对放射生物学相关人员正确认识和理解这一标准,并在辐射损伤应急响应中正确贯彻执行中发挥指导作用。

《β射线所致皮肤剂量估算规范》解读

中国医学科学院放射医学研究所 张良安

1 目的和背景

本标准主要用于β表面污染所致皮肤剂量的估算,对指导皮肤辐射损伤的诊断和β射线皮肤污染的去污处理具有指导意义,制定β射线所致皮肤剂量估算规范十分必要。

在标准的起草过程中主要参考了国际原子能机构、国际辐射防护委员会和国际辐射单位与测量委员会等机构的相关标准和建议。

2 基础和依据

2011年国际原子能机构在其基本标准中明确指出,需要采取一切可能的手段防止非贯穿性外部辐射照射皮肤污染产生的剂量。

在利用β射线污染监测值估算皮肤剂量中,应考虑以下的问题:

(1)应考虑皮肤的剂量限值为500mSv/a,这个值应是对1cm²面积的平均值,测量的名义深度为0.07mm。(2)日常监测应是对100cm²污染面积的平均值进行检测。在大多数皮肤污染检测中,只需判断其是否符合(污染)剂量限值。在不超过剂量限值时,一般无需估算皮肤剂量,但是,持续污染或污染开始就很高时就应估算皮肤剂量。此时应估算1cm²面积皮肤污染的平均值。这类估算通常是不准确的,可以认为是定性的,应与一般的外照

射分别考虑。但在进行当量剂量估算时,如果当量剂量超过污染剂量限值的1/10,则应在个人剂量档案中记录。(3)当出现“热粒子”照射时,在离放射源1mm内的照射也是很均匀的。当判断是否满足剂量限值为主要目标时,ICRP指出此时应关注急性溃疡,为防止

急性溃疡的发生,要求在几个小时内传递给1cm²面积的皮肤下,深度为10~15mg/cm²处的剂量应低于1Sv。

4 关键技术说明

在本标准中使用的转换系数,均来自国际辐射防护委员会74号出版物。该出版物在计

算皮肤剂量和有效剂量转换系数时采用的是美国核医学会医学内照射剂量委员会男性和女性模体。在计算皮肤剂量时,使用的皮肤模型是:第一层是表层,厚0.07mm,这代表辐射非灵敏层;第二层是灵敏层,厚1.93mm;第三层是组织层,厚20mm。这样在皮肤剂量计

算中,计算的是灵敏层(第二层)的剂量,在计算皮肤剂量、眼晶体剂量和定向剂量当量时,应考虑这一情况。在定向剂量当量计算中一般使用板模,这种模体由组织等效材料组成,按国际辐射单位与测量委员会的建议,这种模体有三个厚度,分别是0.07、3和10mm。

电子能量在10MeV以下时,有效剂量和皮肤剂量都随电子能量的增加而增加。电子能量在1MeV以下时,有效剂量十分小,而且皮肤剂量是有效剂量的主要贡献者(75%以上)。实际在电子能量低于1MeV的情况下,没有必要估算有效剂量,仅需估算皮肤剂量就可以了。

当电子能量低于10MeV时,一般没有必要考虑H'(10,0°)和H'(3,0°);当电子能量大于10MeV时,H'(10,0°)、H'(3,0°)和H'(0.07,0°)3个值十分相近,因此,可直接用H'(0.07,0°)评价H'(10,0°)和H'(3,0°)。

在电子能量低于100keV时,估算皮肤剂量也没有必要。

从以上的讨论可以看出,当电子能量低于1MeV时,没有必要估算有效剂量;当电子能量低于100keV时,皮肤剂量也不必估算。本标准在附录A中列出了是否需要估算β皮肤剂量估算的不同放射性核素。

3 内容解读

3.1 β射线所致皮肤剂量估算的基本方法

在本标准中,推荐采用β注量进行皮肤剂量估算这一基本方法,即: $D_s = C_{so} \cdot \theta$ (1)
式中: D_s : β射线所致皮肤剂量,单位为皮戈(pGy);
 C_{so} : β射线注量到皮肤剂量的转换系数,单位为皮戈平方厘米(pGy·cm²),其值可从标准附录B中的表B.1查到; θ : β射线注量,单位为cm⁻²。

在本标准中,还推荐了采用β注量进行有效剂量估算的方法,即: $E = C_{eo} \cdot \theta$ (2)
式中: C_{eo} : β射线注量到有效剂量的转换系数,单位为pSv·cm²,其值可从附录B(资料性附录)中的表B.2查到; θ : β射线注量,单位为cm⁻²。

从以上的讨论可以看出,不论是估算皮肤剂量,还是估算有效剂量,关键是如何得到β射线的注量。

3.2 β射线的注量的确定

在β射线的皮肤剂量估算中,通常有3种方法确定注量,即已知β源活度确定注量、用表面污染仪测量结果确定注量和用

定向剂量当量的测量结果确定注量。

3.2.1 已知β源活度确定注量的方法
若已知一个放射源的放射性活度A,当源的自吸收可以忽略,而且4π方向的发射是各向同性的,则污染平面的注量可用公式(3)计算:

$$\theta = \frac{0.5 \times A \times t}{S} \quad (3)$$

式中: θ : 注量,单位为cm⁻²; A: 敷贴治疗源的放射性活度,单位为Bq; t: 累积照射时间,单位为s; S: 污染面积或敷贴治疗面积,单位为cm²; 0.5: 考虑仅2π方向向皮肤入射。

3.2.2 用表面污染仪测量结果确定注量的方法

这种情况下用公式(4)确定注量: $\theta = 0.5 \times \eta \times A_s \times t$ (4)
式中: A_s : 用β表面污染仪测量的污染表面的平均比活度,单位为Bq/cm²; η : β表面污染仪的探测效率,一般当探测器端面与污染表面的距离很近时,可近似的取 $\eta=1$ 。

用表面污染仪测量时,应采

用Bq/cm²显示模式,可直接测量污染表面的平均比活度。当测量结果是每秒计数时,可用污染探测仪的面积除以测量结果,估算出以Bq/cm²为单位的值。在测量中应注意对探测器的探测效率、探测面积和离污染表面的距离作相关修正。

3.2.3 用定向剂量当量测量结果确定注量

这种情况下用公式(5)确定注量:

$$\theta = C_{H\theta} R(d, \alpha) H(d, 0^\circ) \quad (5)$$

式中: θ : β射线辐射场注量,单位为cm⁻²; $C_{H\theta}$: 定向剂量当量到注量的转换系数,单位为nSv·cm²,其值可从附录C中表C.1查到; $R(d, \alpha)$: 探测器窗的厚度为d(mm),角度为α(°)时的角度依赖因子修正因子,其中d=0.07mm或d=3mm,当α=0°时,R(d,0°)=1; α为其他值时,R(d,α)可从标准的附录C中查出; --(H'd,0°): 探测器窗的厚度为d(mm),垂直入射到探测器灵敏体积测得的定向剂量当量,单位为Sv,其中d=0.07mm或d=3mm,目前d=0.07mm的情况较多。

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日