

## $^{137}\text{Cs}$ 事故受照人员外周血淋巴细胞微核的随访观察

白玉书<sup>1</sup> 曹家珍<sup>2</sup> 黄绮龙<sup>1</sup> 张秀霞<sup>1</sup> 关树荣<sup>1</sup> 柴文<sup>1</sup>  
许绵文<sup>3</sup> 李敬君<sup>3</sup> 王华<sup>2</sup> 段汝萍<sup>4</sup>

<sup>1</sup>卫生部工业卫生实验所 北京 100088 <sup>2</sup>黑龙江省卫生防疫站

<sup>3</sup>哈尔滨医科大学 <sup>4</sup>牡丹江市职业病防治所

**摘要** 本文报道了 39 例在 5 个月内多次受到 $^{137}\text{Cs}$  射线源照射(累积当量剂量为 5 ~ 2105mSv),受照人员外周血淋巴细胞微核的随访观察。结果表明,照后 1 年直接法微核率受照和对照组接近,差异无显著性意义。此时,常规培养法微核率,受照组高于对照组,差异接近显著( $0.1 > P > 0.05$ ),并且微核率与剂量之间存在相关关系。在照后 5 年,采用 CB 法测试微核,结果受照组微核率明显高于对照组,差异有非常显著性意义( $P < 0.01$ )。表明 CB 法提高了微核测试的灵敏度和可靠性。

**关键词**  $^{137}\text{Cs}$ ;事故照射;微核;松胞素 - B;随访观察

## A FELLOW-UP STUDY ON MICRONUCLEI OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE IN PERSONS EXPOSED TO $^{137}\text{Cs}$ RADIATION ACCIDENT

Bai Yushu<sup>1</sup>, Cao Jiazhen<sup>2</sup>, Huang Qilong<sup>1</sup>, Zhang Xiuxia<sup>1</sup>, Guan Shurong<sup>1</sup>, Chai Wen<sup>1</sup>, Xu Mianwen<sup>3</sup>, Li Jingjun<sup>3</sup>, Wang Hua<sup>2</sup>, Duan Ruping<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Industrial Hygiene, Ministry of Health, Beijing 100088

<sup>2</sup>Heilongjiang Province Hygiene and Epidemic Station, <sup>3</sup>Haerbin Medical University

<sup>4</sup>Mudanjiang City Institute of Occupational Disease

**Abstract** This paper reports micronuclei of peripheral blood lymphocyte of 39 cases exposed to

3. Morrissey RE, Mottet NK. Arsenic-induced exencephaly in the mouse and associated lesions occurring during neurulation. *Teratology*, 1983;28:399
4. 李勇,孙棉龄,吴德生.  $\text{As}_2\text{O}_3$  对体外培养胚胎致畸作用的时效关系研究. *新疆医学院学报*, 1995;18(3):166
5. Manson JM, Wise LD. Teratogens. In: Amdur MO, et al. eds. Casare and Doull's Toxicology. The Basic Sciences of Poisons. 4th ed. New York: Pergamon Press, 1991:226 - 256
6. Buckiova D, Jelinek R. Heat shock proteins and teratogenesis. *Reprod Toxicol*, 1995;9(6):501
7. Morimoto RI. Cell in stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science*, 1993,259:1409
8. Mirkes PE, Doggett B, Cornel L. Induction of a heat shock response(HSP72) in rat embryos exposed to selected chemical teratogens. *Teratology*, 1994;49:135
9. 李勇,朱惠刚. 热休克蛋白在应激环境中对胚胎生长发育的影响. *国外医学卫生学分册*, 1997;24(1):20
10. Finnell RH, Ager PL, Englen MD, et al. The heat shock response potential to screen teratogens. *Toxicol Lett*, 1992;60:39
11. 姜泊,张亚历,周殿元. 分子生物学常用实验方法. 第一版. 北京:人民军医出版社,1996;128 - 162

$^{137}\text{Cs}$   $\gamma$ -ray in a period of 5 months. The accumulated equivalent doses were 5 ~ 2105mSv. The results show that micronucleus frequencies in the both groups of exposed and control were very near. The difference was not significant. At that time, micronucleus frequencies using method of routine culture in exposed group were higher than those in the control one, and they had correlated relationship with accumulated doses. At 5th year after irradiation, micronuclei were examined by cytokinesis-block micronucleus method. The results show that the frequencies of micronucleus in exposed group were higher than those in the control. The difference was very significant. It indicated that CB method increased precision and reliability for micronucleus assay.

**Key words:**  $^{137}\text{Cs}$ ; accidental radiation; micronucleus; cytochalasin-B; follow-up

微核测试法在辐射领域内已得到了广泛地应用<sup>(1)</sup>。它具有方法简便和易于掌握并容易做自动分析等优点。已被用作估算受照剂量和评价辐射远后效应的重要指标。本文是 $^{137}\text{Cs}$ 事故受照人员照后1年和5年外周血淋巴细胞微核的随防观察结果。

## 1 人员受照情况

黑龙江省牡丹江市某单位的一个 $^{137}\text{Cs}$ 放射源,源强320GBq,于1985年4月被两名青年盗走,卖给潘某。潘将放射源从铅罐中取出,放在居室地桌上一纸盒内,达5个月之久,造成332人受到不同程度的照射,其中潘某及其妻与其六子患亚急性重度放射病。除该3例住院治疗和单独进行观察外,对受照剂量大于5mSv的39例进行了医学随访观察,并以1:2设配对对照组。于照后1年(1986年8月)和照后5年(1990年9月)进行随访观察。受照组平均累积剂量为390.2(5.5~2104.7)mSv,男21例,女18例,平均年龄23.6 $\pm$ 15.3岁。对照组78例,男38例,女40例,平均年龄23.8 $\pm$ 15.3例。受照剂量由本协作组中的剂量组提供。

## 2 标本的制备和观察

2.1 直接法 取0.4毫升静脉血(肝素抗凝),加0.2毫升0.5%甲基纤维素(预先配制,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存)混匀,在37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中放置20~

30min后,吸出上清液,并将其离心(1000转/分)10min,去上清,用沉降物涂片,苏木素染色。每例计数2000个淋巴细胞。

2.2 常规培养法 用微量全血培养法,培养温度为37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}\text{C}$ ,培养72h,不加秋水仙素,培养终止后直接吸出上层液,往沉降物中加3毫升0.075mol/L KCl,随之加新配的固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)2毫升,混匀后离心(1000转/分)10分钟,去上清,重复固定10min,离心后沉淀物涂片,Giemsa染色。只计数转化的淋巴细胞并记录其微核,转化淋巴细胞标准同前文<sup>(2)</sup>。每例观察2000个转化的淋巴细胞。

2.3 胞质分裂阻断微核法(CB法) 在Fenech等<sup>(3)</sup>方法的基础上,把加松胞素-B(Cyt-B)的时间改为40h,Cyt-B的浓度改为6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,收获时间为68~70h,每例分析1000个双核淋巴细胞。具体分析技术及微核判断标准参阅文献<sup>(4)</sup>。

皆采用盲法阅片,微核细胞率和微核率以千分数(‰)表示,统计分析方法见参考文献<sup>(5)</sup>。

## 3 结果和讨论

照射后1年用直接法检查了39例受照者和78例对照,结果列于表1。由于未发现两个以上微核的细胞,致使微核细胞率和微核率相等。受照组平均微核率和微核阳性率稍

表 1 照后 1 年受照和对照组微核(直接法)的比较  $\bar{x} \pm S_x$

组别	例数	观察细胞数	微核细胞率(%)	微核率(%)	微核阳性率(%)
受照	39	78 000	0.26 ±0.06	0.26 ±0.06	46.2
对照	78	156 000	0.23 ±0.04	0.23 ±0.04	35.9

高于对照组,但差异无显著性意义,属正常范围。对受照组的剂量效应进行相关分析,结果二者之间不存在相关关系( $r = 0.1306, n = 37, P > 0.05$ )。

照后 1 年用常规培养法检查了 36 例受照者和 36 例对照,结果列于表 2。从表 2 可见,

微核细胞率和微核率受照组皆高于对照组, $\chi^2$  检验,差异接近显著( $0.10 > P > 0.05$ ),如果增加分析细胞或有更多的观察例数,可能会出现差异有显著意义的结果。相关分析表明,累积剂量和微核率存在良好的相关关系(见表 3)。

表 2 照后 1 年受照和对照组微核(常规培养法)的比较  $\bar{x} \pm S_x$

组别	例数	观察细胞数	微核细胞率(%)	微核率(%)
受照	36	72 000	0.86 ±0.11	0.92 ±0.11
对照	36	72 000	0.65 ±0.10	0.67 ±0.10

表 3 照后 1 年常规培养法微核率(%)与累积剂量( $mSv$ )的相关分析

指标	例数	相关系数( $r$ )	自由度( $n$ )	$P$
微核细胞率	36	0.3435	34	< 0.05
微核率	36	0.3758	34	< 0.05

由于 CB 微核法的出现<sup>(3)</sup>,在照后 5 年(1990)随访时采用 CB 法,结果列于表 4。从表 4 可见,受照组微核细胞率和微核率,皆高

于对照组,统计分析表明差异有非常显著性意义( $P < 0.01$ )。相关分析表明,微核细胞率和微核率与累积剂量的相关关系已不存在。

表 4 照后 5 年受照和对照组微核(CB 法)的比较  $\bar{x} \pm S_x$

组别	例数	观察细胞数	微核细胞率(%)	微核率(%)
受照	40	39 733	16.56 ±0.64	20.46 ±0.72
对照	59	59 000	13.88 ±0.48	15.66 ±0.51

受照组在照后 1 年,直接法微核率与对照组相当接近,属正常水平。此时,常规培养法微核率受照组高于对照组,差异接近显著,微核率与累积剂量之间存在相关关系。可见培养法灵敏度高于直接法。在我们已往的工作中也证明了这一点<sup>(6)</sup>。其原因主要是培养使占淋巴细胞比例大的 T 细胞转化,使在间期细胞核中已形成的无着丝粒断片及纺锤体受到破坏的单个或成组染色体在细胞分裂时滞

后,不被纳入子核,形成游离于胞浆中的微核,正是这部分微核不经培养转化,是显示不出来的,所以培养法比直接法更灵敏。

由于微核主要来源于细胞分裂时不被纳入子核的无着丝粒断片或染色体,所以微核的形成主要取决于细胞增殖。经 PHA 刺激 T 淋巴细胞最早观察到微核的时间是第 1 次有丝分裂末期,而增殖的淋巴细胞是不同步的群体,在培养的人类淋巴细胞中,在第 2 和第 3

## 环氧乙烷的遗传毒性研究 XIII小鼠肝细胞 DNA 定量分析研究

王金茂<sup>1</sup> 张树人<sup>2</sup> 陆静芬<sup>2</sup> 钟 坤<sup>2</sup> 张 龄<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 浙江医科大学 <sup>2</sup> 上海职工医学院 200237

**摘要** 本研究应用 IBAS 显微数字图象分析系统,对不同剂量环氧乙烷(ethylene oxide, EtO)染毒小鼠的肝细胞核 DNA 含量进行测定的结果显示:染毒小鼠肝细胞核 DNA 的含量均较对照组增高。特别引起注意的是雄性染毒小鼠肝细胞核 DNA 的含量明显高于雌性,其中雄性染毒组与对照组、雄性染毒组与雌性染毒组之间,肝细胞核 DNA 含量的平均值比较,均有显著差异,经 K-S 检验结果  $P < 0.01$ 。据此可以提示:环氧乙烷不但可以引起实验小鼠肝细胞 DNA 的复制,诱发肝细胞抵近恶性变的倾向,而且雄性小鼠肝细胞对 EtO 的敏感性明显高于雌性。

**关键词** 环氧乙烷;肝细胞;DNA 定量分析

## STUDY ON THE GENOTOXICITY OF ETHYLENE OXIDE XIII STUDY OF DNA QUANTITATIVE ANALYSIS IN THE MOUSE HEP- ATOCYTES

Wang Jinmao<sup>1</sup>, Zhang Shuren<sup>2</sup>, Lu Jingfen<sup>2</sup>, Zhong Kun<sup>2</sup>, Zhang Ling<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zhejiang Medical University, <sup>2</sup> Shanghai medical College for Health Staff, Shanghai 200237

次分裂之间微核达到峰值,即培养 72h 左右。由于各实验室间培养条件不同以及受检个体差异等因素,峰值出现的时间也不同,影响结果的可靠性。CB 法是在转化的淋巴细胞在未完成第 1 次有丝分裂前,往培养体系里加 Cyt - B,使胞质分裂受抑而不影响胞核的分裂,涂片上所见的双核淋巴细胞(双核 CB 细胞)就是第 1 次有丝分裂细胞,此法进一步提高了微核测试法的灵敏度和可靠性,作者认为,对辐射损伤远后效应观察时,若以微核作为指标,最好采用 CB 法。

(致谢:物理剂量由黑龙江省卫生防疫站裴玉山教授等提供,牡丹江市职业病防治所杜玉银所长等对本工作给予大力支

持,在此一并致谢。)

### 参考文献

1. Almasy ZS, Krepinsky AB, Bianco A, et al. The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection, A review. *Appl Radiat Isot*, 1987; 38(4):241
2. 白玉书,张秀霞,关树荣. <sup>60</sup>Co 线照射离体人血诱发的淋巴细胞微核与剂量的关系. *遗传*, 1982;4(3):7
3. Fenech M, Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res*, 1985;147:29
4. 蒋本荣,张忠银. 人淋巴细胞浆分裂阻滞微核法的探讨. *军事医学科学院院刊*, 1990;14:132
5. 白玉书. 淋巴细胞微核估算受照剂量方法的标准化问题. *中华放射医学与防护杂志*, 1991;11(2):133
6. 白玉书,张秀霞,关树荣. 培养法与直接法外周血淋巴细胞微核率的比较研究. *遗传*, 1990;12(4):34