

^{188}Re 诱发人离体外周血淋巴细胞染色体畸变的初步研究

董 墨 李惠源 吴元芳

(中国科学院上海原子核研究所 上海 201800)

邵松生 林雅萍 邹美君 刘红珍

(上海市放射医学研究所 上海 200032)

摘要 将人离体外周血在不同剂量的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 中培养 54h, 观察淋巴细胞有丝分裂中期的染色体型和单体型畸变, 这两种类型的畸变均有随 ^{188}Re 活度的增高而增加的趋势, 并与活度存在一定的依赖关系, 染色体畸变以二次多项式的模式为佳。单体型畸变、畸变细胞、染色体断片也可配以直线回归。

关键词 $^{188}\text{ReO}_4^-$, 外周血, 染色体畸变

中图分类号 R818

近年来, 随着各国放射性药物研究的发展, 铼放射性核素被广泛应用于肿瘤的治疗和癌症转移性骨疼痛的缓解。 ^{188}Re 放射性核素因其优良的核性质更是受到核医学界的重视。 ^{188}Re 标记物有可能成为一种新型的放射性药物用于肿瘤治疗。本工作比较了不同活度的 ^{188}Re 诱发人离体外周血淋巴细胞染色体畸变的影响并和其他有关射线进行对照, 观察其不同之处, 将有利于 ^{188}Re 放射性药物的临床应用。

1 材料和方法

1.1 实验仪器与试剂

$\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ 淋洗液, 由上海科兴药业公司提供; “1640” 培养基, 日本制药株式会社制造, 日本; 植物凝聚素 (PHA), 上海放射医学研究所自制; 小牛血清, 中国科学院细胞研究所生产; 显微镜, 日本 OLYMPUS。

1.2 实验方法

1.2.1 含不同放射性活度的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 溶液配制 培养液采用“1640” 培养基加入 20% 小牛血清和适量 PHA、青链霉素配成培养液。上述培养液中加入 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 制成含有放射性核素的原液, 然后依次用不含核素的培养液对半稀释, 成为含有不同浓度 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的培养液, 每培养瓶内分装 5mL 培养液待用。

取 4 例(男, 女各 2 例) 健康供血者的静脉血, 在上述培养瓶中分别加入 0.3mL 全血, 除对照组共建立 7 个剂量点, 整个操作过程 30min 内完成。经 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 衰变常数换算, 每培养瓶开始培养时所含 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的放射性核素活度分别为 0.137—8.695M Bq。

1.2.2 染色体标本制备和分析 上述培养瓶经 37℃、48h 培养后加入秋水酰胺(最终浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 继续培养 6h 收获细胞, 按常规方法制备染色体标本。按照 Buckton 等对染色体畸变分析标准, 双盲法油镜下检查 $2n = 46 \pm 1$ 的中期分裂相, 观察及记录染色体及染色单体

型畸变,发现异常畸变需经 2 人以上核实为准。每个标本至少分析 100—200 个中期分裂相,随着加入放射性核素量的减少相应增加分析细胞数,以减少低剂量照射时因细胞数分析不足而引起的误差。在计算中因三着丝粒染色体是四次击中产生,故折算成双着丝粒体。根据细胞在第一次分裂周期中着丝粒体及着丝粒环均相应伴有无着丝粒断片,凡畸变细胞中有上述畸变又有断片时均扣除相应的断片数,剩余的断片才记录无着丝粒断片。

所有实验资料用最小二乘法进行加权回归分析,根据数据分别配以剂量-效应曲线。

2 实验结果

正常人外周血淋巴细胞经不同放射性活度的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 照射后产生的各类畸变见表 1。经 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 照射后染色体的不稳定性和稳定性畸变均随放射性活度的增加而明显增高,染色单体缺失同样也呈增加趋势,其中环状染色体和互换因为发生率较小,未作畸变与放射性活度量之间关系的分析,其它均配以不同数学模式。畸变细胞、断片和双着丝粒体加着丝粒环均配以二次多项模式为佳。结果列表 2。

表 1 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 照射离体血所诱发的染色体畸变结果(百分率±泊松标准误)

Table 1 Results of chromosome aberration in human peripheral induced by $^{188}\text{ReO}_4^-$ (percent±SE)

$^{188}\text{ReO}_4^-$ /MBq	分析细胞数 Analysis of cells	染色体畸变 Chromosome aberration					染色单体畸变 Chromatin aberration		畸变细胞 Aberration of cells/ %
		双着丝粒 Dicentric	无着丝粒环 Acentric ring	着丝粒环 Centric ring	断片 Fragment	互换 Interchange	单体缺失 Chromatin deletion	单体互换 Chromatin exchange	
对照 Control	1100	0.00	0.00	0.00	4 0.36± 0.002	0.00	2 0.18± 0.001	0.00	5 0.45± 0.067
0.137	2495	5 0.20± 0.001	0.00	0.00	23 0.92± 0.002	0.00	22 0.88± 0.002	0.00	46 1.84± 0.003
0.274	2282	3 0.13± 0.001	0.00	0.00	30 1.31± 0.002	0.00	27 1.18± 0.002	0.00	48 2.10± 0.003
0.544	2467	7 0.28± 0.001	0.00	0.00	49 1.99± 0.003	1 0.04±	29 1.17±	0.00	76 3.08±
1.088	1849	18 0.99± 0.002	0.00	0.00	64 3.46± 0.004	3 0.16± 0.001	55 2.97± 0.004	0.00	105 5.68± 0.005
2.176	1344	21 1.56± 0.003	2 0.15± 0.001	1 0.07± 0.001	84 6.25± 0.007	7 0.52± 0.002	51 3.79± 0.005	0.00	133 9.90± 0.005
4.348	1455	103 7.08± 0.007	14 0.96± 0.003	1 0.07± 0.001	297 20.41± 0.007	14 0.96± 0.003	127 8.73± 0.017	3 0.21± 0.001	354 24.33± 0.011
8.695	730	151 20.68± 0.017	19 2.60± 0.006	2 0.27± 0.002	459 62.88± 0.007	36 4.93± 0.008	152 20.82± 0.46	7 0.96± 0.004	410 56.16± 0.018

表 2 不同放射性活度 ¹⁸⁸ReO₄ 离体照射后产生的各种类型畸变配以不同数学模型的结果
 Table 2 Results of fitting mathematical model for various aberrations in peripheral
 by radiation with different activities of ¹⁸⁸ReO₄

畸变类型 Types of aberration	配以模式 Fitting numeral model	结果 Results	统计意义 Statistic meaning
畸变细胞 Aberration cell	Y= a+ bD+ cD ² Y= a+ bD	Y= 1. 17+ 0. 77× 10 ² D+ 7. 75× 10 ² D ² Y= - 0. 66+ 2. 34× 10 ² D	F 值 Value of F 35. 01> F _{0. 01(2, 5)} r= 0. 9950
双着丝粒体+ 着丝粒环 Dicentric+ centric ring	Y= a+ bD+ cD ²	Y= 0. 14+ 8. 82D+ 3. 61× 10 ² D ²	F 值 Value of F 189. 42> F _{0. 01(2, 5)}
断片 Fragment	Y= a+ bD+ cD ² Y= a+ bD	Y= 0. 58+ 0. 67× 10 ² D+ 8. 32× 10 ² D ² Y= - 2. 86+ 2. 58× 10 ² D	F 值 Value of F 356. 83> F _{0. 01(2, 5)} r= 0. 98
染色单体畸变 Chromatin aberration	Y= a+ bD	Y= - 0. 066+ 88. 78D	r= 0. 9920

3 讨论

3.1 铼- 188 放射药物的临床特点及剂量估算

¹⁸⁸Re 放射性核素半衰期为 16. 9h, 其β 粒子最大能量为 2. 12MeV, 在组织中的平均射程 4mm, 而且 ¹⁸⁸Re 还含有约 15% 的 155keV 适合于 SPECT 显像的γ 射线, 便于对病变组织进行定位和大小的观察而不会增加机体的放射性剂量。¹⁸⁸Re 放射性药物主要积聚在肿瘤组织通过β 射线对病变组织照射达到治疗目的。Juweid^[1] 利用 ¹⁸⁸Re- MN- 14IgG 治疗 11 例胃肠道肿瘤患者, 对其药代动力学、放射性剂量和其毒性进行了研究, 注射 740—2886MBq 放射性活度的 ¹⁸⁸Re- MN- 14IgG 后, 其分布在肝、脾和肾相对积聚较多, 血液中的生物半衰期平均(8. 2±4. 1) h, 根据尿液的测定全身半衰期为(98. 0 ± 37. 8) h。全身的放射性吸收剂量为(0. 135±0. 014) mGy/MBq, 红骨髓剂量为(0. 973±0. 27) mGy/MBq, 仅在中毒剂量时才出现红骨髓受抑制的现象, 其分次耐受剂量可达 2. 22GBq。Palmedo^[2] 用 ¹⁸⁸Re- HEDP 治疗 22 例癌肿转移性骨疼痛, 其有效率达 75%, 使用的治疗剂量为 1295—4440MBq, 最大耐受剂量为 3. 33GBq, 而临床上仅见白血球和血小板减少。Oh^[3] 给病人注射 ¹⁸⁸Re- DTPA 370MBq, 18h 后进行全身扫描, 估算受照射剂量除甲状腺和肾脏较大分别为 0. 753 和 0. 685mGy/MBq, 而全身剂量仅为 0. 0208mGy/MBq。综上所述说明, ¹⁸⁸Re 是一种安全而有效的放射性核素, 以其广泛的应用前途和优良的核性质而受到重视, 而 ¹⁸⁸ReO₄ 离体照射诱发染色体畸变及其剂量- 效应曲线有其自己特点, 因而有必要对 ¹⁸⁸Re 产生的生物遗传效应进行研究。

3.2 ¹⁸⁸ReO₄ 离体照射诱发染色体畸变及其剂量- 效应曲线特点

¹⁸⁸Re 放射性核素无论整体或离体照射对染色体畸变的影响目前均未见相关的报道。其诱发的染色体畸变和剂量- 效应曲线与其它射线相比有如下特点:

(1) 从表 1 可见, 除染色体型畸变外, 染色体单体缺失和染色单体互换也明显随剂量的增加而增多, 此和低 LET 的 X 或γ 射线的离体照射不同, 后者主要受照的淋巴细胞处于 G₀ 期。由于 ¹⁸⁸ReO₄ 在整个期间形成一个持续的放射源, 受照的不仅是 G₀ 期淋巴细胞, 在淋巴细胞经 PHA 刺激后分裂细胞处于 S 期或 G₂ 期受到照射时有可能诱发染色单体畸变。此外, 化学

因素也可能是原因之一。

(2)和一般低 LET 的 X 或 γ 射线及 14MeV 中子相同, 其二次击中产物双着丝粒体加着丝粒环配以二次多项式的模式为佳, 不同的是其一次击中产物也以二次多项式模式为佳。虽然其畸变细胞、染色体断片和染色体缺失也可配以直线回归 $Y = a + bD$ 模式(相关系数 r 值 = 0.99, t 值 > $t_{(6)}0.001$, $p < 0.001$), 但其 a 值均为负值, 对其剂量的贡献主要为 b 值。

(3)不同的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 放射性活度中, 其一次击中产物染色体断片产额和着丝粒体产额相比要明显增加, 其范围在 3—5 倍左右。此可能与 ^{188}Re 放射性核素的核性质有关, 85% 的 β 粒子最大能量为 2.12MeV, 而其 15% 的 γ 射线能量也仅为 155keV, 远低于 ^{60}Co γ 射线、直线加速器产生的 8MeV X 射线和 14MeV 中子^[4]。与 14MeV 中子相比因其能量高所诱发的畸变大部分是一个电离粒子就能完成二次击中产物, 所以在低剂量 1.2Gy 时就能产生明显的双着丝粒体。

(4)染色体的双着丝粒体畸变需要二次损伤才能形成。 λ 值(b/c)为由一个电离径迹和二个独立的电离径迹造成的双着丝粒体相等时所需要的剂量。 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 离体照射后产生的 b 和 c 值分别为 8.82 和 361, 其 λ 值近似 3% 左右, 远低于 14MeV 中子和直线加速器所产生 8MeV X 射线^[5], 说明 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 离体照射时所产生的双着丝粒体, 因受能量影响主要是二个独立的电离径迹造成, 而后者是一个电离径迹形成二次损伤为主。

3.3 染色体畸变可望用来估算 ^{188}Re 临床应用的剂量

在用射线进行治疗的临床实践中, 照射剂量的确定十分重要。只有比较精确地控制照射剂量, 才可能达到比较好的治疗效果。用物理剂量法估算是一种方法, 但对 β 射线的剂量测算易引起较大的误差, 放射生物剂量法能在较大范围内测定剂量, 且精确度较高。染色体畸变是经常用来表示电离辐射或其它诱变因子对哺乳动物的影响, 其方法较经典, 在辐射剂量和染色体畸变相互关系研究中, 染色体畸变与辐射剂量之间可以得到剂量效应回归方程, 从染色体畸变率中可求出相应的辐射剂量, 控制适当的辐射剂量, 可使放射性药物的使用更安全和有效。

参 考 文 献

- 1 Juweid M, Sharkey R M, Swayne L C, *et al.* J Nucl Med, 1998, 39(1): 34—42
- 2 Palmeco H, Guhlke S, Bender H, *et al.* J Nucl Med, 1999, 40 Suppl: 218p
- 3 Oh S J, Moon D H, Park S W, *et al.* J Nucl Med, 1999, 40 Suppl: 41p
- 4 冯嘉林, 邵松生, 邹美君, 等. 核技术, 1979, (4): 81—82
FENG Jialin, SHAO Songsheng, ZOU Meijun, *et al.* Nucl Tech, 1979, (4): 81—82
- 5 冯嘉林, 邵松生, 林雅萍, 等. 辐射防护, 1985, 5(3): 212—215
FENG Jialin, SHAO Songsheng, Lin Yaping, *et al.* Radiat Prot, 1985, 5(3): 212—215

Study on chromosome aberration in human peripheral blood lymphocytes induced by $^{188}\text{ReO}_4^-$ in vitro

DONG Mo LI Huiyuan WU Yuanfang

(Shanghai Institute of Nuclear Research, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

SHAO Songsheng LIN Yaping ZOU Meijun LIU Hongzhen

(Institute of Radiation Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

Abstract

Human peripheral blood exposed to $^{188}\text{ReO}_4^-$ at various doses for 54h was examined to observe the chromosome and chromatin aberrations at metaphases during mitosis of lymphocytes. The findings indicate that there was a tendency of increased aberration in both types with increasing $^{188}\text{ReO}_4^-$ concentration and a dose dependency can be seen. The aberration yield is best fitted by the quadratic model. Chromatin aberrations, aberrations cell and chromosome fragments are also fitted by a linear-regression model.

Key words $^{188}\text{ReO}_4^-$, Peripheral blood, Chromosome aberration

CLC R818