

人員生物劑量評估研究

Evaluation of Human Biodosimetry

主管單位：行政院原子能委員會

李若燦¹ 張志賢² 張翠容² 葉冠毅² 趙晟富² 林彬²

Lee, Ruoh Tsann¹ Chang, Chih-Hsien² Chang, Tsui-Jung²

Yeh, Kuan-Yi² Chao, Cheng-Fu² Lin, Bin²

¹行政院原子能委員會輻射防護處

²行政院原子能委員會核能研究所

摘要

目的：在臺灣約有 44,000 位輻射工作人員，包含在核能電廠、工業及醫院等領域。為因應輻射意外曝露事件之發生，我國有必要建置一個生物劑量實驗室。當人員受到輻射意外曝露時，可利用染色體雙中節分析做為曝露劑量評估，並做為後續醫療照護的參考依據。

方法：人員生物劑量的黃金標準是利用自動數位顯微照像技術去擷取人體染色體雙中節。本計畫以 0、0.5、1、2、3、4 和 5 Gy 之鈷-60 加馬射線在室溫下照射正常受試者之血液樣本，再進一步培養血液中淋巴球。將培養後的淋巴球染色體經由顯微鏡照像後，去進行染色體雙中節分析。

結果：經由染色體雙中節分析結果，建立鈷-60 加馬射線對雙中節發生頻率與劑量之校正曲線，並建立在 0-5Gy 範圍使用之線性二次方程式($Y = C + \alpha D + \beta D^2$)，阿伐及貝他係數分別為 0.07 和 0.07，與國際實驗室間比對亦確認其結果。

結論：這項研究顯示我們已建立鈷-60 加馬射線的劑量反應校正曲線，此有助於臺灣對輻射意外曝露事件之緊急應變作為。

關鍵詞：生物劑量、染色體雙中節

Abstract

Purposes: There are about 44,000 radiation workers in Taiwan, including in fields of nuclear power plants, industries, hospitals, research institutes and so on. It is necessary to setup a biodosimetry laboratory if radiation exposure accidents occur. Dicentric Chromosome Assay for Dose estimation is considered to be an important first step in the medical treatment of persons exposed to radiation. Many countries around the world have been making great efforts to develop better capabilities for emergency preparedness nuclear accidents.

Methods: Dicentric chromosome assay (DCA) was established by automated digital microscopic imaging as a golden standard for biodosimetry estimation. The blood samples were irradiated with 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 and 5 Gy ⁶⁰Co gamma rays at room temperature. Blood samples collected from a health donor were cultured. DCA was analyzed by microscopic imaging.

Results: The dose-effect calibration curve by ⁶⁰Co gamma rays was established. Our laboratory constructed a dose-effect calibration curve for the yield of dicentrics for ⁶⁰Co gamma rays in the 0 to 5-Gy range, using the maximum likelihood

linear-quadratic model, $Y=C+\alpha D+\beta D^2$. The alpha and beta coefficients were 0.07 and 0.07, respectively. Interlaboratory comparison was also confirmed the results.

Conclusions: This study revealed low LET (^{60}Co gamma rays) dose-effect calibration curve established in our laboratory. It is helpful in preparedness for radiological emergencies in Taiwan.

Keywords: Biodosimetry, Dicentric Chromosome.

壹、前言(計畫緣起)

人員生物劑量評估技術研究

(1)依據 98 年 8 月 21 日原子能委員會第十屆第五次游離輻射安全諮詢會議結論各國生物劑量計評估核心設施，多屬國家級實驗室，建議國內設置地點考量於核能研究所恢復建置應屬適宜。

(2)有鑒於 100 年 3 月 11 日日本福島核災發生時，居民因緊急疏散，現場工作人員大量投入救災，對於當下狀況，未必所有居民及搶救人員皆攜帶物理劑量計，所以為評估人員實際接受之輻射曝露量，可採用生物劑量方式進行評估。

本計畫在積極推動及建立人員生物劑量評估技術研究建立相關技術，並維護已建立技術，以有助於制定相關意外曝露應變作業程序及法規，並發展出具有國際水準的輻射生物劑量實驗室，服務我國工作人員及民眾，未來並期望能夠通過 ISO 認證，加入國際生物劑量支援網路，以提供國際服務；此外並可藉此技術協助建立國內核醫藥物劑量評估能力，提升游離輻射安全管制層次及水準。

貳、研究目的

此計畫源自於台灣為一海島型國家，可用能源有限，需依賴核能發電，目前在北台灣及南臺灣分別有 2 座及 1 座運轉。除此之外在工業、醫院、研究機構等各類領域亦有許多從事輻射相關工作之人員，為增加台灣一般民眾及輻射相關從業人員對於輻射引發健康之不必要疑慮，及當意外事故發生時，國家有一公正具國際水準之檢測單位提供相關訊息供醫療照護行動、保障工作人員及民眾的健康與安全，故進行此國際通用之生物劑量研究計畫。

生物劑量計是針對人體經游離輻射曝露後，人體淋巴球發生染色體變異，再利用劑量與效應的關係，對應出人體在輻射曝露時所接受的劑量。國際目前於生物劑量計相關研究，仍一致認為雙中節分析乃為一快速簡單且符合效益之” GOLD STANDARD” ，此技術扣除人為分析差異後，對於評估意外事件中未佩戴物理劑量計人員之實際曝露量有很高準確性。

一般而言，生物劑量是最趨近於受曝者真實所接受的劑量。生物體內作為生物劑量計最常使用的方法為染色體變異分析，即由分析染色體變異的程度及數量來對應所接受的劑量。染色體變異經過輻射照射後所產生的變異，依照細

胞是否仍有保留分裂的能力，可以分成不穩定變異及穩定變異兩類。染色體變異頻率與劑量的關係有二次線性的關係，人體淋巴球細胞經過鈷-60 照射後分析其雙中節及環形變異頻率，關係呈現線性平方的關係：在劑量低於 1Gy 時，通常以單一次碰撞事件為主；至於劑量高於 1Gy 時，價電子數目增多，使得變異事件快速增加，其速率通常以二次方上升，因此染色體雙中節評估技術為生物劑量計計劃最基本需建立之技術。

核研所自 100 年起承接原能會計畫，重建生物劑量研發能力後。更於 102-105 年接續之前研發能力，短期目標以提升生物劑量實驗室能力為主，中期目標為建立專業生物劑量實驗室硬體為主，長期目標為提升實驗室品質，申請實驗室認證，建立具公信力之專業實驗室。策略上，透過與國內醫學中心合作，獲得人體血樣合法提供，並透過合作關係共同分析數據，比對國內不同實驗室分析能力。另外於核研所建置符合衛生署規範之第二級生物安全實驗室，以進行臨床檢體操作。並積極透過國內認證系統-財團法人全國認證基金會(Taiwan Accreditation Foundation；TAF)申請國內實驗室能力認證。在與國際接軌上，持續與日本及加拿大專業實驗室密切合作，進行分析能力及專業討論，以提升國內分析人員分析能力。藉由生物劑量實驗室軟硬體不斷提升，累積國人分析數據，進而朝亞洲參考實驗室努力。

參、 研究方法與過程

一、 建立與醫院合作管道，取得人類血液樣本。

人員生物劑量評估研究最主要的研究樣品為人類血液樣品，依據衛生署 91 年公告、95 年修正之研究用人體檢體採集與使用注意事項：採集與使用檢體應先提具研究計畫書，並經人體試驗委員會或其他類似之倫理委員會（以下簡稱倫理委員會 IRB）審核同意，始得為之。所以為合法且於當年度順利取得檢體進行相關試驗，本計畫需提早規劃血液樣品取得程序。核能研究所藉由合作與慈濟大學進行血液臨床試驗申請順利取得臨床檢體使用。而 103 年以後血液樣品的取得也應及早規劃，因此

在 102 年度，我們將規劃 103 年以後的 IRB 申請，使得此計畫的主要研究素材源源不斷不致終止，而使得國人生物劑量研究之結果具有其效益。

二、 建立第二等級生物安全實驗室。

根據傳染病防治法、感染性生物材料管理傳染病病人檢體採檢辦法及生物安全管理法，從野外收集之臨床檢體或流行病學樣本(臨床檢體)，均應遵循標準防護方法，並採取隔離防護措施(如手套、防護衣、眼罩)。基礎防護—處理此類檢體時，最低需求是生物安全第二等級之操作及程序。人員生物劑量研究主材料為人體血液臨床檢體，在生物危害歸類中屬於第二級危害(RG2)，其定義為可能導致人類疾病，不太可能在人群中傳播，通常有有效預防或治療措施，操作此類危害生物材料，需在第二級生物安全防護(BSL2/P2)及操作要求下執行。為符合相關操作規定，進行第二等級生物安全實驗室建置，從操作檢體的生物安全櫃、實驗室空調管理至進出人員教育訓練及管理之生物安全委員會均需依規定建置，達到專業實驗室應有的性能及品質。

三、 完成年度生物劑量標準曲線。

生物劑量評估的準確性，首重所建立的生物劑量標準曲線之可信度及精確度。核研所取得血液樣品後，先以水中鈷-60 進行 0、0.25、0.5、1、2、3、4、5 Gy 共八組不同劑量照射。將經過輻射曝露處理的血樣進行淋巴球細胞培養後，製作染色體玻片，存於乾燥箱中陸續以顯微鏡觀測染色體。顯微鏡觀察和紀錄：利用 ZEISS Axio Imager Z2 OEM 顯微鏡系統觀察，經過整理統計後，以 Chromosomal Aberrations Calculation Software (CABAS)專業分析染色體軟體，分析計算出實驗之標準曲線線性關係。將本計畫所分析資料與國際發表曲線進行比對，並加入英國健康保護署所發展之細胞遺傳劑量評估軟體 Dose Estimate 進行分析比對。

四、 符合 ISO 規定之標準操作程序書制定。

生物劑量分析目前仍由人藉由專業訓練後以肉眼分析，此種分析會因專業訓練、經驗及個人主觀判別而有誤差，所以在ISO19238中會提及

每項分析需有500顆數目以上細胞分析來提高分析可信度，而除了以提高分析數目之外，專業的訓練及標準操作程序在此也顯得格外重要。此計畫中，我們建立訓練、考核機制，並將所有過程標準文件化，此除了對於人員訓練有系統外，亦對於人員培育有所助益，將使所有參與分析人員能力一致且也使得作業有所依據，另外對於實驗室未來專業認證都有一定幫助。

五、 人員生物劑量實驗室專業認證實驗室準備。

一間具公信力之專業實驗室，通過國際機構認證是很重要的。而生物劑量實驗室目前在國內乃為前瞻創新實驗室，並無相關認證，因此核能研究所人員生物劑量實驗室身負重任，在今年度將依據國際上所依循的是 ISO 19238:2004(E)輻射防護-服務實驗室以細胞遺傳學檢測技術測量生物劑量之操作準則及 ISO 21243:2008(E)輻射防護-在大規模輻射或核子性緊急狀況下，利用細胞遺傳學檢傷分類法進行評估之實驗室執行準則-一般原則及雙中節分析之應用兩份文件，進一步與國內認證機構如 TAF 財團法人全國認證基金會(Taiwan Accreditation Foundation)或 TSQA 台灣生醫品質保證協會(Taiwan Society of Quality Assurance)溝通、討論，確認人員生物劑量實驗室屬性及其認證資格與準備事宜。

六、 人員生物劑量實驗室國際合作。

國外先進核能應用國家在國家級生物劑量實驗室皆已建立，WHO 更於 2007 年 12 月在瑞士日內瓦舉辦一個諮詢會議商討建立全球的生物劑量支援網路(framework for a global biodosimetry network–BioDoseNet)，此支援網路聚焦在細胞學的生物劑量技術 (cytogenetic biodosimetry)，相關的合作活動以及如何運作此支援網路。雖然我國不在世界衛生組織 (World Health Organization, WHO)會員國內，無法成為 BioDoseNet 認可之參考實驗室 (Reference Lab)，但在策略上，我國可朝向建立參考實驗室認可的實驗室。因此，積極與國際聯繫，加強分析能力比對，邀請國際專家來台進行實際分析結果討論，增加國際交流，將可提升我國在國際生物劑量領域中的可見度。

肆、 主要發現與討論

一、 建立與醫院合作管道，取得人類血液樣本。

本計畫已完成103-105年血液供給臨床試驗向人體試驗倫理委員會(IRB)申請，並獲同意研究計畫使用臨床檢體延長至103年8月8日止。

二、 建立第二等級生物安全實驗室。

人員生物實驗室設置有顯微鏡室、檔案室、一般實驗共用區及操作感染性生物材料的第二級生物安全培養室(BSL-2 實驗室)。人員生物劑量實驗室於一般實驗共用區進行檢體接收，將臨床檢體登錄後移至第二級生物安全培養室生物安全櫃內打開檢體，並依淋巴球細胞培養程序進行相關實驗流程。待培養程序結束後，固定不具生物危害的檢體便可移至共用區化學煙櫃進行染色體玻片製作(噴片)，噴片結束後接著進行染色體染色及封片以完成染色體製作程序。而後進行顯微鏡觀察影像擷取，最後分析影像並將所分析影像歸檔。所以藉由本實驗室建置的完成，人員生物劑量相關試驗即可於本實驗室完成所有操作流程，不須在不同空間進行，將有效率進行相關實驗並符合法規規定。

三、 完成年度生物劑量標準曲線。

輻射劑量與雙中節關係之劑量標準曲線方面，依據 ISO 19238 規定：每個檢體需要至少計算 500 顆細胞。若畸變率非常高，則超過 100 個雙中心節(或雙中心節和著絲點環)後即不必再繼續計算；本年度引進之 Dose Estimate 染色體分析軟體，進行數據分析，計算我們所分析之細胞染色體雙中節，其標準曲線以染色體變異頻率與劑量有二次線性的關係： $Y = c + \alpha D + \beta D^2$ ，Y：染色體變異頻率；D：劑量；r：相關係數是變數之間相關程度的指標， $r = 1$ 時誤差越小，變數之間的線性關係程度越高越密切。102 年度 $c: 0.0009$ ； $\alpha: 0.0703$ ； $\beta: 0.0708$ ； $r: 0.9960$ (表)；

本年度所引進的 Dose Estimate 染色體分析軟體，為英國健康保護署所發展的細胞遺傳劑量評估軟體，目前國際除第一代的 GABAS 軟體外，亦大量使用此軟體分析。此軟體除了可計算染色體變異頻率與劑量有二

次線性的關係： $Y = c + \alpha D + \beta D^2$ 外，亦透過統計方式進行其他數據運算。以我們目前建立的鈷-60 為例，其屬低直線能量轉移(low LET)射源，在生物劑量評估所廣泛使用之細胞-染色體變異分佈之數學方法為卜瓦松分布(poisson distribution)，在受低直線能量轉移射源均勻照射時，各劑量染色體雙中節變異數目在細胞間會呈卜瓦松分布，但在局部或受不均勻照射時則會偏離。所以利用變異除平均值之比(variance/mean ratio)以及 U 值可以確認受到不同輻射劑量淋巴細胞中的染色體變異是否符合卜瓦松分布。當變異除平均值之比趨近於 1 及 U 值為 1.96 的絕對值時，判定檢體是受到輻射均勻照射。102 年度數據的變異除平均值之比為 0.817-1.09，U 值介於-1.97~1.82 之間，判定 102 年度周邊血液樣本同樣是受到輻射均勻照射。

四、 符合 ISO 規定之標準操作程序書制定。

人員生物劑量實驗室正式納入核研所 ISO 9008：2008 品質管理系統，依據文件與紀錄管理品質程序書制定共 12 份程序文件及其他文件 10 份，通過 ISO9001 品質系統稽查。

五、 人員生物劑量實驗室專業認證實驗室準備。

人員生物劑量實驗室參考 ISO 19238:2004(E)輻射防護-服務實驗室以細胞遺傳學檢測技術測量生物劑量之操作準則及 ISO 21243:2008(E)輻射防護-在大規模輻射或核子性緊急狀況下，利用細胞遺傳學檢傷分類法進行評估之實驗室執行準則，進行 SOP 撰寫與人員訓練。並查詢我國實驗室認證系統，目前並無 ISO 19238 及 21243 項目認證，因此實驗室本著 ISO 19238 及 21243 精神為主，申請 ISO 17025 實驗室認證準備，分類屬性為生物類之細胞遺傳實驗室性質，實驗室一般原則及雙中節分析之 SOP 等相關文件，依據 ISO 19238 而制定。另外為符合 ISO 精神，本實驗室的文件管理為其重要之工作項目，本試驗所獲得的每一張影像及其分析結果等資料，皆建檔管理與保存，確實執行品保制度。

六、 人員生物劑量實驗室國際合作。

人員生物劑量實驗室 101 年度案例於今年完成符合 ISO 規範之染色體樣本分析，送至加拿大衛生部 Dr.Wilkin 實驗室進一步與該實驗室及其他國際實驗室之分析結果進行比對，結果顯示我國分析能力座落於日本及美國 ORISE 之間(圖)，具國際水準。Dr.Wilkin 更邀請本實驗室參加明年北美實驗室比對，這對於我國人員生物劑量實驗室實為最直接鼓勵。

本年度實驗室也邀請世界生物劑量網路(BioDoseNet)委員、日本弘前大學教授 Dr. Yoshida 來所進行分析能力訓練。Dr. Yoshida 於 10 月 28 日到台灣，10 月 29 日立即展開相關訓練，於 11 月 1 日結束訓練後離開台灣。Dr. Yoshida 目前除了致力於日本的核安防護及人員生物劑量分析外，也希望能將亞洲甚至全世界的相關研究單位做聯通，讓不同國家的資訊、實驗數據及相關經驗透過聯通網傳達給分析研究機構，所以對於未來雙方實驗室合作抱持高度期望。

伍、 結論

102 年人員生物劑量評估研究依計畫完成預定進度，顯微鏡染色體擷取與分析設備已穩定應用於試驗系統，可由儀器設定參數後進行影像自動擷取，增加影像觀察速度，並完成 102 年度標準曲線。生物安全議題近年已成為職業安全的重要項目之一，自 101 年疾病管制局公佈相關規定之後，建立第二等級生物安全實驗室以進行人員生物劑量分析已成為該技術建立之重要環節，本計畫已完成實驗室建置。目前，本實驗室及計畫已納入核研所品保系統，而建立實驗室標準操作程序書及品質管理系統，為未來實驗室認證做準備。人員生物劑量評估研究目前技術已漸趨成熟，經由穩定分析染色體數目，所累積的數據透過更深入數據分析及討論。另藉由與國際學者討論，將使得專業實驗室更具雛形。

圖 核研所劑量標準曲線與國際人員生物劑量實驗室比對結果

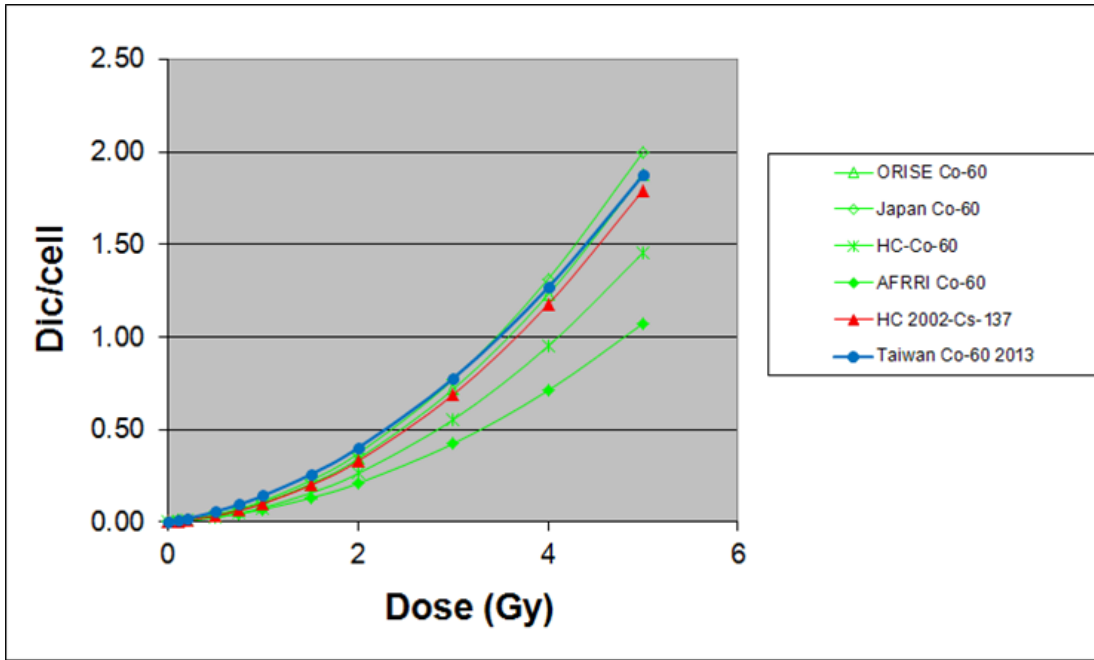


表 102 年染色體雙中節 Dose Estimate 分析結果

Dose (Gy)	NO. of cells scored	NO. of dicentric	Dicentric distribution								variance/mean ratio	U	Yield	
			0	1	2	3	4	5	6	7				
0	1088	1	1087	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.001	0.000919
0.25	696	17	680	15	1	0	0	0	0	0	0	1.09	1.82	0.024425
0.5	635	36	600	34	1	0	0	0	0	0	0	1	0.008	0.056693
1	678	88	596	76	6	0	0	0	0	0	0	1.01	0.149	0.129794
2	357	153	231	103	19	4	0	0	0	0	0	0.979	-0.276	0.428571
3	315	262	136	119	41	16	2	1	0	0	0	1.02	0.236	0.831746
4	233	361	42	79	68	33	9	1	1	0	0	0.817	-1.97	1.549356
5	240	479	26	71	67	40	27	8	1	0	0	0.862	-1.51	1.995833

Results:

ML_Linear-Quadratic_Fit_Yield = $0.0009 (+/- 0.0011) + 0.0708 (+/- 0.0136) * D + 0.0703 (+/- 0.0048) * D^2$
 Weighted Chi Squared = 6.7340, Degrees of Freedom = 5, p value for goodness of fit = 0.2412
 p values for coefficients (z-test): p_A = 0.4207, p_alpha = 0.0035 p_beta = 0.0000

Correlation coefficient, r = 0.9960

