

· 心血管影像学 ·

冠状动脉 CT 成像不同管电压对外周血淋巴细胞 DNA 双链断裂影响的研究

林竹潇, 张龙江, 周长圣, 周帆, 顾海峰, 鲍雪芹, 卢光明

【摘要】 目的:利用流式细胞仪评价冠状动脉 CT 成像(CCTA)不同管电压对外周血淋巴细胞 DNA 双链断裂(DSBs)水平的影响。**方法:**将 120 例行 CCTA 检查的患者随机分为 A、B、C、D 四组,分别接受管电压为 120 kV、100 kV、80 kV、70 kV 的 CCTA 扫描。在 CCTA 检查前及检查后 20 min 分别抽取外周静脉血 2 mL,符合标准的血样经过淋巴细胞分离及抗 γ -H2AX 蛋白和抗 ATM 蛋白抗体孵育后,利用流式细胞仪分析 T 淋巴细胞内 DNA 双链断裂水平。对 CCTA 检查前、后 DNA 双链断裂的改变情况及不同管电压组间 DNA 的损伤情况进行统计学分析。**结果:**四组 CCTA 扫描后 γ -H2AX 和 ATM 的阳性细胞百分比均有不同程度增加($P < 0.05$)。管电压由 120 kV 降低至 80 kV, γ -H2AX 阳性细胞百分比的差值逐渐减小;管电压降低至 70 kV, γ -H2AX 阳性细胞百分比的差值增高;组间比较发现,除 A 组与 C 组($P = 0.007$)、B 组与 C 组之间($P = 0.003$)差异有统计学意义外,其余组间差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05)。随着管电压的降低,四组间 ATM 阳性细胞百分比差值的差异无统计学意义($P = 0.381$)。**结论:**经流式细胞仪检测发现,CCTA 管电压降低至 80kV 能够有效减少 DNA 双链断裂。

【关键词】 冠状动脉 CT 成像; DNA 双链断裂; γ -H2AX; 共济失调毛细血管扩张突变

【中图分类号】 R814.42 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-0313(2018)05-0454-05

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2018.05.003

Impact of different tube voltage of coronary CT angiography on the DNA double strand breaks in human peripheral lymphocytes Lin Zhu-xiao, Zhang Long-jiang, Zhou Chang-sheng, et al. Department of Medical Imaging, Jinling Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210002, China

【Abstract】 Objective: Using flow cytometry, to evaluate the impact of tube voltage of coronary CT angiography (CCTA) on DNA double strand breaks (DSBs) of human lymphocytes in peripheral blood. **Methods:** A total of 120 patients going to undertake CCTA were prospectively enrolled in our study. They were divided into 4 groups according to tube voltages (70kV, 80kV, 100kV, 120kV) at random. Two ml of peripheral venous blood was collected from each patient before and 20m after CCTA. After lymphocyte isolation and incubation with γ -H2AX and ATM anti-body, DNA DSBs of T-lymphocyte were analyzed by flow cytometry. Statistical analysis was performed to study the change of DNA DSBs before and after CCTA as well as the damage of DNA under different tube voltage. **Results:** In these four groups, the number of cells with phosphorylated γ -H2AX and ATM increased in different degree significantly after CCTA ($P < 0.05$). The percentage of γ -H2AX-positive cells decreased according to the decrease of tube voltage from 120kV to 80kV, yet, as the tube voltage decreased to 70kV, the γ -H2AX-positive cells increased. There was statistical significance between group A and C ($P = 0.007$), as well as between group B and C ($P = 0.003$). No significant statistical difference was detected among the other groups (all $P > 0.05$). As the reduce of the tube voltage, no statistic difference was existed in the percentage difference of ATM positive cells in these 4 groups ($P = 0.381$). **Conclusions:** It was found by flow cytometry that DNA DSBs decreased significantly with tube voltage being reduced to 80kV.

作者单位: 210002 南京, 南京军区南京总医院/南京大学医学院附属金陵医院医学影像科

作者简介: 林竹潇(1992-), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生, 主要从事心血管影像研究工作。

通讯作者: 卢光明, E-mail: cjr.luguangming@vip.163.com

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC0113400)

【Key words】 Coronary CT angiography; DNA double strand breaks; γ -H2AX; Ataxia telangiectasia-mutated

冠状动脉 CT 成像 (coronary CT angiography, CCTA) 已成为疑似冠心病患者的首选影像检查方法^[1-3], 但是伴随而来的是人群辐射暴露的增加。目前有多种技术, 如降低管电压和管电流、适当的前置滤过器、ECG 调制电流技术、增加螺距及层面厚度等可用于降低 CCTA 的辐射剂量^[4-7], 其中降低管电压是降低辐射剂量最有效的方法。

辐射剂量的评估常用有效剂量 (effective dose, ED)、CT 容积剂量指数 (volume CT dose index, CT-DIvol)、剂量长度乘积 (dose-length product, DLP) 及水当量体型特异性剂量估算值 (water equivalent size specific dose estimate, water equivalent SSDE) 等指标, 其对人体辐射的评价存在 $\pm 40\%$ 的不确定性, 而生物学指标更能直接地反映辐射风险^[8]。在生物学评价指标中, DNA 双链断裂 (double strand breaks, DSBs) 是反映辐射的生物学损伤最有价值的表现^[9]。DNA 损伤信号反应通路存在多种蛋白, 其中磷酸化的 H2AX (γ -H2AX) 蛋白和共济失调毛细血管扩张突变 (ataxia telangiectasia-mutated, ATM) 蛋白可以作为 DNA 双链断裂的标记物^[10]。目前大部分研究采用免疫荧光显微镜作为检测 γ -H2AX 焦点的方法, 但流式细胞仪分析 DNA 双链断裂的结果更客观、实验周期更短^[11]。本研究旨在利用流式细胞仪评价不同管电压的 CCTA 对 DNA 双链断裂的影响。

材料与方法

1. 研究对象

本研究采用前瞻性设计, 选取 2016 年 4 月—2017 年 7 月间行 CCTA 检查的患者 120 例, 随机分为 A、B、C、D 四组, 分别行管电压为 120 kV、100 kV、80 kV 及 70 kV 的 CCTA 扫描。研究对象纳入标准: 年龄大于 18 周岁、体质指数 $< 25 \text{ kg/m}^2$ 、未患淋巴瘤或白血病、6 个月内未行放射治疗或化疗、1 周内未接受 X 线或核医学检查。因样本保存条件欠佳, 排除 3 例患者后, 最终 117 例患者纳入本组研究。本研究已通过伦理委员会审查许可, 研究对象均签署知情同意书。

2. 检查方法

所有纳入患者的 CT 扫描均采用第二代双源 CT 扫描仪 (Somatom Definition Flash, Siemens Healthineers, Forchheim, Germany)。CT 扫描经定位像确定扫描范围后, 利用 Lrich 双筒高压注射器向患者外周静脉内注射非离子对比剂优维显 60 mL (370 mg I/mL), 注射流率 5 mL/s; 延迟时间应用人工

智能触发扫描系统确定, 将兴趣区投至升主动脉, 当 CT 值达到 100 HU 即可触发扫描。A、B、C、D 四组管电压分别为 120 kV、100 kV、80 kV、70 kV; 其余参数保持一致: 管电流 280 mA, 机架旋转时间 0.28 s; 四组扫描范围相同。

3. 血样处理

每位患者于检查前及检查后 20 min 分别抽取血液 2 mL 装入肝素抗凝管, 并用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 1:1 稀释。将稀释的血液置于外周血淋巴细胞分离液 (MP Biomedicals, Solon, OH) 之上, 在离心机内以 2100 rpm 离心 30 min 后, 用吸管洗出淋巴细胞层, 并用 PBS 清洗 2 遍。将细胞密度调整为 1×10^6 个/mL, 4% 多聚甲醛 4℃ 固定过夜。用 PBS 洗去固定液 (1200 rpm 离心, 5 min) 后, 以 0.1% Triton X-100 冰上处理细胞 5 min, 并再用 PBS 洗涤细胞 2 次 (1200 rpm 离心, 5 min)。最后使用 FITC-CD3 抗体 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)、APC- γ -H2AX 抗体 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) 及 PE-ATM 抗体 (Millipore, Billerica, MD) 孵育重悬细胞, 室温下避光保存 30 min。

4. 流式检测

用流式细胞仪 (FACScanto, BD Bioscience) 对样品进行检测。首先圈出 CD3+T 淋巴细胞群体, 再根据阴性管设置阈值, 并对 APC 及 PE 两种荧光进行补偿调整; 每管样品均计数 104 个 CD3+T 淋巴细胞, 最后分别计算标记了 γ -H2AX 及 ATM 两种蛋白的细胞占 CD3+T 淋巴细胞的百分比。

5. 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不符合正态分布的数据用中位数表示。组间性别比较采用卡方检验, 组间年龄、身高、体重的比较采用单因素方差分析, 组间体质指数及阳性细胞百分比的比较采用非参数秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 人口学特征

A、B、C、D 四组间的年龄、性别、身高、体重及体质指数差异均无统计学意义 (P 值分别为 0.195、0.836、0.998、0.947 及 0.204, 表 1)。

2. 组内比较结果

在不同管电压下, 检查后与检查前相比, A、B、C、D 四组 γ -H2AX 和 ATM 阳性细胞百分比均升高, 四

表 1 A、B、C、D 四组间的人口学特征

指标	A 组 (120 kV)	B 组 (100 kV)	C 组 (80 kV)	D 组 (70 kV)	$\chi^2/F/H$ 值	P 值
性别(例)					0.857	0.836
男	14	16	13	12		
女	15	14	17	16		
年龄(岁)	54.4±9.4	56.4±11.7	60.0±10.8	55.9±9.1	1.593	0.195
身高(cm)	166.0±7.7	165.8±9.0	165.9±6.7	166.2±9.4	0.014	0.998
体重(kg)	65.1±8.3	65.6±8.5	64.3±6.9	65.1±9.2	0.122	0.947
体质指数(kg/m ²)	24.2 (22.5~24.7)	24.1 (23.1~24.7)	23.4 (22.7~23.9)	23.5 (23.0~24.2)	4.591	0.204

表 2 A、B、C、D 四组间 γ -H2AX 及 ATM 阳性细胞百分比及检查前、后差值

指标	A 组 (120 kV)	B 组 (100 kV)	C 组 (80 kV)	D 组 (70 kV)	H 值	P 值
CTDIvol (mGy)	41.0±8.3	27.9±5.2	15.5±3.3	11.1±2.8	—	—
DLP (mGy·cm)	520.1±104.6	329.3±55.2	169.4±34.2	107.0±16.3	—	—
γ -H2AX						
检查前(%)	4.1 (1.2~9.4)	8.4 (4.8~11.9)	11.4 (4.3~18.2)	14.0 (9.9~23.9)	—	—
检查后(%)	6.5 (1.8~13.7)	10.3 (5.8~14.8)	11.9 (4.5~19.0)	16.5 (11.9~27.1)	—	—
差值(%)	2.2 (0.6~6.9)	1.6 (1.1~2.2)	0.8 (0.2~1.7)	1.9 (0.2~4.4)	10.182	0.017
ATM						
检查前(%)	2.5 (0.6~5.3)	6.9 (4.2~9.2)	5.4 (2.2~9.8)	13.0 (8.9~22.1)	—	—
检查后(%)	5.62 (1.1~9.4)	9.1 (6.9~13.3)	8.1 (3.2~12.6)	18.3 (11.2~28.5)	—	—
差值(%)	2.6 (0.5~6.3)	2.2 (1.5~3.6)	2.3 (0.9~3.5)	4.7 (0.3~7.6)	3.071	0.381

组检查后与检查前结果比较差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。经 CCTA 检查后,四组 γ -H2AX 阳性细胞百分比改变值的中位数分别为 2.2%、1.6%、0.8%、1.9%,ATM 阳性细胞百分比改变值的中位数分别为 2.6%、2.2%、2.3%、4.7%(表 2,图 1)。

3. 组间比较结果

随着管电压由 120 kV 降低至 80 kV, γ -H2AX 阳性细胞百分比的差值逐渐下降,进一步降低至 70 kV, γ -H2AX 阳性细胞百分比的差值上升;两两比较结果显示,除 A 组与 C 组($P=0.007$)、B 组与 C 组之间($P=0.003$)差异有统计学意义外,其余组间差异均无统计学意义(P 值均 >0.05),D 组的阳性细胞百分比

的差值与其他三组间差异均无统计学意义。管电压为 70 kV 时,ATM 阳性细胞百分比的差值最大,管电压为 100 kV 时,ATM 阳性细胞百分比的差值最小,四组间阳性细胞百分比的差值的差异无统计学意义($P=0.381$,表 2,图 2)。

讨 论

本研究结果证实 CCTA 管电压降低至 80 kV 能够有效减少 DNA 双链断裂。另外,管电压由 120 kV 降低至 100 kV 后未见 DNA 双链断裂显著减少;同时,70 kV 管电压的应用并没有明显降低 DNA 双链断裂。

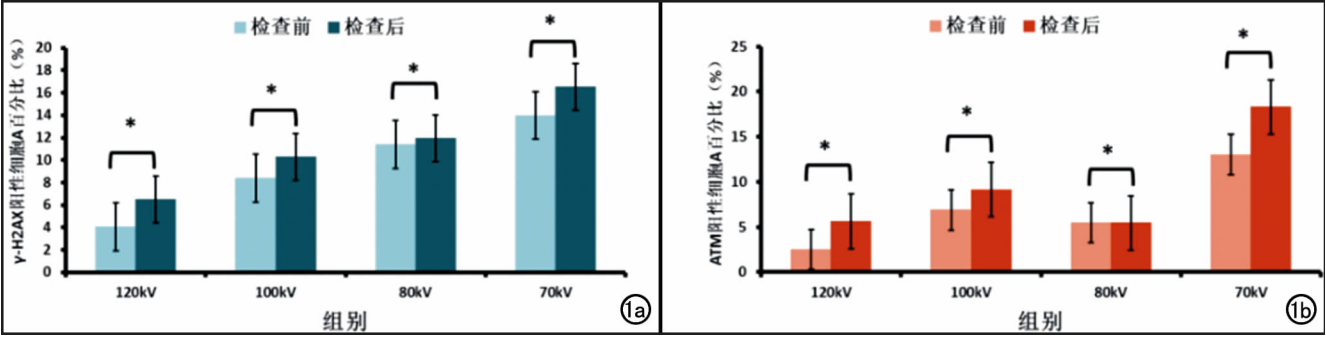


图 1 不同管电压条件下,CCTA 检查后与检查前相比, γ -H2AX 与 ATM 阳性细胞百分比均升高,表示 $P<0.05$ 。a) CCTA 检查前、后 γ -H2AX 阳性细胞百分比;b) CCTA 检查前、后 ATM 阳性细胞百分比。

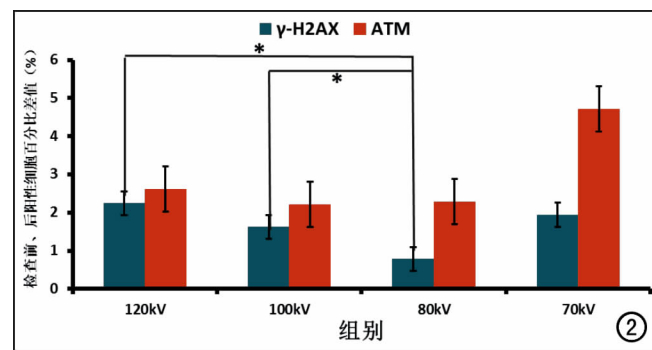


图2 四组间 CCTA 检查后与检查前 γ -H2AX 及 ATM 阳性细胞百分比的差值比较,表示 $P < 0.05$ 。 γ -H2AX 阳性细胞百分比的差值,除 A 组与 C 组($P = 0.007$)、B 组与 C 组间($P = 0.003$)差异有统计学意义外,其余组间差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05)。四组间 ATM 阳性细胞百分比的差值的差异均无统计学意义(P 值均 > 0.05)。

CCTA 检查后 γ -H2AX 水平会升高^[12],有研究表明,即使是非常低的辐射剂量(约 1 mGy),也可以诱导细胞中 DSBs 的发生^[13]。因此在实际检查过程中,通常会采用多种技术降低 CCTA 的辐射剂量;其中,降低管电压是降低辐射剂量的主要方法^[14-16],目前已经实现最低至 70 kV 的 CCTA 扫描^[17-18]。有研究认为,尽管管电压的降低会造成图像噪声的增加,但在同时采取其他措施(如自动曝光控制、重建方法等^[19-21])的条件下,最终没有引起图像质量的明显降低。然而,管电压的降低使射线穿透力下降,被人体吸收的散射线增加。有研究证实,相比于高管电压(140 kV),低管电压(80 kV)引起了 DNA 双链断裂增加^[22]。本研究结果显示,管电压为 80 kV 时,发生 DNA 双链断裂的细胞最少,随着管电压进一步降低至 70 kV,发生 DNA 损伤的细胞增多。两项研究结果存在差异的原因可能是扫描条件和检测手段的不同;前者在降低管电压的同时提高管电流,与后者保持管电流一致相比,可能会造成辐射损伤的增加。虽然多数研究采用免疫荧光显微镜进行 DNA 双链断裂的检测,而且敏感性可能高于流式细胞术;但已有文献证实,流式细胞术的敏感性可满足临床上 DNA 损伤的检测要求^[23];Nguyen 等^[10]也认为,应用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞中发生 DNA 双链断裂的细胞比例变化同样能够反映 DNA 损伤与辐射剂量的关系,并且检查前后 ATM 阳性细胞百分比改变程度高于 γ -H2AX 的结果也与文献报道一致。本研究结果进一步证实, γ -H2AX 较 ATM 更能检测不同管电压之间的区别,是一种检测 DNA 双链断裂更敏感的指标。

综上所述,本研究结果显示经流式细胞仪检测发

现将管电压降低至 80 kV 时,DNA 双链断裂降至最低;而进一步降低管电压至 70 kV,DNA 双链断裂出现上升趋势。因此,通过降低管电压的方法降低 CCTA 的辐射剂量,应将管电压降低至 80 kV 为宜。

参考文献:

- [1] Hadamitzky M, Täubert S, Deseive S, et al. Prognostic value of coronary computed tomography angiography during 5 years of follow-up in patients with suspected coronary artery disease[J]. Eur Heart J, 2013, 34(42): 3277-3285.
- [2] Di Cesare E, Gennarelli A, Di Sibio A, et al. Assessment of dose exposure and image quality in coronary angiography performed by 640-slice CT: a comparison between adaptive iterative and filtered back-projection algorithm by propensity analysis[J]. Radiol Med, 2014, 119(8): 642-649.
- [3] Di Cesare E, Gennarelli A, Di Sibio A, et al. Image quality and radiation dose of single heartbeat 640-slice coronary CT angiography: a comparison between patients with chronic atrial fibrillation and subjects in normal sinus rhythm by propensity analysis[J]. Eur J Radiol, 2015, 84(4): 631-636.
- [4] Zhang LJ, Qi L, Wang J, et al. Feasibility of prospectively ECG-triggered high-pitch coronary CT angiography with 30mL iodinated contrast agent at 70kVp: initial experience[J]. Eur Radiol, 2014, 24(7): 1537-1546.
- [5] Spearman JV, Schoepf UJ, Rottenkolber M, et al. Effect of automated attenuation-based tube voltage selection on radiation dose at CT: an observational study on a global scale[J]. Radiology, 2016, 279(1): 167-174.
- [6] Mangold S, Wichmann JL, Schoepf UJ, et al. Automated tube voltage selection for radiation dose and contrast medium reduction at coronary CT angiography using 3(rd) generation dual-source CT [J]. Eur Radiol, 2016, 26(10): 3608-3616.
- [7] Zhang LJ, Wang Y, Schoepf UJ, et al. Image quality, radiation dose, and diagnostic accuracy of prospectively ECG-triggered high-pitch coronary CT angiography at 70kVp in a clinical setting: comparison with invasive coronary angiography[J]. Eur Radiol, 2016, 26(3): 797-806.
- [8] Lee WH, Nguyen PK, Fleischmann D, et al. DNA damage-associated biomarkers in studying individual sensitivity to low-dose radiation from cardiovascular imaging [J]. Eur Heart J, 2016, 37(40): 3075-3080.
- [9] Kuefner MA, Brand M, Ehrlich J, et al. Effect of antioxidants on X-ray-induced γ -H2AX foci in human blood lymphocytes: preliminary observations[J]. Radiology, 2012, 264(1): 59-67.
- [10] Nguyen PK, Lee WH, Li YF, et al. Assessment of the radiation effects of cardiac CT angiography using protein and genetic biomarkers[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2015, 8(8): 873-884.
- [11] Hill MA, O'Neill P, McKenna WG. Comments on potential health effects of MRI-induced DNA lesions: quality is more important to consider than quantity [J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2016, 17(11): 1230-1238.
- [12] Kuefner MA, Hinkmann FM, Alibek S, et al. Reduction of X-ray induced DNA double-strand breaks in blood lymphocytes during coronary CT angiography using high-pitch spiral data acquisition

- with prospective ECG-triggering[J]. Invest Radiol, 2010, 45(4): 182-187.
- [13] Rothkamm K, Lobrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low X-ray doses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(9): 5057-5062.
- [14] Sun G, Hou YB, Zhang B, et al. Application of low tube voltage coronary CT angiography with low-dose iodine contrast agent in patients with a BMI of 26-30 kg/m² [J]. Clin Radiol, 2015, 70(2): 138-145.
- [15] Lee JW, Kim CW, Lee HC, et al. High-definition computed tomography for coronary artery stents: image quality and radiation doses for low voltage (100kVp) and standard voltage (120kVp) ECG-triggered scanning[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2015, 31(Suppl 1): 39-49.
- [16] Cao JX, Wang YM, Lu JG, et al. Radiation and contrast agent doses reductions by using 80kV tube voltage in coronary computed tomographic angiography: a comparative study[J]. Eur J Radiol, 2014, 83(2): 309-314.
- [17] Zhang LJ, Qi L, De Cecco CN, et al. High-pitch coronary CT angiography at 70kVp with low contrast medium volume: comparison of 80 and 100kVp high-pitch protocols[J]. Medicine (Baltimore), 2014, 93(22): e92.
- [18] Wang W, Zhao YE, Qi L, et al. Prospectively ECG-triggered high-pitch coronary CT angiography at 70kVp with 30mL contrast agent: An intraindividual comparison with sequential scanning at 120kVp with 60mL contrast agent[J]. Eur J Radiol, 2017, 90(5): 97-105.
- [19] Di Cesare E, Gennarelli A, Di Sibio A, et al. 320-row coronary computed tomography angiography (CCTA) with automatic exposure control (AEC): effect of 100kV versus 120kV on image quality and dose exposure[J]. Radiol Med, 2016, 121(8): 618-625.
- [20] Wu Q, Wang Y, Kai H, et al. Application of 80kVp tube voltage, low-concentration contrast agent and iterative reconstruction in coronary CT angiography: evaluation of image quality and radiation dose[J]. Int J Clin Pract, 2016, 70(Suppl 9): B50-55.
- [21] Yin WH, Lu B, Gao JB, et al. Effect of reduced x-ray tube voltage, low iodine concentration contrast medium, and sinogram-affirmed iterative reconstruction on image quality and radiation dose at coronary CT angiography: results of the prospective multicenter REALISE trial[J]. J Cardiovasc Comput Tomogr, 2015, 9(3): 215-224.
- [22] 张博, 龚建平, 张伟, 等. 管电压对 CT 辐射致人外周血淋巴细胞 DNA 双链断裂的影响[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2016, 36(5): 466-467.
- [23] Johansson P, Fasth A, Ek T, et al. Validation of a flow cytometry-based detection of γ -H2AX, to measure DNA damage for clinical applications[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2017, 92(6): 534-540.

(收稿日期: 2017-10-27 修回日期: 2017-12-08)

欢迎订阅 2018 年《放射学实践》

《放射学实践》是由国家教育部主管, 华中科技大学同济医学院主办, 与德国合办的全国性影像学学术期刊, 创刊至今已 33 周年。2015 年 6 月, 《放射学实践》杂志入选北京大学和北京高校图书馆期刊工作研究会共同主持的国家社会科学基金项目“学术期刊评价及文献计量学研究”研究成果——《中国核心期刊要目总览》。这是继 1999, 2008 年之后的第 3 次入选临床医学/特种医学类核心期刊。

本刊坚持服务广大医学影像医务人员的办刊方向, 关注国内外影像医学的新进展、新动态, 全面介绍 X 线、CT、磁共振、介入放射及放射治疗、超声诊断、核医学、影像技术学等医学影像方面的新知识、新成果, 受到广大影像医师的普遍喜爱。

本刊为国家科技部中国科技论文核心期刊、中国科学引文数据库统计源期刊, 在首届《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》执行评优活动中, 被评为《CAJ—CD 规范》执行优秀期刊。

主要栏目: 论著、继续教育园地、专家荐稿、研究生展版、图文讲座、本刊特稿、实验研究、传染病影像学、影像技术学、外刊摘要、学术动态、请您诊断、病例报道、知名产品介绍、信息窗等。

本刊为月刊, 每册 15 元, 全年定价 180 元。

国内统一刊号: ISSN 1000-0313/CN 42-1208/R 邮政代号: 38-122

电话: (027) 83662875 传真: (027) 83662887

E-mail: fsxsjzz@163.com 网址: <http://www.fsxsj.net>

编辑部地址: 430030 武汉市解放大道 1095 号 同济医院《放射学实践》编辑部