

行政院原子能委員會
委託研究計畫期末研究報告

人員生物劑量評估研究
Evaluation of Human Biodosimetry

計畫編號：MP10401-0053

受委託機關(構)：行政院原子能委員會

計畫主持人：張志賢

聯絡電話：03-4711400 轉 7000

計畫參與人員：張志賢、莊程惠、廖澤蓉、林婉琪、陳贊竹、張剛
瑋

聯絡人：張剛瑋

報告日期：105年12月21日

目錄

中文摘要.....	iii
英文摘要.....	iv
壹、前言(計畫緣起).....	1
貳、研究目的.....	2
參、研究方法與過程.....	6
肆、結果與討論.....	12
伍、結論與建議.....	19
陸、參考文獻.....	211
表一、105 年度背景值.....	244
表二、105 年度反應曲線分析表	24
表三、104 年度追蹤案例分析表	25
圖一、醫院IRB申請案	27
圖二、105 年度反應曲線.....	28
圖三、101-105 年度反應曲線	29
圖四、ISO17025 認證證書.....	30
圖五、加拿大衛生部Wilkins教授所寄發之邀請函	31
圖六、加拿大衛生部Wilkins教授所寄發之國際能力試驗證明	32

中文摘要

當發生輻射意外曝露事件，生物劑量評估為事故發生後可採取的措施，以評估未攜帶劑量徽章人員接受之輻射劑量，並做為醫療照護的參考，保障工作人員及民眾的健康與安全。本計畫建立人員生物劑量(Biodosimetry)評估相關技術，並發展出具有國際水準的生物劑量實驗室。今年度研究成果為：1.建立年度劑量反應曲線，同時符合國際生物劑量實驗室之能力標準。2.彙整 101-105 年之反應曲線數據合併成一劑量標準曲線，作為我國之劑量標準曲線。3.新增 3 例國人染色體雙中節背景，共分析 3,022 顆細胞染色體。4.追蹤 104 年特殊案例，經完成 1,001 顆細胞分析後，僅有一顆雙中節變異性。5. 人員生物劑量實驗室在今年獲得 ISO17025 實驗室認證，將成為一個具公信力且國際化的國家實驗室。

關鍵字：

生物劑量，染色體雙中節分析。

英文摘要

When radiation exposure accidents occur, biodosimetry assessment is essential for estimating personal absorbed doses, and as a reference to take medical treatment for safety of radiation workers and normal populations. This project is to setup world-class level of the techniques for evaluation of personal biodosimetry. It could be helpful to set up accidental exposure procedures and develop an international biodosimetry laboratory. The results of this year's research are as follow:

1. Establish the annual dose-response curve, and constructed a new dose-effect calibration curve for the yield of dicentrics by ^{60}Co gamma rays exposure from 0 to 5Gy range.
2. Aggregate the response curve data of 101-105 years into a dose standard curve, to form a standard curve.
3. Collected from 3 person's chromosomes, and 3,022 chromosomes were analyzed.
4. Follow-up of 104 years of special cases, the completion of 1,001 cell analysis, only a dicentric variability.
5. The Biodosimetry Laboratories will be ISO17025 accredited laboratory this year and will become a credible and international national laboratory.

Keywords :

Biodosimetry, Dicentric chromosome assay.

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，於緊急情況下，未必所有居民及搶救人員皆攜帶物理劑量計，故為評估人員實際接受之輻射曝露量，應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研究，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。實驗室今年已通過 ISO 認證，期望未來可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

此計畫源自於台灣北部及南部分別有 2 座及 1 座核能電廠運轉，且工業、醫院及研究機構等各類領域亦有許多從事輻射相關工作人員，為避免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。俾備意外事故發生時，國家有具國際水準之檢測單位可提供相關訊息供醫療照護行動參考，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。

生物劑量是最趨近於受曝者所接受的真實劑量。生物體內作為生物劑量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。人員生物劑量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。國際目前於人員生物劑量相關效應的研究，一致認為雙中節分析乃為一快速簡單且符合效益之黃金標準，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的實際曝露劑量有很高準確性。

一般而言，染色體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。不穩定變異方面，有三種以上的型態，如雙中節(dicentrics)、環形(rings) 和後期橋(anaphase bridge)。其中雙中節和環形變異發生在染色體尚未複製之前，而後期橋則發生在染色體複製之後，這三種變異通常都會伴隨著無中節的染色體片段產生；且由於此三種變異的發生會造成細胞分裂失敗，使細胞無法繼續存活，故稱之為不穩定性變異。穩定性變異方面則有易位(translocations)和缺失(deletions)。易位是指

不同染色體片段互相交換，而缺失則是染色體某一小片段的遺去，這兩種變異仍然可進行細胞分裂，故細胞仍可存活下來。

細胞染色體對於輻射非常的敏感，目前應用最廣泛的，是分離人體週邊循環血液中的淋巴球來做分析。分析淋巴球有幾個優點：人體組織中以淋巴球對於輻射最為敏感，淋巴球隨血液做全身循環，血液中的淋巴球，有 99.9% 是處於細胞週期中的 G_0 期，對輻射敏感度是一致的；淋巴球細胞較其他細胞易於取得，只需簡單的抽血、分離及培養技術，就可得到足夠的細胞供分析檢查。染色體變異頻率與劑量密切相關，人體淋巴球細胞經過鈷-60 照射後分析其雙中節發生頻率，呈現二元二次方程式曲線的關係，稱為劑量—雙中節染色體發生率之反應曲線(人員生物劑量反應曲線，簡稱反應曲線)，通常數學模式以 $Y = c + \alpha D + \beta D^2$ 表示，Y：染色體變異頻率，D：劑量。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。所以染色體雙中節評估技術為人員生物劑量計劃最基本需建立之技術。以雙中節變異推算劑量時，通常使用於急性曝露的情況，且最好是曝露後越早分析愈好，以免受到細胞死亡更新及其它因素的干擾。至於穩定變異的運用就較為廣泛，由於它並不會造成細胞的死亡，細胞仍得以正常分裂，分裂之後變異仍然存在於子細胞當中。

染色體穩定變異的方法目前較為熟知的有 G-banding 與螢光原位雜交法(FISH)。世界衛生組織(WHO)有鑑於車諾比核電廠所發生核災變後，由於受影響之國家輻射醫療科技落後及欠缺協調支援能力，因此 WHO 於 2007 年 12 月在瑞士日內瓦舉辦一諮詢會議商討

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)，相關的合作活動以及如何運作此支援網絡。在策略上，我國可朝向建立參考實驗室(Reference Lab)的中程目標努力，逐步培植及訓練專業人力，建立劑量—雙中節染色體發生率之標準曲線(人員生物劑量標準曲線，簡稱標準曲線)，品質保證計畫及程序書，維持符合參考實驗室所需之分析頻率樣品數量、設備，以及細部與劑量分析所需之臨床管理能力，並與其他國家的實驗室互相比對，發表成果。相信透過計畫之推動，使台灣發展出具有國際水準的輻射生物劑量實驗室，服務國內民眾。

核能研究所自 100 年起承接原能會計畫，重建人員生物劑量研發能力後。更於 102-105 年接續之前研發能力，短期目標以提升人員生物劑量實驗室能力為主，中期目標為建置專業人員生物劑量實驗室硬體，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國家實驗室。策略上，透過與國內醫學中心合作，獲得人類血液檢體合法提供，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。另外於核能研究所建置符合國際人員生物劑量實驗室，以進行臨床檢體操作，期望成為國際 ISO 認證之人員生物劑量實驗室。103 年並成立生物安全會，建立相關作業程序與應變計畫書；另外，同時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 ISO 國際實驗室能力認證。在與國際接軌上，持續與加拿大衛生部 Dr. Ruth Wilkins 及日本的 BioDoseNet 委員 Dr. Mitsuaki Yoshida 密切聯繫，進行國際實驗室分析能力比對及專業討論，以提升國內人員分析能力。同時，

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、國人染色體之雙中節數據分析

(a) 規劃 106 年度 IRB 申請

人員生物劑量評估研究最主要的研究樣品為人類血液檢體，依據衛生署 91 年公告及 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，Institutional Review Board，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檢體取得程序。100 到 104 年度，核能研究所藉由合作與慈濟大學進行血液臨床試驗申請，均順利取得許可證明，而今年我們也規劃 106 年的 IRB 申請，確保此計畫的主要研究素材源源不斷不致終止，讓生物劑量研究之結果不因研究素材而有中斷之慮。

(b) 增加 3 例正常人背景染色體雙中節分析

生物劑量評估中，建立背景資料是相當重要，其為影響低劑量判別之重要因子。根據國際原子能總署(IAEA) 2011 年細胞遺傳生物劑量技術報告所述，在正常族群中，通常在每 1,000

類正常人的淋巴球細胞裡，可觀察到 0.5-1 個雙中節變異；而在國際標準組織(ISO) ISO19238:2014 國際輻射研究指出，在正常背景值中，每位正常人的 1,000 顆淋巴球細胞中，平均存在 1 個(0-2 個)染色體雙中節變異。綜合以上所述，在正常背景下，每位正常人的淋巴球細胞通常會存在 1/1000 比例的雙中節變異。今年度，生物劑量實驗室持續增加 3 例正常人背景染色體雙中節分析，期許收集更多案例來代表國人之生物劑量背景。

作業程序：由慈濟大學將通過人體試驗倫理委員會之血液樣品依 ISO19238 規定於 48 小時內，以室溫郵件方式寄送。核研所取得血液樣品後，將血液樣品直接進行全血細胞培養。以血液樣品 1ml 加入 1-2% PHA 及 8ml 含 10% FBS 之 RPMI-1640 培養液中於 25T 培養皿中培養。經 45 小時培養後加入 1 μ g Colcemid。培養 48 小時後，將血液轉置於離心管中離心收取細胞。將離心後檢體加 5-7mL 0.54% KCl 低張水溶液於 37 $^{\circ}$ C 恆溫培養箱內作用 30 分鐘後，加 1ml 固定液進行前固定(prefix)後離心去掉上清液，細胞團塊加入 8ml 固定液混合並離心，此步驟將重複 2-3 次直至細胞團塊呈現白色為止。最後再視細胞數加入適量固定液進行玻片噴片製作。玻片先以 TL1 步驟清洗：將玻片浸入體積比 25% NH_{3(aq)}：30% H₂O_{2(aq)}：ddH₂O = 1：

1:5 的溶液中，加熱至 85-95°C 約 10-15 分鐘後，以 ddH₂O 沖洗並置於 35% 酒精中備用。將已製備完成之檢體利用自動噴片機(HANABI Metaphase Spreader)噴灑於清洗過之玻片，接著利用 45-65°C 烘片機將染色體固定於玻片上，並烘乾至少 30 分鐘。製作完成的染色體玻片利用 Wright stain 進行染色後烘乾、封片，待染色體玻片風乾後即完成玻片製作，可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，先用低倍(100X) 找到細胞染色體，再以(630X) 油鏡觀察 46 個染色體以 Metasystem 4 進行影像擷取，同時記錄影像。將所擷取的影像進行第一次分析，選取處於 metaphase 的染色體細胞進一步製作成分析檔案。進階分析的標準第一步驟先確認具 46 個中節細胞才計算，接著進行染色體變異分析，包含斷片、環形、雙中節、多中節，多中節染色體記錄為 n-1 個雙中節。最後對臨床檢體生活背景進一步分析，建置更詳盡資料庫。

(c)增加年度劑量反應曲線

規劃國際化生物劑量實驗室過程中，國際學者皆一致認為建立實驗室所屬之”劑量反應曲線”為實驗室首重任務，同時維持實驗室人員分析能力一致性之重要依據，亦是定期進行劑

量反應曲線分析，經與資料庫進行比對予以確認。本實驗室於 101 至 104 年度陸續完成了四條人員生物劑量反應曲線，並經由統計方式將其中三條併成一條人員生物劑量標準曲線(104 年度的反應曲線因 0Gy 的雙中節發生率高於國際認可範圍，故不列入合併)。而人員生物劑量評估的準確性，首重所建立的人員生物劑量標準曲線的可信度及精確度，故在 105 年度，我們將新增一條人員生物劑量反應曲線，並且合併先前的三條曲線成為新的人員生物劑量標準曲線。其中 0 Gy (即背景值)分析 1000 顆細胞；0.25、0.5、1、2、3、4、5 Gy，則依據 ISO 19238 規定，分析 500 顆中期細胞或觀察到 100 顆雙中節即停止該樣品分析。

作業程序：由慈濟大學將通過人體試驗倫理委員會之血液樣品依 ISO19238 規定於 48 小時內，以室溫郵件方式寄送。核研所取得血液樣品後，將血液樣品分裝後，請國家標準實驗室進行鈷-60 照射，照射劑量分別為 0.25、0.5、1、2、3、4、5Gy。劑量照射後，將血液樣品進行如前項所述之步驟，細胞培養、細胞收穫、固定化、噴片、染色、封片、顯微鏡掃描，以及細胞影像分析。經過整理統計後，利用 Dose Estimate 專業分析軟體，分析計算出實驗之反應曲線。

(d) 追蹤 104 年度背景值異常之個例

如上所述，104 年度的人員生物劑量反應曲線，0Gy (即背景值)的血液檢體中，於 1,012 個中期細胞中，發現 5 個雙中節，造成整體的雙中節背景發生率為 4.9‰，大於國際認可的範圍 0-2‰，故經過謹慎考慮後，104 年度的反應曲線暫不合併入標準曲線且其 0Gy 的背景值不列入背景值資料庫，並規劃於 105 年持續追蹤此血液提供者，再次進行採血並分析其背景值是否仍大於 0-2‰，再判斷後續相關統計。

二、參加專業實驗室認證

國際上人員生物劑量實驗室之參考依據乃是遵循 ISO19238:2014(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，和 ISO21243:2008(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，二份文件執行。而國內人員生物劑量實驗室目前乃為前瞻創新實驗室，目前並無相關認證，因此透過與財團法人全國認證基金會 (TAF，Taiwan Accreditation Foundation)溝通、討論，本實驗室將本著 ISO19238 的精神，申請 ISO17025 測試實驗室認證。實驗室之品質及技術系統將符合 ISO19238 及 ISO17025 規定，確保本實驗室數據之品

質，且由實驗室出具之數據皆獲得適當管理保存。

103、104年度實驗室人員已接受ISO17025法規相關訓練，並藉著訓練課程了解品質系統所需相關能力並建立。人員生物劑量實驗室已在104年完成ISO實驗室所有認證文件準備，包括一、二、三階文件及四階表單共78份文件建立，以及依據本實驗室擬定、發行之ISO17025標準作業程序完成兩例檢體。104年度，人員生物劑量實驗室依據TAF規定提出認證申請，並於11月2日完成所有申請項目，計畫在105年通過TAF實地評鑑，獲得實驗室能力認證，完成實驗室認證目標。

三、 進行國際間分析能力比對

人員生物劑量實驗室已於103年度參與由加拿大衛生部Wilkins教授所舉辦的國際比對，並順利完成；在104年10月19日，實驗室再次收到Wilkins教授的邀請，並經由原能會輻防處的協助順利獲得其寄出之血液檢體，於11月21日開始進行相關試驗程序。預計今年將持續進行後續相關流程，期望藉由參加國際比對，更確定實驗室分析人員之能力，對於我國朝向國際化之生物劑量分析實驗室將有加倍增分之效應。

肆、結果與討論

一、國人染色體之雙中節數據分析

(a) 規劃 106 年度 IRB 申請

慈濟大學細胞遺傳室於105年6月向慈濟醫院提出人體試驗計畫書面期中報告，以取得合乎規範可進行製備雙中節染色體使用之人類血液檢體。本計畫於102年已取得IRB許可至105年，因鑒於IRB委員會規定，許可證明無法一次開立至105年，IRB委員會將逐年審查期中報告，無違反規定事項者則予以開立計畫延續之IRB委員會證明，因此慈濟大學細胞遺傳室於證明文件到期日前1個月提出期中報告，期中報告將提交給IRB委員審查，通過後計畫將得以繼續並取得新版IRB證明，直至計畫執行完畢。

核研所與慈濟大學已於105年7月完成簽約，簽約後慈濟大學分子暨人類遺傳系所劉怡均教授已協助本計畫申請慈濟大學IRB(IRB100-103)，該研究計畫變更申請已由慈濟大學研究倫理委員會於105年8月11日審查同意，將計畫執行展延至107年12月31日(圖一)。

(b) 增加 3 例正常人背景染色體雙中節分析

生物劑量評估中，除了反應曲線的建立外，建立背景資料亦是相當重要，其為影響低劑量判別之重要因子。實驗室在 101 年及 102 年度所完成的反應曲線之 0Gy 數據，皆為未接受輻射曝露之檢體，可作為國人背景值。101-104 年，本實驗室共分析了 13 例背景值(不包括 104 年背景值異常個案)，共 13,246 個細胞影像，13 例背景值的染色體雙中節發生率近似國際文獻，在正常背景下，每個人淋巴細胞通常會存在 1/1000 比例的雙中節變異狀況。

在 105 年中，實驗室已收集 3 例血液檢體，直接進行全血淋巴球細胞培養、染色體雙中節分析，做為 3 例國人染色體雙中節背景值。目前已完成檢體 A-C 中的 3,022 個細胞影像分析，這三個檢體僅 A、B 兩位測試者發現 1 個染色體雙中節；C 位測試者則無 (表一)。

(C) 增加年度劑量反應曲線

在 105 年度，本實驗室將完成另一新的反應曲線，並和 101、102 年的 3 條反應曲線進行 *F-test* 以及 *p-value* 的計算，評估 4 條曲線的差異性後，判斷是否可將此 4 條反應曲線合併為一最終可代表國人的標準曲線。目前已完成全部劑量之分析工作(表二)，並將分析完成結果以 Dose Estimate 軟體進行計算

(圖二)。

在新增 105 年度反應曲線與 101-102 年所收集之三條反應曲線之合併值。其數學方程式表示為：

$$\text{Yield} = 0.0010 (+/- 0.0010) + 0.0554 (+/- 0.0083) \times D + 0.0705 (+/- 0.0025) \times D^2$$

為核研所人員生物劑量實驗室所建立之國人標準曲線(圖三)，可用於未來測量樣品時之標準曲線，將分析所得之 yield 值代入 b 式，計算得知未知樣品的輻射曝露劑量 (D)。

(d) 追蹤 104 年度背景值異常之個例

本實驗室於 104 年完成一反應曲線，但其 0Gy (即背景值) 於 1012 個中期細胞中，發現 5 個雙中節，造成整體的染色體雙中節發生率為 4.9‰，大於國際認可的範圍 0-2‰，此血液檢體的提供者是經由慈濟大學 IRB 計畫提供血液。此血液提供者於今年 5 月 23 日再次進行採血，本實驗室於 24 日收到血液檢體後開始進行後續相關試驗，目前已進行完成細胞影像分析，其染色體雙中節發生率於 1,001 細胞中僅有一顆雙中節變異性，目前符合於國際認可範圍(表三)。

二、參加專業實驗室認證

人員生物劑量實驗室已在 103 年完成 ISO 實驗室認證文件

準備。策略上，實驗室先建構組織架構，實驗室主管、品質主管、技術主管及測試人員先後取得法規及相關教育訓練等認證實驗室基本資格。接著依據ISO章節製定所需文件清單，依據文件清單逐一建立所需資料，建立文件分類表及文件清單。目前已完成1份品質手冊(一階文件)、9份品質系統管制程序(二階文件)、13份技術系統管制程序(二階文件)、10份試驗相關標準作業程序(三階文件)及45份認證實驗室所需表單(四階文件)建立。

在申請認證前，人員生物劑量實驗室依據本實驗室擬定、發行之ISO17025標準作業程序完成兩例檢體，以符合TAF申請規定，並於104年10月21日在TAF網頁開始線上申請，在11月2日完成所有線上申請項目，取得認證編號，編號為：3201。

TAF於105年1月19日初訪，並在4月15日進行實地評鑑，共開了3個B類NCR及2個C類NCR。本實驗室依照ISO17025規定，以及參考評鑑委員意見後，在6月15日前完整回覆NCR的改善措施，在7月14日獲得TAF第二階段評鑑案審查通過，7月29日已取得認證(圖四)。

三、人員生物劑量實驗室國際合作

國外先進核能應用國家皆已建立國家級生物劑量實驗

室，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絡。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。

本實驗室於103年參與過一次國際比對，而在104年10月19日再次收到Wilkins博士的國際比對邀請(圖五)，104年11月13日透過原能會輻防處協助，與桃園機場海關聯繫，由加拿大衛生部Wilkins博士寄送檢體時，不經過x-ray檢測直接送達核研所進行試驗。此次比對同樣是由加拿大主持的國際人員生物劑量實驗室能力比對，包含加拿大、美國、阿根廷、韓國及台灣等5個國家7個實驗室參加。比對方法係根據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，分析計算的細胞僅需

50顆細胞。血液檢體是由加拿大Wilkins博士進行不同劑量輻射照射處理後，藉由國際快捷方式寄送到各實驗室，由實驗室對10個未知樣品進行淋巴球細胞培養、染色體雙中節分析，進而評估未知檢體之輻射曝露量，最後將相關數據再回傳加拿大進行相關分析評估，完成國際實驗室間比對。

此次比對與103年相同除了進行傳統染色體雙中節分析外，同時進行改良的染色體雙中節分析-快速雙中節分析(Quick Scan Dicentric Assay)。傳統雙中節分析法必須確認染色體處於細胞中期型態而且型態須完整，而後需確認有46個染色體中節(centromeres)，並對所有染色體變異紀錄，包括：染色體片段(acentric)及環(ring)。改良式快速雙中節分析法則不需確認染色體數，僅需確認染色體型態處於細胞中期且完整，一個細胞須於20秒內完成快速判斷，接著就進行下個細胞判斷。因此改良式快速雙中節分析法較節省時間，但細胞染色體前處理需較佳操作條件，以獲得較佳品質之染色體影像。所以目前改良式快速雙中節分析法仍在實驗評估階段，同樣於此次國際能力比對中放入，以進行分析方法改良評估。

此次國際比對是由本實驗室4位研究人員參與國際能力比對，二位新進人員進行第一次分析，二位資深人員進行重複確

認，以確保數據分析之可信度及進行人員教育訓練。加拿大時間11月16日 Wilkins博士實驗室經由FedEx寄送10例血液檢體，本實驗室於11月19日收到血液檢體後安排在11月21日開始進行細胞培養及相關試驗程序，12月1日開始分析細胞影像，所有的分析數據在105年1月14日送回加拿大，為了協助本實驗室申請ISO17025認證，Wilkins教授更以國際能力試驗的發起人身份，於105年4月4日的回函表示「本實驗室有能力利用雙中節變異性作為劑量評估」，提供了國際能力試驗證明(圖六，原文：These results provide evidence that INER is proficient at providing dose estimates using the dicentric assay.)。

伍、 結論與建議

105 年度的臨床試驗計畫，依時程規劃由委託單位慈濟大學向慈濟醫院人體試驗倫理委員會申請，進行相關作業確認，已獲得慈濟大學研究倫理委員會審查同意，展延至 107 年 12 月 31 日。

試驗方面，人員生物劑量評估研究依計畫進度執行，對於染色體製備、顯微鏡影像自動擷取到染色體分析等相關技術已趨成熟。於染色體分析上，105 年度已建立一條新的反應曲線，並和過去已建立的三條反應曲線進行統計分析，合併建立代表國人的染色體劑量—雙中節變異標準曲線。國人染色體雙中節背景值分析方面，也依規劃完成 3 例檢體分析。另同時 104 年的異常個例追蹤，亦已完成分析。

對於專業實驗室認證方面，本實驗室利用有限經費建置實驗室硬體，並透過 103 年的準備，依據 ISO17025 規定之章節，完成實驗室所有文件等軟體建置。104 年度依據 TAF 規定，完成依照本實驗室所發行的標準操作程序的 2 案例，並於 104 年 10 月底提出認證申請；TAF 於 105 年 1 月 19 日初訪，4 月 15 日實地評鑑，雖開出 3 個 B 類及 2 兩個 C 類 NCR，但本實驗室已在 6 月 15 日前完成改善措施之回覆，並於在 7 月 14 日獲得 TAF 第二階段評鑑案審查通過，7 月 29 日已取得認證，將持續維持具公信力的國家實驗室，朝向亞洲參考實驗室目標努力。

而在國際合作方面，本實驗室持續連繫國際實驗室，並參與由加拿大衛生部 Wilkins 博士主持的國際人員生物劑量實驗室能

力比對，除 103 年曾參與過國際能力比對，104 年再次參與了包含加拿大、美國、阿根廷、韓國及台灣等 5 個國家 7 個實驗室的國際比對，並於 105 年 1 月 14 日回傳所有分析數據。本實驗室藉由參加國際比對，更確定實驗室分析人員之能力，對於我國朝向國際化之生物劑量分析實驗室將有加倍增分之效應。

陸、 參考文獻

1. 馬張明霞，陳敏達，陳麗香，輻射建物居民的微核和雙中節兩種生物劑量評估方法對照分析，1999。
2. 馬張明霞，陳麗香，螢光原位雜交法觀察易位染色體評估生物劑量初步研究報告，2003。
3. 馬張明霞，陳麗香，人員淋巴球 1、2、4 染色體的螢光原位雜交技術觀察易位率評估 x 射線生物劑量 (INER-2668)，2004。
4. 馬張明霞，核能研究所生物劑量實驗室意外曝露之生物劑量評估作業說明與回顧(INER-4293R)，2006。
5. 陳家鈺，化學及生物劑量計，游離輻射防護彙萃，1996。
6. 許彬杰、翁寶山，實用固體熱發光劑量測定術。2002。
7. International Commission on Radiological Protection, 1990 Recommendations of the ICRP, ICRP Publication 60, 1991.
8. International Commission on Radiological Protection, Protecting People against Radiation Exposure in the Event of a Radiological Attack, ICRP Publication 96, 2005.
9. International Commission on Radiological Protection, The 2007 Recommendations of the ICRP, ICRP Publication 103, 2007.
10. Kanda, R., Improvement of accuracy of chromosome aberration analysis for biological radiation dosimetry. J Radiat Res (Tokyo), 2000. **41**(1): p. 1-8.
11. Natarajan, A.T, and P.C. Kesavan, Cytogenetics for Dosimetry in Cases of Radiation Accident and Assessing the Safety of Irradiation Food Material. Current Science, 2005. **89**(2): p. 361-65.
12. Blakely, W.F., et al., WHO 1st consultation on the development of a global biodosimetry laboratories network for radiation emergencies

- (BioDoseNet). *Radiat Res*, 2009. **171**(1): p. 127-39.
13. Romm, H., U. Oestreicher, and U. Kulka, Cytogenetic damage analysed by the dicentric assay. *Ann Ist Super Sanita*, 2009. **45**(3): p. 251-9.
 14. Wilkins, R.C., et al., Interlaboratory comparison of the dicentric chromosome assay for radiation biodosimetry in mass casualty events. *Radiat Res*, 2008. **169**(5): p. 551-60.
 15. ISO19238 , 2014 年 , 第二版 。
 16. ISO21243 , 2008 年 , 第一版 。
 17. Ainsbury, E.A. and Lloyd, D. C. Dose estimation software for radiation biodosimetry. *Health Phys.* 98, 290-5 (2010).
 18. Grégoire, E., Hadjidekova, V., Hristova, R., Gruel, G., Roch-Lefevre, S., Voisin, P., Staynova, A., Deleva, S., Ainsbury, E.A., Lloyd, D.C., Barquinero, J.F. Biological dosimetry assessments of a serious radiation accident in Bulgarian in 2011. *Radiat Prot Dosimetry*. (2013).
 19. Wong, K.F., Siu, L.L., Ainsbury, E.A., Moquet, J. Cytogenetic biodosimetry: what it is and how we do it. *Hong Kong Med J.* Apr;19(2):168-73. (2013).
 20. Maznyk, N.A., Wilkins, R.C., Carr, Z., Lloyd, D.C. The capacity, capabilities and needs of the WHO BioDoseNet member laboratories. *Radiat Prot Dosimetry*. 151(4):611-20. (2012).
 21. Flegel, F. N., Devantier, Y., Wilkins, R.C., Validation of QuickScan Dicentric Chromosome Analysis for High Throughput Radiation Biological Dosimetry. *Health Phys.* 2012, **102**, 144-153
 22. Suto, Y., Hirai, M., Akiyama, M., Kobashi, G., Itokawa, M., Akashi, M., Sugiura N. Biodosimetry of Restoration Workers for the Tokyo

Electric Power Company (TEPCO) Fukushima Daiichi Nuclear
Power Station Accident. Health Phys. 105(4):366Y373; 2013

表一、 105 年度背景值

項目	編號	A	B	C
擷取的影像		2320	2402	2919
篩選的影像		1267	1259	2629
分析的影像		1005	1014	1003
雙中節數		1	1	0

表二、 105 年度反應曲線分析表

Dose (Gy)	No. of Cells Scored	No. of Dicentric Chromosomes	Dicentric Distribution								
			0	1	2	3	4	5	6	7	
0	1036	1	1035	1	0	0	0	0	0	0	0
0.25	619	10	609	10	0	0	0	0	0	0	0
0.5	509	19	490	19	0	0	0	0	0	0	0
1	503	58	449	50	4	0	0	0	0	0	0
2	418	170	285	100	30	2	1	0	0	0	0
3	285	272	98	122	47	16	2	0	0	0	0
4	155	234	32	54	40	20	5	4	0	0	0
5	134	294	12	29	41	32	14	5	1	0	0

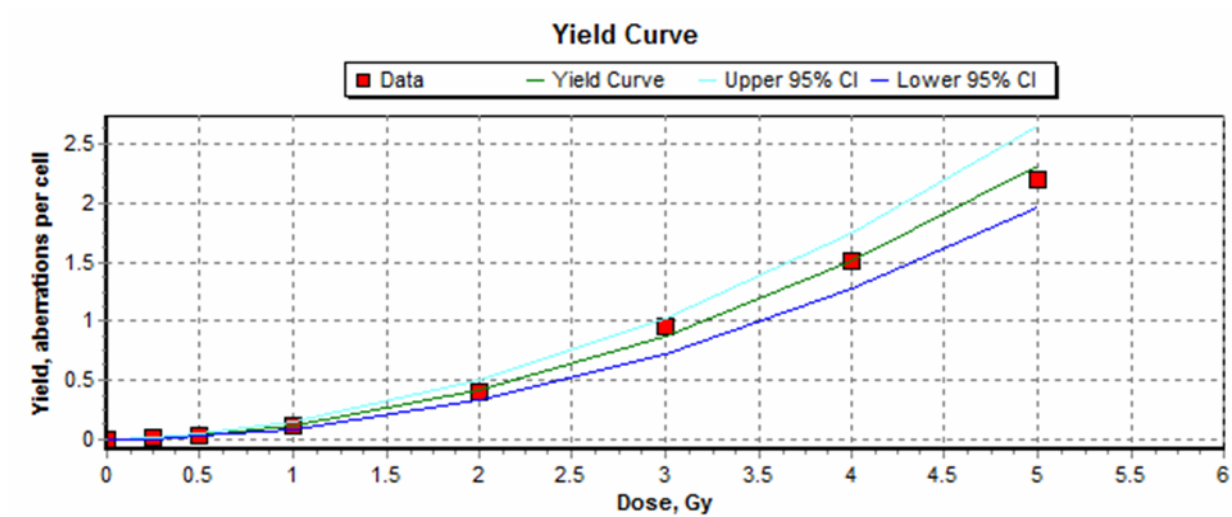
表三、 104 年度追蹤案例分析表

編號 項目	104 年度追蹤案例
篩選的影像	1131
分析的影像	1001
雙中節數	1

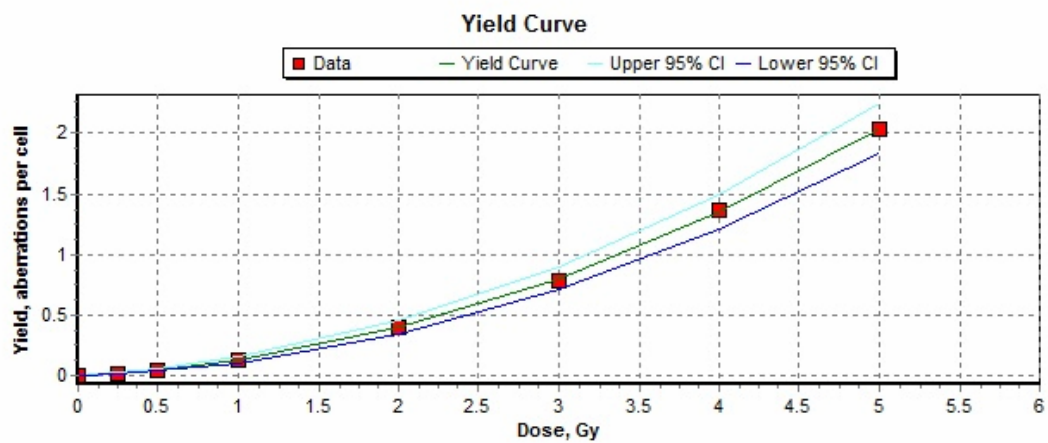
圖一、醫院IRB申請案

	佛教慈濟醫療財團法人花蓮慈濟醫院研究倫理委員會 Research Ethics Committee Hualien Tzu Chi Hospital, Buddhist Tzu Chi Medical Foundation 707, Sec. 3, Chung-Yang Rd., Hualien, 97002, Taiwan, R.O.C. Tel: 886-3-8561825 Ext. 12124 Fax: 886-3-8561825 Ext. 13272
研究計畫變更許可書	
<p>本會編號：IRB100-103 計畫名稱：人員生物劑量評估研究 計畫主持人：慈濟大學 分子暨人類遺傳系所 劉怡均教授 計畫預計執行期間：自 November/29/2011 至 December/31/2018 本許可書有效期間：自 August/09/2016 至 August/10/2017 變更文件版本日期：【ICF：Version 3, 07/04/2016；計畫執行展延至 2018 年 12 月 31 日】 上述計畫變更業經本院研究倫理委員會於 2016 年 08 月 11 日審查同意，本委員會的運作符合優良臨床試驗準則及政府相關法律規章。 計畫主持人須依國內相關法令及本會規定通報嚴重不良反應事件及非預期問題，並應於到期日至少 6 週前提出期中追蹤審查申請，經本會審核通過，方可繼續執行。</p>	
Certificate of Approval of Amendments	
<p>REC No. : IRB100-103 Title of Protocol : Evaluation of Human Biodosimetry Principal Investigator: Yi-Chun Liu / Department of Molecular Biology and Human Genetics, Tzu Chi University Proposed Study Period : November/29/2011 to Decmeber/31/2018 Approval Effective Period : August/11/2016 to August/10/2017 The protocol is approved by the Research Ethics Committee of Hualien Tzu Chi Hospital, Buddhist Tzu Chi Medical Foundation on August/11/2016. The committee is organized under, and operates in accordance with, the Good Clinical Practice guidelines and governmental laws and regulations. The investigator is required to report Serious Adverse Events and Unanticipated Problems in accordance with the governmental laws and regulations and REC of Hualien Tzu Chi Hospital, Buddhist Tzu Chi Medical Foundation requirements and apply for a continuing review not less than six weeks prior to the approval expiration date.</p>	
	 Chien-Hsing Wang, M.D. Chairman, Research Ethics Committee
<p>E6A0021C19-05 Page 1 of 1</p>	

圖二、105 年度反應曲線



圖三、101~105 年度反應曲線



圖四、ISO17025 認證證書



圖五、加拿大衛生部Wilkins教授所寄發之邀請函



November 10, 2015

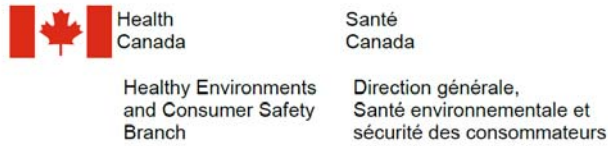
The existing biological dosimetry capacity in Canada is greatly enhanced by conducting yearly inter-comparisons between the Canadian core laboratories, US and international laboratory partners that are capable of providing radiation biological dose estimates using the Dicentric Chromosome Assay (DCA).

The objective of this annual inter-comparison is to test the ability of each participating laboratory to obtain correct biological dose estimates (accurate within ± 0.5 Gy) on 10 irradiated, blinded samples using the dicentric chromosome assay (DCA) and the Cytokinesis Block Micronucleus Assay (CBMN). Time required to complete the dose estimate of each individually scored sample will also be assessed.

This year, seven laboratories will be participating in the Inter-comparison: two Canadian Core laboratories, Health Canada (HC), Canadian Nuclear Laboratories (CNL formerly AECL), two US laboratories, Armed Forces Radiobiology Research Institute (AFFRI), Oak Ridge Institute for Science Education (ORISE), the laboratory at the Institute of Nuclear Energy Research in Taiwan, the Laboratorio de Dosimetría Biológica in Argentina and the Biodosimetry Laboratory at the Korean Cancer Center in Korea.

Samples will be scored using DCA Scoring protocols (conventional and/or QuickScan) as well as for those participating using CBMN scoring protocols.

圖六、 加拿大衛生部Wilkins教授所寄發之國際能力試驗證明



Chih-Hsien Chang
Isotope Application Division
Institute of Nuclear Energy Research
1000 Wenhua Road, Chiaan Village, Lungtan Township,
Taoyuan County 32546, Taiwan

Subject: Results of Biological Dosimetry Intercomparison, November 2015

April 4, 2016

Dear Dr. Chang

In November 2015, a biological dosimetry intercomparison exercise organized by Health Canada. For this exercise, 10 irradiated and blinded blood samples were sent to 7 international laboratories. Each laboratory processed the samples and analysed them for dose using the triage dicentric assay scoring which calculates the dose after scoring 50 cells or 30 dicentrics. The acceptance criterion for this level of scoring is estimating the dose within 0.5 Gy of the physical dose delivered to the samples. Results were returned to Health Canada.

The Institute of Nuclear Energy Research (INER) participated in this exercise and provided dose estimates after triage level scoring by two individuals. The data was combined for an average dose estimate based on the results of the two scorers. The results are attached. INER identified the correct dose (w/i 0.5 Gy of the delivered dose) in 9 of 9 samples scored. Due to circumstances beyond the control of INER sample 10 was not scorable. Several of the laboratories (including Health Canada) had the same issue with this sample. **Therefore INER correctly identified all scorable samples within 0.5 Gy of the delivered dose.**

These results provide evidence that INER is proficient at providing dose estimates using the dicentric assay.

Regards,

Ruth Wilkins, PhD
Division Chief,
Radiobiology
Ruth.Wilkins@hc-sc.gc.ca

Tel: (613) 941-7263
Fax: (613) 941- 1734

Consumer and Clinical Radiation Protection Bureau
Environmental and Radiation Health Sciences Directorate
775 Brookfield Road
Ottawa, Ontario K 1A 1C1
Canada

These results provide evidence that
**INER is proficient at providing dose
estimates using the dicentric assay.**