

分次剂量的X射线照射后HeLa细胞敏感性的变化

Bryant PE等

前 言

预先暴露于电离辐射和紫外线可在几种类型的细胞和细菌诱发电离辐射的耐受性，通常用比较一系列的第二组剂量与一系列单次剂量的活存曲线来发现这种耐受性。诱发的耐受性可以增加第二组剂量活存曲线的肩部的宽度形式出现，但在其它系统，被证明是采取减少斜度，减少外推值的方式。这种诱发的耐受性可能是由于按第二组剂量照射后，辐射损伤的修复速度增加所致。也曾提出其它的种种解释。例如，就细菌来说，曾提出第一次照射可诱发一种蛋白质，这种蛋白质能抑制第二次照射后DNA降解。照这样看来，就可以假定细胞的死亡是由于DNA降解所致。

虽然这种诱发的耐受性在藻类和细菌中似乎是很普遍的，但是，它显然不是在体外受照射的哺乳动物细胞共有的特征。Lockhart等人的结果曾被其他作者所引用，作为HeLa细胞诱发耐受性的证据，Lockhart曾指出，X射线分次照射后，活存的HeLa细胞比将单次剂量活存曲线的肩部回转至纵轴时获得的预期值为高。例如，在一项给与两次剂量的实验中，活存率比根据单次剂量曲线得到的外推值高。同样，在第一次照射后的24小时，以一系列剂量照射细胞时，所获得的第二组剂量活存曲线的 D_0 值大于单次剂量曲线的 D_0 值。对于人工培养的其他类型的哺乳动物细胞来说，关于诱发的耐受性的证据是不足的。如果照射的间隔时间容许细胞通过细胞周期的较敏感期或耐受期，那么，第二组剂量活存曲线的最后斜率通常是与单次剂量曲线的最后斜率平行的。不论作何说法，对于体内受照射的细胞来说，某种类型诱发的耐受性是可能产生的。例如，最近曾报导，以六周为间隔，预先两次暴露于1250拉德的调节剂量后，在小鼠结肠的隐窝细胞产生了诱发的耐受性。

曾报导，哺乳动物细胞的敏感性可能随着胰酶消化、种植、照射这几个步骤的间隔时间的增加而

降低。就人肾细胞来说，敏感性的变化是由于“修复”胰酶的消化性损伤所致。缺少细胞分裂时，活存迅速地增加。Phillips等报导，对于HeLa细胞来说，活存细胞的增加，以及随后的减少，是由于胰酶消化作用引起的部分同步化造成的。耐受性的峰值出现于DNA合成达到高峰之时。Berry等（1966）用中国地鼠和HeLa细胞得出相似的结论，即胰酶消化后，活存的增加可能是由于同步化以及细胞累积在细胞周期的耐受性较大的时相中造成的。Lehnert（1975）报导，对中国地鼠来说，在胰酶消化后最初的5小时内，敏感性没有变化，但是，20小时后出现了变化，这种变化导致了 D_0 值的加大和肩部的完全丧失。

作者曾进行了多次实验，设计这些实验是为了研究除了胰酶的消化作用引起的那种耐受性外，X射线在HeLa细胞诱发耐受性的可能性。结果证实了Lockhart等人的工作，他们的结果表明，对于相隔24小时分别给予的两组剂量的X射线来说，细胞对第二组剂量的耐受性增加。可是，作者又另外指出了耐受性的这种增加可用胰酶消化后对X射线的敏感性发生了变化来解释。但并未观察到，在耐受性的增加方面，存在着剂量效应关系，据报导，在衣藻有这种类型的关系。

材料和方法

HeLa细胞是从Flow有限实验所得到的，并维持其对数生长。所用培养基为Eagle's必需培养基（Flow有限实验所），9.7克/升，向其中加入8.7毫克分子的 NaHCO_3 ，2毫克分子N-2羟乙基哌嗪N-2乙烷磺酸（HEPES），5.8毫克分子 NaOH ，0.24克/升链霉素，0.24克/升青霉素G，100,000单位/升制霉素（Squibb）和150毫升/升胎牛血清（Flow有限实验所）。用Eagle's平衡盐溶液制备0.05%的胰酶（Flow有限实验所）。在Eagle's平衡盐溶液中，含1克/升葡萄糖，5.4毫克分子 KCl ，0.12克分子 NaCl 和0.9毫克分子 NaH_2PO_4 ，并经 NaOH 将pH调至7.0。培养基通

过滤膜灭菌, 在无菌条件下, 向其中加入制霉菌素。

培养瓶中的细胞经胰酶消化后产生的悬液, 细胞聚集物是很少的, 并有很高的集落形成率(约为80%)。临近照射时, 将细胞种植于塑料平皿内, 细胞总数可达 2×10^4 /每平皿, 皿内含有经4000拉德照射的饲养细胞。曾发现, 为达到恒定的高集落形成率和获得大的集落, 必须使用饲养细胞。细胞与培养基同时受照射, 剂量率为173拉德/分, 用硫酸亚铁法核对剂量。于照射间期, 使细胞保持在 37°C 的生长培养基中, 照射之后将培养皿置于含5% CO_2 的潮湿空气中。

结果和讨论

图1显示单次或分次剂量的X射线照射细胞的结果。与零时, 即胰酶消化和种植后的即刻, 获得的单次剂量曲线相比 ($D_0 = 80$ 拉德), 第二组剂量的活存曲线的陡度较低, 外推值较小 ($D_0 = 120$ 拉德)。这些结果证实了Lockhart等人的工作, 表明在第一次剂量和其后一系列剂量的间期, 细胞变得有相当大的耐受性。图1也表明, 在胰酶消化和

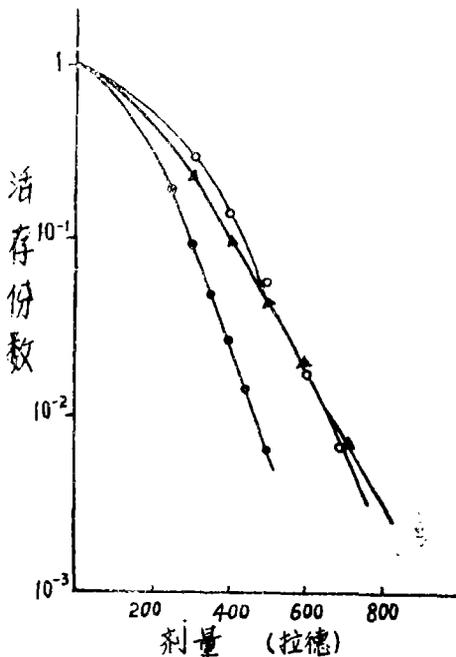


图1 单次或分次剂量的X射线照射后, HeLa细胞的活存曲线。
 (●) 在零时给予单次剂量的细胞(胰酶消化和种植后的即刻);
 (○) 胰酶消化和种植后的24小时给与单次剂量的细胞;
 (▲) 在零时给予250拉德的剂量, 24小时以后再给予一系列的分次剂量的

细胞。由于考虑到第一次剂量的活存份数, 而将第二组剂量的活存曲线标准化。在室温下照射, 除照射期间外, 细胞均保持在 37°C 之中。

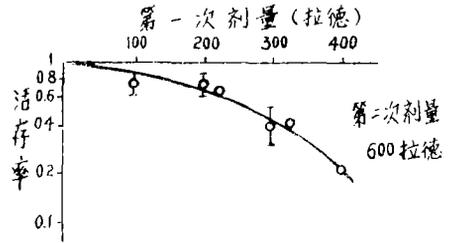


图2 在两次剂量的实验中, 活存率是第一次剂量的函数。第二次剂量是600拉德, 在第一次照射后的24小时给予。活存率是用24小时后给予600拉德的单次剂量的活存份数除两次剂量的活存份数求得的, 除了在室温下照射外, 细胞均保持在 37°C 。误差线代表均数标准差。

种植后的24小时, 给以单次剂量照射的细胞同样有较大的耐受性, 此结果与采用本细胞系的较早期的工作是一致的。结果提示, 在第二组剂量照射的细胞, 其耐受性的升高可按胰酶消化后活存细胞增多来解释。可是, 在许多实验中, 图1就是其中的一例, 第二组剂量曲线的斜率比种植以后的24小时获得的单次剂量曲线的斜率稍大 (D_0 值无显著差异)。所以我们检查了给予第二次剂量后, 细胞的活存依赖于第一次剂量大小的可能性。图2显示这些实验的结果, 给出了第一次剂量的范围, 第一次照射后的24小时给予600拉德的剂量。用600拉德单次剂量照射后的活存份数除以这两种剂量照射后的活存份数(由两种剂量照射后的活存数除以第一次剂量照射后的活存数)求出活存率。活存率随第一次剂量的增加而减低。因此, 按 D_0 增加多少来测量的、第二组剂量曲线的耐受性并不是由于预先暴露于X射线, 依照剂量依赖方式诱发的, 据报导, 在衣藻可见这种依赖方式。相反, 当第一次剂量较大时, 第二次暴露后活存却是较低的。

所以, 结论是HeLa S_3 细胞的敏感性并没有因为预先暴露于X射线而有所增加, 正如某些作者所提示过的那样。结果表明, 对第二组剂量X射线耐受性的增加, 可以用胰酶消化后活存细胞增多来解释, 关于这种情况以前已有报导, 而且还是发生于单次X射线照射之后。

(Int J Radiat Biol 35 (2): 189~192, 1979 (英文) 郭健民译 王修竹校 李光宇审核)