

# 淋巴系细胞间期死亡的分子机理

[Хансов КЛ: Радиобиология 19(6): 814~820, 1979 (俄文)]

辐射引起的细胞死亡可分为增殖死亡和间期死亡。前者是指受照射细胞经过一个或数个有丝分裂周期后死亡,后者是指受照射细胞未进行分裂就死亡。按照照射剂量的不同,可将间期死亡分成数型。本文探讨胸腺细胞和淋巴细胞受小剂量(数十及数百伦)照射后的死亡机理。这种类型的细胞死亡在相当程度上决定哺乳动物放射病一些特有的表现,如血液淋巴细胞减少以及富有淋巴系细胞的器官的退化。

放射生物学者研究间期死亡已经卅多年,然而此种现象的机理仍不清楚。近年来对此问题的兴趣更高了,这是和淋巴系细胞生理功能研究的进展以及在高等生物基因组方面的分子生物学成就,特别是和核染色质结构的阐明等分不开的。Trowell在五十年代详细地描述了淋巴细胞辐射死亡的细胞学图象,并确定了此现象的时间及剂量的特征。间期死亡具有以下特点:损伤随时间而发展,且存在明显的辐射敏感性的阈值,超过此阈值时,损伤积累的速度并不依赖于照射剂量。需要强调指出,当照射胸腺细胞和淋巴细胞剂量超过1万伦时,以核固缩为指征而判定的死亡要比上百伦照射时少。

目前关于间期死亡的学说可分成两类,一类认为遗传结构的损伤有首要的意义,另一类则认为受照射细胞代谢过程的破坏起着主导作用。

受照射淋巴系细胞中最突出的分子变化是结构破坏和染色质崩解,这些显然就是用形态学方法所观察到的核固缩现象的基础。核的固缩变性伴有染色质对多聚阴离子、脱氧胆酸盐及碱的作用的敏感性增高,同时还伴有轻微的去蛋白作用。由于染色质的崩解,在受照射动物的胸腺、脾脏和骨髓的脱氧核糖核蛋白成分中出现一种与DNA的基本部分不结合的组分,叫做“游离”DNA或多聚脱氧核糖核苷酸。这种组分生成的最高量在300伦以内与照射剂量线性相关,而在时间上与核的形态学变化最明显的时期(照后6~8小时)相一致。

开展了大量的工作研究淋巴系细胞的脱氧核糖核蛋白的降解产物。根据羟基磷灰石柱层析的行为判断,多聚脱氧核糖核苷酸与经脱氧核糖核酸酶处理的DNA没有什么不同。多聚核苷酸具有双螺旋结构,

其末端核苷酸含有3'-OH基团,其分子量为从正常细胞分离出来DNA的1/5或1/15。氯化铯梯度分析表明,受照射大鼠脾脏染色质的分解产物是脱氧核糖核蛋白的低分子部分。用聚丙烯酰胺凝胶电泳发现从600伦照射小鼠的胸腺细胞核所分离出来的DNA可划分成许多组分,相当于DNA经内源性或细菌的核酸酶处理后形成的碎片。在照后1小时可以发现DNA分解成一系列的碎片,而在2至4小时后低分子产物的量有相当的增长。实验表明,从小鼠脾脏分离出来的DNA具有相似的性质,而肝脏的DNA不能分成各个不连续的组分。

由此可见,在射线作用下,淋巴系细胞中发生染色质的崩解,它按照核小体降解的方式进行,形成脱氧核糖核蛋白的碎片,它的大小是染色质基本结构单位核小体的倍数。

但是诱导染色质发生崩解的原初过程仍不清楚。曾提出一些假设,认为这个过程可能是DNA的单链断裂和双链断裂,DNA-组蛋白间联结链的弱化,脱氧核糖核蛋白在无机磷酸盐影响下的解离,以及由于膜的屏障功能破坏而释放出脱氧核糖核酸酶对脱氧核糖核蛋白的攻击。但正如以后的研究所指出,上述一系列现象没有一个可以看成是间期死亡细胞内激发生化变化的最初原因。关于具有间期死亡特征的细胞内DNA修复系统存在缺陷的假设也没有得到实验证明。

在某些研究工作中证明,胸腺细胞照射后DNA结构损伤的修复及其降解的机理是不同的。DNA的降解在细胞照射后2小时开始,而此时断裂的重接已经完成。DNA的修复和降解这两个过程对RNA和蛋白质合成抑制剂的敏感性的不同说明了参与这两个过程的酶是不同的。

关于组蛋白从染色质组成中释放出来并对淋巴系细胞产生毒性作用的假设,后来未能得到证实。关于受照射细胞核内无机磷酸盐蓄积而影响脱氧核糖核蛋白解离的材料也没有得到进一步的证明。当时对于间期死亡时观察到的染色质崩解是一个酶学过程并无怀疑,但是它的始动原因并不清楚。

上述过程究竟是与脱氧核糖核酸酶的释放与活化

有关,还是因脱氧核糖核蛋白结构变化造成对酶的敏感性增高而引起,仍存在争论。分析多聚脱氧核苷酸的末端基团的性质表明,在受照射细胞DNA解聚中,脱氧核糖核酸酶起着重要作用。同时还有一些材料说明有一种能促使天然染色质中DNA横断成碎片的蛋白质因子在DNA降解中起作用。但是淋巴系细胞照后脱氧核糖核酸酶的活化一直得不到可靠的证明。只是在最近确定,照后胸腺细胞的脱氧核糖核酸酶的水平明显升高,其原因可能是重新诱导了酶的合成。企图发现DNA或脱氧核糖核蛋白的结构缺陷来解释其对脱氧核糖核酸酶敏感性的增高,在大多数情况下未获成功。认为脱氧核糖核蛋白降解的辐射化学机制中不需要酶参加的看法也是没有根据的。

总之,染色质的酶降解在淋巴细胞间期死亡的生化反应链中是一个必须的阶段。但是应当把它看成是更早期的结构代谢破坏的后果。

在研究细胞照射后遗传结构降解的分子机理的同时,对可能成为间期死亡始动机制的代谢障碍也开展了活跃的研究。对生物能量过程的研究最为详尽。大量的实验资料可概括成以下几点:

1. 电离辐射作用后即刻(15~30分)发生活跃的有氧醣酵解。
2. 这时线粒体和核氧化磷酸化受到抑制。
3. 照后2~4小时细胞内ATP含量及腺苷酸总量下降。

通常认为淋巴细胞核内环境酸化及细胞离子平衡失调是生能反应受抑的结果。曾经试图将受照射淋巴细胞中的代谢障碍与染色质降解过程联系起来。有人提出这样的假设:细胞内醣酵解产物(醛)的过量蓄积可以直接造成对染色质中DNA分子的化学性攻击,随之引起降解。在另一些工作中观察到ATP水平与脱氧核糖核蛋白降解显著程度之间有相应关系,这说明了在细胞低能势条件下脱氧核糖核酸酶被激活的可能性。

从生物能量过程对电离辐射的高度辐射敏感性可以设想在淋巴系细胞的能量保障系统的调节中存在决定性的弱点。一些作者认为淋巴细胞支持代谢反应稳定状态的能力是有限的。由于这种特点,一旦某些参数超出稳定水平的范围,就会使自身催化反应链迅速发展,导向分解代谢占优势。触动分解代谢反应链的原初生化变化是照射后葡萄糖转运的加强和醣酵解的活化,而这两个过程是在醣酵解产物的进一步转化、即氧化磷酸化的反应速度受限的基础上发生的。类似的代谢矛盾可以成为启动自身催化的分解代谢一系列

反应的信号。

Эйлуc对间期死亡的性质持有相近的观点。他认为:淋巴细胞的间期死亡是由于细胞内的膜结构不很发达,这些膜的基本功能是保持低分子化合物库的区域化。因此淋巴细胞不能对抗损伤作用所形成的非特异性的代谢变化,并由于低分子物质在分布上的微观不均一性受到不可逆的破坏而死亡。

因此,正在努力用细胞结构功能的遗传学的弱点来解释间期死亡。

在研究间期死亡问题时必须强调指出,电离辐射并不是具有溶淋巴作用的唯一因子。淋巴细胞的辐射死亡只是一般现象中的一个例子。在甾体激素、烷化剂以及其它化合物的作用下也发生类似的分子变化。Водолазская和Ермолаева指出“淋巴组织脱氧核糖核蛋白的降解是细胞受到不可逆损伤的结果,不论引起损伤初期作用的性质如何,都按着同一的机理发展”。

化学因子中,与淋巴细胞相作用的早期阶段最为人熟知的是甾体激素。激素进入细胞后与蛋白性质的受体形成复合物。它与染色质的特异位点相作用,产生决定细胞代谢性反应特征的因子。如果与糖皮质激素同时或数分钟后在细胞介质中加入放线菌素D或放线菌酮,糖皮质激素的作用就停止了。对激素作用的代谢性反应可能是由于细胞中葡萄糖转运的抑制以及ATP的缺乏。

根据淋巴细胞在各种损伤条件下代谢结构损伤的相似性,可以认为这些细胞具有特殊的分子结构,这种结构也可以看作是实现死亡的遗传程序的反应系统。在这个多级过程的第一阶段,损伤因子和细胞的接受结构间发生相互作用。

在第二阶段发生代谢改变,随着发生细胞能势的降低。第三阶段,遗传结构(染色质)降解的酶系统活化。最后这个不可逆的阶段是由细胞内的代谢情况造成的,代谢变化促进解聚酶的释放和活化,或者促使维护正常基因组稳定性的酶作用信号发生转变。

为了确定上述观点,必须回答以下问题:淋巴系统死亡程序的存在是不是以完成一定的生理功能为先决条件?在间期死亡与细胞以核结构消失而实现分化的遗传程序展开的分子变化间是否存在相似之处?

糖皮质激素影响淋巴器官分解代谢的生理意义在于这个效应参与形成机体抗应激反应。关于肾上腺皮质激素干预机体免疫反应途径的材料尚少,还不能具体解释糖皮质激素溶淋巴作用的生理意义。但是重要的是,这种作用是机体对外界应激力作用的正常反应。

众所周知,某些特殊的细胞(红细胞,眼晶状体细胞)在分化时发生染色质崩解和核的消失。随着细胞的成熟,DNA逐渐丢失,同时出现游离的3'-OH末端,并有单链断裂的蓄积。最近的研究指出,在小鸡晶状体细胞分化的最后阶段,DNA由一系列分子量大小不等的碎片构成,其长度犹如核小体中的DNA。Friend在研究白血病的红细胞分化的分子学机理时也得到了类似的结果。我们知道,在一系列化学和物理因子作用下,这些细胞会完全地转换自己合成血红蛋白的遗传程序,同时还伴有染色质结构的变化和部分降解。这时脱氧核糖核蛋白分解产物的分子学特征和染色质酶降解时的相同。由此可见,在细胞分化程序展开过程中,如同在受照射的胸腺细胞、淋巴细胞间期死亡中一样,染色质的分解按核小体间降解的机制进行。值得指出,紫外线、 $\gamma$ 射线和化学物质一样,也是有效的分化诱导剂。换言之,在射线引起的反应中也会启动分化的遗传程序,并伴有染色质的分解和核的消除。需要强调指出,在上述分化及淋巴细胞死亡的例子中极为相似的是:机体内完成细胞的特殊功能与核的崩解密切相关。在细胞分化的终末阶段,细胞失去了分裂的功能,然而继续完成其特殊功能。淋巴细胞在染色质降解、核消失后发生细胞溶解可能也是由它在机体内的生理作用决定的。上述材料证实了淋巴细胞对甾体激素、烷化剂及电离辐射作用的反应中启动了细胞死亡程序的论点。

现在进一步讨论,启动程序的机理是什么,DNA辐射损伤的作用又如何?如上所述,细胞与糖皮质激素相互作用,首先是形成激素与受体的复合物,然后与染色质的特异部分结合,将它变为转录活跃的状态。在辐射损伤时染色质的结构变化直接由射线引起。受体参加上述效应的可能性不大,因为对糖皮质激素敏感的淋巴细胞只是辐射敏感细胞群中的一部分。由于DNA链的损伤可能成为诱导RNA聚合酶反应的位点,很可能为实现程序所必需的RNA是按照位于放射造成结构损伤处的那段染色质转录的。也很可能,DNA链的断裂促进染色体的程序控制因素发生换位,这与免疫球蛋白成熟假说的机制相似。最后,也不能排除这种可能,DNA降解的最初产物(可能在化学变化之后)成为封闭基因组特定部位阻遏剂的对抗物。

总之,本文所探讨的学说与既往的概念不同,认为受照射的淋巴系细胞的间期死亡是启动了特殊遗传程序的结果。淋巴细胞不是那种具有脆弱的结构功能的细胞,因而与受有害因子作用后易发生损伤的细胞不同。淋巴细胞群的死亡取决于它们在机体内的生理功能。电离辐射能引起基因组结构的破坏,激发启动死亡程序。用这个学说可以解释高剂量照射下核固缩变化反受抑制的事实,看来这是由于辐射封闭了死亡程序的诱导阶段而引起的。

〔魏康译 葛忠良校〕

## 人遗传性细胞对射线和射线类似化学物的高敏感性问题的

〔池永满生:组织培养 5(6):3~10,1979(日文)〕

### 前言

在微生物界,自Hill 1958年发现对射线高敏感性的大肠杆菌变异株Bs-1开始,而后各种变异株也相继出现。这些发现对解释射线和化学物质引起的突变机制和DNA修复的分子机制起了很大的作用。经过10年后,1968年Cleaver阐明了人类一种遗传病——色素性干皮症(Xeroderma pigmentosum, XP)的患者细胞对紫外线有极高的敏感性,原因是由于其DNA对紫外线损伤不能进行切割修补。自那以来,已有数种对射线(广义)高敏感性遗传病的报告。随着今后研究的进展,一旦阐明其高敏感性的原因后,用这些细胞逐步阐明射线诱发突变、致癌、老化等损伤的机制将是很有希望的。

### X线高敏感性遗传病

1. 毛细血管扩张性运动失调症(Ataxia telangiectasia, AT)的细胞称为AT细胞,来源于患者皮肤的成纤维细胞。本病属常染色体劣性遗传病,患者开始是小脑性运动失调,其后发展到语言障碍。能在病人耳、颊部皮肤和球结膜上看到毛细血管扩张,其它皮肤症状是色素沉积和脱出,出现咖啡色素斑等。血液中能检出IgA、IgE值低下和淋巴细胞减少等免疫学异常。因此会频发呼吸系统感染,患慢性肺炎和淋巴网状内皮系统恶性肿瘤的AT患者多死于青春前期之前。

AT患者如患恶性肿瘤受放射治疗时,用普通剂量即能引起溃疡等严重反应,少数还会引起死亡。可