

胞克隆的产生。稳定性畸变能传递给子细胞,其每戈瑞诱发的数目与不稳定性畸变类型是近似相等的。但是,在癌与辐射诱发的染色体损伤之间,似乎不可能有直接的联系。

前 景

近来的一些发展,例如分化染色及其他一些染色

技术,自动分析和流体细胞测量学的研究,以及对于人淋巴细胞在机体内外动力学的更好了解,说明我们还没有到达辐射剂量学中染色体分析技术改进的终点。

(高沛永摘译 史元明 郑斯英 审核)

一些经过改进的辐射防护剂的生物学特点

Davidson DE等, Radiation Sensitizers 309~320页, 1980 (英文)

1959~1973年美国陆军医学研究和发展部发起一项抗辐射药物发展协作计划,目的是要发现一个药物或药物复方,在核武器袭击时给军队人员或其他人群服用,使他们在电离辐射作用时得到保护。在此期间化学合成和在小鼠中试验了约4400个化合物,绝大多数是氨基硫醇类。直至1973年,为了研究新药应用制备了5个化合物,对其中三个进行了有限的人体耐受量研究。

当1959年陆军计划开始时,在各种离体和整体生物系统中,氨基硫醇和诱发缺氧的药物的辐射防护作用很明显地表现出来。在整体中试验了约1500个化合物,200多个有防护作用,效果最好的是氨基硫醇类。从而假定它们是通过诱发缺氧以外的某种机理起防护作用的。有的认为这些硫醇化合物可以清除辐射诱发的自由基,也有的认为这些化合物与巯基受体部位相结合是它们的防护机理。业已确定,在氨基硫醇类化合物中,具有最好辐射防护活性的基本结构须有一个游离或潜在的巯基与含氮基团的间隔不超过三个碳原子。

在化学合成设计方面,探索各种遮盖巯基的功能,使在体内裂解释出游离巯基。此计划共观察了50个以上的化合物。其中,硫代硫酸,硫代磷酸,二硫化物和四氢噻唑的遮盖功能产生最有意义的化合物,并研究了各种取代物对含氮基团的影响。发现氮和硫的取代物都大大改变了化合物的辐射防护作用和药理作用。对碳链的2或3位上取代物的影响也做了研究,但受到很大限制,因为很少主链可以取代,而且也不降低或消除其防护作用。

MEA、AET和WR2721的辐射防护作用

从各方面来看陆军计划中最好的辐射防护剂是做WR2721的硫代磷酸化合物。它能保护X或γ线照射的小鼠,狗和恒河猴,对中性照射的小鼠也有防护作用。Yahas证明它对C57Bl/6J小鼠30天死亡率的剂

量减低系数(DRF)可达2.7。此外,实验动物对WR2721耐受量高得多,其治疗指数比早期的辐射防护剂有提高。WR2721的缺点是口服无效,这就限制了它在军队或其他人群中的应用。

Yahas证明WR2721保护各种正常组织,但不保护某些实体的动物肿瘤。这表明辐射防护剂可能用作放射治疗的一种辅助药,在一些机构正在进行临床前和临床试验。

在美国国立癌瘤研究所代表参加的一系列会议上,选出了另外5个化合物,它们对动物有充分的辐射防护作用,在有效剂量范围内能很好地耐受,可考虑在动物中作更详细的研究,其结构式列于表1。

在试验新化合物的相应条件下作了MEA和AET的试验。试验小鼠给以LD_{100/90}的辐射剂量,用250 kVp GE Maxitron X线机照射时,此剂量为800~850拉德,以⁶⁰Co或¹³⁷Cs γ线小动物辐射机照射时为950~1000拉德。动物用雄性和雌性ICR/HA系小鼠,体重25~30克。在进行照射实验前先做药物急性毒性试验,测出LD₅₀剂量,并观察毒性的主要表现。药物剂量以每公斤体重游离碱的毫克数表示之。

MEA的毒性LD₅₀,腹腔注射为200毫克/公斤,口服为700毫克/公斤。最大耐受剂量(以下用MTD代表)MEA对致死剂量照射的小鼠不能得到100%保护。使65%小鼠活存的药量有些毒性。MTD的半量防护效果低(15%活存),说明治疗指数低。MEA的另一特点是有效时间短,给MTD后1小时存活率仅为15%。口服给药防护效果很低或无效。

AET的耐受量比MEA大一些。给MTD时有时可100%活存。在作者的实验中,正达到毒性剂量时存活率为75%。MTD的半量(112.5毫克/公斤)存活60%,治疗指数稍有提高。四分之一MTD的存活率仅30%。照前60分钟腹腔注射225毫克/公斤AET,小鼠活存50%。口服给药的防护效果较好,250毫克/

表1

备选辐射防护化合物的结构式

化合物号	结构式与化学名称	
WR 2721	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$	S-2-(3-氨丙基胺基)乙基硫代磷酸
WR 2529	$\text{NH}_2\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{SH}$	3-(2-巯基乙胺基)丙酰胺p-甲苯磺酸盐
WR 3689	$\text{CH}_3\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$	S-2-(3-甲胺基丙基胺基)乙基硫代磷酸
WR 44923	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{H}_2$	S-3-(3-氨丙基胺基)丙基硫代磷酸
WR 77913	$\text{NH}_2\text{CH}_2\overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}\text{CH}_2\text{SPO}_3\text{HNa}$	S-(3-氨基-2-羟丙基)硫代磷酸氢钠
WR 168643	$\text{NaO}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{S}-(\text{CH}_2)_4-\text{S}-\text{S}-\text{S}-(\text{CH}_2)_4-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{S}-\text{ONa}$	4,4'-三硫代双丁烷亚磺酸钠

公斤时, 15分钟的效果最好(活存87%), 1小时或更长时间给药效果很低。

WR2721比MEA或AET的防护效能高, 有效时间长和口服效果较好。它也能更好地被耐受; 腹腔注射时 LD_{50} 为950毫克/公斤, 口服 LD_{50} 为1500毫克/公斤。腹腔注射MTD(600毫克/公斤), 二分之一和四分之一MTD时都有100%活存率, 八分之一MTD时仍可活存80%, 低于此剂量效果降低, 表明治疗指数有明显提高。腹腔给药的有效时间也大大延长, 注药后30分钟时已有良好效果, 1~2小时效果最高, 到3小时小鼠活存仍超过50%。口服700毫克/公斤剂量的防护作用也是在1~2小时最好, 持续到3小时左右。但大动物口服给药无防护作用。

静脉注射WR2721对狗和猴都有防护作用。对两种动物用了两种辐射源照射, NIH的van de Graaf加速器的X线和Triga Mark IV反应堆的γ线(中子对总剂量的贡献少于2%)。X线照射狗的 $\text{LD}_{50/30}$ 为350拉德, $\text{LD}_{50/30}$ 为450拉德。γ线照射狗的 $\text{LD}_{50/30}$ 为650拉德; 猴的 $\text{LD}_{50/30}$ 为850拉德。在狗中, 照前30分钟静脉注射200毫克/公斤WR2721, 其中一只狗中毒死亡, 活存的5只狗, 经450拉德X线照射后全活存。γ线照射前给150毫克/公斤WR2721, 16只狗活存8只。1000拉德γ线照射前30分钟静脉注射250毫克/公斤的6只猴全部活存, 但口服300毫克/公斤时无效。

WR2529的辐射防护作用

WR2529有一个游离巯基, 在氨基上有一个酰胺取代基。小鼠能很好耐受WR2529, 腹腔注射 LD_{50} 为1100毫克/公斤, 口服 LD_{50} 大于2500毫克/公斤。

显然它未被充分吸收, 口服防护效果很低。照前15分钟腹腔注射WR2529 MTD(900毫克/公斤), 可防护100%的小鼠。给MTD的半量和四分之一量时分别活存90和70%, 剂量更低时活存率就很低或无效。Yuhas等报告WR2529对小鼠的DRF为2.6, 在陆军的研究计划中此化合物仅次于WR2721。狗对WR2529异常敏感, 静脉给药仅能耐受150毫克/公斤左右, 尚未作防护实验。WR2529对猴和小猪都有防护作用。1200拉德γ线照射前15分钟静脉注射400毫克/公斤的6只猴活存2只。600拉德γ线照射前30分钟静脉注射300毫克/公斤的11只猪活存8只, 1只死于毒性。

WR3689的辐射防护作用

WR3689为硫代磷酸酯, 比WR2721多一个末端甲基。小鼠对WR3689的耐受比WR2721更好些。腹腔注射 LD_{50} 为1300毫克/公斤, 口服 LD_{50} 为1700毫克/公斤, 说明口服吸收好。MTD为800毫克/公斤, 给以半量(400毫克/公斤)可活存100%; 给四分之一和八分之一MTD时, 活存率分别为87%和47%。腹腔注射此药防护作用不如WR2721。尚未测定DRF。口服WR3689比WR2721有更多的优越性。口服MTD 1000毫克/公斤时, 最好的防护作用须过60分钟后才表现出来。服用四分之一MTD的量(250毫克/公斤)时, 防护效果仍有93%, 八分之一MTD时活存73%。400毫克/公斤WR3689使受650拉德γ线照射的5只狗活存4只, 但有4只死于药物毒性。300毫克/公斤时无中毒致死, 8只给药狗活存4只。未做口服WR3689对狗和猴的防护试验。

WR44923的辐射防护作用

WR44923也是硫代磷酸酯, 与WR2721不同的是

在氮与硫之间有三个碳而不是两个。腹腔注射时小鼠对WR44923的耐受量不如对WR2721大，其LD₅₀仅550毫克/公斤。照前15分钟给MTD和半量MTD可100%活存。四分之一MTD（75毫克/公斤）时活存80%，所以WR44923这个剂量的防护效价与WR2721差不多，但其治疗指数较低。腹腔给药时有效时间（2~3小时）与WR2721相似。口服WR44923的MTD（700毫克/公斤）在2小时内活存100%，4小时仍高于60%，其有效时间似比WR2721稍长。口服350毫克/公斤时防护效果不高。650拉德γ线照射前30分钟静脉注射200毫克/公斤WR44923的8只狗活存7只。

WR77913的辐射防护作用

WR77913是巯基丙胺的硫代磷酸酯，在中央碳上有一个取代的羟基。小鼠耐受WR77913非常好，腹腔给药时LD₅₀为1650毫克/公斤，口服LD₅₀为4200毫克/公斤，说明口服吸收很少。腹腔注射四分之一MTD（200毫克/公斤）可保护97%的小鼠，口服给药有一定效果，但即使1500毫克/公斤的高剂量

活存率也不超过67%。狗对WR77913耐受得非常好，并有很好的防护作用。给700毫克/公斤时使受650拉德γ线照射的16只狗活存14只。

WR168643的辐射防护作用

WR168643是一个没有含氮基的特殊化合物，它在体内是否释放游离巯基还不清楚。这个化合物在小鼠中的毒性尚未做完，只知道腹腔注射或口服LD₅₀高于950毫克/公斤。小鼠在照前15分钟给300毫克/公斤活存100%，给37.5毫克/公斤时活存率仍高达80%，18.75毫克/公斤时活存率为57%，其治疗指数显然很高。但其有效时间持续很短，无论腹腔或口服给药，到60分钟时防护作用已很低或无效。照前15分钟口服600和300毫克/公斤活存率为100%，给150毫克/公斤尚有73%活存。照前30分钟静脉注射WR168643使受650拉德γ线照射的9只狗活存4只，而3只对照狗活存1只。γ线850拉德照射前30分钟静脉注射200毫克/公斤的6只猴无一活存。

表 2 小鼠防护作用的摘要

化合物	保护>50%的 剂量(毫克/公斤)	毒性LD ₅₀ (毫克/公斤)	治疗指数*	防护作用 持续时间	DRF
腹 腔 注 射					
MEA	150	200	1.3	15分钟	1.6
AET	112.5	250	2.2	60分钟	1.6
WR 2721	75	900	12.0	3小时	2.7
WR 2529	225	1100	4.9	15~30分钟	2.6
WR 3689	200	1300	6.5	不详	不详
WR 44923	75	550	7.3	3小时	1.8
WR 77913	200	1650	8.2	不详	不详
WR 168643	18.75	>950	>50	15分钟	不详
口 服					
MEA	无效	700	—	—	—
AET	250	600	2.4	30~60分钟	—
WR 2721	700	1500	2.1	3小时	—
WR 2529	弱效	>2500	—	—	—
WR 3689	125	1700	13.6	不详(>60分钟)	—
WR 44923	300	>1200	>4	4小时	—
WR 77913	1500	4200	2.8	不详(>90分钟)	—
WR 168643	150	>950	>6.3	15分钟	—

* 治疗指数 = 毒性LD₅₀/保护>50%的剂量

表 3 对大动物的辐射防护作用(静脉注射)

化合物	狗	恒河猴
MEA	无效	无 效
AET	无效	有效(有毒性)
WR 2721	有效	有效(口服无效)
WR 2529	毒性大	有效(也保护猪)
WR 3689	有效	
WR 44923	有效	
WR 77913	有效	
WR 168643	有效	无效(低于MTD时)

最后作者总结和比较了上述化合物在小鼠和大动物中的辐射防护作用(表2和3), 并建议对陆军计划中发现的五个辐射防护剂做进一步研究。这些新化合物保护正常组织是否比对实体瘤组织更好些, 以及对各种辐射敏感的正常组织的保护程度都有待在实验动物中进一步比较观察, 以确定这些化合物是否可能应用于临床放射治疗。

(杜德林节译 朱王葆校)

短周期实验法比较人、小鼠、小鸡成纤维样细胞之间的辐射敏感性

Diatloff-Zito C et al, Int J Radiat Biol 39(4): 419~430, 1981 (英文)

不同种类动物, 包括啮齿动物, 常被用来改进肿瘤放射治疗的研究。但就临床实践而言, 一些动物模型是否适用, 却尚未得到明确证明。由动物外推到人的正确性也还有待检验。按每份额高能中子剂量函数的皮肤损伤来测定其对活体的r.b.e.的实验表明, 象人、小鼠、猪和大鼠等不同种类动物的反应是相等的。采用另一个方法, 即观察成纤维细胞群体培养物生命期, 作者业已证明细胞对电离辐射的反应依赖于细胞的种属。对小鼠成纤维细胞, 其永久细胞株的建立加快, 对小鸡第二期细胞则其生命期缩短, 对同期人胎肺成纤维细胞的分裂能力没有影响。

体外集落形成能力试验被广泛用于评价电离辐射在细胞水平的致死效应, 并用作比较研究。如人胎和小鸡等不同正常二倍体成纤维细胞株的存活曲线已经建立。但就作者所知, 还没有一个实验室把不同种类动物成纤维细胞用同一方法同时进行系统的研究, 以比较它们之间的放射生物学参数。

本研究目的是采用几个短周期方法, 包括集落形成能力(CFA), DNA单链断裂修复(SSB修复)和潜在性致死损伤修复(PLD修复), 来比较人、小鸡和小鼠未转化的成纤维细胞株的放射敏感性, 并探讨这些参数的相互关系。

材料与方法

1. 细胞培养: 将白来亨鸡胚的成纤维细胞培养于添加5%胎牛血清, 2%鸡血清和16μg/ml庆大霉素

的Eagle's MEM液中。人胎肺纤维细胞, MRC-5和HF-19, 以及新生小鼠肺成纤维细胞, 培养于含1%胎牛血清和16μg/ml庆大霉素的Eagle's MEM液中。

为了避免衰老引起生长能力下降, 小鸡和人体细胞分别在经过7和35次传代培养之前使用。鼠细胞培养物也在细胞显示衰老征象, 即出现自发性转化(约在该种细胞的第九次培养)之前使用。因此, 不同种属的细胞于不同的阶段使用, 每例都符合生命期的第二阶段。

2. 存活曲线: 预实验表明, 小鸡、人胚和小鼠肺成纤维细胞无性繁殖的能力是较低的, 并且随着培养密度的不同而变化。为了获得最大的无性繁殖能力, 我们采取了文献介绍的滋养细胞技术。在本实验中, 小鸡和小鼠培养物的细胞总密度(滋养细胞+待测生活能力的细胞)为 8×10^3 细胞/cm², 人的细胞培养物为 4×10^3 细胞/cm²。经5千拉德¹³⁷Cs γ线处理后失活的滋养细胞加入待测细胞中, 在室温下, 以86拉德/分的剂量率进行照射。照后培养瓶在含有5%CO₂的空气中孵育14天, 并在第七天更换一次生长培养基。固定培养物, 以结晶紫染色, 计数细胞含量在50个以上的集落个数。对照细胞群的培养效率, 人一般为60%、小鸡12%、小鼠1%。每一存活曲线各进行5~7次实验。

3. 潜在性致死性损伤的修复, PLD用来表示由