

辐射诱发肿瘤效应的研究

第七届国际辐射研究大会中国代表团成员 邓志诚

一、辐射诱发细胞恶性转化的体外实验

众所周知,研究辐射诱发肿瘤只靠整体实验是不可能圆满解决肿瘤病因及生长情况的。自1966年Borek首先提出X线照射能引起离体细胞恶性转化的实验以来,对这一课题已开展了广泛的研究。在过去十几年中已发现了一些合适的细胞系统,并不断改进了方法,为开展辐射对离体哺乳类动物细胞向恶性转化的研究提供了较为良好的条件。

(一) 用于体外研究恶性转化的细胞体系

目前适于作这方面研究的细胞体系并不多,这次会议共有8个实验室提出了这方面的研究报告。他们所用的细胞体系大多为地鼠胚胎细胞(HE)的原初或第二次培养物、小鼠C3H/10T_{1/2}细胞株、小鼠Balb3T3细胞株和取自自己分化的甲状腺培养物的细胞系。

(二) 不同因素引起的恶性转化效应

这次提出的报告中应用于转化研究的因子有X射线、γ射线、裂变中子、进入体内的同位素和紫外线,也应用了已知的可促进或抑制转化的因子。在细胞转化研究中,关于辐射的品质和剂量率这两个物理参数一直受到较多的注意。

Hill, Han和Elkind提出两篇报告的结果指出,当C3H10T_{1/2}细胞受到裂变中子的迁延照射,其恶性转化增加。甚至在剂量率为0.086rad/分,总剂量为2.6rad时即有明显增加,这时中子的RBE值约为50。当用0.85MeV裂变中子(4%γ污染)照射,剂量率为0.43和0.86rad/分时,也看到堆积细胞灶的出现率增加。他们认为这是由于倾向错误修复的过程增强而导致恶性转化。而在γ线迁延照射时的转

化率较低,在同一剂量下,剂量率为50rad/分,隔天分5次照射比0.1rad/分一次照完的诱发转化率还低,这种下降与亚转化损伤的无错误修复有关。

Doniger和Dipaolo发现紫外线对HE细胞诱发的转化,与事先以250rad X线照射或甲基甲烷磺酸盐(methylmethane sulfonate)的增大作用以及与嘧啶二聚体切除的变化无关,与复制后的DNA修复也不相关。Lemotte、Adelstein和Little研究了³H-胸腺嘧啶核甙和¹²⁵I-脱氧尿嘧啶掺入Balb3T3的小鼠细胞株的DNA后所诱发的细胞转化增加。研究指出,这些因子诱发转化的能力与其诱发细胞死亡的能力是相关的。¹²⁵I是双链断裂的有效转化剂,当它衰变时产生一个具有极高正电荷的子核¹²⁵Te。

Jonker等的工作指出受照细胞的DNA本身有可能引起转化。当游离的正常鼠肝DNA和由Maloney肉瘤病毒而转化的但不产生细胞的DNA用1Gyγ线照射时,可发现在被转变感染的HIH3T3细胞具有极高的恶性转化效应(与未受照只转变感染的HIH3T3细胞相比),提示辐射可能引起调节DNA碱基序列的失活而导致转化。

Barendsen提出在体外用各种剂量照射不同细胞类型而诱发的几种生物学变化(包括染色体畸变、形态转化和突变),如诱发细胞和分子损伤的原发机制相同,则剂量反应关系一般可描述为 $F(D) = a_1 D + a_2 D^2$ 。并得出几种看法:1,各种诱发的效应在不同细胞株间有数量的不同,差异可至10倍之多;2,X线和中子诱发转化的 a_1 值比诱发生殖死亡的 a_1 值约低50~1000倍。

（三）不同因素对细胞转化的改变作用

上面着重介绍了不同辐射类型和照射方式对细胞转化的作用。在日常生活中，人们暴露在各种不同的物理、化学和生物的因子中，它们对毒性和致癌方面可产生加合的、保护的、独立的或协同的作用，其相互作用相当复杂。

Balcer-Kubiczek、Harrison 和 McCulloch 研究长期用低剂量微波照射（2450MHz）C3H/10T_{1/2}对BP诱发转化的反应。BP剂量在0~12.5μM时，可看到诱发转化的明确剂量相关公式： $Y = 0.572 + 1.0353X$ 。然而微波不产生转化作用，也不能增加BP诱发的细胞转化。

Dipaolo、Doniger和Evans用小鼠胚胎克隆细胞系研究2-Phorbol酯衍生物在体外研究中增高辐射引起的恶性转化作用。此外，他们也研究抗癌剂和表面激活剂对促癌的抗性作用，实验结果证明自300rad X线开始，诱发转化明显增加，并与促癌剂的剂量有关。这种促癌剂的促进作用，甚至在照后2天加入也可观察到。

Tarasima等的研究结果指出，改变细胞内部对转化反应的因素是重要的。10T_{1/2}细胞在平时相时受到3.73Gy X线照射，即用胰酶消化，记录它们在8周后的转化。发现当缺乏血清时转化率降低，在有血清时，则可因血清种类不同而影响辐射诱发的转化率。

Hall等的研究结果提示，超氧化物歧化酶能抑制10T_{1/2}细胞和地鼠细胞的转化，它在转化后期表现出的最大效应与二甲基亚砜（DMSO）有些类似。

（四）体外研究细胞转化的新方法

在迫切希望阐明辐射诱癌各种机制的同时，人们一直在寻找新的、可以定量和定性地研究肿瘤发展的新方法。那些受放射性同位素掺入后在整体情况下诱发转化的靶细胞是有重要意义的。Carmel Mothersill等发现绵羊已分化的甲状腺组织培养物对辐射反应比较敏感，并在受2.5~10Gy γ线照射后显现出转化的表现型。这一方法可作长期培养的研究，并保持了亲体的许多分化特点。另一种意义还在

于儿童头、颈部受照常与甲状腺癌发生有关，这也是放射性碘特异作用的地方。这一方法既提供了辐射诱发甲状腺细胞恶性转化机制的研究，也为辐射治疗甲状腺的可能效应的研究开辟了道路。

二、不同组织诱发的肿瘤

只在体外研究辐射诱发正常组织的恶性转化是不能解决辐射诱发肿瘤这一复杂问题，必须同时开展辐射在整体诱发肿瘤的研究才能比较完善地解决这一问题。尽管到目前为止作了大量的研究工作，但仍包含着相当大的不确定性。

（一）关于辐射在组织中诱发肿瘤的特点

Covelli V等在Lawrence Berkely 实验室用各种不同LET的辐射，250kV X线（0~7Gy）或快堆的裂变中子（0.17~2.14Gy）照射老年小鼠（19个月以上）。初步结果认为网状组织细胞肉瘤（RCS）并不因照射而增加其发生率，但可加快其出现和发生。对中子照射所引起的特殊器官的肿瘤也如此。

Bentvelzen P和Broerse等的工作指出，大鼠正常细胞的DNA中含有部分相似于小鼠乳腺癌病毒基因的DNA序列。在辐射诱发的几种大鼠乳腺癌中没有发现小鼠乳腺癌病毒（MuMTV）的表达，这是因为MuMTV的有关DNA序列在辐射诱发的乳腺癌中不起作用。而且中子照射感染的大鼠后，用固相放射免疫分析法可测得在血浆中存在MuMTV的抗体。但有人认为，小鼠乳腺癌病毒在诱发大鼠乳腺癌过程中的作用仍未被证实。

（二）不同部位诱发的各种肿瘤

更多的实验资料证明电离辐射能单独引起肿瘤。

1. 乳腺肿瘤：荷兰TNO放射生物学研究所的Broerse等进行了大量实验，用三个品系大鼠（WAG/Rij、BN/BiRi、Spague-Dawley），切除及不切除卵巢，给予及不给予雌激素，用3种能量（0.5、4和15MeV）的中子和X线照射，发现①当用0.5MeV中子或γ线

照后95周, WAG品系出现有意义的乳腺癌发生率, 最大的RBE值为14; ②剂量发生率方程以log-log作图较为合适(图1), 指出在不同剂量水平有近乎恒定的RBE值; ③0.25Gy的0.5MeV中子一次给予与在10个月内按等分(0.025Gy)给予, 在WAG大鼠诱发同样发生率的肿瘤; ④诱发的三个品系的良性乳腺肿瘤的中子与X线的RBE值则为5~15。

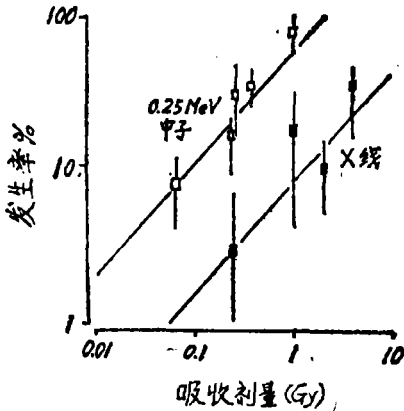


图1 WAG/Rij大鼠乳腺癌的发生率

Van Zwieten研究了上述实验大鼠的乳腺病理学, 发现自发的乳腺纤维瘤以Sprague-Dawley最高, WAG大鼠有19%的自发乳腺瘤, 而其他两品系则没有。电离辐射能增加三个品系中的纤维腺瘤发生率, 但不增高一般腺瘤发生率。照射后最早发生乳腺瘤的为Sprague-Dawley大鼠, 可在照后50天出现; 另外两个品系则出现较迟, 大多数都是在照后一年才出现。应用雌激素和辐射诱发乳腺肿瘤(TNO)证明, 大鼠乳腺肿瘤发生部位与人相似, 从细胞组织学变化来看, 动物更明显, 而人的临床征候则表现得严重(浸润、转移等)。

Stone等正在研究醋酸视黄醇(retinyl-acetate)-维生素A对大鼠乳腺肿瘤发生的可能抑制作用。证明0.45mM/公斤饲料在辐射和化学物(DMBA)作用后500天内, 确实有抑制乳腺纤维瘤和乳腺腺瘤的作用。日本Yokoro等的文章则涉及激素对辐射诱发大鼠乳腺肿瘤发生过程的改变作用。橡树岭

Ullrich和Either用 ^{137}Cs 和7,12-二甲基苯蒽(DMBA)作用于BALB/C雌性小鼠, 引起其乳腺肿瘤增加, 可由所用的剂量和剂量率决定。

2. 造血组织的肿瘤: 在白血病的研究方面, 有日本Bessho等人的工作。RFM小鼠一次受3Gy全身X线照射后4~11个月内, 有24.5%可出现明显的髓性白血病。这类白血病的2号染色体缺失超过90%, 这是由于造血干细胞的异常增生和分化造成的。其机制可能包括造血干细胞的转化, 有潜在致白血病能力的细胞(PLC)形成(3Gy后18~227天)与白细胞的过量繁殖。PLC的增殖导致白血病的发展。

Okumoto的报告是NFS小鼠受分次全身X线照射后白血病发生前及发生期间的内源性C型病毒和病毒有关成分的表达。白血病组织是不被病毒感染的, 尽管含有较高特异性的RDDP(依赖于RNA的DNA多聚酶)活性。

Houben-Defresne等报道了胸腺哺育细胞(Thymic nurse cells)对辐射诱发C57BL/ka小鼠淋巴瘤发病过程中的作用。总结得出, 白血病治疗后的TNCs耗尽似乎是引起胸腺淋巴细胞形成紊乱的原因, 而胸腺淋巴细胞形成的功能对肿瘤发生过程有特异的作用。Sato用射线照射两性的C57BL/6小鼠, 发现年青受照小鼠的淋巴瘤发生率更高, 雌性小鼠出现的淋巴瘤比雄性的多。

3. 其他肿瘤: Burns和Albert等报道了用单次剂量局部照射皮肤后, 约10周出现皮肤癌, 数据宜于拟合 $Y(D, t) = f(D) \times g(t)$ 公式(D 为辐射量, t 为开始照后的时间)。Griem等总结了因治疗胃溃疡而受照射的2076名病人的资料, 发现因胃肠道肿瘤而死亡的人数增多(共201人)。比较引人注意的是Martell关于吸烟者受 α 辐射而诱发支气管(肺)癌的工作, 并提出新的假说, 即 α 辐射诱发支气管癌的多阶段过程, 包括DNA转化的两个阶段和恶性化生前的细胞增生阶段。

许多作者认为, 辐射诱发肿瘤的敏感性与年龄有关的这种设想是有根据的, 而且不同器

官的年龄依赖性的变化较大。Ratford和Albert特别强调整体实验诱癌的多阶段性。

三、体内结合的放射性同位素的致癌效应

应用的同位素以超铀元素为最多,其次是裂变核素 ^{90}Sr 及锕系元素中的镅和钷等。所研究的生物学终点有寿命缩短、死因分析及诱发肿瘤效应三个方面。大部分作者研究的目的在于确定诱发肿瘤发生的剂量效应曲线,以便在对各种不同核素和各种动物间作比较的基础上,对人的致癌危险作出较合理的外推。

(一) 肿瘤的诱发

苏联研究者Moskalev等研究了 ^{238}Pu 与 ^{240}Bk 在雌性大鼠体内的分布及其生物效应,证明主要分布于骨骼与肝脏。 ^{240}Bk 不引起外周血象的变化,而 ^{238}Pu 则引起白细胞下降(为对照组的20%)。诱发的肿瘤主要为骨肉瘤,其他则为造血组织和淋巴组织肿瘤以及良性的乳腺瘤。Wrenn等给116只小猎犬静脉内一次注入 ^{226}Ra ,诱发的肿瘤主要为骨肉瘤。因癌而死亡的骨中Ra的平均剂量为35~19000rad,剂量反应以拟合线性无阈公式为宜,发癌率为0.033%/rad。

Volf将上面两篇文章的资料综合在一起,拟合出诱发动物骨肉瘤的剂量效应曲线(图2)。发现若把 ^{240}Bk 在低剂量处诱发的骨肉瘤率这一点去掉,对大鼠和狗分别从0剂量到1500rad和到2800rad的范围内,得到有适度良好的直线,直线通过原点,发癌率为

3.4%/rad。Volf又指出,当狗的肿瘤发生率达到100%时,在相同剂量下大鼠则发生50%。而 ^{238}Pu 在同一种动物诱发骨肉瘤的效应上比 ^{226}Ra 约高1倍,因此可将Pu诱发大鼠骨肉瘤的发生率与Ra诱发狗的骨肉瘤的数据拟合到同一条直线上。

McClellan等用 ^{90}Sr 诱发狗的骨肉瘤的实验对人作了危险估价。狗受 ^{90}Sr 照后致骨肉瘤的危险值因照射水平而不同,相当于已报道的 ^{226}Ra 的危险水平的1/3~1/25。这样对人骨肉瘤的估计为0.008~0.07/10⁶人·rad⁻¹年。

Müller等的实验在阐明肿瘤诱发机制上有一定的意义。他们用 α 和 β 核素复合作用于小鼠,发现两者有协同作用。单个核素作用时, ^{227}Ac 诱发骨肉瘤为8%, ^{227}Th 为36%,结合后作用700天时为62%。作者认为较高的初始剂量及剂量率与起动事件有关,其后的长期低剂量辐射,则起到促进阶段的作用。

(二) 肿瘤的性质

Busch等用光学显微镜,透射和扫描电镜重新分析了氦及其子体诱发大鼠的一系列肿瘤,确证全部为支气管-肺泡肿瘤。

Taylor等研究了给狗注入 ^{238}Pu 和 ^{241}Am 后的效应,当剂量低于50rad时就观察到增生过盛或再生结节的明显增高,但不能确定与癌的直接的关系。整个实验结果是肝肿瘤(特别是胆道型肿瘤)明显增加,这与肝细胞过度繁殖有关。因而作者指出肝脏不是辐射抗性器官。上述放射性核素引起另一种肿瘤为骨肉瘤,由于肝癌潜伏期短而先出现。他们还确定人的骨骼对辐射诱发骨肉瘤的抗性约为狗的6~50倍左右。

四、肿瘤的流行病学和危险估价

从人群中研究电离辐射直接诱发肿瘤发生的规律,无疑是一种最直接的方法,而且更易得到较可靠的危险估价,比从精确的动物实验数据外推到人要可靠得多。然而大量的人群是在受极低剂量率的天然本底照射,要得到可信的数据则需调查惊人数目的个体。因而研究者

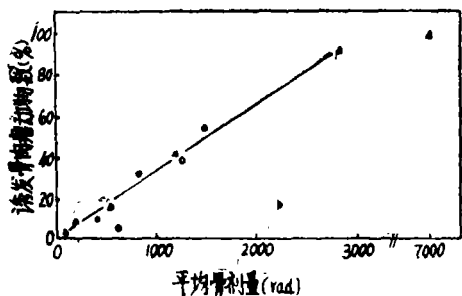


图2 掺入放射性核素诱发骨肉瘤的发生

○ ^{240}Bk 大鼠 ● ^{238}Pu 大鼠 ▲ ^{226}Ra 狗

一直把对人群诱发肿瘤的研究集中在下列几个主要群体,

(一) 对受辐射治疗者的随访

已知有不少肿瘤是用辐射进行治疗并易得到较好的治疗效果,但辐射治疗往往可引起其他类肿瘤的发生。Boice和Day报告的受射线治疗子宫颈癌的妇女发生在其他类肿瘤的结果是颇有意义的。共研究了181,000名妇女,约96800名为侵袭性子宫颈癌,84300名为原位性肿瘤,96800名中,82600名接受过辐射治疗。对69000受辐射治疗妇女随访时间超过1年,发现有3334名(或4.8%)发展了其他类肿瘤,而予期值则为3036($P < 0.01$)。而肺、膀胱、性腺和小肠的肿瘤相对危险为2倍多。治疗后10年开始有升高,到25年则明显增加。

Colman和Peckham报道了1963~1978年730名与Hodgkin疾病有关的其他类恶性转变,这种恶性变以急性髓性白血病(AML)为主,也包括其他部位肿瘤,但只有AML才有显著的增加,原因可能与所用的治疗方法(辐射+化疗)有关。但Hodgkin病本身及治疗过程能引起免疫受损,从而增加了其他类肿瘤发生的可能性。

Chiachierini RP等综述了 ^{131}I 和X线治疗诱发甲状腺癌的危险。文章指出,X线诱发甲状腺癌危险是肯定的,而 ^{131}I 在这方面作用则仍未肯定。以前的临床和实验动物资料表明,X线诱发甲状腺癌的能力远比 ^{131}I 高。Lee.W等证明 ^{131}I 和X线诱发大鼠甲状腺癌的剂量效应函数在0~10Gy间是一样的。Chiacchierini在综述了各种结果后,认为Lee等的结果似乎与目前对人的流行病学研究和临床观察相一致。尽管目前还缺乏人的 ^{131}I 诱发甲状腺癌的定量资料,但认为 ^{131}I 引起甲状腺癌的危险比X线小的论点根据不足。Ratford等在其研究中使用两个群体,妇女群体受高于本底3倍的 γ 线长期照射(铀矿废物)引起甲状腺腺瘤和结节增加,但仍不能确立剂量效应关系;而在儿童群体,则这种效应更为明显。

(二) 与原爆有关的受照人群的调查

Lessard等扼要叙述了他们对重新回到受落下灰污染的Rongelap和Uterik珊瑚岛上居住的居民可能受过量照射所进行的前瞻性研究。认为他们接受的甲状腺剂量可能比以前报道的还高4倍,成年人的甲状腺危险与BEIRⅡ号报告的给出值相符,引起儿童甲状腺结节的机率也会有增加。Dobson和Straume的文章对广岛、长崎两市新的剂量估算不同于T65D的结论用新的流行病学及细胞遗传学的资料证明:1.对原子弹幸存者用新的剂量学资料表明,低LET的致癌危险与以前考虑的无显著不同;2.广岛的中子剂量可能太低以至不能提供人的中子效应的有意义数据;3.如过去的广岛中子剂量比现在高5倍,则以前原爆幸存者和其他放射生物学间在数据上的明显差异会协调起来;4.如这些可能的一致还不能使人信服,则可能是由于数据的不确定性,它将有助于促进正在进行的剂量估计。

电离辐射是妇女乳腺肿瘤的主要危险诱因。Tokunaga和Land等对原爆受照妇女进行详细调查得出如下看法:1.辐射剂量与乳腺肿瘤发生率之间的关系为直线模式,而且在两个城市间的差异不大;2.辐射有关的乳腺癌危险与10岁以下受照有关;3.随年龄增长乳腺癌的相对危险则下降;4.各种年龄特异的乳腺癌发生模式受照与未受照妇女都一样;5.辐射诱发的乳腺癌在形态上似乎接近于其他原因诱发的肺癌。

Yamamoto等调查了1950~1977年原爆存活者胃癌的发生率,发现1.对性别和年龄进行修正后,只有高于200rad组的胃癌有明显增加,大多数发生于受照时年龄低于30岁以下者。100~199rad组只在受照时年龄低于20岁以下者的胃癌才明显增加;2.剂量效应呈线性,危险估计为 $1.2/10^6$ 人·年/拉德;3.潜伏期长,经18~32年才出现增加;4.胃癌发生部位与对照组相同;5.对照组和低剂量组主要为分化型胃癌,而高剂量组则为不完全分化型的。

Dennis Robinette和Seymour Jablon

对15214名参加核试验者的辐射效应进行了调查,除以前Caldwell曾报道过核爆后即作烟云取样者的白血病发生率有增加外,其他一般参加者未发现有此现象。到目前为止,对所观察到的死亡率和死因分析研究表明,参加者的死亡率比预期值还低,而死因分析也未发现与对照组有明显差别。

(三) 职业受照群体的调查

Placek研究了住房中(特别是冬天)氡对大量人群的辐射危险估计指出,捷克与美国矿工肺癌的研究结果比较一致,用这两个结果可计算出每单位剂量诱发肺癌的危险为2.0~4.0肺癌/10000人/1WLM。1968~75年的新矿工组在10年内的肺癌发生率与预期值差不多,这主要是由于氡子体照射减低20~30倍,累积剂量照射下降了20~47倍,每人每年暴露

量低于1WLM。

Hofmann和Katz对照射的粒子束流与致癌关系提出了一些令人注意的看法,他们强调在辐射诱癌的剂量效应模型时的辐射物理学原则,提出两个阶段模式对肿瘤诱发概率可作出估计。即始发阶段的概率是恶性转化的概率,而促癌阶段的概率则取决于生物因素的变化,如对骨肉瘤的促进则取决于骨质重建的速度等。

由于肿瘤病因学,发生和发展都有相当大的复杂性,大部分工作还是描述性的,定量关系的研究还不多。因而就目前大会所提出的资料,要从辐射诱癌病因学(分子、细胞和整体水平),剂量-效应关系(特别是低剂量低LET照射)及如何改变其发展(癌前阻断)等方面得到明确的规律性和肯定的结论还为时过早,还需广大的辐射研究工作者共同的努力。

辐 射 生 物 学 研 究 进 展

第七届国际辐射研究大会中国代表团成员 罗祖玉

细胞内DNA损伤与修复

1. DNA单链断裂(SSB)、双链断裂(DSB)动力学与重接

单链断裂动力学(以仓鼠细胞CHO为材料),不同时相的大鼠肝细胞SSB重接时间有区别, G_0 5hr, G_1 50', S 37'。

以Kohn氏法测定了增敏剂 Misonidazole(以下简称Miso)在低氧($<20\text{ppm O}_2$)条件下对CHO细胞DNA损伤与修复的影响。

人的成纤维细胞DSB修复大于V79细胞。在较高剂量时, V79细胞有一个持续4小时的快的初始修复以及慢得多的一个修复。与Setlow氏的“短型”及“长型”修复相一致。

以DSB修复作为 α 粒子RBE的决定因素,发现:(1)无DSB修复, RBE低(1.6),与剂量无关;(2)当DSB修复发生时, RBE

与剂量有关;(3)随DSB修复的逐渐增加,某存活水平的RBE值逐渐增大(直至7)。

高温使X射线导致的 L_{1210} 细胞的DSB修复下降。在白血病细胞中观测了DNA链断裂慢修复的动力学。

染色质结构可以影响酶切(微球菌核酸酶 micrococcal nuclease DNase I) DNA, 因而涉及SSB的重接。

人们观察了 ^{137}Cs γ 射线30Gy处理CHO细胞,其SSB的氧增比(OER)为4.3,而修复速率与程度在氮、氧中是一样的。

2. 病毒DNA作为生化探针

以双链DNA病毒SV40病毒为例,采用下列步骤,即以SV40受照射后感染细胞,分离核,再提取病毒DNA,琼脂糖胶电泳,原位杂交(Southern blot)技术,以 ^{32}P 标记的具切口的SV40DNA与之作DNA杂交,从自