

# 辐射诱导细胞转化中的修复机理

Elkind MM et al, In "Radiation Research, Proceedings of  
7th International Congress of Radiation Research", 33~42, 1983 (英文)

虽然培养的哺乳动物细胞用于辐射效应研究已有三十多年,但成功地用于研究辐射诱发肿瘤转化却只有十年左右。这种研究一出现,就必须看作是一个巨大的进步。因为它首次使得以前尚不能进行的机理研究得以实现。显然,不能指望用培养的细胞在各方面都模拟体内细胞,但可用它去验证一些很难用动物追踪的问题,这些问题也难于用流行病学技术去有效地寻求答案。

## 检验体系

1973年 Charles Heidelberger 的实验室引入了  $10T^{1/2}$  细胞体系。这些细胞来自 C3H 小鼠胚胎,当其贴壁生长时,外观上像成纤维细胞,而且具有接触抑制或贴近限制性生长的特性,即当某一容器的生长表面由单层细胞复盖时,就会引起分裂停止。转化的细胞的形态学特征是在成片的单层细胞上过度生长的细胞集落,而且有两种这样的细胞在接种到经适当处理过的 C3H 小鼠体内时,能产生纤维肉瘤。因此就能测出起始因子(如电离辐射)对细胞的转化作用,而且能以每个受照细胞的出现率或每个活存细胞的出现率来表示。只有当细胞杀伤显著时,这样两种概率表达之间才有明显差别。

$10T^{1/2}$  细胞生长的细则和用这些细胞实验取得的数据分析已作过报导。这里要提请注意的只是所有的实验都是用活跃生长的非同步细胞进行的。 $10T^{1/2}$  细胞的迁移性有助于保证它们不会局部过密。因此,我们的结果反映了在处理开始时和处理过程中处于活跃增殖的细胞的特征。与其它人采用的方法相反,我们所用的供接种的培养细胞并不密集,而且生长活跃。

## 高剂量率 $\gamma$ 线一次照射的转化作用

$10T^{1/2}$  细胞受到高剂量率的低 LET 辐射,如  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  线照射后,其存活曲线是典型的,和其它有修复能力的细胞株所观察到的相同。转化作用的数据用同一培养物得到,它表明:(a)自发转化率为  $\sim 1 \times 10^{-5}$ ;(b)当以每个受照细胞作图时,转化率上升到一个最

大值;(c)在剂量高于转化率最大值时,转化作用曲线平行于存活曲线;由(c)点我们推论,潜在的转化细胞受 $\gamma$ 线杀伤的敏感性与非转化细胞相同。由于用裂变谱中子得到类似的结果,因而有理由认为潜在转化的细胞和非转化的细胞受电离辐射杀伤的危险度是相同的。由于两曲线最终的斜率相等,因此去除细胞杀伤的影响就能使转化率成为一条带坪区的曲线。 $\gamma$ 线的坪区转化率为每个存活细胞  $3 \times 10^{-3}$ ,裂变谱中子为  $6 \times 10^{-3}$ 。对 $\gamma$ 线来说,坪区可能反映了细胞周期中各期细胞的转化率相同并且都达到了最大值,或反映了随周期时相而变化的转化率,或反映了这些可能性的组合。虽然解决这个问题需要用同步化细胞进行研究,但我们倾向于采用细胞周期时相依赖的概率。因为对杀伤和突变来说,已知细胞周期各时相的细胞的反应不同。无论对 $\gamma$ 线来说是多么正确的解释,也不能在所有方面都适用于裂变谱中子,因为前已提及,后者的坪区比前者高2倍。

## 与剂量率的关系

为研究修复过程在转化作用中是否起作用,人们用 X 线和裂变谱中子两者进行了高剂量率分割照射实验。已获得的结果表明,在两次低 LET 辐射之间,细胞能修复亚有效转化和亚致死损伤,但高 LET 辐射时不能修复。为进一步检验这些结论,进行了 $\gamma$ 线和裂变谱中子的低剂量率实验。用 $\gamma$ 线照射时,当剂量率依次从 100 减少至 2.5, 0.5 和 0.1 拉得/分时,存活曲线进行性上移。相反,当裂变谱中子的剂量率从 10.3~3.8 拉得/分逐渐降为 0.43 和 0.086 拉得/分时,存活曲线实际上没有变化。此结果与高剂量率的分割剂量所观察到的结果一致,即用 $\gamma$ 线照射时,分两次照射使存活率有显著增高,而用裂变谱中子时,基本上无变化。

我们就上述剂量率的极端情况画出了相应的转化率图,能清楚地看出,与 $\gamma$ 线相反,减小剂量率对裂变谱中子照射有质的影响。

## 转化作用损伤的修复和误修复

为了充分地讨论低和高LET辐射的质的差异, 我们首先介绍了一个生物物理模型来阐明用 $\gamma$ 线得到的结果。图1表示这一模型的基本要素。

1964年Gray提出辐射诱发肿瘤起自两种过程之间的竞争。第一种过程是潜在转化的细胞随剂量而增加, 第二种过程是细胞的杀伤随剂量而增加。按照Gray的设想, 对一定类型的肿瘤来说, 净效应是一条先上升至最大值, 然后下降到接近零的诱变曲线。

Gray把他的模型用于Upton等用小鼠诱发髓性白血病的实验数据。Gray发现, 用一个简单的剂量幂函数乘以适用于多靶单击存活曲线(即一种肩型曲线)的方程, 就能很好地拟合白血病数据。这样, 用Gray模型可预测出肿瘤发生是一种钟形曲线(当使用双线性座标时)。Mole等也报导了小鼠诱发髓性白血病为钟形诱导曲线。他们也发现, 用适用于诱导曲线的剂量多项式乘以一个或多个适合于常规存活曲线的表达式, 就可以拟合他们的结果。

正如Mole所说, 肿瘤的表达除细胞的起始作用之外, 很可能为宿主的进行性变化所影响。这些变化中, 免疫防御可能起作用, 而且如果起作用, 它们的效率可能与剂量、剂量率和射线的质相关, 在全身照射时更是如此。由于这种原因和其它可能的因素, 这种肿瘤发生的钟形曲线的形状可能发生改变。

在图1中, 上图表示预计到的存活曲线移位, 下图指出转化率如何变化。下图的纵座标是每个受照细胞的转化率。如果假定敏感组织由一定数量的细胞组成, 其中至少有一个细胞发生转化, 那么转化曲线应该是钟形的(下面的虚曲线)。这些表现有细胞杀死渐进效应的曲线可以转换成一条不带细胞致死的诱导曲线[标有“高 $D'$ (-杀伤)”的虚线]。

要预测亚致死损伤修复单独对每个受照细胞净转化率的影响, 只需用低剂量率下的存活曲线去修改不带细胞杀伤的诱导曲线就可以了。

图1左下图中的实线就是所得结果。由此可以推导出下面的一般判断: 如果在低剂量率下, 亚致死损伤的修复是改变转化率的唯一过程, 那么净诱导曲线将受到左下图中两条虚曲线的约束。适合这一点的必不可少的生物物理基础是, 为了表达这种转化了的状态, 一个细胞必须是活的。

图1右下图, 我们研究除了亚致死损伤修复外, 如何去证明亚转化损伤的修复。亚转化损伤的修

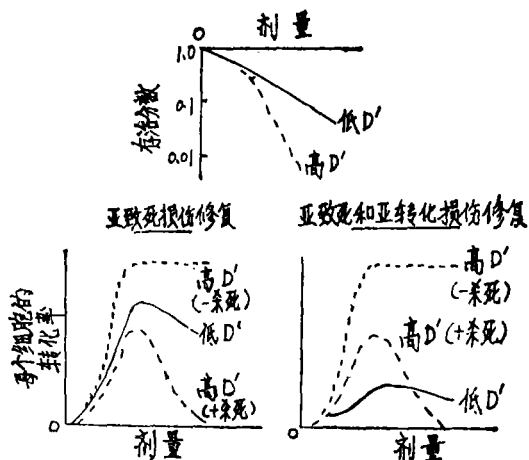


图1 亚致死和亚转化损伤修复的复合效应模型。  
 $D$  = 剂量,  $D'$  = 剂量率。

复应引起每个受照细胞净转化作用下降。如果这种修复程度足够大, 那么在小到中等剂量范围内转化曲线就会在高剂量率的曲线以下。但在高剂量区域, 亚致死损伤修复的影响可能大到足以使净转化作用保持在高剂量率观察到的转化作用之上。其结果如图所示, 低剂量率下的转化曲线与高剂量率下的曲线相交。与高剂量率下的转化作用钟形曲线相比, 低剂量率下的曲线变宽了而且最大值减小。我们预测在极限情况下, 低剂量率下的曲线会变成一条水平线。

## 降低 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线剂量率时的净转化作用

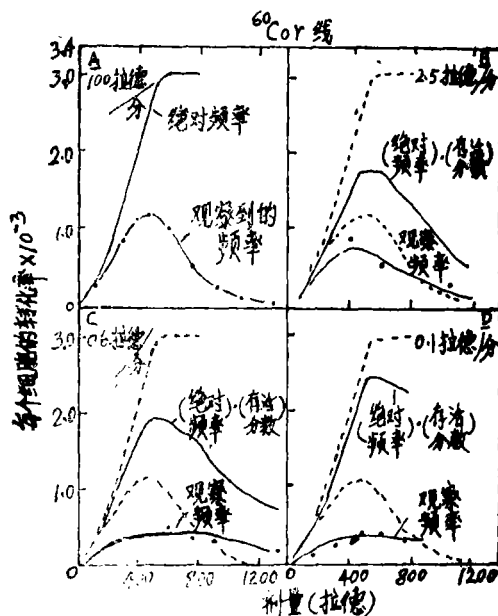


图2 受不同剂量率 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线照射的每个 $10^4$ 细胞的转化频率。

使用渐次降低的剂量率, 测量了转化诱发生存率随剂量的变化。图2中的A表示转化数据。“绝对频率”曲线是由下方的曲线逐点除以相关剂量的存活分数而得到。在B图中, 标有“(绝对频率)·(存活分数)”的曲线表示由于在2.5拉得/分照射下存活率的增高, 而所观察到的每个受照细胞的转化频率则由通过黑点的曲线表示。C和D图表示如果只是亚致死损伤的修复影响净转化率, 那末推算出的曲线和通过观察转化率得到的曲线之间的间距会进行性增大。

### 低剂量 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线长期照射时的净转化作用

图3比较了100拉得/分和0.1拉得/分时诱导曲线的起始部分及彼此间隔24小时的5次高剂量率 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线照射的效应。图中每条线都是很好的直线。尽管高剂量率曲线是“单击”线性剂量相关的, 然而很明显, 曲线斜率的陡度与剂量率及多剂量拖延有关。我们由图

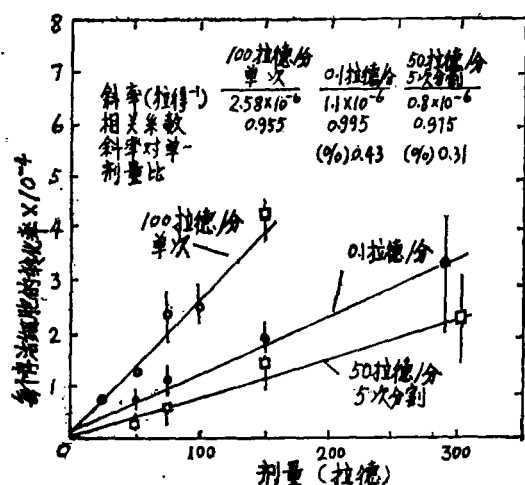


图3 不同剂量率的 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线和一日5次分割 $\gamma$ 线照射, 总剂量在起始低剂量范围内时,  $10\text{T}^{1/2}$ 细胞的转化率比较。误差为标准误差。

中的结果推断, 甚至在低LET诱导曲线的所谓“单击”范围内, 细胞也能修复亚转化损伤。这一结果事实上与放射生物学理论是一致的。

### 裂变谱中子与 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线的净转化作用

裂变谱中子剂量率的减小与 $\gamma$ 线相比有一种性质相反的效应。更新的结果表明在零和10拉得(剂量率 $0.086$ 拉得/分)之间的中子诱导曲线是直线, 其斜率比高剂量率中子起始部分的斜率陡9倍左右。用高剂量率中子每日多次分割照射, 诱发的转化率与低剂量率曲线一致。因此, 裂变谱中子引起的亚有效转化损

伤显然受到误修复的影响。另一种解释是, 一些通常得不到表达的损伤表达出来了。

由于裂变谱中子束的有效LET相当高, 因此在小剂量区域内必须考虑能量吸收的微量剂量学。在小到1拉得的裂谱中子剂量下, 转化的诱发也可能涉及多个初始吸收事件。

### 提要、结论和推测

我们用低和高LET辐射所得的数据与体内得到的结果性质上是类似的。这些类似之处支持了这种结论: 使用 $10\text{T}^{1/2}$ 细胞体系是检验肿瘤发生中与辐射有关变量的一种有效途径。

我们推论, 由于在体外和体内观察到类似的与加长给剂量的时间有关的效应, 因此所涉及的细胞机理是类似的。由于在转化分析开始时 $10\text{T}^{1/2}$ 细胞的密度很低, 因此细胞对细胞的相互作用不大可能影响转化状态。

Gray的假说认为肿瘤发生是一种低概率的诱导过程和一种高概率的杀死过程的净效应。我们用细胞所得的结果和其他人用动物所得的数据之间的一致性支持了Gray的假说。我们用下面的数学方程来表示这种关系:

$$T = (a_0 + \sum_{i=1}^n a_i D_i) \cdot S(D, D', L) \cdot H(D, D', L, \dots),$$

其中T是肿瘤发生的概率, 诱导过程以一个剂量D的多项式来表达; S为存活的概率; H代表可能的辐射依赖的宿主因素(在低剂量率的低LET辐射下, 若给予的剂量较小, 可以预料H是常数)。方程中 $a_0$ 是肿瘤自发率, S和H可能取决于剂量率 $D'$ 和线性能量传递L。当然 $a_i$ 也可能取决于 $D'$ 和L。

当 $a_0$ 相当大时(例如RFM小鼠网状细胞肉瘤的 $a_0 = 43\%$ ), 从这一方程能够做一个重要的预测。即在小剂量照射下, 只要(a)在照射时存在着与自发肿瘤有关的细胞, (b)肿瘤的先祖细胞对细胞杀死无抗性, 那末肿瘤的发生率应下降。在Ullrich和Storer的结果中, 可以找到适合于a和b的一个例子。急性 $\gamma$ 线照射引起网状细胞肉瘤曲线从43%下降。我们也可以从方程推断, 如果由于加长给剂量的时间而使细胞杀死得以赦免, 那末对小剂量来说肿瘤发生就会增加。在用低剂量率 $\gamma$ 线照射RFM小鼠时, 就网状细胞肉瘤而言, 又一次观察到这种情况。这就进一步支持了Gray模型和这样的论点: 年老时长肿瘤的非受照射小鼠体内早就存在转化了的细胞。

(马海官译 徐承熊校)