

化学药物对染色体辐射损伤影响的研究概述

军事医学科学院放射医学研究所 高沛永综述
苏州医学院放射医学系 郝斯英审

染色体畸变与受照剂量有严格的定量关系，WHO曾推荐4个描述其剂量效应关系的数学式，近来IAEA再次肯定它是可靠的生物剂量计。机体受照后染色体畸变即刻出现但又能持久存在，这已得到广泛的证明。因而辐射对遗传物质主要载体的这种效应，自然引起了人们的关注，对其化学防护也就成为一项有意义的课题。另一方面，在放疗中人们期望有效地杀灭恶性变的细胞，辐射增敏剂对染色体效应的研究更是方兴未艾。

一、研究概况

五十年代初，人们观察到不少醇类、含巯基化合物及一些盐类，可减少辐射诱发的染色体畸变。值得注意的是，在染色体辐射损伤化学防护的第一篇报道中，Mikaelsen对防护剂作用机理的推论，目前基本上仍可为人们所接受。他观察到 ^{60}Co - γ 线慢性照射的紫胫草，给予谷胱甘肽(GSH)可使染色体断片、后期桥等明显减少^[1]。他认为这可能是由于GSH与电离辐射产生的自由基相互作用，减少了可与染色体起反应的自由基数量，导致了染色体断裂的减少。经过30多年的努力，无论是防护剂的种类、研究材料的类型，还是对作用机理的探讨，都取得了相当的进展，积累了大量有价值的资料，为药效的定量评价和对人体效果的判断，在细胞学水平上提供了科学根据。

从实验所用细胞类型来看，该项研究大体经历3个阶段。初期研究多用植物材料，如紫胫草、洋葱和蚕豆根尖细胞等，六十年代人们的注意力多放在大、小鼠骨髓细胞染色体畸变

的防护上，结合整体照射的存活率，作为评价抗放药效的指标。七十年代，简单易行的人体外周血淋巴细胞培养、染色体标本制备及离体血照射方法的建立，是以外周血淋巴细胞染色体辐射防护为模型，定量地评价人体防护剂的药效，这使人类染色体辐射防护的研究发展到新的阶段。

二、化学药物对染色体辐射损伤的影响

根据化学药物对染色体辐射损伤的有效影响(减轻或加重)，可分为防护剂和增敏剂，对化学药物的这两种作用简述如下。

(一) 防护作用

人们对染色体辐射损伤的化学防护进行了广泛而深入的研究，从以下五方面概述。

① 实验动物整体给药整体照射

实验动物全身照射前预防给药条件下，一些有效的防护剂及所观察的细胞种类见下表。

防护剂	射线类型	动物	观察细胞及指标
AET	X	大鼠	骨髓、存活率
5-MOT	X	大鼠	再生肝
ATP+AET +5-HT	X	小鼠	精原细胞、显性致死
5-MOT	X	小鼠	骨髓、存活率
5-MOT	^{60}Co - γ	小鼠	骨髓
Адемурон	^{137}Cs - γ	大鼠	骨髓

其中，Benova和Baev研究了伍用ATP、AET和5-HT对受照小鼠生殖细胞的保护作用，发现最佳抗放效果的比例是45:3:1，精原细胞相互易位染色体畸变明显下降^[2]。从以上引用

的资料中,也可以看出畸变率下降的意义:一是由于染色体畸变明显减少,全身受照小鼠的显性致死突变率降低了;二是在防护剂作用下,骨髓细胞染色体畸变的降低与动物存活率上升相关,因而有人建议用小鼠骨髓细胞作为评价抗放药效的模型^[3,4]。

②对放疗病人的观察

由于缺少评价辐射防护剂对人体有无抗放效果的生物学指标,人体应用的研究受到限制。Tanaka和Sugahara首次用染色体畸变率评价肾上腺素红单胺基脲(AMM)对放疗病人的防护作用^[6]。他们观察的对象是,每天接受150rad每周放疗5次的宫颈癌患者,其累积剂量达5000rad。实验组病人放疗前静脉注射AMM后,染色体畸变率较对照组明显降低。参考离体研究建立的剂量效应曲线,实验组病人血细胞受照的总剂量平均为110rad,较对照组(145rad)约低30%。这与小鼠实验中,从LD_{50/30}的剂量减低系数(DRF)所反映的防护效果相当吻合。Яромоненко等人也曾观察到肺癌、食管癌病人局部放疗后,骨髓的畸变细胞与照射剂量间有线性关系。考虑到动物实验的结果,他们认为骨髓的细胞遗传学检查,可作为评价辐射防护剂有效程度的手段。Владимиров等报道,病人放疗前服用耐受量(0.8~1.2g)的盐酸胱胺,能减少骨髓细胞及外周血的染色体畸变数。另外81名癌肿病人,放疗前每天给予0.8g胱胺,其外周血淋巴细胞染色体畸变有明显的降低。

③细胞株离体给药离体照射

利用离体培养的细胞株为实验材料,其优点一是可直接研究理化因子的作用,避免整体生理代谢的干扰;二是能采用各种实验处理如同步化技术,进一步阐明辐射损伤、修复及防护剂的作用与细胞所处DNA合成周期的关系。半胱胺(MEA)对HeLa、CHO细胞株染色体均有防护作用,而且对G₂期细胞的保护作用高于S期,G₁和S期细胞的DRF分别是4.2和2.7。Paaphorst和Dewer以染色体畸变和细胞存活曲线的D₀值为指标,观察了CHO细

胞经不等渗盐溶液处理后对X线敏感性的变化^[6]。所得结果是,0.05M的NaCl低渗液增加敏感性,1.5M的NaCl高渗液减少敏感性;而且染色体畸变与细胞死亡率的变化一致。他们认为盐溶液引起细胞敏感性的变化,是由于影响辐射的间接作用,亦即水分子产生的自由基与染色质相互作用的结果。

④照后给药

用染色体畸变为指标可反映某些抗放药的药效,然而试图以此回答某个防护剂照后使用有效或无效则不恰当。有些作者确实观察到一些防护剂照后给药降低了畸变率,如MEA、甲状腺素能减少大鼠再生肝的染色体畸变,超氧化物歧化酶(SOD)减少照后的人淋巴细胞畸变率等^[7],但这不是对染色体的保护作用,更不是对畸变的治疗作用。这里,防护剂的主要作用,一是对损伤修复过程的影响,二是对细胞群体中畸变率恢复到正常水平的影响。小林仁道亦观察到照射后使用AMM其畸变率降低,他解释为这是“对畸变消失的促进作用”^[8]。

⑤其他一些有效的防护剂

除一些盐类、醇类及含巯基类化合物外,人们发现很多生物活性物质如抗生素、酶及干扰素等对染色体辐射损伤都有保护作用。Бор-одкин报道,γ线照前30min在人血培养物中加入链霉素,畸变细胞降低25~30%。存在于所有需氧代谢细胞中的SOD,也是一种过氧化自由基清除剂,与过氧化氢酶合用时可使畸变细胞由42%降低到17%^[7,9]。有关激素类的报道不尽相同,Judin等人的工作说明甲状腺素可促进照后畸变的恢复,而Buul等人对甲状腺素复合生长激素及性激素的研究表明,激素提高了染色体的辐射敏感性^[10]。新近,Zasukhina等报道人血白细胞经50单位的干扰素处理后,γ线和快中子诱发的畸变明显低于对照^[11]。

(二)增敏作用

不少化学药物能加重辐射损伤,使染色体产生更多的畸变。例如HU、FdUrd和咖啡碱等

能使X线诱发蚕豆根尖的染色体畸变率上升^[12]。Scheid认为BrdU能增加受照的人淋巴细胞环状染色体畸变率^[13]。Preston观察到正常人淋巴细胞受照后,经ara-c孵育,染色体畸变明显增加^[14]。一些激素也有类似的效应^[10, 15, 16]。从一些报道来看,这些可作为染色体辐射损伤增敏剂的药物,其主要作用环节是对修复过程的影响,即通过制约修复过程所需物质和能量供应等环节而起作用。Hansson等人的工作说明,羟基脲减少修复所需物质供应,而咖啡碱的作用则是缩短修复的有效时间,因而它们增加了X线诱发的人淋巴细胞染色体畸变^[17]。近来, Bryant报道艾氏腹水瘤细胞株用X线照射时, β -ara-A能增加染色体畸变^[18]。

值得注意的是2-DG的作用,它能阻断葡萄糖转移和糖酵解过程,从而影响修复的能量供应。Jain等人在正常小鼠全身照射前,腹腔注射2-DG,他们观察到骨髓细胞的染色体畸变与单独接受 ^{60}Co - γ 线照射相比,降低了约20~30%,而且30天的存活率也增加近20%,证明2-DG能提高细胞正常增殖体系放射损伤的修复能力,是一种防护剂^[19]。但是2-DG对肿瘤细胞的作用是不同的, Kalia和Jain证实2-DG对HeLa细胞是一种增敏剂,可提高放疗的杀伤作用,而对正常人白细胞染色体却是种防护剂^[20]。在放疗中能使用类似2-DG之类的药物,既可保护正常细胞又能提高癌细胞的辐射敏感性,那将是非常理想的。

三、对评价抗放药效的意义

(一) 作为评价药效的新方法

① 离体给药离体照射

Edgren总结了七十年代前,染色体辐射损伤化学防护的研究,并以人血淋巴细胞为实验模型对半胱氨酸进行系统的研究^[21]。半胱氨酸在血样中的浓度为0.5~5mg/ml, X线照射剂量为0~1000rad。结果,浓度大于5mg/ml时才能显现出抗放作用,低浓度或照后使用均无

效。他认为用染色体畸变作指标,照射剂量为250~500rad,对评价防护剂的作用较为适宜。此后,用已知有效的一些防护剂对人淋巴细胞培养物的研究,都取得了肯定的结果。一般说来,离体实验反映出的有效性,与整体实验观察如存活率等是相当一致的。但对MEA的报道却不完全相同。很多研究说明MEA能减少X线诱发小鼠骨髓细胞染色体畸变,但也有人证明人淋巴细胞经MEA处理后畸变率反而升高。这可能是因为MEA在整体和离体情况下,作用机制不同的缘故。

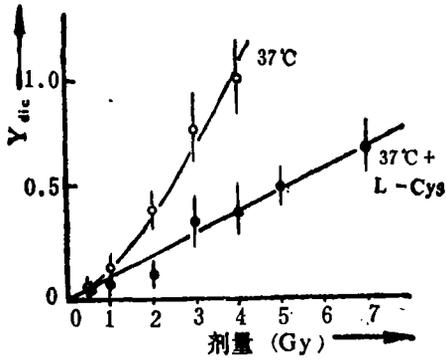
离体实验的优点是取材容易、周期短及条件固定、影响因素少等;其缺点是与整体生理状态有一定的差距,特别是不能反映那些需要经整体代谢活化的防护剂,如3-氨基丙基氨基乙硫代磷酸(WR-2721)的效果。

② 整体给药离体照射

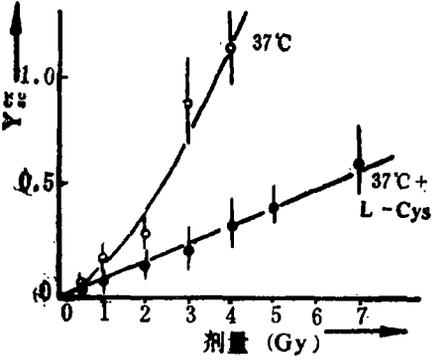
对动物有效的辐射防护剂能否对人放射损伤有防护作用,是个有待解决的问题。用整体给药后取外周血离体照射分析染色体畸变,有可能适用于人防护效果的评价。我国学者施立明等提出了整体与离体相结合的实验方法^[22]。猕猴口服盐酸胱胺前后2h抽血,分装于离心管中以 ^{60}Co - γ 线照射50~200rad而后培养,分析畸变,计算DRF,对防护效果作了定量的评价。而后他们又用此法作为正常人体服用盐酸胱胺评价抗放药效的新模型^[23]。八十年代初,苏联学者也用此法观察了猕猴口服Алетурон,对 ^{60}Co - γ 线400rad照射离体血的防护效果^[24]。由此看来,此法评价防护剂对人的效价是适用的,并有利于临床应用。

(二) 阐明药物的作用机制

电离辐射引起受照生物体的损伤,可分为射线本身的直接作用及水分子电离后所产生的自由基的间接作用,后者是化学防护剂可发挥效能,亦即可预防的部分。据Sasaki等估计,约60%的互换畸变都是辐射间接作用的结果^[25]。他们研究不同浓度的自由基清除剂,对受 γ 线照射的人淋巴细胞防护效果,醇类的最大保护作用可使畸变降低到对照的21%,而含



(a)



(b)

图 150kV X线照射37°C恒温离体人血诱发的双着丝点(a)及无着丝点断片(b)产额,在有(·)或无(o)半胱氨酸防护条件下,与受照剂量的关系

硫氢基化合物可达到5%。Virsik等报道,半胱氨酸对人淋巴细胞染色体的防护作用,在高剂量时比低剂量更明显^[20],这与单纯化学因素的影响不同。X线照前10min加入0.06M最终浓度的半胱氨酸防护效果最好,见图。从图中所示剂量效应关系的动力学改变,可为探讨自由基清除剂抗放机制及其效果的定量评价,提供科学的依据。低LET辐射(X、γ线)诱发染色体畸变的剂量效应关系,可用 $Y = bD + cD^2$ 予以较满意的描述。从微剂量学观点来看,式中直线项代表电离粒子径迹内所致损伤对畸变产额的贡献,平方项表示径迹间损伤相互作用对畸变产额的贡献。所以在不加防护剂时,畸变率与受照剂量的关系是条抛物线。加入半胱氨酸消除了辐射原发反应形成的自由基,因而畸变的剂量效应关系变成了直线,即

cD^2 项消失而 bD 项不变。这样便可对防护剂的效果作出定量的评价。今后如能对不同照射方式(如高剂量分次照射等)进行防护剂作用的深入研究,并与增敏剂的作用结合起来,将会为阐明抗放药物的作用机制提供更多的资料。

参考文献

1. Mikaelson K; Science 116:172, 1952.
2. Benova DK et al; Int J Radiat Biol 26: 47, 1970.
3. Иванов Б и др; Рентгенол Радиол 21: 29, 1982.
4. Benova DK et al; Experimentia 34:876, 1978.
5. Tanaka Y et al; J Radiat Res 11:166, 1970.
6. Raaphorst GP et al; Radiat Res 79:403, 1979.
7. Nordenson I; Hereditas 89:163, 1978.
8. 小林仁道; 日本医学放射線学会杂志, 33:126, 1973.
9. Nordenson I et al; Hereditas 82:125, 1976.
10. Buul PPW van et al; Mutat Res 106:247, 1982.
11. Zasukhina GD et al; Proceed 7 ICRR Ses B-31, 1983.
12. Andersson HC; Hereditas 97:193, 1983.
13. Scheid W; Int J Radiat Biol 43:337, 1983.
14. Preston RJ; Mutat Res 69:71, 1980.
15. Buul PPW van et al; Mutat Res 73:363, 1980.
16. Buul PPW van et al; Mutat Res 106:237, 1982.
17. Hansson K et al; Hereditas 97:51, 1982.
18. Bryant PE; Int J Radiat Biol 43:459, 1983.
19. Jain VK et al; Int J Exp Biol 17:1320, 1979.
20. Kalia VK et al; Proceed 7 ICRR Ses B7-31, 1983.
21. Edgren J; Acta Radiol Suppl 298:1, 1970.
22. 施立明等; 动物学报 22:213, 1978.
23. 施立明等; 动物学报 26:228, 1980.
24. Малютина ТС и др; Радиобиология 20: 254, 1980.
25. Sasaki MS et al; Int J Radiat Biol 32: 439, 1977.
26. Virsik RP et al; Int J Radiat Biol 42: 221, 1982.