

放 射 增 敏 剂 研 究 动 态

中国医学科学院肿瘤研究所 李冬华综述 沈瑜校
中国科学院生物物理研究所 沈 恂审

目前,肿瘤放射增敏研究卓有成效,已发展到一个新的转折点,正进行着第二代放射增敏药物的临床试验。现仅就放射增敏剂的发展简史、增敏机制、临床试验、今后研究方向几个方面作一综述。

一、放射增敏剂发展简史

最早发现化学辐射增敏现象应追溯到1954年,Langendroff用碘乙酸增加小鼠的辐射致死率。大量研究兴于六十年代,早期工作以细菌为材,七十年代转入哺乳动物细胞研究,相继展开离体实验,整体动物实验和临床试验。研究过的药物极多,大致可分为以下几类:

1. 卤代嘧啶类化合物是古老的放射增敏药物。五十年代曾用来研究细胞突变机制,由此揭示了许多有价值的放射生物学基本原理。六十年代的研究虽在离体实验中肯定这类化合物的增敏作用,但难于应用到整体实验及临床。

2. 巯基抑制剂:自1960年开始N-乙基马来酰胺(N-thylmaleimide NEM)、新肿凡钠明(Neoarsphenamine)、氯化安息香酸汞(p-chloromercuribenzoate)和联胺(di-amide)等都曾被认为有一定的增敏作用。

3. 产生毒性物质的化合物:二价铜离子(Cu^{++})在辐射作用下还原成一价铜离子起毒性作用。丝裂霉素C及其衍生物在无氧条件下转变成含甲基的化合物(methide),起烷化剂毒性作用而增敏。

4. 抑制细胞修复功能的药物:哺乳动物细胞内酶系可修复部分辐射原初损伤,钝化酶系的化学物质可减弱照射后细胞内的修复功

能,改变辐射损伤,产生增敏。曾被证实有此作用的药物有:放线菌素D(Actinomycin D),2,4二硝基酚(2,4,dinitrophenol)。

5. 类氧化合物:这些化学物质可作为氧的替身,夺取电子,产生放射增敏效果。如,顺磁性气体、一氧化氮,便是有效增敏剂,但NO毒性过大,无法深入研究。三丙酰胺氮氧化物(triacetoneamine-N-oxyl, TAN)、四甲基4-哌啶氮氧化物(2,2,6,6,tetramethyl-4-piperidinol-N-oxyl)和降假石榴碱氮氧化物(nor-pseudopelletine-N-oxyl)都曾有人报告其增敏作用和多种增敏机制。

6. 亲电子化合物:1963年,Adams提出药物本身的电子亲合力与其放射增敏特性相关,这一重大理论导引出大量亲电子化合物的筛选。Tallentire(1972)证明电子亲合力越高的药物,放射增敏有效浓度越低。

1971年,Adams和Chapman同时报道苯乙酮(acetophenones)的硝基取代物对硝基苯乙酮(p-nitroacetophenone)有较高的增敏能力。Chapman发现,虽然苯乙酮的各种取代物均可使细菌增敏,但只有硝基取代物才能使哺乳动物细胞增敏,从此敲开了硝基化合物放射增敏的大门。于是放射增敏研究便集中在硝基化合物上。

第一个初见成效的放射增敏剂是甲硝哒唑(metronidazole),又称灭滴灵,是5'-硝基咪唑。离体实验及动物实验的增敏比分别为1.25~1.9和1.3~2.1。并于1973年用于神经胶质母细胞瘤病人,将平均存活时间延长了6周。总结甲硝哒唑的特点:增敏比范围1.25~2.1,体内代谢慢,毒性小,但用量大。

两年后, Gray实验室找到比甲硝哒唑增敏作用强十倍的药物 MISO(misonidazole), 即Ro-07-0582。离体实验证明MISO无毒浓度范围大, 增敏效能好, $ER=1.2\sim 2.5$; 啮齿类许多实体瘤和异体移植的人类肿瘤, 单次、分次照射, 均有明显增敏作用, $ER=1.1\sim 2.91$ 。1974年开始进行临床I~III期试验。英、加拿大、美、法、澳大利亚、日本、南非等地均进行了广泛的临床研究达十年之久。

总结MISO的增敏特点: 短期内扩散到肿瘤乏氧区; 组织代谢慢, 半滞留期长; 乏氧增敏, 有氧无效; 为非周期依赖性药物; 照前给药, 增敏作用与药物浓度成正比; 离体和整体实验证明分次照射仍有明显增敏效果; 但神经毒性过大。

MISO的神经毒性表现为: 胃肠反应(恶心、呕吐、腹泻); 外周神经系统反应(手足麻木、感觉异常、痉挛样疼痛、触疼觉消失); 中枢神经系统反应(严重肌肉抽搐、大脑功能障碍、神经错乱、共济失调、眼球震颤)。病理所见: 浦清野氏细胞退行性变, 髓鞘坏死性病变。故限制临床服用剂量, 分次服用量为 $5g/M^2$ 或 $125mg/kg$, 总剂量不可超过 $12g/M^2$, 否则产生较严重的神经毒性。

二、放射增敏药物和基础研究动向

目前, 正在加紧探索新的更有效的临床放射增敏剂。因此不仅有关电子亲合性增敏剂、氧和巯基作用机制及其理论研究是当前引人入胜的课题, 并越来越集中在药物如何影响细胞内生化过程以及如何改变细胞内辐射损伤修复的增敏机制。

(一) 改变细胞内谷胱甘肽(GSH)水平及其生化合成链

Durand(1984)提出细胞内巯基影响细胞放射敏感性的直接作用(巯基与靶自由基起作用)与间接作用(巯基可调节达到细胞放射敏感靶的氧或电子亲合增敏剂的量)机制^[1]。

近年来, BSO、丁基硫磺磺亚胺(Buthionine sulfoximine), 被证明是细胞内谷胱甘肽(Glutathione, GSH)生物合成的抑制剂, 主要抑制生化合成链 γ -谷氨酰半胱氨酸的合成。Biaglow(1984)等人以离体细胞及其球体证明 $0.05\sim 10mM$ BSO可使细胞内GSH和非蛋白结合巯基化合物NPSH的含量降到对照的 $5\sim 10\%$ 或更低^[1, 3~7]。Mihchinton(1984)等人以动物实验证明 $1\sim 5mM/kg$ BSO可抑制肝、肾、脑、骨骼肌和八种肿瘤内GSH的含量, 为正常值的 $20\sim 40\%$ 。不同组织反应不同。肿瘤内GSH下降比正常组织慢, 需重复给药方能达到与正常组织同样低的GSH水平^[2]。BSO对 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶的抑制是不可逆的。外源性巯基化合物(如WR-2721)不能使经BSO处理过的细胞再合成GSH^[3]。

DEM、二乙基马来酰亚胺(Diethylmaleate)有消耗细胞内巯基的作用^[4], $0.1mM$ DEM处理50min, 细胞内GSH、NPSH便降低到 $30\sim 60\%$ ^[5]。与BSO不同的是移去DEM, 细胞内GSH的水平即行回升, 2小时后恢复原有水平; 外源性巯基化合物也可加速经DEM处理过细胞的GSH再合成^[3]。DEM耗竭巯基的机制是与NPSH起化学作用。此外, DEM还可抑制DNA断裂修复酶^[5]和其他功能, 是一真正的放射增敏剂。

BSO在细胞有氧和乏氧条件下均有增敏效应, 延长其作用时间OER才有改变^[6]。Hei(1984)报道BSO引起细胞内NPSH下降后并不增加辐射诱发的细胞遗传突变、SEC和细胞周期动力学的改变^[7]。外源性巯基物质(WR-2721和乙酰半胱氨酸N-acetylcysteine)有消除BSO对有氧细胞的放射增敏作用^[8]。这些将对BSO临床应用有重要意义。

DEM以及BSO在乏氧情况下对DNA双链断裂的影响都比对单链断裂影响大^[6]。BSO与MISO合用, $0.2mM$ MISO相当于 $5mM$ 的增敏效果。Yu(1984)用C3H小鼠KHT实体瘤, 先用BSO($3mM/kg$)6小时后再用DEM

(300mg/kg)共2天,第二天用DEM后1小时给MISO,过30分钟用17.5Gy X射线照射带瘤动物。注射MISO时瘤细胞GSH水平为8%,与单用MISO加照射的肿瘤细胞(GSH100%)比,增强比为2.5^[6]。

(二) 阻止或抑制细胞内辐射损伤的修复

细胞内巯基与损伤位点的反应是辐射损伤修复的重要机制之一^[8]。电子亲合性增敏剂可能有抑制亚致死损伤修复(SLDR)的作用。巯基抑制剂和耗竭剂的放射增敏作用非常可能是抑制辐射损伤修复的过程。BSO、DEM、NEM、放线菌素D和二硝基酚等药物可能通过抑制酶的活性阻止辐射损伤修复。

抑制潜在致死辐射损伤修复(PLDR)的增敏剂研究正在深入进行。1966年证实PLDR存在以来,最近采用超敏突变细胞和检测PLDR的新技术,使PLDR研究取得较大进展。Nakatsugawa(1984)提出PLD包括DNA的DSB、碱基损伤和交联^[9],并证明PLDR在放疗常规剂量范围更为明显。说明PLDR在临床治疗肿瘤中起重要作用^[10]。

抑制PLDR的药物有3'-脱氧鸟苷(3'-deoxyguanosine),3'-脱氧腺苷(3'-deoxyadenosine),阿糖胞苷(Ara-A),阿糖胞嘧啶单磷酸腺苷(Ara-AMP)和咖啡碱(Caffeine)。然而,3'-氨基苯酰胺(3'-aminobenzamide)和N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide)无效。

Adams指出,抑制修复规律的研究尚未在增敏剂的研究领域内受到重视,深信这种情况不久会得到纠正^[11]。

(三) 细胞毒作用与预先孵育效应

曾一度认为MISO对乏氧细胞的增敏作用与氧相同,只是通过自由基辐射化学机制产生放射增敏效应。近几年深入研究电子亲合性硝基杂环增敏剂,特别是硝基咪唑类的特性,提出其他机制,研究最多的是乏氧细胞毒性作用和预先孵育效应。

硝基化合物在生物还原过程中被激活,硝

基转变为有毒的亚硝基和胍胺。MISO主要产物是乙二醛,从而产生增敏作用,与药物浓度及接触时间密切相关。不照射时,充分显示这些化合物的毒性作用^[12~13]。

较高浓度的MISO(或其他硝基化合物),延长照前与细胞接触的时间,药物增敏比增大,并与孵育温度呈依赖关系。这种现象称为预先孵育效应,是药物对乏氧细胞的毒性作用与药物本身放射增敏性质联合作用的结果^[14~16]。也称相加性杀灭(additive kill),各自独立的相加性或超相加性的相互作用。

这种增敏比的增加超出自由基机制的作用。仓鼠离体细胞照前与0.5~5mM MISO一起37℃乏氧孵育3~5小时,除去药物在空气中照射,D₀值降低,肩段变小,增敏比提高^[15~16]。Gray实验室进行动物肿瘤实验结果,预先孵育效应使MISO的增敏比提高1.1~1.4倍^[17]。

预先孵育效应的重要机制之一可能是硝基还原形成的毒性物质与细胞内GSH结合减少细胞内非蛋白巯基,加强了原有的增敏作用^[18~18]。

Nichaels(1984)提出假说:增敏剂的毒性代谢产物是在乏氧孵育时形成的,与辐射共同作用,相加性增强细胞死亡。原认为硝基咪唑的细胞毒只对乏氧细胞起作用,预先孵育期间可能通过扩散提高肿瘤内非乏氧细胞的放射敏感性^[16]。MISO在体内半排出时间为8小时,应有充分的预先孵育效应,但实际在临床此效应不明显,可能与临床MISO剂量无法达到要求浓度有关。

(四) OER、SER与照射剂量的相关研究

Palcic提出一个理论上和实践上都十分重要的问题,即OER和SER是照射剂量的函数。低剂量X或γ射线在电子束发射结束前的刹那,高LET成分较多,因此低剂量区的OER和SER一般比高剂量区值低。由此分析出MISO在常规低剂量照射的放疗方案中无效的原因^[18]。

乏氧条件下α型损伤效应大修复少。为获

得最大SER的增敏效应,应找到既改变存活曲线 α 值又改变 β 值的增敏剂,或联合使用不同作用机制的增敏药物,或采取其他措施如药物预先解毒效应^[18]。

(五) 硝基化合物减毒研究

Eifel (1983) 用吡哆辛 (pyridoxine P N) 减低去甲基 MISO、DMM 的神经毒性^[19], 但Coleman (1984) 以三种形式的维生素B₆ (PN、PL、PLP) 对减少C3H小鼠MISO和DMM的神经毒性无效^[20]。

(六) 非乏氧细胞放射增敏剂

近年来与临床试验配合,重又深入研究卤代嘧啶类放射增敏作用。Kinsella (1984) 证明这些药物改变D₀值和N值与OER和LET无关^[21]。IUdR与BUdR增敏效果相似,但IUdR结合的细胞对光的敏感性较弱,临床应用毒性较小,可能成为更有效的临床增敏剂^[22]。

卤代嘧啶类在细胞内代谢很快,离体测定约30',体内很快被肝脏分解为游离碱基,为克服药物分解代谢的难题,Perez用CICdR与H₄U(tetrahydrouridine)合用效果比BUdR和IUdR更为优越,并指出嘧啶核苷放射增敏机制不同于乏氧细胞增敏剂,也不同于热疗,取决于肿瘤细胞与正常组织内酶水平的不同^[23]。

5-巯基-D-葡萄糖是非乏氧细胞增敏剂,主要作用是阻止营养物质的转送。对肿瘤有增敏作用(ER1.1),但又是皮肤的辐射防护剂(PE1.3~1.4)。

三、放射增敏剂临床试验现状

(一) MISO的临床试验


MISO曾得到很多实验研究工作的肯定。六年来世界各国肿瘤中心完成了多种瘤种的大量临床试验,各种给药方式配合各种放疗方案试验近4000病例,在Ⅱ期临床试验中除少数瘤种外,未得到较好的治疗增益。1979~1981年,北美、日本、英国和西欧完成了MISOⅢ期临床试验,大多数是阴性结果。Adams和Urtasun均指出,MISO的神经毒性限制了全

身服药的有效剂量,妨碍了药物的增敏效果。

尽管MISO临床试验失败,但从中学到很多,建立了各种研究体系和一整套临床试验方法,开辟出以生化研究为基础的崭新的增敏防护研究领域^[24~25]。

(二) MISO衍生物的临床试验

1. DMM (Desmethylnisonidazole) 去甲基MISO。英、北美最初研究有效,但外周神经系统毒性最大允许量未超过MISO,无法考虑进入Ⅰ、Ⅱ期试验。

2. Ro-03-8799 (R = CH₂ · CHOH · CH₂N \langle  \rangle) 和 SR-2508 (R = CH₂ · CONH · CH₂ · CH₂OH)^[11, 25]。

Roche药厂的Ro-03-8799与Stanford大学的SR-2508是临床试验的第二代电子亲合性放射增敏剂。已分别完成Ⅰ期毒性试验。

Ro-03-8799的突出特点是对肿瘤的渗透性比MISO高三倍,肿瘤比血浆内含量高7~10倍,主要问题仍是中枢神经系统毒性,药物在脑组织浓度可达血浆浓度的4倍

SR-2508的最大优点是毒性低,最大允许剂量是MISO的三倍。给药后30分钟血浆内70~80%的药物聚集在肿瘤组织中,SR-2508进入正常脑组织的量极少,未曾发现过中枢神经毒性,所以更引人注意。

(三) 卤代嘧啶类临床研究

1981年开始进行BUdR和IUdR治疗脑瘤的Ⅰ、Ⅱ期临床研究。肿瘤细胞BUdR渗入率为50%,正常皮肤不到10%。ER \geq 1.5^[26]。

(四) 今后临床研究动向

第二代亲电子增敏剂肯定会在MISO试验的基础上进行Ⅰ、Ⅱ期临床试验,不同作用机制的增敏剂联合使用会深入进行,PLDR抑制药物将受到重视。日本已经开始阿糖胞苷A的临床研究^[27],苏联正在执行全俄400例新药临床试验^[28]。放射增敏剂的化疗增效作用也会得到进一步研究。

今后还需要发展第三、四代硝基化合物,进一步发展巯基耗竭剂与MISO合用研

究⁽²¹⁾。

四、新增敏剂的探索与今后发展前景

探索新放射增敏剂依然是寻找低毒高效增敏药物。

(一) 低毒药物

在神经毒性与亲脂性相关的原则指导下,利用水脂分配系数寻找低毒药物,直接发现了SR-2508。间接找到Ro-03-8799⁽¹¹⁾,SR-2508的亲脂性低可能已接近最合适的药物。水脂分配系数再低则药物渗透肿瘤的程度也下降。

(二) 高效药物:

直到最近仍采用电子亲合性寻找高效增敏剂。CB-1954、二硝基苯酰胺的实际增敏能力比估计值高许多,主要是有烷基化功能团,氮丙啶(aziridine)。RSU-1069是人工合成含有氮丙啶的化合物,肿瘤内浓度高,离体和整体实验增敏能力超过MISO十倍,但毒性较高,取代物RSU-1164毒性较低。

(三) 非乏氧细胞增敏剂:

这类药物增敏机制各不相同,Duran指出,用化学药物改变细胞内巯基水平应是目前放射增敏剂研究的主攻方向。

今后将深入到生化水平探讨细胞内原初效应的变化和放射损伤修复的机制,进而通过酶的阻断或酶的激活改变细胞内组成成份的功能,从而有效地用化学药物增强或减弱细胞的辐射效应,实现这个目的已为期不远了。

参考文献

1. Durand RE: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1235, 1984.
2. Mihchinton AI et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1261, 1984.
3. Varnes ME et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1229, 1984.
4. Biaglow JE et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1221, 1984.
5. Vos O et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1219, 1984.
6. Aster MB et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1239, 1984.

7. Hei TK et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1255, 1984.
8. Stratford IJ: Int J Radiat Oncol Biol Phys 8:391, 1982.
9. Nakatsugawa S et al: Br J Cancer 49:43, (Suppl 6) 1984.
10. Nakatsugawa S et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1425, 1984.
11. Adams GE: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1181, 1984.
12. Brady LW ed: Radiation Sensitizers: Their use in the Clinical Management of Cancer pp. 1, NY Masson Publ, 1980.
13. Sutherland RM: Int J Radiat Oncol Biol Phys 8:323, 1982.
14. Korbelik M et al: Radiat Res 88:343, 1981.
15. Hall EJ et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 8:447, 1982.
16. Michaels HE: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1271, 1984.
17. McNally NJ et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1281, 1984.
18. Palcic B: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1185, 1984.
19. Eifel PJ et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 9:1513, 1983.
20. Coleman CN et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1381, 1984.
21. Kinsella TJ et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1399, 1984.
22. Mitchell JB et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1477, 1984.
23. Perez LM et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1453, 1984.
24. Phillips TL: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1791, 1984.
25. Urtasun RC et al: Int J Radiat Oncol Biol Phys 10:1691, 1984.
26. Kinsella TJ et al: J Clin Oncol (in Press) 1984.
27. Nakatsugawa S: Radiosensitization Newsletter 1(3):4, 1982.
28. Tsyb AF: Radiosensitization Newsletter 2(3):7, 1983.