

- 1977.
16. Janowski M et al; J Virol 55(1):251, 1985.
 17. Celander D et al; Nature 312(5990):159, 1984.
 18. Lenz J et al; Nature 308(5958):467, 1984.
 19. DesGroseillers L et al; J Virol 52(3):945, 1984.
 20. Boccarda M et al; J Virol 48(1):102, 1983.
 21. Chatis PA et al; Proc Natl Acad Sci USA 80(14):4408, 1983.
 22. 邓国仁: 国外医学分子生物学分册(4):194, 1985.
 23. 方福德等: 生命的化学 3(4):43, 1983.
 24. Tabin CJ et al; Nature 300(5888):143, 1982.
 25. Reddy EP et al; Nature 300(5888):149, 1982.
 26. 曾庆镒: 生命的化学 4(6):4, 1984.
 27. 尹文东: 生命的化学 6(3):35, 1984.
 28. 薛社普: 细胞分化及肿瘤恶性调控研究的进展. 中国医学科学年鉴编辑委员会主编, 中国医学科学年鉴(1984). 天津科学技术出版社, 167~174, 1984.
 29. Weinberg RA; 科学(中译本)(3):34, 1984.

DNA链断裂、修复与细胞辐射敏感性

苏州医学院放射医学系 殷建林综述 苏燎原 刘及* 审

DNA是生命遗传的物质基础,通过RNA的转录与翻译,控制着蛋白质的合成,主宰细胞的结构与代谢活动。由于DNA在生命过程中的重要性,它的辐射损伤引起人们的极大关注。

电离辐射能引起DNA多种损伤,包括SSB(单链断裂)、DSB(双链断裂)、糖和碱基损伤、DNA与蛋白质交联等。其中,链断裂是常见、重要的损伤。同时,细胞对DNA链断裂具有较强的修复能力,这种DNA链断裂及其修复能力与辐射引起的细胞损伤及死亡之间存在重要的联系。本文对电离辐射作用后的DNA链断裂、修复及其与细胞辐射敏感性的关系作一综述。

一、辐射引起DNA链断裂的机理及特点

电离辐射通过直接和间接作用对细胞DNA产生损伤,间接作用占主要的地位。在间接作用中,由于粒子的能量在细胞内的

释放,将产生离子、自由基和激活的分子,这些不稳定的基团在细胞内进一步作用,能产生导致突变或死亡的分子损害^[1]。辐射通过上述反应,造成DNA中脱氧核糖部分的破坏、磷酸二酯键的直接断裂和随着碱基损伤引起的脱嘌呤和脱嘧啶,形成DNA SSB^[2]。Ormerod^[8]认为,辐射造成的碱基损伤可引起局部区域变性,经过酶的作用,形成SSB。DNA链易断裂的部位,依次为脱氧核糖的3'-4'位碳原子之间、脱氧核糖4'-5'位碳原子之间、脱氧核糖5'碳原子与磷酸之间及磷酸与脱氧核糖的3'碳原子之间^[4]。辐射引起的DNA链断裂分为辐照时产生的断裂、辐照后产生的断裂及进一步用碱性物质(如六氢吡啶)处理产生的断裂^[5]。

有学者^[1]在研究DNA DSB形成时指出,DSB由多个自由基引起。单个自由基引起DSB的可能性不存在。这是由于两条链之

* 白求恩医科大学

间的距离和空间等因素,使得一个自由基不可能与DNA的两条链同时作用。DSB可能产生于单个的辐射事件在两条链之间的直径里形成两个或多个自由基的作用。一般电离辐射引起的能量沉积可产生较高的自由基浓度,DNA分子的直径约 20Å ,两条链之间的距离可能会被较高的自由基浓度布满,使自由基有可能在相对的链上进行攻击。并指出 $\text{OH}\cdot$ 自由基导致的DSB的变化带有SSB的化学特征。

辐射引起DNA链断裂的几个重要特点:

1. 在相同的照射条件下,各种细胞单位DNA产生的链断裂数相近

Lett^[6]等人的研究表明,对辐射敏感的鼠类白血病细胞($D_0=38\text{rad}$)和耐辐射的小球菌($D_0=70,000\text{rad}$),由X线诱发DNA SSB的敏感性很相似,在氧存在下照射,每产生一个SSB,白血病细胞需 70eV ,小球菌需 50eV 。也就是说,如果以每单位DNA受一定剂量照射时产生的断裂数来比较DNA的敏感性,大致相同。

2. 一定能量的射线产生的SSB与DSB有一定的比值

在低LET的射线照射下,各种细胞产生的单、双链断裂的比大约是 $10:1$ 。Hutchinson^[7]的实验表明,真核细胞内的DNA经 γ 线照射后,产生的SSB为 $1\sim5\times 10^{-12}/\text{dalton}\cdot\text{rad}$,DSB为 $1.2\times 10^{-13}/\text{dalton}\cdot\text{rad}$ 。Krisch^[8]也得到类似的结果。

3. OER(氧增比)对DNA链断裂的影响

在氧存在下,辐射产生的DNA链断裂数增高,氧的存在增加了自由基的数量,实验证明,鼠 L_{5178}Y 细胞的DNA在有氧条件下照射,其SSB的产生是无氧条件下(充氮气)的2倍^[6]。

4. LET(传能线密度)对辐射引起DNA链断裂的影响

随着射线LET的升高,引起的DNA SSB减少,DSB增多。许多研究表明,中子

比X线更能有效地产生DSB,并且,中子引起的SSB的修复比X线者缓慢。

二、辐照后DNA链断裂的修复及特点

早在六十年代,人们就证实了DNA的SSB能进行重接修复,后来的研究表明,DNA DSB也能进行修复。DNA链断裂后的修复,最主要的有切除修复和重组修复,切除修复至少包括5个步骤:分子局部破坏的识别、针对损害部位通过核苷酸内切酶进行切除、核酸外切酶切除这段损伤的链、由核酸聚合酶提供这段核苷酸的补片、最后,DNA连接酶将核苷酸的补片连接到DNA分子的主链上。重组修复也称复制后修复,修复前先进行DNA复制,在复制过程中,一组母子链在损害部位出现缺口,通过重组由另一组母链上正确的片段来填补受损害的一组子链上的缺口,然后,由DNA聚合酶I分别修补母链和子链上的缺口,通过DNA连接酶的作用进行连接,完成修复过程。当然,细胞中还存在其它的修复系统,如SOS修复系统等。

DNA链断裂修复的几个特点:

1. 修复不需要DNA、RNA和蛋白质合成

Ormerod^[3]等人证实,SSB修复不需要DNA、RNA、蛋白质的合成。Gantschi等人^[9]用亚胺环己酮抑制HeLaS₃和CHO细胞的蛋白质合成,能迅速减少DNA的半保留复制。但亚胺环己酮不能抑制紫外线或X线照射后DNA损伤的修复,直至8小时。仅在20小时后,才表现出轻微的抑制,减少35%,表明DNA修复并不需要蛋白质的合成,细胞具有进行修复所需要的酶。

2. 修复与细胞周期的关系

DNA链断裂的修复可发生在细胞周期的各个阶段,即使在细胞的G₀期,仍然能修复辐射引起的DNA损伤。Catena^[10]用20 Gy X线照射人外周血淋巴细胞,结果在同步化的细胞中,S期DNA复制后,其修复能力达

最大值。细胞各个期相的修复能力,反映了各期细胞的辐射生存能力^[11]。

3. 细胞转化前后修复能力的差异

Hashimoto^[12]研究了¹³⁷Cs- γ 线照射后人外周血淋巴细胞的DNA SSB修复能力,发现转化后的细胞DNA SSB修复能力是未经转化细胞的10倍。

4. 修复与环境的关系

如果将照射后的人外周血淋巴细胞放在不同的介质中培养,在100%的自身血清中,修复一小时,SSB还保留37%,如在TC199+20%胎牛血清中,SSB还有64%^[12]。国内也报道了人外周血淋巴细胞在不含血清的TC199培养液中孵育4小时,SSB不仅不能重接,反而有增加趋势,在含有人血清的培养液中,其大部分SSB得到修复,并优于含牛血清的培养液^[13]。

温度对修复的影响:辐射引起的淋巴细胞DNA链断裂在37℃中连接最快,在4℃时很难看到修复^[10]。Ormerod^[8]的实验说明,低于20℃就几乎完全抑制了SSB连接。关于高温的影响,近年来受到重视,Jorritsma^[14]用X线照射艾氏腹水瘤细胞,继而用高温处理,结果,42℃连续4小时的处理,对DNA链断裂修复只有轻微的抑制作用;在42~45℃时,显示出明显的抑制作用,并随着时间的延长,抑制程度增大。但在这种高温下,不经照射的细胞也产生了DNA链断裂。因此,高温处理对射线引起的DNA链断裂修复能力有一定的抑制性影响。

5. DNA链断裂修复过程呈双相变化

许多研究表明,DNA链断裂修复过程具有快、慢两部分^[15]。用X线照射大肠杆菌后,在可修复的SSB中,大约85%的SSB修复迅速($t_{1/2} < 6$ 分),余下的修复缓慢($t_{1/2} \sim 20$ 分)^[16]。Sakai^[17]则将中国仓鼠细胞和L₅₁₇₈Y细胞DNA链断裂修复过程分为快修复、慢修复和不能修复三部分,并认为快修复是SSB部分,慢修复是DSB部分。

6. 修复后DNA链出现继发性损伤

许多学者发现照射后的细胞,经一定的时间保温后,修复好的DNA链重新发生断裂,出现继发性的损伤。有实验^[18]说明,在对辐射有抵抗力的G₁期中,DNA的新降解最少,在辐射敏感的G₂期中,降解最多。Kanter^[19]用羟基磷灰石、碱性和中性蔗糖梯度离心技术分析了X射线对三种人细胞株的DNA链断裂修复情况:在2小时或更短的时间内,损伤得到定量的修复。4小时后,1000 rad照射下的CCRF-CEM细胞株和8402白血病细胞株出现了DNA损伤修复后的再断裂。当剂量升到2000~8000 rad时,Hela细胞也出现这种损害。这种损害有剂量效应,不能再修复,它的出现是辐射引起细胞毒过程的极期表现。

三、DNA链断裂的修复与细胞辐射敏感性的关系

上面所说,一定剂量照射下,各种细胞的单位DNA内产生的链断裂程度相似,说明细胞辐射敏感性与DNA链断裂无直接关系。经过深入研究,发现各种细胞的DNA链断裂修复能力存在差异,并证实与细胞的辐射敏感性有关。许多人在X线致死率的研究中,通过高温^[20]、加入修复抑制剂二酰胺^[21]或用缺乏修复能力的CHO细胞株^[22]抑制DNA链断裂的修复,当抑制程度增加时,细胞的致死率也增大,关系十分密切。Murray^[23]比较了耐辐射的两种纤维肉瘤细胞与正常组织细胞DNA链断裂的修复,结果耐辐射的纤维肉瘤细胞DNA链断裂的修复能力高于正常组织细胞。

近年来,人们对DNA链断裂的修复能力与细胞辐射敏感性关系的研究,重点放在DNA DSB上。这是因为与细胞辐射敏感性有关的主要是DSB修复能力。由于SSB能进行有效的修复,其作用较小。如用不同能量的射线照射细胞,随着LET的升高,DNA断裂数减少,但不能重接修复的断裂数增

多,说明高LET射线引起了较多的DSB。因其修复能力比SSB低,结果,它与高能量射线的致死作用较大有关。已有实验证明,细胞死亡率与DSB改变是一致的,如能保护DNA链断裂而对DNA-蛋白质交联没有作用的氢自由基清除剂二甲基硫代氧化物,可以同时降低细胞的DSB和死亡率^[24]。Radford^[25]在辐射后用不同的因素处理细胞,发现细胞DNA中的DSB水平同细胞死亡有一致性,从而认为DSB是致死性损伤。

Ward^[1]用DSB的修复解释了细胞存活曲线的肩区。他认为,辐照后的DSB可分为潜在断裂和真断裂两种。在整个修复过程中,细胞对DSB的修复作用将同由潜在DSB变为真DSB过程相对抗。某些酶(DNA聚合酶、连接酶)包括在DSB的修复过程中,同时也包括在DNA的其它损伤的修复中,因此,细胞中存在着竞争性修复。在低剂量下,修复速度高于DSB的形成速度;剂量增大后,修复变为饱和,结果,只有恒定部分的潜在DSB被修复,而出现更多致死性的DSB。说明低剂量下的细胞存活曲线肩区部分的潜在DSB比曲线其它指数部分能更有效地修复,从而提高了该部分细胞的存活率。

另外,在研究细胞DNA链断裂的修复能力与细胞辐射敏感性的关系时,人们也注意到DNA修复到一定时间后,已修复的DNA会出现重新断裂,并证实这种损伤是不可逆的变化,是引起细胞死亡的原因之一^[19]。

关于DNA链断裂的损伤与细胞死亡之间的联系,普遍认为DNA链断裂的不能修复和错误修复,尤其是DNA DSB,可引起染色体畸变或丢失,导致细胞死亡。虽Morgan^[26]的实验说明用ADP-核糖聚合酶的抑制剂能延缓DNA SSB的修复,却不能增高姐妹染色体互换等细胞遗传学方面的损害。但Bryant等人^[27]用能够产生平头或粘性末端的DNA DSB的限制性内切酶PVu II或Bam H₁对中国仓鼠细胞进行处理,结果,PVu II能引起染色体畸变,Bam H₁则不能。

PVu II处理的细胞减少了存活,而BamH₁在同样剂量范围内未减少细胞的存活。结论是PVu II引起的少部分平头末端DSB能转变成致死性的染色体畸变,导致细胞的死亡。故平头DNA DSB可被认为是潜在的染色体畸变和潜在的致死因素。

然而,也有学者提出与上述不同的意见。Thierry等人^[15]的实验结果表明,毛细血管扩张症病人的白细胞和正常人的白细胞,虽其辐射敏感性有很大差异,但其辐射引起DNA链断裂的修复能力则相同。故此二种细胞DNA链断裂修复能力与其辐射敏感性差异并无直接的关系。

综上所述,DNA链断裂是辐射引起细胞分子水平上的一种重要的损伤,它的损伤程度及其修复能力关系到细胞的致畸、致突和致死等。目前,对DNA链断裂、修复能力与细胞辐射效应方面的研究取得许多进展。可以相信,通过这方面的深入研究,必将会对放射病、肿瘤和遗传疾病等的发病机理及其防治途径提供理论基础。

参 考 文 献

1. Ward JF et al: Radiat Res 86:185, 1981.
2. Sonntag C et al: Advance in Radiation Biology 9:109, 1981.
3. Ormerod MG et al: Biochim Biophys Acta 232:72, 1971.
4. 朱壬葆等编:中国医学百科全书,核武器损伤与放射医学, P. 16, 上海科学技术出版社, 1982年.
5. Duplaa AM et al: Int J Radiat Biol 48:19, 1985.
6. Lett JT et al: Nature 214:790, 1967.
7. Hutchinson et al: workshop Summary: DNA strand break repair in eukaryotes, In DNA Repair Mechanisms, P. 457, Academic Press, New York, 1978.
8. Krisch RE et al: Radiat Res 101:356, 1985.
9. Gantschi GR et al: Exp Cell Res 76:

- 87, 1973.
10. Catena C et al; Int J Radiat Biol 47: 489, 1985.
11. Brunborg G et al; Radiat Res 82: 547, 1980.
12. Hashimoto Y et al; Blood 45: 503, 1975.
13. 胡斌等; 中华放射医学与防护杂志, 3 (3): 25, 1983.
14. Jorritsma TBM et al; Int J Radiat Biol 43: 505, 1983.
15. Thierry D et al; Radiat Res 102: 347, 1985.
16. Sargentini NJ et al; Radiat Res 105: 180, 1986.
17. Sakai K et al; Radiat Res 98: 479, 1984.
18. Ueno AM et al; Radiat Res 79: 337, 1979.
19. Kanter PM et al; Int J Radiat Biol 38: 483, 1980.
20. Mills MD et al; Radiat Res 95: 327, 1983.
21. Meyn RE et al; Radiat Res 94: 614, 1983.
22. Thompson LH et al; Mutat Res 95: 427, 1982.
23. Murray D et al; Radiat Res 100: 171, 1984.
24. Cress AE et al; Radiat Res 94: 552, 1983.
25. Radford IR et al; Int J Radiat Biol 48: 45, 1985.
26. Morgan WF et al; Int J Radiat Biol 48: 711, 1985.
27. Bryant PE et al; Int J Radiat Biol 48: 55, 1985.

镭的放射生态及有关防护

江西省工业卫生研究所 万玉松综述

中国医学科学院放射医学研究所 王燮华审

前 言

镭是居里(P. Curie)夫妇于1898年首次在沥青铀矿中发现的第一个天然放射性元素。1906年开始以工业规模从铀矿提取。由于镭具有很强的放射性,从而引起人们的特别兴趣。早期曾由于它在治疗肿瘤、风湿、痛风等病症的临床效果,而风靡一时^[1]。甚至还被人们在医学上作为内服药来治疗疾病。1924年以后陆续报道了镭进入人体后可引起严重危害,于是1932年被宣布禁用内服。由此引起了人们的广泛注意。并针对其对人体健康的危害开展了大量的研究。结果表明,镭最大危害是诱发骨肉瘤。据调查,美国1930年以前涂夜光粉的1474名女工中,已知有61人患骨肉瘤,21人患副鼻窦癌或乳

突细胞癌^[2]。在自然界,由于镭的广泛分布,因此,有关它在放射生态,以及辐射防护方面一直为广大防护科研人员所重视。本文概要地介绍这方面的资料。

一、镭的基本特性

镭是碱土金属元素,进入人体时,由胃肠道吸收慢且少,吸收约10%。吸入时,受化合物形式、颗粒大小等因素的影响,可溶性镭盐经肺吸收约40%。镭进入血液循环内,一部分存在于血浆,一部分吸附于细胞表面,二者均能迅速地离开血液,并绝大部分分布于骨组织。镭在体内主要以离子状态存在,不与血液及组织中蛋白质牢固地结合。很少水解成放射性胶体,因此很快地蓄积到骨骼的无机质部分。在骨骼内蓄积量可因其