

辐射增敏的研究

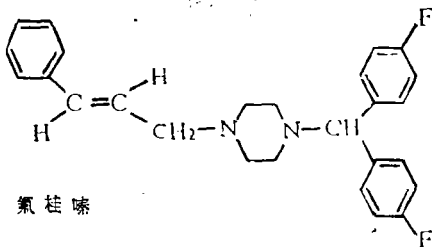
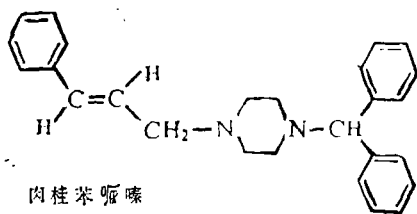
第八届国际辐射研究大会中国代表 金一尊

七十年代以来,辐射增敏的研究业已引起人们极大重视。在这次国际大会上,有关辐射增敏的内容较多,其广度与深度都超过前几届国际会议上交流的内容。本文主要根据有关邀请报告、专题讨论报告、分组交流和专题墙报内容整理而成。

一、氧传递修饰剂

通过改变氧的传递以提高肿瘤细胞对射线的反应,目前采用两种方法:一是直接输入红细胞,使肿瘤组织中靶细胞的氧供得到改善;另一种是用钙通道阻断剂,增加血流的方法。

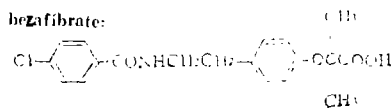
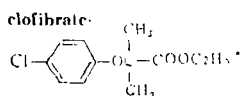
1. 血管活性剂:有作用于血管壁平滑肌的胍苯哒嗪和钙通道阻断剂。关于胍苯哒嗪的作用,英国Adams等已有较多的报道,这里不作详细介绍。钙通道阻断剂有肉桂苯哌嗪(Cinnarizine)和氟桂嗪(Flunarizine),它们能使肿瘤组织的血流增加。其化学结构为:



用RIF-1和SCC VII/st肿瘤细胞进行整体实验,发现两者单独或合并用药时,它们

的增敏作用不甚明显,但当同时注入红细胞,则作用可大大增加:用肉桂苯哌嗪并在X射线照射时立刻输入红细胞,其作用可提高16倍;单独使用氟桂嗪可提高对SCC VII/st细胞的杀伤力10倍;在照前输入红细胞,则使细胞对射线的敏感性增加40倍。

2. 血红蛋白携氧能力修饰剂:改变血红蛋白与氧结合的能力可使组织的氧合得到改善。降血脂药物如安妥明(Clofibrate)及其同系物苯扎贝特(bezafibrate)在离体试验中表明,它能降低血红蛋白与氧结合的能力,然而,安妥明在空气中对RIF-1肉瘤也有增敏作用,因此不能完全用血红蛋白携氧能力改变来解释它的辐射增敏作用,但苯扎贝特仅在照射时给予人造血才有意外的增敏作用。它们的分子结构式为:



另一药物为BW12C,它能改变血红蛋白与氧反应的平衡式,促使血液中游离态的氧成为与血红蛋白结合的状态(HbO_2)存在。用 $70\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的BW12C给予小鼠后,在不同时间测定组织中氧分压表明,用药后氧分压低于对照组,而 HbO_2 则高于对照组。从组织学切片观察,能引起肿瘤细胞坏死。

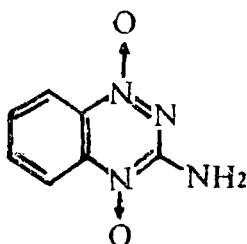
3. 烟酰胺的作用:其作用机理还不十分明确。从Hoechst 33342荧光测定表明,它可增加肿瘤组织的血流量。整体实验表明,在X线照射前90分钟注入 $1000\text{mg}/\text{kg}$ 烟酰胺,24小时后测定,对EMT6细胞的 $\text{ER} = 1.6$,此药将计划进行临床试验。

二、SR4233的研究

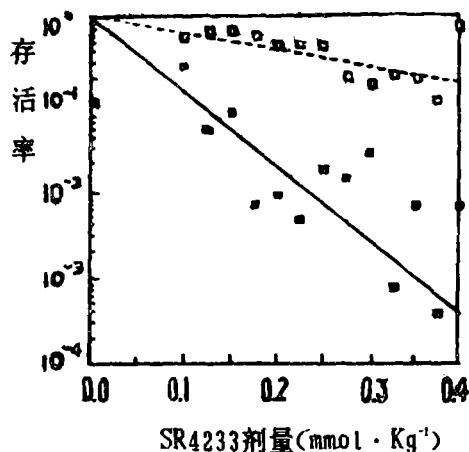
以美国Stanford大学为主,对SR4233进行了比较系统的研究,现将主要内容介绍如下。

1. SR4233的细胞毒作用:

SR4233, 3-氨基-1,2,4-苯并三唑-1,4-二氧化物(3-amino-1,2,4-benzotriazine-1,4-dioxide), 是一类非硝基杂环化合物。它对哺乳动物乏氧细胞具有较强的毒性作用, 化学结构式如下:



用CHO、RIF-1、SCCⅣ、C₃H10T1/2、HCT-8、A549、AG1522和HT1080八种正常和肿瘤细胞分别进行离体试验, 证实乏氧情况下其细胞毒性明显。在与胍苯哒嗪合用时, 其细胞毒性作用则明显增加, ER~4.5, 如图1所示。

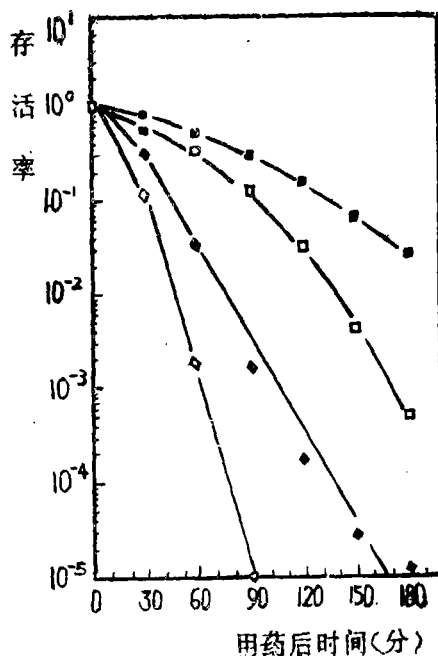


□ SR4233
■ SR4233 + 胍苯哒嗪

图1 SR4233与胍苯哒嗪(10mg/kg)合用后对EMT-6肿瘤细胞毒性的影响

另外, SR4233的LD₅₀为0.5mmol/kg, 当SR4233与胍苯哒嗪合用时, 则LD₅₀为0.3mmol/kg。用不同给药时间进行实验, 发现当两者同时给药时, 对肿瘤细胞的杀伤作用最大。在SR4233与GSH耗竭剂DEM和BSO合用时, 也可明显地增加乏氧细胞的毒性, 其乏氧时的ER为2.5 (SR4233浓度为20μmol/L), 有氧时的ER为1.3 (药物浓度为2mmol/L)。

2. SR4233的作用机理: 从它的细胞毒性作用研究说明: ①SR4233主要作用于DNA分子, 引起DNA单键断裂, 与单纯射线引起DNA单键断裂比较, SR4233引起的断裂增加。用5-溴尿嘧啶(5-BudR)掺入细胞的实验得出在SR4233与5-BudR合用时, 毒性增加, 如图2所示。②自由基作用



■ 20μmol/L SR4233
□ 20μmol/L SR4233 + 5-BudR
◆ 40μmol/L SR4233
◇ 40μmol/L SR4233 + 5-BudR

图2 SR4233与5-BudR合用对乏氧细胞毒性的影响

机理：SR4233分子在有氧与乏氧情况下其电子转移如图3所示。用ESR测定，证实SR4233能产生 $\cdot\text{OH}$ 自由基。同时用自由基捕获剂DMSO可使SR4233在乏氧情况时的毒性减弱也证实这一点，如图4所示。

③SR4233的细胞毒性不是单功能烷化作用，用单功能烷化剂3-AB实验证实，当SR4233与3-AB合用时对毒性影响不大。现将SR4233的细胞毒性各种试验结果列于表1。SR

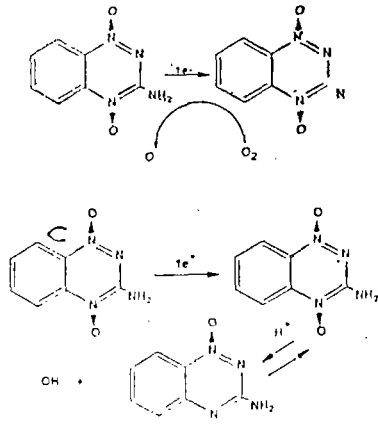


图3 SR4233在有氧(上图)与乏氧(下图)时的作用图式

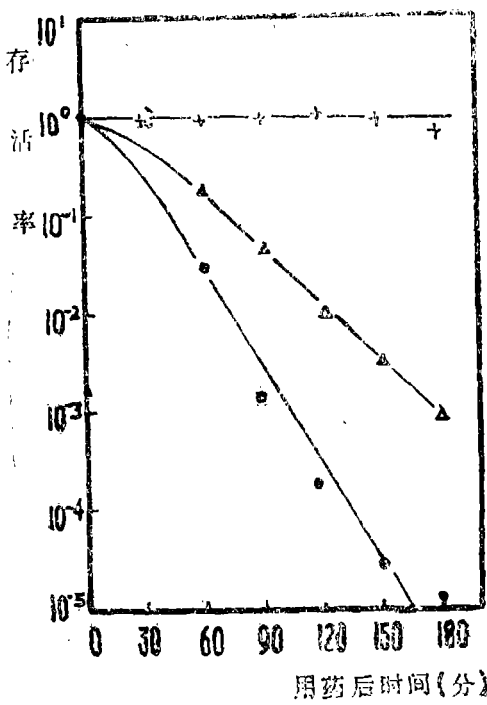


图4 SR233与DMSO合用时对细胞毒性的影响
 ●40μ mol/L SR4233 + 40μ mol/L SR4333
 ▲40μ mol/L SR4233 + 500μ mol/L DMSO
 + 250μ mol/L DMSO

表1 SR4233与各种修饰剂合用对细胞毒性作用的影响

药 物	作用机理	SR4233细胞毒性提高率(CHO细胞)	
		乏氧(10-40μmol/L)	有氧(1-2 mmol/L)
DEM和BSO	GSH耗竭	~2.5	~1.3
DMSO	自由基捕获剂	~0.5-0.6	~0.5-0.6
DMTU	自由基捕获剂	~0.7	-
BUdR	DNA链断	~1.4	1.0
3-AB	抑制DNA修复	1.0-1.1	1.0
MISO	硝基还原酶?	~1.3-1.4	-
Fe(Ⅱ)-EDTA	增加药物还原作用?	~1.1	-
DESFERAL	铁络合剂 (减少药物还原性作用?)	~0.5-0.8	-

4233及其衍生物的结构效应关系见表2。

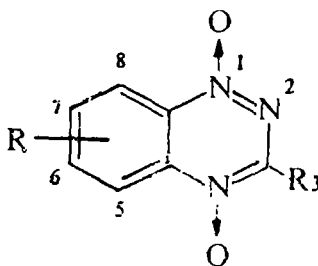
三、其它

1. 金属络合化合物

近年来，发现某些金属络合物对哺乳动

物细胞具有一定的辐射增敏作用，例如亚铁络合物可改变 D_0 值；铂的硝基咪唑络合物如 $\text{Pt}(\text{MISO})_2\text{Cl}_2$ 和 $\text{Pt}(\text{MISO})\text{NH}_2\text{Cl}$ ，特别是后者，增敏效应显著，这是由于 NH_2 基

表2 SR4233与各种衍生物的细胞毒性作用



SRNo.	R	R ₃	LogP	E _{1/2} (mV)	乏氧细胞 毒性率	氧耗率 (细胞)	LD ₅₀ (mmol/kg)
4233	H	NH ₂	-0.32	-332	75	1	0.5
4286	6(7)-OMe	NH ₂	-0.02	-360	12.5	0.52	~1.0
4308	6(7)-Cl	NH ₂	0.06	-275	30	3.86	
4317	H	NH ₂	1.03	-442	N/A	0	0.4
4318	7-Cl	ONH ₄	-1.27	-370	12.5	0.6	0.4
4330	H	NH ₂	1.1	-458	12.5		
4355	H	ONa	-2.7	-420	7.5	0	>0.4
4394	7-OMe	NH ₂	1.2	-461	1.5		
4420	H	OH	-0.77	-315	N/A	1.78	9.35
4444	H	OMe	-0.32	-206	<1	16	<0.3
4450	7-OMe	OH	-2	-422	N/A		
4451	7-CF ₃	ONa	-0.86	-375	N/A		
4452	H	NHCOMe	-0.64	-222	1	13.3	<0.1
4453	H	NHCOCH ₂ COMe	-1.41	-270	7.5	2.3	
4465	7-Cl	OH	-0.26	-285		0	
4466	7-OCH ₂ CH=CH ₂	NH ₂	0.7	-338	17.5	4.76	

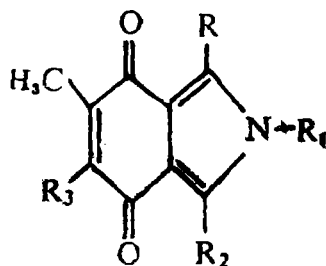
(From V.K. Virst et al. Stanford University)

与DNA结合,使细胞靶分子部位的MISO浓度增加。除此二种金属络合物外,尚有钴和镍的络合物。反式钴的二硝基四氨基络合物可使FSa II 肿瘤细胞的生长延缓。镍的拉伯醇络合物(NiL₂),可能由于它的电子亲和性而使它具有辐射增敏作用及乏氧细胞毒性作用。

2. 醌类化合物

主要有异吲哚-4,7-二酮(Isoindole-4,7-diones),它的基本化学结构式如右图所示。

其单电子还原电位(E'₇)介于MISO和灭滴灵之间,LD₅₀与MISO接近。CHO细胞



实验表明在乏氧时具有细胞毒性作用,并能降低细胞内GSH浓度。整体试验发现它具有一定的辐射增敏作用,但还有待进一步证实。

3. 除上述化合物外,有关新的辐射增敏剂和细胞毒性物内容还很多,其中有RSU-1069的各种衍生物、含碳酸酯和酰胺的间-硝基苯氨磺酰化合物、NQMC及日本

的RK和RP系列化合物,其中RK-28在1 m mol/L浓度时对HelaS₃细胞的ER=1.56 (MISO为1.40),对V-79细胞的ER=1.84 (MISO为1.7),RP026在1m mol/L时对EMT-6细胞的ER=1.40。我国学者介绍的

CMD、764-1、764-3、含吡啶和吡咯环的双环化合物等也引起代表们广泛的兴趣。此外,在辐射增敏研究方法学上也有新的进展,如Gray实验室介绍的荧光熄灭测定方法,对分子水平的研究有很大促进。

DNA辐射损伤和修复基因研究的一些进展

第八届国际辐射研究大会中国代表 曾思华

在第八届国际辐射研究大会上,与DNA辐射研究直接有关的报告和论文有200余篇。这些论文反映近几年该研究领域的新成就和今后发展的新动向。值得注意的是,DNA序列分析、基因克隆和DNA重组技术等分子生物学研究方法已广泛应用于辐射研究。与四年前相比,由于这些新技术的引进,对真核细胞DNA原初辐射损伤的阐明和修复基因的研究已取得了一些进展,并突破传统的研究方式进入新的阶段。下面仅就笔者所了解的一些情况从两方面作一简单的介绍。

一、DNA分子的损伤及其修复

DNA分子损伤及其修复是分子放射生物学的重要研究课题之一,研究十分活跃。大会的报告有Elkind的放射生物学中靶理论、非线性关系、修复与错误修复;Schulte-Frohlinde的DNA链断裂和生物学效应;Ward的细胞死亡的辐射化学机制和Lett的细胞修复、DNA修复和细胞存活。有关DNA修复的各种途径如切除修复、复制后修复和SOS修复等内容在大会上都有所报道。这里仅就分子生物学技术在辐射研究中的应用和取得的某些进展作一介绍,以期对我们的工作有所启发。这些技术包括DNA序列分析,DNA限制性内切酶图谱,酶探针,单克隆

抗体技术和计算机模型的应用。

DNA是公认的射线作用的靶分子。多年来的研究表明,无论是射线的直接作用或间接作用,都能使DNA大分子的结构发生改变,造成DNA分子的单链、双链断裂及碱基损伤。就辐射敏感性而言,嘧啶碱基一般比嘌呤碱基敏感。对于链断裂的位置,一般认为是随机的。法国Gremoble核研究中心的Duplax等人介绍,用高分辨率的序列凝胶电泳观察到链断裂的分布是不随机的。他们用 γ 线照射³²P标志的 $\phi \times 174$ 单链DNA,照后进一步用六氢吡啶处理,所得到的片段进行电泳分析表明,链断裂的位置分布是不随机的。当用低剂量的 γ 线照射,碱不稳定损伤优先发生在鸟嘌呤碱基,在高剂量时则发生在胸腺嘧啶,双链DNA也得到类似的结果。James等用四氧化钨定量氧化得到胸腺嘧啶乙二醇,电泳分析表明,损伤位置在5'末端,并建立了DNA胸苷乙二醇计算机模型。

染色质中DNA的分子量高达 $10^{10} \sim 10^{11}$ 道尔顿,含有 $10^7 \sim 10^8$ 碱基对。对于这样大的分子,目前的技术水平还不能对整个分子进行序列分析,一些实验室用内切酶切取其中一片段进行研究。有人曾对从猴于CV-1细胞所得到的172bp的片段进行辐射研究,