

2. Borek C; Cancer Res 1978, 38:2 997
3. Reznikoff CA; Cancer Res 1973, 33:3 239
4. Little JB; Cancer Res 1979, 39:1 474
5. Terzaghi M; Int J Radiat Biol 1976, 29:583
6. Borek C; Pharmac Ther 1985, 27:99
7. Terzaghi M; Cancer Res 1976, 36:1 367
8. Borek C; Nature 1973, 243:450
9. Miller R; Nature 1978, 272:58
10. Terzaghi M; Nature 1975, 253:548
11. Elkind MM; Radiat Res 1979, 79:233
12. Borek C; Biology of Radiation Carcinogenesis by J.M. Yuhas, R.W. Tennant and J.D. Regan Raven Press New York 1976, P 309
13. Borek C; Nature 1974, 252:499
14. Miller RC; Proc Natl Acad Sci USA 1979, 76:5 755
15. Terzaghi M; Little JB; Biology of Radiation Carcinogenesis Raven Press New York 1976, P301
16. Yuhas JM; Biology of Radiation Carcinogenesis Raven Press New York 1976, P301
17. Borek C; Nature 1980, 283:776
18. Borek C; Proc Am Ass Cancer Res 1981 25:100
19. Cerutti; Science 1985, 227:375
20. Pienta RJ; Int J of Cancer 1977, May:642
21. Brouty-Boye; Cancer Res 1977, 37:2714
22. Kennedy AR; Carcinogenesis 1980, 1:1039
23. Kennezy AR; Cancer Res 1978, 38:439
24. Harisiadis L; Br J Radiol 1980, 53:479
25. Raphorst GP; Cancer Res 1986, 46:14
26. Terasima T; Gann 1981, 72:762
27. Kakanuga T; Topics in Chemical Carcinogenesis Japan Press 1972, P32
28. Little JB; Radiation Carcinogenesis in Vitro implication for mechanisms Origins of Human Cancer Vol. IV 1977, P929
29. Borek C; Carcinogenesis 1982, 7:277
30. Borek C; Proc Natl Acad Sci USA 1979, 76:1800
31. Borek C; Adv Cancer Res 1982, 37:2714
32. Brouty-Boye; Int J Cancer 1979, 24: 261
33. Kennedy AR; Nature 1981, 294:97
34. Vaessen MJ; Int J Radiat Biol 1986, 49:539

## 辐 射 增 敏 研 究 动 向

Stratford IJ\*

### 一、辐射增敏研究现状

目前在肿瘤的临床放射治疗中,如果采用正常组织可耐受的照射剂量进行治疗,肿瘤的平均治愈率仅40%,提高射线对肿瘤的杀伤率之关键,仍在于克服那些对射线敏感性较差的乏氧细胞。因此,如何克服乏氧细胞已成为这一研究领域各国学者共同努力的目标。综合目前所采用的方法,主要有:①增加对肿瘤组织的氧供;②中子治疗;③

辐射增敏剂。MISO是第一个使用于临床的辐射增敏剂,但由于它的神经毒性,使临床应用受到极大的限制。为此,临床使用的增敏剂必须具备:①在使用治疗剂量时对正常组织无毒;②对正常及有氧细胞无增敏作用;③能渗透到肿瘤的中心区;④体内代谢速度慢。目前研究的增敏剂有卤代嘧啶类化合物、细胞毒素、氧利用抑制剂、PLD修复抑制剂、细胞内巯基耗竭剂、类氧物(硝酰基自由基、亲电性化合物)、直接作用于乏氧细胞的毒

\* 本文是Stratford IJ博士1987年9月3日~3日在沪举办的“辐射增敏”学习班上的报告。

性物。

## 二、辐射增敏的研究方法

为寻找有效的辐射增敏药物，并尽可能地缩短从实验室研究到临床使用的周期，目前采用整体定位照射与离体测定的实验方法。此法不仅可以对不同药物进行增敏作用的定量比较，而且比以前离体与整体试验分离的方法简便省时，特别适用于对大量的药物增敏效应的实验室研究。具体方法如下：将带肿瘤的动物进行定位照射，照后切除肿瘤，酶解后成单细胞悬液，进行细胞计数与稀释，细胞植入，培养7~9天后进行集落计数，得出生存曲线。用下列经验式计算出整体试验的增敏效应( $\alpha$ )：

乏氧细胞生存曲线： $y = 1 - (1 - e^{-KD})^n$

乏氧细胞与有氧细胞在增敏时的生存曲线： $y = \pi[1 - (1 - e^{-\alpha DK})^n] + (1 - \pi)[1 - (1 - e^{-\lambda KD})^n]$

$y$ ——生存因子

$\pi$ ——乏氧系数

$K$ ——生存曲线斜率

$n$ ——外推数

$\lambda$ ——空气/氮气的剂量增加率

$D$ ——照射剂量(选用在有氧细胞杀灭，乏氧细胞存活的剂量点，一般为10Gy)

$\alpha$ ——增敏率(即SER)

$K$ 、 $n$ 、 $\lambda$ 、 $\pi$ 可从离体试验所得的生存曲线中得到， $D$ 已知， $y$ 先求出，这样从上述公式中就可求出 $\alpha$ 。用此法对MISO和其它不同药物进行 $\alpha$ 测定，结果与整体试验所得一致，RSU-1069的测定值也证实它比MISO的增敏效应大10倍。

为了完整地评价药物的增敏效应，必须包括下列几方面的内容：①寻找合适的溶剂及给药途径；②测定药物的最大耐受剂量(MTD)；③确定最佳给药时间，(选用1/2 MTD，在10Gy照前不同时间给药)；④最佳

给药时间时对射线的生存曲线；⑤测定有效用药剂量时的SER；⑥用其它指标和不同肿瘤细胞进一步确证增敏效应。

## 三、寻找有效增敏剂的途径

MISO是一个有效的辐射增敏剂，虽然它作为临床药物不够理想，但从对MISO的研究中，可以得到许多有益的启示，为今后设计更适合于临床使用的增敏剂提供依据。综合以往的研究表明，药物的增敏作用与它们的亲电性大小、分配系数(P值)和酸碱性有密切关系。现分别说明如下：

(1)药物的亲电性：在离体试验中，随着药物的亲电性增加，增敏作用也相应增加，但是它的毒性也增加；在整体试验中，一般说来，药物的亲电性增加，增敏作用也增加，但在体内的代谢稳定性却降低。实验采用具有不同单电子还原电位( $E_1'$ )的药物，发现它们的 $C_{1.0}$ 、37℃时的急性乏氧毒性(LD<sub>50</sub>)和慢性有氧毒性均与 $E_1'$ 成线性关系。从大量的实验资料中得出，理想的辐射增敏剂的亲电性大小最好是与MISO相似或略高于MISO。

2)分配系数：在离体试验中，药物的分配系数大小与增敏作用无关；但在整体试验时，由于药物的分配系数不同，对细胞的渗透能力也不一样，因此影响药物在体内的代谢及浓度，也直接影响到增敏作用与毒性。用不同P值的药物，测定它们的肿瘤/血浆和脑/血浆浓度比值，发现MISO(P=0.43)在脑/血浆中的浓度与在肿瘤/血浆中的浓度十分接近，而SR2508(P=0.046)，两者相差较大，因此SR2508的毒性较小，相应的增敏效应也就增加。

3)药物的酸碱性：由于正常细胞与肿瘤细胞、细胞内与细胞外的pH不同，因此药物的酸碱性直接影响到药物被摄入细胞的浓度。实验表明，MISO和具有不同酸碱性(pKa值)的2-硝基咪唑类化合物的增敏

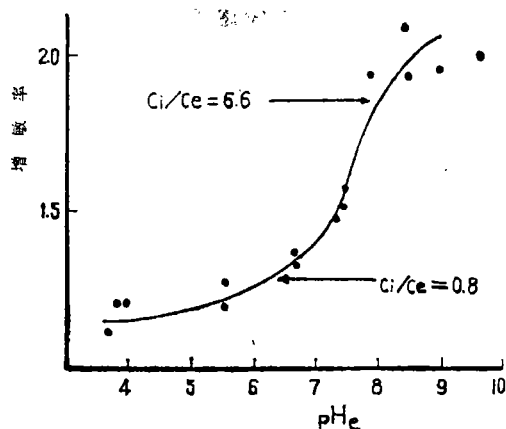


图1 Ro03-8799在不同pH<sub>e</sub>值时对增敏率的影响

作用与pK<sub>a</sub>值之间的关系为:化合物的pK<sub>a</sub>值高,其增敏作用强,但pK<sub>a</sub>值小于6时,它们的增敏作用就大大下降。图1显示了不同的pH对Ro03-8799细胞内/外药物浓度的影响,当细胞外pH<sub>e</sub> = 8时, Ci/Ce = 6.6,其ER接近于2;当pH<sub>e</sub> = 6.5时, Ci/Ce = 0.8, ER就大大减小。对RSU-1069、RSU-1165和RB-7040的实验也得出类似的结果。这说明pH不同,可直接影响细胞内的药物浓度,进而影响其增敏作用,它们之间的关系可用下式表示:

$$Ci/Ce = (1 + 10^{pK - pH_i}) / (1 + 10^{pK - pH_e})$$

Ci/Ce——为细胞内药物浓度/细胞外药物浓度

pH<sub>i</sub>——细胞内pH

pH<sub>e</sub>——细胞外pH

综上所述,在设计新的辐射增敏药物时,必须全面考虑它们的亲电性、分配系数和酸碱性,以获得低毒高效的增敏剂用于临床。

#### 四、RSU-1069的作用机理

RSU-1069是具有双功能性的增敏剂,同时它又是很好的生物还原细胞毒性物质,近年来已引起各国学者的广泛重视,因此对它的研究较多。RSU-1069的增敏效应远远

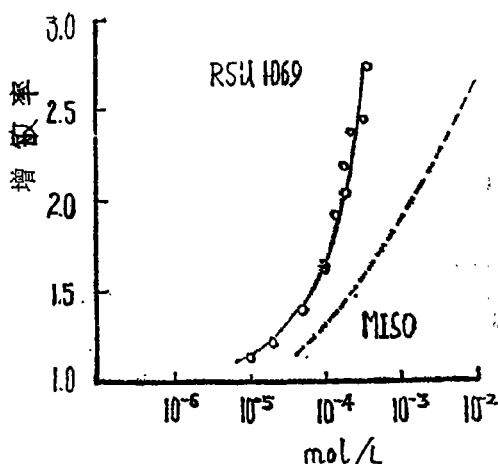


图2 RSU-1069与MISO对乏氧细胞增敏作用的比较

超过MISO,如图2所示。它的分子中具有亲电性的硝基咪唑环及烷化基团氮丙啶,在乏氧(氮气)情况下,这两部分都能与靶分子发生反应,使作用增加。从分子和细胞水平分别进行研究证实,RSU-1069主要作用于DNA的磷酸基,使DNA发生降解,引起交链和键裂(单键与双键)。将RSU-1069分别与磷酸和醋酸缓冲液作用,结果指出,由于RSU-1069与磷酸基迅速反应,使游离的RSU-1069浓度很快在缓冲液中减少,而在醋酸缓冲液中不明显。用电泳方法也证实了这一点。细胞研究表明,分子中的氮丙啶起了单功能烷化剂的作用,它与DNA分子中的核酸结合,使正常的DNA分子改变。用5-BUdR和3-AB分别对RSU-1069在空气及氮气条件下进行毒性试验的研究,发现在氮气时它的毒性比空气中大100倍,比MISO增加1000倍。这是由于在氮气时,RSU-1069分子中的亲电性部分硝基咪唑环与烷化剂的氮丙啶都发生作用,使它的毒性增加。这也就是RSU-1069作为生物还原细胞毒性物用于化疗的依据。在RSU-1069的增敏作用中,单功能烷化剂氮丙啶不是主要的,但当单功能烷化剂与MISO合用时,增敏作用可大大加强,这是由于通过RSU-1069分子中的氮

丙啶与DNA分子结合,使靶分子周围的硝基咪唑(增敏部分)的局部浓度提高,而增加了增敏作用。因此,RSU-1069对寻找活性更大的辐射增敏剂和生物还原细胞毒性剂是一个关键性的化合物。

### 五、增敏剂的临床应用

在肿瘤放射治疗中,合理使用辐射增敏剂并调节正常组织和肿瘤组织的氧合,在治疗上有很大的意义。为了提高放疗效果,在治疗时可采用下列措施:①高压氧舱;②病人处于贫血;③使用人造血;④用降压药物如肼苯哒嗪;⑤改变血红蛋白携氧能力,如BW12C。从Bush等(1978年),Dische等(1983年)和Overgaard等(1985年)的临床观察结果说明,当治疗时分别采用上述方案,可提高疗效,如果合并使用辐射增敏剂,则治愈率可大大提高。图3表示,在MISO与肼苯哒嗪合用时,MISO的增敏效

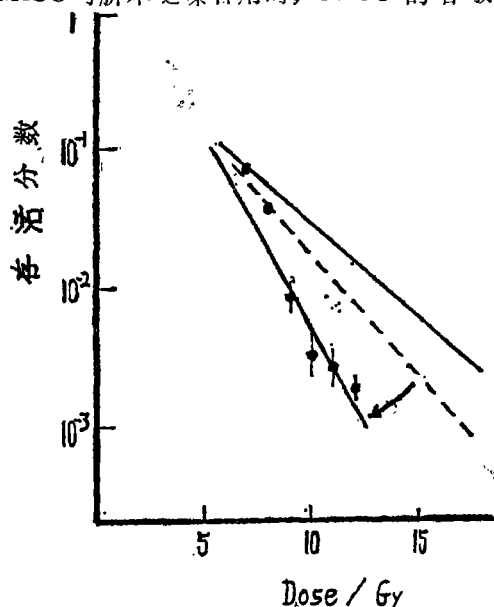


图3 MISO与肼苯哒嗪合用对细胞存活的影响

——对照(乏氧)  
 .....MISO  
 ●MISO+肼苯哒嗪

果比单用MISO时高,RSU-1069与肼苯哒嗪合用后,增敏效果也明显增加。由于肼苯哒嗪能引起血管壁松弛,使血流变慢,这样就造成氧供减少,使组织出现乏氧,有利于增敏剂的作用。动物实验证实,肼苯哒嗪可造成99.9%的乏氧。用改变血红蛋白携氧能力药物如BW12C也可达到类似的效果。根据同样原理,Overgaard等(1986年)对咽部肿瘤病人放疗后4年的治愈率进行观察,发现在放疗时(分次)合并应用增敏药物MISO,在血红蛋白含量高的病人组,其治愈率为61%,低血红蛋白组则为28%,两者有显著性差异。这是由于在血红蛋白含量高的治疗组中,氧结合成HbO<sub>2</sub>,使游离态的氧含量降低,造成组织乏氧,使用增敏药物时效果较好。除此以外,巯基耗竭剂如BSO、DEM、phorone的应用也越来越被重视,特别是在乏氧时,细胞内巯基含量减少,可大大地增加细胞的辐射敏感性,这对于肿瘤治疗无疑是非常重要的。更值得注意的是,当这类巯基耗竭剂与亲电性的增敏药物合用时,可极大地提高增敏率。如图4所示,其

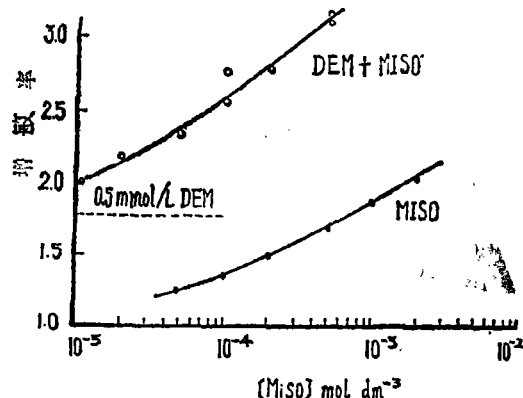


图4 DEM与MISO合用时的增敏作用

作用机理是通过抑制 $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶,使谷胱甘肽的合成抑制,这样,组织中GSH含量下降。这是一类很有发展前途的药物。

[金一尊整理 胡壁审]