

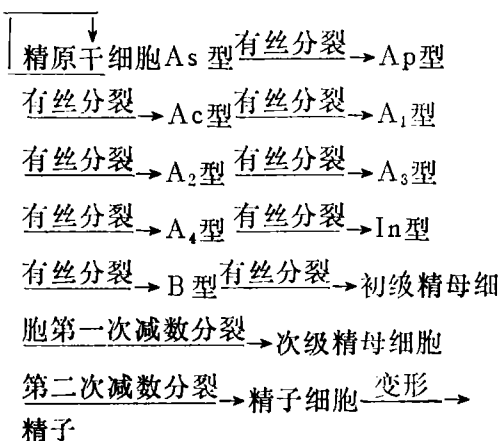
化学药物对辐射诱发雄性哺乳动物生殖细胞染色体易位影响的研究

中国医学科学院放射医学研究所 董连锴综述 蔡露* 肖佩新**审

提 要: 电离辐射和化学物质都可以诱发哺乳动物生殖细胞染色体损伤。本文综述了化学物质(辐射增敏剂和辐射防护剂)和电离辐射协同作用的机制及增敏剂、防护剂对辐射诱发雄性生殖细胞染色体易位的影响。

电离辐射和化学物质都可以诱发哺乳动物生殖细胞染色体损伤,亲代生殖细胞染色体损伤也可引起子代的先天性异常和肿瘤发生率增加。目前由于辐射增敏剂和辐射防护剂的广泛研究和应用,化学因素和物理因素共同作用于机体致使染色体损伤效应也变得更为复杂。在评价化学物质对辐射诱发雄性生殖细胞染色体损伤影响前,应先了解睾丸生殖上皮细胞的精子生成过程的某些特点,以便更好地理解化学因素对辐射损伤的防护作用或增敏作用。

哺乳动物睾丸生殖上皮中存在着许多不同发育阶段的细胞群,以小鼠为例,如下图所示:



式中: As = Asingle, Ap = Apaired, Ac = Achains。精原(干)细胞由辐射抗性

和敏感性两个亚群组成,其中以精原干细胞As的放射敏感性最低、In型和A₂→A₄型的放射敏感性最高。

关于辐射防护剂和增敏剂对辐射诱发雄性生殖细胞遗传性损伤的研究结果不尽一致。如果以生精过程某一阶段分别进行分析,则材料太少,故大致把初级精母细胞以后的各阶段生殖细胞分为一部分,精原(干)细胞为另一部分进行探讨。前一部分指标为生殖细胞染色体畸变导致胚胎期产生的显性致死为终点,后一部分则用精原(干)细胞染色体易位(在减数分裂终变期—中期I的多价体)为终点,在此主要阐述防护剂和增敏剂对后者的影响。

一、辐射防护剂对精原(干)细胞染色体易位的影响

研究表明,辐射防护剂对辐射诱发的精原(干)细胞染色体易位有缓解作用,并且这种缓解作用被认为与精原(干)细胞杀伤有关。Benova(1986)[1]用AET(2-氨基乙基异硫脲)、ATP和Serotonin(5-HT)三种防护剂分单一给药、两种混合、三种混合给药的方式研究了它们对防护X射线诱发的精原(干)细胞染色体相互易位的作用。结果是单一给药无防护作用,AET还有促进作用(但无统计学意义, $P > 0.05$);

两种药物合用,表现出一些防护作用,其防护系数*(RF)介于1.21和1.40之间,其中AET+5HT的 $P<0.05$,而AET+ATP的 $P>0.05$;只有三种药合用时(5-HT+ATP+AET)的防护作用有显著意义($X^2=10.88>10.83$, $P<0.001$),产生的防护系数介于1.32~2.05,其中最明显的(最佳剂量比)是5-HT+AET+ATP=8+24+360(mg/kg)(即1:3:45)组,防护系数是2.05。此结果与过去类似的实验一致^[2]。关于这三种药物单一给药时为何对生殖细胞遗传损伤无防护作用,Benova认为可能与防护剂的剂量有关。此后,作者又用WR-2721和ATP+AET+5-HT比较,研究了4 Gy X射线照射对小鼠精原(干)细胞染色体相互易位的影响,结果WR-2721预处理组的防护系数RF值为2.4,而ATP+AET+5-HT的RF值为1.8。此结果表明,WR-2721比后者的防护作用更为明显。

CM(胱胺)对辐射诱发精原(干)细胞染色体相互易位的保护作用研究很多,有

人认为有保护作用,也有人则认为效果不明显^[4, 5]。Pomerantseva^[5]用CM等七种辐射防护剂对辐射诱发精原(干)细胞染色体易位的保护作用进行了研究,结果是单纯或混合给药均有明显预防作用。他们用防护系数(RF)=

$$\frac{\text{易位数(照射)} - \text{易位数(照射+防护剂)}}{\text{易位数(照射)}} \text{计}$$

算,RF值介于0.11~0.47之间(见表1)。Ramaiia和Pomerantseva^[6]用小牛胸腺DNA的研究证实,其对辐射诱发生殖细胞遗传学损伤没有防护作用。以上结果说明,有些已确立的辐射防护剂对精原细胞染色体易位产额的防护作用还不能肯定,可能是辐射诱发的易位频率过高而影响了这一防护作用。故,关于辐射损伤与辐射防护剂的相互关系不能用单一机制解释。

二、辐射增敏剂对精原细胞染色体相互易位的影响

Zwanenburg^[7]报导用3-氨基苯酰胺

表1 辐射防护剂对精原干细胞染色体易位率的影响

辐射防护剂	辐射剂量(Gy)	鼠数	细胞数	易位数		RF**
				绝对数	百分率	
	2.7	68	13580	592	4.4±0.3	
氮乙基硫代磷酸盐(CP)	2.7	27	5100	150	2.9±0.4 ^a	0.34
氮丙基硫代磷酸脂(GP)	2.7	24	4632	118	3.0±0.3 ^b	0.32
胱胺(CM)	2.7	19	3821	141	3.7±0.5	0.16
胱胺(CM)+5-甲氧基色胺(5-M ₀ T)	2.7	24	4599	133	2.9±0.4 ^a	0.34
6种化学药物*	2.7	24	4555	154	3.4±0.3 ^a	0.23
	4.05	13	2261	115	5.1±0.7	
氮乙基硫代磷酸盐(CP)	4.05	9	1889	57	3.0±0.53 ^b	0.41

注: a. $P<0.05$; b. $P<0.01$

* 6种化学药物包括(GP、CP、AET、半胱氨酸+氮乙基硫酸+N-乙酰胍硫代乙醇酸)

$$**RF = \frac{\text{易位数(照射)} - \text{易位数(照射+防护剂)}}{\text{易位数(照射)}}$$

$$* \text{防护系数(RF)} = \frac{\text{易位数/100个细胞(单纯照射)}}{\text{易位数/100个细胞(照射+防护剂)}}$$

(3-amino-benzamide, 3-AB)处理后75分钟就可以增加X线诱发小鼠精原(干)细胞的染色体易位率。3-AB本身并不诱发易位畸变,而对射线诱发精原(干)细胞染色体易位率却有明显的促进作用:3Gy照射后从4.6%增加到7.4%,4Gy照射后从6.9%增加到11.9%。该作者认为,3-AB可抑制ADP-核糖的转化作用,从而抑制了DNA双链断裂损伤的修复,导致畸变量增加。

另外,辐射增敏剂R₀-07-0582(misonidazole)能增加辐射对精原(干)细胞杀伤率,原作者认为也会增加辐射诱发生殖细胞的遗传性损伤效应^[8]。Van Buul^[9]用环磷酰胺(cyclophosphamide)和亚德里亚霉素(adriamycin)可使辐射诱发的小鼠精原细胞染色体易位敏感性增加。Kelland^[10]用人的生殖系肿瘤细胞株观察了3-AB对辐射损伤修复能力的抑制,结果是照射前2小时给予3-AB,在辐射高剂量率150cGy·min⁻¹和持续低剂量率7.6cGy·min⁻¹及1.6cGy·min⁻¹照射都能使细胞存活减少,说明了3-AB在离体条件下也能增加辐射损伤效应。

三、辐射和化学物质诱发精原(干)细胞染色体损伤协同作用机制

关于化学物质预先处理和后处理对电离辐射诱导生殖细胞损伤的防护作用研究是基于了解精原(干)细胞变化和其产生的效应着手的。开始用单一剂量和分割的X射线照射后研究其遗传学损伤和细胞死亡之间的规律,以后又用能杀死细胞而很少有遗传学损伤的化学物质来验证辐射研究所得的规律。总的结论^[11]是:精原(干)细胞是一个复杂多变的非均一性细胞群,导致对某一已知的致突变剂效应的明显不同,这主要与细胞亚群或亚组受影响时所处状态有关。一次急性X射线照射诱发精原(干)细胞染色体易位效应曲线呈钟型,这主要是因精原(干)细

胞中有辐射抗性和辐射敏感性两个细胞群所致。从细胞学研究证明,精原(干)细胞中既有长周期的细胞,又有短周期的细胞,长周期细胞的G₂和S期较稳定,与短周期细胞相同,但是G₁和G₀期并不相同且敏感性低。所以,长周期细胞的抗性是因G₁和G₀期长所致,照射时处于G₀或G₁期机会多;而短周期细胞敏感性高是因细胞周期短,照射时常处于分裂活动期,G₂或S期的受照射的机率高,故表现出高敏感性。

用小剂量照射后24小时再给大剂量的不等分割照射,其诱发易位率明显增高^[12],这一现象与先给杀伤精原(干)细胞的化学物质处理的结果一样^[9, 13]。如先给三甘醇蜜胺(Triethylenemelamine TEM)、环磷酰胺和亚德里亚霉素处理后24小时再给大剂量γ线照射,其诱发易位产额明显增加(见表2),结论是第一次照射或化学处理造成的精原(干)细胞的减少,激发了残存的原先是辐射抗性的细胞,在24小时后转变成一过性的敏感状态。以上说明了大剂量分割照射间隔24小时的易位率大于累加效应;当把两个中等剂量X射线(3~5Gy)间隔延长(约2周),其易位率小于相加效应。如单纯5Gy照射易位率10~11.7%,而先给1GyX射线照射或TEM处理后4天再照射4GyX射线,其易位率分别是7.8%和6.3~7.1%,低于5Gy照射时的易位率。但其睾丸重量(反映的是精原细胞杀伤效应)没有明显变化,考虑可能是由于那些对杀伤敏感的精原细胞迅速分裂,以及辐射抗性细胞在4天、2周时又重新出现,导致第二次照射的染色体畸变率下降而睾丸重量变化不大。细胞学证明,在细胞丢失过程中,存活下来的细胞在36小时左右进入S期,相继迅速分裂,繁殖充填干细胞池的数量说明了上面的观点。

从表2可以看到,除了先给TEM可修饰辐射对生殖细胞的损伤作用外,照射后给

表2. 用不同方式处理后精原干细胞的易位率

24小时间隔		长时间间隔	
处理	易位率	处理	易位率
① 1 Gy	4.2±0.4	② TEM ^d	0.9±0.1
9 Gy + 1 Gy	7.2±0.6	TEM + 5 Gy	6.3±0.8
1 Gy + 9 Gy	22.0±2.5	5 Gy + TEM	6.2±0.8
② TEM ^a	0.9±0.1	5 Gy	11.7±1.0
TEM + 9 Gy	23.0±1.9	④ TEM + 5 Gy	7.1±0.9
TEM + 5 Gy	12.7±1.1	5 Gy + TEM	7.6±0.9
5 Gy + TEM	9.3±1.4	5 Gy	10.0±0.9
5 Gy	11.7±1.0	1 Gy	2.4±1.2
③ CP ^b	0.2±1.0	5 Gy + 1 Gy	10.1±1.4
A ^c	0.7±0.2		
CP + 8 Gy	14.9±1.3		
8 Gy	10.5±2.6		
CP + 9 Gy	15.6±2.8		
A + 9 Gy	11.2±4.8		
9 Gy	6.4±1.2		

注①Cattanach and Crocker (1979)

②Cattanach and Crocker (1980)

③Van Buul (1984)

④Cattanach and Barlow (1984)

a: TEM 2mgkg⁻¹[13, 14]b: CP 200mgkg⁻¹[9]c: A 7mgkg⁻¹[9]d: TEM 2mgkg⁻¹[13, 15]

总之, 化学物质与电离辐射诱发精原(干)细胞遗传损伤效应表现多样化, 弄清这些规律对从小鼠外推到人类的危险度估计有重要意义。如何增加辐射疗效, 降低辐射造成的遗传学损伤, 是人类肿瘤放疗中需解决的问题, 所以了解防护剂、增敏剂的作用及作用机制是当前所面临的研究课题。

参 考 文 献

1. Benova DK; Mutat Res 1986, 159(1/2): 75
2. Benova DK, et al; Int J Radiat Biol 1970, 26
3. Benova DK; Int J Radiat Onco Biol Phys 1987, 13: 117
4. Pomerantseva MD and Vilkina GA; Soviet Genetics 1974, 10: 55
5. Pomerantseva MD and Ramaiia LK; Mutat Res 1984, 140(1): 131
6. Ramaiia LK and Pomerantseva MD; Radiobiology 1978, 18: 129
7. Zwanenburg TSB and Van Buul PPW; Mutat Res 1986, 175(1): 33
8. Suzuki N, et al; Radiat Res 1977, 69(3): 598
9. Van Buul PPW; Mutat Res 1984, 128(2): 207
10. Kelland LR, et al; Int J Radiat Biol 1987, 51(2): 227
11. Cattanach BM; Genetic Toxicology of Environment at Chemicals. Part B; Genetic Effects of Applied Mutagenesis Edited by Ramel C, et al (New York: Alan R. Liss, Inc) 1986, pp485~495
12. Van Buul PPW and Léonard A; Mutat es 1980, 70(1): 95
13. Cattanach BM and Crocker AJM; Mutat RRes 1980, 70(2): 211
14. Cattanach BM and Crocker AJM; Mutat Res 1979, 60(1): 73
15. Cattanach BM and Barlow JII; Mutat Res 1984, 127(1): 81

药也能减少辐射诱发精原(干)细胞染色体易位率。其解释是: 化学物质选择性杀伤那些辐射损伤比较严重的细胞群, 这些带有较多遗传学损伤的细胞含有迅速分裂的细胞, 对细胞杀伤非常敏感, 故细胞丢失得多, 导致畸变率下降。

结论: 精原细胞染色体相互易位的材料表明, 化学药物和辐射协同作用的规律有:

①辐射防护剂可依不同种类、不同配伍有不同程度的防护作用, 即降低随后照射诱发的精原(干)细胞染色体相互易位率。

②辐射增敏剂先前处理可增加24小时后及降低几天后的辐射诱发的易位率。

③照射后用辐射增敏剂则可减少几天前辐射诱发的易位效应。