

中子所致DNA损伤和修复特点

北京放射医学研究所 何刘胜综述 王 珏 吴德昌审

提 要: 本文综述了近年来有关中子所致DNA损伤和修复的文献, 认为中子所致DNA 双链不可修复型断裂较 γ 线为多, 是中子高RBE值的主要原因, 而且中子所致DNA损伤的修复易导致错误修复。

目前世界上有十几个中子治疗癌症中心^[1], 随着中子对癌症治疗研究的深入, 人们迫切需要了解中子对细胞杀伤效应的作用机理。快中子对细胞杀伤有较高的RBE (Relative Biological Effectiveness) 值^[2, 3]是由于其为高LET (Linear Energy transfer) 辐射。众所周知, DNA是射线所致细胞损伤与死亡敏感的靶分子之一, 因而众多学者力图从DNA损伤及修复方面来探讨快中子的高RBE值的原因^[4~9]。辐射所致DNA损伤有: DNA单链断裂(DNA single-strand breaks, 简称SSB)、DNA双链断裂(DNA double-strand breaks, 简称DSB)、碱基及糖的损伤、DNA-DNA交联及DNA-蛋白质交联。其中, DNA双链断裂在细胞杀伤中占有很重要的位置^[10~14]。本文综述了近年来文献, 阐述了中子所致DNA损伤和修复的特点。

一、DNA单链断裂

高剂量及低剂量中子照射, 所产生的SSB较相等剂量 γ 射线少, 因而快中子所致的SSB的RBE值基本上均小于1 (表1), 仅少数例外^[15]。

从表1可见, 尽管RBE值小于1, 但无规律性可循, 其原因可能是: ①不同的检测SSB方法影响RBE。Maki^[16]等认为DNA解螺旋法所得的SSB的RBE值较蔗糖梯度沉降法所获得的RBE值小, 差异来自于方法的原理: 前者是在碱性条件下DNA解螺旋率与DNA损伤程度成正比, 后者是根据沉降

表1 快中子所致哺乳动物细胞SSB的RBE值

能量 (MeV)	细胞系	剂量范围 (Gy)	方法	RBE值
1.6	小鼠成纤维细胞	50	蔗糖梯度	1.6 ^[15]
6	小鼠淋巴瘤细胞	110	解螺旋	0.32 ^[17]
6.2	中国仓鼠细胞	440	蔗糖梯度	0.74 ^[18]
6.2	中国仓鼠细胞	140	蔗糖梯度	0.68 ^[4]
7.0	小鼠淋巴瘤细胞	30	羟基磷灰石过柱	9.37 ^[8]
13.0	L5178Y	2000	蔗糖梯度	0.60 ^[5]
14.0	人淋巴细胞	4	荧光光度	0.36 ^[6]
14.6	人皮肤成纤维细胞	5	碱性洗脱	0.30 ^[7]

系数与DNA分子量之间的关系。一般认为碱性洗脱法对测定SSB是相当敏感的; ②不同能量的中子对SSB的RBE有影响; ③实验者所用的细胞系的差异; ④中子照射剂量范围的差异等等。

二、DNA双链断裂

普遍认为DSB是细胞死亡的重要原因, 快中子所致DSB的RBE值大于1 (表2)

表2 快中子所致哺乳动物细胞DSB的RBE值

能量 (MeV)	细胞系	剂量范围 (Gy)	方法	RBE值
6.2	中国仓鼠细胞	700	蔗糖梯度	2.2 ^[18]
13.0	L5178Y	1500	蔗糖梯度	1.1 ^[6]
14.6	人皮肤成纤维细胞	50	中性洗脱	1.6 ^[7]
2.3	V79	50	中性洗脱	1.0 ^[19]

目前人们认为DSB可分为慢修复 (slow

-reparable) 及不可修复型 (nonreparable 或 poorly reparable), 并认为不可修复型DSB在细胞死亡中起重要作用。中子及 γ 射线所致DSB 都有上述两种类型, 差别仅在于中子所致哺乳动物细胞不可修复型DSB较 γ 射线所致的不可修复型DSB为多^[5]。Saki等^[17]将DNA损伤分为快修复SSB、慢修复DSB及不可修复型DSB (表3), 并比较了不可修复型DSB在两种类型射线辐照下产额上的差异, 重复了中子所致不可修复型DSB较 γ 射线为多的报道。1988年, Fox及

McNally报道了2.3MeV快中子也可产生不可修复型DSB^[19]。

不可修复型及慢修复型DSB 有下列差异: ①剂量反应曲线, 前者是向上凸起的, 后者呈线性^[17, 21, 22]; ②慢修复型DSB的RBE值小于不可修复型DSB的RBE值^[17]; ③慢修复型DSB为指数型修复, 半修复时间为30~70分钟^[17, 20]。

关于不可修复型DSB的成因, 目前尚不清楚, 有人认为在高剂量辐照情况下DNA分子断裂较多区域中两个非常接近的断裂点

表3 中子及 γ 射线诱导的三种类型DNA损伤 (中子及 γ 射线剂量均为58Gy)

特 性	快 修 复		慢 修 复		不可修复	
	中 子	γ 射 线	中 子	γ 射 线	中 子	γ 射 线
半修复时间 (分)	5	5	70	70	—	—
断裂数/ 1×10^{12} DaDNA	1600	4700	420	480	130	90
占初始断裂的百分比	74%	89%	20%	9%	6%	2%
中子和 γ 射线所致断裂数之比	0.34		0.88		1.4	

注: 引用文献17。

相互作用所致^[17]。

三、DNA-DNA交联

迄今为止尚无有关中子诱导DNA-DNA交联存在的直接证据。1977年, Fornace和Little^[24]报道10Gy X射线可诱导DNA-DNA交联的产生。1983年, Szafarz^[25]等报道5Gy中子照射未发现DNA-DNA交联的存在; 1988年, Ekert^[23]等利用碱性洗脱法, 发现3.5Gy中子辐照后出现一个不寻常的洗脱拖尾现象(2h 37℃培养后仍存在), 并认为这是中子诱导的DNA改变。那么, 这种中子诱导DNA改变的属性是什么呢? 众所周知, DNA碱性洗脱法不仅可以确定单链断裂的数目, 而且可测定DNA-DNA和DNA-蛋白质交联。作者用蛋白酶K处理滤膜上裂解复合物并未发现DNA-蛋白质交联的存在, 因而推测这可能是DNA-DNA交

联, 并解释了这可能导致中子剂量存活曲线上较窄的“肩”及低剂量时细胞杀伤的高RBE值。

四、DNA损伤的修复

中子及 γ 射线诱导的DNA单链断裂在5分钟内很快被修复, 且没有差异^[17]。Fox及McNally^[19]报道中子照射后具有较多的DSB呈不可修复性, 并认为中子所致的可修复型DSB的修复容易产生错误修复。但由于实验资料太少, 尚不清楚中子及 γ 射线所致DNA损伤修复的变化的本质, 尚有待于进一步研究。

五、结语

通过对中子和 γ 射线所致DNA损伤和修复的比较, 观察到中子所致DNA损伤和修复有下列特点: ①产生DNA单链断裂(SS-

B) 较少; ②产生较多的不可修复型DNA双链断裂, 且解释了中子对细胞杀伤的高RBE值; ③具有较多的DNA双链断裂呈不可修复性, 且可修复型DSB的修复易产生错误修复。但是, 目前关于DNA-DNA交联在中子辐照中是否存在、不可修复型DSB是如何形成的以及DNA损伤修复的差异仍不很清楚, 这些仍需进一步研究。

参 考 文 献

1. Beauduin M, et al, Strahlenther Onkol 1989, 165:263
2. Hall EJ, Int J Radiat Oncol Biol Phys 1982, 8:2137
3. Hannan MA, et al, Int J Radiat Biol 1986, 50:811
4. Korner JJ, et al, Stud Biophys 1978, 70:175
5. Furuno AJ, et al, Int J Radiat Biol 1979, 36:639
6. McWilliams RS, et al, Radiat Res 1983, 94:499
7. Van Der Schans GP, et al, Int J Radiat Biol 1983, 44:75
8. Hesselwood IP, Int J Radiat Biol 1978, 34:461
9. Painter RB, In "Radiation Biology in Cancer Research" (Meyn RE & Withers HR, eds). New York, Raven Press, P.59
10. Dungle DL, et al, Proc Nat Acad Sci 1976, 73:809
11. Natarajin AT & Obe G, Mutat Res 1978, 52:137
12. Natarajin AT & Obe G, Chromosome 1984, 90:120
13. Bryant PE, Int J Radiat Biol 1984, 46:57
14. Bryant PE, Int J Radiat Biol 1985, 48:55
15. Moss AJ, et al, Radiology 1979, 119:459
16. Maki H, et al, Int J Radiat Biol 1986, 50:795
17. Sakai K, et al, Radiat Res 1987, 110:311
18. Kampf G, et al, Stud Biophys 1977, 62:17
19. Fox JC & McNally NJ, Int J Radiat Biol 1988, 54:1021
20. Blocher D & Pohlit W, Int J Radiat Biol 1982, 42:329
21. Sakai K & Okada S, Radiat Res 1984, 98:479
22. Nakamura N, et al, Radiat Res 1985, 104:383
23. Ekert B, et al, Int J Radiat Biol 1988, 54:39
24. Fornace AJ & Litter JB, Biochim Biophys Acta 1977, 477:343
25. Szafarz D, et al, Photochem Photobiol 1983, 38:557