

小鼠皮肤辐射致癌的生物及分子研究概况

Bowden GT, et al

提 要: 小鼠皮肤致癌过程可分为诱发、促进和恶变三个阶段。业已证明: ①电离辐射是一弱致癌因素; ②1 MeV电子分割照射可促进由化学制剂诱发的良性乳头状瘤向鳞状细胞癌的恶性转化。本文讨论了辐射诱发的小鼠皮肤肿瘤中显性转化基因、分化基因的表达情况, 并对化学制剂和辐射诱发的良性、恶性皮肤肿瘤中肿瘤相关基因的表达模式进行了比较。

前 言

电离辐射具有致癌作用, 但能否诱发小鼠皮肤良性或恶性肿瘤、能否促进良性乳头状瘤向鳞状细胞癌(SCC)的恶性转化呢? 分子生物学的发展和强有力的基因转移技术的采用导致了人类和啮齿类动物中许多激活的显性转化基因的发现。那么, 辐射诱发的小鼠皮肤肿瘤中是否含有可检测的显性转化基因, 这些基因是否属于已知的癌基因呢?

电离辐射可作为小鼠皮肤肿瘤的诱因

动物研究的结果表明, 电离辐射诱发的原始损伤可保持很长时间, 其致癌效应亦可持续相当长的时间, 肿瘤形成的关键可能在于辐射诱发的原始损伤发生的进一步变化。我们以12-O-十四烷酰基-佛波醇基-13-乙酸(TPA)作为促进剂, 研究了4 MeV X线(7.5~22.5Gy)的致瘤作用。结果显示, 在所有的实验动物组中, TPA虽能诱发良性乳头状瘤, 但只有经过照射且有TPA处理的动物才有恶性SCC发生。这提示: 电离辐射可诱发肿瘤, 但其作用较弱。在诱导SCC时, 辐射剂量越低, 所需TPA量越高。另外, 我们的结果亦首次显示电离辐射能诱导小鼠基底细胞癌的发生, 其诱发依赖于辐射剂量而与TPA无关; 相反, SCC的诱发则需要电离辐射和肿瘤促进剂TPA的共同作用。最近, Ootsuyama和Tanooka报道仅用β线反复照射亦可诱发小鼠基底细胞癌、

SCC和纤维肉瘤。

电离辐射可促进小鼠皮肤肿瘤的恶变进程

电离辐射可作为皮肤肿瘤的诱发因素, 同时又是已知的致突、致断剂。如下的实验检测了电离辐射在小鼠皮肤肿瘤形成过程(诱发、促进和恶变三个阶段)中恶变阶段的作用。用肿瘤诱发因子处理具有乳头状瘤的小鼠, 结果发现比仅用TPA处理小鼠的癌形成频率高, 这提示恶变可能是由于诱变剂引起的遗传突变所致。作者采用TPA作促进剂, 以N-甲基-N'-亚硝基-N'-硝基胍(M-NNG)为诱导剂, 处理CD-1小鼠; 20周后, 再用丙酮、TPA处理(每周两次, 两周)或在10天内用1 MeV电子进行8次1Gy的分割照射。结果显示: 用电离辐射处理的小鼠中, 乳头状瘤转化成SCC的频率为80%, 而用TPA处理的仅为25%。另外, 电离辐射能增多每组中的癌瘤总数, 但并不增加乳头状瘤的数目。由此提示, 电离辐射的剂量和分割方式仅促进业已存在的乳头状瘤的转化, 但其机理仍不明瞭。

X线诱发的小鼠皮肤肿瘤中转化基因的检测

关于癌基因的激活在电离辐射诱发小鼠皮肤肿瘤中作用的研究, 一般采用NIH3T3转染、集落形成分析方法从肿瘤中提取DNA来检测其显性转化活性。在研究的82%皮肤肿瘤中, 其DNA呈阳性反应; 另外, 除了正常或经电离辐射及TPA处理的表皮, 电

离辐射诱发的所有类型的肿瘤中都检测到了转化活性。提取转染成功的受体 NIH3T3 细胞 DNA, 用 Southern 印迹法加以研究, 检查 3 个 ras 基因 (Harvey、Kirsten 和 N) 的激活形式。结果未发现在任何检查的转染 NIH3T3 细胞中出现新的限制性片段, 亦无任何扩增的内源性限制片段。这表明, 假定的转化基因不是 ras 基因家族成员。采用 NIH-3T3 集落分析法亦未发现其他五个癌基因 (B-lym、erbB、met、neu 和 raf) 的激活。通过限制性内切酶消化转染 DNA 对电离辐射诱发的小鼠皮肤肿瘤中显性转化基因特性作进一步研究, 结果显示电离辐射与化学致癌剂激活的癌靶基因不同。Borek 等、Krolewski 和 Little 最近的报道亦支持这一观点, 他们在研究哺乳动物细胞体外恶性转化时发现, X 线一次直接照射激活的癌基因与 ras 家族癌基因的激活形式不同。ras 家族成员通过点突变得以激活, 而化学致癌物或其代谢产物可有效地诱发点突变; 相反, 电离辐射主要诱发较大片段的基因突变, 而其诱发点突变的能力相对较弱。我们得到的关于相同组织学类型的皮肤肿瘤中数个转化基因的研究结果提示, 辐射诱发的肿瘤中癌基因的激活不是电离辐射直接作用的结果。

电离辐射及化学物质诱发的小鼠皮肤肿瘤中 “肿瘤相关”基因的表达模式

小鼠皮肤致癌的多阶段模式可用于研究辐射致癌和化学致癌分子机理的潜在差异, 其中一种方法就是比较电离辐射和化学致癌剂诱发的良性及恶性肿瘤中肿瘤相关基因的表达模式。肿瘤相关基因首先在研究小鼠皮肤鳞状细胞癌中过度表达的基因序列时检出, 方法采用 cDNA 文库鉴别杂交, 其中 Mal1 基因与脂肪酸家族或脂类结合蛋白有关、Mal2 基因与已知的蛋白序列很少或无同源性、Mal3 编码小鼠泛有素, 第四个肿瘤相关基因称为 transin, 编码一种分泌性金属

蛋白酶, 有荚膜包被的良性肿瘤在癌变为浸润性的 SCC 过程中可能涉及 transin 基因的表达。本研究之目的在于确定由化学物质和辐射诱发的小鼠皮肤肿瘤中, 这四个肿瘤相关基因的表达模式是否相同。我们观察到辐射和化学制剂诱发的肿瘤中, transin 基因的表达明显不同, X 射线诱发的乳头状瘤中有 transin 表达而 DMBA (7,12-二甲苯蒽) 诱发的乳头状瘤中却没有。同时, 动物实验表明, 用辐射诱发的良性乳头状瘤向恶性 SCC 转化的频率比化学制剂高。transin 编码一种分泌性金属蛋白酶, 其功能可能与恶性肿瘤细胞对基底膜的浸润有关, 因为在辐射及化学制剂诱发的恶性 SCC 中有 transin 表达, 而在电离辐射诱发的非浸润性荚膜包被的基底细胞癌中却查不到其转录。与 transin 基因相反, Mal1、Mal2 和 Mal3 的表达模式却无法区别, 仅在组织学不同的皮肤肿瘤中观察到 Mal 基因表达有所不同。如辐射诱发的 SCC 与乳头状瘤或基底细胞癌相比, 前者的 Mal1 基因表达水平较高; 而 Mal2 仅在 SCC 和乳头状瘤中表达; Mal3 的分析结果表明, 它在 SCC 和基底细胞癌中出现一种新型转录而在乳头状瘤中却无。总之, 在辐射及化学制剂诱发的良性乳头状瘤中, transin 基因的表达模式明显不同, 辐射导致的良性乳头状瘤中 transin 基因的过度表达提示, 辐射诱发的良性皮肤肿瘤在肿瘤演进过程中处于较后阶段, 实际上可能就是癌前病变。

结 语

小鼠皮肤致癌的多阶段模式在研究有关肿瘤形成的生物及分子变化时非常有用。肿瘤形成过程共分三个阶段: 诱发、促进和恶变。诱发阶段中发生永久的遗传突变; 促进阶段包括畸变细胞的克隆扩增并形成一良性肿瘤; 第三阶段中, 发生诸多基因突变, 形成许多恶性表型特征。电离辐射具有致癌作用

(下转第267页)

被解离。有一种抗黑色素瘤抗体的标记方法,目前正在进行大量的临床试用,在此方法中,首先标记整合剂,然后再连接到蛋白质上。标记后未结合的整合剂需要进行纯化。用这种方法标记的抗体,其药代动力学还有待详细报道。

结 论

综上所述,放射性标记抗体用于诊断和治疗的困难就是靶和非靶组织的放射性活性比例尚不令人满意,目前正在考虑一些新的标记方法,以增加肿瘤中标记物的蓄积和减少在正常组织中的蓄积,其中一条充满希望的途径就是改变抗体标记的方法。正如以上所述,放射性碘、 ^{111}In 和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 这三种主要标记途径都取得了重要发展。不过,标记抗体在病人体内的生物学分布能否有所改观尚不能肯定。例如,当脱卤素作用降低肝中放射性活性但同时肿瘤中并不减少时,

那么这一作用则利大于弊。同理,如果 ^{111}In 在肝中的蓄积机理是抗体在体内定位和分解代谢的自然过程,而不是由于抗体变性或标记物的不稳定性,那么改变标记方式就只具有很小甚至没有任何降低器官本底水平的作用。尽管最近在 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 进行抗体的稳定标记方面有一定的进展,但由于 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 的物理半衰期较短,故仍不能肯定 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 优于放射性碘或 ^{111}In 。

目前需要的是有关连接到抗体上的放射性标记物体内行为得到改善的报道,特别是有关在病人体内行为得到改善的报道,以便能与以前的标记技术进行有意义的比较。另外,还需要继续努力去了解在使用放射性标记抗体后,发生在肿瘤以及肝等正常器官中的有关作用过程,以便能通过进一步的努力去解决问题,而不是仅仅去发现问题。

[Nuci Med Biol 1990; 17(1): 49~55 (英文)]

刘礼乐节译 林 汉校

(上接第254页)

但其能力相对较弱,这是因为它不能有效地诱发点突变,电离辐射诱发的遗传突变涉及的片段较大,这些畸变可能在肿瘤恶变时起作用。另外,用1MeV中子分割照射作为促进剂时,可有效地诱导化学制剂诱发的良性肿瘤发生恶性转化。

关于辐射诱发的小鼠皮肤肿瘤中转化基因的研究提示,化学致癌和辐射致癌中涉及癌基因激活的靶基因是不同的,化学物质和辐射诱发的小鼠C3H10T1/2细胞体外转化的研究支持这一观点。我们对辐射诱发的4个小鼠皮肤肿瘤中三个转化基因的研究支持如下假说,即:辐射诱发的肿瘤中多个转化

基因的存在可能是辐射直接效应形成的次生DNA损伤造成的,这些次生DNA损伤源自电离辐射对某些调节DNA复制和基因组稳定性的细胞基因的直接效应。

另外,我们亦观察了辐射及化学致癌剂诱发的良性乳头状瘤中肿瘤相关基因的不同表达类型,transin基因在辐射诱发的良性乳头状瘤中的表达反映了其癌变倾向。X线诱发的乳头状瘤的恶变频率显著高于化学物质,其分子机理尚不清楚,很可能与电离辐射激活的转化基因的性质有关。

[Radiat Res 1990; 121(3): 235~241 (英文)]

陈振军节译 王知权校