^{125}IUdR掺入细胞DNA的放射生物效应研究概况

安徽医科大学附属医院 鲍诗平综述 沈恒嘉 摩福顺* 郑秀龙**审

提 要：^{125}IUdR是基础医学和生物学领域中应用比较广泛的标记化合物之一，但在^{125}I衰变过程中产生了大量的俄歇电子和CK电子，当其掺入细胞DNA后可造成严重的放射损伤。研究结果表明^{125}I的次级电子辐射可导致组织局部能量高度沉积，具有高LET特征，以体外细胞存活率和畸变率为生物终点时，^{125}IUdR的RBE值范围在4～17。

活细胞的放射性核素标记技术使人们获得了大量的动态、定量信息。近十几年来，随着生物科学技术的发展，^{125}IUdR作为标记化合物应用很广泛，但在^{125}I衰变过程中产生的大量次级电子能够在细胞和分子水平造成严重的放射损伤，直接影响了试验结果的精确性[1]。因此，研究^{125}IUdR的放射生物效应，控制其标记浓度是很必要的。本文就目前国外的研究概况作扼要介绍。

一、^{125}IUdR的特点及其放射生物效应机制

^{125}IUdR是目前较为理想的一种标记化合物，具有不自动释放，不会被宿主细胞再利用，测量不受自吸收和标本制备的影响，仪器设备要求不高，操作过程方便、迅速，产生的次级电子很适合放射自显影等优点[2]。所以，目前人们都倾向于用^{125}IUdR来替代^{3}H-TdR和^{51}Cr，尤其是在研究肿瘤转移和细胞毒试验中。^{125}IUdR中的^{125}I原子是$^{127}_{53}$I的放射性同位素，由电子俘获衰变使子体处于激发态而放射出γ射线，γ射线主要用作放射性测量。

^{125}I引起放射生物效应主要归因于它能产生大量的俄歇电子（Auger electron）和CK电子(Coster-Kronig electron)[3～5]，这些低能量的电子辐射可使组织局部能量高度沉积（highly localized energy deposition，HILED），从而使与其直接相邻的生物大分子遭受严重的放射损伤；另一方面，随着瞬间带高正电荷的子核^{125}Te一起发生的能量消散（dissipation），原则上也可产生一部分放射生物效应。Charlton和Booz[6]以及Sastry和Rao计算了处于凝结相的^{125}I电子谱，计算出^{125}I在电子俘获和内转换两步衰变中平均可以产生19～21个俄歇电子和CK电子，能量范围约在15eV～24keV，其中，大多数电子来自N壳层，它们在局部能量沉积中起着特别重要的作用。这些电子射程较短，在比重为1的物质中射程范围是1～4nm；而来自M壳层的一部分电子射程较长（可达20nm），它们对局部能量沉积的贡献只处于次要地位。

^{125}IUdR引起杀灭细胞效应应以其掺入到增殖细胞的DNA中为前提[7]，在细胞外或细胞浆里的^{125}I，其放射毒性极小[5]。Kassis[4]曾经用中国仓鼠V_{79}细胞研究了^{125}I的放射毒性，他分别用Na^{125}I，碘化二氢碱性蕊香红（[^{125}I]iododihydrorhohxmine，^{125}I-DR）和^{125}IUdR与肿瘤细胞共同孵育18小时，然后将细胞洗三次、稀释，再继续培养，得出细胞存活率。结果表明：不能进入细胞内的Na^{125}I不影响细胞存活率；能进入细胞浆，但不能进入细胞核的^{125}I-DR，其平均致死剂量（D_0）远远高于可掺入DNA的^{125}IUdR。有关俄歇电子引起

* 中国医学科学院肿瘤研究所 **上海第二军医大学

细胞毒效应要以进入细胞核为先决条件的结论在其它的一系列试验中也得到了证实。在这些试验中，人们分别运用也能产生俄歇电子的^{67}Ga、^{75}Se[8]、^{51}Cr[9]、^{77}Br[10]、^{201}Tl[11]和^{123}I[4]等进行了研究。

$^{125}IUdR$掺入到细胞DNA后，碘原子标记在胸腺嘧啶核苷的甲基上，位于DNA双螺旋结构的内部，在碱基平面距离DNA双链轴心0.5nm。所以，围绕^{125}I衰变点周围1～2nm区域的能量沉积基本上被DNA所吸收，符合HILED模型[1，5]，具有高传能线密度[1]（LET）特征。掺入到细胞DNA的^{125}I，其俄歇效应极易产生DNA双链断裂。在细菌、噬菌体及哺乳动物细胞[12]的试验中均已证明：几乎每一个^{125}I衰变都可产生一个双链断裂，因而杀灭细胞效应非常明显。

二、$^{125}IUdR$的相对生物效应（RBE）及吸收剂量估算

$^{125}IUdR$内照射具有高LET的特征，其细胞存活曲线没有肩区[3～5]或肩区很小[7]，可以用多靶一次击中模型配合[7]。根据存活曲线的数学表达式即可算出以掺入率为单位的D_0值的大小。

计算$^{125}IUdR$的RBE值，关键在于求出相应于D_0的掺入率在掺入过程中及掺入后滞留的总累积吸收剂量。由于累积吸收剂量的计算比较复杂，所以很多作者只以图表的形式定性地列出了实验结果，并未定量地求出RBE值，但这些结果对于认识$^{125}IUdR$的RBE很有帮助。1976年，Chan以细胞存活率和染色体断裂总数为生物终点，比较了$^{125}IUdR$、$^{131}IUdR$、^{3}H-TdR掺入V_{79}细胞DNA的放射毒性，结果表明$^{125}IUdR$的放射生物效应明显高于$^{131}IUdR$和^{3}H-TdR。Lemotte等[13]以细胞存活率为生物终点，分别比较了人和鼠细胞对$^{125}IUdR$、^{3}H-TdR的放射敏感性，并与X射线的D_0值作了对照。结果均证明$^{125}IUdR$的放射生物效应高于^{3}H-TdR，同时发现对急性X射线照射，人和鼠细胞的敏感性相似；而对$^{125}IUdR$、^{3}H-TdR，则人类细胞要比鼠细胞敏感得多，约5～10倍。这些结果符合有关低剂量率照射人类细胞要比啮齿动物细胞敏感得多的观点[13]。Hofer[14]等以体内细胞存活率为生物终点，比较了鼠L_{1210}细胞对$^{125}IUdR$、$^{131}IUdR$、^{3}H-TdR体内掺入细胞DNA的放射敏感性，结果与Chan的结论相一致。从以上研究可以看出，$^{125}IUdR$作为标记化合物，当它掺入到细胞DNA后，由于其高度的局部能量沉积效应及高LET特征，所以放射生物效应明显高于其它标记化合物。

有关RBE值的估算，首先要算出辐射产生某种生物效应所需的吸收剂量。由于累积吸收剂量的估算牵涉的因素较多，所以^{125}I-UdR掺入到细胞DNA后，人们常将细胞处于低温冷冻状态，这样就可避免间接效应、正常细胞代谢及细胞分裂导致同位素稀释的影响[7]。这种冷冻技术由Hershey等于1951年首先建立，1962年Ragni等将它应用于^{32}P，几年后，Burki等又将它应用于^{3}H的标记。

近来，Kassis[4，5]等对正常状态下（37℃）$^{125}IUdR$掺入细胞DNA的累积吸收剂量估算作了有益的尝试。他以细胞集落存活率为生物终点，比较系统地研究了$^{125}IUdR$的掺入动力学和滞留动力学，分别计算了$^{125}IUdR$在掺入过程中的累积衰变数（$\tilde{A}_I$）及掺入后滞留的累积衰变数（$\tilde{A}_{PI}$），然后将总累积衰变数（$\tilde{A}$）乘以每次衰变的吸收剂量，即可求出D_0，见公式1～4。

$$D_0=\tilde{A}\times 11.2\text{keV（每次衰变）}\times\frac{1}{\text{细胞核质量（kg）}}\times\frac{1.602\times10^{-16}\text{J}}{\text{keV}}\times\frac{1\text{Gy}\ [15]}{1\text{J/kg}} \qquad (1)$$

$$\tilde{A} = \tilde{A}_I + \tilde{A}_{PI} \quad (2)$$

$$\tilde{A}_I = \int_o^T f(t)\,dt \quad (3)$$

$$\tilde{A}_{PI} = (A_t)(T_e)/\ln 2 \quad (4)$$

T为掺入时间，f(t)即相应于D_0的标记浓度，其掺入率是时间(t)变化的函数。A_t为相应于D_0的掺入率，T_e为掺入率相应于D_0的^{125}IUdR有效半排期。

对于RBE值，由于所选择的试验对象、试验条件、生物终点及参考辐射的不同，结果很不一致。在以往测定RBE值的研究中，人们多以体外细胞存活率或畸变出现率为生物终点，RBE值范围在4～17。根据多数研究的结果，现综合于附表。

附表　^{125}IUdR内照射的RBE

试验对象	试验条件	生物终点	参考辐射	RBE值	与^{3}H-TdR的RBE值	参考文献
中国仓鼠V_{79}纤维母细胞	体外－196°C	细胞存活率	X射线	17.20	9.12	[7]
小鼠L_{5178}Y瘤细胞	体外－196°C	细胞存活率	^{60}Coγ射线	3.85	2.38	[7]
V_{79}细胞	体外－79°C	细胞存活率	X射线	9.71	—	[8]
V_{79}细胞	体外－79°C	畸变率	X射线	11.30	—	[8]
小鼠$10T_{1/2}$瘤细胞	体外37°C	细胞存活率	—	—	18.18	[13]
小鼠$3T_3$瘤细胞	体外37°C	细胞存活率	—	—	12.50	[13]
人AG_{1522}瘤细胞	体外37°C	细胞存活率	—	—	11.11	[13]
V_{79}细胞	体外37°C	细胞存活率	X射线	7.25	—	[4,5,8]
小鼠L_{1210}瘤细胞	体内	细胞LD_{50}	—	—	5	[14]
小鼠B_{16}黑色素瘤细胞	体外37°C	细胞总微核率	^{60}Coγ射线	4.5	—	[15]
小鼠B_{16}黑色素瘤细胞	体外37°C	微核细胞率	^{60}Coγ射线	5	—	[15]

三、展　望

^{125}IUdR作为应用日益广泛的标记化合物，人们对于其放射生物效应已有一定的认识。然而，人们在研究^{125}IUdR放射生物效应的过程中，在强调应尽量控制示踪试验中^{125}IUdR的用量，以避免其放射效应影响试验结果精确性的同时，也辩证地注意到^{125}I-UdR放射生物效应可以利用的一面。由于^{125}IUdR的次级电子具有亚细胞射程[16]及HILED和高LET的特征，所以可成为研究细胞局部分子损伤的有用工具[7]，也可以作为放射性药物用于局部治疗[5]。人们已经设想将^{125}IUdR作为亚细胞探针来确定细胞内生物大分子的放射敏感性[16]。德国Julich核研究中心在研究^{125}IUdR治疗原发性肿瘤和转移瘤方面作了大量的工作[17]，并已应用于临床。Crakite博士曾形象地比喻^{125}IUdR是肿瘤细胞DNA的“局部破坏器”(local fire-cracker)和“分子外科手术者”，它可以在分子水平熔化和破坏DNA，造成其不可逆转的损伤。但也有的学者对此表示怀疑，认为^{125}IUdR的体内标记有很多困难[16, 18]，Porschen[18]和Clifton等在试验中得出的结论就和Ketchum[17]不一致。

综上所述，可以看出，^{125}IUdR的内照射高RBE特征在体外实验中已完全证实，然而体外实验的结论是否可以类推到体内？其抗肿瘤效应是否真正有临床的实用价值？目前尚无定论。但随着研究的进一步深入，人们在应用^{125}IUdR解决一些实际问题方面一定会有广阔的前景。

参考文献

1. Ehrfeld A, et al; Radiat Res 1986, 108:43

2. Hagmar B, et al: Eur J Nucl Med 1982, 7:108
3. Miyazaki N, et al: Radiat Res 1981, 88:456
4. Kassis AI, et al: Radiat Res 1987,111 :305
5. Kassis AI, et al: Radiat Res 1987,109 :78
6. Charlton DE, et al: Radiat Res 1981, 87:10
7. Burki HJ, et al: Int J Radiat Biol 1973, 24:363
8. Kassis AI, et al: Radiat Res 1980, 84 :407
9. Kassis AI, et al: J Nucl Med 1985, 26 :59
10. Kassis AI, et al: Radiat Res 1982, 90 :362
11. Kassis AI, et al: J Nucl Med 1983, 24 :1164
12. Radford IR, et al: Int J Radiat Biol 1985, 48:555
13. Lemotte PK, et al: Radiat Res 1983, 95:359
14. Hofer KG, et al: Radiat Res 1972, 47 :94
15. 鲍诗平，等：中华放射医学与防护杂志 1990, 10:319
16. Bloomer WD, et al: Int J Nucl Med Biol 1981, 8:171
17. Ketchum LE: J Nucl Med 1986, 27:1803
18. Proschen R, et al: Radiat Environ Biophys 1985, 24:219

（上接封四）

按人口平均的SED值可由下式计算：

$$SED = \frac{\sum_{ijs} \cdot f_{ijs} \cdot N_{is} \cdot A_{ij} \cdot sed_{ijs}}{\sum_{is} N_{is}}$$

其中，f_{ijs}是年龄组为i，性别组为s，检查类型为j的按人口平均的年检查频度；N_{is}是年龄组为i，性别组为s的总人数；A_{ij}是年龄组为i，检查类型为j的施用活度；sed_{ijs}是年龄组为i，性别组为s，检查类型为j的施用每单位活度的躯体有效剂量当量。计算GSD值时，只须将上式中的sed_{ijs}代之以GD(性腺剂量当量)值即可。

结果：不同核医学操作按人口平均的年频度随年龄和性别的变化，男性均值为0.012，女性为0.011。除骨和肾检查外，20岁以下各年龄组频度很低，对男性最大仅为3.7×10^{-3}，对女性为5.1×10^{-3}；50岁以上各年龄组频度最高，男性最小为0.0274，女性为0.0200。将其与X线检查结果进行比较，发现大约是X线检查频度的2%。

核医学操作在荷兰造成的集体SED值为575人·Sv/a，其中男性约占53%。而按人口平均的年SED值为40μSv，男性为54μSv，女性为30μSv。作者从辐射危险度的角度说明了这一结果的意义：与自然癌症死亡危险度（2×10^{-3}）相比较低。GSD值约为每人每年3.2μSv。作者对SED和GSD值的主要来源也进行了分析，总SED值的约75%主要来自骨胳检查、大脑检查和心脏检查；对GSD值的贡献主要来自骨胳检查(50%)，脑检查（15%）和肿瘤扫描检查(13%)，并对主要结果给以图表说明。作者最后指出荷兰核医学操作频度与周围欧洲国家一致，而明显地低于美国和加拿大。

〔张文艺摘　张良安校〕