

低剂量辐射诱导的细胞遗传学适应性反应新进展

白求恩医科大学 李校堃综述 蔡 露 肖佩新*审

提 要: 本文综述了适应性反应的普遍性及影响因素(剂量率、细胞周期、个体差异),并对适应性反应的机制进行了广泛探讨,提出适应性反应不仅与DNA修复酶有关,而且与保护性蛋白合成有关。

随着低剂量辐射兴奋效应(Radiation hormesis)的深入研究,最近在细胞遗传学领域中又发现低剂量辐射诱导的细胞遗传学适应性反应,即先接触低剂量辐射的细胞对相继高剂量辐射诱发的染色体损伤产生耐受性,减少染色体损伤的程度。这一现象已引起各国学者的重视。本文结合近期的发展动态对细胞遗传学适应性反应做一综述。文中适应性剂量和攻击性剂量分别简写为 D_1 和 D_2 。

一、适应性反应存在的普遍性

以前发表的文章曾阐述了低剂量辐射诱导的适应性反应可存在于不同动物,不同组织,不同的细胞类型中,而且可以表现在细胞水平和基因水平(突变体指标)^[1]。最近一些报道表明细胞遗传学适应性反应可被某些化学诱变剂所诱导。Wolff曾证明10 mGy X射线照射人淋巴细胞不仅对1.5Gy X射线诱发的染色体畸变有耐受性,而且还可产生对MMC(Mitomycin C), BLM(Bleomycin)诱发染色体畸变的耐受性。Ikushima用小剂量X射线照射中国仓鼠细胞V₇₉肺癌株,该细胞对UV、MMC、烷化剂EMS(Ethylmethanesulfanate)、Cisplatin都可产生抗性。同时,Vijayalaxmi和Burkart^[4]及Wolff^[5]证明低剂量的BLM不仅可以产生对大剂量BLM的耐受性,而

且可以产生对大剂量辐射的耐受性。Wolff又证明低浓度的H₂O₂与其它化学物质一样也可诱导对辐射的耐受性^[5]。不仅如此,Cortier等还证明在植物根尖细胞中也可诱导出明显的适应性反应^[6]。从而证明适应性反应广泛地存在于生物机体(人、哺乳动物及植物细胞)中。

二、生物因素对适应性反应的影响

1. 适应性反应的个体差异

Morimoto以四例不同个体的外周血,用低剂量的烷化剂MNNG(N-methyl-N-Nitro-nitrosoguanidine)诱导对SCE(姐妹染色单体互换)适应性反应,结果有一例未见适应性反应,认为烷化剂所诱导的适应性反应可表现出个体差异。Schmid^[7]用0.01Gy或0.05Gy X射线先照射三例外周血淋巴细胞后再给1.5Gy照射,观察其染色体畸变指标,未见适应性反应。Bauchinger^[8]取其中的两例人外周血淋巴细胞,分别用 3.7×10^9 Bq/ml ³H-TdR(³H-脱氧胸腺嘧啶核苷)和0.01Gy X射线进行不同条件实验,也未见适应性反应。Sankaranarayana^[9]曾用³H-TdR, ¹⁴C-TdR, HTO(氚水)和³²P预处理人淋巴细胞后给1.5Gy X射线照射,个体之间所诱导的适应性反应存在明显差异。Bosi和Olivieri^[10]将18名供血者外周淋巴细胞用³H-TdR预处理,给0.75Gy X

射线照射,发现四例未出现适应性反应。这些都充分说明低剂量辐射诱导的适应性反应存在个体差异,这种个体差异可能与某些酶有关,或某些遗传背景有关。

2. 诱导适应性反应的细胞周期

最近, Moquet^[11]证明 G_0 期不能诱导适应性反应。Cai等的研究以人和兔外周血给10mGy X 射线照射,发现除 G_1 、S、 G_2 期外, G_0 期淋巴细胞也能诱导适应性反应^[12]。Wojcik^[13]将 C57BL/6 小鼠全身照射,取脾脏中淋巴细胞(98%为 G_0 期细胞),观察UDS (DNA 程序外合成)变化,结果出现适应性反应。Natarajan^[14]用 3AB (ADP-核糖基转移酶抑制剂,即 ADPRT 抑制剂),对电离辐射诱导染色体畸变进行研究,将培养前的淋巴细胞(即 G_0 期)用 1.0、2.0Gy X 射线照射后再加入 3AB,作用 6 小时洗出,染色体畸变率增加 2~3 倍,这说明 G_0 期细胞具有很强的修复能力,如被 3AB 抑制,染色体畸变增加。为了与其它时相比较,又给 G_1 期的细胞照射 2Gy X 射线然后加入 3AB,作用 48 小时,染色体畸变率也增加,这说明 G_0 期受抑与细胞周期其它时相受抑结果一致。许多学者认为 D_1 诱导适应性反应与 ADPRT 的激活有关,所以 G_0 期细胞与细胞周期其它时相诱导适应性反应方面无明显差异,即 G_0 期诱导的适应性反应具有其生理基础。

三、 D_1 辐射剂量与适应性反应的关系

我们曾介绍适应性反应的程度与照射剂量呈负相关,即剂量越小,适应性反应的程度越强^[1, 2]。Ikushima^[3]证明并非完全如此,诱导适应性反应的 D_1 也存在最佳剂量范围。例如不同浓度的 ^3H -TdR 处理 V_{79} 中国仓鼠细胞后再给大剂量的 γ 射线照射,只有在 $0.37 \sim 1.85 \text{ kBq/ml}$ 之间有适应性反应,在 $3.7 \times 10^{-2} \text{ kBq/ml} \sim 3.7 \times 10^{-3} \text{ kBq/ml}$ 之间无适应性反应出现。Wolff^[5]用 BLM 做

D_1 诱导适应性反应也得到 Ikushima 相似的结论,BLM 的范围是 $2.5 \sim 100 \text{ ng/ml}$,而只有 $25 \sim 50 \text{ ng/ml}$ 才能诱导适应性反应。上述情况说明,在某些条件下 D_1 剂量过小也不能诱导适应性反应。

四、 D_1 剂量率与适应性反应的关系

最近, Shadley 等^[15]探讨了剂量率与适应性反应的关系。Shadley 用 0.2、0.1、0.05、0.005Gy/分剂量率照射 0.01Gy; 用 0.2、0.1、0.05、0.025、0.01、0.005Gy/分剂量率照射 0.5Gy,两组均用 1.5Gy X 射线做为 D_2 剂量。结果表明: D_1 为 0.01Gy 中,只有剂量率为 0.2、0.1、0.05Gy/分才出现适应性反应;而以 0.5Gy 作为 D_1 组中,只有剂量率为 0.05、0.025、0.005Gy/分才出现适应性反应。说明高剂量的 D_1 辐射必须采用较低剂量率才能诱导适应性反应,从而证明适应性反应的诱导不仅与辐射剂量有关,而且与辐射的剂量率有关。

Jacobson-Kram 等^[16]用 120.5mGy 的慢性 ^{60}Co γ 射线全身照射小鼠后 24 小时再次急性照射 1.5Gy γ 射线,其骨髓细胞染色体畸变率为 0.7 个/细胞,而 D_2 组为 0.47 个/细胞,无适应性反应出现。朱炳钗等^[17]用 γ 射线连续照射 20 天(累积剂量 1.0Gy)后,立即以 0.25Gy/分的 γ 射线急性照射 2.0Gy,其诱发人外周血淋巴细胞染色体畸变率、微核率,与单纯急性照射组比较明显降低。Wojcik^[13]给 C57BL/6 小鼠慢性全身照射连续四天(0.05Gy/天),脾脏淋巴细胞表现出明显的适应性反应,可见慢性照射在一定条件下也能诱导适应性反应。

五、适应性反应的持续时间

外周血淋巴细胞的适应性反应只能存在三个细胞周期,超过三个细胞周期适应性反应即消失^[1]。Wojcik 的实验表明,照射后 12 天仍有明显的适应性反应。Ikushima 用

V₇₉ 肺癌细胞的实验证明, 诱导的适应性反应只能持续一个细胞周期, 一个细胞周期后适应性反应就消失^[8]。人淋巴细胞 (PHA 刺激后) 及 V₇₉ 细胞株都是处于分裂增殖比较活跃状态, 所以适应性反应持续的时间就短, 而处于静止状态的细胞 (如 Wojcik 实验中脾细胞 98% 为静止状态) 其适应性反应持续的时间相对较长。实验结果证明淋巴细胞经三个细胞周期诱导的适应性反应消失后可被 D₁ 再次诱导^[1]。Farr^[18] 用 0.01Gy X 射线为 D₁, 1 Gy X 射线为 D₂ 照射人淋巴细胞, 结果在一个细胞周期接受两次 D₁ 照射的染色体畸变率与接受一次 D₁ 照射的畸变率差别无统计学意义, 说明在一个细胞周期内, 二次 D₁ 照射并不能影响适应性反应的程度。

六、适应性反应的机理

(一) 修复酶的激活

最近某些学者认为, 低剂量辐射可能激活细胞内某些酶系, 如 ADPRT、DNA 聚合酶, RR 酶 (核糖核苷还原酶)。我室用 75mGy 全身照射小鼠后 24 小时, DNA 聚合酶总活性和 DNA 聚合酶 β 活性有明显增高; 用 ESR (电子自旋共振) 测定结果表明, 低剂量 X 射线全身照射后可使 C57BL/6 小鼠胸腺及脾脏 RR 酶活性升高, 还发现低剂量辐射后小鼠脾细胞 UDS 明显增加^[25]。上述 DNA 聚合酶、RR 酶、UDS 在低剂量照射后的变化可以进一步解释细胞遗传学适应性反应的生理基础, 其它酶类 (如 ADPRT 等) 的变化应进一步研究。

(二) 保护性蛋白学说

1. 温度对辐射诱导适应性反应的影响

蔡露等将人外周血淋巴细胞经 41℃ 处理 1 小时, 明显增加 D₁ 辐射诱导的适应性反应, 如果放置 4℃ 则适应性反应消失, 提示适应性反应受温度影响, 与细胞代谢有关, 同时也应考虑是否增温与诱导热休克蛋白 (HSP) 产生有关。关于热休克蛋白的产生

已在多种细胞中得到证实, 有些学者也称之为热应激蛋白, 这种蛋白可由多种因素诱导产生^[19]。沈翊珩用 ConA 刺激进入 G₁ 期人外周血淋巴细胞, 当受热休克 41℃ 三小时后, HSP 的产生与静止期细胞有质和量的区别^[22]。Rieger、Michadis 等^[21] 用 MH (maleic hydrazide) 作为诱变剂, 先用 40℃ 10 分钟处理蚕豆根生发组织细胞, 结果均诱导了保护效应。蔡露等将外周血淋巴细胞 37℃ 培养 42 小时, 增温 41℃ 1 小时, 适应性反应明显增加; 另培养 42 小时, 只给 42℃ 1 小时处理, 结果发现该组染色体畸变率也明显低于单纯 D₂ 组。这说明 41℃ 处理后 6 小时有热休克蛋白产生, 使 D₂ 诱发的染色体畸变率降低。Akaboshi 等^[23] 将果蝇细胞用 MMS, EMS, MMC, H₂O₂ 和 41℃ 处理后进行双向电泳, 结果热休克组出现几种新蛋白, 这几种新蛋白与 H₂O₂, MMC 处理后出现的几种新蛋白重叠。已知 MMC、H₂O₂ 与 D₁ 辐射有交叉耐受性^[1, 2], 最近我室用等电聚焦 (IEF)、SDS-PAGE、双向电泳技术, 发现热处理、MMC 作用、50mGy X 线照射都有新蛋白产生。Wolff^[5] 已证实人离体血照射 10mGy, 24h 后用双向电泳技术检测到四种新蛋白。这些结果更进一步支持热休克蛋白与适应性反应之间存在某种联系, 似乎说明 MMC、H₂O₂ 低剂量照射及热处理都能诱导某些蛋白尤其是 HSP 产生, 使染色体损伤得以减弱。

2. 蛋白合成抑制剂对 D₁ 诱导适应性反应的影响

如果适应性反应与蛋白质合成有关, 蛋白合成抑制剂就有可能消除 D₁ 辐射诱导的适应性反应。Youngblom^[24] 曾用 0.01Gy X 射线照射离体血后, 在 0~2、2~4、4~6 小时用 CHM (Cycloheximide) 处理, 发现 D₁ 照射后 4~6 h, 用 CHM 处理可消除适应性反应。蔡露等的研究证明不仅受 D₁ 照射 3.5~6 h 后给 CHM 处理可消除适应性反

应。而且D₁照射前0.5h和D₁照射后1.5h用CHM处理,也可消除D₁诱导的适应性反应。

综上所述,适应性反应不是一种孤立的因素起作用,而是几种因素的协同作用。可能低剂量辐射激活了细胞内DNA修复酶系,使DNA合成受影响,同时使某些特定的基因表达,复制出特定的mRNA,从而翻译出具有保护作用的蛋白质,使DNA损伤减轻,达到防御、适应作用。关于适应性反应机理上的某些问题还有待于今后进一步探讨。

参 考 文 献

1. 蔡 露, 刘树铮, 中华放射医学与防护杂志 1990, 10:55
2. 蔡 露, 刘树铮, 国外医学放射医学核医学分册 1990, 14:159
3. Ikushima T, Mutat Res 1989, 227:241
4. Vijayalaxmi and Burkart W, Mutat Res 1989, 211: 1
5. Wolff S, et al, In "Low Dose Radiation, Biological Bases of Risk Assessment" (Baverstock KF and Stather JW, eds). Taylor & Francis, London 1989, P446
6. Corter F, et al, Int J Radiat Biol 1990, 57:537
7. Schmid E, et al, Mutagenesis 1989, 4: 87
8. Bauchinger M, et al, Mutat Res 1989, 227:103
9. Sankaranayanan K, et al, Mutat Res 1989, 211: 7
10. Bosi A and Olivieri G, Mutat Res 1989, 211:13
11. Moquet JE, et al, Mutat Res 1989, 227: 203
12. Cai L and Liu SZ, Int J Radiat Biol 1990, 58:187
13. Wojcik A and Tuschl H, Mutat Res 1990, 243:67
14. Natarajan AT, et al, Mutat Res 1982, 47:2
15. Shadley JD and Wienke JK, Int J Radiat Biol 1989, 56:107
16. Jacobson-Kram D and Williams JR, Environ Mol Mutagen 1988, 2 (suppl I)
17. 朱炳钗等, 核技术 1990, 4:13
18. Fax S, et al, Mutat Res 1990, 243:53
19. 蔡 露, 刘树铮, 中华医学杂志 1990, 70: 624
20. 邢 成, 国外医学军事医学分册 1989, 1:16
21. Rieger R and Michaelis A, Mutat Res 1989, 174:199
22. 沈翊珩, 生物化学杂志 1986, 2(5):35
23. Akaboshi E and Howard-Flanders P, Mutat Res 1989, 227:257
24. Youngblom JH, et al, Mutat Res 1989, 227:257
25. Liu SZ, et al, Acta Biologica Hungarica 1990, 41:149