

辐射诱发遗传毒理效应研究

苏州医学院放射医学系 朱寿彭

摘 要: 在核能日益广泛应用的今天, 辐射诱发遗传毒理效应的研究成为迫切的课题。由于细胞中遗传物质DNA是易受辐射损伤的敏感分子, 其结构的高度专一性顺序在维持机体的正常功能及遗传变异上起着关键作用, 辐射因子对DNA结构造成的任何改变, 都可导致细胞的突变、癌变以至死亡。为了减少和免除辐射危害的威胁, 研究辐射体对体细胞和生殖细胞遗传物质的毒性效应, 将有助于探讨辐射效应对遗传物质损伤带来的后果, 并为防止这类后果而制定的卫生防护标准和措施提供安全限值依据。

在第九届国际辐射研究大会上, 关于辐射诱发遗传毒理效应的研究报告, 涉及辐射诱发体细胞的遗传毒理效应、辐射诱发生殖细胞的遗传毒理效应、辐射诱发遗传毒理效应的分子基础DNA损伤, 以及DNA在辐射遗传毒理学中的地位等方面, 本文从上述四个内容予以介绍。

一、辐射诱发体细胞的遗传毒理效应

体细胞染色体作为完整机体中的重要组成部分, 在生物的进化、遗传信息和传递中起着关键作用。Mountford-Lister 报告了 ^{239}Pu 可诱发大白鼠骨髓干细胞的染色体畸变, 且畸变的发生率与其相应骨中 ^{239}Pu 的放射性活度有关。Bandom的研究表明, 人体内 ^{239}Pu 的滞留量与外周血淋巴细胞染色体畸变呈现相关性。我们研究观察到浓缩铀 ^{235}U 和裂片 ^{147}Pm 均能诱发体细胞基因突变和染色体畸变: 基因突变与DNA结构的微细变化有关, 如碱基顺序的改变, 使某个特殊氨基酸的编码和单个基因部分发生了变化; 而染色体畸变则可同时涉及几个不同的基因, 并与染色体的重排或丢失有关。如 ^{147}Pm 辐照以诱发骨髓细胞的染色单体型畸变为主, 而随着摄入量的增加, 可出现染色体断裂和易位。 ^{147}Pm 摄入量与骨髓细胞染色体畸变率之间呈半对数直线效应关系, 拟合的对数回归方程式为: $Y = 10.69 + 1.453 \ln X$,

同时, 骨髓畸变细胞与 ^{147}Pm 摄入量之间亦呈现线性关系, 拟合的方程式为: $Y = 9.61 + 1.24 \ln X$, 而且观察到 ^{147}Pm 内污染机体后, 可诱发骨髓细胞SCE(姐妹染色单体互换)率和微核阳性率的明显增升。

值得指出的是尤其在机体受到高LET辐射损伤时, 呈现出体细胞染色体畸变分布的不均一性, 如受 ^{235}U 辐照的机体, 发现在一个细胞中可同时有多个畸变发生, 这与体内放射性核素高度的不均匀沉积有关, 这种不均匀辐射不仅改变了畸变的分布, 同时也使二次击中畸变的产额增高。

辐射致畸效应是在胚胎受照后表现的生长发育障碍, 使细胞的DNA碱基顺序中基因信息改变, 诱发基因突变, 可致器官发生期的细胞损伤与死亡, 因为胎儿的组织器官处于高度分化阶段, 有很高的辐射敏感性。

辐射体引起的损害, 可因胚胎和胎儿受辐照的时间不同而异。在受精卵植入前受辐照, 可出现胚胎死亡或不能植入, 如果在植入后器官形成期受辐照, 易于发生畸形。如Cahill用HTO(氚水)饲养怀孕大白鼠, 观察到新生鼠胚胎发育停滞, 脑的重量显著减轻。Lackey的临床观察表明, 脑小畸形是人胚胎在子宫内受 ^{226}Ra 作用后的继发病, 伴有智力发育的缺陷。

Sanders认为放射性核素体内辐照所致体细胞中DNA损伤的最严重后果是体细胞

发生恶变,引起癌变的发生。Hanania的实验证实,基因突变是癌变发生的必要条件,如 ^{239}Pu 、 ^{252}Cf 和HTO摄入体内辐照后,均诱发基因突变而致癌。

值得提到的是,低剂量辐射可诱导体细胞遗传毒理适应性反应。研究表明,低剂量辐射的预先作用,可使相继的大剂量所致突变损伤减轻,而且无论是低水平的外照射或是内照射都可诱导适应性反应产生。如Wolff使用低浓度 ^3H -TdR的低剂量辐射预先作用人离体淋巴细胞,可对较大剂量的 ^3H -TdR产生适应性。同样,如先用低剂量的 ^3H -TdR、 ^{14}C -TdR、 ^{32}P 和HTO预先辐照人离体淋巴细胞,也可产生对较大剂量X射线诱发染色体损伤的适应性。这次大会上,Brooks还报道了中国仓鼠预先经 $2.2\text{Bq/g } ^{239}\text{Pu}$ 辐照,30天后接受 $2\text{Gy } ^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照时,可使诱发的骨髓细胞染色体畸变率呈下降趋势,尤其是染色单体互换率明显下降。这些研究提示低剂量辐射作用可使相继较大剂量所致的体细胞存活率增加、突变体形成减少、DNA损伤后的修复能力增强,从而使整个机体的防御适应能力增加。

二、辐射诱发生殖细胞的遗传毒理效应

生殖细胞在其发育的任何一个阶段受照后,都可导致遗传毒理效应,而且处于不同发育阶段的生殖细胞对辐射的敏感性不同。我们观察到当 ^{235}U 沉积到睾丸时,其辐射作用不但可使睾丸重量下降,还可使精子的成熟数目减少。进一步研究发现, ^{235}U 在睾丸中主要沉积于曲精细管的基底膜上,随后是在间质中,而大白鼠睾丸的间质体积仅占整个睾丸的5%左右。况且无论从曲精细管基底膜上或间质上沉积的 ^{235}U 所发射的 α 粒子,都可对精原干细胞造成辐射损伤,并根据辐射剂量估算,精原干细胞所受的辐射剂量要高于整个睾丸剂量的4倍以上。我们曾

将受 ^{235}U 辐照的雄性小白鼠与未受辐照的正常雌性小白鼠交配,观察到可明显地导致宫内死亡数增加,且该效应还可延续到第二代,这是由于亲代生殖细胞受 ^{235}U 作用后,受损的遗传物质引起传递性损伤所致。 ^{235}U 并且可诱发精原细胞的染色体断片、初级精母细胞的染色体互换,以及精子畸形。但是,这些细胞遗传毒理效应的发生频率与 ^{235}U 的 α 粒子剂量不呈现线性关系,这是因为当 ^{235}U 发射的 α 粒子辐射量增加到一定程度时,引起细胞致死效应的缘故。

Luning等的观察发现,活体小鼠睾丸内的生殖细胞当每天受到 ^{239}Pu 的 α 粒子剂量为 $4 \times 10^{-3}\text{Gy}$ 持续辐照9至17周后,可产生不育;当受照剂量为其十分之一时,可产生明显的宫内死亡。研究表明,当腹腔注入 ^{125}I 时,引起小鼠精子头部畸形的发生率与剂量呈线性关系。

我们曾比较研究了 ^{147}Pm 摄入机体后对处于不同发育阶段的雄性生殖细胞遗传毒理效应,并拟合了 ^{147}Pm 在睾丸内的滞留方程为: $R(t) = 0.1872 \cdot e^{-0.0006t}$ 。观察到随着 ^{147}Pm 辐照时间的延长,其在睾丸内的累积吸收剂量亦随之增加,同时可诱发精原细胞和初级精母细胞的染色体结构畸变,包括裂隙、染色单体断裂、染色体断片和易位,以及染色体数目畸变如多倍体精原细胞发生,并随着睾丸内累积吸收剂量的增高,其诱发的畸变率和多倍体细胞也有所增加。同时可见,其诱发的精子畸形率亦随着 ^{147}Pm 吸收剂量的加大而增高。至于对就不同发育阶段的雄性生殖细胞的辐射敏感性而言,则最敏感的为精原细胞,其后依次为精母细胞、子细胞和精子。

三、辐射诱发遗传毒理效应的分子基础DNA损伤

(一)辐射致DNA损伤的微剂量学评价
由于DNA序列分析、基因克隆和DNA

重组技术等分子生物学研究技术应用于辐射研究,当考虑到发生在亚细胞水平或分子水平位点上的放射性核素损伤效应时,不能使用吸收剂量的概念作为辐射效应的产生及其严重程度的评价,而应当考虑用线能量和比能来描述细胞、染色体和DNA所接受的电离能量,从而能较好地描述电离辐射能量损失的微观空间分布,反映细胞、分子水平上的能量沉积,这便是微剂量学的范畴。从微剂量学角度对辐射遗传毒理效应进行描述时,需要知道靶的数目、造成初级损伤所必需的对每个靶的有效击中次数、靶内某一局部能量沉积的几率,以及某一给定的辐射剂量对所关心的生物结构的击中次数,而且是服从泊松分布规律的。Chadwick将微剂量学理论与分子生物学的知识相结合,得出了一种计算电离辐射致DNA链断裂的方法,对于特定能量的电离粒子,其单位剂量所致的DNA链断裂数为:

$$\text{双链断裂(dsb)} = 2n\mu k\Omega k$$

$$\text{单链断裂(ssb)} = 2n\mu k\Omega (1 - \Omega k)$$

式中 n 是每个细胞中的核苷酸碱基对数, μ 为单位剂量电离辐射造成的电离粒子靠近核苷酸碱基处通过的机率, k 是每一核苷酸碱基当其紧邻有电离粒子通过时发生能量沉积所致DNA链断裂的机率, Ω 为电离粒子靠近第一条链通过时也接近第二条链通过的机率,即 μ 、 k 和 Ω 均为所关心位点的几何形状有关的定量表达式,并且与电离辐射的品质因素密切相关。在此基础上探讨放射性核素辐照诱发细胞、染色体或DNA损伤之间的微剂量效应关系,可以作出更切合实际的评价。大会上Schulte-Frohlinde报告的DNA链断裂和分子生物学效应,也描述了这方面的观察结果。

(二)辐射对DNA基本单位的损伤

DNA分子的辐射损伤及其修复,是分子遗传毒理效应的重要研究课题。考虑到DNA由其亚单位核苷酸组成,核苷酸则由

碱基、戊糖及磷酸组成,而核苷酸中的磷酸基与磷酸二酯键以3'-5'的形式连接相邻的两个糖分子,糖分子吸收辐射能后,会引起碳链断裂,进而导致碱基脱落,同时磷酸酯键也可能断裂。在碱基接受摄入放射性核素的辐射能量以后,可出现破坏、脱落、以及被取代或转换。当碱基脱落后,可形成无碱基位点。Lett的观察表明,如果无碱基位点得不到及时修复,可引起移码突变。而碱基的取代和转换,都可产生突变,所以,当放射性核素辐照在DNA上的结合位点不同时,则诱发的辐射遗传毒理效应亦不同。

(三)辐射致DNA链断裂

DNA是射线作用于机体的靶分子。研究表明,无论是射线的直接作用或间接作用,都能使DNA大分子的结构发生改变,造成DNA分子的单链、双链断裂及碱基损伤。摄入体内的放射性核素产生的辐射所致DNA基本单位的损伤,可导致DNA链断裂,尤其是双链断裂,它是一种严重的损伤。高LET和低LET的辐射都能引起DNA链断裂,且单链断裂的发生率远高于双链断裂。Friedman等观察到,辐射诱发细胞DNA单链断裂的发生率与辐照剂量呈线性关系,随着辐照剂量的加大,双链断裂就增加,而双链断裂的发生率则与辐照剂量二次方呈线性关系。产生一个单链断裂需要30至70eV的电离能量,而产生一个双链断裂则需要有500至3000eV的电离能量,且该能量值是随辐射的品质因素不同而异。放射性粒子用于产生DNA链断裂的能量,仅占其初始能量的一小部分,如有机结合在DNA上的 ^{125}I 的一次衰变仅产生2.2~2.3个单链断裂,而有机结合在DNA上的 ^{125}I 的一次衰变也仅产生5个单链断裂,或接近1个双链断裂,而且由 ^{125}I 引起的DNA链断裂不仅可发生在衰变点上,还可跨越几百个碱基对。Sakai将辐射诱导的DNA链断裂分为三类:(1)快修复(FRBs, $T_{1/2} = 3 \sim 5 \text{ min}$);(2)慢修

复(SRB_s, $T_{1/2} = 60 \sim 70 \text{ min}$); (3) 不修复的断裂(NRB_s)。DNA的不修复断裂,以及在DNA链断裂后得不到正确的修复,就可导致细胞突变和畸变发生,诱发细胞死亡。

四、DNA在辐射遗传毒理学中的地位

(一)DNA损伤与染色体畸变

DNA是遗传信息的携带者,而染色体则是由DNA、组蛋白等蛋白质及少量RNA组成。摄入体内放射性核素产生的辐射诱发染色体畸变,其遗传毒理效应的分子基础就是DNA的变化。实验观察到与染色体损伤有关的DNA损伤类型有碱基损伤、单链断裂和双链断裂,而用DNA单链和双链的断裂及其间的重组模式来解释染色体畸变,是有一定依据的。该模式认为,辐射诱发染色体畸变的靶是DNA,如辐射在复制前诱发双链断裂,则在随后的分裂中期即表现为染色体型畸变;如在复制前诱发单链断裂,则在随后的分裂中期表现为染色单体型畸变;而如果在部分复制后诱发双链断裂,在随后的分裂中期也表现为染色单体型畸变的发生。Debenham利用DNA转化和DNA重组技术探测DNA双链断裂与修复,发现在AT(共济失调毛细血管扩张症)细胞中DNA错误修复的频率增加。而且观察到在正常人纤维细胞中,辐射诱导的染色体断裂的重接,服从一级动力学,当染色体断裂后不能重接,可导致潜在性的致死损伤。

(二)DNA损伤与基因突变

辐射可诱导基因突变,这是开展辐射致突变分子机理研究的关键问题。Thompson观察到基因是在染色体上具有一定位置的遗传单位,系由一段特定序列的DNA所组成,担负着将来亲代的性状传递给子代的任务。当一个基因有时在化学结构上发生变化或基

因与基因间的排列上有所改变,可致基因突变。目前的研究侧重于对突变分子的分析、辐射引起的基因损伤及基因突变机理等方面,主要采用已克隆化的哺乳动物基因hprt和aprt,以及整合到哺乳动物细胞中的细菌基因gpt。

辐射诱发基因突变而引起肿瘤发生。基因突变可以在不同部位诱发不同类型的肿瘤,在转化过程中,突变是一个重要的阶段。加拿大的Glickman通过对CHO细胞aprt基因序列分析表明,电离辐射诱发的碱基取代和移码突变的频率分别是 2.7×10^{-6} 和 $1.4 \times 10^{-6}/\text{Gy}$ 。而Grososky研究辐射诱导的中国仓鼠细胞aprt的突变性质,观察到84%为点突变。Kraemer和Lindahl发现来自不同的Bloom氏综合征病人的5个细胞株都缺乏连接酶I,究其原因是由于DNA连接酶I结构基因发生突变。这些研究有助于对基因损伤的了解及如何控制基因突变提供进一步的认识。所以,对一些恶性病变和遗传病的治疗,最理想的当然是在基因水平上进行修复。随着分子遗传学基因定位和生物工程技术的进展,学者们先后开展了人和哺乳动物DNA修复基因、基因产物,以及利用克隆技术提取纯修复酶的工作。这类研究的深入,无疑将对遗传病和肿瘤的防治,以及可能的基因治疗提供有力的新依据。

总之,在我国目前核能应用日益广泛的情况下,对辐射诱发遗传毒理效应的研究,急待开展与深化。尤其是对辐射诱发生殖细胞的损伤所致的可传递性遗传效应、DNA的损伤与修复在细胞辐射损伤研究中所占的关键地位、DNA损伤与染色体损伤的相关、DNA损伤与基因突变的相关,以及辐射致突、致癌与DNA损伤和修复的关系等问题,期待通过对辐射遗传毒理效应的进一步研究,能够给予更多的揭示。