

辐射敏感性相关基因

中国医学科学院放射医学研究所 董连错 于文儒综述

河北省放射卫生研究所 肖佩新审

摘 要: 辐射敏感性是有遗传基础的。某些抗癌基因如AT和Rb基因的缺失引起组织或细胞对电离辐射损伤作用超敏感;而某些癌基因如ras和raf等基因激活,则引起细胞对电离辐射损伤的抵抗性。

个体对电离辐射损伤效应的敏感性具有很大差异。目前对个体辐射敏感性差异的研究多限于实验室研究,对人群的研究还很少,而前者研究较多的只是几种罕见的遗传性疾病:AT(共济失调性毛细血管扩张症)、FA(范可尼氏贫血)、Down's综合征、CS(库克尼氏综合征)、Rb(遗传性视网膜母细胞瘤)等。上述遗传性疾病均对电离辐射表现高敏感性,其中大部分对肿瘤发生也具有易感性,这几种病人在接受放疗时,由于对射线过于敏感,致使正常组织受到严重损伤,这不但使正常的放疗计划进程受阻,也增加了诱发二次肿瘤(辐射致癌)的危险性。有些“正常”人员职业性接触电离辐射,甚至接触常规诊断性X射线,也能引起明显的放射性损伤。这些人员可以归属于遗传性辐射敏感人群^[1]。通过对辐射高敏感的细胞研究发现,某些特定的基因丢失或缺陷与辐射高敏感有关,如AT和Rb病人,就是由于AT基因和Rb基因的丢失或缺陷所致,而AT、Rb基因现被认为是抗癌基因或者称之为肿瘤抑制基因。由此,我们可以推定抗癌基因的缺失引起辐射超敏感性。相反,有一些癌基因转染细胞后,能诱导细胞产生较强的辐射耐受性;在正常组织细胞中,如果某些特定的癌基因被激活,同样也表现出辐射耐受性。因此,无论是对辐射超敏感性还是对辐射高耐受性,都具有一定的分子遗传学基础,由于涉及到的基因为某些癌基因和抗癌基因,所以,与辐射敏感性相关的基

因亦与肿瘤易感性有关^[2]。本文拟就与辐射耐受性和高敏感性有关的几类基因作一简要介绍。

一、与辐射高耐受性有关的癌基因

1. REC模型

在研究癌基因与辐射耐受性表型的关系时,一般采用原代大鼠胚胎细胞(REC)模型,此模型提供了一个标准的细胞遗传背景。REC为二倍体细胞,没有发生转化,没有突变。利用此模型可以观察两类癌基因转染细胞后对辐射的反应,也可以观察辐射对细胞转化后的结果^[3]。

2. ras和myc癌基因

ras癌基因最初发现于两种小鼠反转录病毒,即Harvey和Kirsten小鼠肉瘤病毒(Ha-msv, Ki-msv),其产物都是P21,同源物Ha-ras和Ki-ras分别定位于两条不同染色体上(11P13和6P32-q13),现又发现的N-ras,位于12P12-P14,故ras癌基因家族是多基因家族。ras编码的P21蛋白,是质膜蛋白,有结合三磷酸鸟苷作用,因此,ras也是一种酶;即三磷酸鸟苷酶(GTPase),故属G蛋白类,具有GTP(三磷酸鸟苷)酶活性。

myc癌基因是个多基因族,有一个与V-myc同源的C-myc,是从家禽肉瘤病毒中分离出来的,还有两个互相不同但有联系的N-myc和L-myc,前者发现于神经母细胞瘤和视网膜母细胞瘤,后者发现于小细胞肺

癌。myc原癌基因定位于人染色体8q24,在许多细胞类型中表达。在活跃增殖的细胞中,myc产物往往增加,myc编码核内产物,可能参与基因表达的调控。

ras的激活及其量变或突变都可增加细胞内源性辐射耐受性,然而ras本身引起的辐射耐受性并不很强。myc癌基因本身也不引起辐射耐受性,如果与ras共转染REC,则明显提高辐射耐受性,不但增加辐射对细胞存活曲线的斜率,而且对存活曲线肩区影响颇大。说明myc癌基因在一定剂量照射范围内起重要作用,此剂量范围正是临床放疗的范围,故myc癌基因活性对放疗实践有很大意义。ras癌基因本身表现为改变高剂量范围内的细胞存活曲线斜率(D_0)值,但不改变曲线的肩区。结论是ras和myc癌基因在诱发辐射耐受性上有协同作用,比单独ras引起的辐射耐受性更强,而单独myc并不引起辐射耐受性[4, 5]。

细胞原癌基因C-Ha-ras活性与辐射耐受性有关,即使无突变的ras基因过度表达亦增加细胞的辐射耐受性。实验用小鼠NIH3T3细胞系具有多拷贝转录活性C-Ha-ras原癌基因,具有肿瘤特性的RS485细胞系和相对非肿瘤性的PR4和4C3细胞系都有高水平的ras表达,其辐射耐受性也显著增高;其他非转化性的细胞4C8-A10的耐受性也有明显的增高,而ras基因水平也较高。这说明ras基因表达程度与辐射耐受性有关,辐射耐受性与myc(单独的)或细胞周期的变化无关[6]。

ras癌基因和myc癌基因的协同效应,可能是由于具有GTP酶活性的ras基因产物与核内产物的myc基因通过调节基因表达而实现的。myc癌基因和其他有关编码核内产物癌基因的重要性,在于它们可能改变其他细胞基因的表达。正如癌变过程需要多阶段性和癌基因协作性那样,在表达辐射耐受性方面,非核内作用的ras基因与核内作用的myc

等基因协同作用,使细胞对电离辐射的耐受性更强,抗辐射剂量范围更广。另外,H-ras基因在大鼠染色体3q12有一恒定的整合点,这个特殊基因座可能影响其他基因的表达,可能存在一种对毗邻基因表达的顺式作用(cis action);再有,癌基因转染细胞后,引起核型改变(通常是非随机染色体变化),也提高辐射耐受性,可能是通过影响其他细胞基因的表达而区别于癌基因本身的表达[7, 8]。

也有的研究结果表明:活性ras或突变ras基因顺序没有增加人类细胞系辐射耐受性,或者说,并不总是增加人类细胞系辐射耐受性。有的结果甚至相反——增加其敏感性[9];其存活曲线 D_0 值与ras蛋白P21表达水平无关。但是,在研究中也发现了在ras转化的三个细胞株中,有两个细胞株的P21表达水平较高,对 γ 射线耐受性也较大。这说明ras基因转染人类细胞系作用规律与辐射敏感性关系及影响因素还有待进一步研究[10]。

3. raf癌基因

raf癌基因产物属蛋白激酶类,作用底物是丝氨酸和苏氨酸,其细胞内v-raf产物定位还不清楚,c-raf在人染色体上定位于3q25。研究发现raf与人喉癌细胞的辐射耐受性有关,如果将喉癌细胞DNA提纯(即raf)并转染NIH3T3细胞时,所有转染后的细胞都表达raf顺序,也表现为辐射耐受性明显增强;而未转染raf基因的细胞对辐射较敏感[11]。由于NIH3T3细胞系是一种多年传代细胞,已有一定遗传背景变化,故只需用raf癌基因就可以产生较强辐射耐受性。如用人的反义c-raf-1 cDNA(互补DNA)转染那些有raf癌基因活性的细胞,则使已具有辐射耐受性表型的细胞对电离辐射重新变为敏感。反义c-raf-1 cDNA顺序专一破坏raf癌基因的功能,故从反面进一步证明raf癌基因引起辐射耐受性表型[12, 13]。

4. 在非肿瘤的正常组织细胞中, 其辐射耐受性表型也与特殊的癌基因表达有关, 如c-myc和raf-1癌基因。从几名Li-Fraumeni综合征家族成员的前臂取下正常皮肤成纤维细胞进行离体培养, 培养的细胞对致死性 γ 射线照射具有较强的耐受性。其 D_0 值高出对照值80~90cGy, 并有显著性差异。利用Northern点杂交方法发现, 具有活性的c-myc和raf顺序, 其中c-myc基因扩增了20~70倍^[7]。

5. AdenoEIA (AdEIA) 基因

AdEIA病毒癌基因与H-ras癌基因协同转染细胞后, 虽然不表现恶性表型, 但却表现较强的辐射耐受性表型, 这说明转化细胞的恶性表型有时与抗辐射表型并不一致。与myc+ras癌基因协同转化的细胞不同的是, 该细胞对辐射的反应只改变存活曲线的 D_0 值, 而对曲线的肩部影响不大。因此, AdEIA也与辐射敏感性相关^[8]。

AdEIA基因与myc基因一样, 都是编码核内产物的癌基因, 与ras等癌基因产物具有完全不同的作用。这类癌基因可直接参与基因表达的调控, 其产物大概是结合于DNA而激活或灭活某个或某组基因; 也可能通过影响DNA复制的调控。重要的是, 可能改变其他细胞基因的表达。

一般认为, 辐射敏感性与DNA双链断裂(dsb)的修复能力有关。然而, 在ras和myc癌基因协同转染的具有辐射耐受性的REC细胞中, 其DNA的dsb修复能力与辐射敏感的细胞株修复能力并无差异, 对每Gy吸收剂量诱发DNA的dsb也不降低。耐受性细胞主要是由于潜在性致死损伤的表达降低所致。

细胞周期紊乱也是影响辐射敏感性因素之一, 与较敏感的培养细胞相比, 抗辐射细胞存在较长的 G_2 期延迟。这是否也是转染癌基因的细胞辐射耐受性增强的基本原因, 目前尚需进一步研究。

抗辐射癌基因转染的细胞存在明显的DNA复制抑制, 这与AT细胞对辐射恰好相反, 呈镜像状态。AT细胞对辐射高敏感, 抗性DNA合成是其重要的特征之一。

我们可以认为: 癌基因诱导的辐射耐受性机理可能与DNA的dsb诱发和修复无关, 或可与潜在性致死损伤表达的降低以及细胞进程改变有关, 重要的是, 与其他细胞基因功能的改变有密切关系^[1, 3, 14]。

二、辐射超敏感相关基因

前面已介绍在放疗时发现, 某些肿瘤病人表现对辐射超敏感, 其组织细胞培养结果同样对辐射超敏感。这种超敏感是造成肿瘤病人放疗失败的原因之一。人类某些与遗传病有关的疾病, 如AT症患者, 对一些理化因素往往具有交叉敏感性, 这些特征与其他一些敏感性细胞系一样, 都具有一定的遗传学基础, 不能简单地用DNA修复缺陷加以解释, 对此方面的研究还很不够。

1. Rb基因

遗传性视网膜母细胞瘤(Rb)病人接触射线时, 接触区域成骨肉瘤发生率明显升高。此为辐射诱发所产生的二次肿瘤, 提示Rb基因与辐射高敏感性呈明显相关。主要是由于辐射引起Rb基因碱基对的改变所致^[15]。Rb基因是目前研究较多的抗癌基因, 定位于人染色体13q14, 也是第一个克隆化的抗癌基因, 在视网膜母细胞瘤发病中起至关重要的作用。它的正常存在与表达能阻止视网膜母细胞癌变, 而且也能使细胞辐射敏感性趋于正常, 并促使细胞向正常分化, 故命名为抗癌基因。其作用方式为: 在两个正常Rb等位基因全部丢失或失活时, 肿瘤才会发生。携带这种基因缺失的个体不但极易发生肿瘤, 而且对辐射也具有遗传性的超敏感。

2. AT基因

AT病人属常染色体隐性遗传病, 此类病

人或杂合子对辐射均有高敏感性,对各种肿瘤也表现高度易感性,其原因是由于AT基因的失活或重排造成的。AT基因缺失所引起的临床表现与Rb基因很相似。现已发现AT基因位于人染色体11q22-23或11q14→qter^[16]。实验证明,用正常人的11号染色体(含AT基因)与AT病人细胞融合,能纠正AT细胞的辐射超敏感性^[1],使其细胞恢复正常辐射敏感性范围。

3. 辐射敏感基因座

在辐射致癌动物模型研究中发现,小鼠2号染色体(chr-2)上存在一个辐射敏感基因座,位于C, F, G亚带,与髓样细胞白血病发生密切相关。chr-2基因座发生的恒定性重排、缺失等都是辐射直接损伤的特征性改变,此基因座为敏感基因所在部位^[17]。

以上所述基因都表现为基因失活或缺失导致辐射超敏感性,其中Rb为公认的抗癌基因,而AT或chr-2敏感基因还需进一步确定,虽未曾有人称其为抗癌基因,但其作用方式则属抗癌基因的方式。

三、研究与辐射敏感性相关基因的意义

1. ras原癌基因等存在于各种哺乳动物细胞中,是细胞的正常基因,在演化过程中高度保守,对细胞正常生长和分化有着重要生理功能。在外界致癌因素作用下,通过点突变、DNA重排和基因扩增等方式,使这些癌基因激活而导致肿瘤发生。用已激活的癌基因去转染某些细胞,也能增加被转染细胞的辐射耐受性。如果能用最简单的常规方法检查组织细胞中这些癌基因活性、产物水平等等,对帮助人们决定放疗与否或放疗疗程的计划安排将有较大的实用价值。

2. 通过实验了解细胞抗辐射的机理,将有助探寻降低肿瘤细胞辐射耐受性、降低正常细胞辐射敏感性的方法或手段,以提高放射治疗肿瘤的疗效和减轻正常组织的损伤,故研究辐射敏感性相关基因在辐射防护

和辐射增敏等领域有重大意义。

参考文献

1. 于文儒. 国外医学放射医学核医学分册, 1991; 15(1): 5-9
2. Lewis PD. Variation in individual sensitivity to ionizing radiation. In "Radiation and Health-the Biological effects of Low-level exposure to ionizing radiation" Edited by Jones RR and South Wood R (Colchester Anchor Brendon Ltd) 1987; 167
3. Iliakis GE et al. Cancer Res, 1990; 50(20): 6575-6579
4. McKenna WG, et al. Cancer Res, 1990; 50(1): 97-102
5. Ling CC et al. Radiat Res, 1989; 120(2): 267-279
6. Samid D. Radiat Res, 1991; 126(2): 244-249
7. Chang EH et al. Science, 1987; 237(4818): 1036-1039
8. McKenna WG et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1990; 18(4): 849-859
9. Alapetite C et al. Int J Radiat Biol, 1991; 59(2): 385-390
10. Michael LG et al. Oncogene, 1990; 5(8): 1159-1164
11. Kasid U et al. Science, 1987; 237(4818): 1039-1041
12. Kasid U et al. Science 1989; 243(4896): 1354-1356
13. Usha U et al. Cancer Res, 1989; 49(12): 3396-3400
14. McKenna WG et al. Radiat Res, 1991; 125(3): 283-288
15. Weichselbavn RR et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1989; 16(1): 277-282
16. Ejima Y et al. Int J Radiat Biol Phys, 1990; 58(6): 989-995
17. Cox R et al. Radiat Environ Biol Phys, 1991; 30(3): 177-182