

# 谷胱甘肽在细胞放射反应中的应用

上海医科大学眼耳鼻喉科医院 易先金  
上海医科大学放射医学研究所 丁立  
综述 金一尊\* 胡璧\*\* 审

**摘要:** 谷胱甘肽广泛存在于各种组织及细胞中,具有多种生理功能。本文综述了谷胱甘肽在细胞放射反应中的作用。细胞内谷胱甘肽降低后,其有氧及乏氧状态下的辐射敏感性均增高,尤以后者增加明显。细胞的氧增比多下降。同时,细胞内谷胱甘肽降低后,有助于提高亲电子性乏氧细胞增敏剂及某些化疗药物的效果。

近几十年来,人们对于细胞内非蛋白巯基(NPSH)在细胞辐射敏感性方面所起的作用进行了较为广泛的研究。其中以谷胱甘肽(GSH)的研究为多。各种巯基修饰剂的相继出现,无疑为研究GSH的作用提供了有力工具。众所周知,恶性肿瘤是威胁人类生命的一大危害,放射治疗在其临床处理中占有重要地位。近年来的有关研究表明,各种肿瘤中GSH的含量各不相同,如人肺癌细胞A549的GSH含量较高,达 $324 \pm 11.6 \text{ nmol/mg}$ 蛋白,人黑色素瘤细胞则为 $88 \pm 7.1 \text{ nmol/mg}$ 蛋白<sup>[1]</sup>。GSH含量高低同肿瘤的放射敏感性有一定的关系,如某些神经胶质瘤细胞之所以对射线不敏感是因为GSH含量高的原因<sup>[2]</sup>。目前这方面的研究已引起辐射基础研究及临床肿瘤放射治疗研究方面学者的重视。

## 一、细胞内GSH的代谢途径

细胞内NPSH主要为GSH,其它还有半胱氨酸、辅酶A和一些二肽,如 $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸等。各细胞株之间GSH含量差异较大<sup>[3,4]</sup>。

GSH是一个三肽( $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸甘氨酸),其特点是具有抗肽酶活性的谷氨酰键和一个亲质子的巯基<sup>[5]</sup>。哺乳动物细胞中,GSH至少以三种或四种形式存在。

在正常状态下,细胞内大部分( $0.5 \sim 10 \text{ mol}$ ) GSH为还原型,仅有一小部分( $5 \sim 50 \mu\text{mol}$ )为氧化型<sup>[4]</sup>。细胞内两者之间的动态平衡有赖于GSH的氧化还原反应。另外GSH还可与蛋白及非蛋白巯基结合,形成低分子量的混合二硫化物及硫醚。

## 二、GSH对细胞放射敏感性的影响

细胞在乏氧情况下要比有氧时对射线的敏感性差,这一现象称为氧效应(Oxygen effects)<sup>[5]</sup>。已有许多实验研究表明,细胞内NPSH是乏氧状态下的放射保护物质。Revesz等<sup>[6]</sup>在细胞体外传代过程中,给予亚致死剂量照射。经多次辐射传代后,从Ehrlich Ascites肿瘤细胞系中获得一存活亚系,再从此亚系中克隆出许多细胞株。利用这些细胞株来观察细胞内NPSH同射线的效应关系。结果表明,除一个细胞株外,其余都显示出乏氧条件下辐射敏感性下降,同时检测到细胞内NPSH含量增加;而有氧情况下,辐射敏感性较原细胞株无明显差异。Morse等<sup>[7]</sup>研究表明,GSH在细胞放射反应中起重要作用。Deschavanne及Midander等<sup>[8,9]</sup>研究了来源于5-羟脯氨酸酶缺陷患者及健康人纤维细胞的辐射敏感性。前者因酶缺陷,GSH合成障碍,其GSH含量仅为正常人的6%。两者在纯氧下照射,辐射敏

\*上海医科大学放射医学研究所

\*\*中国医学科学院放射医学研究所

感性相同；而在乏氧下照射，正常纤维细胞的敏感性比有氧时下降，但GSH合成障碍的纤维细胞却无明显变化。由此可见，GSH在乏氧情况下可起到辐射保护作用。已有报道〔4〕各种巯基化学修饰剂如 Diamide, NEM, DEM, DMF及BSO等可通过不同的途径，降低细胞内GSH的含量。

BSO（丁胱亚磺酰亚胺）是 $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶抑制剂，此酶是GSH生物合成的关键酶。较之其它巯基修饰剂而言，BSO具有很高的特异性，它只改变GSH的含量，而对其它巯基类物质无明显影响，同时细胞毒性作用较小。细胞经BSO作用后，GSH合成完全停止，随着细胞内代谢的持续进行，残余的GSH被耗竭。GSH的耗竭使催化过氧化物还原的酶系统受到抑制，从而加剧细胞的损伤。Mitchell等〔10〕报道DEM或BSO作用于V79细胞及人肺癌细胞系A549后，其有氧及乏氧条件下辐射敏感性均增加。Biaglow等〔11〕也获得了类似结果。Clark〔12〕研究结果显示BSO只在乏氧时有辐射增敏作用，增敏程度同GSH含量有一定关系，但在空气中，细胞的辐射敏感性无明显变化。Astor等〔13,14〕的研究结果表明，BSO对V79细胞的辐射增敏作用取决于GSH及NPSH降低的程度及药物作用时间，即作用时间越长，GSH越低，增敏作用越显著，但到达一定限度后则不再增加。Shrieve等〔15〕利用哺乳动物肿瘤EMT6/SF作为实验材料，结果也显示BSO在乏氧状态下有增敏作用，有氧下不明显。以往的研究对象多系纤维细胞或动物肿瘤，近年来有关人体肿瘤的研究时有报道。Barranco等〔16〕研究了两个胃癌细胞系SII-P及AGS-P的GSH含量同放疗和化疗的关系。前者来源于经过化疗产生耐药的患者，后者源于未经任何治疗的患者。结果表明，SII-P的GSH含量比AGS-P高约1.77倍，因此两者的 $D_0$ 值也不同，前者 $D_0$ 为1.45Gy，后者

仅为1.08Gy。作者为进一步验证GSH含量与细胞辐射敏感性的关系，又从上述两个细胞系中克隆出许多亚系，各亚系的GSH含量不一，但遗憾的是未能在两者之间找到完全一致的关系。Vos等〔17〕认为GSH在细胞辐射反应方面起重要作用，但并不是唯一因素。其它诸如P-糖蛋白、细胞修复机制、细胞间相互作用以及其它巯基等可能也起作用，因此有必要对其作进一步研究。至于GSH对细胞氧增比的影响，因实验条件不同，各文献报道略有差异。一般认为，GSH降低后细胞的氧增比值下降。

Skov等〔18〕报道了BSO在低剂量照射下（0~4Gy）的生物效应。结果表明，BSO降低细胞内GSH后，无论有氧还是乏氧，均有增敏作用，且低剂量下的增敏作用高于高剂量区（表1）。这一结果可能有较重要的临床意义，因为临床上肿瘤放疗均采用小剂量分割或超分割治疗。所以BSO降低肿瘤GSH后，在低剂量照射下表现出明显增敏作用，显得更为重要。

表1 不同剂量照射下BSO〔1〕的增敏效应〔18〕

细胞系	条件	SER-I (2)	SER-II (2)
V79	N <sub>2</sub>	2.02	1.51
	O <sub>2</sub>	1.46	1.08
CHO	N <sub>2</sub>	1.30	1.20
	O <sub>2</sub>	1.20	1.12

（1）BSO浓度为100 $\mu$ mol，作用20小时

（2）SER-I及SER-II分别为30%及2%存活率时的增敏率

### 三、GSH与亲电性乏氧细胞增敏剂

从临床实践及病理研究中发现，在较大的实体肿瘤内存在着乏氧细胞，而这类细胞对射线或化疗药物均有一定程度的抗拒性，此乃肿瘤复发的原因之一。为了提高乏氧细胞的放射敏感性，人们采取了多种措施，包括小剂量超分割放疗、高压氧，高能量射线

及亲电性乏氧细胞增敏剂等。实验研究表明, 巯基修饰剂与亲电性乏氧细胞增敏剂合用, 有助于提高后者的增敏效果。给细菌及哺乳动物细胞外加半胱氨酸后, 可降低MISO (一种亲电性辐射增敏剂) 的SER (增敏比) 值; 相反, 因突变致GSH合成缺陷的人纤维细胞则使MISO的SER值提高〔4〕。Bump等〔19〕报道CHO细胞经DEM降低GSH后, MISO在乏氧状态下的SER值提高。即使GSH降低到对照组的35%, 此时CHO细胞的辐射敏感性虽无改变, 但合用MISO后, 要达到同样的增敏效果, MISO的用量较单独用药时降低约三倍。同时在荷EMT6肿瘤的小鼠整体实验中也获得了同样的效果。荷瘤动物用DEM后, 肿瘤GSH降至对照组的28%, SER为1.5; DEM合并MISO组, SER可达2.0。如单独用MISO, 在相同剂量下, SER仅为1.08。Clark〔12〕, Hodgkiss〔20〕, Shrieve〔21〕等利用BSO降低V79及CHO细胞的GSH后, 对MISO的增敏效果进行观察, 也获得相同的结果。Phillips〔22, 23〕等报道V79细胞经OTZ (Oxothiazolidine-4-Carboxylate) 作用后, GSH升高, 此时在乏氧状态下SR-2508的SER值下降。同时发现人肺癌细胞系A549的GSH含量明显高于V79细胞, 对增敏剂SR-2508的反应更差。来源于人体的其它肿瘤细胞系的GSH含量也较哺乳动物细胞系为高, 且GSH含量的高低同亲电性乏氧细胞增敏剂的增敏效果有关(表2)〔1〕。从表中可以看到, 细胞的GSH含量越高, 则SR-2508的SER值越低, 增敏的效果越差(少数例外)。

以上研究表明, 亲电性乏氧细胞增敏剂的作用与细胞内GSH的含量有较密切关系。以往体外评价乏氧细胞增敏剂的效果时, 多采用哺乳动物细胞系(如V79, CHO细胞等)作实验对象, 但这些细胞的GSH含量较人体肿瘤细胞为低。这也可能是亲电性

表2 不同细胞系GSH含量同SR-2508的效应关系〔1〕

细胞系	GSH (nmol/mg蛋白)	SER (1mmol) <sup>△</sup>	SER (0.1mmol) <sup>△</sup>
V79细胞	25 ± 1.0	1.58 ± 0.10	1.20 ± 0.04
正常人皮肤 纤维细胞	32 ± 3.6	2.24 ± 0.19	
人黑色素瘤细胞	38 ± 7.1	1.40 ± 0.13	1.30 ± 0.05
宫颈癌细胞	103 ± 3.4	1.41 ± 0.14	0.99 ± 0.08
人大细胞肺癌	149 ± 0.13	1.23 ± 0.07	1.11 ± 0.07
人肺腺癌细胞	234 ± 11.6	1.15 ± 0.03	0.99 ± 0.03

△为SR-2508的浓度。

乏氧细胞增敏剂离体效果满意, 而临床试用效果不佳的原因之一。看来以后有必要将测定临床肿瘤的GSH含量, 作为预测其对辐射反应的指标之一。

#### 四、结 语

放射治疗是临床上肿瘤综合治疗中不可缺少的手段。由于多种因素的影响, 各种肿瘤对射线的敏感性差异较大, 因此探索如何提高其对射线的反应仍是肿瘤放射生物学研究的重要课题。实验研究表明, GSH在细胞辐射反应中起重要作用, 无论是离体还是整体细胞, 经巯基修饰剂降低GSH后均表现出辐射敏感性增加, 同时细胞内GSH降低后提高了亲电性乏氧细胞增敏剂的SER值。近年来的研究还表明, GSH同某些药物的耐药性 (Multidrug Resistance, MDR) 也有一定的关系, 而肿瘤细胞产生MDR是临床化疗的一大难题。Suzukake等〔24〕报道, L1210细胞株对Melphalan敏感及耐药的不同亚系, 其GSH含量差异较大。随着GSH的上升, 其药物敏感性下降。同时还发现耐药株较敏感株能将Melphalan更多地转化为无毒的代谢产物, 而这种解毒功能也同细胞内GSH含量有关。Green等〔25〕在耐药的人卵巢癌细胞系A1847中发现一亚系, 其GSH含量较高, 经用BSO降低GSH后, 又恢复了对Melphalan的敏感性。但值得一提的是, 并非所有耐药细胞

GSH均升高,也不是降低细胞GSH后能提高所有化疗药物的疗效。

由于目前绝大多数研究仅限于体外细胞系及动物实验,因此能否将巯基修饰剂应用于临床,调节人体肿瘤GSH的含量,以达到提高肿瘤疗效的目的,尚有待于进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Mitchell JB et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1986; 12:1143-1146
- 2 Taghian A et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1992; 23(1):55-62
- 3 Meister A et al. *Ann Rev Biochem*, 1983; 52:711-760
- 4 Arriick BA et al. *Cancer Res*, 1984; 44: 4224-4232
- 5 Gray LH et al. *Br J Radiol*, 1953; 26: 638-642
- 6 Revesz L et al. *Nature*, 1963; 198:1275-1277
- 7 Morse ML et al. *Nature*, 1978; 271: 660-662
- 8 Deschavanne PJ et al. *Br J Radiol*, 1981; 54:361-362
- 9 Midander J et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1982; 8:443-446
- 10 Mitchell JB et al. *Radiat Res*, 1983; 96:422-428
- 11 Biaglow JE et al. *Int J Radiat Biol*, 1982; 42:486-495
- 12 Clark EP et al. *Radiat Res*, 1984; 98: 370-380
- 13 Astor MB et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1984; 10:1239-1242
- 14 Astor MB et al. *Br J Radiol*, 1984; 57: 717-722
- 15 Shrieve L et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1986; 12:1171-1174
- 16 Barranco SC et al. *Invest New Drugs*, 1991; 9:29-36
- 17 Vos O et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1986; 50(1):155-165
- 18 Skov KA et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1992; 22(3):533-536
- 19 Bump EA et al. *Science*, 1982; 217: 544-545
- 20 Hodgkiss RJ et al. *Int J Radiat Biol*, 1983; 43(2):179-183
- 21 Shrieve L et al. *Radiat Res*, 1985; 102: 283-294
- 22 Phillips TL et al. *Radiation research society meeting*, Los Angeles, CA, 1985; 180
- 23 Phillips TL et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1986; 12:1627-1639
- 24 Suzukake K et al. *Biochem Pharmacol*, 1983; 32:165-167
- 25 Green JA et al. *Cancer Res*, 1984; 44: 5427-5431

## 简 讯

低水平辐射及有关因子生物效应国际研讨会(International Symposium on Biological Effects of Low Level Exposures to Radiation and Related Agents)于1993年10月12日~16日在吉林省长春市召开。

这次国际会议主要交流低剂量电离和非电离辐射,电磁场、微波等物理因子以及化学致癌和诱变剂生物效应的研究成果。包括以下三方面内容:1.流行病学调查及临床观察结果;2.费内、外实验研究;3.机制。

会议将邀请国内外放射医学和毒理学知名学者做专题报告。