线照射，照后 1～17 天，皮下给予生理盐水或是重组鼠肥大细胞生长因子—— MGF〔100μg/(kg · d)〕、rmGM-CSF〔100μg/(kg · d)〕、rmIL-3〔100μg/(kg · d)〕，或是复合应用这些细胞因子，在照射后 14 天和 17 天，CFU-S、GM-CFC、外周血细胞、红细胞、血小板均有增加[24]。

参考文献

1 Schrader JW et al. Immunol Rov, 1984;76:79
2 Yang YC et al. Cell, 1986;47:3
3 Dorsser's L et al. Gene, 1987;55:115
4 Sara G et al. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:9650
5 Nimer SD et al. Blood, 1987;70:1705
6 Watanabe Y et al. Blood, 1992;80:2215
7 Taketazu F et al. J Cell Physiol, 1991;146:251
8 Emerso SG et al. J Clin Invest, 1988;82:1282
9 Sieff CA et al. J Clin Invest, 1987;80:818
10 Xia X et al. J Immunol, 1992;148:491
11 Herrod HG et al. Ann Allergy, 1989;63:269
12 Donahue RE et al. Science, 1988;241:1820
13 Leary AG et al. Blood, 1987;70:1343
14 Dygai AM et al. Radiato-Biol Radioecol, 1994;34:220
15 Tani KS et al. Exp Hematol, 1989;19:883
16 Leigh BR et al. Stem-Cells Dayt, 1994;12:430
17 Baranov AE et al. Blood, 1994;83:596
18 Prasca D et al. Blood, 1994;83:1563
19 Doria G et al. Stem-Cells Dayt, 1993;11:93
20 MacVittie TJ et al. Blood, 1994;84:2515
21 Kindle V et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1986;321:872
22 Williams DE et al. Exp Hematol, 1991;19:584
23 Williams DS et al. Biotechnol Ther, 1993;4:17
24 Patohen ML et al. Biotherapy, 1993;7:13

（收稿日期：1994-12-01）

电离辐射对 NF-κB 的影响

卫生部放射生物重点实验室（长春，130021）范　冰综述　鞠桂芝　萧佩新*审校

摘　要：在简单介绍转录因子 NF-κB 的结构及功能的基础上，概述了电离辐射对 NF-κB 的影响及其机制，以期阐述辐射效应的分子机制。

关键词：电离辐射　NF-κB

电离辐射具有广泛的生物学作用，如分裂延迟、致突与致癌效应、细胞的生物氧化抑制和 DNA 链断裂等放射损伤作用，以及近年来颇为流行的辐射兴奋效应和辐射诱导的适应性反应，都可在整体、细胞、亚细胞水平不同程度地反映出来。随着分子生物学的发展，放射生物学研究也渐入佳境，趋向于研究各种辐射效应的分子机制，尤其在辐射诱导某些基因的表达方面，如 TNF、c-fos、HSP70[1,2]等。

真核基因的表达是通过顺式作用序列和反式作用蛋白因子的相互作用来调控的[3]，所谓反式作用因子是指可溶性的转录调控蛋白因子，比如为人所熟知的 SP1，AP-1/(Jun · Fos)家族和类固醇激素受体超家族成员。近年来，关于转录活性核蛋白因子 NF-κB (nuclear factor of kappa B)[4]的研究日益受到重视，并趋于深入。本文综述了 NF-κB 在放射生物学研究中的背景及其地位，以期了解辐射效应的分子机制。

* 河北省放射卫生研究所（石家庄，050071）

1 NF-κB的结构和功能

最初,Sen等[5]报道,B细胞核提取物中有一种能与免疫球蛋白κ轻链基因的增强子κB序列(5′-GGGACTTTCC-3′)特异结合的蛋白因子,称为NF-κB. 随后,采用突变和蛋白质体外转录等技术证实,NF-κB广泛存在于淋巴细胞和非淋巴细胞中;在细胞分别受到病毒感染、CK(cytokines)、LPS(脂多糖)、PMA(phorbol 12-myristate 13-acetate)、ds RNA(double-strand RNA)、DNA损害剂等多种物质刺激后,可被激活并与相应的病毒、细胞因子、受体等所调节的基因的增强子区相结合,从而启动这些基因的转录[6]。

细胞静息状态下,NF-κB以无活性的潜伏状态存在于细胞质中,由分子量分别为50 000和65 000的两个亚基及一个抑制亚基IκB(inhibitor-κB)组成,即p50·p65和IκB. 当细胞受到TNF、PMA等NF-κB激活剂刺激时,IκB即从三聚体中解离出来,暴露出p50亚基上的易位信号和p65亚基上与DNA相结合的位点,从而使此异二聚物表现出NF-κB活性,并从细胞质中易位到细胞核中,与κB基序(κB motif)相结合,发挥转录调控作用[6,7]。因此,其激活无需合成新蛋白质,不受蛋白质合成抑制剂的制约[8]。有资料证明,生物体中存在一大类蛋白质因子,均可专一地与κB基序结合,从而证实NF-κB是一个由一些结构上相关的特异DNA结合分子组成的家族,通过族内蛋白质分子间的相互作用来调节复杂的基因转录机制[9]。

关于NF-κB的失活机制,初步认为有一个从胞核到胞质的再利用过程[10,11],但IκB需重新合成[12]。合成的IκB进入细胞核中,与NF-κB～DNA序列复合体中的NF-κB结合,降低二者的亲合力,使NF-κB从κB基序上解离,新形成的三聚体又回到细胞质中,等待重新激活[11,13]。就目前人们的认识水平而言,NF-κB是一个独特的由三聚体控制胞内定位、活性、与DNA结合特异性及失活等转录因子的多种特性的转录蛋白活性因子。

NF-κB的功能具有多效性,可概括为两大类[6]:①胞浆-胞核间的信号传递,如NF-κB可控制抗原刺激的T淋巴细胞IL-2Rα基因的表达等;②激活早期基因,其特点是快速激活和被激活基因编码的蛋白质参与免疫反应、急性期反应和炎症过程。快速激活与NF-κB可被快速诱导有关。

2 辐射对NF-κB的影响。

进入80年代以来,人们发现HSP(热休克蛋白)和UV、MMC(丝裂霉素)等DNA损害物质可诱导某些事先存在于真核细胞中的蛋白质因子活性[14,15],如AP-1、NF-κB等,使其与这些损害物质所诱导的热休克基因、原癌基因、胶原酶基因等的增强子/启动子区结合,从而启动这些基因的表达,使细胞表达出新的蛋白质。Boothman等[16]证实,辐射可诱导U1-Mel等细胞表达XIPs特异性蛋白质。于是启发人们采用DNA-蛋白结合及DNaseI印迹分析、凝胶迁移率改变分析等方法研究电离辐射能否激活像AP-1之类的转录活性因子,而启动某些基因的表达。

Surinder等[15]首先报道了2.5～20Gy辐射可特异地诱导C3ABR和C5ABR成淋巴样细胞的核内出现与免疫球蛋白κ轻链基因增强子区特异结合、分子量约43 000的蛋白质;此蛋白本来即存在于细胞中,由辐射激活所致,因为转录抑制剂DRFB和CHM均不能阻断其激活;辐射模拟剂也可诱导此特异蛋白质的出现,但是UV和HSP均无此作用。此蛋白质很可能是NF-κB家族中的一员,其诱导具有剂量依赖性。在10Gy照射后,NF-κB的活性最高并趋于稳定,同时有快速、短暂的特点;照后15分钟即可检测到NF-κB活性,1小时后达高峰,随后趋于衰减,9小时后则不能测出了。Brach等[17]亦发现5～20Gy辐射可诱导人KG-1髓性白血病

细胞的细胞核内 NF-κB 活性达最高峰，且可诱导 NF-κB mRNA 的短暂增加，这与 Surinder 报道的短暂、快速反应相一致。但上述二者均采用了高剂量照射作为诱导因子，这势必会引起细胞死亡而导致细胞数量的明显减少。

Prasad 等[18]采用 0.25～2.0Gy γ 射线照射 EB 病毒转化的 244B 人成淋巴样细胞（细胞存活率＞92%），发现均可诱导 NF-κB 活性，0.5Gy 照后 8 小时达最高峰，并且 0.5～2.0Gy 照射后 NF-κB 活性的时间曲线呈双相性，在照射后 8～16 小时达第一峰，照后 36～72 小时达第二峰；p50 和 p65 亚基的表达在各剂量照射后也明显增加，p65 的剂量反应呈单峰性，以 0.5Gy 照后最高，而 p50 则在 0.5Gy、2.0Gy 照射后达两个峰值。作者指出，不同剂量范围内的辐射反应不同，可能源于不同的机制，如 PMA 等可保持细胞高存活率的化学因子同样是在处理后较长时间（6～8 小时）诱导 NF-κB 活性达最高峰；对于各亚基的调节不同，则可能源于对前体蛋白质的激活不同或/和编码亚基前体的基因表达在 mRNA 合成水平不同等原因所致。

3　辐射影响 NF-κB 的机制

目前，关于 NF-κB 的激活途径认为有两条：①外源性物质激活 PKC（protein kinase C）[10]、PKA（cyclic AMP-dependent protein kinase）[19,20]、PKR（the dsRNA-activated p68 protein kinase）[20]等蛋白激酶途径，使胞浆中三聚体上的 IκB 或其它成份磷酸化，IκB 随之解离而激活 NF-κB；②外源性物质诱导细胞内 ROIs（活性氧中间体）形成而激活 NF-κB[21]，其具体机制尚未可知。研究证明，H_2O_2 可激活 NF-κB[22]，H_2O_2 对细胞的作用正是由于 ROIs 的形成；而且当细胞受 PMA 或 TNF 刺激时，细胞内谷胱甘肽等巯基化合物大量消耗并释放出 H_2O_2 与 O_2^- 而激活 NF-κB[23]；抗氧化剂 PDTC 和 NAC[12,23,24]可完全或部分阻断 H_2O_2、TNF-α、PMA-PHA、LPS 等所诱导的 NF-κB 激活。因此这是激活 NF-κB 的重要途径之一。

辐射对上述两个途径均有影响。刘树铮等[1]发现，75mGy X 射线全身照射后可激活小鼠脾细胞内 PKC 和 Ca^{2+}，导致一系列刺激效应。有研究表明，辐射诱导 ROIs 的形成是辐射效应的机制之一[25]，这也可能是辐射激活 NF-κB 的重要途径。因此，辐射通过调节蛋白激酶的活性和 ROIs 的形成而激活 NF-κB，进一步对 NF-κB 所调控的基因表达产生影响，从而构成了辐射广泛的生物学效应的一个组成部分。

目前，人们对 NF-κB 的研究包括辐射对其影响的研究正方兴未艾。NF-κB 作为一个多效性转录因子，无论从目前的研究状况还是未来的发展趋势来看，都将在辐射效应中占有重要地位。随着对 NF-κB 详细的功能、机制的研究和辐射效应的分子机制研究的逐步深入，人们对它的认识将趋于完善。

参考文献

1 Liu SZ et al. ISBELLES'93. 长春，1993：15
2 Nogami M et al. Int J Radiat Biol, 1993; 63(6): 775
3 胡红雨 鲁子贤. 生物化学与生物物理进展，1992；19(4)：250
4 Baeuerle AP et al. The hormonal control regulation of gene transcription. Elsevier/North-Aollemal Biomedical Press, 1991: 409
5 Sen R et al. Cell, 1986; 46: 705
6 Baeuerle AP. Biochim Biophys Acta, 1991; 1072: 63
7 Shirakawa F et al. Mol Cell Biol, 1989; 9: 2424
8 Sen R et al. Cell, 1986; 47: 921
9 徐人尔等. 免疫学杂志，1993；9(4)：211
10 Baeuerle AP et al. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol, 1988; 53: 789
11 Hiscott J et al. Mol Cell Biol, 1993; 13: 6231
12 Beg AA et al. Mol Cell Biol, 1993; 13: 3301
13 Zabel U et al. Cell, 1990; 61: 255
14 Kingston RE et al. Mol Cell Biol, 1987; 7: 1530
15 Surinder PS et al. Mol Cell Biol, 1990; 10: 5279
16 Boothman DA et al. Cancer Res, 1989; 49: 2871

17 Brach AM et al. J Clin Invest, 1991;88:691
18 Brach AM et al. Radiat Res, 1994;138:367
19 Ghosh S et al. Nature, 1990;344:678
20 Kumar A et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1994;14:6288
21 Schreck R et al. Trends Cell Biol, 1991;1:39
22 Schreck R et al. EMBO J, 1991;10:2247
23 Staal JF et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1990;87:9943
24 Schreck R et al. J Exp Med, 1992;175:1181
25 Hall EJ. Radiobiology for the radiologist, 3rd ed. Lippincott, Philadephia,PA,1988:17

(收稿日期:1994-11-26)

用于细胞放射生物学研究的α照射模型

北京放射医学研究所(北京,100850) 张 欣 综述 郑文忠 王功鹏 苏协铭 审校

摘 要:论述了用于细胞放射生物学研究的α照射模型的发展和近况,并简单介绍了细胞受照的测量方法及细胞放射生物效应。

关键词:照射装置 剂量测量 放射生物效应

体外细胞培养α照射模型的研究,多年来一直在放射生物学领域中占有重要地位,α照射模型主要用于高LET(传能线密度)辐射诱发细胞转化、DNA重组、染色体畸变等研究,以阐明暴露在高LET辐射下的生物系统早期改变规律,并为α放射性核素内照射危险的评价提供科学依据。随着对照射模型的进一步研究,目前已发展多种比较复杂的照射模型,本文从不同方面介绍有关问题。

1 照射装置及其所使用的放射源

1.1 加速器粒子源的照射装置

这类装置所使用的照射源是加速器产生的α粒子流[1],其强度、能量、注量率是可变的。α粒子经过几米长的飞行管和管中的准直器,达到相当均匀的程度。此类装置比较简单,且可获得所要求范围内较高能量的α粒子。但这种加速粒子与α衰变核发射的α粒子相比,被加速的α粒子同介质相互作用时能产生大得多的δ电子分布,从而大大掩盖了α粒子的重要特征。另外,加速器的造价比较昂贵,占地面积也较大,只适用于有条件的研究单位。

1.2 氡及其子体源的照射装置

这种照射装置采用氡及其子体源。它适用于用线源或面源照射有困难的细胞,如淋巴细胞等。常用的氡源是由镭源经过α衰变产生的。这种装置目前使用较少,因为细胞在悬浮状态下受到氡子体辐照是比较复杂的。通常细胞照射一般只考虑辐射能量和细胞形状,而氡及其子体照射的剂量估算需要考虑氡子体对细胞的附着程度及其动力学过程[2]。另外,在设计氡源的照射装置时,还要考虑使氡及其子体在短时间内达到一个较高的浓度及照射装置的安全性。目前已出现了全金属的氡发生器系统,较以往采用医用玻璃的系统更安全、可靠且用途广泛[3]。研制氡发生器的关键是产生氡气扩散器的气密性要好,以保障镭衰变产生的氡气不泄漏出来。另外,要求输送氡气进入装有细胞容器的一系列传送装置的气密性好,必要时在系统中设置α监测器系统以确保安全。

1.3 面源照射装置

此类装置所用的照射源为面源,如^{210}Po,^{238}Pu,^{241}Am等电沉积面源。面源照射装置因制作简单、成本低而得到广泛应用。但用面源照射装置也存在诸如大面积电沉积面