

临床放射生物学的现状和未来

中国医学科学院肿瘤研究所(北京, 100021) 沈瑜

摘要: 系统综述了临床放射生物学研究的现状,包括对放射敏感性的预测,放射治疗效价的修饰措施,放疗中正常组织损伤的防治,新的治疗手段和此学科领域的热点以及对临床放射生物学未来的展望,供提高肿瘤放疗疗效基础研究和临床应用参考。

关键词: 临床放射生物学 放射敏感性 放射治疗

目前在辐射生物领域从事与临床放射生物有关的应用研究约占全部辐射生物研究的40%左右。在一些发达国家中已基本做到所有肿瘤放射治疗科必设有一定专职人员的放射生物研究室(实验室)从而,也为临床放射生物研究工作充实了力量。

1 放射敏感性的预测

90年代以来肿瘤放射敏感性的测定方法的研究发展极快,且其重点指向肿瘤细胞内在放射敏感性的测定。目前经实验及临床初步观察认为较有希望的有以下几种方法。

1.1 肿瘤细胞群增殖情况的测定

现在较为被认可的有 T_{pot} (潜在倍增时间)和 PCNA(增殖细胞核抗原)的测定,已有不少对不同肿瘤的实验室和临床观察结果。虽然对 T_{pot} 方法的肯定和推出都较早,但由于并非所有地区都能得到可用于人体的相应试剂,因此,设备、试剂和方法均较简单的 PCNA测定近来也有较多的应用。两者基本上都能较真实地反映肿瘤的增殖速度,而增殖速度的快慢与肿瘤的放射敏感性呈反比,即增殖速度快的肿瘤(T_{pot} 值低或 PCNA指数高)对放射较抗拒。这两个观察指标与肿瘤放射敏感性的相关性明显地比 DNA含量、标记指数和增殖周期内 S期的长短等为好。该指标在某些肿瘤中测得的数据,现正被作为改变常规放疗方案的主要参考^[1,2]。

1.2 肿瘤乏氧情况的测定

肿瘤的乏氧对放疗的影响已被认识达数

十年之久,但如何解决,至今尚是一个问题,然而,肿瘤内的氧张力仍是影响放疗效果的一个极为重要的因素,不容忽视。对于 P_{O_2} 相对较低的肿瘤可考虑采用一些能增加肿瘤氧含量或修饰乏氧细胞放射敏感性的措施。

目前对肿瘤氧张力或肿瘤乏氧细胞情况的测定方法很多。创伤性的测定有用带有微电极的特制的针,在肿瘤内作多点测定,较多报道认为检测结果基本可以反映肿瘤的放射敏感性,被用得最多的是德国出产的 Eppendorf P_{O_2} 测定仪^[3];还可利用一些特定的可在体内和乏氧细胞结合的生物还原制剂如 7-[4'-(2-nitro-imidazoleyl)-butyl]-theophylline (NITP)经免疫组化的手段处理后用流式细胞仪对其荧光进行分析^[4],或用 3H 或 ^{14}C 标记的 misonidazole标记乏氧细胞后用自显影的方法计算乏氧细胞数,后者现在已很少采用。此外,还可以用磁共振显影的手段测出肿瘤内的乏氧程度^[5];曾有人试图用图像仪测定肿瘤内毛细血管间距离的方法计算出肿瘤内的乏氧情况,但因影响因素相对较多,不易为更多人采用;Olive用“彗星”法分析受照射后的实验肿瘤和正常组织有氧细胞 DNA单链断裂(SSB),发现有氧细胞的 SSB发生率比乏氧时高3倍左右,因此可用这方法检测组织的含氧情况^[6]。

虽然在方法学方面有多种形式可供各单位根据本身的条件加以应用,但其共同的问题是,任何一种方法所观察的肿瘤数量以及肿瘤的种类都有待于继续积累,才能对任何

一种方法作出最后的评价。

1.3 肿瘤放射损伤及修复情况的测定

目前报道较多的是DNA的损伤与修复,最常见的方法是脉冲凝胶电泳,用或不用“彗星”分析法。主要是测定DNA的双链断裂(DSB)及其修复。曾一度认为DNA的DSB,尤其是DSB的修复与细胞的放射敏感性有相关性^[7],但最近的研究结果反映,DNA的DSB修复多少和肿瘤细胞放射敏感性程度的相关性并不太好。分析其主要原因可能是因该方法无法区别出DSB修复中的“错误”修复程度,这些“错误修复”的DNA实际上并不能继续发挥其正常作用,以维持细胞的继续生存,从而影响了该指标的准确性。

从另一个水平反映细胞损伤修复的微核率分析法(MNC),长期以来一直被作为人体受辐射后的生物剂量仪,近日屡有报道能较好地反映某些肿瘤放疗的预后,主要是在肿瘤治疗前对肿瘤活体组织作一定剂量照射并检测其双核细胞的微核形成率,这是因为经实验发现微核率的形成和细胞的增殖情况有一定关系。认为MNC与放射敏感性或治疗的预后有一定的相关性^[8]。

至于能很好地反映细胞放射敏感性的SF₂(细胞照射2Gy后,经离体培养2~3周后的克隆形成率),由于原代细胞培养的特殊要求以及得到结果的时间太长,不能符合临床的要求。

2 放射治疗效价的修饰措施

2.1 乏氧细胞放射增敏剂

乏氧细胞增敏剂由于其毒副作用与效价之间的差距太小,无法在临床推广。经不断的改造和探索,现主要集中于生物还原性药物的研究,并正在发展成为乏氧细胞毒化学药物。目前的研究可能集中在寻找不同肿瘤细胞内能使某种生物还原性药物更起作用的特定还原酶,以便能加强药物使用的针对性。根

据近几年的报道,尚在坚持进行研究的药物有美国的SR-2058^[9]和日本的AK-2133及其衍生物KU系列,但两者均未跳出硝基类化合物的大框架,其前途是否会和它们的前身类似,有待于目前正在进行的临床试验,积累足够的数据及资料后,才能下最后结论。

2.2 肿瘤细胞放射增敏剂

数十年来,在乏氧细胞增敏剂占主导地位时,就有部分人士坚持从事非乏氧细胞增敏剂的探索。现仍有各种零星的报道,其中以卤素类药物为主^[10],但均未形成气候。从中药或其提取物中寻找有效的药物也正在进行之中([11]中的342, 608, 730, 737, 811)。

2.3 改变肿瘤氧含量的措施

2.3.1 常压高氧的吸入结合药物

目前欧洲在这方面的研究较多。主要在照射前吸入carbogen(95% O₂+ 5% CO₂)合并用烟酰胺,可提高射线对肿瘤的杀伤,并认为对正常组织的影响不大。目前已开始临床试验。

2.3.2 低浓度氧吸入

该研究始于原东欧国家,目的是减少放射治疗时的正常组织损伤。可能对某些肿瘤有一定保护作用而引起大家的警惕,未得到推广([11]中的357, 367, 368, 770, 802)。

2.3.3 高浓度、低浓度氧的吸入

我国科学家取上述两种方法之长,两者结合应用,并进行了大量的实验研究,认为在照射前先吸入carbogen然后在开始照射的同时转换为吸入低氧(10% O₂+ 5% CO₂+ 85% N₂),不仅不会影响高氧对放射效应的增强作用而且还能不同程度地减少一些正常组织的放射损伤。目前正在探索在放疗期间频繁地进行如此迅速的气体转换对人体的可能影响以及高、低氧的吸入对正常组织晚期损伤的作用,为临床试用创造条件([11]中的340, 352, 355, 361)。

2.4 放化疗的联合应用

放化疗的联合应用是将放疗和化疗在同

一段时间内根据拟定的方案有计划的交叉应用。近年来,这方面的报道较多,主要是临床应用的报道,所用药物和方案虽然各异,且正常组织的反应也有可能有所增加,总的还是持肯定的观点^[14, 15]。

2.5 放射治疗和其他措施的综合应用

一些曾被与放疗合用并认为有一定提高肿瘤疗效作用的措施,如加热疗法、光动力学疗法,现仍有人用一些改进的方法在临床进行探索^[16]。最近,不同国家的科学家不约而同地分别报道用低于往常热疗所用的42.5℃即用40℃加热约一小时,可以明显减少乏氧细胞比例,从而能提高肿瘤的整体放射敏感性;另有实验报道如此做法可使更多的细胞进入细胞增殖周期,有利于放射治疗发挥作用([11]中的190, 334, 538),从而进一步为放疗加热疗以提高肿瘤疗效的应用提供了新的方案。

3 放射治疗中正常组织的损伤及其防治

3.1 放疗中的正常组织损伤研究

对中枢神经系统放射损伤的观察较为突出。射线对脊髓损伤方面的实验明显较前为多,提出少突神经胶质细胞是脊髓损伤的靶细胞,脊髓内微循环的损伤和少突神经胶质细胞损伤两者之间无相关性,早期少突神经胶质细胞的凋亡情况,有可能反映后期的神经损伤情况^[17]。关于脊髓对射线的耐受性,实验证实和剂量率及两次照射的间隔时间密切相关:如把剂量率从2~3Gy/分钟降至1Gy/小时则耐受量可提高3倍;两次照射时间的间隔6~8小时,脊髓的耐受量较间隔24小时的低10%~20%,而间隔24小时者脊髓的损伤就能完全恢复([11]中的028, 341)。

随着 γ -刀及X-刀和高剂量率近距离治疗等技术在临床的应用,由于这些技术的剂量率和/或剂量都相对较高,与此有关的相应组织的放射生物效应的报道正在增多。尤其

因 γ -刀及X-刀在脑部肿瘤的治疗中应用较多,从而更增加了对头颅内各有关组织如脑的不同部位和耳蜗管等生物效应的研究,而且观察的内容相当广泛,包括形态、生化以及生理与功能多等方面。

甚少观察的照射后心脏的改变,近来也引起人们的注意,包括对心肌和冠状动脉的影响。对术中大剂量照射或常规照射后晚期动脉狭窄现象(一般约在照射后8年或以上),经实验提示可能照射所致,血管平滑肌细胞分泌的肿瘤坏死因子 α 是放射所致慢性动脉狭窄的启动因子^[18]。有报道,对大鼠心脏照射4Gy就可导致大鼠心脏微血管内皮细胞的凋亡,凋亡细胞比例随照射剂量的加大而增加。

对放射性肾损伤的观察也有深入。认为肾受照后的改变出现得并不晚。早期的形态改变表现于内皮细胞和肾小球,而早期的蛋白尿是肾小球损伤的生理表现,且在受照后1~4周就出现细胞增殖的征象。在出现高血压前,由于近肾小球颗粒的变化而形成放射性肾病后体内肾素水平的降低^[19]。

3.2 正常组织放射敏感性的测定

对正常组织的放射敏感性测定的报道日益增多,但其和肿瘤放射敏感性是否有相关性的讨论至今尚无明确的结论,尚需通过较大数量的临床观察。至于了解病人整体的敏感性是否能为根据具体情况制定具体病人的个案治疗方案提供有用的参考的设想,更有待于深入探索。过去,主要用口腔粘膜的刮片或取腿部皮肤的活组织,离体照射其成纤维细胞后作相应的检测。近年来,较多的报道是取病人外周血分离出淋巴细胞,分析其照射后的微核形成率。由于这一方法取材方便,技术也较简单,因此很快就被广泛应用。

3.3 正常组织放射损伤的预防和治疗

近年来在这方面的报道很多。一般认为,用低氧吸入能保护正常组织和免疫机制([11]中的350)。由于高压氧可刺激乏氧组

组织内微循环的新生,因此认为高压氧可预防和治疗由于微循环被破坏因供血不足而造成的放射损伤([11]中的382)。药物性的防治手段更多,但也比较分散,所用药物和针对的组织各异,如①在放疗期间,用GM-CSF, 2 g/kg 皮下注射,一日三次,可预防肺癌放疗所致食管炎([11]中的260);②N-nitro-L-argininemethyl ester能减少氧化氮,减少肠粘膜内照射所致的肥大细胞增加,从而保护肠粘膜受射线的损伤([11]中的335,336);③在对大鼠头颈部照射前90分钟给予Zinc-Deferrioxamine,可以减少腮腺重量降低,减少腮腺功能的丧失,增加腮腺分泌物中钾含量;④Gemcitabine(dFdC)于照前3小时腹腔注射,对小鼠小肠有增敏作用,如在照前48小时给药,则对小肠有保护作用([11]中的200);⑤血管紧张转换酶抑制剂可预防或治疗放射性肾病,防护作用表现为受照射肾内血管旁和间质胶原大量地减少;⑥离体实验证实Bowman-Birk proteinase inhibitor(BBI)可增加正常细胞受照射后的克隆存活率和减少照射所致的凋亡DNA断片。分子水平的观察提示,BBI可防止正常细胞中辐射诱导的p53过度表达

4 一些较新的治疗手段

4.1 硼中子俘获治疗

当用低能量热中子照射硼-10(^{10}B)时产生 α 粒子和回旋锂-7核,可用于星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤和脑转移瘤等一批其它方法很难治疗的肿瘤。为能获得成功的疗效,必须使较大数量的 ^{10}B 原子处于或进入恶性细胞,并必须有足够数量的热中子能到达该处并为 ^{10}B 原子所吸收,以维持一个致死性的 $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$ 反应。现在临床用的两种硼化合物是sodium borocaptate和boronophenylamine,尚有一系列化合物在探索之中([11]中的051,060)。

4.2 其他的高LET射线

在有条件的国家中,主要是寻找合适的肿瘤病种,进行临床试用

4.3 放射免疫治疗

以单克隆抗体为载体将特定的放射性核素导入肿瘤,利用其发射的短程 β 射线杀伤肿瘤细胞。根据这一原理,荷兰的科学家比较了用 ^{186}Re 或 ^{131}I 标记的单克隆抗体对接种于裸小鼠的人体卵巢癌xenograft的抑制作用。两者的疗效差别不大,但 ^{186}Re 具有物理半衰期短,发射的 γ 线能量较低,其标记的单克隆抗体更适用于卵巢癌的临床治疗。

5 学科领域的热点

5.1 细胞程序性死亡(凋亡)

自从发现辐射诱导凋亡,并且认为凋亡是肿瘤细胞死亡的主要形式之一后,有关辐射与凋亡的研究已成为临床放射生物学研究热点之一,而且进展极快

5.1.1 细胞凋亡(Apt)和射线及放射敏感性的关系^[20-22]

一些观察常把Apt和细胞分裂(Mt)同时观察,并发现两者之间有一定的相关性。Komaki报道,未经任何治疗的非小细胞性肺癌中自然的Apt和Mt发生率与肿瘤的组织形态有关,并可以预测肺鳞癌的生存率(Apt和Mt发生率高,生存率高)肺腺癌和大细胞肺癌治疗后的转移发生率(Apt和Mt或单纯Apt发生率高,5年转移率都高)。在一些其他肿瘤的观察中也有类似的结果,但不同肿瘤差异极大,有待更多的观察。

肿瘤细胞系和成纤维细胞系受照后反映在肿瘤细胞内的Apt是分裂死亡的主要表现形式或表现形式之一,而成纤维细胞受照射后的情况不太一样,作为正常细胞的代表,受照射后的细胞死亡形式是以坏死性死亡为主,Apt主要发生在G₁期细胞内。

5.1.2 Apt和癌基因

较多报道提到Bcl-2和p53的表达对Apt的影响,并提出p53/Bcl-2依赖性通道

作为 Apt 的分子调控,因为 p53可促使 Apt 而 Bcl-2则阻断 Apt 但这不是唯一的通道,还有人观察到一些非 p53/Bcl-2依赖性通道,如一种 DNA topoisomerase I 的抑制剂 Lapachone能不依赖 p53在组织内的表达水平而诱导 Apt,而且 Bcl-2表达水平的增加并不能明显地阻断这一通道。其他分子,如有些化学治疗制剂或 suramin也可以在有些 Bcl-2过度表达的细胞内诱导 Apt 此外,在有些细胞内往往可看到相伴出现 p53和 p21的过度表达,但 p53和 p21关系的正确认识尚有待探索 ([23]以及 [11]中的 302, 303)。

5.2 分子生物学和临床放射生物学

分子生物学的进展(除基础研究外)涉及到哪里,临床放射生物的研究就结合本学科的内容开展到那里。在 80年代后期,开始有人报道 H-ras 和 C-myc 的表达增加细胞的放射抗拒性,随之,几年内就有大量的关于基因和放射敏感性关系的报道,列出了不少与放射敏感性相关的基因。但不同的报道各有千秋,甚至同一种基因在不同的报道中会出现相反的结论。关于基因治疗的研究工作,在本领域中和总的步伐也跟得很紧,凡有任何新的基因治疗技术,就会有人以相应合适的基因试用于治疗或放射增敏相应的肿瘤。但因大部分工作处于初期,尚无成熟的内容可总结^[24]。

6 展望

临床放射生物学是一个边缘学科,上至基础的生物物理、辐射化学的有关内容,下至药学、医学的有关学科。必须充分吸收和利用新的进展,使先进高科技成果最终能用于解决临床放射生物学的根本任务——提高放射治疗效果,改善病人治疗后的生活质量。

参 考 文 献

- 1 Zacknisson B et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997; 38(4): 683
- 2 Colvett KT et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997; 38(3): 463
- 3 Brizel DM et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994; 30(3): 635
- 4 Stern S et al. *Radiother Oncol*, 1996; 39: 129
- 5 Mason RP et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994; 29: 3
- 6 Olive PL et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1994; 29: 487
- 7 Nuflez MI et al. *Radiother Oncol*, 1996; 39: 155
- 8 Maniya Y et al. *Radiat Res*, 1997; 147: 29
- 9 Lawton CA et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996; 36: 673
- 10 Robertson JM et al. *J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997; 37: 331
- 11 Abstract of ICRO'91. *Radiother Oncol*, 1997; 43(suppl2)
- 12 Fatigante L et al. *J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997; 37: 499
- 13 Rojas A et al. *Radiother Oncol*, 1996; 39: 53
- 14 Ishii H et al. *Cancer*, 1997; 19: 1516
- 15 Jeremic B et al. *Radiother Oncol*, 1997; 43: 29
- 16 Emami B et al. *J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996; 34: 1097
- 17 Li YQ et al. *Radiat Res*, 1996; 56: 5422
- 18 King V et al. *Radiat Res*, 1996; 36: 881
- 19 Cohen EP. Radiation nephropathy: a multicellular injury. *Radiation Research, Congress proceedings Vol 2, congress lectures, 10th ICRR, Wurzburg, Germany. 1995: 765*
- 20 Meyn RE et al. The role of apoptosis in tumor response to radiation. *Radiation Research, Congress Proceedings Vol 2, congress lectures, 10th ICRR, Wurzburg, Germany. 1995: 653*
- 21 Komaki R et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996; 36: 601
- 22 Hopcia KL et al. *Radiat Res*, 1996; 145: 315
- 23 Saito Y et al. *J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997; 38: 623
- 24 Weichselbaum RR et al. *Cancer Res*, 1994; 54: 4266

(收稿日期: 1997-09-03)