

肿瘤辐射增敏的分子机制

顾菲 刘晓秋

【摘要】关于肿瘤辐射增敏的分子机制研究主要包括：DNA 损伤的加重及其修复抑制，改变细胞氧合状态，控制细胞周期，转入凋亡相关基因，导入反义物等。不同的辐射增敏剂可通过不同的分子机制提高肿瘤辐射敏感性。分子机制研究将为开发出更高效的辐射增敏剂提供理论依据。

【关键词】辐射增敏药；细胞低氧；DNA 损伤；基因疗法

【中图分类号】Q7 【文献标识码】A 【文章编号】1673-4114(2006)05-0298-04

The molecular mechanism of tumor radiosensitizer

GU Fei, LIU Xiao-qiu

(Department of Biology, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

【Abstract】The study of molecular mechanism of tumor radiosensitizer at home and abroad includes: DNA damage and its repair inhibition, change the oxygen content in tumor cells, control cell cycle, induct cell apoptosis correlative gene and so on. Different radiosensitizing agents play its effort in different ways. The study of molecule mechanism will provide academic basis for discovering new radiosensitizing agents which with higher sensitizing effort.

【Key words】Radiosensitizing agents; Cell hypoxia; DNA damage; Gene therapy

辐射增敏剂的研究已有 30 多年，但系统地研究各类辐射增敏的分子机制还是近几年才发展起来的，下面介绍几种典型的分子机制。

1 DNA 损伤的加重及其修复抑制

辐射可引起 DNA 单链或双链断裂、碱基损伤等多种类型的损伤。在适当条件下，细胞又可对受损 DNA 进行断链重接、切除或重组等多种类型的修复，使之恢复生理功能。

1.1 DNA 损伤的加重

辐射增敏剂的设计原理之一是增加靶细胞受到辐射引起的原发性损伤，使细胞 DNA 产生的靶分子自由基增加，而后与之形成加合物，发生电子转移使靶分子氧化，导致细胞潜在性的化学致死损伤，如 DNA 链断裂、交联及碱基损伤等。DNA 前体碱基类似物在 DNA 复制时可取代相应的胸腺嘧啶渗入 DNA 分子结构内，抑制 DNA 合成以提高细胞的辐射敏感性。Owen 等^[1]发现，应用喜树碱于

低剂量照射可以增加人黑色素瘤细胞 DNA 双链断裂的发生。细胞 DNA 损伤在有氧时比在乏氧时可增高 3 倍左右，因而氧能提高细胞的辐射敏感性。

增强生物分子如 DNA 的损伤效应是亲电子化合物和一些类氧化化合物的增敏基础。这些增敏剂具有很强的电子亲和力，能从细胞靶分子夺取电子，增加 DNA 碱基特别是胸腺嘧啶的氧化和阻止其再吸收电子还原修复，从而造成稳定的损伤。亲电子化合物还能降低细胞内修复受损 DNA 所必须的巯基化合物谷胱甘肽的水平。内源性巯基水平的降低可增加辐射敏感性，目前公认的具有明显辐射增敏作用的米索硝唑(misonidazole, MISO)也是主要与细胞内巯基结合、耗竭细胞内起防护作用的巯基而增敏的。巯基主要通过直接作用(巯基与靶自由基起作用)与间接作用(巯基可调节到达细胞辐射敏感靶的氧或电子亲和性增敏剂的量)影响细胞辐射敏感性。

1.2 DNA 损伤修复的抑制

抑制 DNA 损伤修复包括抑制潜在性致死损伤修复(potentially lethal damage repair, PLDR)和抑制 DNA 修复酶两方面。肿瘤乏氧区内的细胞大多处

作者单位：300192 天津，中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所生物研究室

通讯作者：顾菲(E-mail: feigu8@hotmail.com)

于静止期,其对射线的抗性除缺氧外,还因处于静止期的肿瘤细胞具有较强的 PLDR 的能力,这使得肿瘤放疗效果大大降低。为克服此问题,可从抑制 PLDR 着手寻找药物。甘氨双唑钠等 PLDR 抑制剂对受照细胞 PLDR 有较强的抑制作用,可能是通过抑制 DNA 聚合酶 β 的活力而抑制 DNA 断链重接修复,同时也抑制了 PLDR 的能力^[2]。目前也有研究直接针对 DNA 修复靶基因寻找抑制剂,细胞周期依赖蛋白激酶抑制剂已进入临床试验^[3]。

辐射损伤修复相关因素研究较多的有 DNA 依赖性蛋白激酶 (DNA-dependent protein kinases, DNA-PK)、毛细血管扩张共济失调 (ataxia telangiectasia, AT) 突变基因和核苷酸切除修复等。DNA-PK 是 DNA 损伤后 p53 反应系统的上游激活因子,同时也是射线引起 DNA 双链断裂损伤后的主要修复因子。当 DNA 出现双链断裂损伤后,通过抑制上游 mRNA 的转录和引起细胞周期阻滞,继而激活一系列 DNA 修复相关的因子,完成 DNA 双链断裂的修复^[4]。AT 突变基因在分子水平与 DNA 双链断裂的修复密切相关,它可通过磷酸化 p53 的 N 末端第 15 位丝氨酸结合并激活 p53,进而激活 p21/WAF1 以及其他效应蛋白,最终使 DNA 损伤细胞停滞在 G₁ 期。

2 改变细胞的氧合状态

大量证据表明,人类实体肿瘤生长于一个独特的微环境中,在此微环境中它们拥有一套特有的异常的血供系统,从而导致对肿瘤细胞的氧气及养分供应不足,这些乏氧细胞不仅限制了放化疗的疗效,也成为肿瘤复发的根源^[5]。为了提高放射治疗效果,人们从两方面努力改变肿瘤细胞的氧含量,一是改善乏氧细胞的氧合状况以提高辐射敏感性;二是使乏氧细胞进一步乏氧,以加强一些生物还原性辐射增敏剂的效果。

2.1 改善氧合状况

近年来,一些新型的乏氧细胞增敏剂不断出现,如金属卟啉、NO 供体、血红蛋白异构效应物等。它们通过不同的作用机制改善组织氧合状态,从而达到提高细胞对射线敏感性的目的。改善肿瘤血流量也可以产生增敏效果。钙通道阻断剂肉桂苯哌嗪是一类血管活化剂,专一地结合于外周血管及血细胞,从而导致血流黏滞度的改变,直接影响肿瘤血流,使血流加快。烟酰胺能改善肿瘤的血流从

而改善肿瘤的氧合产生增敏作用。烟酰胺在与 MISO 等效时,神经毒性只有 MISO 的一半,由此启发学者们把酰氨基引入分子中可降低毒性。还有增敏剂通过降低血红蛋白-氧亲和力而发挥作用,血红蛋白-氧亲和力的降低能引起正常组织和恶性肿瘤组织氧转运的增加,肿瘤辐射敏感性也随之增强。

2.2 生物还原作用机制

生物还原活性物除有较强的辐射增敏效应外,还对乏氧细胞有不同程度的细胞毒作用。这类化合物的乏氧细胞毒性与其电子亲和力有关,但与亲电子辐射增敏剂的机制不同,它主要是通过生物还原作用对乏氧细胞产生毒性并具有辐射增敏作用^[6]。它主要包括硝基杂环化合物、杂环氮氧化合物和醌类化合物,如丝裂霉素 C、SR-4233 等。SR-4233 在细胞内多种还原酶的作用下,能失去电子并质子化成活性很高的中性游离基,后者在乏氧状态下从 DNA 分子中夺取氢,引起 DNA 单链和双链的断裂、染色体畸变;而正常状态下,氧分子可消除 SR-4233 游离基上多余电子,形成无毒化合物和超氧化物游离基。由于 SR-4233 游离基的毒性较超氧化物游离基强得多,使得 SR-4233 对乏氧细胞有很强的选择性毒性^[7]。

生物还原机制使人们想到从增加肿瘤的乏氧和影响某些还原酶着手,提高生物还原药物的作用,从而提高对肿瘤的治疗效果。黄酮乙酸和干扰素-1 等可破坏肿瘤血管,阻断血流进入肿瘤,造成肿瘤组织严重缺氧,若合并使用某些生物还原药物,将使杀死肿瘤细胞的效果猛增。

3 细胞周期同步化

研究表明,射线照射后细胞多发生细胞周期的阻滞,处于 M/G₂ 期的细胞对射线最敏感,S 期细胞不敏感,增敏剂的作用就是将细胞阻滞在辐射敏感性最高的时期。一些化疗药物可引起细胞周期阻滞,如吉西他滨是一种新型的细胞周期特异性抗肿瘤药物,主要作用于 S 期细胞,也可以阻止 G₁ 期细胞向 S 期的进展,从而使周期敏感细胞成分增加,起到辐射增敏的效果。但是最近研究发现,吉西他滨可以透过血脑屏障,作为辐射增敏剂具有剂量限制性毒性^[8]。

G₁ 期阻滞和 S 期延迟有利于对损伤的 DNA 进行修复^[9],对不能修复的损伤细胞也能诱导细胞凋

亡,降低基因组不稳定性,减少细胞突变及癌变; G_2/M 期阻滞可以保证有丝分裂分配的忠实性。但是,并非所有受照细胞都能通过细胞周期延迟以产生保护。当它们没有足够时间进行修复时,DNA复制将产生染色体断裂和(或)重排,最终导致基因突变和基因组不稳定性,出现细胞恶性转化。

正是由于这种细胞周期阻滞的自我保护机制,使得肿瘤细胞可以逃避放射性杀伤,导致肿瘤对辐射不敏感。如何去除阻滞以提高肿瘤辐射敏感性已是当前放疗研究的焦点之一。国内外已经有许多研究者致力于研发此类辐射增敏剂,目前最常用的有两大类:咖啡因类,如咖啡因、己酮可可碱等;Staurosporine类,如7-hydroxystaurosporine (UCN-01)等。照射前给予一定浓度的咖啡因可使细胞出现AT样表型,破坏 G_2/M 期检查点,缩短 G_2/M 期阻滞时间,使损伤的DNA在染色体分离前不能得到完全修复,细胞带着受损的DNA提前进入增殖周期,结果启动了凋亡程序,导致凋亡^[10]。UCN-01是一种选择性蛋白激酶C的抑制剂,能够去除 G_2 期阻滞,导致细胞凋亡增加,降低细胞存活率,增加放疗的杀伤效果^[11]。此类放疗增敏剂已经在临床上显现出良好的应用前景。

4 基因治疗

某些基因可成为辐射敏感性修饰的关键靶点,通过药物特异地作用于基因靶点可以选择性地提高肿瘤的辐射敏感性而保护正常组织。

4.1 转入凋亡相关基因

细胞被转入凋亡相关基因后显示辐射敏感性增高,因此可以通过转基因的方法增加肿瘤细胞凋亡水平而提高辐射敏感性。与凋亡相关的基因主要有:①Fas基因,②野生型p53基因。目前,腺病毒介导的野生型p53基因的转导是临床试验最成功的基因治疗方案之一,与放射治疗相结合,在非小细胞肺癌、头颈部鳞癌和胰腺癌等临床试验中显示出了明显的放疗增敏作用^[12]。

4.2 导入反义物^[13]

肿瘤细胞对射线的抗性与细胞内某些物质的表达量有关,反义物能与表达该物质的正义链互补形成稳定双链,阻碍mRNA的正常翻译,抑制基因的表达,使增加辐射抗性的蛋白量下降,从而提高肿瘤组织对射线的敏感性。有研究报道,Raf反义

寡核苷酸药物ErafAON和ISIS5132在I期临床试验中表现出明显的辐射增敏作用,其作用机制可能与Raf-1基因信号通道有关^[14]。Guha等^[15]用针对AT突变基因功能区的反义RNA导入人胶质瘤细胞,使AT突变蛋白表达减弱,p53蛋白和p21蛋白表达增加,AT突变基因受抑制的瘤细胞表现辐射敏感性增加。

4.3 表皮生长因子受体抗体

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)与配体结合产生内化反应,激活细胞膜内的酪氨酸激酶,活化的酪氨酸激酶具有磷酸化功能,作用于下游细胞因子和蛋白,在细胞生长、血管生成和新陈代谢等方面发挥重要作用^[16]。实验显示,治疗剂量照射能导致EGFR激活,重复照射导致EGFR表达增加^[17]。辐射激活EGFR引起的细胞增殖能力和DNA修复能力增加是一种保护效应,如能阻断EGFR的功能就能预防这种保护反应,从而提高辐射敏感性。Huang等^[18]用抗EGFR的单克隆抗体C225阻断EGFR的功能,发现能显著提高人头颈部鳞癌细胞系的辐射敏感性。

综上所述,肿瘤辐射增敏的分子机制研究对寻找高效低毒的新化合物具有重要的指导意义。目前,新化合物的研究已突破原来的乏氧细胞增敏剂的范围,许多潜在的辐射增敏的分子靶点和酶靶点也逐渐被人们所重视,这些靶点与DNA损伤修复、细胞周期、细胞凋亡等有着密切的关系。

参 考 文 献

1. Owen DG, McNamee JP, Raaphorst GP, et al. Potentiation of cell killing by low-dose-rate radiation by camptothecin is related to an increase in the level of DNA double-strand breaks. *Radiat Res*, 2002, 157(2): 149-157.
2. 郑秀龙,金一尊,沈瑜. 肿瘤治疗增敏药. 修订本,上海:上海科学技术文献出版社,2002. 152-156.
3. Lahusen T, De Siervi A, Kunick C, et al. Alsterpaullone, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, induces apoptosis by activation of caspase-9 due to perturbation in mitochondrial membrane potential. *Mol Carcinog*, 2003, 36(4): 183-194.
4. Iliakis G, Wang H, Perrau AR, et al. Mechanisms of DNA double strand break repair and chromosome aberration formation. *Cytogenet Genome Res*, 2004, 104 (1-4): 14-20.
5. Wouters BG, Weppler SA, Koritzinsky M, et al. Hypoxia as a target for combined modality treatments. *Eur J Cancer*, 2002, 38 (2): 240-257.
6. Pradier O, Rave-Frank M, Schmidberger H, et al. Effects of

- paclitaxel in combination with radiation on human head and neck cancer cells (ZMK-1), cervical squamous cell carcinoma cellscarcinoma (CaSki), and breast adenocarcinoma cells(MCF-7). J Cancer Res Clin Oncol, 1999, 125(1): 20-27.
- 7 Kotandeniya D, Ganley B, Gates KS, et al. Oxidative DNA base damage by the antitumor agent 3-amino-1,2,4-benzotriazine 1,4-dioxide. Biol Med Chem Lett, 2002, 12(17): 2325-2329.
- 8 Maraveyas A, Sgouros J, Upadhyay S, et al. Gemcitabine twice weekly as a radiosensitizer for the treatment of brain metastases in patients with carcinoma: a phase I study. Br J Cancer, 2005, 92(5): 815-819.
- 9 姚莉. 辐射损伤与细胞周期. 国外医学·放射医学核医学分册, 2004, 28(1): 33-36.
- 10 Sarkaria JN, Busby EC, Tibbetts RS, et al. Inhibition of ATM and ATR kinase activities by the radiosensitizing agent, caffeine. Cancer Res, 1999, 59(17):4375-4382
- 11 Tenzer A, Pruschy M. Potentiation of DNA-damage-induced cytotoxicity by G2 checkpoint abrogators. Cur Med Chem Anticancer Agents, 2003, 3(1): 35-46.
- 12 Moon C, Oh Y, Roth JA. Current status of gene therapy for lung cancer and head and neck cancer. Clin Cancer Res, 2003, 9(14): 5055-5067
- 13 王小兵, 赵桂森. 抗肿瘤放射增敏剂的研究进展. 中南药学, 2005, 3(5): 293-295
- 14 Kasid U, Dritschilo A. RAF antisense oligonucleotide as a tumor radiosensitizer. Oncogene, 2003, 22(37): 5876-5884
- 15 Guha C, Guha U, Tribius S, et al. Antisense ATM gene therapy: a strategy to increase the radiosensitivity of human tumors. Gene Ther, 2000, 7(10): 852-858.
- 16 Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 59 (2 Suppl): 21-26.
- 17 Lammering G, Hewit TH, Hawkins WT, et al. Epidermal growth factor receptor as a genetic therapy target for carcinoma cell radiosensitization. J Natl Cancer Inst, 2001, 93(12): 921-929.
- 18 Huang SM, Harari PM. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. Clin Cancer Res, 2000, 6(6): 2166-2174.

(收稿日期: 2006-05-29)

·放射生物学·

放射性脑损伤发病机制及免疫系统改变的研究

钟静 姜恩海

【摘要】放射性脑损伤是头颈部肿瘤放射治疗后的一种严重并发症, 本文从放射性脑损伤发病机制及电离辐射引起免疫系统改变的基础上推断放射性脑损伤可能引起的免疫系统改变。

【关键词】脑损伤; 辐射损伤; 免疫系统

【中图分类号】R818.74 【文献标识码】A 【文章编号】1673-4114(2006)05-0301-04

Study of pathogenesis and the change of immune system of radiation brain injury

ZHONG Jing, JIANG En-hai

(Department of Clinic, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

【Abstract】 Radiation brain injury is a severe complication of the pate tumour after radiotherapy. Review the pathogenesis of radiation brain injury and ion irradiation and the change of immune system then conclude the change of immune system that radiation brain injury can cause.

【Key words】 Brain injury; Radiation injury; Immune system

尽管许多学者从放射性脑损伤的病因、发病机

制、临床表现、诊断和治疗等方面对该学科的研究已经做了综合阐述, 但对发病机制尚无统一论, 对放射性脑损伤引起的免疫系统的改变报道更少, 本文着重探讨放射性脑损伤的发病机制及其与免疫

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所临床室

通讯作者: 姜恩海(E-mail: jnh1953@yahoo.com.cn)