

# 低剂量辐射兴奋效应的研究及临床应用

赵欣然 姜恩海 李进 刘强 邢志伟 江波 王晓光 姜立平

**【摘要】** 电离辐射广泛存在于人们的生活环境中, 低剂量辐射可诱发机体产生适应性反应, 其机制包括 DNA 损伤修复、促进 T 细胞内信息传递、保护性蛋白的产生、反应性氧类的作用, 还能增强免疫力、抑制肿瘤的生长和转移及对化疗不良反应产生影响, 具有肿瘤治疗的潜在临床意义。

**【关键词】** 剂量效应关系, 辐射; 肿瘤; 辐射适应性反应

## Study on excited effect of low dose radiation and clinical application

ZHAO Xin-ran, JIANG En-hai, LI Jin, LIU Qiang, XING Zhi-wei, JIANG Bo, WANG Xiao-guang, JIANG Li-ping

(Department of Clinic, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science, Tianjin 300192, China)

**【Abstract】** Ionizing radiation exist extensively in life environment. Low dose radiation can induce adaptive response of the body, the mechanism including DNA damage repair, promote intracellular information transfer of T cell, the produce of protective protein and the effect of reactive oxygen species. It also can enhance immunity, inhibit growth and metastasis of tumor and can effect the adverse reaction of chemotherapy.

**【Key words】** Dose-effect relation, radiation; Neoplasms; Radiation of adaptive response

低剂量电离辐射对机体的兴奋效应在放射生物学界广泛引起关注, 所谓低剂量系指 $<0.2$  Gy 的低传能线密度或 $<0.05$  Gy 的高传能线密度而剂量率 $>0.05$  mGy/min 的辐射。若以上辐射剂量率 $<0.05$  mGy/min 时, 则称为低水平辐射<sup>[1]</sup>。

## 1 低剂量辐射的适应性反应

### 1.1 基本特点

预先用数 cGy 的低剂量辐射作用细胞, 当此细胞再次受到较大剂量辐射作用时, 损伤效应可以被减弱, 这种现象被称为辐射适应性反应 (adaptive response)。其表现为细胞对随后作用的大剂量辐射所导致的遗传损伤效应被减弱, 包括染色体损伤的减少和基因突变率的降低<sup>[2]</sup>。

哺乳动物细胞中, 适应性反应的辐射诱导剂量一般在 1~5 cGy 范围内, 通常发生在新陈代谢旺盛的细胞中, 而  $G_0$  期休眠细胞中未发现其存在。另外, 适应性反应作为一个早期反应, 在照射后 4~6 h

达到最高值, 可持续 24 h, 甚至超过 40 d<sup>[3]</sup>。

### 1.2 适应性反应的机制

#### 1.2.1 DNA 损伤修复机制

目前, DNA 双链断裂 (double strand break, DSB) 被公认为是电离辐射致畸、诱变和导致细胞死亡的主要损伤因素<sup>[4]</sup>。在真核细胞中已知主要有两条途径参与 DSB 的修复, 即非同源末端联接 (non-homologous end-joining, NHEJ) 修复和同源重组 (homologous recombination, HR) 修复<sup>[4]</sup>。NHEJ 修复或者由 DNA 依赖的蛋白激酶介导完成, 或者由蛋白复合物的协调作用来完成。HR 修复则在 rad52 基因群及同系物所组成的复合物的作用下完成, 它要求姐妹染色体链之间的序列同源性, 而且主要和 DNA 复制一起或在  $S/G_2$  期行使作用, 而 NHEJ 则在  $G_1$  期发挥显著作用<sup>[4]</sup>。然而, 考虑到  $G_1$  期阻抑的哺乳动物细胞中适应性反应的表达, 增强的 HR 修复途径同细胞周期阻抑一样, 不能成为其主要的的作用机制, 至少在静止期细胞中如此。目前认为, 低剂量电离辐射所诱导的适应性反应主要由 NHEJ 修复途径介导。

#### 1.2.2 促进 T 细胞内信息传递

Liu 等<sup>[5]</sup> 报道, 低剂量辐射可以刺激外周血

基金项目: 天津市自然科学基金项目 (07JCYBJC09200)

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所临床部

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

CD4<sup>+</sup>、CD8T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖和活化,表现在 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>双阳性细胞百分率增高,通过诱导 TCR/CD3<sup>+</sup>表达上调、细胞 Ca<sup>2+</sup>水平升高、蛋白激酶 C 活性增强,刺激 T 细胞的活化,高表达 CD25 分子,这说明低剂量辐射免疫兴奋效应的中心环节是 T 细胞的激活。T 淋巴细胞功能激活可能受低剂量照射后抗原递呈细胞系统变化的制约。0.075 Gy 照射时,小鼠腹腔巨噬细胞 B7-1 和 B7-2 的表达均有不同程度的升高,但 B7-2 的表达峰值早于 B7-1,而 0.5 Gy 时 B7-1 先出现峰值,认为低剂量 X 射线可以同时增强 T 淋巴细胞 CD28 分子的表达和巨噬细胞 B7 分子的表达,从而诱导辅助性 T 淋巴细胞产生 CD28 反应复合物,CD28 反应复合物与 CD28 反应元件结合,增强辅助性 T 淋巴细胞 1 类细胞因子基因的表达,介导辅助性 T 淋巴细胞亚群活化及克隆增殖,最终引起机体免疫兴奋效应。Stadler 等<sup>[6]</sup>证实,660 nm 激光照射外周血后,分离的淋巴细胞增殖刺激指数明显高于分离后照射的淋巴细胞,同时自由基和脂质过氧化物的产生也明显增加。

### 1.2.3 保护性蛋白的产生

低剂量照射后可激活蛋白激酶 C,进而导致一些基因的表达,然后产生相应的蛋白质。低剂量辐射可诱导某些蛋白质分子的表达,包括新的蛋白质分子的出现、原有蛋白质分子的消失或某些蛋白质分子水平的改变。Chen 等<sup>[7]</sup>用高分辨率二维聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染分析发现,小鼠在低剂量全身照射后胸腺细胞中 17 种核蛋白、9 种胞质蛋白和 2 种胞外蛋白较对照组升高,而 10 种核蛋白、5 种胞质蛋白和 4 种胞外蛋白消失,这些蛋白为抗氧化性或保护性蛋白,保护辐射诱导的 DNA 或细胞膜损伤。

### 1.2.4 反应性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的作用

ROS 主要由还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶系产生。ROS 广泛参与细胞功能调节。实验证实,低剂量辐射能产生较多 ROS。用低传能线密度的 <sup>137</sup>Cs  $\gamma$  射线和 250 kV X 射线照射组织,发现每纳克受照组织在平均吸收剂量时不到 1  $\mu$ s 就可以产生数百个 ROS,而高传能线密度射线照射会产生更多,4 MeV 的  $\alpha$  粒子照射不到 1  $\mu$ s 内即可产生 7000 个 ROS。突然增多的 ROS 起信息传

递作用,通过引起凋亡,刺激抗氧化保护系统和 DNA 修复,以及提高免疫力,通过正常细胞增殖取代异常细胞而起到消除损伤的作用,在适应性反应中起重要作用。但是,ROS 是把“双刃剑”,当 ROS 浓度过高时,会引起细胞损伤,主要是 DNA 损伤,非常高的浓度时甚至会引起细胞坏死<sup>[8,9]</sup>。

## 2 低剂量对机体的免疫增强和抗肿瘤作用

### 2.1 增强机体的免疫功能

辐射流行病学调查表明,天然本底辐射与人群癌症死亡率呈负相关,许多研究发现,低剂量照射下肿瘤生长减缓。Kojima 等<sup>[10]</sup>以低剂量(0.5 Gy)照射荷瘤鼠,发现照射后 2~6 h 天然杀伤细胞和抗体依赖性细胞毒细胞活性逐渐提高,于照射后 4 h 达到峰值,从而使接种的肿瘤生长受抑制。在低剂量(0.075 Gy)全身照射后还可观察到几种重要的抗肿瘤免疫指标,如天然杀伤细胞活性、干扰素 7 分泌、抗体依赖性细胞毒细胞活性等均明显增高<sup>[11]</sup>。Safwat 等<sup>[12]</sup>将低剂量全身照射与白细胞介素 2 结合,治疗恶性黑色素瘤小鼠,取得了较好的效果:对照组、单独低剂量全身照射组与单独白细胞介素 2 治疗组肿瘤负荷率分别为(8.1 $\pm$ 4.9)%、(8.3 $\pm$ 4.5)%、(6.4 $\pm$ 3.4)%,而低剂量全身照射+白细胞介素 2 治疗组下降到(3.0 $\pm$ 1.0)%,与单独白细胞介素 2 治疗组相比差异显著;并且,低剂量全身照射+白细胞介素 2 治疗后天然杀伤细胞和巨噬细胞在肿瘤区域明显升高,起到了免疫介导的协同抗肿瘤作用。

### 2.2 抗肿瘤作用

低剂量照射下,凋亡是肿瘤细胞死亡的主要机制<sup>[13]</sup>。Mirzaie-Joniani 等<sup>[14]</sup>对 Hela Hep2 细胞在低剂量率照射下的凋亡情况进行了研究:在 0.8 Gy/min 的剂量率下分别给予 Hela Hep2 细胞 0.5、1、2、5、10、15 Gy 的照射,对受照细胞分别培养 5、10、24、48、72、168 h,结果在剂量小于 2 Gy 时未见凋亡,但是在 5~15 Gy 时出现了明显的凋亡,凋亡高峰发生在 5 Gy 处( $P < 0.001$ ),超过 60% 的检测细胞出现了凋亡;当剂量率降至 0.072 Gy/min 时,在照射剂量超过 2 Gy 时即出现明显凋亡。在他们的另一个研究中进一步证明,给予 Hela Hep2 细胞(0.80 $\pm$ 0.032) Gy/min 照射后,2~10 Gy 剂量组的细胞克隆率下降(60 $\pm$ 2)%,而空白对照组仅为(2 $\pm$ 2)%,并且在 5 Gy 剂量下,超过(64 $\pm$ 6)%的死亡

亡细胞中观察到细胞毒素的积聚。而后的实验用<sup>137</sup>Cs在剂量率0.045 Gy/h下对细胞进行照射,细胞仍然出现大范围的凋亡,而且大部分凋亡出现于受照后72~168 h,在相同吸收剂量下,细胞的凋亡呈现剂量率越低凋亡率越高的反剂量率现象<sup>[15]</sup>。在Szostak等<sup>[16]</sup>对前列腺癌、Winthrop等<sup>[17]</sup>对乳腺癌和Brantley等<sup>[18]</sup>对脉络膜黑色素瘤的低剂量率照射治疗研究中,也证明了大量肿瘤细胞凋亡的存在。

### 3 低剂量辐射的临床应用价值

#### 3.1 抑制肿瘤的生长及转移

局部大剂量照射是临床上治疗肿瘤的重要手段之一。国内外已有报道,放疗前给予低剂量照射,不仅使肿瘤比假照射组明显缩小,且与单纯放疗组也有显著差异。把60例食管癌患者分为联合组(低剂量照射脾脏配合放疗)和对照组(单纯放疗),结果:联合组治疗前后细胞免疫指标无显著性差异( $P>0.05$ );对照组治疗前后细胞免疫指标有显著性差异( $P<0.05$ ),天然杀伤细胞活性及CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值放疗后均较放疗前低,说明肿瘤患者单纯放疗后细胞免疫功能降低;治疗后联合组和对照组细胞免疫指标有显著性差异( $P<0.05$ )。结果表明,低剂量照射脾区能提高食管癌放疗患者的细胞免疫功能,抑制肿瘤的生长<sup>[19]</sup>。

在低剂量全身照射的不良反应方面,现有的报道均显示一般不会出现恶心、呕吐等急性反应,在累积剂量达到1.5~2.0 Gy时,近期主要反应为血小板和中性粒细胞减少,但无远期影响。

#### 3.2 对化疗疗效及不良反应的影响

化疗是治疗恶性肿瘤的常规方法之一,其主要不良反应为免疫及造血功能抑制,如何在增加化疗强度的同时减轻机体不良反应一直是肿瘤治疗中亟待解决的问题。Safwat等<sup>[20]</sup>对非霍奇金淋巴瘤患者行标准环磷酰胺、阿霉素、长春新碱、强地松(cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone, CHOP)化疗方案后再行辅助性低剂量全身照射的Ⅱ期临床研究,第一次将低剂量全身照射作为化疗后完全缓解的侵袭性非霍奇金淋巴瘤的辅助治疗:所有的病例先行标准CHOP方案后达到完全缓解,化疗后4~6周开始低剂量全身照射(2个疗程,4 d/疗程,0.2 Gy/次,中间休息2周,总剂量1.6 Gy),对照组只行标准CHOP方案,结果

显示对照组3年无病生存率[(35±9)%]和总的生存率[(69±9)%]明显低于低剂量照射辅助治疗组[(61±9)%和(87±6)%],不良反应较小并可以接受,说明低剂量辐射可以增强抵抗能力,改善化疗患者的不良反应,具有肿瘤治疗的潜在临床意义。

综上所述,低剂量辐射诱发适应性反应的机制虽尚未完全阐明,但人们已认识到低剂量辐射诱导的适应性反应是通过激活细胞中的信号传递系统,引起基因表达或关闭、一系列蛋白或酶的产生,从而对自由基进行消除,使损伤后的DNA得以修复,最终通过凋亡等机制清除带有损伤的细胞或对相继高剂量辐射产生抗性。低剂量辐射诱导的适应性反应能增强正常细胞对治疗剂量照射的抵抗性,即可能会减少放、化疗的不良反应,这点引起了许多学者的兴趣和关注。但是,低剂量辐射的适应性反应现象比较复杂,要真正将其用于临床治疗,还需深入研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Horsfall DJ, Tilley WD, Orell SR, et al. Relationship between ploidy and steroid hormone receptors in primary invasive breast cancer[J]. Br J Cancer, 1986, 53(1): 23-28.
- [2] Zhou PK, Rigaud O. Down-regulation of the human CDC16 gene after exposure to ionizing radiation: A possible role in the radioadaptive response[J]. Radiat Res, 2001, 155(1pt1): 43-49.
- [3] Sasaki MS, Ejima Y, Tachibana A, et al. DNA damage response pathway in radioadaptive response[J]. Mutat Res, 2002, 504(1-2): 101-118.
- [4] Pastwa E, Blasiak J. Non-homologous DNA end joining[J]. Acta Biochim Pol, 2003, 50(4): 891-908.
- [5] Liu SZ, Bai O. On mechanistic studies of immune responses following low dose ionizing radiation. International meeting on biological effects of low dose radiation[C]. Amsterdam: Elsevier Science, 2000: 129-135.
- [6] Stadler I, Evans R, Kolb B, et al. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm on peripheral blood lymphocytes[J]. Lasers Surg Med, 2000, 27(3): 255-261.
- [7] Chen SL, Cai L, Meng Qy, et al. Low dose whole-body irradiation (LD-WBI) changes protein expression of mouse thymocytes: effect of a LD-WBI-enhanced protein RIP10 on cell proliferation and spontaneous or radiation induced thymocyte apoptosis[J]. Toxicol Sci, 2000, 55(1): 97-106.
- [8] Feinendegen LE. Reactive oxygen species in cell responses to toxic agents[J]. Hum Exp Toxicol, 2002, 21(2): 85-90.
- [9] 赵建东, 安永恒, 周仁祥. 不同吸氧方式对小鼠小肠上皮放射效应的影响[J]. 齐鲁医学杂志, 2003, 18(3): 241-244.
- [10] Kojima S, Nakayama K, Ishida H. Low dose gamma-rays activate

- immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth[J]. J Radiat Res(Tokyo), 2004, 45(1): 33-39.
- [11] 刘树峥. 辐射免疫学研究的回顾与展望[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25(2): 193-200.
- [12] Safwat A, Aggerholm N, Roitt I, et al. Low-dose total body irradiation augments the therapeutic effect of interleukin-2 in a mouse model for metastatic malignant melanoma[J]. J Exp Ther Oncol, 2003, 3(4): 161-168.
- [13] Kroger LA, DeNardo GL, Gumerlock PH, et al. Apoptosis-related gene and protein expression in human lymphoma xenografts(Raji) after low dose rate radiation using  $^{67}\text{Cu}$ -21T-BAT-Lym-1 radioimmunotherapy[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2001, 16(3): 213-225.
- [14] Mirzaie-Joniani H, Eriksson D, Sheikholvaezin A, et al. Apoptosis induced by low-dose and low-dose-rate radiation[J]. Cancer, 2002, 94(4 Suppl): 1210-1214.
- [15] Mirzaie-Joniani H, Eriksson D, Johansson A, et al. Apoptosis in Hela Hep2 cells is induced by low-dose, low-dose-rate radiation [J]. Radiat Res, 2002, 158(5): 634-640.
- [16] Szostak MJ, Kaur P, Amin P, et al. Apoptosis and bcl-2 expression in prostate cancer: significance in clinical outcome after brachytherapy[J]. J Urol, 2001, 165(6pt1): 2126-2130.
- [17] Winthrop MD, DeNardo SJ, Muenzer JT, et al. p53-independent response of a human breast carcinoma xenograft to radioimmunotherapy[J]. Cancer, 1997, 80 (12 Suppl): 2529-2537.
- [18] Brantley MA Jr, Worley L, Harbour JW. Altered expression of Rb and p53 in uveal melanomas following plaque radiotherapy[J]. Am J Ophthalmol, 2002, 133(2): 242-248.
- [19] 李涛, 郎锦义, 卢轴, 等. 低剂量分次照射脾脏对食管癌放疗患者细胞免疫功能的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2003, 8(3): 173-175.
- [20] Safwat A, Bayoumi Y, Akkoush H, et al. A phase II trial of adjuvant low-dose total body irradiation in non-Hodgkin's lymphoma patients following standard CHOP[J]. Acta Oncol, 2004, 43(5): 480-485.

(收稿日期: 2008-01-10)

(上接第 100 页)

正常组织, 其乏氧显像能清楚显示鼻咽癌病灶的乏氧状态, 乏氧病灶定位清晰。

Ballinger 等<sup>[4]</sup>报道, 给予  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 后 1 h 就浓聚于肿瘤乏氧组织, 但随着显像时间的延长, 它在肿瘤乏氧组织的滞留量也逐渐增多, T/B 比值不断提高, 乏氧病灶的影像就更清晰, 同时也可提高病灶的检出率。本研究结果表明, 4 h 延迟相的 T/B 比值明显高于 1 h 早期相 ( $P < 0.001$ ), 且影像质量较 1 h 早期相的好, 病灶分辨率也较 1 h 早期相高, 能提高病灶检出率。这可能是  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 进入细胞后, 在细胞色素 P450 还原酶的作用下有效基团发生还原, 在具有正常氧水平的细胞中, 还原基团可重新被氧化为原有物质, 排出细胞外; 而在乏氧细胞中, 由于缺氧而不能发生再氧化, 还原产物与细胞内物质不可逆结合, 滞留在乏氧组织中。肿瘤处于相对缺氧状态,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 从肿瘤中清除的速度低于正常组织, 并随着时间的延长, 肿瘤乏氧组织的放射性摄取量逐渐增多, 而血池放射性却逐渐减少, 导致 T/B 比值逐渐增高。这提示, 临床上可以通过延迟显像提高肿瘤病灶检出率。

肿瘤乏氧状态与辐射敏感性密切相关。Suzuki 等<sup>[5]</sup>研究表明, 肿瘤细胞的乏氧程度与其对放疗的响应密切相关。本研究报道的 30 例接受放疗的鼻咽癌患者, 其放疗前  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 显像 1h 和 4 h

的 T/B 比值分别在放疗有效组与放疗无效组之间的差异均具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 说明  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 显像所显示的鼻咽癌细胞乏氧程度与放疗疗效有关,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 浓聚越高, 即 T/B 比值越高, 肿瘤乏氧程度越严重, 放疗疗效就越差, 这与乏氧细胞的生物特性一致, 提示  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 乏氧显像有助于预测肿瘤患者的放疗敏感性, 从而有助于制订个体化治疗方案, 改善放射治疗的疗效。

#### 参 考 文 献

- [1] Zheng YJ, Fan W, Zhao C, et al. Clinical application of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 hypoxia imaging in nasopharyngeal carcinoma[J]. Ai Zheng, 2006, 25(3): 378-381.
- [2] LI L, YU JM, XING LG, et al. Hypoxic imaging with  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 single photon emission computed tomography in advanced nonsmall cell lung cancer[J]. Chin Med J(Engl), 2006, 119 (17): 1477-1480.
- [3] Yutani K, Kusuoka H, Fukuchi K, et al. Applicability of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91, a putative hypoxic tracer to detection of tumor hypoxia [J]. J Nucl Med, 1999, 40(5): 854-861.
- [4] Ballinger JR. Imaging hypoxia in tumors[J]. Semin Nucl Med, 2001, 31(4): 321-329.
- [5] Suzuki T, Nakamura K, Kawase T, et al. Monitoring of response to radiation therapy for human tumor xenografts using  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HL91 (4,9-diaza-3,3,10,10-tetramethyldecane-2,11-dione dioxime) [J]. Ann Nucl Med, 2003, 17(2): 131-138.

(收稿日期: 2007-12-01)