

。 综述与编译。 。

低水平辐射兴奋效应研究进展

卫生部放射生物重点实验室 (长春, 130021) 刘树铮综述

摘要: 低水平辐射诱导的兴奋效应包括细胞和机体的适应性反应, 免疫功能增强和致癌作用减弱。本文概述了以上几方面研究的最新进展, 并着重分析了低水平辐射增强免疫的细胞和分子机制及其整体调节, 指出了这一领域科学研究的实用前景和理论意义。

关键词: 低水平辐射 兴奋效应

低水平辐射系指低剂量、低剂量率的电离辐射, 剂量在 0.2Gy 以内的低 LET 辐射或 0.05Gy 以内的高 LET 辐射被认为是低剂量辐射, 若同时剂量率在 0.05Gy/min 以内, 则称为低水平辐射。中、高剂量辐射对健康有害, 是公认的事实。但低水平辐射对健康的影响则是当前各国放射学界积极探索的热点课题, 涉及的要点是辐射致癌是否存在阈值。无阈假说认为, 任何微小剂量的辐射均将增加致癌的危险, 其基础是由高、中剂量辐射致癌的剂量效应关系外推, 而无直接的放射生物学或辐射流行病学依据。近 10 年来的研究对此假说提出了质疑, 特别是最近 5 年举行的国际会议和发表的资料增强了这种质疑的力度^[1-3]。

1 低水平辐射诱导适应性反应

低水平辐射可诱导细胞和机体的适应性反应。广义的适应性反应包括: ① 低剂量辐射预先作用减轻高剂量辐射所致 DNA 损伤、染色体畸变和突变; ② 低剂量辐射增强免疫功能; ③ 低剂量辐射降低或不增加致癌几率^[1]。狭义的适应性反应则指上述三者之第一项, 称为细胞遗传学适应性反应^[4]。现从广义的角度概述如下。

1.1 细胞遗传学适应性反应^[1,4,5]

低剂量辐射预先作用可减轻高剂量辐射所致染色体畸变、点突变、DNA 损伤。此类效

应可发生于单次或慢性照射, 离体或全身照射, 并与化学因子有交叉诱导作用。细胞周期各时相受低剂量照射均可诱导此反应, 体外细胞受低剂量照射诱导的适应一般经 3 个细胞周期后消失, 此时若再次给予低剂量照射, 适应性反应可以重现。而且, 低剂量慢性照射小鼠胚胎可对成熟小鼠诱导细胞遗传学适应性反应^[6]。低剂量辐射诱导细胞遗传学适应性反应的机制与 DNA 修复酶类 (ADPRT、DNA 聚合酶等) 激活和保护性蛋白分子的诱导有关。

1.2 免疫增强^[4]

小鼠受低剂量全身照射可增强机体的免疫反应表现为脾脏 PFC (空斑形成细胞) 反应增强, NK 细胞、K 细胞、CTL (细胞毒 T 淋巴细胞) 和巨噬细胞杀伤肿瘤细胞和异物的细胞活性升高。T 细胞和 APC (抗原递呈细胞) 的活化是免疫反应增强的重要环节。人体观察亦获类似资料。广东天然高本底辐射地区人群外周血 T 淋巴细胞反应性上调, 淋巴细胞 UDS (DNA 期外合成) 增强, IL (白细胞介素) -2 分泌活性上升。日本原爆幸存者在 15 岁以上时受照 (0.01~1Gy 及 >1Gy), 40 多年后受检发现其 NK 细胞对 K562 瘤细胞的杀伤作用显著高于同龄对照^[7]。低剂量辐射增强免疫的机制是本文讨论的重点。

1.3 癌症发生率降低

迄今已积累了大量人群流行病学调查资

料,包括天然高本底辐射地区居民接受低水平辐射从业人员(特别是核工业职工)和日本原爆幸存者(低剂量组),均未发现低剂量辐射使癌症发生率增高,而有的资料则记载癌症发生率降低^[1,4,8,9]。广东阳江天然高本底辐射地区的照射剂量约为对照地区的3倍,25年来观察高本底和对照组各累积约1百万人年的资料表明,癌症总SMR(标化死亡率)无显著差别,而最近报告阳江天然高本底辐射地区人群中40~70岁(癌症高发年龄段)的居民癌症死亡率显著低于对照^[8]。美国核造船厂工人终生职业照射剂量小于5mSv者白血病SMR为0.42(95%可信限0.11~1.07),英、加等国核工业从业人员的调查均未发现低水平辐射致癌危险增高。汇集美、加、英三国核工业受照人员的资料,总人数234832人累积7229576人年,癌症死亡率低于对照^[10]。综合分析各种接受低水平辐射的从业人员的调查资料,所得结论是:0.1或0.2Gy以内的剂量至少不致增加致癌的危险^[4]。

2 低水平辐射增强免疫的机制

低剂量辐射增强免疫的主要表现已于1.2节简述。其发生机制涉及免疫细胞及其分泌的细胞因子间的相互作用、细胞反应的分子基础和细胞反应的整体调节,分述如下。

2.1 细胞机制

2.1.1 低剂量增强免疫的细胞学基础

由于T细胞激活在低剂量辐射增强免疫的表现中占有突出地位,曾对T细胞中枢免疫器官胸腺对全身低剂量照射的反应进行了比较系统的研究^[4]。发现胸腺细胞增多、增殖活性增高、基础性及丝裂原刺激后的DNA合成增加,胸腺细胞周期分析揭示S相细胞百分率增高。表型分析表明,最原始的CD4/CD8双阴性细胞比例上升,对辐射最敏感的CD4/CD8双阳性细胞未减少,而CD4单阳性细胞增多,提示胸腺细胞更新和成熟过程加强。巨噬细胞分泌IL-1增多,后者又以自分泌的方式对自身发生刺激作用,并向胸腺

细胞提供成熟信号,胸腺细胞分泌CSF(集落刺激因子)的水平升高,CSF作用于巨噬细胞促进其分泌活动,形成正反馈环路。由于上述变化,胸腺向外周输送成熟T细胞的能力上调,在抗原或丝裂原刺激下,HTL(辅助性T淋巴细胞)分泌IL-2和IFN(干扰素) γ 以及表达IL-2R增多,导致其克隆扩增。继之,在其与巨噬细胞、B细胞的协同作用下促使PFC反应增强,抗体分泌增多;在其与巨噬细胞、Pre-CTL(细胞毒T淋巴细胞前体)的协同作用下诱导CTL功能增强,IL-2与IFN γ 分泌增多先后增强NK细胞对肿瘤的杀伤作用。

2.1.2 对两种假说的评价

曾对低剂量辐射增强免疫的机制提出过一些假说,流传较广并被引用较多的有二。

一是低剂量辐射损伤放射敏感性较高的 T_S 亚组而使 T_H/T_S 比值上升,导致免疫反应增强^[11]。但近来的动物实验和人体观察资料均未能证实低剂量辐射(0.2Gy以内)损伤 T_S 使其数量减少或功能降低而致 T_H 的调节活性增高。小鼠胸腺L3T4⁺/Lyt2⁺细胞比值在1Gy以内的剂量全身照射后保持不变,只有当剂量达2Gy或更高时其比值才显著增高。天然高本底辐射地区人群外周血淋巴细胞中 T_H 亚组的百分数未曾减少。正常人外周血离体照射50~100mGy后 T_S 数于培养72小时内保持不变。而且LDR(低剂量率)使CD4单阳性细胞的辅助功能和CD8单阳性细胞的抑制功能均增高^[12]。因此,0.2Gy以内的低剂量辐射所致免疫增强不能用 T_H/T_S 比值增高来解释^[4]。

另一假说以放射敏感的T细胞前体“利他性细胞自杀”继发地诱导较成熟T细胞增殖加快作为低剂量辐射增强免疫的机制^[18]。其中心论点是低剂量辐射增加胸腺内的原始细胞的凋亡。前面曾指出胸腺内CD4/CD8双阴性细胞(包括干细胞、原胸腺细胞和未成熟胸腺细胞)在低剂量全身照射后未曾减少,却有所增加。用流式细胞术检测凋亡小体,以荧光分析检测DNA裂解率,发现低剂量全

身照射后小鼠胸腺细胞凋亡不但未增多而甚至减少,只有当剂量超过 0.5Gy时胸腺细胞凋亡才出现剂量依赖性增加,在 0.5Gy以下和以上两段剂量范围内胸腺细胞凋亡的反应特点不同,因而呈现 J型剂量效应曲线^[4]。可见,根据现有资料尚无直接证据支持这一假说。

上述两种假说均基于低剂量辐射损伤和减少免疫细胞中放射敏感性的亚组而使另一些细胞的功能表达上调的推论,应当指出,以往构建不同细胞群体的辐射剂量效应曲线用以分析其放射敏感性时,涉及的剂量均在 0.25或 0.5Gy以上,不能完全依此判断低剂量(<0.2Gy)辐射引起的细胞效应。在本节上文分析低剂量辐射增强免疫的细胞学基础时,强调了低剂量辐射对 T细胞和辅佐细胞的刺激作用。下文将从分子机制和整体调节两方面的资料进一步强化上述论点。

2.2 分子机制

低剂量辐射增强免疫功能的分子机制已初步阐明。根据现有实验资料可以认为,免疫细胞信号传递的易化可能占有重要地位。

2.2.1 TCR/CD3表达上调

低剂量全身照射后,胸腺细胞表面 TCR分子和 CD3分子的表达水平平行地增高,而且表达高密度 TCR和高密度 CD3的细胞数平行地增多^[3,4]。已知 TCR/CD3复合体是 T细胞接受外界刺激的关键受体。TCR的基因重排和表达,如同 B细胞 sIgM 基因重排和表达一样,是 T细胞接受无数种抗原特异刺激的分子基础。TCR/CD3的表达上调一方面是 T细胞成熟加快的标志,另一方面是 T细胞对抗原和丝裂原反应增强、向胞内传递信号加快的基础。

2.2.2 $[Ca^{2+}]_i$ 动员和 PKC 激活

低剂量全身照射后胸腺和脾脏 CD4单阳性和 CD8单阳性两个 T细胞亚组的 $[Ca^{2+}]_i$ 均升高,不同的是胸腺细胞在 ConA 或抗 CD3单抗作用前 $[Ca^{2+}]_i$ 保持于假照射对照水平,而在受到刺激后迅即上升,超过对照,而脾脏 T细胞两个亚组的 $[Ca^{2+}]_i$ 在

ConA 刺激前即明显高于假照射对照,刺激后不进一步上升^[3,4]。照射后 4~24小时内胸腺细胞由抗 CD3引起的 $[Ca^{2+}]_i$ 动员反应的时程与细胞表面 TCR/CD3表达上调的时程完全一致,同时胸腺细胞 K离子通道开放概率对 ConA 反应的变化时程又与 $[Ca^{2+}]_i$ 动员和 TCR/CD3表达上调的时程相平行^[14]。这就说明细胞表面离子通道的变化和细胞内信号分子 Ca^{2+} 的变化对 TCR/CD3表达上调的相依关系。

低剂量全身照射后 24小时胸腺细胞 PK α 和 PK β 的表达明显增高(免疫荧光流式细胞术检测),此时脾脏 T细胞 PKC总活性(生化法检测)亦升至峰值^[3,4]。 $[Ca^{2+}]_i$ 动员和 PKC激活是 T细胞内信号传递的两个重要环节,是导致即刻早期基因表达增强的重要因素。

2.2.3 c-fos和 c-jun转录水平上升

用点杂交法证明低剂量全身照射后小鼠胸腺和脾匀浆内 c-fos和 c-jun的 mRNA水平增高。进一步用原位杂交和免疫组化法分别分析不同免疫器官内 c-fos mRNA和 c-Fos蛋白表达的细胞分布,发现低剂量照射后主要在辅佐细胞(巨噬细胞、树状细胞等)和大淋巴细胞中 c-fos mRNA表达上调,在胸腺和脾脏中分别于 1及 2小时达高峰,12小时回复至对照水平,c-Fos蛋白的表达于 2小时开始上升,24小时达高峰,72小时恢复正常^[3,15]。

2.2.4 Bcl-2表达上调和 Bcl-2/BAX比值升高

紧接着 c-Fos蛋白表达上升之后,Bcl-2的表达上调,于 12~24小时达峰值,而且在低剂量全身照射后 24小时 Bcl-2/BAX的比值高于对照。已知 Bcl-2在各种基因毒性因子活化的细胞凋亡信号通路中具有“制动器”的作用,而 BAX蛋白同源二聚体则促进细胞凋亡,当 Bcl-2与 BAX形成异源二聚体时则消除 BAX的促凋亡效应。因此,上述实验结果为低剂量辐射减少胸腺细胞凋亡提供了分子机制^[4,11,15]。

2.2.5 p53表达下调

电离辐射诱导细胞凋亡的分子过程中,野生型(wt)p53表达增多是关键环节,用2Gy全身照射后小鼠胸腺细胞wtp53蛋白显著增多。已知2Gy可促进胸腺细胞凋亡,表现为DNA裂解率上升和凋亡小体增多^[1]。一般认为,p53是“基因组守护者”(genomic guardian),近来,又有人称之为“细胞周期看守者”(cell cycle watchman)^[16],因为p53抑制G₁→S过渡,使受损的DNA在复制之前有修复的机会或促进受损细胞的凋亡,使基因突变不致传至子代细胞。低剂量全身照射后,胸腺细胞wtp53蛋白的表达不但未上升,反而下调至对照水平的一半左右^[15]。这一实验从另一角度对低剂量辐射减少胸腺细胞凋亡提供了分子生物学依据。

2.2.6 转录因子活性增强

转录因子与DNA分子中某些碱基序列结合是启动基因转录的重要机制。有关电离辐射,特别是低剂量辐射对转录因子结合活性影响的研究资料很少^[17]。Woloschak等曾经指出,高剂量辐射诱导的基因可能是细胞凋亡通路的一部分,而低剂量诱导的基因则可能对细胞存活有重要影响^[18]。我们用凝胶迁移率检测法(gel mobility shift assay)观察了低剂量全身照射后小鼠免疫器官蛋白提取物中几种转录因子(NFκB CREB AP-1 Oct-1和 GREB)结合活性的变化,发现照射后4小时NFκB和CREB的结合活性明显增高,在胸腺提取物中分别为对照的6倍和4.3倍,在脾脏提取物中分别为对照的7倍和5倍,AP-1的结合活性稍有增高(1倍左右),其它受检的转录因子结合活性未见变化。

以上列举的资料表明,低剂量全身照射后,由T细胞表面受体分子表达胞浆和核内的信号传递诸多环节发生了改变,其最终效应是促进T细胞活化与增殖。由TCR/CD3表达上调启动的链锁反应(cascade)可能只是信号传递通路的一个方面,其它通路的活化可能同时或先后发挥作用。这方面的

细节尚待研究。

2.3 整体调节

免疫系统受植物神经和内分泌激素的调节,其中特别以下丘脑-垂体-肾上腺皮质(HPA)轴对免疫功能的影响最为显著,而且HPA轴与免疫系统之间存在双向调节。电离辐射对HPA轴的影响因剂量而不同,高剂量全身照射使其功能亢进,而低剂量全身照射则使其功能下调,表现为血清ACTH和糖皮质激素水平下降^[19]。HPA轴功能下调使正常时免疫系统受HPA轴张力抑制的程度减轻,成为低剂量全身照射后免疫功能增强的促进因素。我们发现,低剂量全身照射后小鼠下丘脑met-Enk和leu-Enk含量降低,原位杂交揭示下丘脑POMC的mRNA转录水平下降,提示低剂量辐射所致ACTH和糖皮质激素血清含量的减少来源于辐射对神经系统的作用。有趣的是,当下丘脑POMC转录水平降低时,淋巴器官POMC转录水平上升,在照射后12小时内二者呈反向变化^[15]。上述发现一方面揭示低剂量全身照射后血清ACTH水平下调的分子基础,另一方面表明HPA轴功能下调伴有免疫系统功能增强。免疫器官的细胞成分(巨噬细胞和T、B淋巴细胞)有ACTH受体,低剂量全身照射后这些细胞的POMC转录水平上升也可能是对血液循环中ACTH水平降低的正反馈反应。

3 结语

低水平辐射诱导机体和细胞适应性反应的研究,不仅对放射生物学的发展具有理论意义,而且对辐射防护和医学临床均有实用价值。本文起始部分指出了辐射致癌是否存在阈值的问题。低水平辐射诱导适应性反应与此有着密切的联系。低剂量辐射的预先作用可以降低高剂量辐射或高浓度化学因子的致畸和致突变效应,低剂量辐射(或化学因子)甚至可减轻基础条件下存在的DNA损伤。低剂量辐射使免疫功能增强,提高机体对恶性细胞的免疫监视作用。目前认为,癌症起源于单细胞基因变化,具有多阶段发展的特

征。曾依据辐射诱导离体细胞恶性转化的实验资料,提出致癌的剂量效应关系适合于线性无阈假说。但最近报道,C3H10T1/2细胞在低剂量照射后其恶性转化率低于其自发转化水平^[20]。而且,由基因突变经癌前细胞克隆形成到临床肿瘤的出现,要历经复杂的分子和细胞变化,并受整体调节的制约,其中尚有许多细节未被阐明。免疫监视作用的增强,对癌症的发展可能起抑制作用。已知低剂量全身照射可抑制实验性肿瘤的生长和转移,而且低剂量辐射的预先作用可抑制高剂量辐射的致癌效应^[21]。初步临床观察证实,低剂量全身或半身照射可增强淋巴瘤的化疗疗效。这种抑瘤效应的重要机制之一已被证明与免疫功能增强有关。这一领域的研究为辐射防护、临床治疗及其理论探讨开辟了新途径。

参 考 文 献

- 1 UN SC EAR Report: Annex B, Adaptive responses to radiation in cells and organisms. United Nations, New York, 1994 302
- 2 Sugahara T et al. (Eds). Low dose irradiation and biological defense mechanisms. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1992 3
- 3 Liu SZ (Guest Editor). Int J Occup Med Toxicol, 1994 3(2): 99

- 4 刘树铮. 低水平辐射兴奋效应. 北京, 科学出版社, 1996 212
- 5 刘树铮. 中华放射医学与防护杂志, 1995; 15: 293
- 6 孙晓玲等. 中华放射医学与防护杂志, 1995; 15 302
- 7 周藕良等. 中华放射医学与防护杂志, 1991; 11 20
- 8 Wei LX et al. Chin Med J, 1994; 107 541
- 9 Wei LX et al. J Radiat Res, 1990; 31: 119
- 10 Luckey TD. Int J Occup Med Toxicol, 1994; 3 175
- 11 Anderson RE et al. Contemp Top Immunobiol, 1980; 11 245
- 12 杜吉泽等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1994; 12 247
- 13 Kondo S. Int J Radiat Biol, 1988; 53 95
- 14 孙成文等. 中华放射医学与防护杂志, 1996; 16 154
- 15 Liu SZ et al. JNBUMS, 1996; 22 551
- 16 Jacks T et al. Nature, 1996; 381: 643
- 17 Prasad AV et al. Radiat Res, 1994; 138 367
- 18 Leher S (Organizer). Gene induction and adaptive response in irradiated cells: Mechanisms and clinical implications. Montreal, Canada, June 3-4, 1994
- 19 刘树铮等. 中华放射医学与防护杂志, 1994; 14 11
- 20 Azzam EI et al. Radiat Res, 1996; 146 369
- 21 李修义等. 中国辐射卫生, 1996; 5 21

(收稿日期: 1996-09-27)

真核基因损伤修复和基因表达的辐射兴奋效应

北京放射医学研究所 (北京, 100850) 周平坤综述 夏寿莹审校

摘 要: 国内外实验室围绕核酸分子水平, 在低剂量电离辐射兴奋效应方面的研究进展, 包括基因突变、DNA 损伤修复及辐射诱导基因表达等方面的研究工作, 是低剂量辐射兴奋效应分子机制研究中的重要内容。

关键词: 低剂量辐射 兴奋效应 基因突变 DNA 损伤修复 基因表达

1980年美国学者 T. D. Luckey 出版了“Hormesis with Ionizing Radiation”一书^[1], 该书通过综合分析大量的文献资料, 简述低剂量辐射兴奋效应的存在, 从而对“任何辐射都有害”的传统观念提出了新的挑战, 并指出

离开环境本底辐射也不利于生命活动, 从另一方面表明了生命体与生存环境间的和谐和依存关系。自 70 年代末开始, 我国学者刘树铮教授组织了对天然高本底地区人群的调查, 发现该地区人群外周血 T 细胞免疫反应