

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

性增强,此后开展了低剂量辐射免疫学兴奋效应的系统研究^[2]。有关低剂量辐射刺激效应的实验研究报道始于 80年代中期,美国加州大学辐射和环境健康实验室的 Wolff等发现,人外周血淋巴细胞预先掺入低剂量的³H标记的核苷酸,能将随后 1.5Gy X射线照射诱发的染色体畸变率减少近一半,将这种现象称之为低剂量辐射诱导的“适应性反应”(adaptive response)^[3]。本文着重介绍低剂量电离辐射诱导细胞对基因损伤的适应性反应及分子机制

1 诱导细胞对基因突变的适应性反应

DNA分子是生命体的遗传物质基础,也是辐射损伤的重要靶分子。细胞受到照射,DNA分子将产生多种类型的损伤,一方面细胞通过多种机制对损伤进行修复,恢复细胞DNA正常的结构、功能和遗传稳定性;另一方面如果受损DNA未得到及时有效修复,或发生错误修复,将引起一系列的细胞和分子学后果,其中之一就是基因突变。目前研究基因突变的最成熟的检测位点是 hprt(次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶)基因,位于人X染色体,表达产物参与细胞嘌呤核苷酸合成的补救途径,是细胞非必需基因。我们以小鼠乳癌细胞 SR-1作为研究对象,预先给予 1cGy 单次或多次照射(1次/d,累积 10cGy),6~48小时后接受 3Gy 损伤剂量照射,结果表明低剂量预照射细胞的 hprt基因突变频率比单独 3Gy 照射细胞减少 50%左右,显示出低剂量预刺激后细胞对基因突变的适应性反应,而且多次照射细胞所表现的适应性反应比单次照射持续的时间更长^[4]。不同学者还分别在正常人外周血淋巴细胞^[5]、淋巴母细胞^[6]和我们在 HL-60细胞^[7]中观察到类似的结果。用低剂量³H-TdR预处理细胞,同样能降低随后高剂量 X射线或³H-TdR诱发的 hprt基因突变率^[8]。

低剂量辐射诱发细胞适应性反应,不只

局限于对电离辐射的损伤,而且存在交叉适应现象,还表现在对其它DNA损伤因子所致细胞的损伤反应。作为抗肿瘤药物的博来霉素,主要造成细胞DNA链断裂损伤,这一点类似于电离辐射,我们的研究表明,当细胞受到低剂量电离辐射预刺激后,也能减少博来霉素诱发的 hprt基因突变,显示出交叉适应性反应^[9]。

电离辐射引发细胞 hprt基因突变类型包括点突变、基因部分或全部缺失和重排等。我们曾用 Southern印迹杂交分析人 HL-60细胞 hprt基因突变谱,结果显示低剂量预刺激后,使随后 2Gy 诱发 HL-60细胞的 hprt基因缺失和重排发生率降低 40%以上^[7]。

Rigaud等用分子杂交和 PCR(聚合酶链式反应)方法,分析受低剂量 X射线刺激的人淋巴母细胞对基因突变适应性反应,显示了同样的结果^[6]。他们还进一步通过序列分析,确认低剂量辐射预刺激并不改变基因的点突变率^[10]。

以上研究从不同细胞类型和损伤因子,确认低剂量辐射刺激对维护细胞基因结构稳定性的兴奋效应。

2 对细胞DNA修复机制的兴奋效应

基因突变是细胞DNA受损后的一种表现形式,其发生与细胞DNA代谢活动必然联系在一起。至于低剂量辐射刺激是通过什么机制引发细胞对基因突变及遗传损伤适应性反应,一开始人们就提出两个方面设想,即减少原初DNA损伤量和增强细胞DNA修复能力。从前人们往往会联想到细胞内的自由基清除剂,因为自由基的产生在电离辐射所致DNA损伤中发挥重要作用,但有实验表明,低剂量照射并不增加细胞内的自由基清除剂SOD(超氧化物歧化酶)的表达量和活力^[11]。Wolff早期的研究论文中(1984)就提到细胞染色体修复适应性反应的观点,但尚无直接证据。此后,通过观察低剂量辐射刺

激后细胞对一些 DNA 损伤剂交叉适应性反应的结果,也只是推论有 DNA 修复机制的诱导。人们发现,细胞核内参与 DNA 修复反应过程的 ADP 核糖基转移酶 (ADPRT) 受到其特异抑制剂 3-氨基苯甲酰胺 (3-AB) 的抑制后,细胞就不再发生低剂量辐射的刺激效应。我们通过检测 ADPRT 特异底物 NAD (辅酶 I) 的掺入反应,表明了低剂量辐射对 ADPRT 的刺激效应^[12],另外还观察到一株 DNA 双链断裂修复缺陷细胞,不表现出低剂量辐射诱导基因突变适应性反应^[13]。利用脉冲电场凝胶电泳这一灵敏的细胞 DNA 双链断裂检测技术,观察到 SR-1 细胞受低剂量辐射预刺激后,对 3Gy 照射产生的 DNA 双链断裂的重接修复率显著提高^[14],直接表明低剂量辐射对细胞 DNA 修复机制的兴奋效应。日本学者用单细胞电泳术(彗星法)检测 DNA 链断裂损伤的修复,也发现低剂量辐射对细胞 DNA 双链断裂修复的兴奋效应,和我们的结果相一致,并显示低剂量预刺激对细胞 DNA 的原初损伤量没有明显的影响^[15]。

最近有一篇报道,除发现低剂量辐射对体外周血淋巴细胞 DNA 修复的兴奋效应外,还发现有的个体的原初 DNA 损伤量减少^[16]。鉴于电离辐射对细胞 DNA 产生多种类型的损伤,Wolff 等将限制性内切酶导入细胞中,使其产生低水平的单纯 DNA 双链断裂,作为刺激因子,结果细胞受此处理后,使 1.5Gy X 射线照射诱发的染色体畸变率减少 40% 以上^[11],这也深刻地说明了 DNA 双链断裂损伤修复机制在低剂量辐射兴奋效应中的作用。

3 诱导基因表达

生命活动主要受遗传信息基因表达产物所控制,多方面的资料表明,电离辐射可改变某些基因的转录水平。以往研究多为高剂量照射诱导,包括以下几方面^[17-19]:① 通过检

测某些已知基因的表达水平,发现细胞受到一定剂量照射后,某些基因的转录水平明显提高,或由原来不表达转向表达。如细胞“早期反应基因”EGR-1 c-jun c-fos c-myc Ha-ras,这类基因一般在细胞受照后很短时间内就开始被诱导表达,在此之前无需其它因子的合成,其产物基本上都是转录调节因子(如 AP-1),可特异地结合到某些 DNA 特殊序列上,反式调节有关基因的表达,参与细胞辐射反应过程。例如,电离辐射通过反应氧介质 (ROIs) 作用于 EGR-1 基因的靶序列 CC(A/T) 6GG,激活 EGR-1 基因转录产生 EGR-1 蛋白,以其锌指结构与 DNA 中 CGCCCC-CGC 序列结合,级联激活相应基因转录,这些被激活的基因就可能是参与细胞辐射反应过程中分子调控的一部分。辐射诱导的基因表达还包括细胞周期调控基因 cyclinA cyclinD1 p53 PCNA GADD45 DNA 修复基因 RAD54 RAD51,细胞因子 IL-1 IL-6 EGF TNF- α 等;② Boothman 等近几年用差异杂交法,分离出几个 X 射线诱导转录因子 (XIPs),其功能正在研究之中;③ 分析诱导表达的蛋白产物,如利用双向电泳或 DNA 亲和层析,观察到照射后细胞产生新的蛋白分子。

就目前而言,已经明确的与细胞辐射反应过程有关的基因及其作用机制,还只是很少一部分,而且所研究的辐射诱导基因大多是一些已知基因,要想全面揭示低剂量辐射兴奋效应的分子调控机制,并找出可被人类利用的有效的辐射防护生物因子,就必须采取更准确和便捷的技术路线,分离更多的新型辐射诱导基因,并对其功能进行系统的研究。Woloschak 等利用差异显示 PCR 技术,试图分离克隆低剂量辐射诱导基因^[20]。Robson 等通过扣除杂交法,从人上皮细胞 L132 中分离到一个低剂量辐射诱导的 cDNA 克隆^[21]。最近,我们用一种快速 mRNA 差异显示技术,观察到 5cGy 低剂量照射人胚肺细

胞与不照射细胞间存在 mRNA 的差异表达,照射细胞中出现了新的 mRNA 分子,也有对照细胞中的转录子在照射细胞中消失,这些可能就是辐射正调控或负调控基因的表达产物。为了明确这些辐射诱导基因在低剂量辐射兴奋效应过程中的调控机制,正在进行差异表达基因的克隆研究工作。

4 结语

随着核能和平利用日益增加,核电站已给人类带来了巨大实惠,人们对低剂量辐射生物效应也更为关切。低剂量辐射兴奋效应的研究已由发现此现象的存在,正逐渐转向全面揭示其分子调控机制阶段。上述介绍基本反映了围绕核酸分子,开展低剂量辐射兴奋效应的研究进展,这方面的研究也推动了辐射生物学效应和防护研究的发展,相信在不久的将来会取得更大的突破。

参 考 文 献

- 1 Luckey TD. Hormesis with ionising radiation, Boca Raten, FL. CRC Press, 1980.
- 2 刘树铮. 低水平辐射兴奋效应. 北京, 科学出版社, 1996 212
- 3 Olivieri G et al. Science, 1984; 223 594
- 4 周平坤等. 辐射研究与辐射工艺学报, 1993; 11(4): 237
- 5 Kelsey KT et al. Mutat Res, 1991; 263 197
- 6 Rigaud O et al. Cancer Res, 1994; 54 1924s
- 7 Zhou PK et al. Radiat Environ Biophys, 1994;

- 33 211
- 8 Sandson BJS and Morly AA. Mutat Res, 1986; 164 347
- 9 Zhou PK et al. Mutagenesis, 1993; 8(2): 109
- 10 Rigaud O et al. Radiat Res, 1995; 144 181
- 11 Wolff S. Report to the coordinated research programme on exploration of molecular mechanisms of the stimulatory effect of low-dose and low-dose-rate radiation, IAEA headquarter, Vienna, Nov, 1994
- 12 周平坤等. 军事医学科学院院刊, 1994; 18(1): 18
- 13 周平坤等. 中华放射医学与防护杂志, 1994; 14(1): 22
- 14 Zhou PK et al. In low dose irradiation and biological dedense mechanisms, Ed T Sugahara, L. Sagan and T Aoyama, 1992; 271
- 15 Ikushima T. Report to the coordinated research programme on exploration of molecular mechanisms of the stimulatory effect of low-dose and low-dose-rate radiation, IAEA headquarter, Vienna, Nov, 1994
- 16 Wojcik A et al. Mutagenesis, 1996; 11(3): 291
- 17 Lehnert S. Radiat Res, 1995; 141 108
- 18 Datta R et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90 2419
- 19 陈沙力等. 中华放射医学与防护杂志, 1996; 16(3): 161
- 20 Woloschak GE. Report to the coordinated research programme on exploration of molecular mechanisms of the stimulatory effect of low-dose and low-dose-rate radiation, IAEA headquarter, Vienna, Nov, 1994
- 21 Robson T et al. Radiat Res, 1995; 141 112

(收稿日期: (1996-08-15))

请您及时订阅 1997年度《国外医学·放射医学核医学分册》

1997年度的本刊订阅工作已全面展开,现将有关事宜向您作一介绍:

1. 本刊 1997年有何重大举措? 答: 1997年,正值《国外医学·放射医学核医学分册》创刊 20周年暨出版 100期,为此,本刊决定将明年的第 5期与第 6期合并出版,作为纪念专辑;与此同时,举办第二届优秀译作者评选活动与读者有奖竞答活动,欢迎您积极参与。另一方面,本刊在保持现有特色的情况下,树立“精品”意识,努力以更新的风格和品位出现在您的面前。

2. 到何处订阅贵刊? 答: 本刊交邮局全国公开发

行,邮局 1997年报刊征订工作已全面展开,您现在就可以到所在地邮局订阅。请您记住本刊的邮发代号: 6-102,这样,可方便您的订阅手续。

3. 全年订价多少? 答: 本刊 1997年每期单价为 3.50元,全年订价为 21.00元。

3. 贵刊办理邮购吗? 答: 如果您因种种原因未在本邮局订阅,可直接与本刊联系。来函请寄: 天津市南开区科研东路 9号,本刊编辑部冯玉萍同志收,邮编: 300192

本刊编辑部