

- 610-618
 17 Langois RG et al. Proc Acad Sci USA, 1989; 86: 670-674
 18 Kyoizumi S et al. Mutat Res, 1989; 241: 215-222
 19 Turner D R et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1988; 85: 3189-3192
 (收稿日期: 1996-06-21)

重离子辐射的细胞突变效应

北京放射医学研究所(北京, 100850) 袁 雄综述 叶常青审校

摘要:重离子治癌作为一种新的疗法应用越来越广泛,同时,随着宇航事业的发展,有关重离子辐射的生物效应研究日益增多。本文对重离子辐射所致细胞的突变效应与其各种物理参数如粒子注量、突变截面的关系及重离子辐射致突变的相对生物效应和特点等作了扼要介绍。

关键词:重离子辐射 突变 LET

随着人类向外层空间的拓展,高 LET (传能线密度)粒子的生物效应正受到越来越多的重视。在空间,重离子在整个带电粒子场中约占 1%,但由于其 LET 高,能量沉积密集,局部剂量也大。对重离子辐射的生物效应,人们关心的是遗传变异、癌的发生等远后效应。突变在其中起着重要作用^[1]。

1 突变的参数

1.1 突变与粒子注量

现有的大量实验结果均认为,重离子辐射导致的突变与粒子注量成线性正相关关系。Kronenberg^[2]等用 LET 值为 95~97keV μm 的氩离子 (Ar) 和 LET 值为 61keV μm 的硅离子分别照射人的成淋巴细胞 TK6,观察 tk 位点和 hprt 位点的突变情况,发现两位点突变率随粒子注量增大而上升。以 hprt 突变率与粒子剂量作图时,硅离子每单位剂量的诱变率要高于氩离子,而与粒子注量作图时,两种离子的诱变率相差无几。而 tk 位点突变率无论与粒子剂量或注量作图,硅离子的诱变率均高于氩离子。这反映引起每一位点突变的机制不同。

Kranert 等^[3]用原子序数 (Z) ≤ 92 , 300keV $\mu\text{m} \leq \text{LET} \leq 18\ 000\text{keV} \mu\text{m}$ 的多种

离子照射 V 79 中国仓鼠纤维细胞,检测 hprt 位点突变,发现每种离子的诱变率均与粒子注量成线性正相关关系。Stoll 等^[4]用镍、金、铅等离子的实验也获得了一致的结果,但效率与原子序数成反比,铀和铅的效应极低。

1.2 突变截面

突变截面是指单位注量引起突变的概率,以 σ_m 表示,其量纲为面积,通常取 μm^2 。重离子辐射造成的突变截面可以分两种情况^[3]。对 He、Be、B 等较轻离子,每种离子的 σ_m 与 LET 的关系可以用一条曲线表示, σ_m 随 LET 一直上升到 200keV μm 左右,当 LET 继续增大时, σ_m 下降,形成特有的 σ 钩。但每种离子下降斜率不同,有各自的曲线,这与离子能量、有效电荷有关。Stoll 等^[5]用氟离子和氖离子 (LET 18~754keV μm) 照射 V 79 细胞,检测 hprt 位点突变后认为, σ_m 随 LET 上升至 200keV μm (He) 或 300keV / μm (O) 左右时,两种离子形成各自的下降曲线,峰谷值之间相差可大于一个数量级。Tsuboi 等^[6]用铁、氩、镧等三种离子照射人纤维细胞 (LET 150~920keV μm) 的结果认为, σ_m 最大值在 LET 为 200keV μm 左右,而 Stoll 等^[4]用镍、金、铅三种离子的结果却发现,这三种离子导致的 σ_m 随 LET 的变化

不大,峰谷值之间小于一个数量级,这提示在较重离子引起的 σ_m 中,离子能量和周围电子起着关键作用,较重离子引起周围电子密度增高,导致了大量突变,抵消了因LET下降引起 σ_m 下降的效应。较轻离子由于周围电子密度低,不足以影响诱变率,因而 σ_m 随LET变化较大。

σ_m 值与细胞种类有关。Kranert^[3]、Stoll等^[5]结果均显示人细胞的 σ_m 较大。Tsuboi等^[6]认为这可能与人的胞核截面较大有关(V79细胞核截面为 $110\mu\text{m}^2$,人细胞核截面为 $200\mu\text{m}^2$)。但在Kronenberg等^[2]的实验中,TK6细胞hprt和tk位点突变的 σ_m 与V79细胞的相似,或许TK6细胞是一种特殊现象,因为这种细胞对辐射有异乎寻常的敏感。迄今的研究尚未揭示 σ_m 和任何一个离子参数的依赖关系。至少在LET $\geq 200\text{keV}\mu\text{m}$ 时,每种离子均有独自的曲线^[4]。

实验结果都显示 σ_m 值远小于胞核的几何截面提示必需是多离子击中才能引起突变效应。但也有实验认为,经多离子击中后细胞存活率极低,因而存活的突变细胞是单离子击中的效应^[7]。

1.3 RBE

Thack^[8]和Cox等^[9]报道氧(20~90keV μm)、硼(110~200keV μm)、氮(470keV μm)诱导人和鼠细胞hprt位点突变的RBE(相对生物效应)值作为LET的函数随LET上升至200keV μm 时为最大值。人纤维细胞RBE最大值出现在90~200keV μm LET范围内,在6.1~7.1之间。Tsuboi^[6]等实验结果显示,在LET为150~920keV μm 时,RBE随LET增加而一直成下降趋势,其峰值见于LET为150keV μm 时,RBE约为5.74。

Kronenberg等^[2]报道了氦和硅离子诱导人TK6细胞hprt和tk位点突变的RBE值,结果认为硅离子引起的RBE最大值出现在LET为61keV μm 而氦离子由于数值有

限,未能得出最大值。Stoll等^[4]用金、镍等离子得出的RBE值在LET大于180keV μm 后一直下降。Stoll等^[5]用氧和氦离子时,发现RBE值在100keV μm 左右时出现一个坪区,最大值出现在260keV μm 左右时,无论RBE值怎样变化,突变的RBE值总大于失活的RBE值,这是一个令人思索的现象,原因有待于进一步查明。

1.4 突变性

突变截面(σ_m)与失活截面(σ_i)之比值称为突变性(mutagenicity)^[3],它反映某一给定离子诱发突变的效率。重离子辐射实验在粒子注量测定上尚有许多误差,但在剂量测定准确的基础上,用突变性这一参数可以消除这些误差^[10],这意味着该参数比RBE更具有代表性。Tsuboi等^[6]用此比值与LET作图显示,关系曲线的斜率为负值,突变性值从 7.99×10^5 (150keV μm)下降到 2.05×10^5 (920keV μm),与RBE值一致。Kranert等^[3]的结果显示,对较轻离子,突变性值随LET值上升至200keV μm ,随后稳定下降。LET值大于1000keV μm 后,重离子的突变性低于X射线的突变性。

2 突变的特点

2.1 突变的敏感性

Kronenberg等^[2]实验证实经重离子照射后,常染色体上tk位点比hprt更易于突变。在用氦和氧离子照射人淋巴细胞后检测hprt和tk位点,在培养11天后,hprt位点无新的突变克隆产生,而tk位点有一类表达缓慢的突变体,在培养19~20天时仍能长出新的克隆。影响突变敏感性的因素包括基因大小、染色体核型、染色体位置和连锁的基因等。按单一靶理论,hprt基因(44kbp)应该比tk位点(12.9kb)更易于突变^[11,12]。然而,两者的mRNA大小却相似,因此,如果基因的变化出现在内含子区域,两者的突变频率应该相似。但在常染色体中经常出现的基因转

换和重组等突变不太可能在半合子基因 *hprt* 位点上出现。电离辐射会导致细胞某些基因片段缺失^[13,14],这些遗传物质的缺失与突变体生长的关系仍不清楚,这些大规模改变可能来自整条染色体缺失、染色体缺失和重组以及简单的缺失,这些改变因素或许对突变体的缓慢表达起着重要作用。

hprt 基因位于 X 染色体的长臂上,因此在雄性细胞中是半合子,虽然对该位点的检测成为检测细胞突变的一种常用方法,但由于电离辐射引起的大片段缺失如果波及到相邻区域,在 X 染色体上的大量遗传物质缺失可能引起细胞失活,使部分突变体不能被检测出。Kronenberg 等^[7]用 TK6 和 AL 杂交细胞(标准的 CHO 细胞含人 11 号染色体)经铁离子 ($190\text{keV } \mu\text{m}$) 照射后也发现 S1 位点 (M1C1 基因) 的突变率约为 *hprt* 位点突变频率的 50 倍,作者认为,*hprt* 位点的相对不敏感性与该基因的一些存活必需基因紧密连锁有关。高原子序数高能粒子 (HZE) 的潜在致癌性可能与抑癌基因的缺失或重组有关^[15]。但 Tsuboi 等^[6]实验结果却认为经致密电离辐射照射后较易观察到 *hprt* 位点大片段缺失的突变体可能与实验所用的细胞及照射剂量不同有关。

2.2 突变的类型

为了解重离子辐射突变的机制,有必要对基因的分子损伤特性进行研究。Kronenberg 等^[7]将突变分为三类:(1)未见检测改变,与野生型细胞基因位点的电泳带图谱无区别,即为小片段缺失或单个碱基改变;(2)部分缺失或重排;(3)完全缺失。Kronenberg

检测到的 39 个突变体中,经 southern 杂交法和 PCR(聚合酶链式反应)检测后发现 19 个为完全缺失,约占一半,13 个为部分缺失,7 个为小片段缺失或单个碱基改变。Stoll 等^[1]用多重 PCR 检测,无论较轻的或较重的离子都能引起上述三种突变类型,高 LET ($1.611\text{keV } \mu\text{m}$) 的氦离子导致大量的完全缺失。两者的结果均显示完全缺失的比例随 LET 的增加而增加。

由于受实验条件的限制,迄今对重离子引起突变的研究数据有限,没有一种物理参数能与所有的实验数据有统一明确的关系。今后应对不同离子进行系统地研究,在分子水平上揭示突变的特点,了解突变的机制。

参 考 文 献

- 1 Stoll U et al. *Radiat Environ Biophys*, 1995; 34: 91
- 2 Kronenberg A et al. *Int J Radiat Biol*, 1989; 55 (6): 913
- 3 Kranert T et al. *Int J Radiat Biol*, 1990; 58 (6): 975
- 4 Stoll U et al. *Int J Radiat Biol*, 1996; 70(1): 15
- 5 Stoll U et al. *Radiat Res*, 1995; 142: 288
- 6 Tsuboi K et al. *Radiat Res*, 1992; 129: 171
- 7 Kronenberg A et al. *Radiat Environ Biophys*, 1995; 34: 73
- 8 Thacker J et al. *Int J Radiat Biol*, 1979; 36: 137
- 9 Cox R et al. *Int J Radiat Biol*, 1979; 36: 149
- 10 Kranert T et al. *Adv Space Res*, 1992; 12(2-3): (2): 111
- 11 Patel et al. *Mol Cell Biol*, 1986; 6: 393
- 12 Flemington E et al. *Gene*, 1987; 52: 267
- 13 Whaley JM et al. *Mutat Res*, 1990; 243: 335
- 14 Nelson SL et al. *Carcinogenesis*, 1994; 15: 495
- 15 Alpen EL et al. *Radiat Res*, 1993; 136: 382

(收稿日期: 1996-11-03)

读者·作者·编者

《国外医学·放射医学核医学分册》自 1977 年创刊至今已出版 20 周年,并至 1997 年第 6 期整整出版 100 期。编辑部决定:本刊今年第 5 期与第 6 期合刊为“创刊 20 周年暨出版总 100 周年纪念专辑”,并于 10 月 25 日出版。敬请广大读者周知。

本刊编辑部