

文章编号: 1001-098X(2000)02-0075-04

细胞凋亡与辐射敏感性

王丽平¹, 梁克²

(1. 北京工业大学生物力学与医学信息研究所, 北京 100022; 2. 中国医学科学院肿瘤医院放射生物室, 北京 100021)

摘要: 随着细胞凋亡与放射治疗关系的深入研究,有必要搞清楚细胞凋亡与肿瘤细胞辐射敏感性的关系,为临床放疗提供新的预测及评估指标。近年来的研究表明,细胞凋亡与辐射敏感性存在着微妙而复杂的关系。本文着重讨论细胞凋亡的速率、周期时相及辐射剂量速率等方面与辐射敏感性的关系。

关键词: 细胞凋亡; 辐射敏感性

中图分类号: R818.03

文献标识码: A

细胞凋亡 (apoptosis) 是 1972 年由 Kerr JFR 等首先提出的一种受基因调控的特殊类型的细胞死亡,是机体清除多余、变异或者癌变细胞的一种主动程序化的生理过程。近年来,随着细胞凋亡及分子机制的深入研究,尤其是辐射诱导凋亡的情况陆续见于报道,似乎为临床放射治疗恶性肿瘤打开了一扇“天窗”,人们希望能从辐射诱导细胞凋亡这一现象,为恶性肿瘤的临床放疗提供一个预测及评估指标。但是,是否所有的恶性肿瘤细胞都能经电离辐射产生凋亡?细胞凋亡与细胞本身所处的周期时相、放射线的类型和剂量有关系吗?细胞凋亡可以作为放射治疗的核心问题——辐射敏感性 (radiosensitivity) 的一个特异性指标吗?带着这些问题,笔者就目前相关的国内外文献报道作一阐述。

1 细胞凋亡与细胞坏死

细胞凋亡是受基因调控的一种特殊类型的细胞死亡形式。它具有特异的形态学特征:细胞皱缩,染色质浓聚且位于核膜的边缘,细胞质膜的发泡现象,特异的核小体的形成。细胞凋亡被认为是细胞生命

过程中的必然事件,凋亡细胞在体内常被吞噬细胞及其邻近的正常细胞所吞噬,因而不发生炎症反应。细胞坏死并不是细胞生命中的自发事件,它是以膜通透性的丧失为特征,继而发生细胞肿胀,细胞质空泡的增大,染色质浓聚,外观呈斑点状,而且不在核膜的周边,通常造成局部的炎症反应。电镜及光镜的形态学检测是区别凋亡和坏死的最可靠的指标。

2 细胞凋亡的分子机制

细胞凋亡是一个多基因多途径的过程^[1],其发生主要涉及三个环节:诱发型,信号转导和效应器分子。

诱发型主要分为两种因素:生理因素和非生理因素。生理因素如肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF),它们属于多肽类物质,与细胞表面受体结合,通过第二信使分子诱导的信号启动凋亡^[2]。其它的生理因素如甲状腺素、糖皮质激素、类维生素 A,它们属亲脂性分子,与核受体家族结合诱发凋亡^[3]。这些受体激发与诱导凋亡有关的一系列转录基因启动凋亡^[4,5]。非生理因素如辐射、毒性物质或药物等,均能诱发凋亡。

信号转导是基因水平上的调控转录过程,涉及许多基因的参与。现在已知的细胞内与凋亡有关的基因可以分为两大类:存活基因和致死基因。Bcl-2 基因是第一个被发现的与凋亡有关的存活基因,它可以抑制许多因素引起的凋亡。致死基因包括许多原癌基因 (如 ICE 家族 ced-3、ced-4) 和抑癌基因 (如 p53、Rb) 及与 AT (共济失调-毛细血管运动扩张症) 有关的基因,这些基因在受到各种刺激信号的

收稿日期: 1999-01-10

作者简介:①王丽平 (1971-),女,山西平定人,北京工业大学生物力学与医学信息研究所硕士研究生,主要从事肿瘤放射治疗学研究;

②梁克 (1962-),男,北京市人,中国医学科学院肿瘤医院放射生物室助理研究员,硕士,主要从事肿瘤放射治疗学研究。

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (39500043);北京市教委基金资助项目。

审校者:北京工业大学生物医学工程中心生物力学与医学信息研究所 曾衍钧

作用后,发挥各自的调控或转录功能,相互协调,共同作用,启动或抑制细胞的凋亡。

效应器分子转录基因翻译表达的结果是凋亡途径的最终控制者,它们在凋亡过程中发挥各自不同的作用。例如,核酸内切酶参与染色质浓聚和DNA的断裂^[6],蛋白酶 calpain 和 lamP使细胞骨架断裂^[7]。转谷氨酰胺酶催化依赖 Ca^{2+} 的交联作用,以防止凋亡早期的断裂^[8],半胱氨酸蛋白酶 apoppain 参与蛋白水解酶的分解作用^[9]。

3 细胞凋亡与辐射敏感性

3.1 凋亡细胞是否具有更高的辐射敏感性取决于凋亡的速率,时间是一个很关键的因素

3.1.1 凋亡反应的提高提示细胞具有更大的辐射敏感性

某些研究显示,凋亡反应的增加提示细胞具有更大的辐射敏感性。研究这个问题最直接方法是转染已知基因,视其在细胞凋亡中的作用,然后检查它们怎样影响凋亡和辐射敏感性。多数研究结果显示,增加的凋亡反应同时伴随细胞辐射敏感性的增加。已有许多研究表明,腺病毒介导的 wt(野生型) p53 基因转染到含有 mt(突变型) p53 的癌细胞株,凋亡反应的增加同时伴有辐射敏感性的增强^[10]。

Lang^[10]和 Broaddus^[11]两位学者在实验中将腺病毒介导的 wtp53 转染至含有 mtp53 的恶性神经胶质细胞瘤,也显示辐射敏感性增强的同时有细胞凋亡数目的显著增多。Sakakura 等^[12]的研究表明, Bax- α 作为促凋亡基因 Bax 的变异体在许多种非转移的细胞系及正常乳腺组织中均有表达,但在乳癌细胞系和恶性乳腺组织中却只有弱表达或无表达。他们将外源性的 Bax- α 转染至仅有弱的 Bax 基因表达的乳癌细胞系 MCF-7 中,细胞辐射敏感性明显增强,提示外源性 Bax- α 的表达可能是决定 MCF-7 乳癌细胞辐射敏感性是否增强的因素之一。但是也有报道认为,对于凋亡的干扰并不影响细胞的辐射敏感性,例如 Yu 等^[13]将 HPV 16 E6 基因导入含有 wtp53 的成淋巴细胞系 TK6,通过 E6 废除 p53 的功能导致凋亡反应的延迟和降低以及 γ 射线照射后胸苷激酶位点突变频率的增加,但并未改变细胞的辐射敏感性。这一结果提示, p53 没有通过凋亡途径来调节细胞的辐射敏感性,故可能涉及不限于 p53 本身状态的更为复杂的调节细胞辐射敏感性的机制。

3.1.2 快速凋亡的细胞具有更大的辐射敏感性

Olive 等^[14]来自同一供体的成淋巴细胞系 TK6(含 wtp53)和 WI-L2-NS(含 mtp53)在同样的实验条件下比较二者的辐射敏感性,结果显示, TK6 细胞比 WI-L2-NS 细胞具有较高的辐射敏感性,二者虽都经历了凋亡,但是 TK6 细胞凋亡的速率较 WI-L2-NS 细胞快,即 TK6 细胞是快速凋亡细胞(照射后 24h 内凋亡), WI-L2-NS 细胞是延迟凋亡细胞(照射后几天内凋亡)。该实验确证,两株细胞系辐射敏感性的不同不是因为与 p53 功能相关的其他因素如 G_1 期阻滞造成的,而是与凋亡的速率不同有关。Schwartz 等^[15]也将含有 wtp53 的 TK6 细胞与其含有 mtp53 的姐妹细胞系 WI-L2-NS 和 WTK1 细胞进行比较,显示 TK6 细胞对细胞的杀伤更加敏感,凋亡速率快,而照射后的染色体畸变和变异较之姐妹细胞少; WI-L2-NS 经历了较 TK6 细胞稍慢的凋亡,而照射后 24~30h 所测得的染色体损伤较 TK6 细胞大,且具有较高的辐射拮抗性。对于快速凋亡和延迟凋亡的解释,他们认为 TK6 细胞对 DNA 损伤的耐受力差,可能发展为畸变的损伤细胞,这些细胞在可能的畸变之前被凋亡所清除。在这里,凋亡起到了阻止那些未修复或错误修复的损伤细胞继续增殖的作用。

3.2 依赖于细胞周期时相 辐射剂量速率的凋亡对细胞辐射敏感性的影响

许多研究显示,辐射诱导凋亡对于细胞周期时相有依赖性,通常认为 S 期细胞比 G_1 细胞具有更高的辐射拮抗性,而 Ling 对转染了 c-myc 基因的大鼠胚胎细胞照射 10Gy 后 40h 测定,发现辐射致 S 期或 G_2 期细胞凋亡是 G_1 期细胞凋亡的两倍^[16]。对于这种差异结果的解释,可能还要归之于和细胞凋亡有关的其他因素, Ling 等^[17]通过测量凋亡和克隆形成与辐射剂量速率的函数关系对两株细胞作了比较:转染 c-myc 基因大鼠胚胎细胞株 10Gy 照射后约有 50% 的细胞凋亡,而转染 Ha-ras 的同一细胞株诱导的细胞凋亡数只是转染 c-myc 基因的十分之一。虽然在较低辐射剂量下两株细胞的存活数均有增加,但是在 c-myc 转染的细胞株中并未观察到剂量速率对凋亡的影响;在较少发生凋亡的 Ha-ras 细胞系中,显示凋亡与剂量速率有相关性,但因凋亡比例太小,无法进行精确的评价。

总之,这些资料显示的凋亡与细胞周期时相和辐射剂量速率的关系及对细胞辐射敏感性的影响还有待进一步探讨。

3.3 细胞辐射敏感性不仅取决于细胞死亡的方式,还取决于多种因素

Harms等^[18]认为,细胞的辐射敏感性取决于由遗传所决定的细胞的固有辐射敏感性、放射线的类型和剂量与环境因素

细胞的分化阶段、特异基因的变异(如 p53和 Bcl-2)靶细胞进入凋亡的转化阶段均影响细胞的固有辐射敏感性。高剂量的辐射引起的 DNA 严重损伤通常导致细胞的坏死,而不是诱导细胞的凋亡。在正常细胞中,生长因子促癌剂可降低细胞的辐射敏感性,某些类型的肿瘤细胞,可以通过使用某些试剂如激素来提高辐射敏感性。这些环境因素(如促癌剂)有时可以抑制细胞的凋亡,使携带有遗传毒性的损伤细胞的比例增加,这显然增大了癌前病变细胞增殖的危险性^[18]。

Aldridge等^[19]证实,在成纤维细胞株 208F 转染人类癌基因 c-myc 后,细胞凋亡速率的增加并没有导致由 γ 射线或 ¹²⁵I 诱发的 DNA 损伤的“克隆生存剂量反应关系”的改变。他的发现提示,仅以细胞的死亡方式来预测细胞的辐射敏感性是不准确的。

Levine^[20]报道,在宫颈癌的活检组织中,细胞凋亡可反映肿瘤增殖的情况,但就其本身不能用来预测病人的临床结果。这个研究提示,将 AI(凋亡指数)和 SKR(固有辐射敏感性指标)合用可作为预测肿瘤患者放射治疗敏感性的指标。

综上所述,凋亡与细胞辐射敏感性存在着微妙而复杂的关系。相信随着辐射诱导凋亡的知识和分子生物学技术手段的不断完善,有关凋亡速率与细胞辐射敏感性、细胞周期时相、辐射剂量速率与细胞凋亡的关系等将会最终阐明,从而为肿瘤放射治疗提供很好的依据,针对不同肿瘤的具体患者提供更为切实有效的治疗方案。

参考文献:

- [1] Bicknell GR, Cohen GM. Cleavage of DNA to large kilobase pair fragments occurs in some forms of necrosis as well as apoptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 207(1): 40~ 47.
- [2] Lin Y, Devin A, Rodriguez Y, et al. Cleavage of the death domain kinase RIP by caspase-8 prompts TNF-induced apoptosis [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(19): 1514~ 2526.
- [3] Amsterdam A, Dantes A, Hosokawa K, et al. Steroid regulation during apoptosis of ovarian follicular cells [J]. *Steroids*, 1998, 63(5-6): 314~ 318.
- [4] Lee SJ, Ha MJ, Lee J, et al. Inhibition of the 3-

hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase pathway induces p53 independent transcriptional regulation of p21 (WAF1/CIP1) in human prostate carcinoma cells [J]. *J Biol Chem*, 1988, 273(17): 10618~ 10623.

- [5] Pierzchalski P, Reiss K, Cheng W, et al. p53 Induces myocyte apoptosis via the activation of the renin-angiotensin system [J]. *Exp Cell Res*, 1997, 234(1): 57~ 65.
- [6] Wsiker PR, Sikorska M. New aspects of the mechanism of DNA fragmentation in apoptosis [J]. *Biochem Cell Biol*, 1997, 75(4): 287~ 299.
- [7] Merino JJ, Cordero CMI. Molecular bases of the programmed cell death process: implications of tumor suppressor protein p53 and other proteins in the control of cell cycle. Mechanisms of apoptotic action [J]. *Invest Clin*, 1998, 39(4): 323~ 358.
- [8] Dickinson JL, Norris BJ, Jensen PH, et al. The C-D interhelical domain of the serpin plasminogen activator inhibitor type 2 is required for protection from TNF-alpha induced apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 1998, 5(2): 163~ 171.
- [9] Reuther JY, Baldwin AS Jr. Apoptosis promotes a caspase-induced aminoterminal truncation of IkappaBalpha that functions as a stable inhibitor of NF-kappaB [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(29): 20664~ 20670.
- [10] Lang FF, Yung WK, Raju U, et al. Enhancement of radiosensitivity of wild-type p53 human glioma cells by adenovirus-mediated delivery of the p53 gene [J]. *J Neurosurg*, 1998, 89(1): 125~ 132.
- [11] Broaddus WC, Liu Y, Steele LL, et al. Enhanced radiosensitivity of malignant glioma cells after adenoviral p53 transduction [J]. *J Neurosurg*, 1999, 91(6): 997~ 1004.
- [12] Sakakura C, Sweeney EA, Shirahama T, et al. Overexpression of bax enhances the radiation sensitivity in human breast cancer cells [J]. *Surg Today*, 1997, 27(1): 90~ 93.
- [13] Yu Y, Li CY, Little JB. Abrogation of p53 function by HPV16 E6 gene delays apoptosis and enhances mutagenesis but does not alter radiosensitivity in TK6 human lymphoblast cells [J]. *Oncogene*, 1997, 14(14): 1661~ 1667.
- [14] Olive PL, Banh JP, Durand RE. Development of apoptosis and polyploidy in human lymphoblast cells as a function of position in the cell cycle at the time of irradiation [J]. *Radiat Res*, 1996, 146(6): 595~ 602.
- [15] Schwartz JL, Jordan R, Sedita BA, et al. Different sensitivity to cell killing and chromosome mutation induced by gamma rays in two human lymphoblastoid cell line derived from a single donor: possible role of apoptosis [J]. *Mutagenesis*, 1995, 10(3): 227~ 233.
- [16] Ling CC, Guo M, Chen CH, et al. Radiation-induced apoptosis: effects of cell age and dose fractionation [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(22): 5202~ 5212.
- [17] Ling CC, Chen CH, Li WX. Apoptosis induced at different dose rates: implication for the shoulder region of cell survival curves [J]. *Radiother Oncol*, 1994, 32(2): 129~ 136.

- [18] Harms RM, Nicotera P, Radford IR. Radiation induced apoptosis [J]. *Mutat Res*, 1996, 366(2): 171-179.
- [19] Aldridge DR, Arends MJ, Radford IR. Increasing the susceptibility of the rat 208F fibroblast cell line to radiation-induced apoptosis dose not alter its

clonogenic survival dose response [J]. *Br J Cancer*, 1995, 71(3): 571-577.

- [20] Levine EL. Apoptosis intrinsic radiosensitivity and prediction of radiotherapy response in cervical carcinoma [J]. *Radiother Oncol*, 1995, 37(1): 1-9.

Apoptosis and radiosensitivity

WANG Li-ping¹, LIANG Ke²

(1. Biomechanics & Information Institute, Beijing Polytechnical University, Beijing 100022, China;

2. Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract The deep research of relation of apoptosis with radiotherapy makes it necessary to be clear about the relationship between apoptosis and radiosensitivity, so that this will provide a new standard of forecast and evaluation for clinical radiotherapy. These days study indicates that apoptosis and radiosensitivity have a subtle and complex relationship. This article reviews as follows regarding the relation of apoptosis rate, cell cycle position and radiation dose rate with radiosensitivity.

Key words apoptosis; radiosensitivity; cell cycle position; radiation dose rate

文章编号: 1001-098X(2000)02-0078-05

肿瘤辐射敏感性与细胞凋亡

朱光旭, 王小华

(中国人民解放军第三军医大学全军复合伤研究所, 重庆 400038)

摘要: 辐射敏感性是肿瘤细胞复杂的生物学现象, 在辐射诱导的细胞反应中具有不同的组织细胞类型特异性。肿瘤辐射敏感性与辐射诱导的细胞凋亡密切相关, 并受 p53 及其相关蛋白、Bcl-2 基因家族蛋白、Fas 及神经鞘磷脂-神经酰胺介导的信号途径、caspases 级联反应等调控。

关键词: 辐射敏感性; 细胞凋亡; 信号途径; 基因表达调控

中图分类号: R818.03

文献标识码: A

1 肿瘤辐射敏感性

辐射致肿瘤细胞凋亡依赖于肿瘤细胞本身的辐射敏感性, 而这一辐射敏感性又有赖于不同因素间复杂的相互作用。研究表明, 肿瘤辐射敏感性受耗氧水平、辐射致 DNA 损伤后的修复能力、分裂细胞数量、细胞周期中不同时期细胞的分布等的影响^[1], 但是在体内, 这些因素并不总是对肿瘤辐射敏感性具

有预见性, 如表达显性癌基因的 c-raf c-myc 转化细胞系具有明显的辐射抗性, 但是在多种人肿瘤细胞系中, 内源性 c-raf 过度表达却增强辐射敏感性。c-myc c-raf k-ras RNA 水平与肺癌细胞辐射敏感性间未发现明显的相关性。肿瘤辐射敏感性很可能需要其他的, 包括信号转导相关基因的共同调节^[2]。辐射诱导的生长因子与细胞因子可以增加或降低肿瘤辐射敏感性, 且可能影响 c-myc 对细胞增殖和死亡的调节能力^[3]。

2 细胞凋亡

细胞凋亡, 亦称程序化细胞死亡, 是受进化上保守的基因调控的过程, 其发生于胚胎形成、形态发展, 并在成人组织中稳定存在。多数哺乳动物细胞, 包括肿瘤形成细胞, 均存在细胞自杀的内在机制^[4], 这种机制激活后诱导细胞清除。凋亡细胞显示不同形态学及生化特征, 如胞浆固缩、体积缩小、细胞皱

收稿日期: 2000-01-10

作者简介: ①朱光旭 (1972-), 男, 贵州瓮安人, 第三军医大学全军复合伤研究所生物化学与分子生物学研究室检验技师, 硕士研究生, 主要从事辐射对肿瘤细胞信号转导影响的研究;

②王小华 (1972-), 女, 重庆忠县人, 第三军医大学全军复合伤研究所生物化学与分子生物学研究室检验技师, 硕士研究生, 主要从事辐射对肿瘤细胞信号转导影响的研究。

审校者: 中国人民解放军第三军医大学复合伤研究所 余争平 程天民