

文章编号: 1001-098X(2004)02-0082-04

低剂量电离辐射效应

孙志增 周平坤

摘要 在低剂量区域, 电离辐射能够诱导一些大剂量实验中预测不到或传统放射生物学理论不能解释的效应, 主要表现在三个方面: ①数 cGy 剂量诱导发生的适应性反应 (adaptive response, AR); ②低剂量辐射超敏性 (hyperradiosensitivity, HRS), 其剂量通常为 0.2~0.5Gy; ③在临近的未受照细胞中诱导产生的旁效应 (bystander effect, BE)。

关键词 辐射超敏性; 增加的辐射耐受性; 适应性反应; 旁效应

中图分类号 Q691 文献标识码 A

Adverse effects of low dose ionizing radiation

SUN Zhi-zeng, ZHOU Ping-kun

(Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract In low dose region, adverse effects could be induced by ionizing radiation. These effects are unpredictable from high-dose experiments or inexplicable with available radiobiological theories. There are mainly three aspects for these. First, adaptive response (AR) induced by several cGy irradiation. Second, low-dose hyperradiosensitivity (HRS). The dose is generally between 0.2-0.5Gy. Third, bystander effect (BE) induced in unirradiated neighboring cells.

Key words hyperradiosensitivity; induced radioresistance; adaptive response; bystander effect

过去, 人们对低剂量电离辐射效应的认识大多是从大剂量效应外推而来。然而, 近年来大量的实验结果表明, 细胞对低剂量辐射的反应与高剂量相比存在本质性差别, 甚至出现截然不同的现象。

1 适应性反应 (adaptive response, AR)

1.1 反应特点

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 AR, 于 1984 年首次报道。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减弱, 包括染色体损伤的减少和基因突变率的降低^[1]。电离辐射以外的其他手段, 例如辐射类似物、碱基修饰物或交联剂的作用等, 也能引发 AR, 但目前有关该反应的发生及其机制的资料大部分从电离辐射作用中获得。对电离辐射的 AR 已在多种细胞中观察到^[2], 如人淋巴细胞、中国仓鼠 V79 细胞、兔淋巴细胞、C3H10T1/2 鼠胚细

胞、肝癌细胞、成淋巴细胞 AHH-1 细胞系、T 细胞白血病细胞系及人-仓鼠杂交细胞等。

哺乳动物细胞中, AR 的辐射诱导剂量一般在 1~5cGy 范围内, 通常发生在新陈代谢旺盛的细胞中, 而 G₀ 期休眠细胞中未发现其存在。另外, AR 作为一个早期反应, 在辐照后 4~6h 达到最高值, 可持续 24h, 甚至超过 40d^[3]。

1.2 发生机制

如果 AR 要发生, 刺激信号首先要被细胞感受系统识别, 然后再被传递到细胞所固有的反应系统, 从而使效应分子将随后辐射导致的潜在危害减弱。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^[4]。真核细胞对 DSB 的反应途径比较复杂, 包括 DSB 修复 (维护基因组的完整性)、细胞周期检测点控制 (利于损伤修复) 和细胞凋亡 (去除受损细胞) 等, 而在这几条途径中, p53 基因都发挥着至关重要的作用, 从而作为基因组的“维护者”^[5]。然而, 在 AT 细胞中, AR 也能被诱发, 而已知该种细胞缺乏辐射诱导的细胞周期检测

点控制反应, 因此有学者认为, 细胞周期检测点途径参与 AR 的可能性很小^[3]。同样, 在优先去除严重受损细胞的凋亡通路的活化与被引发细胞中染色体畸变频率的降低之间也无法建立起因果关系, 因为 Sasaki MS 等^[3]发现, 细胞凋亡效应也被适应性辐照所抑制, 这与染色体畸变形成的抑制相平行。所以, 认为 DSB 的修复是诱导 AR 的主要因素。

当前, 在真核细胞中已知主要有两条途径参与 DSB 的修复, 即非同源末端连接修复 (non-homologous end-joining, NHEJ) 和同源重组修复 (homologous recombination, HR)^[4]。NHEJ 或者由 DNA 依赖的蛋白激酶介导完成 (该激酶复合体包含结合 DNA 的 Ku70/Ku80 蛋白二聚体、催化亚基 DNA-PKcs 和负责 DNA 末端切割后单链连接的连接酶 IV), 或者由 RAD50/MRE11/NBS1 蛋白复合物的协调作用来完成。HR 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-G₂ 期行使作用, 而 NHEJ 则在 G₁ 期发挥显著作用^[4]。然而, 考虑到 G₁ 期阻抑的哺乳动物细胞中 AR 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。那么, 目前认为低剂量电离辐射所诱导的 AR 就主要由 NHEJ 途径介导发生。

Sasaki MS 等^[3]研究发现, AR 在 p53 基因功能缺失的细胞中表达失败, 例如, Trp53 剔除小鼠细胞和 pSV 永生化 AT 细胞, 后者被认为是由于 p53 基因与大 T 抗原结合而致使功能失活。此外, 他们还得出如下结论: p53 在引导辐射导致的 DNA DSB 进入一条适应性的合理的修复通路方面发挥关键作用, 而损伤信号则是通过迂回的 PKC-p38MAPK-PLC 损伤感受通路整合给 p53 的, 这样, 便使得该种信号不能进入替代的非合理的修复通路或发生凋亡。

p53 参与 AR 的事例表明, 生命有机体已进化形成一种有效的体系来识别众多的基因胁迫, 从而引导细胞进行有效的损伤修复达到生存的目的, 或者引起死亡, 以能够进行更高级别的修复方式, 如组织修复, 避免形成灾难性后果。然而, p53 在整个胁迫反应信号传递网络中始终发挥下游反应分子的关键作用。总之, AR 是将辐射损伤效应最小化的一种生存选择。

2 辐射超敏性(hyperradiosensitivity, HRS)反应

2.1 反应特点

低剂量电离辐射 (<0.5Gy) 在单位剂量的细胞杀伤方面比高剂量时更有效, 这种现象被称为 HRS, 一般发生在 0.2~0.5Gy 剂量范围内。此后, 随着剂量的增加, 细胞对辐射的诱导抵抗性也逐渐增强, 直到 1Gy 时为止, 而此现象又被称为“增加的辐射耐受性”(increased radioresistance, IRR)^[6]。HRS 首先于 1963 年从玉米低于 0.5Gy 剂量的研究中被证实, 它表现在急性低剂量 γ 射线诱发的花粉粒的突变和致死性方面。之后, 越来越多的实验证据都确认了 HRS/IRR 反应的存在。图 1 显示了 T98G 神经胶质瘤细胞系中的 HRS/IRR^[7]。

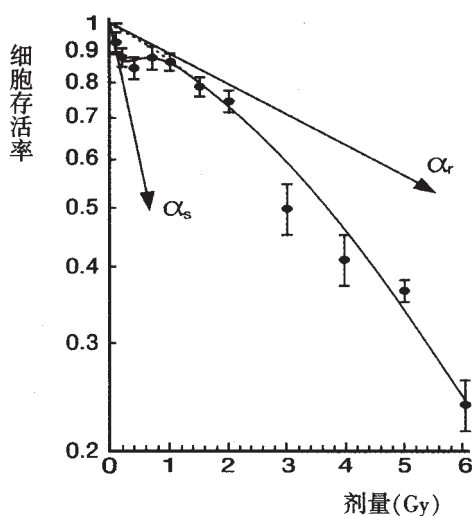


图 1 非同步化的人神经胶质瘤细胞 X 射线辐照存活曲线

图中, 实线表示诱导修复 (induced repair, IR) 模型, 虚线表示线性平方 (linear-quadratic, LQ) 模型。当剂量低于 1Gy 时, LQ 模型得出初始斜率 α_r , 这大大低估了其辐照效应; 而 IR 模型得出的是更为“陡峭”的斜率 α_s , 因而能够更真实地反映该剂量区域的辐照剂量-效应关系。

因此, 在哺乳和非哺乳体系中存在极为相似的 HRS/IRR 反应, 这使得我们认为这种胁迫反应机制在进化上是高度保守的。

2.2 发生机制

人们曾经提出两种假说来解释这种有趣的 HRS 反应^[8], 现已广为接受的“诱导修复”模型认为, 只有超过一定剂量阈值的辐射才能诱发细胞中某种 (些) 可诱导的修复反应, 而一定低剂量的辐

射(低于该临界阈值)不足以激发细胞内的修复反应,结果导致高的细胞致死性,即HRS;而高于该剂量阈值的辐射由于引发了诱导性修复反应,使得细胞的辐照存活率相对升高,即为IRR。第二种假说认为,HRS的发生是由于对辐射敏感的细胞亚群(如细胞周期中处于特定时相的细胞)出现的缘故,这些细胞亚群增加了整个群体在低剂量区域的辐射敏感性。

虽然HRS/IRR的分子机制还有待于进一步阐明,但是DNA损伤及修复被认为在其中发挥重要的作用,特别是DSB的损伤修复状态。因此,未能或错误修复辐射导致DSB则成为细胞死亡的关键因素。

DSB可通过多种途径被修复,在低等生物中,HR占主要地位,而在真核细胞中,依赖DNA的NHEJ途径则主要负责DSB的修复,如前所述。

NHEJ途径在修复辐射诱导的损伤方面的重要性可通过缺乏该种修复方式的细胞系对辐射的极度敏感性,并同时缺乏IRR剂量效应区得到很好的阐明^[6]。XR-V15B细胞系缺乏DNA-PK复合物中的Ku80亚单位,因此不能表现出IRR反应。突变细胞系xrs5也缺失Ku80基因,但此细胞对辐射的极度敏感性可以通过转染人的Ku80基因得以部分克服。对辐射敏感的人恶性神经胶质瘤细胞MO59J不能表达DNA-PKcs蛋白,因此缺乏DNA DSB修复。它与xrs5的辐射敏感性相近,却比相应的MO59K高10倍左右,后者虽然与它来源于同一胶质瘤标本,但却表达功能正常的DNA-PK。一项测定DNA-PK复合物的研究显示:有6个表现HRS细胞系DNA-PK的活性明显降低,而4个未能表现HRS细胞系的DNA-PK活性增加。这便将DSB修复与HRS/IRR直接联系起来。但是,AT细胞对辐射的极度敏感性却是由于DSB的错误修复所造成的,而不是重新连接DSB能力降低的缘故。

总之,细胞对辐射诱导的损伤(尤其是DSB)修复能力或精确度的升高,便可表现出IRR,否则表现出HRS。

3 旁效应(bystander effect, BE)

3.1 特点

过去的十年中,大量的实验证据都确定了BE的存在,它表现为在未直接受照的细胞中也能产生

辐射损伤,而且很明确这种损伤的诱发因子来自于邻近的受照细胞。这种效应在 α 粒子照射的多种细胞类型中都能检测得到,而有关 γ 射线只有个别报道,其表现包括细胞死亡^[9]、染色体畸变^[10]、基因突变^[11]及胁迫相关的基因表达变化^[12]等等。BE一旦被诱导,可以在后代细胞中延续下来,因此受到BE因子作用的细胞很可能是表现出基因组不稳定性迟发效应的一群细胞^[10]。

BE最令人意外的特点是,即使是低到mGy水平的辐射或单个 α 粒子照射也能诱发该效应的发生,而且它并不随着剂量的增加发生明显的变化^[13],这暗示诱使BE发生的损伤形式甚至机制与传统辐照时有所区别。

3.2 发生机制

目前已确定或假定了多种机制参与BE的发生,而细胞间通讯在其中发挥着关键的作用。 α 粒子照射死亡的细胞可以在临近的未受照细胞中诱导突变效应发生,这种反应的水平是没有BE时的2~3倍,而细胞间的通讯在介导该反应中发挥重要作用^[11]。Azzam EI等人^[12]用细胞缝隙连接抑制剂林丹(Lindane)处理细胞后发现,TP53和P21蛋白的表达水平大大降低。因此,他们认为缝隙连接介导的细胞通讯参与在旁细胞中观察到的p53/p21的诱导表达。然而,受照细胞产生BE信号及接收细胞对这种信号产生反应两个过程都不需要TP53反应通路的参与,因为在人乳头瘤病毒转染的角质细胞中也能观察到明显的BE,而该种细胞由于E6蛋白的作用使得TP53功能失活^[9]。

用从受照细胞中取得的培养液替代未受照细胞的培养液,即所谓的“辐照条件培养液”(irradiated conditioned medium)作用,可降低未受照细胞的存活率^[9,14],而且这种作用的大小依赖于受照时细胞数量的多少^[9]。这表明:作为辐射损伤的结果,特定类型的细胞(如上皮细胞,而不是成纤维细胞)能够向培养液中释放一些可溶性因子,致使该培养液变得有潜在的细胞毒性。然而,这些因子只影响细胞活存,对诱发突变却毫无作用^[14]。因而,在引发诱变BE方面,细胞通讯比释放在培养液中的可溶性因子更有效^[14]。

此外,Mothersill C等人^[15]还发现,在葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺失的E89细胞中,BE被抑制,尽管BE信号依旧能产生。根据此现象,他们认为

ATP的产生或NAD/NADP(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸)的下降对BE的产生也是至关重要的。

从以上的综述可以得知,低剂量电离辐射的生物效应是相当复杂,甚至是相互矛盾的。但是,至少可以得出这样的规律,即低剂量辐射效应与辐射的类型和剂量大小有关。例如,一般来说只有低传能线密度的电离辐射才可诱导AR,而BE主要是在高传能线密度的 α 粒子的辐照下产生的。有关各种低剂量辐射效应的发生机制还有待更深入的研究,特别是对低剂量辐照致癌效应的贡献更需要阐明。随着对低剂量效应更多、更直接的了解,我们有可能从中得到更多的低剂量效应的直接依据,从而运用归纳法代替演绎法来评价低剂量基因毒物的作用。

参 考 文 献

- [1] 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 (1) : 43-49.
- [2] Stecca C, Gerber GB. Adaptive response to DNA-damaging agents[J]. *Biochem Pharmacol*, 1998, 55(7): 941-951.
- [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] Lakin ND, Jackson SP. Regulation of p53 in response to DNA damage[J]. *Oncogene*, 1999, 18(53): 7644-7655.
- [6] Joiner MC, Marples B, Lambin P, et al. Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 49(2): 379-389.
- [7] Short S, Mayes C, Woodcock M, et al. Low dose hypersensitivity in the T98G human glioblastoma cell line [J]. *Int J Radiat Biol*, 1999, 75(7): 847-855.
- [8] Chandna S, Dwarakanath BS, Khaitan D, et al. Low-dose radiation hypersensitivity in human tumor cell lines: Effects of cell-cell contact and nutritional deprivation [J]. *Radiat Res*, 2002, 157(5): 516-525.
- [9] Mothersill C, Seymour CB. Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells [J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 71(4): 421-427.
- [10] Lorimore SA, Kadhim MA, Popcock DA, et al. Chromosomal instability in the descendants of unirradiated surviving cells after α -particle irradiation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(10): 5730-5733.
- [11] Zhou H, Randers-Pehrson G, Waldren CA, et al. Induction of a bystander mutagenic effect of alpha particles in mammalian cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(5): 2099-2104.
- [12] Azzam EI, Toledo SM, Gooding T, et al. Intercellular communication is involved in the bystander regulation of gene expression in human cells exposed to very low fluences of alpha particles[J]. *Radiat Res*, 1998, 150(5): 497-504.
- [13] Ballarini F, Biaggi M, Ottolenghi A, et al. Cellular communication and bystander effects: a critical review for modeling low-dose radiation action[J]. *Mutat Res*, 2002, 501(1-2): 1-12.
- [14] Zhou H, Suzuki M, Geard CR, et al. Effects of irradiated medium with or without cells on bystander cell responses [J]. *Mutat Res*, 2002, 499(2): 135-141.
- [15] Mothersill C, Stamato TD, Perez ML, et al. Involvement of energy metabolism in the production of 'bystander effect' by radiation[J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(10): 1740-1746.

(收稿日期: 2004-01-04)

第十四届全国临床医学影像学术会议暨医学影像学及介入放射学新进展继续教育学习班, 拟定于2004年10月中旬在昆明市举办。届时将邀请国内专家前来讲学。征文通知如下:

征文内容: ①医学影像学诊断: 普通X线、CT、MRI、DR、PET、ECT、超声、短篇报道、病例讨论; ②介入放射学; ③影像的传输和储存管理系统; ④医学影像学诊断设备的改良、维修、管理的经验总结和介绍。

征文要求: ①论文全文2500字以内, 需附500~800字的摘要。②请附单位介绍信, 写清作者单位、详细通讯地址、邮编、联系电话, 录用与否均不退稿。③已在全国公开发行人物上发表的论文不再采用。④来稿务请在信封上注明“昆明会议征文”寄至: 沈阳市和平区三好街36号《中国临床医学影像杂志》编辑部, 勿寄个人。邮政编码: 110004, 同时需将论文文字内容发至本刊电子信箱, 主题处注明“昆明会议征文”, E-mail: jccmsy@mail.sy.ln.cn。电话(传真): 024-23925069。⑤截稿日期: 2004年7月底。

会议形式: 会议将以专家讲座、专家答疑、专题报告、继续教育项目为主, 同时进行优秀论文交流, 优秀论文经专家审查后将选登在本刊正刊上。

会议将颁发国家级继续教育学分证书(医学影像学及介入放射学新进展继续教育课程10学分)。