

肿瘤放射生物学的研究进展

沈 瑜

(中国医学科学院肿瘤研究所)

摘要 本文概要介绍肿瘤放射生物学的内容及进展, 以及其在临床放射治疗中的地位。

关键词 放射生物学; 肿瘤放射; 生物学; 临床放射生物学; 辐射生物效应。

目前, 国内死因调查资料表明, 恶性肿瘤致死的比例日益增多, 肿瘤在我国已居死亡原因的首位或第二位。然而, 我国肿瘤治疗事业的发展也相当迅速, 医学科学院肿瘤研究所分析近年来诸法医治所有肿瘤患者的治疗情况, 其五年生存率为 39%, 国外也不过是 40%。此外, 在肿瘤治疗中放射治疗所占的比重较大, 根据北京、上海、广州、杭州四个地区的统计结果, 肿瘤患者中接受不同程度放射治疗的病人在全部肿瘤病人中所占的比例高达 65~70%, 由此可见放射治疗在肿瘤治疗中是极其重要的。

五十年代的 X 射线治疗机发展到六十年代更完善的超高压治疗机, 放射物理的进展对放射治疗有较大的贡献, 不少肿瘤的五年生存率因此有明显的提高(表 1)。

表 1 各种肿瘤放射治疗效果(1970 年统计)

病 名	五 年 生 存 率		备 注
	X 线阶段(%)	超高压阶段(%)	
食管癌(晚期)	0	8~16	国内
鼻咽癌	20~25	45~50	国内
宫颈癌	35~45	55~65	国内外
扁桃体癌	25~30	40~50	国内外
上颌窦癌	0	21	国内(日坛)
何杰香氏癌	30~35	70~75	
前列腺癌	5~15	55~60	
膀胱癌	0~5	25~35	
卵巢癌	15~20	50~60	
视网膜母细胞瘤	30~40	80~85	
精原细胞瘤	65~70	90~95	国内外
睾丸胚胎性癌	20~25	55~70	

由此可见, 今日放射治疗的进步和发展主要应归功于放射物理学的大量工作, 尤其是剂量分布及治疗工具的改进。与此相比, 肿瘤放射生物学研究起步较晚, 对放射治疗的贡献相对较少, 目前仅在放射损伤修复和氧效应方面为临床分次治疗和治疗方案改进提供了实验依据。然而, 根据放射物理的发展现状与放射生物的研究趋向来看, 今后进一步提高恶性肿瘤放疗疗效将主要依赖于肿瘤放射生物学的研究成果。

肿瘤放射生物学与放射医学都是为临床服务的应用科学, 并建立于相同的辐射生物学基础理论之上, 但就研究对象与内容而言, 两者却有较大的差异。其主要差别在于肿瘤放射生物学更多地面向肿瘤细胞和肿瘤组织(肿瘤细胞群)的辐射效应。肿瘤放射生物学的根本任务是提高对恶性肿瘤的放射治疗疗效, 因之既要想方设法提高射线对肿瘤的杀伤作用, 又必须尽最大可能减少放疗中不可避免的正常组织的放射损伤。肿瘤放射生物学以治疗增益系数 (Therapeutic Gain Factor, TGF) 作为衡量每项研究成果是否能应用于临床

的重要指标:

$$TGF = \text{某项措施对肿瘤的效应} / \text{某项措施对正常组织的效应}$$

可见, TGF 只有大于 1, 临床上才有意义; 相反, TGF 等于或小于 1, 说明该项措施在放射治疗临床上毫无价值。

表 2 正常组织与肿瘤分次照射中的变化(4“R”)

放射损伤的修复	正常组织	肿 瘤
亚致死损伤的修复 SLDR	✓	✓
潜在致死损伤的修复 PLDR	✓	✓
2. 增殖周期细胞时相的再分布	✓	✓
3. 细胞的再增殖	✓	✓
4. 乏氧细胞的再氧合	—	✓

肿瘤放射生物学总结了大量生物实验结果概括出肿瘤对分次治疗的反应, 简称为 4“R”。放射损伤的修复——虽然正常组织与恶性肿瘤受照后都有亚致死损伤修复(SLDR)和潜在致死损伤修复(PLDR), 但正常组织损伤修复的速度明显比肿瘤为快, 肿瘤分次治疗巧妙地运用了这一差别, 扩展了正常组织与肿瘤在辐射效

应方面的差别, 从而达到保护正常组织, 有效杀伤肿瘤的最终目的。

细胞时相的再分布和细胞的再增殖——一次照射不可能彻底杀灭肿瘤, 而且处于不同放射敏感性的肿瘤细胞受照射后反应不同。在第二次照射前, 肿瘤细胞群中出现细胞增殖周期内细胞各时相比例的重新分布, 即相对同步化, 并有不同程度的增殖。这实质上是细胞与细胞群受照射后的动力学问题。曾一度认为细胞动力学是根治肿瘤的希望, 而事实上, 实验肿瘤经照射后动力学改变与人体肿瘤相当不同, 而目前在阐明人体肿瘤受照射后的动力学改变又缺乏合适的方法。所以, 细胞和细胞群动力学研究至七十年代仅有少数科学工作者继续从事这方面的工作。今后, 若在方法学上有所突破, 肿瘤细胞群动力学仍将不失为有临床实际意义的研究领域。

乏氧细胞的再氧合——这是氧效应的问题。众所周知, 肿瘤内抗辐射的乏氧细胞是杀灭肿瘤的最大障碍, 也是肿瘤复发的主要原因。分次照射使有氧细胞受到较大损伤, 乏氧细胞再氧合则使这些细胞在下次照射时易被杀灭。所以乏氧细胞再氧合的研究对放射治疗肿瘤十分重要。

目前, 已在亚细胞水平, 细胞水平和组织水平(实验动物和人)开展了大量肿瘤放射生物学的研究, 主要内容归纳如下。

提高射线对肿瘤的杀伤效应

1. 加温或加热治疗(Hyperthermia)合并放疗

现今, 国外有关热疗的研究十分广泛, 实验与临床均做了大量工作, 在国内, 河南, 上海, 北京等地亦已相继开展热疗研究。而当前在临床应用中的主要问题是深部肿瘤的加温和测温技术尚未得到解决。这里, 仅就热疗和合并放疗中的一些问题作一简介。

合并放疗时的加热温度一般为 $41.5 \sim 42.5^{\circ}\text{C}$, 温度过高将会加重正常组织的损伤, 从而降低治疗增益系数(TGF)。实验表明, 加热与照射的最佳序列和时间是照射之前或后 $3 \sim 4\text{hr}$ 加热, 此时 TGF 较高, 实验还发现加热后 24hr 肿瘤内血流量处于最低值, 可能因此肿瘤内

乏氧细胞增多而影响放射治疗效果。此现象必须予以注意。

很多实验证明,加热后出现热耐受现象,一次加热后的热耐受,一般需七天左右方可消失,则此时为获得相同效应需用更高温度或加热时间更长,这已成为目前加热疗法的重要课题。热耐受现象有如下特点:① 正常组织与肿瘤均有热耐受现象;② 加热与照射时间相距较近时,热耐受不明显,相隔3~4hr热耐受较明显;③ 先照射后加热比先加热后照射产生的热耐受程度小;④ 热耐受持续时间与加热温度相关。目前,一般采用每周加热1~2次,合并常规放疗的办法减少热耐受的干扰。

热疗合并放疗的作用机理,热耐受的机制及其影响因素,有待于深入探讨。有人认为加热对肿瘤的作用中,增敏是次要的,加热杀灭细胞的毒性作用居主导地位。

2. 高传能线密度线性能量转移(Linear Energy Transfer, LET)射线

与低的LET射线相比,高LET射线具有如下优点:① 组织内剂量分布好,降低了正常组织受量,治疗增益系数大;② RBE值高。RBE值与照射剂量相关,低剂量RBE大,高剂量RBE相对较小;③ 对乏氧细胞的杀伤力相对较大,OER值小;④ 对S期细胞的杀伤较强。

高LET射线用于放射治疗尚存在一定问题:①高LET射线对正常组织的损伤效应与低LET射线不同,尚须进行大量研究。目前正在试用中子分次治疗或中子、X线混合治疗,这不仅需要了解中子对肿瘤的杀伤效应,还要知道中子对正常组织的影响。况且,不同组织,不同脏器对中子的吸收与效应也和X线不同,决不能以一种脏器的中子效应盲目推广至所有正常组织。美国现正将负 π 介子用于临床试验,而正常组织的损伤也是亟待阐明的问题。②高LET射线的设备价格昂贵,因此,临床上普遍试用受到较大的限制。

3. 时间—剂量—分次(Time-Dose-Fractionation, TDF)

迄今为止,时间—剂量—分次的研究仍以临床试验为主。我国天津、上海曾进行了一些实验研究;英国于70年代在每周剂量相同情况下比较2次/周与3次/周的临床疗效,结果两者无差异。EORTC (European Organization for Research in the Treatment of Cancer)正在全西欧组织每日多分次临床试验的大规模合作;美国正在探讨一次大剂量,每周少分次的临床试验。关键在于不同肿瘤要区别对待。这需要实验室提供不同人体肿瘤的放射生物学特点,供临床参考。

4. 乏氧细胞放射增敏剂^[1~5]

从1969年Adams提出硝基咪唑类药物以来,乏氧细胞的放射增敏剂发展很快,1976年开始Misonidazole(2-硝基咪唑*MISO)已进入临床试验阶段,现已完成临床I期和II期试验,1979年开始大规模随机分组III期临床试验。由于人体肿瘤再氧合情况并不清楚,故临床试验选用的肿瘤是多样的。

乏氧细胞放射增敏剂对肿瘤的作用机制主要是:细胞毒性作用,生化作用和直接的辐射化学作用,现正在深入研究。细胞毒性作用为硝基化合物通过生物还原作用转变为有细胞毒性的亚硝基化合物(nitroso)和羟基胺(hydroxylamine)衍生物;生化作用是指硝基类药物在乏氧情况下可减少细胞内谷胱甘肽(glutathione)的含量,而谷胱甘肽是细胞内的主要巯基化合物(sulphydryl),含氧细胞内谷胱甘肽的含量对细胞辐射敏感性影响不大,乏氧细胞缺少谷胱

* 全名为1-(2'-羟基-3'-甲氧基丙基)-2-硝基咪唑

甘肽将增加细胞辐射敏感性；直接的辐射化学作用是指照射瞬间，硝基类药物的高电子亲合力与细胞发生作用，使细胞致敏，但这与药物的浓度有关。实验证实药物 MISO 主要集中于实体瘤的乏氧细胞区域，其主要作用机制是增强细胞 DNA 的损伤。

近二、三年来兴起 MISO 与化疗药物合并应用的研究，并由离体细胞实验进入体内实验，证实 MISO 与常规化疗合用能加强对肿瘤的杀伤作用。已明确环磷酰胺、mephalan、CCNU 等药物与 MISO 合用有增强效果；大量工作证明 MISO 与双功能烷化剂和硝基脲类药物产生最大的相加作用；与其他化疗药物合用尚无肯定结论。目前，正在继续研究 MISO 的剂量与给药时间对化疗的影响。

1977 年 Hofer 等人开始将 MISO 与放疗或热疗合并应用，发现可明显增加乏氧细胞的放射敏感性，而对正常组织基本无影响或轻度增敏。MISO、放疗、热疗三者合用，对乏氧细胞的增强比可高达 4.3，TGF 可达 2.7~4.3。放射增敏剂的增敏效果与增敏剂本身、药物在细胞内浓度、照射前后给药、与细胞接触时间、细胞生化状态以及照射前细胞乏氧时间长短等有关。

MISO 的临床试验表明，其增敏比(SER)为 1.7~2.0。存在的主要问题是药物的毒性，它对神经的毒性作用不仅表现于末梢神经，还对中枢神经如脊髓，大脑都有影响，有些病人毒性反应相当严重。

此外，有人提出 MISO 类药物有抑制免疫作用，有致突、致癌的可能。总之，MISO 尚不能算为一个理想的放射增敏临床应用药物。所以，有必要再寻找新的放射增敏剂，目前国外主要从以下几个途径着手：

(1) 筛选其他硝基咪唑类药物 提高硝基咪唑药物的增敏比可以从两方面进行，一是在保持原来增敏效果的前提下，尽量减少药物毒性，一是寻找比 MISO 更好的增敏药物。

如减弱药物毒性已采取许多措施，其中改变药物的脂——水亲合分配系数(partition coefficient)便是有效方法之一，降低药物的亲脂性，使其不易进入神经系统，则可削弱药物对神经的毒性，并保持了原有增敏效能，MISO 是高亲脂性药物， $P=0.4$ ，其衍生物 Ro-05-9963(desmethyl misonidazole, DMM)亲脂性较低， $P=0.1$ ，此药正于临床 I 期试验中观察毒性作用。其次，神经毒性与电子亲合力有很大关系，电子亲合力低往往毒性亦小，但某些药物的增敏作用也会随之减少，S73-0662 药物，电子亲合力虽低于 MISO，但离体实验和体内实验均表明与 MISO 具有相同的增敏效果，该药已进入大动物实验阶段。

很多实验室正在寻找比 MISO 更强的增敏药物，其中有一些规律可循。第一，硝基咪唑 N_1 位侧链与放射增敏作用有关，4~5 个烷基的侧链，增敏比最高，若再加长碳链，药物毒性就会提高，RSU-1047(NSD32889)即是这种短链药物，增敏效应能与 MISO 相近，现正探讨两药之间的差异。第二，药物的电离均势(ionization equilibrium)是影响放射敏感性的重要因素之一，用带有可电离基团的 2-硝基咪唑类化合物进行离体实验，其放射增敏作用随电离常数 PK_a 值增大而增加，但毒性也随之加大，离体实验证明 Ro-03-8799 增敏效果较 MISO 更好，现已列入 I 期临床试验计划。第三，当用含硫化合物取代药物一定基团，可提高增敏效能，称之为 ortho-substituted imidazole。如用磺酸盐(sulphonate)、氨磺酰硫酸盐(sulphonamide)或砒醚基(sulphon ether group)置换于 4-硝基咪唑的 5 位，增敏作用大大提高。现正在寻找哪一类化合物能达到这种要求。第四，选择具有烷化剂作用的硝基化合物。但这项工作

尚处于初始阶段。

(2) 寻求非硝基咪唑类放射增敏剂 十年来,对硝基咪唑类药物的研究并未发现无神经毒性的药物。为此,寻找新的高电子亲和力的非硝基类化合物,正是当务之急,但目前尚未发现增敏比超过 MISO 的新药。

(3) 不同作用机制的增敏剂合并使用 合并应用几种放射增敏剂可加强各自的增敏效应。实验证明有相加作用的药物是: MISO + NSC38087; DEM (diethyl maleate) + 甲硝咪唑 (metronidazole) 或硝基呋喃 (nitrofurane); MISO + DEM; MISO + Diamide。

有人设想将 MISO 与抑制潜在致死损伤修复的药物合用,或设法改变肿瘤的氧呼吸,会提高药物的增敏比,如能奏效,将会对临床有很大意义。

我国在放射增敏剂方面也做了一定工作。实验证明,天津药物研究所提取的中药马蔺子甲素和杭州第一制药厂合成的乙双吗林,均有一定的放射增敏作用。

减少正常组织损伤

肿瘤治疗中的正常组织损伤,不是指在全身照射下随剂量不同所出现的造血型、胃肠型和脑型的急性放射损伤,往往因为局部照射野内总剂量过大造成,通常分次累积剂量需达 50~60Gy,在照射野相交处甚至高达 80~90Gy。正常组织损伤在放射治疗中是个很重要的问题,临床治疗中有时因照射野内重要脏器的损伤而限制了对肿瘤的治疗总量。

1 放射防护剂在肿瘤放疗中的应用^[6]

放射防护剂的研究目的在于保护正常组织,从而能加大剂量,提高射线对肿瘤的杀伤力。1969年 Yuhas 提出 WR-2721,可选择性保护正常组织,1977年 Sugahara & Tanaka 开始从事 WR-2721 对正常组织的防护研究。虽然防护机制尚未阐明,但已开展了临床 I 期试验其毒性作用。放射防护剂在放疗中应用的主要问题如下:

(1) 对正常组织与肿瘤的防护作用有无差异 WR-2721 对肿瘤没有防护作用是因为该药亲水性极强。实验证明,大部份肿瘤细胞只吸收亲水性低的药物,而正常组织细胞可允许亲水性高的药物进入。但是,实体瘤的实验又证明,有些肿瘤能为 WR-2721 所保护,Yuhas 解释为 WR-2721 在体内的脱硫产物可进入肿瘤。Denekamp 观测在不同氧浓度下,WR-2721 对动物的防护作用,实验证明防护作用与动物吸入的氧浓度有关,吸入 50% 的氧 WR-2721 的防护作用最大,PE=1.95;吸入 100% 氧时,PE 又下降到 1.6,这个结果可以解释 WR-2721 对肺的放射防护作用较小的现象。并提出 WR-2721 对肿瘤没有或较少防护作用,是由于肿瘤内氧张力普遍较低所致,而不是药物不易被肿瘤摄取。实验证明 WR-2721 对于有些肿瘤显示一定的防护效应。所以,防护剂在肿瘤放疗中应用,必须非常慎重,并需深入研究其作用机制。

(2) 防护剂与增敏剂合并应用问题 最理想的前景是使用防护剂保护正常组织的损伤,使用增敏剂加强射线对肿瘤的杀伤。但实验结果表明,使用 MISO 可降低 WR-2721 的防护效应,WR-2721 也削弱 MISO 对肿瘤的增敏作用,两药剂量比是个重要关键。所以,防护剂与增敏剂合并应用时,相互的拮抗作用是最大的障碍。

(3) 新防护剂的筛选 已对 20 多种化合物进行了初步观察,目前尚未得出明确结论。

1976年, 乏氧细胞毒性药物 5-Thio-D-glucose (5TG) 问世^[7], 对急、慢性乏氧细胞均有放射加强作用, 对含氧细胞无毒, 并有放射防护作用。其后, 在实体瘤内证实5TG有辐射加强作用^[8], 1981年实验证明对皮肤和小肠有辐射防护作用^[9]。现认为5TG具有防护正常组织和增加肿瘤内乏氧细胞放射敏感性的双重作用。当然, 尚需对各种不同肿瘤和正常组织使用5TG, 方可做出肯定结论, 并且需详细分析其作用机理。然而, 5TG的发现, 为辐射增敏和辐射防护研究开辟了一个新的途径。

2 正常组织放射后效应的研究

目前, 放射治疗中的急性反应已通过治疗工具的改良和治疗方案的改进, 以及某些药物的使用得以解决。由于肿瘤治疗后的存活时间不断延长, 肿瘤放射治疗的后效应, 常在主要脏器, 如肺、肾、皮肤、脑、脊髓等显现出来, 以致病人生活不能自理, 体力不能完全恢复, 严重时危及生命。所以, 放疗后效应日益为国内外放疗医生及放射生物工作者所重视。

迄今为止, 已对多种脏器的放射后效应进行了广泛研究, 但大多停留在照射后生理功能、组织形态、超微结构、生化改变和不同照射方法及不同质射线的影响, 而如何防治这些后效应的研究工作甚少。后效应防治研究主要集中在放射性肺纤维化课题, 激素、双香豆素(colchicin lathrogen、L-tri-iodorone、 β -propionitrite)等药物分别因疗效不显著或副作用过大而被淘汰。1978年Ward^[10,11]用青霉胺(D-penicillamine)预防放射性肺纤维化, 有一定作用并正深入观察生化改变, 但由于毒性作用其临床使用尚有一定困难。国内, 天津、北京等地对放射性脑损伤和放射性肺纤维化进行了实验研究。

肿瘤放射治疗要进一步提高疗效, 必须依靠肿瘤放射生物学的深入研究。目前, 肿瘤放射生物学研究内容丰富, 进展极快, 在方法学上也正不断改进, 以求更适合临床实验要求, 体内实验体外分析的技术已成为细胞放射生物学研究十分理想的方法; 而人体肿瘤异体移植(Xenograft)技术更向直接观察人体肿瘤放射效应迈出了一步。现今, 国外的肿瘤放射生物学研究工作在辐射生物学研究领域中占据相当大的比重, 在第六届国际辐射研究会议的论文中, 其中 $\frac{1}{3}$ 与肿瘤放射生物学有关。但是, 我国肿瘤放射生物学研究开展较晚, 力量较弱, 而摆在面前需要解决的结合临床放疗的放射生物学问题却是数不胜数的, 这是一个极需精心开垦的科学领域。

参 考 文 献

- [1] T. L. Phillips et al, Conference on chemical modifications, Radiation and cytotoxic drugs, Session I, Clinical results. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 327~389 (1982).
- [2] I. J. Stratford et al, Conference on chemical modifications, radiation and cytotoxic drugs, Session II, Mechanism of sensitization and Sensitizers. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 391~512 (1982).
- [3] N. J. McNally et al, Conference on chemical modifications, radiation and cytotoxic drugs, Session IV, Enhancement of chemotherapy agents. *Int. J. Radiat. Oncol., Biol. Phys.* 8, 593~674 (1982).
- [4] J. M. Brown et al, Conference on chemical modifications, radiation and cytotoxic drugs, Session V, Mechanisms of cytotoxicity and chemosensitization. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 675~803 (1982).
- [5] G. E. Adams, Accomplishments, problems and prospects: A conference summary. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 805~808 (1982).
- [6] J. M. Yuhas et al, Conference on chemical modifications, radiation and cytotoxic drugs, Session III,

- Protectors with radiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 513~588 (1982).
- [7] C. W. Song et al, Elimination of hypoxic protection by 5-thio-D-glucose in multicell spheroids. *Canc. Res.*, 38, 4499~4503 (1978).
- [8] C. W. Song. et al, Luther W. Brady ed. In Radiation sensitizers 1st ed. Vol 5 pp296~301. N. Y. Masson Publishing (1980).
- [9] V. L. Schuman et al. The radioprotective effects of 5-Thio-D-g; lucose on normal tissues in vivo. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 8, 589~591 (1982).
- [10] WF. Ward. et al, Modification of radiation-induced pulmonary fibrosis in rats. *Radiology.*, 131, 751~758 (1979).
- [11] WF. Ward, Radiation-induced pulmonary arterial perfusion defects: Modification by D-penicillamine. *Radiology.*, 139, 201~204 (1981).

(1982年12月1日收到)

ADVANCE IN TUMOR RADIOBIOLOGY

Shen Yu

(Cancer Institute Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

ABSTRACT

The importance of tumor radiobiology in radiotherapy, the content and advances of tumor radiobiology are briefly introduced.

KEYWORDS

Tumor radiobiology; Clinical radiobiology; Radiobiology; Radiobiological effect.