

# 辐射化学在辐射生物学发展和研究中的作用

闵锐

(第二军医大学海军医学系放射医学教研室 上海 200433)

**摘要** 辐射化学是连接辐射物理与辐射生物学的时空桥梁,其理论、模型和实验方法对促进辐射生物学的研究和发展起到不可缺少的重要作用。辐射诱导的化学变化不仅是辐射生物学效应的早期事件,在辐射诱导的DNA损伤与修复、生物辐射敏感修饰剂、辐射诱导的活性氧分子代谢和功能等研究领域都扮演重要角色。随着辐射生物学效应研究朝着系统辐射生物学方向发展,辐射生物学效应发生机理的精确研究和定量描述更需要辐射化学的方法和手段支持。

**关键词** 辐射化学, 辐射生物学, 辐射生物学效应

**中图分类号** R142<sup>+</sup>.3, R339.5<sup>+</sup>7, R363.1<sup>+</sup>21

辐射化学(某种程度也可理解为自由基化学)和辐射生物学都是伴随着辐射物理而建立和发展起来的。但在辐射生物学的建立和发展过程中,辐射化学不仅起到连接辐射物理与辐射生物学之间时空桥梁的作用,其理论、模型和实验方法对促进辐射生物学的研究和发展起到不可缺少的重要作用。运用辐射化学的理论,了解到自由基在辐射诱导的各种生物学效应(如大剂量辐射损伤效应,低剂量辐射的致癌效应和其他效应)中的重要作用;运用辐射化学的模型和实验方法,才有可能对某种特异自由基的产生、活性、扩散和与生物分子作用的机制和动力学过程进行研究,进而在分子水平对辐射诱导的损伤和修复、辐射诱导的畸变和生物的辐射敏感性等进行定性和定量分析;运用自由基化学的动力学原理我们得以研究“活性氧”(Reactive oxygen species, ROS)和“活性氮/氧”(Reactive nitrogen/oxygen species, RNOS)成分在辐射诱导的生物效应多样性中的作用,以及辐射修饰剂(增强或钝化辐射的作用)在放射治疗和辐射防护中的作用和效果。随着辐射生物学效应研究朝着系统辐射生物学方向发展,辐射诱导生物学效应的多样性现象和复杂的发生发展过程仍将依赖辐射化学的理论、模型和定性、定量实验方法进一步深入观察和研究。

## 1 辐射诱导的化学变化是电离辐射生物学效应的早期事件

从时序来讲,电离辐射诱导生物学效应的发生主要经历物理、化学和生物三个阶段,时间跨度从 $10^{-16}$ s到数十年,约25个量级<sup>[1]</sup>。首先,电离辐射通过电离、激发和碰撞的方式与生物物质(生物介质、

生物大分子和组织细胞)直接作用称为辐射的原发物理作用;其次,原发物理作用诱导生物介质和生物分子产生自由基和其他辐射活性分解产物,通过传播和扩散与生物分子和组织细胞成分发生反应和作用称为间接继发化学作用;最后,在辐射的原发和继发作用下,发生在分子和细胞水平的生理生化改变导致组织器官、系统和整体水平的功能和代谢等自体 and 异体的急、慢性改变称为生物学效应。鉴于辐射诱导的不同生物学效应产生具有不同时序,影响这些效应的因素来自于物理(如不同LET射线的种类、剂量和剂量率),生物(如个体的遗传背景、年龄、性别、生理健康状况),和其他与照射相关的条件和方式(如局部还是全身照射、单次还是分次照射、有氧还是乏氧照射、常温常压还是高(低)温高(低)压照射等),可将电离辐射诱导的生物学效应分为随机效应(即效应的发生率随剂量增加而增加,无剂量阈值,如各种致癌效应和遗传效应)和确定效应(效应出现受照剂量需达到一定阈值,超过此阈值效应的严重程度随剂量增加而增加,如皮肤的脱毛效应和红斑效应,眼睛的白内障效应等)两类。

虽然低剂量电离辐射诱导的生物学效应需要很长时间才能被观察到(如低剂量诱导的基因不稳定性有可能成为日后恶性疾病或癌症发生的直接原因,其遗传效应隔代才能观察到),但并不否定电离辐射诱导生物学效应的高效性,如人体全身接受4Gy X射线的照射,所提供的能量只相当于饮用3 mL热咖啡提供的能量,这种能量对体温的影响微乎其微,但在60 d内将会使一半受照者死亡( $LD_{50/60}$ )<sup>[2]</sup>,有人认为电离辐射诱导生物学效应的高效性很大程度取决于辐射化学(或自由基化学)

国家自然科学基金(30970874)资助

第一作者:闵锐,男,1957年9月出生,1994年毕业于第三军医大学,获博士学位,教授,主要从事放射生物学教学和研究

收稿日期:初稿 2009-07-09,修回 2009-09-01

在辐射物理和辐射生物学之间的桥梁和传播放大作用,电离辐射效应其实就是一种失电子和得电子的自由基化学效应。这种观点虽不完全正确,但足以说明辐射化学在电离辐射诱导生物效应过程中的重要作用。

在讨论辐射生物学与辐射化学关系时还有一点应该明确,即根据与物质作用的方式,辐射分为电离辐射(Ionizing radiation)和非电离辐射(Non-Ionizing radiation)两类,从生物学的角度,两种辐射在作用机理、反应过程和导致的最终结果方面都明显不同。非电离辐射与生物物质作用主要通过发生在分子、细胞或组织器官水平的震动、震荡和摩擦的方式产生热或非热效应,效应的发生与辐射的频率、单位面积和单位长度吸收的辐射能量、个体和组织器官的敏感性等因素有关,有一定的频率或效应窗。由于非电离辐射多不能产生电离(少数高频紫外线可诱导产生电离)效应,其与生物作用致生物学效应的发生过程明显缺乏像电离辐射那样有辐射化学的重要参与。因此,目前讨论的辐射生物学与辐射化学的关系确切地说是指电离辐射生物学与辐射化学的关系。

## 2 DNA损伤和修复研究中的辐射化学

过去认为DNA是辐射诱导生物学效应发生最重要的靶分子,辐射诱导的DNA损伤是导致一些早期(如细胞死亡)和远期(如致癌和致畸)效应的根本原因。现在认为DNA固然重要,但某些生物学效应的发生经历漫长的过程,在这一过程中DNA损伤修复系统,以及与DNA、蛋白质合成、功能和代谢调节和其他维系细胞内稳态起重要作用的“非靶”成分在辐射诱导生物学效应发展中也起非常重要的作用,即所谓辐射损伤的“非靶”效应<sup>[3]</sup>。利用辐射化学的研究方法陆续发现电离辐射通过直接作用和自由基的间接作用如何诱导DNA损伤, DNA损伤的一些基本形式,如DNA单、双链断裂(SSB, DSB)、DNA交联(链间、链内、链与蛋白质之间交联等)、碱基损伤和脱落、嘧啶二聚体形成等,和一些容易发生损伤的DNA位点<sup>[4]</sup>。之后,在20世纪80年代末90年代初又运用辐射生物物理和辐射化学知识进一步发现和证实辐射不仅诱导单一DNA损伤,同时还可以在射线的轨迹方向形成涉及数十对DNA碱基包含多种损伤方式的DNA簇性损伤(DNA cluster damage)<sup>[5]</sup>,这种DNA簇性损伤十分复杂且不易修复,不同DNA位点的簇性损伤往往是电离辐射致生物损伤效应和遗传效应的主要原因,高LET射线的照射尤为如此。目前虽然

不能排除存在内源性DNA簇性损伤的可能性,但DNA簇性损伤基本上可看作是电离辐射损伤的“指纹”<sup>[6]</sup>。运用辐射化学和自由基化学知识研究辐射诱导的DNA簇性损伤的形式和发生在同一DNA链上相邻部位涉及两个或多个位点的串联(Tandem)损伤形成的机制表明, $\gamma$ 射线诱导的DNA簇性损伤形式涉及到8个碱基和几个糖基<sup>[7]</sup>,串联损伤的形成与自由基链内的传递有关。由于高LET和低LET射线都能诱导DNA簇性损伤,而DNA簇性损伤不仅包括SSB和DSB,也包括其他DNA损伤的形式,那么不同射线诱导的DNA簇性损伤在形式和内容方面有什么不同?包含DSB和不包含DSB的DNA簇性损伤在损伤发生的位点,修复机制和可修复性,修复后细胞的命运等方面有什么不同?这些问题都有待于运用辐射化学的理论和实验方法去进一步阐明。最近的一些研究表明,在照后早期少量非DSB性DNA簇损伤可转化为DSB<sup>[8]</sup>,簇内DNA损伤的修复效率与DNA损伤的方式、损伤之间的距离和损伤端DNA序列的相对方向有关,而且簇内DNA损伤的切除修复方式与过去在原核和真核细胞研究发现的碱基切除修复(Base excision repair, BER)方式有所不同<sup>[9]</sup>。虽然有报道<sup>[10]</sup>串联损伤位点妨碍细胞修复增加突变的频率,但同一DNA链上的串联损伤的修复效率仍不是很清楚。最近发现单个羟自由基也能诱导复杂的DNA串联损伤<sup>[11]</sup>,这使如何用辐射化学方法来研究各种DNA损伤和修复方式与生物学效应间的关系变得更有挑战性。

## 3 辐射修饰剂研究中的辐射化学

研究表明,电离辐射生物学效应可通过物理(如温度、气压和非电离辐射因素)、化学(如分子、基团和特定化学反应)和生物因素(如各种动植物、细菌和病毒的特殊蛋白,蛋白和DNA合成原料的类似物)进行增敏和钝化的双向修饰。由于辐射化学具有建立特异化学反应模型,能定量或实时监测反应过程中分子动力学过程等特点,因此无论何种修饰研究尤其是化学修饰剂,都离不开辐射化学的方法和手段。如针对肿瘤放疗发展的一些乏氧细胞增敏剂就是根据辐射化学的概念发展起来的。这类增敏剂通过在乏氧细胞中增加氧浓度增强细胞的辐射敏感性,如硝基芳香剂类增敏剂可模拟氧与损伤的靶分子自由基DNA作用形成过氧化物将DNA的损伤“固定”下来,使DNA损伤失去“化学修复”机会而起到辐射增敏作用<sup>[12]</sup>。这种“DNA损伤固定”学说源于用辐射化学方法发现芳香剂类化合物

可以以一种氧化还原依赖的方式与 DNA 糖自由基模型中的乙醇和醚自由基反应形成加合物, 这个过程非常类似于氧依赖的嘧啶过氧化自由基的形成。然而, 有放射生物学家认为氧具有很强的亲电子能力, 能夺走电离辐射过程中产生的电子, 从而使生物靶分子失去通过电子复合自身复原的机会, 可见硝基芳香剂类化合物在乏氧细胞内究竟如何起增敏作用仍有待进一步阐明。最近研究发现<sup>[12]</sup>, 氧有利

于自由基从碱基传递到糖基, 而糖自由基与硝基芳香类化合物的反应可使放大损伤效应。因此, 现在有人认为放射生物学中的氧效应主要是通过氧使自由基从 DNA 的碱基向糖基扩散, 以这种传递方式将损伤放大, 而氧效应中的损伤固定作用是次要的。氧与硝基芳香剂参与 DNA 损伤传递放大过程见图 1 和图 2<sup>[12-14]</sup>。

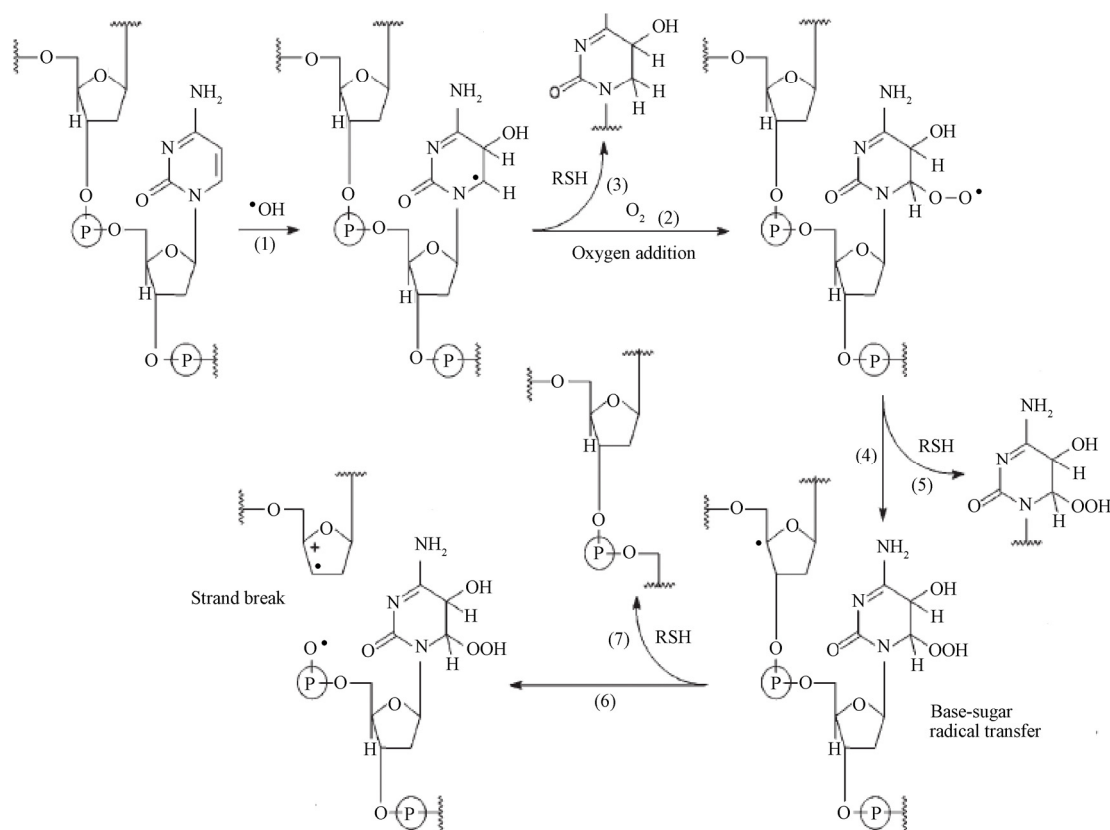


Fig.1 The pathways of enhancing damage induced by radiation and oxygen addition

图 1 表明, 首先羟基与 DNA 作用形成碱基自由基, 接着氧的引入使碱基过氧化自由基向糖自由基转化, 转换后的 DNA 糖基自由基因磷酸戊糖二脂键键裂而发生 DNA 单链断裂 (上述氧加入、碱基-糖自由基转化和磷酸戊糖二脂键键裂过程均与巯基损伤过程竞争)。

图 2 表明, 羟基加合到 DNA 碱基 5 位, 形成 6 位碱基自由基。硝基咪唑再加合到 6 位形成长寿命加合物。该加合物类似于过氧化自由基, 可以从戊糖中抽氢形成戊糖自由基, 导致戊糖与磷之间的链断裂, 即所谓 DNA 单链断裂。糖自由基在硝基咪唑的参与下还可以进一步发生氧化加成作用, 导致损伤放大。

另一类古老的辐射致敏剂是一氧化氮 (NO), 但最近发现低剂量辐射时 NO 的致敏效果优于氧<sup>[15]</sup>, 而且 NO 还是一种细胞内传导信号分子, 组织内 NO 浓度探测对于放疗预后积极意义, 一些治疗肿瘤方法, 如基因和免疫治疗是通过增加组织内 NO 自由基浓度来实现的<sup>[16,17]</sup>。NO 和 O 化学性质相同, 两种形式的自由基与其他自由基的反应都相当迅速, 但他们的电学性质不尽相同, 如三线态氧是一种新的自由基, 而 NO 之间存在一个自旋配对的键, 不属于自由基, 因此两者在辐射致敏机制和效果方面很可能不一样。包括在信号传导和肿瘤治疗评价中应用 NO 作用机理, 都需要用辐射化学方法进一步研究。

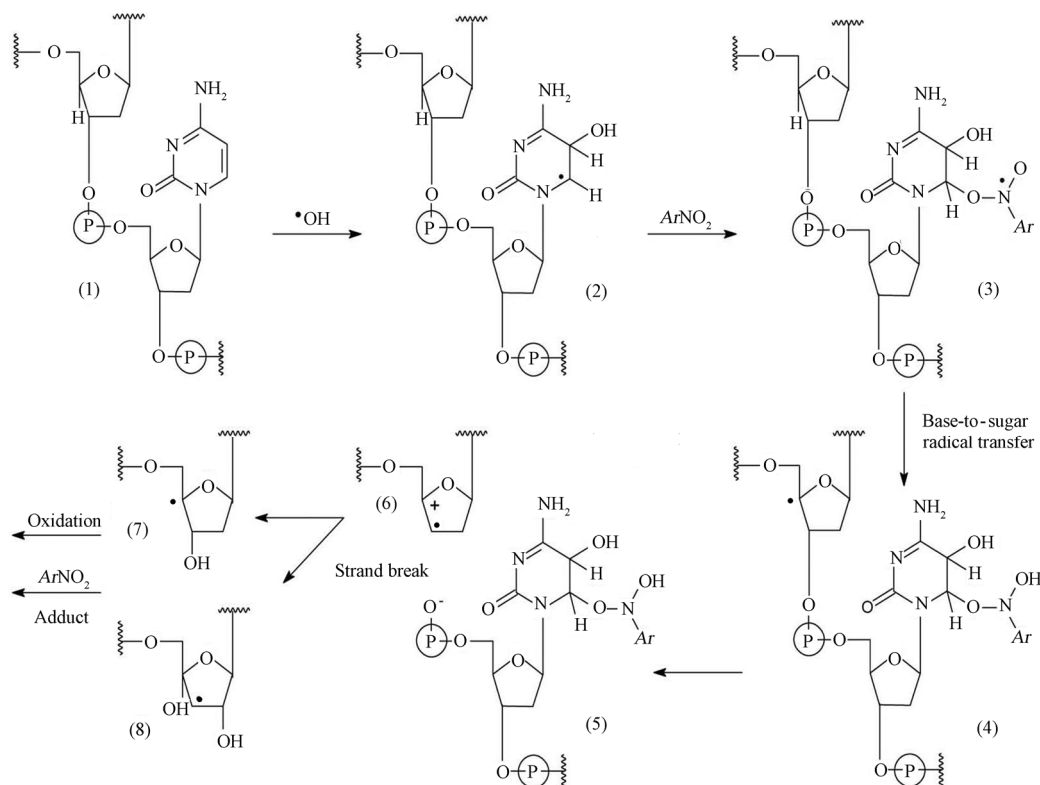


Fig.2 The pathways of enhancing damage induced by radiation and Nitroaromatics addition

在辐射防护药的研究过程中辐射化学起的重要作用也是如此。无论是根据自由基清除学说, 减弱“氧效应”学说, 提供氢原子使靶分子迅速修复学说还是辐射能转移学说, 从原理上都是通过辐射化学的变化达到减轻辐射对靶分子损伤的目的, 从研究手段上都离不开辐射化学方法。最近有人发现气体氢是非常好的羟自由基特异清除剂, 可有效清除缺血再灌注过程中产生的羟自由基, 保护组织免受损伤<sup>[18,19]</sup>。但由于电离辐射可诱导机体产生多种自由基和其他辐解产物, 包括氢气, 氢气能否通过特异清除羟自由基起辐射防护作用? 如能, 适用的照射剂量范围有多大? 如不能起辐射防护作用, 能否在放射损伤的治疗尤其是远后效应的治疗(如炎症)中起作用? 此外, 另一类重要的水辐解分解产物非自由基水合电子在辐射修饰中的作用也值得化学家的关注。可见辐射化学在辐射生物学和辐射防护学研究领域仍可大展宏图。

#### 4 活性氧/氮探测和在信号传导作用研究中的辐射化学

过去虽然发现胞浆内也存在致细胞染色体损伤的化学物质, 辐射导致的基因组不稳定性也可产生与辐射直接作用同样的后效应, 但由于人们对DNA是辐射作用的靶分子的记忆过于牢固, 以至于忽视了对电离辐射“非靶效应”机制的研究。辐射的“非

靶效应”涉及辐射诱导的损伤信号分子在细胞内和细胞间的长期存在和传递, 除了一些已经发现参与“非靶效应”调节和信号传导的细胞因子外, 各类自由基及类自由基活性成分在这一过程中的重要作用不可忽视, 许多自由基同时也是信号传导分子。然而, 过去关注的重点似乎都放在ROS, 而忽视其他活性物质, 如RNOS的生物学活性和作用的重要性。近年来, 随着研究方法和技术的发展, 有关活性氮在放射治疗与细胞凋亡、辐射致癌效应与低剂量辐射效应相关的信号传导过程研究文章远远超过活性氧研究, 如NO在所谓的“旁效应”现象中被认为是重要的信号传导分子, 同时NO在乏氧组织和炎症部位的定位和在肿瘤治疗的疗效评价, 硝基化合物作为探针在检测自由基和在乏氧肿瘤细胞诊断都有重要生物学意义<sup>[20-22]</sup>。

用荧光或化学发光探针的方法研究自由基的形成、扩散和对生物组织的某种状态(如乏氧或炎症)进行示踪是目前自由基化学和辐射化学研究的兴趣之一<sup>[23,24]</sup>。其基本思路是基于活性氧设计, 以及能与活性氧发生特异反应产生荧光或叫做化学发光的研究方法, 以发生的氧化反应对自由基的生成和扩散进行探测, 对乏氧和炎症部位进行组织定位。然而, 常用的dihydrofluoresceins和rhodamines荧光探针与多数活性氧的反应性较低, 考虑到还可能还存在内源性抗氧化剂对探测信号的猝灭, 上述荧光探

针不宜用来直接测量一般的氧化、过氧化和过氧化氢的氧化反应。解决这些问题,尤其对活性氧进行定量测定还是需要借助辐射化学研究手段。目前已有较好的解决思路,即既然辐射化学已经可以对一个体系中产生的自由基进行定性,并对其产额进行定量,那么设计一种能与各种活性氧反应的灵敏探针(如硝基咪唑类),就可实现该探针可与各种活性氧以不同的速率常数进行反应(反应速率差变化至少在5个数量级),通过不同反应速率常数测定便可对所探测的活性氧进行区别<sup>[13,25]</sup>。但由于探针可能同时与多种活性氧发生反应,氧化后的探针还可能与一些目前尚不确定的物质发生后继反应,涉及的反应速率常数未知,同时还会遇到探针的生物摄取率不确定等实际问题形成瓶颈,使探针测定方法应用受限,解决这些瓶颈问题有待辐射物理和辐射化学研究的深入。

总之,随着辐射生物学研究的深入,辐射化学在辐射生物学效应的原发和继发机理,“靶”和“非靶”效应中的信号传递,低剂量辐射诱导的各种生物学效应解释,以及在放射治疗学和辐射防护学的诸多研究中的应用会越来越广泛和深入。

## 参考文献

- Boag J W. Twelfth Failla Memorial Lecture. New York: Academic Press, 1975: 9-29
- Hall Eric J. Radiobiology for the Radiologist. New York, Lippincott Williams and Wilkins, 2000: 1-9
- Seymour C, Mothersill C. Dose Response, 2006, **4**(4): 277-282
- Cadet J, Douki T, Ravanat J L. Acc Chem Res, 2008, **41**(8): 1075-1083
- Greenberg M M. Org Biomol Chem, 2007, **5**(1): 18-30
- Bennett P V, Cintron N S, Gros L, *et al.* Free Radic Biol Med, 2004, **37**(4): 488-499
- Cadet J, Bellon S, Douki T, *et al.* J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2004, **23**(1): 33-43
- Gulston M, de Lara C, Jenner T, *et al.* Nucleic Acids Res. 2004, **32**(4): 1602-1609
- Dobbs T A, Palmer P, Maniou Z, *et al.* DNA Repair (Amst), 2008, **7**(8): 1372-1383
- Cunniffe S M, Lomax M E, O'Neill P. DNA Repair (Amst), 2007, **6**(12): 1839-1849
- Regulus P, Duroux B, Bayle P A, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 2007, **104**(35): 14032-14037
- Overgaard J. J Clin Oncol, 2007, **25**(26): 4066-4074
- Wardman P. Br J Radiol, 2009, **82**(974): 89-104
- O'Neill P, Wardman P. Int J Radiat Biol, 2009, **85**(1): 9-25
- Wardman P, Rothkamm K, Folkes L K, *et al.* Radiat Res, 2007, **167**(4): 475-484
- McCarthy H O, Worthington J, Barrett E, *et al.* Gene Ther, 2007, **14**(3): 246-255
- De Ridder M, Verovski V N, Chiavaroli C, *et al.* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, **66**(5): 1473-1480
- Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, *et al.* Nat Med, 2007, **13**(6): 688-694
- Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, *et al.* Biochem Biophys Res Commun, 2007, **361**(3): 670-674
- Bauer G. Int J Radiat Biol, 2007, **83**(11-12): 873-888
- Shao C, Folkard M, Prise K M. Oncogene, 2008, **27**(4): 434-440
- Portess DI, Bauer G, Hill M A. Cancer Res, 2007, **67**(3): 1246-1253
- Wardman P. Free Radic Biol Med, 2007, **43**(7): 995-1022
- Wardman P. Radiat Res, 2008, **170**(3): 406-407
- Folkes L K, Patel K B, Wardman P, *et al.* Arch Biochem Biophys, 2009, **484**(2): 122-126

## Roles of radiation chemistry in development and research of radiation biology

MIN Rui

(Division of Radiation Medicine, Department of Navy Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT** Radiation chemistry acts as a bridge connecting radiation physics with radiation biology in spatial and temporal insight. The theory, model, and methodology coming from radiation chemistry play an important role in the research and development of radiation biology. The chemical changes induced by ionizing radiation are involved not only in early event of biological effects caused by ionizing radiation but in function radiation biology, such as DNA damage and repair, sensitive modification, metabolism and function of active oxygen and so on. Following the research development of radiation biology, systems radiation biology, accurate quality and quantity of radiation biology effects need more methods and perfect tools from radiation chemistry.

**KEYWORDS** Radiation chemistry, Radiation biology, Biological effect induced by radiation

**CLC** R142<sup>+</sup>.3, R339.5<sup>+</sup>7, R363.1<sup>+</sup>21