

细胞辐射敏感性与核骨架系统

罗 瑛 孙志贤

(军事医学科学院放射医学研究所 北京 100850)

电离辐射是以基因为靶的毒性刺激,其损伤广泛且影响深远。人和哺乳类动物细胞的辐射敏感性及其分子学机制,已成为放射生物学和肿瘤生物学研究中广为关注的问题。

电离辐射所致 DNA 结构损伤主要包括单链或双链断裂、DNA-蛋白质交联、DNA 链内或链间交联、碱基修饰、糖基氧化等。早期工作主要集中在双链断裂或单链断裂的细胞学效应方面,研究表明,细胞的死亡与双链断裂直接相关,因而倾向于认为细胞的辐射敏感性取决于其受辐射产生的初始损伤量^[1]。1979年 Olive 等提出^[2],细胞的辐射敏感性与 DNA 链断裂数目并不直接相关,而是其损伤与修复等多种因素综合作用的结果。其后大量的研究事实表明,异种细胞或同种细胞不同亚类的辐射敏感性差异与染色质结构状态的差异有关,很有可能是后者导致了细胞辐射敏感性的不同。因此,研究细胞辐射敏感性的分子学机制的关键在于认识调控细胞染色质结构的物质及其调控方式。

染色质精细结构的研究表明,核骨架系统(nuclerskeleton system)为其空间结构的相对稳定性与可调性奠定了基础,也为 DNA 复制、转录及损伤修复等重要生命活动提供了不可缺少的基质环境^[3]。依赖于核骨架而存在并参与染色质结构与功能调控的相关蛋白质系统,已成为细胞辐射敏感性研究中新的热点。

本文拟以核骨架系统及其功能为基础,阐述其与细胞辐射敏感性的关系。

一、核骨架系统及其功能

人们对核骨架的认识始于形态研究。Berezney 等^[4]用非离子去污剂进行系列抽提,

经 DNase I 简单消化,再以低渗、高渗缓冲液处理得到一种不溶性结构物,其大小、形状与核相似,保留了部分核膜及核纤层、核孔等结构,其内容物为纤维颗粒蛋白(fibrogranular protein)和 RNA 组成的网架。随着分离技术的不断改进,人们对核骨架系统的认识也不断发展,它并不是一种固定不变的结构,而是处于动态平衡的动力网状体系,对核结构的形成和稳定具有重要意义^[3]。

哺乳动物细胞中的 DNA 总长约 50 厘米,卷曲在直径约 10 微米的核内,压缩可达 50 000 倍,由此产生一个 DNA 拓扑结构的问题。另一方面,高度压缩成染色质的 DNA 在复制和转录过程中又具有相对松散的结构。这种结构上的弹性从何而来?它是怎样严格、精确地随细胞周期而变化的?又是怎样因此得以进行基因的选择性表达的?结合在核骨架上的环区为此提供了一定的解释。

一定程度缠绕的 DNA 以其特定区域(核骨架结合区, Matrix Attachment Regions, MARs)与核骨架上的 DNA-核骨架结合区蛋白(Attachment Region Binding Protein, ARBP)相结合而附着于核骨架上,其游离部分则形成环区(DNA loop),是 DNA 超螺旋结构的基本功能单位。Jens 等^[5]对 ARBP 与 MARs 之间关系的研究证实了 ARBP 是核内网架系统的组分,在核内大量存在。它与 MARs 的协同性结合可导致功能性环区的形成,其拓扑结构的改变是转录所必需的。Marilley^[6]等以非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的 rDNA 为材料研究了核的 DNA 环区与表达单位(expression unit)、复制子(replicon)三者之间的关系,发现它们在结构上紧密相关。进一步研究表明,

rDNA的一个单基因环区也就是一个复制子。对具转录活性rDNA的研究发现,位于转录基因5'端的非转录序列与rDNA结合到核骨架上有关,且这一结合位点有可能包含DNA复制起始点。目前已确知这一复制起始点与40S转录启动子紧密相连,在启动子的上游与核骨架的锚泊区可能还包括一些增强转录的因子。这一情况暗示了DNA是通过形成环区来确定其复制和转录的起止区段,转录启动子40S与终止子T3分别位于环区两端,两者很有可能作为一个大的复合物协调作用。Cook等^[7]研究了核骨架与复制拓扑学的关系,认为活性的DNA多聚酶与核骨架相结合,复制过程是在核骨架所附的功能性环区内进行的。由此可知,细胞通过形成DNA环区这个基本功能单位,不仅分散了DNA压缩成染色质所造成的压缩势能,解决了DNA拓扑结构的问题,而且由于环区的存在,使DNA的松弛过程分区进行。这样既满足了复制、转录中所需的拓扑学状态,又不影响核内其他功能的正常进行,并利于基因的选择性表达。此外,复制子与表达单位在结构上的密切相关使DNA选择表达的特性有可能通过复制传给子代细胞,使其在进化中保持下去。

因此,核骨架借助一定的附着位点与DNA结合,维持了特定的空间结构,并可起到划分核内功能区的作用。但核骨架的功能远不只是一个支架系统,其上含有的多种酶、蛋白质,如DNA拓扑异构酶I和II、聚腺苷二磷酸核糖基聚合酶、DNA甲基化酶等以核骨架为媒介作用于DNA,通过其细胞内代谢活性的改变及含量的消长来调节DNA的拓扑构象随细胞生长状态而变化。因而核骨架与DNA的复制、转录及调控,转录产物的加工,激素作用信号传递等多种重要的细胞生命活动密切相关,为这些生命过程提供一个固相反应场所^[8]。

有意义的是,游离环区同时也是辐射损伤的敏感靶位,推测其原因有二:1、游离于核

内,远离位于DNA-核骨架结合区的修复酶复合物;2、具有极重要的功能,其损伤的细胞学后果严重,表现为辐射高敏靶位。

二、核骨架系统与辐射敏感性

如上所述,环区的形成与核骨架系统密切相关,核骨架蛋白组成的差异可导致环区结构(DNA链的长短及其螺旋状态)的不同,在宏观上表现为染色质结构的差异。因此,比较研究染色质结构的差异及其核骨架蛋白组成已成为细胞辐射敏感性机理研究中的一个重要方面。

多数学者认为开放、松散的DNA结构,如处于复制、转录过程的DNA或由于缺乏某种调控分子而松弛的DNA结构易于受到辐射损伤。

Ljungman^[8]的实验证明,结构紧密的染色质经电离辐射诱导的链断裂比松散染色质的低6倍,而比去除蛋白的染色质低80倍。因此,DNA结合蛋白的存在、染色质结构的完整性可大大降低辐射所致DNA损伤。这些蛋白组分对DNA也具有很强的保护作用,通常认为可经两个途径实现:1、通过结合在DNA上调节其超螺旋状态,使损伤因子难以靠近。2、许多蛋白组分可直接参与清除自由基等辐射所致损伤因子。

Taylor^[9]等发现永生性细胞系具较松散的DNA结构,转化细胞较非转化细胞、淋巴瘤细胞较淋巴细胞更具松散的DNA结构。这表明细胞增殖状态的改变伴随有DNA结构的变化,而增殖状态的改变往往也伴有辐射敏感性的改变,处于活跃增殖状态的细胞对射线更为敏感。

研究表明,染色质结构上的差异是由核骨架蛋白组成的不同来调控的。Kapiszewska^[10]等研究了辐射抗性细胞株(L5178 Y-R)和敏感株(L5178 Y-S),发现后者缺少一种55 kD的核骨架组成蛋白而导致其DNA与核骨架结合松散,受照后易产生链断裂而不易修复,

表现为照射后细胞 DNA 结构较抗性株松弛。Gordon^[11]等对 V 79 细胞的研究得到了类似结果。他们发现在培养中成球状生长的 V 79 细胞比成单层生长的更具辐射抗性,这与其胞内存在的一种 55—60 kD 蛋白质有关。另外,球状 V 79 细胞的 DNA-蛋白质基质更能抗去污剂的降解。这些都表明球状 V 79 具有一个更稳定的 DNA 结构以利于损伤修复。

患运动失调性毛细血管扩张症 (ataxia-telangiectasia, AT 症) 的病人为研究 DNA 超螺旋结构与辐射敏感性的关系提供了一个人类细胞模型。这种遗传性疾病的病理特征为进行性神经退化、免疫缺陷、染色体不稳定、淋巴组织癌症易感、对电离辐射和其他 DNA 链断裂剂敏感等^[12]。用早熟染色体凝集技术研究表明, AT 症患者的细胞中染色体断裂是正常人细胞的 5—6 倍;质粒经限制性内切酶切割后转染 AT 患者细胞,观察细胞对酶切形成的 DNA 断裂的修复情况,发现其 DNA 双链断裂重接准确性降低。此外,在 AT 患者细胞中还可见到不受辐射损伤影响的 S 期 DNA 合成现象,不利于损伤的修复。进一步研究揭示^[13], AT 患者细胞的染色质结构较为松散,反映了 DNA-核骨架结合位点的不稳定性,核骨架蛋白含量的变化可能与此有关。

以上研究都支持这一观点,即结构松散的 DNA 具有较高的辐射敏感性。但也有研究者^[14]认为,细胞的辐射敏感性随单位细胞容积中染色体数目而增加。同时,如果染色体包装得越紧密,细胞的辐射敏感性也越高。这些争论有待新的研究事实证明。

如前所述,拓扑异构酶、聚腺苷二磷酸核糖基聚合酶等是核骨架的组成蛋白。因其在调节染色质结构中的关键作用,它们与细胞辐射敏感性的关系也已成为研究热点。

Olive^[15]等研究了辐射抗性的 V 79 球状细胞与敏感的单层细胞中拓扑异构酶的活性,发现前者拓扑异构酶 II 的水平远低于后者,认为这与两种细胞的辐射敏感性差异有关。几种

对 X 射线敏感的细胞系 (BLM-2, XR-1, XRS-1, ADR-3, L 5178 Y-S) 皆表现出对拓扑异构酶 II 抑制剂的交叉敏感性,如果其敏感性与拓扑异构酶含量正相关,则说明这些细胞中含有较多量的拓扑异构酶 II^[16]。在照射后发生的聚腺苷二磷酸核糖基化作用中,拓扑异构酶 I 是主要的受体。聚腺苷二磷酸核糖基化作用抑制了其活性,表明在 DNA 修复中需要使拓扑异构酶 I 失活^[17]。与此相一致,拓扑异构酶 I 的激活剂 β -lapachone 可增强 X 射线的损伤效应并可抑制 X 射线所致 DNA 损伤的修复。这可能是由于拓扑异构酶 I 活性上升导致辐射后 DNA 的复制、转录继续进行而不利于进入修复。但也有反例: Epstein^[18]等发现在人乳腺癌细胞中用雌激素刺激拓扑异构酶含量上升可增强细胞对拓扑异构酶 II 抑制剂的敏感性,但其对电离辐射的敏感性不变。

聚腺苷二磷酸核糖基化作用在 DNA 的损伤修复中也有重要意义。Krupita^[19]等发现 DNA 链断裂可激活聚腺苷二磷酸核糖基聚合酶活性,使其自身及拓扑异构酶 I 聚腺苷二磷酸核糖基化,以利于损伤的修复。另外,聚腺苷二磷酸核糖基聚合酶在细胞内的浓度随细胞由 G₀ 期向 G₁ 期的转变而上升,同时伴有细胞辐射敏感性的上升^[20]。

三、结 语

综上所述,细胞辐射敏感性与 DNA 拓扑构象密切相关,其调控的分子基础在于核骨架系统的蛋白因子,但调控机理尚不清楚。目前研究者正致力于几种关键酶蛋白与 DNA 相互作用的研究,以期揭示细胞辐射敏感性的分子机制,推动放射生物学、肿瘤生物学等应用研究的发展。

摘 要

哺乳动物细胞辐射敏感性的分子学基础,是放射生物学及肿瘤生物学研究中的关键问题之一,本文以核骨架系统及其功能为基础,阐

述了核骨架系统、染色质结构与细胞辐射敏感性三者间的重要相关性。

参 考 文 献

- [1] Peacock, J. H. et al., 1989, *Int. J. Radiat. Biol.*, 56 (5): 543—547.
- [2] Olive, P. L. et al., 1979, *Radiat. Res.*, 78: 50—60.
- [3] Nelson, W. G. et al., 1986, *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*, 15: 457—475.
- [4] Berezney, R. et al., 1974, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60: 1410.
- [5] Jens P. Von Kries, et al., 1991, *Cell*, 64: 123—135.
- [6] Marilley, M. et al., 1989, *Exp. Cell Res.*, 180: 475—489.
- [7] Cook, P. R. et al., 1991, *Cell*, 66: 627—635.
- [8] Ljungman, M. 1991, *Radiat. Res.*, 126: 58—64.
- [9] Taylor, Y. C. et al., 1991, *Exp. Cell Res.*, 197: 222—228.
- [10] Kapiszewska, M. et al., 1991, *Radiat. Res.*, 127: 285—291.
- [11] Gordon, D. J. et al., 1990, *Radiat. Res.*, 121: 175—179.
- [12] Border, E., 1985, *Ataxia-telangiectasia, an overview. Ataxia-Telangiectasia: Genetics, Neuropathology, and Immunology of a Degenerative Disease of Childhood*, edited by R. A. Gatti and M. Swift (Alan R. Liss, New York), pp 1—63.
- [13] Taylor, Y. C. et al., 1991, *Int. J. Radiat. Biol.*, 59: 359—371.
- [14] 夏寿萱 主编, 1992, 分子放射生物学, 原子能出版社。
- [15] Olive, P. L. et al., 1991, *Int. J. Radiat. Biol.*, 60: 453—466.
- [16] Robson, et al., 1987, *Cancer Res.*, 47: 1560—1565.
- [17] Downes, et al., 1988, *BioEssays*, 8: 179—183.
- [18] Epstein, et al., 1988, *Cancer Res.*, 48: 297—303.
- [19] Krupitza, G. et al., 1989, *Biochem.*, 28: 2034—2040.
- [20] Menegazz, M. et al., 1992, *FEBS*, 297: 59—62.

内分泌细胞中溶酶体的功能

易 静 汤雪明

(上海第二医科大学细胞生物学实验室 200025)

内分泌细胞是动物体中分泌激素的细胞,按所分泌激素不同可以分为分泌肽类激素的细胞和分泌类固醇激素的细胞两大类。这两大类细胞在激素合成的原料、酶系统、有关细胞器和激素释放方式上都明显不同,但是两大类细胞中都有相当数量的溶酶体。溶酶体是具有降解功能的细胞器,细胞内大部分与降解有关的功能活动都有溶酶体的参与。在内分泌细胞中,除了在一般的细胞生理活动中执行降解功能以外,溶酶体在有关激素分泌的各个方面都起着不可忽视的重要作用。根据溶酶体研究的历史以及一些新近资料 and 概念,内分泌细胞中溶酶

体的功能可能涉及下述诸方面。

一、激 素 合 成

激素的合成过程包括原料的摄取、加工、贮存;已合成激素的加工、成熟等步骤。溶酶体对这些活动的参与,在两大类细胞表现不同。

在分泌肽类(包括氨基酸衍生物)激素的细胞,溶酶体对激素合成的作用主要是将尚未加工完毕的激素水解转化为成熟的、分泌形式的激素。这方面的典型例子是在甲状腺上皮细胞中,滤泡腔中的甲状腺球蛋白被内吞摄入细胞