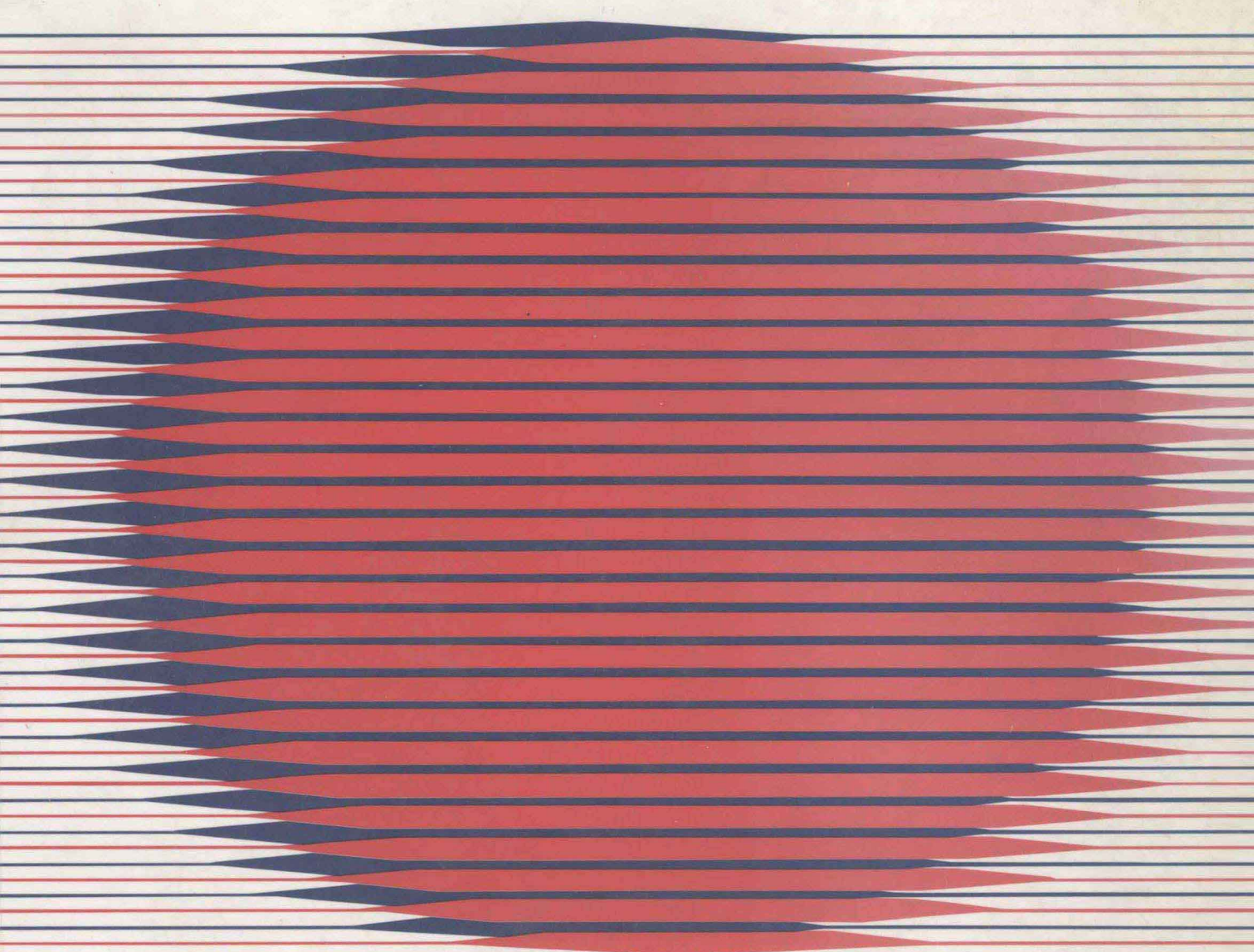


电离辐射源与效应

联合国原子辐射效应科学委员会(UNSCEAR)
2000 年向联合国大会提交的报告及科学附件

卷Ⅱ：效应



山西科学技术出版社

电 离 辐 射 源 与 效 应

联合国原子辐射效应科学委员会(UNSCEAR)
2000 年向联合国大会提交的报告及科学附件

卷Ⅱ:效 应

江苏工业学院图书馆
藏书章

山西科学技术出版社

说 明

原子辐射效应科学委员会的这份报告(不包括附件)作为第五十五届联合国大会的正式文件,附录 No.46(A/55/46)。

本出版物中使用的名称和发表的资料并不反映联合国秘书处对于任何国家、领土、城市或地区及其当局的法律状况的任何意见,也不表明秘书处对它们的国界或边界的划定的态度。

在多数情况下,本文件所使用的国家名称是在收集本文所发表的数据或起草时的名称。而在其它情况下,只要是可能且正确地反应政治的变迁,名称均已更新。

联合国出版物

销售编号:No.E.OO.1.3

ISBN 92-1-142238-8

目 录

卷 I :辐射源

联合国原子辐射效应科学委员会向联合国大会提交的报告	(1)
---------------------------------	-------

科学附件	(19)
------------	------

附件 A 剂量评价方法	(21)
-------------------	--------

附件 B 天然辐射源的照射	(79)
---------------------	------

附件 C 人工辐射源对公众的照射	(153)
------------------------	-------

附件 D 医用辐射照射	(289)
-------------------	-------

附件 E 职业辐射照射	(489)
-------------------	-------

卷 II :效应

附件 F DNA 修复与突变	(647)
----------------------	-------

附件 G 低剂量辐射的生物效应	(721)
-----------------------	-------

附件 H 辐射与其他因子的复合效应	(827)
-------------------------	-------

附件 I 辐射致癌的流行病学评估	(959)
------------------------	-------

附件 J 切尔诺贝利事故的照射剂量及效应	(1111)
----------------------------	--------

附件 F DNA 修复与突变

目 录

引言.....	(648)
I. DNA 损伤和修复	(648)
A. DNA 修复基因在细胞功能中的作用	(648)
B. 损伤类型和修复途径	(649)
C. 总结	(654)
II. 修复过程和辐射敏感性	(655)
A. 哺乳动物细胞和人的辐射敏感性	(655)
1. 辐射敏感细胞系和疾患的鉴定	(655)
2. 人类疾病中敏感性增高的机制	(657)
3. 对决定辐射敏感性基因的分析	(658)
4. 总结	(663)
B. 修复与其它细胞调节过程间的关系	(664)
1. 辐射敏感性与免疫系统重组缺陷:DNA 双链断裂的非同源末端连接	(664)
2. 辐射敏感性与细胞周期	(667)
3. 凋亡:修复外的另一种选择?	(670)
4. 总结	(671)
III. 人的辐射响应	(672)
A. 突变基因对人辐射敏感性的贡献	(672)
B. 修复对辐射响应的影响	(676)
C. 总结	(679)
IV. 辐射致突机制	(680)
A. 突变作为一种与修复相关的反应	(680)
B. 辐射诱导的突变谱	(682)
C. 辐射诱导突变的分子分析	(683)
D. 射线品质效应	(686)
E. 遗传改变的新机制	(687)
F. 突变频率与后果	(691)
G. 总结	(693)
结论.....	(694)
参考文献.....	(696)

科学附件

DNA 修复与突变

引 言

1. 对诱发人类疾病危险的估计主要根据流行病学研究。进行这类研究时只能在较高的剂量和剂量率时才能清楚地识别辐射效应,而低剂量和低剂量率与典型的人类受辐射照射的关系更为密切,为获得这方面的信息,必须将上述研究的结果进行外推。而为了外推确实可靠,则需要详细了解辐射诱发癌和遗传疾患的机制。

2. 几方面的证据表明,辐射诱发细胞死亡、突变及恶性突变的部位是在细胞核内,而脱氧核糖核酸(DNA)是主要靶。当 DNA 受到辐射损伤时,细胞核内的酶来修复此损伤。酶学修复过程的效能决定其结果:通常的情况是,DNA 结构得到正确的修复,细胞功能恢复正常。如果修复不成功、不完善或不精确,细胞就会死亡或发生遗传信息的改变和丢失(可见到突变和染色体畸变)。这些信息改变决定了可遗传的基因缺陷,并被认为是辐射诱发癌的发展中至关重要。关于人体细胞对损伤的反应方式及造成突变和染色体畸变机理的知识了解得越完全,就越能准确地推断电离辐射的致癌效应和遗传效应。

3. DNA 修复本身是由一套特定基因控制的,这些基因编码一些酶,催化细胞对 DNA 损伤起反应。修复功能的丢失或对修复过程调控的改变都可能对细胞和个体产生非常严重的后果。可以预期,DNA 修复在保护正常个体免受包括癌症在内的辐射效应方面起着关键作用。临床经验揭示,有些人既对辐射高度敏感,又对癌症极为易感;而近来发现其中一些人参与 DNA 损伤反应的基因有缺陷。

4. 最近几年,在修复过程的分子分析和了解遗传改变的诱导机制方面取得了长足的进展。此外,还发展了一些新方法,使相关基因的鉴定得到简化。随着对损伤过程细节了解得更为清楚,发现这些过程与其他细胞调控功能,如细胞周期和免疫防御的调控等有相当的重叠。本委员会在本附件中继续评述分子放射生物学的这些进展,以便增进对辐射效应在细胞和机体内如何表现的理解。这方面的评述开始于 UNSCEAR 1993 年报告^[U3]附件 E,题为“辐射致癌的机制”。

I. DNA 损伤和修复

A. DNA 修复基因在细胞功能中的作用

5. 控制诸如细胞生长、分裂和分化等功能的信息是由基因携带的。基因是 DNA 的特定序列,主要通过生成能翻译成蛋白质的互补信息(mRNA)而发挥作用。蛋白质可具有结构功能,但通常起酶的作用,每一种酶催化一种特定的代谢反应。因此特定的基因含有(编码)特定细胞功能的密码。蛋白质的生成可以定时,以便它们能在细胞或机体发育的特定时刻工作,不过蛋白质功能也可受翻译后修饰的控制。这些修饰是由其它蛋白

质来执行的,所以必须有一套复杂的相互作用,对细胞功能进行精细调节。细胞代谢某些重要方面(如 DNA 复制)所涉及的蛋白还可以多蛋白复合体的形式工作^[A1]。有一些材料证明,某些复合体组装成较大的结构,位于细胞核的特定区域(如核基质)^[H2]。

6. 某一特定基因信息的丢失或改变,可意味着基因产物(蛋白)不能生成,或蛋白活性降低,或在失控的方式下(如在错误时间或以错误量)生成。某些小的遗传变化可能不影响蛋白活性或相互作用,而其它变化则会明显地扰乱细胞功能。由于一些蛋白质在多个不同的过程或复合物中发挥作

用,一种蛋白的丢失或损害可影响细胞和机体的数种不同功能(多效性效应)。

7. 需要为数极大的基因(约60 000~70 000^[F14])来控制哺乳动物细胞和机体的正常功能。不过,基因只构成基因组(有机体的全部 DNA 序列)中的一小部分,其余部分主要由许多拷贝的重复 DNA 序列构成。基因以线形列阵连接,间以非编码序列,形成细胞核中的染色体。大多数基因仅存在两个拷贝,每一拷贝各位于一个同源染色体上,一个遗传来自母亲,一个来自父亲。监视损伤并维持基因不发生明显改变对细胞来说非常重要。从细菌到人的所有有机体都有共同的修复过程,已进化成能纠正基因复制中的错误和恢复对 DNA 的损伤。这一事实在最近几年为分子遗传学家分析修复过程提供了有用的工具。特征清楚的微生物能用作迅速了解修复基因的结构和功能的模型系统,由此得到的信息有时可直接用于分离人细胞中的有相关功能的基因^[L1]。从低等生物到高等生物,修复基因的结构和功能看来是高度保守的,而对其活性的调控在不同生物中可能不同。

8. 在一些人类综合征和突变细胞株中可见到修复能力丧失的后果。这些综合征和细胞株表现出对环境因子的高度敏感性,人类综合征常有多种症状,包括癌倾向、神经疾患和免疫功能失调。最近几年,在相关基因定位和克隆方面取得了良好进展。

9. 电离辐射引起 DNA 损伤,并引起细胞和机体的突变和染色体改变。辐射和拟辐射剂还引起细胞转化(癌发展中的一个阶段)和细胞死亡。按照近代研究的观点,对辐射损伤的最终反应不仅取决于细胞修复过程,而且还取决于使损伤恢复到最佳机会的细胞功能。例如,辐射损伤可引起细胞周期阻滞;这被认为是一种损伤限制步骤,使细胞有修复的时间,并减轻某一剂量所引起的后果^[L22]。现在对辐射改变细胞周期时间控制(II.B.2)的途径已有一定了解,不过在照射后得到迅速诱导或抑制的多种酶活性的作用还有待阐明(III.B)。

10. DNA 损伤的严重程度或损伤发生时的背景(如正在 DNA 复制时)通常会指定其修复策略,

将活存放在首位,而承受遗传改变。DNA 复制可以越过单链 DNA 损伤位点,在改变了的或丢失碱基的对侧插入一个不正确的碱基。此外,一些酶在努力修复 DNA 损伤时,不一定能忠实地恢复其结构。因此突变和染色体重排不是对损伤的被动反应,而是细胞的处理过程与损伤相互作用的后果。所发生的遗传改变的种类与原初 DNA 损伤类型有关,如某类损伤在复制中错误编码的可能,及特定修复酶对某类损伤起作用的机率。

B. 损伤类型和修复途径

11. DNA 是一个由 4 种单位组成的双螺旋大分子:即嘌呤碱——腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G),嘧啶碱——胸腺嘧啶(T)和胞嘧啶(C)。这些碱基排列成两条线性列阵(或链),中间以氢键结合在一起,外侧则以共价键与糖-磷酸残基相连接(DNA 骨架)。腺嘌呤自然地与胸腺嘧啶配对(A:T 碱基对),鸟嘌呤与胞嘧啶配对(G:C 碱基对),因此, DNA 的一条链具有另一条链的互补序列。碱基序列决定遗传密码;尽管在 DNA 的调控和结构成分中存在某些共同序列,但每个基因有一独特序列。对 DNA 的损伤可影响其任一组分,但只有碱基的丢失或改变才具有遗传后果。

12. 电离辐射在细胞内通过带电粒子的移动在电离径迹上沉积能量,不同质的辐射可人为地分成稀电离或低传能线密度(低 LET)辐射和密电离(高 LET)辐射。低 LET 辐射(如 X 线或 γ 线)通过一个平均大小的细胞核时,每条径迹只由较少数量的电离组成(例如,一个 γ 线电子径迹穿过一个 8 μm 直径的核时产生平均约 70 次电离,相当于约 1 mGy 的吸收剂量,虽然此值由于各个径迹的随机性及通过核途径长度的变动有较大范围的变动)。高 LET 辐射的每个径迹可由数千个电离组成,给予细胞较高的剂量,例如,在一个平均大小的细胞核中一个 4 MeV α 质粒径迹平均约有 23 000 个电离(370 mGy)^[G27,U3]。不过,即使是低 LET 辐射也可能在核内 DNA 结构容积上产生一些较密电离的小区域,例如当产生的低能次级电子阻留在细胞内时。

13. 辐射径迹可将能量直接沉降于 DNA(直接效应),或使与 DNA 紧密结合的其它分子(特别是水)电离,形成能损伤 DNA 的自由基(间接效

应)。在一个细胞内间接效应只能发生在很短的距离内,约为数个 nm,因为自由基的扩散距离受其反应活性的限制。虽然准确测定低 LET 辐射的直接效应和间接效应对 DNA 损伤的不同贡献是很困难的,但从给细胞导入自由基清除剂的结果表明,约有 35% 完全是直接的,65% 具有间接的(可清除的)成分^[R21]。已表明,直接和间接效应对 DNA 的早期损伤是相似的,因为 DNA 直接电离所产生的离子自由基可进一步反应产生 DNA 自由基,后者与水自由基攻击 DNA 所生成的相似^[W43]。

14. 电离常破坏细胞分子(如 DNA)的化学键,但当大部分电离以单个孤立事件发生时(低 LET 辐射),这些破坏能被细胞酶完全修复。然而,高 LET 辐射引起电离的平均密度的情况是:当粒子穿过 DNA 双螺旋时可能就发生数次电离。因此,高 LET 辐射的许多损伤以及低 LET 的少部分损伤会由局部的电离簇引起,这会严重地损坏 DNA 的结构^[G27, W44]。当低或高 LET 辐射的一些单个径迹在 DNA 上的局部电离簇区域达到重叠时,高 LET 辐射径迹会更加有效地生成较大的簇,从而造成更复杂的损伤。高 LET 辐射还能导致一些在低 LET 辐射下不发生的很大的电离簇,这样造成的损伤可能是不可修复的,也可能造成独特的细胞学后果(见第 192、199 及 201 段)^[G28]。此外,当一个细胞受高 LET 辐射损伤时,每条径迹会产生大量的电离,因而细胞会受到较高的剂量,在单一 DNA 分子(或染色体)或不同染色体中发生相关损伤的机率会较高。对一群细胞或一种组织用低剂量的高 LET 辐射照射,其后果是少数细胞以较高剂量(一条径迹)被击中,

而不是每个细胞接受一份小剂量。与之相反,低 LET 辐射在细胞群中更为均匀地分布;低 LET 辐射剂量超过约 1 mGy 时(对于一个平均为 8 μm 直径的细胞核而言),每个细胞核可能被一个以上的稀电离径迹穿过。

15. 电离辐射与 DNA 相互作用产生多种不同类型的损伤,其中多种化学产物已被鉴定并按结构进行了分类^[H4, S3]。这些产物因哪个化学键受到攻击、哪个碱基受到修饰,以及在一给定 DNA 片段内损伤的范围不同而彼此不同。表 1 列出了在低 LET 照射 DNA 后可以测到的一些主要损伤产物及其丰度的大致估算。还试图根据关于辐射径迹结构的知识,假设所需要的最低能量沉积(电离数),预测不同类型损伤的频率。可按引起 DNA 单链改变(如骨架中的一个断裂或碱基改变),或一个 DNA 分子两条链中邻近位置上的改变(如双链断裂),或更复杂的 DNA 损伤类型(如一个双链断裂及邻近损伤)的概率而将相互反应分类。这些预测与直接测量单链断裂的结果很相符,但与其它类型损伤的符合程度较差^[C47]。目前的实验技术还难以定量复杂形式的损伤,应用一些在碱基损伤位点切割 DNA 的酶表明:照射溶液中的 DNA 可造成复杂损伤位点,主要包含位置很相近的碱基损伤(测得为氧化碱基或无碱基位点);只有 20% 的复杂损伤位点伴有双链断裂^[S87]。预期,更为复杂类型的损伤会随 LET 的增加而增加,而且这一类型损伤会比简单类型损伤的可修复性差。理论模拟预测,低 LET 辐射引起的 DNA 双链断裂由于有附加断裂,约有 30% 是复合的^[N19];而对高 LET 粒子,这个比例上升到 70% 以上,且复杂程度也增加了^[G29]。

表 1 低 LET 辐射所致哺乳动物细胞内 DNA 损伤的产额^[160, P31, W39]

损伤类型	产额(每细胞缺陷数 Gy^{-1})
单链断裂	1000
碱基损伤 ¹⁾	500
双链断裂	40
DNA 蛋白质交连	150

1) 碱基切除酶敏感位点^[P31]或胸腺嘧啶乙二醇的抗体检测^[160]。

16. 电离辐射引起的某些 DNA 损伤在化学上与细胞内天然存在的损伤相似:这种“自发”损伤是由于 DNA 的热不稳定性及内源性氧化过程和酶学过程而引起的^[12, M40]。细胞内一些代谢途径生成氧化基团,这些基团能攻击 DNA 产生 DNA 碱

基损伤和断裂,大部分属孤立事件^[B46]。电离辐射所引起的更加复杂类型的损伤不会自然发生,因为内源性自由基不大在紧邻 DNA 处形成集中的浓度。此论题可见于附件 G,“低剂量辐射的生物效应”,该文件讨论了细胞对低剂量辐射的反

应。

17. 测定 DNA 碱基损伤的天然水平比较困难,因为在制备供分析(如气相色谱/质谱分析)的 DNA 时会产生人为的损伤^[C55]。这种困难可说明文献上关于碱基损伤可出现相当夸张的基础水平值(至少有 100 倍)。有意思的是,用碱基切除修复酶识别损伤(第 22 段)倒是一个偏差较小的测量方法(虽然还不能精确知道酶对不同类型碱基损伤的特异性)。这些酶在碱基损伤位点进行切割,产生一个单链断裂,后者可用多种技术准确测定。使用该方法测定氧化损伤的一种主要形式 7,8-二氢 8-羟基鸟嘌呤(通常称作 8-羟基鸟嘌呤),得到其稳定状态的水平为每细胞 500~2 000(因细胞种类而异)^[P30]。用相似的测量方法, γ 线所致细胞 DNA 中 8-羟基鸟嘌呤的水平约为 250/细胞 $\cdot$ Gy⁻¹^[P31]。一个新发展的用于测定人细胞 DNA 另一种碱基损伤——胸腺嘧啶乙二醇的超敏感方法,是将抗体检测与毛细管电泳相结合。此方法对低至 0.05 Gy γ 线的胸腺嘧啶乙二醇产额具有线性响应,测出每细胞每 Gy 的水平约为 500 胸腺嘧啶乙二醇,本底为每细胞 6 个胸腺嘧啶乙二醇^[L60]。精确测定细胞 DNA 碱基损伤水平的困难以及现在发现的常见类型损伤的较低水平,不由得使人们对过去鉴定的细胞照射后所发生的某些碱基损伤程度产生疑问。

18. 测定其它种类 DNA 损伤如双链断裂的内源水平也遇到相似的技术困难。许多用来测定哺乳动物细胞双链断裂的方法有意无意地在方法学中引入了这种损伤。这是因为哺乳动物基因组非常巨大,必须首先使用随机断裂的方法使其减小,才有可能进行有效的测量。采用在凝胶模块中使 DNA 从溶破细胞中温和释放的方法可以部分解决此问题^[C64,O3],但通常 DNA 断裂的本底水平仍可达总 DNA 的百分之几。然而如下文所述(II.B),哺乳动物细胞不大会有高稳定水平的 DNA 双链断裂,因为这些断裂起着损伤识别过程的信号作用,会阻断细胞周期或诱导细胞程序死亡。很可能,只要一个未修复的双链断裂便能触发此细胞反应(第 101 段)。还发现,一个未修复的双链断裂能引起受照射的酵母细胞死亡(第 108 段)。因此,细胞耐受此种损伤的水平看来是很低的。

19. 由于损伤的精确性质会影响修复能力,可将损伤分成几类来描述其后果。一个简单的分类法是根据酶利用 DNA 互补碱基结构促进损伤位点修复的能力。这样,对单链的损伤(碱基修饰,单链断裂)可以清除或修饰,然后用未损伤链作模板重新合成。当损伤影响到 DNA 分子的两条链的邻近部位时(双链断裂,交联),修复就更加困难,需要不同的酶学途径来解决。为了成功地解决更加复杂类型的损伤,可能需要不止一个修复途径的多种酶。为阐述细胞所具有的不同修复途径的知识,将在下文(第 34 段)对各种 DNA 损伤因子以及电离辐射所致损伤的修复进行讨论。

20. DNA 修复酶的特性可描述为直接作用于损伤 DNA 以达到恢复 DNA 正确序列和结构的细胞蛋白质。这些相对特异的酶承担识别和修复特异形式 DNA 损伤的起始阶段。例如,DNA 糖基化酶只作用于改变了的或受损伤的碱基,催化 DNA 碱基-糖键的断裂^[W1]。而且,还有数种不同类型的糖基化酶,识别化学上不同形式的碱基损伤。当然,承担正常 DNA 代谢的酶也参与多种不同形式损伤修复过程的一部分。在这一类中,例如有,参与 DNA 链合成的酶(DNA 聚合酶)和参与 DNA 骨架连接的酶(DNA 连接酶)。已鉴定了数种不同类型的 DNA 聚合酶和连接酶,并认为这些不同类型的酶在正常 DNA 代谢中起不同作用,仅有某些在 DNA 修复中有活性^[L3,P1]。

21. 最简单的修复过程是使损伤直接逆转。例如,许多生物(但不包括哺乳动物)具有一种酶,能直接使紫外线诱导的嘧啶碱基二聚体发生光复活^[S1]。与之相似,O⁶ 甲基鸟嘌呤-甲基转移酶能将 DNA 中由烷化致癌剂所致的甲基直接除去^[P13]。不过,大多数损伤类型需要几种酶的协同作用,形成一种修复途径。几种明显不同的修复途径已得到鉴定,下文将展开讨论,并描述于图 1。

22. DNA 个别碱基的损伤可简单地通过切除碱基、清理该位点及重新合成而得到纠正。在这种碱基切除修复途径中,由 DNA 糖基化酶除去损伤碱基,DNA 内切酶切割 DNA 骨架,磷酸二酯酶清除糖-磷酸残基,然后聚合酶以对侧碱基为模板填补间隙(图 1a)^[L2,S49]。即使只是单一碱基受损,也需要几种不同的酶来进行正确的修复。此

过程的后一部分也可以用来修复 DNA 的单链断裂。辐射导致 DNA 的断裂通常不是通过简单的连接步骤而重接,因为在断裂处有糖的损伤,而且还常有碱基丢失。碱基切除修复通常局限于单个 DNA 碱基而且非常迅速^[D16,S58];不过,在哺乳动物细胞中已发现少数长达 6 个碱基的修复补片,说明存在第二种“长补片”途径(见第 75 段)。

23. 许多糖基化酶对于清除 DNA 中有变化碱基的类型是特异的,例如,尿嘧啶-DNA 糖基化酶只清除尿嘧啶及尿嘧啶的某些氧化产物^[F15]。不过,某些碱基切除修复酶的特异性之间有一些重叠。碱基切除修复中有一种或多种核酸酶缺陷的

细菌细胞对电离辐射的反应便是一个例子:当细胞只缺少一种核酸酶时并不对辐射敏感,而在两种核酸酶都丢失时,细胞对辐射高度敏感^[C60,Z10]。有些糖基化酶对不同类型的碱基结构特异性很宽,如 3-甲基腺嘌呤 DNA 糖基化酶 II,它作用于多种化学修饰的嘌呤和嘧啶,5-甲基氧化胸腺嘧啶及次黄嘌呤。近来发现 3-甲基腺嘌呤 DNA 糖基化酶 II 也能以相当的速度清除 DNA 的天然碱基,特别是嘌呤。这个发现导出了一种新的设想:广特异性糖基化酶的切除速率是 DNA 中化学键稳定性的函数。据此得出,受损伤碱基因其化学键稳定性降低,比天然碱基更易被切除^[B57]。

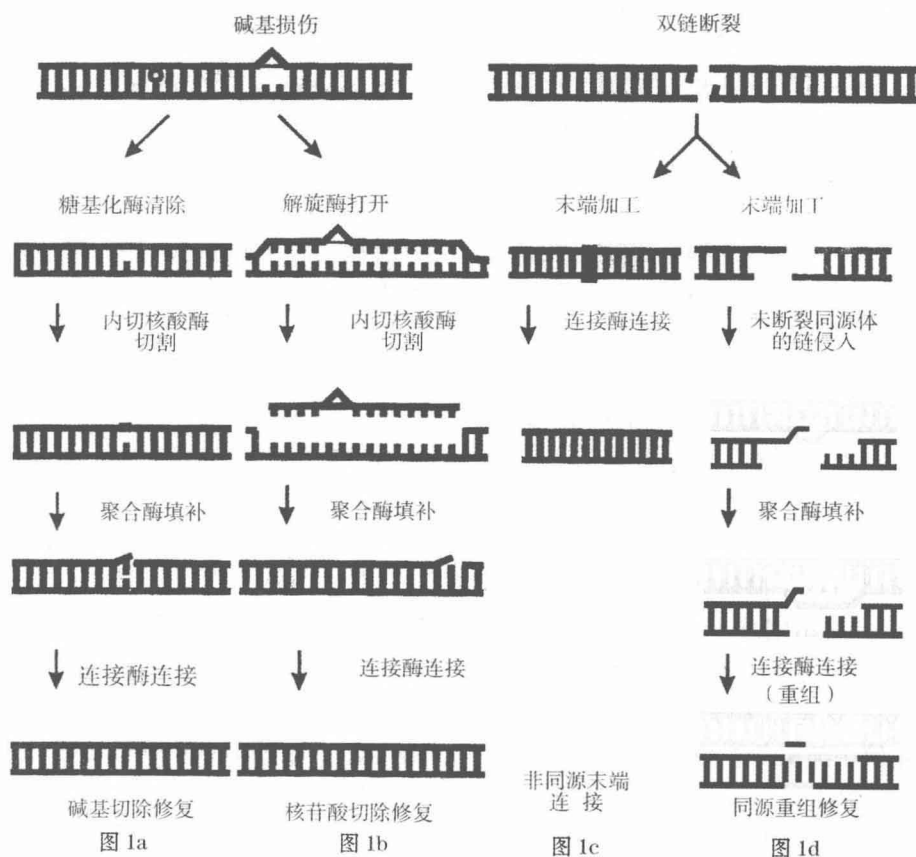


图 1 DNA 修复机制(简图)

- 图 1a: 碱基损伤被特异的糖基化酶切除; DNA 骨架被切开, 缺口由聚合酶来填补, 形成的缺口重新填补;
- 图 1b: 大块的碱基损伤与一段寡核苷酸(人细胞中约为 30 碱基)一起移除, 以对侧链为模板进行重新合成;
- 图 1c: 一个双链断裂以末端对末端重接;
- 图 1d: 一个双链断裂在一个同源未损伤分子(以红色表示)的帮助下得到修复, 链侵入使重新合成按互补序列进行, 然后链分开, 重接。

24. 碱基切除修复的一种特殊形式是清除错配 DNA 碱基, 它们可因 DNA 复制错误而生成, 或因

受损伤碱基错误编码而形成。例如,8-氧化鸟嘌呤是鸟嘌呤碱基氧化损伤的通常产物(第 17 段);由于它能形成错误编码(聚合酶在 8-氧化鸟嘌呤对侧掺入腺嘌呤代替胞嘧啶,从而改变了 DNA 序列),因而有高致突性。细胞发展了三种不同方法处理 8-氧化鸟嘌呤的形成。有一种糖基化酶能借除去 DNA 上的 8-氧化鸟嘌呤而纠正错配,而另一种不同的糖基化酶能在复制后除去错配的腺嘌呤^[A27,T48]。对碱基的切除及缺失碱基的重新合成则如同在一般碱基切除修复过程中一样。此外,另一种酶能将 8-氧化鸟嘌呤的前体(8-羟基-GTP)在掺入到 DNA 中去之前就从核苷酸库中清除^[M51]。一些因 DNA 复制和重组而常产生的其它错配,由另一种称作 MutHLS 途径的“长补片”途径纠正,这对保护细胞免于高频率的突变同样重要(见第 165 段)^[K38]。

25. 当一个受损伤的碱基与另一个损伤碱基或和一个单链断裂的位置很邻近,形成最简单形式的簇损伤时,修复可能受到影响。采用 DNA 底物模型,使其碱基损伤位于对侧链上并中间间隔不同数目碱基,进行检验,发现当两个损伤位点互相很靠近时(间隔 1~3 个碱基),糖基化酶不能将两个位点的损伤都修复^[C56,C57,H49]。而且,企图修复两个位点的碱基损伤会产生一个 DNA 双链断裂,因为切割 DNA 骨架是修复过程的一部分。

26. 与碱基切除修复不同,核苷酸切除修复要切除包括损伤部位在内的一整段单链 DNA,这种损伤通常是会引起双螺旋扭曲的大块 DNA 加成物。这些酶必须执行以下功能:识别损伤,在损伤部位两侧一定距离处切割链,解旋并清除此链(图 1b)。正如所预期的那样,至少有 11 个酶已被鉴定为核苷酸切除修复的组分^[W52],还不包括聚合酶和连接酶。参与核苷酸切除修复的酶从微生物到人高度保守,这一特点已被用于帮助分离编码这些功能蛋白的基因。已发现这些基因中有几个在人类发生突变,引起一系列疾病,包括着色性干皮病和 Cockayne 综合征^[H3]。遗传获得了突变核苷酸切除修复基因的人通常对日光和能引起大块 DNA 损伤的化学因子敏感,而少数人表现出对电离辐射交叉敏感^[A2,R15]。此外,来自着色性干皮病个体的细胞中 γ 线所引起的损伤有一小部分不能得到修复,提示电离辐射引起一些大块的不能被碱基切除修复途径清除的损伤(如嘌呤二聚

体)^[S56]。或者,一部分非大体积碱基损伤(8-氧代鸟嘌呤、胸腺嘧啶乙二醇)可被核苷酸切除修复系统清除,特别是在承受大量内源性氧化损伤长寿细胞中,如神经元^[R22]。这些可能性可以解释为什么着色性干皮病的严重病例还患有进行性神经变性。

27. 最近一个令人惊奇的发现是某些核苷酸切除修复酶也参与正常的基因表达过程(转录)。这样,当基因活跃表达时,它们需要一些与修复所需相同的功能,如使 DNA 双螺旋解旋,看来是使用了同一些蛋白质。这个发现解释了以前令人不解的结果,即人类对日光敏感的疾病与基因表达有复杂缺陷的疾病[如毛发硫营养障碍症(trichothiodystrophy)^[L70]]之间存在关联。

28. 关于核苷酸切除修复的另一重要发现是它在基因组的不同部分以不同速率运转^[H1],因而活跃表达的基因比基因组的其余部分修复快得多。这一过程的许多细节已得到阐明:认为当损伤发生在一个活跃表达的基因中时,参与此过程的蛋白(RNA 聚合酶 II 转录复合物)停止工作,滞留的复合物成为使修复蛋白趋至损伤部位的信号。这一双重修复系统已在细菌直至人类的各种生物中发现,将修复带到损伤处的信号传递蛋白已在细菌中得到鉴定^[S2]。还发现在细胞中存在转录偶联的快修复过程具有遗传学后果:DNA 双螺旋只有一条链是转录的,而只有这条链得到快速修复。现已发现,在正常细胞中,DNA 损伤所引起的大部分突变是在非转录链上,可能是由于缺乏快修复,使损伤与引起突变的其它过程相互作用所致^[M2]。相反,修复缺陷细胞系则显示完全不同的突变谱,多数突变发生在转录链。这一细节的许多部分是用紫外线损伤来确定的,不过其它类型的 DNA 损伤的修复,包括电离辐射所致某些形式的碱基损伤,如胸腺嘧啶乙二醇的修复是受转录偶联过程影响的^[H1,C41]。此外,还发现一些人类日光敏感疾患,或缺少快修复途径(Cockayne 综合征),或核苷酸切除修复整个途径较慢(着色性干皮病 C 组)。失去快修复或是修复途径减慢也影响日光敏感疾病的临床转归:Cockayne 综合征没有癌倾向,而着色性干皮病病人对皮肤癌有高度易感性^[M2]。

29. 损伤形式越严重就越需要更多的手段进行正

确修复。特别是当损伤同时影响到 DNA 两条链时,此时没有未损伤链可用作修复模板。严重损伤可以因能引起 DNA 复杂变化的损伤剂直接作用而发生,也可由于未修复的单链损伤与 DNA 复制相互作用而引起。这种严重损伤多半可被重组酶修复,这些酶通过多种机制重接或替换损伤序列。一般存在两种主要的重组修复过程:同源重组及非常规重组(illegitimate recombination),此外还有位点特异重组过程。重组修复的原理在微生物中已详细阐明,近来发现在人类细胞中也存在类似的过程。

30. 同源重组利用 DNA 一定区域之间的序列一致性,来修复该基因的损伤。这些区域可存在于染色体的父本拷贝与母本拷贝间,也存在于 DNA 复制后双份染色体(姊妹染色体)间。提供用于修复损伤拷贝的信息的 DNA 序列必须有相当的长度(≥ 200 碱基对)与之一致。已知在芽生酵母[酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)]中,同源重组是修复 DNA 双链断裂的主要方法。有几株 rad52 组的酵母突变株因其对电离辐射的高度敏感性已被分离出来,并显示出在 DNA 双链断裂修复和同源重组两方面都有缺陷^[G1]。在重组中,一条 DNA 链的 3' 端侵入到一个未断裂的双链同源体,然后在此模板上重新合成,重建损伤链(图 1d)。分离此反应形成的连接产物需要一些酶的活力,切割并重接新合成的 DNA 链。根据被切割和重接的链的不同,此反应也可产生 DNA 链的交换(遗传交换)。

31. 非常规重组(包括 DNA 末端连接过程)是哺乳动物细胞重接断裂的 DNA 序列的通常机制(图 1c)。当将外源 DNA 分子整合到基因组内^[R1]或在分析缺失和重排的基因组断点时(IV 章 C),发现这些基因组位点的序列同源性很差。看来这里涉及到一个以上的修复途径,在本附件中采用了非同源末端连接及同向重复末端连接等名词来描述不同的途径(见 II.B.1)。可以考虑,非常规重组是一种迅速连接 DNA 断端的机制,不需要同源重组的复杂机器^[R1]。也可能是由于哺乳动物细胞内存在大量 DNA 重复序列,如果同源重组过程在细胞内普遍发生,将会产生无法耐受水平的基因组重组。不过,同源重组被认为是一种极少错误的修复 DNA 的机制,而非常规重组则可能引起 DNA 序列的变更或丢失。

32. 很可能,同源重组和非常规重组都能够修复基因组内的严重损伤。然而,最近在哺乳动物细胞中的一个令人惊奇的发现是参与修复辐射所致 DNA 断裂的某些酶也参与位点特异重组过程,即 V(D)J 免疫系统重组。此过程通过体细胞基因重排,从分割的基因组区域组装功能性免疫基因,这将在 II.B.1 节进行更详细的论述。

33. 还有资料证明,细胞具有特异的 DNA 损伤监视机制,这些机制与细胞代谢的其它方面,如细胞周期进程,互相联系^[M3]。因此可以设想,当基因组(或者细胞的其它部分)遭受损伤时,会建立起一种反应机制,以最大限度地增加修复损伤的机会(或在某些情况下使细胞进入程序死亡)。这些机制的细节以及全部反应如何协调目前尚不清楚。

34. 在低等真核生物,如酵母中,已知有 50 个以上的基因影响 DNA 损伤的修复^[F1],不过此数字包括参与如细胞周期关卡等过程的基因(II.B.2)。此外,在寻找现存修复基因的同源物及基因组图谱计划中,新的基因不断被发现。鉴于已发现基因的数量、需要修复的损伤种类的多样性以及近来发现修复途径的复杂性,如果说人类 DNA 修复基因的总数有数百,这也是不会令人惊奇的。因此,基因组的相当一部分(第 7 段)是用来维持 DNA 的完整性的。由于电离辐射引起的 DNA 损伤极为多样,许多基因会在其修复中发挥作用。

C. 总 结

35. 电离辐射与 DNA 相互作用生成多种不同类型的损伤。辐射径迹结构的研究表明,损伤的复杂性随传能线密度而增加,这种复杂性使辐射损伤有别于自发的和其它因素所致的改变。对内源性损伤水平的测定因存在高水平的人为现象而遇到障碍,尽管方法有了改进,但在这些测定中仍有较大范围的误差。因此,目前仍很难将辐射所致损伤水平与自发的进行比较,特别是在将损伤的复杂性考虑进去时。关于确定低剂量反应中自发和诱发损伤水平间关系的重要性见附件 G“低剂量辐射的生物效应”。

36. 在所有的生物体内进化生成了大量的基因以

修复 DNA 损伤;修复基因的产物以协调方式起作用,形成控制特殊种类损伤恢复的修复途径。修复途径又与其它代谢过程协调,如细胞周期调控,以求获得最佳的成功修复。

37. 看来,内源性和电离辐射所致的较简单的 DNA 损伤形式(单一位点的碱基损伤、单链断裂)能借碱基切除修复过程得到迅速而有效的修复,因此此类损伤通常对生物体而言不是严重的挑战。然而,如果碱基切除修复系统受累,由于诱发

的相对大量的碱基损伤及单链断裂(表 1),其后果对细胞和机体会是很严重的。双链断裂那样的 DNA 损伤对于细胞修复过程是一个更为困难的问题,但已形成了不止一个的重组修复途径处理此损伤。在 DNA 上或邻近 DNA 处由大的电离簇引起的损伤造成 DNA 更为复杂的改变,是一种特殊情况,即必须有不同的修复途径共同进行修复,或者由于不正确或不充分的修复会造成 DNA 序列的丢失或改变。

II. 修复过程和辐射敏感性

A. 哺乳动物细胞和人的辐射敏感性

1. 辐射敏感细胞系和疾患的鉴定

38. 个体对电离辐射的敏感性各不相同。在进行癌症治疗时曾检出对辐射高度敏感的人员,这些是罕见的病人,他们在接受标准治疗后发生严重的正常组织损伤。某些辐射敏感病人所患疾病已可归类于明确的疾病,如毛细血管扩张性共济失调症和 Nijmegen 染色体断裂综合征,而其余人外表是无症状的(即未表现出已知敏感疾患的症状,但也在接受癌症治疗后被发现)。此外,还有一些人对辐射的敏感性未到极度敏感的程度,其中某些人所患疾病可能是诸如毛细血管扩张性共济失调症等已知疾病的变型。

39. 毛细血管扩张性共济失调症是描述得最清楚的辐射敏感疾患。它具有复杂表型:小脑共济失调,神经肌肉变性,眼血管扩张(毛细血管扩张),免疫缺陷,染色体不稳定性,以及某些癌和肿瘤的发生率明显增高,这些在毛细血管扩张性共济失调症患者中都是很常见的^[B10]。毛细血管扩张性共济失调症主要是按常染色体隐性特征遗传的,虽然也有主张辐射敏感性和和癌症倾向二者有某些显性特征。该病呈进行性发展,多数病人只能活到青年期或成年早期。最常见的癌症形式是淋巴细胞性白血病和非何杰金氏淋巴瘤,但各器官的实体瘤也会与毛细血管扩张性共济失调症并发^[H9]。疾病频率的估算结果不一,平均约为 1/100 000^[P8,S12,W10]。

40. 用毛细血管扩张性共济失调症(以下简称 AT)病人的培养细胞,测定细胞活存和染色体损伤,很容易证明其辐射敏感表型。例如,在一项研究中,比较来自 42 名正常人与 10 名 AT 患者的培养细胞在 X 线照射后的活存率,AT 细胞平均比正常细胞敏感 2.7 倍(见图 2)^[C8]。与正常细胞相比,AT 细胞的染色体畸变率在自发情况下或照射后都增高。再者,正常细胞在细胞周期的合成前期(G_0)受照射只产生染色体型畸变,而在 AT 细胞中染色单体型畸变和染色体型畸变两种都能见到^[T1]。AT 细胞还有一个明显的特征是对辐射所致 DNA 合成延迟的抗性:正常细胞在照射后 DNA 合成迅速抑制,而 AT 细胞抑制延迟或抑制程度明显减轻^[P4]。

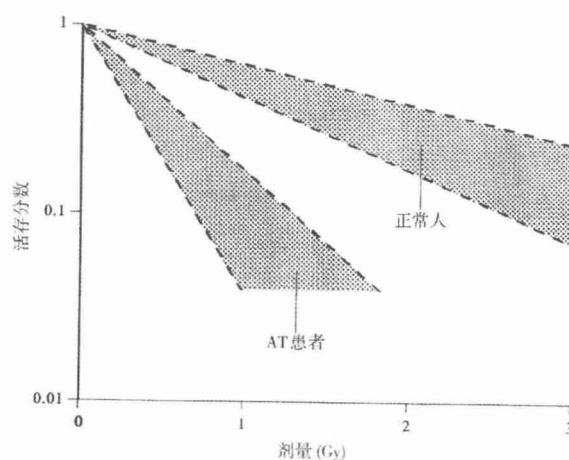


图 2 人成纤维细胞 X 线照射后按克隆形成能力测量的活存率^[C8]。10 名 AT 病人的 D_0 (杀死 63% 细胞所需的剂量)范围为 0.3~0.6 Gy,42 名正常人为 1~1.16 Gy。

41. Nijmegen 染色体断裂综合征是临床上另一种辐射敏感疾病,其特征是各种免疫缺陷、小头畸形、发育迟延、染色体不稳定性及癌易感性^[B4, S7, V7, W4]。淋巴网状系统癌也是此病的特点^[S8]。Nijmegen 染色体断裂综合征的病人不表现共济失调或毛细血管扩张,但其细胞表型与 AT 非常相似^[A17, J1, N6, T2]。还发现一些与 AT 及 Nijmegen 染色体断裂综合征有相似特点的病人,在某些情况下用遗传分析法分别归类^[C12, W5](参见下文)。有一例报告为联合毛细血管扩张性共济失调和 Nijmegen 染色体断裂综合征,称作 AT_{FRESNO}^[C18]。此外,还有报告发现一些家族或个人表现出与毛细血管扩张性共济失调症和 Nijmegen 染色体断裂综合征部分重叠的症状。有一个例子是一个家族,其成员或表现有毛细血管扩张性共济失调症,或表现有共济失调、小头畸形和先天性白内障的疾病^[Z3]。

42. 更为复杂的是,有些材料描述了有些人员具有 AT 变型形式,这些病人症状发作较缓,具有中等水平的细胞辐射敏感性^[C4, C7, F2, J2, T3, Y1, Z1]。

43. 除了具有与辐射敏感性有关的多种症状的人员外,还发现有些人在其它方面正常而对辐射高度敏感。Woods 等^[W9]描述了一个外表正常的 13 岁女孩,她因何杰金氏病接受放疗后发生了多种并发症。皮肤活检细胞表现出对辐射后活存反应高度敏感,类似于 AT 细胞。Plowman 等^[P7]报告了相似的发现,一个 14 岁患有急性淋巴细胞白血病的男孩,也没有 AT 或 Nijmegen 染色体断裂综合征样症状,但其整体和细胞的辐射敏感性与 AT 一样严重。这名男孩提供了人类辐射敏感并显示有明确的细胞修复缺陷(连接酶 IV 缺陷)的第一个例子,辐射诱导的 DNA 双链断裂修复及间期染色体损伤同样都有损害(参见第 66 段)^[B15]。

44. 在其它几种癌倾向疾病中也有电离辐射敏感性的证明,虽然发表的资料所述敏感的程度不完全一致(参见 III.A)。Bloom 综合征是一种罕见的常染色体隐性疾患,表现为严重的生长迟缓、不同程度的免疫缺陷及精子发生异常^[G20]。癌发生的年龄明显早于正常人;Bloom 综合征的癌症幸存者约有 1/3 发生多发的原发肿瘤,其种类和部位并不固定。Bloom 综合征的患者由于对日光敏

感,发生明显的面部疹,他们的细胞不仅对几种不同的 DNA 损伤剂高度敏感,而且还有 DNA 复制异常^[L47]。遗传不稳定性表现为高水平的自发染色体畸变和姊妹染色单体交换;特别是 G₂ 生长期的细胞表现出对 X 线的染色体敏感性^[A16, K30]。有一例 Bloom 综合征在肺癌的常规放疗后发生了食管狭窄,在这种治疗后是很罕见的,提示其对辐射高度敏感^[K31]。

45. Fanconi 贫血是一种癌倾向疾患,最常见到的是急性髓细胞白血病(危险增加 15 000 倍),不过实体瘤也可见到。骨髓衰竭是本病通常的诊断特征,不过综合征还可包括先天畸形、皮肤异常色素化以及骨骼和肾的异常^[J15]。Fanconi 贫血细胞表现出高水平的染色体畸变,对 DNA 交联剂(如丝裂霉素 C、二环氧丁烷)高度敏感。此外,曾有人报告 Fanconi 贫血细胞系的某些基因中缺失的比例很高,在失去杂合性(LOH)测定中得到较高的突变频率(见第 172 段)^[S68]。关于 Fanconi 贫血细胞对电离辐射的敏感程度曾有一些争议,实验中缺少遗传分类可能是造成波动的原因(见第 68 段)。然而,当与已发表的人成纤维细胞敏感性的数据作比较时,Deschavanne 等^[D7]得出结论:Fanconi 贫血是其辐射敏感性与正常细胞有明显区别的少数疾病之一。

46. 对控制辐射敏感性的人类基因不能简单地通过分析辐射敏感疾病而得到鉴定。这是因为许多基因中突变的危害可以达到抑制活体发育的程度。这一点已通过培育一种剔除紫外线损伤修复基因 ERCC1 的小鼠而得到说明(“剔除”的含义为基因的双拷贝都失活)。没有发现 ERCC1 基因的人类变异体,基因剔除的小鼠在断奶前死亡,显然是由于过重的(未修复的)损伤所致^[M7]。因此,为了检查有关的整个范围的基因,需要从培养细胞中建立辐射敏感的突变系。为此,鉴定出的对各种基因毒性物质敏感的突变细胞系已达 50 种以上,其中有多种显示出一定程度的 X 线敏感性,并正用于解析哺乳动物细胞的修复途径^[C16, H11]。这些细胞系对基因克隆特别有用,因为已经证明,使用来自病人的细胞往往难以成功。在现有知识水平上,有可能根据其反应将这些突变细胞系分成几类,最近,有关的几个基因已被作图或克隆(表 2)。由于辐射敏感细胞系是在世界各地实验室建立起来的,发现它们几乎都代表不

同基因的缺陷。根据这个理由以及电离辐射生成 DNA 损伤的多样性,预期还有大量的与决定辐射抗性有关的人类基因尚未被发现。

表 2 辐射敏感疾患和细胞系的分类

缺陷种类	疾病/缺陷细胞系	人基因名称 ¹⁾	人基因定位	动物模型表型 ²⁾
可能的 DNA 断裂修复缺陷及损伤后失去细胞周期控制	AT	ATM	11q23	AT 类 ³⁾
	Nijmegen 染色体断裂综合征	NBS1	8q21	—
	irs2/V 系列	XRCC8	?	—
DNA 双链断裂修复缺陷及 V(D)J 重组缺陷	xrs	XRCC5	2q35	免疫缺陷 ⁴⁾
	XR-1/M10	XRCC4	5q13	胚胎死亡
	V3/scid/SX9	XRCC7	8p11-q11	免疫缺陷 ⁴⁾
	180BR	LIG4	13q33-q34	胚胎死亡
对多种不同因子敏感;某些具有 DNA 单链断裂修复缺陷或复制缺陷	46BR	LIG1	19q13	能存活(急性贫血)
	Bloom 综合征	BLM	15q26	胚胎死亡
	EM9	XRCC1	19q13	胚胎死亡
	irs1	XRCC2	7q36	胚胎死亡
	irs1SF	XRCC3	14q32	—
	UV40	XRCC9(FANCG)	9p13	—
根据与低等生物的与辐射损伤反应有关的基因具有结构同源性而推断的辐射敏感性	—	ATR	3q22-23	胚胎死亡
	—	hRAD50	5q23-31	胚胎死亡
	—	hRAD51	15q	胚胎死亡
	—	hRAD52	12p13.3	能存活
	—	hRAD54	1p32	能存活
	—	hMRE11	11q21	胚胎死亡

1) XRCC=X 线交叉互补基因;
2) 除 XRCC7 外为基因剔除小鼠;“—”表示尚无可用模型;
3) 与 AT 的症状相似(见第 62 段);
4) 重症联合免疫缺陷。

47. 发现和分析辐射敏感性遗传基础之后紧接着还有其它策略,包括对修复反应的生化分析和修复蛋白的纯化,以及通过对低等生物对应物的同源性分析,鉴定人的修复基因(II.A.3)。在许多情况下,这些途径所发现的基因发生突变时使辐射敏感性达到高水平,但只对很小范围的人群有影响,或与生命并不一致。不过,某些影响辐射敏感性的基因可能还有更为微妙的效应,或者是因为特定的基因突变只部分地降低基因产物活性,或者因为该基因对细胞辐射反应不是必需的。后一种反应可能影响更大部分的人群,其研究情况将在 III.A 中讨论。

2. 人类疾病中敏感性增高的机制

48. 除了对辐射敏感外,AT 细胞系还对以下因子的敏感性增加,即能产生高活性化学基团、造成碱基损伤和糖的损伤、导致 DNA 链断裂而能损伤 DNA 分子的因子。已发现 AT 细胞对能通过基

团作用引起这类 DNA 损伤的多种化学物质(博莱霉素、新制癌菌素、过氧化氢、链黑霉素、巴豆油酯^[M5])高度敏感。还有 DNA 拓扑异构酶的抑制剂,它们能将这类酶在通过 DNA 链时截留,使断裂继续开放,在 AT 细胞中比正常细胞更有效地导致染色体损伤和细胞死亡^[C1,H7,S11]。最近发现 AT 细胞系对限制性内切酶高度敏感,这些酶在直接酶切中只产生 DNA 双链断裂^[C17,L56]。还有材料证明某些 AT 细胞系的染色体对诸如紫外线那样的因子中度敏感,特别是在 G₁ 延长期受照时,这可能是在企图进行 DNA 合成时生成了过量的断裂^[E1,K4]。

49. 改变照射中或照射后的时间因素所进行的实验揭示了 AT 细胞缺陷的本质。结果显示,将正常细胞于照射后保持在非生长状态可使其致死效应有所恢复(或减轻),而 AT 细胞则很少或几乎完全不能恢复^[C9,U15,W2]。更明显的是,低剂量

率照射,即同一剂量在几天内而不是几分钟内给予(剂量率相差 500 倍),对正常细胞有很强的减轻效应,但对 AT 细胞效应极小或没有^[C10]。这些观察与 AT 细胞不能从辐射损伤中恢复是一致的,同时也表明,这种缺陷不能简单地通过给予更长的损伤恢复时间而消除。

50. 缺乏减轻效应看来是某一组辐射敏感细胞系的典型特征。那些已知具有 DNA 双链断裂修复缺陷的细胞系,如 xrs 系列和 XR-1,也缺乏在照射条件下恢复的能力,而在相同条件下它们的正常对应株表现出很强的减轻效应^[S14, T7]。与之相似,不能重接双链断裂的酵母辐射敏感株由于重组缺陷(rad50、rad51、rad52)也缺乏减轻效应^[R2, R3]。酵母的大量数据支持以下论点:双链断裂对细胞是最可能致死的 DNA 损伤,它决定了减轻条件下所见到的恢复^[F3]。

51. 上述细胞学研究意味着链断裂是与 AT 缺陷有关的 DNA 损伤类型,与之不同的是,在分子水平上很难证明 AT 细胞有断裂修复缺陷^[M5]。近来用低剂量率 γ 线 37°C 下照射显示了 AT 细胞在修复后的 DNA 双链断裂(残余损伤)与正常细胞相比稍有增加^[B9, F10, F16]。不过,细胞遗传学研究更满意地证明了断裂修复缺陷:在照射后 AT 细胞中未恢复的染色体断裂比例明显升高^[C11, T1]。用正常人和 AT 的成淋巴细胞样细胞以 γ 线在细胞周期各期照射后测量 DNA 双链断裂和染色体断裂(用早熟凝集染色体法以便快速分析)所得的结果支持以上发现^[P5]。实验还发现,AT 细胞修复的快速修复部分比正常细胞减少,在 DNA 双链断裂方面,这种减少幅度较小,通常统计学上不显著,但在染色体断裂方面差异较大且显著。正常及 AT 细胞间残余染色体损伤量的差别与它们在照后的相对存活水平有密切的相似关系,但不精确^[C14, P5]。

52. 与 AT 极为相似的仓鼠细胞系已被分离出来,并且鉴定了它们的反应特征(irs2 细胞系^[J5]及 V 系列^[Z5])。这些细胞系对能引起 DNA 断裂的因子高度敏感,具有辐射抗性的 DNA 合成,并且在 DNA 断裂修复方面没有可测知的生化缺陷^[T8, Z6]。此外还发现 irs2 缺乏辐射减轻效应,而这种效应在其它有相似辐射敏感性但不表现 AT 样特征的细胞系中都是存在的(如同 irs1 及

irs3)^[T30]。

53. 总体来说,这些研究有力地支持以下观点,即:AT 及相关细胞系对电离辐射等因子敏感性的增加是由于不能修复 DNA 断裂,导致较高水平的残余染色体损伤。不过,此疾患辐射敏感性增高的分子机理还不完全了解,尽管近来对 AT 基因产物功能的研究已有相当进展(见 II.A.3)。

54. 其它癌倾向疾病的功能缺陷也还没得到充分鉴定。Fanconi 贫血病人的原代细胞有自发的 G₂ 期延迟和阻滞,以及染色体畸变^[J15]和重组^[T39]的频率增加。在细胞生长中降低氧张力可以纠正 G₂ 期延迟和畸变频率的增加,说明对氧自由基解毒能力的降低可能是该表型的原因^[C62, J17]。然而,永生化的 Fanconi 贫血成纤维细胞已失去此氧效应,表明此因素不是一种根本(或构成其基础的)缺陷^[S48]。Bloom 综合征患者有高频率的姊妹染色单体交换及特殊类型的染色体畸变,说明其 DNA 修复或 DNA 复制有缺陷。

3. 对决定辐射敏感性基因的分析

55. 将辐射敏感疾病及细胞系分类为不同遗传组,然后定位并克隆其受累基因,使得关于 DNA 损伤修复分子机理的知识急剧增加。一旦受累基因得到克隆,根据其序列与已知基因的相似性就可揭示基因产物(蛋白)的性质。危险组群的基因序列数据还可使有害突变得到鉴定,并可对这些基因在诸如癌症这类疾病中的作用进行分析。在确定实验条件下进行基因的操作和表达使其在细胞和动物中的特殊功能得到研究。用缺陷拷贝替代正常的基因可以建立人类疾病的动物模型(基因剔除动物,见第 46 段),并评价其所获得的表型。

56. 对 AT 疾病进行遗传学分类后,起初认为可能存在几种不同的遗传组^[C3, J2],但是发现了患者的一个突变基因(ATM)并进行定位和克隆后,对此观点产生了疑问。来自 AT 家族研究的基因定位数据多半将受累基因定位在同一个染色体区域:11q23.1^[G2, Z2]。通过对此区域进行定位克隆,鉴定出了 ATM 基因,它与一个编码 PI3 激酶的基因家族同源^[B31, S24, S25]。PI-3 激酶家族包括许多大分子蛋白,它们涉及细胞周期关卡、染色体末端长度调节,以及包括位点特异性重组在内的