

生物标记物在 DNA 氧化损伤及辐射损伤检测中的应用

邱志芳¹, 章孝荣^{1*}, 李 森², 陶 勇¹, 吴李君²

(1. 安徽农业大学畜牧水产学院, 安徽合肥 230036; 2. 中国科学院等离子体物理研究所, 安徽合肥 230031)

中图分类号: S857.85; Q527.4

文献标识码: A

文章编号: 1007-5038(2005)02-0022-06

摘要:生物标记物是近年来提出的一群与细胞生长增殖有关的标记物。随着分子生物学理论和技术的迅速发展,生物标记物的研究作为一个崭新的领域逐渐引起了国内外环境医学界的共同关注。关于自由基攻击 DNA 所引起氧化损伤,以及电离辐射造成的 DNA 辐射损伤所诱发的一些生物学后果,存在着由于 DNA 结构微小,直接检测过于复杂和困难的问题,而利用生物标记物进行 DNA 损伤修复检测是最灵敏可行的方法,也是危险性评价的重要方法。因此,文章就 DNA 氧化损伤、辐射损伤以及生物标记物在 DNA 氧化损伤与辐射损伤检测中的具体应用进行了全面而系统的阐述。

关键词:生物标记物; DNA 氧化损伤; DNA 辐射损伤

脱氧核糖核酸(DNA)是生命活动中最重要的遗传物质,是生命信息的载体,是细胞中最重要的生物大分子之一,易受各种因素的作用而出现损伤,导致 DNA 完整性的改变,引起细胞及机体损害。因此,保持其分子结构的完整性以及对 DNA 损伤进行修复,对于细胞至关重要,更是机体抵御各种损害的基础。然而, DNA 复制时,可能由于 DNA 聚合酶引发出偶然的错误或环境因素(如电离辐射、紫外线照射及化学诱变物等)引起 DNA 序列错误,另外, DNA 分子本身也可能出现一些自发性损伤。据统计,每个细胞的 DNA 在 24 h 内约出现 1 万次损伤^[1]。

由于 DNA 结构特点及半保留复制特性, DNA 复制易出现损伤,引起细胞及机体损坏。DNA 损伤会直接影响复制、转录和蛋白质合成,进而影响细胞遗传、发育、生长和代谢等生命活动。DNA 损伤还

是突变的重要原因,而严重的突变则可造成细胞癌变、死亡。单细胞生物必须修复 DNA 的损伤,或产生一定程度对损伤的耐受,才能保证生物个体的生存;多细胞生物体内单个细胞的死亡虽不影响生物个体的生存, DNA 损伤诱发的细胞凋亡对生物个体也没有太大的影响,但 DNA 损伤可导致某些遗传病及肿瘤的发生,因此, DNA 损伤修复系统对多细胞生物同样具有重要意义^[2]。

多年的研究表明,至少人类的两大问题——癌症和衰老与 DNA 损伤密切相关。因此, DNA 的损伤及测定越来越引起人们的重视^[3]。DNA 损伤主要有 2 种类型,一是氧化损伤,二是辐射损伤。DNA 损伤造成的细胞反应也有 2 种,一种是损伤严重而修复无望,细胞遂走向程序性死亡,这种损伤不至于造成突变;二是当损伤有望修复时,细胞通过一系列调节机制,抑制细胞周期的进行等途径来进行修复,而 DNA 损伤的修复涉及人体生长、发育、衰老、疾病等许多方面^[4]。

由于 DNA 结构微小,直接检测过于复杂和困难,利用间接的生物标记物进行 DNA 损伤修复检测是灵敏可行的方法,也是危险性评价的重要方法。生物标记物(biomarker)是指包括生物系统内直接或间接与环境暴露相关的,可测定的生化、生理、细胞、免疫或分子的变化,以及可测量的体液内或房室中的代谢物水平。生物标记物显示了分子水平的暴露-效应关系。在机体中,各种 DNA 损伤和修复机制均有各自特异性的因子和基因组,构成了各自的生物标记物。定量测定生物标记物,进行生物监测是流行病学研究中较为理想的手段。以前,国际上对生物标记物的研究主要集中于致癌物。目前,生物标记物在 DNA 损伤与修复检测上的应用正成为新的研究热点。

收稿日期: 2004-07-30

作者简介: 邱志芳(1978—),女,安徽天长人,硕士,主要从事动物胚胎移植与分子检测研究。* 通讯作者

1 DNA 氧化损伤

电离辐射、超声波及某些化学因素均能引起机体细胞产生活性氧,进而引起 DNA 损伤。自由基攻击 DNA 能够引起氧化损伤,而 DNA 氧化损伤会导致肿瘤、衰老及职业病的发生。脂质过氧化与衰老、中毒、肿瘤、炎症反应等多种疾病有关。脂质过氧化进程中可产生多种自由基和非自由基产物而引起细胞功能障碍,特别是具有中等反应活性的脂自由基 L·, LO· 和 LOO·, 易穿透并扩散进入细胞核,与碱基起加合反应,直接攻击 DNA 或 RNA。如果此类加合产物不能及时清除和修复,就可能引起 DNA 突变并致细胞癌变^[5]。另外, DNA 氧化损伤研究的深入,还可以为阐明某些粉尘毒性的作用机制提供新的途径。引起 DNA 损伤的内源性因素有氧化、甲基化、脱氨、脱嘌呤,其中以氧化为 DNA 损伤的主要类型。引起 DNA 损伤的外源性因素方面,一般有几类:①物理因素:如电离辐射、超声波等。也有文献报道,320 nm~400 nm 的紫外线引起活性氧与氧自由基如¹O₂, O₂⁻ 和 ·OH 的产生量增加,引起细胞膜损伤及 DNA 损伤,促进皮肤癌前病变和皮肤癌的发生。②化学因素:有几类化学物质与生物体内形成多种自由基关系十分密切。醌的代谢产物萘(NAP)可引发脂质过氧化作用。NAP 的脂质过氧化作用可被维生素 E 琥珀酸盐(VES)显著抑制。电离辐射、环境污染、化学致癌物、致纤维化粉尘均能诱发自由基攻击 DNA,表现为 DNA 单链断裂(SSB),DNA 双链断裂(DSB),交联等碱基损伤以及分子水平上出现无嘌呤位点,5-羟甲基尿嘧啶,8-羟基脱氧鸟嘌呤(8-OH-dG)等。

自由基可以直接作用于核酸,引起碱基的修饰和 DNA 链的断裂。碱基的改变可导致在基因控制下进行的许多生物过程受到破坏;DNA 链断裂可使核酸的完整性和构型受到破坏,最终引起细胞死亡。修饰过的 DNA,一方面具有抗原性,刺激机体产生抗体,导致机体自身免疫反应发生。另一方面, DNA 携带有遗传信息,自由基作用于 DNA 导致遗传信息的改变,从而控制以 DNA 为模板的蛋白质的合成,参与机体代谢。由于生物体系的复杂多样性, DNA 氧化损伤的研究主要集中在体外模型系统上。自由基引致 DNA 损伤主要表现为碱基释放、解聚、碱基受损、交联 4 种类型。在脂质体、红细胞膜、大鼠肝细胞核膜脂质过氧化对核 DNA 影响的研究中,发现脂质过氧化引起的 DNA 损伤以交联

为主。利用原子力显微镜(AFM)能够直接观察到交联 DNA 的生成。脂质过氧化过程中会产生多种活性氧自由基。而活性氧自由基的诱变作用已有报道。有研究证实,组织细胞内脂质过氧化作用的增强导致活性氧的产生量增加,引起基因突变和线粒体 DNA(mtDNA)的氧化损伤。脂质过氧化可以造成基因点突变,引起原癌基因的激活或抑癌基因的失活,最终导致细胞增殖的失控和癌变^[7-8]。在体外实验中,大鼠微粒体脂质与 NADPH, Fe²⁺ 和细胞色素 P450 还原酶共育导致 PZ189 质粒 DNA 双链损伤,将 DNA 转染给 *E. coli* 细胞。结果在未经紫外线辐射诱导产生 SOS 修复的宿主细胞中突变率增加 7 倍,而在诱导产生 SOS 修复的宿主细胞中突变率增加 12 倍,且存活率是未经 SOS 诱导宿主细胞的一半。对 PZ189DNA 序列分析结果显示,主要是单个碱基的置换,主要是 G:C→C:G 的颠换,其次是 G:C→T:A 颠换。在 SOS 诱导的 *E. coli* 宿主细胞中,脂质过氧化物的光谱类似 H₂O₂, 提示脂质过氧化过程中产生的过氧化物有诱变作用,但没有发现脂质氧化的终产物,例如醛或链烷。四氯化碳经生物转化后形成自由基,引发肝微粒体脂粒的脂质过氧化,攻击 DNA 导致 G、C、T 碱基突变。有研究发现,直肠癌细胞中亦发生 G→T、C→T 颠换,且 8-OH-dG 和 MDA 量增高。

DNA 氧化损伤所造成的生物学后果与人类的健康和某些疾病有着紧密联系。大多数文献常常涉及到的是肿瘤和衰老。癌症可能是由于致癌物经体内代谢活化后,形成自由基攻击 DNA 才发生的致癌作用。通常,促癌剂的促癌能力与其产生自由基的能力呈正相关。能清除自由基的物质也能抑制促癌作用。但目前的研究多基于体外实验,体内实验和人类的资料不足。衰老是一个极为复杂的过程,自由基致 DNA 损伤只能解释部分现象。有研究发现,向细胞培养基内加入抗氧化剂并不能显著增加细胞的寿命。许多学者也已经注意到氧化磷酸化的老年变化。在电子传递呼吸链中产生的自由基可以导致线粒体 DNA 损伤,以及使一些线粒体 DNA 的包涵体进入细胞核基因组。研究表明,褪黑素分泌的减少,体内抗 DNA 氧化损伤能力的减迟与衰老有密切关系。DNA 氧化损伤与尘肺的发生也存在一定的关系。虽然石棉引起肺纤维化和恶性肿瘤的发病机制目前还不十分清楚,但有些学者认为自由基和其他一些活性氧产物介导了暴露于石棉后的组

织损伤,石棉纤维中的铁和培养介质中的铁催化产生活性氧自由基,导致DNA损伤、基因突变和癌症发生。而且,吸入石英粉尘也可导致肺部纤维化,最后发展为矽肺。有些资料表明,石英粉尘可能与肺癌有一定联系。一般矽肺患者的肺癌发病率高于未患矽肺的接触粉尘者。

抗氧化剂及各种自由基清除剂在DNA氧化损伤中的作用方面已多有报道。像SOD、CAT、苯甲酸钠、甘露醇等都被证实有抑制DNA氧化损伤作用。近年来,许多天然抗氧化剂的研究越来越受到重视。据报道茶多酚可以抗心血管疾病、延缓衰老、抗癌,而且还有其他保健作用,如可提高机体免疫功能。茶多酚的抗DNA氧化损伤功效为今后开发绿色天然抗癌食品提供了一条新途径。尽管DNA氧化损伤的机制还不是很明确,但脂质过氧化引致DNA损伤的结论已被证实,在肿瘤、职业病、衰老等疾病的研究中也取得了有意义的成果,并且已找到了一些高效的抗氧化剂。但对于DNA氧化损伤的机制及DNA氧化损伤与疾病的关系仍需进行深入研究。

2 DNA 辐射损伤

DNA辐射损伤主要包括DNA结构的辐射损伤与染色质的辐射损伤2种类型。DNA的辐射损伤会对DNA的复制、转录、翻译有一定影响,而且还能产生一些其他生物学后果。对于DNA结构的辐射损伤,是因一般电离辐射后DNA的碱基和糖基都有可能发生一系列的化学变化,从而引起碱基的破坏和脱落,脱氧核糖的分解,磷酸二酯键的断裂和DNA核苷酸链的单链和双链断裂。由于碱基的变化,DNA与附近的蛋白质形成共价键结合的DNA蛋白质交联,DNA的同一条链内和相邻两条链间的碱基也可能发生共价键结合的链内交联和链间交联。在射线的作用下,DNA的高级结构也发生变化。而对于染色质的辐射损伤,通常是DNA通过转录将遗传信息传递给mRNA,指导蛋白质和酶的生物合成,使基因蕴藏的信息得以表达。但在真核细胞中,DNA要行使这些功能,一刻也离不开染色质蛋白。组蛋白和非组蛋白对基因表达起着重要的调控作用^[1,6,9]。因此,要深入研究电离辐射对细胞内DNA的效应,讨论DNA辐射损伤对转录和翻译功能的影响,必然会涉及到染色质以及染色质蛋白与DNA的相互关系。总的说来,DNA辐射损伤主要有以下几种类型:

2.1 紫外线引起的DNA损伤

DNA分子损伤最早从研究紫外线效应开始。当DNA受到最易被其吸收波长(260 nm)的紫外线照射时,主要是使同一条DNA链上相邻的嘧啶以共价键连成二聚体,相邻的2个T、或2个C、或C与T间都可以环丁基环(cyclobutane ring)连成二聚体,其中最容易形成的是TT二聚体。

2.2 电离辐射引起的DNA损伤

电离辐射损伤DNA有直接和间接的效应,直接效应是DNA直接吸收射线能量而遭损伤,间接效应是指DNA周围其他分子(主要是水分子)吸收射线能量产生具有很高反应活性的自由基进而损伤DNA。电离辐射可导致DNA分子的多种变化:①碱基变化。主要是由·OH自由基引起,包括DNA链上的碱基氧化修饰、过氧化物的形成、碱基环的破坏和脱落等。一般嘧啶比嘌呤更敏感。②脱氧核糖变化。脱氧核糖上的每个碳原子和羟基上的氢都能与·OH反应,导致脱氧核糖分解,最后会引起DNA链断裂。③DNA链断裂。这是电离辐射引起的严重损伤事件,断链数随照射剂量而增加。射线的直接和间接作用都可能使脱氧核糖破坏或磷酸二酯键断开而致DNA链断裂。DNA双链中一条链断裂称单链断裂(single strand broken),DNA双链在同一处或相近处断裂称为双链断裂(double strand broken)。虽然单链断裂发生频率为双链断裂的10倍~20倍,但还比较容易修复;对单倍体细胞来说(如细菌)一次双链断裂就是致死事件。④交联。包括DNA链交联和DNA-蛋白质交联。同一条DNA链上或两条DNA链上的碱基间可以共价键结合,DNA与蛋白质之间也会以共价键相连,组蛋白、染色质中的非组蛋白、调控蛋白、与复制和转录有关的酶都会与DNA共价键连接。这些交联是细胞受电离辐射后在显微镜下看到的染色体畸变的分子基础,会影响细胞的功能和DNA复制。

DNA的辐射损伤问题作为辐射对活细胞作用的关键靶分子,一直是放射生物学分子水平研究的中心课题。近几年来,在分子生物学技术迅速发展的渗透下,该领域的研究进展迅速,主要表现在以下几个方面:一是低能辐射研究。低能辐射,特别是keV~eV水平低能电子、超软X射线、VUV(真空紫外)及Auger电子对DNA损伤的研究受到很大重视并取得某些突破性进展。其原因主要有2个方面:一是常规电离辐射的生物效应归根结底主要是

通过大量次级低能电子(能量仅为几十 eV 甚至更小)的能量沉积事件所引起;另一原因是实验技术的发展(因为低能辐照需有特殊的设备和制样技术)。这类研究以加拿大和英国学者的工作最为突出。二是同步辐射(SR)软 X-rays 和 VUV 方面的研究。Akamatu K 指出,作为 SR 广泛应用的一个方面——第 3 代 SR 高亮度、高品质软 X 射线和 VUV 技术的发展,为低能辐射研究提供了极好的手段,并被认为是研究辐射直接作用的成功方法。其主要原因有以下 3 点:①利用 SR 可系统地研究 DNA 损伤的光能依赖性(特别是 5 eV~150 eV 范围发生 SSB 和 DSB 的作用谱);②软 X 射线微束技术的发展可选择照射单个细胞,研究旁效应和细胞间通讯;③SR 从结构水平开展蛋白质、DNA 和 RNA 辐射化学研究可获得生物大分子“weak links”信息。

值得注意的是,Takakura K 用 SR 软 X 射线研究人成纤维细胞染色单体断裂并与 γ 射线比较后得出:对染色单体断裂产额,SR 比 γ 射线大 1 倍~3 倍,但二者均与 D (吸收剂量)呈线性关系;而对等位染色单体断裂产额,SR 比 γ 射线大 2 倍~3 倍,但二者均与 D^2 呈线性关系。在辐射所致 DNA 损伤研究中,DNA 簇损伤(clustered DNA damage)研究受到广泛重视,成为近年研究热点。DNA 簇损伤是辐射所致细胞死亡或突变的关键损伤,但因检测方法跟不上,因而对它的发生率、可修复性及生物学后果仍不甚了解,甚至在概念上时有模糊(如 DSB 是簇损伤吗? 2 个或多个损伤的范围有多大?)。此外,DSB 产额与 LET 的关系一直是个有争议的问题。近年的研究还表明,细胞 DNA DSB 产额及其空间分布受辐射质的影响。另外,DNA 链断裂的一个重要机制—— $\cdot\text{OH}$ 对糖的抽氢反应,也引起了辐射化学家们的很大兴趣。20 世纪 90 年代以来,辐射生物学上有两个相关现象被认为对传统辐射作用模式构成了挑战,一是辐射诱导基因组不稳定性,另一个就是旁效应。旁效应指的是受照射细胞能发出某种信号引起邻近未受照射的细胞损伤。传统观念认为,辐射对细胞的遗传效应都是 DNA 损伤的直接结果,群体中未受到照射的细胞则“no effect”。旁效应显然是传统理论无法解释的新现象,正在引起研究者的极大兴趣。旁效应在广泛的应用领域(如预测放疗疗效和估计暴露于低剂量辐射人群的风险)可能具有头等重要性。近年的研究表明:①高 LET 辐射所致旁效应比低 LET 辐射强烈;

②一个细胞群中只有部分细胞产生旁效应,其比例大小与细胞种类及照射水平有关;③引起旁效应的可能机理有活性氧自由基,受照射介质的效应,细胞间通讯或信号转导。

目前更倾向于第 3 种解释,但需深入研究。预期对这一新现象及机理的阐明,将对辐射生物学基本理论产生重大影响,并在辐射防护领域可能要重新考虑低剂量辐射危险度的评价。另外,随着新技术、新方法的大量应用,辐射生物学研究发展很快,特别引人注目的重要新技术有核磁共振谱仪,分子动力学,DNA 芯片,时间分辨 X 射线晶体衍射,同步辐射(第 3 代),共焦激光显微镜,脉冲电子·核磁共振谱仪以及高效液相色谱与质谱或串联质谱联用技术等等。这些高新技术的应用将会使 DNA 辐射损伤研究的进入一个新的发展阶段。

3 生物标记物在 DNA 损伤检测中的应用

生物标记物是近年来提出的一群与细胞生长增殖有关的标记物。随着分子生物学理论和技术的迅速发展,生物标记物的研究作为一个崭新的领域逐渐引起了国内外预防医学界的共同关注。生物标记物被称为是环境医学发展到分子水平的重要里程碑,它的研究在分子流行病学、分子毒理学、劳动卫生学、环境医学等诸多领域中均具有极其重要的价值^[7,10-20]。目前,生物标记物在辐射(放射)生物学领域正逐步被广泛应用。

3.1 生物标记物概述

生物标记物是指生物系统接触外源物质后出现的一种改变。具体来说,就是指能反映生物体系与外界环境因子(化学的、物理的或生物的)相互作用所引起的生理、生化、免疫和遗传等多方面的分子水平的改变的物质。通常,生物标记物可分为 3 类。一是接触生物标记物(biomarker of exposure),指机体生物材料中外源性物质及其代谢产物(内剂量),或外源性物质与某些靶分子之间相互作用的产物(生物有效剂量)。内剂量生物标记物包括细胞、组织或体液(如血、尿、粪便、乳汁、汗液、毛发、指甲、唾液)中的毒物及其代谢产物;有效剂量(到达剂量或靶剂量)生物标记物如 DNA 加合物,蛋白质加合物,DNA-蛋白质交联物等等。二是效应生物标记物(biomarker of effect),指机体内能反映生化、生理或其他方面改变的物质。依照改变程度的不同,效应生物标记物又可分为反映早期生物学效应、结构和(或)功能改变、毒性或疾病 3 类标志物。机体内能

反映早期生化、生理或其他方面改变的物质称为早期生物学效应生物标记物,如DNA链断裂、癌基因活化、抑癌基因失活等;当外源性物质引起细胞结构或功能改变时,机体内能反映生化、生理或其他方面改变的物质叫做细胞结构和功能改变的生物标记物,如有机磷农药中毒时胆碱酯酶活性抑制,铅中毒时 δ -ALA活性抑制,多胺水平的升高,肿瘤生长因子,癌胚抗原等;能反映外源性物质机体毒性的物质,如Ames实验,染色体畸变,姐妹染色单体交换和微核实验等,称作毒性生物标记物。三是易感性生物标记物(biomarker of susceptibility),指反映机体先天或后天获得的对接触外源性物质产生反应能力的指标。理想的生物标记物应是特异性强,敏感性高,能用非损害性技术测出,省钱,并与接触水平有量的关系。实际上,生物标记物能具备上述理想条件者不多,但对完成某种目的来说,仍可选用。为了寻找理想的生物标记物,学者们一方面热衷于发展新技术,例如由外源物质的活性代谢产物与体内大分子相互作用而形成加合物,用作接触外源物质的标记物,并可定量。另一方面重新审视过去的多种类型测定物,评价其作为生物标记物的价值^[10-22]。

3.2 DNA氧化损伤与辐射损伤的生物标记物检测

DNA是生命活动中最重要的遗传物质,易受各种因素的作用而出现损伤,导致DNA完整性的改变,引起细胞及机体损害。DNA损伤的特点就是细胞正常周期调控受阻,导致细胞增殖。因此标志DNA损伤的检测一直受到重视。特别是近年来对调节细胞增生的各种因子及其分子生物学基础有了深入的认识,检测的技术和方法也有了迅速的发展和更新。但由于DNA损伤的直接检测过于复杂和困难,一般需采用间接的灵敏可行的生物标记物法。DNA损伤的生物标记物可主要分为3种,即特异性酶和代谢产物,特异性修复基因和DNA加合物。因此,生物标记物已成为DNA损伤标记物的一个重要分支。总之,生物标记物以新的方法检测,能反映各类DNA损伤机理及过程,并可望普及应用,检出损伤位点,在常规检测方法应用的今天,不失为一种DNA损伤的有力检测指标。

在毒理学研究中,寻找DNA氧化损伤的生物标记物,对研究外源化合物及其他因素(如电离射线等)对机体的损伤非常重要,例如,DNA链断裂,8-OH-dG,反映基因变化的指标P21和P53,反应

DNA修复与代谢酶多态性指标CYPS,谷胱甘肽硫转移酶(GSTS)及乙酰化酶(NATS)等的测定。研究表明,尿中5-羟甲基尿嘧啶可作为人类氧化应激的生物标记物,反映某些外源化合物低剂量接触人群的潜在毒性。但目前仍然缺乏简便、灵敏、可靠的理想的生物标记物,比如8-OHdG的检测设备昂贵,成本高,这是目前自由基人群毒理学的最大障碍,也是目前有关研究工作仅局限于离体实验及动物实验的主要原因之一。现在认为导致DNA损伤的4个内源性过程(即氧化,甲基化,脱氨基和脱嘌呤)中最重要内源性损伤是氧化损伤^[8,15-22]。这种认识促使人们想发明一种技术,以用于常规监测个体中的这种损伤。

近年来新的生物标记物8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine(oxo⁸dG,8-羟脱氧鸟苷)的出现,引起了众多学者的兴趣,高效液相色谱-电化学技术(HPLC/EC)的联合应用,已经成功地将其检测出来。oxo⁸dG是最重要的生物标记物。Dizdaroglu最初于1985年发现DNA经 γ -射线产生后产生。1986年Kasai等在用各种致癌物处理的DNA中也发现了它。同年Floyd等首次用HPLC/EC法检测出经UV-H₂O₂等处理的脱氧鸟苷(dG)中产生的oxo⁸dG。Kuchino(1987)提出oxo⁸dG是诱变剂。1989年以后shigenaga等对Floyd的方法进行了多次改进并用于生物样品检测。又由于oxo⁸dG固有的特点,使其在短短的几年间,很快成为众学者推崇的DNA氧化损伤的生物标记物之一^[8,15-22]。

综上所述,oxo⁸dG是DNA氧化损伤所产生的一种主要的加合物,与诱变、致癌、衰老及与衰老有关的退行性疾病均有密切的关系。oxo⁸dG的HPLC/EC法的建立,提供了检测内源性DNA氧化损伤的最好手段。国外这方面的研究进展很快,我国仅见台湾Shi Cheng-An等关于姜黄抗助长研究以此为标志物的报道,此法初建时需要较大的投资,有一定困难^[8]。随着各种新技术新方法的发展,相信我国不久将会赶上国际先进水平。

4 结语

随着生物标记物研究的日益规范化以及新技术新方法的不断出现,如GC-MS(气相色谱-质谱仪),MNR,HPLC-MS(高压液相色谱-质谱仪),PCR(聚合酶链反应)技术,单细胞凝胶电泳技术和荧光原位杂交技术等的迅速应用,计算机模拟技术等,从各个层次寻找出更多灵敏、特异的生物监测指标,建立更

多具有可靠的生物接触限值,都会极大地促进生物标记物的多元化研究的迅速发展。但目前我国在这方面的研究远落后于国际上其他国家。为迎接这一挑战,国内辐射生物学领域中各学科的工作者应密切合作,对生物标记物进行切实地验证和运用,以解决我们在 DNA 损伤评定及修复其危害方面所面临的迫切问题。当然,随着 DNA 损伤研究手段不断深入,新的 DNA 损伤的生物标记物也会不断被发现,使我们对 DNA 损伤的检测越来越灵敏、简单、准确。

参考文献:

- [1] 夏寿萱.放射生物学[M].北京:军事医学科学出版社,1998.
- [2] 夏寿萱.分子放射生物学研究新进展[J].国外医学—放射医学核医学分册,1996,20(2):74-78.
- [3] 原亚萍,朴铁夫. DNA 损伤,修复与突变的研究进展[J].吉林农业大学学报,1995,17(3):91-95.
- [4] 胡大林,廖建坤,吴校连,等.自由基与 DNA 的氧化损伤[J].国外医学—卫生学分册,2002,29(5):261-263.
- [5] 姜彩霞. DNA 氧化损伤研究进展[J].国外医学—卫生学分册,1999,26(3):147-150.
- [6] 丘冠英. DNA 辐射损伤研究:热点与新进展[J].国外医学—放射医学核医学分册,2002,26(4):145-147.
- [7] 吕斌,周宜开. DNA 损伤和修复生物标记物的检测研究[J].中华检验医学杂志,2002,25(2):120-122.
- [8] 徐永俊,徐顺清. DNA 氧化损伤生物标记物 8-OH-dG 的检测及其在医学中的应用[J].癌变·畸变·突变,2002,14(1):50-53.
- [9] 张鹏,郑秀龙. DNA 解旋荧光分析法及其在细胞 DNA 辐射损伤和修复研究中的应用[J].辐射研究与辐射工艺学报,1989,7(3):54-59.
- [10] Halliwell B. Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2002, 32(10):968-974.
- [11] Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology[J]. Toxicology, 2002, (181-182):411-416.
- [12] Everaarts J M, Sarkar A. DNA damage as a biomarker of marine pollution: strand breaks in seastars (*Asterias rubens*) from the North Sea[J]. Water Science and Technology, 1996, 34(7-8):157-162.
- [13] Albertini R J. Biomarker responses in human populations: towards a worldwide map[J]. Mutation Research, 1999, 428(1-2):217-226.
- [14] Everaarts J M. DNA integrity in *Asterias rubens*: a biomarker reflecting the pollution of the North Sea? [J]. Journal of Sea Research, 1997, 37(1-2):123-129.
- [15] Rodr Guez Ariza A, Alhama J, D az-M ndez F M, et al. Content of 8-oxodG in chromosomal DNA of *Sparus aurata* fish as biomarker of oxidative stress and environmental pollution[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 1999, 438(2):97-107.
- [16] Steffen L, Enghusen P H, Kirsten V, et al. Increased urinary excretion of 8-oxo-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative DNA damage, in urban bus drivers[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 1999, 441(1):11-19.
- [17] Cheng Y W, Chen C Y, Lin P, et al. DNA adduct level in lung tissue may act as a risk biomarker of lung cancer[J]. European Journal of Cancer, 2000, 36(11):1381-1388.
- [18] Tardieu D, Jaeg J P, Cadet J, et al. Dextran sulfate enhances the level of an oxidative DNA damage biomarker, 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine, in rat colonic mucosa[J]. Cancer Letters, 1998, 134(1):1-5.
- [19] Juan B L. Biomarkers to detect environmental pollution[J]. Toxicology Letters, 1996, (88):79.
- [20] Bolognesi C, Rabboni R, Roggieri P. Genotoxicity biomarkers in *M. galloprovincialis* as indicators of marine pollutants[J]. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Pharmacology, Toxicology Endocrinology, 1996, 113(2):319-323.
- [21] Isa D, Jose A, Carmen P, et al. Fish 8-oxo-dG levels as biomarker of oxidative damages by environmental pollutants[J]. Mutation Research (Supplement 1), 1997, 379(1):S168.
- [22] Embvani E, Tardieu D, Jaeg J P, et al. Dextran sulfate enhances the level of an oxidative DNA damage biomarker, 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine, in rats colonic mucosa [J]. Toxicology Letters (Supplement 1), 1998, (95):190.

The Application of Biomarker in Checking Oxidative DNA Damage and Radiant DNA Damage

QIU Zhi-fang¹, ZHANG Xiao-rong¹, LI Miao², TAO Yong¹, WU Li-jun²

(1. College of Animal Sciences and Fishery, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui, 230036, China;

2. The Institute of Plasma Physics, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui, 230031, China)

Abstract: Biomarker is a group of markers relating to cell growth and multiplication, which were brought forward in recent years. With the rapid development of theoretics and technique of molecular biology, as a fire-new field, the research of biomarker arouses gradually common attention of environment medicine circles at home and abroad. Oxidative DNA damage is aroused by free radical attacking DNA, and radiant DNA damage has resulted from ionization radiation, and also the two kinds DNA damages lead to some biology consequence, which bring much more complex and difficult problems for directly checking because of DNA structure minuteness. Using biomarker to carry out the check of DNA damnification and restore is the most sensitive and feasible technique, also an important technique for fatalness appraisalment. This paper introduced oxidative DNA damage, radiant DNA damage respectively, the biomarker and its application.

Key words: biomarker; oxidative DNA damage; radiant DNA damage