

Tumor radiosensitivity and apoptosis

ZHU Guang-xu, Wang Xiao-hua

(Institute of Combined Injury, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract Radiosensitivity is a complex phenomenon in tumor cells and there exist special biological effects in different types of tissues/cells in irradiation-induced cell responses. Tumor radiosensitivity is tightly connected with irradiation-induced apoptosis and is regulated by many protein products of apoptosis-related genes such as p53 and related proteins, Bcl-2 gene family proteins, Fas and sphingomyelin/ceramide-mediated signalling pathways and caspases cascade etc.

Key words radiosensitivity; apoptosis; signaling pathway; regulation of gene expression

文章编号: 1001-098X(2000)02-0082-04

辐射诱导发育脑细胞凋亡的分子调节

古桂雄

(苏州医学院附属儿童医院,江苏苏州 215003)

摘要:近年来辐射诱导脑细胞损伤的研究表明,某些基因如即早基因、Bcl-2家族、p53热休克蛋白、AT(共济失调性毛细血管扩张症)基因在电离辐射诱导脑发育的细胞凋亡中发挥重要的调控作用;而神经生长因子、白细胞介素-1、肿瘤坏死因子、碱性纤维生长因子、转化生长因子等生物因子在抑制辐射诱导细胞凋亡中具有重要的保护作用。

关键词: 辐射; 脑发育; 凋亡; 基因; 生物因子

中图分类号: Q274

文献标识码: A

脑是人体最复杂的器官,表达的基因数量最大,细胞数量及种类最多,有复杂的纤维联系,而在发育过程中最为复杂。在早期的胚胎里,从原始外胚层特定区域分离出来的神经前体,即成神经细胞,在发育中聚集在脑室周围。每个神经元不仅有一定的出生日期,而且有准确的功能,要发挥它们的正常的功能,大脑神经元细胞就必须从特定的脑室周围区增值迁移出来。迁移是一个主动的有时间性的过程,在很大程度上取决于神经元的表面膜和它们的引导细胞之间的相互作用和细胞趋化素(cytotactin)等基质物质,取决于神经元和神经胶质细胞在最终发育的形态学上的构型。因此,这些正常发育过程中任何分子在迁移过程中不论在时间、空间结构上引起的任何紊乱是多么短暂,均可引起多种发育异常。

正常大脑发育中大量地存在程序化细胞死亡,其可被电离辐射加速或改变。研究发现,新生大鼠在产后2d经X射线辐照后,可见凋亡细胞广泛发生

在大脑皮层、梨状皮质、嗅内皮质,海马多形细胞层和锥体细胞层、齿状回、纹状体、丘脑、皮质下白质、小脑皮质、小脑白质等区域;成年大鼠在 γ 射线全身照射后5h,在海马结构的齿状回中,具有神经干细胞功能的颗粒细胞群中大量呈现凋亡细胞^[1]。许多研究表明,发育中的大脑对辐射具有特殊的敏感性。脑发育紊乱的敏感期及脑的可塑性(即有不断自我改建的能力)是电离辐射损害脑组织结构和功能发育的重要课题。

1 辐射致神经细胞凋亡的基因调控

1.1 即早基因(immediate early genes, IEGs)

真核细胞内广泛存在C-fos、C-jun等即刻早期基因(IEGs),在第二信使的诱导下,表达C-fos和C-jun等核蛋白。Fos和jun蛋白通过亮氨酸拉链形成异源二聚体激活蛋白-1(AP-1),参与神经细胞的信息传递、生长、分化和损伤修复等。Ferrer I等在1995年观察到C-fos、fos相关抗原、jun-B、jun-D在发育的鼠脑中分布面广且数量多,而在成熟鼠脑中却较少。在程序化细胞死亡中,无论是神经元或胶质细胞,凋亡细胞的细胞核和胞质均可见选择性的c-

收稿日期: 1999-01-13

作者简介: 古桂雄(1954-),男,广东兴宁人,苏州医学院儿童医院主任医师,博士,主要从事发育脑保护的研究。

审校者: 苏州医学院放射医学系 朱寿彭

jun过度表达,产后3d的鼠在 γ 射线照射后5~15min可见诱发的凋亡细胞中C-jun mRNA表达,2h可见C-jun蛋白水平增高,6h达高峰,伴有核酸内切酶活性增高。在幼年大鼠中 γ 射线照射可致神经细胞死亡,在形态学上有凋亡的特征和DNA裂解,无论是在发育中,或实验导致细胞死亡均可见C-jun强表达^[2],表明在脑发育中,电离辐射诱导的脑细胞凋亡可见选择性的C-jun过表达,而C-jun B和C-jun D的选择性表达发生于整个细胞死亡期间。电离辐射后,C-jun B/AP-1大量增加,而C-jun D/AP-1却减少,证明C-jun的过度表达在中枢神经系统发育中和辐射损伤中诱导细胞凋亡均具有重要作用^[3]。

1.2 Bcl-2家族基因

Bcl-2家族包括Bcl-2 Bcl-X1 Bcl-Xs Bax Bad等,Bcl-2 Bcl-X1抑制细胞凋亡,而Bcl-Xs Bax Bad却相反,促进细胞凋亡^[4]。细胞的凋亡取决于Bax同源二聚体的相对数量。Bcl-2 Bcl-X1可与Bax相结合,阻止Bax同源二聚体结合。此外,Bad亦可与Bcl-2 Bcl-X1结合,使之剩余的Bax形成同源二聚体,从而促进细胞凋亡。Bcl-2的表达在胚胎时期存在于许多组织中,而在成熟期则几乎不表达。孕龄17d的胎鼠经低剂量 γ 射线照射后,其脑组织Bax mRNA含量明显增高,而Bcl-2家族中其他mRNA却减少了50%~70%,表明辐射诱导胎脑细胞的凋亡^[5]。增加Bax/Bcl-2和Bcl-X1的比值,提示抑制凋亡基因向促进凋亡基因转换。但也有作者认为^[6] γ 射线辐射不诱导脑组织中Bax蛋白升高,Bax蛋白是活体内辐射诱导细胞凋亡的介导成份之一。

1.3 p53基因

p53是一个DNA结合转录因子,参与细胞生长、分化、死亡三大生物学过程,p53蛋白是DNA损伤时诱导G₁时相阻滞的重要生物调节分子。

当细胞受到 γ 射线辐照致DNA损伤时,p53蛋白水平会急剧升高,半寿期延长,与其他蛋白结合力和活性增加。此增高的水平与DNA受损程度呈正比,但增高的幅度及其活性动力学改变随辐射损伤类型而异。

p53通过p21蛋白、Gadd45调节细胞周期进展,促使受损的DNA修复。

Gadd45 mRNA亦在脑、肝、肾组织中有差异,其与p53的信号转导有关,认为Gadd45基因的表达与DNA修复有关^[7]。大鼠在X射线低剂量全身

照射后12h,野生型p53与对照组相比有明显增高;在脑、骨髓、肝、脾等不同组织中,p53堆积量不尽相同,而在睾丸、卵巢中却几乎无堆积,可见p53的量随不同组织而异,其与激素水平、免疫器官状态、神经调节等因素有关^[8]。在培养的中脑细胞中,与X射线相比,来自氘水的 β 射线在ID₅₀(半数抑制剂量)中,诱导细胞凋亡出现的时程晚且凋亡的百分率低,在细胞显著凋亡前p53已明显增加^[9]。电离辐射后p53与神经细胞损伤可同时或先出现,提示p53促使细胞死亡,而减少p53表达可保护脑细胞受损。X射线照射培养的海马神经元细胞,可诱导p53过表达,导致细胞经凋亡介导产生死亡,但不诱导p21及Bax的表达,p53在神经细胞中的作用类似于其它细胞中的作用,显著不同的是不涉及细胞周期的停滞^[10]。

1.4 热休克蛋白(Heat shock protein, HSP)

HSP-72基因产物在正常大鼠脑内不存在,但可被各种应激状态迅速诱导出来。HSP参与了蛋白质的装配。在热休克或辐射人成胶质细胞瘤时,均可诱导HSP-72增多^[11]。HSP-72在受损的脑区中由于细胞死亡而无表达,在变性反应区中却可大量表达,认为受损的神经细胞HSP-72表达有利于脑组织结构和功能修复。若只有HSP-72mRNA诱导,而无HSP-72表达,则与神经元细胞损伤有关。

1.5 AT基因

共济失调性毛细血管扩张症(Ataxia Telangiectasia, AT)是一累及多组织器官的遗传性疾病,主要表现为共济失调、毛细血管扩张、免疫功能缺陷、肿瘤发生增加、对电离辐射敏感等。AT基因在神经系统发育时期高度表达,而在成熟的中枢神经系统中仅仅低水平表达。在AT基因^{-/-}鼠中,Herzog等^[12]发现在电离辐射后,中枢神经系统的许多区域(包括小脑)不诱导细胞凋亡,而在野生型鼠中却发生凋亡,提示在中枢神经系统发育中电离辐射诱导细胞凋亡需要AT基因。同时观察到,p53基因上调与细胞凋亡有关,表明依赖AT基因诱发的细胞凋亡是由p53基因介导产生的。

2 辐射致神经细胞凋亡的细胞因子调节

脑内的多种细胞在生理状态下均具有合成细胞因子的能力。细胞因子促进神经细胞生长分化,调节神经内分泌和神经兴奋性,介导信号传递等功能,在中枢神经系统中具有重要的病理生理作用。

2.1 神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)

NGF是典型的神经营养因子,能促使中枢神经元的分化、生长及存活。神经元发生凋亡与NGF有密切关系,剥夺细胞生长所需的NGF能激活CPP32(一种诱导凋亡的蛋白水解酶),通过凋亡机制导致神经元死亡。

2.2 白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)

在正常生理情况下,外周血中IL-1很难通过血脑屏障,而脑内血管内皮细胞、小胶质细胞、星形细胞和神经元均具有合成IL-1的能力,IL-1分布于下丘脑及脑干等部位。IL-1受体及受体mRNA表达广泛存在于海马、嗅球、小脑、大脑皮质、脉络丛、下丘脑及延髓各部位,尤以齿状回的颗粒细胞层及海马的锥体细胞层更为明显。Hong JH等在1995年用25Gy的X射线全身照射雄性鼠后发现,IL-1在脑中暂时升高,6h达高峰,24h呈低水平,认为IL-1对神经细胞具有一定的营养保护作用。

2.3 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)

用25Gy的X射线照射雄性鼠后TNF暂时性升高,4~6h达高峰,24h呈低水平;TNF mRNA在照射后2~3个月中再度升高,并持续到照射后6个月。TNF受体(TNF-RP55)mRNA在照射4h后明显上升,8h达高峰,尔后缓慢下降,直至6个月仍可测出^[13]。他们认为,TNF的表达与脑损伤有关,其表达是对神经病理性损害的一种保护反应。在单次电离辐射后,大鼠脑皮质中转录活性核蛋白因子(NF κ B)活性在照射后2h显著增加,2~22.5Gy时有一个剂量效应关系,在照射后8h恢复到未照射水平;若实验前先半量照射,则明显减低NF κ B活性,表明初次暴露电离辐射在神经细胞中诱导一个不应期,在此期中,再次照射则降低激活NF κ B的敏感性,此过程与TNF等炎性因子调节有关^[14]。

2.4 碱性纤维生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)

bFGF影响神经元存活和发育中的神经元分化,其在脑中由星形细胞和某些神经元广泛表达。在大鼠星形细胞原代培养中,用2~10GyX射线辐照1h后bFGF的表达减少,24h后仍低于对照组。此剂量对星形细胞无毒性作用,对睫状神经营养因子(CNTF)mRNA和胶质纤维酸性蛋白均未受到影响^[15],认为bFGF在辐射后诱导表达所具有的特异性,对中枢神经系统损害的恢复反应有潜在的作用。

2.5 转化生长因子 β (transforming growth factor-

β , TGF β)

TGF β 可直接抑制神经元凋亡,影响某些调节凋亡的基因表达,如Bcl-2家族,但其对Bax无影响。在培养海马锥体神经元细胞时,TGF β 可保护细胞免受辐射诱导的细胞凋亡^[16]。其机理与抑制兴奋性氨基酸的神经毒性作用、保护细胞内Ca²⁺稳态、促进Bcl-2表达有关。

目前辐射诱导神经细胞凋亡的研究工作虽然取得了多方位的进展,但其分子机制以及在细胞发育中脑结构、功能损伤中的地位有待进一步的阐明。放线菌酮、放线菌素D_s和DMFO(α -difluoromethylornithine)^[17]可通过不同途径保护神经元细胞,阻止其凋亡,表明通过药物、基因控制及其他方法可阻断细胞凋亡。随着分子生物学与辐射诱导脑损伤研究的日益进展,使得在基因水平中开放内源性保护因子,关闭内源性损害因子,从而为抗辐射损伤带来新的突破。

参考文献:

- [1] Peissner W, Kocher M, Treuer H, et al. Ionizing radiation-induced apoptosis of proliferating stem cells in the dentate gyrus of the adult rat hippocampus [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 71(1): 61~68.
- [2] Ferrer L. Cell death in the normal developing brain, and following ionizing radiation, methylazoxymethanol acetate, and hypoxia-ischaemia in the rat [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 1996, 22(6): 489~494.
- [3] Ferrer L, Olive M, Ribera J, et al. Naturally occurring (programmed) and radiation-induced apoptosis are associated with selective c-Jun expression in the developing rat brain [J]. *Eur J Neurosci*, 1996, 8(6): 1286~1298.
- [4] Blank KR, Rudoltz MS, Kao GD, et al. The molecular regulation of apoptosis and implication for radiation oncology [J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 71: 455~466.
- [5] Borovitskaya AE, Evtushenko VI, Sabol SL. Gamma-radiation-induced cell death in the fetal rat brain possesses molecular characteristics of apoptosis and is associated with specific messenger RNA elevations [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1996, 35(1-2): 19~30.
- [6] Kitada S, Krajewski S, Miyashita T, et al. Gamma-radiation induces upregulation of Bax protein and apoptosis in radiosensitive cells in vivo [J]. *Oncogene*, 1996, 12(1): 187~192.
- [7] Yoshida T, Okazaki T, Hughes PE, et al. Cloning of rat Gadd45 gene and induction analysis following ionizing radiation in vivo [J]. *FEBS Lett*, 1996, 380(1-2): 87~92.

- [8] Wang X, Matsumoto H, Okaichi K, et al. p53 accumulation in various organs of rats after whole-body exposure to low-dose X-ray irradiation [J]. *Anticancer Res*, 1996, 16(4A): 1671-1674.
- [9] Wang B, Takeda H, Gao WM, et al. Induction of apoptosis by beta radiation from tritium compounds in mouse embryonic brain cells [J]. *Health Phys*, 1999, 77(1): 16-23.
- [10] Jordan J, Galindo MF, Prehn JH, et al. p53 expression induces apoptosis in hippocampal pyramidal neuron cultures [J]. *J Neurosci*, 1997, 17(4): 1397-1405.
- [11] Ohnishi K, Matsumoto H, Takahashi A, et al. Heat shock transcription factor, HSF, is activated by ultraviolet irradiation [J]. *Photochem Photobiol*, 1996, 64: 949-952.
- [12] Herzog KH, Chong MJ, Kapsetaki M, et al. Requirement for Atm ionizing radiation-induced in the developing central nervous system [J]. *Science*, 1998, 280: 1089-1091.
- [13] Chaing CS, Hong JH, Stalder A. Delayed molecular responses to brain irradiation [J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 72: 45-53.
- [14] Raju U, Gumin GJ, Tofilon PJ. NF kappa B activity and target gene expression in the rat brain after one and two exposures to ionizing radiation [J]. *Radiat Oncol Investig*, 1999, 7(3): 145-152.
- [15] Noel F, Ijihi A, Chen JJ, et al. X-ray-mediated reduction in basic fibroblast growth expression in primary rat astrocyte cultures [J]. *Radiat Res*, 1997, 147: 484-489.
- [16] Jordan J, Galindo MF, Prehn JHM, et al. P53 expression induces apoptosis in hippocampal pyramidal neuron cultures [J]. *J Neurosci*, 1997, 17: 1397-1405.
- [17] Nakagawa M, Bellinzona M, Seilhan TM, et al. Microglial responses after focal radiation-induced injury are affected by alpha-difluoromethylornithine [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 38: 113-123.

Influence of radiation-induced apoptosis on development brain in molecular regulation

GU Gui-xiong

(Suzhou Children Hospital, Suzhou Medical College, Jiangsu Suzhou 215003, China)

Abstract An outline of current status on the influence of radiation on the development brain was given in the paper. Some genes as immediate early gene, Bcl-2 family, p53, heat shock protein and AT gene play an important regulation role in ionizing radiation-induced development brain cells apoptosis. And such biological factor as nerve growth factor, interleukin-1, tumor necrosis factor, basic fibroblast growth factor, transforming growth factor and so on have a vital protection function against ionizing radiation-induced cells apoptosis.

Key words radiation; development brain; apoptosis; gene; biological factor

文章编号: 1001-098X(2000)02-0085-05

神经酰胺与辐射诱导细胞凋亡

李 林, 史剑慧

(上海医科大学放射医学研究所, 上海 200032)

摘要: 神经酰胺作为神经鞘脂类的主要成员之一, 是一个主要调节细胞活动的第二信使, 以转导细胞凋亡等细胞生长抑制活动信号为主。研究表明, 神经酰胺通路不同水平的功能性变化直接影响细胞的药物敏感性和辐射敏感性, 肿瘤细胞神经酰胺缺陷可导致肿瘤细胞对药物和电离辐射的敏感性下降。

关键词: 神经酰胺; 细胞凋亡; 辐射敏感性

中图分类号: Q506 文献标识码: A

收稿日期: 1999-08-10

作者简介: ①李 林 (1974-), 女, 福建福州人, 上海医科大学放射医学研究所第三研究室硕士研究生, 主要从事实验血液及实验肿瘤研究;

②史剑慧 (1961-), 女, 浙江平湖, 上海医科大学放射医学研究所第三研究室副研究员, 博士研究生, 主要从事实验血液及实验肿瘤研究。

审校者: 上海医科大学放射医学研究所 程文英

神经鞘脂类分为鞘磷脂和鞘糖脂。神经鞘磷脂由鞘氨醇、脂肪酸和磷酸胆碱所组成, 其中鞘氨醇的氨基通过酰胺键与脂肪酸相连, 构成 *N*-脂酰鞘氨醇, 称为神经酰胺。神经酰胺作为神经鞘脂类的主要成员之一, 是一个重要的第二信使, 并在细胞增生、