

文章编号: 1001-098X(2001)05-0221-04

电离辐射对中枢神经系统的作用

龚守良

(吉林大学公共卫生学院 卫生部放射生物学重点实验室, 吉林 长春 130021)

摘要: 简要综述电离辐射对中枢神经系统(CNS)的作用,包括电离辐射对发育中CNS神经元、神经干细胞和神经胶质细胞的影响,以及CNS辐射损伤反应等方面内容。

关键词: 辐射效应; 中枢神经系统

中图分类号: R818.74

文献标识码: A

电离辐射对中枢神经系统(CNS)产生重要的影响。特别是较高剂量电离辐射的急性作用可引起成年机体CNS功能和结构的明显变化,构成辐射损伤的突出临床症状。因此,在接近CNS的头颈部肿瘤进行放射治疗,不可避免地累及脑和脊髓,引起CNS的损伤。

1 电离辐射对发育中CNS的影响

在胚胎发育过程中的CNS,其神经细胞处于高度增殖、分化和迁移的重要阶段,具有较高的辐射敏感性。早期人体资料表明,孕期受电离辐射作用,CNS缺陷发生率明显增高,易出现小头畸形,大多伴有智力发育障碍。近期的研究证实^[1], Swiss albino小鼠受孕14d腹部接受⁶⁰Co γ 射线照射(> 0.25 ~ 1.5Gy), 6月龄仔鼠学习、记忆力及在开放范围内活动呈现明显的剂量依赖性下降关系;当剂量> 0.5 Gy,这种变化持续18个月,因此认为14d胎鼠是辐射的高危险期。已经发现^[2],受孕14d小鼠接受1.5 Gy X射线照射,成年仔鼠脑皮质发生特征性异常的结构改变。在皮质侧区(6层结构),上层5-溴脱氧尿苷(BrdU)标记细胞数少,下层细胞数多;在背区(仅有4层结构),II层细胞数很少,IV层细胞数很多,说明皮质区一些成神经细胞可能没有迁移到上层,背区大多没有通过早期迁移带;另外,侧区放射状神经胶质细胞纤维受损,部分背区纤维明显减少,说明X射线致死这种胶质细胞或它们的前体细胞,导致神经元通路不同地受到破坏。

还有实验证实^[3],妊娠16d小鼠接受⁶⁰Co γ 射线

2或3Gy照射,照后1d沿整个胎鼠脑壁大量固缩;在生前增生带厚度减小,神经胶质带未出现;仔鼠出生5d后大脑皮质II+III层及IV层严重皱缩,大多小鼠胼胝体完全缺失(尤其是3Gy照射),一些发生胼胝体小鼠存在于腹侧海马联合之上。分析产生胼胝体缺陷的原因有3方面:①大部分死亡的胼胝体神经元位于大脑皮质III层;②出生后仔鼠神经元轴突消除;③神经胶质带缺失。给受孕12.5d小鼠注射氚水(浓度481.8 kBq/g体重),仔鼠行为发生改变,并且发现从注射氚水后1d到出生后1周仔鼠神经管凋亡的细胞增加^[4]。上述资料提示,在胚胎发育的关键时期,电离辐射影响很少的CNS细胞,其作用即可放大,使神经元细胞的增殖、分化和迁移发生改变,脑组织出现严重缺陷,最终导致智力发育障碍等不良后果。

2 电离辐射对神经元和神经干细胞的影响

2.1 神经元

CNS组织受照后出现一些副作用,如智能损伤、记忆丧失、精神错乱、运动失调等,这些均与辐射对神经元影响有关。大量的动物研究提示,神经元对临床相关的剂量照射很敏感。猫接受2Gy以下剂量照射后脑电图活动立即增强,伴有皮层和海马棘波自发发放,持续几天。免受照后,海马细胞活性降低;豚鼠海马突触功能及棘波产生降低。这些实验研究提示,辐射对CNS神经元的影响可能起重要作用。

CNS损伤后,星形胶质细胞具有保护神经元的作用。这种保护作用通过许多不同的机制产生,明显地依赖损伤的性质。例如,星形胶质细胞通过吸收胞外谷氨酸保护神经元免受毒性损伤。此外,通过存在于星形胶质细胞的过氧化氢酶活性保护纹状体神经元免受原初H₂O₂的毒性作用^[5]。应用体外培养,证实星形胶质细胞对电离辐射诱导的神经元死亡具有

收稿日期: 2001-07-31

作者简介: 龚守良(1945-),男,吉林长春人,吉林大学卫生部放射生物学重点实验室主任,教授,博士生导师,主要从事电离辐射生物效应的研究。

审校者: 吉林大学卫生部放射生物学重点实验室 刘树铮

保护作用。与星形胶质细胞联合培养的神经元其辐射敏感性明显降低,自由基清除能力增强。现已发现,在星形胶质细胞条件培养基中具有一种分子量大于10000的保护因子。因此,星形胶质细胞丢失或在体内其功能受累会增加神经元对辐射和其他氧化应激损伤的易感性。

然而,神经元损失似乎不是CNS的辐射急性结果。从成年大鼠可获得的资料表明,神经元对辐射诱导基因表达的改变是敏感的。应用差异显示检测成年大鼠脑RNA,证实辐射诱导激素原转化酶2(PC2)^[6]。PC2在处理许多激素原和神经肽起到关键作用,在照后其活性的改变可能导致种种生理和/或病理的改变。

2.2 神经干细胞

在哺乳动物胚胎后期,其神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的主要来源是室管膜下区(SE),作为一种有丝分裂活性区持续到成年期。SE细胞具有高度迁移特点,以切线的方式迁移到嗅叶,分化为神经元;以辐射的方式迁移到临近结构,分化为神经胶质细胞。从成年小鼠SE区分离的细胞也具有自我更新的能力和产生多种类型细胞的功能。

SE细胞可作为一种未分化的干细胞,在组织损伤后能够恢复。根据有丝分裂细胞和总细胞计数,发现SE内细胞结构呈剂量依赖性丢失。大剂量照后SE细胞耗竭是由于神经胶质细胞前体的丢失所致,而小剂量X射线照射后SE细胞具有修复能力,并逐渐恢复提供神经胶质细胞。应用抗细胞周期蛋白依赖激酶Cdc-2抗体标记正在增殖的SE干细胞,通过组织学定量分析,在照后7~180d内的不同时间,发现辐射耗竭SE干细胞是呈剂量(0~15Gy)依赖方式,同时发现照射(所有的剂量)后24hSE细胞增殖明显降低,以后直至180d其增殖数恒定,并呈剂量依赖方式^[7]。p53^{-/-}小鼠脊髓在照后8h神经胶质细胞凋亡反应达峰值,22Gy照后24h少突胶质细胞密度减少;在SE区细胞观察到类似的时程变化,推测p53通路可能是通过DNA损伤诱导成年CNS凋亡的一种机制^[8]。

3 电离辐射对神经胶质细胞的影响

3.1 少突胶质细胞

电离辐射诱导CNS损伤典型地是脱髓鞘,涉及到少突胶质细胞。这些终末分化细胞为神经元提供髓磷脂鞘,它们的丢失是脱髓鞘的原因。在20世纪80年代,O-2A祖细胞作为一种前体细胞和新的少

突胶质细胞来源,电离辐射可诱导O-2A祖细胞丢失,不能正常补充少突胶质细胞,最终导致脱髓鞘。然而,少突胶质细胞丢失不足以引起坏死。虽然,少突胶质细胞可能与照后早期暂时脱髓鞘一致,但与后期坏死发生不一致,况且,相对低剂量照射后大鼠、犬和人神经胶质细胞耗竭。因此,虽然照后O-2A祖细胞和少突胶质细胞丢失,但产生白质坏死和后期迟发损伤可能存在其他的原因。

成年大鼠脊髓照射(2.8和22Gy)诱导细胞凋亡主要为少突胶质细胞并伴有细胞增殖。分次剂量(上述剂量单次照射后1~63d间再给予8Gy照射)照射诱导细胞凋亡存在剂量和时间的依赖关系。另外,成年大鼠脊髓接受8Gy照后4h细胞凋亡指数明显增加,8h达峰值;新生儿大鼠接受同样剂量照射,其凋亡指数的时程变化与成年大鼠基本一致,但明显高于成年鼠。18或22Gy照射,其凋亡率均高于8Gy照射结果。电离辐射诱导的新生儿大鼠脊髓细胞凋亡率高于成年鼠,这与新生儿大鼠脊髓增殖细胞较多有关,表明辐射诱导的增殖态细胞凋亡水平高于非增殖态细胞^[9]。

3.2 星形胶质细胞

在上个世纪80年代中期,认为星形胶质细胞只是一种支持细胞,提供神经元发育的基质,现在被认为在正常CNS中具有许多功能,并在CNS损伤的反应中起重要作用,对各种环境刺激(包括辐射)发生反应^[10]。20~25Gy照后,大鼠海马星形细胞数增加。用GFAP染色剂作为一种特殊的星形胶质细胞标志,证实致小鼠脑损伤的ED₅₀(半数有效剂量)或以上剂量照射,其细胞数呈时间依赖性增加10%~20%,40Gy照后其数量高于20~30Gy照后增加的数量,并维持较长时间。

星形胶质细胞是调节CNS的关键辐射靶细胞。它们是一些生长因子(bFGF、NT3和CNTF)主要来源细胞,涉及O-2A祖细胞增生、分化和迁移活性的调节,也为最终分化的、有髓鞘的少突胶质细胞提供存活因子(IGF1、CNTF)。星形胶质细胞依赖于内皮细胞旁分泌的相互作用,维持血脑屏障,产生的血管内皮细胞生长因子(VEGF)和血管紧张肽原对脑血管渗透性及血管生成发生作用。除了这些调节作用外,星形胶质细胞保护内皮细胞、少突胶质细胞和神经元免受辐射损伤^[11]。

3.3 小胶质细胞

小胶质细胞在CNS也起到潜在性调节作用。这些细胞涉及脑局部炎症反应,具有高度的形态学和

功能的适应性,并有增殖能力和吞噬作用,通过产生和分泌水解酶、脂类代谢物及氧自由基具有增强或加重损伤的能力。脑和脊髓受照后,小胶质细胞数量增加,提示与组织损伤有关,其改变发生在照射和临床症状发生之间的潜伏期^[12]。

4 CNS辐射损伤反应

在组织学上,辐射诱导的CNS损伤不是特异的,实际上很类似其他类型组织学的改变。辐射诱导CNS反应组成和通路主要是细胞死亡、继发氧化反应及细胞因子的表达。一般,较大剂量照射后,CNS损伤明显,其功能和形态缺欠,急性细胞死亡和/或继发反应激活。

4.1 电离辐射激活恢复修复过程

用²⁵Gy照射小鼠脑,诱导许多基因的表达,但肿瘤坏死因子(TNF)的增加最明显。TNF最初表达增加,照后2个月又再次增加,持续至少6个月,大鼠脑实验也发现类似的结果。提示,这种诱导不存在种属依赖性^[13]。已有报告,TNF保护培养的神经元免受氧化损伤,并且,TNF在CNS内起到恢复/修复作用。TNF介导抗氧化保护作用,诱导抗凋亡蛋白Bcl2和Bclx^[14],而TNFRsfla/b基因敲除小鼠对辐射诱导脑损伤比完整对照小鼠更为敏感。

电离辐射诱导人CNS金属硫蛋白(MT)合成和MTH RNA水平的表达。而且,锌和镉诱导MT的合成,保护神经细胞免受电离辐射引起的细胞杀伤和亚致死性损伤。30Gy γ 射线照后12h人CNS总MT含量增加;照后2和6hMT-II mRNA水平增加,12~24h达最大值;照后MTHI mRNA水平变化不明显;60Gy照后总MT未见明显变化。用 $5 \mu\text{mol/L}$ 镉或 $100 \mu\text{mol/L}$ 锌诱导MT的合成,减少辐射引起的LDH释放量的增加^[15]。

此外,涉及CNS损伤反应的生长因子是成纤维细胞生长因子2(FGF2)。在外伤、缺血和毒性刺激后,FGF2明显表达。这种生长因子对CNS组织具有许多特殊的保护作用,如营养神经,在氧化损伤反应中降低活性氧(ROS)产生和保护神经元对抗线粒体功能不良^[16],参与调节O-2A祖细胞增殖和分化。对未成熟少突神经胶质细胞和多潜能SE干细胞是一种有丝分裂因子,并具有血管生成作用。成年大鼠10Gy照后大脑皮质FGF2表达呈时间依赖性增加,阻滞损伤的加重。

除了细胞因子,辐射也增强具有氧化防御作用的蛋白酶表达。单次低剂量(50cGy) γ 射线照射增加

小鼠脑超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH)水平,后者是由于诱导GSH合成有关蛋白(谷氨酰半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽还原酶和硫氧还原蛋白)基因的mRNA表达的结果。而且,低剂量照射诱导脑自由基清除酶(Cu/Zn过氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶);同时,由MPTP(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)诱导的氧化损伤明显地降低。提示,这些研究结果与保护机制的激活一致^[17]。

4.2 电离辐射继发反应过程

CNS反应包括继发反应过程,而且对继发的有害的氧化应激特别敏感。CNS具有大量用氧,产生ROS及相对低水平的抗氧化防御能力(尤其是少突神经胶质细胞、神经元和内皮细胞)的特点。CNS的环境有助于氧化应激的发生,而且固有地对氧化损伤敏感。这种敏感可能由于过氧化的脂肪酸含量高,髓磷脂膜是ROS优先的靶部位。髓磷脂对氧化损伤的敏感性可以解释辐射损伤偏重于白质的原因。

通过辐射调节继发反应基因依赖于特异转录因子的激活,NF κ B转录因子是一种CNS内在损伤反应的关键介导体。NF κ B可通过氧化应激诱导,并能保护对抗细胞凋亡。而且,这种转录因子的激活介导胰岛素生长因子1(IGF1)、TNF和神经生长因子(NGF)的神经保护作用^[18]。照射大鼠大脑皮质,NF κ B-DNA结合活性呈剂量和时间依赖性增加,与辐射诱导小鼠和大鼠脑NF κ B调节基因TNF及白介素(IL- β 和IL-6)一致^[13]。CNS照后NF κ B活性的增强与恢复修复的激活一致。照射成年大鼠脑皮质,p53、Ap1和Sp1转录因子DNA结合活性增高。10Gy照后Ap1DNA结合活性增加,4h达最大值;Sp1DNA结合活性也增加,3h达最大值;p53DNA结合活性增加,4h达最大值;NF κ BDNA结合活性在照后2h最大值。值得注意的是,不是所有的基因表达改变引起保护性反应,许多继发反应基因和转录因子在低得多的照射剂量被诱导而产生CNS损伤^[19]。

血红素氧合酶1(Hmox1)可作为观察氧化应激的指标。这种应激蛋白在哺乳动物细胞不表达或低水平表达,而在组织损伤时可检测到。大鼠脊髓颈部受照后2周至6个月,通过免疫组化法观察Hmox1的变化:18Gy照射不出现脊髓病,未检出Hmox1;26Gy照后6个月,90%以上动物患脊髓病,照后5个月即可检出Hmox1,照后5个月和6个月可在脊髓灰质和白质检出Hmox1,而且在灰质检出的

Hmox 1损伤部位不典型。提示, Hmox 1表达不仅仅反映损伤情况^[20]。

参考文献:

- [1] Hossain M, Uma Devi P. Effect of irradiation at the early foetal stag on adult brain function of mouse learning and memory [J]. *Int J Radiat Biol*, 2001, 77: 581-585.
- [2] Sun XZ, Takahashi S, Fukui Y, et al. Different patterns of abnormal neuronal migration in the cerebral cortex of mice prenatally exposed to irradiation [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 1999, 114: 99-108.
- [3] Abreu-Villaca YY, Schmidt SL. Effects of prenatal gamma irradiation on the development of the corpus callosum of Swiss mice [J]. *Int J Dev Neurosci*, 1999, 17: 693-704.
- [4] 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: 16-23.
- [5] Desagher S, Glowinski, Premont J. Astrocytes protect neurons from hydrogen peroxide toxicity [J]. *J Neurosci*, 1996, 16: 2553-2562.
- [6] Noel E, Gumin GJ, Raju U, et al. Increased expression of prohormone convertase-2 in the irradiated rat brain [J]. *FASEB J*, 1998, 12: 1725-1730.
- [7] Tada E, Yang C, Gobbel GT, et al. Long term impairment of subependymal repopulation following damage by ionizing irradiation [J]. *Exp Neurol*, 1999, 160: 66-77.
- [8] Chow BM, Li YQ, Wong CS. Radiation-induced apoptosis in the adult central nervous system is p53-dependent [J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7: 712-720.
- [9] Li TQ, Wong CS. Radiation-induced apoptosis in the neonatal and adult rat spinal cord [J]. *Radiat Res*, 2000, 154: 268-276.
- [10] Raju U, Gumin GJ, Noel E, et al. Failure of a second X-ray dose to activate nuclear factor- κ B in normal rat astrocytes [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 24624-24630.
- [11] Iwata-Ichikawa E, Kondo Y, Miyazaki I, et al. Glial cells protect neurons against oxidative stress via transcriptional up-regulation of the glutathione synthesis [J]. *J Neurochem*, 1999, 72: 2334-2344.
- [12] Nakagawa M, Bellinzona M, Seilhan TM, et al. Microglial responses after focal radiation-induced injury are affected by α -difluoromethylornithine [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 36: 113-123.
- [13] Raju U, Gumin GJ, Tofilon PJ. Activity and target gene expression in the rat brain after one and two exposures to ionizing radiation [J]. *Radiat Oncol Invest*, 1999, 7: 145-152.
- [14] Tamatani M, Che YH, Matsuzaki H, et al. Tumor necrosis factor induces Bcl-2 and Bcl-x expression through NF- κ B activation in primary hippocampal neurons [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 8531-8538.
- [15] Cai L, Cherian MG, Iskander S, et al. Metallothionein induction in human CNS *in vitro* neuroprotection from ionizing radiation [J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76: 1009-1017.
- [16] Guo Q, Sebastian L, Sopher BL, et al. Neurotrophic factors [activity-dependent neurotrophic factor (ADNF) and basic fibroblast growth factor (bFGF)] interrupt excitotoxic neurodegenerative cascades promoted by a PS1 mutation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 4125-4130.
- [17] Kojima S, Matsuki O, Nomura T, et al. Elevation of antioxidant potency in the brain of mice by low-dose γ -ray irradiation and its effect on 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced brain damage [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 26: 388-395.
- [18] Heck S, Lezoualc'h F, Engert S, et al. Insulin-like growth factor-1-mediated neuroprotection against oxidative stress is associated with activation of nuclear factor- κ B [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 9828-9835.
- [19] Raju U, Gumin GJ, Tofilon PJ. Radiation-induced transcription factor activation in the rat cerebral cortex [J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76: 1045-1053.
- [20] Le WD, Xie WJ, Appel SH. Protective role of heme oxygenase-1 in oxidative stress-induced neuronal injury [J]. *J Neurosci Res*, 1999, 56: 652-658.

Effects of ionizing radiation on central nervous system

GONG Shou-liang

(*MH Radiobiology Research Unit, Jilin University, Jilin Changchun 130021, China*)

Abstract In the present paper we briefly reviewed the effects of ionizing radiation on central nervous system (CNS), including the effects of ionizing radiation on the developmental CNS, neurons, neural stem cells and glial cells, the radioreponses of CNS injury and so on.

Key words radiation effect; central nervous system