

文章编号: 1001-098X(2003)02-0094-03

^{131}I 对甲状腺细胞凋亡的影响

司宏伟, 李险峰

摘要: 由于每个患者特异性基因决定的个体辐射敏感性不同, 使得每个接受 ^{131}I 治疗的患者对治疗的反应不一, 因而疗效差异较大。针对不同的个体, 采用不同的剂量治疗才可以提高 ^{131}I 治疗的效率, 降低甲状腺功能减退症的发病率。通过目前的分子生物学技术, 我们已经了解到一些基因的蛋白表达产物(Fas/FasL、Bcl-2等)与细胞凋亡和射线诱导凋亡的联系, 使对凋亡基因表达产物的体外监测成为可能。也许通过对这些指标的监测, 可以使我们在 ^{131}I 治疗过程中实现对不同的个体给予恰当的个体剂量。

关键词: 凋亡; 甲状腺功能亢进症; Fas/FasL 蛋白; Bcl-2 蛋白; ^{131}I 治疗;

中图分类号: Q345 \cdot 2 **文献标识码:** A

The role of ^{131}I on apoptosis of thyrocytes in vitro

SI Hong-wei, LI Xian-feng

(Department of Nuclear Medicine, the First Hospital affiliated to Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract: The individual sensitivity of radiation is determined by specialized gene of people, so the patient with different radiotherapy dose has different results. Coinciding every patient with individual dose can improve the effect of radiotherapy, lower the incidence of hypothyroidism. Using modern molecular biology techniques, we have understood the relationships between several genes' products (Fas/FasL and Bcl-2 et al.) and apoptosis (or rays induced apoptosis), and all these methods and techniques make it possible for us to measure the products in vitro. Maybe in the future we can measure the index during the period of radiotherapy and use the suitable dose.

Key words: apoptosis; Grave's disease; Fas/FasL; Bcl-2; ^{131}I therapy

1 细胞的凋亡

细胞凋亡即细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD)。这一过程由 bcl-2 基因家族为代表的抗凋亡基因和以 tnf 基因家族为代表的前凋亡受体基因控制, 这些基因与人体的生理、病理过程密切相关^[1]。

在生理状态下, 细胞凋亡对胚胎发育、组织细胞成型和重塑、细胞寿命的调控均起到重要作用; 病理状态下, 凋亡过程的紊乱可导致疾病出现, 如

导致细胞数目过多引起自身免疫性甲状腺功能亢进症、肿瘤, 过少则引起早老性痴呆 (Alzheimer's disease)、缺血再灌注损伤^[2]。细胞与可识别的死亡和生存信号相适应, 有多种调节方式, 其中有两种主要的凋亡途径: 线粒体途径和死亡受体途径。死亡受体途径在细胞表面发动, 由 TNFR1 受体家族蛋白介导。线粒体途径发动于细胞内, 涉及多种死亡受体传递死亡信号, 包括: 非放射性损伤、DNA 损伤、激素刺激、生长因子水平的降低等^[3]。

bcl-2 基因家族和 p53 等癌基因均可通过 Fas 蛋白介导的途径调控细胞凋亡。这些基因在一定条件下被激活、转录和翻译成蛋白质, 引起细胞核固缩和破裂过程, 导致细胞核、细胞质、细胞膜的损伤, 使得细胞最终死亡^[4]。

2 GD 患者甲状腺细胞的凋亡

成人的甲状腺细胞为腺上皮细胞, 属于稳定细胞, 有一定的分裂能力。像大多数上皮细胞一样,

收稿日期: 2003-01-04

作者简介: ①司宏伟(1973-), 男, 山西医科大学第一医院(太原, 030001)核医学专业硕士研究生, 主要从事甲状腺 ^{131}I 治疗分子生物学机制研究。

②李险峰(1965-), 男, 山西医科大学第一医院核医学科主任医师, 硕士生导师, 主要从事临床核医学研究及甲状腺 ^{131}I 治疗分子生物学机制研究。现为华中科技大学同济医学院博士研究生。

审校者: 山西医科大学第一医院核医学科 李思进 张承刚

甲状腺上皮细胞表达 Fas 蛋白, 而无 FasL 蛋白的表达, 但是其可以在凋亡因子诱导下表达 FasL 蛋白^[9]。在正常人体, 甲状腺细胞不断地凋亡和分裂, 并处于动态平衡之中, 使得甲状腺腺体细胞的数量和功能保持相对稳定状态。目前, 大多数学者认为: 一些甲状腺疾病与细胞凋亡过程的紊乱有关, 这些疾病包括: MNG(多结节性甲状腺肿)、GD、HT(桥本甲状腺炎)等^[1]。进一步的研究显示, 部分 HT 患者伴有 bcl-2 基因的缺陷, 但此缺陷是内源性还是外源性因素作用的结果, 尚待深入研究^[3]。

GD 患者的 Bcl-2 蛋白表达呈强阳性, Fas/FasL 蛋白的表达水平与正常人群或 MNG 患者的表达水平相同, 而 sFas 蛋白的含量增高, 因此甲状腺细胞凋亡过程减弱, 而甲状腺细胞的数量增多, 使得甲状腺激素的分泌增多, 引起甲亢的临床症状。Mitsiades N 等人^[9]对正常人和甲亢患者的甲状腺细胞进行体外培养, 通过对 FasL 蛋白的测定比较发现, 正常甲状腺细胞 FasL 蛋白的表达非常弱, 而甲亢患者甲状腺细胞的表达非常强, 且主要集中于细胞质和细胞核。经他巴唑处理的患者的甲状腺细胞, FasL 蛋白的表达明显提高, 而且 Fas 蛋白敏感的淋巴细胞可以诱导他巴唑处理的甲状腺细胞凋亡, 以上过程可以被 FasL 的中和抗体所阻断。同时发现他巴唑抑制淋巴细胞的浸润, 这可能是其诱导的 FasL 表达最终装配在甲状腺细胞上, 保护细胞不受淋巴细胞的破坏^[6]。

血液中的抗 TSH(促甲状腺激素)抗体参与 GD 患者甲状腺肿的发病过程, 导致甲状腺细胞增生明显; 甲状腺刺激性抗体可以抑制以 Fas 蛋白为中介的甲状腺细胞的凋亡; 甲状腺阻滞性抗体则可抑制 TSH 作用, 增加 Fas 蛋白介导凋亡途径的敏感性, 参与甲状腺肿的发展过程, 参与 HT 患者的甲状腺萎缩过程^[2]。一些研究^[3]还显示: sFas 蛋白的含量与 GD 甲状腺刺激性抗体的活性相关。

一些药物和凋亡因子对凋亡基因表达也有影响。

CD₄⁺T 细胞: 表面具有 FasL 蛋白活化的 CD₄⁺T 细胞与表面具有 Fas 蛋白的甲状腺细胞通过交联可启动凋亡程序。Kawakami A 等人^[7]对体外培养的 GD 患者甲状腺细胞的实验证实, 活化的 CD₄⁺T 细胞通过 Fas/FasL 蛋白途径诱导细胞凋亡。纯化的 (Th) 细胞可以与甲状腺细胞相互作用, 诱导凋亡, 且 CD₄⁺T 表面的 FasL 蛋白被具有 MHC II 类分子的

甲状腺细胞金黄色葡萄球菌在外毒素存在的条件下激活并表达。

视黄醇: 对正常甲状腺细胞来说, 视黄醇增加碘摄取, 减低 TSH 刺激碘代谢的能力, 影响细胞信使和细胞膜上的毒性效应, 阻止凋亡过程。Fröhlich E 等^[11]通过体外培养的方法证实, 视黄醇调节正常甲状腺细胞碘代谢, 低于 27 μmol/L 的视黄醇对甲状腺细胞的影响不大, 高于此剂量, 其对细胞的形态学损伤呈剂量依赖性, 50 μmol/L 的视黄醇对正常甲状腺细胞有毒性: 一部分细胞以细胞质内空泡形成为特征, 另一些则以溶酶体膜消失和线粒体超微结构的改变为特征。

P53: 野生型和突变型 P53 蛋白, 均可以通过结合于 bcl-2 基因促进子上的转录沉默元件下调 Bcl-2 蛋白的表达, 也就是说, 目前的研究支持 P53 蛋白抑制凋亡^[9]。p53 基因在射线、化疗药物治疗等原因引起的凋亡过程中起到重要作用^[10]。

3 射线对凋亡的影响

3.1 ¹³¹I 与甲亢的治疗

1942 年开创的 ¹³¹I 治疗甲状腺功能亢进症的方法, 已经成为顽固性甲亢手术治疗以外的常规治疗方法之一, 其主要依赖甲状腺对 ¹³¹I 能量的吸收。¹³¹I 被甲状腺摄取后, 造成放射性甲状腺炎使得甲状腺细胞凋亡和/或坏死, 失去合成、释放甲状腺激素的能力。甲状腺有效吸碘能力可以通过动力学预试验——吸碘率来计算, 这主要是为了减少全身受照射量而对甲状腺聚碘能力进行的估计^[9]。

但是, 至今尚未见到有关 ¹³¹I 治疗 GD 的分子生物学机制的研究报道。

3.2 射线对细胞分子水平的影响

近 50 年的研究证实了 DNA 损伤和辐射的细胞毒性突变效应之间的关系。首先, 射线和细胞微环境的相互之间通过物理和化学作用产生电离、激发和自由基, 这一过程在 10⁻¹⁵ s 内完成; 其次, 产生的自由基在 10⁻¹² s 内完成化学-热平衡, 从产生处扩散到细胞的各个部分; 最后, 这种损伤被细胞监视系统所探测, 依次激活参与细胞反应的信号传递系统、基因转录和酶的活化过程, 在大多数情况下遵照 DNA 损伤的生物学相关性, 细胞周期停滞, 进行 DNA 损伤修复或凋亡^[11]。

高剂量的辐射导致坏死, 低剂量的辐射则引起

凋亡,高LET(传能线密度)辐射诱导的凋亡要较低LET辐射快得多,而且与细胞的类型有关^[12]。体外培养的纤维母细胞更倾向于坏死,而淋巴样和髓样细胞系倾向于凋亡^[13]。早期凋亡发生于受照射后细胞分裂前数小时,可能是由于染色体链断裂后无法修复或者错误修复,如胸腺和淋巴细胞;晚期凋亡发生于细胞受照射后数日G₂期阻滞时,如人类消化道肿瘤上皮细胞。激活处于不同途径的数个基因对诱导细胞死亡和生存是必须的。影响凋亡过程的主要基因有:p53、atm、c-myc、bcl-2和bax,这类凋亡的途径可分成P53蛋白依赖和非P53蛋白依赖途径。P53蛋白可以激活大量的编码蛋白的基因,它们在受体水平、凋亡信号和凋亡过程的下因子起作用,包括Fas/Apo-1/CD95系统。p53基因的缺乏常引起细胞不能对辐射耐受^[14]。

在P53蛋白依赖途径中,Bax蛋白通过P53蛋白诱导的凋亡因子起到促进凋亡的作用,而Bcl-2蛋白则在Bax蛋白激活的同时抑制凋亡过程。虽然p53基因缺乏会影响细胞对凋亡的耐受力,但这一过程只是发生在早期凋亡,而晚期凋亡时则是通过非P53蛋白依赖途径,而且主要是因为遗传物质——染色体的损伤引起。

细胞对电离辐射的反应是非常复杂的,近年来分子生物学的快速发展使得我们了解了一些机制,但还有许多问题需要解决。¹³¹I已经成为GD常规的治疗方法之一,但因患者个体对辐射的敏感性不同有时会引起甲减,疗效不能令人满意。随着对¹³¹I治疗的分子生物学机制的深入研究,该治疗方法将会趋于完善。

总之,分子生物学的技术和方法使我们了解到:①个体对射线的敏感性受到辐射敏感基因的约束,将来可以通过基因治疗来提高¹³¹I疗效率;②个体甲状腺细胞的死亡是由凋亡基因和抗凋亡基因失衡而发动的,这些基因转录、翻译成蛋白质促进了细胞的凋亡;③这些凋亡基因和其特异性的转录、翻译产物可以通过分子生物学方法测定。

参考文献:

- [1] Palazzo FF, Hammond IJ, Mirakian R. Death of the autoimmune thyrocyte: Is it pushed or does it jump? [J]. *Thyroid*, 2000, 10(7): 561-572.
- [2] Debatin KM. Role of CD95(APO-1/Fas) system in chemotherapy[A]. Hickman JA, Dive C (eds). *Apoptosis and cancer chemotherapy*[M]. New Jersey: Humana Press, 1999. 175-189.
- [3] Yin XM. Bid, a critical mediator for apoptosis induced by the activation of Fas / TNF-R, death receptors in hepatocytes [J]. *J Mol Med*, 2000, 78: 203-211.
- [4] Davies TF. A new role for methimazole in autoimmune thyroid disease: inducing T cell apoptosis [J]. *Thyroid*, 2000, 10(7): 525-526.
- [5] Mitsiades N, Poulak V, Tseleni-Balafouta S, et al. Fas ligand express in thyroid follicular cells from patients with thionamide-treated Grave's disease [J]. *Thyroid*, 2000, 10(7): 527-532.
- [6] Matola TD, Ascoli FD, Fenzi G, et al. Amiodarone induces cytochrome c release and apoptosis through an iodine independent mechanism [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(11): 4323-4330.
- [7] Kawakami A, Matsuoka N, Tsuboi M, et al. CD4⁺ T cell-mediated cytotoxicity toward thyrocytes: The important of Fas/Fas ligand interaction inducing apoptosis of thyrocytes and the inhibitory effect of thyroid-stimulating hormone [J]. *Lab Invest*, 2000, 80: 471-484.
- [8] Fröhlich E, Wahl R. Effects of retinal on follicular porcine thyrocytes in culture [J]. *J Mol Med*, 1999, 77: 189-192. Sreelekha TT, Pradceep VM, Vijaylakshmi K, et al. In situ apoptosis in the thyroid [J]. *Thyroid*, 2000, 10(2): 117-122.
- [9] Moka D, Dietlein M, Schicha H. Radioiodine therapy and thyrostatic drugs and iodine [J]. *Eur J Nucl Med*, 2002, 29(2): S486-S491.
- [10] Pouget JP, Mather SJ. General aspects of the cellular response to low-and high-LET radiation [J]. *Eur J Nucl Med*, 2001, 28(4): 541-561.
- [11] Meijer AE, Kroquist U-SE, Lewensohn R, et al. RBE for the induction of apoptosis in human peripher allymphocytes exposed in vitro to high-LET radiation generated by accelerated nitrogen ions [J]. *Int J Radiat Biol*, 1998, 73: 169-177.
- [12] Radford IR, Murphy TK, Radley JM, et al. Radiation response of mouse lymphoid and myeloid cell lines. Part II.
- [13] Apoptotic death is shown by all lines examined [J]. *Int J Radiat Biol*, 1994, 65: 217-227.
- [14] Wu GS, Burns TF, McDonald ER, et al. Killer/DR5 is a DNA damage-inducible P53-regulated death receptor gene [J]. *Nature Gene*, 1997, 17: 141-143.

[1] Palazzo FF, Hammond IJ, Mirakian R. Death of the autoim-