

文章编号: 1001-098X(2004)01-0037-04

# 星形胶质细胞的电离辐射损伤及修复作用

高荣莲 陈肖华

**摘要** 星形胶质细胞(astrocyte, Ast)是中枢神经系统内最多的胶质细胞。体内外实验结果表明, 电离辐射作用于神经系统后, 可引起神经元、胶质细胞和血管内皮细胞等多种细胞的形态和功能变化。照射后早期 Ast 即可发生反应, 与脑组织损伤后的病理过程及损伤后修复有着密切的联系。研究 Ast 在辐射损伤中的作用对于临床放射性脑损伤的治疗有着重要的意义。

**关键词** 星形胶质细胞; 电离辐射; 中枢神经系统

中图分类号 Q345+.21, R818.05 文献标识码 A

## Injury and repair of astrocyte after ionizing radiation

GAO Rong-lian CHEN Xiao-hua

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

**Abstract** Astrocyte is the most glial cell in the central nervous system. In the present experiment, radiation injury to the central nervous system(CNS) triggers a large network of cellular changes including neuron, glialcell and endothelial cell in morphology and metabolism and function. Astrocyte changes rapidly after ionizing radiation. There is a relationship between astrocyte and the pathologic process and function recover of damaged brain tissue following CNS injury. This suggests that astrocyte plays an important role in cure of clinical radiation injury.

**Key words** astrocyte; ionizing radiation; central nervous system

以往的实验发现, 辐射导致神经系统出现形态结构改变所需的剂量应在 LD<sub>50</sub> 以上, 因而认为神经系统对辐射是相对不敏感的。实际上, 如果以功能的变化作为衡量的依据, 应该说神经系统对辐射是相当敏感的, 如照射初期即可出现恶心、呕吐、食欲不振等植物神经功能紊乱的表现。

星形胶质细胞(astrocyte, Ast)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)内的主要胶质细胞, 在维持 CNS 的正常结构和功能中具有重要的作用, 是辐射所致 CNS 损伤反应中最早出现反应的细胞之一。Ast 依据胶质丝的含量以及胞突的形状可分为纤维性 Ast 和原浆性 Ast。近年来, 关于 Ast 在 CNS 损伤后修复、对神经元微环境的调控及再生中的作用已日益受到人们的关注, 且取得了很大的进展, 但关于 Ast 在电离辐射所致损伤中的作用报道较少。本文对电离辐射后 Ast 的损伤与修复作一简要阐述。

## 1 电离辐射对 Ast 的影响

### 1.1 形态学改变

胶质细胞和内皮细胞是对电离辐射敏感的靶细胞<sup>[1]</sup>。辐射损伤所致病理变化在 Ast 较明显, 尤其是纤维性 Ast, 轻者表现为变性, 重者坏死, 但其形态学病变并不是特异的, 在其他原因所致的神经系统损伤中亦可出现, 主要表现为 Ast 肿胀、坏死和反应性 Ast 增生。

#### 1.1.1 Ast 肿胀、坏死

电离辐射后, Ast 胞体和突起明显肿胀增粗, 核明显肿大且染色变淡, 胞质内有细颗粒状物, 严重者可有气球样变; 电镜下, 细胞质内线粒体肿胀, 嵴断裂消失, 内质网扩张断裂; 大剂量照射后部分细胞可迅速发生死亡, 表现为核固缩、核碎裂或核溶解消失。

Ast 对损伤的反应在早期除表现为明显的细胞内水肿外, 还突出表现为具有活跃的吞噬功能, 尤其在幼年动物中, 反应性 Ast 不仅含有吞噬的

脂滴、不规则的板层状髓鞘样结构,还可吞入多个完整的红细胞。因此,近来认为Ast在损伤早期与小胶质细胞、巨噬细胞一起清除出血和变性坏死组织,从而促进损伤修复。

Ast突起末端的脚板(foot plate)参与血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)和脑-脑脊液屏障(brain-cerebrospinal fluid barrier)的构成。因此,血管反应与Ast病变有密切的联系。Kamiryó T等<sup>[2]</sup>运用组化法结合计算机图像分析技术,分别观察了50、75和120Gy照射Wistar大鼠时顶叶皮层不同时期的形态学改变,发现Ast和血管的病理变化存在着时间和剂量依赖性:50Gy照射后早期即有血管扩张,12个月出现且扩张的血管壁上纤维积聚,3个月顶叶皮层Ast出现上述形态学改变;75Gy时,1个月内即出现形态学改变,血管扩张,3个月内出现毛细血管壁增厚,4个月后出现伊文氏蓝泄露和坏死,动脉内膜下纤维蛋白和玻璃样物质沉积使管壁变厚,有时可致血管腔闭塞并可见大脑半球肿胀;120Gy照射后3d即出现Ast的形态改变,3周可见伊文氏蓝泄露入组织,血管明显扩张,且受照皮质区血管稀少,4周后见坏死。Yang T等<sup>[3]</sup>的实验证实了Kamiryó T等的发现,即受照后没有坏死出现的情况下,除了微血管的变化,有明显的胶质细胞的增生与肥大,两者的严重程度相关,且存在时效性。Yuan H等<sup>[4]</sup>应用不同大小的FITC(异硫氰酸荧光素)-右旋糖苷检测了20GyX射线局部照射SD大鼠脑部后血管的通透性,发现脑组织微血管通透性升高,且分子质量小的FITC-右旋糖苷通透性升高明显。

### 1.1.2 反应性Ast增生、肥大

辐射损伤后Ast数目增多,胞体肥大、肿胀、突起增多延长,核增大可出现偏位,核仁肥大,胞质丰富,电镜下可见核增大,胞质内有大量的细丝、糖原、脂滴和许多致密小体出现,游离核蛋白体显著增多,溶酶体增多,细胞间连接也可增多;胞体和突起可形成胶质瘢痕,这种反应性胶质化不仅见于靶区,也可出现于靶区周围组织<sup>[5]</sup>。免疫组化染色GFAP(胶质原纤维酸性蛋白)表达增强,提示Ast增生。GFAP合成的多少对脑损伤程度有直接影响。照射后GAP-43(神经生长相关蛋白)表达水平增强<sup>[6]</sup>。GAP-43高表达也是Ast增生的典型特征。

Janeczko K等<sup>[7]</sup>以1Gy $\gamma$ 射线单次全身照射不同时期的孕鼠,可诱发Ast持久性增生,且增生的幅度逐级下降,但均高于正常组,提示Ast的增生具有时间依赖性。

## 1.2 发生机制及其对功能的影响

### 1.2.1 Ast电离辐射损伤机制及对功能的影响

电离辐射可直接或间接作用于Ast,通过不同的途径引起损伤反应。

(1)电离辐射对生物膜的影响:辐射直接作用于血管和Ast的膜结构,引起膜脂质的不饱和碳氢键部分被直接氧化而影响其通透性,同时,膜蛋白损伤,钠泵功能障碍,细胞发生水肿,甚至死亡,氧自由基可与一氧化氮结合形成活性氮中间产物,引起血管破坏和组织损伤。

Ast之间的缝隙连接(gap junction, GJ)主要由Cx43(接合素43)构成,Ast能保持Cx43的磷酸化形式。辐射导致Cx43通道破坏,GJ发生内在化改变,GJ重组、Cx43重分布与神经元损伤程度有关。GJ通道也可介导细胞间钙流的传递,但Cx43对钙流的影响并不大。

(2)Ast产物在辐射损伤中的作用:细胞因子是一种具有广泛生物学活性的免疫物质,通过多种机制对中枢神经系统产生影响。照射后激活的Ast和小胶质细胞可产生释放IL-1 $\beta$ (白细胞介素-1 $\beta$ )、TNF- $\alpha$ (肿瘤坏死因子- $\alpha$ )等细胞因子,这些细胞因子可直接损害血脑屏障,从而直接或间接作用于神经元和神经胶质细胞,诱发其分泌更多的细胞因子或使其表面表达更多的细胞因子受体,引起脑细胞肿胀,释放各种神经毒性因子如氧自由基,从而加重BBB的破坏和细胞的损伤<sup>[8,9]</sup>。Kyrkanides S等<sup>[8]</sup>认为,无论体内还是体外的Ast,照射后IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平均升高,且IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 可介导ICAM-1(细胞间粘附分子-1)的表达。Olshowka JA等<sup>[10]</sup>也证实,以不同剂量(0~35Gy)局部照射大鼠后,内皮细胞和Ast表达ICAM-1均明显增多。前炎症细胞因子IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 是辐射损伤后Ast表达ICAM-1的必要条件<sup>[9]</sup>,ICAM-1促进炎细胞的浸润,从而促进炎症的发生,同时也参与组织损伤。

辐射损伤可诱发Ast、小胶质细胞、内皮细胞等的COX-2(环加氧酶-2)mRNA的表达,从而促进PGE<sub>2</sub>(前列腺素E<sub>2</sub>)释放。COX-2、前列腺素与

BBB破坏、CNS损伤有关<sup>[8]</sup>。Ast可通过自分泌、旁分泌影响炎症反应的其他机制,如IL-6的产生依赖于PGE<sub>2</sub>的介导作用。IL-6可能是一种潜在的大脑微血管调节因子,能收缩脑部血管,从而使脑血流量降低,另外也可介导血管内皮细胞的粘附和內皮的迁移,直接造成内皮细胞的损害。

照射后Ast合成和分泌的脑特异性蛋白—S100蛋白表达增加,当其表达达到一定程度时,有可能通过细胞内Ca<sup>2+</sup>超载诱导神经细胞的凋亡、坏死或脑水肿,从而参与脑辐射神经细胞损伤和死亡的病理过程。

### 1.2.2 辐射损伤诱导Ast增生的可能机制与功能性变化

Ast的增生受神经元的调控<sup>[7]</sup>。Janeczko K等<sup>[11]</sup>指出,Ast增殖能力的改变并不是γ射线对胶质细胞活性的直接影响,而可能是Ast和神经元之间平衡调节的结果。此外,胶质增生的幅度只依赖于胶质细胞对损伤的增殖活性反应,并不是依赖于损伤发生前Ast本身的数量。脑损伤后尤其电离辐射损伤后,Ast可合成分泌多种细胞因子,这些细胞因子反过来又可促进Ast的增生,如: Ast分泌合成的S100β蛋白本身也可促进Ast的肥大和增生,升高GFAP的表达水平;IL-1β和TNF-α能促进胶质细胞增生,二者联合时促进作用更强烈。另外,IL-1β、TNF-α、血小板源性生长因子和表皮生长因子等对Ast的增生有协同作用。

现已证实,电离辐射可诱导细胞中一系列基因的表达,其中一类被称为即早基因(包括fos、jun、egr-1、NF-κB等)。体外培养的Ast受1Gy照射后这些基因的表达水平很快上升。c-Fos蛋白与其他即早基因蛋白形成异源二聚体,后者与GFAP的AP-1位点结合,调节GFAP的表达。

Janeczko K等<sup>[7]</sup>报道,1Gy照射孕鼠后,神经元的分泌细胞因子、神经转移因子等表达于细胞间或细胞表面,调控Ast的发生;反过来,Ast也可合成影响神经元发生、发育的因子。Ast具有可塑性,其异常增多与“神经信号点”相联系的适应性反应有关。Setkowicz Z等<sup>[12]</sup>还认为,出生前电离辐射作用可缩短损伤所诱发的Ast增殖的持续时间。

## 2 Ast在电离辐射损伤中的修复作用

在辐射条件下,Ast从静息状态快速向活化状

态转变,其活化具有瀑布式级联效应,激活的Ast对神经元起保护或毒性作用,从而发挥“双刃”效应。

### 2.1 参与和调节BBB的形成,诱导并维持其特性

2Gy照射原代培养大鼠Ast可产生血管内皮细胞生长因子和血管紧张肽原,对血管渗透性及血管生成发生作用。Yamagala K等<sup>[13]</sup>用RNA转录或蛋白合成抑制剂预处理Ast和脑微血管内皮细胞共育系统,发现Ast维持BBB特性的作用消失,结果显示星形细胞通过基因转录、蛋白质合成、释放活性分子作用于脑微血管内皮细胞,同时,Ast可诱导BBB相关蛋白的表达,使内皮细胞呈条索状排列生长,并增加细胞间紧密连接的完整性,从而诱导并维持BBB的完整性。

### 2.2 合成和分泌多种神经活性物质,调节神经元的代谢活动,参与和促进轴突的生长与存活

新近研究表明,Ast可以合成和分泌多种神经活性物质,营养和维持神经元的生存、分化并促进神经突起的生长。此外,Ast也是脑内糖元的主要储存部位,参与神经元能量代谢。

6Gy照射C57BL/6小鼠可引起热休克反应,这是一种基本的自身防御机制。热休克蛋白可增加细胞对各种损伤的抵抗力,参与中枢神经的生长调节、促进轴突生长、神经元的保护等作用;此外,热休克蛋白诱导Ast分泌IL-6,不仅在调节免疫反应及炎症过程中,且在神经细胞生存及分化方面发挥了重要作用,特别是脑组织易受损伤部位,热休克蛋白的变化尤为显著。

反应性胶质化的Ast可以合成较多的GFAP,对损伤后神经元的存活、血管再生等自身修复起着重要的作用。反应性胶质化形成的胶质瘢痕能填补损伤所致的缺损,但同时也可形成较多的胶质瘢痕,阻碍神经元的存活和轴突再生<sup>[5]</sup>。

### 2.3 维持内环境稳定

Ast拥有丰富的缝隙连接及多种离子通道(如K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>等),可调节神经元内、外间隙离子浓度、pH值等。有人认为,Ast可调节脑损伤后CNS细胞外K<sup>+</sup>升高。Ast可经K<sup>+</sup>通道吸收神经元兴奋时释放到神经活动区突触周围的K<sup>+</sup>,通过缝隙连接和自身的耦合活动疏散K<sup>+</sup>,使K<sup>+</sup>不会明显升高,从而实现缓冲作用,维持内环境离子成分的稳定。

## 2.4 参与神经递质的代谢

Ast 具有转运谷氨酸和 GABA ( $\gamma$ -氨基丁酸)的元件。Schousboe A<sup>[4]</sup>证实, Ast 可参与谷氨酸和 GABA 释放后的失活过程和递质兴奋受体的调节。受照后, Ast 的反应性变化增强了 Ast 摄取、储存和转化受损神经元释放的谷氨酸、GABA 的能力,同时谷氨酰胺合成酶活性也增强,把谷氨酸和 GABA 转变为无毒的谷氨酰胺,从而减轻或解除兴奋性递质引起的继发性神经毒性作用,并再将其转运到神经细胞,保持突触传递的敏感性,维持和调控谷氨酸和 GABA 的神经传递。这种摄取能力增加的程度与改善脑损伤后的神经元存活的程度具有相关性。Ast 还能摄取和灭活单胺类递质,如去甲肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺等。

## 2.5 参与免疫应答

原代培养的 Ast 受 25Gy 照射后能分泌 IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等前炎症细胞因子,而且具有抗原递呈功能,可对趋化因子发生反应,所以也有人认为它是脑内特化的免疫细胞<sup>[8,15]</sup>。

综上所述,电离辐射损伤后, Ast 的存活与死亡对于神经系统的损伤程度及修复具有重要意义,可以通过影响神经元的存活和突触再生而最终影响患者的临床预后和康复。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Nirmala C, Jasti SL, Sawaya R, et al. Effects of radiation on the levels of MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 during morphogenic glial-endothelial cell interactions[J]. *Int J Cancer*, 2000, 88(5): 766-771.
- [ 2 ] Kamiryo T, Kassell NF, Thai QA, et al. Histological changes in the normal rat brain after gamma irradiation [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 1996, 138(4): 451-459.
- [ 3 ] Yang T, Wu SL, Liang JC, et al. Time-dependent astroglial changes after gamma knife radiosurgery in the rat firebrain [J]. *Neurosurgery*, 2000, 47(2): 407-416.
- [ 4 ] Yuan H, Galoer MW, McColgan T, et al. Radiation-induced permeability and leukocyte adhesion in the rat blood brain barrier; modulation with anti-ICAM-1 antibodies[J]. *Brain Res*, 2003, 969(1-2): 59-69.
- [ 5 ] Akiyama K, Tanaka R, Sato M, et al. Cognitive dysfunction and histological findings in adult rats one year after whole

brain irradiation[J]. *Neurol Med Chir*, 2001, 41(12): 590-598.

- [ 6 ] Ding GR, Nakahara T, Miyakoshi J. Exposure to power frequency magnetic fields and X-rays induces GAP-43 gene expression in human glioma M054 cells[J]. *Bioelectromagnetics*, 2002, 23(8): 586-591.
- [ 7 ] Janeczko K, Setkowicz Z, Fraczek M, et al. Effects of prenatal gamma-irradiation on postnatal astroglialogenesis in the hippocampal formation of rat[J]. *Brain Res*, 1999, 816(2): 628-632.
- [ 8 ] Kyrkanides S, John A, Olschowka JA, et al. TNF  $\alpha$  and IL-1 $\beta$  mediate intercellular adhesion molecule-1 induction via microglia-astrocyte interaction in CNS radiation injury [J]. *Neuroimmunol*, 1999, 95: 95-106.
- [ 9 ] Kim SH, Lim DJ, Chung YG, et al. Expression of TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 in the rat brain after a single high-dose irradiation[J]. *J Korean Med Sci*, 2002, 17(2): 242-248.
- [ 10 ] Kyrkanides S, Moore AH, Olschowka JA, et al. Cyclooxygenase-2 modulates brain inflammation-related gene expression in central nervous system radiation injury[J]. *Mol Brain Res*, 2002, 4(2): 159-169.
- [ 11 ] Janeczko K, Pawlinski R, Setkowicz Z, et al. Long-term postnatal effect of prenatal irradiation on the astrocyte proliferative response to brain injury [J]. *Brain Res*, 1997, 770(1-2): 237-241.
- [ 12 ] Setkowicz Z, Krzysztof J. Effects of prenatal gamma-irradiation on the astrocyte proliferation in response to injury in the brain of 6-day-old rat[J]. *Brain Res*, 1998, 803:122-128.
- [ 13 ] Yamagata K, Tagami M, Nara Y, et al. Astrocyte-conditioned medium induces blood-brain barrier properties in endothelial cells [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1997(9-10), 24: 710-713.
- [ 14 ] Schousboe A. Role of astrocytes in the maintenance and modulation of glutamatergic and GABAergic neurotransmission[J]. *Neurochem Res*, 2003, 28(2): 347-352.
- [ 15 ] Brouazin-Jousseame V, Guitton N, Legue F, et al. GSH level and IL-6 production increased in Sertoli cells and astrocytes after gamma irradiation [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(1A): 256-262.

(收稿日期: 2003-06-27)