

文章编号: 1001-098X(2004)01-0041-04

中枢神经系统辐射损伤的细胞与分子机制研究进展

张燕 陈肖华

摘要 了解中枢神经系统(central nervous system, CNS)的辐射损伤机制,对增强CNS的辐射耐受程度和治疗辐射引起的CNS损伤具有重要意义。主要从神经元、少突胶质细胞、脱髓鞘及血管系统等方面概述CNS辐射损伤的细胞机制,并简要介绍辐射诱导CNS的细胞凋亡信号转导及基因表达等分子机制。

关键词 辐射损伤;中枢神经系统;细胞与分子机制

中图分类号 Q345⁺.3, R818.74 文献标识码 A

Advances in study of cellular and molecular mechanisms of radiation-induced CNS injury

ZHANG Yan CHEN Xiao-hua

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

Abstract Understanding the mechanisms of radiation-induced CNS injury may help to develop strategies to increase the radiation tolerance and treat CNS injury induced by radiation. The article reviews the cellular mechanisms about neurons, oligodendrocytes, demyelination, vasculature and so on, and the molecular mechanisms of the apoptosis signal transduction and gene expression induced by radiation.

Key words radiation; injury central nervous system; cellular and molecular mechanisms

中枢神经系统(central nervous system, CNS)损伤在肿瘤的放射治疗中是一个重要的限制因素。虽然采用三维或放射优化治疗方案可能有助于避免严重的神经结构损伤,但放射治疗的有效性仍然受到CNS辐射耐受程度的限制。因此,了解CNS的辐射损伤机制,对增强CNS的辐射耐受程度和治疗辐射引起的CNS损伤具有重要意义。

1 CNS辐射损伤的细胞机制

1.1 神经元

神经细胞是体内高度分化的有丝分裂后细胞,即在其发生过程中一旦形成就失去了分裂能力。一般认为,成熟的神经细胞对电离辐射具有较高的辐射耐受,而处于发育时期(胚胎期、新生期)的神经元对辐射具有较高的辐射敏感性^[1]。有文献报道,大鼠大脑受10~32Gy照射后3个月内海马区神经细胞发生了明显的细胞凋亡,并且有其时相性特征,在32Gy照射后3个月时,海马区出现坏死灶。由此推测,大鼠大脑受照射后早期首先出现神经细胞

的凋亡,随着剂量的加大和观察时间的延长才发生放射性坏死^[2]。

1.2 少突胶质细胞和脱髓鞘

少突胶质细胞(oligodendrocyte)是中枢神经的成髓鞘神经胶质细胞,它包绕神经纤维的轴突形成髓鞘,对轴突正常快速电传导等功能具有重要作用。髓鞘结构的完整性受到病理性破坏即脱髓鞘(demyelination),它是中枢神经系统辐射损伤的晚期病理学改变之一,少突胶质细胞的丢失直接导致脱髓鞘。

少突胶质细胞的主要来源是O-2A(oligodendrocyte type 2 astrocyte cell)祖细胞,该细胞也可以分化为2型星形胶质细胞,它们的分化形式受许多细胞因子调控:如果将胚胎O-2A细胞接种到无血清培养基中,它们将会提前分化成少突胶质细胞;然而,如果将这些细胞接种在含血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)培养基或星形胶质细胞条件培养基(astrocyte conditioned medium, ACM)中,它们则会按照胚胎发育的正常时间分化为少突胶质细胞;如将其接种在有血清和骨形态发生蛋白的培养基中,则会分化成星形胶质细胞;而

在无血清培养基中加入 PDGF 和碱性成纤维生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF), 则可以使其保持在未分化的祖细胞阶段。目前, 大部分有关 O-2A 细胞分化形式的文献报道都来源于胚胎 O-2A 细胞, 而成年脑中也有大量的 O-2A 细胞, 与胚胎 O-2A 细胞相比仅显示细微差别。因此, 成年脑中活跃的胶质干细胞成分可能是辐射损伤的靶细胞, 这将会影响 CNS 损伤的修复过程。

仅有很少文献报道了 O-2A 细胞在放射治疗中的作用。采用大鼠视神经进行的研究观察到照射后 O-2A 细胞的数量减少, 同时, 剩余 O-2A 细胞形成的克隆数目也减少, 表明存活的 O-2A 细胞的克隆形成能力有所降低, 提示辐射所致 CNS 损伤后, O-2A 细胞的数量减少以及功能降低可能是影响损伤修复的重要因素。

然而, 照射后少突胶质细胞的减少与照射对祖细胞的影响无关, 而可能是照射对该类细胞的直接作用。体外实验表明, 照射后少突胶质细胞可发生凋亡, 而 O-2A 祖细胞却未发生类似情况; 另有研究表明, 大鼠脊髓受照射后体内也发生少突胶质细胞凋亡, 而且 p53 基因缺失小鼠显示放射诱导体内少突胶质细胞凋亡依赖 p53, 并且由天冬氨酸特异性半胱蛋白酶 (caspases) 执行^[3]。

除直接影响外, 辐射还可诱导机体释放类似肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 的细胞因子, 它们也可能导致少突胶质细胞损伤, 这可以从 TNF- α 诱导少突胶质细胞死亡的研究中得到证实^[4]。

综上所述, 推测辐射诱导脱髓鞘的过程可能如下: 辐射导致成熟的少突胶质细胞减少, 其减少又刺激 O-2A 细胞补充新的少突胶质细胞; 同时, 辐射也直接造成存活的 O-2A 细胞数量减少, 并且形成成熟后代的能力也降低。髓鞘含量由髓鞘碱性蛋白 (myelin basic protein, MBP) 浓度决定。对豚鼠进行照射, 并每周测定照射区域内外的 MBP 比值, 研究显示 MBP 在照射后所有时间点都减少, 但在照射后 2~4 周、7~8 周和瘫痪症状发作时 (第 11 周) 达到最低点。这些结果表明, 髓鞘含量的两次减少后, 有一个间歇的恢复和最终的衰竭, 假设髓鞘含量反映少突胶质细胞数量, 这就表示少突胶质细胞的两次减少都被干细胞产生的新细胞所补充, 但如果它们的减少超过了干细胞的补充能力, 损伤就产生了。

1.3 血管系统

辐射引起的 CNS 血管最初改变是内皮细胞从基底膜脱落, 胞质空泡形成和胞核肿胀, 表明小血管内皮细胞的死亡可能是早期水肿发生的重要原因。经酸性神经鞘磷脂酶使胞内产生神经酰胺的特殊凋亡机制, 对内皮细胞的凋亡具有极其重要的作用, bFGF 能阻止神经酰胺的产生, 意味着 bFGF 对辐射诱导的血管损伤具有潜在的调节作用^[5]。另外, 受照后血管壁上粘附的白细胞也可以通过 TNF 的作用引起内皮细胞凋亡。尽管如此, 照射后血管内皮剥脱的关键机制究竟是内皮细胞凋亡还是有丝分裂期后的死亡仍需进一步证实。

在上述的早期变化后, 内皮细胞的进一步损伤会导致如下结果: 血小板粘附到暴露的基质致使血小板凝集和血栓形成, 这通常在照射后数周或数月内发生, 并且在此阶段可见血管被血栓部分或完全堵塞, 之后可以观察到异常的内皮细胞增殖, 基底膜增厚, 胶原增生填充血管腔。然而, 由电离辐射引起这些现象的调节机制尚无更详细的报道。

辐射诱导血管损伤的细胞机制可能包括各种粘附分子的上调, 其中最重要的是 E 选择素和细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)。实验显示, 照射后这两种粘附分子都发生明显上调, 并且介导白细胞粘附到血管壁, 粘附的白细胞可能通过 TNF- α 的作用诱导细胞凋亡而加重血管损伤。研究发现, 在血管炎症反应发生时必须有 ICAM-1 的存在, 证实了辐射诱导 ICAM-1 表达的重要性。

1.4 特定的脑结构区域

来源于脑室管膜下区 (sub-ventricular zone) 的干细胞也是一类潜在的放射靶细胞, 其有丝分裂活性可持续到成年期。该区细胞具有自我更新能力、向多种细胞分化的潜能, 以及高度迁移特点, 它们以切线的方式迁移到嗅叶, 分化为神经细胞; 以向四周扩散的方式迁移到临近结构, 分化为神经胶质细胞, 这些特点对脑损伤后的修复是必不可少的。有文献^[6]报道, 受 2Gy 照射后的幼年大鼠室管膜区和海马的增殖细胞发生凋亡, 可导致再生能力的永久损伤。

与内皮细胞和胶质细胞损伤的情况相似, 室管膜下区干细胞损伤对辐射诱导 CNS 损伤的确切作用机制还不清楚。

2 CNS 辐射损伤的分子机制

2.1 细胞凋亡信号转导

如上所述, 细胞凋亡的诱导与辐射引起 CNS 损伤存在着密切联系, 因此, 了解辐射或死亡配体诱导细胞凋亡信号转导的基本机制是非常必要的。目前已有两条主要的凋亡调控途径得到了较为详细的证实: 一是通过包括 TNF、Fas 配体和 TNF 相关的凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 等死亡配体家族成员调节, 二是通过辐射诱导的 DNA 损伤调节。虽然其中涉及的某些因素相互重叠, 但总的信号转导机制是不同的^[7]。

在第一条途径中, 死亡受体 (如 TNFR1, Fas, TRAILR1, TRAILR2) 被激活后, FADD (Fas associating protein with death domain) 结合 TRADD (TNFR1 associating death domain protein) 介导 caspase-8 激活, 之后, caspase-8 促使包括 caspase-3 的下游 caspases 激活。同时, caspase-8 也激活前凋亡 BID 分子, BID 又可促使细胞色素 C 从线粒体释放, 从而通过凋亡 APAF-1 (蛋白酶诱导因子) 激活 caspase-9, 与 caspase-8 相似, caspase-9 也激活包括 caspase-3 的下游 caspases^[8]。

在第二条途径中, 与死亡受体调节细胞凋亡相比, 辐射诱导细胞凋亡主要通过线粒体损伤使 caspases 激活。在应激反应激活线粒体损伤途径中, 最经典的可能是 p53 介导抑制促凋亡调节蛋白 BAX 激活途径, 在此过程中, BAX 和线粒体膜通透性转换孔 (permeability transition pore, PTP) 复合物结合, 诱导包括细胞色素 C 和凋亡诱导因子的前凋亡分子释放^[9]。如前述, 细胞色素 C 的释放又可通过 APAF-1 和 dATP 激活 caspase-9。

2.2 ATM 和 CNS 凋亡

ATM 是共济失调性毛细血管扩张症 (ataxia telangiectasia, AT) 基因, 最近发现它对脑特定部位的细胞凋亡调控具有重要作用。ATM 基因缺失小鼠受照射后脑的某些特定区域 (海马齿状回、小脑外部的颗粒层和视网膜) 的抗凋亡能力明显增强, 而在 p53 基因缺失小鼠也得到了相同结果, 这表明辐射诱导的脑细胞凋亡依赖 p53 和 ATM^[10]。有研究表明, BAX 和 ATM 共同参与了 ATM 介导的脑细胞凋亡调控机制, caspase-3 是细胞凋亡调控的最终执行者^[11]。

2.3 应激反应诱导的基因表达

基因表达的激活也是电离辐射诱导 CNS 损伤的重要因素。如上所述, 前炎症细胞因子 (TNF- α 、INF- γ 和类似 ICAM 的粘附分子) 的表达上调参与了辐射诱导的脑损伤。TNF- α 和 ICAM-1 的调控可能涉及了重叠的通路。通过对人类 TNF- α 基因启动区的检测, 显示该区域具有细胞类型特异性和刺激物特异性调控元件以及几个转录因子 (AP-1、NF- κ B、AP-2、NF-AT、SP-1、C/EBP 和 CRE) 的潜在结合位点, 所有这些转录因子对 TNF- α 复杂的基因调控机制都有影响。其中, 转录因子 NF- κ B、AP-1 和 SP-1 在辐射诱导 TNF- α 基因表达的过程中发挥着重要作用。有研究表明, 照射后的脑组织中也能检测到这些因子的表达^[12]。

转录因子 AP-1 是由 c-jun 和 c-fos 组成的复合物, 当应激反应激活的蛋白激酶家族将 c-jun 磷酸化后即可激活 AP-1, 这些激酶是大多数细胞应激反应 (包括电离辐射激活的应激反应) 网络的一部分。经典的应激反应过程是从 MEKK-1 激酶的激活开始, 它使下游激酶 SEK-1 磷酸化, 激活的 SEK-1 诱导 c-jun N 端激酶 (c-jun N-terminal kinase, JNK) 的磷酸化, 从而使得 JNK 被激活, 最后 JNK 通过 c-jun 和 ATF-2 的磷酸化激活基因表达。

3 结语

本文着重阐述了 CNS 辐射损伤的细胞与分子机制的几个方面, 对于辐射诱导 CNS 损伤的整体机制来说, 单个机制的确切作用还有待进一步研究。总之, 深入研究 CNS 辐射损伤的机制, 对于 CNS 辐射损伤的临床治疗, 以及最大限度地减少和预防放射治疗并发症都具有重要的指导意义。

参 考 文 献

- [1] Romero AA, Gross SR, Cheng KY, et al. An age-related increase in resistance to DNA damage-induced apoptotic cell death is associated with development of DNA repair mechanisms[J]. *J Neurochem*, 2003, 84(6): 1275-1287.
- [2] Gobbel GT, Chan PH. Neuronal death is an active, caspase-dependent process after moderate but not severe DNA damage[J]. *J Neurochem*, 2001, 76(2): 520-531.
- [3] Chow BM, Li YQ, Wong CS. Radiation-induced apoptosis in the adult central nervous system is p53-dependent[J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7(8): 712-720.
- [4] Cammer W. Effects of TNF alpha on immature and mature

oligodendrocytes and their progenitors in vitro[J]. Brain Res, 2000, 864(2): 213-219.

- [5] Pena LA, Fuks Z, Kolesnick RN. Radiation-induced apoptosis of endothelial cells in the murine central nervous system: protection by fibroblast growth factor and sphingomyelinase deficiency[J]. Cancer Res, 2000, 60(2): 321-327.
- [6] Amano T, Inamura T, Wu CM, et al. Effects of single low dose irradiation on subventricular zone cells in juvenile rat brain[J]. Neurol Res, 2002, 24(8): 809-816.
- [7] Baatout S, Derradji H, Petitfour O, et al. Mechanisms of radio-induced apoptosis[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2002, 80(7): 629-637.
- [8] Ramp U, Caliskan E, Mahotka C, et al. Apoptosis induction in renal cell carcinoma by TRAIL and gamma-radiation is impaired by deficient caspase-9 cleavage [J]. Br J Cancer, 2003, 88(11):1800-1807.

- [9] Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor [J]. Nature, 1999, 397(6718): 441-446.
- [10] Offer H, Erez N, Zurer I, et al. The onset of p53-dependent DNA repair or apoptosis is determined by the level of accumulated damaged DNA [J]. Carcinogenesis, 2002, 23 (6): 1025-1032.
- [11] Chong MJ, Murray MR, Gosink EC, et al. Atm and Bax cooperate in ionizing radiation-induced apoptosis in the central nervous system[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (2): 889-894.
- [12] Raju U, Gumin GJ, Tofilon PJ. Radiation-induced transcription factor activation in the rat cerebral cortex[J]. Int J Radiat Biol, 2000, 76(8): 1045-1053.

(收稿日期: 2003-06-27)

文章编号: 1001-098X(2004)01-0044-03

DHEA 及其代谢产物 AED 和 AET 的辐射防护作用

苏文娜 蒋铭敏

摘要 脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)是人体内多种激素合成的前体, 有研究表明, DHEA 开辟了通过调节免疫系统抗致死性感染的途径, 其代谢产物雄烯二醇 (androstenediol, AED)和雄烯三醇(androstenetriol, AET)具有更强的抗病毒和细菌感染的的能力, 降低机体的发病率和死亡率。

关键词 脱氢表雄酮; 雄烯二醇; 雄烯三醇; 辐射防护

中图分类号 R818.05 文献标识码 A

Protection against radiation by dehydroepiandrosterone, androstenediol, and androstenetriol

SU Wen-na, JIANG Ming-min

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

Abstract Dehydroepiandrosterone (DHEA) was considered to be a biologically irrelevant intermediate in the pathway of steroid hormones. DHEA provides one of the first avenues by which the immune system can be globally regulated to increase resistance to a variety of lethal infections. The downstream metabolites of DHEA particularly androstenediol (AED) and androstenetriol (AET) were significantly more efficacious at preventing morbidity and mortality associated with viral and bacterial infection.

Key words dehydroepiandrosterone; androstenediol; androstenetriol; radiation protection

随着人们对辐射损伤认识的深入, 探索细胞生长因子、天然药物、免疫和生化等制剂在辐射防护领域的应用日益受到重视。电离辐射引起的造血系统损伤的症状, 表现为免疫功能缺陷所致的

感染和出血, 并导致死亡率增加。辐射和类皮质激素引起的免疫损伤有很多相似之处。全身或局部受照可导致淋巴细胞的损伤, 抑制造血细胞增生; 皮质醇可直接破坏淋巴细胞, 影响 RNA 合成, 抑制炎症反应。DHEA (脱氢表雄酮) 及其代谢产物 AED