

辐射对大鼠脊髓损伤的研究进展

王俊杰 田素青

【摘要】 放射治疗可以诱发脊髓损伤, 如何降低脊髓损伤的发生率而又提高肿瘤的控制率是临床肿瘤放疗非常棘手的难题。射线诱发损伤具有3个时相的反应, 不同损伤阶段具有不同的生物化学反应, 探讨各种生物化学反应之间是否具有相关关系, 如何通过剂量率的变化而改变损伤作用机制, 将对临床治疗具有很大的指导意义。

【关键词】 辐射损伤; 脊髓; 大鼠

【中图分类号】 R818.74 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)04-0244-03

The advances of damage in the spinal cord after irradiation

WANG Jun-jie, TIAN Su-qing

(Department of Radiation Oncology, The Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China)

【Abstract】 The over-dose radiation therapy of spinal cord metastases can induce damage. It was a very stuff work to minimize the possibility of spinal damage and increase the possibility of tumor control.

【Key words】 Radiation injury; Spinal cord; Rats

放射治疗是椎体转移癌的主要治疗手段。椎体转移癌和(或)椎体、椎旁原发肿瘤是临床十分常见的非常棘手的难题, 因为肿瘤毗邻脊髓, 发现时已处于相对晚期, 所以手术完全切除的机会很小, 放疗是主要的治疗手段。因此, 减少正常组织剂量带来的副作用和尽可能减少正常组织的并发症十分关键。不同的剂量分割模式带来脊髓损伤机制的改变, 本文就各种放射治疗肿瘤技术引起脊髓损伤方面的研究进展综述如下。

1 单次大剂量外照射对大鼠脊髓损伤的研究

射线对神经系统的损伤具有严重的后果。放射治疗后可以导致急性期、早期延迟期和晚期3个时相反应, 射线作用后短期内因水肿可引起急性反应。早期延迟反应可在放疗后几个月后发生, 包括嗜睡和综合征, 这种可恢复的一过性反应是由一过性脱髓鞘反应所引起。晚期损伤一般发生在射线作用后几个月到几年, 脱髓鞘反应和血管异常是两个重要的组织学变化特征, 这种晚期损伤的细胞和分子生物学机制目前尚不完全清楚^[1,2]。少突神经胶质细胞(oligodendrocytes, OL)和血管内皮细胞是射线引起白质损伤的靶点。

1.1 射线对大鼠脊髓损伤的病理学改变

射线对脊髓损伤的病理学表现主要集中在白质, 包括: 脱髓鞘、脊髓炎、白质坏死、血管改变和偶尔的单核细胞浸润。通过对大鼠脊髓损伤的研究发现, 当脊髓受照射长度小于2 cm时, 白质坏死的等效剂量(isoeffective dose, ED₅₀)随着照射体积增加而降低^[3]。

1.2 射线对大鼠脊髓血管内皮细胞的影响

内皮细胞和血管壁对血管维持是通过产生和释放多种血管活性物质来影响血管的紧张性。内皮细胞释放的因子包括一氧化氮(NO), 血管壁来源的收缩因子包括血栓素和内皮素。内皮素是迄今为止发现的最具有血管收缩功能的因子, 可以持续产生血管收缩, 通过激活血栓、聚集血小板或血管紧张素II来诱导内皮细胞产生和释放。大鼠脊髓受照射后急性期、早期和晚期均有内皮素水平的波动性变化, 照射后18 h内皮素水平下降, 10 d后达到最低值, 这就提示血管松弛作用即使没有血管扩张剂如NO和前列环素前提条件也可以诱导产生。低剂量内皮素可以介导血管松弛作用, 并且这种作用不能被血管松弛剂如一氧化氮合酶(NO synthase, NOS)或环氧化酶阻断。内皮素介导的血管松弛包括低剂量时钙激活K⁺通道, 而高剂量时可以灭活这一功能。内皮素和前列环素水平下降, 反映了细胞群体的减少和酶活性的降低。既往的研究发现,

作者单位: 100083, 北京大学第三医院肿瘤治疗中心放射治疗科

通讯作者: 王俊杰(E-mail: junjiew920@vip.sohu.com)

射线降低了血管保持完整性的能力和促使内皮细胞产生前列环素。另有研究发现,全脑放射治疗后局部脑组织的葡萄糖代谢2周后明显降低,这种作用可以持续10 d,推测内皮素水平降低与早期非特异性酶活性被射线抑制有关。

射线作用大鼠脊髓120 d后,内皮素水平升高,伴随着血栓素的产生和前列环素水平下降,同时微血管的通透性被破坏。血液循环中的血小板与损伤的微血管内皮表面作用,引起前列环素合成能力下降。血小板聚集可通过释放5-羟色胺刺激内皮细胞或通过激活的凝血酶产生内皮素。凝血酶和5-羟色胺均是内皮细胞产生前内皮素-1 mRNA的受体拮抗剂。凝血酶也可以刺激胶质细胞产生内皮素-1,提示凝血酶内皮细胞和神经胶质细胞内皮素-1表达调控大脑弥散功能。同时,内皮素对胶质细胞、平滑肌细胞和肾小球细胞具有促有丝分裂的作用。来自不同细胞体系的内皮素具有自分泌和旁分泌信使功能,可以与血管内皮发生作用,这样射线作用后内皮细胞分泌功能的改变可以解释作为组织损伤的单位,为脊髓损伤最早发生的形态学变化。这些组织损伤单位包括神经胶质细胞和内皮细胞,有人提议将这些敏感形态学改变作为中枢神经系统的中度放射损伤(单次20~25 Gy照射)描述标准^[6]。

1.3 射线对大鼠脊髓内皮细胞NO的影响

在正常情况下,脑血管可以产生NO,而对于收缩性刺激产生的拮抗性抑制作用是NO介导的,并通过循环和局部血管收缩活性物质激活,如去甲肾上腺素、5-羟色胺和前列环素。除对血管收缩具有调节作用外,NO还具有重要的抗血小板聚集和与内皮细胞黏附作用。这样,NO就具有了许多血管活性物质的特征,诱导平滑肌细胞产生松弛作用和抑制血小板聚集。射线作用后,为了应对血管收缩刺激,如5-羟色胺合成NO的能力,在受照射节段脊髓严重受到抑制,尽管这时产生大量的血管收缩性介质,但是NO仍没有明显升高。

在中枢神经系统,NO的产生来源于许多细胞体系,如神经胶质细胞、小神经胶质细胞和神经元,而不是内皮细胞。NOS的同源异构体可以被胶质细胞的受体介导的拮抗剂激活,正常情况下产生低水平的NO。激活的神经胶质细胞产生的NO量足以诱导脑动脉松弛。另外,在培养胶质细胞和

小神经胶质细胞,一些细胞因子也可以诱导NOS的同源异构体表达。在照射后晚期延迟时相,通过免疫组织化学发现胶质细胞和小神经胶质细胞有增殖发生,提示NOS系统被激活^[5]。

1.4 射线对大鼠血管内皮细胞氧自由基的影响

自由基可以由细胞内产生,也可以由细胞外转运而来。氧自由基是参与血管壁损伤的一个家族成员,过度释放氧自由基可以导致许多病理学改变,包括炎症反应、增加前列环素和缺血改变。细胞内低水平的氧自由基可以通过内皮细胞释放前列环素介导血管扩张,而细胞内水平增加时可以抑制或破坏前列环素合成和灭活NO,相反,血栓素A₂合成酶对这样的自由基的作用是抗拒的或破坏的,这些相互作用结果导致了前列环素-血栓素和NOS自由基之间的平衡破坏,引起非生理性的血管黏附、血管裂隙、血管收缩,最后导致病理学上的改变。

射线诱发细胞内和细胞外氧自由基的大量释放还可以诱导一系列的连锁反应,如产生花生四烯酸,花生四烯酸又可以激活环氧化酶系统,导致自由基产生增加。射线作用后产生大量前列环素与产生大量自由基有关,提示内源性抗氧化能力耗竭。

在射线作用的延迟反应中,血管通透性改变还不十分清楚。射线作用120 d后,由于激活小神经胶质细胞,脊髓产生延迟性炎症反应,激活的小神经胶质细胞可能与细胞因子释放和产生氧自由基有关。这一过程的加速有可能超越了细胞降低氧自由基的能力,进而导致NO的灭活和继续抑制前列环素合成。射线作用120 d或180 d后,利用超氧化物歧化酶短期处理可以恢复受照射脊髓血管的通透性,提示超氧化物破坏了由内皮细胞维持的正常平衡^[6]。

2 射线对大鼠脊髓少突胶质前体细胞凋亡和增殖的影响

少突神经胶质前体细胞(oligodendrocyte progenitor cells, OPC)和血管内皮细胞目前被认为是射线诱发白质损伤的靶。在神经系统成熟过程中,OPC产生OL,并对不同因素引起的神经系统的脱髓鞘损伤具有重要的作用^[7]。中枢神经系统的脱髓鞘反应包括两个步骤:一是适当的细胞类型能够再积聚在损伤部位;二是分化成为有髓鞘的OL。研究证明,OPC增殖是再髓鞘化所必需的,OPC的缺失可以导致再髓鞘化无法发生。通过体内、体外研究

发现,照射 24 h 后 OPC 可以发生凋亡,降低 OPC 的密度,而且这种密度的降低可以持续到照射后 20 周^[8,9]。Chari 等^[10]对大鼠胸部脊髓 40 Gy 照射后,检测了 OPC 的密度,结果发现照射后 2 周明显降低,不足 1%的 OPC 存活,6 周后恢复到对照组水平;但是,22 Gy 照射后到 18 周,OPC 不能恢复到对照组水平,8 Gy 照射后 6 周 OPC 恢复到对照组水平,可以引起相似的细胞凋亡反应。22 Gy 是引起白质坏死的 ED₁₀₀ 的剂量。持续的 OPC 缺失是导致受照射脊髓受晚期脱髓鞘反应的关键,大鼠脊髓受照射后早期可以观察到剂量依赖性增殖反应,增殖的高峰发生在照射后 2~4 周,22 Gy 照射后,晚期增殖反应的增加发生在脱髓鞘和坏死反应出现之前。照射诱发 OL 凋亡是 p53 依赖性的,细胞核 p53 表达在照射后 4 h 上调,而在 p53^{-/-}小鼠照射后 24 h 内没有发生细胞凋亡^[11]。

3 高、低剂量率照射对大鼠脊髓损伤的研究

临床近距离治疗的进步是高剂量率后装机的出现,其优势包括:放射源位置易于控制、剂量分布更均匀和治疗时间大大缩短。但是高剂量率近距离治疗与低剂量率近距离治疗也有其不足,如分次的限制、增加晚反应组织的损伤等,而最大治疗比只能在低剂量率照射或多次、低分割剂量放疗时才能获得。为了获得与高剂量率同样的临床疗效,多次分割是必须的,每日 2 或 3 次。大多数关于剂量率效应对肿瘤和正常组织的研究均是 >1.2 Gy/h (2 cGy/min),而且利用的是外照射技术。Pop 等^[12]研究发现,脊髓的耐受剂量随着剂量率(<1 Gy/h)的降低而升高,如 120 Gy/h 降低到 0.96 或 0.49 Gy/h,ED₅₀ 值增加 2.9 或 4.7 倍,即 50.3 Gy 或 80.8 Gy。高剂量率的 ED₅₀ 值是 17.3 Gy,修复损伤半衰期是 17.6 h,没有观察到修复损伤的两个时相反应。利用外放疗建立的剂量依赖模型,当剂量率低于 3 Gy/h 时,晚反应组织具有明显的剂量率依赖效应,推测其作用机制可能是延长的照射过程中发生了亚致死性损伤的修复,修复程度取决于 α/β 射线比或修复的半衰期,当具有较高修复能力(α/β 小)和快速修复机制时,在持续照射过程中将发生损伤修复,来拮抗射线对正常组织的杀伤,进而增加正常组织的耐受性。利用 ⁶⁰Co 对大鼠脊髓照射研究发现,剂量率在 107.6 Gy/h 降至 3.9 Gy/h 时,ED₅₀ 值

增加 1.7 倍。300 keV X 射线照射大鼠腰椎剂量率降低至 3.36 Gy/h 时,ED₅₀ 值增加 1.7 倍。利用高剂量率 ¹⁹²Ir 与脉冲低剂量率照射比较大鼠脊髓的耐受性发现,在剂量率 15~500 Gy/h 范围内,脊髓耐受性随剂量率降低而明显增高。

4 目前存在的问题

目前,关于脊髓损伤的剂量限值、脊髓损伤作用机制的研究均建立在动物实验研究基础上,而关于脊髓损伤的检测尚无明确的生物化学指标。同时,关于照射对大鼠脊髓损伤的研究目前尚无趋于一致的结论。通过改变剂量分割模式和改变剂量率,并从分子生物学水平对损伤的作用机制进行研究,将为临床进一步合理、科学的应用提供理论依据。

参 考 文 献

- Moore AH, Olschowka JA, Williams JP, et al. Radiation-induced edema is dependent on cyclooxygenase 2 activity in mouse brain. *Radiat Res*, 2004, 161(2): 153-160.
- Tofilon PJ, Fike JR. The radioresponse of the central nervous system: a dynamic process. *Radiat Res*, 2000, 153(4): 357-370.
- Bijl HP, van Luijk P, Coppes RP, et al. Regional differences in radiosensitivity across the rat cervical spinal cord. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 61(2): 543-551.
- Simmons ML, Murphy S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. *J Neurochem*, 1992, 59(3): 897-905.
- McTigue DM, Wei P, Stokes BT. Proliferation of NG2-positive cells and altered oligodendrocyte numbers in the contused rat spinal cord. *J Neurosci*, 2001, 21(10): 3392-3400.
- Franklin RJ. Why does remyelination fail in multiple sclerosis?. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(9): 705-714.
- Kurita H, Kawahara N, Asai A, et al. Radiation-induced apoptosis of oligodendrocytes in the adult rat brain. *Neurol Res*, 2001, 23(8): 869-874.
- Alam MK, Franke JE, Rohrschreib MR, et al. Hemoglobin correction for near-infrared pH determination in lysed blood solutions. *Appl Spectrosc*, 2003, 57(9): 1093-1099.
- Atkinson SL, Li YQ, Wong CS. Apoptosis and proliferation of oligodendrocyte progenitor cells in the irradiated rodent spinal cord. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 62(2): 535-544.
- Chari DM, Huang WL, Blakemore WF. Dysfunctional oligodendrocyte progenitor cell (OPC) populations may inhibit repopulation of OPC depleted tissue. *J Neurosci Res*, 2003, 73(6): 787-793.
- Pop LA, Millar WT, van der Plas M, et al. Radiation tolerance of rat spinal cord to pulsed dose rate (PDR) brachytherapy: the impact of differences in temporal dose distribution. *Radiother Oncol*, 2000, 55(3): 301-315.
- Pop LA, Van der plas M, Skwarchuk MW, et al. High dose rate (HDR) and low dose rate (LDR) interstitial irradiation (IRT) of the rat spinal cord. *Radiother Oncol*, 1997, 42(1): 59-67.

(收稿日期: 2006-02-19)