

放射性脑损伤分子机制及神经保护策略研究进展

高波 王学建

【摘要】放射性脑损伤(RBI)的潜在分子机制目前尚不完全清楚。RBI的形成是中枢神经系统内神经元、胶质细胞和血管内皮细胞之间复杂的、动态的相互作用过程。随着放射治疗的广泛应用,对RBI的神经保护治疗逐渐得到重视,提出了相应的神经保护策略。

【关键词】辐射损伤;脑损伤;神经保护

【中图分类号】 R818.74 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)01-0040-05

Radiated-induced brain injury: advance of molecular mechanisms and neuroprotection strategies

GAO Bo, WANG Xue-jian

(Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

【Abstract】 The underlying mechanisms of radiated-induced brain injury (RBI) remain incompletely clear. Pathophysiological data indicate that the development of RBI involves complex and dynamic interactions between neurons, glia, and vascular endothelial cells within the central nervous system (CNS). Radiated-induced injury in the CNS can be modulated by the therapies directed at altering steps in the cascade of events leading to the clinical expression of normal tissue injury. Some neuroprotective strategies are also addressed in the review.

【Key words】 Radiation injuries; Brain injury; Neuroprotection

头颈部肿瘤术前或术后的放射治疗是目前临床上普遍采用的治疗方法,但对中枢神经系统(central nervous system, CNS)的副作用——放射性脑损伤(radiated brain injury, RBI)也是不容忽视的。放射治疗的机制目前尚未完全明了,而且对放射治疗的神经保护尚在探索中。

1 CNS的辐射损伤反应

CNS内主要细胞类型有神经元、胶质细胞和血管内皮细胞,其中血管内皮细胞形成血脑屏障(blood-brain barrier, BBB),使大多数蛋白质、亲水性分子和离子不能进入CNS;胶质细胞一般分为少突胶质细胞、星形细胞及小胶质细胞,少突胶质细胞参与神经元轴突的髓鞘化,星形细胞参与神经元信号传递、BBB形成及维持,小胶质细胞有吞噬细胞功能并在CNS的炎症状态下激活,胶质细胞和血管内皮细胞对射线较敏感,但损伤容易恢复;而神经元敏感性较低,一旦为致死性损伤则很

难修复。

过去相关研究多以单一细胞成分为研究对象,现在看来,以脑实质细胞或血管内皮细胞作为靶细胞的经典RBI模型过于简单化。随着分子生物学手段的使用及神经生物学认识的更新,目前研究表明,RBI的表达是各种细胞类型之间复杂而动态的相互作用的过程,不同细胞对放射性反应的差别是由照射剂量的不同和表现时相的不同所造成的,在RBI形成过程中它们作为一个整体起作用。

2 RBI的分子机制

2.1 凋亡

辐射诱导的凋亡是一个非常复杂的生物网络过程,它包括p53基因、bcl-2基因和p16基因的调控,酰基鞘氨醇介导的信号转导及Ca²⁺、Caspases激酶和凋亡诱导因子的调控^[1]。有研究表明^[2],凋亡信号通路可由电离辐射与细胞膜的相互作用所产生,这改变了原来由直接DNA损伤介导的细胞死亡的假说。

2.1.1 辐射诱导内皮细胞的凋亡

电离辐射后内皮细胞的凋亡启动了急性BBB

破坏,在辐射后12h内皮细胞的凋亡达到高峰^[3]。与少突胶质细胞的凋亡依赖于p53所不同,内皮细胞的凋亡不依赖于p53,而是由第二信使——酰基鞘氨醇介导^[3,4]。酰基鞘氨醇作为神经鞘脂的主要成分,以第二信使介导细胞活性,其最主要的功能是传输包括凋亡在内的生长抑制信号。酰基鞘氨醇信号通路在不同水平的改变直接影响细胞的药物敏感性和辐射敏感性。

与CNS内辐射诱导的内皮细胞凋亡由酸性鞘磷脂酶(acid sphingomyelinase, ASMase)通路所介导的观点相一致,ASMase基因剔除动物在辐射后CNS内皮细胞的凋亡减少^[5]。CNS在辐射后发生BBB的急性破坏已成共识^[5],辐射诱导的内皮细胞凋亡依赖于ASMase通路为我们确定内皮细胞凋亡在放射治疗后BBB急性破坏中的作用提供了一个基因学方法,针对内皮细胞凋亡的治疗或许是一种抑制放射治疗后急性BBB破坏的神经保护策略。

2.1.2 辐射诱导少突胶质细胞的凋亡

电离辐射后CNS内少突胶质祖细胞(oligodendrocyte progenitor cell, OPC)数目减少,功能障碍的OPC群可以抑制OPC缺失组织的再聚集^[6]。有研究发现,辐射损伤后少突胶质细胞的早期凋亡伴有OPC的早期增生,但凋亡可能不是早期OPC增生的始动因素^[7]。

2.2 BBB破坏

目前普遍认为,辐射所致的微环境改变,包括内皮细胞功能失调、BBB破坏、小胶质细胞激活及神经生成的抑制等,最终导致RBI的发生。因此,重点探讨BBB破坏和导致组织损伤的微环境改变可能更有意义^[8]。

(1)缺氧与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF):电离辐射后星形细胞内VEGF mRNA的表达增加,且主要在血管结构发生改变区域,并具有剂量依赖性和时间依赖性,VEGF对RBI的致病作用为临床治疗提供了明确目标^[8]。抑制内皮一氧化氮合酶活性可能会减轻血管内皮功能失调^[9]。

(2)缺氧与其他缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor 1, HIF-1):活性氧类对RBI的形成起重要作用。缺氧状态下各种机制引发自由基产生,血红素加氧酶1(hemo oxygenase-1, HO-1)即通过HIF-1由缺氧诱导产生,并可作为观察氧化应激的

指标。Arvold等^[10]观察到在大鼠脊髓发生缺氧、血脊髓屏障破坏区有HIF-1 α 、VEGF及葡萄糖转运体1(glucose transporter-1, GluT-1)的协同表达,体外转化的小鼠胚胎纤维母细胞证实缺氧介导的辐射耐受不依赖于HIF-1 α 。HIF-1 α 的增加也可以上调HIF-1靶向基因如乳酸脱氢酶及其他糖酵解酶导致乳酸产物增加,引发危害,这是否引起CNS在缺氧状态下的微环境改变目前还不清楚。

(3)内皮细胞紧密连接:当发生辐射诱导的晚期BBB破坏时,VEGF的上调与VEGF受体表达的增加没有关系。BBB的完整性依赖于内皮细胞之间的紧密连接或黏附连接,研究表明,缺氧诱导的内皮细胞通透性增加有VEGF介导的闭锁小带-1和一氧化氮的表达改变参与。Nordal等^[11]发现,大鼠受照射脊髓内没有微血管紧密连接的中断或扩张,也没有紧密连接闭锁蛋白和闭锁小带-1免疫活性分布或数量上的明显改变,Yuan等^[12]对大鼠RBI模型研究发现,内皮细胞紧密连接的完整性遭到破坏。

(4)细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1):产生BBB破坏的多种CNS损伤都有ICAM-1表达增加,VEGF使CNS及培养的脑微血管内皮细胞中ICAM-1的表达增强。研究表明,ICAM-1表达增强的时间进程、剂量反应和空间分布与血脊髓屏障的破坏以及白蛋白的漏出相关^[11],ICAM-1介导的白细胞聚集、细胞骨架重排及对紧密连接的信号转导等都可以引起BBB破坏^[12]。

(5)环加氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2):辐射与炎症标记物的诱导(包括细胞因子的表达)有关,受照射小鼠脑内可发现有COX-2表达增加和COX-2介导的类前列腺素产物,COX-2的抑制减缓了类前列腺素的诱导和放射治疗后的脑水肿^[13]。

2.3 神经生成的抑制

现在认为整个成人期都有多潜能前体或干细胞,而且对在不同神经生成位置产生的功能特异性因素的认识逐渐增加^[14]。神经生成依赖于包括CNS内不同细胞类型之间信号通路的复杂微循环,辐射可以影响这些细胞或其相互作用。系列研究表明,辐射诱导的神经前体细胞功能失调伴有神经生成微环境的明显改变,幼年小鼠海马神经生成的抑制与神经认知功能缺失有关^[15,16]。电离辐射后海马神经生成的抑制在使用抗炎药物吲哚美辛后有部分恢

复,而且新生成的神经元可能参与了海马记忆的形成,这些研究高度提示辐射诱导的神经元生成的阻滞与以后的功能障碍之间的关系。

研究发现,凋亡、活性氧反应可能与依赖于 Trp53 的细胞周期调控、应激激活通路有关^[17],其中的氧化应激反应或许可以解释辐射诱导的神经生成抑制造成认知功能障碍的机制。神经生成的抑制伴有与之相关的微血管生成的破坏和小胶质细胞数目、活化状态的增加,提示神经干细胞的分化由这些细胞微环境信号介导,高度提示微环境尤其是介导损伤反应的神经炎症对神经生成的重要作用。

总之,电离辐射后内皮细胞的克隆性细胞死亡启动了最初 BBB 破坏,引起血管源性水肿、缺血和缺氧,缺氧诱发 HIF-1 介导的 VEGF 表达增加,又反过来引起继发性损伤瀑布反应,使血管通透性、缺氧、VEGF 和 ICAM-1 表达及随后的脱髓鞘和组织坏死进一步增加,即细胞死亡和影响细胞命运及细胞相互作用的微环境改变引发了组织损伤。这些发现对于制定神经保护策略具有重要意义。

3 RBI 神经保护策略

3.1 内源性恢复和(或)修复过程的启动

肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)虽能保护神经元,减轻氧应激,介导抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl- α 的表达,但 TNF- α 也能损伤内皮细胞,增加血管通透性。TNF 受体基因剔除小鼠脑对辐射更加敏感,说明 TNF- α 在 RBI 修复中可能具有一定作用。

3.2 抑制凋亡

辐射诱导的凋亡和免疫反应通过减少基因组的不稳定性、去除组织内的预损伤细胞从而发挥保护作用。保护性反应表达对代谢紊乱的适应性反应,也类似于氧化应激反应。

(1) 应用生长因子可减轻内皮细胞凋亡以抵抗辐射损伤: Pena 等^[18]报道,对大鼠在照前或照后静脉注射成纤维细胞生长因子-2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2)均可明显降低脑内凋亡细胞的数量,主要表现在对内皮细胞和神经胶质细胞的保护作用。Gu 等^[18]利用人脐静脉内皮细胞模型经 ⁶⁰Co γ 射线照射后研究认为,碱性 FGF (basic FGF, bFGF)诱导的抗内皮细胞凋亡的通路是不同的,因此还需要进一步探讨其中的发生机制。

(2) ASMase: 抑制 ASMase 活性或许是一种减少辐射诱导的内皮细胞凋亡的高度特异性方法,当前已经合成出了酸性磷脂酶抑制剂,但是否只在正常组织内修饰凋亡而不会损害其攻击并杀伤肿瘤细胞的能力还有待于进一步研究。

(3) 978-1: 朱广迎等^[20]利用中药 978-1(一种放射性学习记忆力损伤的防护剂)通过下调辐射诱导的 p53、C-jun 基因表达,抑制或减少凋亡,保护室管膜下细胞,避免或减轻 RBI 导致的学习记忆损伤。

3.3 减少继发性细胞死亡

CNS 对损伤的反应能力有限,RBI 的病理生理学与缺血、炎症和脱髓鞘疾病具有很多共同的损伤通路。目前,普遍认为微环境的改变最终导致 RBI 的发生,针对阻止或修饰微环境损伤的相关性改变可以减轻继发性细胞死亡。

(1) 促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO): CNS 中的 EPO 由缺氧诱导并由 HIF-1 α 介导,EPO 的细胞效应包括凋亡的抑制、抗炎和抗氧化效应、兴奋性氨基酸如谷氨酸诱导的毒性的预防及血管生成的刺激等。啮齿动物体内注射 EPO 后,可以保护脑的缺血诱导损伤、外伤性脑损伤、实验性自体免疫脑脊髓炎的免疫损伤和红藻氨酸盐诱导的神经毒性,研究表明 EPO 可作为神经保护剂治疗 RBI。

(2) 自由基清除剂: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 是机体中最重要的抗氧化酶,在清除 O₂ 中起关键作用。近年来随着分子修饰和基因技术的提高,SOD 剂型明显改观,生物利用度明显提高,SOD 将会成为 RBI 防治中一个积极有效的措施。

(3) Tirilazad (一种脂过氧化抑制剂)主要作用于内皮细胞,预防病灶周围水肿和辐射导致的血管损伤,其机制可能是抗氧化和膜稳定作用,减少受损细胞对花生四烯酸的释放。自由基清除剂可能主要保护血管和脑实质,而 Tirilazad 对减轻 BBB 破坏更有效^[21]。但有研究发现 Tirilazad 对短程放疗诱导的脑损伤无效,一项系统评价显示,急性缺血性卒中患者使用 Tirilazad 后,死亡率、致残率增加了约 1/4^[22]。因此,需进一步探讨其神经保护作用。

(4) 神经节苷酯是一种细胞膜脂质稳定剂,对放射性脑损伤的保护作用可能是通过激活细胞膜 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性、减少膜内 K⁺外流与 Ca²⁺内

流、防止膜脂质水解、阻断自由基的细胞膜脂质过氧化-自由基循环等途径实现的,在X射线照射后重复使用神经节苷酯在细胞结构和运动两个水平都有神经保护作用^[23]。唐亚梅等^[24]研究发现,神经节苷酯对脑损伤后记忆力的改善有较明显的效果。

3.4 阻断神经炎症

神经炎症对神经生成有较强的抑制作用。对辐射诱导的神经认知缺失的治疗需要考虑到前体细胞丧失和对神经生成机制的破坏,对神经祖细胞群的保护/替换治疗和利用药物改善微环境因素可能是成功治疗RBI的两种方法;在照射中或照射后对小胶质细胞的炎症治疗可能是一种可行的重要方法;注射ICAM-1特异单克隆抗体可减轻白细胞黏附和BBB破坏^[25],因此,以黏附分子作为分子干预治疗的目标可以减轻神经炎症。

有学者观察到大鼠辐射后脑内ICAM-1和HO-1早期诱导的剂量依赖性和时间依赖性,而HO-1可调节与内皮细胞活性有关的促炎基因的表达^[26]。因此,调节ICAM-1和HO-1的表达或许可以作为一种抵抗早期辐射诱导BBB破坏和神经元丧失的保护性策略。

3.5 干细胞移植

用人骨髓间充质干细胞可以增强宿主脑内的血管生成,而且这种有骨髓间充质干细胞增强的血管生成是由大鼠内源性VEGF、VEGFR2水平的增加所介导。大量研究提示,宿主可塑性的增加而不是新生神经元的分化和整合能更好解释功能的恢复,通过干细胞或祖细胞移植进行细胞置换,或通过刺激内源性干细胞或祖细胞的增生或分化进行细胞置换可以用来治疗RBI^[27,28]。

综上所述,有关RBI的这些潜在可逆性因素为使用药物和生物因子干预治疗放射性脑损伤提供了目标。未来的研究旨在对神经组织及肿瘤的辐射敏感性进行预测,采用个体化的治疗方案,并从发病机理着手阻断其发生或有的放矢地治疗。

参 考 文 献

- 1 何子毅,孟庆勇. 电离辐射与细胞凋亡. 国外医学·放射医学核医学分册, 2004, 28(2): 90-93.
- 2 Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Trans*, 2001, 29(pt6): 684-688.
- 3 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. *Cancer Res*, 2000, 60(2): 321-327.
- 4 Gulbins E, Li PL. Physiological and pathophysiological aspects of ceramide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, 290(1): R11-R26.
- 5 Li YQ, Chen P, Jain V, et al. Early radiation-induced endothelial cell loss and blood-spinal cord barrier breakdown in the rat spinal cord. *Radiat Res*, 2004, 161(2): 143-152.
- 6 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.
- 7 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.
- 8 Nordal RA, Nagy A, Pintilie M, et al. Hypoxia and hypoxia inducible factor-1 target genes in central nervous system radiation injury: A role for vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(10): 3342-3353.
- 9 Stys PK. White matter injury mechanisms. *Curr Mol Med*, 2004, 4(2): 113-130.
- 10 Arvold ND, Guha N, Wang D, et al. Hypoxia-induced radioreistance is independent of hypoxia-inducible factor-1A in vitro. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 62(1): 207-212.
- 11 Nordal RA, Wong CS. Intercellular adhesion molecule-1 and blood-spinal cord barrier disruption in central nervous system radiation injury. *J Neuropath Exp Neurol*, 2004, 63(5): 474-483.
- 12 Yuan H, Gaber MW, Mccolgan T, et al. Radiation-induced permeability and leukocyte adhesion in the rat blood-brain barrier: Modulation with anti-ICAM-1 antibodies. *Brain Res*, 2003, 969(1-2): 59-69.
- 13 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.
- 14 Abrous DN, Koehl M, LeMoal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev*, 2005, 85(2): 523-569.
- 15 Rola R, Raber J, Rizk A, et al. Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. *Exp Neurol*, 2004, 188(2): 316-330.
- 16 Mizumatsu S, Monje ML, Morhardt DR, et al. Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X-irradiation. *Cancer Res*, 2003, 63(14): 4021-4027.
- 17 Limoli CL, Giedzinski E, Rola R, et al. Radiation response of neural precursor cells: linking cellular sensitivity to cell cycle checkpoints, apoptosis and oxidative stress. *Radiat Res*, 2004, 161(1): 17-27.
- 18 Gu Q, Wang D, Wang X, et al. Basic fibroblast growth factor inhibits radiation-induced apoptosis of HUVECs. I. The PI3K/AKT pathway and induction of phosphorylation of BAD. *Radiat Res*, 2004, 161(6): 692-702.
- 19 Gu Q, Wang D, Wang X, et al. Basic fibroblast growth factor inhibits radiation-induced apoptosis of HUVECs. II. The RAS/MAPK pathway and phosphorylation of BAD at serine 112. *Radiat*

Res, 2004, 161(6): 703-711.

- 20 朱广迎, 梁克, 蔡伟明. 978-1 对小鼠放射性脑损伤的作用及分子机制. 中华放射肿瘤学杂志, 2001, 10(1): 38-41.
- 21 Danton GH, Dietrich WD. The search for neuroprotective strategies in stroke. Am J Neuroradiol, 2004, 25(2): 181-194.
- 22 Tirilazad International Steering Committee. Tirilazad mesylate in acute ischemic stroke: A systematic review. Stroke, 2000, 31(9): 2257-2265.
- 23 Guelman LR, Zorrilla Zubilete MA, Rios H, et al. GM1 ganglioside treatment protects against long-term neurotoxic effects of neonatal X-irradiation on cerebellar cortex cytoarchitecture and motor function. Brain Res, 2000, 858(2): 303-311.
- 24 唐亚梅, 张殷殷, 王莉梅, 等. 神经节苷酯对鼠脑放射性损伤后空间学习记忆力下降的影响. 中国临床康复, 2005, 9(16): 254-

256.

- 25 Epperly MW, Tyurina YY, Nie S, et al. MnSOD-plasmid liposome gene therapy decreases ionizing irradiation-induced lipid peroxidation of the esophagus. In Vivo, 2005, 19(8): 997-1004.
- 26 Soares MP, Seldon MP, Gregoire IP, et al. Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation. J Immunol, 2004, 172(6): 3553-3563.
- 27 Lu F, Wong CS. A clonogenic survival assay of neural stem cells in rat spinal cord after exposure to ionizing radiation. Radiat Res, 2005, 163(1): 63-71.
- 28 Rezvani M, Birds DA, Hodges H, et al. Modification of radiation myelopathy by the transplantation of neural stem cells in the rat. Radiat Res, 2001, 156(4): 408-412.

(收稿日期: 2006-05-24)

宫颈癌辐射敏感性相关基因的研究进展

李红艳 贺桂芳 陈志华

【摘要】 放射治疗前, 对宫颈癌患者进行辐射敏感性检测以预测放疗效果的研究在肿瘤治疗中有很好的应用前景。根据细胞基因表达水平预测辐射敏感性及基因治疗逆转宫颈癌放射抵抗成为研究热点。影响宫颈癌辐射敏感性的基因主要有细胞增殖、凋亡基因和肿瘤细胞乏氧相关基因等, 而基因芯片法分析多个辐射敏感相关基因, 对于预测宫颈癌的辐射敏感性和治疗可能更有意义。

【关键词】 宫颈肿瘤; 辐射耐受性; 基因

【中图分类号】 R730.55 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)01-0044-04

The development of genes associated with radiosensitivity of cervical cancer

LI Hong-yan¹, HE Gui-fang², CHEN Zhi-hua¹

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

【Abstract】 It has a good application prospect to predict effects of radiotherapy by examining radiosensitivity of patients with cervical cancers before their radiotherapy. Prediction of tumor cell radiosensitivity according to their level of gene expression and gene therapy to reverse radio-resistance prior to radiation on cervical cancers are heated researches on tumor therapy. The expression of some proliferation-related genes, apoptosis-related genes and hypoxia-related genes can increase the radiosensitivity of cervical cancer. Microarray technology may have more direct applications to the study of biological pathway contributing to radiation resistance and may lead to development of alternative treatment modalities.

【Key words】 Cervical neoplasms; Radiation tolerance; Gene

宫颈癌是我国女性最常见的恶性肿瘤之一, 其治疗方案与肿瘤分期密切相关, I 期、II A 期以切

除术为主, 辅助放疗; II B 期以上以放疗为主, 辅助切除术和 (或) 化疗。放射治疗是治疗宫颈癌的主要方法, 但迄今为止疗效仍不满意, 宫颈原位癌及 I B1 期患者 5 年生存率为 90%~100%, 但 I B2 期及 I B2 期以上患者 5 年生存率则急剧下降, 仅为 50% 左右^[1]。如果能在放射治疗前预测肿瘤的辐

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30672046)

作者单位: 1. 100029, 北京中日友好医院临床医学研究所生化分子生物学研究室 (李红艳, 陈志华); 2. 100029, 北京中日友好医院妇产科 (贺桂芳)

通讯作者: 陈志华 (E-mail: chzhhua@sina.com)