

- 24 inhibits invasion and migration of human lung cancer cells. *Mol Ther*, 2004, 9(4): 510-518.
- 13 Su Z, Emdad L, Sauane M, et al. Unique aspects of mda-7/IL-24 antitumor bystander activity: establishing a role for secretion of MDA-7/IL-24 protein by normal cells. *Oncogene*, 2005, 24 (51): 7552-7566.
- 14 Mhashilkar AM, Schrock RD, Hindi M, et al. Melanoma differentiation associated gene-7 (mda-7) : a novel anti-tumor gene for cancer gene therapy. *Mol Med*, 2001, 7(4): 271-282.
- 15 Nishikawa T, Ramesh R, Munshi A, et al. Adenovirus-mediated mda-7 (IL24) gene therapy suppresses angiogenesis and sensitizes NSCLC xenograft tumors to radiation. *Mol Ther*, 2004, 9(6): 818-828.
- 16 Yacoub A, Mitchell C, Lebedeva IV, et al. Mda-7 (IL-24) Inhibits growth and enhances radiosensitivity of glioma cells in vitro via JNK signaling. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(4): 347-353.
- 17 Dent P, Yacoub A, Grant S, et al. MDA-7/IL-24 regulates proliferation, invasion and tumor cell radiosensitivity: a new cancer therapy?. *J Cell Biochem*, 2005, 95(4): 712-719.
- 18 Nishikawa T, Munshi A, Story MD, et al. Adenoviral-mediated mda-7 expression suppresses DNA repair capacity and radiosensitizes non-small-cell lung cancer cells. *Oncogene*, 23(42): 7125-7131.
- 19 Emdad L, Sarkar D, Lebedeva IV, et al. Ionizing radiation enhances adenoviral vector expressing mda-7/IL-24-mediated apoptosis in human ovarian cancer. *J Cell Physiol*, 2006, 208(2): 298-306.
- 20 Su ZZ, Lebedeva IV, Sarkar D, et al. Ionizing radiation enhances therapeutic activity of mda-7/IL-24: overcoming radiation- and mda-7/IL-24-resistance in prostate cancer cells overexpressing the antiapoptotic proteins bcl-xL or bcl-2. *Oncogene*, 2006, 25 (16): 2339-2348.

(收稿日期: 2006-08-07)

## S100A8 与辐射相关性的研究进展

丛悦 陈肖华 祝鑫瑜

**【摘要】** S100A8 钙结合蛋白是高度保守的、低分子质量的酸性蛋白, 具有多种生理学功能。小鼠 S100A8 蛋白对于骨髓细胞是一种很强的化学诱导剂, 参与众多的急性和慢性炎症反应, 并与癌症的发生密切相关, S100A8 基因的失活可导致胚胎死亡。在 MCF-7 细胞、表皮细胞以及骨髓等组织中, 辐射可以诱导 S100A8 基因的表达, 由此确定 S100A8 基因是新的辐射诱导基因。

**【关键词】** 辐射效应; 紫外线; 基因, S100A8

**【中图分类号】** Q691 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)03-0182-03

### Progress on the relativity between gene S100A8 and radiation

CONG Yue, CHEN Xiao-hua, ZHU Xin-yu

(Department of Acute Radiation Sickness, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

**【Abstract】** S100A8 calcium-binding protein is highly conserved, low-molecular-weight acidic protein with important functions. Murine S100A8 is a potent chemoattractant for myeloid cells, and has been associated with a number of acute and chronic inflammatory conditions. Inactivation of the S100A8 gene is embryonic lethal. Evidence has indicated that ionizing radiation can induce expression of S100A8 gene, so we confirm that S100A8 gene is a new radiation-induced gene.

**【Key words】** Radiation effects; Ultraviolet rays; Gene, S100A8

文献报道, 运用抑制消减杂交和 cDNA 阵列杂交等分子生物学技术, 研究 7Gy  $\gamma$  射线照射后 C57BL/6J 小鼠骨髓基因在 mRNA 水平上的差异表达, 筛选到辐射诱导基因中免疫相关基因 S100A8 可能是一个新的辐射相关差异表达基因<sup>[1]</sup>。Staben 运用 cDNA 阵列杂交和实时定量 PCR 技术筛选人乳腺癌细胞 MCF-7 的辐射诱导基因, 也检测到

S100A8 基因的表达。Crimbaldeston 等<sup>[2]</sup>研究证实, 小鼠表皮角质细胞受长波紫外线 (ultraviolet A, UVA) 照射后也有 S100A8 基因表达。

### 1 S100A8 基因的表达调节

S100A8 基因启动子存在一些与转录因子结合的保守结构域。这些转录因子与基本的、组织特异的、发育相关的以及被诱导的基因表达相关, 也与髓系细胞分化和炎症反应基因的表达有关。

#### 1.1 S100A8 基因的表达调节

S100A8 基因在巨噬细胞中可被一些细胞因子

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30400119)

作者单位: 100850 北京, 军事医学科学院放射医学研究所急性放射病损伤治疗研究室

通讯作者: 陈肖华 (E-mail: Chenxh@nic.bmi.ac.cn)

调节表达。在激活的巨噬细胞中 S100A8 基因在 mRNA 水平可被肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、干扰素 (interferon, IFN) 和脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 上调。由 IFN 诱导产生的 S100A8 基因表达迅速增加, 并在 12h 达到高峰, 而 TNF 诱导的反应比较慢, 延续时间较长, LPS 诱导的 mRNA 的表达需要新的蛋白质的合成, 而 IFN 和 TNF 诱导的则不需要, 这提示 S100A8 基因的表达有不同的调节途径。在 bEND.3 细胞中, TNF 可以直接诱导 S100A8 基因的表达而不需要 LPS 的协助, 但 IFN 不能诱导 S100A8 基因的表达<sup>[8]</sup>。同时, 白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4) 和 IL-13 在巨噬细胞和血管内皮细胞中都抑制 S100A8 基因的表达。

### 1.2 S100A8 蛋白与免疫学相关的功能

S100A8 蛋白具有趋化性, 其结构域在蛋白分子结构的铰链区。皮下注射 S100A8 蛋白会引起迟发型超敏反应的现象, 在 8 h 达到高峰; 大量的单核细胞渗透到变态反应区, 并在 16~24 h 达到高峰, 持续超过 48 h。免疫组化证明, 在早期迟发型超敏反应损伤中, S100A8 蛋白对中性粒细胞和巨噬细胞具有很强的趋化性, 大量的巨噬细胞聚集在微血管、毛细血管中, 但大血管中巨噬细胞数量没有变化<sup>[9]</sup>。

表达 S100A8 蛋白的小鼠巨噬细胞与小鼠腹膜巨噬细胞相比, 细胞较大且形成泡沫细胞, 细胞内积累较高水平的胆固醇酯, 巨噬细胞表面的清道夫受体水平增高, 无论是成熟的还是分化的巨噬细胞清道夫受体活性均增高, 这可能是形成泡沫细胞的原因。同时, 表达 S100A8 的小鼠巨噬细胞还表达高水平的 Fc 受体并且具有很强的吞噬性, 提示 S100A8 蛋白可能与动脉粥样硬化斑块的形成有关<sup>[6,9]</sup>。

炎症反应时, 大量的白细胞通过变形渗透到反应部位或聚集到微血管处, S100A8 蛋白通过改变细胞骨架结构, 增加白细胞的变形能力 3~10 倍。在急性炎症反应中, 大量的 S100A8 蛋白在死亡的或者激活的中性粒细胞中表达, 并可分泌到细胞外。另外, 研究发现, S100A8 蛋白对氧化物-次氯酸盐(中性粒细胞被激活后所产生)十分敏感, 这表明组织在受到氧化刺激后引起的损伤中, S100A8 蛋白具有保护作用<sup>[7]</sup>。

### 1.3 S100A8 蛋白与囊性纤维变性(cystic fibrosis, CF)

CF 是一种严重的隐性遗传病, 其特征是全身

的外分泌腺异常, 以肺部和消化道病变为主。研究表明, CF 主要是由于免疫调节紊乱所致。在 CF 患者的肺部和血浆中都有 CF 抗原表达, 即 S100A8 与 S100A9 蛋白复合体。在 CF 细胞中也出现这种蛋白复合体的非正常表达。在肺部, 由于 S100A8 蛋白主要在中性粒细胞表达, 即可提示在 CF 时肺部聚集大量的中性粒细胞, 聚集的中性粒细胞很活跃地分泌新合成的 S100A8 与 S100A9 蛋白复合物<sup>[8]</sup>。S100A8 蛋白的大量表达和中性粒细胞的激活是 CF 患者免疫调节紊乱的主要原因。

### 1.4 S100A8 蛋白与生长发育

S100A8 在小鼠生长发育过程中主要在两个部位表达: 一是限制性地肝脏造血细胞表达, 另一个表达部位是在来源于外胚锥盘的滋养层细胞, 并且 S100A8 蛋白不与 S100A9 蛋白一起表达。尽管在滋养层细胞中 S100A8 基因转录活跃, 但细胞内无蛋白产物积累, 提示 S100A8 蛋白具有很活跃的分泌性, 能分泌到细胞外。有目的地破坏 S100A8 基因的表达可引起发育 9.5 d 的纯合子空胚胎的重吸收, 现在还不能证明 S100A8 蛋白对外胚锥盘滋养层细胞的分化和增殖的作用, 但通过聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测, 发现纯合子空胚胎包含更多的含有母体基因型的细胞, 如果胚胎植入引起的蜕膜反应是一种急性炎症反应, 那么 S100A8 蛋白可能起着免疫调节作用, 并且调节胎儿和母体之间的相互作用<sup>[9]</sup>。

## 2 S100A8 基因与辐射相关性

### 2.1 S100A8 基因在 MCF-7 细胞中的表达

为了评估辐射后早期细胞损伤的程度和吸收剂量, 将人乳腺癌细胞 MCF-7 暴露在 2~6Gy X 射线线下, 用 cDNA 阵列杂交技术筛选 1176 个基因, 结果发现有 6 个基因表达上调, 并且呈辐射剂量依赖关系, 其中 S100A8 是新发现的辐射相关差异表达基因; 实时定量 PCR 结果显示, 6 Gy 照射 48 h 后 S100A8 基因表达上调 3.3 倍, 72 h 后上调 3.6 倍<sup>[10]</sup>。

### 2.2 UVA 诱导表皮细胞 S100A8 基因表达

未照射的 BALB/c 小鼠表皮细胞中无 S100A8 基因的表达, UVA 照射后, 诱导小鼠表皮细胞中 S100A8 基因表达, 并呈剂量依赖关系, 照射后 24 h S100A8 基因的表达达到高峰, 并持续表达 24 h。经过不同剂量照射后, 结果显示表皮细胞增厚(过度

角化)。单次 50kJ/m<sup>2</sup> 或 100kJ/m<sup>2</sup> 照射后引起 S100A8 基因在分化的颗粒层角质细胞中表达, 而间隔 24 h、连续 3 次、100kJ/m<sup>2</sup> 照射后, S100A8 基因在棘层细胞的胞质和胞核中均有表达, 但不分泌到细胞外。UVA 照射后在皮下脂肪组织血管和真皮层可见表达 S100A8 蛋白的中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞的渗出。与 S100A8 基因相比, 在任何照射时间点, UVA(10, 50, 100 kJ/m<sup>2</sup>) 都不能诱导 S100A9 基因的表达<sup>[2]</sup>。

### 2.3 UVA 诱导 PAM212 细胞 S100A8 的表达

少量 PAM212 细胞的胞质中有 S100A8 基因的表达。在 UVA 照射后, 表达 S100A8 蛋白的 PAM212 细胞数目(而不是每个阳性细胞的总数)显著提高 2~3 倍。S100A8 蛋白主要分布在 PAM212 细胞胞质中, 但在细胞核上也具有较高表达。经过 1, 10, 50, 100 kJ/m<sup>2</sup> 不同的剂量单次照射后 24 h, 只有 10 kJ/m<sup>2</sup> 照射后, PAM212 细胞中 S100A8 基因表达增加, 24 h 后恢复到正常水平。50 kJ/m<sup>2</sup> 或 100 kJ/m<sup>2</sup> UVA 照射后细胞大量死亡, 50 kJ/m<sup>2</sup> 照射 24 h 后, 50% 的细胞存活, 而 100 kJ/m<sup>2</sup> 照射后, 只有不到 20% 的细胞存活<sup>[2]</sup>。

### 2.4 辐射诱导 S100A8 基因表达的机制

在 UVA 照射过程中, 产生大量的氧自由基, 包括超氧阴离子、激活氢氧基和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等。氧自由基化学性质活泼, 可以和多种生物分子发生反应。实验表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在体内外均可诱导 S100A8 基因的表达。BALB/c 小鼠皮肤用氮氧化物 tempol 作用后, 与未作用的正常皮肤相比, S100A8 基因的表达没有变化; 照射前 45 min 给予氮氧化物 tempol, 经 UVA 照射后在角质细胞中发现 S100A8 基因的表达; 在照射前给予 BALB/c 小鼠氮氧化物 tempol, 并且在 UVA 照射后立即再次给药, 减少了角质细胞中 S100A8 基因的表达, 并且此效应呈药物剂量依赖关系。给予高剂量的氮氧化物 tempol 可降低表皮细胞的角化程度, 并且在角质细胞中抑制 S100A8 基因的表达, 使其达到正常未作用药物的小鼠皮肤水平。为进一步研究抗氧化酶是否能调节 UVA 诱导的 S100A8 基因的表达, 将 PAM12 细胞同过氧化物歧化酶或过氧化氢酶共同孵育, 结果显示, 在过氧化物歧化酶或过氧化氢酶的存在下, UVA (10 kJ/m<sup>2</sup>) 照射 PAM12 细胞, S100A8 基因表达下降到未照射的细胞水平; 而在照射后给予过氧

化物歧化酶或者过氧化氢酶, 则 S100A8 基因的表达没有变化<sup>[2]</sup>。其可能的机制是过氧化物歧化酶或过氧化氢酶通过清除由细胞膜产生的氧自由基抑制 UVA 诱导 S100A8 基因的表达。UVA 照射后膜自由基生成增多, 生成自由基激活钙依赖的蛋白激酶 C, 进而诱导 S100A8 基因的表达。这些都说明通过 UVA 照射后产生的氧自由基诱导了 S100A8 基因的表达。

综上所述, 辐射及其 DNA 损伤因子引起生物效应的分子机制的研究取得了很大的进展, 就分子水平而言, 辐射能诱导细胞基因表达的改变, 已证实辐射诱导基因生物学功能多样, 调节机制复杂, 有多条信号途径参与, 表达改变的基因或在信号传递中起作用, 或是下游的靶基因。S100A8 基因作为一个新的辐射诱导基因, 可为急性放射病的诊断、治疗提供依据, 为新型辐射生物剂量计的研究奠定基础。

### 参 考 文 献

- 1 饶亚岚, 陈肖华, 张军权. SSH 方法分析大剂量照射后小鼠骨髓差异表达 EST 序列. 中华放射医学与防护杂志, 2003, 23(3): 163-166.
- 2 Grimaldeston MA, Geczy CL, Tedla N, et al. S100A8 induction in keratinocytes by ultraviolet A irradiation is dependent on reactive oxygen intermediates. *J Invest Dermatol*, 2003, 121(5): 1168-1174.
- 3 Xu K, Yen T, Geczy CL. IL-10 up-regulates macrophage expression of the S100 protein S100A8. *J Immunol*, 2001, 166(10): 6358-6366.
- 4 Devery JM, King NJ, Geczy CL. Acute inflammatory activity of the S100 protein CP-10. Activation of neutrophils in vivo and in vitro. *J Immunol*, 1994, 152(4): 1888-1897.
- 5 Lau W, Devery JM, Geczy CL. A chemotactic S100 peptide enhances scavenger receptor and Mac-1 expression and cholesteryl ester accumulation in murine peritoneal macrophages in vivo. *J Clin Invest*, 1995, 95(5): 1957-1965.
- 6 McCormick MM, Rahimi F, Bobryshev YV, et al. S100A8 and S100A9 in human arterial wall. *Biol Chem*, 2005, 280(50): 41521-41529.
- 7 Ghavami S, Kerkhoff C, Los M, et al. Mechanism of apoptosis induced by S100A8/A9 in colon cancer cell lines: the role of ROS and the effect of metal ions. *J Leukocyte Biol*, 2004, 76(1): 169-175.
- 8 Tirkos S, Newbigging S, Nguyen V, et al. Expression of S100A8 correlates with inflammatory lung disease in congenic mice deficient of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Respir Res*, 2006, 7(1): 51.
- 9 Zhang J, Zhi HY, Luo AP, et al. Expression patterns of esophageal cancer deregulated genes in C57BL/6J mouse embryogenesis. *World Gastroenterol*, 2004, 10(8): 1088-1092.
- 10 Stassen T, Port M, Nuyken J, et al. Radiation-induced gene expression in MCF-7 cells. *Int J Radiat Biol*, 2003, 79(5): 319-331.

(收稿日期: 2007-03-16)