

中枢神经系统电离辐射效应的细胞和分子机制研究进展

张玮 王利利 涂彧

【摘要】随着放射治疗的广泛应用,临床上的放射性损伤也逐渐受到重视。电离辐射对中枢神经系统细胞、分子的作用是一个复杂、渐进的过程,目前其确切机制尚不完全清楚。探讨电离辐射作用下神经元、神经胶质细胞、血管内皮细胞及血脑屏障的损伤和修复,以及分子水平改变的可能机制和神经保护策略的研究进展,以期为临床上防治放射性神经损伤提供有益的思路。

【关键词】中枢神经系统;放射生物学;神经保护

Advanced in study of cellular and molecular mechanisms of radiation effects on central nervous system

ZHANG Wei¹, WANG Li-li², TU Yu¹

(1. Department of Medical Radioprotection, School of Radiation Medicine and Public Health, Soochow University, Jiangsu Suzhou 215123, China; 2. Department of Radiation Oncology, The First Affiliated to Soochow University, Jiangsu Suzhou 215006, China)

【Abstract】 Along with radiation treatment extensively applied, radiation injury also is valued gradually. The effect of radiation to the cellular and molecular of central nervous system (CNS) is a complicated and moderately advanced process and the mechanism is remains incompletely clear yet. Inquiring into the possible mechanism of the CNS including the injury and the restoration of neuron, neuroglia cells, endotheliocyte cell and blood-brain barrier and the molecular level of change induced by radiation, so as to provide beneficial thought for preventing and curing radiation injury clinically. Some neuroprotective strategies are also addressed in the review.

【Key words】 Central nervous system; Radiobiology; Neuro protection

随着放疗技术的进展,放疗患者的生存时间得到延长,但关于中枢神经系统(central nervous system, CNS)放射损伤的报道也不断增多,这不仅限制了头颈部肿瘤的治疗效果,也严重影响了放疗后患者的生存率和生活质量。深入了解细胞分子水平上电离辐射引起CNS损伤的机制,总结近年来在此方面所作的努力和探索,可以为放射性损伤的预防和治疗提供有益的启示。

1 放射性脑损伤的细胞生物学机制

1.1 神经元损伤和再生抑制

脑组织受到临床剂量的照射后,约有5%的患

者在1~3年会出现如记忆减退或丧失、智能下降、精神错乱等晚期毒性反应,实验表明这些症状与海马齿状回神经元损伤及再生受抑制有关^[1]。神经元损伤并非辐射的急性结果,但一些即早基因c-Jun基因、c-fos基因及环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等在照射后即刻就有表达,对后继细胞辐射损伤可能有启动意义。

新生神经元参与海马突触可塑性形成,照射可抑制神经元再生、海马长时程增强受抑制、认知功能降低。发育期神经元具有较高的辐射敏感性,1~30 Gy均可引起大鼠海马齿状回进入分裂期的神经前体细胞或者未成熟神经细胞凋亡^[1,2],其神经细胞减少数量及海马功能下降程度均与辐射剂量呈正相关^[3]。Kanzawa等^[4]的实验表明,辐射可能通过线粒体途径上调bax/bcl-2基因的比例及释放细

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670638)

作者单位:1. 215123, 苏州大学放射医学与公共卫生学院放射卫生教研室(张玮,涂彧);2. 215006, 苏州大学附属第一医院肿瘤放疗科(王利利)

通讯作者:涂彧(E-mail: tuyu163@163.com)

胞色素 C 入胞质, 诱导神经干细胞凋亡。辐射还可明显减少神经前体细胞分化为神经元的比例, 且其增殖活性的下降是导致神经细胞再生下降的主要原因^[3]。实验证明, 辐射是通过抑制神经干细胞中 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 的激活, 阻滞神经发生。另外, 活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 参与的应激反应^[5]、小胶质细胞参与的神经炎性反应^[6]、神经干细胞与微血管结构的解剖关系的改变^[7] 等微环境信号也是神经元再生的负向调节因素。

1.2 神经胶质细胞反应

少突神经胶质细胞 (oligodendroglioma, OL) 为神经元提供髓磷脂鞘, 其放射性损伤是晚期发生脱髓鞘改变和白质萎缩的重要原因, 也与照射后发生的认知功能障碍有关^[8]。OL 在 CNS 损伤后有一过性增殖反应, 同时表达髓磷脂碱性蛋白 (myelin basic protein, MBP) 的能力降低并与组织学改变相关联。有丝分裂后 OL 发生凋亡, 其数目呈时间和剂量依赖性减少^[9]。辐射后 OL 中的 TNF- α 和白细胞介素 1 β 表达增加, 介导细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达, 直接或间接损伤神经细胞^[10]。少突胶质 II 型星形胶质祖细胞 (oligodendrocyte-type-2 astrocyte progenitor cell, O-2A) 是 OL 和 II 型星形胶质细胞的前体细胞, 可在不同的细胞因子影响下分化成不同的细胞类型。O-2A 参与神经元信号转导, 是 CNS 修复的重要来源, 也是急性辐射损伤的主要靶细胞^[11]。10~30 Gy 照射可引起胶质前体细胞的大量减少, 24 h 内可检测到 caspase-3 被大量激活^[12] 且细胞增殖能力降低^[3], 大于 20 Gy 剂量照射下存活的胶质前体细胞在 6 周内发生大量增殖和修复反应, 细胞密度可恢复至接近正常组织, 且随剂量增加修复时间延长^[12], 但其受照后增多和分化的意义及与晚期脱髓鞘的关系尚需进一步研究。

星形胶质细胞 (astrocytes, AST) 是 CNS 内主要的胶质细胞, 可通过多种机制促进神经元损伤修复。AST 是辐射所致损伤中最早反应的细胞之一, 表现为靶区及靶区周围组织的 AST 以胞体和突起的增生、肥大, 神经胶质纤维酸性蛋白表达增加为特点的反应性胶质化, 且增生程度与照射剂量呈正相关。神经元分泌细胞因子、神经转移因子调控 AST 的增生, 增生的胶质瘢痕能够填补损伤所致的

缺损, 但增生过多又可以阻碍神经元的存活和轴突再生, 有的甚至可以是致死性的^[13], AST 增殖能力的改变可能是 AST 和神经元之间平衡调节的结果。AST 受到辐射刺激活化并具有瀑布式级联效应, 对神经组织发挥“双刃”效应: 一方面如前述机制发挥神经保护作用; 另一方面, 激活的 AST 和小胶质细胞产生分泌白细胞介素 1、TNF- α 、ICAM-1 等直接或间接地参与损害细胞或血脑屏障^[10]。如何在损伤早期实施干预, 使 AST 既能发挥抗损伤、促进修复的有利作用, 又避免其过度表达、阻碍神经元再生, 可以作为今后研究的方向之一。

1.3 内皮细胞及血脑屏障损伤

内皮细胞凋亡、基因表达突变和微环境改变对于损伤的启动和进展发挥非常重要的作用, 对辐射引起的血脑屏障的损伤同样是重要的参与因素^[14]。内皮细胞和微血管壁是最易受射线损伤的部位。

放疗后早期 (1 个月内) 的改变主要是细胞内水肿、毛细血管通透性增加、血管周围水肿、微循环障碍, 这是急性放射性脑损伤发生的基础。放疗后后期, 内皮细胞代偿性增生重建、毛细血管密度降低及纤维化, 影响脑局部血流及能量供应, 加速脑组织的液化坏死^[15]。Li 等^[16] 发现, 辐射所致内皮细胞的密度减少与血脊髓屏障的受损有相关关系。与其他的炎性反应相似, 照射后早期血管内细胞间的黏附明显增加, 引起血脑屏障通透性增加, 引发早期放射性炎性反应。血脑屏障破坏是放射性脑损伤的主要特征^[14]。选择素家族、ICAM-1 及核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等被认为参与炎性反应过程。其中, ICAM-1 是最主要的黏附分子, 辐射可引起 ICAM-1 的表达增加, 它可能在介导白细胞黏附、细胞结构重新排列及紧密联结的信号转导等方面促进血脑屏障的损伤。与 OL 不同, 内皮细胞的凋亡与 p53 无关, 而是由神经酰胺介导。电离辐射也使 AST 内血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) mRNA 的表达增加, 且主要在血管结构发生改变的区域, Brown 等^[17] 提出, 分次照射后毛细血管密度是降低的, 且可能对辐射引起的认知障碍起重要作用, 这类似血管性痴呆的模型。在放射性脑脊髓病小鼠模型中发现, 在缺氧和血脊髓屏障损伤的区域有缺氧诱导因子及 VEGF 的空间表达; VEGF 表达减少的转基因小鼠的放射性脊髓病的发生延迟^[18]。VEGF 的这一

作用为临床治疗提供了一个潜在的作用途径。

2 放射性脑损伤的分子机制

2.1 凋亡

电离辐射引起的细胞死亡包括两种机制:高剂量引起有丝分裂前,凋亡特征是快速激活 caspase-3;另一种是有丝分裂后的延迟死亡^[19]。尽管这两者有所交叉,但与一般的信号传递原理不同^[20]。

辐射诱发的凋亡主要是 caspase 的活化激发的复合线粒体损伤途径^[20]。其中,野生型 p53 基因介导 Bcl-2 相关蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)活化而诱发线粒体损伤是一个经典范例。Bax 的活化促进线粒体通透性转换孔开放,这种转换孔的开放可形成正反馈扩大过程,导致线粒体结构和功能紊乱,促进凋亡相关分子中细胞色素 C 和凋亡诱导因子的释放,通过级联传递最终活化 caspase-3,致使细胞发生凋亡。大剂量照射后,抑制凋亡的 bcl-2 基因转录和翻译水平也降低, Bax/Bcl-2 比例上调^[4]。p53 基因还激发氧化应激, Ca^{2+} 通道开放,细胞内 Ca^{2+} 水平的增加或分布的混乱引起凋亡或死亡^[21]。p53 基因是 DNA 链损伤后最早、最关键的反应分子,凋亡、活性氧反应可能与依赖于 p53 的细胞周期调控、应激激活通路有关^[22]。同时,细胞中也存在有非 p53 基因依赖性的诱导凋亡的情况。另外,电离辐射还可以激活细胞膜 CD95 编码基因标记物、TNF 相关凋亡诱导配体受体、fas 等死亡受体,活化 TNF- α 等相关死亡之结构域及效应域,启动细胞膜的凋亡受体信号通路。其中, caspase-8 是该通路的引发因子,也是死亡受体途径信号传递的主要介导者,可激活下游的 caspase-3 等效应子引起凋亡。另外发现,细胞色素 C 和凋亡蛋白酶激活因子 1 的结合可激活 caspase-9,然后活化 caspase-3 而启动细胞凋亡过程。受照后 caspase-8 高度活化,而加入 caspases 抑制剂可以抑制凋亡表型的出现^[23]。电离辐射可激发膜上鞘磷脂水解产生神经酰胺,神经酰胺能激活蛋白酶和转录因子 NF- κ B 导致细胞凋亡。另外,神经酰胺可以降低线粒体膜的稳定性,增加膜的通透性,从而对细胞凋亡的基因调控发挥重要作用。

上述影响细胞凋亡的相关机制相互联系、相互作用,共同调节细胞的增殖、分化及凋亡。根据细胞凋亡可调控的特点,可以期望通过诱导或抑制辐

射导致细胞损伤和凋亡的因素,来控制辐射损伤的发生、发展。

2.2 基因表达

目前,主要有两种机制参与了辐射损伤目标基因的调控。一种是 NF- κ B 途径,另一种是激活蛋白 1 途径。NF- κ B 是众多细胞因子基因的主要调控者,电离辐射即刻可使胶质细胞表达 NF- κ B 升高。电离辐射可激活应激活化蛋白酶信号通路,继而 NF- κ B 活化,启动或抑制 TNF、ICAM 等相关基因的转录。启动子激活蛋白 1 转移因子复合物包括 c-Jun 蛋白和 Fos 蛋白,电离辐射可激活促分裂原激活的蛋白激酶的激酶 1,进而激活其下游的信号调控激酶 1,引起一系列的级联反应。

电离辐射还可通过产生的细胞因子 VEGF、ROS 等间接诱导 TNF 和 ICAM 基因表达的上调,参与放射性脑损伤的病理过程;另外,ROS 还可以通过脂质过氧化造成膜损伤,可直接作用于 DNA 分子起始凋亡。

3 探索及展望

放射性脑损伤是细胞死亡、微环境改变和细胞间相互作用共同参与的结果,我们可以从促进细胞更新、减轻细胞损伤和加强自身修复能力等方面入手,探究防治策略。

近年来,干细胞移植被认为是治疗放射性脑损伤较有前景的手段。Rezvani 等^[24]通过移植间充质干细胞,明显降低了大鼠放射性脊髓炎的发生率。NSC 的增殖和分化受体内微环境的影响,包括炎症反应及微循环在内的等许多复杂因素参与调控,牛磺酸、吡哆美辛、人工合成细胞外基质蛋白等可以减少照射后 NSC 的凋亡并促进神经元的再生。相对于外源性干细胞,由于内源性干细胞或祖细胞所在的微环境相对稳定,因此通过刺激其增生或分化进行细胞置换似乎也是一个潜在的治疗方向^[13]。近期发现,大鼠颅脑单次照射 20 Gy 以上始有幸存的胶质前体细胞大量增殖,细胞密度接近正常组织^[12],但 20 Gy 接近大鼠脑坏死的半数有效剂量,可以尝试分次照射的探索以更贴近临床应用。干细胞移植前景广阔,但其移植入脑组织后分化方向以及新生神经元的功能尚待更深入的研究。

研究表明,窄束 X 射线照射后可能伴有对周围组织有益的“旁观者效应”来进行组织修复,通

过释放生长因子及启动细胞信号转导,快速清除受损细胞,邻近存活细胞重新构建;而在对脊髓的实验中,发现有新生血管的增殖和迁移,神经胶质祖细胞分化为成熟、有功能的胶质细胞^[25]。因此,“旁观者效应”可能也是抗辐射损伤的潜在机制。

研究发现,许多药物可通过不同作用途径减轻电离辐射引起的神经组织损伤。例如,ICAM-1 特异单克隆抗体可减轻白细胞黏附和血脑屏障破坏,碱性纤维母细胞生长因子可抑制鞘磷脂酶活性,辅酶 Q10 可对抗氧化应激,SP600125 可以通过抑制 JNK 活性减少 NSC 的凋亡、促进其分化等^[4]。尽管将这些药物最终应用于临床尚需进一步验证,但这些探索还是为我们提供了广阔的思路。

参 考 文 献

- [1] Mizumatsu S, Monje ML, Morhardt DR, et al. Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X-irradiation[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(14): 4021–4027.
- [2] Wojtowicz JM. Irradiation as an experimental tool in studies of adult neurogenesis[J]. *Hippocampus*, 2006, 16(3): 261–266.
- [3] Monje ML, Mizumatsu S, Fike JR, et al. Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction[J]. *Nat Med*, 2002, 8(9): 955–962.
- [4] Kanzawa T, Iwado E, Aoki H, et al. Ionizing radiation induces apoptosis and inhibits neuronal differentiation in rat neural stem cells via the c-Jun NH2-terminal kinase(JNK) pathway[J]. *Oncogene*, 2006, 25(26): 3638–3648.
- [5] Rola R, Zou Y, Huang TT, et al. Lack of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in the microenvironment impacts radiation-induced changes in neurogenesis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(8): 1133–1145.
- [6] Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis[J]. *Science*, 2003, 302 (5651): 1760–1765.
- [7] Otsuka S, Coderre JA, Micca PL, et al. Depletion of neural precursor cells after local brain irradiation is due to radiation dose to the parenchyma, not the vasculature[J]. *Radiat Res*, 2006, 165 (5): 582–591.
- [8] Wong CS, Van der Kogel AJ. Mechanisms of radiation injury to the central nervous system: implications for neuroprotection[J]. *Mol Interv*, 2004, 4(5): 273–284.
- [9] Atkinson S, Li YQ, Wong CS. Changes in oligodendrocytes and myelin gene expression after radiation in the rodent spinal cord[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 57(4): 1093–1100.
- [10] Kim SH, Lim DJ, Chung YG, et al. Expression of TNF- α and TGF- β 1 in the rat brain after a single high-dose irradiation[J]. *J Korean Med Sci*, 2002, 17(2): 242–248.
- [11] Li G, Crang AJ, Rundle JL, et al. Oligodendrocyte progenitor cells in the adult rat CNS express myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)[J]. *Brain Pathol*, 2002, 12(4): 463–471.
- [12] Chari DM, Gilson JM, Franklin RJ, et al. Oligodendrocyte progenitor cell (OPC) transplantation is unlikely to offer a means of preventing X-irradiation induced damage in the CNS[J]. *Exp Neurol*, 2006, 198(1): 145–153.
- [13] Messing A, Brenner M. GFAP: functional implications gleaned from studies of genetically engineered mice[J]. *Glia*, 2003, 43(1): 87–90.
- [14] Nordal RA, Wong CS. Molecular targets in radiation-induced blood-brain barrier disruption[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 62(1): 279–287.
- [15] Kimura T, Sako K, Tohyama Y, et al. Diagnosis and treatment of progressive space-occupying radiation necrosis following stereotactic radiosurgery for brain metastasis: value of proton magnetic resonance spectroscopy[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2003, 145(7): 557–564.
- [16] Li YQ, Chen P, Haimovitz-Friedman A, et al. Endothelial apoptosis initiates acute blood-brain barrier disruption after ionizing radiation[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(18): 5950–5956.
- [17] Brown WR, Blair RM, Moody DM, et al. Capillary loss precedes the cognitive impairment induced by fractionated whole-brain irradiation: a potential rat model of vascular dementia[J]. *J Neurol Sci*, 2007, 257(1–2): 67–71.
- [18] 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[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(10): 3342–3353.
- [19] Shinomiya N. New concepts in radiation-induced apoptosis: ‘premitotic apoptosis’ and ‘postmitotic apoptosis’[J]. *J Cell Mol Med*, 2001, 5 (3): 240–253.
- [20] Belka C, Rudner J, Wesselborg S, et al. Differential role of caspase-8 and BID activation during radiation and CD95-induced apoptosis[J]. *Oncogene*, 2000, 19(9): 1181–1190.
- [21] Orenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(7): 552–565.
- [22] 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[J]. *Radiat Res*, 2004, 161(1): 17–27.
- [23] Hajnóczky G, Csordás G, Das S, et al. Mitochondrial calcium signalling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondrial Ca^{2+} uptake in apoptosis[J]. *Cell Calcium*, 2006, 40 (5-6): 553–560.
- [24] Rezvani M, Ray S. Experimental studies on amelioration of side effects of radiotherapy by stem cell therapy[J]. *Radiother Oncol*, 2006, 78(1): S45.
- [25] Dilmann FA, Qu Y, Feinendegen LE, et al. Tissue-sparing effect of x-ray microplanar beams particularly in the CNS: is a bystander effect involved?[J]. *Exp Hematol*, 2007, 35(4 Suppl 1): 69–77.