

## · 综述 ·

## 辐射致组织损伤凋亡机制的研究概况

杨 宏,倪 敏,赵心彬,陶 霞(第二军医大学附属长征医院药学部,上海 200003)

[摘要] 辐射能够导致组织损伤,其机制通常与细胞凋亡、坏死、炎症等相关。其中细胞凋亡是辐射损伤的主要特征之一,但是凋亡发生的具体机制仍不清楚。研究表明,有多条通路涉及其中,代表性的通路有:聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)、p53、自由基、神经酰胺、p38 通路等。本文围绕上述蛋白质分子,综述了凋亡途径在辐射致组织损伤的作用。

[关键词] 电离辐射;损伤机制;细胞凋亡;脱氧核糖核酸损伤;神经酰胺

[中图分类号] Q255, Q691 [文献标志码] A [文章编号] 1006-0111(2014)02-0096-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.02.005

## Role of apoptosis in radiation-induced tissue damage

YANG Hong, NI Min, ZHAO Xinbin, TAO Xia (Department of Pharmacy, Changzheng Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[Abstract] Ionizing radiation is able to induce tissue damage, which is related to cell apoptosis, necrosis and inflammation, etc. The signaling pathway underlying radiation-induced apoptosis remains unclear. However, it's well-accepted that several targets were activated in this process, such as poly (ADP-ribose) polymerase, p53, p38, ceramide, free radicals, etc. Based on these targets, the role of apoptosis in radiation-induced tissue damage was elaborated in this review briefly.

[Key words] ionizing radiation; damage mechanism; cell apoptosis; DNA damage; ceramide

## 1 背景

辐射是指具有能量的粒子或波通过媒介在空间传导的过程,按照辐射与常见化学物质的相互作用,辐射通常分为电离辐射与非电离辐射。人们常说的辐射是指电离辐射,它能将电子从外壳剥离,使原子整体带正电<sup>[1]</sup>。整体而言,能量大于 10 eV (electric volta, 电子伏特)的光子与粒子具有上述电离能力(如  $\alpha$  射线、 $\beta$  射线、宇宙射线、 $\gamma$  射线与 X 射线)。电离辐射对生物体的损伤主要体现在对细胞的损伤上,胞内 DNA 尤其易受损伤,这也是辐射致癌的原因。研究辐射时最常用的单位为:吸收剂量 (absorbed dose),其物理意义是单位质量物质接收电离辐射的平均能量(国际基本单位:戈瑞, Gy)。

电离辐射可诱导细胞凋亡。凋亡 (apoptosis) 也称为固缩坏死或程序性细胞死亡 (programmed cell death),是由基因介导的一系列生化反应,细胞依靠它来主动引起自身的破坏。凋亡的细胞通常会核固缩、质膜发泡、细胞器紧缩,形成凋亡小体,进而被邻

近实质性细胞或吞噬细胞吞噬<sup>[2]</sup>。辐射诱导的凋亡大致可分为 3 个阶段:① 引发性刺激:对于辐射诱导的凋亡而言,最初刺激元件是通过作用于细胞表面受体,进而作用于 DNA 分子或其他非核靶点。② 滞后阶段的调节:在辐射和细胞凋亡之间存在一个滞后阶段。③ 死亡反应:细胞开始发生一系列特征性生物形态学的改变以及生物化学变化。

## 2 辐射致凋亡的机制

辐射致组织损伤的凋亡机制常被认为与 DNA 损伤与神经酰胺有关(图 1)。辐射因其电离能力可使生物体产生自由基,从而造成 DNA 损伤。DNA 损伤可激活 p53 致凋亡通路,也可激活聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)抑制凋亡;同时也能激活神经酰胺合酶 (ceramide synthase),产生神经酰胺。辐射还能作用于膜上,产生膜变构(membrane alteration),进而激活酸性鞘磷脂酶 (acid sphingomyelinase),分解鞘磷脂产生神经酰胺(鞘磷脂通路, sphingomyeline pathway)。神经酰胺作为第二信使激活 p38 等促凋亡通路。

## 2.1 DNA 损伤

2.1.1 自由基 电离辐射照射生物体,可诱发 DNA 链断裂,染色体异常、变异和细胞凋亡。已有足够证据表明:细胞核及其核内 DNA,是辐射致损

[作者简介] 杨 宏,女,硕士研究生。Tel: (021)81871276, E-mail: yangh@tju.edu.cn.

[通讯作者] 陶 霞。Tel: (021)81886182, E-mail: taoxia2003@126.com.

伤的主要靶点。普遍认为 DNA 双链断裂 (DSBs) 是电离辐射所造成的最严重 DNA 损伤类型<sup>[3]</sup>。Slade 等<sup>[4]</sup>的研究表明,名为 *Deinococcus radiodurans* 的菌能耐受高剂量的辐射,同时可耐受高浓度的活性氧 (reactive oxygen species, ROS)。在该菌的基因组受到高达 2 000 UDSB 的情况下,仍不造成致命的蛋白损伤,从而间接证明了活性氧自由基与辐射损伤的关系。其他研究<sup>[5-8]</sup>通过皮肤纤维化的产生、细胞外基质分子(如胶原蛋白)证明了 ROS 在辐射损伤方面的重要性。

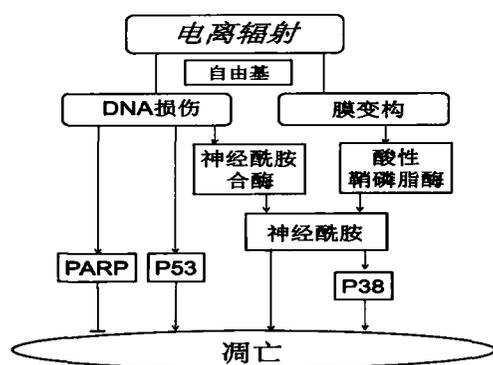


图1 辐射致组织损伤的凋亡机制示意图

**2.1.2 PARP 聚 ADP 核糖聚合酶** [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 是一类主要与 DNA 修复与凋亡相关细胞应激反应有关的蛋白。PARP 包含 4 个重要的结构域: DNA 结合域, 半胱氨酸蛋白酶 (caspase) 切割域, 自修饰域和催化域。PARP 被激活的机制为: 发生 DNA 的单链断裂时, 断裂的 DNA 链与 PARP 上的 DNA 结合域结合, 引发 PARP 上各结构域发生构象变化, 开始合成聚 ADP 核糖链, PAR 链可作为其他 DNA 修复酶的信使, 修复完成时 PAR 链降解。DNA 结合域包含 2 个锌指结构模块 (zinc finger motifs)。其在辐射方面的应用主要在于, PARP 抑制剂作为化疗联用药以增加癌细胞选择性, 并改善预后。Mueller 等<sup>[9]</sup>在辐照治疗的同时给予 PARP 抑制剂 MK-4827, 有效地抑制了成神经细胞瘤的生长。其他最新研究<sup>[10,11]</sup>也阐述了 PARP 抑制剂在辐射方面的重要作用。

**2.1.3 P53 蛋白** 被称为 protein 53 或者肿瘤蛋白 (tumor protein) 53, 是由 p53 基因编码的抑癌蛋白。P53 蛋白对多种器官都可调控细胞周期, 从而起到抑癌作用。p53 基因因其阻止基因突变, 保存稳定性, 被称为“基因的守护者”。向已失去内源性 p53 功能的细胞中注入野生型 P53 蛋白, 能诱导细胞发生凋亡<sup>[12]</sup>。p53 通路是辐射致凋亡通路中最为人

们所接受的机制<sup>[13]</sup>。Burger 等<sup>[14]</sup>考察了生殖细胞肿瘤细胞 (testicular germ cell tumors, TGCTs) 的辐射凋亡过程中 p53 的表达, 证明了 p53 在辐射凋亡中起到的重要作用。Wakatsuki 等<sup>[15]</sup>利用 p53 的肿瘤抑制基因家族的 P73 蛋白与 P53 蛋白的类似性, 发现了它可以替代 P53 蛋白缺失后的功能恢复, 从侧面证明了 P53 蛋白在辐射致凋亡过程中的重要性。

## 2.2 神经酰胺

**2.2.1 神经酰胺** 神经酰胺是普遍存在的、进化保留的信号转导系统第二信使, 主要以下列 3 种方式参与辐射致凋亡的调控: ①辐射直接作用于数种细胞的质膜, 激活酸性鞘磷脂酶, 通过酶水解鞘磷脂产生神经酰胺。神经酰胺作为第二信使通过线粒体系统启动凋亡反应。②辐射诱导的 DNA 损伤通过激活线粒体神经酰胺合酶启动神经酰胺合成或再生。③一些细胞、组织中, 神经酰胺可激活下游凋亡蛋白 BAX, 通过线粒体细胞色素, 调节凋亡过程。Deng 等<sup>[16]</sup>利用线虫菌株证明了神经酰胺在辐射致凋亡机制中的重要作用。Adria 等<sup>[17]</sup>利用牛主动脉内皮细胞 (bovine aortic endothelial cells) 证明了鞘磷脂代谢途径通过 TNF- $\alpha$  对凋亡的重要作用。Rotolo 等<sup>[18]</sup>的研究表明神经酰胺的抗体能够减轻小鼠辐射所致的胃肠道损伤。Kolesnick 等<sup>[19]</sup>的研究也证明神经酰胺在辐射致凋亡机制中起到重要作用。

**2.2.2 P38 蛋白** P38 蛋白是丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK), 因其与细胞应激因子有关, 故被称为应激 MAPK。Niaudet 等<sup>[20]</sup>利用微血管内皮细胞 HMEC1 证明了 P38 蛋白在膜变构的神经酰胺凋亡通路中起重要作用。P38 蛋白起作用的方式与其他分子靶点不同, 并非独立影响最终的细胞行为, 需要借助神经酰胺代谢通路<sup>[21]</sup>。Blirando K 等<sup>[22]</sup>在肥大细胞上检测到了辐射诱导的 P38 蛋白相关激酶的表达, 进一步证明了 P38 蛋白在辐射致损伤凋亡机制中的重要作用。

## 3 总结

综上所述, 辐射可产生自由基, 造成 DNA 损伤, 从而激活 p53 基因致凋亡通路, 也可激活 PARP 抑制凋亡; 同时辐射也能激活神经酰胺合酶, 产生神经酰胺。另外辐射也能够作用于膜上, 产生膜变构, 进而激活酸性鞘磷脂酶, 分解鞘磷脂产生神经酰胺 (鞘磷脂通路)。神经酰胺作为第二信使激活 p38 基因等促凋亡通路。对辐射致组织损伤凋亡机制的探讨不仅有助于加深对辐射的了解, 还对抗辐射方面药物的研发产生深远的意义。

(下转第 149 页)

理用药。

抗菌药物处方问题主要集中在用药频度不足和诊断中无感染指征。我院一方面将普遍问题公示,明确谁有错、错在哪里;另一方面制作了一张“抗菌药物使用频度表”在内网公布,让医生知道正确的用药频度范围。临床药师在处方评价之初尽可能和医生多沟通,使他们认知自己抗菌药物处方重点问题所在。通过了解发现,存在不少客观原因,例如:电子处方仅有两个诊断可以输入;诊断拼音输入遇到条数过多时,容易选择出错;门诊患者太多,医生易忙中出乱;医生临时开具患者要求的备用抗菌药等。但更多是主观因素引起的,如长期以来对抗菌药物使用随意性大;抗菌药物临床应用知识不足;为能尽快完成工作,诊断上偷工减料;由于工作量大而产生疏漏等等。在努力改善客观条件的基础上,让医生正确认识自身原因,从自己做起。

经过沟通,感觉认识到以前医院对抗菌药物应用管理缺失严重,药师审核工作欠缺。为防止出现从前不抓,如今抓得太紧,使医生产生焦虑、抵触情绪,我们采取“和谐”策略:正面教育,侧面敲击,即将合理使用抗菌药物的目的、目标、原则、方法等通过继教、网教、考试等形式让医生、药师学习,也把每月发现的问题、问题的根结、出现问题的对象公之于

众——没有人会让自己成为每月榜中的后进,从而促进了处方合格率增长。

通过网络公示发现问题与讨论问题,抗菌药物应用本身在某些方面存在争议,有些争议到目前为止尚未统一,点评药师多站在药效角度评述,临床医生更多站在治疗实际效果角度应用。把存在的矛盾通过内网提出,共同探讨,达到最大程度的共识。经过对抗菌药物处方诊断指征不明问题的整改,从数字看10个月来有所改善。

抗菌药物的合理使用除了医生的观念、专业水准外,需要药师以药物为中心的药学思维转变成以患者疗效为中心的临床思维<sup>[2]</sup>,更需要医院领导重视,建立明确使用原则和管理制度,加强人员培训,严格奖惩制度等<sup>[3]</sup>。

### 【参考文献】

- [1] 卫生部. 全国抗菌药物临床应用专项整治活动方案[Z]. [2011]56号.
- [2] 李煜东,居靖. 临床药师药学服务实践与体会[J]. 安徽医药, 2011, 15(11):1448-1449.
- [3] 周盛. 浅谈关于如何加强抗菌药物合理使用及管理的办法和措施[J]. 中国医药指南, 2012, 10(10):396-397.  
[收稿日期] 2012-11-19 [修回日期] 2013-05-29  
[本文编辑] 顾文华

(上接第97页)

### 【参考文献】

- [1] 周平坤,霍艳英,吴德昌. 辐射致癌效应与机制[J]. 辐射防护通讯, 2007, 27(1):7.
- [2] 董新,孙志贤. 辐射所致程序性细胞死亡的机制[J]. 国外医学·分子生物学分册, 1995, 17(3):131.
- [3] Tomita M. Involvement of DNA-PK and ATM in radiation-and heat-induced DNA damage recognition and apoptotic cell death[J]. J Radiat Res, 2010, 51: 493.
- [4] Slade D, Radman M. Oxidative stress resistance in Deinococcus radiodurans[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2011, 75(1):133.
- [5] Nguyen TD, Maquart FX, Monboisse JC. Ionizing radiations and collagen metabolism: from oxygen free radicals to radio-induced late fibrosis[J]. Radiat Phys Chem, 2005, 72: 381.
- [6] Orlowski R Z, Baldwin AS. NF-kappaB as a therapeutic target in cancer[J]. Trends Mol Med, 2002:385.
- [7] Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked[J]. Free Radical Biol Med, 2010, 49: 1603.
- [8] Moeller BJ, Cao YT, Li CY. Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules[J]. Cancer Cell, 2004, 5: 429.

- [9] Mueller S, Bhargava S, Molinaro AM. Poly (ADP-Ribose) polymerase inhibitor MK-4827 together with radiation as a novel therapy for metastatic neuroblastoma[J]. Anticancer Res, 2013, 33(3): 755.
- [10] Liu XS. PARP inhibition as a prototype for synthetic lethal screens[J]. Mol Biol, 2013, 986: 123..
- [11] Shunkwiler L, Ferris G, Kunos C. Inhibition of poly(ADP-Ribose) polymerase enhances radiochemosensitivity in cancers proficient in DNA double-strand break repair[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(2): 3773.
- [12] Lowe SW. Renewing the debate over the p53 apoptotic response[J]. Nature, 1993:352.
- [13] Han JQ, Xu XJ, Qin HZ. The molecular mechanism and potential role of heat shock-induced P53 protein accumulation[J]. Mol Cellul Biochem, 2013, 3: 1.
- [14] Burger H, Nooter K, Boersma AW. Expression of p53, p21/waf/cip, bcl-2, bax, bcl-x, and bak in radiation-induced apoptosis in testicular germ cell tumor lines[J]. Int J Radiat Oncol, 1998, 41(2): 415.
- [15] Wakatsuki M, Ohno T, Iwakawa M. P73 protein expression correlates with radiation-induced apoptosis in the lack of p53 response to radiation therapy for cervical cancer[J]. Int J Radiat Oncol, 2008, 70(4):1189.

(下转第159页)

究生入课题组后的主要工作就是完成导师的科研课题,而课题研究往往以基础研究和发表SCI论文为导向。随着科学研究的复杂性增加,基础研究与应用研究的取向差异增大,这使得新知识向应用研究领域的渗透以及应用研究向基础研究的反馈非常困难。而药学学科的实践性很强,主要面向药物技术转化、生产、流通、使用、监管等职业领域。大部分基础科研课题虽然锻炼了研究生的创新思维和意识,但是对实践的指导作用还远远不够。

## 2 军事院校药学研究生培养的思考

在多元化的社会背景下,如何培养研究生是没有固定答案的。为了适应新时期医药行业对药学研究生新的要求,笔者认为研究生培养必须以研究生和导师的共同发展为中心,充分利用军事院校特有的文化背景和管理优势以及我校优质教学与科研资源,开展丰富的学习和实践活动,提升人才培养质量,培育核心竞争力。

**2.1 发挥我校文化优势,加强研究生的核心价值观教育** 随着社会转型不断深入,多元化的价值取向成为现代社会的常态,也是社会进步、思想解放的标志,但是它的负面影响也是不容忽视的,表现在利益取向多元化,集体主义受到冲击;行为取向自由化,纪律观念受到冲击;道德取向实用化,优良传统受到冲击<sup>[3]</sup>。因此在政治素质和职业道德培养方面,应发挥军事院校的文化优势,开展校(院)史教育、人文知识讲座、党课讲座、文艺表演、体育竞赛等校园文化,将“忠诚于党、热爱人民、报效国家、献身使命、崇尚荣誉”的军人核心价值观教育融入到研究生的学习、工作和生活中,营造自然和谐、健康积极的校园文化环境。

**2.2 发挥我校管理优势,促进研究生培养目标的同步** 培养高质量的研究生,不仅需要教育管理者、导

师和研究生共同努力,更重要的是需要三者研究生培养目标取向方面保持同步,做到“有教无类,因材施教”。充分发挥军事院校政策引导能力、服务能力、执行能力强的特点,在导师管理方面应促进评价体系向多元化的转变,传承和发扬蔡元培先生“兼容并包,开放多元”的大学精神,形成宽松自由的学术环境。在研究生管理方面应强化服务和引导功能,经常性地组织校园招聘和就业指导讲座,加强就业指导帮助,减轻就业压力;加强调查与研究,优化毕业考核指标,充分发挥研究生的主观能动性;加强对外联系,提供实习实践的岗位和课题,拓宽研究生视野,同时促进高校的社会服务功能。

### 2.3 发挥我校资源优势,促进学生实践能力的提高

实践能力是学以致用能力,是学业走向就业的重要基础和保障。我们应依托全校优质的教学科研资源,配合药学专业学位硕士研究生的改革,全方位建设实习实践基地:依托“军队院校基础教学实验室标准化建设试点单位”化学实验教学中心,规范实验基本操作;依托军队特需药品中试基地,通过将化合物的合成、提取、鉴定、分析、药效学研究和药动学研究等实验单元结合起来,开设药学专业多学科综合性实验。依托我校附属医院药学部,了解医院正规化建设的要求和现状,直接参与临床实践,加强临床实践能力的培养和训练。

### 【参考文献】

- [1] 唐廷科,张福珍. 药学研究生就业问题及对策[J]. 药学教育, 2011, 27(3): 17-19.
- [2] 包水梅,魏玉梅. 我国研究生培养目标多元化之探索[J]. 高等理科教育, 2006(5): 46-49.
- [3] 严雨. 价值取向多元化对军校学员核心价值观的挑战和对策[J]. 党史文苑, 2009(8): 66-67.

【收稿日期】 2013-01-05 【修回日期】 2013-05-26

【本文编辑】 陈静

(上接第149页)

- [16] Deng XZ, Yin XL, Allan R. Ceramide biogenesis is required for radiation-induced apoptosis in the germ line of *C. elegans* [J]. Science, 2008, 322(5898): 110.
- [17] Adriana HF, Chu CK, Ehleiter D. Ionizing radiation acts on cellular membranes to generate ceramide and initiate apoptosis [J]. J Exp Med, 1994, 180: 525.
- [18] Rotolo J, Stancevic B, Zhang JJ. Anti-ceramide antibody prevents the radiation gastrointestinal syndrome in mice [J]. J Clin Invest, 2012. Brief report: 1.
- [19] Kolesnick R, Fuks Z. Radiation and ceramide-induced apoptosis [J]. Oncogene, 2003, 22: 5897.
- [20] Niaudet C, Bonnaud S, Gouard S. Radiation induces p38-me-

diated endothelial cell death through ceramide generation and membrane remodeling [J]. Radioprotection, 2008, 43: 140.

- [21] Chakravarti A, Noll E, Black PM. The anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody, c225, enhances radiation-induced apoptosis in primary glioma cell lines through mediation of MAPK/JNK/p38 signaling pathways [J]. Int J Radiat Oncol, 2001, 51(3): 102.
- [22] Bliranto K, Hneino M, Martelly I. Mast cells and ionizing radiation induce a synergistic expression of inflammatory genes in endothelial cells by a mechanism involving p38 $\alpha$  MAP kinase and (p65) NF- $\kappa$ B activation [J]. Radiat Res, 2012, 178(6): 556.

【收稿日期】 2013-03-11 【修回日期】 2013-06-14

【本文编辑】 陈静 李睿旻