

医学参考报

放射医学与防护频道

Radiological Medicine and Protection

Number 03

执行主编介绍



龚守良 教授 博士生导师

1969年毕业于白求恩医科大学，1982和1988年在该校分别获硕士和博士学位。1991~1992和1997年分别赴英国和美国做访问学者。曾任或现任吉林大学卫生部放射生物学重点实验室主任、放射生物学教研室主任、吉林省核学会理事长和名誉理事长、中华预防医学会放射卫生专委会常委、国家自然科学基金委生命科学部及中华医学科技奖评审专家，曾任或现任10余家杂志和报刊常委、编委或编审专家。主要从事电离辐射生物效应及肿瘤基因放射治疗等领域的研究，已发表论文300余篇；主编、副主编和参编专著和教材20余部。负责和参加国家及省部级等科研课题研究20余项。获省部级奖10余项，并享受国务院政府特殊津贴。

导读

- 放射生物学领域的最新进展 2版
- 电离辐射免疫效应的研究现状 3版
- 电离辐射诱导的DNA损伤反应 4版
- 肿瘤基因放射治疗的提出及其发展态势 5版
- 肿瘤干细胞：肿瘤放疗耐受的根源 6版
- 吉林省核辐射安全与医学应急处置基地建设项目 7版
- 卫生部放射生物学重点实验室简介 8版

放射生物学学科的发展及前瞻

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 龚守良

1 放射生物学及其发展

放射生物学 (radiation biology, radiobiology) 是研究电离辐射对生命系统作用规律的科学，所涉及的电离辐射是一种特殊的重要物理因素，以其不同的辐射种类、剂量和剂量率及作用方式等，作用于整个机体、器官、组织、细胞和分子水平，并产生生物学效应，导致其不同程度的变化。放射生物学这门科学阐明其这些变化的规律、相互影响及其机制，以及内外环境相互作用的结果，从中得出一套完整的放射生物学基本原理和理论基础。

放射生物学的产生和发展伴随着整个人类的进化史，尤其是X射线发现以来的发展史。人类生存在宇宙中，生活在地球上，一直受到来自空间和地下的天然放射性作用，自然地引发放射生物学现象。在X射线发现后，特别是20世纪40年代后，人类受到人工电离辐射的机会越来越多，因此，对机体产生的生物效应引起了人们的极大关注，并进行了系统、全方位的研究，逐渐确立了放射生物学这门学科。

由于核物理学、细胞生物学和分子生物学等学科的进展，推动了放射生物学的发展。放射生物学是放射医学 (radiation medicine) 一门重要的基础学科，而放射医学又是医学的一个分支。因此，放射生物学的发展，又为放射医学、放射治疗学和核医学等科学奠定了坚实的基础。21世纪是生命科学的世纪。随着人类基因组计划的完成，基因组学、后基因组学和表观遗传学的兴起使生命科学的发展实现了大飞跃，从研究思维和研究手段深刻影响了整个生物科学领域的发展，放射生物学也不例外。

2 放射生物学面临的问题

尽管对放射生物学的研究，经过了一个世纪的努力，获得了大量的资料，提出了许多理论和假说，奠定了坚实的放射生物学基础，但是还有更多的问题迫切需要揭示、阐明和解决。目前，放射生物学存在的缺陷：缺乏创新的研究理论和统一系统的实验方法和模型；不同层次研究之间缺乏时空联系和相互作用、调节的影响，局部研究与整体效应脱节；无法定量描述一些维系内、外稳态以及反映内、外刺激网络系统的许多环节。因此，对电离辐射生物效应的探索，任重道远，应从分子水平上设计，细胞水平上验证，整体水平上实施，以便揭示其规律，阐明其本质。诸如，在辐射诱导的DNA损伤和基因组不稳定性与癌症发生之间，高剂量与低剂量辐射诱导的生物学效应差异之间，低剂量辐射诱导的近期与远期效应 (包括遗传效应) 之间，低剂量辐射效应与辐射防护相关的“风险因子”概念之间等方面，还存在许多问题需要进一步的研究解决。研究和阐明这些问题，不仅需要考虑影响辐射效应的物理和化学因素，以及生物系统的复杂性、生物反应的多变性、生物效应发生的时效性和生物调节反馈的多样性，而且要对放射生物学效应的理论、模型和实验等方面进行系统创新和设计，从多维的角度 (时间和空间、纵向和横向) 系统地研究放射生物学效应发生的过程、发展的规律和影响因素。只有这样，才能科学地解释放射生物学理论，为有效运用核科学和核技术，增进人类健康，保护人群免受电离辐射的危

害，制订相应的辐射防护标准，提供科学的依据。

3 系统放射生物学

近些年，提出的系统放射生物学 (systems radiation biology)，是通过放射物理学、放射化学、生物物理学、放射生物学、放射治疗学、计算机学和流行病学统计学的合作，运用系统科学的理论、理想的生物和数学模型，以及标准的实验方法，对放射生物学效应进行定性分析和定量描述。运用系统放射生物学理论和方法研究获得的实验结果，反过来验证一些复杂的放射生物学理论，科学准确地阐明辐射流行病学调查的结果，同时能重建和检验各种放射生物学实验和数学模型。对此学科的确立，必须给予足够的重视和深入的探讨。

新近报道，应用生物物理模拟密码 PARTRAC，通过系统放射生物学进行不同基因组DNA模型的径迹结构计算，能够预测各种辐射性质DNA损伤产量和模式，并扩展到后期终点指标的应用，如细胞突变和杀伤、DSB修复等。电离辐射诱导DNA损伤，引起细胞信号转变，直接影响细胞的命运，其中包括癌的发生。系统放射生物学可能有助于证实辐射致癌的生物反应。根据系统放射生物学，发展了低剂量J型剂量反应曲线。在生物学和毒理学的细胞和分子水平，其剂量反应模型通过一套非线性、微分方程描述电离辐射的信号通路及细胞周期检查点、凋亡和肿瘤发生的生物化学机制，即细胞通过较长的细胞阻滞时间以刺激保护系统，产生的J型剂量反应曲线可能为非线性阈值 (LNT) 模型。

4 放射生物学前瞻

为了建立系统、科学的放射生物学理论，必须采用基因、蛋白、代谢、转录和信号组学等现代生物学技术，从分子、细胞、组织、器官和整体水平，进一步深入探讨大剂量电离辐射急性伤害作用 (核爆炸或放射性事故) 及其应对响应机制，低剂量电离辐射对机体的作用机制及其慢性作用引起损伤的限量，射线和核技术的医学应用对相关人员产生可能的影响，环境低水平辐射长期作用对人群的最终后果，这些都是人们十分关切和亟待解决的问题。另外，从更深一层角度，应用电离辐射微剂量学、生物物理学和分子生物学等方法研究电离辐射粒子及其次级电子在生物组织能量沉积的径迹结构，复杂的DNA集簇损伤的发生及其修复机制，以便深入阐明各种电离辐射生物效应及其发生机制。对于电离辐射靶效应和非靶效应，尤其是后者，包括基因组不稳定性、旁效应和适应性反应，应当给予全方位的探讨，即进一步阐明其每种效应机制、相互间关系和影响，以便揭示低剂量辐射生物效应的本质，并对低剂量辐射致癌危险的评估、辐射防护的最优化和放射肿瘤临床等方面起到重要的指导作用。同时，应加强对辐射遗传效应和辐射致癌效应的研究工作，其研究意义重大，但前者至今仍存在不确定性，后者有许多尚待解决的问题；因两者机制复杂，涉及相关因素多，研究过程又困难重重，需要相互配合、相互协调，采用高科技和生物信息手段，制订更为合理的评价标准，综合各方面优势，以取得突破性进展。

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日



放射生物学领域的最新进展

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 龚守良

1 低剂量辐射非线性反应

电离辐射旁效应属于非靶效应,低剂量辐射非线性反应是其特征之一。通过这种剂量效应关系研究发现,0.03~0.5 Gy 低剂量区域只存在一个较大的旁效应(细胞克隆形成率)份额,效应的幅度相对恒定,是一个饱和值;当剂量大于0.5 Gy 后的效应是剂量依赖性的非旁效应细胞死亡和非依赖剂量的旁效应死亡的复合。照射性质(如高或低传能线密度,LET)和照射剂量可能影响电离辐射诱导旁效应及其程度。资料显示,对于电离辐射旁细胞的子代细胞的氧化应激反应传递是LET依赖的,高LET辐射诱导的效应是剂量依赖的。因此,高LET辐射所致旁效应比低LET辐射强烈;另外,一个细胞群中只有部分细胞产生旁效应,其比例大小与细胞种类及照射水平有关。此外,旁效应可能具有细胞类型和增殖活性依赖性。

2 辐射诱导旁效应

低剂量辐射诱导旁效应,除了环境低剂量辐射外,医用辐射和宇宙射线同样可诱导旁效应的产生。这种非靶效应可增强辐射损伤,低剂量辐射的致癌危险性可能高于线性无阈模型的预测。因此,电离辐射旁效应的存在使辐射防护变得更加复杂。

长期太空旅行受到宇宙辐射,尤其在低剂量照射和低流量的粒子照射,增加致癌的危险性是一个限制因素。对于宇宙辐射诱发癌症的危

险评价,累积的实验证据表明,一定的类型照射(α 粒子、高电荷和高能量粒子)细胞群中,未受照的旁细胞可能显示有害的效应,包括氧化应激旁效应和遗传改变(如DNA和染色体损伤)等重要的生物学反应,并在传代的子代细胞显示其效应(接受高电荷和高能量粒子照射,即1 GeV/核子铁离子或600 MeV/核子硅离子照射)。另外实验证实,小鼠胚胎C3H 10T $\frac{1}{2}$ 成纤维细胞接受致密的电离铁离子(1 GeV/核子)或稀疏的电离质子(1 GeV)照射后,在其旁细胞的子代细胞与受到铁离子照射的正常细胞共培养,肿瘤转化频率增加,可能是细胞间缝隙连接通讯(GJIC)介导的。提示,高LET宇宙辐射可诱导氧化应激旁效应的致癌性,并在其子代的细胞中2~3倍持久地显示。

电离辐射诱发的旁效应在体外单细胞系统通过系列癌相关终点指标得到证实,更复杂的三维组织系统也可以引发细胞损伤,这可能是由照射细胞释放到细胞外环境中可溶的因子和/或通过GJIC的介导分子调控的。到目前为止,在体内引起辐射旁效应或远位反应的证据还有限,但新的资料提示,在易感性小鼠模型中可明显发生肿瘤。因此,进一步了解信号是如何传递到未照射细胞和组织以及如何引起大范围有效的反应,以评价辐射旁效应细胞贡献与辐射有关的癌症危险的不确定性,是非常重要的。

3 辐射适应旁效应

在细胞产生辐射旁效应的抵抗性反应前给予低剂量照射诱导适应性反应,Iyer和Lehnert称为辐射适应旁效应(radioadaptive bystander effect)。小鼠胚胎成纤维细胞及人HF12和HF19成纤维细胞接受10 mGy~5 Gy X射线照射,通过培养基转移技术观察到,电离辐射能够明显诱导小鼠胚胎成纤维细胞DNA蛋白激酶(DNA-PK)依赖的非同源末端连接(NHEJ)通路的DNA双链断裂修复的适应性反应,而人HF12和HF19成纤维细胞不能发生这种现象。提示,辐射适应性反应发生具有特殊的细胞类型,作为发生旁效应的适应性反应也同样具有特殊的细胞类型,这种差异的机制有其分子基础。

4 休眠肿瘤干细胞对化疗和放疗产生耐受性

干细胞最主要的特征是自更新,具有分裂的不对称性和可塑性,能够被诱导分化,肿瘤干细胞也具有类似干细胞的功能。肿瘤细胞群具有异质性,并具有层级结构,肿瘤干细胞在其中。干细胞在正常情况下处于G₀期,呈休眠状态,不对称分裂使一个干细胞进入分裂和分化,另一个干细胞成为G₀期的自我储备细胞,肿瘤干细胞也具有这种特性。

新近,研究者发现的休眠细胞,与那些推动原发肿瘤发生活跃的细胞拥有完全相同的基因突变。一个细胞的DNA发生基因突变,导致其以失控

方式进行复制,可引发癌症。癌症在化疗后复发,是因为随后发生的基因突变,可对那些对付原发肿瘤的药物产生抗性。具有相同基因的休眠细胞的发现,表明其非遗传性因素所致,而是休眠细胞在肿瘤内所处微环境引发的后果。研究者认为,一定存在一组不同的(基因)突变,一个不同的突变谱,这样才能解释为什么这些复发细胞会对化疗和放疗产生耐受性。如果某些干细胞处于休眠状态,即隐藏其进行快速复制的能力,就会逃避药物的治疗。现在,重要的是需要了解驱动休眠细胞的生物学特性,并寻找有效的方法来杀死这些“潜伏”细胞,或通过外部因素进行控制。因此,对这些非遗传特性的理解或会导致全新一代抗癌药物的出现。

5 电离辐射诱导细胞衰老

10 Gy X射线照射人乳腺癌MCF-7细胞后,用其活细胞周期影像连续检测5天,显示其细胞由G₂期转换到G₁期,而无有丝分裂,称为有丝分裂遗漏(mitotic skipping)。90%多遗漏有丝分裂细胞持续阻滞在G₁期,并显示阳性的 β -半乳糖苷酶衰老生化标志,说明诱导衰老样生长阻滞伴有有丝分裂遗漏;而较高剂量X射线照射诱导有丝分裂遗漏的G₂期细胞约为80%。转导短发夹RNA(shRNA)的p53,明显地抑制有丝分裂遗漏,提示电离辐射诱导的有丝分裂遗漏与p53功能有关。另外的研究证实,电离辐射作用胶质瘤细胞,伴有高水平的AKT活化和细胞内活性氧(ROS),有

缺陷PTEN的U87细胞发生衰老;而未缺陷PTEN的LN18细胞出现凋亡。因此,电离辐射诱发细胞过早地衰老,在缺陷的肿瘤抑制基因PTEN通过AKT/ROS/p53/p21信号途径,可能对细胞凋亡有一个补偿作用。

在应用电离辐射诱导的过早衰老和复制的衰老WI-38成纤维细胞中,鉴定8种SA-miRNA,其中4种上调,另外4种下调(miR-155、-20a、-25和-15a)为细胞衰老的特征性miRNA表达标志。敲除miR-155或miR-20a会明显地增强辐射诱导的细胞衰老,而异位过表达可明显抑制衰老的发生。研究进一步证实,miR-155通过激活下游p53和p38促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路和部分经调节肿瘤蛋白53-诱导核蛋白1(TP53INP1)表达,可调整辐射诱导的细胞衰老,即SA-miRNA涉及辐射诱导细胞衰老的调节。

6 miRNA发展为生物剂量计

近来,研究者给小鼠血清1~12 Gy照射,24和48 h后观察600多种miRNA表达水平的变化。结果发现,几种进化保守的miRNA反应明显,其中miRNA-150(淋巴细胞内含量丰富)显示剂量和时间依赖性下降,推测其作为淋巴细胞减少和骨髓损伤的敏感生物剂量计。并且,有几种miRNA可作为辐射事故和放疗病人的辐射反应标志。另外几篇文献,通过不同类型辐射或血浆中,证实一些miRNA可发展为生物剂量计。

医学参考报		放射医学与防护频道							
理事长兼总编辑: 巴德年 副理事长兼副总编辑: 曹雪涛 理事会秘书长: 周赞	社长: 魏海明 副社长: 吕春雷 副社长: 周赞	名誉主编: 吴祖泽 主编: 马力文 副主编: 姜恩海 常务编委: 陈英 郭亦超 江其生 金顺子 刘芬菊 吕慧敏 李君利 刘强 李蓉 刘英 陆毅 刘玉龙 吕玉民 冉新泽 尚兵 问清华 万玲 朱国英 张淑兰 编委: 崔凤梅 陈红红 陈肖华 崔勇 高林峰 何玲 鞠永健 刘福东 梁莉 刘丽宏 凌光华 马庆录 任福利 吴锦海 邬家龙 乌丽娅 王墨培 王善强 肖德涛 谢萍 邢志伟 姚波 余长林 杨文峰	杨业鹏 尹在哲 赵超英 张继勉 张玉松 张照辉 专家委员会主任委员: 尉可道 专家委员会副主任委员: 贾廷珍 委员: 白光 龚守良 龚诒芬 李开宝 施仲齐 童建 王桂林 王洪复 王继先 王文学 周湘艳 编辑部主任: 张照辉 编辑部副主任: 郭亦超 陆毅 编辑: 王墨培 肖宇 曹宝山 岳瑶 学术发展部主任: 梁莉 学术发展部副主任: 刘丽宏 刘强						
社址: 北京宣武区红莲南路30号4层B0403 邮编: 100055 总机: 010-63265066									

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日



电离辐射免疫效应的研究现状

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 金顺子

免疫学是医学与生命科学中的一门基础性、带动性和支柱性前沿学科,很多严重危害人类健康的重大疾病发病机制研究和防治措施与免疫学关系密切。辐射免疫效应的研究随着这些基础免疫学研究的进展而不断深入,而且一直受到放射医学界的重视。在UNSCEAR 2006年报告书中将“电离辐射对免疫系统的影响”列入重点专题之一,在2010年的报告书中重点阐述了“低剂量辐射的健康效应”。在近20余年的相关国际会议上也曾从不同角度讨论了有关辐射免疫学的研究内容,这些都说明辐射免疫效应是一个受到放射医学与防护学界重视的研究领域。

在辐射免疫学效应中,各种参数的剂量-效应关系是放射生物学研究的核心问题之一。有关高剂量辐射免疫效应的研究,对于理解急性放射综合征的临床经过、发病机理和治疗原则具有重要意义;有关低剂量辐射免疫效应的研究,对于评价环境天然辐射和职业照射对健康的影响提供了重要的科学依据;有关局部照射免疫效应的研究,是理解临床肿瘤放射治疗限制因素的重要基础。不同剂量电离辐射影响机体免疫功能的剂量-效应关系及其分子机制涉及到以下几个方面。

1 不同剂量电离辐射对T淋巴细胞激活的影响

T细胞在分化成熟的不同阶段可表达不同的分化抗原,这是区分淋巴细胞的重要标志。研究T细胞表面CD抗原有助于对其亚群的鉴定,如CD4是辅助性T细胞(Th)的标志物,CD8是CTL的重要标志物,CD25是CD4⁺细胞中调节性T细胞(Treg)的标志物。根据在免疫应答中所起的作用不同,T细胞可以分为3类:杀伤性T细胞、辅助性T细胞及调节性T细胞。杀伤性T细胞是通过与特异性的靶细胞接触,使靶细胞启动自杀程序而发挥其功能;

Th细胞主要通过分泌细胞因子,如IL-2和IFN- γ 等而发挥其免疫功能;Treg则是一种具有免疫抑制功能的新的T细胞亚群。

(1)不同剂量辐射对免疫细胞向I型和II型Th细胞分化的影响:幼稚CD4⁺Th细胞通过接触3种信号(TCR信号、共刺激信号及细胞因子),活化并分化成熟为有功能的效应性Th细胞。IFN- γ 和IL-2能促进其分化为Th1亚群,在清除细胞内病原体中发挥重要作用;IL-6和IL-10能促进其分化为Th2亚群,对清除细胞外病原体、辅助B细胞产生抗体以及机体产生过敏反应中起到关键的作用。研究结果表明,低剂量辐射全身照射后小鼠免疫细胞IFN- γ 和IL-2水平均升高,而高剂量辐射却使其下降;IL-6和IL-10水平变化则反之。提示,低剂量全身照射有利于Th细胞向Th1细胞分化,而高剂量辐射有利于向Th2细胞分化。

(2)不同剂量辐射对免疫细胞中Treg细胞分化的影响:TGF- β 与Treg细胞的分化和功能有着密不可分的关系,能够在TCR介导信号传递的同时在体外诱导产生CD4⁺T细胞分化为CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg细胞。CD4⁺CD25⁺Treg细胞活化后,可分泌大量IL-10和TGF- β ,这些细胞因子能够抑制Th1细胞介导的免疫反应和炎症反应、Th2细胞介导的抗体产生以及CD8⁺CTL的生物活性。Treg细胞亚群里又包括很多亚型,如Th3和Tr1细胞属于Foxp3-Treg细胞,在不表达Foxp3的情况下,仍然具有免疫调节作用。目前,对Treg的各种亚型之间的关系说法不一,很多观点倾向于认为CD4⁺CD25⁺Treg细胞与Tr1细胞是两种不同的细胞亚型;而Th3细胞和Tr1细胞有可能是同一类细胞,只是由于激活状态、激活位点和组织定位的不同而分泌不同的细胞因子。

2 不同剂量电离辐射诱导小鼠抗原递呈细胞功能的影响

抗原递呈细胞(APC)

包括巨噬细胞和树突状细胞(dendritic cells, DC)等,对电离辐射的敏感性较低。其表面分子的表达和细胞因子的分泌对电离辐射的反应与淋巴细胞不同,表现为在中等致死剂量范围内呈现刺激现象,在全身照射和体外照射条件下均是如此。研究发现,不同剂量电离辐射全身照射后小鼠腹腔巨噬细胞表面分子CD14、TLR4、CD80/86和胞浆内接头蛋白MyD88的表达,转录因子NF- κ B的核转位以及IL-1 β 、IL-12、IL-18和TNF- α 的分泌均明显上调。在体外观察小鼠髓源DC与T细胞共培养体系中的DC相关表面分子和细胞因子的变化,结果显示低剂量辐射作用后DC表面的CD80和CD40表达量均增加,其分泌的细胞因子IL-12分泌量也增加;而高剂量辐射使DC表面的共刺激分子CD80和CD40表达量下调。说明电离辐射影响免疫功能的过程中,APC功能的变化起到重要作用,但激活T细胞在高剂量和低剂量辐射诱导不同免疫功能过程中起关键作用。

3 不同剂量电离辐射诱导机体不同免疫功能的分子机制

(1)不同剂量辐射对免疫细胞间反应的影响:免疫系统内的细胞间反应主要取决于表面分子的表达和细胞因子的分泌。在免疫应答中,T细胞的TCR/CD3与APC的MHC/抗原肽的相互作用提供免疫激活的第一信号,同时需要T淋巴细胞的CD28/CTLA-4与APC的CD80/86(B7.1/B7.2)的共刺激提供第二信号,方能实现T细胞向效应细胞的转化和克隆扩增,实现Th和CTL的特异功能和记忆。要特别强调的是,CTLA-4是CD28的反向调节分子,二者同时表达于T细胞表面。

研究报道,T细胞TCR/CD3的表达受高剂量辐射抑制,低剂量辐射刺激。APC的CD80/86分子的表达在高剂量和低剂量照射后均增高,

而T细胞CD28的表达在低剂量照射后升高,高剂量照射后降低,CTLA-4的表达则与之相反,因此低剂量辐射增强免疫反应和高剂量辐射抑制免疫反应主要取决于T细胞表面分子表达对不同剂量的反向反应。

(2)不同剂量辐射诱导不同免疫功能的信号转导通路机制:细胞信号转导是细胞通过胞膜或胞内受体感受信息分子的刺激,经胞内信号转导系统转换,从而影响细胞生物学功能的过程。其主要途径有:腺苷酸环化酶(AC-cAMP-PKA)途径、受体酪氨酸蛋白激酶(RTPK)途径、非受体酪氨酸激酶途径、受体鸟苷酸环化酶(GC-cGMP-PKG)途径及核受体信号转导途径。不同剂量辐射对细胞不同信号转导途径有不同的影响。研究发现,0.075 Gy全身照射后,胸腺细胞[Ca²⁺]_i浓度增高,胸腺细胞钙调蛋白表达增高,脾脏T细胞和B细胞PKC蛋白激酶活性增高,胸腺细胞PKC α 、PKC β 1和PKC β 2蛋白激酶活性增高;而负向调控因子胸腺细胞PLA2活性、PKA活性、PGE2含量及cAMP/cGMP比率均降低。采用抗氧化剂NAC和PKC信号通路阻断剂(calphostin C)可降低0.075 Gy照射对NF- κ B的活化效应,证实低剂量电离辐射增强NF- κ B的DNA结合活性可能是通过PKC信号通路。

另外,细胞凋亡信号通路也受不同剂量辐射影响。即促进凋亡的蛋白分子(p53、Bax、Bad、FasL和Gadd45等)的表达在低剂量(0.075 Gy)照射后降低,高剂量(2 Gy)照射后升高,而抑制凋亡的蛋白分子(Bcl-2、Bcl-XL和Bcl-2/Bax、Bcl-XL/Bad比值)在低剂量(0.075 Gy)照射后升高,较高剂量(2 Gy)照射后下降。

总之,不同剂量的电离辐射作用于机体可产生不同的免疫学效应,高剂量及中等剂量的电离辐射对机体产生有害的影响已众所周知,而低剂量的电离辐射效应与之



金顺子 教授 博士生导师

医学博士,教授,博士生导师。现任吉林大学公共卫生学院放射生物学教研室主任。从事辐射免疫学和辐射肿瘤学研究,负责国家级、省部级课题10余项,发表学术论文60余篇,主编和副主编3部著作。现兼任中华医学会放射医学与防护学会分会委员、中国环境诱变剂学会致癌专业委员会委员和吉林省医学会放射医学与防护学专业委员会副主任委员;《中华放射医学与防护学杂志》和《国际放射医学核医学杂志》编委等。

相反,其影响涉及免疫系统的不同层次,包括整体调节、器官变化、细胞功能、分子表达、信号传递和基因调控等。研究证实淋巴细胞辐射反应的剂量-效应关系一般可得出J型或倒J型曲线,低剂量辐射使这些指标上调或下调,上调导致免疫激活;而高剂量辐射反之亦然。

进入新世纪以来,国际学术界对低剂量、低剂量率和低LET辐射生物效应领域的研究加大了力度,主要采用基因组学、蛋白质组学、核糖核酸组学、代谢组学和转录组学等理论;在研究思维方面,重视微环境细胞间相互作用在不同剂量辐射效应发生机理中的意义。那么,辐射免疫学效应的剂量-效应关系研究对开发临床放射治疗的更佳方案以及为辐射防护标准的科学依据提供有价值的信息。同时,辐射免疫效应研究与辐射诱导癌症和辐射治疗癌症之间提供连接点或切入点。

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日



RADIOA

电离辐射诱导的 DNA 损伤反应

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 赵刚 龚守良

1 DNA 损伤反应

(1) DNA 是电离辐射的靶分子: DNA 是一切生物体的遗传物质, 任何物种的生物学特性都是以遗传密码的方式储存在核酸分子内。DNA 主要与组蛋白结合, 存在于染色体中, 是储存和复制全部遗传信息的分子。DNA 的遗传信息是以基因的形式存在, 是细胞内 DNA 复制和 RNA 合成的模板。

电离辐射作用的靶系指细胞中对射线敏感的特殊部位, 该部位受到辐射损伤将会显示突变、死亡之类的靶效应。靶效应理论认为, 靶区以外受到电离辐射攻击不会引起细胞死亡, 而且认同细胞核 DNA 是辐射诱发细胞死亡或损伤的靶分子 (target molecule)。虽然认为细胞膜也是辐射的靶, 但早期的实验研究显示, 损伤核 DNA 产生的细胞损伤或死亡效应比细胞膜损伤后发生的效应要大 300 倍以上。

细胞 DNA 一旦受到辐射损伤, 将会给机体造成严重的后果。大量的研究证实, 与细胞死亡和分裂抑制有关的靶位于细胞核中; 进一步研究发现, 细胞核上的靶精确地定位于基因组 DNA 分子。电离辐射通过直接作用和间接作用, 引起细胞 DNA 分子的多种类型损伤, 包括 DNA 链断裂、DNA-DNA 链间交联、DNA 链内交联和 DNA-蛋白质交联等。

(2) DNA 损伤反应: 电离辐射诱导的 DNA 损伤反应 (DNA damage response, DDR) 是一个十分复杂、高度协调的过程, 是当前放射生物学领域研究电离辐射生物效应的核心问题, 决定了射线引起细胞内 DNA 损伤的结果。当电离辐射诱发 DNA 双链断裂时, 细胞启动 DDR 机制, 即对损伤位点信号的反馈和修复因子的簇集。DNA 损伤将激活细胞内一系列生物化学级联反应, 即反应网络, 其物质基础是损伤反应分子和早期信号转导子, 通过促进下游功能蛋白的磷酸化、乙酰化和泛素化等

化学修饰作用而激活信号转导反应。DDR 分子或损伤感受器 (damage sensor) 是直接接触和识别 DNA 损伤信号、启动细胞信号转导反应的物质。信号转导子 (mediator) 是 DDR 分子的功能伴侣, 多具有激酶活性, 将 DNA 损伤化学信号转变为生物化学修饰反应, 激活下游的效应分子 (effector)。DDR 机制从酵母到哺乳类动物细胞高度进化保守。

DDR 不是一个简单的途径, 而是一组密切相关的信号传递途径, 每条途径都控制着射线对细胞的不同反应。这个系统分为 DNA 损伤感受器和 DNA 损伤效应器。感受器包含一组蛋白, 密切观察损伤出现后的基因组变化; 然后, 将这个损伤的信号传递给 3 个主要的效应器途径, 共同决定了该细胞损伤的结果。这些效应器途径包括: ① 杀灭受损细胞的程序性细胞死亡途径; ② 生理上可以修复 DNA 断裂的 DNA 修复途径; ③ 可以引起细胞周期过程短暂性 (或永久性) 终止的途径——损伤关卡点。

2 DNA 损伤感受器

(1) 聚焦点的形成: 电离辐射所致 DNA 双链断裂细胞最初的反应是以生理上大量不同蛋白质补充到 DNA 损伤部位为其特征。DNA 损伤后, 用抗体对这些蛋白进行监测, 在显微镜下可以看到一个小区域或网点, 其中有不同的蛋白簇集补充到此处。这些“亚核”区域就是通常所说的电离辐射诱导的聚焦点。已经证实, 许多参与 DDR 的蛋白质十分靠近 DNA 双链断裂的位置并形成了聚焦点, 即每一个焦点代表一个 DNA 修复平台, 可将信号传递给其他 DDR 效应器。已知发生在 DDR 中最早的事件之一是组蛋白 H2AX 的磷酸化, 后者是组蛋白 H2A 的变种。H2AX 分布在整个细胞核中。在 DNA 双链断裂的几分钟内, H2AX 便开始在一个区域磷酸化, 并延伸到未修复 DNA 双链断裂部位的广泛区域。这种磷酸化形

式即为 H2AX, 对参与 DDR 的其他蛋白质和聚焦点的形成是必需的。一些被基因工程修饰过的缺乏 H2AX 的细胞显示了在聚焦点形成上的严重缺失, 对射线十分敏感。近几年, 用显微镜观察 γ H2AX 焦点的存在, 是对监测受照射细胞中 DNA 双链断裂存在和 (或) 修复的一个高敏感方法。

(2) DNA 双链断裂感受器: 在 DNA 双链断裂处或周围的 H2AX 的磷酸化是 DDR 中的最早事件之一, 一般发生在 DNA 双链断裂诱导后的 5~30 分钟。这表明, 在 DNA 双链断裂处有一个或多个其他磷酸化蛋白激酶被激活, 已显示有 3 个相关的激酶能在 DNA 双链断裂处磷酸化 H2AX。

① 由射线引起的 DNA 双链断裂部位的 H2AX 磷酸化, 最初是在共济失调毛细血管扩张症突变基因 (ATM) 的蛋白中发生。在正常染色体隐性遗传综合征共济失调毛细血管扩张症 (AT) 中, 包裹这种蛋白质的基因是突变的, 在临床上会出现眼、皮肤毛细血管扩张症和进行性小脑共济失调。一般, 发现这些患者对射线高度敏感, 而且发生癌的危险性增加。从 AT 患者或者从 ATM 蛋白抑制的正常人群中而来的细胞对射线极度敏感, 缺失 H2AX 磷酸化、聚焦点形成及 DDR 的许多方面。虽然对有关 DNA 双链断裂发生后随之出现的一些事件的准确顺序还有争议, 但目前已意识到 ATM 至少还需要另外一种蛋白复合物去“发现”DNA 双链断裂并使其活化。ATM 对 DNA 双链断裂的补充需要一种 MRN 的蛋白复合物。许多细胞系证据显示, MRN 是射线诱导的 DNA 双链断裂的功能感受器, 是一个多功能复合物, 不仅可以检测到 DNA 双链断裂、与 DNA 结合和补充 ATM, 而且对 DNA 双链断裂的“进程”也非常重要。例如, MRN 有核酸外切酶的活性, 可以消化不能连接到 DNA 断裂的末端。

② 在完全缺乏 ATM 蛋白

的细胞中, H2AX 的磷酸化和聚焦点的形成仍然可以通过另一种机制 (但是时间上是滞后的) 发生。在这些细胞中, H2AX 磷酸化是由 DNA 依赖性蛋白激酶催化亚基 (DNA-PKcs) 介导的。DNA-PKcs 是一种在结构上与 ATM 有关的激酶, 在 DNA 修复途径中的非同源性末端连接中是非常重要的。像 ATM 一样, DNA-PKcs 是不可能作为损伤本身的感受器, 这种感受器的功能是由直接连接在 DNA 双链断裂的 Ku70-Ku80 复合物来执行的。DNA-PKcs 与 Ku70 和 Ku80 共同构成 DNA-PK 复合物, 具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性, 是一种钙调蛋白, 定位于细胞骨架微丝系统, 能识别和结合 DNA 双链断裂末端, 并使其连接、修复。

③ 第三个能够使 H2AX 磷酸化的激酶是 AT 及 rad3 相关基因 (ATR) 蛋白, 代表了 AT 有关的激酶。ATR 在放射诱导的 DNA 双链断裂最初识别上似乎不起太大作用, 但是在应对 DNA 损伤的其他类型以及异常情况下, 如单链 DNA 和延迟或中止的复制又可使 H2AX 磷酸化, 因此对发生在正常 DNA 复制中的损伤类型是十分重要的。ATR 对 DNA 损伤处的补充需要另一种 ATRIP (ATR 内在作用蛋白) 蛋白, 像 ATM 和 DNA-PKcs 一样, 通过作为 DNA 损伤感受器的不同蛋白质补充到 DNA 损伤处。

3 效应途径的信号传递

ATM、DNA-PKcs 和 ATR 的激活不仅导致了 H2AX 的磷酸化, 而且引起其他细胞内蛋白的磷酸化。在近来的一些研究中惊奇地发现, 在应对 DNA 损伤中, 有多达 700 种蛋白质作为 ATM 和 ATR 激酶的底物, 这些蛋白的磷酸化是作为“信号传递”来激活不同 DDR 下游效应器 (凋亡、细胞周期关卡点和 DNA 修复)。在应对放疗诱导的 DNA 双链断裂中, ATM 在传递这些信号中可能起着十分重要的作用, 因此被认为是

DDR 的一个主要调节剂。

(1) 细胞凋亡: 在 ATM 激活后被磷酸化的两个重要蛋白是 p53 和 MDM2。p53 是最常见的肿瘤抑制基因之一, 其功能是通过一种已知的凋亡来调控细胞周期检查点以及程序性死亡的基因, 因此放疗后 p53 的激活即可以阻止增生又可以引起细胞的死亡。

(2) 检查点激活: DDR 第二个主要效应途径是细胞周期检查点的激活。电离辐射照射细胞后能使细胞周期中的 G₁、S 和 G₂ 期延迟, 这是通过激活 DNA 损伤检查点来实现的。这些检查点是在细胞周期中的某些特殊点, 可以阻止或延缓细胞进入下一个时相 (时期)。为了应对发生在细胞周期不同点的照射, DDR 可以激活 4 个截然不同的检查点。最初, 这些检查点被描述为允许细胞延迟是细胞有更多的时间来修复 DNA 损伤。在某种程度上, 特别是在阻止由错误修复而引起的突变中检查点有其重要性, 符合事实。但在单次放疗后, 没有证据支持检查点在影响总放射敏感性 (细胞存活) 方面的作用。所有在细胞周期各个时相 (G₁、S、G₂ 和 M 期) 的运动都是由细胞周期蛋白依赖激酶决定的, 这种激酶磷酸化其他蛋白, 启动细胞在细胞周期中的运动; 细胞周期蛋白依赖激酶只与细胞周期蛋白“伴侣”有关, 不同的细胞周期蛋白依赖激酶复合物在细胞周期的不同点被激活后才被活化。需要抑制细胞周期蛋白依赖激酶复合物才能活化检查点, 放疗是通过两种主要机制进行的: 第一, 通过直接激活细胞周期蛋白依赖激酶复合物的其他蛋白进行的, 这些蛋白是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂; 第二, 通过影响细胞周期蛋白依赖激酶本身的磷酸化和活性来实现的。任何给定的细胞周期蛋白依赖激酶的活性通常是受磷酸化状态影响的, 在磷酸化或非磷酸化的状态下都有可能被激活, 取决于考虑中的特异性的细胞周期蛋白依赖激酶。



肿瘤基因放射治疗的提出及其发展态势

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 龚守良 王志成 刘扬

1 肿瘤基因放射治疗的提出

人类对肿瘤的认识源远流长,已有3000余年的历史;对肿瘤的治疗也经历了漫长的演变过程,即经历了以外治法为主的古代阶段,以内治法为主的中世纪阶段,以局部治疗为主的近代阶段,以及向综合治疗演变的现代阶段。进入21世纪,研究者提出了肿瘤靶向治疗的概念,并已证明肿瘤可以用特异性的药物来避免传统化疗的毒副作用。当前,肿瘤的治疗主要包括外科手术治疗、放射治疗、化学治疗及生物治疗等,并强调合理地选择综合治疗肿瘤的各种模式。

放射治疗肿瘤问世已近一个世纪,是临床上应用最广泛和最重要的治疗手段之一,但肿瘤临近部位正常组织的放射损伤和某些肿瘤对辐射具有抗性等问题,至今影响其放疗的疗效和应用。自从20世纪60年代末,美国学者首次提出基因治疗的概念以来,经过研究者的不懈努力,已取得了令人瞩目的进步,并已试用于肿瘤临床领域。然而,基因治疗尚存在一些需要解决的问题,诸如有效基因和治疗载体的选择、基因表达的可控性及寄主产生免疫反应等问题。

根据放射治疗和基因治疗各自的特点,美国肿瘤放射治疗学家Weichselbaum提出将两者联合应用,即肿瘤放射和基因综合治疗的设想。该疗法一方面将放射治疗与基因治疗有机地结合,发挥协同作用;另一方面,由于辐射具有靶向性和可控性,实现了对杀伤基因表达的时空调控。

2 肿瘤基因放射治疗及其发展态势

Weichselbaum等首先利用早期生长反应基因-1(early growth response gene-1, Egr-1)启动子和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)基因构建表达质粒pEgr1-TNF α ,再将转染该质粒的靶细胞注入对辐射具有抗性的异种移植瘤内,当

肿瘤局部给予X射线照射后,瘤内TNF- α 水平较未照射组高2.7倍,肿瘤生长受到明显抑制,且未见局部和全身毒性的增加。Weichselbaum所领导的实验室进行了一系列的以TNF- α 为治疗基因的肿瘤基因放射治疗的实验研究。随后,Hallahan等利用复制缺陷型腺病毒介导Ad.Egr1-TNF基因转移,观察放疗联合基因治疗对不同大小肿瘤的抑制作用。结果发现,单纯X射线照射仅对较小移植瘤的生长有抑制作用,而肿瘤内注射Ad.Egr1-TNF联合局部放疗对大小移植瘤均有显著的抑制作用。此后,肿瘤基因放射治疗(tumor gene-radiation therapy)愈益受到关注,成为放射肿瘤学研究的热点之一。

近年来,Weichselbaum这个实验室在肿瘤基因放射治疗方面又作了大量的研究工作,他们研制的TNFerade,即Ad.Egr1-TNF,一种辐射诱导的腺病毒载体,已应用于治疗不能手术的胰腺癌,并进入了三期临床试验,在肉瘤、黑色素瘤及胰腺、食管、直肠和头颈部肿瘤的临床试验中给予评价。应用Ad.Egr1-TNF联合照射,通过局部肿瘤微环境产生的TNF- α 控制肿瘤的生长和淋巴结转移,增加和刺激CD8阳性细胞毒T淋巴细胞(CD8⁺CTL)产生,达到由局部和远隔部位免疫介导的抗肿瘤效应。

根据放射治疗和基因治疗各自的特点,将基因治疗与放射治疗结合是目前肿瘤治疗的研究方向,两者有机地结合主要体现在药物敏感基因系统与放射治疗的联合、肿瘤抑制基因与放射治疗的联合、免疫基因治疗与放射治疗的联合、放射诱导启动子的基因治疗、双(多)基因治疗与放射治疗的联合及放疗保护性基因治疗等。

目前,国内学者已构建了一些重组质粒和重组腺病毒载体等,进行肿瘤基因放射治疗的实验研究,获得明显的效果。综合国内外研究结果,可

以认为:①以质粒或复制缺陷型腺病毒介导的Egr-1抗肿瘤基因导入瘤内均具有辐射诱导抗肿瘤基因表达增强的特性;②Egr-1启动子介导的肿瘤基因放射治疗可明显抑制移植瘤的生长和转移,延长荷瘤动物生存时间,其体内抑瘤作用明显优于单纯放疗或基因治疗,且未见明显的毒副作用;③肿瘤基因放射治疗已成为一种新的有应用前景的肿瘤综合治疗方案。

近10余年,吉林大学卫生部放射生物学重点实验室科研团队在肿瘤基因放射治疗及其相关辐射肿瘤学领域的研究,先后获得了30余项科研基金课题的资助,包括国家自然科学基金课题12项、省部级和国际合作科研基金课题18项及国家“863”项目专题1项,团队人员团结、合作,进行了一些有益的探索,获得了许多可贵的成果。这个科研团队构建了许多单基因质粒(pEgr1-IFN γ 、pEgr1-TNF α 、pEgr1-ssEndostatin、pEgr1-Angiostatin、pNEgr1-mIL12、pEgr1-IL18、pEgr1-IL24、pEgr1-7.1、pEgr1-7.2、pEgr1-PTEN、pEgr1-shTRAIL、pcEgr1-hp53、pcDNA3.1-Egr1-AIF Δ 1-480、pshuttle-Egr1-hSmac、CRAd.pEgr1-Smac和CRAd.pEgr1-TRAIL等)和双基因质粒(pEgr1-IFN γ -Endostatin、pEgr1-IL18-B7.1、pEgr1-IL18-B7.2和pshuttle-Egr1-shTRAIL-shES等)。通过大量的实验研究证实,这些质粒经过脂质体或条件复制型腺病毒介导的肿瘤细胞(包括黑色素瘤细胞、肺癌细胞、胶质瘤细胞、卵巢癌细胞和乳腺癌细胞等),联合照射,在体外或体内移植瘤细胞生长均有显著的抑制作用,并推迟肿瘤的发生时间、降低肿瘤生长速率和延长动物生存时间;同时,证实这些质粒联合照射的效果明显好于单纯照射和单基因,双基因质粒联合照射的效果明显好于单基因质粒联合照射,多次照射的效果好于

单次照射,条件复制型腺病毒介导的质粒抑制肿瘤细胞生长的效果更佳。另外,发现低剂量辐射在优化pEgr1-IL18-B7.1基因放射治疗中发挥重要的作用,在荷黑色素瘤小鼠进行pEgr1-IL18-B7.1基因放疗中,再联合75 mGy照射,可增强免疫功能、抑制肿瘤生长和减少肿瘤转移的效应,并达到减少局部辐射剂量、增强抑瘤效果和延长存活时间的目的。

在上述研究基础上,将其研究成果,结合当前的文献资料,由本文第一作者主编了《肿瘤基因放射治疗学基础》专著,以此作为这一系列研究工作的总结。本书共5篇21章。第一章为引导篇,即绪论部分;第二~第六章为肿瘤基础篇,阐述肿瘤、肿瘤病因、肿瘤相关学科和实验性肿瘤模型方面的理论知识和部分研究成果;第七~十三章为肿瘤基因治疗篇,阐述肿瘤基因治疗载体、肿瘤基因治疗及其基因表达、肿瘤基因靶向治疗及RNA干扰与肿瘤治疗方面的理论知识和部分研究成果;第十四~十八章为肿瘤放射治疗篇,阐述基础放射生物学、肿瘤放射生物学、肿瘤放射治疗和新技术及其与其他疗法联合应用方面的理论知识和部分研究成果;第十九~二十一章为肿瘤基因放射治疗篇,阐述肿瘤基因放射治疗基础及其实验治疗方面的理论知识和研究成果;第二十和二十一章是全书的重点,主要介绍作者及其所在的卫生部放射生物学重点实验室相关人员在肿瘤基因放射治疗领域的科研成果;同时,在其他章节也渗透作者及其所在的实验室相关人员的科研成果。全书共150余万字,预计于今年6月份由人民军医出版社正式出版。

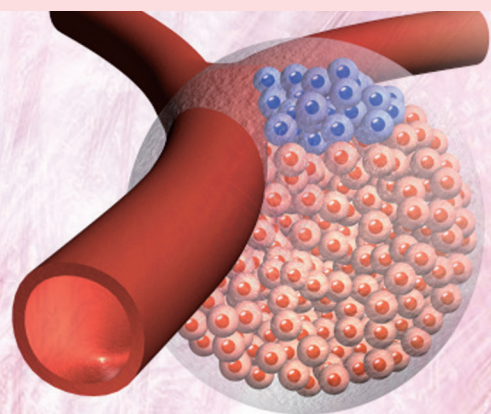
经过研究者的多年探索和实践,已深刻地认识到:①肿瘤基因放射治疗可将放疗与基因治疗有机地结合,发挥协同作用,可增强肿瘤对放射治

疗的敏感性,提高基因靶向转移和杀伤的效率,也可以相对降低照射剂量,缓解对正常组织的损伤;②也可以通过局部照射来实现基因的定位表达,在肿瘤受照时基因表达,一旦照射停止,基因表达随即终止,实现了基因表达的空间和时间的可调控性;③外源基因转染的肿瘤细胞发生细胞周期阻滞,出现肿瘤细胞同步化,增加放射治疗杀伤作用;④提高外源DNA与受体细胞DNA的重组和整合。

3 展望

目前,肿瘤基因放射治疗取得了令人可观的进展,但仍存在一些不足。Egr-1启动子诱导的治疗基因表达水平低,持续时间较短,使其表达不能满足需要,直接影响抗肿瘤疗效。基因转移载体系统是肿瘤基因治疗的关键,因此,应寻找更为有效、高效和定向的基因转移载体系统,以提高其疗效。此外,基因治疗的安全性、复杂性也是亟待解决的问题。

肿瘤基因放射治疗已逐渐从理论走向实践,部分治疗方案已进入临床试验,成为恶性肿瘤治疗的一个重要组成部分。基因治疗能提高肿瘤对放疗和化疗的敏感性,减少肿瘤的复发和转移,但并不能取代常规的手术、化疗及放疗,成为唯一的抗肿瘤策略。基因治疗与放射治疗结合治疗恶性肿瘤,使两者的优势互补,抗肿瘤效应得以强化,是肿瘤治疗未来的发展方向之一。随着人类基因组计划完成带来的新基因座控制区、内含子、染色体隔离子、特异的启动子和增强子的发现与分离,人们对肿瘤发病机制、生长调控认识的深入及基因转移技术的不断发展,基于肿瘤基因放射治疗的发展态势,我们有理由相信,这些难题会被致力于这一领域的研究者逐渐攻克,这种治疗手段必将为肿瘤患者发挥更大的潜能,作出更大的贡献。



肿瘤干细胞：肿瘤放疗耐受的根源

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 王志成 方芳 龚守良

肿瘤放疗是临床常用的重要治疗手段，即通常利用高能射线（例如X射线、 γ 射线或带电离子）照射实体瘤部位，损伤其细胞DNA，进而杀死肿瘤细胞。肿瘤因不同种类而导致放疗效果的差异，甚至出现肿瘤放疗耐受的現象，严重地影响临床放射治疗方案的制定。肿瘤的发生是多阶段、多因素和多基因影响的结果。从细胞水平上看，当一个细胞失去正常的增殖控制时，不受正常生长调控系统的控制，持续分裂和增殖，即可发展为肿瘤。传统的观点认为，肿瘤细胞具有无限增殖和再次形成肿瘤的能力。但是，越来越多的研究成果表明，肿瘤组织中绝大多数细胞没有或仅有有限的增殖能力，而另外一小部分有致癌性的肿瘤细胞则具备某些与干细胞相似的特性，如可增殖分化、自我更新和不对称分裂等，这部分细胞被称为肿瘤干细胞，或称癌干细胞(cancer stem cell, CSC)。

CSC理论提出已有150余年的历史，该理论认为肿瘤组织中存在少量干细胞样的肿瘤细胞亚群，可作为维持肿瘤的源泉，能够分化为组成肿瘤的大部分细胞，并使肿瘤具有异质、增殖和浸润等特性。因此，这种理论开启了肿瘤治疗领域的新纪元，是对肿瘤本质观念的一种突破。研究表明，CSC是肿瘤临床放疗时产生辐射耐受的根源，这在胶质瘤CSC的放疗实验中得到直接的证实。将CD133⁺（胶质瘤CSC）和CD133⁻的胶质瘤细胞用不同的荧光染料标记后，按一定比例共同培养。结果显示，放疗后CD133⁺细胞扩增数量是CD133⁻细胞扩增数量的4倍，暗示CSC具有明显的放疗耐受性。研究还发现，这种耐受包括多种机制：① CSC生存的乏氧微环境（microenvironment or niche，又称干细胞龛）：其微环境由间质细胞、细胞外基质、血管及炎症细胞构成，具有乏氧环境的特征，这种

恶劣的生存条件可能是CSC逃避放射损伤，产生耐受的原因；② 细胞周期检查点的激活（checkpoint）：放疗杀伤肿瘤细胞通过损伤DNA实现，细胞周期检查点激活是DNA损伤后的一个重要的反应，当DNA损伤后细胞周期检查点激酶1和2（checkpoint kinase-1, Chk1 and Chk2）激活，进一步激活下游分子，导致细胞周期阻滞，CSC在放射治疗后能更有效地激活Chk1和Chk2，延长细胞周期，有更长时间修复受损的DNA，使CSC产生放疗耐受；③ 细胞凋亡：研究表明，CSC中能高表达抗凋亡基因，并涉及到多个凋亡相关通路，从而导致CSC抗凋亡，产生放疗耐受，更有利于维持CSC增殖、存活和侵袭性等特征；④ 细胞自噬（autophagy）：细胞自噬也是程序性细胞死亡的方式，参与细胞内能量代谢、生长调节、细胞器转化及肿瘤的生成等，外来因素（如电离辐射）可以诱导CD133⁺胶质瘤细胞中自噬相关蛋白beclin-1、Atg5和LC3-II的上调，导致细胞发生自噬，而对CD133⁺的胶质瘤细胞则无此作用，由此推测CSC中自噬的降低能够减弱放射敏感性，增强放疗耐受。

目前，国际上关于靶向

CSC的肿瘤治疗研究已成为研究的热点，逆转CSC的放疗耐受尤为关注。所谓靶向治疗即对准病根进行治疗，在细胞分子水平上，针对已经明确的可治疗靶点来设计相应的治疗药物，从而达到治疗目的，同时产生较小的损伤。以往的肿瘤靶向治疗主要瞄准肿瘤细胞，设计靶向的特异性治疗方案，从而实现治疗效果，并减少可能产生的副作用。近年来，在对肿瘤干细胞的研究中发现，单纯地杀死肿瘤细胞和较少肿瘤体积并不能使患者生存率得到显著提高；而直接杀灭已突变的CSC或诱使它们分化为成熟的肿瘤细胞，对肿瘤治疗起到积极作用，因此CSC的靶向治疗成为肿瘤治疗的关注点（图1）。CSC的放疗耐受是治疗的障碍，直接进行治疗非常困难，通常研究的方向集中在针对CSC生物学特性、相关的信号通路和细胞调控机制等方面。CSC靶向治疗有望实现肿瘤治疗的突破，甚至实现肿瘤的彻底根治。CSC自我更新和分裂增殖涉及到Wnt、Notch、Hedgehog、Bmi-1、BMP和PI3K/Akt等信号通路的调控，对于CSC放疗耐受也起到重要的调控作用。因此，靶向这些通路的肿瘤

治疗有望逆转放疗耐受（图1）。

研究表明，可以针对CSC信号通路的关键分子进行RNA干扰或者应用特异性抑制剂，都能有效地阻断信号通路，进而增强放射敏感性，实现肿瘤放疗耐受的逆转。经过如此多的基础研究后，多种具有潜力的药物已经上市，且在不久的将来会有更多的靶向药物进入市场，尤其是靶向Wnt/ β -catenin、Hedgehog和Notch通路的小分子药物。其中，上市药物的代表是GDC-0449，又名Vismodegib，是靶向Hedgehog信号通路的小分子抑制剂，于2012年1月获得美国食品和药品管理局（FDA）批准上市，商品名Erivedge，用于治疗基底癌，由基因泰克公司（Genentech）研发，是通过高通量筛选和先导化合物优化得到的Smo蛋白拮抗剂，相对于环巴胺具有更好的效能、更适宜的药物性质。GDC-0449上市以来得到了很好的应用，同时也在进行临床实验，显示较好的效果，但还不清楚是否能够彻底的清除肿瘤细胞，会不会有残余细胞及复发等一系列问题。潜力分子的代表是BB1608，是靶向肿瘤干细胞的药物，被列为

2012年10种最具潜力的临床抗癌候选药之首。BB1608是由波士顿生物技术公司（Boston Biomedical）研发，并被日本制药商大日本住友（Dainippon Sumitomo）以26.3亿美元收购，主要针对直肠及结肠癌，到目前为止尽管BB1608已经正在进行多个III期临床实验，其分子结构还没有公布。迄今为止，在临床试验中，BB1608展示了良好的安全性、药代动力学及抗肿瘤活性，而且可以用于多种肿瘤治疗；该公司称，该药物能同时抑制多个关键的癌细胞的“感性途径”，可以直接作用于恶性肿瘤干细胞和成熟的肿瘤细胞，这给研究人员极大的信心，有望为众多肿瘤病人带来希望。

传统的肿瘤治疗手段主要针对肿瘤细胞，而非CSC；虽然经过治疗后肿瘤体积减小，肿瘤细胞数量减少，但是一段时间后肿瘤容易再次复发转移，这一直是肿瘤治疗的壁垒，使得肿瘤难以彻底治愈。而靶向CSC的治疗则带来了新的希望，通过靶向调控CSC来遏制肿瘤的生长、复发和转移，这是一个全新的肿瘤治疗理念。CSC理论的提出已有150余年，虽然关于只有CSC才具有强致癌性的认识得到大多数的认可，但是也存在反对的意见。例如，在乳腺癌中，只有基底样细胞具有干细胞特性，可以形成入侵性肿瘤；但是Kim等却提出不一样意见，他们发现在乳腺导管样细胞也能具有强致癌性和高侵袭性，也能产生肿瘤。这说明关于CSC研究虽然日新月异，新成果层出不穷，但是仍旧伴随着争议在前进。关于CSC的研究方向需要继续在其表面标记、细胞模型建立及信号调控机制等方面做出努力，还要在其靶向治疗方面做更多的工作。相信不久的将来，人类能够攻克肿瘤这一顽症。CSC靶向治疗为肿瘤治疗提供了新的思路、新的方向，新的道路就在眼前，“路虽远，行则至”。

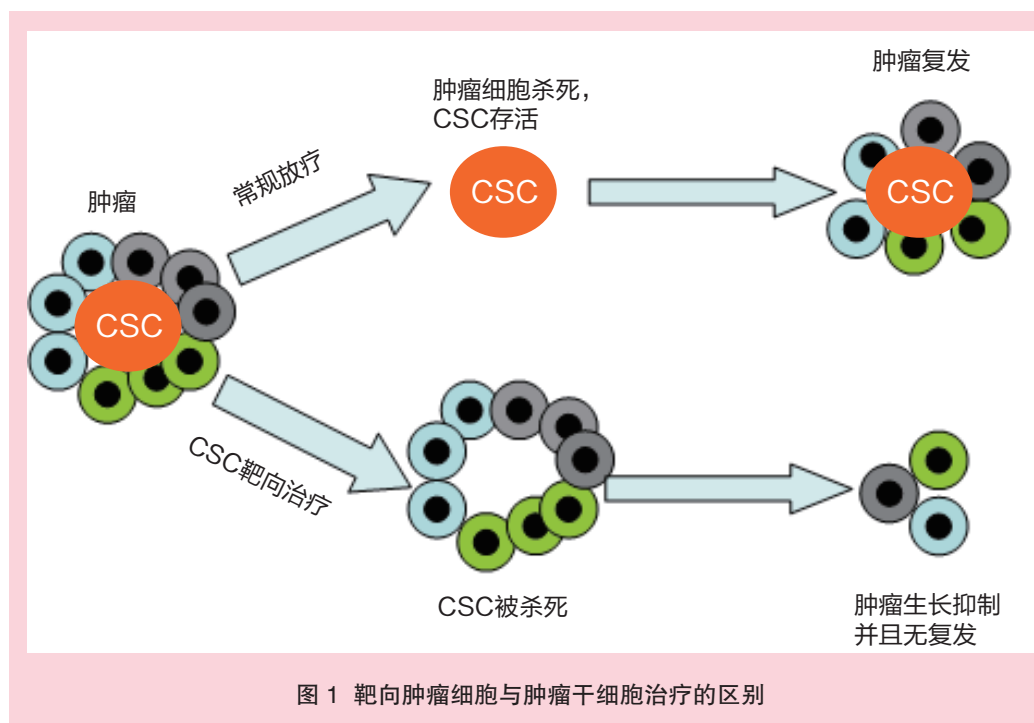


图1 靶向肿瘤细胞与肿瘤干细胞治疗的区别

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日

吉林省核辐射安全与医学应急处置基地建设项目

吉林大学放射医学系 刘晓冬



刘晓冬 教授 博士生导师

卫生部放射生物学重点实验室主任, 兼任吉林大学公共卫生学院副院长、放射医学系主任和中日联谊医院肿瘤放疗科特聘教授。研究方向为辐射肿瘤学与肿瘤转化医学。2005年来, 承担国家级和省部级课题12项, 发表论文30余篇, 申报专利2项。曾先后留学于加拿大曼尼托巴大学、美国哈佛大学, 培养研究生23名, 博士后1名。兼任中华医学会放射医学与防护专业委员会常委、吉林省核学会理事长、吉林省医学会放射医学与防护学会主任委员等, 在多个国际期刊任审稿专家。

吉林省地处复杂的东北亚核危险区, 周边的朝鲜半岛、俄罗斯、日本和蒙古国均为核活跃国家, 2011年“3.11”日本福岛核电站泄漏以及2013年“2.12”朝鲜第三次核试验引发的核安全危机已引起全世界的关注, 对环境的污染以及最终导致人员的急性损伤和远后效应引起广泛忧虑, 同时体现出应急处置体系存在严重不足。吉林省是国内最大的粮食生产和储备基地, 建立核辐射安全与应急处置基地不但是适应紧张的国际形势及我国核能的快速发展、放射性同位素广泛应用的需要, 而且对于保证土壤和水源免于放射性污染, 进而保障粮食安全、保护全国人民及其后代的健康具有重要意义。

1 建立吉林省核辐射应急处置基地的必要性

(1) 国际核环境的紧张趋势。受经济危机及各国政治压力及信任危机的影响, 某些近邻国家存在利用战争转移和缓解经济压力的可能; 尤其是朝鲜半岛处于微妙的战争对峙状态, 与吉林省东部地区直接

接壤的朝鲜属于不可控的有核国家, 在2006、2009和2013年分别进行3次“核试验”, 后继核试验随时准备进行。3次核试验的应急响应均有吉林大学公共卫生学院放射医学系人员参加, 今年朝鲜核试验期间受卫生系统、环保系统和军队系统委托担任了环境监测和人员辐射损伤救治应急准备, 目前仍在检测图们江流域地下水污染情况。目前, 吉林省存在机构松散、组织缺乏统一协调及人员应急处置能力较弱的问题, 在东北边境建立核辐射安全与应急处置基地并培养一支专业队伍意义重大。

(2) 核物质在和平建设中的广泛应用。核电站建设及放射性物质在工农业和医疗卫生行业中的广泛应用, 使发生核与放射性事故的几率增加, 2011年日本福岛核电站核泄漏事件即是最直接的事例。目前, 我国核发展迅速, 现已通过批准筹建的核电已达7000千瓦, 保守预计到2020年将新建20座核电站, 按每座核电站周边50 km覆盖500万人口计, 将有1亿人处在需要监控和保护范围之内; 但尚无核电站选址地区辐射环境的本地数据及当地居民疾病谱资料, 导致将来无法对核电的环境效应及人群效应进行评估。因此, 对环境进行检测、对人员进行宣传教育和进行必要的应急准备是当务之急。

(3) 农业和粮食安全的需要。吉林省是国内最大的粮食生产和储备基地, 为国家出产1/3的粮食。目前, 吉林省存在的放射性高危因素众多, 如吉林省环保局设有东北最大的放射性废物收储库、省内5个辐照中心, 在国家振兴东北老工业基地规划中核电站已计划兴建等, 这些因素对土壤、水源乃至粮食潜在的污染不得不防。一旦出现问题, 将至少对数亿人口的健康产生危害, 其远后效应可能危害到下一代健康。

2 建设目标

在5年内, 我们将在吉林省建设成为国内一流的核辐射突发事件监测、预警和医学应急系统平台, 即完善核辐射突发事件预警系统和监测体系, 建设一支指挥有效、统一协调、反应及时和处理有效并具备研发能力的人才队伍, 建立信息网络体系以便于随时上传下达, 加强现场受照人员的医学救治和环境的去污处理, 做好公众的宣传教育、技术人员的培训和医学应急演练。为

应对和处理核辐射突发事件提供技术保障。

3 建设内容

(1) 完善预案与对策分析: 根据现有放射源和核设施在本地区的分布和种类, 对可能发生的核和辐射突发事件的类型进行预测并制定相应的应急预案; 即对现有核资源进行调查, 对可能发生核和辐射突发事件进行前瞻性研究, 对各种可能的突发事件制定预案, 尤其加强边境接壤地区核突发事件对策研究和监测预警系统等。

(2) 环境辐射流行病学调查: 对高危地区辐射环境的本底数据、食品和水源的放射性污染进行检测和监测, 对当地居民疾病谱资料进行调查和分析。在边境地区布设监测点, 利用通讯系统组成监测网络, 建立监测预警系统, 对大气污染物进行每日监测, 沉降物进行每月监测, 水源随时进行监测。采集土壤、水源和植被样品进行测量, 获得边境地区现有放射性本底数据。研究确定进行污染评价所需的技术参数和指标, 建立合适的评价方案, 以期在突发核事故后能迅速对污染程度做出全面科学的评价。由于中朝边境地区的地理环境和气象条件非常复杂, 因此需研究建立多套污染控制方案。核事故发生后, 需根据不同的地理气象条件, 选择实施相应的污染控制和污染去除方案。建立突发核事故时向决策机构提供决策建议的方案。另外, 对居民疾病谱进行调查和分析将有助于评价环境辐射对人群的近期及远后效应。

(3) 现场环境和受照人员的应急处理: 指导和参与核事故现场放射性污染的定性、分级, 对病人受照剂量进行检测和评估, 对现场环境进行去污处理, 即在早期阶段, 加强重点放射性核素 ^{131}I 和 $^{137+134}\text{Cs}$ 的实验室快速放化检测技术和各种样品中总 β 和总 α 活性检测技术, 为应急处理和医疗防治提供可靠参数; 建立和完善在核事故后期管理的重点放射性核素 ^{90}Sr 的快速放化检测技术, 特别是在低水平大面积放射性污染条件下对各种环境样品中 ^{90}Sr 含量, 能快速、准确地进行实验室放射化学测定, 为核事故后果管理和ZND和RDD作出快速反应提供科学依据。确定效果较好的干法去污

剂, 以便应用于城镇地区、建筑物和地表污染快速去污。另外, 还要协助和指导放射性污染物转运和处理。

(4) 建立应急反应队伍: 组织核事故医学应急救援咨询专家, 建设一支指挥有效、统一协调、反应及时、分级负责、分类指导和处理有效的应急反应队伍。其行使的功能即在政府部门的组织下, 协调辐射环境工作人员、医务人员及军警人员等进行人员和环境的处理。

(5) 宣传、培训与演习: 利用各种媒体对公众进行放射性相关知识的宣传, 既消除对日常低水平放射效应的恐慌, 又要对可能发生的核辐射突发事件有着清醒的认识和充分的准备。同时, 指导、协助和组织各级核辐射事故医学应急机构的技术骨干培训。根据“平战结合”的原则, 定期进行医学应急演练。

(6) 监测预警系统及相应的信息网络建设: 建立相关数据库和完整的监测网络体系, 以便及时、快速对多种突发事件进行准确的预报和预测。建立外照射剂量的重建、受照前剂量的测量及计算机模拟的评价系统, 以及内照射剂量计算机评价系统。利用闪烁体开发高效低故障放射性气溶胶探测器、 γ 探测器, 为对核辐射突发事件做出快速反应, 使接警中心可以通过通讯网络得到现场的辐射水平、视频图像信息。预期达到现场报警信息上传至接警中心响应时间不超过5秒。

(7) 相应的基础研究: 开展核事故与放射事故受照人员的造血干细胞移植及医学应急救援与卫生防护技术的研究工作。建立和完善染色体畸变、微核及体细胞突变分析、PCC快速估算等生物剂量计方法, 开展荧光原位杂交(FISH)、分子标志剂量计和TCR生物剂量计等快速检测方法的应用和研究。进行放射损伤治疗药物和抗辐射损伤药物的研制、储存和应用, 完成急性辐射免疫损伤对生殖细胞功能的影响及其遗传效应等应用研究。

4 工作条件与工作基础

本基地的建设除东北地区地缘因素外, 还具备学科优势和人员优势。放射医学是在1958年为适应国防科学和核工业部需要, 由原白求恩医科大

学组建了我国高校第一个放射医学学科, 在核辐射事故监测、预警和医学应急建设中发挥重要的作用, 在教学、科研、临床救治和放射事故现场处理等方面取得了突出的成绩。在这个学科, 曾有国内外著名的放射医学专家刘树铮教授(国际低水平照射生物效应顾问委员会委员、国家核事故医学应急救援专家组成员、中国核学会荣誉理事)、核物理专家刘运作教授(中国原子能科学研究院串行加速器核物理国家开放实验室学术委员会委员)和霍俊德教授(国际原子能机构核结构和衰变数据评价国际协作网专家顾问组成员, 国家核数据委员会委员)奠定的基础, 组成的老中青队伍具有极强的工作能力, 共获得国家科技进步二等奖2项、三等奖1项。近年来开展的相关工作如下。

(1) 2013年朝鲜第三次“核试验”受卫生系统、环保系统和军队系统委托担任了环境监测和人员辐射损伤救治应急准备。

(2) 2011年3月日本福岛核泄露事件以来受卫生部和吉林省卫生厅委托负责环境检测和留日归国人员表面污染检测任务。

(3) 2009年朝鲜第二次“核试验”受吉林省卫生厅、环保厅调遣, 进行了中朝边界鸭绿江及图们江沿线环境样品采集及分析。

(4) 2006年10月朝鲜第一次“核试验”受国家核安全局应急办调遣, 进行了中朝边界鸭绿江及图们江沿线环境样品采集及分析。

(5) 完成了吉林省放射性废物库(旧库)退役技术工艺研究工作。

(6) 承担着吉林进出口检验检疫局进出口样品的放射性检验分析工作。

(7) 承担着吉林省环保局国控点环境样品放射性检验分析工作。

(8) 为吉林省工矿企业提供辐射技术支持与服务工作。

(9) 承担着吉林省环境评价样品检测分析工作。

(10) 承担着吉林省部分地区本底样品监测分析。

(11) 承担着吉林省放射性工作人员个人剂量检测工作。

(12) 承担着吉林省医疗机构放射诊疗设施的检测及评价工作。

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日

卫生部放射生物学重点实验室简介

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 刘晓冬

卫生部放射生物学重点实验室于1990年通过验收并成立,经卫生部组织专家论证,确定其总体定位为部属开放性实验室,重点探讨低水平电离辐射的生物效应及其发生机理和实际意义。随着社会的发展,传统的放射生物学已经发展为集生物学、医学、核物理与防护学为一体的综合学科,本室在继承和沿袭以往特色和优势研究领域,即低水平辐射生物效应的同时,又根据社会的发展及需求,拓展了新的研究领域。目前,本室主要研究方向包括:①低水平辐射生物效应研究;②辐射分子遗传学研究;③辐射肿瘤学与肿瘤转化医学研究;④环境辐射与核安全研究。发展目标是,跟踪世界科技发展的最新动态,满足国家建设的重大需求,围绕国家中长期科技发展规划战略,以揭示辐射兴奋效应、确定性效应(辐射损伤)和随机性效应(肿瘤)分子机制、新型辐

射敏感性生物标志物研究、肿瘤综合治疗方案及其机制研究及环境辐射(含职业辐射)与核安全研究与保障为目标,开展具有国际领先意识和创新思想的基础研究、应用基础研究和应用研究工作,为

解决医学科学领域中重大理论问题提供基础性、前瞻性和战略性的科学理论依据,开发具有自主知识产权的关键技术,巩固实验室的特色和地位。本室研究方向符合国家新时期对转化医学、核辐射安全与防护

等领域重点需求。

本实验室在低水平电离辐射生物效应研究方面的成果处于国内领先、国际知名地位,尤其是低剂量电离辐射增强免疫功能机制、低剂量电离辐射促进肿瘤治疗、低剂量电离辐

射与DNA损伤修复的研究在国内外学术界享有盛誉,曾应邀参加国际学术会议做大会报告及赴国外大学和科研院所讲学50余人次。所获资料充实和发展了辐射兴奋效应学说,对当时流行的辐射致癌“线性无阈”假说提出了质疑,为辐射防护的改革提供了实验基础,对核科技应用和核能发展的卫生保健以及反恐应急措施的规划,具有积极作用。在原有辐射肿瘤学研究基础上,拓展了向临床应用的延伸,在肺癌、甲状腺癌、宫颈癌、卵巢癌和乳腺癌中进行放疗与基因治疗的优化并深入探讨了作用机制,为指导临床治疗提供了理论基础。另外,重组并增加了环境辐射与核安全研究,重点在东北亚边境环境辐射、医院职业辐射、核安全技术及应急方面开展特色研究,并在日本核泄露的响应中发挥了重要作用,为国家(卫生部)提供了准确的材料和数据。



生殖和遗传是一切生物体的基本特征。生物通过各种生殖方式繁衍后代,以延续生命。生命延续的本质是遗传信息的传递,即通过遗传物质从亲本传递给后代,使其后代能复制其自己。生殖和遗传是极其复杂、精密的生理过程,受体内外众多因素的调节和影响,涉及

多学科的整合。然而,人类生活在一个不断变化的外环境和一个相对稳定的内环境。电离辐射作为一种特殊的外环境物理因素,特别是大剂量电离辐射,对机体,乃至细胞,产生重要的影响,可使其内稳态发生紊乱,细胞内的信号传导途径及细胞反应出现异常的改变,以至于出现不可逆的损伤,最终导致其死亡。电离辐射对生殖和遗传的影响也不例外,可引起其显著的效应,并产生全身的反应,甚至是严重的威胁和危害。

为了健康地繁衍后代,保证人口素质的可持续发展,在有效运用核能和核技术造福于人类的同时,对电离辐射所致的生殖遗传效应必须给予高度的重视,并应加强其基础和应用方面的研究,深入探讨其作用机制,阐明其效应本质,制定出切实可行的防治措施。为此,作者及其所在的研究团队历经30余年的努力,在电离辐射生殖遗传效应领域,进行了一些有益的探索,获得一些可贵的成果,相继发表在国内外期刊和会议论文汇编中,得到了同行的较高评价和认可。在此基础上,将其研究成果,结合当前的文献资料,由作者主编《电离辐射生殖遗传效应》这部专著,以此作为这一系列研究工作的总结。本书共68.3万字,于2009年10月由原子能出版社出版。

全书共15章,第一章为绪论部分;第二章到第五章,介绍电离辐射及其生物效应,生殖、遗传和生精细胞凋亡及与电离辐射相关的基础知识;第六章到第十三章,介绍本书作者在电离辐射生殖遗传效应领域的研究成果,包括低剂量辐射对生精细胞凋亡的影响及其基因调控、低剂量辐射对糖尿病雄性大鼠生殖的作用、电离辐射诱发小鼠生精细胞染色体畸变规律、电离辐射诱发小鼠遗传学变化、人参皂甙对辐射损伤生殖系统的防护作用、电离辐射诱发小鼠生殖细胞适应性反应、全身和睾丸局部照射对雄性性腺系统功能的作用和大剂量头部

《电离辐射生殖遗传效应》简介

吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室 龚守良

照射对雄性性腺系统功能的作用;第十四章,介绍放射性核素在生殖系统中的应用及其影响的有关内容,重点介绍放射性核素对生殖作用研究的有关文献报道;第十五章,介绍研制的国家放射性性腺疾病诊断标准及处理原则。每章列参考文献,书后附有索引。

本书可作为放射医学专业的研究生教材,亦可作为从事放射医学与卫生防护工作人员及有关医学、卫生专业工作者的参考书。

在出版《电离辐射生殖遗传效应》前后,在国外杂志发表了多篇有影响的学术论文;同时,又继续深入进行低剂量辐射(LDR)诱导生精细胞凋亡与线粒体通路和内质网应激的研究,其成果撰写了2篇SCI检索论文。2012年底,美国Aubry Perrotte来信提到,根据我们近年来发表的有关LDR诱导生精细胞凋亡的文献资料,特邀请参加《生殖细胞研究的最新进展(Recent Advances in Germ Cells Research)》一书的编写。为此,写出综述论文“低剂量辐射诱导雄性小鼠生殖细胞凋亡及其减轻1型糖尿病大鼠生殖细胞凋亡(Low-



Dose Radiation Induces Apoptosis in Male Germ Cells of Mice and Attenuates It in Type 1 Diabetic Rats)”,附20幅图,108篇参考文献,34页,5万多字,分为LDR诱导生精细胞凋亡及相关蛋白的表达、适应性反应、线粒体调控、内质网应激和LDR减轻糖尿病大鼠生精细胞凋亡5部分论述。该书由加拿大、美国、中国和俄罗斯等国学者分别撰写的生殖细胞研究最新进展的论文,于2013年4月由美国Nova科学出版公司正式出版,ISBN: 978-1-62618-519-7。我们的论文: Shouliang Gong,

Zhicheng Wang, Fang Fang, Hongguang Zhao, Guangwei Liu, Pingsheng Gong, Edit. Low-Dose Radiation Induces Apoptosis in Male Germ Cells of Mice and Attenuates It in Type 1 Diabetic Rats. Aubry Perrotte, Editors. Recent Advances in Germ Cells Research. NY(USA): Nova Science Publishers Inc, 2013:71-104.

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日