

# 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



刘强 博士

医学博士，研究员，博士生导师。现任中国医学科学院放射医学研究所辐射效应室主任。从事放射生物剂量学、肿瘤辐射增敏和辐射损伤的干细胞治疗研究。主持国家级、省部级项目20余项。曾获天津市“五一”劳动奖章、天津市突出贡献专家，获天津市科技进步奖10项，中华预防医学科技奖3项，中华医学科技奖1项。

### 导读

- 间充质干细胞治疗放射性肺损伤 **2版**
- 脂肪来源的间充质干细胞治疗放射性肠损伤 **3版**
- 照射改变骨髓间充质干细胞的分化潜能 **4版**
- 炎症因子激活MSCs的旁分泌效应应用于放射性肠损伤的治疗 **5版**
- 间充质干细胞的辐射抗性机制及其临床应用潜力 **6版**
- 干细胞微泡移植可改善放射性脑损伤的认知功能和神经病变 **7版**
- 肌肉干细胞的辐射损伤效应 **8版**

**消息**  
医学参考报社网站已开通，以放射医学与防护频道为主的各频道，现正免费注册注册会员，并可网上阅读报纸以及参加继续教育等学术活动。  
网址：[www.yxckb.com](http://www.yxckb.com)

## 放疗后正常组织损伤治疗的新希望——间充质干细胞



【据《Cancer Letters》2015年10月报道】题：间质干细胞：一个治疗放疗引起的组织损伤的新希望？（作者 Nils Nicolay 等）

间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSCs)首次被Friedenstein教授在1974年分离于骨髓组织。MSCs存在于多种组织(如骨髓、脐带血和脐带组织、胎盘组织、脂肪组织等)，具有多向分化潜力。MSCs具有抗辐射性，甚至在高辐射剂量暴露中保留自己干细胞特性。MSCs以骨髓组织中含量最为丰富，称为骨髓MSCs并被广泛研究。在骨髓细胞内，MSCs通过分泌基质蛋白质(如N-钙粘蛋白，膜联蛋白II和VCAM-1等)调控造血干细胞的增殖、迁移和分化。MSCs在治疗组织细胞和器官损伤中的再生潜能已被广泛研究。MSCs可以有效治疗电离辐射造成的组织损伤。动物研究和早期临床经验表明，迁移到组织病变部位的MSCs既可以分化成功能性实质细胞也可以为其他细胞培育创造一个微环境。

骨髓是放射高度敏感器官，全身2~12 Gy的照射有可能耗

尽所有的分裂细胞，如果不及时治疗可以导致致命损伤。类似剂量的照射可用于骨髓移植前的清髓性治疗。在动物模型中，基于MSCs治疗辐射引起的骨髓损伤已经被广泛研究：全身照射的小鼠在MSCs输注后，其存活率显著增加并重建造血功能，同时降低被照射骨髓细胞的细胞凋亡率(图1)。有研究表明单独移植MSCs不加入造血干细胞也可以促进照射后骨髓的修复，甚至提高生存率。该治疗的具体机制还不清楚。在大多数分析MSCs移植效果的报告中，MSCs只是瞬时检测，观察到的效果主要归因于其他免疫细胞的影响。MSCs输注治疗急性辐射损伤的患者的资料非常罕见和缺乏，第一个临床辐射损伤患者的治疗证明了MSCs的治疗价值。然而，更多的系统分析，特别是临床试验还需要进一步进行，以阐明MSC疗法对辐射损伤患者的潜在价值。

由于辐射导致的肝损伤是

一种严重的并发症，肝脏经过平均30~35 Gy的照射后大约有10%的患者会罹患放射性肝病(Radiation-induced Liver Disease, RILD)。MSCs移植作为治疗放射性肝损伤的潜在手段已在动物模型中被广泛研究，并且有研究指出MSCs对辐射肝脏的组织有再生的作用。将MSCs输注到放射性肝损伤的小鼠体内可以明显降低肝脏损害，这是通过肝脏功能和定量评估肝细胞凋亡确定的。但迄今为止，还没有临床试验采用MSCs方法治疗放射性肝损伤患者。

腹腔或盆腔放射损伤是放射治疗引起的最常见的副作用之一。据估计全世界每年有30,000~50,000例患者会出现严重辐射相关的肠道并发症。MSCs治疗放射性肠组织损伤已经在动物模型和对患者知情同意的情况下展开研究。与单纯放射损伤的小鼠比较，接受MSCs治疗的放射损伤小鼠表现出生存率提高和体重增加。有研究表明这种辐射诱发肠道损伤的治疗机理主要是由于MSCs细胞的旁分泌作用，而不是MSCs自身的分化并替换受损的

细胞。在IL-6<sup>-/-</sup>小鼠敲出实验表明，MSCs修复照射后肠上皮功能的部分缺失。MSCs在治疗辐射导致的严重肠道损伤中明显改善了粘膜炎症和出血，具体的作用还需要临床实验的验证。

目前大多数基于MSCs治疗放射损伤的有效性研究还处于动物试验阶段，还没有进入临床。在该技术真正服务临床之前，还存在下列问题有待解决：(1) MSCs的潜在致癌性。有研究提出MSCs和癌症的发展有关联。MSCs可以在体内参与肿瘤发生，也能够体外转化成恶性细胞。当然，研究所观察到的影响也可能是由于MSCs样品与肿瘤细胞系的交叉污染，到目前为止，没有临床前数据明确癌症和MSCs的关系。另一方面，很多研究都认可MSCs具备抑制各种肿瘤生长的能力。目前没有明确的证据表明MSCs参与肿瘤的发生和发展。但是这些潜在的因素大大限制了该技术的临床应用。在临床推广之前，任何可能的致癌性都需要排除。(2) MSCs介导的肿瘤辐射防护。由于MSCs能够抗辐射或在辐射损伤部位促进再生，所以MSCs也可以保护需要接受辐射的肿瘤组织。但是，我们对MSCs在体内肿瘤组织的抗辐射作用知之甚少。因此，有必要进一步研究以确保MSCs疗法不会影响肿瘤患者的放疗效果。(3) 标准化生产。大规模的临床应用需要大量的MSCs。按GMP标准进行生产MSCs的一个关键挑战是可重复的质量实施控制措施。

过去的研究表明MSCs具有抗辐射特点并且在高辐射剂量暴露中维持其干细胞特性。观察到的这种潜在的辐射抗性机制可能涉及高效的DNA损伤识别和修复；辐射诱导促存活途径的激活，从而逃避细胞凋亡。基于MSCs的治疗为临床治疗或者预防辐射损伤提供了新的方法，即使这种方法在推广之前还面临多种挑战。

(陈虎 刘强 报道)

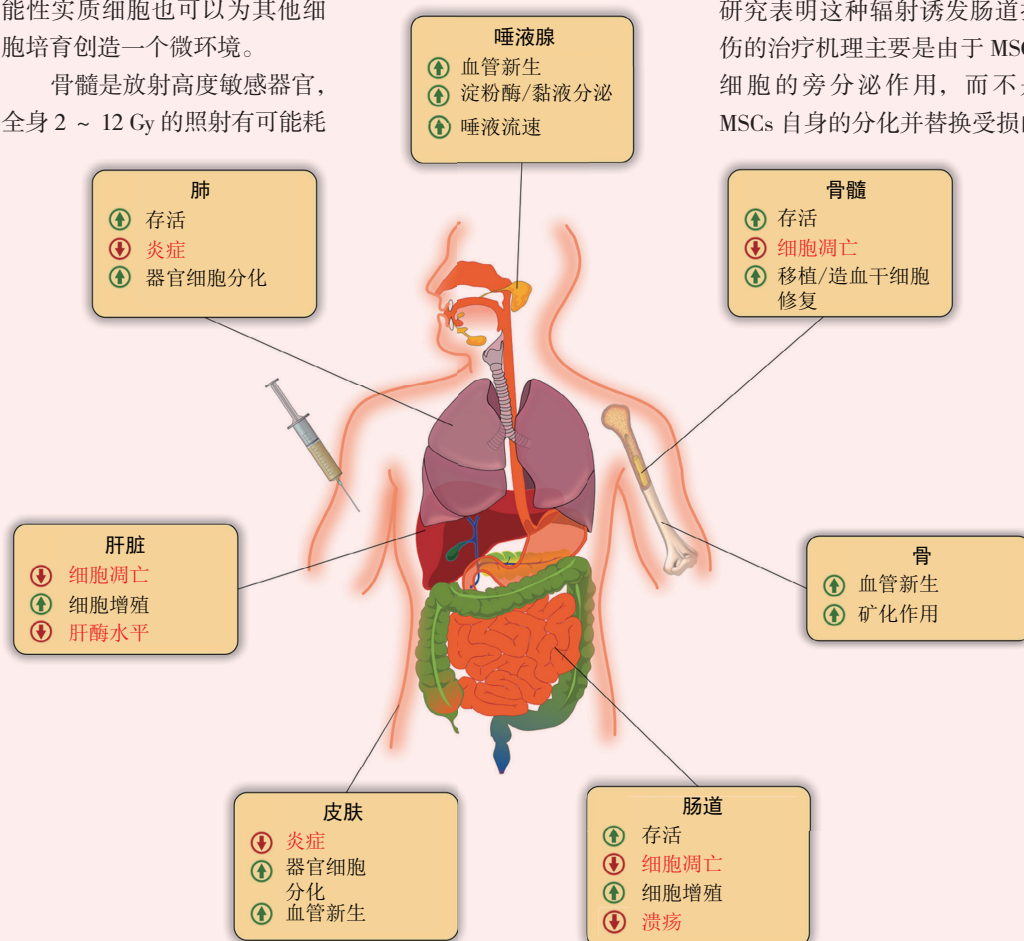


图1 基于MSCs器官组织特异性治疗的益处

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

## 间充质干细胞治疗放射性肺损伤

【据《Antioxidants Redox Signaling》2016年2月报道】题: 多能间充质干细胞治疗放射性肺损伤同时降低肿瘤的肺转移风险(作者 Diana Klein 等)

在癌症的治疗过程中, 放射疗法(RT)因其高效的杀伤和抑制肿瘤生长作用而扮演着重要角色。放疗的最终目的是减少或者清除肿瘤, 然而正常组织对射线的固有敏感性使其容易受到辐射损伤, 受照射后产生的副作用严重限制了照射剂量, 最终患者因未完全清除的肿瘤细胞在局部复发或远端转移而死亡。另外, 最新研究显示胸部照射可以促进残留肿瘤细胞在辐射损伤组织中的复发或转移。所以, 降低全胸腔照射(WTI)造成的肺内皮细胞损伤, 外皮细胞衰老, 调节照射引起的炎症因子紊乱, 降低癌症肺转移风险等是

亟待解决的难题。

该研究发现间充质干细胞(MSCs)可以治疗RT造成的放射性肺损伤, 同时也可以防止癌症肺转移。首先, 在小鼠模型中发现 WTI 造成的血管功能损伤会伴随肿瘤细胞的渗出和转移, 如图1。但是照射后给予 MSCs 治疗可以降低照射引起的内皮细胞中 Mmp2 (一种可以促进肿瘤细胞在肺部微血管中渗出扩散的蛋白) 过表达, 改善血管功能障碍, 减少肿瘤向受照组织的转移。同时发现单纯给予 Mmp2 的抑制剂(ARPI00)虽然可以改善血管功能, 但并不能像间充质干细胞一样防止放疗后的肺转移, 如图2。

因为 Mmp2 不仅涉及血管功能障碍和癌细胞侵袭转移, 还与细胞衰老相关, 所以该研究检测了小鼠模型中的衰老细胞。实验发现 WTI 会导致支气管上皮细

胞和浸润淋巴细胞的衰老, 照射后给予 MSCs 治疗可以有效减少 WTI 引起的细胞衰老, 如图3。

另外, WTI 也造成了肺部 Plau 和 Ccl2 (与免疫调节和转移相关蛋白) 在基因水平和蛋白水平的升高, MSCs 可以有效

调节这种 IR 导致的变化。因为 Ccl2 等蛋白与免疫调节密切相关, 所以 MSCs 通过调节 RT 诱导的肺部分泌蛋白变化, 改变了照射部位 CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>-</sup> 髓样细胞(报道称有促肿瘤生长潜能)的募集状态, 如图4。

小鼠模型中发现 MSCs 可以缓解放疗引起的肺血管内皮细胞损伤, 支气管上皮细胞衰老, 循环肿瘤细胞向受照部位的转移。所以, MSCs 疗法有望成为临床放疗后防护处理的有效策略。

(孙晓辉 刘强 报道)

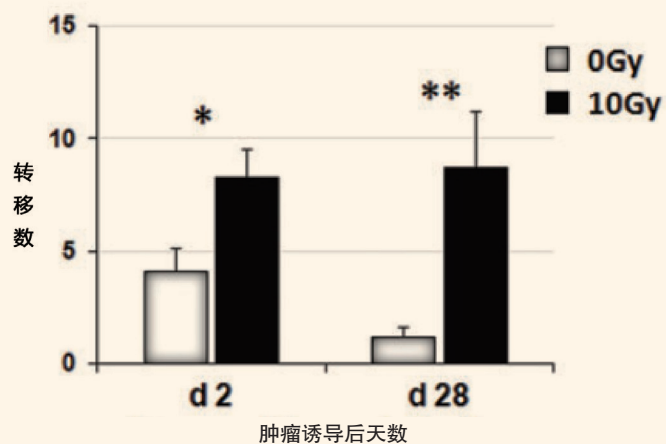


图1 小鼠肺转移模型中显示照射会促进肿瘤细胞 B16F10 的肺转移

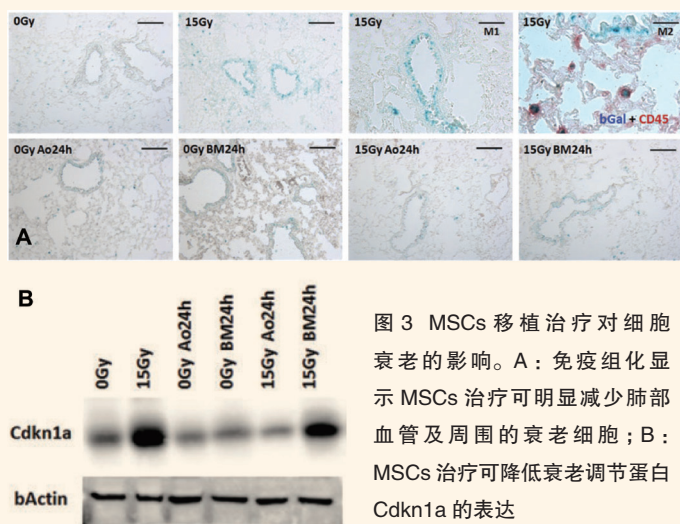


图3 MSCs 移植治疗对细胞衰老的影响。A: 免疫组化显示 MSCs 治疗可明显减少肺部血管及周围的衰老细胞; B: MSCs 治疗可降低衰老调节蛋白 Cdkn1a 的表达

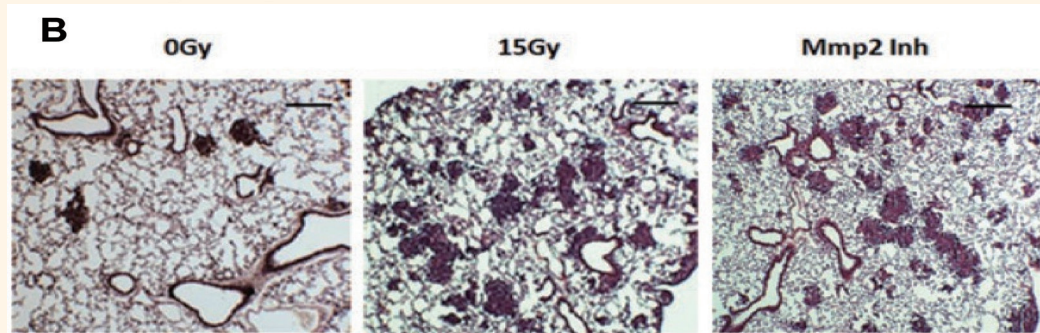
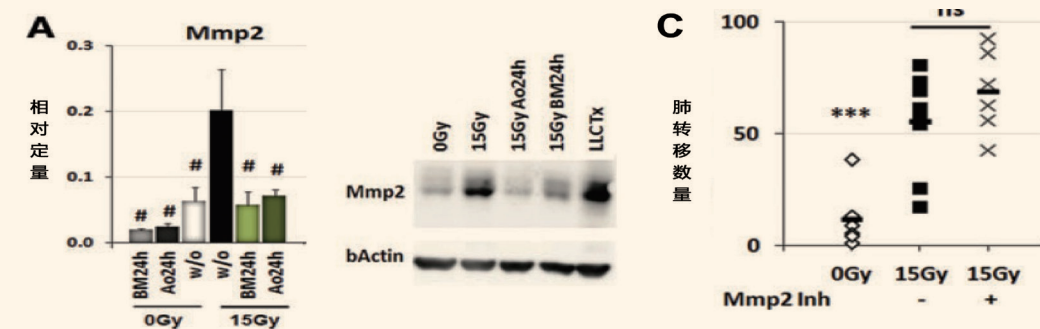


图2 MSCs 移植治疗对 Mmp2 表达的影响。A: MSCs 治疗可降低 Mmp2 在 mRNA 和蛋白水平的表达; B、C: 单纯给予 Mmp2 抑制剂不能改善癌细胞的肺转移

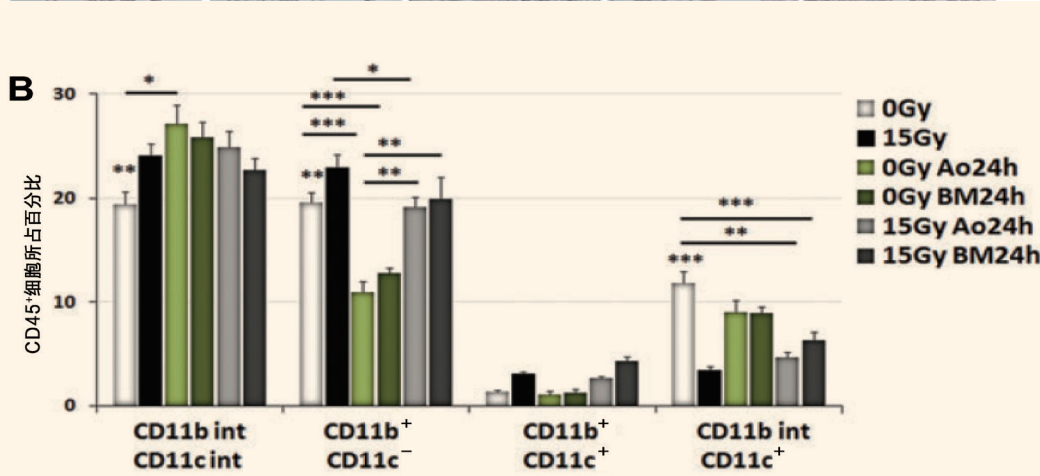
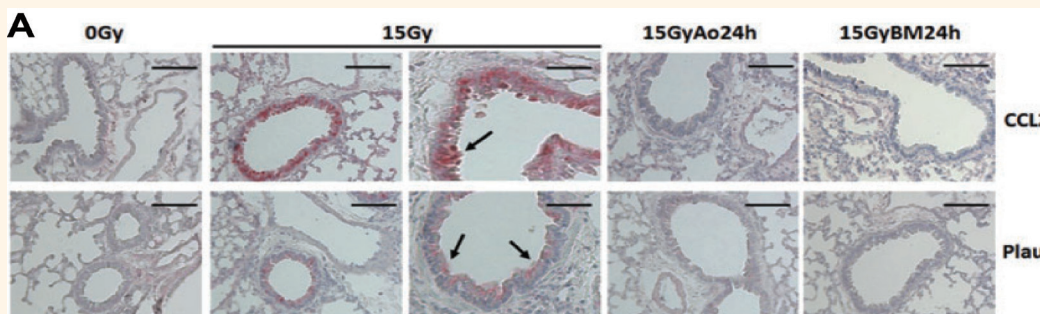


图4 MSCs 移植治疗对免疫调节和转移相关蛋白表达的影响。A: 免疫组化显示 MSCs 治疗降低 Plau 和 Ccl2 蛋白水平; B: MSCs 治疗可降低 CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>-</sup> 髓样细胞数量。

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: 曹雪涛等 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 潘自强 主 编: 马力文 副 主 编: 姜恩海 罗庆良 邹 跃 <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">刘长安</span> 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 冉新洋 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 龚治芬 李开宝 施仲齐 童 建 王桂林 王洪复 王继先 王文学 周湘艳						
社 址: 北京西城区红莲南路30号4层B0403 邮 编: 100055 总 机: 010-63265066		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							

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

## 脂肪来源的间充质干细胞治疗放射性肠损伤

【据《Journal of Pathology》2015年9月报道】题: TH17 T细胞应答脂肪来源间充质干细胞治疗辐射诱导肠损伤(作者Raphaelle Bessout等)

放疗是治疗盆腔恶性肿瘤的有效方法之一,但是会产生一系列的副作用损伤正常的组织,如辐射诱导的肠损伤。辐射诱导的结肠炎是一种恶性疾病,具有较高的发病率和死亡率。因此寻找有效的方法来治疗辐射诱导的肠损伤是亟待解决的问题。有证据表明,间充质干细胞是治疗多发性硬化

症等炎症性疾病的有效方法。该研究构建辐射诱导的肠损伤小鼠模型,注射脂肪来源的间充质干细胞(Ad-MSCs)探究疗效及其相关机制。

Ad-MSCs治疗会减少结肠中T细胞的浸润和T细胞IL17的表达(图1),改善肠功能,降低组织纤维化(图2),缓解肠损伤。体外实验表明IL17细胞因子和CD4 T细胞会直接作用于结肠平滑肌细胞诱导促炎性基因的表达,影响炎症进程和结肠黏膜的再生,促进辐射诱导的肠损伤(图3)。表明Ad-MSCs通

过调控辐射诱导肠损伤中TH17的分泌量和降低细胞外基质的重塑过程,缓解肠损伤。

预防和治疗放疗引起的副作用一直是医学界研究的热点和临床亟待解决的问题,该研究中通过Ad-MSCs治疗辐射诱导的肠损伤小鼠模型,结果表明Ad-MSCs可以通过调控免疫系统直接或间接的缓解辐射引起的肠损伤,恢复体内正常的微环境。Ad-MSCs疗法为放疗和核辐射事故造成的辐射损伤提供了新的视角。

(方连英 刘强报道)

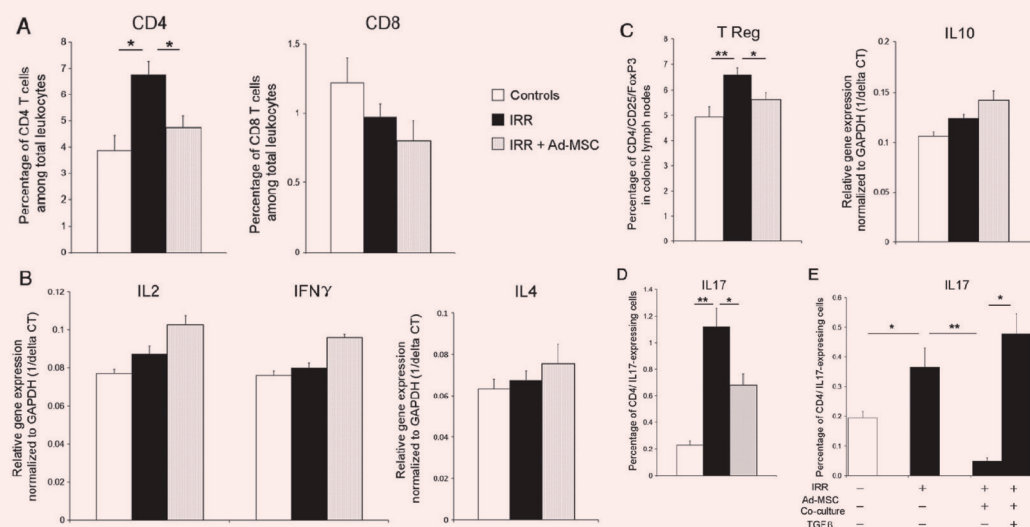


图1 Ad-MSC处理降低结肠局部照射后IL17的表达。A:流式分析定量照射4周后结肠中CD4和CD8淋巴细胞,发现MSC处理后CD4的数量减少。B:照射4周后Ad-MSCs处理组CD4细胞中IL2、IFN $\gamma$ 和IL4基因表达量增加。C:MSCs处理后,肠内调节性T细胞降低,IL10基因表达量增加。D:照射4周后Ad-MSCs处理组表达IL17的CD4<sup>+</sup>细胞百分比降低。E:Ad-MSCs处理组表达IL17的CD4<sup>+</sup>细胞百分比降低,但这种作用可被TGF $\beta$ 逆转。

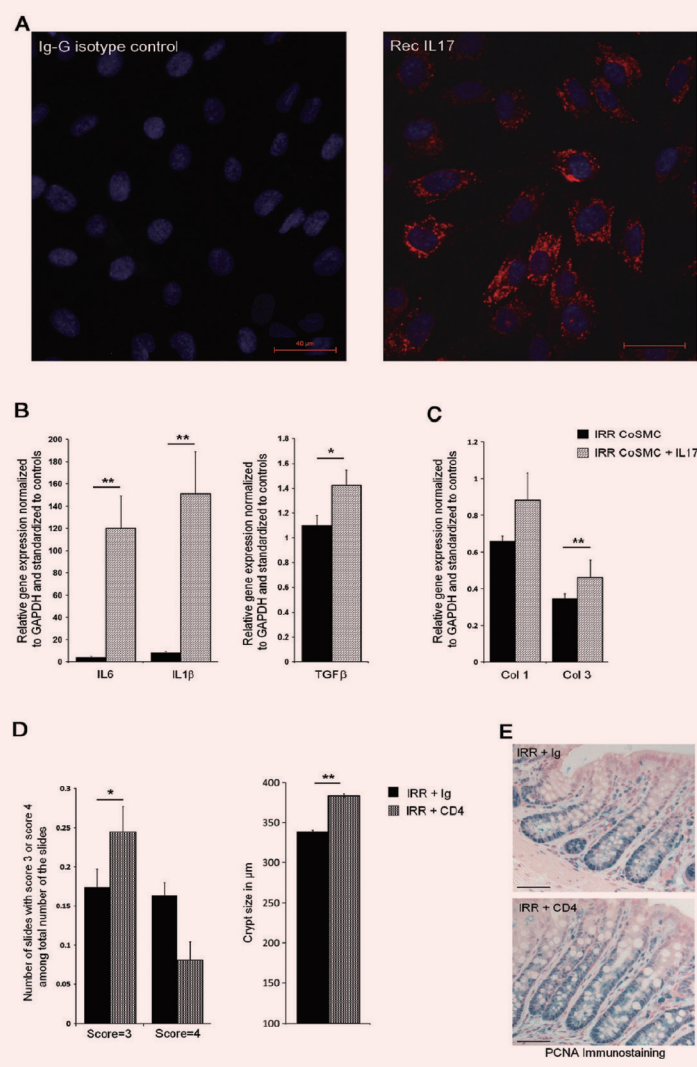


图3 IL17诱导炎症和基质重塑过程中基因的表达。A:CoSMC细胞膜IL17受体免疫荧光染色(右),IgG对照抗体染色(左)。蓝色表示细胞核;B、C:IL17激活CoSMC细胞48h和7天后IL6,IL1 $\beta$ ,TGF $\beta$ ,col1和col3的表达水平增加。D、E:分别注射CD4阻断抗体和不相关抗体抑制CD4 T细胞。图D中4分表示严重病变,3分表示中度病变,可见抑制CD4 T细胞会引起严重病变。图E中表示再生的结肠隐窝的PCNA免疫组化染色,可见处理后再生的结肠隐窝面积显著增大。

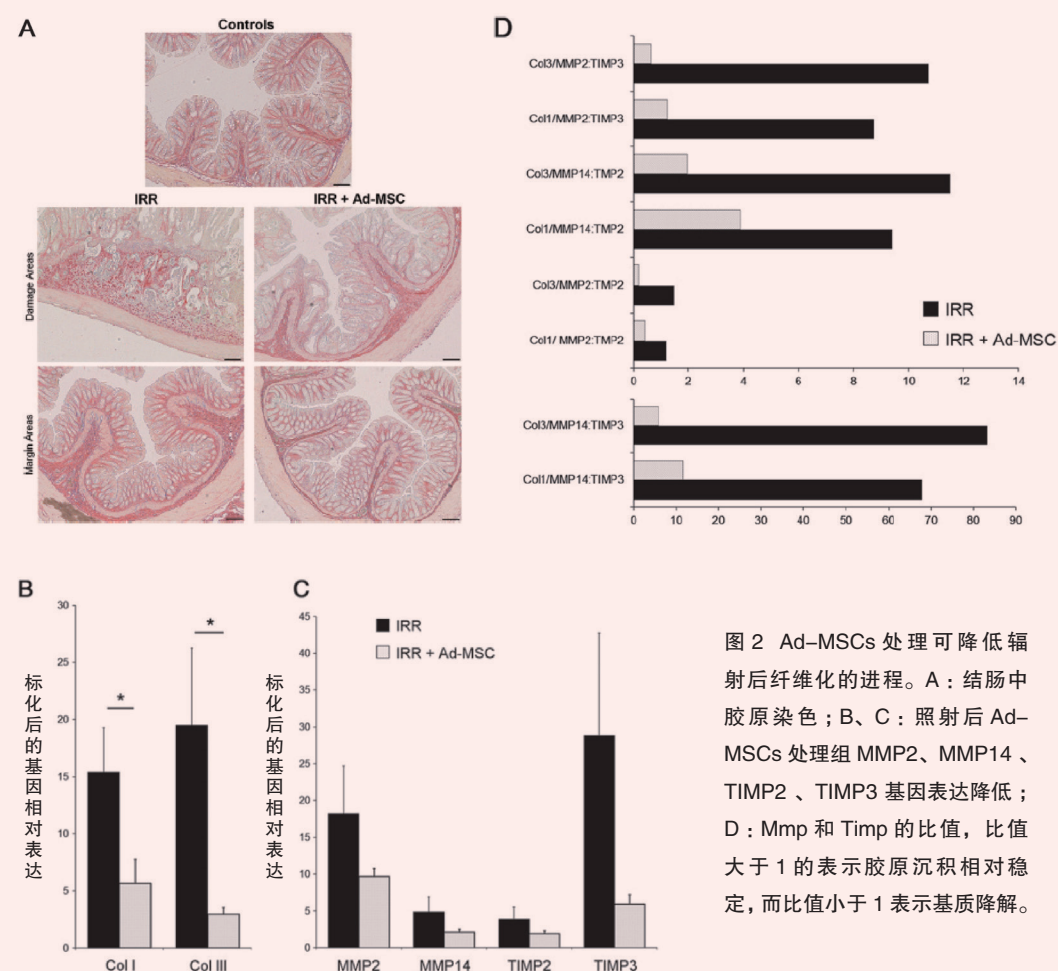


图2 Ad-MSCs处理可降低辐射后纤维化的进程。A:结肠中胶原染色;B、C:照射后Ad-MSCs处理组MMP2、MMP14、TIMP2、TIMP3基因表达降低;D:Mmp和Timp的比值,比值大于1的表示胶原沉积相对稳定,而比值小于1表示基质降解。

## 脂肪来源的干细胞抑制放射性肌肉组织纤维化

【据《Stem Cells Int》2016年2月报道】题:脂肪来源的干细胞通过抑制TGF- $\beta_1$ 的表达减轻辐射诱导的肌肉组织纤维化(作者Wei Sun等)

放疗已经被广泛应用于癌症的治疗中,但同时也造成了对正常组织的损伤。据了解,由放射性治疗能够引起的大多数组织和器官的纤维化病变(包括肌肉),由辐射引起的组织纤维化具有过度成纤维细胞增生以及胶原纤维降解两个明显的特征。总的来说,辐射所致的纤维化病变逐渐成为一种常见而且棘手的副作用,常会导致病患肌肉疼痛以及功能的减退。

最近,脂肪来源的干细胞(ASCs)由于其强大的增殖能力以及多向分化能力,被用于退行性疾病的治疗。在一定条件下,ASCs能够分化成不同类型的细胞,如脂肪细胞、肌肉细胞和成骨细胞等。针对不同程度的辐射损伤,选择合适的干细胞类型,刺激受损部位的组织再生是一种切实可行的方法。该研究采用ASC细胞修复辐射对骨骼肌的损伤,由图1和图2可见,ASCs能够抑制辐射诱导的胶原纤维增生,对照后的辐射诱导的肌细胞纤维化起到了一定的修复作用。研究者同时证明ASCs的抑制纤维化功能与其抑制TGF- $\beta_1$ 的表达相关(图3)。

下转第6版

## 照射改变骨髓间充质干细胞的分化潜能

【据《Molecular Medicine Reports》2015年10月报道】题: 照射改变骨髓间充质干细胞的分化潜能 (作者 Yu Wang 等)

放疗是肿瘤患者有效的治疗方法之一。近年来随着肿瘤诊治水平的不断提高, 患者的生存期得到了有效的延长。然而, 放疗可以引起正常组织的近、远期损伤。在生存期延长的条件下对于预防放疗的不良反应提高生存质量则成为了一个至关重要的问题。骨骼是

放疗后最易受累的系统。一项6,428例绝经后女性接受放疗后骨盆骨折的发生率高达65%~216%。放疗后骨骼的不良反应在乳腺癌、脑瘤、血液系统恶性肿瘤中都有报道, 表现主要包括骨痛、病理性骨折及造血功能障碍等。

骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 向成骨及脂肪细胞的分化是维持骨髓正常微环境的关键。一直以来人们都认为骨髓里成骨细胞和脂肪细胞以

相反的关系存在。但是两者之间的关系尚不明确。图1表明BMSCs对于照射比较敏感。

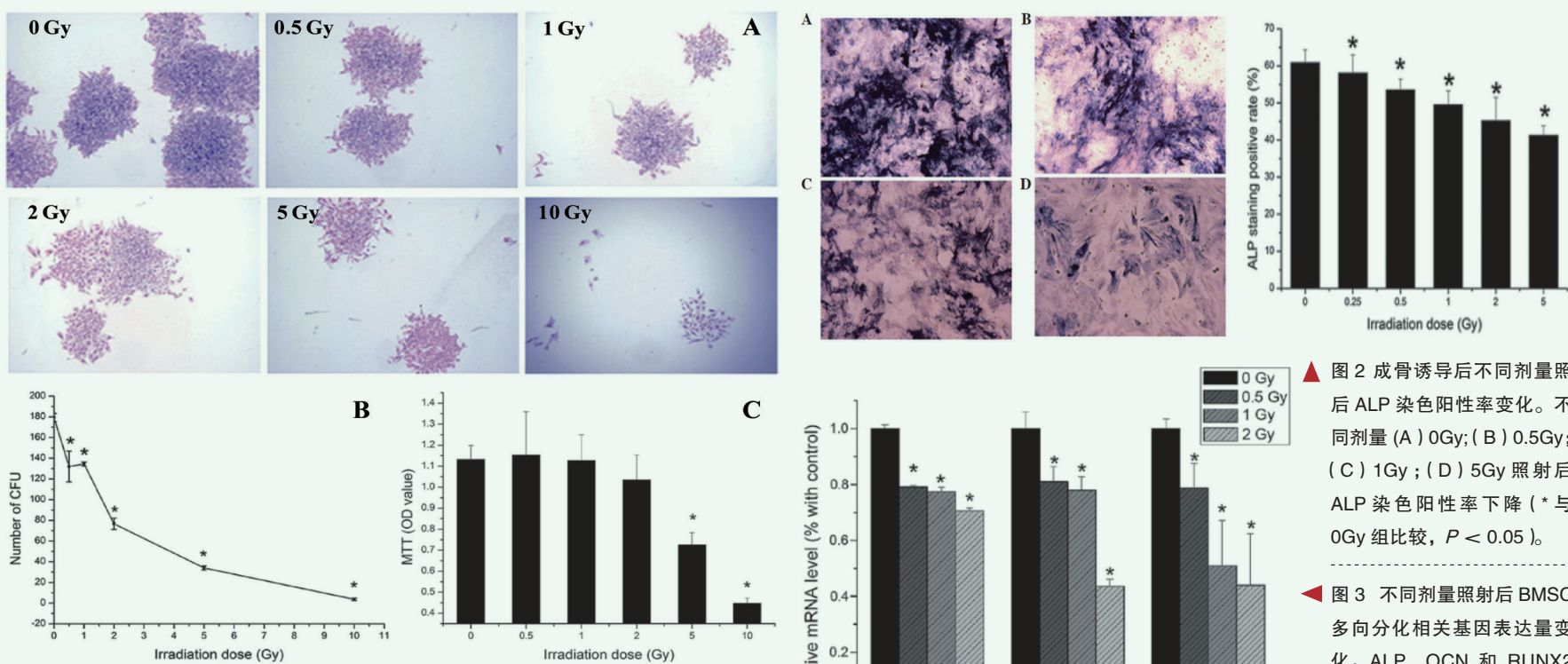
该研究发现照射可能抑制BMSCs向成骨细胞的分化(图2), 但对于脂肪细胞的分化则作用不明显。研究者进一步在mRNA水平及蛋白水平进行了BMSCs分化的验证(图3)。结果显示BMSCs向成骨细胞分化的重要转录因子RUNX2和OCN无论是在mRNA水平还是蛋白水平在照射之后的表达量均下降, 这表明无

论是早期还是晚期阶段照射对于成骨细胞的分化是抑制的。而脂肪细胞分化过程中重要的转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) 的变化则没有统计学意义。因此, 此研究不支持放疗后出现的骨髓容积减小、脂肪比例增高是由于放疗后BMSCs向成骨及脂肪细胞分化的比例差异的假说。尽管这与之前的研究不同, 但是Justesen等关于年轻及老年正常供者BMSCs的脂肪细胞形

成比例相似, 且无年龄相关性的报道与此研究一致。

对于此研究结果的解释可能是成骨及脂肪形成的调节过程是相互独立的。故探讨脂肪代谢及骨代谢的机制是进一步研究的关键。骨髓照射后综合征严重影响着肿瘤患者的生存质量, 因此深入探讨骨损伤的机制对于MSC分化和骨质疏松疾病治疗提供新思路进而减少相关病理性骨折的发生有重要意义。

(陈琳 刘强 报道)



## 辐射诱导的远位骨流失与骨髓干细胞功能障碍

【据《Journal of Orthopaedic Surgery and Research》2016年1月报道】题: 辐射诱导的远位骨流失与骨髓干细胞功能障碍 (作者 Qiong Zou 等)

接受放射治疗的癌症患者通常会出现非照射区域的骨相关并发症, 如骨质减少、骨质疏松等, 被称为辐射远位效应, 其机制目前知之甚少。当癌症患者接受放射治疗时, 局部骨和骨髓受到照射, 单独给予骨照射后, 通过骨髓可引起照射野外的骨骼改变。

该研究采用4月龄SD雄性大鼠, 右侧股骨远端/胫骨近端接受<sup>137</sup>Cs源 $\gamma$ 射线照射, 剂量为20Gy。分别于照射后的2周和12周, 显微CT检测受照区及对侧非受照区的骨小梁结构的变化(图1), 发现照射后骨小梁明显疏松。该研究同时发现照射后受照区及对侧非受照区的脂肪细胞增多, 骨量减少(图2); 成骨细胞减少(图3); 骨髓干细胞Runx2和PPAR $\gamma$ 在转录和翻译水平的表达均明显降低(图4), 表明骨髓干细胞在向成骨细胞分化和调节脂肪存储的功能出现障碍。

总之, 辐射诱发的骨骼并发症是多因素导致的, 且具有时间依赖性。当前的单股骨和胫骨照射模式, 成骨细胞的活化、成骨能力下降、骨髓脂肪细胞增多, 可能是照射后骨并发症的关键因素。骨髓干细胞在未照射区和受照区表现出相同变化, 这将激发研究人员的广泛兴趣, 进一步机制研究非常必要。例如: 从细胞水平评估骨髓的变化, 并研究照射后照射区和非照射区骨髓干细胞发育情况, 将是今后研究的热点。

(郭梦征 刘强 报道)

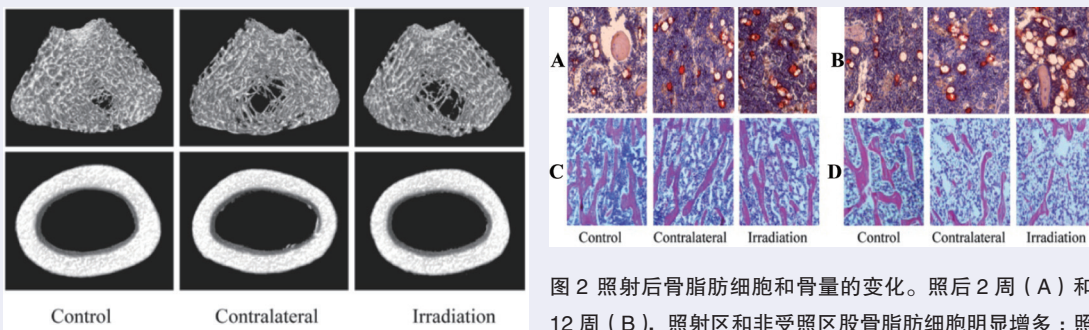


图1 照射后骨小梁的改变。与对照组相比, 照射12周, 受照区股骨小梁和未受照的对侧股骨小梁明显降低。

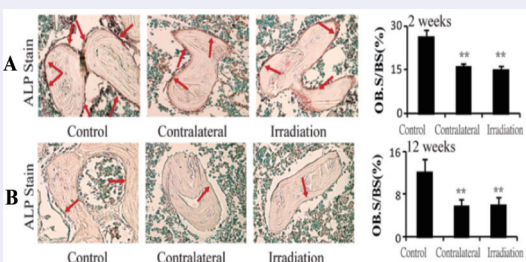


图3 照射后成骨细胞的变化。照射2周(A)和12周(B), 免疫组化方法检测成骨细胞(碱性磷酸酶), 发现照射区和对侧非照射区ALP染色阳性的成骨细胞明显减少 (\*\* $P < 0.01$ )。

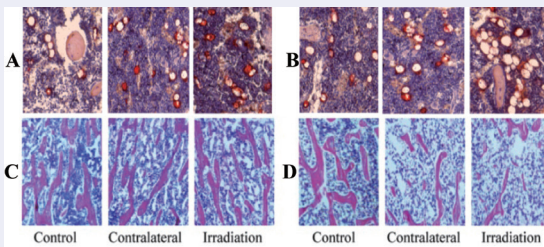


图2 照射后骨髓脂肪细胞和骨量的变化。照射2周(A)和12周(B), 照射区和非照射区股骨脂肪细胞明显增多; 照射2周(C), 照射区和非照射区骨量未见明显改变, 而照射12周(D), 股骨骨量明显减少。

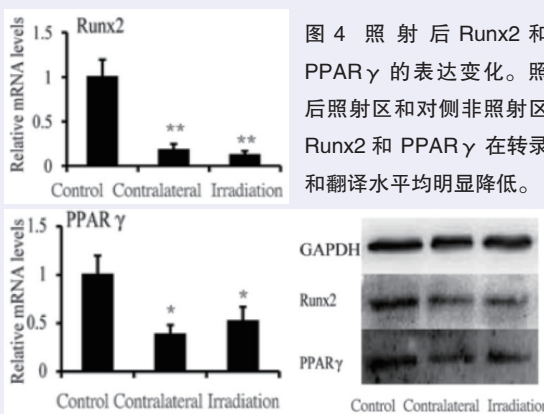


图4 照射后Runx2和PPAR $\gamma$ 的表达变化。照射后照射区和对侧非照射区Runx2和PPAR $\gamma$ 在转录和翻译水平均明显降低。

## 炎症因子激活 MSCs 的旁分泌效应用于放射性肠损伤的治疗

【据《Scientific Reports》2015年3月报道】题: TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 NO 活化间充质干细胞能增强 MSCs 的旁分泌效应对放射性肠损伤的治疗作用(作者 Hao Chen 等)

在腹部肿瘤放疗中, 肠道常被受累, 破坏肠道细胞, 导致肠上皮损伤, 产生炎症反应, 使肠道失去屏障作用, 目前, 临床上尚无较好的方法来解决放射性肠损伤。近些年, 间充质干细胞 (MSCs) 治疗技术的

发展给组织损伤的治疗带来了希望。

研究表明, MSCs 的旁分泌作用, 释放多种细胞因子, 保护组织, 避免损伤, 而炎症因子可增强 MSCs 的旁分泌作用。研究人员利用辐射诱导炎症反应, 用炎症因子活化骨髓源性 MSCs, 将活化 MSCs 的培养基 (MSC-CM<sup>IEC-6 (IR)</sup>) 注入腹部辐照小鼠体内, 提高了小鼠的生存率, 并且减轻肠损伤, 促进肠上皮细胞修复, 减少肠

隐窝细胞凋亡 (图 1), 同时促进 Lgr5 和 Bmi1 肠干细胞的再生增殖 (图 2、图 3)。辐射所致的全身及黏膜炎症反应, 在 MSC-CM<sup>IEC-6 (IR)</sup> 作用下有所减轻。进一步研究表明, MSCs 在炎症环境下分泌的蛋白质组分发生改变, 促炎因子、部分生长因子和趋化因子显著增加, 其中 IGF-1 在调节辐射诱导的肠损伤中发挥重要作用。

在放射性肠损伤中, 活化的间充质干细胞通过旁分泌,

产生的分泌组分有利于肠细胞的再生与增殖, 能够抑制凋亡和炎症反应。但 MSC-CM 中的炎症因子对于治疗来说含量是极少的, 所以能有效地浓缩炎

性因子是应用于临床的关键。在今后的研究中, 希望能发现有效的提取方法, 使间充质干细胞更好地应用于放射性肠损伤的治疗。(王爽 刘强 报道)

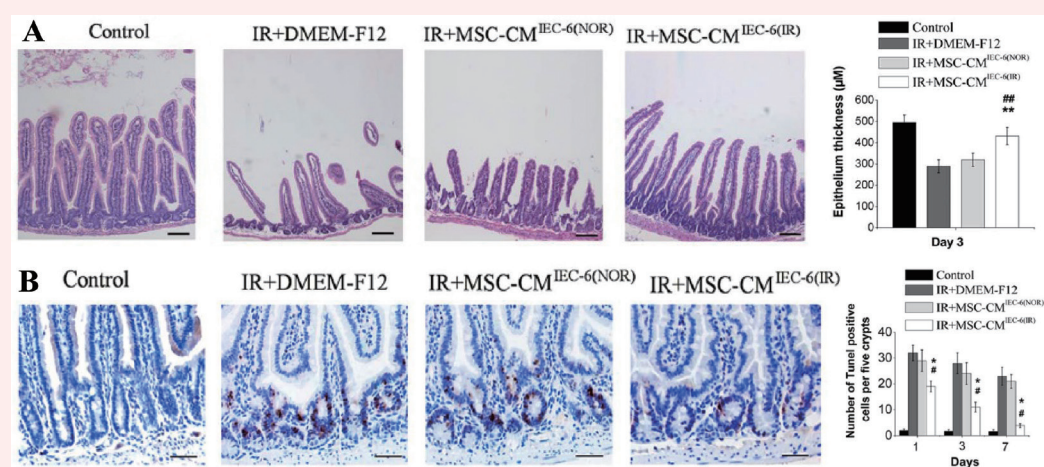


图 1 活化 MSC 的条件培养基促进肠损伤修复。A: 活化 MSC 的条件培养基明显改善小肠上皮损伤; B: 活化 MSC 的条件培养基明显减少肠隐窝细胞凋亡。DMEM-F12: 对照培养基; FB-CMIEC-6 (IR): 辐射诱导成纤维细胞条件培养基; MSC-CMIEC-6 (NOR): 正常 MSC 条件培养基; MSC-CMIEC-6 (IR): 活化 MSC 的条件培养基; IEC-6: 肠上皮细胞-6。

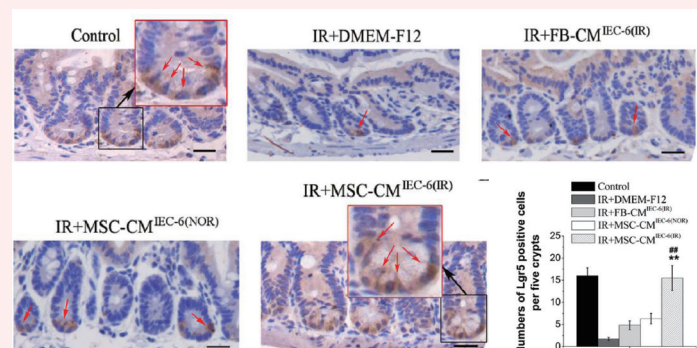


图 2 活化 MSC 的条件培养基促进 Lgr5 肠干细胞的修复。活化 MSC 的条件培养基明显促进 Lgr5 肠干细胞的增殖和修复, 单位隐窝内的 Lgr5 细胞数明显增加。

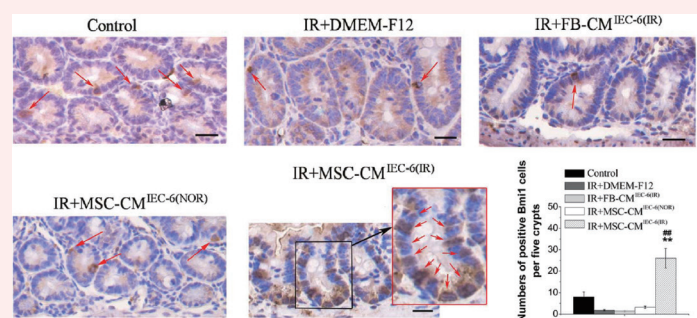


图 3 活化 MSC 的条件培养基促进 Bmi1 肠干细胞的修复。活化 MSC 的条件培养基明显促进 Bmi1 肠干细胞的增殖和修复, 单位隐窝内的 Bmi1 细胞数明显增加。

## 果胶可提高照后肠隐窝干细胞的存活

【据《PloS One》2015年8月报道】题: 食用果胶可提高辐射损伤后肠隐窝干细胞存活率(作者 Sripathi Sureban 等)

目前, 放射疗法是恶性实体瘤的三大治疗措施之一, 但电离辐射所伴发的严重副作用也很常见, 主要表现为肠黏膜损伤。正常肠上皮细胞处于持续、快速更新状态, 由肠隐窝干细胞不断增殖、分化形成。Dclk1 (Doublecortin-like Kinase 1) 是一种微管相关蛋白激酶, 主要由肠隐窝+4位静息状态细胞表达, 是肠隐窝干细胞的标志物。最近, 研究者发现小肠和结肠 Dclk1 基因阴性表达的小鼠接受高剂量全身电离辐射后自我修复能力减弱, 并且存活时间减短。此外, 研究者还发现 Dclk1 可以作为评价高剂量照射后 24h 时肠隐窝存活状态的标志物。果胶是一种复杂的纤维多糖, 广泛存在于植物细胞的细胞壁。有研究报道, 饮食果胶可减缓小鼠结肠癌的增长速度, 但果胶的辐射防

护作用及对干细胞存活率的影响仍不明确。该研究旨在探索果胶是否对电离辐射时肠干细胞、肠隐窝以及小鼠存活率有防护作用。

### 1. 果胶提高辐射损伤后肠隐窝的存活率

小鼠饮食果胶一周后接受 14Gy 高剂量电离辐射, 发现饮

食果胶组的肠隐窝数量是单独接受电离辐射组的 4.5 倍 (图 1)。然而, 照射后给予果胶的小鼠, 没有发现肠隐窝数目有明显变化。

### 2. 果胶提高辐射损伤后小鼠的存活率

照射前给予小鼠果胶, 正常饮食组小鼠的存活天数

平均为 6.7 天, 而食用果胶组的小鼠平均存活天数超过 10 天。为了探究果胶食用时间对辐射损伤治疗作用的影响, 另一组小鼠照射后开始饮食果胶, 结果显示正常饮食组小鼠平均存活天数为 5.5 天, 而饮食果胶组存活天数平均为 6.5 天, 且两组之间的差异有统计学意义。

### 3. 果胶对肠干细胞有辐射防护作用

小鼠照射后 24h, 荧光染色分析小肠 Dclk 阳性细胞数。结果显示单独照射组每视野内 Dclk 阳性细胞数平均为 6.6 个, 而预先饮食果胶组 Dclk 阳性细胞数平均为 11.3 个。这一结果提示果胶具有辐射防护作用, 可减轻电离辐射对小肠干细胞的损伤 (图 2)。

### 4. 果胶上调肠干细胞相关基因

鼠全身 14Gy 照射后 24h 提取小肠 RNA, 分析 Dclk1、Msi1、Lgr5、Bmi1 和 Notch1 等干细胞相关基因的表达量。结果显示预先饮食果胶组小鼠干细胞相关基因表达水平明显上调 (图 3)。

### 5. 结论

对于腹腔盆腔放射治疗, 小肠是辐射损伤的高危器官。预防或治疗辐射所致严重并发症对提高患者生活质量, 甚至通过增加放疗剂量改善癌症预后具有重要意义。该研究揭示果

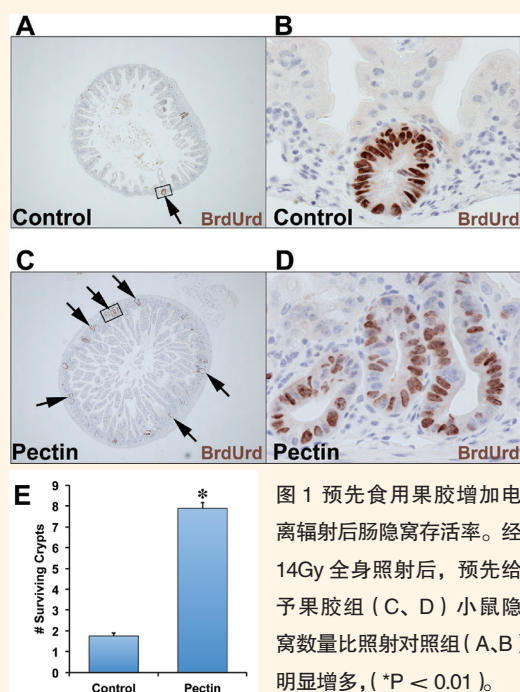


图 1 预先食用果胶增加电离辐射后肠隐窝存活率。经 14Gy 全身照射后, 预先给予果胶组 (C、D) 小鼠隐窝数量比照射对照组 (A、B) 明显增多, (\*P < 0.01)。

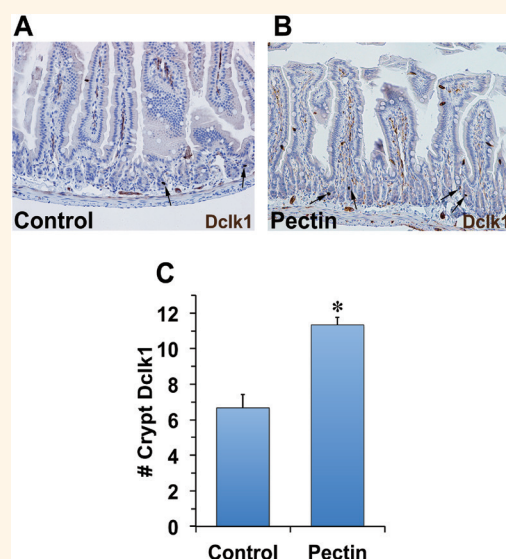


图 2 预先饮食果胶可提高小鼠照射后肠干细胞的存活率。预先给予果胶组 (B) Dclk 阳性细胞数明显高于单独照射组 (A), (\*P < 0.01)。

下转第 8 版 ▶

## 间充质干细胞的辐射抗性机制及其临床应用潜力

【据《Oncotarget》2015年7月报道】题: 辐射抗性间充质干细胞: 机制及其对临床的潜在影响 (作者 Nils Nicolay 等)

Friedenstein 等于 1974 年首次从小鼠骨髓中分离出间充质干细胞 (MSCs), 目前可从血管、脂肪和皮肤组织、肾、脐带以及胎盘中被检测和分离出来。MSCs 为纺锤状细胞, 能够分化为脂肪细胞、成骨细胞和成纤维细胞。研究表明, MSCs 具有辐射抗性, 在 DNA 损伤的有效识别、双链断裂修复以及凋亡逃逸中发挥重要作用, 并且其在高剂量的电离辐射后仍能保持干细胞特性。MSCs 具有再生潜能, 因而有望为辐射诱发的组织损伤提供有效的治疗手段。

电离辐射通过能量转移产生多种不同的 DNA 损伤。其中, 碱基损伤或单链断裂最常见, DNA 双链断裂是导致细胞死亡的主要病因。迅速识别和修复 DNA 损伤是细胞恢复的关键; 不能修复会导致细胞死亡, 错误修复会导致突变和基因组不稳定的积累。因此, 多数细

胞具有错综复杂的 DNA 损伤信号网络。

电离辐射导致的 DNA 双链

断裂会导致关键基因组信息的丢失, 其快速和有效的修复对于维持细胞的完整性和存活非

常重要。DNA 双链断裂主要通过非同源末端连接 (NHEJ) 和同源重组 (HR) 两种途径来修复 (图 1)。

NHEJ 途径中, 异源二聚体 Ku 蛋白复合物识别和标记断裂链。Ku 接着结合和招募 DNA 依赖性蛋白激酶催化亚基 (DNA-PKcs) 到双链断裂处。DNA-PKcs 具有弱的激酶活性, 可自磷酸化, 也能磷酸化多种其他修复因子。没有突出端或者链末端修饰的双链断裂能够被 NHEJ 途径连接并准确修复。具有辐射诱导断裂的末端修饰在重新连接之前通常需要末端加工。最后, 因末端加工产生的缺口可被 DNA 多聚酶  $\mu$  和  $\lambda$  填补, 由 DNA 连接酶 IV 和 XRCC4 构成的 X4L4 蛋白复合物进行连接。

HR 修复途径通过使用姐妹染色单体作为模板来进行保守的 DNA 断裂修复。HR 修复途径的前提是 Mre11、Rad50 以及 Nbs1 蛋白形成 MRN 复合物。MRN 复合物在两个链末端组装并且招募 ATM 激酶, 磷酸化多

种下游蛋白。类似 NHEJ, HR 期间多种蛋白参与链末端加工, 包括 Exo1、BLM 以及 BRCA1, 并且产生单链末端。Rad51 蛋白多聚体覆盖链末端, 检测姐妹染色单体的同源域。Rad51 包被的链进入姐妹染色单体中, DNA 聚合酶  $\eta$  或者  $\delta$  从 3' 末端开始延伸链。基于模板的链延伸完成之后, 修复链被替代并且重新退火。第二条断裂的链可能被同源序列捕获从而形成双霍利迪连接体 (Double Holliday Junction)。最后 DNA 连接酶完成链的连接。

研究表明, MSCs 能够迅速、有效地识别辐射诱发的 DNA 损伤, DNA 双链末端修复与 MSCs 的辐射抗性有关。此外, 抗凋亡蛋白的高水平表达会导致细胞凋亡逃逸, 但是其在衰老和自噬中的作用仍需要深入探究。MSCs 的辐射抗性使其有望为辐射诱发的组织损伤提供治疗手段。但是, 在放疗中对肿瘤的潜在保护作用仍需进一步研究。

(孔阳 刘强 报道)

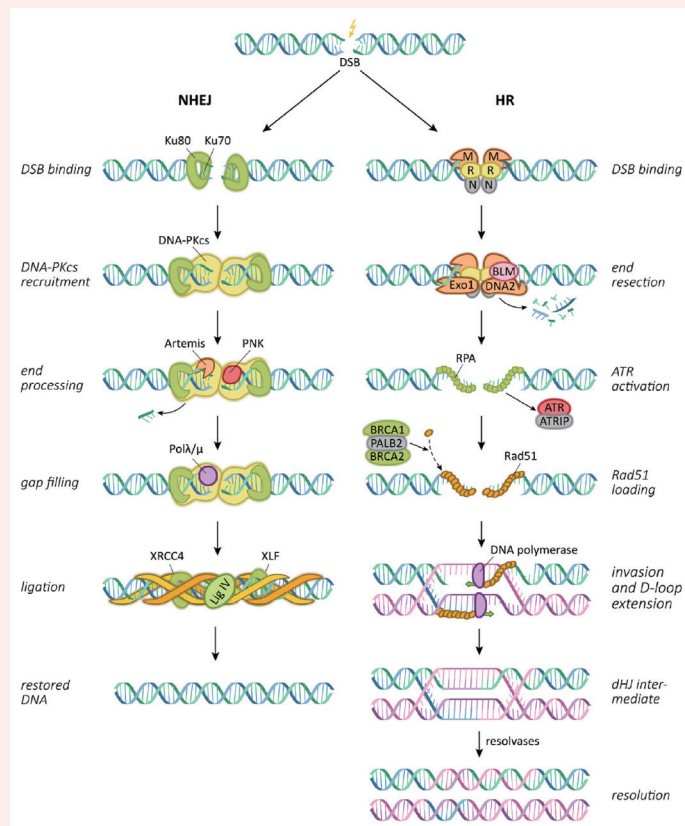


图 1 参与电离辐射诱发的 DNA 双链断裂修复的主要途径和蛋白。NHEJ: 非同源末端连接; DSB: 双链断裂; HR: 同源重组。

### 上接第 3 版

众所周知, 较高剂量的辐射对骨骼肌有明显损伤作用。采用干细胞疗法对于辐射损伤的治疗是现今较为热门且可行的方法。该研究从组织结构上分析了 ASCs 对肌肉组织的保护作用, 并没有从其细胞死亡的途径方面说明相关问题。研究者就 TGF- $\beta_1$  的表达水平与胶原增生之间的关系进行深入的机制研究, 采用基因敲除动物, 探索 ASCs 在 TGF- $\beta_1$  信号通路中发挥的作用及其对肌肉组织纤维化的预防、治疗机制。(姚明 刘强 报道)

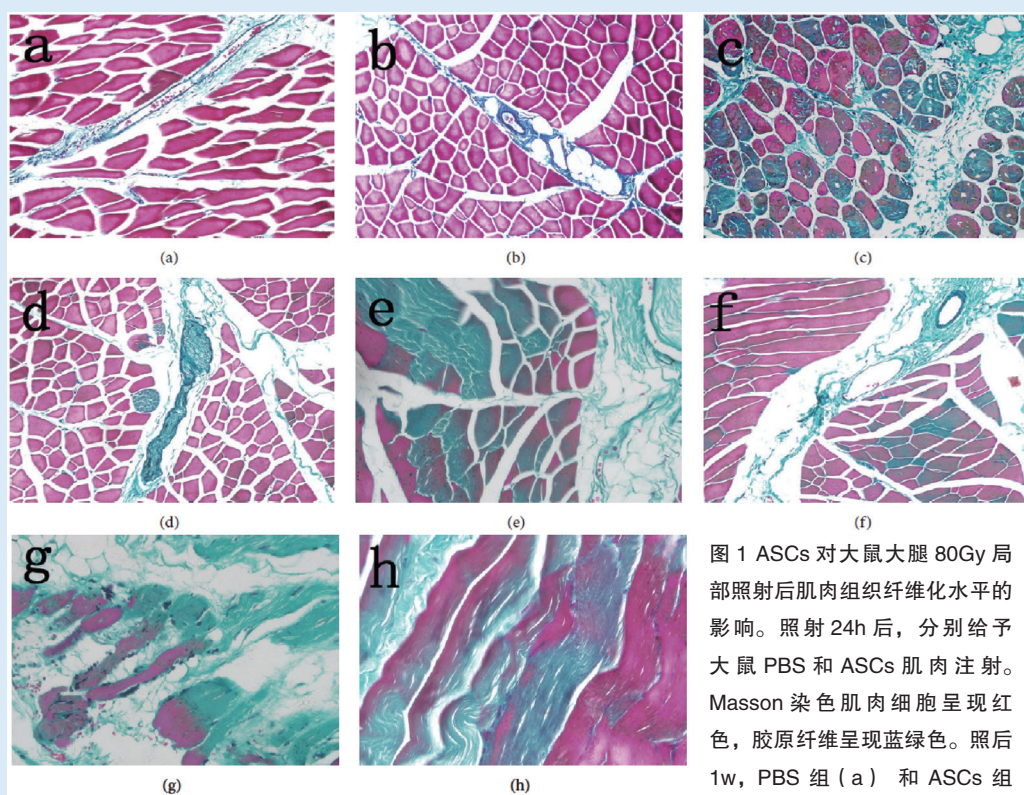


图 1 ASCs 对大鼠大腿 80Gy 局部照射后肌肉组织纤维化水平的影响。照射 24h 后, 分别给予大鼠 PBS 和 ASCs 肌肉注射。Masson 染色肌肉细胞呈现红色, 胶原纤维呈现蓝绿色。照后 1w, PBS 组 (a) 和 ASCs 组 (b) 大鼠肌纤维轻度肿胀, 排列完整有序, 可见少许胶原纤维存在于肌细胞间质; 照后 4w, PBS 组 (c) 肌纤维明显肿胀, 胶原增多, 明显重于 ASCs 组 (d); 照后 8w, PBS 组 (e) 与 ASCs 组 (f) 比较, 肌纤维变性、坏死和胶原增多更加明显; 照后 26w, PBS 组 (g) 肌纤维坏死水平明显高于 ASCs 组 (h)。说明 ASCs 对照后的辐射诱导的肌细胞纤维化起到了一定的修复作用。

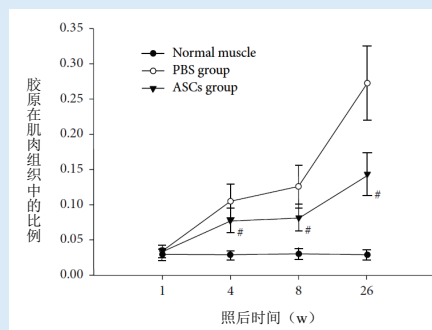


图 2 照后不同时间胶原纤维在肌肉组织中所占的比例。可见 ASCs 组的胶原纤维明显减少, 说明 ASCs 能够抑制辐射诱导的胶原纤维增生。

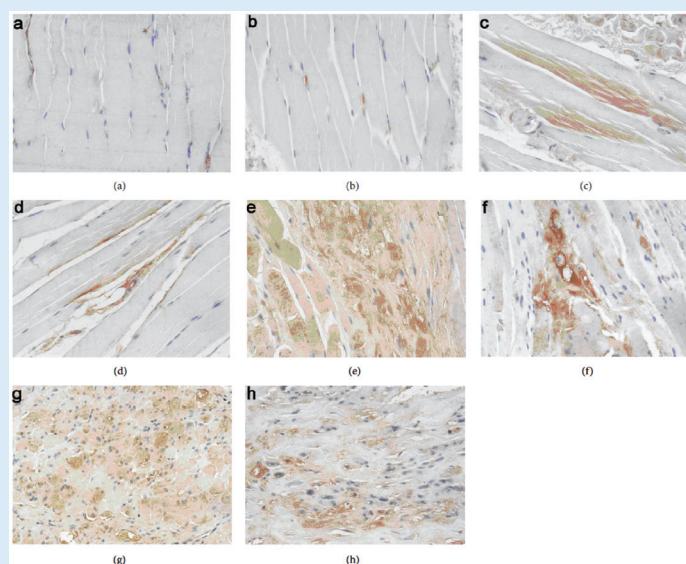


图 3 免疫组化观察照后不同时间 TGF- $\beta_1$  的表达水平。照后 1w, PBS 组 (a) 和 ASCs 组 (b) 均未见明显的 TGF- $\beta_1$  表达; 而 PBS 组 (c、e、g) 和 ASCs 组 (d、f、h) 均分别在照后 4、8、26w 均出现不同程度的 TGF- $\beta_1$  表达量升高, PBS 组的表达量明显高于 ASCs 组。说明 ASCs 可能通过降低肌肉组织中 TGF- $\beta_1$  的表达水平, 抑制胶原纤维的增生, 从而起到治疗作用。

## 干细胞微泡移植可改善放射性脑损伤的认知功能和神经病变

【据《PNAS》2016年2月报道】题：颅内移植干细胞来源的微泡可改善放射性脑损伤的认知功能和神经病变（作者Janet Baulcha等）

放疗带来的正常组织损伤并发症，给肿瘤患者的生存质量带来较大影响。对于接受颅内肿瘤放疗的患者，放疗后的认知功能障碍仍然是目前非

常紧迫医学难题。几十年来，研究人员一直致力于这方面的研究，但仍然没有令人满意的解决方案。研究者所在实验室前期的工作已经证明，在受照射的大脑中，人类神经干细胞移植已获得较为满意的效果，在海马内移植人类神经干细胞可以改善辐射导致的认知障碍。该研究给予6月龄的无胸

腺大鼠颅内照射（0、10Gy），2天后进行人神经干细胞来源的微泡海马移植。移植后一个月，接受微泡注射的大鼠表现出显著的认知改善，在新地点辨别、新物品辨别、目的地识别等方面均明显优于单纯照射组。免疫荧光观察显示，微泡移植后从海马背部向腹部迁移，并被神经元和胶质细胞摄取（图1），而且降低了

小胶质细胞的活化。同时研究者发现微泡移植可以保护海马齿状回的颗粒细胞神经元（图2）。

该研究显示，在大鼠颅内照射后，人类神经干细胞来源的微泡颅内移植，可提供类似干细胞的神经保护作用，可以较好地解决照射带来的皮质和海马功能损害。众所周知，干细胞治疗虽然有效，

但还是存在可能的风险，如机体的免疫反应或改变现存肿瘤生长等，而利用微泡治疗的风险则小得多。该研究结果也提示，在未来还需进一步开展研究以便鉴定出微泡内产生这种神经保护效应的特异性因子，确定这些有益效果能够持续多长时间等。（李晴刘强报道）

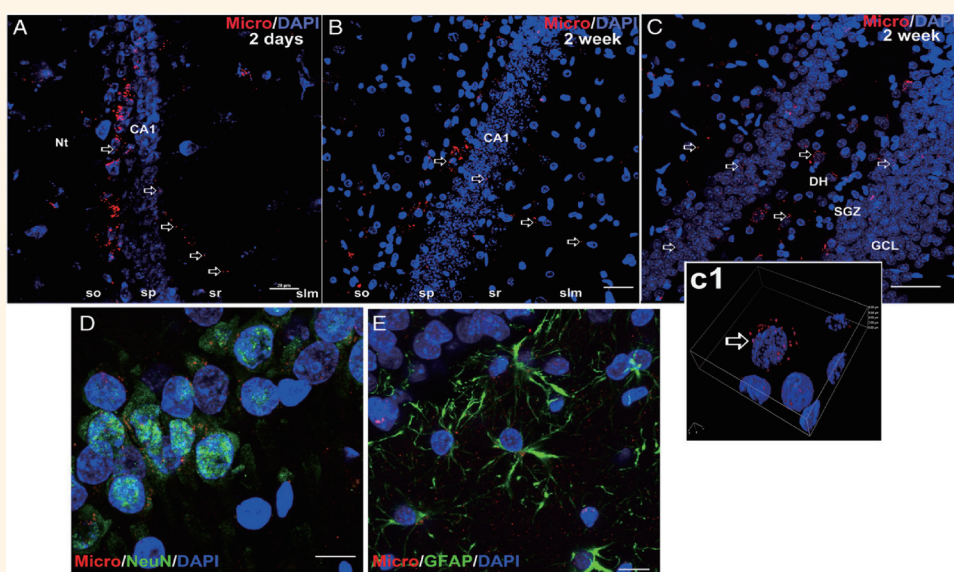


图1 微泡移植后在脑中的分布。A：移植后2天，大部分微泡聚集于注射瘢痕附近，并从背部向CA1区迁移；B：移植后2周，微泡依旧广泛分布于CA1区域；C：微泡逐渐迁移至海马齿状回、颗粒细胞层和颗粒下层。高倍图像显示，微泡很可能和细胞质相联系（C1）。D、E：免疫荧光染色显示，成熟神经细胞和星形胶质细胞吸收了微泡。

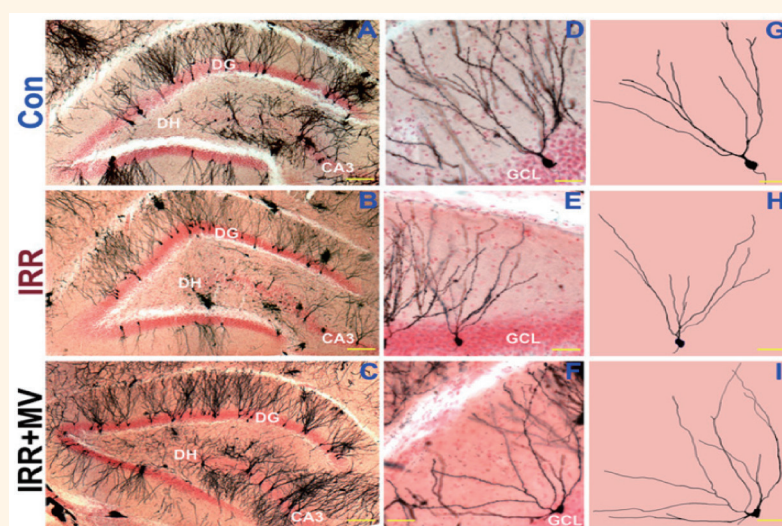


图2 微泡移植可以保护海马齿状回的颗粒细胞神经元的形态。A~C：对照组、照射组、照射+微泡组的海马组织切片显示，经过照射之后的海马齿状回神经元（黑色）结构被破坏，而接受微泡移植之后明显恢复；D~F：显示颗粒细胞下层的神经元；G~I：显示各组对应的神经轨迹。可见照射导致的树状神经细胞形态的损伤可以被微泡移植明显改善。

## 人类神经干细胞移植促进海马神经元的长期修复

【据《Cell Transplantation》2015年8月报道】题：人类神经干细胞（hNSC）移植促进海马神经元的长期修复（作者Munjal Acharya等）

放射疗法是治疗多数中枢神经肿瘤的最佳治疗方案，但是放疗伴随着严重的副作用，会导致渐进性的认知功能障碍。而目前对于此副作用并没有令人满意的解决方案。基于此，该研究旨在探索神经干细胞移植改善放疗副作用的潜在疗效，并探索其内在机制。

该研究使用免疫缺陷鼠模型，采用头部照射的方法，研究hNSCs移植对改善电离辐射引起的认知功能障碍的长期效应。众所周知，在神经元的长期突触可塑性机制中，Arc蛋白发挥着重要的作用，是检测神经元是否参与记忆巩固和空间情景信息加工的可靠标志。在该研究中，研究者用Arc蛋白阳性细胞的百分比，来反应海马神经元细胞的可塑性。

首先，使用BrdU免疫荧光染色，检测hNSCs细胞移植后1、4和8个月后的存活率。结果显示，移植后8个月，存

活的hNSCs比率约为4.5%，见图1。另外，在移植后8个月，研究者观察到外源hNSCs与宿主被激活的小神经胶质细胞靠近，活化的小神经胶质细胞延展与hNSCs细胞相互作用。

其次，研究者在经过hNSCs

移植和照射处理后，分别在1个月（1m）和8个月（8m），给予实验鼠接触新鲜事物来进行记忆刺激，30min后，检测锥体细胞（海马CA1区）和颗粒神经元（齿状回DG区）的Arc阳性细胞的比率。实验结果表明，无论是1m还是

8m，电离辐射促使CA1区的锥体细胞和DG区的颗粒神经元中的Arc的阳性细胞百分比降低。而移植hNSCs能促进宿主海马神经元Arc阳性细胞百分比水平的恢复，见图2（DG区颗粒神经元），图3（CA1区锥体细胞）。

综合以上实验结果，hNSCs的移植能够促进海马神经元长期的恢复。另外，研究者推测电离辐射后促进认知保护的一个重要机制，有可能涉及到移植细胞的营养支持。

（王璐刘强报道）

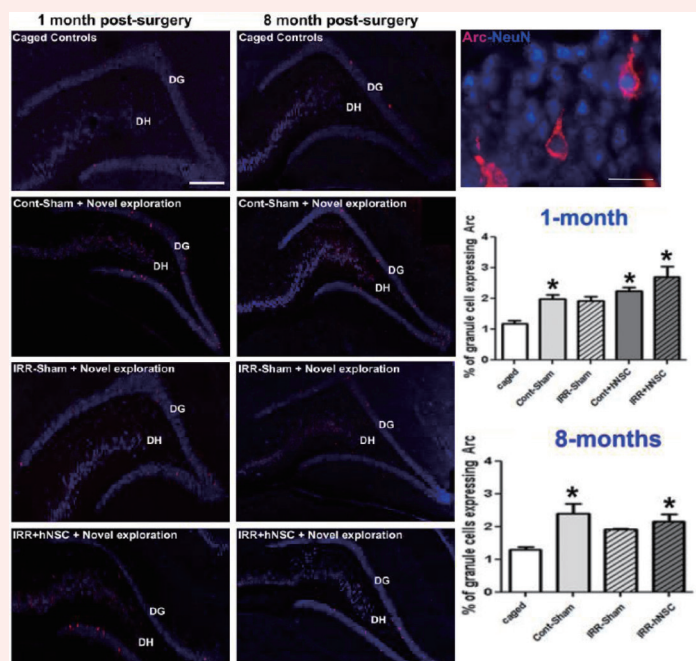


图1 表达Arc的颗粒细胞的百分率。（caged为未经记忆刺激的空白对照组；cont-sham为记忆刺激组；IRR-Sham为照射+记忆刺激组；Cont+hNSC为hNSCs移植+记忆刺激组；IRR+hNSC为照射+hNSCs移植+记忆刺激组。1-month和8-months分别表示照射移植1月后和8月后，纵坐标表示表达Arc蛋白的颗粒神经元比率）

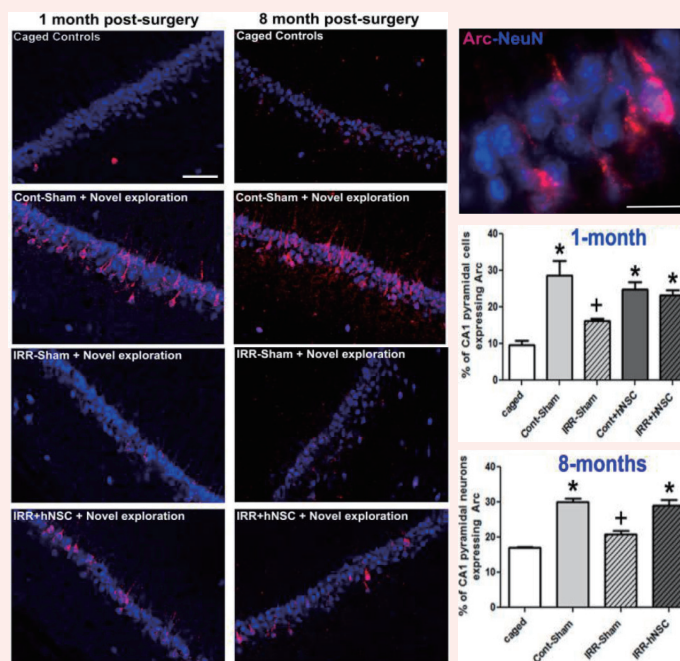


图2 表达Arc的CA1区锥体细胞的百分率。（caged为未经记忆刺激的空白对照组；cont-sham为记忆刺激组；IRR-Sham为照射+记忆刺激组；Cont+hNSC为hNSCs移植+记忆刺激组；IRR+hNSC为照射+hNSCs移植+记忆刺激组。1-month和8-months分别表示照射移植1月后和8月后，纵坐标表示表达Arc蛋白的锥形细胞比率）

## 肌肉干细胞的辐射损伤效应

【据《Physiol Rep》2015年4月报道】题: 全身照射对肌肉干细胞的时间和剂量依赖效应 (作者 Shinya Masuda 等)

越来越多的证据表明, 暴露于高剂量的电离辐射导致DNA损伤, 进而引起染色体重排, 增加癌症或非癌疾病的风险。组织干细胞是对修复、再生和维持稳态起重要作用的细胞。有一群骨骼肌干细胞, 称为卫星细胞, 定位于基底层和肌纤维质膜之间。卫星细胞负责成年人的肌肉生长、修复和再生。

该研究通过检测卫星细胞的质量和/或数量的变化, 为未来健康危害的预测提供研究基础。

### 1. 中剂量率和高剂量率的全身 $\gamma$ -射线照射后, 肌细胞核和肌卫星细胞的数量减少

通过对卫星细胞和肌细胞核用对应的抗体 Pax7 和 DAPI 染色并记录细胞数量, 数据显示全身高剂量率 (250mGy  $\times$  30天) 的  $\gamma$ -射线照射后的小鼠, 导致肌肉中肌细胞核和肌卫星细胞的数量降低 (图1), 但在低剂量率 (2或10mGy  $\times$  30天)

照射后, 与对照组相比并无显著性差异。

### 2. 中剂量率和高剂量率的全身 $\gamma$ -射线照射后, 卫星细胞增殖受到影响

研究者进一步探究了全身照射对卫星细胞的增殖能力的影响。尽管在图2B中, 通过计数卫星细胞的数得知, 无论低剂量还是高剂量的照射后, 卫星细胞增殖能力都受到了抑制, 但用 Ki67 这种核增殖抗原染色后, 并未显示出低和高剂量率照射后的差异 (图2C、2D)。这可能

与细胞周期的延迟有关。

### 3. 在慢性期, 即使低剂量率的电离辐射也影响卫星细胞增殖

小鼠全身照射后3个月后处死, 分离趾长伸肌肌肉, 通过 Pax7 抗体对卫星细胞染色, DAPI 复染核。结果显示, 在低剂量率和高剂量率暴露后, 在急性期卫星细胞减少的现象在慢性期得到了恢复 (图3B、3C)。然而, 即使在慢性期, 低剂量率照射的卫星细胞增殖能力略有下降 (图3D)。结果表明, 在成年鼠骨骼肌中, 在慢性期, 即使在低剂量率的

$\gamma$ -射线照射后, 仍会影响卫星细胞功能。

### 4. 结论

该研究经  $\gamma$  射线全身照射后小鼠的肌肉干细胞, 在低剂量率的急性期, 并没有观察到辐射引起兴奋现象, 如增殖、分化、自我更新等。但低剂量的慢性期中, 削减了卫星细胞的生物学功能。进一步地研究有助于理解低剂量率照射肌肉干细胞效应的机理, 尤其是在体内和体外对卫星细胞的影响值得深入研究。

(王津哈 刘强 报道)

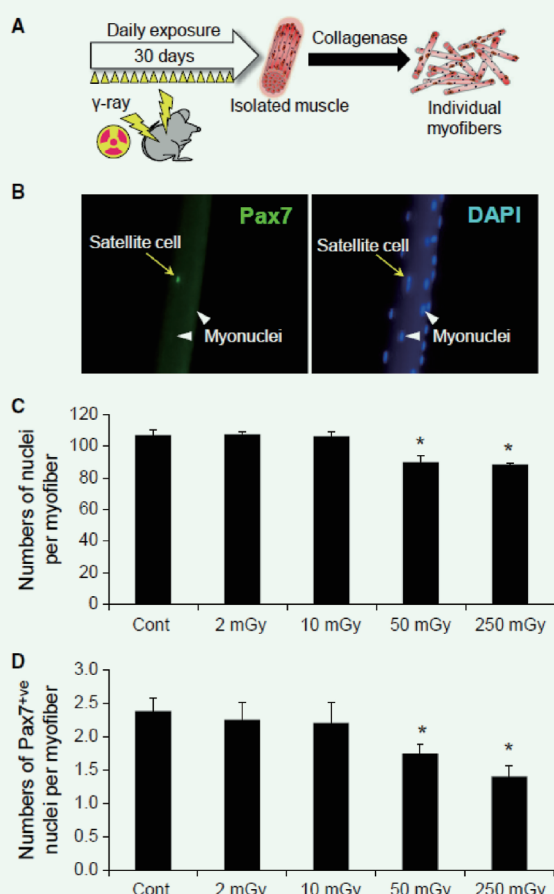


图1 A: 实验模式图; B: Pax7 和 DAPI 对星形细胞和肌细胞染色; C、D: 肌细胞和卫星细胞核的数量随照射剂量的增加而减少。

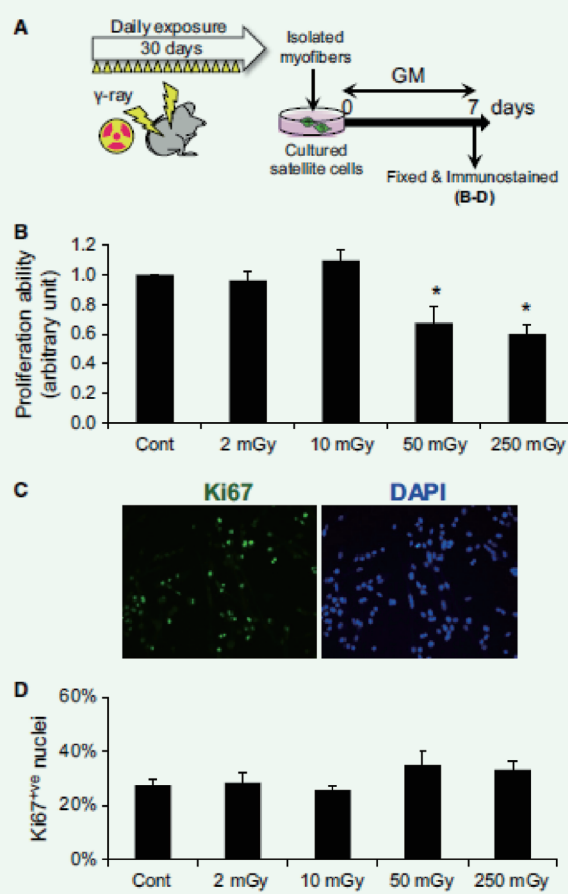


图2 A: 实验模式图; B: 卫星细胞增殖能力在高剂量率照射时降低; C: Ki67 和 DAPI 染色图; D: Ki67 阳性细胞数量未见明显变化。

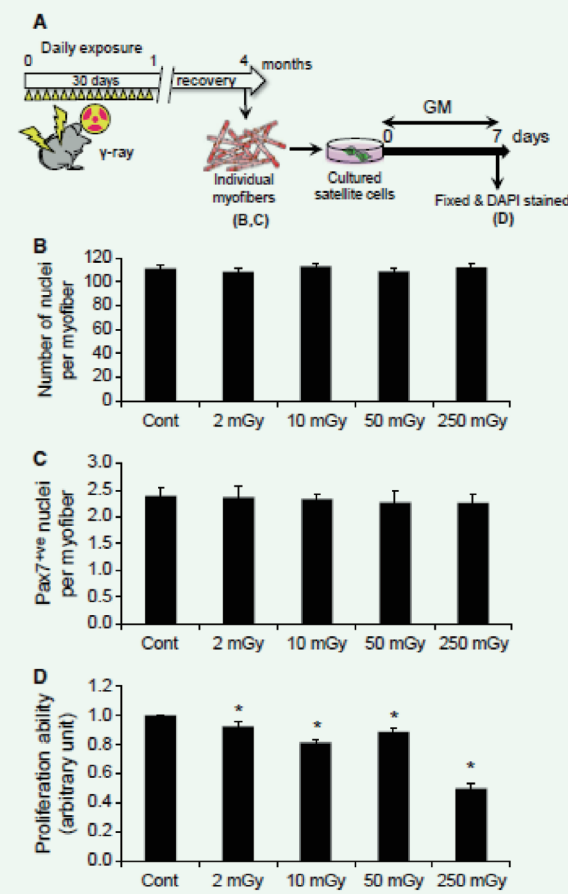


图3 A: 实验模式图; B、C: 定量分析卫星细胞和肌细胞核数量, 在慢性期未见明显变化; D: 卫星细胞增殖活力在慢性期有所下降。

### 上接第5版

胶对肠干细胞有辐射防护作用, 而肠干细胞是肠上皮细胞快速更新的后备力量。此外, 有研究报道果胶通过抗炎、促进肠上皮紧密连接蛋白表达等保护肠上皮防

御屏障。总之, 该研究提示果胶可以作为一种辐射防护剂预防放射性肠损伤。

(曹芳 刘强 报道)

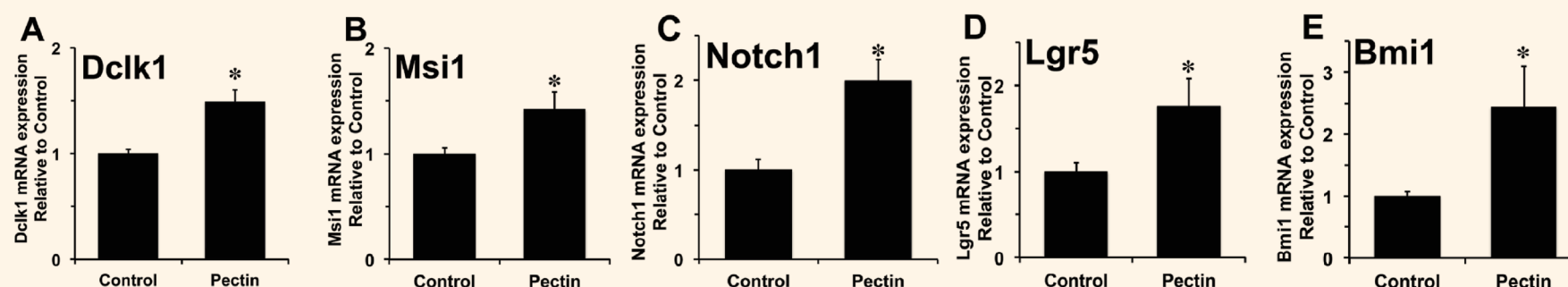


图3 预先饮食果胶对电离辐射后小肠干细胞相关基因表达的影响。小鼠全身 14Gy 照射后 Dclk1 (A)、Msi1 (B)、Lgr5 (C)、Bmi1 (D) 和 Notch1 (E) 等干细胞相关基因的表达水平明显上调。

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