

综 述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002395

重离子辐射旁效应相关调控蛋白及信号通路的研究进展

石国秀, 颜春鲁, 安方玉, 汪永锋, 张艳霞, 赵磊, 赵崇博, 成新平, 靳安顺

(甘肃中医药大学公共卫生学院、敦煌医学与转化教育部重点实验室、

甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 榆中 730101)

【摘要】辐射旁效应(radiation-induced bystander effects, RIBE)是指受辐射的细胞通过一定的机制将损伤效应传递给未受辐射的细胞, 未受辐射的细胞表现出类似于受辐射细胞的生物损伤效应现象。近年发现, 多类调控蛋白及信号通路在重离子辐射旁效应过程中参与细胞凋亡、细胞增殖、细胞周期阻滞等生物学效应。本文就这些调控蛋白及信号通路在重离子辐射旁效应中的作用机制作一综述。

【关键词】重离子辐射; 旁效应; 调控蛋白; 信号通路

【中图分类号】R811.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-10-30

Research progress on regulatory protein and signaling pathway of heavy ion radiation-induced bystander effects

Shi Guoxiu, Yan Chunlu, An Fangyu, Wang Yongfeng, Zhang Yanxia, Zhao Lei, Zhao Chongbo,

Cheng Xinping, Jin Anshun

(School of Public Health, Gansu University of Traditional Chinese Medicine/ Key Laboratory of Dunhuang Medicine and Transformation of Ministry of Education/ Key Laboratory of Chemistry and Quality for Chinese (Tibetan) Medicine Research of Universities of Gansu Province)

【Abstract】Radiation-induced bystander effects (RIBE) means that radiated cells transmit the damage effect to the irradiated cells through a certain mechanism and irradiated cells show similar biological damage effects to radiated cells. In recent years, many kinds of regulatory proteins and signaling pathways have been found to be involved in apoptosis, proliferation, cell cycle arrest and other biological effects in the process of heavy ion RIBE. This article reviewed the mechanism of these regulatory proteins and signaling pathways in heavy ion RIBE.

【Key words】heavy ion radiation; bystander effects; regulating proteins; signaling pathways

重离子是指原子序数大于 2 并被电离的粒子, 当重离子加速器将其加速至接近光速成为高能状态可形成重离子射线^[1]。1975 年美国劳伦斯伯克利实验室首次用高能同步重离子加速器 BEVALAC 进行重离子束放射治疗恶性肿瘤。相较于常规化疗, 重离子能够更好地控制病情并提高生存率^[2]。重

离子射线属于高线性能量传输(linear energy transfer, LET)射线, 在射程末端可以形成陡峭的高剂量 Bragg 峰, 同时 Bragg 峰的深度可通过初始能量来调节, 峰宽可根据肿瘤的区域调节, 实现较为精准的照射。重离子束有较高的相对生物效应值(relative biological effect value, RBE), 虽然相较于 X 射线、 γ 射线更利于高效杀死靶区肿瘤细胞而提高疗效, 但同时细胞造成的损伤也更难修复^[3-5]。辐射对人体的损伤主要包括靶效应和非靶效应; 非靶作用效应的研究始于 20 世纪 90 年代, 现象主要包括基因不稳定、旁效应及范围效应^[6], 其中旁效应可出现在多种细胞系中, 包括成纤维细胞、淋巴细胞、内皮细胞及各种肿瘤细胞, 在重离子治疗恶性肿瘤中意义重大, 旁效应自提出后成为学者研究的热点。本文通过对重离子辐射旁效应相关调控蛋白和相关信号通路的总结, 以为重离子辐射治疗恶性肿瘤的临床应用提供思路。

作者简介:石国秀, Email: shiguox@163.com,

研究方向: 重离子辐射肿瘤分子机制研究。

通信作者:颜春鲁, Email: yanchl1979@126.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号: 81760797); 甘肃省高校大学生就业创业能力提升工程资助项目(编号: 6-1); 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室开放基金资助项目(编号: DHYX18-15)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20200324.1426.022.html>

(2020-04-03)

1 重离子辐射旁效应的发现与发展

旁效应现象在 20 世纪 60 年代就有相关报道,直至 1992 年 Nagasawa 和 Little 将其命名为“旁效应”后得到重视。研究发现,以极低剂量 α 粒子照射中国仓鼠卵巢细胞 (Chinese hamster ovary cells, CHO),只有 1% 的细胞接受 α 粒子照射时,却有 30%~50% 的细胞发生姐妹染色体互换,次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶 (hypoxanthine phosphoribosyl transferase, HPRT) 突变的频率远高于预期,微核形成率也相应增加,表明在未受辐射的细胞中诱发了 DNA 损伤,这种损伤就是重离子辐射旁效应^[7-8]。所谓辐射旁效应 (radiation-induced bystander effects, RIBE),是指受辐射的细胞通过一定的机制将损伤效应传递给未受辐射的细胞,未受辐射的细胞表现出与受辐射细胞相同或相似的生物损伤效应^[9-10],主要包括姐妹染色体交换、微核形成、DNA 损伤、肿瘤^[11]、细胞增殖与凋亡^[10]等。

多个研究证明,重离子辐射可诱导旁效应^[5,12-13]。Chen B 等^[14]通过锂重离子 5 Gy 照射人神经母细胞瘤细胞并通过转移培养基法检测旁细胞的细胞活性、细胞周期及细胞凋亡情况,发现锂重离子辐射的旁细胞活性明显降低,且发生了细胞 G₂/S 期阻滞,细胞凋亡增加。这与王萌^[15]的研究结果一致,王萌以 $^{12}\text{C}^{6+}$ 重离子 2 Gy 辐照大鼠右肺后,发现大鼠股骨髓细胞的周期发生改变,出现了 G₂/M 期阻滞,表明重离子辐射产生的旁效应可触发细胞凋亡增加、周期改变、活性下降及增殖变慢等效应。梁建庆等^[16-17]以 ^{12}C 重离子照射大鼠右肺后检测旁器官左肺、左肾、右肾,结果表明大鼠左肺、左肾及右肾组织的 DNA 总体甲基化水平均明显降低,甲基化位点和甲基化位点测序深度明显降低,表明 DNA 受到损伤。

另一方面,有实验证明 DNA 损伤具有时间剂量效应^[18]。用 ^{12}C 重离子 2 000 Gy、200 Gy 分别辐射雄性大鼠头部,检测大鼠肝脏 DNA 甲基化的变化,结果表明在照射后 6 h DNA 甲基化多态性变化达到极值,12 h 后开始恢复,24 h 后恢复至正常水平。Yang HY 等^[19]用铁离子辐射人皮肤成纤维细胞,结果显示辐射后共培养 1~24 h 内组蛋白 H2AX 磷酸化 (histone H2AX phosphorylation, γ -H2AX) 增加 20%~30%,而微核形成率仅在 1~3 h 内增加,6 h 以后旁细胞的微核形成率没有明显增高。以上研究结果说明 DNA 受到损伤后在一定时间内进行修复,与细胞水平研究结果一致,表明旁效应具有时间效应,可能原因是在受损一定时间内 DNA 修复程序启动而发挥作用。

可见,在重离子辐射旁效应中,以细胞周期改变和 DNA 损伤效应为主。那么,何种蛋白参与了这种效应的发生?何种信号通路介导了这种损伤效应?

2 重离子辐射旁效应的相关调控蛋白

2.1 缝隙连接细胞间通讯

1996 年 Karrer 最早发现细胞间相邻的以细胞间通讯为

主要功能的通道结构称为缝隙连接 (gap junction, GJ), GJ 是相邻细胞间的通道结构,每个通道由 2 个半通道紧密结合形成,而每个细胞则提供一个半通道,每个半通道由 6 个连接蛋白 (connexin, Cx) 围绕中央孔形成。其主要作用是细胞间信息传递,因此也称为缝隙连接细胞间通讯 (gap junction inter-cellular communication, GJIC)^[20]。Cx 是一类构成 GJIC 的基本结构和具有肿瘤抑制功能的蛋白,属肿瘤抑制功能蛋白,主要有 Cx26、Cx32、Cx43 等。研究发现,具有辐射敏感性、主要表达于人体的 Cx 是 Cx43,转染 Cx43 可以放大化疗旁观者效应^[21-23]。当细胞受辐射损伤后,产生的损伤信号可以通过 GJIC 传递给旁细胞从而产生旁效应^[24]。

Harada K 等^[25]以碳离子分别照射经 GJIC 的刺激因子 8-Br-cAMP 和 GJIC 抑制剂 Lindane 预处理的人肺癌 A549 细胞培养后的结果显示,以 8-Br-cAMP 预处理后旁观者细胞凋亡增加,而以 GJIC 抑制剂 Lindane 预处理后旁观者细胞的生存率增高。郭庶^[26]选择神经元模式细胞——大鼠肾上腺嗜铬瘤细胞 PC12 为研究对象,通过醋酸铅染毒建立模型细胞,另设未染毒细胞将两者进行共培养,MTT 检测发现旁观者细胞凋亡相关基因 Bax (Bcl-2-associated X protein) 表达上升, B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma 2, Bcl-2) 表达下降,两者比值升高,从而导致旁观者细胞凋亡增加,增殖下降。当加入 GJIC 抑制剂甘珀酸 (carbenoxolone, CBX) 后发现旁效应被部分阻断。Shao C 等^[27-28]发现随着培养基中经过 ^{40}Ar 和 ^{20}Ne 重离子辐射的靶细胞数目增多,微核形成也增多,而 GJIC 抑制剂处理后阻断了上述旁效应。以低剂量 C 离子照射人成纤维细胞,运用 GJIC 抑制剂 Lindane 后未发现低剂量导致的旁效应。由此可见,当细胞受重离子辐射后,可以通过 GJIC 来参与细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡和细胞间信息传递,从而维持细胞微环境稳态^[29]。GJIC 的具体调控机制如图 1 所示。

2.2 氧化应激调控蛋白

氧化应激是导致急性慢性辐射损伤的原因之一,在氧化应激过程中产生的副产物活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 则是介导辐射组织损伤的重要原因^[30]。一方面,ROS、RNS 可以通过抑制蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTPase) 的活性激活下游信号通路,从而传递损伤效应,实现旁观者效应;另一方面,细胞受到辐射后,通过释放细胞因子促进 ROS 产生。当使用线粒体抑制剂或超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 处理靶细胞后,重离子诱导的旁效应得到显著抑制^[31]。Shao CL 等^[32]以碳重离子辐射人类唾液腺细胞 (human salivary gland cells, HSGc),观察到旁细胞增殖加快,而当以 NO 特定清除剂 PTIO (NO-specific scavenger) 处理细胞共培养基时,旁细胞生长能力下降,旁效应被显著抑制,同时观察到亚硝酸根的含量随辐射剂量及 LET 的增高而增高。该研究者另一研究中同样观察到,应用 NO 清除剂可以降低旁观者细胞的凋亡,表明 NO 在旁效应中具有重要意义^[33]。上述研究结果说明,在细胞受重离子照射后,ROS、RNS、NO 和 SOD 等氧化应激调控蛋白参与了辐射旁效应的发生。而在重离子辐射治疗中,阻断这些氧化应激蛋白可能是提高其临床疗效的另一思路。

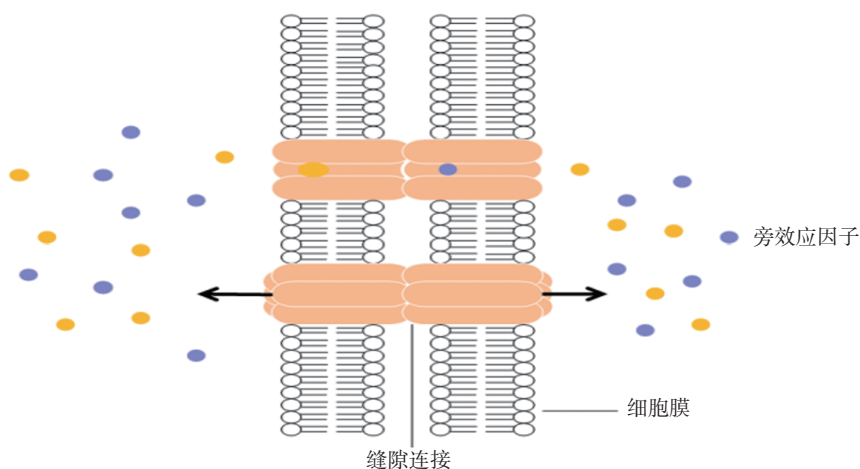


图 1 GJIC 在辐射旁效应中的调控机制

2.3 可溶性细胞因子

细胞受到辐射时可以释放可溶性细胞因子进而转移至旁细胞中产生旁效应,同时细胞因子可以间接地进一步增强氧化应激在电离辐射诱导的旁效应中的作用^[8]。Dong C 等^[34]将肺癌细胞 NCI-H446 分别经 γ 射线和 C 离子照射与巨噬细胞 U937 共培养,且以 U937 细胞为媒介与支气管上皮细胞 BEAS-2B 共培养研究旁效应,发现 γ 射线诱导的旁效应致细胞凋亡与微核形成率均高于 C 离子辐射,经检测发现肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α) 均参与 γ 射线旁效应的产生,而 C 离子辐射诱导的旁效应只有 TNF- α 参与。这也说明可溶性细胞因子的产生或许与射线 LET 具有相关性。

崔大超等^[35]发现人肝癌 QGY-7703 细胞、永生化人肝 L02 细胞在 C 重离子辐照后转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 分泌明显增加,且在 20 min 时浓度最高,此时转移培养基中 L02 旁细胞的存活率在各时刻转移培养基实验中存活率最低,这可能与 TGF- β 1 分泌对细胞的抑制作用相关。同时以对细胞内氧化应激敏感的 CCK-8 法检测 L02 旁细胞的活力,发现 30 min 时旁细胞活性几乎无影响,而在 70 min 检测发现旁细胞活性增强,代谢增高。可能原因是细胞在辐照后分泌更多不同细胞因子,且在不同时刻分泌的信号因子对未辐照旁细胞起着不同的调控作用, TGF- β 1 参与其中并发挥关键作用。值得注意的是受到重离子辐射后癌细胞 QGY-7703 较 L02 细胞的 TGF- β 1 分泌量少,这与癌细胞不易被检测相一致。以上研究表明细胞因子同样参与了辐射旁效应的发生,且细胞因子的产生与 LET、细胞性质具有相关性,如何调控细胞因子的产生可能是提高辐射临床疗效的另一有效靶点。

3 参与重离子辐射产生旁效应信号通路

3.1 凋亡信号通路

细胞凋亡在生物体内起着重要作用:一方面维持机体的正常生理功能与内环境稳定,另一方面当细胞凋亡信号通路

出现异常时会导致疾病的发生。许多疾病的发生发展与异常的细胞凋亡相关。细胞凋亡主要包括 2 种信号途径:外源性细胞凋亡信号通路(由死亡受体介导)和内源性细胞凋亡信号通路(由细胞线粒体介导)。细胞受到辐射后,损伤效应信号被激活,进而活化 Bax、Bak 等促凋亡蛋白,后者作用于线粒体产生细胞色素 C (cytochrome C, Cyt C),激活凋亡酶(cysteine aspartic acid specific protease, Caspase)家族蛋白激酶。启动型 Caspase-9、Caspase-8 蛋白及效应型 Caspase-3 蛋白以外源性或者内源性途径激活,介导蛋白级联反应,引起细胞形态与代谢的改变,最终导致细胞凋亡^[36-39]。Bcl-2 家族则是凋亡过程中重要的信号转导分子,是内源性细胞凋亡途径中的核心蛋白。其中, Bcl-xl 和 Bcl-2 等抗凋亡蛋白可以抑制促凋亡蛋白 Bax、Bak 对线粒体膜的透化作用来阻碍细胞凋亡,而 Bax 和 Bak 等促凋亡蛋白分子在细胞受到凋亡刺激因子作用后被激活,可结合到线粒体外膜并形成通道,促发后续的细胞凋亡级联反应,引起细胞凋亡^[40]。Tomiyama A 等^[39]以 C 离子照射胶质瘤细胞发现 Bcl-2 或 Bcl-xl 过量表达或者 Bcl-x 或 Bcl-k 双敲除均使细胞凋亡受到抑制,同时 Caspase-8 等蛋白在线粒体凋亡前 Bcl-2 家族蛋白激活的下游被激活。张朝宁等^[41-42]以 $^{12}\text{C}^{6+}$ 重离子辐射大鼠右肺部,结果表明在靶器官右肺、旁器官左肺和左肾组织中 Caspase-3、Caspase-9 基因表达异常, Caspase-9 和 Caspase-3 表达均上调,使得靶器官与旁器官肺肾细胞凋亡。旁器官左肺、左肾中的白细胞、红细胞等凋亡增加, Bax 蛋白及 mRNA 表达均明显上调, Bcl-2 蛋白及 mRNA 明显下调,说明在旁器官中出现了细胞凋亡。表明重离子辐射可以通过激活细胞凋亡信号通路中发挥关键作用的 Caspases 蛋白以及 Bcl-2 家族蛋白,促发后续的蛋白级联反应,从而实现旁效应中细胞凋亡作用。总之,细胞凋亡信号通路参与了辐射旁效应的发生。其中,促进促凋亡蛋白 Bcl-x、Bcl-k、Bax、Bak 和 Caspases 家族蛋白的表达,抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xl 的表达是提高辐射临床疗效的有效途径。

3.2 MAPK 信号通路

丝裂原活化激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)

信号通路是生物体内重要的细胞信号转导系统,调节细胞的增殖、分化及凋亡,主要由 c-Jun N 端蛋白激酶(c-Jun N-terminal protein kinase,JNK)、细胞外调节激酶(extracellular regulated kinase,ERK)、P38^[43]组成。当细胞受到重离子辐射后激活共济失调-毛细血管扩张突变基因(ataxia telangiectasia mutated gene,ATM),产生 ROS 等细胞因子,活化的 ATM 作为信号分子激活 MAPK 信号通路,而 ROS 可通过抑制蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase,PTPase)活性,激活下游信号通路。JNK 可以作为促凋亡蛋白 Bax、Bak 的上游调节蛋白促使细胞凋亡;ERK 在被 ATM 活化的同时也反馈调节 ATM,RAS 蛋白激酶在 ROS 的作用下也可活化 ERK 信号通路发挥生物学效应;P38 丝裂原活化激酶(P38 mitogen-activated protein kinase,P38-MAPK)可在上游 MAPK 激酶 3(MAP kinase kinase 3,MKK3)、MAPK 激酶 6(MAP kinase kinase 6,MKK6)的作用下被激活,调节细胞周期促使 G₂/M 期阻滞^[44]。

Dong C 等^[45]以 ¹²C 重离子照射靶细胞巨噬细胞 U937 后发现旁细胞淋巴细胞 HMy 细胞内微核形成在 30 min 至 24 h 内持续高水平。同时发现磷酸化 c-Jun N-末端激酶(phosphorylated c-Jun N-terminal kinase,p-JNK)、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylated extracellular signal-regulated kinase,p-ERK)、磷酸化 P38 (phosphorylated P38,p-P38)等蛋白在 12C 离子照射后 24 h 内再被激活形成峰值,其中 P-ERK、P-JNK 在 24 h 后再次升高,之后分别以 JNK、ERK、P38 的抑制剂处理靶细胞发现,ERK 抑制剂作用 2 h 后旁效应增强,微核形成增多,24 h 后下降;JNK、P38 抑制剂作用后均显示旁细胞微核形成明显降低。这一过程中,经重离子照射后形成的 ROS 和 NO 是重要的 MAPK 信号通道启动因子。这与 Lyng FM 等^[46]报道一致,Lyng 以 ⁶⁰Co 照射 HPV-G 细胞并转移培养基法观察旁细胞效应,发现当抑制 ERK 时增加旁细胞凋亡,抑制 JNK 则减少旁细胞凋亡,同时 ROS 以及钙可以调控该信号通路。可见,在 MAPK 信号通路中,ROS 和 NO 是 MAPK 信号通路的初始调节因子,可以通过中间调控蛋

白 JNK、ERK 从而调控其下游分子 Bax、Bak 和 P38 等的表达,从而发挥调控细胞周期、细胞增殖和细胞凋亡等作用,这可能是有效控制辐射旁效应的另一作用靶点。

3.3 DNA-PKcs/ATM/p53 信号通路

DNA 依赖性蛋白激酶催化亚单位 (DNA-PKcatalytic subunit,DNA-PKcs)、ATM、ATR 均属于磷酸肌醇-3-激酶相关蛋白(PI3K-related kinase,PIKK)家族,主要引起细胞周期阻滞、DNA 受损修复及诱导细胞凋亡效应^[47]。旁细胞 DNA 损伤具有时间效应,即当 DNA 受损后一定时间内启动修复程序,DNA-PKcs/ATM/p53 信号通路便是 DNA 修复中的关键信号通路。在上游活化蛋白的作用下,DNA-PKcs 主要参与非同源末端连接修复受损 DNA;ATM 在活化后可以启动 p53 信号通路促使细胞 G₁/S 期阻滞,同时 ATM 还可以磷酸化下游底物检测点激酶 2(checkpoint kinase 2,Chk2)、检测点激酶 1(checkpoint kinase 1,Chk1)通过不同途径使 G₂/M 期阻滞。另外,ATM 可活化介导细胞凋亡、增殖等多种生物学效应的信号通路。

当 DNA 受到重离子照射损伤后,早期修复关键蛋白组蛋白 γ -H2AX 磷酸化,该蛋白具有可被 PIKKs 家族识别的信号位点。DNA-PKcs 是 DNA 双链断裂的非同源末端连接修复关键蛋白,可以募集其他修复蛋白至 DNA 损伤位点进行修复,是 H2AX 磷酸化过程起主导作用的蛋白^[48],尽管在旁效应 G₂/M 期阻滞修复 DNA 过程中 ATM 和 DNA-PKcs 的表达均增高,但 DNA-PKcs 仍处于主导地位^[49]。¹²C⁶⁺ 辐射 HeLa 细胞可造成 DNA 损伤,诱导细胞损伤修复及凋亡,在这一过程中 p53 的激活起主要作用,而 p53 依赖于 ATM 的激活^[50]。ATM 依赖于 DNA 双链断裂(double strand break,DSB)激活,随之迅速磷酸化底物 Chk2 和 p53 或激活 Chk1,之后稳定的 p53 可上调 p21,促进 G₂/M 检查点的启动,阻滞细胞周期使细胞有充足的时间进行 DNA 损伤修复^[51-53]。上述实验研究结果证明,通过阻断细胞周期,可以实现辐射旁效应细胞 DNA 损伤的修复作用。重离子辐射旁效应的具体调控机制如图 2 所示。

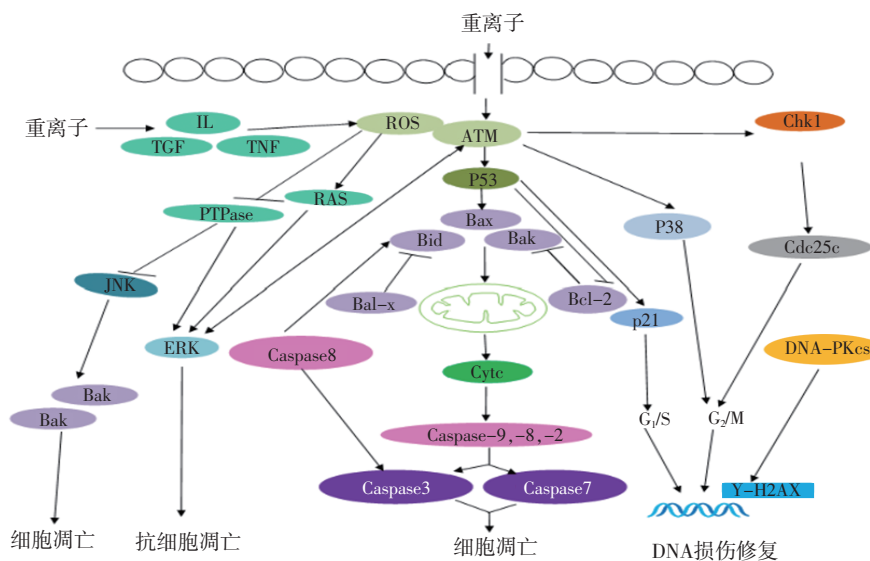


图2 重离子辐射旁效应的调控机制

众多放射非靶向研究发现,外泌体也参与辐射旁效应的产生^[54-56],是近年来辐射旁效应新的研究方向。外泌体是多种细胞分泌的一种多形性囊泡小体,内含 mRNA、miRNA、RNA,且 mRNA 能在靶细胞中翻译蛋白,最早于 1983 年由 Johnstone 在羊成熟网织红细胞中发现,并于 1987 年正式命名为外泌体^[57-59]。外泌体的发现也为细胞间的通讯提供了一种新的交流途径。外泌体可通过膜转运蛋白和融合蛋白、外泌体蛋白、热休克蛋白等标记蛋白鉴定^[60],参与中枢神经系统细胞间通讯^[60]、免疫调控^[61]、肿瘤诊断^[62]等方面。重离子辐射旁效应与外泌体关系的研究较少,外泌体是否参与重离子辐射旁效应有待深入研究。

4 总结与展望

重离子射线被誉为 21 世纪最理想的医用射线^[63],因其特殊的特征在恶性肿瘤治疗中取得了良好的疗效,同时众多研究表明重离子能够在杀死肿瘤细胞的同时诱导旁效应,使得正常组织或细胞受到损伤。在旁效应形成过程中,细胞受氧化应激产生 ROS、RON 以及分泌多种可溶性细胞因子。一方面,以上调控蛋白作为损伤因子通过由 Cx 形成的 GJIC 传递损伤信号从而导致正常细胞受损;另一方面,其可作为上游信号通路的激活信号调控旁效应作用。ROS、RNS 可激活 JNK/MAPK、ERK/MAPK 信号通路调控细胞增殖与凋亡,ATM 可由 DNA 双链断裂而活化并激活 p53,活化的 p53 引起 Bcl-2 家族级联反应作用于线粒体活化 Caspase 蛋白,最终导致细胞凋亡。同时 p53 可上调 p21 促使 G₁/S 期阻滞,细胞周期阻滞还可由 ATM 磷酸化底物 Chk1 或激活 P38/MAPK 信号通路介导。DNA-PKcs 主要参与 DNA 修复,并在 H2AX 蛋白磷酸化过程中起主导作用。总之,调控蛋白与信号通路之间相互作用、相互协调形成复杂的网络调控机制,共同调控辐射旁效应细胞的细胞凋亡与增殖、细胞周期阻滞、DNA 损伤及修复等,为临床应用重离子治疗各类疾病,尤其是肿瘤提供新的治疗靶点。然而如何运用重离子的特性、旁效应的调控机制及旁效应的时间剂量效应,以更加精准地治疗癌症并减少正常组织的损伤仍面临重大挑战。

参 考 文 献

- [1] 齐 菲. 不同辐射诱导 CD4 细胞 DNA 损伤的测定及机制分析[D]. 大连:大连海事大学,2016.
- [2] 李 强. 重离子辐射治疗进展[J]. 激光生物学报,2003,12(5):386-397.
- [3] 杨立娜,冉俊涛,张 红,等. 重离子束治疗肿瘤临床研究[J]. 原子核物理评论,2013,30(2):166-173.
- [4] 谢俊祥,张 琳. 质子/重离子放射治疗技术及应用[J]. 中国医疗器械信息,2017,23(1):1-4,35.
- [5] 贾 蓉,苏锋涛,胡步荣,等. 重离子的辐射生物效应及其在生命科学中的应用[J]. 生物技术通报,2018,34(1):67-78.

- [6] Bright S, Kadhim M. The future impacts of non-targeted effects[J]. Int J Radiat Biol, 2018, 94(8):727-736.
- [7] 郭鲜花,王仲文. 电离辐射旁效应的研究进展及其潜在意义[J]. 辐射防护,2009,29(1):25-33.
- [8] 李 源,王小春. 辐射旁效应中的信号分子研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗,2015,28(3):170-173.
- [9] 张朝宁,李金田,刘永琦. 辐射旁效应及其机制研究进展[J]. 辐射防护通讯,2015,35(3):19-24.
- [10] 梁书剑,张 萌,李文建,等. 辐射诱发体内旁效应特征的研究进展[J]. 原子核物理评论,2011,28(2):230-235.
- [11] Wang HZ, Yu KN, Hou J, et al. Radiation-induced bystander effect: early process and rapid assessment[J]. Cancer Lett, 2015, 356(1):137-144.
- [12] 雷润宏,赵 拓,吴国松,等. 脑局部重离子辐射诱导大鼠外周旁效应研究[J]. 生命科学仪器,2015,13(12):24-30.
- [13] 叶 飞. 重离子辐射诱导 A549 细胞和 Balb/c 小鼠海马体远后效应研究[D]. 兰州:兰州大学,2016.
- [14] Chen B, Zang P, Sun FY, et al. The mechanism of bystander effect induced by different irradiation in human neuroblastoma cells[J]. Acta Astronautica, 2018, 12(5):1-8.
- [15] 王 萌. 归芪益元膏对重离子辐射肺损伤大鼠 DNA 双链断裂及旁效应的影响[D]. 兰州:甘肃中医药大学,2017.
- [16] 梁建庆,李金田,李 娟,等. 归芪益元膏对重离子辐射损伤模型大鼠肺旁效应的影响[J]. 解放军医学杂志,2017,42(8):674-679.
- [17] 梁建庆,李金田,李 娟,等. 基于全基因组甲基化探讨辐射损伤大鼠的旁效应机制[J]. 中华中医药杂志,2018,33(11):5132-5137.
- [18] 贾荣飞,陈红红,于 雷,等. ¹²⁵I 籽源持续低剂量率照射诱导人肺癌细胞的旁效应[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2007,25(6):363-367.
- [19] Yang HY, Anzenberg V, Held KD. The time dependence of bystander responses induced by iron-ion radiation in normal human skin fibroblasts[J]. Radiat Res, 2007, 168(3):292-298.
- [20] 尚西亮,李学东,傅华群. 缝隙连接细胞间通讯在炎症、损伤、修复和疾病中的作用[J]. 国外医学(老年医学分册),2006,27(3):137-140.
- [21] 龙贤辉,周平坤. 缝隙连接蛋白 43 基因及其辐射诱导表达反应[J]. 国外医学·放射医学核医学分册,2005,29(6):269-271.
- [22] 许雅芳,宋丽艳,张 章,等. 缝隙连接蛋白:肿瘤治疗的新视角[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(10):1-4.
- [23] 闻海兵,李嘉杰,邹树峰,等. 转染缝隙连接蛋白 Cx43 在脑胶质瘤化疗旁观者效应影响的体外实验研究[J]. 中国神经肿瘤杂志,2011,9(2):115-123.
- [24] 宋 曼. 辐射诱导的外泌体 miRNA 介导的人支气管上皮细胞旁效应研究[D]. 苏州:苏州大学,2016.
- [25] Harada K, Nonaka T, Hamada N, et al. Heavy-ion-induced bystander killing of human lung cancer cells: role of gap junctional intercellular communication[J]. Cancer Sci, 2009, 100(4):684-688.
- [26] 郭 庶. 铅诱导 PC12 细胞旁观者效应及细胞间隙连接通讯(GJIC)作用研究[D]. 广州:南方医科大学,2014.

- [27] Shao C, Furusawa Y, Aoki M, et al. Role of gap junctional inter-cellular communication in radiation induced bystander effects in human fibroblasts[J]. *Radiat Res*, 2003, 160(3): 318–323.
- [28] Shao C, Furusawa Y, Kobayashi Y, et al. Bystander effect induced by counted high-LET particles in confluent human fibroblasts; a mechanistic study[J]. *FASEB J*, 2003, 17(11): 1422–1427.
- [29] 王毅. 黄芩甲苷对镭致 TM3 细胞凋亡和缝隙连接蛋白 43 及通讯功能影响的保护[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2015.
- [30] 黄越, 陈乃耀, 赵雪聪, 等. 氧化应激参与放射性脑损伤的研究进展[J]. *神经解剖学杂志*, 2019, 35(2): 221–224.
- [31] He MY, Dong C, Konishi T, et al. Differential effects of p53 on bystander phenotypes induced by gamma ray and high LET heavy ion radiation[J]. *Life Sci Space Res (Amst)*, 2014, 4(1): 53–59.
- [32] Shao CL, Aoki M, Furusawa Y. Bystander effect on cell growth stimulation in neoplastic HSGc cells induced by heavy-ion irradiation[J]. *Radiat Environ Biophys*, 2003, 42(3): 183–187.
- [33] Shao CL, Aoki M, Furusawa Y. Bystander effect in lymphoma cells vicinal to irradiated neoplastic epithelial cells[J]. *J Radiat Res*, 2004, 45(1): 97–103.
- [34] Dong C, He MY, Tu WZ, et al. The differential role of human macrophage in triggering secondary bystander effects after either gamma-ray or carbon beam irradiation[J]. *Cancer Lett*, 2015, 363(1): 92–100.
- [35] 崔大超, 李强, 吴庆丰, 等. C 离子辐照引起细胞分泌旁效应信号因子浓度随时间的变化[J]. *原子核物理评论*, 2012, 29(2): 189–195.
- [36] Jan R, Chaudhry GE. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics[J]. *Adv Pharm Bull*, 2019, 9(2): 205–218.
- [37] 李帅, 张炳东. 细胞凋亡途径的研究进展[J]. *山东医药*, 2017, 57(37): 103–106.
- [38] 武菲, 程葆华. Caspases 与蛋白激酶在凋亡中的相互作用[J]. *济宁医学院学报*, 2015, 38(4): 281–285.
- [39] Tomiyama A, Tachibana K, Suzuki K, et al. MEK-ERK dependent multiple caspase activation by mitochondrial proapoptotic Bcl-2 family proteins is essential for heal[J]. *Cell Death Dis*, 2010, 37(1): e60.
- [40] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. *国际妇产科学杂志*, 2014, 41(2): 103–107.
- [41] 张朝宁, 李金田, 刘永琦, 等. 归芪益元膏对重离子辐射旁效应损伤大鼠肺肾组织 caspase-3 及 caspase-9 表达的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2018, 43(4): 278–282.
- [42] 张朝宁, 李金田, 刘永琦, 等. 归芪益元膏对重离子辐射旁效应损伤大鼠 Bax、Bcl-2 及外周血象的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(1): 333–336.
- [43] 周巧云, 桂淑玉, 周青, 等. MAPK 信号通路参与褪黑素对肺腺癌 A549 细胞的增殖抑制作用[J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(2): 186–190.
- [44] 王静, 章超凡, 李铁军. 辐射防护相关信号通路研究现状[J]. *药学实践杂志*, 2017, 35(1): 8–11.
- [45] Dong C, He M, Ren R, et al. Role of the MAPK pathway in the observed bystander effect in lymphocytes co-cultured with macrophages irradiated with γ -rays or carbon ions[J]. *Life Sci*, 2015, 127(15): 19–25.
- [46] Lyng FM, Maguire P, McClean B, et al. The involvement of calcium and MAP kinase signaling pathways in the production of radiation-induced bystander effects[J]. *Radiat Res*, 2006, 165(4): 400–409.
- [47] 蔡昱. DNA-PKcs 的研究进展[J]. *实用癌症杂志*, 2012, 27(5): 540–542.
- [48] 李明, 罗鑫荣, 厉红元, 等. DNA-PKcs 在 DNA 双链断裂应答过程中对 H2AX 磷酸化起主导作用[J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(1): 30–33.
- [49] Tu WZ, Dong C, Konishi T, et al. G₂-M phase-correlative bystander effects are co-mediated by DNA-PKcs and ATM after carbon ion irradiation[J]. *Mutat Res*, 2016, 795(1): 1–6.
- [50] 陈继栋, 张红, 李宁, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱导 HeLa 细胞 DNA 损伤效应[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2009, 27(4): 239–243.
- [51] 朱虹, 缪泽鸿, 丁健. ATM, ATR 和 DNA 损伤介导的细胞周期阻滞[J]. *生命科学*, 2007, 19(2): 139–148.
- [52] 范源, 沈海祥, 王志平, 等. G₂/M 期阻滞与细胞放射敏感性关系的研究进展[J]. *广东医学*, 2016, 37(3): 457–459.
- [53] 刘小群, 乔田奎, 陈伟, 等. ATM 蛋白激酶依赖性信号转导通路研究进展[J]. *复旦学报(医学版)*, 2012, 39(4): 433–437.
- [54] 陈纤. 外泌体——电离辐射诱导旁效应的另一种机制[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [55] Cai S, Shi GS, Cheng HY, et al. Exosomal miR-7 mediates bystander autophagy in lung after focal brain irradiation in mice[J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(10): 1287–1296.
- [56] 王爽. 自分泌物通过非外泌体依赖途径增强非小细胞肺癌辐射抵抗作用的研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
- [57] 徐帅. 辐射诱导旁观者效应相关 microRNA 的研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2015.
- [58] 张倩婧, 狄翠霞, 陈玉红, 等. 外泌体在肿瘤细胞及其临床应用中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(6): 945–950.
- [59] 白纪红, 李凡. 外泌体在肝脏疾病中的研究概况[J]. *中国医学创新*, 2017, 14(26): 145–149.
- [60] 赵培源, 王蕾. 外泌体在中枢神经细胞间通讯中的作用[J]. *重庆医科大学学报*, 2017, 42(10): 1219–1222.
- [61] 李孟娇, 王浩, 李庆伟. 外泌体在免疫调控及肿瘤发生中的功能[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(5): 473–479.
- [62] Hamam R, Hamam D, Alsaleh KA, et al. Circulating micro RNAs in breast cancer: novel diagnostic and prognostic biomarkers[J]. *Cell Death and Disease*, 2017, 8(9): 1–12.
- [63] 李胜范, 山口明志, 王志军, 等. 重离子放射线治疗恶性肿瘤的研究现状[J]. *中华临床医师杂志*, 2011, 5(10): 2961–2975.

(责任编辑: 冉明会)