

文章编号: 1007-4627(2010)03-0323-05

小肠电离辐射损伤研究进展*

马晓飞^{1, 2, 3, 4}, 张红^{1, 2, 3, #}

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院重离子束辐射生物学重点实验室, 甘肃 兰州 730000;

3 甘肃省重离子束辐射医学应用基础重点实验室, 甘肃 兰州 730000;

4 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 肠道的电离辐射损伤是腹部及盆腔肿瘤放射治疗过程中的剂量限制因素。综述了小肠电离辐射损伤的临床症状、小肠上皮及粘膜下层基质改变、信号分子表达变化、组织学变化和超微结构变化。简介了中国科学院近代物理研究所重离子束辐射生物学重点实验室正在进行的有关小肠重离子辐射损伤及防护方面的研究工作。

关键词: 电离辐射; 小肠隐窝; 胃肠道辐射综合症

中图分类号: R818

文献标识码: A

1 引言

1895 伦琴年发现 X 射线, 1896 年 X 射线用于乳腺癌治疗。两年后, Walsh 报道了 X 射线对消化道的损伤^[1], 并认为这些损伤是肠粘膜的炎症反应所致。10 年后, Krause 和 Ziegler 发现家养动物小肠辐射损伤与剂量相关^[2], 而当时人们认为这些损伤是细菌增殖造成的。1912 年 Regaud 等描述了 X 射线照射后狗小肠的延迟反应^[3]。1922 年 Warren 和 Whipple 第一次系统地研究了高剂量 X 射线对狗小肠的影响。X 射线用于治疗肿瘤后, 临床治疗过程发现人类小肠辐射症状类似于动物小肠急性反应与延迟反应^[4], 并且注意到辐射可诱发小肠炎。Kato 等报道了原子弹爆炸幸存者伴有小肠炎症状^[5, 6]。1956 年 Quástler 建立了描述急性放射致死的模型, 并创造胃肠道综合症(GI-syndrome)这一术语用以描述 10—100 Gy X 射线引发的胃肠道反应。

全球每年有 20 万肿瘤患者接受腹部或盆腔放射治疗, 放疗后伴有肠道辐射损伤症状的存活患者约 150 万。随着治疗手段的改进, 肿瘤患者存活率

显著增高, 这就要求尽量降低放射治疗过程中的毒副作用。近年来放射治疗手段有很大改进, 在很大程度上降低了对正常组织的损伤, 但小肠组织的放射毒性仍然是腹部和盆腔肿瘤治疗的主要障碍, 限制了高治疗剂量的使用^[7]。鉴于此, 详尽了解肠道电离辐射损伤有助于采取必要手段减轻临床治疗过程中引发的肠道损伤, 提高患者生存质量。

本文综述了光子辐射及离子束辐射引发的小肠损伤的临床症状, 小肠组织病理变化和超微结构变化以及这些变化的分子机制。简介了中国科学院近代物理研究所重离子束辐射生物学重点实验室在小肠电离辐射损伤与防护以及小肠干细胞辐射损伤等方面的研究工作。

2 光子辐射引发的小肠损伤

2.1 光子辐射引发的临床症状

在临床上, 胃肠道对 X 射线辐射的生理反应可划分为先兆症状和胃肠道综合症。1 Gy 剂量的辐射即可引发先兆症状, 10 Gy 以上才可引发胃肠道综合症。根据症状的时间进程, X 射线辐射引发的

* 收稿日期: 2009-11-13; 修改日期: 2010-03-09

* 基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2010CB834202); 国家自然科学基金重点项目(10835011); 甘肃省 2007 年重大科技专项项目(O702NKDA045)

作者简介: 马晓飞(1985—), 男(汉族), 甘肃张掖人, 硕士, 从事重离子辐射医学的研究; E-mail: a530maxiaofei@163.com

通讯联系人: 张红, E-mail: zhangh@impcas.ac.cn

毒副反应大致划分为 4 个时期：先兆反应期(照后 1—3 d)、急性反应期、亚急性反应期和后期^[7]。

先兆反应期：电离辐射引发的应激反应会影响自主神经系统的传入。此期出现胃肠道辐射综合症的早期症状，如：厌食、恶心、呕吐。关于辐射引发呕吐的神经机制还不清楚，有证据提示这与腹部外周神经系统有关，可能是辐射后体液中的物质刺激延髓极后区(极后区是化学物质敏感区)，诱导极后区浆细胞脱颗粒，从而引发厌食呕吐等症状。

急性反应期：射线辐射剂量大于 10 Gy 时会引发小肠急性反应。此症反应的确定以小肠粘膜完整性丧失(上皮剥落，或者管腔上皮脱落)为依据。粘膜上皮是小肠最为敏感的部位，不可逆性的造血系统或免疫系统损伤可引发粘膜上皮损伤。严重的胃肠道出血、恶心、厌食、呕吐、腹泻、内毒素血症、细菌感染和电解质丢失是急性反应的主要症状。电离辐射引发的电解质丢失会影响细胞转运系统，造成蛋白质、脂肪和碳水化合物吸收紊乱，也会影响介质的释放与吸收，影响胆汁盐的重吸收，最终导致绒毛脱落，失去绒毛上皮的吸收细胞。小肠粘膜完整性的丢失造成细菌大量增殖，进而导致内毒素血症，若不及时救治会危及生命。Macnaughton 认为造成急性反应症状的原因是小肠运动模式的急剧改变^[8]。Otterson 等单次腹部 X 射线辐射狗后，并未显著影响移行性复合运动(migrating motor complexes)，但结肠和小肠都出现大移行收缩(giant migrating contractions)，小肠整体收缩活动降低。造成小肠运动模式改变的机制还清楚，Erickson 等人认为辐射损伤肠神经或免疫细胞直接或间接引发小肠收缩模式改变^[9]。

亚急性反应期：辐射引发的小肠亚急性损伤通常叫做辐射小肠炎。在接受盆腔和腹部放疗的患者中，小肠炎的发病率是 0.5%—16.9%。辐射引发粘膜萎缩同时伴有腺体溃疡、非典型性增生、小肠壁纤维化和淋巴管粗大。最常见的临床症状包括肚痛、穿孔、出血、肠梗阻、顽固便秘、肠道瘘管和肠道运动与吸收紊乱。辐射后大肠的反应与小肠相似，但大肠更易出现上述反应。Langberg 报道辐射后 3 d 小肠粘膜下层、固有肌层和浆膜下层就出现胶原的沉积^[10, 11]。高剂量辐射引发小肠瘘管或穿孔。

后期：后期反应一般于辐射后第 2 个月才变得

明显，可持续 1 a，以纤维化为主要特征。辐射后的 60 d 胶原开始结集在粘膜下层，辐射后 0.5—1 a 形成致密淤积物，胶原沉积过程中伴有固有层水肿。纤维化程度与总剂量、照后时间、分期剂量和分期间隔有关。纤维化的病因还不是十分清楚，可能因为辐射直接损伤胶原或细胞外基质，或因为非特异性炎症反应或自主免疫反应造成实质细胞或血管损伤^[12]。1966 年 Langberg 提出照射后小肠粘膜完整性破坏是纤维化的首要原因。2004 年 Haase 和 Rodemann 提出纤维化可能与成纤维母细胞辐射后未成熟分化(immature differentiation)进而分泌胶原有关^[13]。

2.2 光子辐射引发的小肠上皮细胞学改变

X 射线辐射后，大量细胞死亡，干细胞快速增殖并重建小肠表皮^[14]。细胞凋亡、坏死、G₂ 期阻滞、衰老都会造成隐窝部位干细胞数目减少。隐窝部位细胞死亡在 γ 射线照射后 3—6 h 后达到峰值，1 d 后恢复。辐射后，隐窝部位最先出现凋亡细胞，后来绒毛表皮才出现凋亡细胞^[15]，粘膜下基质很少观察到坏死细胞^[16]。这说明隐窝部位干细胞对辐射比较敏感。近期的实验提示，辐射引发的肠道细胞凋亡由 p53-p21 通路介导。辐射后 30 min 出现有丝分裂阻滞并可持续 20 h^[17]。隐窝部干细胞丢失导致粘膜完整性丧失，使粘膜的防御功能受损，引发炎症反应。

由于辐射后干细胞的死亡，小肠上皮 4 种类型的细胞数目相对比例也发生相对变化。大鼠全身接受 15 Gy 以上的 X 射线辐射后潘氏细胞数目减少，辐射后 30 d 恢复至正常水平。15 Gy 以上 X 射线辐射后，杯状细胞在辐射后 20 h 内显著增加，之后下降，7 d 后恢复至正常水平^[18]。辐射后 10—30 d，在隐窝的基底部出现透明细胞，其数目与剂量有关。小肠粘膜浆细胞于辐射后 48 h 显著减少，因此神经冲动介导的浆细胞分泌活动显著降低。

2.3 光子辐射引发的小肠粘膜下层基质改变

光子辐射也可引发粘膜下层基质细胞损伤。基质腺周围成纤维母细胞(Stromal pericryptal fibroblasts)在辐射后凋亡，其辐射敏感性与隐窝干细胞类似^[19]。辐射后粘膜固有层的淋巴细胞浸润程度降低，巨噬细胞和颗粒细胞数目减少^[17]。粘膜肌层和肌肉下层内出现腺体腔，其数目与剂量有关^[17]。

辐射后6 h肌肉下层动脉数目增多^[15]。辐射后3 d奥尔巴赫神经丛(auerbach's nerve plexus)数目增多,其数目于第7 d恢复至正常水平^[20]。辐射后3 d也观察到小肠隐窝数目减少,但到第7 d仍未恢复至正常水平。

电离辐射引发细胞丢失,导致隐窝的周长减小,绒毛长度缩短。电镜观察到隐窝部表皮形态改变,粘液分泌增多,绒毛顶部细菌增多。Carr等人用电镜做了一系列观察,将绒毛的形态改变划分为4类:绒毛侧面崩解、水平崩解、垂直崩解和全面崩解^[21]。这些形态改变依赖于剂量,但与辐射类型无关。认为绒毛的这些形态改变是辐射对神经肌肉(neuromuscular)的损伤所致^[21]。辐射后10—30 min微绒毛肿大,后来逐渐变短变粗,变稀疏^[22]。微绒毛数目减少,长度变短很可能与小肠转运和吸收功能降低有关。

2.4 光子辐射引发的小肠信号分子改变

低剂量电离辐射可诱导一些基因的表达,并分泌肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor alpha)、表皮生长因子 α (epidermal growth factor alpha)、转化生长因子 α (transforming growth factor alpha)、转化生长因子 β (transforming growth factor beta)、白介素 1α (interleukin- 1α)、白介素 1β (interleukin- 1β)等细胞因子^[22, 23]。这些生长因子分布与浓度的变化调控着不同类型细胞的增殖^[13]。近期的一些实验表明,这些因子在电离辐射后小肠恢复过程中发挥重要作用^[24, 25]。Potten等在小鼠辐射后96 h分别给予肿瘤坏死因子 α 、表皮生长因子 α 、转化生长因子 α 、转化生长因子 β 、白介素 1α 、白介素 1β 、胰岛素样生长因子I和II、酸性成纤维母细胞生长因子、巨噬细胞抑制蛋白 α 。他们发现:表皮生长因子 α ,胰岛素样生长因子I和II都可促进隐窝细胞增殖,转化生长因子 α 可促进整个小肠上皮细胞增殖,转化生长因子 β 强烈的抑制隐窝底部细胞增殖^[22]。细胞凋亡也受细胞因子的调控^[26]。

电离辐射后造成小肠完整性丧失、上皮通透能力增强和抵御外界病原能力减弱,因而细菌以及一些细菌产物(比如内毒素)容易通透上皮,诱导机体产生大量肿瘤坏死因子 α 。肿瘤坏死因子 α 又可诱导分泌白介素 1β 、血小板激活因子、一氧化氮、中性粒细胞趋化因子、自由基,这些因子可将反应级

联放大^[27]。

3 离子束辐射引发的小肠损伤

高能质子和C离子的剂量沿穿透深度的分布与光子恰恰相反,在径迹的末端处能量沉积骤然增大——人们称之为布拉格峰,利用这一物理特性治疗肿瘤可以降低对布拉格峰之前正常组织的损伤^[28]。同时,在布拉格峰处相对生物学效应最大,电离密度最大,造成大量DNA损伤,这些损伤簇拥在一起很难被修复,因而杀伤力很大^[29]。这些卓越的物理学及生物学特性可用于治疗解剖位置复杂(比如脑瘤)、不易手术和对传统射线不敏感的肿瘤,同时降低对正常组织的损伤。但离子束治癌还未成为临床上治疗癌症的常用手段,人们仍缺乏对其辐射生物学的了解。

3.1 离子束辐射引发小肠上皮细胞超微结构变化

Fatemi等用10Gy的¹²C离子束单次全身辐照动物,并用电子显微镜观察了辐射引发的超微结构变化。他们观察的结果如下:(1)辐射后小肠表皮细胞胞内和胞外都出现空泡,空肠和回肠表皮尤为显著;(2)表皮细胞出现突起,突起穿过基膜并与基膜下的间叶细胞(mesenchymal cells)相连;(3)有的潘氏细胞(Paneth cells)内出现囊泡,囊泡内有颗粒或纤维样物质。

3.2 离子束辐射引发的小肠组织学变化

Carr等分别用加速的质子、中子、Fe离子、Si离子辐射小鼠,观察到小肠隐窝直径增粗至10 μm (未辐射小鼠隐窝直径为5 μm),相同剂量条件下Fe离子束产生的效应最显著^[30],隐窝直径增粗的几率与传能线密度(linear energy transfer)相关。辐射后隐窝形态与乳糜泻症(coeliac disease)隐窝形态类似。Fatemi等用电镜观察到辐射后小肠血管内皮细胞,平滑肌细胞以及神经纤维损伤,小肠动脉和静脉基膜增厚,同时也观察到神经纤维基膜轻微增厚^[31]。重离子辐射也可引发纤维化,Haase等认为重离子辐射引发纤维化的病理机制类似于光子辐射,两者都涉及到相同的细胞因子^[15]。

4 结语

离子束辐射具有卓越的物理学及生物学特性,

应用于肿瘤治疗取得了激动人心的成果,必将成为肿瘤治疗的常用手段之一。因此,有必要详尽了解其可能存在的辐射毒性。中国科学院近代物理研究所重离子束辐射生物医学重点实验室已经在组织学以及细胞分子生物学层面开展了重离子辐射对呼吸系统、神经系统、生殖系统和免疫系统等影响的研究。鉴于肠道损伤研究对于盆腔和腹部肿瘤放射治疗的重要性,以及目前人们对小肠重离子辐射损伤了解的欠缺,我们实验室正在开展小肠重离子辐射病理损伤的基础医学研究,同时也开展了减轻辐射损伤的研究,如低剂量预辐射使机体产生适应性反应研究,辐射防护化合物开发,姜黄素等传统中药辐射防护效果评价等。由于小肠上皮的再生性修复与重建依赖于照射后存活的干细胞,我们实验室重点开展了小肠干细胞辐射损伤研究,包括鉴定小肠干细胞标志物、检测辐射后干细胞标志物表达的变化、分析辐射引发的干细胞凋亡和坏死与修复等。在此基础上进一步研究辐射应激条件下小肠生理稳态维持的动态过程。以期为盆腔及腹部肿瘤放射治疗提供有益借鉴。

参考文献 (References):

- [1] Walsh D. *British Medical Journal*, 1897, **2**: 272.
- [2] Olasolo J J. *Acta Oncol*, 1989, **28**: 717.
- [3] Regaud C, Nogier T, Lacassagne A. *Archives of Electromedicine*, 1912, **21**: 321.
- [4] Warren S L, Whipple G H. *J Exp Med*, 1922, **35**(2): 213.
- [5] Miyake M, Yokoyama T, Yamaguchi K, *et al.* *Acta Pathol Jpn*, 1967, **17**(4): 517.
- [6] Kato K, Antoku S, Sawada S, *et al.* *Br J Radiol*, 1991, **64**(764): 728.
- [7] Somosy Z, Horvath G, Telbisz A, *et al.* *Micron*, 2002, **33**(2): 167.
- [8] Macnaughton W K. *Aliment Pharm Therap*, 2000, **4**(5): 523.
- [9] Erickson B A, Otterson M F, Moulder J E, *et al.* *Int J Radiat Oncol*, 1994, **28**(4): 905.
- [10] Langberg C W, Hauer-Jensen M, Sung C C, *et al.* *Radiother Oncol*, 1994, **32**(1): 29.
- [11] Langberg C W, Sauer T, Reitan J B, *et al.* *Acta Oncol*, 1996, **35**(1): 81.
- [12] Hauer-Jensen M. *Acta Oncol*, 1990, **29**(4): 401.
- [13] Haase O, Rodemann H P. *Oncol*, 2004, **73**: 144.
- [14] Potten C S. *Cytotoxic Effects in Gastro-intestinal Epithelium (as Exemplified by Small Intestine)*. Edinburgh, London, Melbourne, New York: Churchill Livingstone, 1983, 105—152.
- [15] Jervis H R, Donati R M, Stromberg L R, *et al.* *Strahlentherapie*, 1969, **137**(3): 326
- [16] Schulz-Ertner D, Jakel O, Schlegel W, *et al.* *Radiat Oncol*, 2006, **16**(4): 249.
- [17] Rubio C A, Jalnas M. *Digest Dis Sci*, 1996, **41**(2): 392.
- [18] Harari Y, Kester D, Travis E, *et al.* *Intestinal Anaphylaxis: Radiation-induced Suppression*. *Am J Physiol*, 1994, **267**: G70915.2.
- [19] Ijiri K, Potten C S. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*, 1984, **46**(5): 609.
- [20] Carr K E, Hume S P, Nelson A C, *et al.* *J Radiat Res*, 1996, **37**(1): 38.
- [21] Carr K E, McCullough J S, Nelson A C, *et al.* *Scanning Microscopy*, 1982, **6**: 561.
- [22] Lieb R J, McDonald T F, McKenney J R. *Radiation Research*, 1977, **70**: 575.
- [23] Johnston C J, Piedboeuf, Rubin P, *et al.* *Radiation Research*, 1996, **154**: 762.
- [24] Ruifrok A C C, Mason K A, Lozano G. *Radiat Res*, 1997, **147**(1): 1.
- [25] Potten C S, Owen G, Hewitt D, *et al.* *Gut*, 1995, **36**(6): 864.
- [26] Potten C S. *Cancer Metastasis Rev*, 1992, **11**(2): 179.
- [27] Hamblin A S. *Cytokines and Cytokine Receptors*. In: Rickwood D, Male D, Editors. *Focus Series*. Oxford University Press, 1993, 1—90.
- [28] Johnston C J, Piedboeuf B, Rubin P, *et al.* *Radiation Research*, 1977, **154**: 762
- [29] Goodhead D T. *Int J Radiat Biol*, 1994, **65**(1): 7.
- [30] Fatemi S H, Antosh M, Cullan G M, *et al.* *Virchows Arch*, 1985, **B48**(4): 325.
- [31] Carr K E, Hayes T L, Abbas B, *et al.* *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1990, **22**(2): 265.

Advances in Small Intestinal Ionizing Radiation Injury Research^{*}

MA Xiao-fei^{1, 2, 3, 4}, ZHANG Hong^{1, 2, 3, #}

(1 *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

2 *Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Medicine of Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

3 *Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Medicine of Gansu Province, Lanzhou 730000, China;*

4 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract: Intestinal ionising radiation injuries are a dose limiting factor in the course of radiotherapy of abdominal and pelvic malignancies. In this paper it is reviewed that ionizing radiation injuries of small intestine, including clinical symptoms, epithelium and submucosa changes, signal molecular expression changes, histological and ultrastructure changes. The ongoing works of our laboratory on subjects of intestinal injuries induced by heavy ions and protection against these injuries are also presented.

Key words: ionizing radiation; intestinal crypt; gastrointestinal radiation syndrome

* **Received date:** 13 Nov. 2009; **Revised date:** 9 Mar. 2010

* **Foundation item:** National Basic Research Program of China(973 Program)(2010CB834202); National Natural Science Foundation of China(10835011); Scientific Technology Research Projects of Gansu Province(0702NKDA045)

Corresponding author: Zhang Hong, E-mail: zhangh@impacs.ac.cn