· 综述 ·

放射性脑损伤炎症反应机制的研究进展

黄旭锐 黄海威
510080 广州,中山大学附属第一医院神经科 国家临床重点专科与国家重点学科
DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2018.11.014

【摘要】 放射性脑损伤(radiation-induced brain injury, RBI)的发生机制仍不明确,目前多项研究认为炎症反应起重要作用。活性氧类的产生,炎症介质的释放,神经元、胶质细胞、周细胞的相互作用以及外周白细胞的募集等共同促进放射性脑损伤的发生发展。本文就放射性脑损伤炎症反应机制的研究进展进行综述。

【关键词】 放射性脑损伤; 小胶质细胞; 活性氧类; 炎症介质; 白细胞
基金项目:广东省科技计划项目(2016A020215040)

Advances in the mechanism of inflammatory response to radiation-induced brain injury *Huang Xurui, Huang Haiwei*
Department of Neurology, National Key Clinical Department and Key Discipline of Neurology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

【**Abstract**】 The mechanisms of radiation-induced brain injury (RBI) remain unclear. Currently a number of studies suggest that inflammatory response may play an important role in RBI. The production of reactive oxygen species, the release of inflammatory mediators, the interactions between neurons, glial cells, and pericytes, and the recruitment of peripheral leukocytes all contribute to the development of radiation-induced brain injury. This article reviews the research progress of the inflammatory response mechanism of radiation-induced brain injury.

【**Key words**】 Radiation-induced brain injury; Microglia; Reactive oxygen species; Inflammatory mediators; Leukocytes
Fund program: Science and Technology Planning Project of Guangdong Province(2016A020215040)

颅脑放射治疗被广泛应用于头颈部的原发肿瘤、转移性肿瘤和脑动静脉畸形等疾病的治疗。然而,当放射治疗的剂量超过中枢神经系统(CNS)对射线耐受的阈值时,就会对正常脑组织造成损伤,发生放射性脑损伤,出现脑组织坏死水肿、脱髓鞘、认知和记忆损害等功能障碍。放射性脑损伤的发生机制尚不清楚,目前有血管损伤、炎症免疫反应、脱髓鞘等多种假说,其中炎症反应在放射性脑损伤(RBI)发病过程中起重要作用。本文就放射性脑损伤炎症反应机制的研究进展做一概述。

一、炎症反应

关于"炎症"的描述一开始只是"红、肿、热、痛",随着对人体生理病理机制的深入理解,炎症的定义也得到了进一步的拓展。现今一般认为炎症是具有血管系统的活体组织对损伤因子的刺激所发生的以防御为主的反应,包括各种损伤因子、免疫细胞、可溶性因子、组织特异性成分等相互作用的一个病理过程[1]。炎症反应可发生在各种组织器官中,包括神经系统。神经炎症(neuroinflammation)是神经系统对损伤的一种炎症反应,可由外源性(如病原体入侵)和内源性因素(如组织细胞的继发性损伤)引起[2]。多项研究表明,神经炎症在阿尔兹海默病[3]、帕金森病[4]、多发性硬化症[5]等疾病的发病机制中扮演重要角色。炎症反应在神经系统疾病发病机制中的作用也是当前研究的热点。

二、RBI 炎症反应研究进展

炎症反应在放射性脑损伤的发生发展中同样起着重要作用。颅脑电离辐射通过射线引起中枢神经系统的组织细胞损伤,诱导炎症反应的发生,而炎症反应则进一步加重大脑的损伤。放射性脑损伤炎症反应机制十分复杂,目前认为其主要特点是活性氧类(reactive oxygen species, ROS)的产生,炎症介质的释放,神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞、周细胞的相互作用,以及外周白细胞的募集等。

1. 活性氧类的产生:活性氧类是生物有氧代谢过程中的一种副产品,包括氧离子、过氧化物和含氧自由基等。过多活性氧类的产生在放射性脑损伤的发病机制中起重要作用。ROS 的产生机制可能是放射引起小胶质细胞核 DNA 双链断裂和组蛋白 γ-H2AX 的磷酸化,触发了 NF-κB 通路进而产生活性氧类[6]。氧应激和相关活性氧类可以引起细胞中脂质、蛋白质、碳水化合物、核酸的结构功能和线粒体通透性的改变,诱导细胞的凋亡、自噬和坏死[7]。Baluchamy 等[8]用

250 MeV的高能量质子射线 2 Gy 单次照射小鼠脑组织,发现 ROS 大量产生和脂质过氧化,这些进一步导致脑细胞的损伤甚至凋亡。另有一项随机对照试验应用依达拉奉(一种氧自由基清除剂)治疗鼻咽癌放疗后脑损伤的患者,结果显示,每天注射依达拉奉 30 mg 2 次,连续 2 周可有效减轻患者的脑组织坏死和水肿[9]。因此,针对 ROS 产生机制进行深入的研究,能给放射性脑损伤的治疗提供更好的指导作用。

2. 炎症介质的释放:放射性脑损伤时除产生活性氧类外,还会释放大量炎症介质。而小胶质细胞则是参与大脑炎症反应的主要细胞成分[2],小胶质细胞是大脑的"常驻"巨噬细胞,数量占脑细胞总数的十分之一以上,广泛分布于大脑灰质、白质等区域。放射性脑损伤时小胶质细胞被激活,表现为形态和功能等一系列的改变,通过变形和吞噬作用清除细胞碎片,上调其 MHC 分子以增强抗原呈递的作用,并释放细胞因子、趋化因子等物质参与炎症反应。

用^{137}Cs 辐射器单次照射体外培养的小胶质细胞达 32 Gy,可激活小胶质细胞,通过触发 NF-κB 通路,提升炎症介质的转录、翻译水平,导致炎症介质的产生[10]。IL-6、TNF-α和 COX-2 在照射后 3 h 达高峰,IL-1β 和 TLR-8 在 6 h 后达高峰,这些炎症介质在照射后 24 h 内仍可检测到。

研究表明,放射性脑损伤时产生的炎症介质在神经干/祖细胞(neural stem/progenitor cells,NSPCs)的增殖、分化,即神经发生的调控中发挥重要作用。在成年哺乳动物的大脑中,NSPCs 的增殖、分化的过程主要发生在两个区域:海马齿状回的颗粒下层(SGZ)和侧脑室的室管膜下区(SVZ)[11]。NSPCs 能够增殖、分化为神经元,并整合至已有的神经回路中,参与记忆、情绪调节等过程。NSPCs 的增殖、分化受局部环境的影响,放射性脑损伤时释放的炎症介质所组成的微环境,与神经发生有密切联系。静止状态的小胶质细胞有利于维持神经发生正常进行,反之,放射性脑损伤时小胶质细胞活化,释放过多促炎因子,则不利于神经发生。研究发现活化的小胶质细胞可释放 TNFα,作用于海马神经祖细胞上的 TNF-R1 受体,引起新生神经祖细胞的凋亡[12],这可能是放射性脑损伤认知功能受损的一个原因。

3. 神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞、周细胞的相互作用:放射性脑损伤时,神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞、周细胞等都可分泌炎症介质,并且交互作用,共同促进炎症的发生和发展。

炎症反应过程中,神经元和小胶质细胞相互作用,神经元分泌高迁移率族蛋白 1(HMGB1),与小胶质细胞膜上的 Toll 样受体 4(TLR4)结合,从而间接激活小胶质细胞。小胶质细胞根据形态特征可分为 3 种表型:分枝状,阿米巴状和圆状。Han 等[13]研究发现没有射线照射时,小鼠大脑中小胶质细胞处于相对静止状态,形态为分枝状,表现为特征性的小胞体和大量的突起。接受 8 Gy 单次颅脑照射的小鼠,6 h 后大部分(约 90%)小胶质细胞被活化,形态发生变化,表现为细胞表面的突起紧缩、消失,变为阿米巴状或圆状,且具有吞噬的功能。活化的小胶质细胞可吞噬神经元。Fricker 等[14]报道活化的小胶质细胞通过其表面的低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP)识别神经元膜表面的钙网蛋白(CRT),介导小胶质细胞对神经元的吞噬作用,从而导致认知功能的受损。

生理情况下神经干/祖细胞一般分化为新的神经元,但小胶质细胞可释放 IL-6 和白血病抑制因子(LIF),通过激活 JAK/STAT 和 MAPK 途径促进 NSPCs 向星形胶质细胞分化,从而导致反应性胶质化增生和胶质瘢痕的形成[15]。另外,Hwang 等[16]发现体外照射 15 Gy 射线后,小胶质细胞分泌 PGE_2、IL-1β 等促炎症因子,是导致星形胶质细胞发生表型改变和反应性胶质化增生的重要原因。

星形胶质细胞的终足和周细胞在解剖上是连接的[17],生理条件下,星形胶质细胞和周细胞能够维持内皮细胞的紧密连接和毛细血管的稳定性。放射性脑损伤时星形胶质细胞分泌大量血管内皮生长因子(VEGF),增加血脑屏障的通透性[18],加重炎症反应。Zhuang 等[19]用贝伐珠单抗(VEGF 抗体)治疗 14 例放射性脑损伤的患者,发现 13 例脑组织坏死体积减少,9 例脑组织水肿有好转。因此,通过拮抗 VEGF 治疗放射性脑损伤是当前研究的热点。至于周细胞,Lee 等[20]取胶质母细胞瘤放疗后肿瘤复发患者病变的脑组织,观察到放射性脑损伤病灶中血管周细胞减少,并推测这可能是导致血脑屏障渗漏和组织坏死的原因。有学者猜测星形胶质细胞能促进周细胞合成纤连蛋白[21],参与炎性血管生成过程中基底膜的形成。但星形胶质细胞和周细胞在放射性脑损伤时的交互作用仍缺乏深入研究。

正常情况下,周细胞、内皮细胞能分泌 CX3CL1(一种趋化因子),特异性作用于小胶质细胞,抑制小胶质细胞活化,维持血管的稳定性。炎症反应时,小胶质细胞和周细胞分泌不同的细胞因子并且交互作用,活化的小胶质细胞可释放 TNFα,促进周细胞迁移,重新分布并且分泌白介素-6(IL-6)、巨噬细胞炎性蛋白-1α(MIP-1α)、金属蛋白酶(MMP-9)等,而 IL-6、MIP-1α 反过来又能促进小胶质细胞的激活和聚集[22],而 MMP-9 则会破坏血管完整性[23],促进炎症反应的发展。

4. 外周白细胞的募集:大脑的微环境受到其特有屏障的调节和保护,这些屏障主要包括微血管-大脑实质之间的血脑屏障(BBB)和脉络膜丛的血脑脊液屏障(BCSFB),这些屏障在调节外周循环和中枢神经系统间物质运输方面起着重要作用。放射性脑损伤时这些屏障受到破坏,通透性增加,过多的炎性细胞渗透至大脑中,对中枢神经系统造成损害。放射性脑损伤时外周循环的白细胞被募集到损伤部位参与炎症反应,包括中性粒细胞、巨噬细胞和 T 细胞等。

(1)中性粒细胞:滚动和黏附是中性粒细胞外渗到脑组织的第一步,辐射会影响血管内中性粒细胞与内皮细胞的相互作用,通过黏附分子的作用触发内皮细胞的骨架重塑,使得中性粒细胞的跨内皮迁移成为可能。用 50 Gy γ 射线照射培养的人大脑血管内皮细胞,24 h 后血管内皮细胞的细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达增加,介导中性粒细胞进行滚动和

黏附,穿过血脑屏障到达大脑病变部位,参与进一步的炎症反应[24]。Yuan 等[25]研究发现大鼠颅脑经过 20 Gy 射线照射 2 h 后,在活体荧光显微镜下通过颅窗即可观察到中性粒细胞在软脑膜血管中进行滚动和黏附,且血管通透性增加,24 h 后达高峰。而注射抗 ICAM-1 抗体可显著减少中性粒细胞的黏附和浸润,减轻炎症反应,为放射性脑损伤的治疗提供新的靶点。Moravan 等[26]用 35 Gy 射线照射小鼠颅脑,发现在颅脑照射后 12 h 内检测到中性粒细胞明显浸润,24 h 后则观察不到;而差异有统计学意义的 T 细胞浸润在照射一个月后才观察到。

(2)巨噬细胞:巨噬细胞是放射性脑损伤时炎性浸润中的重要组成部分,而趋化因子在巨噬细胞运输过程中具有至关重要的作用。放射性脑损伤时,趋化因子受体及其配体表达增加,活化的小胶质细胞可释放趋化因子配体 CCL2(也称单核细胞趋化蛋白,MCP1),能够募集骨髓和外周循环中表达有 CCR2 受体的单核巨噬细胞到病灶周围[27]。当发生神经炎症时 CCL2 水平上升,能够增加血脑屏障的通透性,利于巨噬细胞穿过。有研究报道使用不表达 CCL2 或 CCR2 的小鼠,发现 CCL2 或 CCR2 的缺失均可以减少巨噬细胞的渗透,进而减轻颅脑照射引起的神经元损伤和认知障碍[28-29]。因此,针对 CCR2/CCL2 靶向药物的研发应用,从而减少巨噬细胞的浸润,可能是治疗放射性脑损伤的一个新思路。

(3)T 细胞:正常大脑中淋巴细胞的数目很少,且主要为 T 细胞,当大脑发生炎症时,T 细胞由脉络膜丛上皮表达的 ICAM-1、VCAM-1 介导,通过血脑脊液屏障进入脑实质。这些 T 细胞主要由 CD4 + T 细胞组成,CD4 + T 细胞也称为辅助性 T 细胞(Th 细胞),它在调控适应性免疫反应中发挥重要作用。未成熟的 CD4 + T 细胞可分化为 Th1, Th2 和 Treg 细胞等多个谱系,参与不同类型的免疫反应[30]。Th1 和 Th2 细胞在放射性脑损伤炎症反应中主要起神经保护的作用。用 γ 射线照射可促使 Th1 释放 IFN-γ、Th2 释放 IL-4[31],而 IFN-γ 和 IL-4 能通过调节小胶质细胞,诱导 NSPCs 向神经元或少突胶质细胞分化,参与神经元和髓鞘损伤的修复[32]。Treg 细胞亚群也参与大脑的免疫反应,其主要起到免疫抑制的作用。放射性脑损伤时小胶质细胞通过释放 IL-6,使未成熟 T 细胞向 Treg 细胞的分化受到抑制。另外,Cao 等[33]用 30 Gy γ 射线照射 Treg 细胞,发现 Treg 细胞增殖减少而凋亡增加。因此 Treg 细胞数目减少和功能的改变可能是放射性脑损伤时免疫紊乱的一个原因。

三、小结

综上所述,炎症反应在放射性脑损伤的发生发展中起着举足轻重的作用。放射性脑损伤时,活性氧类产生,炎症介质释放,神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞、周细胞等相互作用,同时募集外周中性粒细胞、巨噬细胞和 T 细胞等通过血脑屏障或血脑脊液屏障进入中枢神经系统,共同参与炎症反应,引起 CNS 组织坏死、水肿、认知记忆障碍等症状。因此,进一步探讨放射性脑损伤炎症反应机制,深入研究抗炎药物在放射性脑损伤患者中的临床应用,是预防和治疗放射性脑损伤的重要研究策略,对于提高患者远期生存质量有着深远意义。

利益冲突 无

作者贡献声明 黄旭锐负责资料收集、整理及论文撰写;黄海威负责论文审阅

参 考 文 献

[1] Fullerton JN, Gilroy DW. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier[J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15(8): 551-567. DOI: 10.1038/nrd.2016.39.

[2] Smith AM, Dragunow M. The human side of microglia[J]. Trends Neurosci, 2014, 37(3): 125-135. DOI: 10.1016/j.tins.2013.12.001.

[3] Heneka MT, Carson MJ, El KJ, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. Lancet Neurol, 2015, 14(4): 388-405. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)70016-5.

[4] Tiwari PC, Pal R. The potential role of neuroinflammation and transcription factors in Parkinson disease[J]. Dialogues Clin Neurosci, 2017, 19(1): 71-80.

[5] Ettle B, Kuhbandner K, Jörg S, et al. α-Synuclein deficiency promotes neuroinflammation by increasing Th1 cell-mediated immune responses[J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1): 201. DOI: 10.1186/s12974-016-0694-4.

[6] Kang MA, So EY, Simons AL, et al. DNA damage induces reactive oxygen species generation through the H2AX-Nox1/Rac1 pathway[J]. Cell Death Dis, 2012, 3: e249. DOI: 10.1038/cddis.2011.134.

[7] Tang D, Kang R, Zeh HJ, et al. High-mobility group box 1, oxidative stress, and disease[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(7): 1315-1335. DOI: 10.1089/ars.2010.3356.

[8] Baluchamy S, Ravichandran P, Ramesh V, et al. Reactive oxygen species mediated tissue damage in high energy proton irradiated mouse brain[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 360(1-2): 189-195. DOI: 10.1007/s11010-011-1056-2.

[9] Tang Y, Rong X, Hu W, et al. Effect of edaravone on radiation-induced brain necrosis in patients with nasopharyngeal carcinoma after radiotherapy: a randomized controlled trial[J]. J Neurooncol, 2014, 120(2): 441-447. DOI: 10.1007/s11060-014-1573-4.

[10] Xue J, Dong JH, Huang GD, et al. NF-κB signaling modulates radiation induced microglial activation[J]. Oncol Rep, 2014, 31(6): 2555-2560. DOI: 10.3892/or.2014.3144.

[11] Christie KJ, Turnley AM. Regulation of endogenous neural stem/progenitor cells for neural repair-factors that promote neurogenesis and gliogenesis in the normal and damaged brain[J]. Front Cell Neurosci, 2012, 6: 70. DOI: 10.3389/fncel.2012.00070.

[12] Iosif RE, Ekdahl CT, Ahlenius H, et al. Tumor necrosis factor receptor 1 is a negative regulator of progenitor proliferation in adult

hippocampal neurogenesis[J]. J Neurosci, 2006, 26(38): 9703-9712. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2723-06.2006.

[13] Han W, Umekawa T, Zhou K, et al. Cranial irradiation induces transient microglia accumulation, followed by long-lasting inflammation and loss of microglia[J]. Oncotarget, 2016, 7(50): 82305-82323. DOI: 10.18632/oncotarget.12929.

[14] Fricker M, Oliva-Martin MJ, Brown GC. Primary phagocytosis of viable neurons by microglia activated with LPS or a beta is dependent on calreticulin/LRP phagocytic signalling [J]. J Neuroinflamm, 2012, 9: 196. DOI: 10.1186/1742-2094-9-196.

[15] Nakanishi M, Niidome T, Matsuda S, et al. Microglia-derived interleukin-6 and leukaemia inhibitory factor promote astrocytic differentiation of neural stem/progenitor cells[J]. Eur J Neurosci, 2007, 25(3): 649-658. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2007.05309.x.

[16] Hwang SY, Jung JS, Kim TH, et al. Ionizing radiation induces astrocyte gliosis through microglia activation[J]. Neurobiol Dis, 2006, 21(3): 457-467. DOI: 10.1016/j.nbd.2005.08.006.

[17] Sweeney MD, Ayyadurai S, Zlokovic BV. Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways[J]. Nat Neurosci, 2016, 19(6): 771-783. DOI: 10.1038/nn.4288.

[18] 容小明,唐亚梅.贝伐珠单抗治疗放射性脑损伤的临床观察[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2013, 33(5): 563-565. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2013.05.030.
Rong XM, Tang YM. Clinical observation for the treatment of radiation-induced brain injury with Bevacizumab [J]. Chin J Radiol Med Prot, 2013, 33(5): 563-565. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2013.05.030.

[19] Zhuang H, Yuan X, Zheng Y, et al. A study on the evaluation method and recent clinical efficacy of bevacizumab on the treatment of radiation cerebral necrosis[J]. Sci Rep, 2016, 6: 24364. DOI: 10.1038/srep24364.

[20] Lee ST, Seo Y, Bae JY, et al. Loss of pericytes in radiation necrosis after glioblastoma treatments[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(6): 4918-4926. DOI: 10.1007/s12035-017-0695-z.

[21] Bonkowski D, Katyshev V, Balabanov RD, et al. The CNS microvascular pericyte: pericyte-astrocyte crosstalk in the regulation of tissue survival[J]. Fluids Barriers CNS, 2011, 8(1): 8. DOI: 10.1186/2045-8118-8-8.

[22] Smyth LCD, Rustenhoven J, Park TI, et al. Unique and shared inflammatory profiles of human brain endothelia and pericytes[J]. J Neuroinflamm, 2018, 15(1): 138. DOI: 10.1186/s12974-018-1167-8.

[23] Machida T, Dohgu S, Takata F, et al. Role of thrombin-PAR1-PKCθ/δ axis in brain pericytes in thrombin-induced MMP-9 production and blood-brain barrier dysfunction *in vitro* [J]. Neuroscience, 2017, 350: 146-157. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.03.026.

[24] Sharp CD, Jawahar A, Warren AC, et al. Gamma knife irradiation increases cerebral endothelial expression of intercellular adhesion molecule 1 and E-selectin[J]. Neurosurgery, 2003, 53(1): 154-160; discussion 160-161.

[25] Yuan H, Gaber MW, McColgan T, et al. Radiation-induced permeability and leukocyte adhesion in the rat blood-brain barrier: modulation with anti-ICAM-1 antibodies[J]. Brain Res, 2003, 969(1-2): 59-69.

[26] Moravan MJ, Olschowka JA, Williams JP, et al. Cranial irradiation leads to acute and persistent neuroinflammation with delayed increases in T-cell infiltration and CD11c expression in C57BL/6 mouse brain[J]. Radiat Res, 2011, 176(4): 459-473.

[27] Moravan MJ, Olschowka JA, Williams JP, et al. Brain radiation injury leads to a dose- and time-dependent recruitment of peripheral myeloid cells that depends on CCR2 signaling [J]. J Neuroinflammation, 2016, 13: 30. DOI: 10.1186/s12974-016-0496-8.

[28] Lee SW, Haditsch U, Cord BJ, et al. Absence of CCL2 is sufficient to restore hippocampal neurogenesis following cranial irradiation[J]. Brain Behav Immun, 2013, 30: 33-44. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.09.010.

[29] Belarbi K, Jopson T, Arellano C, et al. CCR2 deficiency prevents neuronal dysfunction and cognitive impairments induced by cranial irradiation[J]. Cancer Res, 2013, 73(3): 1201-1210. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2989.

[30] Zhu J, Paul WE. Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors[J]. Immunol Rev, 2010, 238(1): 247-262. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00951.x.

[31] Han SK, Song JY, Yun YS, et al. Effect of gamma radiation on cytokine expression and cytokine-receptor mediated STAT activation [J]. Int J Radiat Biol, 2006, 82(9): 686-697. DOI: 10.1080/09553000600930699.

[32] Butovsky O, Ziv Y, Schwartz A, et al. Microglia activated by IL-4 or IFN-gamma differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells[J]. Mol Cell Neurosci, 2006, 31(1): 149-160. DOI: 10.1016/j.mcn.2005.10.006.

[33] Cao M, Cabrera R, Xu Y, et al. Gamma irradiation alters the phenotype and function of CD4+CD25+ regulatory T cells[J]. Cell Biol Int, 2009, 33(5): 565-571. DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.02.007.

（收稿日期：2018-04-15）